

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

LABORATUVAR

**KATI BESİYERİNE EKİM
725TTT102**

Ankara, 2011

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.

PARA İLE SATILMAZ.

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR.....	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. PETRİ KUTUSUNA/PLAK BESİYERİNE EKİM.....	3
1.1. Katı Besiyerine Ekimler.....	3
1.1.1. Tek Koloni Ekimi	4
1.1.2. Yaygın Ekim.....	16
1.1.3. Plak Besiyeri İçine Ekim (Dökme Plak)	22
UYGULAMA FAALİYETİ.....	24
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	30
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	31
2. TÜPTE KATI BESİYERİNE EKİM	31
2.1. Tüpte Yatık (Yatık Jeloza) Besiyerine Ekim.....	31
2.1.1. Tüpteki Yatık Besiyerine Çizgi Ekimi	31
2.1.2. Tüpteki Yatık Besiyerine Yüzey Ekimi	34
2.1.3. Tüpteki Yatık Besiyerine Özeyle Batırma ve Yüzey Ekimi.....	35
2.2. Tüpte Dik Besiyerine Ekim.....	36
2.2.1. Tüpteki Dik Besiyerine Batırma Kültürü	36
2.3. Dik Jeloza Besiyerine Çalkalama Kültürü Ekimi	38
UYGULAMA FAALİYETİ.....	39
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	41
MODÜL DEĞERLENDİRME.....	42
CEVAP ANAHTARLARI.....	44
KAYNAKÇA	45

AÇIKLAMALAR

KOD	725TTT102
ALAN	Tıbbi Laboratuvar
DAL/MESLEK	Tıbbi Laboratuvar Teknisyenliği
MODÜLÜN ADI	Katı Besiyerine Ekim
MODÜLÜN TANIMI	Mikrobiyolojik kültür örneklerini, uygun plak ve tüpte hazırlanmış katı besiyerlerine ekim tekniği ve becerilerinin kazandırıldığı öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/16
ÖNKOŞUL	Tıbbi Laboratuvarında Güvenlik Önlemleri, Mikrobiyolojik Analiz Öncesi Hazırlık, Sterilizasyon, Mikrobiyolojik Örnek ve Sıvı Besiyerine Ekim modüllerini başarmış olmak
YETERLİK	Katı besiyerine ekim yapmak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Tekniğine uygun plak besiyerlerine ve tüpte hazırlanmış katı besiyerlerine ekim yapmayı öğreneceksiniz. Amaçlar 1. Petri kutusu/plak besiyerine ekim yapabileceksiniz. 2. Tüplerde hazırlanmış katı besiyerlerine ekim yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Donanım: Ekim araç gereçleri, (iğne öze, luplu öze, eküvyon, drigalski spatülü vb.) hasta kültür örnekleri (gaita, balgam, idrar, boğaz, yara, BOS vb.) ekim yapılacak uygun plak ve tüpte hazırlanmış besiyerleri (kanlı agar, EMB, SS, çikolatalı agar, TSİ, KIA vb.) bunzen bek, güvenlik kabini Ortam: Mikrobiyoloji laboratuvarı ekim bölümü
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen modül sonunda ölçme aracı (çoktan seçmeli test, doğru-yanlış testi, boşluk doldurma, eşleştirme vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Hastadan alınan biyolojik ekim örneklerinde bulunan hastalık etkeni mikroorganizmaların uygun besiyerlerine ekimleri yapılarak laboratuvar ortamında kültürleri elde edilir. Mikroorganizmaların kültürlerinin elde edilmesinde uygun ekim ortamının hazırlanarak uygun besiyerlerine, ekim araç gereçleri ve çeşitli ekim teknikleri uygulanarak gerçekleştirilir.

Bu modülde petri kutularında ve tüpte hazırlanmış çeşitli katı besiyerlerine ekim araç gereçlerini kullanarak ekimle ilgili bilgiler bulunmaktadır.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgiler ile petri kutusu/plak besiyerine ekim yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında, hangi kültür örnek ekimlerinin yapıldığını araştırınız.
- Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında, kültür örneklerinin ekimi için kullanılan besiyerlerini araştırınız.

1. PETRİ KUTUSUNA/PLAK BESİYERİNE EKİM

1.1. Katı Besiyerine Ekimler

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında hastadan alınan inceleme örneklerinde hastalık etkenlerinin identifikasyonunun (tanımı) yapılması gerekmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında başvuru identifikasyon yöntemlerinden biri de etkenin uygun katı besiyerine ekim yapılarak kültür elde edilmesidir. Uygun katı besiyerlerinde kültürleri yapılmış mikroorganizmaların koloni özelliklerinden yararlanılarak diğer mikroorganizmalardan izolasyonları (ayırma işlemi) yapılır.

Kültür yöntemiyle mikroorganizmanın izolasyonunda uygun besiyeri seçimi önemlidir. Ekimi yapılacak örneğin hastadan alındığı bölge ve etken hakkındaki tahminler ekim yapılacak besiyeri seçiminde rol oynar.

Mikrobiyolojik örneklerinin ekimlerinin yapılacağı önemli katı besiyerleri:

- **Boğaz kültürleri:** Kanlı agar, çikolatalı agar
- **Gaita:** EMB, SS agar
- **Balgam:** Kanlı agar, çikolatalı agar, EMB, sabouraud agar
- **BOS:** Kanlı agar, çikolatalı agar, EMB
- **Kan:** Beyin – kalp infüzyonlu agar
- **İdrar:** Kanlı agar, EMB
- **Yara:** Kanlı agar, thioglikolatlı sıvı, EMB

Yukarıda belirtilen besiyerlerine ilave olarak inceleme örneklerinde bazı hastalıkların etkeni olan bakterilerin varlığı düşünülüyorsa bu etkene özel besiyerleri de ilave edilir. Gaitada *Vibrio cholerae*'dan şüphe ediliyorsa mansur agar besiyerine, boğaz kültüründe boğmacadan şüphe ediliyorsa bordet- gengou besiyerine ekimleri yapılır.

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında katı besiyerlerine ekimler; tek koloni, yaygın ekim ve besiyeri içine ekimler yapılır.

1.1.1. Tek Koloni Ekimi

Tek koloni ekiminde amaç, plak yüzeyine ekimi yapılacak mikroorganizma kolonilerini diğer bakteri kolonilerinden ayrı üretmektir.

Ekim örneğindeki hastalık yapıcı mikroorganizmanın örnekte bulunan diğer mikroorganizmalardan izolasyon ve idendifikasyonunun yapılması için öncelikle tek koloni elde edilmesi gerekmektedir.

Ekim örneği, plak besiyerinin yüzeyine öze ile tek koloni (seyreltme ekimi) ekim tekniği uygulanarak ekilir. Tek koloni ekiminde besiyerinin ilk ekim bölgeleri birbirine yakın şekilde çok sayıda bakteri içerirken son ekim alanlarında birbirlerine uzak çok az sayıda bakteri bulunur. Plak besiyerlerinde ayrı ayrı düşmüş bakteriler, diğer bakterilerden bağımsız şekilde üreyerek bakterinin genetik yapısına ve türünün özelliklerine uygun tipik koloni yapılarını oluştururlar.

Kolonilerin;

- Büyüklüğü,
- Biçimi,
- Yapısı,
- Rengi,
- Kokusu,
- Hemolitik aktivitesi (alyuvarları hemoliz etme) bakteri türlerinin ayırt edilmesinde önemli özelliklerdir.

Laboratuvara ilk defa gelmiş idrar, BOS gibi sıvı örnekler, gaita, balgam vb. katı örnekler ve bunların sıvı kültürlerinden plak yüzeyine tek koloni ekimleri yapılır.

Laboratuvara gelen mikrobiyolojik örneklerin alındıkları eküvyonlarla veya gaita, idrar, balgam vb. gönderildikleri steril kaplarından, eküvyon, öze, steril cam pipet, otomatik pipet vb. uygun ekim araçları kullanılarak aşağıdaki yöntemlerle plak besiyeri yüzeyine ekimleri yapılır.

1.1.1.1. Özeyle Tek koloni Ekimi

Laboratuvara gelen kültür örnekleri alındıkları eküvyonlarla veya gaita, idrar, balgam vb. gönderildikleri steril kaplardan uygun ekim araçlarından eküvyon ya da öze kullanılarak aşağıdaki yöntemle plak besiyeri yüzeyine aktarılır. Ayrıca besiyerinde üreyen mikroorganizma kolonilerinden bakteri idendifikasyonu yapmak için pasaj yönteminde de, öze kullanılarak tek koloni ekimleri yapılır.

- Örneklerin ekileceği plak besiyerinin alt kısmına hastaya ait bilgileri (hasta adı soyadı, protokol nu. ve ekim tarihlerini) yazınız.
- Homojen karışım sağlanmış kültür tüpü, tekniğine uygun şekilde sol elde tutulur.



Resim 1.1: Kültür tüpünü elde tutma

- Steril edilmiş luplu öze sol elde kalem gibi tutulur.



Resim 1.2: Tüp tıkaçının çıkarılması



Resim 1.3: Tüp tıkaçının çıkarılması

- Örnek tüpü tıkaçı tekniğine uygun çıkarılır ve elde tutulur.



Resim 1.4: Tüp ağzını alevden geçirme

- Örnek tüpünün ağzı bek alevinden geçirilir.
- Örnek tüpünün ağzı alev şemsiyesi altındayken öze ucu tüp iç cidarına değdirilmeden dik bir şekilde daldırılır.



Resim 1.5: Özenin sıvı kültür tüpüne sokulması



Resim 1.6: Özenin sıvı kültür örneği içine daldırılması

- Luplu özenin uç kısmı sıvı içinde sallanarak örnek karıştırılır. Bir öze dolusu örnek alınır. Öze tüp cidarına değdirilmeden örnek tüpünden çıkarılır.



Resim 1.7: Ekim örneği alınmış özenin tüpten çıkarılması



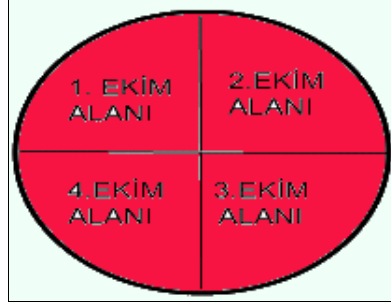
Resim 1.8: Bir öze dolusu sıvı ekim örneği

- Örnek tüpünün ağzı bek alevinden geçirilerek pamuk tıkaç kapatılır ve tüp sporuna yerleştirilir.



Resim 1.8: Örnek alınmış kültür tüpünün spora yerleştirilmesi

- Ekim yapılacak plak besiyeri, sol elin baş ve işaret parmağı serbest kalacak şekilde, avuç içinde kavranarak hafif dik konumda tutulur.
- Plak besiyeri yüzeyinde hayali olarak dört ekim alanı oluşturulur.



