

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ UYGULAMALARI



Prof. Dr. Ufuk Abbasoğlu

2025

ÖNSÖZ

Mikrobiyoloji, uygulama alanlarının çeşitliliğiyle, sürekli gelişen bir bilim dalıdır. Tıbbi Mikrobiyoloji, Gıda Mikrobiyolojisi, Endüstriyel Mikrobiyoloji, Ekolojik Mikrobiyoloji, Farmasötik Mikrobiyoloji Dallarını ile ilgili çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir. Son yıllarda Uzay Mikrobiyolojisi ile ilgili araştırmalara da başlanmıştır.

Mikrobiyoloji, sınırları çok geniş olan bir bilim alanıdır. Tüm bu alanlardaki bilgiler; ortak, değişmez, klasik, benzer bilgilerdir. Eczacılık Fakültesi Öğrencilerine; eczacılar için bilinmesinde yarar gördüğüm gerekli ve yeterli konuları, mikrobiyoloji uygulamalarındaki temel bilgi ve kavramları, akılda kalıcı, ilgi çekici, anlaşılır şekilde sunmaya çalıştım.

Bakteriyoloji ağırlıklı uygulamalarımızın yer aldığı bu eser, aynı zamanda laboratuvar defteri olarak da kullanılabilir. Öğrencilere kolaylıklar getirmesini dilerim.

Prof. Dr.Ufuk ABBASOĞLU

ANKARA, 2025

TABLolar DİZİNİ vii

ÖNSÖZ	i
1. CANLILAR ALEMİ	1
2. MİKROBİYOLOJİ NEDİR	3
2.1. MİKROBİYOLOJİ ALANLARI NELERDİR?	3
3. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARI NE İŞE YARAR	4
4. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARINDA NASIL ÇALIŞILIR?	5
5. STERİLİZASYON	6
5.1. STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ	6
5.1.1. Sıcaklıkla Sterilizasyon	7
5.2. UYGULAMA 1: STERİLİZASYON UYGULAMALARI	10
6. DEZENFEKTANLAR	12
6.1. DEZENFEKTAN SEÇİM KRİTERLERİ	13
6.2. DEZENFEKTAN TEST YÖNTEMLERİ	13
6.3. UYGULAMA 2 : DEZENFEKTAN AKTİVİTESİNİ ÖLÇMEK	14
7. MİKROORGANİZMALARINI NASIL ÜRETİRİZ?	16
7.1. BAKTERİLERİN ÜRETİLMESİ	16
7.1.1. Besiyerlerinin Fiziksel Yapılarına Göre Sınıflandırılması	16
7.2. UYGULAMA 3 : BESİYERİ HAZIRLAMA	18
8. BAKTERİLERİ GÖREBİLMEK İÇİN HANGİ İŞLEMLER YAPILIR?	20
8.1. BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE KÜLTÜR YÖNTEMLERİ	20
8.1.1. Ekim Yöntemleri	20
8.2. UYGULAMA 4: İZOLASYON, TEK KOLONİ DÜŞÜRME	23
9. BAKTERİ KOLONİLERİ	25
9.1. UYGULAMA 5 : BAKTERİ KOLONİLERİNİN İNCELENMESİ	28
10. MİKROSKOBİK GÖZLEM VE BOYAMA TEKNİKLERİ	30
10.1. BAKTERİLERİ BOYAMA	30
10.2. UYGULAMA 6 : BASİT BOYAMA YÖNTEMİ	32
11. GRAM BOYAMA YÖNTEMİ	34
11.1. UYGULAMA 7 : GRAM BOYAMA YÖNTEMİ	35
12. ASİDE DİRENÇLİ BAKTERİLER	37
12.1. UYGULAMA 8 : EHRlich ZIEHL NEELSEN BOYAMA YÖNTEMİ	39
13. BAKTERİ SPORLARI	41
13.1. RAKETTA BOYANMA YÖNTEMİ	41
13.2. UYGULAMA 9 : RAKETTA BOYAMA YÖNTEMİ	43
14. MİKROORGANİZMALARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI	45

14.1. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ	45
14.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST YÖNTEMLERİ	45
14.2.1. Katı Besiyerlerinde Difüzyon Yöntemleri	46
14.2.2. Antibiyotik Disk Hazırlığı (Uygulama için)	47
14.2.3. Antibiyotik Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	47
14.2.4. Sıvı Besiyerleri Dilüsyon Yöntemleri	49
14.2.5. Agar Dilüsyon	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
14.3. UYGULAMA 10 : DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ	50
15.ANTİMİKROBİYAL MADDENİN MİNİMAL İNHİBİSYON KONSANTRASYONU (MİK)	53
15.1. MAKRODİLÜSYON	55
15.2. MİKRODİLÜSYON	55
15.3. UYGULAMA 11 : MİK BELİRLENMESİ	57
16.FARMASÖTİK FORMLARIN KONTAMİNASYONU	59
16.1. UYGULAMA 12 : FARMASÖTİK FORMLARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ	61
17.EKLENTİ I- Laboratuvarlarda Çalışma Güvenliği	63
18.EKLENTİ II- MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KULLANILAN MALZEME VE CİHAZLAR	65
19.EKLENTİ III	68
19.1. IŞIK MİKROSKOBU	68
19.2. DİĞER MİKROSKOPLAR	69
19.2.1. Floresan Mikroskopu	69
19.2.2. Elektron Mikroskopu	70
19.2.3. Karanlık Saha Mikroskopu	70
19.2.4. Faz Kontrast Mikroskopu	70
20.KAYNAKLAR.....	71
21.DİZİN.....	75
A	75
B	75
C	75
Ç	75
D	75
E	75
F	76
G	76
H	76
I	76
İ	76

K	76
L	76
M	76
N	77
O	77
P	77
R	77
S	77
T	77
U	77
Z	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Filogenetik ağaç ¹²	2
Şekil 1.2. Bakterilerin şekillerine göre klasifikasyonu ¹³	2
Şekil 5.1 Otoklav	7
Şekil 5.2 Koch kazanı	7
Şekil 5.3 Süzme ile sterilizasyon	8
Şekil 5.4 UV ile sterilizasyon	9
Şekil 7.1 Mikrobiyolojide katı besiyerinin hazırlanışının şematik gösterimi ^{23,24}	17
Şekil 8.1. Bek alevi, tel öze ve ekim öncesi sonrası özenin sterilizasyonu.....	20
Şekil 8.2. Yatık besiyeri yüzeyinde ekim	21
Şekil 8.3. Katı besiyeri yüzeyine seyrelterek ekim yöntemi	21
Şekil 8.4. Katı besiyerine seyreltilerek ekim: (A) Ekim yöntemi, (B) Gözlenen üreme, (C) Tek koloniler.	22
Şekil 8.5. Katı besiyeri yüzeyine yaygın ekim yöntemi	22
Şekil 8.6. Membran filtrasyon yöntemiyle mikrobiyolojik analiz adımları.....	22
Şekil 9.1. Staphylococcus aureus kolonileri.....	25
Şekil 9.2. Kanlı agarda alfa ve gama hemoliz gösteren bakteri kolonileri	25
Şekil 9.3. Pseudomonas aeruginosa	25
Şekil 9.4. E.coli, kanlı agar ³³	26
Şekil 9.5. Pseudomonas aeruginosa, kanlı agar ³⁴	26
Şekil 9.6. Pseudomonas aeruginosa, tripticase soy agar ³⁵	27
Şekil 9.7. Mikrobiyal kolonilerde en bilinen morfolojik görünüm tipleri ³⁶	27
Şekil 10.1. Asit-fast boyama adımlarını gösteren şematik diyagram. ³⁷	31
Şekil 10.2. Kombine boyama yöntemleri ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin morfolojik farklarını gösteren şekil	31
Şekil 11.1. Gram boyama ile bakteri morfolojisi ^{37,38} ; (A) Karışık kültür (B) Brucella spp. mikroskopik görüntüsü. (kamu malı).	34
Şekil 12.1. Asit dirençli bakterilerin boyama örnekleri.....	38
Şekil 13.1. Sporların hücre içi konumuna göre isimlendirilmesi ⁴²	41
Şekil 13.2. Bacillus subtilis spor yapıları (CC BY-SA 3.0). ⁴³	42
Şekil 13.3. Endospor boyama ile görselleştirilmiş Bacillus subtilis hücreleri.....	42
Şekil 13.4. Endospor boyama işleminin şematik gösterimi.	43
Şekil 14.1. Kuyucuk difüzyon yöntemi ⁴⁴	46
Şekil 14.2. Oluk yöntemi.....	46
Şekil 14.3. Disk Difüzyon yöntemi ⁴⁵	46
Şekil 14.4. Antibiyotik diskleri ⁴⁸	47
Şekil 14.5. Antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için yapılan test ⁴⁹	47
Şekil 14.6. Agar disk difüzyon yönteminin sonuçlarına daha yakından bakış ⁵⁰	48
Şekil 14.7. Agar plak üzerinde antibiyotik disklerinin yerleşimi ve inhibisyon bölgeleri ile duyarlılık testi ⁵¹	48
Şekil 14.8. Makrodilüsyon yöntemi ⁵²	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 15.1. Sıvı dilüsyon yöntemi ⁵³	53
Şekil 15.2. Makrodilüsyon yöntemi ile MİK tayini ⁵⁴	55
Şekil 15.3. Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan çok kanallı pipet ⁵⁵ ve 96 kuyulu plak ⁵⁶	55
Şekil 15.4. Mikrodilüsyon yöntemi şematik görünüm ⁵⁷	56
Şekil 15.5. Mikrodilüsyon yöntemi ⁵⁸	56

Şekil 16.1. Beş adımda bakterilerin seri seyreltilmesi ⁵⁹	60
Şekil 16.2. Seri seyreltme yöntemi ⁶⁰	60
Şekil 16.3. Bakterilerin seri seyreltilmesi ve petriye ekimi ⁶¹	60
Şekil 16.4. Dilüsyon ⁶²	61
Şekil 18.1. Laboratuvarda kullanılan cam aletler	65
Şekil 18.2. Ekim işlemlerinde kullanılan gereçler	66
Şekil 18.3. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan cihazlar	67
Şekil 19.1. Işık Mikroskopi	68

TABLolar DİZİNİ

Tablo 5.1. Sterilizasyon yöntemleri	6
Tablo 6.1 Dezenfektanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılışı	12
Tablo 7.1 Canlı ve cansız besiyerleri	16
Tablo 9.1 Bakterilerde görülen 4 farklı koloni tipi	25
Tablo 10.1 Işık ve elektron mikroskopunun gözlem aralıklarını gösteren diyagram	30
Tablo 14.1 Antibiyotik duyarlılık testleri	45
Tablo 15.1. Antimikrobiyal ajanlar ve çözücülerine örnekler	53
Tablo 16.1. Mikrobiyolojik Limitler	58
Tablo 17.1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından laboratuvar çalışmaları için mikroorganizmalar dört risk grubuna ayrılmıştır	63

1. CANLILAR ALEMİ

Mikroorganizmaların dünya üzerindeki varlığı, milyarlarca yıl öncesine dayanmaktadır. En eski yaşam formlarının, Dünya'nın oluşumundan kısa bir süre sonra, yaklaşık 4.5 milyar yıl önce ortaya çıktığı düşünülmektedir¹. Bu erken döneme ait en eski mikrofossil bulguları, Avustralya'nın Apex Chert formasyonunda bulunan ve 3.47 milyar yıl öncesine tarihlenen mikroorganizma izleridir².

Prokaryotlar, gezegenimizdeki biyokütlenin önemli bir bölümünü oluşturur. Yapılan hesaplamalara göre, yalnızca okyanuslardaki prokaryot sayısı yaklaşık 10^{29} hücre civarındadır. Bu rakam, görünür evrendeki yıldız sayısından yaklaşık 100 milyon kat daha fazladır^{3,4}. Prokaryotik hücreler, amitoz yoluyla hızlı çoğalma yeteneğine sahiptir. Bu sayede kısa sürede milyonlarca yavru hücre meydana getirirler. Oluşturdukları koloni yapılarının çoğu, **biyofilm** olarak adlandırılan canlı tabakaları hâlinde sert yüzeylere tutunur. Bu biyofilmler, canlılık tarihine ait en eski yapılardan olan **stromatolitlerin** oluşumunda da önemli rol oynamıştır⁵.

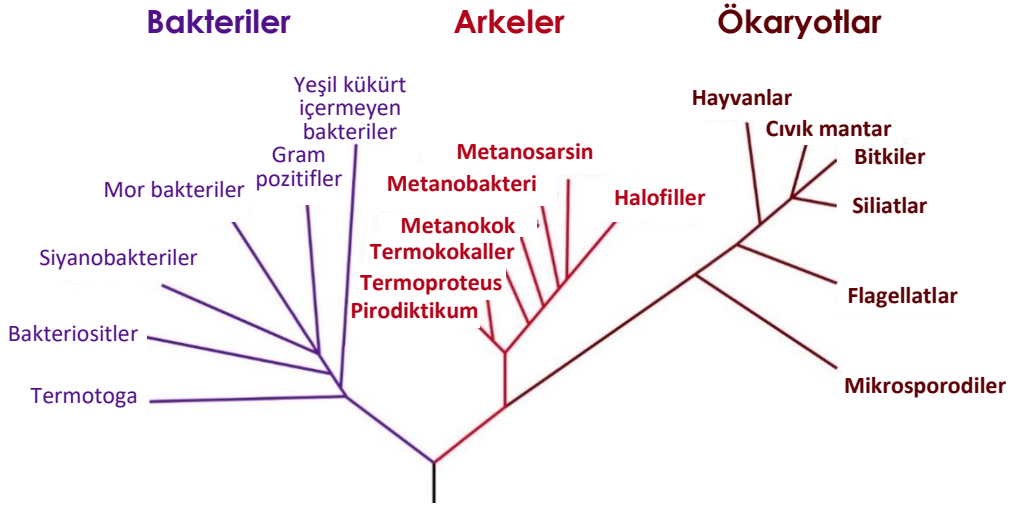
Mikroorganizmalarla ilgili bilimsel düşünceler, ilk olarak Antik Yunan'da M.Ö. 4. yüzyılda Aristoteles ile şekillenmeye başlamıştır. Ancak mikroorganizmaların mikroskopik düzeyde ilk gözlemi, 1676 yılında Antonie van Leeuwenhoek tarafından geliştirilmiş olan basit bir mikroskop aracılığıyla gerçekleştirilmiştir⁶.

Günümüzde mikroorganizmaların ekstrem koşullarda da yaşayabildiği, uzay araştırmalarıyla desteklenmiştir. 2020 yılında Uluslararası Uzay İstasyonu'nda yürütülen bir çalışmada, *Bacillus pumilus* türü bakterilerin yaklaşık üç yıl boyunca vakum, radyasyon ve sıcaklık değişimlerine rağmen hayatta kalabildiği gözlemlenmiştir⁷. NASA'da çalışan bilim insanı Kasthuri Venkateswaran tarafından yürütülen bir başka çalışmada ise Mars'a gönderilmek üzere sterilize edilen uzay aracı yüzeyinde yine aynı türden bakterilerin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, mikroorganizmaların kozmik koşullarda bile yaşamlarını sürdürebilme kapasitelerini ortaya koymaktadır⁸.

Mikroorganizmalar genellikle tek hücreli olup, çok geniş bir çeşitliliğe sahiptirler. Bu organizmalar bakteriler, viruslar, mantarlar, parazitler, riketsiyalar, klamidiyalar ve arkeler olmak üzere çeşitli gruplara ayrılır. Bakteriler prokaryotik hücre yapısına sahipken; mantarlar ökaryotik yapıda olup tek hücreli (mayalar) ya da çok hücreli (küfler) olabilirler. Viruslar ise yalnızca canlı bir konak hücre içinde çoğalabilen, DNA ya da RNA taşıyan protein yapıları kapsitlerle çevrili enfeksiyöz ajanlardır. Parazitler, protozoonlar, helmintler (solucanlar) ve ektoparazitleri (bit, pire) içerir. Arkeler ise ekstrem sıcaklık, asidite ya da tuzluluk gibi olağanüstü çevresel koşullarda yaşayabilen prokaryotik mikroorganizmalardır^{9,10}.

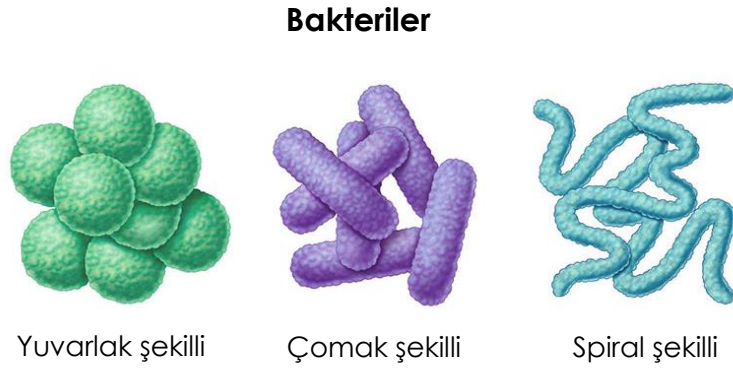
Bakteriler mikroskopik boyuttadır ve büyüklükleri genellikle 0.2 ile 3 mikrometre arasında değişir. En küçük bakteri türlerinden biri olan Mycoplasma, yaklaşık 125–250 nanometre çapındadır. Viruslar ise ışık mikroskobuyla görülemeyecek kadar küçüktür; çoğu ancak elektron mikroskobu ile gözlemlenebilir ve boyutları genellikle 20–300 nanometre arasında değişir¹¹. Viruslar, zorunlu hücre içi parazitidir.

Yaşamın Filogenetik Ağacı



Şekil 1.1. Filogenetik ağaç ¹²

Bakterilerin şekilleri morfolojik olarak sınıflandırıldığında; küresel (kok), çomak (basillus) ve spiral olmak üzere üç temel gruba ayrılırlar. Ayrıca bilimsel metinlerde mikroorganizma isimleri Latince yazım kurallarına uygun olarak yazılır. Bu yazımda önce cins (genus), sonra tür (species) adı belirtilir. Cins adı büyük harfle, tür adı ise küçük harfle başlar ve her ikisi de *italik* yazılır. Örneğin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*. Bu tür isimleri tekrarlandığında sırasıyla *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* şeklinde kısaltılabilir ¹.



Şekil 1.2. Bakterilerin şekillerine göre klasifikasyonu ¹³

2. MİKROBİYOLOJİ NEDİR

Mikrobiyoloji, bakteri, virus, mantar ve parazit gibi mikroorganizmaların yapısını, işlevini, çevreyle etkileşimlerini ve insan sağlığına etkilerini inceleyen bilim dalıdır. Mikrobiyoloji hem temel bilim hem de uygulamalı bilim olarak sağlık, tarım, gıda güvenliği, ilaç geliştirme ve çevre koruma gibi birçok alanda araştırmalar sunar ¹⁴.

2.1. MİKROBİYOLOJİ ALANLARI NELERDİR?

Gıda Mikrobiyolojisi: Yoğurt, kefir, kıyma gibi süt ürünleri, tüm alkollü içecekler, sirke, boza, uzak doğu kökenli bazı soslar, mayalı ekmek gibi çeşitli gıdalar mikroorganizmalar kullanılarak elde edilir. Bu alan, gıda üretiminde kullanılan mikroorganizmaların işlevleri kadar, gıda kaynaklı patojenlerin kontrolünü de içerir.

Endüstriyel Mikrobiyoloji: Alkol, aseton, bütanol gibi ürünlerin elde edilmesi, biyolojik arıtma tesislerinin çalışması, biyolojik gübre ve biyoinsektisit üretimi bu alanda yer alır.

Ekolojik Mikrobiyoloji: Doğadaki karbon (C), azot (N), fosfor (P) ve kükürt (S) gibi maddelerin döngülerinde mikroorganizmalar önemli rol oynar. Ayrıca maden yataklarının mikrobiyal yöntemlerle ıslahı da bu alanın uygulamaları arasındadır.

Tıbbi Mikrobiyoloji: Enfeksiyon hastalıklarının tanısında, genetik çalışmalarda mikroorganizmalar kullanılır. Laboratuvarlarda kültür çalışmaları, moleküler testler ve serolojik yöntemlerle yapılan enfeksiyon tanıları ve ardından uygulanan tedaviler çok önemlidir. Bulaşıcı hastalıkların kontrolü, toplum sağlığını korumaya yöneliktir.

Mikroorganizmaların patojeniteleri, immun sistemle ilişkileri, antibiyotik dirençlerini araştıran bir alandır. Aşıların geliştirilmesi, enfeksiyonlarla mücadele stratejileri bilimsel çalışma alanlarıdır.

Farmasötik Mikrobiyoloji: Yeni sentezlenen ya da izole edilen maddelerin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiparaziter aktivite testleri ve bu maddelerin duyarlılık testlerinin çalışıldığı sahadır. Doku ve serumlarda, antibiyotik miktar tayini yanında gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik analiz çalışmaları yapılır ^{14,15}.

3. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARI NE İŞE YARAR

Mikroorganizmalarla etkili ve güvenli biçimde çalışabilmek için yalnızca teorik bilgi yeterli değildir; aynı zamanda uygulamalı tecrübe ve uygun donanıma sahip bir laboratuvar ortamı da gereklidir. Mikrobiyolojik testlerin güvenilir sonuçlar verebilmesi, steril çalışma koşullarının sağlanmasına bağlıdır. Bu bağlamda çalışan personelin mikrobiyolojiye özgü laboratuvar kurallarına hakim olması şarttır ^{14,16}.

Laboratuvarlar; tanı koyma, tedavi planlama, epidemiyolojik izlem, mikrobiyolojik kontroller ve araştırma geliştirme süreçlerinde kritik rol oynar. Bu ortamlarda yapılan kültür testleri, antibiyogramlar, moleküler analizler ve serolojik testler sağlık sistemine doğrudan katkı sağlar ¹⁵⁻¹⁷.

Sterilizasyon ve dezenfeksiyon uygulamaları da mikrobiyoloji laboratuvarlarının temel bileşenlerindedir. Özellikle patojen mikroorganizmalarla çalışırken enfeksiyon riski nedeniyle biyogüvenlik standartlarının titizlikle uygulanması zorunludur. Bu nedenle laboratuvar koşulları, ulusal ve uluslararası düzenlemelere göre resmi kurumlar tarafından denetlenmekte ve sınıflandırılmaktadır ¹⁸.

4. MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARINDA NASIL ÇALIŞILIR?

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında mikroorganizmalarla çalışıldığından, çalışanın hem kendisini hem de çevreyi koruması açısından önemli kurallar oluşturulmuştur. Uluslararası kuruluşlar, laboratuvarlardaki çalışma koşullarını belirlemiş, belirli zamanlarda denetim ve kalibrasyonlarını da düzenlemiştir.

EKLENTİ I de sunulan kurallara uyulması önemle vurgulanmaktadır.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarının vazgeçilmez kuralı sterilizasyona önem vermektir. Ortamın, kullanılan malzemelerin uygun yöntemlerle steril edilmesi ve steriliteyi koruyacak şekilde stoklanmaları gerekir.

Konuyla ilgili şu sorular ilk akla gelenlerdir.

