

**T.C.  
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

**GIDA TEKNOLOJİSİ**

**KÜLTÜR ELDE ETME  
541GI0067**

**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 FAALİYET- 1.....	3
1. EKİM İŞLEMİ .....	3
1.1. Tanımı Dikkat Edilecek Noktalar .....	3
1.2. Ekim Teknikleri .....	5
1.2.1. Sıvı Besiyerine Ekim İşlemi; .....	5
1.2.2. Agarlı Besiyerine Ekim İşlemi .....	8
1.2.3. Yüzeyle Alınan Örneklerin Ekim İşlemi .....	14
1.2.4. Dik Agarlı Besiyerine Saplama Ekim.....	16
UYGULAMA FAALİYETİ .....	17
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	23
ÖĞRENME FAALİYETİ- 2.....	26
2. İNKÜBASYON .....	26
2.1. Etüvde İnkübasyon.....	26
2.2. Su Banyosunda İnkübasyon.....	27
2.3. İnkübasyonda Dikkat Edilecek Hususlar .....	28
UYGULAMA FAALİYETİ .....	30
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	32
ÖĞRENME FAALİYETİ- 3.....	34
3. KÜLTÜR.....	34
3.1. Kültür Çeşitleri ve Tanımları .....	34
3.1.1. Saf Kültür .....	34
3.1.2. Stok Kültür .....	35
3.3. Stok Kültür Elde Etme Aşamaları .....	37
UYGULAMA FAALİYETİ .....	41
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	44
MODÜL DEĞERLENDİRME .....	48
CEVAP ANAHTARLARI.....	51

# AÇIKLAMALAR

<b>KOD</b>	<b>541GI0067</b>
<b>ALAN</b>	<b>Gıda Teknolojisi</b>
<b>DAL/MESLEK</b>	<b>Gıda Kontrol/ Gıda Laboratuvar Teknisyeni</b>
<b>MODÜLÜN ADI</b>	<b>Kültür Elde Etme</b>
<b>MODÜLÜN TANIMI</b>	Bu modül ekim işlemleri, inkübasyon çeşitleri ile saf ve stok kültür elde etme becerisi kazandıran bir öğrenme materyalidir.
<b>SÜRE</b>	40/32
<b>ÖN KOŞUL</b>	Bu modül için “ <b>Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlık</b> ”, “ <b>Besiyeri Hazırlama</b> ”,ve “ <b>Mikrobiyolojik Numune Hazırlama</b> ” modüllerini başarmış olmak ön koşuldur.
<b>YETERLİK</b>	Kültür elde etmek.
<b>MODÜLÜN AMACI</b>	<b>Genel Amaç:</b> Uygun ortam sağlandığında tekniğine uygun bir şekilde kültür hazırlayarak mikrobiyolojik analizler için muhafazasını yapabileceksiniz. <b>Amaçlar:</b> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Tekniğine uygun olarak aseptik şekilde ekim işlemlerini (İnokülasyon ) yapabileceksiniz.</li><li>2. Tekniğine uygun olarak inkübasyonu yapabileceksiniz.</li><li>3. Tekniğine uygun olarak saf kültür ve stok kültür elde edebileceksiniz.</li></ol>
<b>EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI</b>	Mikrobiyoloji laboratuvarı, hazırlanmış katı, sıvı, yüzey numuneleri, steril öze, steril pipet, steril eküvyon, steril katı, sıvı, dik ve agarlı besiyerleri, steril drigalski çubuğu (spatülü), steril ekim araçları, steril besiyerleri, inkübatör, saat, buzdolabı etüv, su banyosu, ekim yapılmış besiyerleri.
<b>ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME</b>	Bu modül içinde yer alan her uygulama faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz. Modül sonunda öğretmeniniz tarafından yapılan yazılı veya uygulamalı ölçme araçları ile kazandığınız bilgi ve beceriler değerlendirilecektir.

