



ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

Antibiyotiklerin mikroorganizmalarla ilişkileri çeşitli yönlerden incelenmektedir. Bunlardan başlıcaları şunlardır:

- 1- Antimikrobiyallerin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliklerinin ölçülmesi
- 2- Vücut sıvılarındaki antimikrobiyal etkinliğinin ölçülmesi
- 3- Sağaltım sırasında vücut sıvılarındaki antimikrobiyal maddenin hastalık etkeni üzerindeki etkinliğinin saptanarak dozunun ayarlanması
- 4- Mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı oluşmuş dirençliliğinin saptanması
- 5- Antimikrobiyallerin mikroplar üzerindeki etkilerinin saptanması

Antimikrobiyal maddenin hangi sulandırılma kadar mikroorganizma üzerinde etkili olduğu **MİK (Minimal inhibitör konsantrasyon)** yöntemi ile saptanabilmektedir.

MİK: İn vitro şartlarda bakteri çoğalmasını engelleyen mililitrede mikrogram cinsinden en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu

ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TEST PROSEDÜRLERİ

Difüzyon Temelli Duyarlılık Testleri

Disk Difüzyon Duyarlılık Testi

Gradient Difüzyon Duyarlılık Testi

Dilüsyon Temelli Duyarlılık Testleri

Agar Dilüsyon Duyarlılık Testi

Makrodilüsyon Sıvı Besiyeri Duyarlılık Testi

Mikrodilüsyon Sıvı Besiyeri Duyarlılık Testi

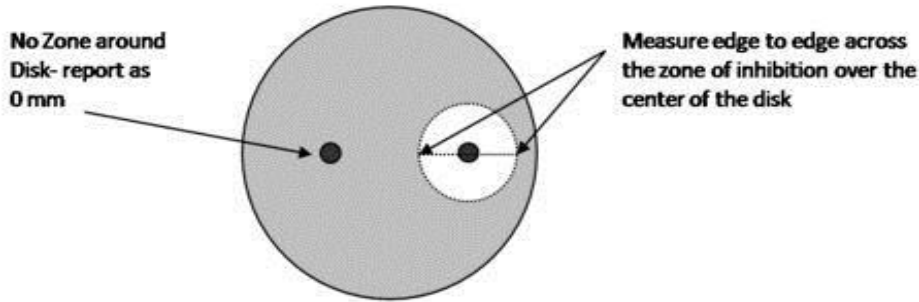
Otomatize Sistemler

Difüzyon Temelli Duyarlılık Testleri

Disk Difüzyon Duyarlılık Testi: Bu yöntem uygulama kolaylığı ve diğer yöntemlere kıyasla daha düşük maliyeti sebebiyle halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Dilüsyon yöntemlerinin aksine bir MİK değeri elde edilememekte, ancak ilacın inhibisyon zonunun çapı aynı suşun MİK değerleri ile kıyaslanarak duyarlılık kategorisi tahmin edilmektedir.

Yöntemin uygulanması: Bütün disk difüzyon yöntemleri, ilacın doygun diskten agar (Mueller- Hinton) içine doğru dağılıp yayılması esasına dayanır. Diskler 6 mm standart çapa sahiptirler ve test edilecek ilacın belirli bir miktarını içerecek şekilde üretilirler. Diskler 90 mm lik petriye, çevrede 6 disk, ortada 1 disk olacak şekilde dizilmelidir. Bakterinin agara ekimi ile ilaç disklerinin uygulanması arasındaki süre 15 dakikayı geçmemelidir. Bakteri hücre kitlesi belli bir eşiğe ulaştığında antimikrobiyal maddenin etkisi aşılar ve bakteri üremesi gerçekleşir. Kritik hücre kitlesine ulaşmak için gerekli süre sıklıkla test edilen bakteriler için 4-10 saattir. Difüze olmuş antimikrobiyal maddenin, çoğalan ve inhibe olan bakterilerin ara yüzündeki konsantrasyonu, kritik konsantrasyon olarak bilinir ve dilüsyon testleriyle elde edilen MİK'lere yakındır.

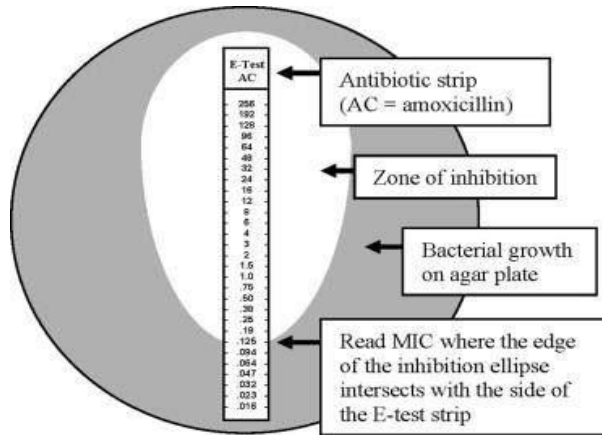
Sonuçların yorumlanması: İnhibisyon zon çapları milimetrik cetvellerle ölçülür. Elde edilen zon çapları daha önceden belirlenen standartları ile karşılaştırılır; duyarlı, dirençli ve orta duyarlı



Gradient Difüzyon Duyarlılık Testi: Epsilometre testi (**Etest**) olarak da bilinmektedir. Etest, agar yüzeyine yerleştirilen, antimikrobiyal madde ile doyurulmuş şeritlerden oluşur ve disk difüzyon testi ile aynı prensipleri kullanır. Ancak antibiyotikğin bir şerit boyunca düzenli olarak azalan (gradient) konsantrasyonları uygulanarak MİK değerleri elde edilmektedir. Şeridin inokülasyon besiyeri üzerine yerleştirilmesi antibiyotikğin, şeridi çevreleyen

besiyerine, bir uçtaki yüksek miktardan diğer uçtaki düşük konsantrasyona doğru difüze olmasına yol açar.

MİK değeri, şeridin üst yüzüne basılı olan doğrusal ölçekten ve üremenin inhibe olduğu zonun şeridi kestiği noktada okunur.



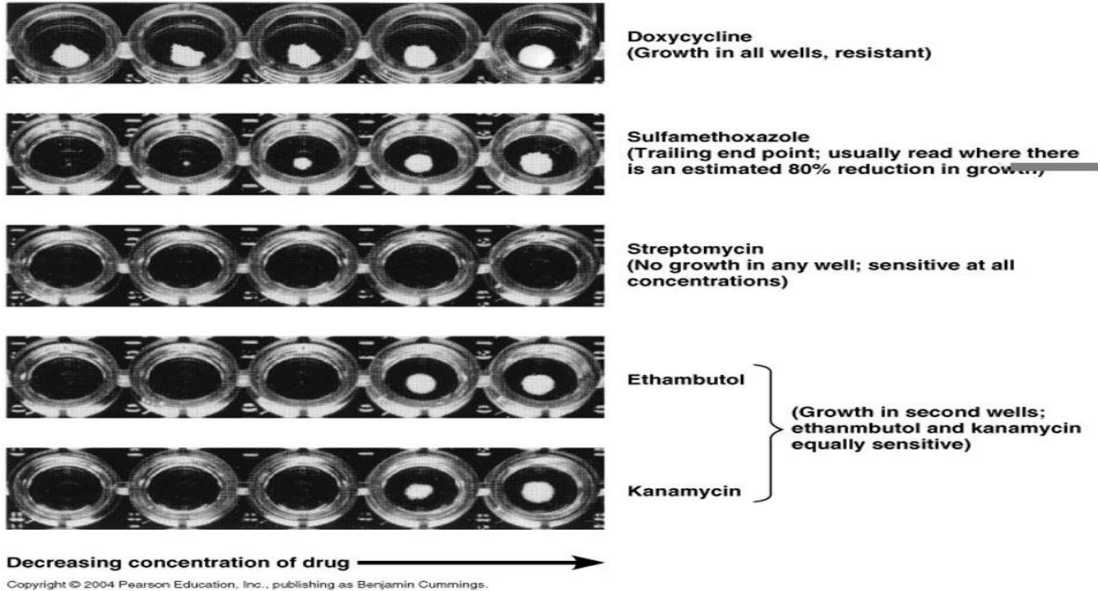
Dilüsyon Temelli Duyarlılık Testleri

Agar Dilüsyon Duyarlılık Testi: Katı besiyeri ile yapılan testlerde referans yöntemidir.