- Laboratuvarda her şey steril olmak zorunda mıdır?
- Materyalleri steril etmek kolay mıdır?
- Steril malzemelerin sterilitesi nasıl bozulur?
- Sterilizasyon yöntemi, malzemelerin hangi özelliğine göre seçilir?
- Besiyerinin sterilitesinin bozulduğu nasıl anlaşılır?

5. STERİLİZASYON

Sterilizasyon, madde ve malzeme üzerinde bulunan sporlu ve sporsuz bakteriler, viruslar, mantarlar ve protozoaların tamamen yok edilmesi işlemidir. Sterilizasyon işlemi sonrasında, sterilitenin korunabilmesi ve malzemelerin uygun koşullarda saklanabilmesi için önceden özel pamuklama ve kağıtla paketlenme işlemleri uygulanır¹⁹.

Tüm cerrahi girişimlerde, vücut dokularına dışarıdan mikroorganizmaların ulaşmasını önlemek amacıyla mutlaka steril malzeme kullanılmalıdır. Ayrıca, girişimi gerçekleştiren hekim ve diğer sağlık personelinin de antisepsi kurallarını eksiksiz uygulamaları; operasyon sonrası gelişebilecek komplikasyonların önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir¹⁴.

Mikroorganizmaların sıcaklık, radyasyon ve kimyasal maddelere karşı direnç düzeyleri farklılık gösterir. Pek çok bakteri, maya, mantar ve virus grubu 60–70 °C'de canlılığını yitirirken; termofilik bakteriler, küçük viruslar, dirençli mantar sporları ve bazı bakteri sporları ancak 70–90 °C arasında inaktive olur. Özellikle sporlar 90–115 °C'de etkisiz hale gelir. Bu direnç düzeyleri ortamın nem oranına göre değişiklik gösterebilir. Sterilizasyonun etkinliğini test etmek amacıyla en dirençli hücrelerden olan *Bacillus stearothermophilus* ve *Clostridium tetani* sporları kullanılır. Bu sporlar 121 °C'de, 15 dakikalık otoklav uygulamasıyla etkinliklerini kaybeder¹⁵.

5.1. STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ

Sterilizasyon, fiziksel veya kimyasal yöntemlerle tüm mikroorganizmaların ve sporların yok edilmesini amaçlayan bir işlemdir. Bu işlemler farklı tekniklere göre sınıflandırılır.

Tablo 5.1. Sterilizasyon yöntemleri

STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ

Sıcaklıkla Sterilizasyon		Süzme ile Sterilizasyon	Radyasyonla Sterilizasyon
Kuru sıcak hava	Nemli sıcak hava		
Pastör Fırını	Otoklav	Diatom toprağı filtreler (Berkefeld)	Ultraviöle ışınları
Alevden geçirmek	Koch cihazı Tindalizasyon Pastörizasyon Koagulasyon UHTS	Porselen filtreler (Pasteur) Asbest süzgeçli filtreler (Seitz) Membran ve ultrafiltreler	X ışınları Beta ışınları Alfa ışınları Gama ışınları

5.1.1. Sıcaklıkla Sterilizasyon

5.1.1.1. Sıcaklıkla Sterilizasyon- Kuru sıcak hava

Pasteur Fırını: Cam alet ve gereçler, 160 °C'de 2 saat veya 180 °C'de 1 saat bekletilerek steril edilir. Malzemeler işlem öncesi uygun biçimde ambalajlanmalıdır.

Alevden geçirme: Bistüri, iğne, penset gibi küçük metal aletler doğrudan alevden birkaç kez geçirilerek sterilize edilir.

Kızgın Tel: Tel öze gibi gereçler kızıl dereceye kadar ısıtılarak sterilize edilir.

5.1.1.2. Sıcaklıkla Sterilizasyon- Nemli sıcak hava

Otoklav: En etkili sterilizasyon yöntemidir. Alet çalıştırdıktan sonra içindeki su ısınır ve kaynar. Açık musluktan önce hava sonra buharla karışık hava çıkmaya başlar. Yoğun su buharı çıkmaya başlayınca kadar musluk açık tutulur. Musluk kapatıldıktan sonra buhar çıkacak yer bulunmadığından aletin içinde basınç meydana gelir ve manometrede ibre yükselmeye başlar. Bu esnada termometrede sıcaklık yükselmeye başlar.

121 °C'de, 1 atmosfer basınçta 15–20 dakika boyunca çalıştırılır. Bu işlem yüksek basınçlı doymuş buharla gerçekleştirilir. İşlem sonunda, basınç sıfırlanmalı ve kapak kontrollü şekilde açılmalıdır.

Koch ve Arnold kazanları: Basıncsız sistemlerdir. 100 °C'de 1 saatlik işlem uygulanır.



Şekil 5.2 Koch kazanı



Şekil 5.1 Otoklav

Tindalizasyon: Sıcaklıkla bozulan sıvı maddeler, arka arkaya belli bir sıcaklıkta ısıtılarak birkaç günde sterilize edilir. Madde, yapısına bağlı olarak 56°C- 100°C arasında, 3 gün arka arkaya birer saat ısıtılır. İlk ısıtma sonunda bakterilerin ve vegetatif şekillerin çoğu ölür, sporlar canlı

kalır. Bir gün oda sıcaklığında bekletilmekle bu sporlar açılıp vejetatif hale gelir. İkinci gün bir defa yarım/bir saat ısıtma ile bunlar da ölür. Ayrıca bir gün daha bekletilip üçüncü bir ısıtma uygulandığında sterilizasyon tamamlanmış olur.

Pastörizasyon: Sterilizasyon değildir. Sporları öldürmez.

En yaygın uygulama sütün pastörizasyonudur.

- 62.8–65.6 °C’de 30 dakika veya 71.7 °C’de en az 15 saniye tutulur.
- hızla 10 °C’nin altına soğutulur.

Koagülasyon: Koagülatör ismi verilen cihazlarda besiyerlerinin 80°C -85°C’de tutulmasıdır ve iki gün boyunca, günde 1 saat 85 °C’de işlem tekrarlanır.

Ultra High Temperature Sterilization (UHTS): Süt 135 C–150 °C’de, 1-4 saniye tutulur. Daha sonra vakum altında soğutma kazanlarına püskürtülür.

Önce 75°C’ye getirilen süt süratle 22°C’ye soğutulur. Aseptik şartlarda steril kaplara doldurulur.

Kaynatma: Nemli sıcaklığın en kolay ve yaygın kullanım şekli olan kaynatma ile sterilizasyonda dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır:

- Kaynatma ile sterilizasyon için 100°C’de 30 dakika yeterlidir.
- Sterilize edilecek aletlerin tümü kaynar su içine batmış bulunmalıdır.

5.1.1.3. Süzme ile Sterilizasyon

Termolabil sıvılar için kullanılır. Özellikleri farklı filtrelerle yapılan işlemdir. Sterilizasyon amacıyla 0.2 µm gözenekli tek kullanımlık membran filtreler kullanılır. Antibiyotik, serum ve vitamin çözeltilerinin sterilizasyonunda tercih edilir.



Şekil 5.3 Süzme ile sterilizasyon

5.1.1.4. Radyasyon Sterilizasyonu

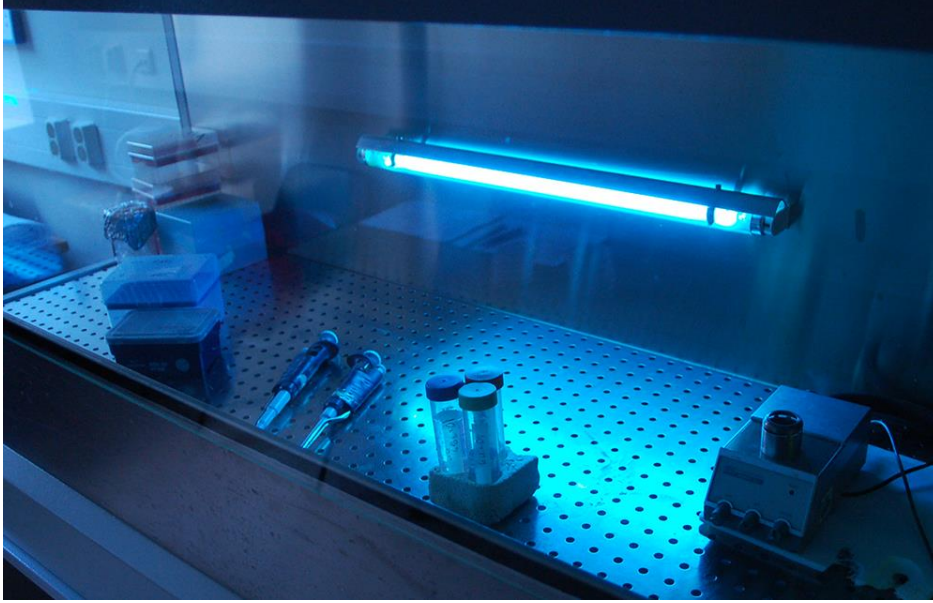
İyonlaştırıcı Radyasyon (Gama ışını, hızlandırılmış elektron): Elektromanyetik radyasyon gama ışınları ve X ışınlarından kaynaklanır. Taneciklerden oluşan radyasyon ise; alfa tanecikler, beta tanecikler, pozitronlar, nötronlar ve hızlandırılmış elektronlardan oluşur. Sterilizasyon amaçlı yalnızca gama ışınları ve hızlandırılmış elektronlar kullanılır.

İyonize radyasyonla yapılan sterilizasyonun en önemli özelliği, ısı enerjisine gerek duyulmadan malzemelerin ambalajları içinde sterilize edilebilmesidir. DNA ve RNA üzerinde etkilidir.

İyonlaştırıcı radyasyonlar, radyasyonun geçtiği malzemenin elektronlarını atomlarından ayırır. Tüm kimyasal etkiler bu elektronlar tarafından yapılır.

Ultraviyole (UV) Radyasyonu: Ultraviyole ışığının dalga boyu 328 ile 210 nanometre arasındadır. Maksimum bakterisidal etki 240-280 nm dir. UV ışınları her yapıya nüfuz edemez. Bu nedenle yüzeylerde ve havada bulunan mikroorganizmaların öldürülmesi amacıyla kullanılır. İçme suyunun dezenfeksiyonunda UV ışınları kullanılmıştır.

Odalar dezenfekte edilirken, personel koruyucu kıyafet ve yeterli göz koruyucusu kullanmalıdır. Ancak derin dokuya nüfuz etmez.



Şekil 5.4 UV ile sterilizasyon

5.1.1.5. Kimyasal Sterilizasyon Yöntemleri

Gaz Sterilizasyonu: Isıya duyarlı malzemeler için uygundur.

- Alkilleyici Gazlar: Etilen oksit, formaldehit, propilen oksit.
- Oksitleyici Gazlar: Hidrojen peroksit, perasetik asit, klor dioksit, ozon.

5.2. UYGULAMA 1: STERİLİZASYON UYGULAMALARI

MADDE VE MALZEMELER

- Petri kutuları
- Cam tüpler
- Cam pipetler
- Erlenmayer
- Cam balon
- Sıvı besiyeri
- Pamuk
- Paket kağıdı

DENEYİN YAPILIŞI

1. Cam petri kutularını tek tek kağıda sarın
2. Tüplerin ağzını pamuklayın
3. Cam pipetlerin ağzını pamuklayın ve kağıtla paketleyin
4. Erlenmayerlerin ağzını pamuklayın
5. Balonların ağzını pamuklayın
6. Cam malzemeleri Pastör fırınına, besiyerini otoklava koyun
7. Cihazları çalıştırın

UYGULAMA 1: SONUÇ VE YORUM

6. DEZENFEKTANLAR

Dezenfeksiyon; kimyasal maddelerin cansız yüzeylere uygulanmasıyla yalnızca patojen mikroorganizmaların yok edilmesi işlemidir.

Dezenfektanın etkinliği, doğru konsantrasyon ve temas süresi ile doğrudan ilişkilidir; uzun süre beklemesi etkisini azaltır.

Sonuna “-sid” eki eklenen maddeler (örneğin bakterisid, fungisid, sporosid) ilgili mikroorganizmayı öldüren ajanları tanımlar^{15,20}.

Tablo 6.1. Dezenfektanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması

DEZENFEKTANLAR		
Etki Mekanizmaları	Kimyasal yapıları	Kullanım alanları
Hücre Zarını Etkileyenler	Kuaterner Amonyum Bileşikleri, Fenoller, Alkol	Yüzey dezenfeksiyonu, cilt antiseptisi, tıbbi aletlerin dış temizliği
Hücre Proteinlerini Denatüre Edenler	Alkol, Formaldehit, Ağır metal tuzları (gümüş, cıva)	Termometre dezenfeksiyonu, cerrahi aletler, antiseptik solüsyonlar
Nükleik Asitleri etkileyenler	Halojenler (iyot, klor), Formaldehit, Oksidanlar	Su arıtımı, tıbbi aletler, laboratuvar yüzeyleri
Enzimlerin İşlevine Etki Edenler	Ağır metaller (gümüş nitrat), Hidrojen peroksit	Göz damlası (gümüş), yüzey dezenfeksiyonu, yara temizliği
Bakteri Sporlarına Etki Edenler	Glutaraldehit, Etilen oksit, Perasetik asit	Yüksek düzey dezenfeksiyon (endoskop, ısıya duyarlı tıbbi aletler), sterilizasyon

Ulusal ve uluslararası kuruluşlar, dezenfektan aktivitesini belirlemek için çeşitli test koşullarını ve sonuçlarını bildirmiştir. Testler tüm dünyada standart olarak yapılır ve sonuçlar paylaşılır^{21,22}. Bu standartları belirleyen kuruluşlar aşağıdaki gibidir.

- ✓ American Association of Official Analytical Chemist (AOAC)
- ✓ German Society for Hygien and Microbiology(Deutsch Gesellschaft für Hygiene und Microbiologie (DGHM)
- ✓ Association French of Normalisation (AFNOR)
- ✓ British Standards Institution (BSI)
- ✓ European Free Trade Association (EFTA)
- ✓ Comitee Europee de Normalisation (CEN)
- ✓ Türk Standartlar Enstitüsü (TSE)

6.1. DEZENFEKTAN SEÇİM KRİTERLERİ

Dezenfektan seçiminde aşağıdaki hususlar göz önünde bulundurulmalıdır;

- Hedef mikroorganizma türü ve direnç düzeyi
- Ortamın organik materyal içerip içermediği
- Yüzey ve ekipman malzemesi
- Dezenfektanın kimyasal yapısı, toksikolojisi ve korozif etkisi
- Maliyet ve kullanım kolaylığı

Ayrıca, dezenfektana sürekli maruziyet direnç gelişimine yol açabileceğinden, aralıklı etkinlik değerlendirmeleri yapılmalıdır¹⁹.

6.2. DEZENFEKTAN TEST YÖNTEMLERİ

Dezenfektanların etkinliğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen testlerde belirli parametreler dikkate alınır. Bu testler, dezenfektanların mikroorganizma üzerindeki öldürücü etkisinin nicel olarak saptanmasına olanak sağlar. Testlerde esas olarak aşağıdaki değerlendirmeler yapılır:

- ✓ Çeşitli temas süreleri sonunda mikroorganizmanın canlı kalması,
- ✓ Ne kadarının öldüğü,
- ✓ Hangi yoğunluktaki dezenfektanın etkili olduğu.

Bu testlerde kullanılan yöntemler;

- Dezenfektan sulandırma sıvıları,
- Testte kullanılan mikroorganizma suşlarının türü ve yoğunluğu,
- Temas süreleri,
- Test ortamındaki organik ve bozucu maddelerin varlığı gibi faktörlere göre farklılık gösterebilir.

Ancak yöntem farklılıklarına rağmen test sonuçları benzer kriterlerle yorumlanır.

Bu testler genellikle ön tarama niteliğinde olup, bir dezenfektanın **minimum etkili konsantrasyonu** ile etkili olabilmesi için gereken **minimum temas süresini** belirlemeye yöneliktir.

6.3. UYGULAMA 2 : DEZENFEKTAN AKTİVİTESİNİ ÖLÇMEK

MADDE VE MALZEMELER

- Dezenfektan madde
- Sulandırma sıvısı
- Sıvı besiyeri
- Katı besiyeri
- Mikroorganizmalar
- Nötralleştirici madde
- Seri cam tüpler
- 1, 2, 5, 10 ml lik pipetler
- Öze
- 100 ml lik cam balonlar

DENEYİN YAPILIŞI

1. Seri tüplere 5 ml sulandırma sıvısı koyun. İlk tüpe 5 ml dezenfektan koyun. Tüpü iyice karıştırıp 5 ml aktarımlarla dezenfektanın 2 katlı (çift katlı) dilüsyonlarını yapın. Kaç mikroorganizma kullanılacaksa o sayıda tüp serisi ve dilüsyonunu hazırlayın.
2. Kullanılan mikroorganizmaların 24 saatlik taze kültürlerinden MacFarland 0.5 yoğunluğundaki süspansiyonlarını hazırlayın.
3. Bu süspansiyonlardan her tüpe 0.02 ml damlatın.
4. Deneme vakti öncesi, seri tüplere 2 damla nötralizan madde ilave edin.
5. **5 dakika** sonra her tüpten bir öze dolusu kültür olarak katı besiyeri yüzeyine çizerek ekim yapın.
6. **15 dakika** sonra her tüpten bir öze dolusu kültür olarak katı besiyeri yüzeyine çizerek ekim yapın
7. **30 dakika** sonra her tüpten bir öze dolusu kültür olarak katı besiyeri yüzeyine çizerek ekim yapın
8. Kontrol olarak;
Dezenfektan konmamış besiyerine mikroorganizma ekin. Her mikroorganizma için ayrı tüp kullanın.
 - Besiyerine nötralizan madde ve mikroorganizma damlatın
 - Bütün serileri 37°C'lik etüve kaldırın
 - 24 saat sonra petrilerde oluşan kolonileri değerlendirin

UYGULAMA 2: SONUÇ VE YORUM

7. MİKROORGANİZMALARINI NASIL ÜRETİRİZ?

Mikroorganizmalarla çalışmak, bu organizmaların laboratuvar koşullarında üretimini ve uygun ortamlarda saklanmasını gerektirir. Mikroorganizmaların sağlıklı bir şekilde üreyebilmesi için uygun **besiyeri** seçimi büyük önem taşır. Her mikroorganizma türü, farklı besinsel ve fiziksel gereksinimlere sahiptir. Bu nedenle **bakteri, mantar, virus, riketsiya ve klamidya** gibi gruplar için farklı içeriklerde hazırlanmış besiyerleri kullanılır. Besiyerleri genel olarak **canlı** ve **cansız** olmak üzere ikiye ayrılır:

Tablo 7.1. Canlı ve cansız besiyerleri

BESİYERLERİ	
Canlı Besiyerleri	Cansız Besiyerleri
Embriyolu yumurta	Temel Besiyeri
Doku kültürü	Zenginleştirilmiş besiyeri
Deney hayvanı	Özel besiyeri

7.1. BAKTERİLERİN ÜRETİLMESİ

Mikroorganizmaların gelişimi için hazırlanan ortamlara **besiyeri**, bu ortamlarda mikroorganizma geliştirme işlemine ise **kültür yapmak** denir. Kültür işlemi sonucunda elde edilen, mikroorganizma içeren ortama **kültür** adı verilir. Eğer kültür yalnızca tek bir mikroorganizma türü içeriyorsa bu **saf kültür**, birden fazla tür içeriyorsa **karışık kültür** olarak tanımlanır.

Kültür yapılabilmesi için, besiyerinde mikroorganizmanın büyümesi için gerekli olan tüm besin maddeleri, su, uygun pH, sıcaklık, nem ve oksijen düzeyi sağlanmalıdır. Ayrıca, besiyerinin steril olması ve işlem boyunca bu sterilitenin korunması önemlidir. Saf kültürlerde üreyen mikroorganizmalar genetik ve fizyolojik olarak homojen özellikler gösterir.

Saf kültürden alınan mikroorganizmanın yeni bir besiyerine veya deney hayvanına aktarılması işlemine **pasaj yapmak** denir. Katı besiyerlerinde üreyen bakteriler, **koloni** adı verilen görünür yapılar oluşturur. Her koloni, genellikle aynı tür mikroorganizmalardan oluşur¹⁴.

Virus, riketsiya ve klamidya gibi zorunlu hücre içi parazitler yalnızca canlı besiyerlerinde üretilebilirken; bakteri ve mantarlar, cansız besiyerlerinde üretilebilir.

7.1.1. Besiyerlerinin Fiziksel Yapılarına Göre Sınıflandırılması

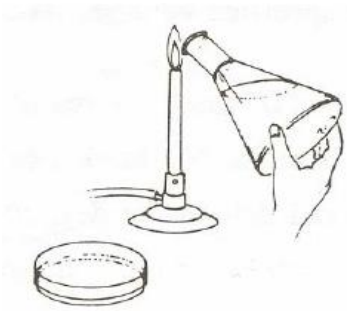
Bakterilerin üretildiği besiyerleri, fiziksel durumlarına göre, katı, yarı katı ve sıvı hazırlanabilir.

Besiyerlerinin tamamında temel olarak; su, karbon ve azot kaynakları, mineraller ve bazı gelişme faktörleri yer alır. Bu temel bileşenlerin çoğu et suyu (meat extract) içinde doğal olarak bulunur. Et suyuna pepton, tuz gibi maddeler eklenerek **buyyon** adı verilen sıvı besiyeri elde edilir. Buyyon, özellikle aerob bakterilerin üretimi için kullanılan genel amaçlı bir ortamdır.

Buyyona agar agar eklenerek katı formda **jeloz** elde edilir. Jelozun içine %10 oranında defibrine koyun kanı eklenirse, bu besiyeri kanlı agar adını alır. Kanlı agar, birçok bakteri türünün üretimi için zenginleştirilmiş bir ortam sağlar.

Bazı mikroorganizmaların izolasyonu veya tanımlanması için ise seçici veya ayırt edici özelliklere sahip özel besiyerleri kullanılır. Bu besiyerlerine, serum, glikoz, bazı amino asitler, indikatör maddeler, boyalar katılarak amaca göre zenginleştirilmiş besiyerleri hazırlanır.

Petri Kabı Dökme



Agar şişesinin boynu, alevden geçirilir.

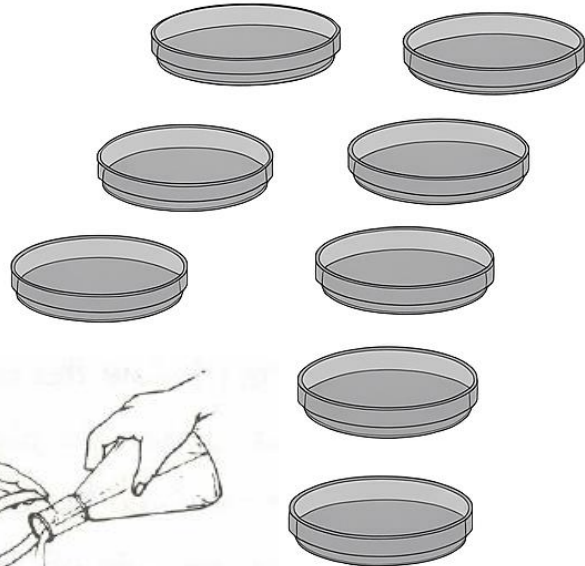


Kapak, alt kısım üzerinde tutulup, mümkün olduğunca az açılır.