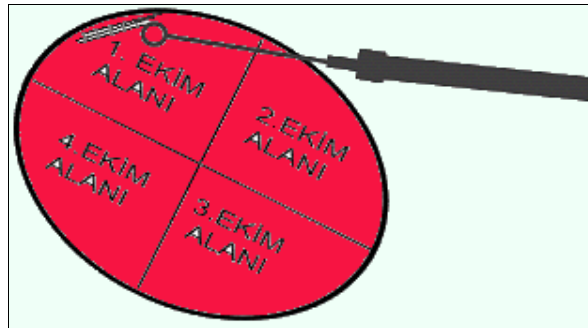
Şekil 1.1: Plak besiyeri yüzeyinde oluşturulan hayali ekim alanları

- Petri kutusunun kapağı, öze ucunun rahatlıkla gireceği bir aralık oluşturacak şekilde sol elin baş parmağı ile yarım olarak açılır. Yarı açık kapak işaret parmağı ile desteklenerek açıklık sabitleştirilir.
- Petri kapağı açıklığından öze ucu petri kutusu içine sokulur.



Resim 1.9: Plak besiyerine özeye ekim örneği aktarma

- Hayali oluşturulan 1. ekim alanındaki besiyeri yüzeyine, bir öze dolusu örnek, petri iç duvarından 4 mm uzaklıkta dar açılı zikzak ekim çizgileri oluşturularak aktarılır.

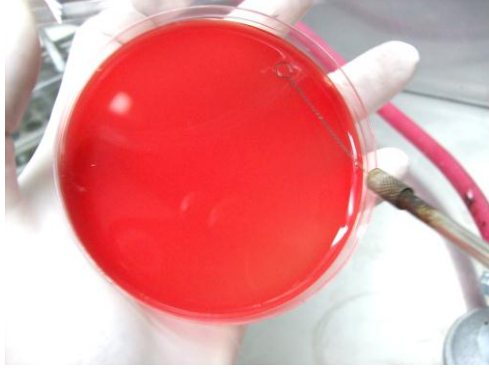


Şekil 1.2: Özeye sıvı ekim örneği nakletme

Not: Gaita, balgam vb. katı örnekler laboratuvara gönderildikleri özel kaplarından steril özelerle, yeterli miktarda alınarak plak besiyeri yüzeyine aktarılır. Katı ekim örnekleri, besiyeri yüzeyinde öze ucu ile hafif hareketlerle ezilerek kolaylıkla sürülecek duruma getirilmelidir.

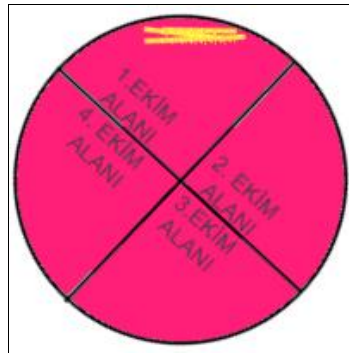
- Öze tekniğine uygun olarak steril edilir.
- Plak besiyeri birinci ekim alanı üstte olacak şekilde elde çevrilerek plak kapağı tekniğine uygun açılır.
- Steril edilmiş özenin sıcak ucu besiyeri yüzeyinde ekim çizgilerinin oluşturulacağı alan dışında veya petri kutusu iç duvarından besiyeri alt tabanına sokularak besiyerine zarar vermeden bir süre bekletilerek soğutulur.

Not: Soğutma işleminde besiyeri yüzeyinin aşırı derecede zedelenmemesine dikkat edilmelidir. Tek kullanımlık steril özelerde bu işlemler yapılmaz.

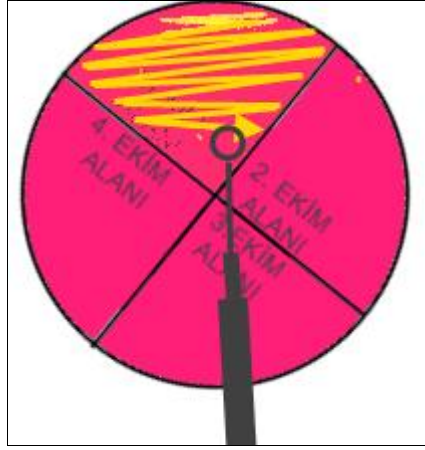


Resim 1.10: Öze ucunu plak besiyeri yüzeyinde soğutma

- Ekim yapılacak örnek kolayca sürülemeyecek kadar katı formda ise öze ucuyla besiyeri yüzeyinde ezilerek kolay sürülebilir kıvama getirilir.
- Besiyerinin 1. ekim alanına aktarılmış örnek üzerinde özeyle sık aralıklarla üst üste gelecek şekilde birbirine paralel zikzaklar çizilir. Aktarılan örneğin iyice özeye bulaşması sağlanır.
- Öze ucundaki örnek 1. ekim alanına birbirine paralel zikzak ekim çizgileriyle yayılarak doldurulur.



Şekil 1.4: 1. ekim alanına örnek aktarılmış besiyeri



Şekil 1.5: 1. ekim alanına özeyle tek koloni ekimi



Resim 1.11: Plastik özeyle tek koloni ekimi

- Öze dışarı çıkarılarak petri kutusunun kapağı kapatılır. Bu şekilde besiyerinin 1. ekim alanında ekim işlemi tamamlanır.
- Öze tekniğine uygun olarak tekrar steril edilir.

Not: Ekim işleminde plastik öze kullanılıyorsa kullanılan öze uygun atık kabına atılarak yeni bir öze ile 2. alanda ekime devam edilir.

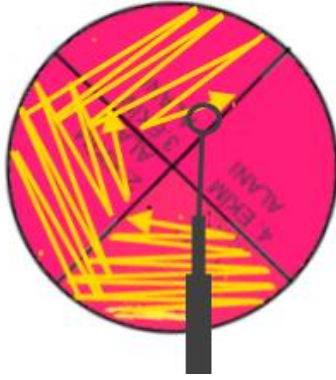
- Plak besiyeri 2. ekim alanı üstte olacak şekilde elde çevrilerek plak kapağı tekniğine uygun açılır.
- Steril edilmiş öze, besiyeri yüzeyinde veya besiyeri tabanında soğutulur.

- Öze ile ikinci ekim alanı, birinci ekim alanında oluşturulan ilk ekim çizgilerinin uç kısımlarına degecek şekilde zikzak ekim çizgileriyle doldurulur.

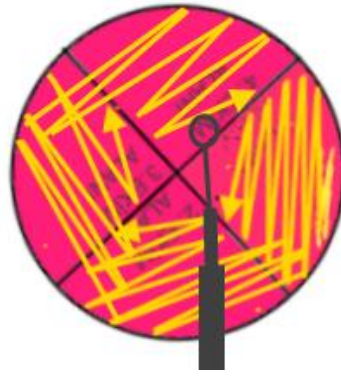


Şekil 1.6: İkinci ekim alanında tek koloni ekimi

- Öze dışarı çıkarılarak petri kutusunun kapağı kapatılır. Bu şekilde 2. ekim alanında ekim işlemi tamamlanır.
- Plak yüzeyinin 3. ve 4. ekim alanlarında da aynı yöntemle ekime devam edilerek ekim işlemi sonlandırılır.



Şekil 1.7: 3. ekim alanında tek koloni ekimi



Şekil 1.8: 4. ekim alanında tek koloni ekimi



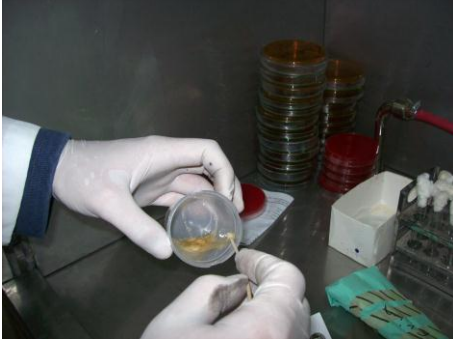
Şekil 1.9: Ekimi tamamlanmış besiyerinin üstten görünüşü



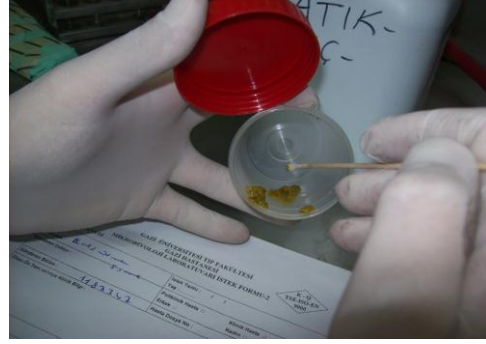
Şekil 1.10: Ekimi tamamlanmış besiyerinin yandan görünüşü

1.1.1.2. Mikrobiyolojik Örneklerin Eküvyonla Besiyerine Aktarımı ve Tek Koloni Ekimi

- Eküvyon, tekniğine uygun olarak steril paketinden çıkarılır.
- Bek alevi şemsiyesi altında örnek kabının kapağı açılır. Eküvyonla kaptaki örneğin kan, müküs vb. alanlarına sürülerek örnek alınır.



Resim 1.12: Balgam örneğinin eküvyonla alınması



Resim 1.13: Gaita örneğinin eküvyonla alınması

- Ekim yapılacak plak besiyeri, sol elin baş ve işaret parmağı serbest kalacak şekilde, avuç içinde kavranarak hafif dik konumda tutulur.
- Petri kutusunun kapağı, eküvyon ucunun rahatlıkla gireceği bir aralık oluşturacak şekilde sol elin baş parmağı ile yarım olarak açılır. Yarı açık kapak işaret parmağı ile desteklenerek açıklık sabitleştirilir.

Hayali oluşturulan, 1. ekim alanındaki besiyeri yüzeyine, eküvyonla alınan örnek, petri iç duvarından 4 mm uzaklıkta eküvyon elde döndürülerek dar açılı zikzak ekim çizgileri oluşturularak aktarılır.



Resim 1.14: Eküvyonla besiyerine ekim örneği nakledilmesi

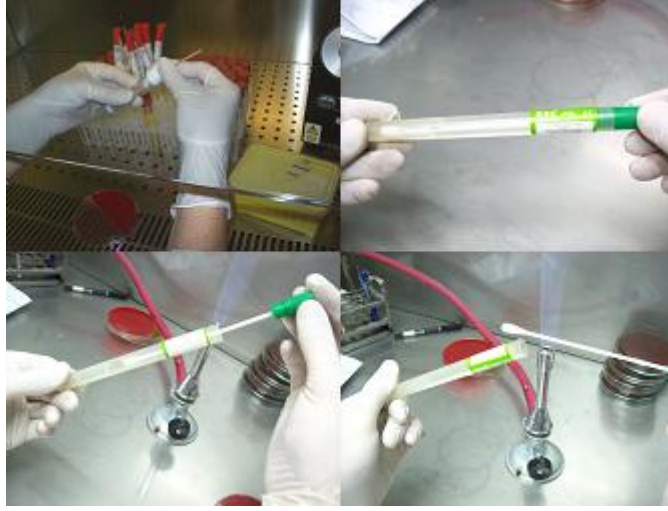


Resim 1.15: Eküvyonla besiyerine ekim örneği nakledilmesi

➤ **Eküvyona alınmış kültürlerin katı besiyerine nakledilmesi**

Boğaz, gaita, yara vb. kültür örnekleri kliniklerde ya da laboratuvar kültür örneği alma bölümünde alınır. Eküvyona alınan bu kültür ekim örnekleri uygun kaplarında veya taşıma besiyerleri içinde laboratuvara gönderilir.

- Kültür tüpü sol elle yatık şekilde bek alevine yakın olacak şekilde tutulur.