Makrodilüsyon Sıvı Besiyeri Duyarlılık Testi: Önce sıvı bir besiyerine antimikrobiyal maddenin seri sulandırılmaları yapılır; ardından, üzerlerine standart bakteri süspansiyonu eklenir. Genellikle 1-2 mL hacimlerde katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri içeren 10 test tüpü kullanılır. Antimikrobiyal madde miktarı 10 tüpten dokuzunda yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru seri olarak sulandırılır. Onuncu tüp antibiyotik içermememektedir ve üreme kontrolü olarak kullanılmaktadır. Her bir tüp test edilecek mikroorganizmanın standardize süspansiyonu ile inoküle edilir ve 35 derecede inkübe edilir. İnkübasyon süresinin sonucunda tüpler bulanıklık açısından çıplak gözle izlenir. Bulanıklık, besiyerindeki antimikrobiyal madde konsantrasyonunun bakteri üremesini inhibe etmediğini göstermektedir. **MİK**, serinin gözle görülür üremenin engellendiği ilk tüpündeki (berrak) antimikrobiyal maddenin konsantrasyonu olarak yorumlanır.



Mikrodilüsyon Sıvı Besiyeri Duyarlılık Testi: Prensip olarak makrodilüsyon yöntemi ile aynıdır; aradaki fark, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının plastik mikropiplardaki bir seri kuyucukta belirlenmesidir. Her bir plakta 80,96 veya daha fazla kuyucuk bulunur. Plak kuyucuklarında farklı antibiyotiklerin standart yatay seri sulandırımalarını içeren ticari sıvı besiyerlerine (Mueller-Hinton) test edilecek mikroorganizmanın standardize süspansiyonu inoküle edilir. Bu yöntem sayesinde, çok sayıda farklı bakterinin basit ve ucuz bir şekilde bir antibiyotik paneline karşı test edilmesi mümkün olmaktadır.





GRAM POZİTİF KOKLARIN VE DİFTERİ BASİLİNİN İNCELENMESİ

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

Giriş

Stafilokoklar Gram pozitif, kok morfolojisinde, 0.5-1.5 µm çapında, hareketsiz, fakültatif anaerop, yüksek tuz konsantrasyonu (örneğin %10 sodyum klorid) içeren ortamlarda, 18- 40°C'de üreyebilirler. İnsanlarda bulunan 40 tür ve 24 alt tür tanımlanmıştır.

İnsanlarda en sık hastalık etkeni olan türler:

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Staphylococcus epidermidis*
3. *Staphylococcus saprophyticus*
4. *Staphylococcus lugdunensis*
5. *Staphylococcus haemolyticus*

Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) hastanede yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara ve son yıllarda sağlıklı insanlarda hastane dışında da enfeksiyonlara neden olmaya başlayan en tehlikeli Stafilokok türüdür.

İnsanlarda en sık hastalık etkeni olan stafilokok türlerinin yaptıkları hastalıklar Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 7-1. Stafilokok türlerinin yaptığı hastalıklar

Stafilokok türü	Yaptığı hastalıklar
<i>S. aureus</i>	Besin zehirlenmesi, haşlanmış deri sendromu, toksik şok sendromu, karbonkül, folikülit, impetigo, yara enfeksiyonu, bakteriyemi, endokardit, pnömoni, ampiyem, osteomyelit, septik artrit
<i>S. epidermidis</i>	Bakteriyemi, endokardit, cerrahi yara enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, kateter, şant, prostatik alet ve peritoneal diyaliz fırsatçı enfeksiyonları
<i>S. saprophyticus</i>	İdrar yolu enfeksiyonu, fırsatçı enfeksiyonlar
<i>S. lugdunensis</i>	Endokardit, artrit, bakteriyemi, fırsatçı enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları
<i>S. haemolyticus</i>	Bakteriyemi, endokardit, kemik ve eklem enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, fırsatçı enfeksiyonlar

Mikroskopi: Stafilokoklar katı besiyerinde üretildiklerinde üzüm salkımı şeklinde kümeler yapan fakat klinik örneklerde tek tek veya küçük gruplar halinde görülen gram pozitif koklardır.

Kültür: Stafilokoklar aerobik ve anaerobik koşullarda, seçici olmayan besiyerlerinde büyük, beyaz - altın sarısı pigmentli, S tipi koloniler yaparak 24 saat içinde hızla üremektedir.

Nükleik asit bazlı testler: Stafilokokların hızlı üremesi nedeniyle bu testler sadece tarama kültürlerinde (hastalarda dirençli bakteriler açısından burun taşıyıcılığı taraması) oksasilin direncini belirlemek için kullanılmaktadır.

İdentifikasyon: *S. aureus*'un tanımlanmasında nispeten basit biyokimyasal bir test olan koagülaz testi sıklıkla kullanılmaktadır. Koagülaz negatif stafilokokların tanımlanması daha karmaşık olup, ticari tanımlama sistemleri ya da nükleik asit sekanslama teknikleri ile türe özgül genlerin gösterilmesini gerektirmektedir.

Katalaz Testi: Hidrojen peroksitin (H_2O_2) katalaz enzimi tarafından su ve oksijene parçalanması esasına dayanır. Stafilokokların streptokoklardan ayrılması amacı ile kullanılır. Bu test için bir lam üzerine birkaç damla %3'lük H_2O_2 [Hidrojen peroksit (%30) 1 ml, distile su 9 ml] damlatılır. Stafilokok şüpheli kolonilerden yada bakteri süspansiyonundan bir miktar alınarak %3'lük H_2O_2 ile steril bir öze yardımı ile karıştırılır. Bu esnada hava kabarcıklarının oluşması testin pozitifliği şeklinde yorumlanır.

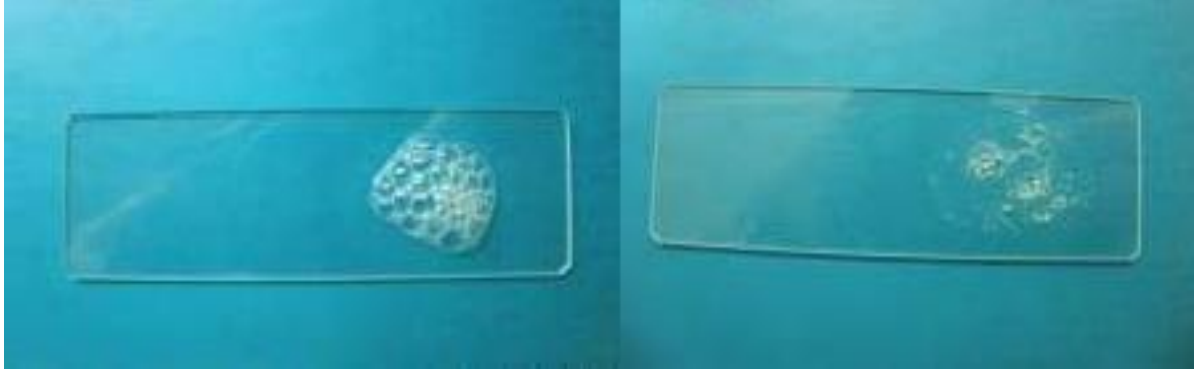
Pozitif kontrol: Stafilokoklar, **Negatif kontrol:** Streptokoklar

Koagülaz Testi: *S. aureus*'un ayırımında kullanılan bir testtir. Koagülaz sayesinde bakteri fibrin bir zırhla kaplanarak fagositozdan korunur. Serumun bakterisi etkinliğini de engeller. Koagülaz deneyi lamda veya tüpte uygulanabilir.

Lam deneyinde temiz bir lam üzerindeki bir damla serum fizyolojik içinde katı besiyerinden bol miktarda stafilokok alınarak süt görüntüsünde bir çözelti oluşturulur. Bu süspansiyon üzerine bir damla 1/5 oranında sulandırılmış plazma damlatılır. 5 - 10 saniyede pıhtı kümelerinin oluşması olumlu sonuçtur.

Tüp deneyi için 1/5 oranında sulandırılmış sitratlı insan veya tavşan plazması kullanılır. 1 ml sulandırılmış plazma üzerine, 1 ml taze buyyon kültürü veya katı besiyerinden alınan koloniler konur. Kontrol olarak plazma + steril buyyon kullanılır. 37 °C'de bekletilen tüplerde 1., 3., 6. ve 24. saatlerde pıhtılaşma olup olmadığına bakılır.