Her bir petri kabı yaklaşık 20 ml sıvı alır

Sterilize edilmiş ve eritilmiş agar petrilere dökülür ve donması için bekletilir.



Şekil 7.1 Mikrobiyolojide katı besiyerinin hazırlanışının şematik gösterimi ^{23,24}.

7.2. UYGULAMA 3 : BESİYERİ HAZIRLAMA

MADDE VE MALZEMELER

- Ticari toz besiyeri
- Distile su
- pH kağıdı
- Terazi
- Su banyosu
- Otoklav
- Cam balon
- Cam tüpler
- Petri kutuları
- 1, 2, 5, 10 ml lik pipetler
- Pamuk, pens

DENEYİN YAPILIŞI

1. Cam balona suyun bir kısmını koyun.
2. Maddeleri tartıp suya ilave edin.
3. Kalan suyu ilave edip, su banyosunda eritin.
4. Balondaki karışımın pH sını kontrol edin.
5. Karışımı tüplere istenilen miktarda pipetle dağıtın.
6. Tüplerin ağzını çok sıkı olmayacak şekilde pamuklayın.
7. Tüpleri uygun bir taşıyıcıda otoklava koyun.

UYGULAMA 3 : SONUÇ VE YORUM

8. BAKTERİLERİ GÖREBİLMEK İÇİN HANGİ İŞLEMLER YAPILIR?

Bakteriler mikroskopik canlılar oldukları için çıplak gözle görülmeleri mümkün değildir. Bu nedenle, gözlemlenebilmek için bazı laboratuvar işlemlerine ihtiyaç vardır.

- Önce bakteriyi çoğaltmak gerekir
- Karışık bakteriyi ya da tek cins bakteriyi uygun bir yöntemle boyamak gerekir.
- Boyalı preparatı mikroskopta görebiliriz.

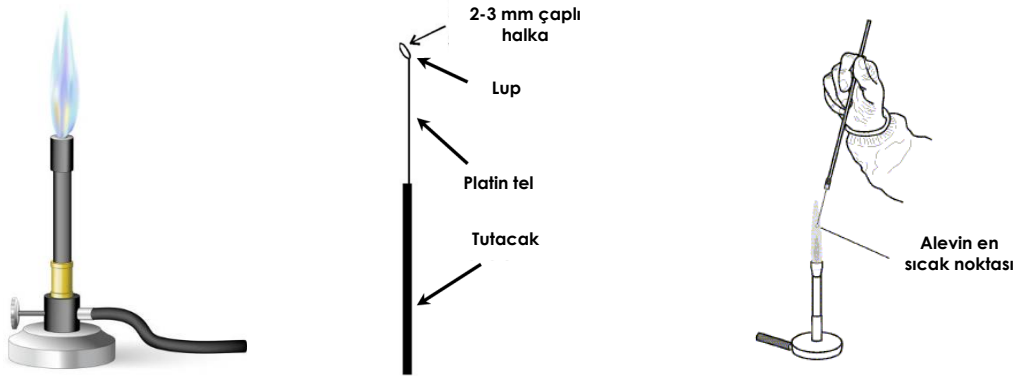
Farklı özellikleri incelemek için **saf kültür** elde edilmesi gerekir. Karışık kültürlerden saf kültür elde etmek amacıyla **izolasyon yöntemleri** kullanılır. Saf kültürde yalnızca tek bir mikroorganizma türü bulunur; bu da tanı, tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri gibi analizler için büyük önem taşır.

8.1. BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE KÜLTÜR YÖNTEMLERİ

İzolasyon, karışık mikroorganizma popülasyonlarından tek bir mikroorganizma türünü saflaştırmak amacıyla yapılan işlemdir. Mikrobiyoloji çalışmalarında daima saf kültür ile çalışılmalıdır. İzolasyon için birçok yöntem vardır.

8.1.1. Ekim Yöntemleri

İzolasyon ekimleri sırasında **platin telden yapılmış iğne** ya da **yuvarlak uçlu öze** kullanılır. Tüm işlemler, aseptik tekniklere uygun şekilde ve bir alev kaynağı (örneğin Bunsen brülörü) yakınında gerçekleştirilmelidir.



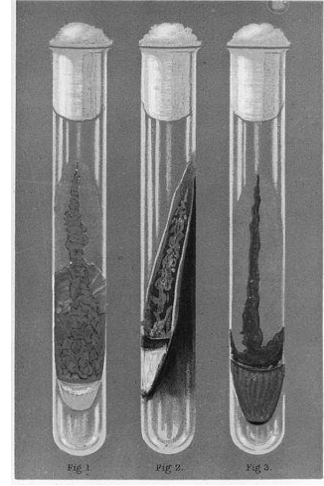
Şekil 8.1. Bek alevi, tel öze ve ekim öncesi sonrası özenin sterilizasyonu

8.1.1.1. Sıvı besiyerine ekim yöntemi:

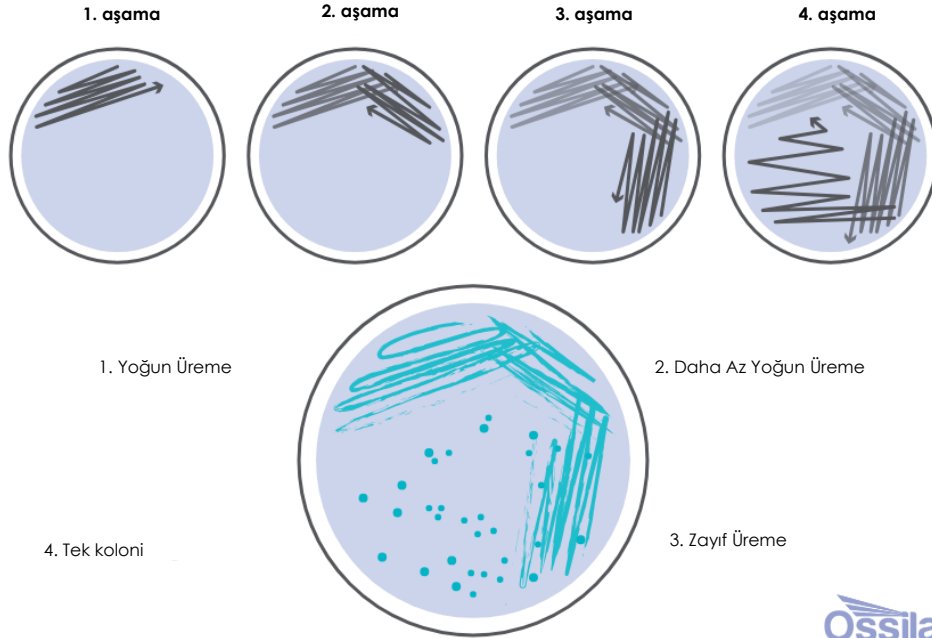
Sıvı besiyerine yapılacak ekimlerde; **pipet, yuvarlak uçlu öze veya eküvyon** kullanılır.

Her ekimde, ekim yapılacak tüpün ağzı dikkatli bir şekilde açılıp alevden geçirildikten sonra örnek alınarak, besiyeri yüzeyine damlatılır. Ekim yapılan tüpün ağzı tekrar alevden geçirilerek kapatılır. Kullanılan ekim malzemesi, içinde dezenfektan olan sıvıya atılır.

Katı besiyerine yapılacak ekimlerde öze, eküvyon, pastör pipeti kullanılır. Katı besiyeri, tüpte yatık olabildiği gibi, petri kutularında da hazırlanır.



Şekil 8.2. Yatık besiyeri yüzeyinde ekim



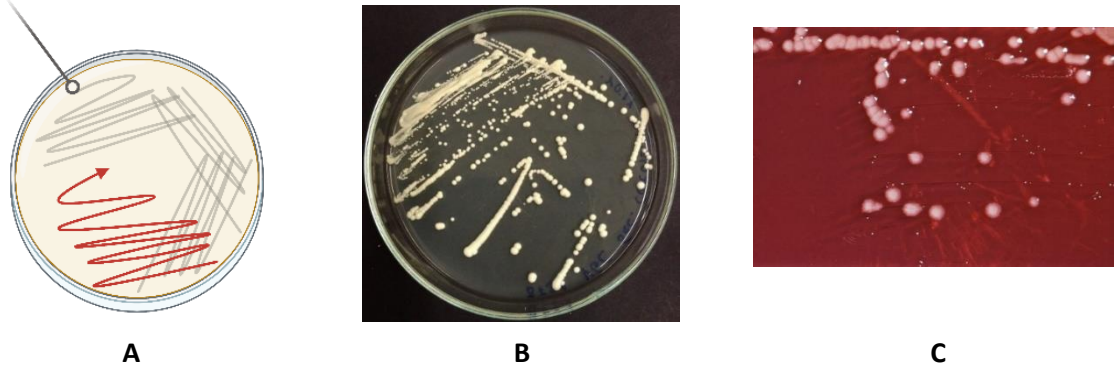
Şekil 8.3. Katı besiyeri yüzeyine seyrelterek ekim yöntemi

Kaynak: Ossila (n.d.).

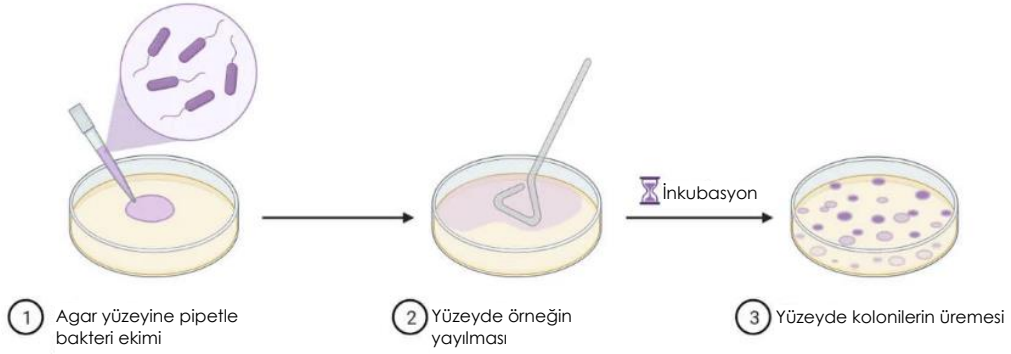
8.1.1.2. Katı besiyeri yüzeyine seyrelterek ekim yöntemi:

Karışık kültürlerin ekiminde kullanılan yöntemdir²⁵. Bu yöntem özellikle karışık kültürlerden **tek kolonilerin** elde edilmesini amaçlar.

1. Petri hayali olarak bölgelere bölünür.
2. Öze veya eküvyon ile alınan örnek, ilk bölgeye yayılır.
3. İlk çizilen çizgilerin bir kenarına dokunularak ikinci bölgeye
4. İkinci bölgedeki çizgilere birkaç kez dokunularak diğer bölgelere ekim yapılır²⁶.
5. 24 saat inkübatöre kaldırılır.
6. Bu süre sonunda, ilk bölgedeki bakteri üremesi çok yoğundur²⁷.
7. Son bölgede ise tek koloniler gözlemlenir²⁸.



Şekil 8.4. Katı besiyerine seyreltilerek ekim: (A) Ekim yöntemi, (B) Gözlenen üreme, (C) Tek koloniler.



Şekil 8.5. Katı besiyeri yüzeyine yaygın ekim yöntemi
Microbial Notes'tan uyarlanmıştır.

8.1.1.3. Katı besiyeri yüzeyine yaygın ekim yöntemi:

Sıvı örneklerdeki mikroorganizma yoğunluğunu sayı ile ifade etmek amacıyla uygulanır. Belirli hacimlerde özeyle alınan örnek (örneğin 0.01 ml veya 0.001 ml) tüm besiyeri yüzeyine yayılır²⁹. Her bir oluşan koloni sayılır ve bu sayede mikroorganizma yoğunluğu kantitatif olarak ifade edilir. Bu teknik, özellikle hijyen ve kalite kontrol testlerinde kullanılır.

8.1.1.4. Oksijensiz katı besiyerine ekim yöntemi:

Anaerob ve mikroaerofilik mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılır. Örnek uygun şekilde seyreltilir ve petriye konur. Üzerine otoklavdan çıkmış ve 45 °C'ye kadar soğutulmuş besiyeri dökülerek katılaştırılır. Böylece mikroorganizmalar oksijensiz ortamda gelişebilir.

8.1.1.5. Membran filtre yöntemi:

Bu yöntem, içme suyu ve hava gibi düşük yoğunluklu örneklerin analizinde tercih edilen yöntemdir. Numune, selüloz ester yapılı bir membran filtreden süzülür³⁰. Filtre daha sonra uygun bir besiyeri yüzeyine yerleştirilerek inkübasyona alınır.



Şekil 8.6. Membran filtrasyon yöntemiyle mikrobiyolojik analiz adımları.

Kaynak: Biology Reader

8.2. UYGULAMA 4: İZOLASYON, TEK KOLONİ DÜŞÜRME

MADDE VE MALZEMELER

- Çeşitli sıvı bakteri kültürleri (A, B, C, D)
- Eosin Metilen Blue Agar(EMB), McConkey Agar, Müller Hinton Agar ve Kanlı Agar
- Öze
- Bek alevi

DENEYİN YAPILIŞI

1. Petrilere isim, soyisim ve kültürün adını yazın
2. Özeyi alevde yakarak, besiyerinin bir kenarında soğutun
3. Kültürden alınan öze dolusu mikroorganizma, besiyerinin bir kenarından başlayarak, petrinin dört bölgesine çizerek ekim yapın
4. Özeyi alevden geçirerek bırakın
5. Ekim yapılan petrilere 37 °C'lik etüve kaldırın
BİR SONRAKİ GÜN petrilere kontrol edin.

UYGULAMA 4 : SONUÇ VE YORUM

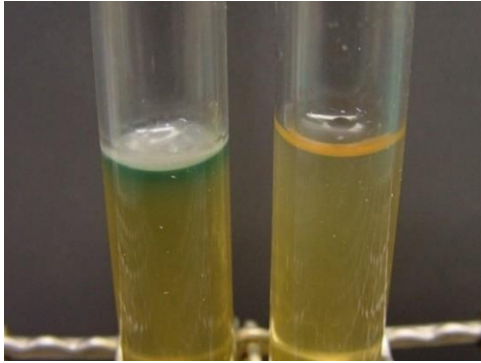
9. BAKTERİ KOLONİLERİ

Bakteri kolonilerinin renk, koku, büyüklük, biçim ve hemolitik aktivite gibi özellikleri, bakterilerin cins düzeyinde tanınmasını kolaylaştıran önemli fenotipik kriterlerdir. Genellikle bakteri kolonileri 1–4 mm çapındadır; ancak bazı türlerde koloniler çıplak gözle ayırt edilemeyecek kadar küçük olabilir.

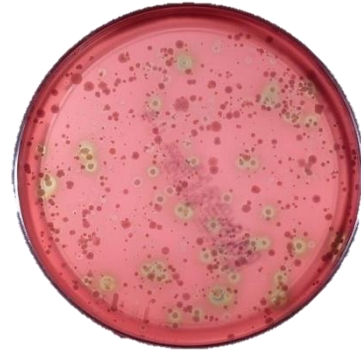
Staphylococcus aureus gibi pigment üreten bazı bakterilerin oluşturduğu pigmentler suda çözünmez; bu durumda koloni rengi doğrudan pigmentin rengine karşılık gelir. *S. aureus*, altın sarısı renkte koloni oluşturarak ile ayırt edilebilir (Şekil 9.1) ³¹.



Şekil 9.1. *Staphylococcus aureus* kolonileri.



Şekil 9.3. *Pseudomonas aeruginosa*

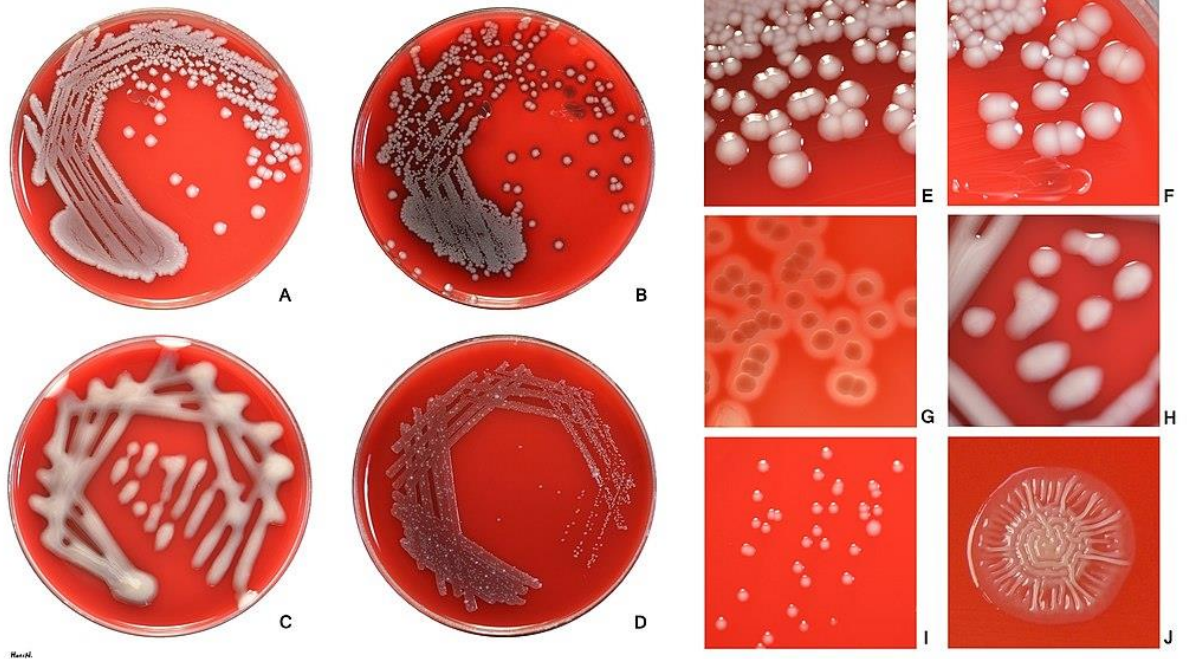


Şekil 9.2. Kanlı agarda alfa ve gama hemoliz gösteren bakteri kolonileri

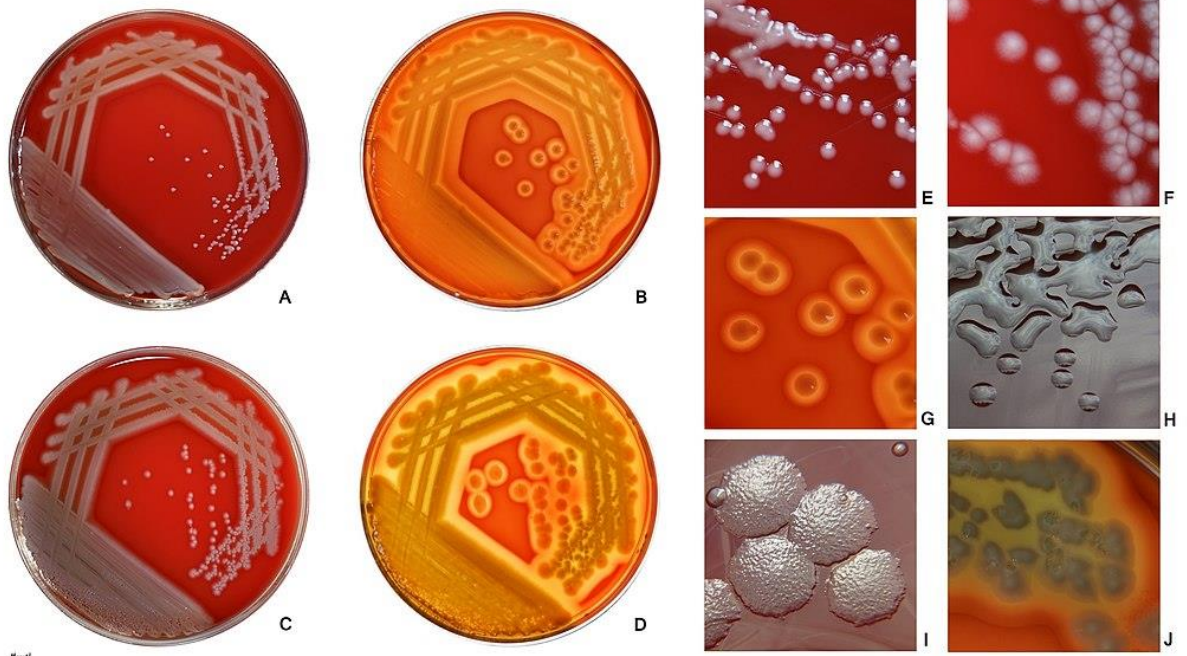
Pseudomonas aeruginosa gibi bazı bakteri kolonileri suda çözünebilir hücre dışı pigment oluşturarak besiyerini mavi, yeşil, kahverengiye boyar (Şekil 9.2) ³². Bakterilerin hemoliz yapma yetenekleri, kanlı besiyerlerinde araştırılır. Bazı bakteriler, salgıladıkları enzimlerle eritrositleri parçalayarak koloni çevresinde şeffaf bir alan oluşturur. (Şekil 9.3).

Tablo 9.1. Bakterilerde görülen 4 farklı koloni tipi.

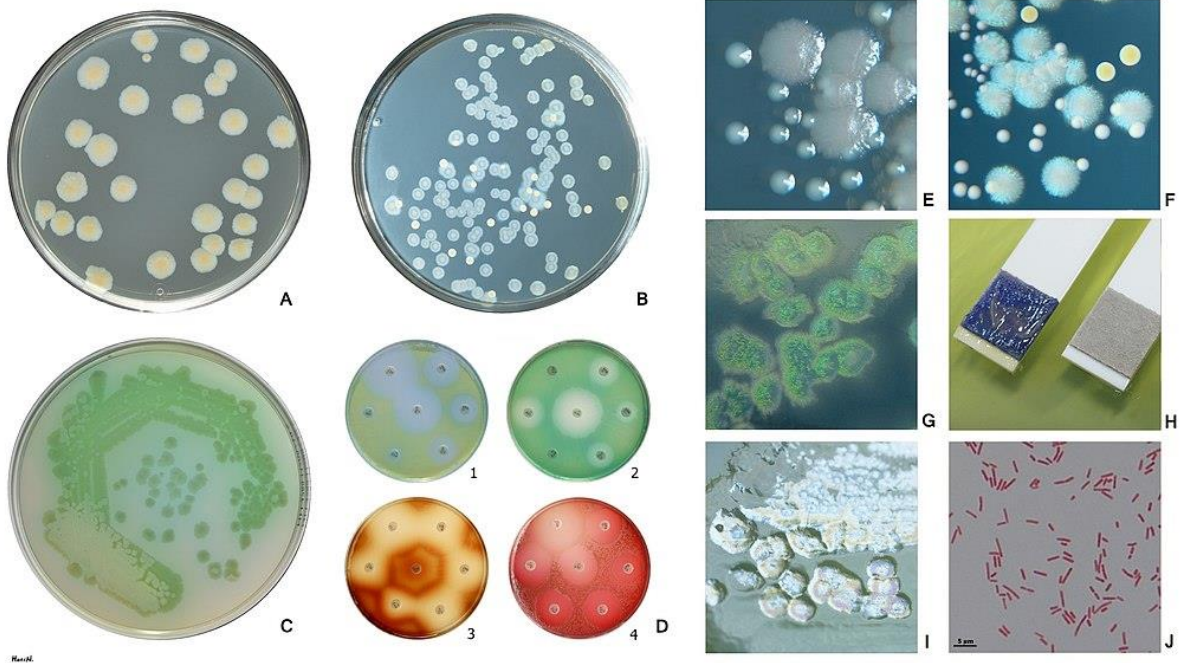
Koloni Tipi	Görünüm ve Özellikleri
S (Smooth)	Kenarları düzgün, yuvarlak, homojen, hafif kabarak kolonilerdir.
R (Rough)	Kenarları pürüklü, yüzeyleri buruşuk kolonilerdir.
M (Mucoid)	Polisakarit kapsülü olan bakterilerin oluşturduğu yapışkan, parlak, öze ile dokununca sünen kolonilerdir.
L (Levant)	Hücre duvarı eksik veya defektif bakterilerin oluşturduğu düzensiz ve camsı görümlü kolonilerdir.