Resim 1.16: Kültür tüpünden eküvyonun çıkarılması

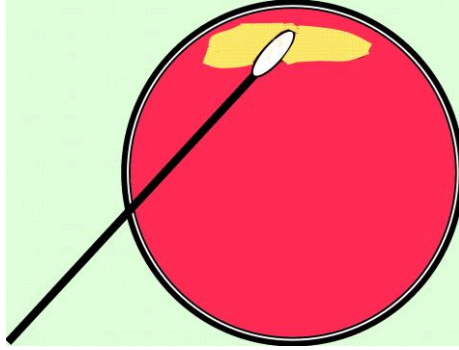
- Eküvyon çubuğunun uç kısmı, sağ el baş parmakla işaret parmakları arasında sıkıştırılarak tüpten bir miktar dışarı çıkarılır. Kültür tüpü kapaklı ise kapağından aynı şekilde tutularak çıkarılır.
- Tüpteki eküvyon tüpün iç cidarına değdirilmeden tüpten çıkarılır.
- Eküvyondaki ekim örneği, yukarıda anlatılan teknikle besiyeri yüzeyine nakledilir.



Resim 1.17: Eküvyonla besiyerine ekim örneği nakletme



Resim 1.18: Eküvyonla besiyerine ekim örneği nakletme



Şekil 1.10: Eküvyonla besiyerine ekim örneği nakletme

1.1.1.3. Plak Besiyerine Pasaj Yapılması

Ekim yapılarak bir besiyerinde üretilmiş (kültürü yapılmış) mikroorganizmaların çeşitli amaçlar için (çoğaltma, saf kültürlerini elde etmek, üreme ve biyokimyasal özelliklerini incelemek vb.) besiyerinden özeler kullanarak yeni besiyerine aktarma işlemine **pasaj** denir.

Katı besiyerinden kültürü yapılmış bakteri pasajları iğne öze kullanılarak aşağıdaki yöntemle yapılır.

- Örnek alınacak bakteri kolonisine karar verilir ya da kültürün incelemesini yapan uzmanın işaretlediği koloni tespit edilir.



Resim 1.19: Kültür plağında işaretlenmiş bakteri kolonisi

- Kültür yapılmış plak besiyeri sol elde örnek alınacak koloniye özenin rahatlıkla ulaşabileceği şekilde avuç içinde döndürülerek pozisyon verilir.
- Plak besiyeri kapağı, tekniğine uygun alev şemsiyesi altında özenin rahatlıkla gireceği şekilde açılır.

- Tekniğine uygun steril edilmiş metal öze, alev şemsiyesi altında 10 -15 saniye bekletilerek soğuması beklenir.



Resim 1.20: İğne özenin bek alevinde sterilizasyonu



Resim 1.21: Luplu özenin bek alevinde sterilizasyonu

- Öze, besiyerinde üreme olmamış yüzeye bastırılarak iyice soğutulur. Özenin soğutulmasında kullanılan farklı bir teknik de sıcak öze petri kutusu iç duvarından besiyeri alt tabanına sokularak besiyerine zarar vermeden bir süre bekletilerek gerçekleştirilir.



Resim 1.22: Besiyeri yüzeyinde metal özenin soğutulması

- Soğutulmuş öze karar verilen bakteri kolonisinin orta noktasına değdirilerek özeye yeteri miktarda örnek alınır. Örnek alımı sırasında özenin belirlenen koloni dışında diğer bakteri kolonilerine değmemesine özen gösterilir.

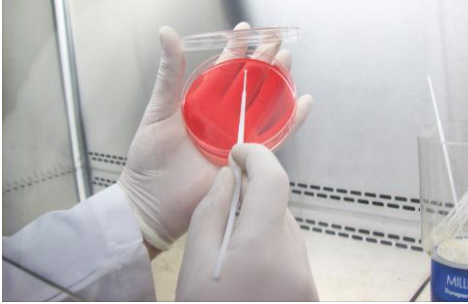


Resim 1.23: Luplu öze ile koloniden ekim örneği alma



Resim 1.24: İğne öze ile koloniden ekim örneği alma

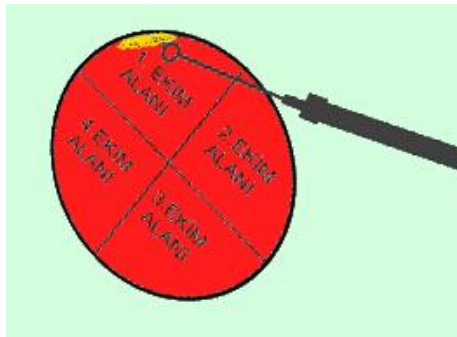
- Örnek alınan plak besiyeri bırakılarak tekniğine uygun pozisyonda ekim yapılacak besiyeri sol ele alınır.



Resim 1.25: Tek kullanımlık plastik özeye plak besiyerine örnek aktarma



Resim 1.26: Metal öze ile plak besiyerine örnek aktarma



Şekil 1.11: Özeye besiyerine ekim örneği nakletme

- Özedeki örnek, sıvı kültür örneğinin besiyerine aktarılması tekniği uygulanarak besiyeri yüzeyine sık aralıklı veya üst üste çekilen ekim çizgileriyle aktarılır. Katı ekim örnekleri, besiyeri yüzeyinde öze ucu ile hafif hareketlerle ezilerek kolaylıkla sürülecek duruma getirilmelidir.

1.1.2. Yaygın Ekim

Antibiyogram testinde ve idrardaki bakterilerin sayılmasında kullanılan ekim yöntemidir. Plak yüzeyine yaygın ekimde amaç ekim örneğinde bulunabilecek mikroorganizmaların plak besiyerinin tüm yüzeyinde yaygın bir şekilde üremelerini sağlamaktır.

İdrar kültürlerinden yapılan yaygın ekimler sonunda üreyen mikroorganizmaların koloni sayımına dayalı (ekim örneğinin 1 ml’de bulunan) canlı bakteri sayımları da yapılır. Bu amaçla bakteri sayımı yapılacak ekim örneğinden ölçülü öze, otomatik pipet ya da pipet kullanılarak genelde 0.1 ml örnek besiyerine aktararak ekim yapılır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde Mc Farland bulanıklık standartlarına göre ayarlanmış içinde belirli sayıda bakteri bulunan besiyerinden eküvyonla ekim örneği alınır, yine eküvyonla besiyeri yüzeyine yaygın ekim yapılır.

Yaygın ekimde kullanılacak besiyerleri aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır.

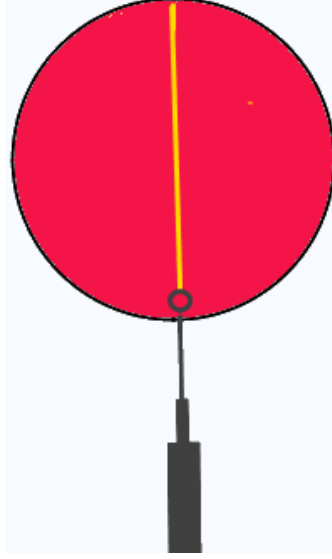
- Daha önce hazırlanmış besiyerleri kullanılır.
- Ekim yapılacak örneğe uygun plak besiyeri seçilerek ekimden önce oda ısısına gelmesi sağlanır.
- Besiyeri yüzeyinin kuruluk ve nemlilik kontrolü yapılır. Yüzeyi çok kuru ve çok nemli besiyerlerine ekim yapılmaz.
- Aşırı nemli yüzeyli plaklar yüzey kurutma teknikleri uygulanarak kurutulur. Yayma tekniğinde besiyerinin yüzeyine yayılacak sıvı ekim örneğinin daha çabuk kuruması için diğer ekim yöntemlerine oranla normalden daha fazla kuru olması tercih edilir. Diğer ekim yöntemlerinde 37 °C’de 15-30 dk. kurutma işlemi yeterli iken yayma ekimi yapılacak nemli plakların kurutma süreleri 30-60 dakikaya kadar çıkarılır.

1.1.2.1. Öze İle Yaygın Ekim

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında en çok idrar örneğinden yaygın ekim yapılır.

- **Sıvı örneğin özeye yaygın ekim tekniği**
 - Sıvı örneğin homojen karışımı sağlanır. Koloni sayımına dayalı örnekteki canlı bakteri sayımlarında, sıvı ekim örneklerinin ekim öncesi homojen hâle getirilmesi son derece önemlidir.
 - Sıvı örnek, ölçülü halkalı özeye tekniğine uygun olarak alınır. Bakteri sayımlarında ekim örneğinin alınacağı halkalı özenin (luplu öze) halka çapı 0.01 veya 0.001 ml sıvı alabilecek şekilde olmalıdır.

- Özedeki sıvı örnek plak besiyerinin yüzeyini iki eşit parçaya bölecek şekilde (çap boyunca) çizgi ekimi yapılır. Özedeki örnek tamamıyla besiyeri yüzeyine aktarılır.



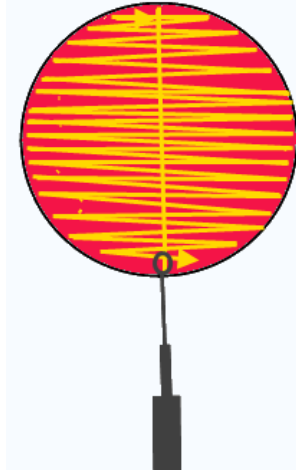
Şekil 1.12: Özeyle plak besiyerine sıvı örneğinin aktarımı



Resim 1.27: Yaygın ekim

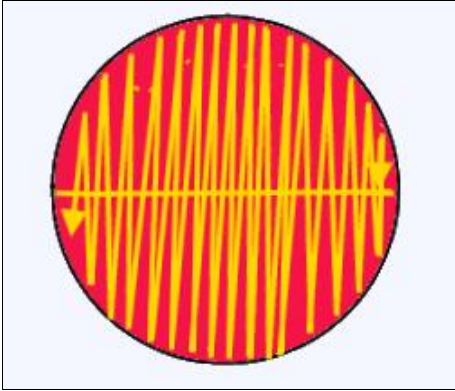
- Ekim yapılacak plak besiyeri düz bir zemin üzerinde veya elde tutularak kapağı açılır. Yaygın ekimlerde sıvı ekim örneği miktarı fazla ise petri kutusunu elde tutma tekniği uygulandığında, çizgi ekimi yapılan örneğin dik yüzey boyunca akarak besiyeri alt tabanına sızmasına neden olabilir. Bu nedenle petri kutusunun kapağı üstte olacak şekilde çalışma tezgâhına bırakılır. Kapak sol elle yarım açılarak alev şemsiyesi altında öze ile ekim yapılır.

- Besiyeri yüzeyindeki ekim çizgisini kesen, birbirine paralel sık aralıklı ve zikzak ekim çizgileriyle tüm yüzeye ekim yapılır.



Şekil 1.13: Plak besiyerine yaygın ekim

- Petri kutusu 90° döndürülerek zikzak ekim çizgilerini kesen birbirine paralel sık aralıklı tekrar yapılan zikzak çizgilerle ekim işlemi bitirilir.



