

**DENEY HAYVANLARI**

**İNOKÜLASYON YÖNTEMLERİ**

**BOYALAR ve BOYAMA  
YÖNTEMLERİ**

# DENEY HAYVANLARI

- Hipotezi bilimsel kurallara göre oluşturulmuş deney ve araştırmalarda ilaç, madde, tedavi vb. etkinliklerin, canlı organizmadaki sonuçlarının elde edilmesi için kullanılan hayvanlara “deney hayvanları” denir.

# DENEY HAYVANLARI

- Mikroorganizmaların deney hayvanları üzerindeki etkileri değişiktir. Bazı mikroorganizmalar hiçbir deney hayvanına etkili değildir. Bazıları ise deney hayvanına özgül olmayan nitelikteki patolojik değişikliklere neden olur.
- Bir mikroorganizmanın patojenliğinin deney hayvanlarında kanıtlanabilmesi için; mikroorganizmanın deney hayvanına **belirli ve uygun yollardan verildiğinde**; her zaman **aynı klinik ve patolojik değişiklikleri** göstermesi gerekir.

☆ Mikroorganizma, kendisine duyarlı deney hayvanına, duyarlı olduğu yoldan verildiğinde spesifik hastalık semptomları gösterir ya da hayvan ölür. Kendisine duyarlı olmayan deney hayvanına verildiğinde hayvanda herhangi belirti görülmez, etkilenmez.

☆ Gerek seçilecek deney hayvanı, gerekse inokülasyon yeri bu yönden büyük önem taşır.

# Deney Hayvanlarının Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanım Amaçları

- Suni besiyerinde üremeyen mikroorganizmaların üretilmesi
- Suni besiyerinde güç, yavaş ya da az üreyen mikroorganizmaların üretilmesi
- Karışık kültürden saf kültür elde edilmesi
- Patojenite ve toksisite tayini
- İmmunite verme amacıyla - aşı kullanımı
- Antiserum ya da immunserum elde edilmesi (diagnostik ve terapötik amaçlı)
- Bir süre suni besiyerlerinde üretilme sonucunda virülansını kaybetmiş mikroorganizmaların virülansını arttırmak için

Virülans: Bir mikroorganizmanın hastalık yapabilme yeteneğinin şiddet derecesi

Ana Sayfa	▸
Üyeler	
Yönetmelik	
Yönerge	
Lab. Uygulama Klavuzu	
Başvuru Koşulları	
Başvuru Formları	
Aydınlatılmış Onam Formu	
Etik Kurul Toplantı Tarihi	
İletişim	

## Yönetmelik

### DENEYSEL VE DİĞER BİLİMSEL AMAÇLAR İÇİN KULLANILAN HAYVANLARIN REFAH VE KORUNMASINA DAİR YÖNETMELİK

Yetki Kanunu: 5996, 5199

Yayımlandığı R.Gazete: 13.12.2011- 28141

Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair

Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik

Yayımlandığı R.Gazete: 03.04.2012- 28253

## Hayvan Hakları Kanunu:

Bu kanun 24.06.2004 tarihinde çıkarılmış, 5199 sayılıdır. Kanunun amacı **“hayvanların rahat yaşamalarını ve hayvanlara en iyi ve uygun muamele edilmesini temin etmek, hayvanların acı, ıstırap ve eziyet çekmelerine karşı en iyi şekilde korunmalarını her türlü mağduriyetlerinin önlenmesini sağlamaktır”**.

Kanunun 9. maddesi hayvan deneyleri konusundadır. Bu maddeye göre **“hayvan deneyi yapan kurum ve kuruluşlarda bu deneyin yapılmasına kendi bünyelerinde kurulmuş ve kurulacak etik kurullar yoluyla izin verilir”**. Aynı kanunda etik kurulların kuruluşunun gerçekleşeceği de bildirilmektedir.

# Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (HADYEK)

## ANKARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

### AMAÇ

**MADDE 1** – Bu Yönerge, Ankara Üniversitesinde deney hayvanları ile gerçekleştirilecek olan bilimsel araştırma, deneysel çalışma, sağlık hizmetleri uygulamaları, eğitim-öğretim ve yayın gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili minimum etik standartları saptamak, gerektiğinde yeni ilkeler oluşturmak, bunların uygulamalarına ilişkin düzenlemeleri yapmak, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek ve araştırma önerilerini bu açıdan değerlendirmek üzere oluşturulan “Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu”nun (AÜHADYEK) kuruluş ve çalışma esaslarını belirlemek amacıyla düzenlenmiştir.

### KAPSAM

**MADDE 2** – Bu Yönerge, Ankara Üniversitesinde Madde 1’de yer alan etkinliklerde kullanılacak hayvanların kullanımından önce alınması gereken izinleri, bu amaçla AÜHADYEK’in oluşturulmasını, çalışma usul ve esaslarını, görevlerini, eğitim, denetim ve yükümlülüklerini kapsar.

&lt;&lt; Geri

- BİREYSEL EĞİTİMLER

- DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI EĞİTİM PROGRAMI ŞUBAT 2017



<b>Başlangıç - Bitiş</b>	: 13 Şubat 2017 Pazartesi-22 Şubat 2017 Çarşamba	<b>Günleri</b>	: Mesai saatleri içinde 7 iş günü, haftasonu 2 gün
<b>Süresi</b>	: 81 saat	<b>Saat</b>	:
<b>Eğitim Yeri</b>	: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Tıp Fakültesi Derslikleri	<b>Ücreti</b>	: Ayrıntılı bilgi aşağıdadır

**Eğitimin Amacı:**

Bu programın amacı, deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları, eğitim-öğretim ve yayın gibi temel etkinliklerde yer alacak kişilerin kullanılacak yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları uygulayabilecek ve etik ilkeler doğrultusunda çalışacak ehliyete sahip olmalarının sağlanmasıdır.

Araştırmacılara Deney Hayvanları ile çalışırken uymaları gereken mevzuat, etik kurallar, hayvanların anatomi, fizyoloji, histolojileri ve biyokimyasal özellikleri gibi derslerin yanı sıra, hastalıkları, bakım besleme ve üremeleri ile ilgili bilgiler, temel ve özel çalışma modelleri ile denemelerde uygulanan yöntemler uygulamalı olarak verilecektir. Başarılı olanlar "Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası" almaya hak kazanacaklardır.