Şekil 9.4. *E.coli*, kanlı agar ³³

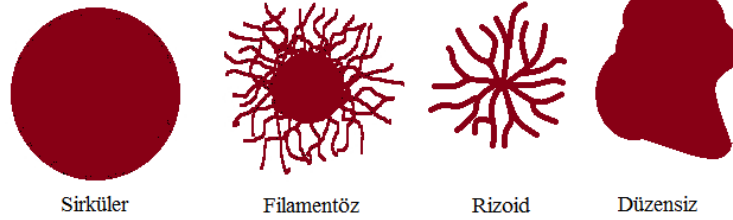


Şekil 9.5. *Pseudomonas aeruginosa*, kanlı agar ³⁴

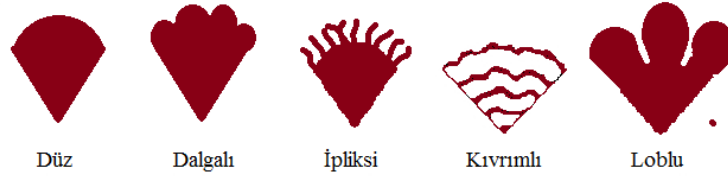


Şekil 9.6. *Pseudomonas aeruginosa*, trypticase soy agar³⁵

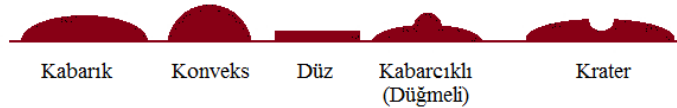
Koloni Şekli



Kenarları



Dikey kesiti



Şekil 9.7. Mikrobiyal kolonilerde en bilinen morfolojik görünüm tipleri³⁶

9.1. UYGULAMA 5 : BAKTERİ KOLONİLERİNİN İNCELENMESİ

MADDE VE MALZEMELER

- Değişik katı besiyerleri (A, B, C, D, E)
- Farklı mikroorganizma kültürleri (a, b, c, d, e)
- Öze
- Bek alevi

DENEYİN YAPILIŞI

1. En az beş besiyeri ve beş mikroorganizma kullanın.
2. Katı besiyeri yüzeyine çizgi yöntemiyle kültürden ekin
3. Plakları 37 °C 'lik etüve kaldırın
4. 24 saat sonra plaklardaki kolonilerin pigment, hemoliz, koloni morfolojilerini inceleyin.

UYGULAMA 5 : SONUÇ VE YORUM

10. MİKROSKOBİK GÖZLEM VE BOYAMA TEKNİKLERİ

Mikroorganizmalar çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük yapılardır. Bakteri, mantar, riketsiya ve klamidy gibi mikroorganizmaların gözlemlenebilmesi için **ışık mikroskobu** kullanılır (EKLENTİ II). Ancak bazı mikroorganizma türleri ışık mikroskobu ile görülemeyecek kadar küçüktür. Bu durumda özel boyama yöntemleri uygulanarak elektron mikroskobu gibi daha yüksek çözünürlüğe sahip mikroskoplar ile incelenmeleri gerekmektedir.

Mikroskopik gözlemede kontrastı artırmak ve mikroorganizmaları daha net görebilmek amacıyla boyama işlemi yapılır. Mikroskopların görüntüleme kalitesi, sahip oldukları rezolüsyon mesafesi ile doğrudan ilişkilidir. Rezolüsyon, yanyana duran iki noktanın birbirinden ayırt edilebildiği en küçük mesafeyi tanımlar. İnsan gözünün rezolüsyon sınırı yaklaşık 0.1 mm iken, ışık mikroskobu yaklaşık 200 nm, elektron mikroskobu ise 0.1 nm seviyesine kadar detay sunabilir.

Tablo 10.1 Işık ve elektron mikroskobunun gözlem aralıklarını gösteren diyagram

<i>Gözlem Aracı</i>	<i>Görme Aralığı</i>	<i>Gözlemlenebilir Nesnelere</i>
<i>Çıplak Göz</i>	1 mm – 100 µm	<ul style="list-style-type: none">• İnsan saç teli (~70 µm)• Kum tanesi• Karınca (~3 mm)• Kurbağa yumurtası• Büyük tek hücreli organizmalar (örnek: amip)
<i>Işık Mikroskobu</i>	100 µm – 200 nm	<ul style="list-style-type: none">• Hayvan ve bitki hücreleri (10–100 µm)• Bakteriler (0.5–5 µm)• Mitoz bölünme evreleri• Hücre çekirdeği, mitokondri
<i>Elektron Mikroskobu</i>	200 nm – 0.1 nm	<ul style="list-style-type: none">• Viruslar (20–300 nm)• Ribozom (~20 nm)• Proteinler (~5–10 nm)• DNA sarmalı (~2 nm)• Atomik yapılar (~0.1 nm)• Nano-malzemeler, yüzeyler

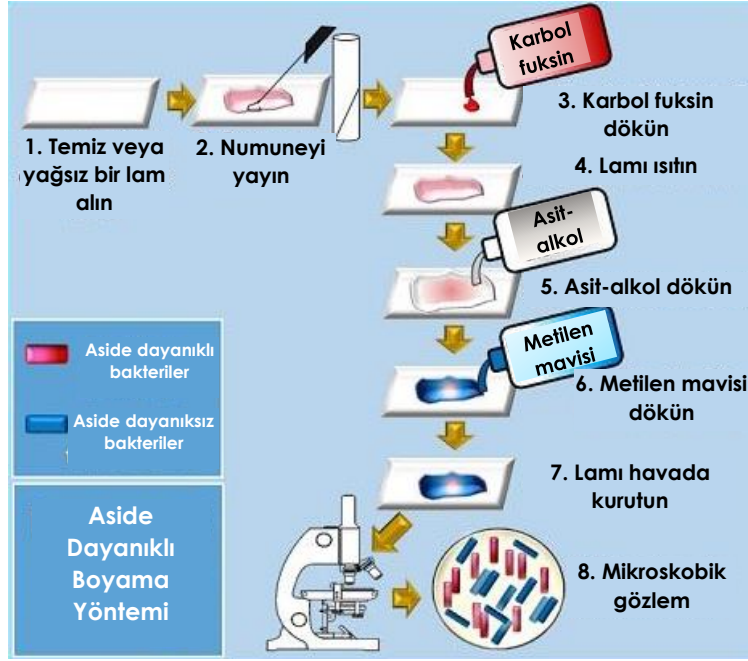
10.1. BAKTERİLERİ BOYAMA

Bakterilerin mikroskopta görülebilmeleri için boyanmaları gerekir. Boyanmış preparatlar ışık mikroskobu ile incelenir¹⁴ (Şekil 10.1). Günümüzde doğal boyalar (örneğin karmen, kına kına) yerini sentetik boyalara bırakmıştır. İlk sentetik boyalar anilinden elde edildiğinden bu boyalar "anilin boya" olarak adlandırılır. Boyalar yapılarındaki iyonik yüke göre üç sınıfa ayrılır:

Asidik Boyalar: Negatif yüklü (-); asit fuksin, eozin, safranin, malaşit yeşili, pikrik asit gibi.

Bazik Boyalar: Pozitif yüklü (+); metilen mavisi, kristal viyole, bazik fuksin.

Nötr Boyalar: Asidik ve bazik boya karışımıdır. Taze hazırlanmalıdır. Giemsa, Wright.

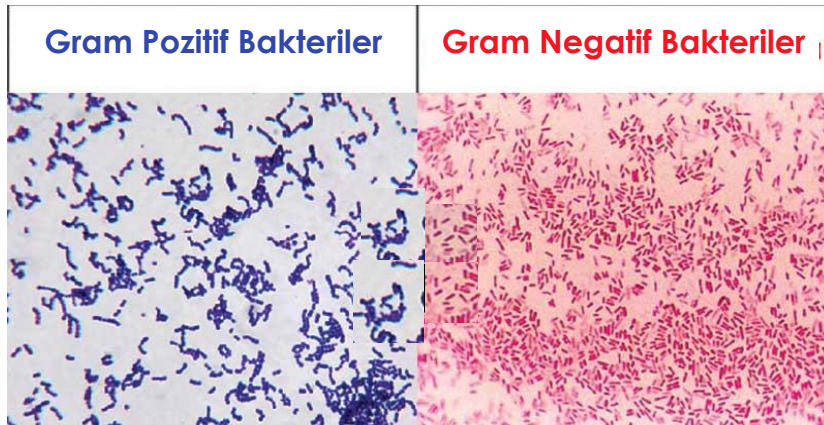


Şekil 10.1. Asit-fast boyama adımlarını gösteren şematik diyagram. ³⁷

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında boyama yöntemleri, amaca göre Basit Boyama ve Kombine Boyama şeklindedir.

Basit Boyama Yönteminde, tek bir çeşit boya kullanılır. Kısa sürede yapılır. Bakterilerin yalnızca morfolojik yapıları ve büyüklükleri hakkında bilgi edinilir. Tek boya kullanıldığı için, tüm bakteriler kullanılan boyanın renginde ve aynı renk görünür. Örneğin metilen mavisiyle boyanmış bir preparatta, açık mavi zemin üzerine, tüm bakteriler mavi görünür.

Kombine (bileşik) Boyama Yönteminde, birden fazla boya kullanılır. Birden fazla boya kullanılarak bakterilerin çeper yapısı, kapsül, flagella ve çekirdek gibi yapılar incelenebilir. Gram boyama ve Ziehl-Neelsen boyama gibi teknikler bu sınıfa girer (Şekil 10.2). Bu teknikler bakterilerin tanılanması ve sınıflandırılması açısından büyük önem taşır.



Şekil 10.2. Kombine boyama yöntemleri ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin morfolojik farklarını gösteren şekil

Kaynak: Aryal, 2018, Microbe Notes ³⁸

10.2. UYGULAMA 6 : BASİT BOYAMA YÖNTEMİ

MADDE VE MALZEMELER

- Bakteri kültürü (Saf ve karışık kültür)
- Metilen mavisi ve Fuksin
- Öze
- Lam
- Bek alevi
- Su
- Kurutma kağıdı
- İmmersiyon yağı

DENEYİN YAPILIŞI

1. Bek alevinde özeyi yakın.
2. Tüpün pamuğunu alevin yanında açın.
3. Tüpün ağzını alevden geçirin, özeyi tüpün üst kısmında soğutup, kültürden bir öze dolusu alın.
4. Tüpün ağzını tekrar alevden geçirip pamuklayın.
5. Kültürü lam yüzeyine yayın.
6. Özeyi tekrar alevden geçirin.
7. Kültürün havada kurumasını bekleyin.
8. Lamı, alttan alevden 3-4 kez geçirin. Kültürün lama yapışarak fikse olmasını sağlarsınız.
9. Lam soğuyunca, üzerini kaplayacak şekilde boyayı dökün.
10. 2-3 dakika sonra, lamı olduğu yerde ters çevirerek boyayı dökün ve preparatı suyla yıkayın.
11. Preparatı kurutma kağıdıyla bastırmadan kurutun.
12. Preparata bir damla immersiyon yağı damlatıp, 100X objektifle inceleyin.

UYGULAMA 6 : SONUÇ VE YORUM

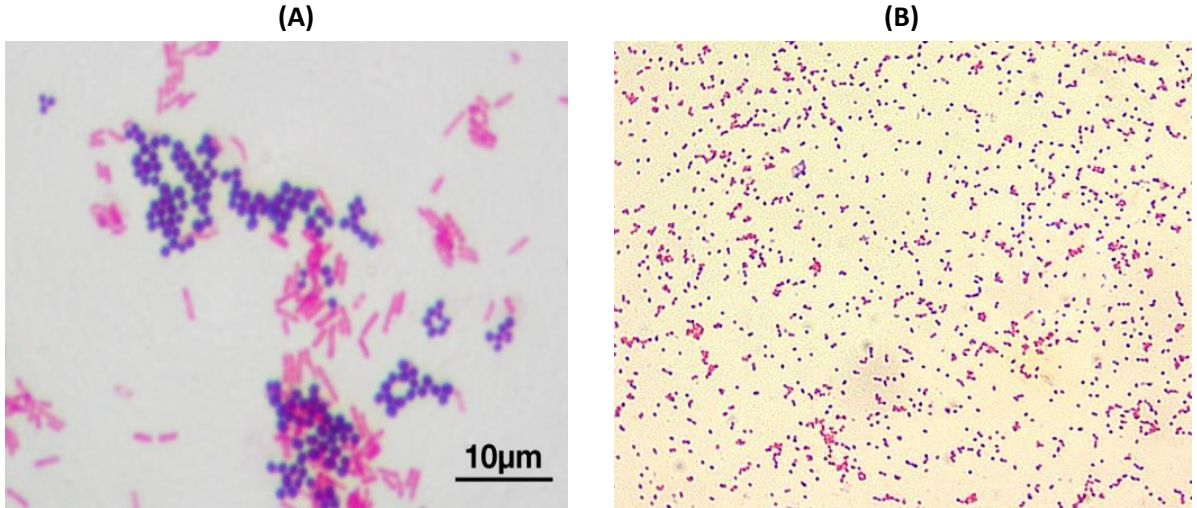
11. GRAM BOYAMA YÖNTEMİ

Gram Boyama Yöntemi, birden fazla boya kullanılan kombine bir boyama yöntemidir. Boyanan bakterilerin şekil ve büyüklükleri yanında hücre duvarı yapıları da saptanabilir.

Bakteriye şeklini veren ve dayanıklılığını sağlayan hücre duvarının temel maddesi peptidoglikan polimeridir. Peptidoglikan tabaka Gram (+) bakterilerde %50'den fazla, Gram (-) bakterilerde %5-10 oranında bulunur.

Peptidoglikanın boyanma özelliğinden yararlanarak bakterilerin Gram (+) ya da Gram (-) olduğu saptanır. Yöntemde kullanılan kristal viyole ve lugol (iyot) hücre duvarındaki peptidoglikan ile alkolde çözünmeyen bir tuz oluşturur.

Alkol ve asetonla yıkama sonrası kalın peptidoglikan tabakasına sahip bakteriler (Gram+), oluşan tuzun renginde (mor), ince peptidoglikan tabakasına sahip bakteriler (Gram-) ise renksiz kalacaktır. Suyla yıkama sonrası uygulanan fuksin, renksiz durumdaki bakterileri kırmızı boyayacaktır.



Şekil 11.1. Gram boyama ile bakteri morfolojisi ^{37,38}; (A) Karışık kültür (B) *Brucella spp.* mikroskopik görüntüsü. (kamu malı).

11.1. UYGULAMA 7 : GRAM BOYAMA YÖNTEMİ

MADDE VE MALZEMELER

- *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus spp.* saf ve karışık kültürleri
- Öze
- Bek alevi
- Lam
- Kristal viole
- Lügol
- Alkol-aseton karışımı (1/1)
- Fuksin
- Su
- Kurutma kağıdı
- İmmersiyon yağı

DENEYİN YAPILIŞI

1. Bek alevinde özeyi yakın
2. Kültür tüpünün ağzındaki pamuğu, bek alevi yanında açın. Pamuk, tüp ve öze hiçbir yere dokundurmamalıdır
3. Tüpün ağzını alevden geçirin
4. Özeyi tüpün üst kenarında soğuttuktan sonra kültüre daldırın ve bir özeyi doldurun. Tüpün ağzını tekrar alevden geçirip pamuğu kapatın
5. Lamin yüzeyine özedeki kültürü yayın, Özeyi tekrar yakın
6. Lamdaki kültürün soğumasını bekleyin
7. Soğuyan preparatı alttan ısıtarak fikse edin
8. Preparatın yüzeyine kristal viole dökün. 1 dakika bekleyin, suyla boyayı akıtın
9. Lugol çözeltisi ile 1 dakika bekletin ve suyla yıkayın
10. Alkol-aseton karışımında 30 saniye yıkayın (dekolorize edin). Preparatı suyla tekrar yıkayın.
11. Fuksin ile 30 saniye boyayın, suyla yıkayın
12. Preparatı kurutma kağıdı ile kurutun
13. Bir damla immersiyon yağı damlatıp, 100X objektifinde inceleyin.

UYGULAMA 7 : SONUÇ VE YORUM

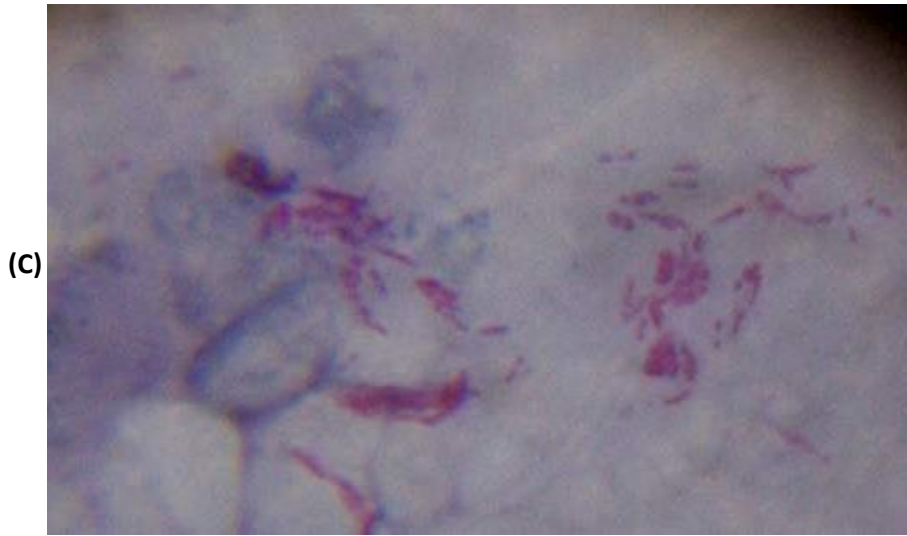
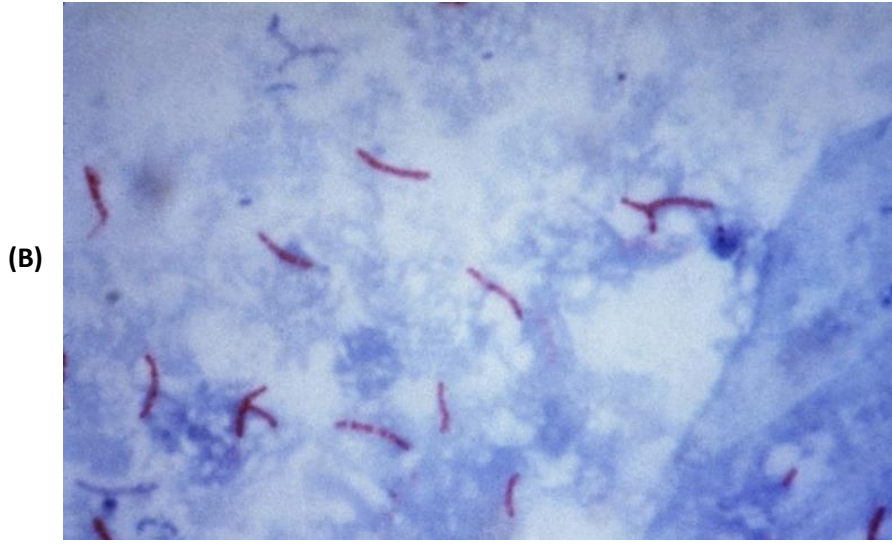
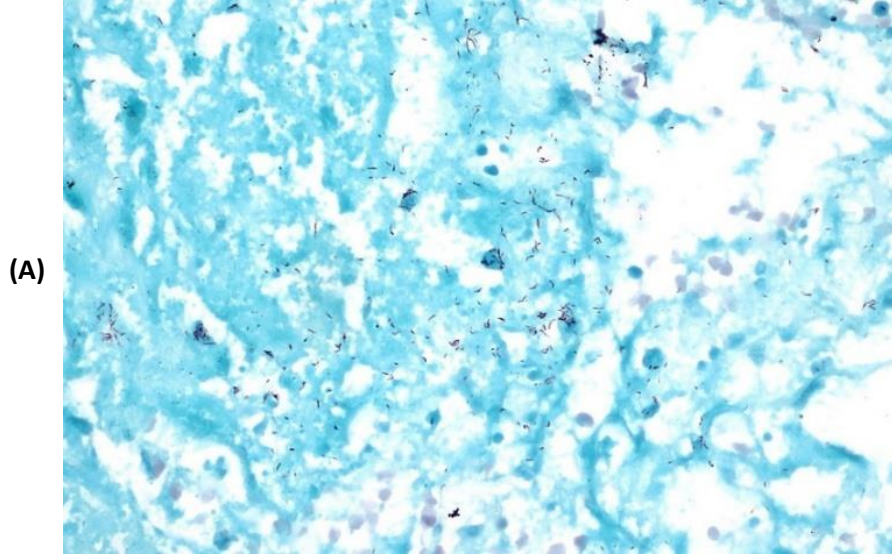
12. ASİDE DİRENÇLİ BAKTERİLER

Tüberküloz hastalığına neden olan *Mycobacterium tuberculosis*, hücre çeperinde yüksek oranda lipit ve mikolik asit içeren özgün bir yapıya sahiptir. Bu lipitler, bakterinin hidrofobik özelliğini artırır ve konvansiyonel bakteri boyalarıyla kolay boyanmasını engeller. Bu nedenle Gram boyama gibi klasik yöntemler bu tür bakterilerde etkisiz kalır. Bu özellikleri nedeniyle "aside dirençli bakteriler" sınıfında yer alırlar.

Mycobacterium türlerinin boyanabilmesi için özel bir boyama yöntemi olan **Ziehl-Neelsen** yöntemi kullanılır. Bu yöntemde, preparata **karbol fuksin** adlı boya uygulanır ve boya alımını kolaylaştırmak amacıyla lam alttan hafifçe ısıtılır. Isıtma işlemi, bakteri hücre duvarındaki lipoidal tabakanın geçici olarak yumuşamasını sağlayarak boyanın hücre içine geçmesini mümkün kılar. Isıtmanın ardından soğuyan hücre çeperi yeniden sertleşir ve alınan boya hücre içinde sabitlenir.