Pozitif kontrol: *S. aureus* **Negatif kontrol:** *S. epidermidis*



Şekil 7-1. Solda katalaz negatif, sağda katalaz pozitif test görünümü

Şekil 7-2. Solda koagülaz negatif, sağda koagülaz pozitif test görünümü

B-Streptokoklar ve Enterokok Türlerinin Laboratuvar Tanısı

Streptococcus cinsine ait bakteri türleri katalaz negatif özellik gösterirler ve sıvı besiyerinde zincirler oluşturan gram pozitif koklardır. Sınıflandırılmasında serolojik özellikleri (Lancefield gruplaması: A' dan V' ye kadar), hemoliz özellikleri (alfa, beta, gama hemoliz) ve biyokimyasal özellikleri kullanılmaktadır.

Klinik olgularda en sık karşılaşılan Streptokok türleri ve sınıflandırılma özellikleri Tablo 5' te verilmiştir.

Tablo 7-2. Sık karşılaşılan Streptokok türleri ve sınıflandırılması

Filogenetik Grup	Tür	Lancefield Grup	Hemoliz Özellikleri
Pyojenik Streptokoklar	<i>S. pyogenes</i>	A	Beta
	<i>S. agalactiae</i>	B	Beta
	<i>S. equisimilis</i>	C	Beta
Mitis grup	<i>S. pneumoniae</i>	O	Alfa
	<i>S. mitis</i>	O	Alfa
	<i>S. oralis</i>	Tanımlanmadı	Alfa
	<i>S. sanguis</i>	H	Alfa

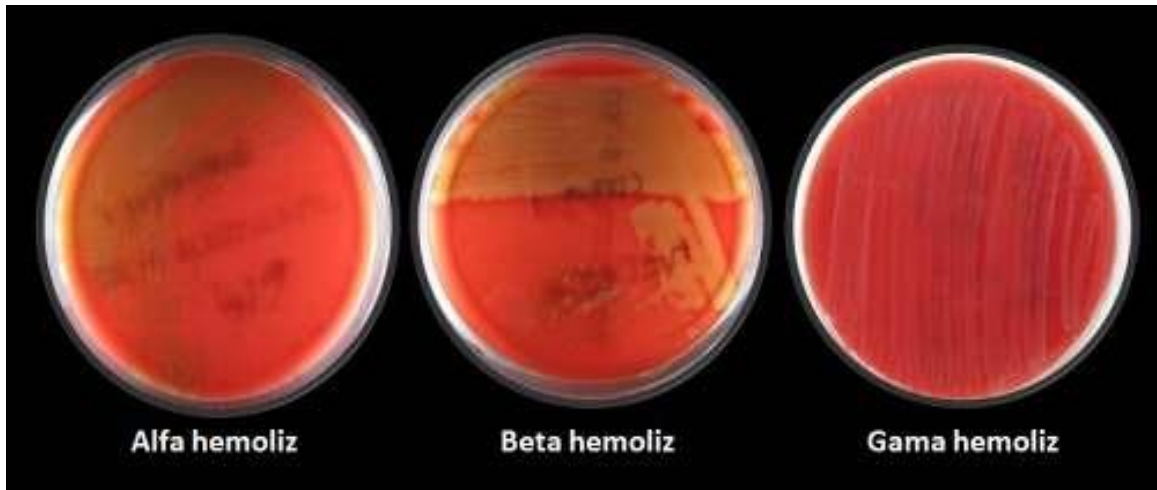
	<i>S. gordonii</i>	H	Alfa
Anginosus grup	<i>S. anginosus</i>	G, F (ve A)	Alfa
	<i>S. intermedius</i>		Alfa
Salivarius grup	<i>S. salivarius</i>	K	Gama
Bovis grup	<i>S. bovis</i>	D	Alfa veya gama
Mutans grup	<i>S. mutans</i>	Belirlenmedi	Gama
	<i>S. sobrinus</i>		Gama

Streptokokların Laboratuvar Tanısı

I. Streptokokların Fenotipik Olarak Tanımlanması

a. Makroskopik Değerlendirme ve Koloni Görüntüsü:

Streptokoklar çoğunlukla gri-beyaz renkte, ıslak ya da parlak özellikte küçük koloniler oluşturmaktadırlar. Kanlı agardaki kolonileri alfa, beta veya non (gama) hemolitik olabilirler.



b. Mikroskopik Değerlendirme ve Gram Boyama:

Gram boyalı preparatların mikroskopik incelemesinde Streptokoklar ve Enterokoklar gram pozitif çiftler veya zincir şeklinde koklar; *S. pneumoniae* ise çoğunlukla Gram pozitif uzamış görünümlü diplokoklar şeklindedir.



Şekil 7-4. Gram pozitif kok zincirleri ve Gram pozitif diplokoklar

c. Lam Metoduyla Katalaz Testi:

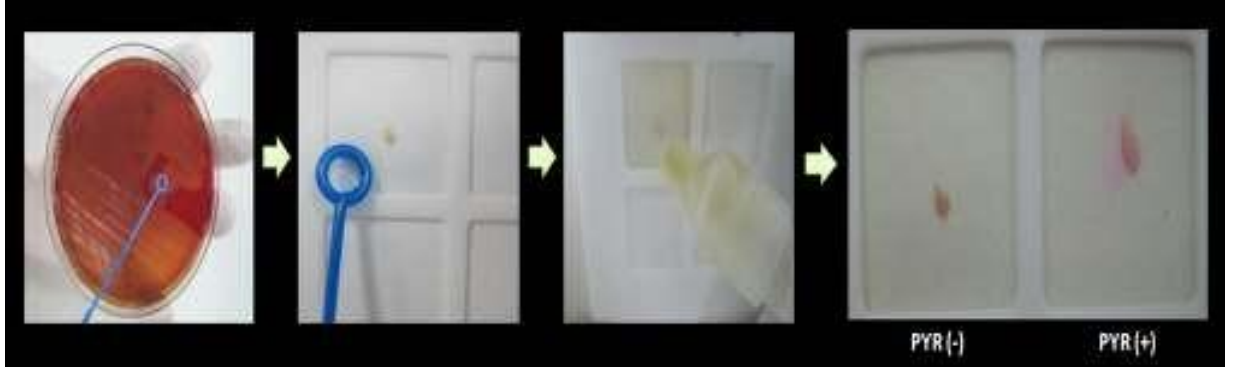
Test edilecek bakterinin katalaz enzimi olup olmadığını araştırmaya yönelik bir test olup, sıklıkla gram pozitif koklardan Stafilokok türlerinin Streptokok türlerinden fenotipik olarak ayırt edilmesinde kullanılmaktadır.

Temiz bir lam üzerine test edilecek bakteri kolonisi aktarılır ve üzerine bir miktar %3' lük H_2O_2 damlatılır. Gaz kabarcığı oluşumu gözlenir. Kabarcık oluşumu testin pozitifliği yani bakterinin katalaz enzimi varlığı lehinde yorumlanır.

II. Beta Hemolitik Streptokokların Fenotipik Olarak Tanımlanması:

a. Pirolidonil-beta-naftilamid (PYR) Hidrolizi Testi:

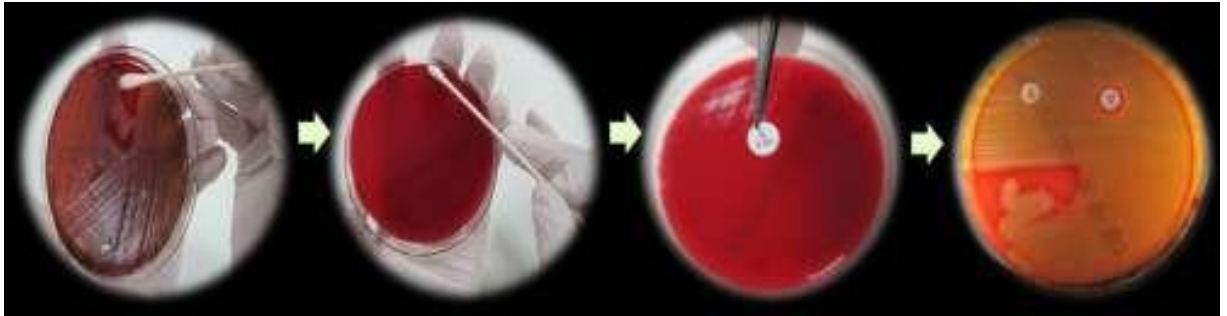
S. pyogenes' in diğer beta hemolitik Streptokoklardan ayırt edilmesinde kullanılan bu test, bakteride PYR enzimi varlığının araştırılmasını temel almaktadır. L-pirolidonil-beta- naftilamid PYR enzimi aracılığıyla Beta-naftilamidin ürününe hidroliz olur ve ilgili reaktif eklendiğinde kırmızı renkalır. *S. pyogenes* dışında Enterokokların, bazı hayvan kaynaklı Streptokok türlerinin ve diğer bazı bakteri türlerinin de PYR testinin pozitif olduğu unutulmamalıdır.