**BAŞVURU FORMUNU DOLDURMAK İÇİN SON TARİH :28 Ocak 2017 olup 29 Ocak 2017 itibari ile yapılan başvurular kabul edilmeyecektir.**

**\*\*KATILIMCILARIN DİKKATİNE\*\***

**SİZLER BU SAYFADA YER ALAN BAŞVURU FORMUNU DOLDURDUKTAN SONRA, İSİMLERİNİZİN YER ALDIĞI LİSTELER SÖZ KONUSU EĞİTİMLE İLGİLİ ETİK KURULA İLETİLECEKTİR. ANKARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULUN ONAYI ALINDIKTAN SONRA, SİZLERLE ÖDEME HUSUSUNDA BİLGİLENDİRMEK İÇİN İLETİŞİME GEÇİLECEKTİR.**

Canlı hayvanlar üzerinde yapılacak deneysel çalışmalar **Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası**na sahip kişiler tarafından, gerektiğinde bir veteriner hekim danışmanlığında yapılmalıdır.



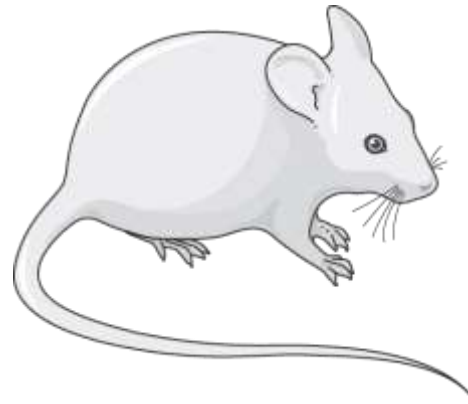
# Hayvanlar Üzerinde Yapılan Bilimsel Çalışmalarda 3R Kuralı

- ✓ Materyali Değişirme (**Replacement**): Hayvan yerine, aynı güvenilirlikte sonuçlar verecek başka materyal ya da modeller üzerinde çalışmak.
- ✓ Sayıyı Azaltma (**Reduction**): İstatistikleri etkilemeyecek en az sayıda hayvan üzerinde çalışmak.
- ✓ Uygun Koşulları Sağlama (**Refinement**): Hayvanları fizyolojilerine uygun ortamlarda barındırmak ve fizyolojilerine uygun işlemlerden geçirmek.

- Deney hayvan ünitelerinde kullanılan özel tesisatlar;
  - ❑ Stabil ısı
  - ❑ Sabit nem
  - ❑ Düzenli fotoperiyot (gece/gündüz)
  - ❑ Ventilasyon sistemleri
  - ❑ Kafes hacmi, yüksekliği, ideal sayı (fare için 180cm<sup>2</sup> ve 12 cm)
  - ❑ Operasyon salonu için filtreler

# Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında En Çok Kullanılan Deney Hayvanları

- Fındık fareleri
- Kobaylar
- Tavşanlar



Daha az olarak:

- Sıçanlar
- Hamsterler

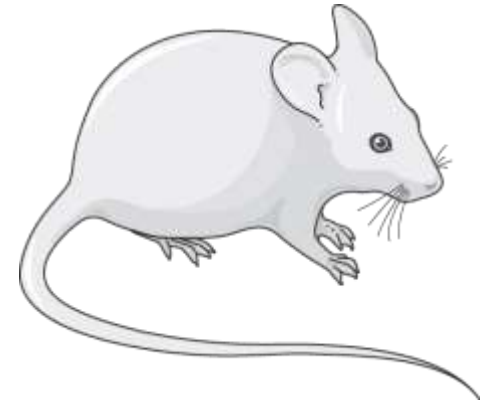


# Deney Hayvanlarının Tutulması

- **Farelerin tutulması:**

Baş ve işaret parmakları arasında kuyruğun 2/3 aşağı tarafı tutulur ve fare kaldırılır.

Fare ensesinden baş ve işaret parmağıyla kavranılır, diğer elle kuyruk tutularak geri çekilir. Başı tutan elin diğer parmaklarına (üçüncü ve dördüncü) kuyruk dolandırılarak sıkıştırılır.



- **Kobayların tutulması:**

Bir el baş bölgesine yakın hayvanın sırtına konur; baş ve işaret parmağı ile ensesinin etrafı sarılarak tutulur. Bu esnada diğer parmaklar vücudu yakalar ve avuç içi hayvanın sırtındadır.

Kaldırıldığı zaman diğer el, vücudun alt kısımlarını desteklemekte kullanılmalıdır.

Enjeksiyon için serbest elle arka bacaklar tutulur ve uzatılır.



- **Sıçanların tutulması:**

El ayası, hayvanın sırtında ve başın arkasında olmalıdır. hayvanın başının arkasındaki kaba deri, işaret ve baş parmak ile sıkıca tutulmalıdır.

Hayvanın başını çevirerek hareket etmesini, ısırmasını engellemek için işaret parmağı alt çene hizasında olmalıdır.

- **Tavşanların tutulması:**

Sol el gevşek ense derisini tutarken diğer el arka bacakları tutmalıdır. Hayvan debelenirse hayvanın hareket etmesini engellemek için arka bacaklar ön bacaklara doğru yaklaştırılır.

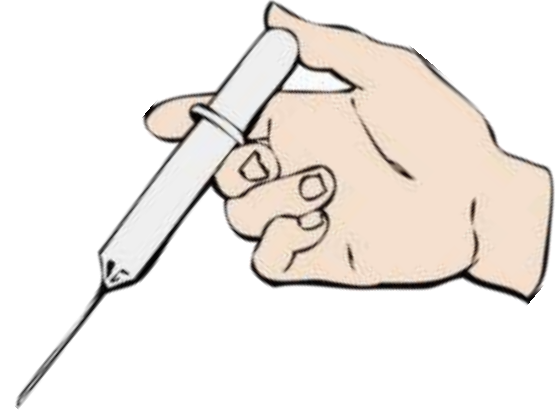


- **Hamsterların tutulması:**

Bir elle vücudu örtülerek immobilize edilir (kımıldaması engellenir), başın elin altından çıkmasına izin verilir. Sonra boyun ve toraksı (göğüs kafesi) örten gevşek deri baş ve işaret parmaklarıyla çekilmelidir.

Bir elle sıçandakine benzer tarzda kaldırılır. Boynun bir tarafına baş parmak ve çenenin altında işaret parmağı yerleştirilirse bir elle iyi bir kontrol sağlanır.