Daha sonra preparat, asit-alkol karışımı ile yıkanır. Bu yıkama, aside dirençli olmayan bakterilerin boyalarını kaybetmesine neden olurken, aside dirençli bakteriler boyayı tutmaya devam eder. Son aşamada yapılan metilen mavisi ile kontrast boya uygulanır. Böylece aside dirençli bakteriler kırmızı, diğer tüm hücreler ise mavi renkte görünür (Şekil 12.1).

Ziehl-Neelsen yöntemi, özellikle tüberküloz başta olmak üzere *Mycobacterium* türlerinin tanımlanmasında kritik öneme sahiptir.



Şekil 12.1. Asit dirençli bakterilerin boyama örnekleri

(A) Asit dirençli basil, Ziehl Neelsen boyama ³⁹, (B) *Mycobacterium tuberculosis* Ziehl-Neelsen boyama ⁴⁰, (C) Ziehl Neelsen tekniği ile boyanmış balgam örneği yaymasında görülen *Mycobacterium tuberculosis* ⁴¹

12.1. UYGULAMA 8 : EHRLICH ZIEHL NEELSEN BOYAMA YÖNTEMİ

MADDE VE MALZEMELER

- *Mycobacterium tuberculosis* süspansiyonu
- Öze
- Bek alevi
- Preparatı alttan ısıtmak için hazırlanan pamuklu alev
- Lam
- Metilen mavisi ve Karbol fuksin
- Asit-alkol karışımı (%3HCl+%97 etil alkol)
- Su

DENEYİN YAPILIŞI

1. Özeyi alevden geçirin
2. Bakteri süspansiyonu bulunan tüpün ağzını alev yanında açıp, öze dolusu bakteri süspansiyonundan alın
3. Tüpün ağzını alevden geçirip kapatın
4. Kültürü lam yüzeyine yayın, özeyi tekrar yakın
5. Kültürün kurumasını bekleyin
6. Lamın altından 3-4 kez ateşten geçirerek fikse edin
7. Lamın yüzeyini kaplayacak şekilde karbol fuksin dökün
8. Preparatı alttan ısıtarak (kaynatmadan) bakteri duvarının gevşeyip boyayı içeri almasını sağlayın (3-5 dakika)
9. Preparatın boyası buharlaşıp azalırsa, boya ilave edin
10. Preparatı suyla yıkayın
11. Preparatı asit-alkol karışımında kırmızı rengini giderin
12. Preparatı suyla yıkayın
13. Lam yüzeyine metilen mavisi dökün, 1 dakika bekleyin
14. Preparatı suyla yıkayın, kurutma kağıdı ile kurutun
15. Preparat yüzeyine bir damla immersiyon yağı damlatarak X100 objektifle inceleyin

UYGULAMA 8 : SONUÇ VE YORUM

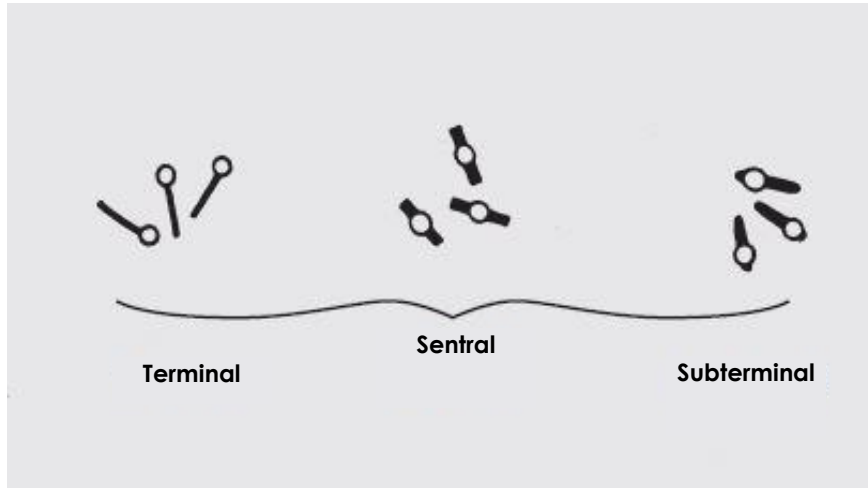
13. BAKTERİ SPORLARI

Bazı bakteriler, çevresel koşulların değişmesiyle — özellikle besin eksikliği, pH değişimleri, sıcaklık dalgalanmaları ve nem oranındaki düşüş gibi durumlarda — **spor** oluşturma yeteneğine sahiptir. Spor oluşumu, bakterilerin genetik olarak programlanmış bir hayatta kalma stratejisidir. Bu yapıların temel işlevi, bakterinin olumsuz çevresel koşullara karşı direncini artırmak ve koşullar iyileştiğinde yeniden vejetatif forma dönüşümünü sağlamaktır.

Sporlar, sitoplazma içerisinde oluşan ve çok dayanıklı, katmanlı yapılardır. Sıcaklığa, kuruluğa, radyasyona ve kimyasal maddelere karşı yüksek direnç gösterirler. Spor çapının bakteri gövdesinin çapından büyük olması durumunda, bakteri hücresi mikroskop altında şişkin görünür. Bu morfolojik özelliğe sahip bakterilere *Clostridium* türleri örnek verilir. Spor çapı, bakteri gövdesine eşit ya da daha küçükse ve hücre şişkin görünmüyorsa bu bakteriler genellikle *Bacillus* türleridir. *Bacillus* cinsi bakteriler **aerob**, *Clostridium* cinsi ise **anaerob** özellik gösterir.

Sporun çapı bakteri gövdesinin çapından büyük ise, bakteri gövdesi şişkin görünüm alır. Bu görünümdeki bakteri grubuna *Clostridium* denir.

Sporun hücre içindeki konumuna göre sınıflandırma da yapılır. Sporlar, oluştukları bakterinin bir ucunda bulunursa **terminal spor**, ucuna yakın bir kısımda bulunursa **subterminal spor**, tam ortada yer alırsa **santral spor** adını alır (Şekil 13.1).



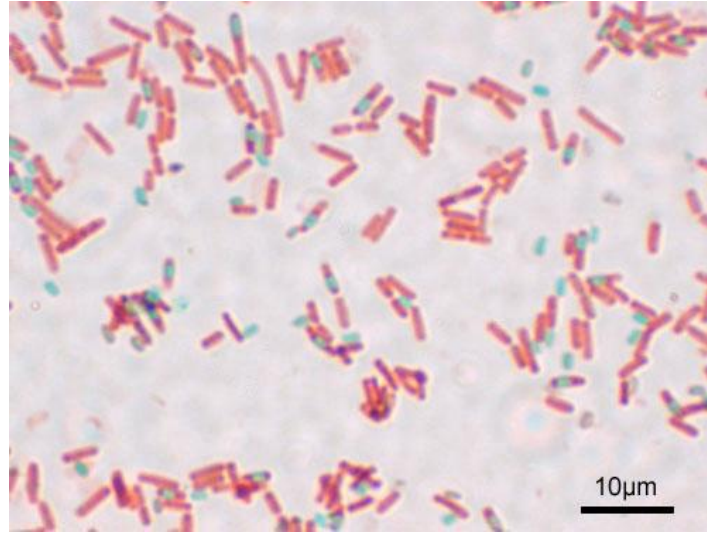
Şekil 13.1. Sporların hücre içi konumuna göre isimlendirilmesi⁴²

13.1. RAKETTA BOYANMA YÖNTEMİ

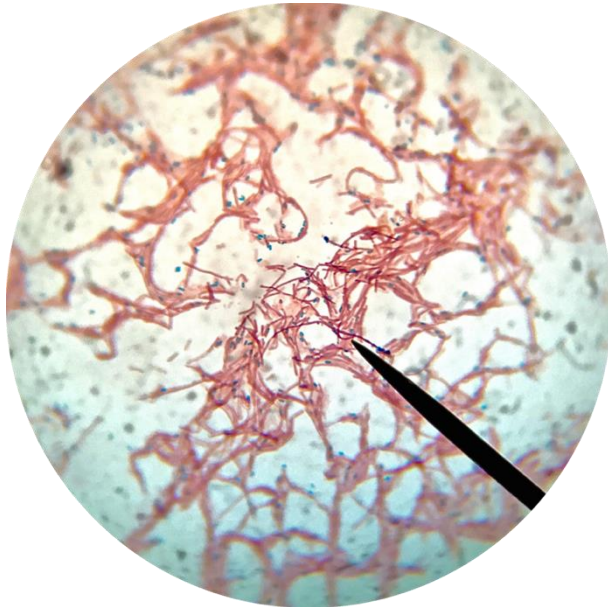
Bakteri sporlarının mikroskopik olarak gözlemlenmesi, sporların kalın ve dirençli yapıları nedeniyle standart boyama yöntemleriyle mümkün değildir. Bu nedenle özel boyama tekniklerine başvurulur. Raketta boyama yöntemi (Schaeffer-Fulton) en yaygın kullanılan spor boyama yöntemlerinden biridir. Bu teknikte, sporlar için kullanılan malakit yeşili boyası, lam alttan ısıtılarak uygulanır. Isı etkisiyle boyanın sporun içine nüfuz etmesi sağlanır. Daha sonra

preparat yıkanarak, safranin gibi kontrast boya ile vejetatif hücreler boyanır. Böylece mikroskop altında sporlar yeşil, vejetatif hücreler ise kırmızı/pembe olarak görünür.

Bu teknik, özellikle spor oluşturan *Bacillus* ve *Clostridium* türlerinin teşhisinde kritik rol oynar ve tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılır (Şekil 13.2, 13.3).



Şekil 13.2. *Bacillus subtilis* spor yapıları (CC BY-SA 3.0).⁴³



Şekil 13.3. Endospor boyama ile görselleştirilmiş *Bacillus subtilis* hücreleri.

Kaynak: WMrapids, Wikimedia Commons (CC BY-SA 3.0)⁴⁴

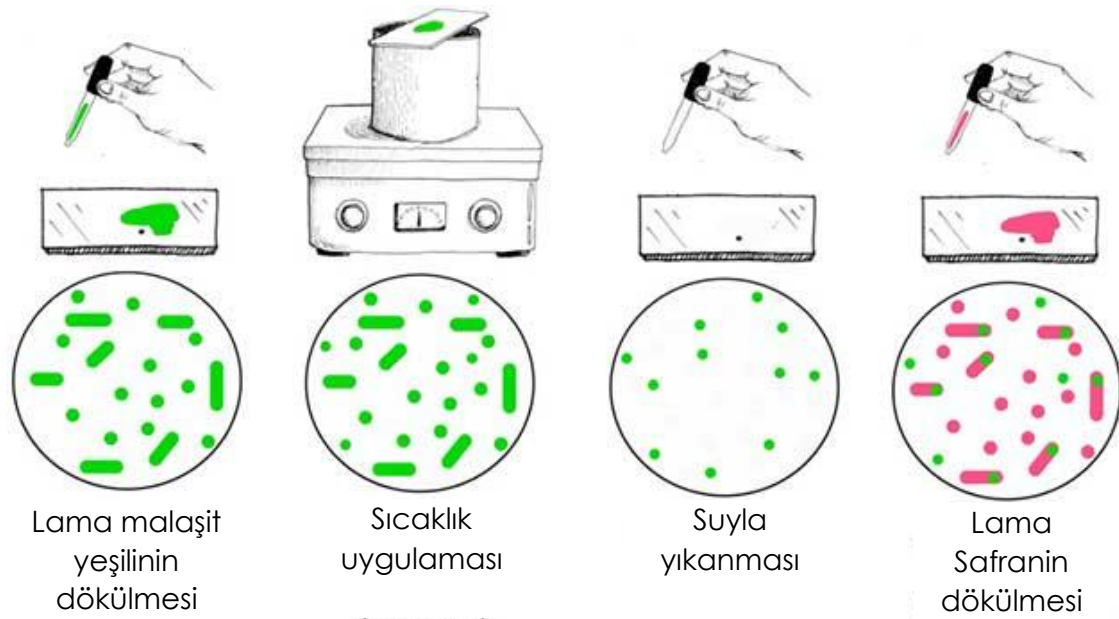
13.2. UYGULAMA 9 : RAKETTA BOYAMA YÖNTEMİ

MADDE VE MALZEMELER

- Sporlu bakteri kültürü
- Öze
- Bek alevi
- Lam
- Malaşit yeşili
- Fuksin
- Preparatı alttan ısıtmak için alevli çubuk
- Su

DENEYİN YAPILIŞI

1. Özeyi alevden geçirin, Kültür tüpünün ağzını alevden geçirerek açın
2. Öze dolusu kültürden alarak, tüpün ağzını tekrar alevden geçirerek kapatın
3. Kültürü lam yüzeyine yayın, preparatı alevden geçirerek fikse edin
4. Preparat yüzeyine malaşit yeşili dökün
5. Preparatı kaynatmadan, alttan alevli pamukla ısıtın
6. Preparatı suyla yıkayın
7. Lam yüzeyine fuksin dökün. 30 saniye bekleyin
8. Preparatı suyla yıkayın
9. Preparatı kurutma kağıdıyla kurutup, bir damla immersiyon yağı damlatın
10. Mikroskopta, 100X objektifle inceleyin.



Şekil 13.4. Endospor boyama işleminin şematik gösterimi.

Kaynak: microbiologyinfo.com sitesinden uyarlanmıştır 45. (Erişim: 25.07.2025)

UYGULAMA 9 : SONUÇ VE YORUM

14. MİKROORGANİZMALARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Mikrobiyolojik tanılama sürecinde, izole edilen mikroorganizmanın tanımlanmasından sonra uygulanacak tedavinin belirlenebilmesi için antibiyotik duyarlılık testlerine ihtiyaç duyulur. Bu testler, bakterinin hangi antibiyotiklere duyarlı olduğunu ve tedavide kullanılacak antibiyotiğin **en düşük etkili dozu** olan **Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)** düzeyini saptamayı amaçlar. Aynı zamanda, mikroorganizmanın mevcut antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç de bu testlerle ortaya konur. Uygun antibiyotiğin, uygun dozda ve sürede kullanılması hem tedavi başarısını artırır hem de antibiyotik direncinin gelişmesini önler.

Antibiyotik duyarlılık testleri, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) gibi uluslararası kuruluşların belirlediği standartlar doğrultusunda yürütülür.

14.1. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Antibakteriyel ilaçların, mikroorganizmaya maksimum etkiyi gösterirken konağa minimum zarar vermesi beklenir. Bu ilaçlar arasında antibiyotikler önemli bir yer tutar. Enfeksiyon bölgesinde antibiyotiğin etkili olabilmesi için, minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) düzeyinde bulunması hedeflenir.

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci, etki spektrumu içerisinde buldukları antibiyotiğin terapötik konsantrasyonuna karşı kazandığı dayanıklılıktır. Dirençli mikroorganizmaların çokluğu tedaviyi güçleştirmesi yanında ekonomik kayıplara da yol açmaktadır. Mikroorganizmaların geliştirdiği direnç tedaviyi zorlaştırır ve ekonomik kayıplara yol açabilir. Antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki bakterisidal (öldürücü) ya da bakteriyostatik (üremeyi durdurucu) etkileri çeşitli in vitro yöntemlerle belirlenebilir.

Bu nedenle, mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılık düzeylerinin bilinmesi; etkili, hedefe yönelik ve uygun dozda bir tedavi planlaması açısından büyük önem taşır. Ayrıca, dirençli suşların tespiti hem bireysel tedavi hem de toplum sağlığı açısından kritiktir. Enfeksiyonlarda uygun antibiyotiğin, uygun dozda ve uygun sürede kullanılması problemleri en aza indirebilir.

14.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST YÖNTEMLERİ

Antibiyotik duyarlılık testleri genel olarak **katı besiyerlerinde difüzyon** ve **sıvı ve katı besiyerlerinde dilüsyon** yöntemlerine dayanır (Tablo 14.1).

Tablo 14.1. Antibiyotik duyarlılık testleri

Difüzyon	Dilüsyon	
Agar difüzyon	Sıvı besiyerinde dilüsyon	Agar dilüsyon
✓ Kuyu yöntemi	✓ Makrodilüsyon	✓ Yarı-katı agarda mikrodilüsyon
✓ Oluk yöntemi	✓ Mikrodilüsyon	
✓ Disk difüzyon yöntemi		

14.2.1. Katı Besiyerlerinde Difüzyon Yöntemleri

14.2.1.1. Kuyucuk difüzyon yöntemi:

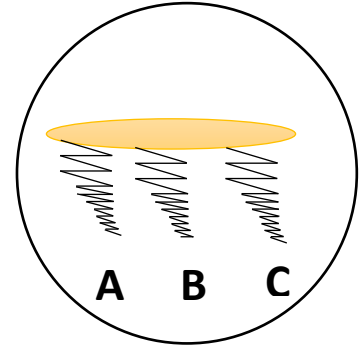
Bu yöntemde esas; besiyerinin yüzeyine açılan standart çaptaki kuyucuklara konulan etken maddenin çeşitli dilüsyonlarının katı besiyerine difüzyonu ve besiyerine önceden yayılmış mikroorganizmaların üremelerine etkisini gözlemlemektir(Şekil 14.1 ⁴⁶).



Şekil 14.1. Kuyucuk difüzyon yöntemi ⁴⁴

14.2.1.2. Oluk Yöntemi:

Katı besiyerine açılan uzunca bir oluk içine antimikrobiyal madde çözeltisi konur. Açılan oluğa, farklı noktalardan degecek şekilde çeşitli mikroorganizmalar çizilir. Oluktan difüze olan antimikrobiyal maddenin, çizilen mikroorganizmanın üremesine etkisine bakılır. Bu yöntemde tek antimikrobiyal madde ve çok sayıda mikroorganizma denenebilir (Şekil 14.2).



Şekil 14.2. Oluk yöntemi

14.2.1.3. Disk Difüzyon Yöntemi (Kirby-Bauer Testi):

Katı besiyerine inoküle edilen mikroorganizmaların, besiyeri yüzeyine yerleştirilen disklerden difüze olan antibiyotiğe cevabı incelenir (Şekil 14.3⁴⁷). İnkübasyon süresi sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları, antibiyotiğin etkinliğini belirler. Zon çapları CLSI standartlarına göre yorumlanır.



Şekil 14.3. Disk Difüzyon yöntemi ⁴⁵

14.2.2. Antibiyotik Disk Hazırlığı (Uygulama için)

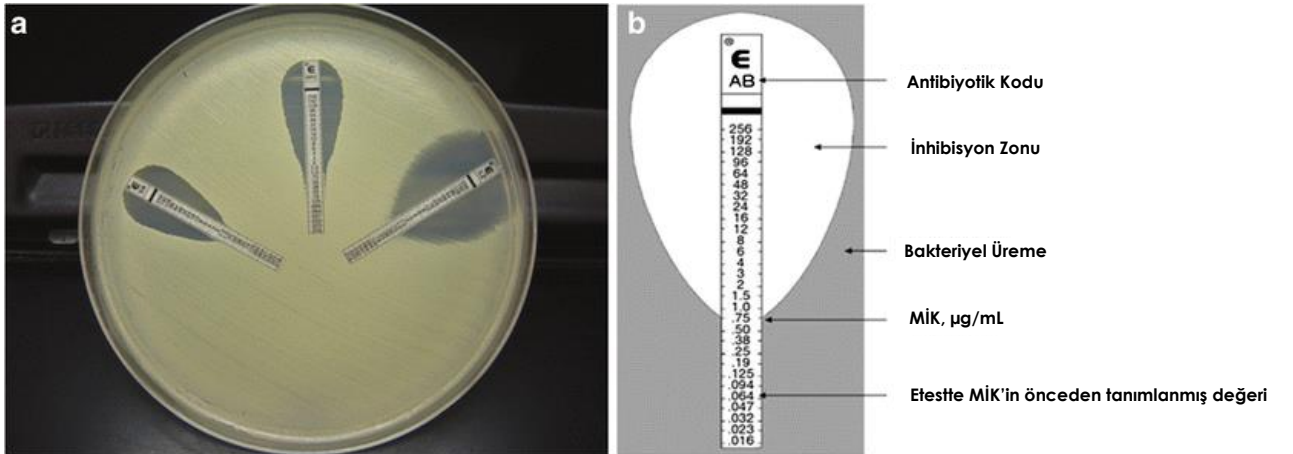
1. Yüksek kalite absorban Whatman Filtre Kağıdı No 6 kullanılır.
2. Delme makinesi ile 6 mm çaplı yuvarlaklar hazırlanır.
3. Daire şeklindeki kağıtlar petri kutularında, Pastör fırınında sterilize edilir.