Şekil 1.14: Zikzak çizgiler



Şekil 1.15: Sık aralıklı paralel çizgiler

- Ekim yapılmış plak besiyeri kapağı kapatılır ve besiyerinin örneği absorbe etmesi için 5 -10 dakika beklenir.
- Ekim yapılmış besiyerleri ekim sonrası hemen besiyeri kısmı üste gelecek şekilde inkübasyona kaldırılırsa besiyeri tarafından absorblanmayan ekim örnekleri petri kutusu kapağına doğru akarak kontaminasyonlara, yüzeydeki örneğin homojenizasyonunun bozulmasına ve hatalı sonuçlar elde edilmesine neden olur. Tüm yaygın ekimlerde plak besiyeri inkübasyona kaldırılmadan önce yüzeyinde akışkan ekim örneği kalmayacak şekilde bekletilmelidir.

1.1.2.2. Eküvyonla Yaygın Ekim

Eküvyonla yaygın ekim tekniği daha çok antibiogram test ekimlerinde kullanılır.

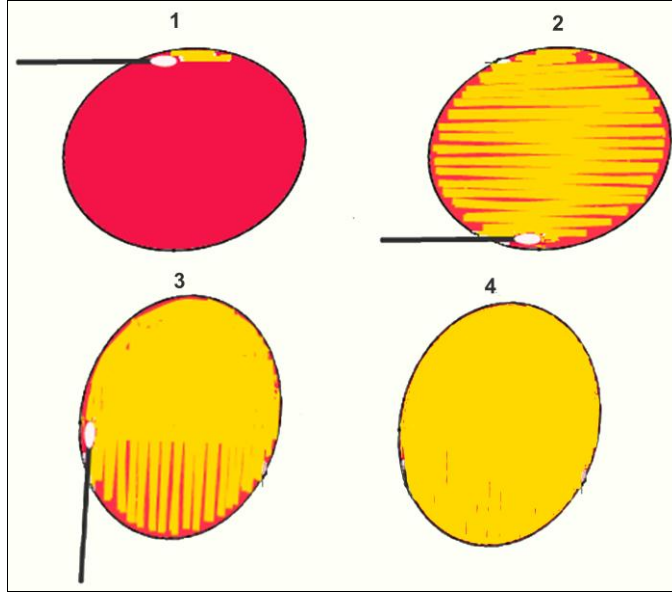
➤ Sıvı örneğin eküvyonla yaygın ekim tekniği

- Steril eküvyon, tekniğine uygun sterilizasyonu yapılmış ambalajından çıkarılır.
- Örnek alınacak sıvının bulunduğu tüp sol elle tekniğine uygun şekilde tutulur. Pamuk tıkaç tekniğine uygun şekilde çıkarılır.



Resim 1.28: Eküvyonla sıvı ekim örneği alma

- Eküvyon, tüp iç cidarına değdirilmeden sıvı örneğe daldırılır. Eküvyon sıvı içinde hareket ettirilerek pamuk ucun yeterli miktarda sıvı emmesi için bir süre bekletilir.
- Eküvyonda fazla miktarda sıvı örnek bulunduğu düşünülürse pamuklu uç sıvı yüzeyi üzerinde kuru tüp iç cidarına bastırılarak aynı yönde döndürülür. Pamuk ucun burulmasıyla fazla sıvının akması sağlanır.
- Eküvyonla yeterli miktarda alınmış ekim örneği plak besiyeri yüzeyine sık aralıklarla ve zikzak ekim çizgileriyle homojen şekilde yayılır. Ekim örneğinin az olduğu düşünülürse aynı eküvyonla sıvı örnek alınarak ekim işlemi tamamlanır.
- Ekim yapılmış plak besiyeri kapağı kapatılır ve besiyerinin örneği absorbe etmesi için 5 -10 dakika beklenir.

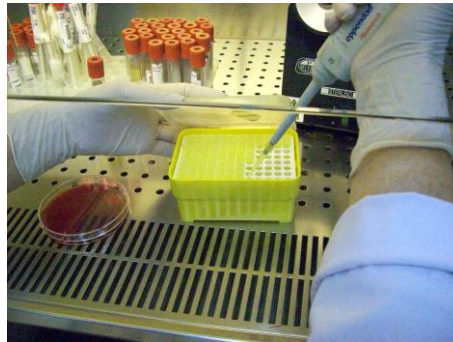


Şekil 1.16: Sıvı örneğin eküvyonla yaygın ekim aşamaları

1.1.2.3. Ekim örneğinin Otomatik Pipetle Besiyerine Nakletme ve Ekimi

Steril otomatik pipeti, pastör pipeti vb. araçlarla ölçülerek alınan sıvı ekim örnekleri besiyeri yüzeylerine nakledilir. Nakledilen örnekler öze, eküvyon veya drigalski sapatülleri kullanılarak besiyeri yüzeyinde yaygın ekimleri yapılır.

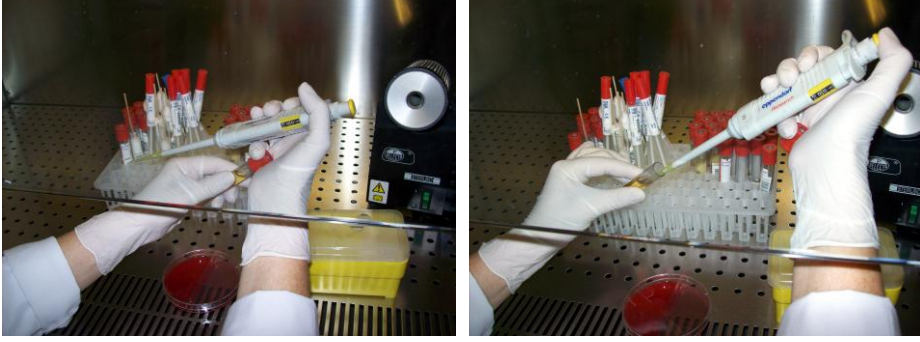
- Uygun kapaklı kaplarda sterilizasyonları yapılmış steril pipet uçları kullanılır. Pipet uçları, kaplarına el değdirilmeden pipete kolaylıkla takılabilecek konumda özel kaplarına dizilerek sterilize edilir.
- Pipet ucu kabının kapağı yarım açılarak el değdirmeden, uçlar pipete takılır ve kabın kapağı kapatılır.



Resim 1.29: Steril otomatik pipet uçları

- Sıvı örnek tüpü tekniğe uygun olarak sağ ele alınır kapağı açılır ve tüpün ağzı bek alevinden geçirilir.

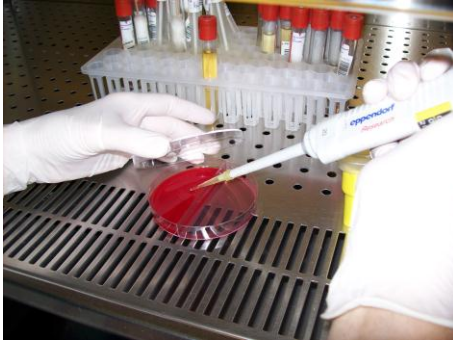
- Pipet ucu tüp içine daldırılarak 0.1 ml ekim örneği alınır. Tüpün ağzı bek alevinden geçirilerek kapağı kapatılır ve tüp sporuna yerleştirilir.



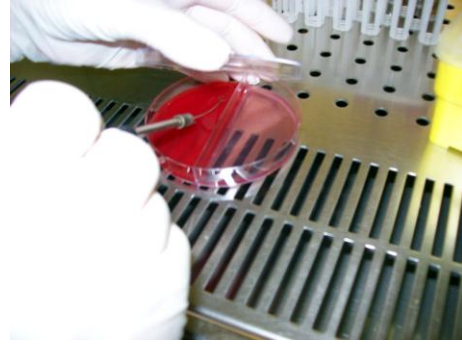
Resim 1.30: Otomatik pipetle sıvı ekim örneği alımı

- Petri kutusunun kapağı tekniğine uygun açılarak pipetteki örnek besiyerine aktarılır.

Not: Aktarma işleminde steril pipet veya pastör pipeti kullanılıyorsa otomatik pipetle örnek aktarımında olduğu gibi teknikler uygulanarak 0.1 ml örnek alınarak uygun besiyerine aktarılır.



Resim 1.31: Otomatik pipetle besiyerine ekim örneği nakletme



Resim 1.32: Özeyle yaygın ekim

- Besiyeri yüzeyine aktarılan sıvı ekim örneği steril halkalı öze ile yaygın ekim yapılır. Bu uygulamada öze yerine drigalski spatülü de kullanılır.

1.1.2.4. Drigalski Spatülü Kullanarak Plak Besiyeri Yüzeyine Yaygın Ekim Yapma

Halkalı öze, otomatik pipet veya pastör pipetleriyle besiyerine nakledilen ekim örnekleri drigalski spatülü kullanarak aşağıdaki yöntemle yaygın ekimi gerçekleştirilir.

- Drigalski spatülü tekniğine uygun steril edilir. Alkol bulaşısı kalmamasına dikkat edilir.

- Petri kutusu düz bir zemine konur.
- Aktarılan sıvı örneğin bulunduğu petri kutusu kapağı bek alevi şemsiyesi altında yarım açılarak drigalski spatülü aşağı yukarı, sağa sola hareket ettirilerek örneğin besiyeri yüzeyine homojen yayılımı sağlanır.
- Ekim yapılmış plak besiyeri kapağı kapatılır ve besiyerinin örneği absorbe etmesi için 5 -10 dakika beklenir.



Resim 1.32: Drigalski spatülü ile yaygın ekim

1.1.3. Plak Besiyeri İçine Ekim (Dökme Plak)

Plak besiyeri içine ekim, bakterilerin besiyeri içinde oluşturdukları koloni morfolojilerini görmek ve uygun O₂ koşullarında üremesini sağlamak amacıyla ekim örneğinin daha önceden seyreltilerek katı besiyeri içine yapılan ekim yöntemidir.

Bu yöntemle besiyerinde üremiş bakteri kolonilerine dayalı 1 ml örnekteki canlı bakteri sayımları da yapılabilir.

➤ Ekim örneğinden dilüsyon serilerinin hazırlanması

Ekim örneğindeki mikroorganizma miktarı sayılamayacak kadar milyonlarca olabilir. Bu nedenle örnekte bulunan çok sayıdaki bakteriyi kolaylıkla sayılabilecek düzeye indirmek gerekir. Bu amaçla örneğin belirli oranlarda dilüsyon serileri hazırlanarak örnekteki bakteri sayısı azaltılır.

Besiyerinde bakterilerin üreyerek oluşturdukları az sayıdaki koloni kolaylıkla sayılarak sulandırım oranlarına göre asıl örneğin 1 ml'sinde bulunan canlı bakteri sayısı bulunur.

➤ Dilüsyon serilerinin hazırlanması

- Steril deney tüpleri dilüsyon serisine göre tüp sporuna sıralı bir şekilde yerleştirilir. Tüplerin üzerine sıra numarası ve dilüsyon oranları yazılır.
- Dilüsyon serisindeki tüp sayısı kadar boş steril petri kutusu alınır, altlarına ekim yapılacak örneğin dilüsyon oranları yazılır.
- Dilüsyon sayısı kadar tüpteki dik jeloz (15ml lik), eritilmiş ve 45 °C'ye soğutulmuş bir şekilde benmaride bekletilir.