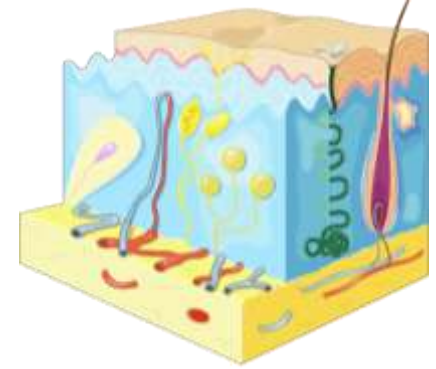
# İNOKÜLASYON YÖNTEMLERİ





## Kutan (Epiderme) İnokülasyon

Ekim yeri olarak genellikle **karın ve göğüs** derisi kullanılır. Ekim yapılacak bölgede deri ilk önce traş edilir ve antiseptik ile temizlenir.



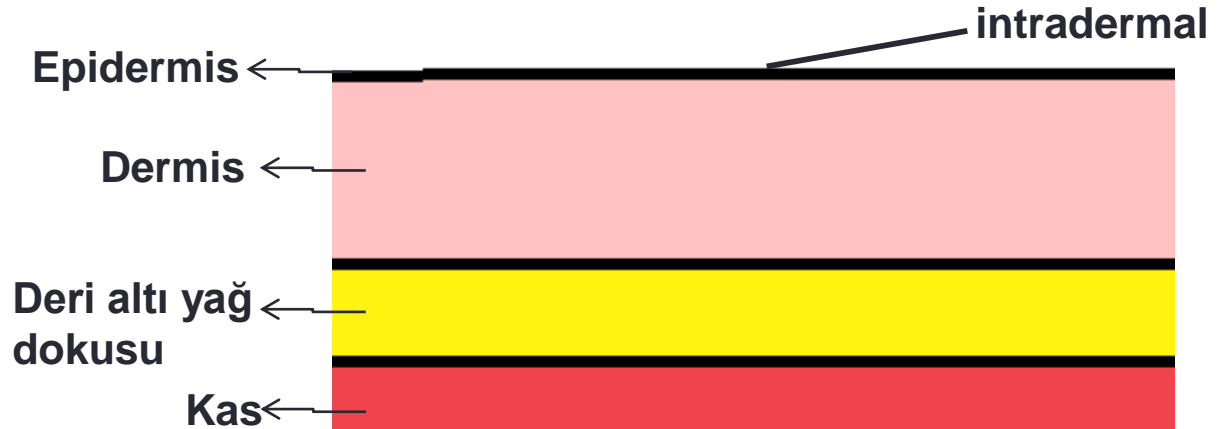
Daha sonra hassaslaşması için deri yüzeyi kanatmayacak şekilde çizilir, ya da zımpara ile oğuşturulur.

Materyal katı ise deri yüzeyine oğuşturularak sürülür, sıvı ise hassaslaşmış bölgeye bir damla damlatılarak ekim yapılır.

Hayvanın infekte olmaması için ekim yeri steril tülbentle sarılır. *B. anthracis* ve *Yersinia pestis*, lağım sularında *Leptospira* gibi mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonlarında kullanılır.

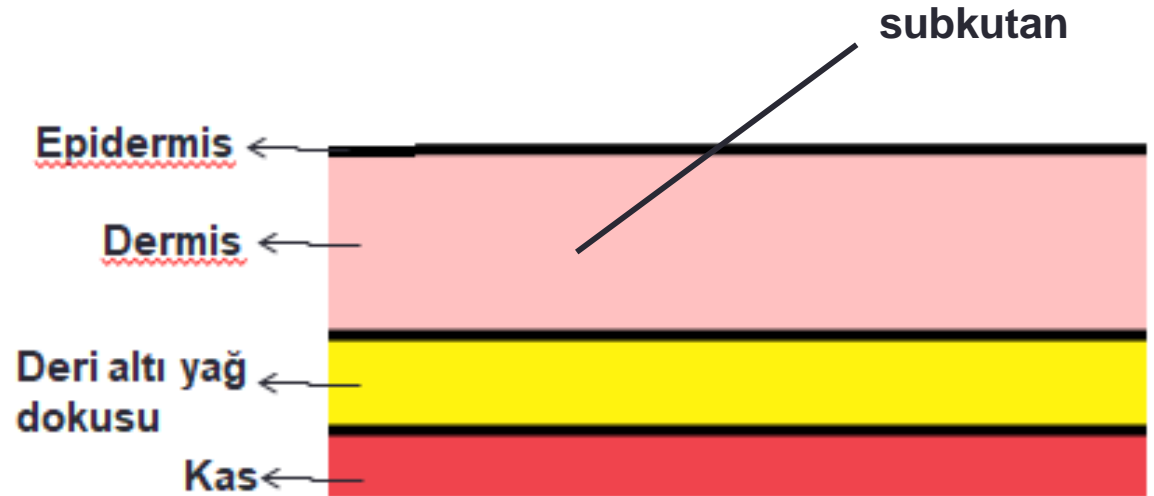
# Intradermal (Deri İçi İnokülasyon)

- Genellikle sırt derisinden ekim yapılır. Deri traş edilip antiseptik ile silindikten sonra, ince uçlu iğne ile deri içine girilerek 0,1 cm<sup>3</sup> mikroorganizma solüsyonu enjekte edilir. Daha çok alerjik reaksiyon deneyleri ve toksin titrasyonu gibi deneylerde kullanılır.



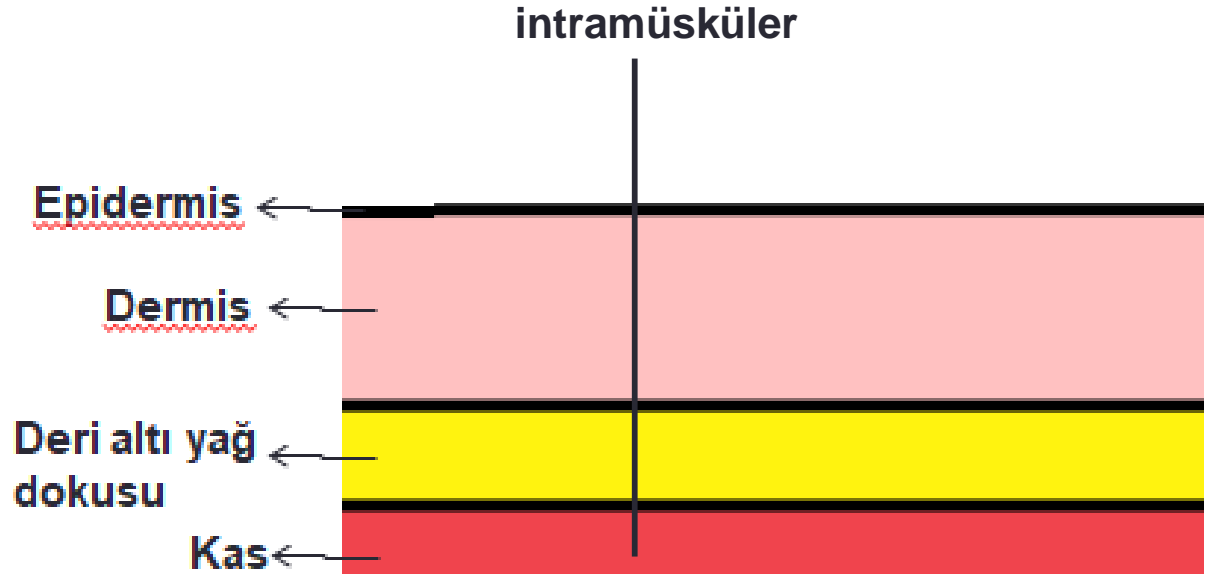
## Subkutan (Deri Altına İnokülasyon)