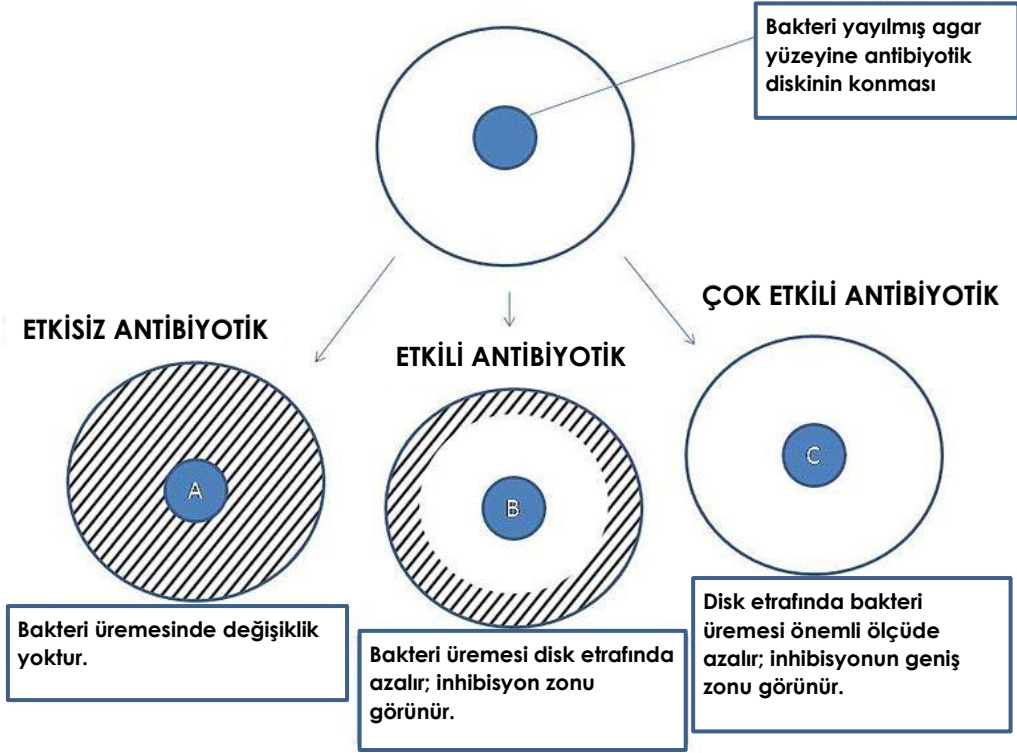
Şekil 14.4. Antibiyotik diskleri⁴⁸

14.2.3. Antibiyotik Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

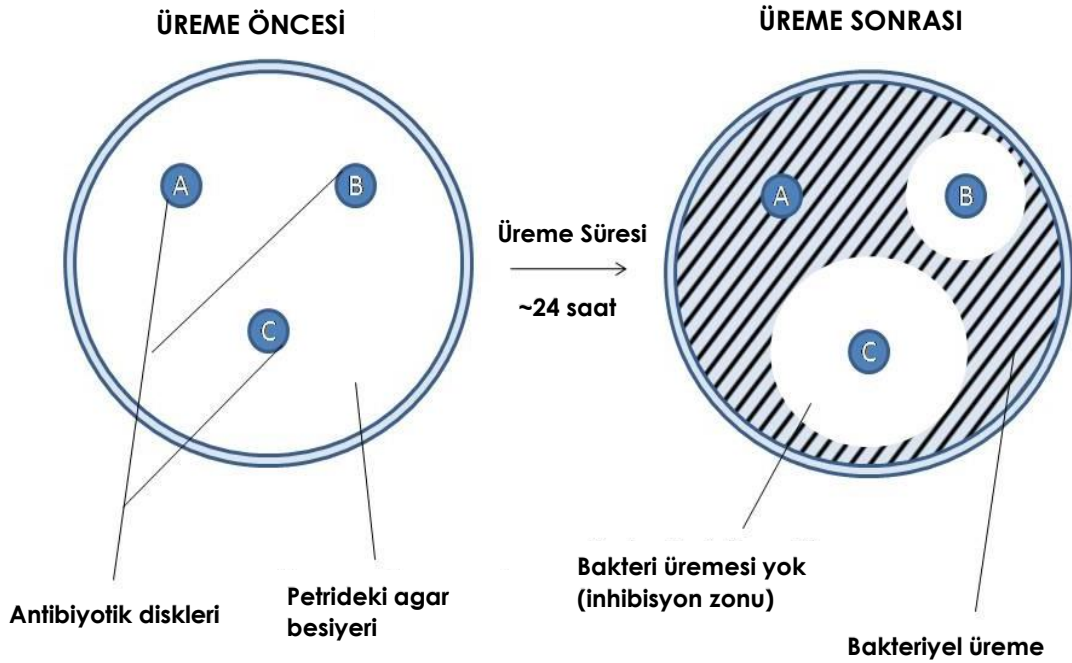
1. Antibiyotikler toz halinde ticari firmalardan temin edilir
2. Steril distile suda belli miktarda çözülen antibiyotik çözeltisine belli sayıda disk atılır. Disklerin sıvıyı emmeleri sonunda kurutulur ve desikatörde saklanır
3. Her diskin içerdiği antibiyotik miktarı bilinmektedir
4. Antibiyotik diskleri, ticari olarak piyasada bulunur. Her diskin üzerinde antibiyotiğin ismi ve konsantrasyonu yazılıdır



Şekil 14.5. Antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için yapılan test⁴⁹



Şekil 14.6. Agar disk difüzyon yönteminin sonuçlarına daha yakından bakış⁵⁰



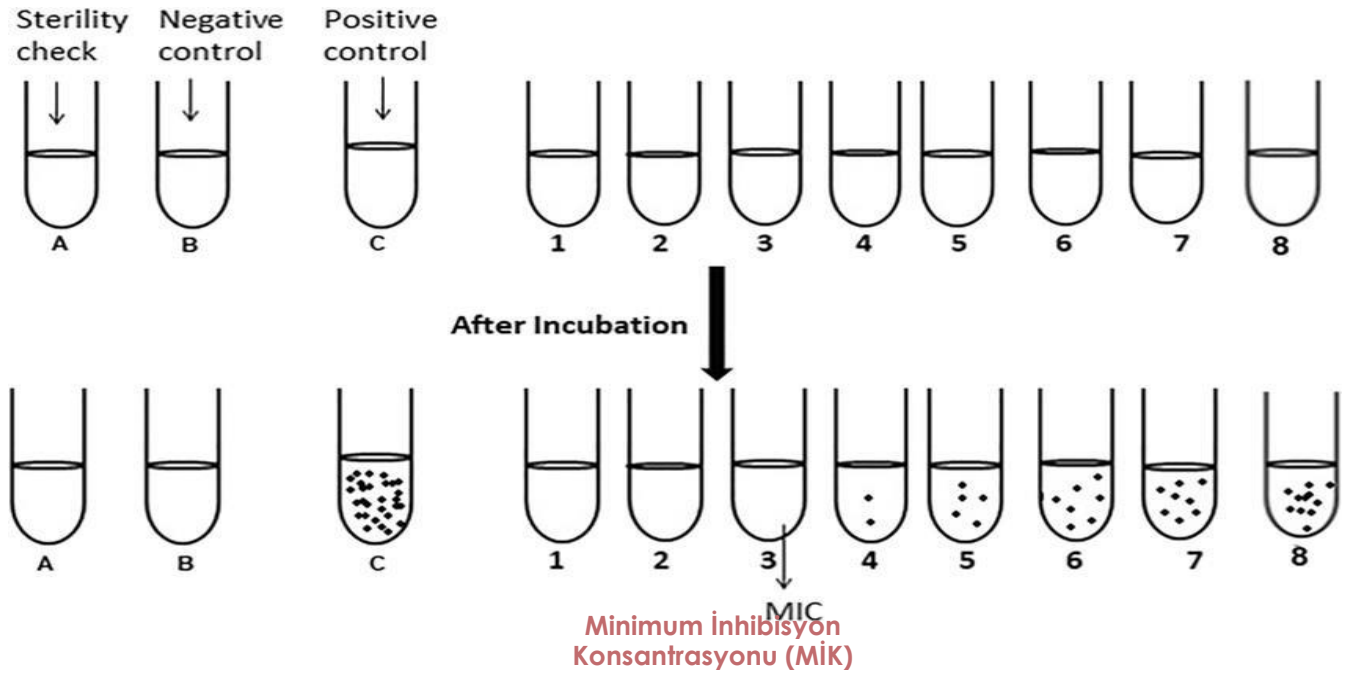
Şekil 14.7. Agar plak üzerinde antibiyotik disklerinin yerleşimi ve inhibisyon bölgeleri ile duyarlılık testi

14.2.4. Sıvı Besiyerleri Dilüsyon Yöntemleri

Bu yöntemin adım adım uygulaması ve örnek deney düzeni bir sonraki bölümde detaylandırılacaktır.

14.2.4.1. Makrodilüsyon

Büyük hacimli sıvı besiyerlerinde antibiyotiklerin seri dilüsyonları yapılır. Her tüpe eşit miktarda bakteri inoküle edilir. Berrak kalan tüp, antibiyotiğin bakteriyel üremeyi engellediği en düşük konsantrasyonu (MİK) verir (Şekil 14.8).



Şekil 14.8. Makrodilüsyon yöntemi⁵¹

14.2.4.2. Mikrodilüsyon

96 kuyulu plaklar kullanılarak yapılan bu yöntemde daha az reaktif kullanımıyla seri dilüsyonlar gerçekleştirilir. Daha ekonomik ve hızlıdır.

14.2.5. Agar Dilüsyon

14.2.5.1. Yarı-katı agarla mikrodilüsyon

Antibiyotikler Yarı-katı agar besiyerine belirli konsantrasyonlarda eklenir ve bakteriler bu ortamlara inoküle edilir. Üreme gözlemiyle MİK belirlenir.

14.3. UYGULAMA 10 : DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ

MADDE VE MALZEMELER

- Müller Hinton Agar
- Çeşitli mikroorganizma süspansiyonları (A, B, C)
- Belirli ticari antibiyotik diskleri
- Pens
- Öze

DENEYİN YAPILIŞI

1. Uygun besiyeri seçin.
2. McFarland 0.5 yoğunluğundaki bakteri süspansiyonunu yüzeye yayın, birkaç dakika yüzeyin kurummasını bekleyin.
3. Steril bir pens ile antibiyotik içeren diskleri petri kenarından en az 15 mm ve birbirinden en az 20-30 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirin.
4. Petrileri 37 °C'lik etüvde 16-20 saat inkübe edin.
5. Oluşan zon çaplarını ölçün.
6. Antimikrobiyal maddenin etkinliği, disklerin çevresinde oluşan üremenin engellendiği zonun ölçülmesiyle belirlenir.
7. Sonuçları, milimetrik olarak yapılan zon ölçümleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tablosunda yer alan sınır değerleriyle karşılaştırarak; izolatlar için dirençli, orta dirençli ve duyarlı olarak belirleyin.

Tablo 14.2 Antibiyotik inhibisyon zon çaplarına göre duyarlılık sınıflandırması ⁵²

Antibiyotiklerin adı (doz)	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Amoxicillin (30 μ g/disk)	≥ 18	14–17	≤ 13
Cloxacillin (5 μ g/disk)	≥ 25	22–24	≤ 21
Cephalothin (30 μ g/disk)	≥ 18	15–17	≤ 14
Cephradine (25 μ g/disk)	≥ 18	13–17	≤ 12
Cefuroxime (30 μ g/disk)	≥ 23	15–22	≤ 14
Cefixime (5 μ g/disk)	≥ 19	16–18	≤ 15
Kanamycin (30 μ g/disk)	≥ 18	14–17	≤ 13
Streptomycin (10 μ g/disk)	≥ 15	12–14	≤ 11
Neomycin (30 μ g/disk)	≥ 17	13–16	≤ 12
Vancomycin (30 μ g/disk)	≥ 12	10–11	≤ 9
Erythromycin (15 μ g/disk)	≥ 23	14–22	≤ 13
Azithromycin (15 μ g/disk)	≥ 18	14–17	≤ 13
Ciprofloxacin (15 μ g/disk)	≥ 21	16–20	≤ 15
Levofloxacin (5 μ g/disk)	≥ 17	14–16	≤ 13
Tetracycline (30 μ g/disk)	≥ 15	12–14	≤ 11
Doxycycline (30 μ g/disk)	≥ 14	11–13	≤ 10
Cotrimoxazole (25 μ g/disk)	≥ 16	11–15	≤ 10
Chloramphenicol (30 μ g/disk)	≥ 18	13–17	≤ 12

UYGULAMA 10 : SONUÇ VE YORUM

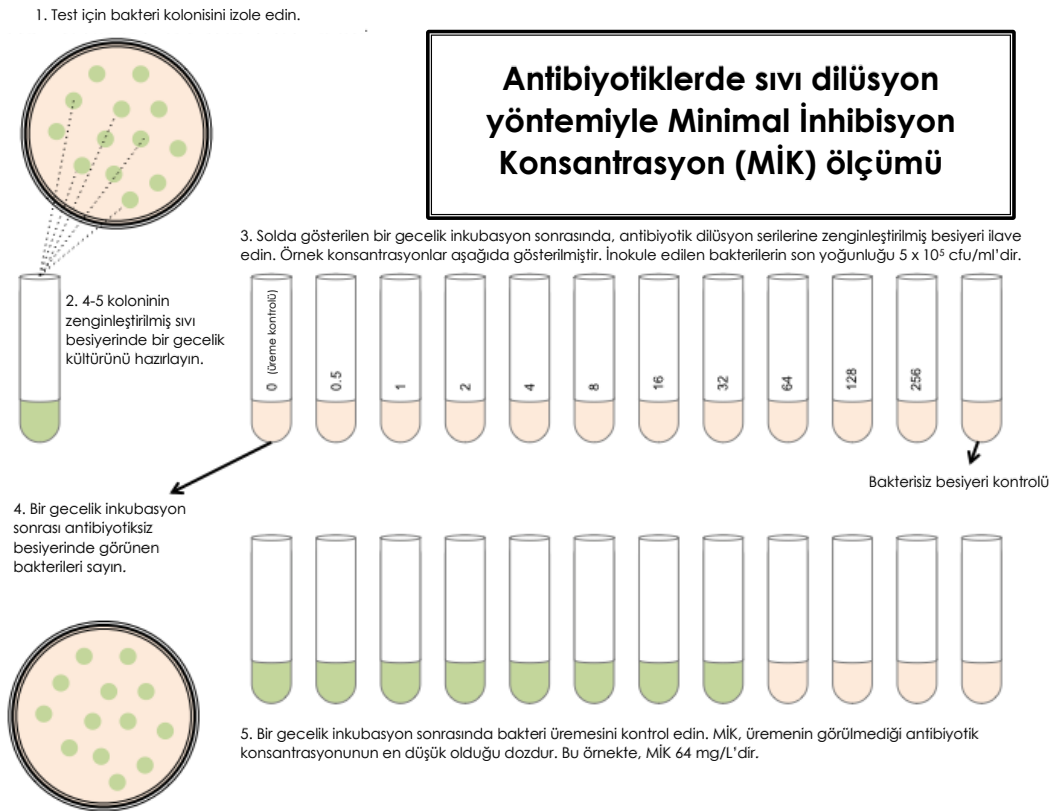
15. ANTİMİKROBİYAL MADDENİN MİNİMAL İNHİBİSYON KONSANTRASYONU (MİK)

Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK), bir antibiyotiğin mikroorganizmanın üremesini makroskopik olarak engellediği en düşük konsantrasyonu ifade eder. MİK tayininde kullanılan yöntem, test edilecek maddenin sayısı, miktarı, çözünürlüğü yanında kullanılacak mikroorganizmanın cinsine, özelliğine ve yoğunluğuna göre değişkenlik gösterebilir. Antibiyotik kullanırken dikkat edilecek ilk nokta, hedefteki mikroorganizmalara yeteri miktarda antimikrobiyal maddenin ulaşmasıdır. Doku ve vücut sıvılarında, MİK değerine ulaşan antibiyotik, uygulamayı başarılı kılar.

Antimikrobiyal etkinliği belirlemede; antiviral, antifungal ve antibakteriyel testler kullanılabilir. Antifungal ve antibakteriyel testlerde aynı teknik uygulanır fakat besiyerleri, inkübasyon koşulları farklıdır. Yeni maddelerin denendiği testlerde, kontrol referans bir madde olmalıdır.

MİK saptanmasında amaca uygun yöntemin doğru belirlenmesi gerekir. Sonuçların güvenilir ve tekrarlanabilir olmasına ilaveten en az emekle en kısa sürede ve en ekonomik olan yöntem tercih edilmelidir¹⁴. Aktivitesi araştırılan madde, tek ve saf bir madde olmadığı, solüsyon veya çözelti karışımı olduğu zaman test sonuçları, Minimal İnhibitör Dilüsyon (MİD) olarak belirtilir.

Antimikrobiyal bir maddenin MİK değeri, mikroorganizmanın makroskopik olarak üremesinin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonunu ifade eder. Uygulamada makrodilüsyon yöntemi daha çok emek ve madde gerektirdiği için mikrodilüsyon yöntemi yaygınlık kazanmıştır.



Şekil 15.1. Sıvı dilüsyon yöntemi⁵³

MİK tayini, sıvı besiyerinde, antibiyotiğin belirli konsantrasyonlarının belirli yoğunluktaki mikroorganizma süspansiyonları ile, 35-37°C'de, 16-20 saat inkübasyonu sonunda, antimikrobiyal maddenin hangi sulandırımına kadar mikroorganizma üzerine etkili olduğunun belirlenmesi prensibine dayanır. **Antimikrobiyal bir maddenin MİK değeri**, bakterinin makroskopik olarak üremesinin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonunu ifade eder.

Seyreltme duyarlılık testleri yeni antimikrobiyal ajanlar için yapılan dilüsyon testlerinden elde edilen sonuçlar MİK sonuçları üç kategori olarak belirlenir.

1. Duyarlı
2. Orta derecede duyarlı
3. Dayanıklı

İlgili firma tarafından, antimikrobiyal referans maddeler son kullanma tarihleri, jenerik isimleri, potensleri belli olarak sağlanmalıdır. Bu maddeler +20°C veya daha soğuk yerlerde ve desikatör içinde saklanmalıdır.

Antimikrobiyal ajanların stok çözeltisinin hazırlanması için su dışındaki kullanılması gereken çözücülere örnek Tablo 15.1.'de verilmiştir.

Tablo 15.1. Antimikrobiyal ajanlar ve çözücülerine örnekler

Antimikrobiyal Ajan	Kullanılan Çözücü
Amoksisilin	Fosfat tamponu (pH 6.0)
Kloramfenikol	%95 Etanol
Seftazidim	Sodyum karbonat
Rifampin	Metanol

Antimikrobiyal maddenin stok çözeltisi, uygun çözücüsü ile aşağıdaki formül uyarınca hazırlanır.

- **Ağırlık (mg):** Hazırlanacak stok çözeltide kullanılacak antimikrobiyal maddenin miktarı
- **Hacim (mL):** Hazırlanacak çözeltinin toplam hacmi
- **Konsantrasyon (µg/mL):** Hedeflenen çözeltinin konsantrasyonu
- **Potens (µg/mg):** Etkin maddenin saflığı veya gücü (örneğin üretici tarafından verilen değer)

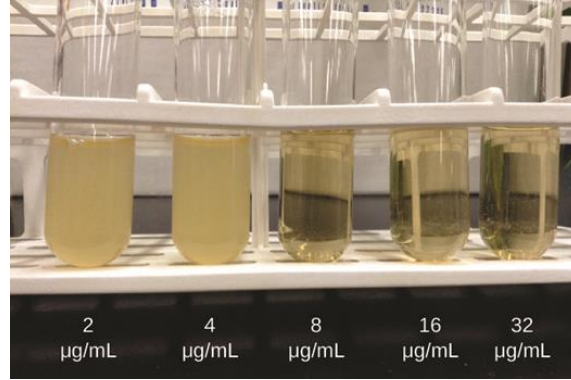
$$\frac{\text{Ağırlık (mg)} = \text{Hacim (mL)} \times \text{Konsantrasyon}(\mu\text{g/mL})}{\text{Potens}(\mu\text{g/ml})}$$

veya

$$\frac{\text{Hacim (mL)} = \text{Ağırlık (mg)} \times \text{Potens}(\mu\text{g/ml})}{\text{Konsantrasyon}(\mu\text{g/mL})}$$

15.1. MAKRODİLÜSYON

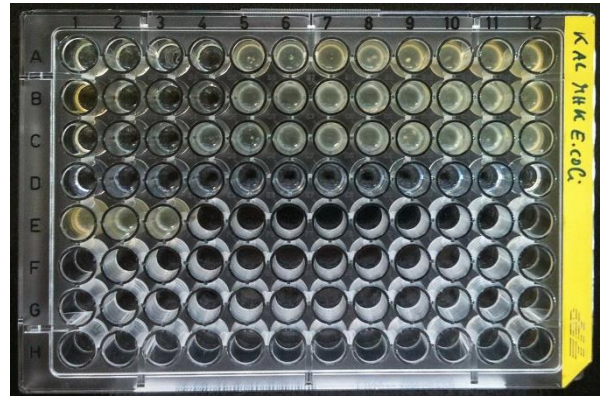
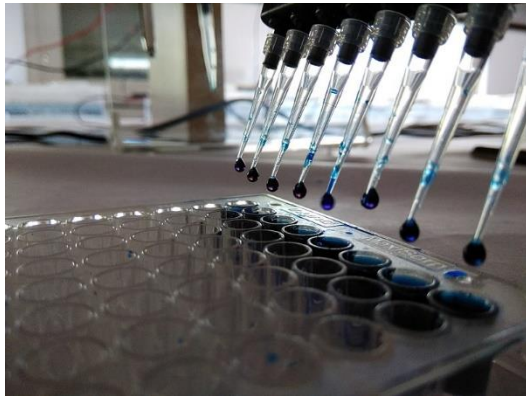
Konsantrasyonu belli antimikrobiyal maddenin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra seri tüplerde sıvı besiyeri ile iki katlı dilüsyonları yapılır. Dilüsyon serilerindeki her tüpe MacFarland 0.5 yoğunluğundaki mikroorganizma süspansiyonu inoküle edilir. Uygun süre sonunda üreme makroskopik olarak değerlendirilir.



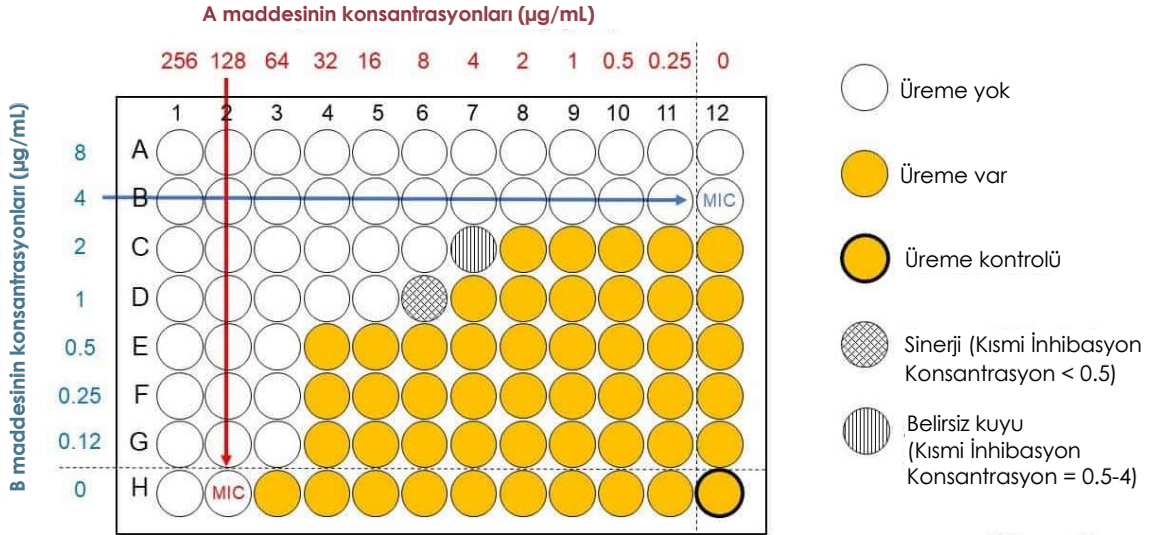
Şekil 15.2. Makrodilüsyon yöntemi ile MİK tayini ⁵⁴

15.2. MİKRODİLÜSYON

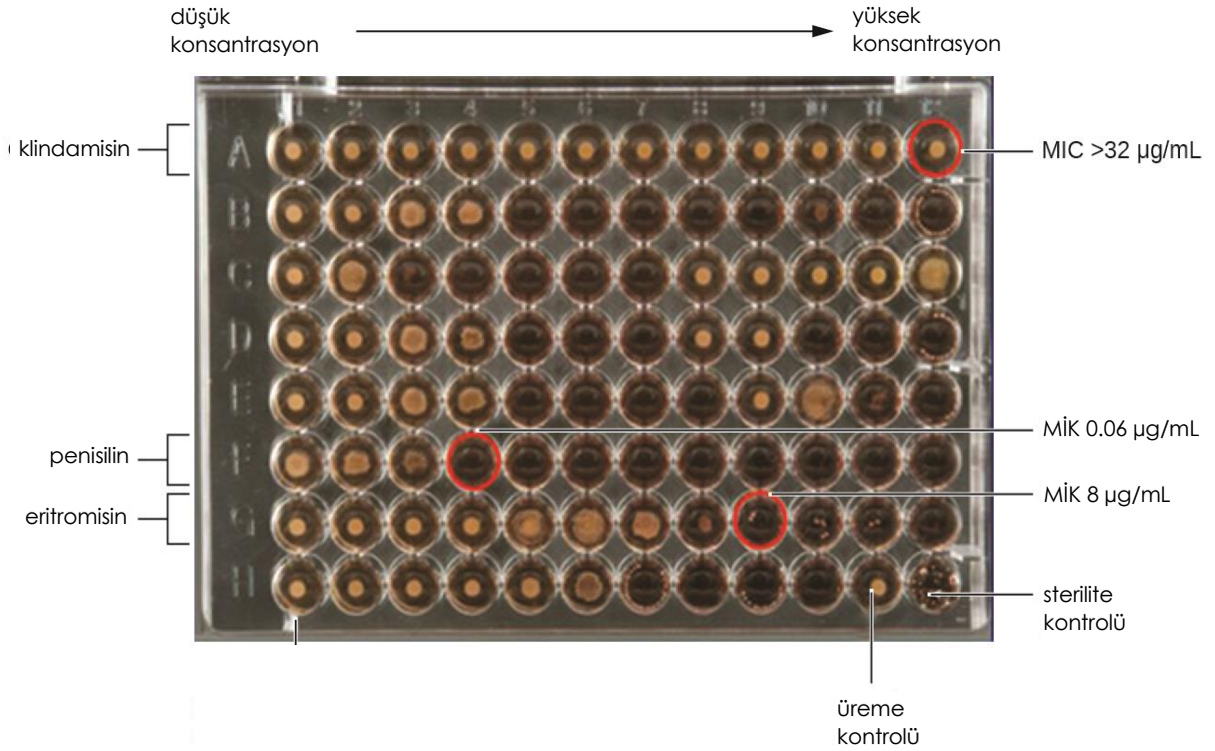
Mikrodilüsyon yöntemi, antibiyotik duyarlılık testlerinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde, 96 kuyucuklu, konik, düz ya da yuvarlak tabanlı mikropalaklar tercih edilir (Şekil 15.3, 15.4, 15.5). Antibiyotik dilüsyonları, çok kanallı pipetlerle kuyucuklara aktarılır. Uygulamadaki sorunların ve madde-malzeme miktarının en aza indiği mikrodilüsyon yöntemi en çok kullanılan yöntemdir.