- Önceden steril edilmiş dilüe edici olarak kullanılacak peptonlu su, uygun sıvı besiyeri vb. her bir steril deney tüpüne (aseptik kurallar uygulanarak) steril pipetle 9 ml konur.
- İncelenecek örnek homojenize edilir.
- Tüpteki örnek 1 ml'lik pipetle çekilip boşaltılarak karıştırılır. 1 ml ekim örneği alınarak dilüsyon serisinin ilk tüpüne aktarılır. Birinci tüpten diğer tüplere aktarma işlemi tekniğine uygun devam ettirilerek dilüsyon serileri (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ...) oluşturulur.
- Dilüsyon serisi tüplerinin benmariye konarak ısılarının yavaş bir şekilde 45°C 'ye gelmesi beklenir. Ekim örneğini nakletmeden önce ısıtmak şu nedenlerle gereklidir:
 - Ekim örneğinin düşük ısıda agarlı besiyerine karıştırılması, besiyeri ısısını düşürerek iyi bir karışım elde edilemeden katılaşmasına neden olur.
 - Soğuk ekim örneğini aniden 45°C 'deki agarlı besiyeri ile karşılaştırmak, örnekteki bakteriler üzerinde termal şoka neden olacağından bakteriler zarar görebilir.
- Isısı 45°C 'ye gelmiş örneklerden steril pipetle 1 ml alınır. Pipetteki örnek daha önce her dilüsyon serisi tüpüne karşılık gelecek şekilde hazırlanmış boş petri kutularına aseptik kurallar uygulanarak nakledilir.
- Tüplerde hazırlanıp eritilmiş 45°C 'de bekletilen besiyerleri, ekim örneği aktarılmış petri kutularına köpük oluşturulmadan petri kutusu kapağı aralanarak dökülür.
- Döküm yapılmış petri kutusu düz bir zemin üzerinde elle saat yönünde dairesel birkaç kez hareketten sonra tam tersi hareket yapılarak veya elde sağa sola eğdirilerek homojen bir karışım sağlanır.
- Besiyerleri düz bir zemin üzerinde katılaşmaya bırakılır.
- Katılaşan besiyerleri inkübe edilir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Petri kutusu/plak besiyerine ekim yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Ekim işleminde kullanacağınız ekim araç gereçlerini hazırlayınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Luplu özeleri hazırlayınız.➤ İğne özeleri hazırlayınız.➤ Steril eküvyon çubuğunu hazırlayınız.➤ Kalibre edilmiş luplu özenizi hazırlayınız.➤ Drigalski spatülünüzü hazırlayınız.
<p>➤ Ekim ortamını ekim işlemi öncesi hazırlayınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Ekim ortamında serbest hava akımları oluşturan kapı ve pencereleri kapatınız.➤ Ekime başlamadan en az 30 dk. önce ultraviyole lambasını açarak ortamın sterilize olmasını sağlayınız.➤ Ekime başlamadan önce ultraviyole lambasını kapatınız.➤ Çalışma önlüğünüzü giyiniz.➤ Ellerinizi uygun antiseptikle yıkayarak eldiven takınız.➤ Çalışma yapılacak yüzeyleri uygun antiseptikle siliniz.➤ Ekim işlemi güvenlik kabinlerinde yapınız.➤ Güvenlik kabini yoksa ekim işlemlerini ekim için ayrılan alanlarda yapınız.➤ Çalışmalarınızı bek alevi şemsiyesi altında gerçekleştiriniz.➤ Ekim yapılacak uygun besiyerlerini muhafaza edildikleri ortamdan çıkararak çalışma alanına getiriniz.➤ Besiyerlerinin ekim öncesi oda ısısına gelmesi gerektiğini unutmayınız.➤ Ekim yapılacak kültür örneklerini çalışma alanına çalışma sırasında kolaylıkla alınacak biçimde hazırlayınız.➤ Kültür örneklerini istem kâğıdı ile kültür kaplarının üzerindeki bilgilerle uygunluğunu kontrol ediniz.➤ Örneklerin ekileceği plak besiyerinin alt kısmına hastaya ait bilgileri (hasta adı soyadı, protokol nu. ve ekim tarihlerini) yazınız.

<p>➤ Öze ile sıvı kültür örneği alınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sıvı kültür örneğini homojen olacak şekilde karıştırınız. ➤ Kültür örneğinin bulunduğu tüpü, sol elinizle uç kısmına yakın bir bölümünden baş ve işaret parmağınız arasında sıkıştırarak tutunuz. ➤ Ekim örneği alacağınız özeyi bek alevinde sterilize ediniz. ➤ Sıcak özenin bek alevi şemsiyesi altında bir süre (10-15 saniye) soğumasını bekleyiniz. ➤ Örnek tüpünün pamuk tıkacını özeyi tuttuğunuz elinizin küçük parmağı ile kavrayarak sıkıştırınız. ➤ Pamuk tıkacı kendi eksenini etrafında çevirerek çıkarınız. ➤ Pamuk tıkacı küçük parmağınızda sıkıştırarak bekletiniz. ➤ Tüp ağzını bek alevinden geçirerek tüpü bek alevi şemsiyesi altına indiriniz. ➤ Örnek tüpünün ağzını alev şemsiyesi altındayken öze ucunu tüp iç cidarına değdirmeden dik bir şekilde daldırıp karıştırma hareketleri yapınız. ➤ Öze halkasına bir öze dolusu ekim örneği alarak tüpün iç cidarına değdirmeden tüpten özeyi çıkarınız. ➤ Örnek aldığınız tüpün ağzını bek alevinden geçirin. ➤ Küçük parmakla sıkıştırarak tuttuğunuz pamuk tıkacı tüpün ağzına yerleştiriniz. ➤ Örnek tüpünü tüp sporuna yerleştiriniz.
<p>➤ Özedeki ekim örneğini plak besiyerine aktarınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sol el avuç içine kapağı yukarıda olacak şekilde ekim yapılacak plak besiyerini alınız. ➤ Sol elinizde petri kutusunu bek alevi şemsiyesi altında baş ve işaret parmakları serbest kalacak şekilde avuç içinde diğer parmaklarınızla sıkıştırarak tutunuz. ➤ Baş parmağınızla petri kutusunun kapağını öze girecek aralıkta açınız. ➤ Petri kutusu kapağının oluşturduğu aralığı işaret parmağınızla petri kutusunun kapağını arkadan destek olarak sabitleyiniz.

	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Plak besiyerini hayali olarak dört eşit ekim alanına ayırınız. ➤ Özedeki örneği hayali oluşturulan ilk ekim alanının üst kısmına sık aralıklarla zikzak çizgileri oluşturarak aktarınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eküvyonla katı ekim örneğini plak besiyerine aktarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Steril edilmiş eküvyon paketini bek alevi şemsiyesi altında sap kısmının bulunduğu taraftan açınız. ➤ Eküvyon çubuğunun sap kısmından tutarak paketinden çıkarınız. ➤ Eküvyon pamuğunu ekim örneğinin çeşitli yerlerine sürerek yeterli miktarda ekim örneği alınız. ➤ Örnek kültür kabının kapağını kapatarak yerine kaldırınız. ➤ Eküvyondaki örneği hayali oluşturulan ilk ekim alanının üst kısmına eküvyonu döndürerek besiyeri yüzeyine aktarınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eküvyonla sıvı ekim örneğini plak besiyerine aktarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Steril eküvyon çubuğunu ambalajından çıkarınız. ➤ Eküvyon çubuğunun pamuklu ucunu sıvı besiyerine daldırınız. ➤ Yeterli miktarda örnek alınız. ➤ Fazla sıvıları eküvyon çubuğunu döndürerek pamuk ucunu tüpün iç cidarında burarak boşaltınız. ➤ Eküvyonla alınan örneği besiyerine naklediniz. ➤ Eküvyon sapını elinizde yuvarlayarak ekim örneğini besiyerinin yüzeyine yayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipetle sıvı ekim örneği plak besiyerine aktarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Otomatik pipet uçlarını özel kaplarında sterilize ediniz. ➤ Pastör pipeti, dereceli cam pipetleri ambalaj kâğıtlarına sararak sterilize ediniz. ➤ Steril pipetleri, pastör pipetlerini sterilizasyonları bozulmayacak şekilde ambalajlarından çıkarınız. ➤ Otomatik pipet ucunu /cam pipeti/ pastör pipetinin ucunu sıvı örneğin içine daldırınız. ➤ Sıvı örnekten 0.1 ml ekim örneği alınız. ➤ Alınan örneği besiyeri yüzeyine naklediniz.

<p>➤ Kültür örneğinin pasajını yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Kültür plağında ekim örneği alacağınız koloniyi tespit ediniz.➤ İğne özeyi bek alevinde tekniğine uygun sterilizasyonunu yaparak bek alevi altında bir süre soğutunuz.➤ Soğumuş özeyi sol elinizde tekniğine uygun pozisyonda tuttuğunuz kültür plağının içine sokunuz.➤ Sıcak öze ucunu kültür plağının üreme olmayan boş bir alanında besiyeri yüzeyine değdirerek soğutunuz.➤ İğne öze ucunu örnek alınacak koloninin yüzeyine sürerek ekim örneği alınız.➤ Besiyerinin kapağını kapatarak yerine koyunuz.➤ Tekniğine uygun ekim yapılacak besiyerini sol elinize alarak kapağını açınız.➤ İğne özedeki ekim örneğini, birinci ekim alanına sık ekim zikzakları çekerek besiyeri yüzeyine aktarınız.
<p>➤ Özeye tek koloni (seyreltme) ekimi yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Özenizin sterilizasyonunu yapınız.➤ Özenizi, ekim çizgisinin gelmeyeceği uygun bir alanda besiyeri yüzeyini zedelemeyen soğutunuz.➤ Katı ekim örneğini öze ucuyla ezerek kolay sürülür kıvama getiriniz.➤ Besiyerinin 1. ekim alanına aktarılmış örneğin üzerinde özeye sık aralıklarla üst üste gelecek şekilde birbirine paralel zikzaklar çizerek örneğin iyice özeye bulaşmasını sağlayınız.➤ Öze ucundaki örneği 1. ekim alanına birbirine paralel zikzak ekim çizgileriyle yayarak doldurunuz.➤ Özeyi dışarı çıkararak petri kutusunun kapağını kapatınız.➤ Özeyi tekniğine uygun tekrar steril ediniz.➤ Plak besiyerinin 2. ekim alanı üstte olacak şekilde elde çevirerek plak kapağını tekniğine uygun açınız.➤ Steril edilmiş özeyi, besiyeri yüzeyinde veya besiyeri tabanında soğutunuz.