- Sırt veya karın bölgesindeki deri, kıllar uzaklaştırıldıktan sonra antiseptik ile silinir ve iki parmak arasında tutularak kaldırılır, iğne derinin altına sokularak ekim yapılır.
- Çeşitli mikroorganizmaların patojenitelerinin incelenmesi amacıyla kullanılır.



# Intramüsküler (Kas İçi İnokülasyon)

- Tetanoz, gazlı gangren vb. hastalıkların tanısı için kullanılır. İnokülasyon kalçadaki kaba etlere yapılır. Kılıarı temizlenmiş ve antiseptik ile temizlenmiş bölgeye iğne ile dik girilerek ekim yapılır.



# Intravenöz (Damar İçi İnokülasyon)

- Tavşanda kulak venine, farede kuyruk venine, tavuklarda kanat altı venine enjektörle girilerek ekim yapılır. Kanın akış yönünde iğne ile girilir ve inokulüm enjekte edilir.



## İntraperitoneal (Periton İçi İnokülasyon)

- Hayvanın baş kısmı aşağı doğru tutularak, karnın alt bölgesinde , orta çizginin sağ veya solundan enjektörle dik olarak girilerek ekim yapılır.
- Enjektörle önce deri altına girilir, sonra iğne biraz deri altında ilerletildikten sonra, dik olarak batırmak suretiyle karın kasları delinerek peritona ulaşılır ve enjektör içindeki materyal enjekte edilir.

## İntrakardial (Kalp İçi İnokülasyon)

- Hayvan sağ tarafında yatırılır ve kalp atışlarının en çok hissedildiği yer tespit edilir. Keskin uçlu iğne ile dikkatlice kalbe girilir.

## İntraoküler (Göz İçi İnokülasyon)

- Steril bir iğne ile ilk önce kornea üzerine çizgiler çizilir. Bu şekilde hassaslaştırılan kornea üzerine pastör pipeti ya da damlalıkla inoküle edilecek madde damlatılarak ekim yapılır.

## Intrakranial (Kafa İçi İnokülasyon)

- Genellikle kafa kemiğinin sertleşmemiş olması nedeniyle yavru hayvanlar tercih edilir. Eğer kafa kemiği sert olan hayvanlara inokülasyon yapılacak olursa; ilk önce ince uçlu matkapla kafada iğnenin geçebileceği kalınlıkta bir delik açılır. Bu delikten enjektör iğnesi ile girilerek enjeksiyon yapılır.

## Intranazal (Burun İçi İnokülasyon)

- Hayvanın başı yukarı doğru tutularak pastör pipeti, damlalık ya da enjektöre çekilmiş inokulum, burun içine damlatılarak ekim yapılır.



- **Per rectum (Rektal yolla yapılan inokülasyon):** Rektal yolla preparatların verilmesiyle yapılan inokülasyondur.
- **İnhalasyon (Solunum yoluyla yapılan inokülasyon):** İnoküle edilecek materyal hayvanın bulunduğu yerde püskürtülür ve solunum sırasında materyali alması sağlanır.
- **İntratrakeal (Nefes borusu içine inokülasyon):** İki kıkırdak arasından girilerek materyal enjekte edilir.
- **Peros (Ağız yoluyla inokülasyon):** İnoküle edilecek materyal su içine karıştırılarak içirilir. Uygun besin içine konularak yedirilir ya da ince bir lastik sonda ile mideye girilerek doğrudan doğruya mideye verilir.

- **Intratorasik** (Göğüs içi inokülasyon)
- **Intrapulmoner** (Akciğere yapılan inokülasyon)
- **Intramammar** (Meme içine yapılan inokülasyon)
- **Intratestiküler** (Testis içi inokülasyon)

# BOYALAR

- Mikroorganizmaların mikroskopta incelenmesi ile onların; büyüklüğü, şekli, sporu, kapsülü, kirpiği, duruş biçimleri, hücre içi granülleri ve boyalara karşı durumları hakkında bilgiler edinilir.
- Mikroorganizmalardaki biyolojik moleküller görünen ışığı iyi absorbe etmezler. Bu nedenle mikroorganizmaların boyanarak incelenmesi gerekir. Boya molekülleri ışığı farklı şekilde absorbe ederek mikroorganizmaların görünmesini sağlar.

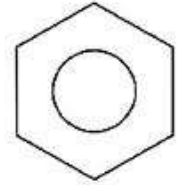
# BOYALAR

Tabii ya da doğal boyalar

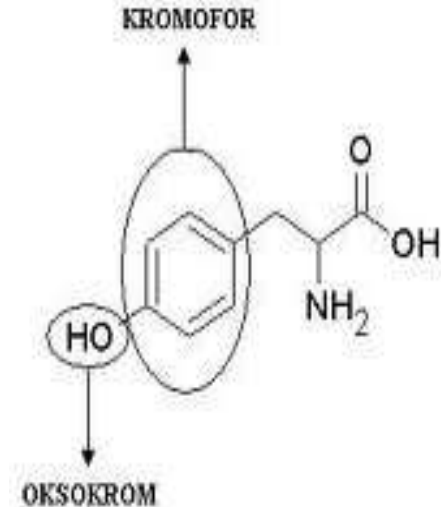
Sentetik ya da suni boyalar

- Antonie van Leeuwenhoek – Pancar suyu- 1719
- Bitki köklerinden elde edilen doğal boyalar günümüzde **hematoksilen** dışında kullanılmamaktadır.
- Hematoksilen, Yunanca Haimato (kan) ve Xylon(odun) kelimelerinden köken alır. Meksika'da yetişen *Haematoxylon campechianum L.* isimli ağacın kabuklarından elde edilir.
- Genel doku boyası olarak; nukleus ve sitoplazma ayırımında kullanılan, histolojik boyalar içinde en geniş kullanımı olan, dokunun farklı bölgelerini farklı olarak boyayan **Hematoksilen-Eosin** boyasıdır.