Şekil 7-5. Pirolidonil-beta-naftilamid (PYR) hidrolizi testinin yapılışı

a. Basitrasin Duyarlılık Testi:

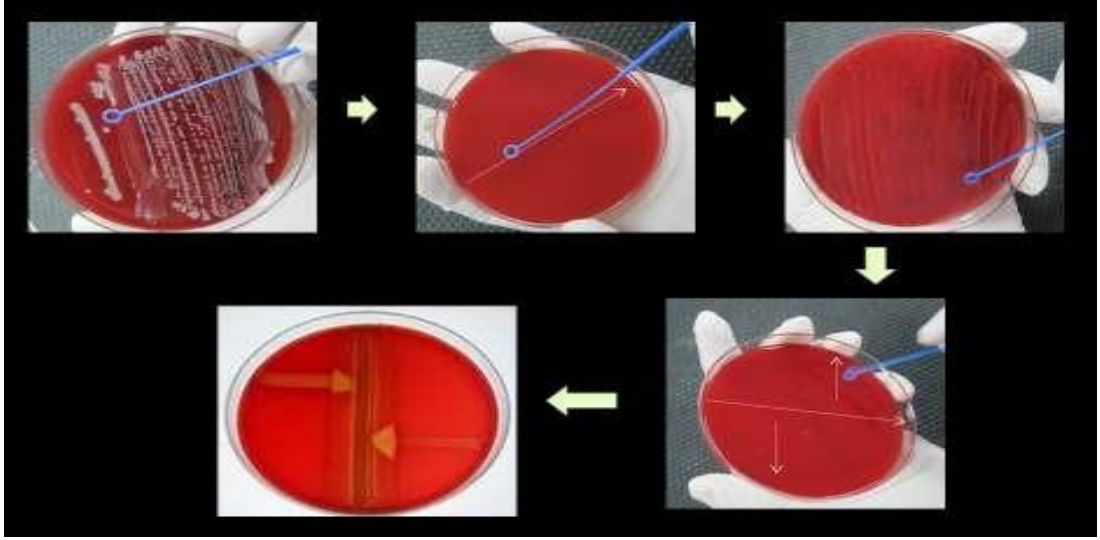
S. pyogenes, diğer A grubu Streptokoklar ve diğer beta hemolitik Streptokoklardan farklı olarak basitrasine duyarlılık gösterir. *S. pyogenes* olabileceğinden şüphelenilen bakteriden 3- 4 koloni alınarak kanlı agara pasajlanır ve 0.04 U Basitrasin diski plağa yerleştirilir. 35°C' de %5 CO₂' li ortamda bir gece inkübe edilir. Diskin etrafında bakteri üremesinin inhibe olması, test edilen bakterinin basitrasine duyarlı olduğunu düşündürür.



Şekil 7-6. Basitrasin duyarlılık testinin yapılışı

b. Christie Atkins Munch Peterson (CAMP) Testi:

S. agalactia'nın diğer beta hemolitik Streptokoklardan ayırt edilmesi için yapılan bu test *S. aureus*' un yaptığı hemolizin *S. agalactia* tarafından artırılması esasına dayanmaktadır (sinerjik lizis). Test edilecek suş ve *S. aureus* suşu kanlı agara 90° açıyla çizgi olarak ekilir. 36±1°C' de bir gece inkübe edilir. *S. aureus* beta hemolizini ve CAMP faktörü diffüzyon bölgesinde üçgen şeklinde artmış hemoliz görülmesi CAMP testinin pozitifliği şeklinde yorumlanır.

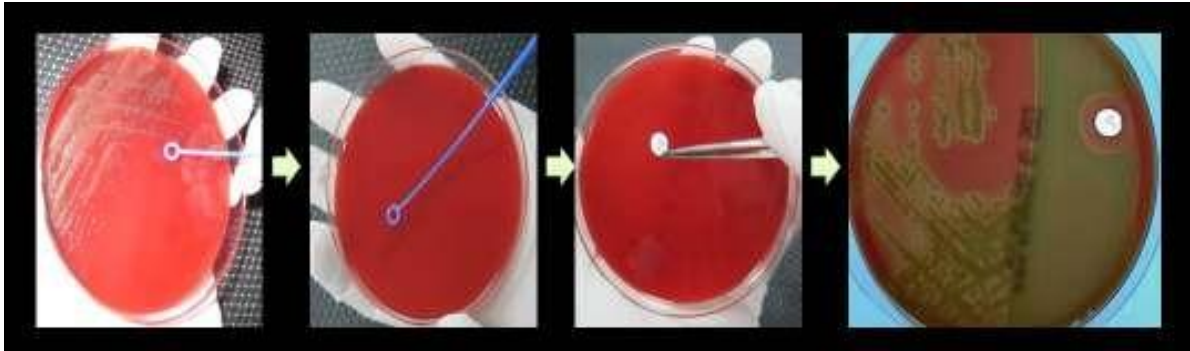


Şekil 7-7 Christie Atkins Munch Peterson (CAMP) testinin yapıışı

I. *Streptococcus pneumoniae* ve Viridans Grubu Streptokokların Fenotipik Olarak Tanımlanması:

a. Optokin Duyarlılık Testi:

S. pneumoniae suşunun optokine duyarlı olduğu bilgisini temel alan bu test *S. pneumoniae*'nin diğer alfa hemolitik Streptokoklardan ayırt edilmesinde kullanılır. Test edilecek organizmanın kültüründen birkaç koloni kanlı agara pasajlanır ve 5 µg optokin içeren disk üzerine yerleştirilir. 35°C' de %5 CO₂'li ortamda bir gece inkübe edilir. Diskin etrafında bakteri üremesinin inhibe olması, test edilen bakterinin optokine duyarlı olduğunu düşündürür. Optokine duyarlı *S. mitis* ve optokine dirençli *S. pneumoniae* suşlarının da olabileceği unutulmamalıdır.



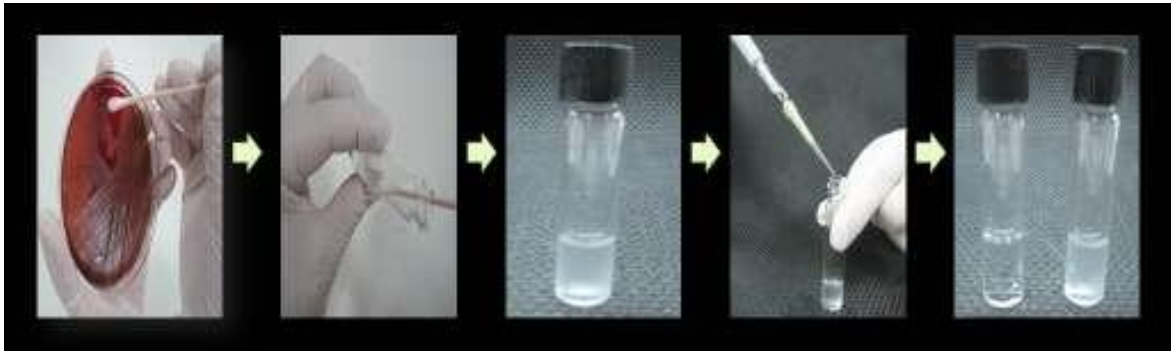
Şekil 7-8. Optokin duyarlılık testinin yapıışı

b. Tüp Metoduyla Safrada Erime Testi:

S. pneumoniae'nin muhtemel tanısında kullanılmaktadır. Sodyum deoksikolat bir tür safra tuzu olup hücre duvarına etki ederek hücrenin

erimesine neden olmaktadır.

İki adet tüp içerisinde fizyolojik tuzlu suda (pH: 7.0) test edilecek bakteriden yoğun bakteri süspansiyonu hazırlanır. Tüplerden birine %10'luk sodyum deoksikolat solusyonu damlatılır diğerine (kontrol olarak kullanılacaktır) ise fizyolojik tuzlu su damlatılır. Tüpler 35°C' de 3 saatte bir kontrol edilerek inkübe edilir. %10'luk deoksikolat damlatılmış olan tüpdeki bakteri bulanıklığı kaybolmuş ve viskozitesi artmış ise test edilen bakterinin safrada erime özelliği olduğu şeklinde yorumlanır.