	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Öze ile ikinci ekim alanını, birinci ekim alanında oluşturulan ilk ekim çizgilerinin uç kısımlarına degecek şekilde zikzak ekim çizgileriyle doldurunuz. ➤ Özeyi dışarı çıkararak petri kutusunun kapağını kapatınız. ➤ Plak yüzeyinin 3. ve 4. ekim alanlarında da aynı yöntemle ekime devam ederek ekim işlemini sonlandırınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Halkalı özeye plak besiyerine yaygın ekim yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Özedeği sıvı örneği plak besiyerinin yüzeyini iki eşit parçaya bölecek şekilde (çap boyunca) çizgi ekimi yapınız. ➤ Özedeği örneği tamamıyla besiyeri yüzeyine aktarınız. ➤ Besiyeri yüzeyindeki ekim çizgisini kesen, birbirine paralel sık aralıklı ve zikzak ekim çizgileriyle tüm yüzeye ekim yapınız. ➤ Petri kutusunu 900 döndürünüz. ➤ Zikzak ekim çizgilerini kesen birbirine paralel sık aralıklı tekrar yapılan zikzak çizgilerle ekim işlemini bitiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Drigalski spatülü ile plak besiyerine yaygın ekim yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Drigalski spatülünü %76 alkol içinde 2 dakikadan az olmayacak şekilde tutunuz. ➤ Alkolden çıkardığımız drigalski spatülünü bek alevinden geçiriniz. ➤ Drigalski spatülünü ekim örneği bulunan besiyerinin kapağını açarak besiyeri yüzeyine yerleştiriniz. ➤ Ekim örneğini drigalski spatülünü aşağı yukarı hareket ettirerek besiyeri yüzeyine yayınız. ➤ Besiyerini elinizle çevirerek drigalski spatülünü aşağı yukarı hareketlerle örneğin tüm yüzeye eşit şekilde iyice yayılmasını sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eküvyonla plak besiyerine yaygın ekim yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eküvyon sapını elinizde yuvarlayarak ekim örneğini besiyerinin yüzeyine homojen şekilde yayınız.

<p>➤ Plak besiyeri içine (dökme plak) ekim yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpte hazırlanmış dik jeloz besiyerini kaynatarak benmaride 45-50 °C'ye kadar soğutunuz.➤ Sıvı kültür örneğinden dilüsyon serileri hazırlayınız.➤ Ekim yapılacak dilüsyon serilerinin ısılarını 45°C'ye getiriniz.➤ Hazırlanan dilüsyon serisi tüpü kadar boş steril petri kutuları hazırlayınız.➤ Her dilüsyon serisi tüpünden steril pipetlerle 1 ml örnek alarak boş petri kutularına aktarınız.➤ Örnek nakledilmiş petri kutularının üzerine eritilmiş besiyerini koyunuz.➤ Erimiş besiyeri ile kültür örneğini karıştırınız.➤ Besiyeri katılaşmaya bırakınız.
---	---

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdaki uygulamalardan hangisi yanlıştır?
A) Ekimler besiyeri oda sıcaklığına geldiğinde yapılmalıdır.
B) Ekim yapılacak besiyerine hastaya ait bilgiler kaydedilmelidir.
C) Sıvı ekim örneği homojen şekilde karıştırıldıktan sonra ekim örneği alınmalıdır.
D) Sıvı ekim örnekleri homojen hâle getirmek için kuvvetli ve uzun süre karıştırılmalıdır.
E) Sıvı ekim örneği steril özeyle alınmalıdır.
2. Aşağıdakilerden hangisi tek koloni ekiminde yanlış bir uygulamadır?
A) Ekim steril özelerle yapılır.
B) Sıcak metal öze besiyeri yüzeyinde soğutulmalıdır.
C) Her ekim alanından sonra metal öze sterilize edilmelidir.
D) Tek koloni ekiminde steril plastik özeler de kullanılır.
E) Mikroorganizmaların besiyerinde sık koloniler oluşturacak şekilde ekimi yapılır.
3. Ekim işlemi mikroorganizmaların hangi özelliğini araştırmakta kullanılmaz?
A) Koloni özelliklerini incelemek
B) Saf kültür elde etmek
C) Biyokimyasal özelliklerini araştırmak
D) Mikroorganizmaları çoğaltmak
E) Antijenik özelliğini araştırmak
4. Aşağıdakilerden hangisi ekim araç gereçlerinden değildir?
A) İğne öze
B) Luplu öze
C) Pens
D) Eküvyon çubuğu
E) Pastör pipeti
5. Aşağıdakilerden hangisi ekim materyali değildir?
A) Kanlı agar
B) Balgam
C) İdrar
D) BOS
E) Gaita

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyette, kazandığınız bilgiler ile tüpte katı besiyerine ekim yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Sağlık işletmelerinin, mikrobiyoloji laboratuvarlarında tüpte hazırlanmış hangi besiyerleri kullandıklarını ve bu besiyerlerine hangi kültür örneklerinin ekildiğini araştırınız.
- Anaerob mikroorganizmaların kültüründe hangi ekim yöntemlerinin uygulandığını araştırınız.

2. TÜPTE KATI BESİYERİNE EKİM

2.1. Tüpte Yatık (Yatık Jeloza) Besiyerine Ekim

Tüpte yatık besiyerine ekim işlemi aşağıda anlatılmıştır.

2.1.1. Tüpteki Yatık Besiyerine Çizgi Ekimi

Kültürü yapılmış mikroorganizmanın belirlenen uygun kolonisinden iğne öze ile örnek alınarak besiyeri içine ve yüzeyine yapılan ekimdir.

Tek koloniden örnek alınarak tüpte yatık besiyerine ekim yapmanın amacı bakterinin;

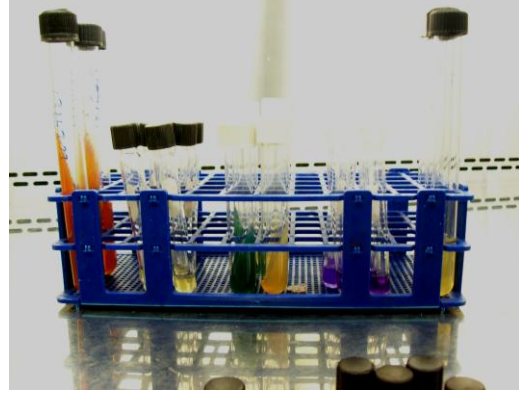
- Saf kültürünü elde etmek,
- Pigment oluşumunu sağlamak,
- Karbonhidratlı besiyerlerinde gaz oluşturmasını sağlamak,
- Bakterilerin yayılarak üremesiyle hareketlerini incelemek vb. çalışmaları yapmak amacıyla uygulanan bir ekim yöntemidir.

Örneğin besiyerine nakledilmesi ve ekiminde; iğne öze kullanılarak aşağıdaki işlemler gerçekleştirilir.

- Ekim yapılacak uygun tüpteki yatık besiyeri belirlenerek ekim için hazırlanır. Ekim yapılacak besiyeri ekim işlemine başlamadan önce muhafaza edildiği soğuk ortamdan çıkarılarak ısılarının oda ısısına gelmeleri sağlanır.
- Ekim yapılacak besiyeri tüpünün üzerine örneğin laboratuvar protokol numarası, hasta ismi vb. bilgiler yazılır.

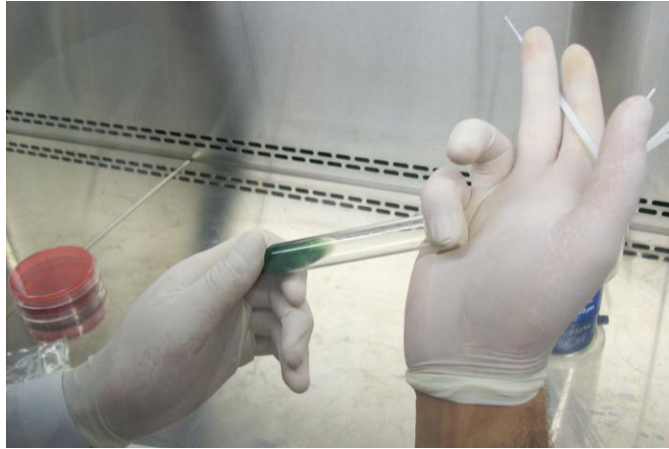


Resim 2.1: Tüpte yatık ve dik besiyerleri



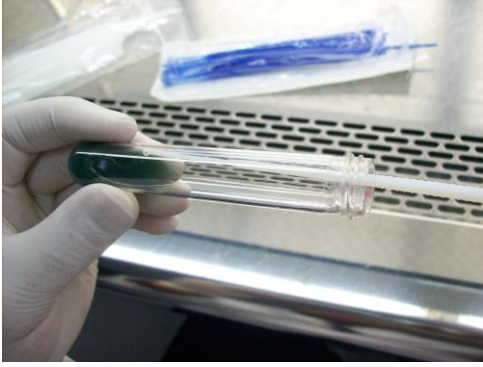
Resim 2.2: Tüpte besiyerleri

- Besiyerinde örnek alınacak koloni belirlenir.
- Besiyeri sol ele alınarak tekniğine uygun olarak tutulur.
- İğne öze veya luplu öze tekniğine uygun sterilize edilir. Bek alevi şemsiyesi altında bir süre soğutulur.
- Soğutulmuş öze kapağı açılmış petri kutusunun içine sokularak uç kısmı üreme olmamış besiyerinin uygun boş bir yüzeyinde soğutulur.
- Ekim işleminde steril tek kullanımlık özeler kullanılacaksa özeler sterilizasyonu bozulmayacak şekilde paketlerinden çıkarılarak kullanılır.
- İğne öze ekim örneği alınacak bakteri kolonisinin üst kısmına değdirilerek yeterli miktarda ekim örneği alınır. Öze ile koloniden örnek alımı sırasında özenin ucunu titretmeden ve koloninin alt kısmına fazlaca sokulmadan alınmalıdır.
- Ekim örneği alınan besiyeri kapağı kapatılarak yerine bırakılır.
- Sol ele ekim yapılacak uygun yatık jeloz besiyeri alınır.
- Ekim yapılacak besiyeri tüpünün tıkaçı öze tutan elin küçük parmağı ile kavranarak bek alevi şemsiyesi altında çıkarılır. Tüp tıkaçı ekim işlemi bitinceye kadar küçük parmak arasında sıkıştırılarak bekletilir.



Resim 2.3: Tüpte besiyerinin kapağının çıkarılması

- Tıkacı çıkarılmış besiyerinin ağzı bek alevinde geçirilir.
- Alev şemsiyesi altında elde tutulan tüpteki dik besiyerinin içine iğne özenin ucu tüpün iç cidarına değdirilmeden sokulur.
- Tüp içine sokulmuş iğne özenin ucu, yatık besiyeri yüzeyinin alt uç orta noktasından başlayarak besiyeri yüzeyi boyunca düz bir ekim çizgisi oluşturulur. Ekimde iğne özenin uç kısmının besiyeri yüzeyini zedelemeyecek şekilde ekim yapılmasına dikkat edilmelidir.



Resim 2.4: Plastik özeyle çizgi ekimi



Resim 2.5: Metal özeyle çizgi ekimi



Şekil 2.1: Yatık besiyerine çizgi ekimi

- Ekim yapılmış besiyerinin ağzı bek alevinden geçirilerek öze tutan elin küçük parmağı arasında bekletilen tıkaç bek alevi şemsiyesi altında kapatılır.
- Ekimi tamamlanmış besiyeri tüp sporuna yerleştirilir.
- Ekimde kullanılan, metal iğne öze bek alevinde tekniğine uygun şekilde sterilize edilir.