# GİRİŞ

## Sevgili Öğrenci,

Ortamlarda bulunabilecek mikroorganizmalar kontrollü şartlarda üretilerek incelenebilir. Bu amaçla gıda üretimi yapan işletmeler ve kontrol merkezleri gibi kuruluşlar, çeşitli ortamlardan numuneleri sıvı veya agarlı besiyerlerine ekerek doğru ısı ve sürede inkübasyonu sağlar.

Mikrobiyolojik numunedeki mikroorganizmaların var olup olmadıklarının belirlenmesi, mikroorganizma sayımları, tanımlanması (cins ve türlerinin saptanması) gibi nedenlerle kültür elde edilir.

Numunelerin besiyerlerine ekimi sonucu birçok bakteri türü birarada ürer. Oysa mikroorganizmaların mikrobiyolojik açıdan incelenebilmesi için diğer türlerden ayrı olarak üretilmesi gerekir. Bu nedenle izole koloniler saflaştırılarak saf kültür, elde edilen saf kültür de mikrobiyolojik çalışmalar için saklanarak stok kültür elde edilir.

Mikrobiyolojik çalışmalarda kültür elde etmek, mikroorganizmaları tanımak ve incelemek açısından vazgeçilmez uygulamalardan birisidir. Bu nedenle kültür elde etmeyi bilmek ve uygular duruma gelmek gıda teknolojisi alanında çalışan sizleri özellikli kılacaktır.

Gıda kontrol alanında eğitim gören sizlerin diğer konularda olduğu gibi kültür elde etmede de bilgi ve beceri kazanmanız açısından bu modül sizlere yardımcı olacaktır.



# ÖĞRENME FAALİYETİ- 1

## AMAÇ

Tekniğine uygun olarak aseptik şekilde ekim işlemlerini (inokülasyon) yapabileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Ekim işleminde kullanılan aktarma tekniklerini araştırınız.
- Katı ve sıvı besiyerlerine ekim teknikleri hakkında çeşitli kaynaklardan araştırma yapınız.

## 1. EKİM İŞLEMİ

### 1.1. Tanımı Dikkat Edilecek Noktalar

**Ekim (inokülasyon)**, numunenin steril besiyerine aseptik tekniğe uygun olarak aktarılması olayıdır.

Ekim işlemleri sırasında şu hususlara dikkat edilmelidir:

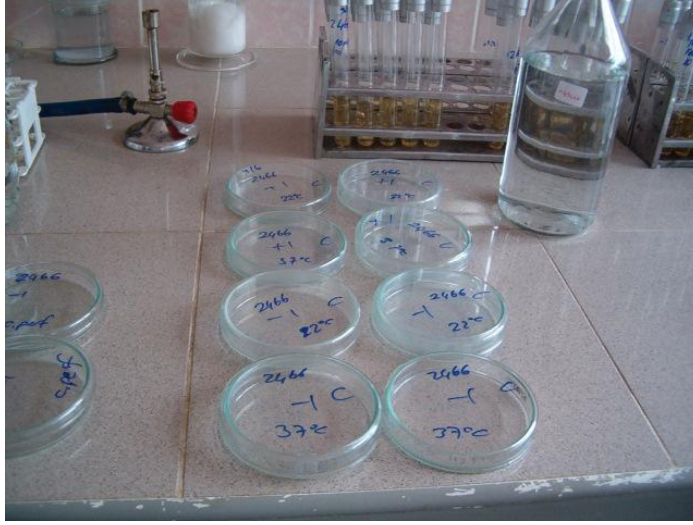
- Seyreltme işlemi bitirdikten sonra hızla ekim yapılmalıdır. Bu amaçla bir örneğin ekimi tümüyle bitirdikten sonra diğer örneğin seyreltme işlemine başlanmalıdır.
- Dilüsyonların yapılmasından sonra, petri kutularına ekim sırasında, materyalin mikroorganizma yükü hakkında eğer yaklaşık bir bilgimiz varsa, tüm dilüsyonlardan değil sadece 3 dilüsyondan paralel ekim yapılır.
- Ekim sırasında örneğin kontaminasyonu kesinlikle önlenmelidir. Bu amaçla çalışmalar bunzen beki alevi kullanılarak yapılmalıdır.