Şekil 7-9. Tüp metodu ile safrada erime deneyinin yapılışı

II. Enterokoklar ve D Grubu Streptokokların Fenotipik Olarak Tanımlanması:

a. Safra Eskülin Agarda Üreme Testi:

Safra eskülin agar, *Enterococcus* ve grup D Streptokoklar (*Streptococcus bovis*) türlerini diğer Streptokoklardan ayırt etmek amacıyla kullanılan seçici ve ayırıcı bir besiyeri türüdür.

Besi yerinde mevcut olan safra *Enterococcus* ve grup D Streptokoklar dışındaki streptokokları ve diğer gram pozitif kokların üremesini baskılamaktadır. Besiyerinde mevcut olan eskülin ise söz konusu mikroorganizma tarafından hidrolize edilerek eskületin ve dekstroza ayrıştırılır. Eskületin yine besiyerinde kullanılan demir tuzu ile etkileşerek siyah- kahve renk oluşumuna neden olmaktadır.

Şüphelenilen koloniler safra eskülin agara pasajlanıp uygun koşullarda inkübe edildikten sonra siyah-kahve renk oluşturan kolonilerin gözlenmesi bakterinin safralı ortamda üreyebildiği, eskülini hidroliz etme yeteneği olduğu ve *Enterococcus* ve *Streptococcus bovis* olabileceği şeklinde yorumlanır.

□ Korineform bakterilerin üyeleridir □ Korineform bakteriler; □ Gram-pozitif basiller □ Spor oluşturmazlar, hareketsizdirler, aside dirençli değildirler □ *Corynebacterium* □ *Arcanobacterium*

Aerobik veya fakültatif anaerobik, hareketsiz, ve katalaz pozitif □ Hücre duvarında kısa zincirli mikolik asitler bulunur □ Gram boyama: küme yapmış ve kısa zincirli (V veya Y biçiminde) düzensiz şekilli (lobut şeklinde) basiller □ Metakromatik granüller (+)

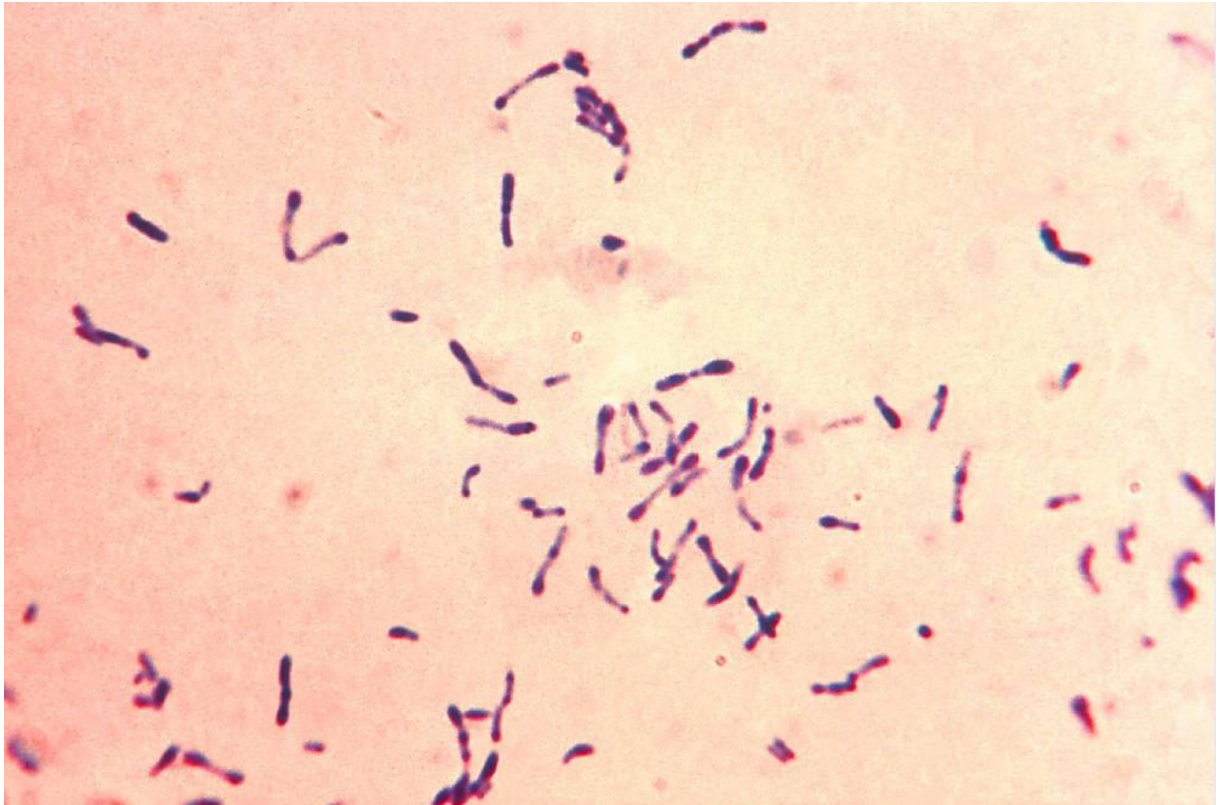
Normalde insanlarda deri, üst solunum yolu, gastrointestinal kanal, ve ürogenital kanalı kolonize ederler □ Fırsatçı patojen olabilirler: bazıları insanlardaki hastalıklarla daha sık ilişkilidir □ *Corynebacterium diphtheriae*: difterinin etiyolojik etkenidir

Laboratuvar tanısı

□ Sürüntü örnekleri ve mikroskopi □ Kültür □ Toksijenite testi □ Elek testi □ Moleküler testler

Sürüntü örnekleri ve mikroskopi

Burun, boğaz, veya diğer şüpheli bölgelerden □ Yarı-katı transport besiyerlerine konulmalıdır □ Mikroskopik inceleme güvenilir değildir: □ Metakromatik granüller *C. diphtheriae*'ye özgül değildir



Kültür

☐ Kanlı agar (hemolitik streptokokları ekarte etmek için) ☐ Küçük koloniler

Seçici besiyeri (sisteintellürit kanlı agar – CTBA): ☐ Tellürit; ☐ Diğer birçok bakterinin üremesini engeller ☐ *C. diphtheriae* tarafından indirgenir (gri-siyah koloniler oluşur) ☐ Sisteinin *C. diphtheriae* tarafından parçalanması sonucu koloniler etrafında kahverengi bir hale oluşur

Löffler besiyeri: ☐ Metakromatik granüllerin üretilmesini artırır



MİKROBİYOLOJİK KÜLTÜRLERİN ALINMA TEKNİĞİ, TRANSFERİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

MİKROBİYOLOJİK İNCELEME İÇİN GENEL ÖRNEK ALIMI KURALLARI

Mikrobiyolojik inceleme sonuçlarının klinik anlam taşıması ve zamanında elde edilebilmesi için örnek seçimi, alınması, laboratuvara ulaştırılması ve gerektiğinde uygun koşullarda saklanması ile ilgili kurallara uyulması son derece önemlidir. Bu işlemlerin uygun olduğu örneklerde, kontaminasyon oranları daha az olmakta, gerçek etkenin izolasyon şansı artmaktadır.

GENEL KURALLAR

I. Güvenlik önlemleri:

1. Örnek alımı sırasında mutlaka önlük giyilmeli, eldiven takılmalı, gerektiğinde maske ve/veya gözlük ile yüz ve mukozalar korunmalıdır.
2. Örnek alımında kullanılan kaplar güvenli olmalı, sıvıları sızdırmamalıdır.
3. Enjektör ile alınan örnekler steril bir tüpe aktararak gönderilmelidir.
4. Damlatan veya ağzı açık kaplarda örnek gönderilmemelidir.

II. Örnek türleri

- Aerop örnek türleri: Konjunktiva, oral kavite, farinks/tonsil, burun, balgam, bronş lavaş, BAL, PSB, trakeal asp., açlık mide suyu, kan, katater ucu, BOS, idrar, plevra sıvısı, periton sıvısı, eklem sıvısı, diğer aspirat, doku, yara/abse, genital sürüntü, vajinal sürüntü, seminal sıvı, üretral akıntı, deri kazıntısı, saç/kıl, dışkı, anal sürüntü
- Anaerop örnek türleri: Kan, plevra sıvısı, periton sıvısı, eklem sıvısı, diğer aspirat, doku, yara/abse, genital sürüntü, vajinal sürüntü, seminal sıvı, üretral akıntı

III. Örnek alımı:

Örnekler etken mikroorganizmanın en yüksek olasılıkla izole edilebileceği anatomik bölgeden steril şartlarda alınmalıdır.