- Sentetik boyalar önceden anilinden elde edilirken bugün maden kömürünün distilasyonundan elde edilip, benzen türevleridir.
- Boyaların çoğu organik bileşiklerden olup **benzen** halkası ile birleşmiş **kromofor** ve **oksokrom** gruplarını içerirler.
- Kromofor grubu ihtiva eden benzen halkasına **kromogen** halkası denir. Kromogen grubu, bileşiğe boya özelliği verir.
- Ancak, bu bileşik renkli olmasına karşın henüz boya karakterinde değildir. Çünkü, bu boyanın bakteri, doku veya lifle bağlanma yeteneği yoktur. Oluşan renk mekanik yoldan kolayca giderilebilir.



Benzene  
C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>



- Gerçek boya haline geçebilmesi için kromofor grubu yanı sıra, diğer grupları da (**oksokrom**) ihtiva etmesi gereklidir. Boyanın dokulara bağlanmasını oksokrom grup yapar.
- Boyalar genellikle iyonlardan bir tanesinin renkli olduğu tuzlardır. Renk pozitif iyon üzerinde ise bazik, negatif iyon üzerindeyse asidik olarak adlandırılırlar. Oksokrom grup, boyanın bazik (katyonik) veya asidik (anyonik) yapısını belirler.

# Boya Molekülünün Elektrik Yüküne Göre Boyalar;

- **Asidik Boyalar**

Renkli madde (kromofor grup negatif elektriksel yüke sahip) asit kökte, renksiz madde baz kökte bulunur.

Örn; asit fuksin, asit pikrik, eosin, nigrosin, kongo kırmızısı vs.

- **Bazik Boyalar**

Renkli madde (kromofor grup pozitif elektriksel yüke sahip) baz kökte, renksiz madde asit kökte bulunur.

Örn; metilen mavisi, kristal viyole, bazik fuksin, malaşit yeşili vs.

- **Nötr Boyalar**

Asit ve baz boyaların uygun oranda karışımlarından elde edilir.

Örn; Giemsa, Wright, Leishman vs.

# BOYAMA YÖNTEMLERİ

1. **Basit Boyama:** Metilen mavisi, safranin, sulu fuksin vb. bazik boyalardan bir tanesi kısa süreli kullanılır.

Amaç: Boyanan mikroorganizmaların morfolojisi hakkında (şekil, büyüklük, diziliş) bilgi edinmek.

2. **Bileşik Boyama:** İki veya daha fazla boyanın, çözücülerin, mordanların belirli bir süre ve sırayla kullanılması işlemidir. (Diferansiyel ve strüktürel boyama)

Amaç: Çeşitli bakteri türleri arasındaki yapı farklılıklarının ve spor, kapsül, kirpik gibi özel yapılarının belirlenmesi.



## \*Mordan madde

Boya ile bakteri çeperinde suda ve alkolde erimeyen bileşikler oluşturması ile boyanın bakteri çeperine fikse olmasını sağlayan maddelerdir. Boyamadan önce, sonra veya beraber kullanılabilir.

Boyayı mikroorganizma hücresi üzerinde tutmak amacıyla kullanılan bileşiktir. Klasik olarak tanımlanan mordantlar genellikle metal iyonlarıdır.

Örn;  $\text{NH}_4$ , okzalat, KOH, tannik, okzalik, pikrik, fenik asitler, Al, Fe, Zn, Cu tuzları..

**3. Panoptik Boyama:** Giemza, Wright, May Grünwald gibi nötral boyaların kullanıldığı yöntem.

Amaç: Bakterilerin dışındaki mikroorganizmaların (protozoon) doku ve hücrelerinin, çekirdek ve sitoplazmalarının farklı renklerde görülerek tanınması.

**4. Negatif Boyama:** Zemin boyaması kontrast teşkili ile yapılan boyamadır. Bakteri süspansiyonu içine çini mürekkebi veya nigrosin konularak lama yayılır, bakterinin bulunduğu zemini boyar, boyaların bakteri hücrelerine affinitesi yoktur.

Amaç: Mikroorganizmaların kapsüllerinin belirlenmesi.

**5. Canlı boyama:** Canlı hücrelerin boyanması için kullanılan yöntem.

Intra vital – Vücutta canlı boyama

Supra vital – Vücut dışında canlı boyama

**6. İmpregnasyon:** Mikroorganizmaların yüzeyine madeni tuz çözeltileri (ağır metaller) ile muamele sonucu boyanın çökmesi olayı.

Amaç: Doku ve spiroketlerin boyanması.

# Preparat Hazırlama

Eter-alkol karışımında bekletilmiş ve silinmiş lamlar kullanılır.

- 1.Lam çizilir
- 2.Materyal konur ve kurutulur
- 3.Tespit edilir

**Tespit (Fiksasyon):** Hazırlanan preparattaki bakterilerin hücre yapılarını bozmadan öldürmek ve lama yapıştırmak, boyama işlemi sırasında lamdan uzaklaşmasını engellemek.