**Resim 1.1: Bunzen beki**

- Petri kutusuna yapılacak ekimlerde örnek ile ilgili bilgilerin asetat kalemi ile kapaklara doğru olarak yazılması gerekmektedir. Bunlar;
  - Besiyeri türü,
  - Numune numarası veya adı,
  - Tarih,
  - İnkübasyon ısı derecesi,
  - Dilüsyon faktörü,
  - Petri kutusuna pipetlenen hacim miktarı gibi bilgilerdir.
- İnkübasyon sonunda petri kutusunda sayılacak olan koloni adedi bu faktör ile çarpılarak materyaldeki canlı mikroorganizma sayısı hesaplanır. Örneğin, 2 numaralı dilüsyon tüpünden petri kutusuna 1 ml pipetlendiyse, kutu kapağına sadece  $10^{-2}$  yazılır. Bu yazım şekli ekim ve sayım işlerinin farklı kişiler tarafından yapıldığı yoğun laboratuvarlarda karışıklığın önlenmesi için etkin bir yoldur. Ancak kapakların karışması olasılığı ile petri kutularında yazımlar tabana da yapılabilmektedir.





**Resim 1.2: Petri kutularının yazımı**

- Ekim işlemi numune katı ise iğne, sıvı ise öze ile gerçekleştirilir.
- Ekim işlemi seri olarak gerçekleştirilmelidir.
- Tüm işlemler esnasında aseptik çalışma kurallarına uyulmalıdır.

## 1.2. Ekim Teknikleri

Mikrobiyolojide ekim, sıvı ve agarlı besiyerine yapılır.

### 1.2.1. Sıvı Besiyerine Ekim İşlemi;

#### 1.2.1.1. Sıvı Besiyerine Öze ile Ekim İşlemi

- Sıvı besiyerine ekim işleminin ilk aşaması, aktarılabacak sıvı örnekteki mikroorganizmaların buldukları sıvı içinde homojen dağılımını sağlamak için vorteks tüp karıştırıcısı kullanılarak çalkalanmasıdır. Bu cihazın olmadığı durumlarda tüp iki el ayası arasına yerleştirilir, el ayaları ile sürtme hareketi yaptırılarak homojen karışım sağlanabilir ya da tüpün alt kısmına birkaç kez vurulabilir. Ekimi yapılacak numune katı ise karıştırma işlemi yapılmaz.
- Homojen karışımı sağlanmış numune tüpü sol ele alınır.
- Öze, alevde akkor haline getirilerek sterilize edilir.
- Sol elde bulunan tüpün kapağı ya da ağzındaki pamuk tıkaç, öze tutulan sağ elin parmaklarıyla, tüp hafifçe eksenine etrafında çevrilerek çıkarılır. Tüpün ağız kısmı alevden geçirilir.