- Normal flora ile kontaminasyondan kaçınmak gereklidir. Bu özellikle flora elemanlarının da etken olarak görülebileceği kan, kemik, diğer doku ve vücut sıvısı kültürlerinin ve infeksiyon bölgesinin mukoza ve deri ile ilgili olduğu örneklerin alımında kritik önem taşımaktadır.
- Örnek uygun teknikler ve malzeme kullanılarak doğru anatomik bölgeden alınmalıdır.
- Anaerobik kültürlerin alınacağı bölgelerin seçimi özellik taşımaktadır (Tablo 1). Genel olarak biyopsi ve iğne aspirasyon örnekleri yeğlenmelidir. Bu örnekler asla buzdolabına konulmamalı, eğer laboratuvara ulaşım gecikiyorsa oda sıcaklığında tutulmalıdır.
- Örnek miktarının yeterli olmadığı durumlarda yalancı negatif sonuçlar çıkabilmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen bir sürüntü örneği veya bir kaç damla vücut sıvısından rutin kültür, anaerop kültür, fungal ve mikobakteriyolojik inceleme istenmesi oldukça sık rastlanan bir sorundur ve etken izolasyonuna imkan vermemektedir.
- Boğaz kültürü veya üretral kültür dışında, genel olarak doku ve sıvı aspirat örnekleri sürüntü örneklerine yeğlenmektedir. Sürüntü örneği alımının kolay olmasına karşın bu şekilde alınan örnekler, örnek miktarını kısıtlamakta, kontamine olmakta, direkt boyalı preparat hazırlanması ve değerlendirilmesinde hatalara yol açmakta ve bazı mikroorganizmaların izolasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir.
- Örnek güvenli, sızdırmayan ve etkenin saklanmasına uygun steril bir kap veya tüp içerisine alınmalı ve üzerine barkot yapıştırılmış olarak gönderilmelidir.
- Bazı örnekler uygun şartlarda da gönderilseler klinik açıdan önemli bir sonuç vermez (Tablo 2). Bu tip örneklerden kaçınmak gereklidir.

IV. Laboratuvara ulaştırma ve saklama koşulları

1. Tüm örnekler en kısa zamanda (<2 saat) laboratuvara ulaştırılmalıdır. İşlemlenmesi gecikecek olan bir çok örneğın (aşağıda 3. maddede belirtilenler hariç) buzdolabında saklanması gereklidir. Soğutma işlemi, patojenlerin canlılığını ve göreceli sayılarını korur. Bu, özellikle semikantitatif ve kantitatif kültürler için (ör. idrar ve balgam kültürleri) önem taşımaktadır.
2. Genel bir kural olarak bakteriyolojik inceleme için gönderilen örnekler 24 saatten uzun süre saklanmaz.
3. Bazı mikroorganizmalar çevre koşullarına özellikle duyarlıdır. Bunlar arasında Shigella spp. (derhal işlemlenir), Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis ve Haemophilus influenzae (soğuğa duyarlı) sayılabilir. Bunlar yanısıra, beyin-omurilik sıvısı (BOS), genital sistem, göz, iç kulak örnekleri ve kan kültürleri asla buzdolabına konulmamalıdır.

V. Örneklerin kabul veya red edilmesi ile ilgili kriterler

- Örneğın üzerinde barkot olmaması: Örnek invazif olmayan bir işlem ile alınabiliyorsa (idrar, balgam, boğaz sürüntüsü vb.) yeniden gönderilmelidir. İnvazif bir örnekte ise (iğne aspirasyonu, vücut sıvıları, dokular vb.), örneği alan ve gönderen sorumlu hekime durum bildirildikten ve hasta-örnek eşlemesi yapıldıktan sonra kültür işlemi uygulanır, barkotun gönderilmesi istenir.
 - Örnek barkodunun yanlış basılması ya da yanlış kaplara yaşıştırılmış olması
 - Örneğın laboratuvara iletilmesinde gecikme: Örneklerin alımdan sonra 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir. Bu açıdan en fazla sorun ameliyat sırasında alınan örneklerde yaşanmaktadır. Herhangi bir transport sistemine konulmamış bir örneğın alınışından sonra 12 saati aşkın süre geçti ise kesin olarak red edilmesi gereklidir.
 - Örneğın içine konduğu kabın uygun olmaması
 - Sızdıran, çatlamış, kırılmış kapta gelmesi
 - Steril olmayan kap kullanımı
 - Moleküler Mikrobiyoloji testlerinde tanımlanmış kapların kullanılmaması
 - Balgam mikobakteriyolojik incelemesinde petri kabı kullanımı
- Örnek işlemlenmez, durum gönderen kişiye bildirilir ve yeni örnek istenir.
- Örneğın veya alınma ve gönderilme koşullarının istenen test için uygun olmaması
 - Aerop şartlarda getirilmiş bir örnekten anaerobik kültür istenmesi
 - Anaerop incelemeler için Mide yıkama sıvısı, dışkı (C.difficile, C.perfringens hariç), ileostomi-kolostomi sürüntüsü, orta idrar örneği, boğaz-burun sürüntüsü, yüzeysel deri sürüntüsü
 - Balgam yerine tükürük örneği gönderilmesi
 - HSV, VZV, C.pneumoniae, M.pneumoniae, Legionell PCR testleri için kan örneği gönderilmesi
- Örnek işlemlenmez, belirtilen test için uygun şartlarda yeni örnek istenir.
- Örneğın aynı gün içerisinde aynı işlem için ikinci kez gönderilmesi: Kan kültürleri dışındaki örnekler aynı gün içerisinde ikinci kez gönderildiğinde sadece biri işlemlenmektedir. Bunun yanısıra, bazı örneklerin de her gün veya gün aşırı gönderildiği gözlenmektedir. Böyle bir durumun bilimsel olarak endike olduğu klinik tablolar son derece kısıtlıdır ve gereksiz ekonomik yük getirmektedir.
 - Örneğın gözle görülebilir biçimde kontamine olması (ör: Laboratuvara getirilen kan kültür şişesinde Bacillus spp.ye ait yüzeysel zar varlığı) İlgili kişiye sorun belirtildikten sonra örneğın tekrar istenir.

- Balgam veya diğer solunum sekresyonları yerine tükürük gönderilmesi. Enfeksiyon etkeninin soyutulabilmesi için örneğin alt solunum yollarını temsil etmesi gereklidir. Tükürük örneğin ağız sekresyonları ile aşırı derecede kontamine olduğunu göstermektedir.
- Rutin dışkı kültürü için şekilli dışkı gönderilmesi: Rutin dışkı kültürleri akut diyare etkeni bakteriler için yapılmaktadır. Diyare semptomları olan hastanın dışkısı suludur yani dışkı içinde bulunduğu kabın şeklini alır. Dolayısıyla, şekilli dışkı çıkaran hastadan “taşıyıcılık saptanması” dışında rutin kültür istenmemelidir.

ÇEŞİTLİ ÖRNEKLER İLE İLGİLİ ÖRNEK ALIM KURALLARI

1. KAN KÜLTÜRLERİ

Kan örneklerinin alınması Kan kültürü sonuçlarının klinik açıdan anlamlı olması, çeşitli değişkenlere bağlıdır. Bunlar arasında en önemlisi, deri flora bakterileri ile kontamine olan kültür sayısıdır.

- Kontaminasyon olmaması için asepsi kurallarına kesin olarak uyulmalıdır.
- Katater enfeksiyonu düşünülmediği sürece kan örneklerinin alınması için kalıcı vasküler kataterler kullanılmamalıdır.

Kan alınacak deri bölgesinin dekontaminasyonu

- a. Bölge %70’lik alkol ile temizlenir.
- b. İyot bileşiği ile, dairesel olacak şekilde silinir .
- c. İyot bileşiğinin kuruması beklenir* (Bu çok önemli ve genellikle gözardı edilen bir kuraldır, ancak deri antisepsisi için gereklidir).
- d. Temizlenen bölge artık palpe edilmez.
- e. Kan alınır.
- f. Derideki iyot alkol ile temizlenir.

*İyodoforların maksimal antiseptik etkinliği için deri ile 1.5-2 dakika temas etmesi gereklidir. Tentürdiyotun etkisi bundan daha kısa sürede görülmektedir. Bu nedenle, özellikle kontaminasyon oranlarının yüksek olduğu, örneklerin tıp fakültesi öğrencileri tarafından alındığı kliniklerde deri antisepsisi için tentürdiyot kullanılması daha uygun olabilir.