Hücre zarı ve duvarının geçirgenliğini artırarak kolay boyanmasını sağlamak

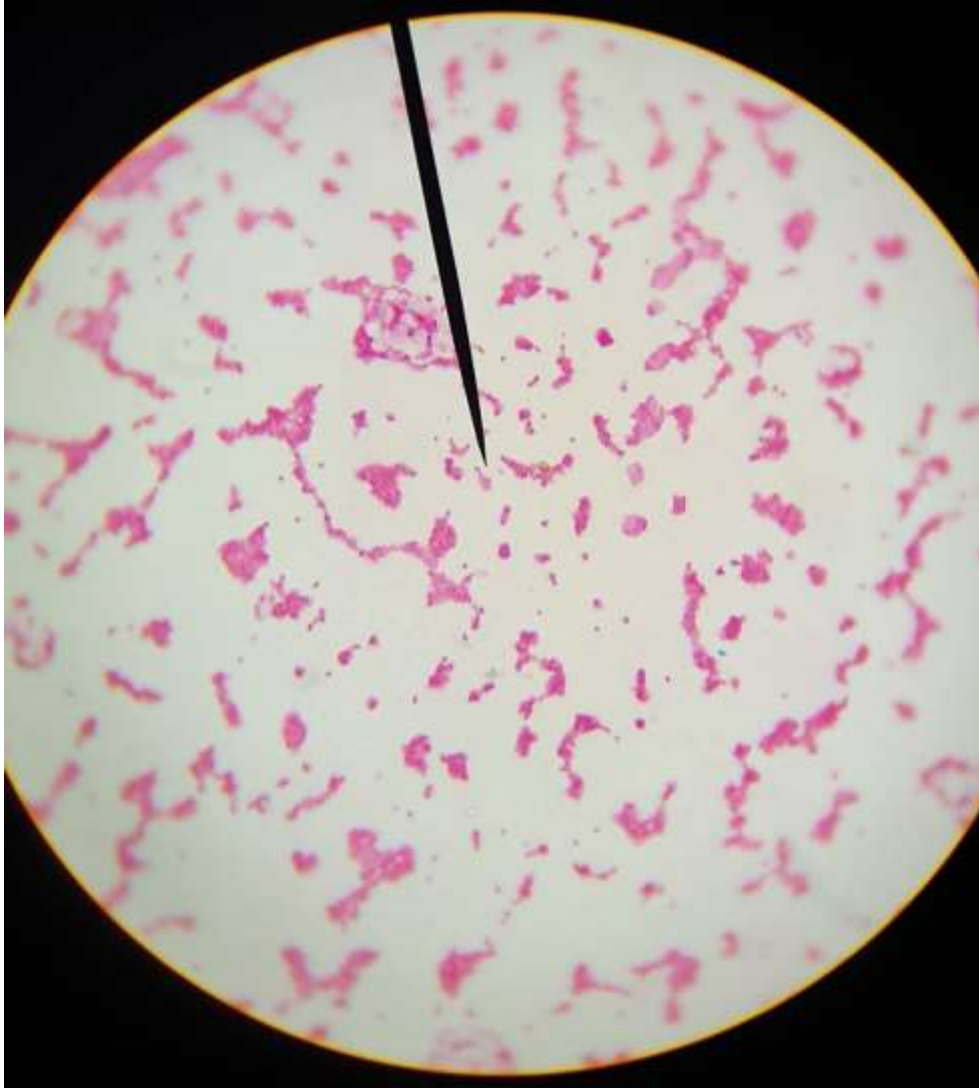
- a.Havada kurutarak 2-18sa havada bekletme
  - b.Alevde 45°C'lik açı ile bek alevine yalatma
  - c.**Kimyasal** maddelerle (metil alkol 3dk, %95 etil alkol 15-20dk, vb. organik çözücülerle)
- } **Fiziksel**

## BASİT BOYAMA

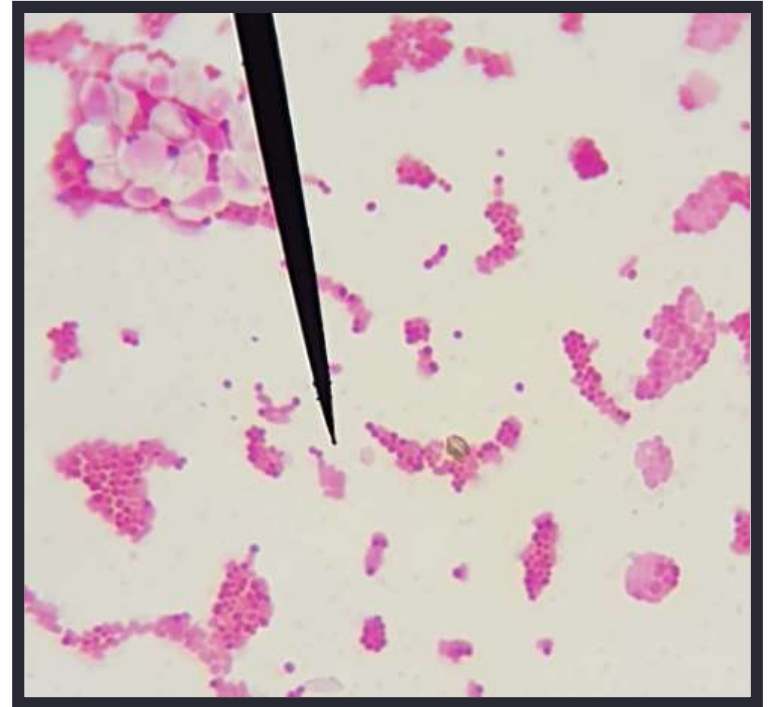
- Preparat alevde tesbit edilir
- Metilen mavisi veya sulu fuksin (1 dakika)
- Su ile yıkanır ve kurutulur
- İmmersiyon yağı dökülür ve 100X'lük objektifle incelenir