Şekil 15.3. Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan çok kanallı pipet ⁵⁵ ve 96 kuyulu plak ⁵⁶



Şekil 15.4. Mikrodilüsyon yöntemi şematik görünüm ⁵⁷



Şekil 15.5. Mikrodilüsyon yöntemi ⁵⁸

15.3. UYGULAMA 11 : MİK BELİRLENMESİ

MADDE VE MALZEMELER

- Steril test tüpü serileri
- 1, 5, 10 ml'lik pipetler
- Müller Hinton Sıvı Besiyeri ve Müller Hinton Agar
- Toz halindeki ticari antibiyotikler
- Farklı mikroorganizma kültürleri
- Çeşitli çözücüler

DENEYİN YAPILIŞI

1. Her mikroorganizma için ayrı olmak üzere seri halinde hazırlanmış steril test tüplerine 2 ml Müller- Hinton Broth koyun.
2. Kullanılacak antibiyotikten, konsantrasyonu 1000 µg/ml olacak şekilde formüle uygun olan miktarda tartın. Distile su, dimetil sülfoksit, metanol, polietilen glikol, laktik asit veya fosfat tamponu (pH 6-8) gibi kendisine uygun bir çözücünün uygun miktarında çözün.
3. Antibiyotiğin hazırlanan konsantrasyonundaki stok çözeltisinden, birinci tüpe 2 ml koyun.
4. Homojen karışım sağlanıp her seferinde 2 ml aktarımlar yaparak çift katlı dilüsyon serileri hazırlayın. Her aktarımda farklı pipet kullanın.
5. Sondan bir önceki tüpten 2 ml dışarı atın. Bu tüp besiyeri kontrolü olup, buna antibiyotik koymayın.
6. Testte çözücü ve mikroorganizma kontrollerini de yapın.
7. Standart mikroorganizmanın bir gecelik taze kültüründen MacFarland 0.5 yoğunluğundaki kültür süspansiyonunu hazırlayın.
8. Tüm dilüsyon serileri üzerine 0.02 ml kültür süspansiyonu damlatın.
9. Üremenin varlığını 37°C'lik etüvde bir gece inkübasyon sonrası makroskopik olarak tüplerdeki bulanıklığa bakarak değerlendirin
10. Üremenin engellendiği son tüpteki antimikrobiyal madde konsantrasyonunu MİK olarak kaydedin
11. Antimikrobiyal maddenin bakteriyostatik veya bakterisit etkilerinin belirlenmesi için, MİK tüpünden temiz bir besiyerine ekim yapıp 37°C'de bir gece inkübe edin
12. Mikroorganizmalar ürememiş ise, antimikrobiyal maddenin etkisi bakterisit, yeni besiyerinde üremişse etki bakteriyostatiktir.

UYGULAMA 11 : SONUÇ VE YORUM

16. FARMASÖTİK FORMLARIN KONTAMİNASYONU

Farmasötik endüstrisinde kontaminasyon; hammadde, yardımcı maddeler, ekipman, ambalaj, personel, hava, su ve üretim tesisinden kaynaklanabilir. Farmasötik sahada mikrobiyolojik kontrollerin yalnızca bitmiş ürünlerde yapılması yeterli değildir.

Uluslararası Eczacılık Federasyonu (FIP), Amerikan Farmakopesi ve İngiliz Farmakopesi ilaçların içerebileceği mikroorganizma limitlerini belirlemiştir.

Göz preparatları, parenteral preparatlar, açık yara ve yanıklarda uygulanan ilaçlar steril olmak zorundadır. Diğer ilaç formülasyonlarının gram veya mililitresindeki total aerobik bakteri sayısı 1 000, mantar sayısı 100'ü geçmemelidir.

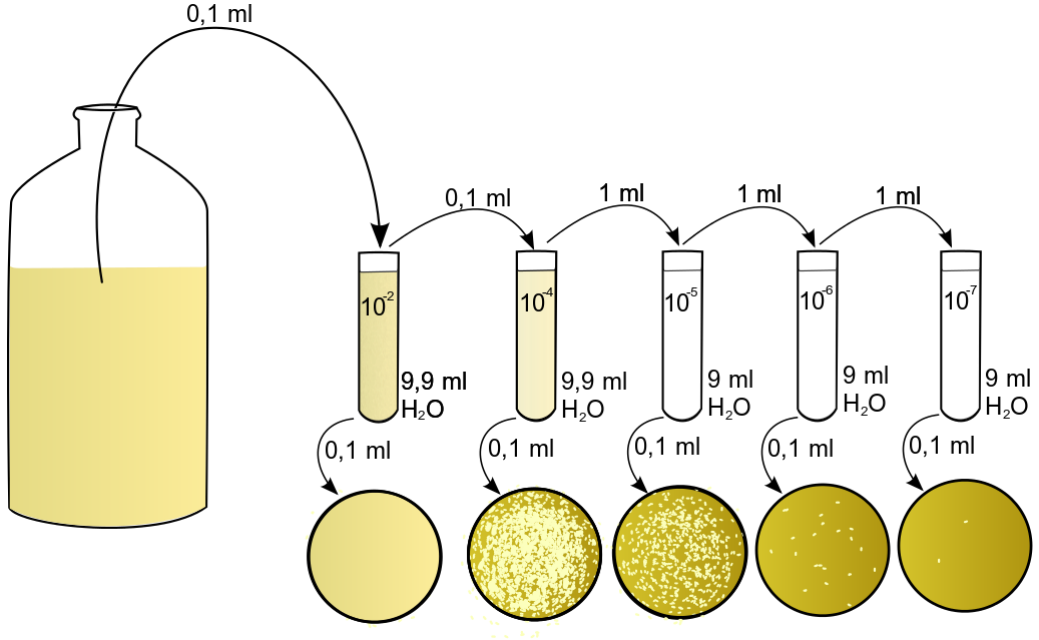
Ayrıca bu ürünlerde *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *E.coli* bulunmamalıdır. Transdermal preparatların 1 g veya ml 'indeki total aerobik bakteri ve mantar sayısı 100'ü, pediatrik preparatların 1 g veya 1 ml'sinde total aerobik bakteri sayısı 500'ü, total mantar sayısı 50'yi geçmemelidir.

Kozmetik ürünlerin çoğu steril değildir ve steril olması gerekmez. Bununla birlikte, kozmetik üründe, mikroorganizmaya bağlı olarak, bazı spesifik sınır değerler vardır. Bu ürünler ***S. aureus***, ***P. aeruginosa***, ***Salmonella spp.***, ***Shigella spp.***, ***E. coli*** bakterilerini **hiç içermemelidir**.

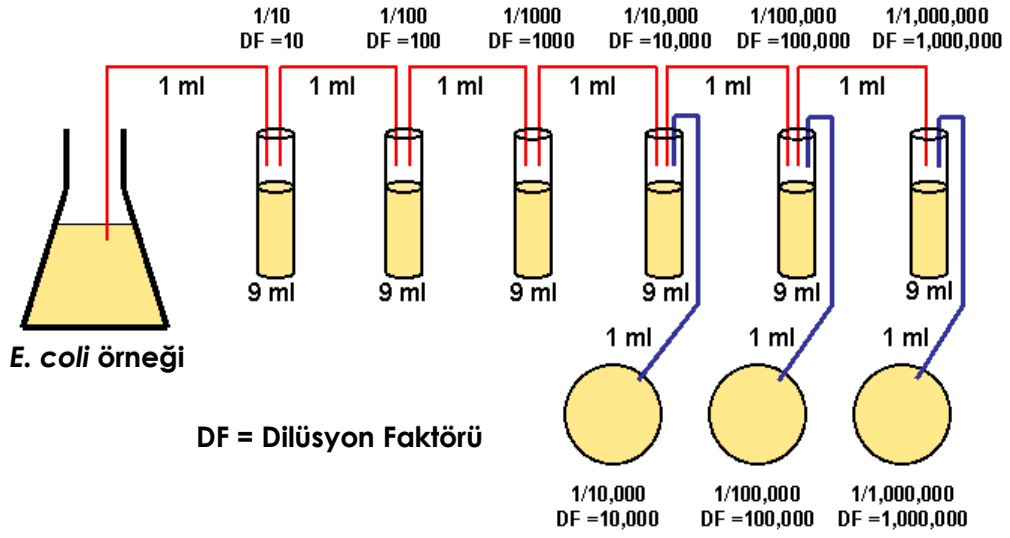
Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik kalite sınırları, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ile uyumlu olarak **Cosmetic Toiletries and Perfumery Association (CTPA)** tarafından belirlenmiştir. Buna göre, gram veya mililitrede saprofit mikroorganizma sayısı 1000'i, bebek ürünlerinde ise 100'ü geçmemelidir.

Tablo 16.1. Mikrobiyolojik Limitler (1 g veya 1 mL'de)

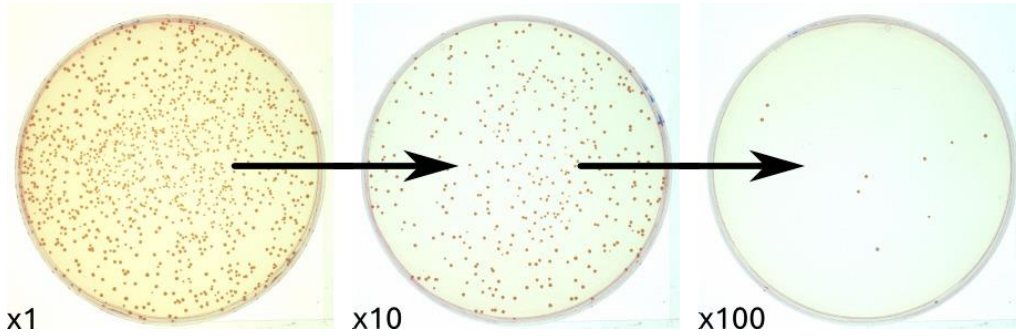
Ürün Türü	Total Aerob Bakteri Sayısı	Mantar Sayısı
Farmasötik formlar	10 ³	10 ²
Transdermal preparatlar	10 ²	10 ²
Bebek kozmetik ürünlerinde	10 ²	10 ²
Pediatrik preparatlar	5 × 10 ²	10 ²
Enjektabl preparatlar	–	–
Göz damlaları	–	–
Göz ve göz çevresinde kullanılan kozmetik ürünlerde	5 × 10 ²	10 ²
Diğer kozmetik ürünlerde	10 ³	10 ²



Şekil 16.1. Beş adımda bakterilerin seri seyreltilmesi ⁵⁹



Şekil 16.2. Seri seyreltme yöntemi ⁶⁰



Şekil 16.3. Bakterilerin seri seyreltilmesi ve petriye ekimi ⁶¹

16.1. UYGULAMA 12 : FARMASÖTİK FORMLARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

MADDE VE MALZEMELER

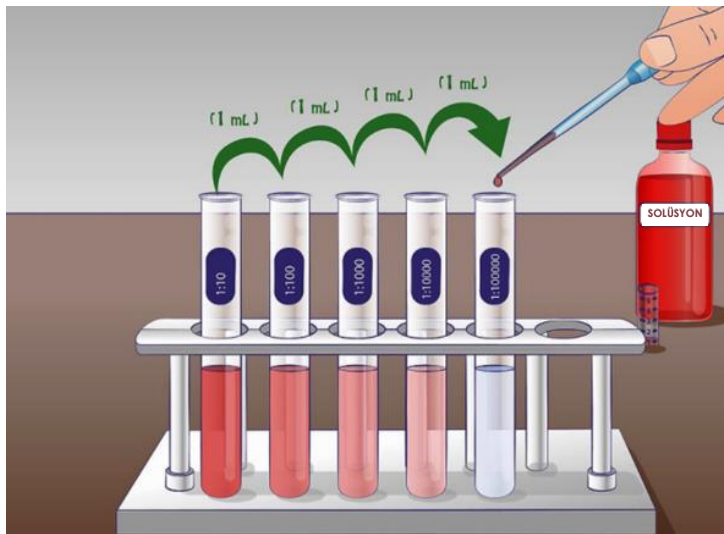
- Steril test tüpü serileri
- 1, 5, 10 ml lik pipetler
- Müller Hinton Broth
- Müller Hinton Agar
- Çeşitli çözücüler
- Örnek ilaç veya kozmetik ürünler
- Öze

DENEYİN YAPILIŞI

1. Testte incelenecek örneği (1 g veya 1 ml), uygun çözücüde, steril manyetik karıştırıcı veya pipetleme ile homojen olarak karıştırın
2. İki dizi halinde steril test tüplerine 9 ml sıvı besiyeri koyun
3. Çözücüde hazırlanmış bilinen konsantrasyondaki örneğin stok sulandırımından, birinci tüpten başlayarak 1 ml koyup homojen karışım sağlayın ve her seferinde 1 ml aktarımlar yaparak on katlı dilüsyonunun yapın. Sonuncu tüpten 1 ml atın.
4. Petri kutularının her birisine karşılığındaki tüplerin sulandırım oranlarını yazın. Her bir sulandırmadan 3 ayrı petriye 100 mikrolitre ekin
5. Petri kutularını bir gece 37 °C'de inkübe edin
6. Ertesi gün oluşan kolonileri sayın. Ortalama 30-300 koloni oluşan plaklar değerlendirmeye alınır. Koloni oluşturan birim sayısını= CFU= Colony Forming Unit belirleyin ve aşağıdaki formüle göre ml deki mikroorganizma sayısını hesaplayın

$$N = \overline{X}_{cfu} \times \frac{1}{v} \times D$$

- N: Örnek içindeki toplam mikroorganizma sayısı (1 ml)
- \overline{X}_{cfu} : En az 3 petride sayılan koloni oluşturan birimlerin (CFU) ortalaması
- v: İnokülasyon hacmi (mL)
- D: Seyreltme katsayısı



Şekil 16.4. Dilüsyon ⁶²

UYGULAMA 12 : SONUÇ VE YORUM

17. EKLENTİ I- Laboratuvarlarda Çalışma Güvenliği

Mikrobiyolojik materyalle çalışılan laboratuvarlarda çalışanların enfeksiyöz ajanlardan korunması ve çevre güvenliği için standart uygulamaların tümünde uyulması gerekli temel kurallar vardır:

1. Laboratuvar uygulamalarında kullanacak malzemeler uygulama sırasında laboratuvarında bulundurulmalıdır.
2. Laboratuvar çalışmaları sırasında beyaz önlük giyilmelidir.
3. Laboratuvarlarda yemek, içmek, sakız çiğnemek ve sigara içmek yasaktır.
4. Laboratuvarda çalışırken eller ağza, burna, yüze veya göze sürülmemelidir ve saçların toplanmış olması gerekmektedir.
5. Preparatların boyama işlemlerinde; fiksasyon için bek alevi, dekolorizasyon için ise alkol kullanılmaktadır; bu işlemler sırasında alkol ile bek alevine yaklaşılmalıdır.
6. Herhangi bir kazaya neden olmamak için laboratuvar sorumlusundan habersiz hiçbir işlem yapılmamalı, kültür tüplerinin kırılması gibi laboratuvar kazalarında dezenfeksiyonun sağlanması için laboratuvar yetkililerine zaman geçmeden bilgi verilmelidir.
7. Kontamine öze, pipet vb. bankaların üzerine konulmamalı, öze bek alevinde flambe edilip soğuması beklendikten sonra bir sonraki kullanım için yerine kaldırılmalıdır. Diğer kontamine malzemeler (tüp, pipet, vs.) ise dezenfektan içeren beher veya küvetler içine bırakılmalıdır.
8. Mikroskoplar kurallara uygun kullanılmalı; ksilol ve gazlı bez yardımı ile temizlenerek bırakılmalıdır. Bankolar laboratuvar sorumlusunun verdiği dezenfektan ile temizlenmelidir.
9. Laboratuvardan çıkmadan hemen önce eller yıkanmalıdır.
10. Kontamine öze, pipet vb. bankaların üzerine konulmamalı, öze bek alevinde flambe edilip soğuması beklendikten sonra bir sonraki kullanım için yerine kaldırılmalıdır. Diğer kontamine malzemeler (tüp, pipet, vs.) ise dezenfektan içeren beher veya küvetler içine bırakılmalıdır.
11. Mikroskoplar kurallara uygun kullanılmalı; ksilol ve gazlı bez yardımı ile temizlenerek bırakılmalıdır. Bankolar laboratuvar sorumlusunun verdiği dezenfektan ile temizlenmelidir.
12. Laboratuvardan çıkmadan hemen önce eller yıkanmalıdır.

Tablo 17.1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından laboratuvar çalışmaları için mikroorganizmalar dört risk grubuna ayrılmıştır

Grup	Tanım	Örnek Mikroorganizmalar	Biyogüvenlik Seviyesi	Kullanım Alanları / Laboratuvar Türü
Grup 1	Bireysel ve toplumsal riski olmayan ya da bu riskin önemli ölçüde az olduğu mikroorganizmalar. İnsanda enfeksiyona neden olmadığı kesin olarak bilinen mikroorganizmalar.	<i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Escherichia coli</i>	Seviye 1	Temel / Öğretim / Araştırma Laboratuvarları
Grup 2	İnsanlarda hastalık yapabilen, ancak etkili tedavi ve korunma yolları bulunan mikroorganizmalar. Toplum sağlığı açısından risk sınırlıdır.	<i>Bacillus cereus, Bacteroides fragilis, Borrelia burgdorferi, Clostridium spp., Campylobacter jejuni, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida spp.</i> ve daha fazlası	Seviye 2	Temel / Klinik Mikrobiyoloji / Halk Sağlığı / Araştırma Laboratuvarları
Grup 3	Toplumsal risk düşük, bireysel risk yüksek; etkili tedavi ve korunma yöntemleri mevcuttur.	HIV, Hepatit B, D, C virüsleri; <i>Bacillus anthracis, E. coli</i> O157:H7, <i>Brucella</i> türleri, <i>Mycobacterium tuberculosis, Salmonella typhi, Yersinia pestis</i> vb.	Seviye 3	Tecrit / Özel Tanı / Araştırma Laboratuvarları
Grup 4	Hem bireysel hem toplumsal riskin yüksek olduğu, etkili korunma ve tedavi yöntemlerinin genellikle bulunmadığı mikroorganizmalar.	Herpesvirus simiae, Kırım-Kongo Hemorajik Ateş virüsü, Ebola virüsü	Seviye 4	Maksimum Tecrit / Çok Tehlikeli Patojen Çalışma Laboratuvarı

18. EKLENTİ II- MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KULLANILAN MALZEME VE CİHAZLAR

Laboratuvarda kullanılan malzemelerin kolay temizlenebilir, sterilizasyona dayanıklı materyalden olmasına özen gösterilmelidir.

Cam Aletler Açıklama

Tüpler Numune alma ve saklama için kullanılan cam tüpler.

Pipetler Cam pipet veya otomatik pipet, sıvı ölçmek ve aktarmak için.

Pasteur Pipeti İnce uçlu, sıvı aktarımında kullanılan cam pipet.

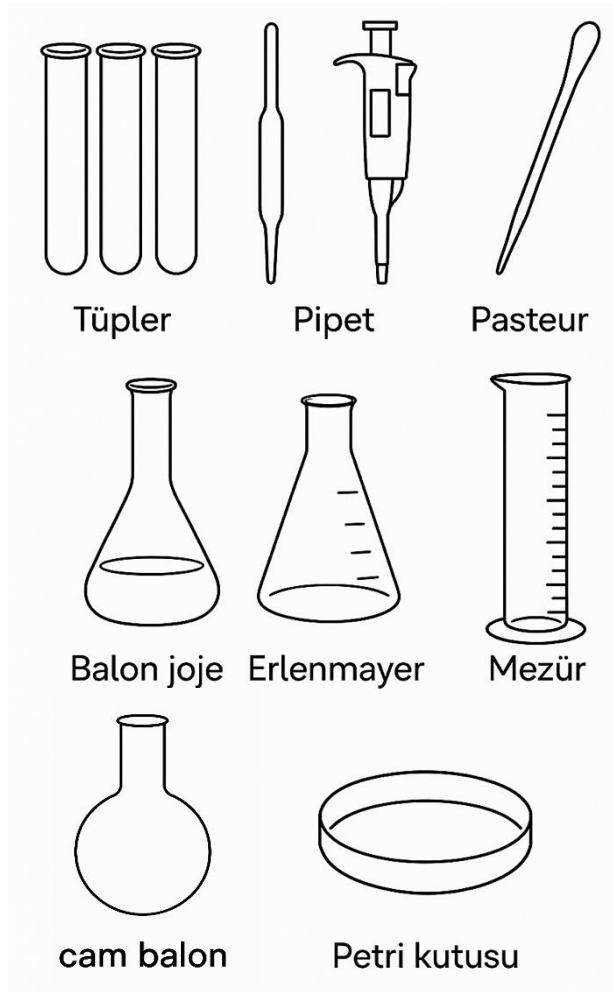
Balon Joje Sabit hacimli çözelti hazırlamak için kullanılır.