Örnek miktarı: Erişkinler için her kültür şişesine 10- 20 ml kan alınması gerekmektedir. Yenidoğan, 1-2 ml; 1ay- 2yaş 2-3 ml; 3 yaş ve üzeri, 3-5 ml örnek alınmalıdır. Adolesan yaş grubunda 10-20 ml örnek alınabilir. Bunun yanı sıra, kan:besiyeri oranının 1:5-1:10 olması önerilmektedir.

Kültür sayısı: Fungal veya rutin bakteriyel kültürler için tek örnek gönderilmesi yetersizdir. 24 saat içerisinde farklı bölgelerden iki kan örneği alınması önerilir.

Zamanlama: Kan kültürü için örneklerin yukarıda belirtilen aralıklarla alınması sürekli bakteriyeminin gösterilebilmesi açısından yararlı olmaktadır.

Transport ve saklama koşulları: Kan kültürlerinin 2 saat içerisinde, oda ısısında tutularak laboratuvara ulaştırılması gereklidir. Eğer ulaşım gecikiyorsa kültür asla buzdolabına konulmaz.

2. BEYİN-OMURİLİK SIVISI (BOS)

Örnek alımı: Örnek alınacak bölge %2lik tentürdiyot ile temizlenir. Mandrenli lumbar ponksiyon iğnesi L3-L4, L4-L5, veya L5-S1 aralığından sokulur. Subaraknoid boşluğa gelindiğinde, mandren geri çekilir, 3 steril, kapaklı tübün her birine 1-2 ml BOS alınır(1).

Örnek miktarı: Bakteriler için ³ 1 ml; funguslar için ³ 2 ml; Asidorezistan bakteriler için ³ 2 ml; virüsler için ³ 1 ml örnek alınmalıdır. Genel olarak BOS kültürleri ile eşzamanlı olarak kan kültürü alınması da önerilir. Eğer BOS örneği tek bir tüpe alınabildi ise tüp gecikmeden, önce Mikrobiyoloji laboratuvarına götürülür. Eğer birden fazla tübe örnek alınabildi ise 2. tüp Mikrobiyoloji laboratuvarına götürülür.

Transport ve saklama koşulları: Bakteriyel kültür için alınan BOS örneği Oda ısısında, 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Menenjit etkeni olan bakteriler genel olarak çevresel koşullara duyarlı türler olduğu için en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılması ve burada da

gecikmeden işlem uygulanması koşuldur. Hatta direkt hasta başı ekim yöntemleri önerilmektedir. Bakteriyel kültürler için alınan BOS örnekleri asla buzdolabına konmaz, örnek saklanacaksa oda ısısında tutulur (<24st). Viral kültür yapılacaksa, örnek 4°Cde, 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılır ve 4°Cde 72 saat saklanabilir.

3. SOLUNUM SİSTEMİ ÖRNEKLERİ

3.1. Alt solunum yolu örnekleri (Bronkoalveolar lavaj (BAL), korunmuş fırça örneği, trakeal aspirat)

Örnek alımı: Aspirat veya BAL örneği steril bir tüpe alınır. Korunmuş fırça örneği steril serum fizyolojik (SF) içeren bir tüpe konulur. Sıvı örneklerin 1ml.den fazla hacimde olması gereklidir.

Transport ve saklanma koşulları: Örnek oda ısısında, 2 saat içerisinde Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmalıdır.

3.2. Balgam

Örnek alımı: Örnek hekimin veya hemşirenin gözetiminde alınmalıdır. Örnek alınmadan önce hastanın ağzını su ile çalkalaması istenir. Hastanın, derin bir öksürükle, alt solunum yolu örneği (postnazal akıntı değil) çıkartması istenir.

Mikobakteriyolojik inceleme isteniyorsa tercihen üç gün üst üste sabah balgamı gönderilmesi önerilir.

Transport ve saklanma koşulları: Örnek steril bir kap içerisine en az 1 ml olacak şekilde alınır. Oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

3.3. İndüklenmiş Balgam

Örnek alımı: Hasta dişlerini ve dilini fırçaladıktan sonra ağzını su ile çalkalar. Bir nebulizatör aracılığı ile hastanın 25 ml. %3-10luk steril tuzlu su inhale etmesi sağlanır. İndüklenmiş balgam örneği steril bir kap içerisine toplanır.

Transport ve saklanma koşulları: Balgam için belirtildiği gibidir.

3.4. Üst Solunum Yolu Örnekleri

3.4.1. Boğaz

Örnek alımı: Abeslang yardımı ile dil aşağıya bastırılırken eküvyon ile posterior farinks, tonsiller, yangılı görünen diğer alanlardan örnek alınır. Akut epiglottit tablosunda boğaz kültürü alınması kontrendikedir.

Transport ve saklama koşulları: Eküvyon bir transport besiyerine yerleştirilir. Oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır.

3.4.2. Burun

Anterior nares kültürleri stafilokokal veya streptokokal taşıyıcılığın saptanmasında veya nazal lezyon varlığında önerilmektedir.

Örnek alımı: Steril SF ile ıslatılmış eküvyon naresten sokularak yaklaşık 2 cm ilerletilir. Eküvyon döndürülerek nazal mukozaya sürülür.

Taşıma ve saklama koşulları: Sürüntü örneği transport besiyerine yerleştirilir. Oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır.

4. ABSE

Örnek alımı, transport ve saklama koşulları:

- Yüzeyde bulunabilecek eksüda steril fizyolojik tuzlu su veya %70'lik etanol ile silinerek temizlenir.
- Doku veya aspirasyon materyali her zaman sürüntü örneğine yeğ tutulmaktadır.
- Sürüntü örneklerinin kullanılmasının gerektiği durumlarda iki örnek alınır. Bunlardan biri ekim için, diğeri Gram boyalı preparat için kullanılır.
- Sürüntü örnekleri Stuart veya Amies transport besiyeri içerisinde korunmalıdır.

5. İDRAR

5.1. Orta idrar örneği, kadın hasta

Örnek alımı: Üretral alan sabun ve su ile temizlenir. Islak pedlerle tekrar silinir. Orta idrar örneği steril kaba alınır. Örnek miktarının en az 1 ml olması istenir.

Transport ve saklama koşulları: Herhangi bir transport besiyeri olmaksızın oda ısısında en fazla 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır. Daha uzun süreler için (24 saate kadar) 4°Cde tutulur.

Bir hastadan günde en fazla bir örnek gönderilmelidir.

5.2. Orta idrar örneği, erkek hasta

Örnek alımı: Glans sabun ve su ile temizlendikten sonra, bölge ıslak pedler ile silinir. Orta idrar örneği steril kap içerisine alınır.

Transport ve saklama koşulları: Yukarıda belirtildiği gibidir.

15.3. Kateter ile

Örnek alımı: Üretral bölge sabun ve su ile yıkandıktan ve ıslak pedler ile durulandıktan sonra, kateter aseptik şartlarda mesaneye sokulur. İlk 15 ml akıtıldıktan sonra gelen idrardan steril kap içerisine örnek alınır.

Transport ve saklama koşulları: Yukarıda belirtildiği gibidir.

5.4. Foley kateter ucu

Distal üretral flora ile kontamine olduğu için herhangi bir işlem uygulanmaz!

6. GENİTAL ÖRNEKLER

6.1. Genital lezyon

Örnek alımı: Lezyon steril SF ile temizlenir. Lezyon yüzeyinde bulunabilecek kurut vb. steril bir bisturi yardımı ile temizlenir. Transüda toplanması beklenir. Steril eküvyon ile örnek alınır. Eğer karanlık alan incelemesi yapılacak ise, tekrar transüda toplanması beklenip lam transüdaya değdirilir, lamel ile kapatılıp derhal laboratuvara götürülür.

Transport ve saklama koşulları: Eküvyon bir transport besiyeri içerisine yerleştirilerek, oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır.

6.2. Vagina

Örnek alımı: Akıntı veya sekresyonun fazlası temizlenir. İki eküvyon ile örnek alınır.

Transport ve saklama koşulları: Eküvyon transport besiyerine konularak oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvar ulaştırılır. Saklanacak ise aynı koşullarda 24 saate kadar tutulabilmektedir.

7. DISKI

7.1. Rutin kültür

Örnek alımı: Rutin kültür için örnek (>2 gr) direkt olarak, temiz, sızdırmayan, kapaklı bir kaba alınır.