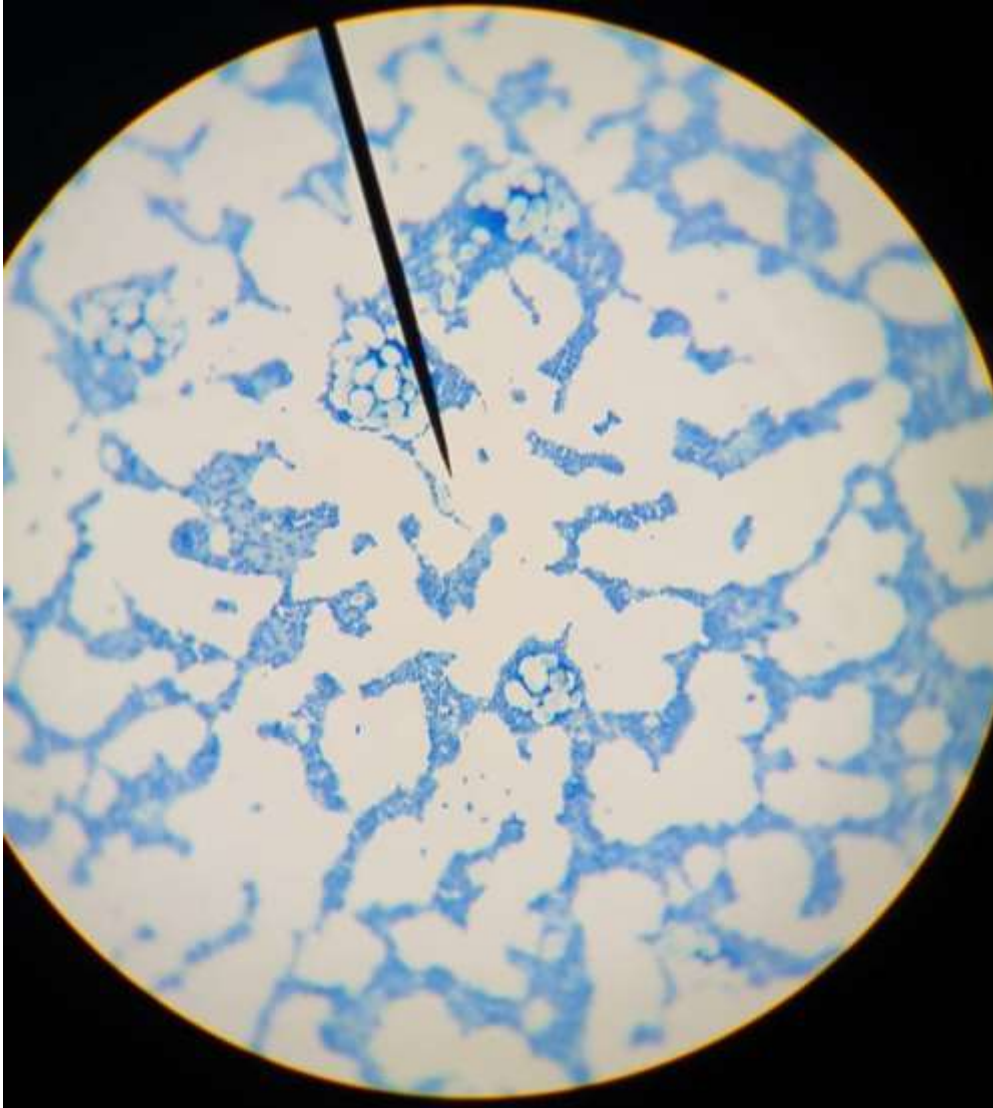
# Basit boyama Mikroskop Görüntüsü



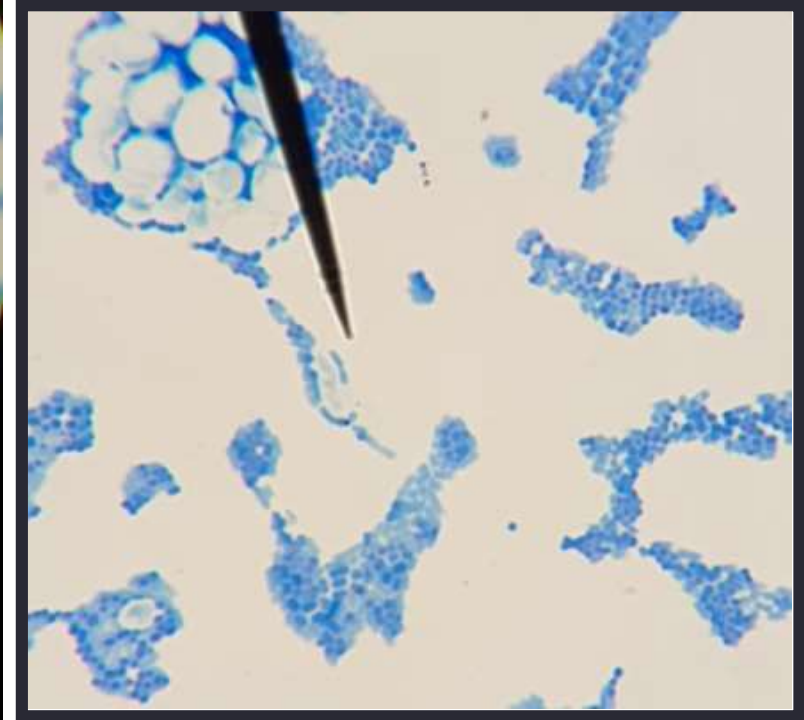
## Basit Boyama-Sulu Fuksin



# Basit boyama Mikroskop Görüntüsü



**Basit Boyama-Metilen mavisi**



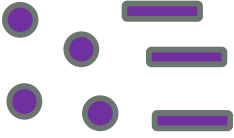
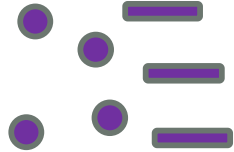
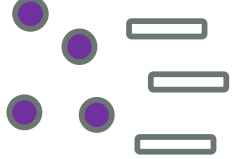
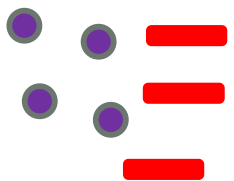


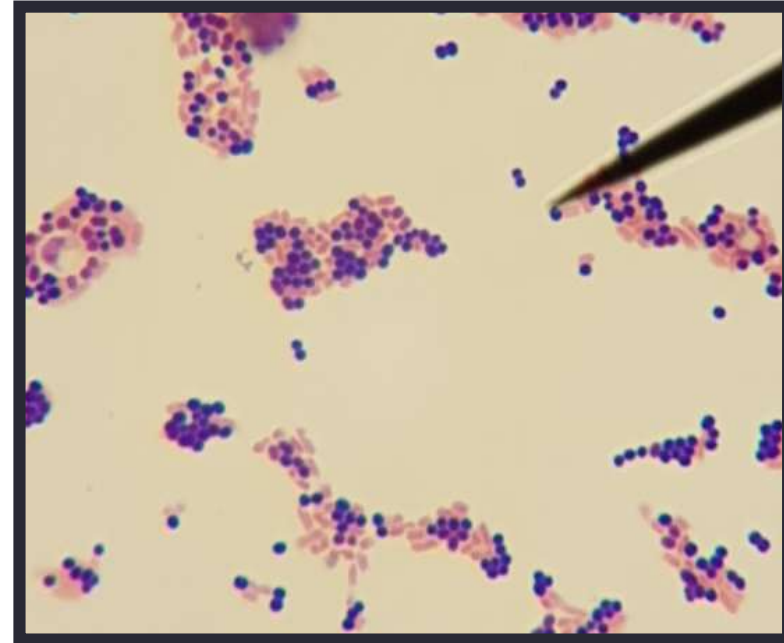
# GRAM BOYAMA

- Preparat alevde tesbit edilir
- Kristal viyole (3 dakika)
- Su ile yıkanır
- Lugol (2 dakika)
- Su ile yıkanır
- Alkol (30 saniye)
- Su ile yıkanır
- Safranin (1 dakika)
- Su ile yıkanır ve kurutulur
- İmmersiyon yağı dökülür ve 100X'lük objektifle incelenir.