Erlenmayer Konik tabanlı, karıştırma ve saklama için uygun cam kap.

Mezür Sıvı hacmini ölçmek için kullanılan silindirik cam kap.

Cam Balon Çeşitli hacimlerde, kimyasal reaksiyon ve çözelti hazırlama için.

Petri Kutusu Mikrobiyolojik kültürlerin yetiştirilmesinde kullanılan cam veya plastik kap.



Şekil 18.1. Laboratuvarda kullanılan cam aletler

Ekimde Kullanılan Gereçler	Açıklama
Eküvyon	Ekim işlemlerinde kullanılan özel bir aparattır.
Öze	Kültür ortamlarından örnek almak için kullanılan çubuk.
İğneler	Mikroorganizma ekiminde kullanılan steril iğneler.
Bunsen Beki	Isıtma ve sterilizasyon için kullanılan gazlı ısı kaynağı.



Şekil 18.2. Ekim işlemlerinde kullanılan gereçler

Cihazlar	Açıklama
Santrifüj Cihazı	Numuneleri yüksek hızda döndürerek yoğunluk farklarına göre ayıran cihaz.
Pasteur Fırını	Yüksek sıcaklıkta (genellikle 160-180 °C) kuru ısı sterilizasyonu için kullanılan laboratuvar cihazı.
Etüv (İnkübatör)	Sabit sıcaklıkta örnekleri bekletmek için kullanılan cihazdır.
Benmari (Su Banyosu)	Sıcak su içinde dolaylı ısıtma yöntemiyle numuneleri ısıtan sistem.
Otoklav	Basınç ve yüksek sıcaklıkta sterilizasyon yapan cihazdır.
Steril Kabin (Laminar Flow)	Hava akışı ile steril ortam sağlayan çalışma kabini.
Hassas Terazi	Miligram hassasiyetinde tartım yapan laboratuvar terazisi.
Kaba Terazi	Daha büyük numunelerin tartımı için kullanılan terazi.
pH Metre	Sıvıların pH değerini dijital olarak ölçen cihaz.
Turnusol Kağıdı	Sıvıların asidik veya bazik olduğunu renk değişimiyle hızlıca gösteren test kağıdı.



Santrifüj cihazı



Pasteur fırını



Etüv (inkübatör)



Benmari (su banyosu)



Otoklav



Steril Kabin (Laminar Flow)



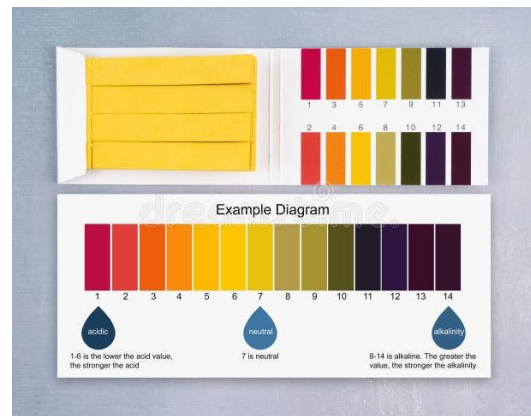
Hassas terazi



Kaba terazi



pH metre



Turnusol kağıdı

Şekil 18.3. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan cihazlar

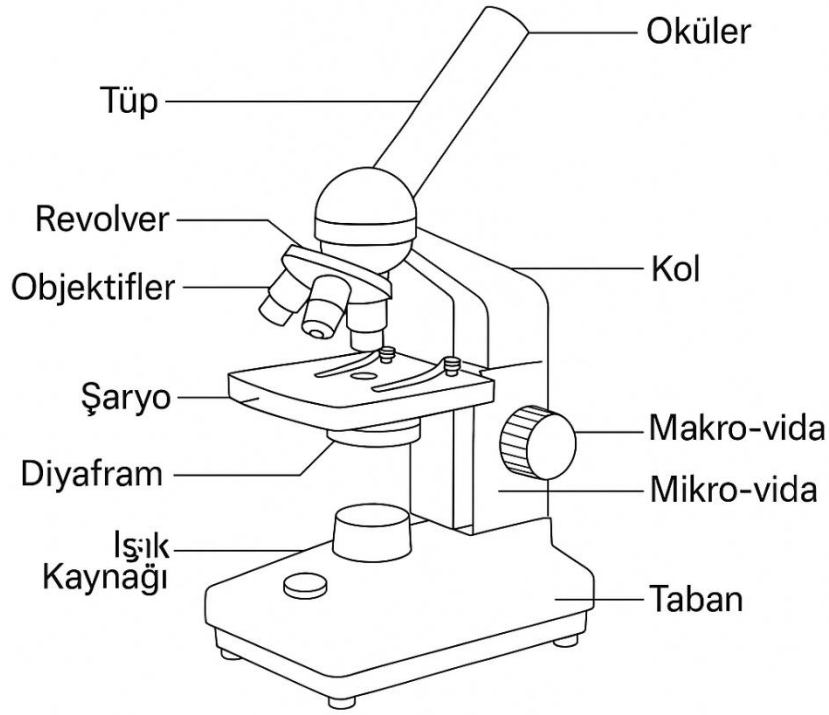
19. EKLENTİ III

19.1. IŞIK MİKROSKOBU

İlk optik alet, 1595 yılında Hollandalı genç Zacharias Janssen tarafından icat edilmiştir. Bu mikroskobun büyütme gücü yaklaşık 3x-9x arasında olup, içi boş bir tüpün her iki ucuna lens yerleştirilerek oluşturulmuştur¹¹.

1660 yılında Robert Hooke mikroskobunu geliştirerek meşe ağacı kabuklarındaki mantarı incelemiştir. Aynı dönemde Anton van Leeuwenhoek, tek mercekli basit bir mikroskop kullanmıştır. Leeuwenhoek, bakterileri ve protozoonları gözlemleyen ve tanımlayan ilk kişidir¹.

En yaygın kullanılan mikroskop, ışık mikroskobudur. Preparat, ışık demetleri ile aydınlatılır ve görüntü iki mercek sistemi yardımıyla büyütülür. İlk görüntü objektifte oluşur ve okülerde tekrar büyütülerek gözlemlenir. Görüntünün toplam büyüklüğü, objektif ve oküler büyütmelerinin çarpımı ile hesaplanır^{9,10}.



Şekil 19.1. Işık Mikroskobu

Tüp: Okülerin yerleştirildiği, genellikle 45° eğimli borudur. Tekli ise *monoküler*, çiftli ise *binoküler* olarak adlandırılır.

Revolver: Objektiflerin bağlı olduğu döner düzendir. Genellikle 3 ila 6 objektif takılabilir.

Tabla (Şaryo): Preparatın konulduğu, sağa-sola ve yukarı-aşağı hareket ettirilebilen düz metal yüzeydir.

Makrovida ve Mikrovida: Revolverin yukarı-aşağı hareketini sağlayarak kaba ve ince netlik ayarı yapar.

Gövde: Tüp, revolver ve diğer parçaları taşıyan ana iskelet yapıdır.

Taban: Mikroskobun zemine sağlam basmasını sağlayan parçadır ve genellikle ışık kaynağını barındırır.

Aydınlatma Kaynağı: 10–30 watt'lık ampullerle sağlanan ışık sistemidir.

Ayna: Bazı mikroskoplarda ışık kaynağı yerine çevresel ışığı yansıtma için kullanılır.

Diyafram: Işık yoğunluğunu ayarlamak için kullanılır.

Kondansatör: Kondansatör, preparatın altında yer alan ve ışığı örneğe yönlendiren bir mercekle sistemidir⁶. Aşağıdaki lambadan veya aynadan gelen ışığı yoğunlaştırarak tabla üzerindeki örneği aydınlatır.

Objektifler: Genellikle 4x, 10x, 40x ve 100x büyütme merceklidir. 100x objektif imersiyon yağı (*immersion oil*) ile kullanılır.

Oküler: Gözlemciye en yakın olan optik parçadır. Objektiften gelen görüntüyü ters çevirerek gözlemciye iletir ve genellikle 8x–10x büyütme sağlar.

➤ **Rezolüsyon Mesafesi (Çözünürlük Sınırı)**

Mikroskobun çözünürlük gücü, yani iki noktanın birbirinden ayrı olarak görülebilme sınırı, kullanılan ışığın dalga boyu (λ) ile objektif merceğin sayısal açıklığına (NA - *Numerical Aperture*) bağlıdır. Bu ilişki aşağıdaki formül ile ifade edilir:

$$R = \frac{K * \lambda}{NA}$$

- ✓ R : Rezolüsyon mesafesi (nm veya μm cinsinden),
- ✓ λ : Kullanılan ışığın dalga boyu (nm),
- ✓ NA : Sayısal açıklık (merceğin ışığı toplama kapasitesi),
- ✓ K : Sabit, genellikle **0.61** olarak alınır.

➤ **Sayısal açıklık (NA)**, objektifin gelen ışığı toplama ve yansıtma kapasitesidir ve aşağıdaki formül ile tanımlanır:

$$NA = n * \sin(\theta)$$

- n : Ortamın kırıcılık indisi (örneğin hava için 1.0, immersiyon yağı için ≈ 1.5),
- θ : Merceğin optik eksenine ile topladığı en geniş ışık ışınının yaptığı açı.

19.2. DİĞER MİKROSKOPLAR

19.2.1. Floresan Mikroskobu

Florokrom maddelerin floresans vermelerinden yararlanılmıştır. Florokrom maddeler, UV ışınlarını absorbe eder. Absorbe edilen UV ışınları, görülebilir dalga boyunda yeniden yansıtılır.

19.2.2. Elektron Mikroskobu

Işık kaynağı yerine, metal bir çubuktan yayılan elektronlar kullanılır. Transmission elektron mikroskobu (TEM) ve Scanning elektron mikroskobu (SEM) çeşitleri vardır. Viruslar incelenir. Objektifleri manyetik plaklardan oluşur. Elektronlar vakumlu ortamdan geçer.

19.2.3. Karanlık Saha Mikroskobu

Traponema pallidum gibi 0.2 µm'den ince veya iyi boyanmayan mikroorganizmaların görünmesi için kullanılır. Kondansatörleri farklıdır. Ortası siyah boyayla karartılmış kondansatör, kaynaktan gelen ışınların geçmesine engel olur ve örnekler aydınlanmaz.

19.2.4. Faz Kontrast Mikroskobu

Kondansatörün altına yerleştirilmiş ve objektif içinde bulunan faz levhasıyla aynı geometriye sahip halka şeklindeki açıklığı olan diyaframdan geçen ışınlar önce kondansatöre sonra preparata gelir.

Preparata gelen ışınların bir kısmı biyolojik yapılardan geçerken bir miktar kırılır ve kırılmamış ışına göre daha yavaş hareket ettiğinde dalga boyunun $\frac{1}{4}$ ü kadar geri kalır. Faz değişiminin derecesi, biyolojik yapının kalınlığına ve kırılma indeksine bağlıdır.

20. KAYNAKLAR

1. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case, Derek Weber and Warner B. Bair. *Microbiology: An Introduction*. 13th ed. Pearson; 2021.
2. Brasier M, Green O, Lindsay J, Mcloughlin N, Steele A, Stoakes C. Critical testing of Earth's oldest putative fossil assemblage from the ~3.5Ga Apex chert, Chinaman Creek, Western Australia. *Precambrian Research*. 2005;140(1-2):55-102. doi:10.1016/j.precamres.2005.06.008
3. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(12):6578-6583. doi:10.1073/pnas.95.12.6578
4. Ron Milo, Rob Phillips. *BioNumbers: The Database of Useful Biological Numbers*. Harvard University Accessed July 21, 2025. <https://bionumbers.hms.harvard.edu/search.aspx>
5. Peters SE, Husson JM, Wilcots J. The rise and fall of stromatolites in shallow marine environments. *Geology*. 2017;45(6):487-490. doi:10.1130/g38931.1
6. Alcamo, I. Edward. *Fundamentals of Microbiology*. 6th ed. Jones and Bartlett Learning; 2001.
7. Milojevic T, Weckwerth W. Molecular Mechanisms of Microbial Survivability in Outer Space: A Systems Biology Approach. *Front Microbiol*. 2020;11. doi:10.3389/fmicb.2020.00923
8. Szydlowski LM, Bulbul AA, Simpson AC, et al. Adaptation to space conditions of novel bacterial species isolated from the International Space Station revealed by functional gene annotations and comparative genome analysis. *Microbiome*. 2024;12(1). doi:10.1186/s40168-024-01916-8
9. Pelczar, Michael J.; Chan, E. C. S.; Krieg, Noel R. *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill; 1993.
10. Madigan, Michael T.; Bender, Kelly S.; Buckley, Daniel H.; Sattley, Whitney M.; Stahl, David A. *Biyoloji ve Mikrobiyoloji Temelleri*. 15th ed. Pearson Education; 2018.
11. Prescott, L. M.; Harley, J. P.; Klein, D. A. *Prescott's Microbiology*. 10th ed. McGraw-Hill Education; 2017.
12. Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87(12):4576-4579. doi:10.1073/pnas.87.12.4576
13. Cleveland Clinic. Bacteria shapes: Cocci, bacilli, spirochetes. Published online 2022. <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/24494-bacteria>
14. Abbasoğlu, U., Çevikbaş, A. *Farmasötik Mikrobiyoloji*. 2nd ed. Efil Yayınevi; 2015.
15. Fraise AP, Lambert PA, Maillard JY, eds. *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*. Blackwell Publishing Ltd; 2004. doi:10.1002/9780470755884
16. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. *Medical Microbiology*. 9th ed. Elsevier; 2021.
17. Bilgehan, H. *Klinik Mikrobiyoloji Tanı*. 3rd ed. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2002.
18. Sağlık Bakanlığı. *Ulusal Mikrobiyoloji Standartları: Laboratuvar Güvenliği Rehberi*. Sağlık Bakanlığı Yayınları; 2021.

19. Türk Standardları Enstitüsü – Avrupa Normu. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics – Test method and requirements (Phase 1). CEN/TC 216. Published online 2005.
20. Türk Standardları Enstitüsü – Avrupa Normu. (2013). Chemical disinfectants and antiseptics – Hygienic handrub – Test method and requirements (phase 2/step 2). CEN/TC 216. Published online 2013.
21. Abbasoğlu, U. Dezenfektanların mikroorganizmalar üzerine etkinliğini ölçen testler. In: 3. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongre Kitabı*. Bilimsel Tıp Yayınları; 2007:41-62.
22. Abbasoğlu, U. Dezenfektanlar: Sınıflama ve amaca uygun kullanım alanları. In: 6. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongre Kitabı*. ; 2009:109-120.
23. steane, rg. Microbiology Techniques. Biotopics.co.uk.
<https://www.biotopics.co.uk/microbes/tech.html>
24. Dennison, Kathy. Antibiotic Sensitivity Testing Using the Kirby-Bauer Method. *Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*. 1994;15:57-67.
25. Ossila. Preparation of Agar Plates. <https://www.ossila.com/pages/preparation-of-agar-plates>
26. Thermo Fisher Scientific. GENESYS Spectrophotometer Lesson Plan: OD600 Measurements. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/Flyers/genesys-od600-measurements-lesson-plan-FL64716.pdf>
27. A. Garo. *Saccharomyces Cerevisiae YGC Colonies*.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Saccharomyces_cerevisiae_YGC_colonies_50.jpg
28. Janice Haney Carr / CDC. *Pseudomonas Aeruginosa 01.*; 2006.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_01.jpg
29. Microbial Notes. Culturing Techniques: Types and Methods.
<https://microbialnotes.com/culturing-techniques-types-and-methods>
30. Biology Reader. Membrane Filtration Method – Definition, Diagram and Examples.
<https://biologyreader.com/membrane-filtration-method.html>
31. CDC/ Matthew J. Arduino. *Staphylococcus Aureus with Pigment.*; 2005.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_with_pigment.jpg
32. Y tambe. *Pseudomonas Aeruginosa Pyocyanin.*; 2006.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_pyocyanin.jpg
33. HansN. *Escherichia Coli Colonies on Sheep Blood Agar.*; 2019.
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=82877106>
34. HansN. *Pseudomonas Aeruginosa on Blood Agar.*; 2020.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_on_blood_agar.jpg
35. HansN. *Pseudomonas Aeruginosa, Trypticase Soy Agar.*; 2020.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_pigment_production.jpg
36. Turasayb. *Mikrobiyal Kolonilerde En Bilinen Morfolojik Görünüm Tipleri.*; 2021.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Koloni_morfolojisi.png

37. Biology Reader. Acid-Fast Staining – Principle, Procedure, Interpretation. Published online nd. <https://biologyreader.com/acid-fast-staining.html>
38. Sagar Aryal. Differences between Gram Positive and Gram Negative Bacteria. Published online 2018. <https://microbenotes.com/differences-between-gram-positive-and-gram-negative-bacteria/>
39. CoRus13. *Acid Fast Bacilli, Ziehl Neelsen Stain.*; 2019. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=80189336>
40. CDC/Dr. George P. Kubica. *Mycobacterium Tuberculosis Ziehl-Neelsen Stain.*; 1979. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=907611>
41. Microrao. *Ziehl Neelsen Tekniği İle Boyanmış Balgam Örneği Yaymasında Görülen Mycobacterium Tuberculosis.*; 2009. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=7626737>
42. Tankeshwar Acharya. Endospore Staining: Principle, Procedure, Results. Published online January 21, 2020. <https://microbeonline.com/endospore-staining-principle-procedure-results/>
43. Elapied. *Bacillus Subtilis Spore.*; 2005. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacillus_subtilis_Spore.jpg?uselang=fr
44. WMrapids. *Bacillus Subtilis Endospore Stain.*; 2015. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=43944203>
45. Endospore Staining: Principle, Reagents, Procedure and Result. <https://microbiologyinfo.com/endospore-staining-principle-reagents-procedure-and-result/>
46. Bédard F, Hammami R, Zirah S, Rebuffat S, Fliss I, Biron E. Synthesis, antimicrobial activity and conformational analysis of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1 and analogs thereof. *Sci Rep.* 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-27225-3
47. Stefan Walkowski. *Antibiogram of Pseudomonas Aeruginosa on Mueller-Hinton Agar.*; 2014. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=36425858>
48. Jenkins, Rowena; Maddocks, Sarah. Chapter Four – Antimicrobial Testing. In: *Bacteriology Methods for the Study of Infectious Diseases, Editor(s): Rowena Jenkins, Sarah Maddocks.* Academic Press; 2019:73-97. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815222-5.00004-3>
49. Schumacher A, Vranken T, Malhotra A, Arts JJC, Habibovic P. In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(2):187-208. doi:10.1007/s10096-017-3089-2
50. Sommer36. A closer look at the results of an agar disk diffusion method. Wikimedia Commons. 2016. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=53687901>
51. Sommer36. The disk diffusion agar method tests the effectiveness of antibiotics on a specific microorganism. Wikimedia Commons. 2016. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=53687902>
52. Jenay DeCaussin. Makrodilüsyon. Wikimedia Commons. 2016. https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Fichier:Minimum_Inhibitory_Concentration.jpg

53. Little W, Black C, Smith AC. Clinical Implications of Polymicrobial Synergism Effects on Antimicrobial Susceptibility. *Pathogens*. 2021;10(2):144. doi:10.3390/pathogens10020144
54. Portland Community College, Cascade Microbiology Department. 17.6: The Emergence of Drug Resistance. LibreTexts Biology.
https://bio.libretexts.org/Courses/Portland_Community_College/Cascade_Microbiology/17%3A_Antimicrobial_Drugs/17.6%3A_The_Emergence_of_Drug_Resistance
55. ACHUTH P JAYARAJ. Multichannel pippette. Wikimedia Commons. 2017.
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=64658330>
56. A doubt. Escherichia coli MHK MIC 96 Mikrotiterplatte 449. Wikimedia Commons. 2014.
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=67373369>
57. Emery Pharma. Interpretation of Microdilution Results. Emery Pharma.
<https://emerypharma.com/solutions/cell-microbiology-services/minimum-inhibitory-concentration/>
58. lesley mcgee. Antimicrobial Resistance and Medical Devices. <https://www.cdc.gov/>.
<https://www.fda.gov/medical-devices/products-and-medical-procedures/antimicrobial-resistance-and-medical-devices>
59. Leberecht. Example of Serial dilution of bacteria in five steps. Wikimedia Commons. 2011.
https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Fichier:Verd%C3%BCnnungsreihe_mit_Ausplattieren.svg
60. Kumar SN, Sarode M, Ravi SHN. Synthesis of titanium dioxide thin films and its application in reducing microbial load of milk. Published online March 23, 2016. doi:10.1101/045179
61. Quentin Geissmann. Serial dilution and plating of bacteria. Wikimedia Commons. 2013.
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=28361719>
62. Grasso Luigi. Logarithmic dilution. Wikimedia Commons. 2019.
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=76044995>

21. DİZİN

A

- Aerob
- Agar difüzyon
- Agar dilüsyon
- Alkol-aseton karışımı
- Antimikrobiyal aktivite
- Aside dirençli bakteri
- Asit-alkol karışımı
- Ayrırcı besiyeri

B

- *Bacillus subtilis*
- Bakterisit
- Bakteriyostatik
- Basit boyama yöntemi
- Bazik boyalar
- Bek alevi
- Bileşik boyama yöntemi

C

- *Candida albicans*
- Canlı besiyeri
- *Clostridium*

Ç

- Çok kanallı pipet

D

- Dekolorizasyon
- Dezenfeksiyon
- Dirençli
- Disk difüzyon
- Duyarlılık

E

- Ehrlich Ziehl Neelsen boyama
- Eküvyon
- Eosin Metilen Blue (EMB)
- *Escherichia coli*
- Etilen oksit

F

- Farmasötik form
- Faz kontrast mikroskobu
- Fiksasyon
- Filtrasyon
- Flambe
- Floresan mikroskobu
- Fuksin

G

- Gram boyama

H

- Hemoliz

I

- Işık mikroskobu

İ

- İki katlı dilüsyon
- İnkubasyon
- İnkubator (etüv)
- İzolasyon

K

- Karanlık alan mikroskobu
- Katı basiyerikontaminasyon
- Koloni
- Kozmetik ürün
- Kristal viole
- Kuyu yöntemi
- Kültür

L

- Lugol

M

- MacFarland
- Makrodilüsyon
- Malaşit yeşili
- McConkey

- Metilen mavisi
- Mikrobiyolojik analiz
- Mikrodilüsyon
- Mikroplak
- Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK)
- Müller Hinton besiyeri
- *Mycobacterium tuberculosis*

N

- NCCLS
- Nötralleştirici madde
- Nötr boyalar

O

- Oluk yöntemi
- On katlı dilüsyon
- Orta dirençli
- Otoklav

P

- Pasaj
- Pastör fırını
- Potens
- *Pseudomonas aeruginosa*

R

- Rezolüsyon

S

- *Salmonella*
- Santral spor
- Sıvı besiyeri
- Sporlu bakteri
- Sterilizasyon
- *Streptococcus spp*
- Su banyosu
- Subterminal spor

T

- Terminal spor
- Tindalizasyon

U

- Ultraviole

Z

- Zon çapı