2.1.2. Tüpteki Yatık Besiyerine Yüzey Ekimi

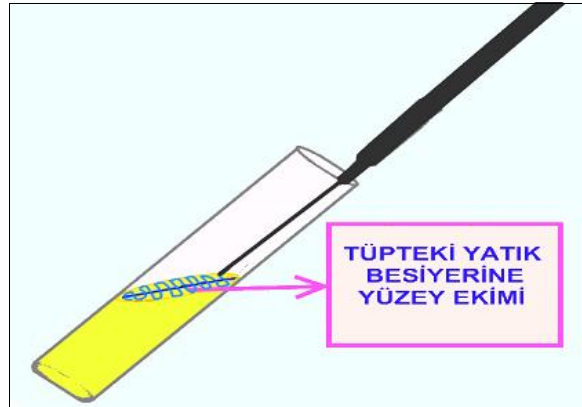
Tüpteki yatık besiyeri ekimde, besiyeri yüzeyine olabildiğince bol ekim yapılarak ekimi yapılan bakterinin besiyeri yüzeyinde mümkün olduğunca fazla miktarda üremesini sağlamaktır. Tüpteki yatık besiyerine öze ve pipet kullanılarak yüzey ekim yapılır.

2.1.2.1. Tüpteki Yatık Besiyerine Öze İle Yüzey Ekimi

- Tüpteki yatık besiyerine yukarıda anlatılan teknik uygulanarak çizgi ekimi yapılır.
- Besiyeri yüzeyinde oluşturulan çizgi ekiminin alt uç kısmından başlanarak aynı öze ile düz ekim çizgisine sık aralıklı “S” harfi hareketi ile ekim çizgileri oluşturularak öze geriye doğru ilerletilerek ekim tamamlanır.
- Ekim yapılmış besiyerinin ağzı bek alevinden geçirilerek öze tutan elin küçük parmağı arasında bekletilen tıkaç bek alevi şemsiyesi altında kapatılır.
- Ekimi tamamlanmış besiyeri tüp sporuna yerleştirilir.



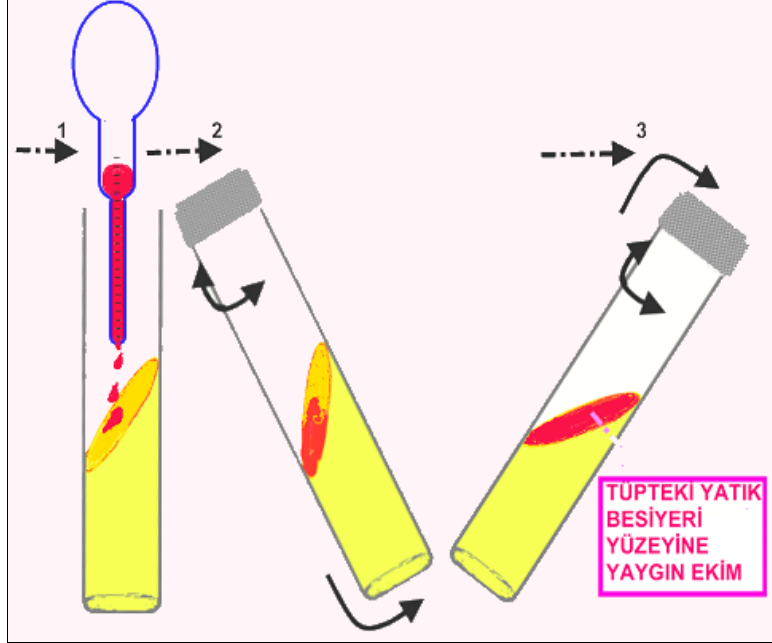
Resim 2.6: Tüpте yatık besiyerine yüzey ekimi



Şekil 2.2: Tüpте yatık besiyerine yüzey ekimi

2.1.2.2. Tüpteki Yatık Besiyerine Pipetle Yüzey Ekimi

- Steril pastör pipetine alınan sıvı örnek besiyeri yüzeyine damlatılır.
- Damlatılan besiyeri yüzeyindeki ekim örneği, besiyeri tüpü elde eğme hareketleri yaptırılarak tüm yüzeye homojen dağılımı sağlanır.
- Ekim yapılan besiyeri yüzeyi kuruyuncaya kadar besiyeri eğik konumda bekletilir.

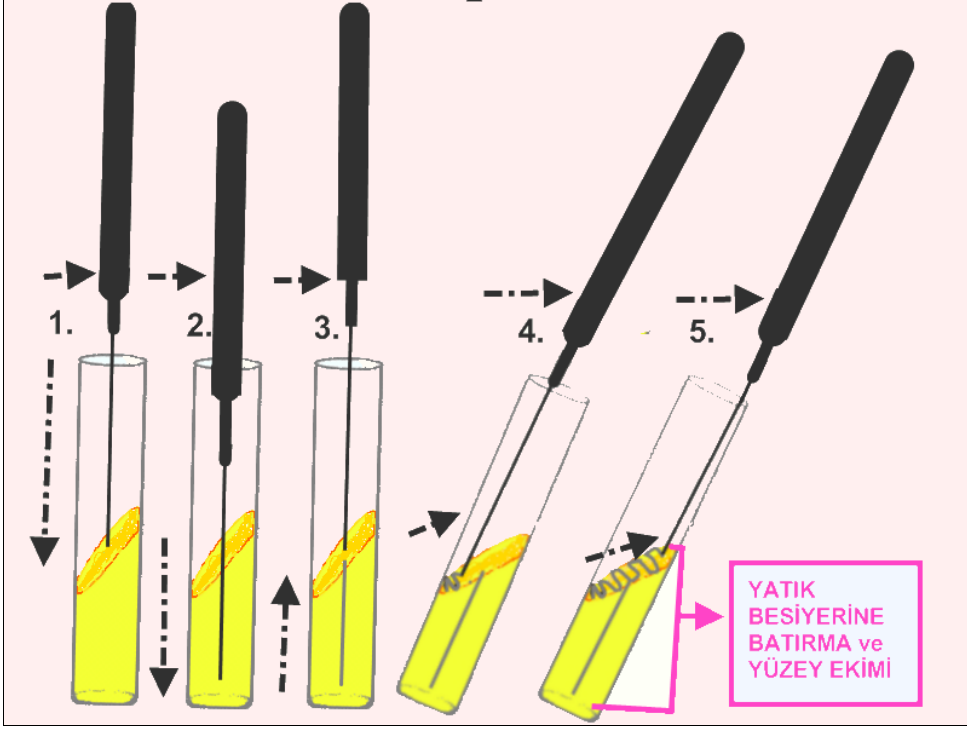


Şekil Hata! Belgede belirtilen stilde metne rastlanmadı.1.3: Tüpte yatık besiyeri yüzeyine pastör pipetiyle yaygın ekim aşamaları

2.1.3. Tüpteki Yatık Besiyerine Özeye Batırma ve Yüzey Ekimi

- Özede bulunan ekim örneği, besiyerinin yatık kısmı yüzeyinin alt uç orta bölgesinde küçük bir alana ekim yapılır.
- Aynı öze ile ara verilmeden besiyerine batırma kültürü yapılarak öze ucu besiyeri yüzeyine çıkarılır.
- Besiyeri yüzeyine çıkarılan öze ile besiyerinin yatık yüzeyine yaygın ekim yapılarak ekim sonlandırılır.

Bu ekim yöntemi yatık besiyerinde batırma ve yüzey ekiminin aynı anda uygulanışıdır.



Şekil 2.4: Yatık besiyerine batırma ve yüzey ekim aşamaları

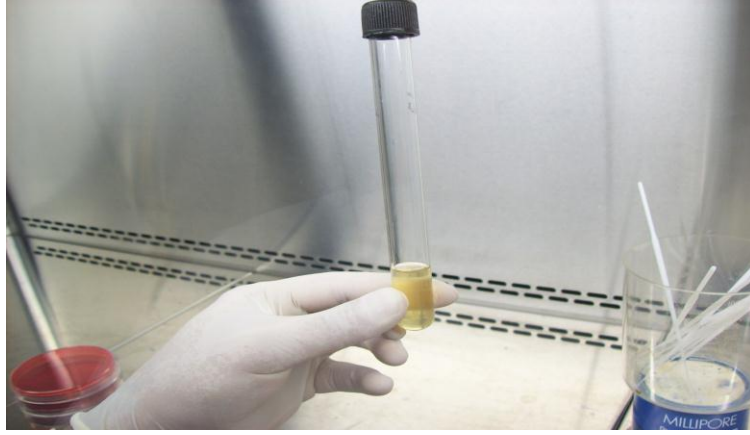
2.2. Tüpte Dik Besiyerine Ekim

Dik besiyerine ekim; bakterilerin hareketlerini, karbonhidratlar üzerindeki etkilerini, bakterilerin gaz oluşturma vb. özelliklerini araştırmak amacıyla yapılır. Ayrıca fakültatif anaerob bazı bakterilerin uygun dik besiyerine ekimleri yapılarak üreyen bakterilerin uygun koşul ve ortamlar sağlanarak uzun süre saklanmasında da kullanılır.

2.2.1. Tüpteki Dik Besiyerine Batırma Kültürü

Dik jeloza batırma ekimi iğne öze kullanılarak aşağıdaki yöntemlerle gerçekleştirilir.

- Kültür örneğin kolonisinden tekniğine uygun iğne öze ile örnek alınır.
- Örnek bulunan iğne öze tekniğine göre besiyeri bulunan tüp içine sokulur.

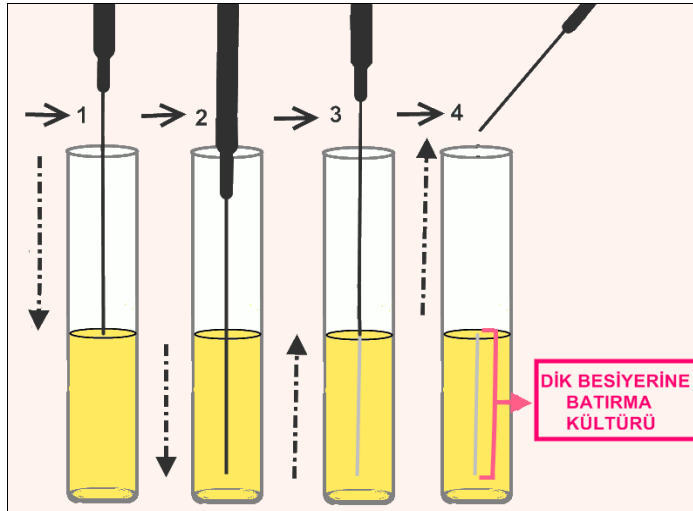


Resim 2.7: Tüpte dik besiyeri



Resim 2.8: Dik besiyerine iğne özeyele batırma kültür ekimi

- Tüp içine sokulmuş iğne özenin ucu besiyerinin orta noktasından besiyerinin alt noktasına (besiyerinin dip noktasına 2 cm kalıncaya kadar) batırılır.



Şekil 2.5: Dik besiyerinde batırma kültür ekim aşamaları

- Besiyeri içine batırılmış öze aynı çizgi üzerinde, yön değiştirmeden geriye çekilerek tüp içinden dışarı çıkarılarak ekim işlemi tamamlanır.
- Tüp tıkaçı tekniğine uygun kapatılarak tüp sporuna yerleştirilir.

2.3. Dik Jeloz Besiyerine Çalkalama Kültürü Ekimi

Bakterilerin oksijene karşı duyarlılıklarını belirlemek amacıyla yapılan ekim yöntemidir. Dik jeloz besiyerine ekim aşağıdaki yöntemlerle gerçekleştirilir.