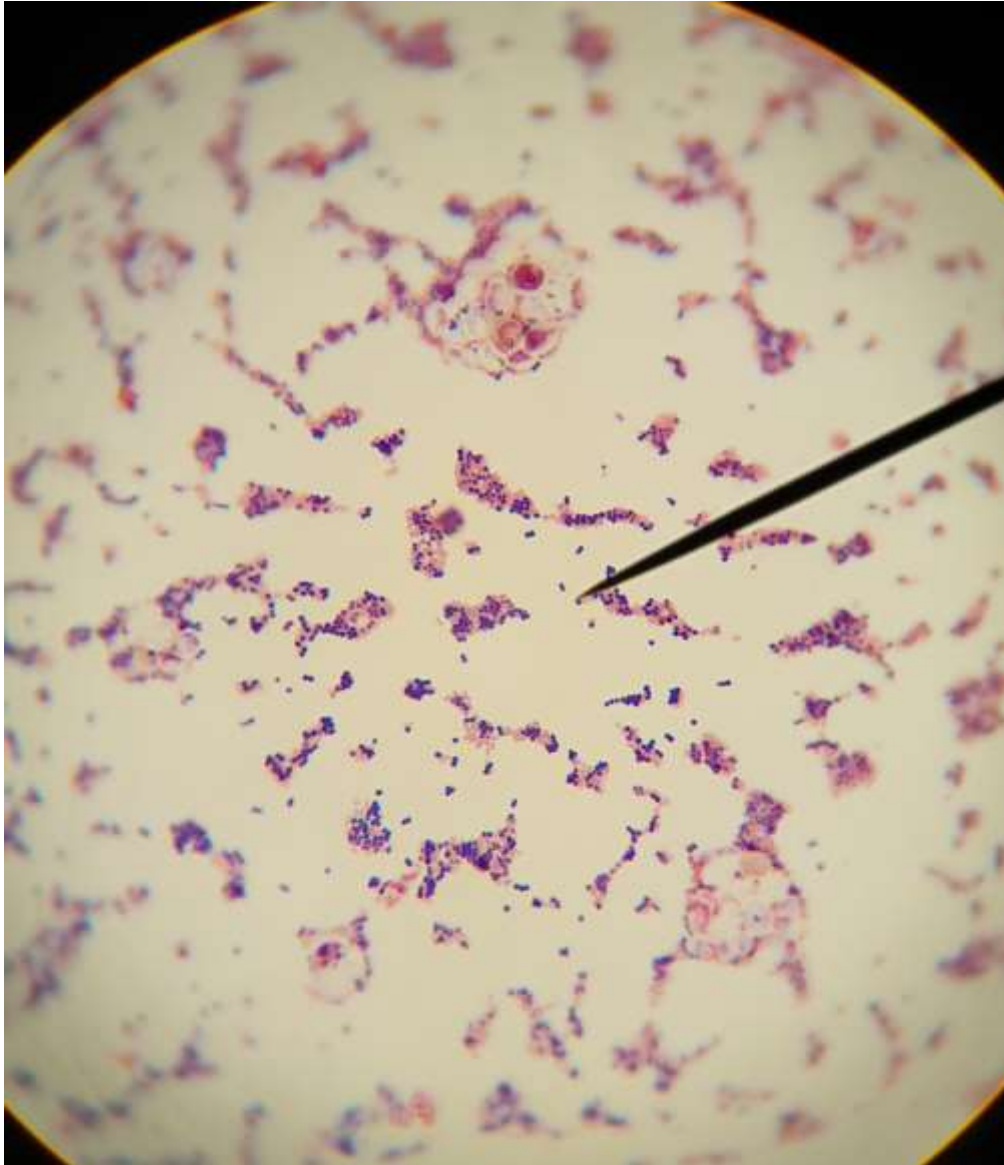




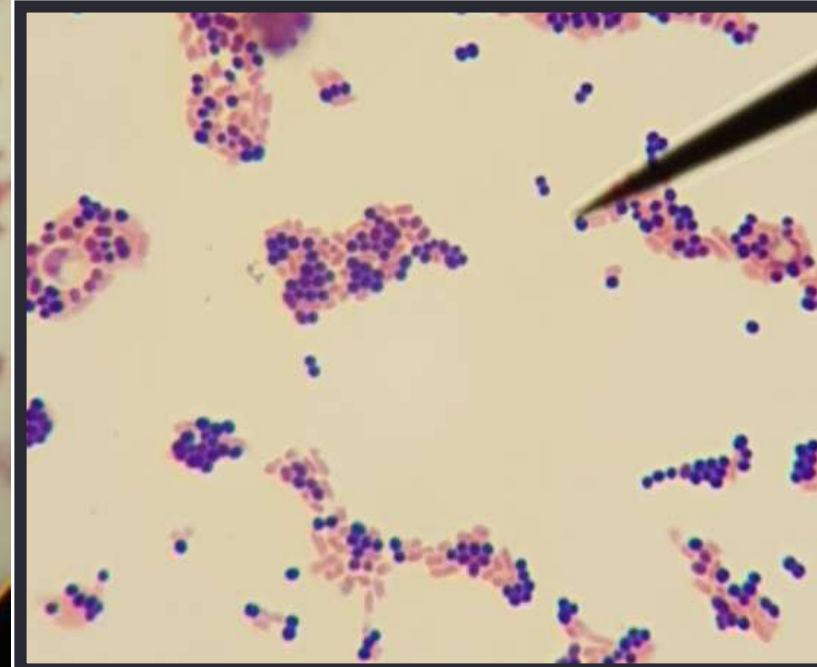
	<b>Gram boyama basamakları</b>	<b>Bakteri hücreleri</b>
	<b>1. Kristal viyole</b> (ilk boya)	Hücreler mora boyanır
	<b>2. Lugol</b> (Mordan madde)	Hücreler hala mordur
	<b>3. Alkol</b> (Dekolarizasyon)	Gram(+) bakteriler mor renkli iken; Gram (-) bakteriler renksidir
	<b>4. Safranin</b> (ikinci boya)	Gram(+) bakteriler mor renkli iken; Gram (-) bakteriler kırmızıya koyanır



# Gram boyama Mikroskop Görüntüsü



**Gram Boyama**



## Kaynaklar

- Mikrobiyoloji Pratik Kitabı, Ed. Prof.Dr. Tevfik Cengiz,Ankara: Antıp, 2001.
- Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu, Doç.Dr. Ömer Poyraz, TC Cumhuriyet Üni.Yayınları, 1998.