Transport ve saklama koşulları: Örnek yarım saat içerisinde oda ısısında laboratuvara ulaştırılmalıdır.

7.2 Rektal sürüntü

Rektal sürüntü örnekleri, VRE aranması için kullanılmaktadır. Bu amaçla, eküvyon anal sfinkterin 1 cm. ilerisine kadar sokular, yavaşça çevrilerek örnek alınır. Örnek transport besiyeri içine konulur. Oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
KSÜ TIP FAKÜLTESİ

Neisseria Türleri

Giriş

Neisseria türleri aerobik, hareketsiz, sporsuz, gram negatif bakterilerdir. Genellikle birbirine komşu kenarları düzleşmiş, kahve çekirdeği şeklinde çiftler (diplokoklar) halinde görünür.

İnsanlardan en sık izole edilen *Neisseria* türleri *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. lactamica*, *N. sicca*, *N. subflava*, *N. flavescens*, *N. mucosa*, *N. cinerea*, *N. denitrificans*, *N. elongata*, *N. canis*'tir. Bu ailede iki tür insanlarda patojendir. *N. gonorrhoea* ve *N. meningitis*.

N. gonorrhoeae seksüel geçişli bir hastalık olan gonore etkenidir. Bu infeksiyon genellikle erkekler ve kadınlarda genital mukozayı tutmaktadır fakat kolumnar epitelin bulunduğu herhangi bir vücut bölgesini de etkileyebilir.

N. meningitidis sağlıklı bireylerde daha çok asemptomatik olarak taşınır. Duyarlı şahıslarda kan akımına karışarak bakteriyemiye, kan beyin bariyerini aşarak menenjit tablosuna neden olabilir.

Neisseria Türlerinin Laboratuvar Tanısı

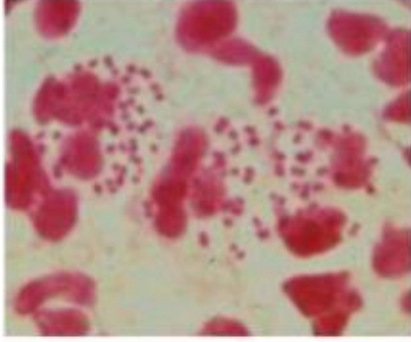
Hastalardan örnek alınması

Gonore tanısı için erkeklerde üretral akıntı örneği alınır. Belirgin bir pürülan akıntı yoksa pamuklu eküvyon anterior üretradan 2-3 cm içeriye sokulup yavaşça çevrilerek örnek alınır. Kadınlarda ise servikal sürüntü örnekleri, üretral ve vajinal örneklerle tercih edilir.

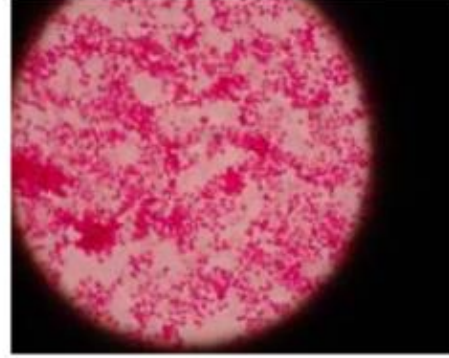
Menenjit tanısı için beyin omirilik sıvısı (BOS) alınmalıdır. Ayrıca kan, plevral sıvı, peteşi aspirat sıvısından da inceleme yapılabilir. BOS 1 ml'den fazlaysa 1500 rpm'de 15 dak santrifüj edilerek üstteki sıvı atılır dipteki çökelti tanı için kullanılır. Alınan örneklerden direk mikroskopik inceleme için preparat hazırlanır ve kültür yapılır.

Direk Mikroskopik İnceme

Örnekler Gram boyama yöntemi ile boyanarak incelenir. Boyanan preparat immersiyon yağı damlatılarak x100 büyütme ile incelenir. Nötrofiller içinde ve dışında gram negatif diplokokların varlığı gonore için oldukça karakteristiktir.



Şekil 8-3. Hasta örneğinde gram negatif diplokoklar



Şekil 8-4. Kültürde üreyen *Neisseria*'lardan yapılan Gram boyama preparatı

Kültür

Alınan örnekler *Neisseria* türlerinin sıcaklık değişimlerine çok duyarlı olmasından dolayı laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılmalıdır. En başarılı izolasyon hasta başı ekimlerde görülmektedir. Üretral ve servikal örnekler çukolata agara ekilir. Genital bölge gibi floralı bölgelerden alınan örnekler için selektif besiyerleri tercih edilir. Thayer-Martin, Modifiye Thayer Martin, Martin Lewis, New York City veya GC-LECT besiyerleri *Neisseria* türleri için kullanılan selektif besiyerleridir. Bu besiyerleri flora elemanlarını baskılamak için çeşitli antibakteriyaller ve/veya antifungaller içerir. Tüm besiyerleri %3-5 CO₂'li ortamda 35°C'de 72 saat inkübe edilir. 24-48 saat inkübasyondan sonra küçük şeffaf, konveks, düzgün koloniler oluşturur. Hemoliz ve pigment yapmaz.



Şekil 8-5. Kültürde üreyen *Neisseria* kolonileri

Oksidaz Testi

Neisseria'ların ayırıcı tanısında kullanılır. Sitokrom oksidaz oksidatif fosforilasyonla solunum yapan bakterilerin kullandığı bir enzimdir. Oksidaz testi için oksidaz ayırıcı (%1'lik dimetil para fenilen diamin dihidroklorid ya da tetrametil para fenilendiamin dihidroklorid) kullanılır. Bu solüsyondan kurutma kağıdına birkaç damla damlatılıp üzerine öze ile birkaç koloni sürülür. 10 saniye içinde koyu mor renk görülürse test pozitifdir. Renk değişmiyorsa oksidaz testi negatiftir. Bu testte *E. coli* standart suşu negatif, *N. gonorrhoeae* standart suşu pozitif olarak kullanılır.



Şekil 8-6. Oksidaz testi (Sağdaki pozitif, soldaki negatif)

Karbonhidrat kullanım testi

Karbonhidratların kullanımı patojenik *Neisseria*'ların diğer saprofitik türlerden ayrılmasında kullanılır. Belirli karbonhidratların kullanımı asit üretimi yoluyla indikatörün renginin değişmesiyle gösterilir. *Neisseria*lar karbonhidratları genellikle oksidatif olarak kullanır ve asit oluşturur.

Tablo 8-2. Bazı *Neisseria* türleri ve karbonhidrat kullanım testi sonuçları

Tür	Glukoz	Maltoz	Laktoz	Sükroz
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	-	-
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	-
<i>N. cinerea</i>	+	-	-	-
<i>N. sicca</i>	+	+	-	+
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-

Gram Pozitif Çomaklar

Bacillus cinsi, aerob yada fakültatif, spor oluşturan Gram pozitif çomakları içerir. Bu cins içinde yer alan mikroorganizmaların çoğu hava, toprak ve suda saprofit olarak bulunur.

A- *Bacillus* spp.

1-*B. anthracis*

2-*B. cereus*

Her iki türde insanlarda ve hayvanlarda hastalık oluşturan etkenlerdir.

B. anthracis

G(+) ve sporu basil ortasında ve basilin şeklini değiştirmeden yer almıştır. Kapsüllü basillerdir. Katı besiyerinde kapsül yapısı kaybolur. Basiller Gram boyamada bambu kamış görünümündedir.

Genel kullanım besiyerlerinde kolayca üreyebilirler. Aerop ve anaerob üreme özelliğindedir. Katı besiyerinde R tipi koloni yaparlar. Beyazımsı, düzensiz kenarlı ve incelendiğinde ondüle saç görünümündedir. Bu görüntü *B. anthracis* için tipiktir.

Yarı katı besiyerinde dik ekim yapıldığında 24-72 h. içinde ters çam biçiminde üreme özelliğindedir.

Yaptığı hastalık şarbondur. Deri, akciğer ve bağırsağa yerleşir. Septisemi yapma özelliğindedir.

Tanı:

Gram boyama ile inceleme: Gram pozitif sporlu ve kapsüllü bakteriler görülür

Kültür: Koyun kanlı agar besiyerine ekim yapılır. 24 saatlik inkubasyonla üretilir. Üreyen mikroorganizma Hareketi (-), Kapsül (+), Pen-G-duyarlı, B hemoliz (-) ise *B. anthracis* tir. Hareket (+), kapsül (-) Pen-G-R ise *B.cereus'* tur.