- Daha önce tüpte hazırlanmış dik jeloz besiyeri su banyosunda kaynatılarak besiyeri içindeki oksijen giderilir.
- Tüpteki erimiş besiyerinin su banyosunda 45- 50 OC'ye kadar soğuması beklenir.
- Eş zamanlı olarak ekim yapılacak sıvı kültür örneği de 45 OC'ye kadar ısıtılır.
- Erimiş besiyeri ve kültür örneğinin ısıları 45 OC'ye ulaştığında uygun steril pipet ya da pastör pipeti kullanılarak ekim örneğinden ekim yapılacak miktarda örnek alınır.
- Ekim örneği, tüpteki erimiş agarlı besiyerinin üzerine boşaltılır.
- Örnek nakledilmiş besiyeri iki el arasında ekim örneğinin besiyeri içinde homojen bir karışımı sağlanıncaya kadar karıştırılır.
- Karıştırma esnasında besiyeri içinde hava kabarcıklarının oluşması, anaerop mikroorganizmaların üremesini engelleyeceğinden hava kabarcıklarının oluşmamasına dikkat edilir.
- Karışım sağlanan besiyeri soğuk suya daldırılarak katılaşması sağlanır. Besiyerini ani soğutmakla, karıştırmakla sağlanan homojen dağılımın kendi hâlinde katılaşması süresince mikroorganizmaların dibe çökerek homojen karışımın bozulması önlenir. Ayrıca besiyerini ani soğutmayla ekimi yapılan mikroorganizmalar uzun süre 37OC'nin üzerinde ısıya maruz bırakılmamış olur. Hızlı katılaştırmayla besiyerinin ortam oksijenini içine absorbe etmesi de önlenerek anaerop mikroorganizmaların üreme ortamının bozulması da önlenir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Tüpte katı besiyerine ekim yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Ekim ortamını ekim işlemi öncesi hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Ekim araç gereçlerinizi hazırlayınız.➤ Ekim yapılacak besiyerini hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Öze ile kültürü yapılmış besiyerindeki koloniden ekim örneği alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Örnek alınacak uzman tarafından belirlenerek işaretlenmiş koloniyi belirleyiniz.➤ Örnek alınacak özeyi tekniğine uygun sterilizasyonunu yapınız. Tek kullanımlık steril özeleri tekniğine uygun steril ambalajından çıkarınız.➤ Özeyi tespit edilen bakteri kolonisinin tam ortasına batırarak titretmeden örnek alınız.➤ Öze ucunu örnek alınacak koloni harici diğer bakteri kolonilere kesinlikle değdirmeyiniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Ekim yapılacak besiyerinin kapağını açınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Ekim yapılacak tüpteki besiyerini sol elinize alınız.➤ Tekniğine uygun bek alevi altında kapağını çıkarınız.➤ Örnek bulunan öze ucunu tüp içine sokarken tüp ağzına ve iç cidarına değdirmeyiniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpteki yatık besiyerine çizgi ekimi yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ İğne/luplu öze ucunu yatık besiyerinin alt, orta ucundan başlayarak geriye doğru düz bir ekim çizgisi oluşturunuz.➤ Ekim sırasında öze ucunu tüp iç cidarına değdirmeyiniz.➤ Ekim sırasında öze ucu ile besiyeri yüzeyini zedelemeyecek şekilde ekiminizi gerçekteştiriniz.➤ Ekim yaptığınız özeyi steril ederek yerine bırakınız. Tek kullanımlık özelerinizi kirli kabına atınız.

<p>➤ Tüpteki yatık besiyerine öze ile yüzey ekimi yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Besiyeri yüzeyine tekniğine uygun çizgi ekimi yapınız. ➤ Çizgi ekimi yaptığınız özeye oluşturduğunuz çizgi ekimine paralel “S” harfi şeklinde ekim çizgileri oluşturup özeyi geriye doğru çekerek ekiminizi bitiriniz. ➤ Ekim çizgilerinin tüp iç cidarına değmemesine dikkat ediniz.
<p>➤ Tüpteki yatık besiyerine pastör pipeti ile yüzey ekim yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Steril uygun pastör pipetine sıvı kültür örneğinden alınız. ➤ Pastör pipetindeki örnekten besiyeri yüzeyine yeteri miktarda damlatınız. ➤ Örneğin tüm besiyeri yüzeyine homojen şekilde yayılmasını sağlayınız. ➤ Sıvı örneği besiyerinin absorbe etmesi ve yüzeyinin kurumaması için bir süre yatık konumda bekletiniz.
<p>➤ Tüpteki yatık besiyerine özeye batırma ve yüzey ekim yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Besiyerinin yatık kısmı, alt uç ve orta bölgesine ekim yapınız. ➤ Batırma kültürü yapınız. ➤ Öze ucunu besiyeri yüzeyine çıkarınız. ➤ Yaygın ekim yapınız.
<p>➤ Dik jeloz besiyerine çalkalama kültür ekimi yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dik jeloz besiyerini su banyosunda kaynatınız. ➤ Erimiş besiyerini 45 – 50°C’ye kadar soğutunuz. ➤ Ekim örneğini 45°C’ye gelecek şekilde ısıtınız. ➤ Ekim örneğini erimiş besiyerine boşaltınız. ➤ Besiyerinin homojen karışımını sağlayınız. ➤ Karışım sırasında besiyeri içinde hava kabarcığı oluşmamasına dikkat ediniz. ➤ Besiyerini soğutunuz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Dik besiyerinde batırma ekimi hangi ekim aracıyla yapılır?
A) Drigalski spatülü
B) Pastör pipeti
C) İğne öze
D) Pens
E) Luplu öze
2. Aşağıdakilerden hangisi besiyeri içine ve yüzeyine yapılan ekim yöntemidir?
A) Besiyeri yüzeyine yaygın ekim
B) Yatık besiyerine batırma ve yüzey ekimi
C) Çizgi ekimi
D) Dik besiyerine batırma ekimi
E) Yaygın ekim
3. Aşağıdakilerden hangisi anaerop ekimlerde dik jeloz besiyerinin ekim öncesi kaynatılmasının amacıdır?
A) Besiyerinin sterilizasyonu sağlanır.
B) Besiyerinin ekim öncesi sıcak olması sağlanır.
C) Besiyerine sıvı özellik kazandırılır.
D) Besiyeri içindeki oksijen giderilir.
E) Besiyerinin homojen karışımı sağlanır.
4. Tüpteki yatık besiyerine yaygın ekimde hangi ekim aracı kullanılmaz?
A) Drigalski spatülü
B) Metal luplu öze
C) İğne öze
D) Eküvyon
E) Steril plastik iğne öze

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdaki hangi ekim yönteminde, anaerop ve fakültatif anaerop mikroorganizmaların üremeleri gözlenir?
A) Plak besiyerine yüzeyel ekim
B) Batırma kültürü
C) Yatık besiyerine çizgi ekimi
D) Plak besiyerine yaygın ekim
E) Tek koloni ekimi
2. Boğaz kültür örneğinin rutin olarak hangi besiyerlerine ekimi yapılır?
A) Beyin – kalp infüzyon agar, saboraaud agar
B) Thioglikolatlı sıvı, EMB
C) Saboraaud agar, EMB
D) Kanlı agar, çikolatalı agar
E) Selenif F, SS agar
3. Hangi ekim yönteminde besiyeri yüzeyinde ekim ilerledikçe bakterilerin tek tek düşmesi beklenir?
A) Besiyeri içine ekim
B) Besiyeri yüzeyine yaygın ekim
C) Antibiyogram test ekimi
D) Tek koloni ekimi (seyreltme ekimi)
E) Yatık besiyerine yüzey ekimi
4. Tek koloni ekimi yapılmış plak besiyerinde hangi ekim alanında diğer ekim alanlarına göre en fazla bakteri kolonisinin üremesi beklenir?
A) 1. ekim alanı
B) 2. ekim alanı
C) 3. ekim alanı
D) 4. ekim alanı
E) 3. ve 4. ekim alanı
5. Sıvı ekim örneğinin plak yüzeyine yaygın ekiminde hangi ekim aracı kullanılmaz?
A) Steril metal luplu öze
B) Steril otomatik pipet
C) Pastör pipeti
D) Eküvyon
E) İğne öze

6. Yaygın ekimde plak besiyerinde istenmeyen özellik aşağıdakilerden hangisidir?
- A) Besiyeri yüzeyinin kuru olması
 - B) Ekim yapılacak besiyeri ıslısının oda ıslısında olması
 - C) Besiyeri yüzeyinin aşırı ıslak olması
 - D) Ekim örneğini besiyerinin iyi absorbe etmesi
 - E) Besiyerinin steril olması

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

7. () Kültür yapılmış besiyerinden, ekim araç gereçleri kullanılarak yeni besiyerine aktarma işlemine pasaj denir.
8. () Ekim yapılacak örneğin uygun plak besiyerine ekimden önce besiyerinin oda ıslısına gelmesi sağlanır.

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

9. Steril edilmiş özenin sıcak ucu veya besiyerinin alt tabanında besiyerine zarar vermeden soğutulur.
10. Plak besiyerinde bakteriler genetik yapısına ve türünün özelliklerine uygun tipik yapılarını oluşturur.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ – 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	E
3	E
4	C
5	A

ÖĞRENME FAALİYETİ – 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	B
3	D
4	A

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	B
2	D
3	D
4	A
5	E
6	C
7	DOĞRU
8	DOĞRU
9	besiyeri yüzeyinde
10	koloni

KAYNAKÇA

- AKMAN Muvaffak, Ekrem GÜLMEZOĞLU, **Tıbbi Mikrobiyoloji**, Hacettepe Üniversitesi Yayınları/A-15, Ankara, 1976.
- **Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik Standart Uygulama Prosedürleri**, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıkları Araştırma Müdürlüğü Mart/2008.
- BİLGEHAN Hakkı, **Klinik Mikrobiyolojik Tanı**, 4. Baskı, İzmir, 2004.
- BİLGEHAN Hakkı, **Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilmi**, 11 Baskı, İzmir, 2005.
- ÇOTUK Aysin, **Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri**, Nobel Tıp Kitapevleri, 2003.
- ERGANİŞ Osman, Adnan ÖZTÜRK, **Orol Mikrobiyoloji ve İmmünoloji**, Nobel Tıp Kitapevi, 2003.
- HALKMAN A.Kadir, **Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları**, Ankara, 2007.
- POLAT Şeyda, **Sağlık Meslek Liseleri İçin Ders Kitabı (Laboratuvar Bölümü) Genel Mikrobiyoloji**, Ankara, 2002.
- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- Türkiye’de Bulaşıcı Hastalıkların Epidemiyolojik Sürveyansı ve Kontrolü Ssteminin Güçlendirilmesi Projesi (TR 0403.06), **Temel Laboratuvar Yönetimi Eğitimi Kurs Kitabı**, Mart, Ankara, 2007.
- USTAÇELEBİ Şemsettin, **Temel ve Klinik Mikrobiyoloji**, Güneş Kitapevleri, 1999.
- YAYLI Güler, **Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları El Kitabı**, Nobel Tıp Kitapevleri, 2002.