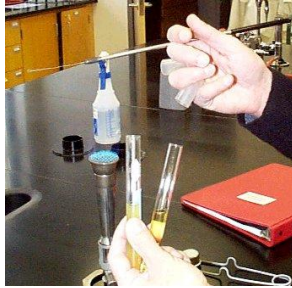


**Resim 1. 3: Tüp ağzının alevden geçirilmesi**

- Tüp hafif eğilerek öze ucu sıvı örneğe daldırılır. Öze ucuna sıvı içinde karıştırma hareketi yaptırılır. Öze tüpe hiç değmeyecek şekilde dışarı çıkartılır.
- Öze ile örnek alımını takiben örneği içeren tüpün ağız kısmı alevden geçirilir ve ağız kapatılır. İş biten bu tüp, tüplüğe konur.
- Sol ele steril sıvı besiyerini içeren tüp alınır ve olabildiğince dip tarafından tutulur, kapağı veya pamuk tıkacı alev çatısı altında öze tutan sağ elin küçük ve yüzük parmaklarıyla avuç içine sıkıştırılarak çıkarılır.
- Tüpün ağzı alevden geçirilir ve tüp hafifçe eğik vaziyette alev çatısı altına indirilir.
- Öze tüp içerisine sıvı seviyesine kadar sokulur ve öze ucu sıvıya daldırılmadan, sıvı yüzeyinin hemen üstündeki kuru bir tüp bölgesine değdirilir ve sürtme hareketleri yaptırılarak incelenecek örneğin bu bölgede yayılması sağlanır.
- Daha sonra, öze ucu sıvı besiyerine daldırılır ve özeye karıştırma işlemi yaptırılır
- Öze ucu besiyerinden çıkarılarak tekrar örneğin yayıldığı bölgeye temas ettirilir. Özeye bu bölgede sürtme hareketleri yaptırılır, incelenecek örneğin besiyerine doğru yıkanarak aktarılması sağlanır.
- Öze ile gerçekleştirilen bu ekim duruma göre birkaç kez tekrarlanabilir. Sonuçta, örneğin sıvı besiyerine aktarılması (inokülasyonu) sağlanmış olur. Besiyerinin ağzı kapatılır.
- Son olarak öze sterilize edilir.
- Tüpteki sıvı besiyerine ekim, örnek ve steril besiyeri tüpleri aynı elde tutularak da gerçekleştirilebilir.

### 1.2.1.2. Sıvı Besiyerine Pipet ile Ekim İşlemi

- Homojen karışımı sağlanmış numune tüpü sol ele alınır.
- Pipet birkaç kez alevden geçirilir.
- Sol elde bulunan tüpün kapağı ya da ağzındaki pamuk tıkaç, öze tutulan sağ elin parmaklarıyla, tüp hafifçe eksenini etrafında çevrilerek çıkarılır. Tüpün ağız kısmı alevden geçirilir.
- Tüp hafif eğilerek pipet ucu sıvı örneğe daldırılır.
- Pipetle gerekli hacimde sıvı çekilir. Pipet ucu tüpe hiç değmeyecek şekilde dışarı çıkartılır.
- Pipet ile örnek alımını takiben örneği içeren tüpün ağız kısmı alevden geçirilir ve ağız kapatılır. İş biten tüp tüplüğe konur.
- Sol ele steril sıvı besiyerini içeren tüp alınır ve olabildiğince dip tarafından tutulur, kapağı veya pamuk tıkaçı alev çatısı altında pipet tutan sağ elin küçük ve yüzük parmaklarıyla avuç içine sıkıştırılarak çıkarılır.
- Pipetin alt ucu tüp içerisindeki besiyerine daldırılmadan, besiyeri seviyesinin hemen üstündeki kuru bir tüp bölgesine değdirilerek, pipetin kendi kendine boşalması ve örneğin sıvı besiyerine aktarılması (inokülasyonu) sağlanmış olur.
- Besiyerinin ağız kapatılır.
- Pipet tekrar birkaç kez alevden geçirilip temizleme küvetine konur.
- El ayaları ile sürtme hareketi yaptırılarak aktarılan örneğin ve besiyerinin homojen karışım sağlanır.



Resim 1.4: Kapakların çıkartılması



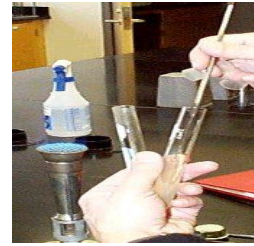
Resim 1.5: Ağızların alevden geçirilmesi



Resim 1.6: Özeye numunenin alınması



Resim 1.7: Ağızların tekrar alevden geçirilmesi



Resim 1.8: Özeye ekim yapılması

## 1.2.2. Agarlı Besiyerine Ekim İşlemi

Petri kutularına dökülmüş agarlı besiyerlerine;

- Sürme
- Yayma
- Dökme plak yöntemlerinden birisi kullanılarak ekim yapılabilir.

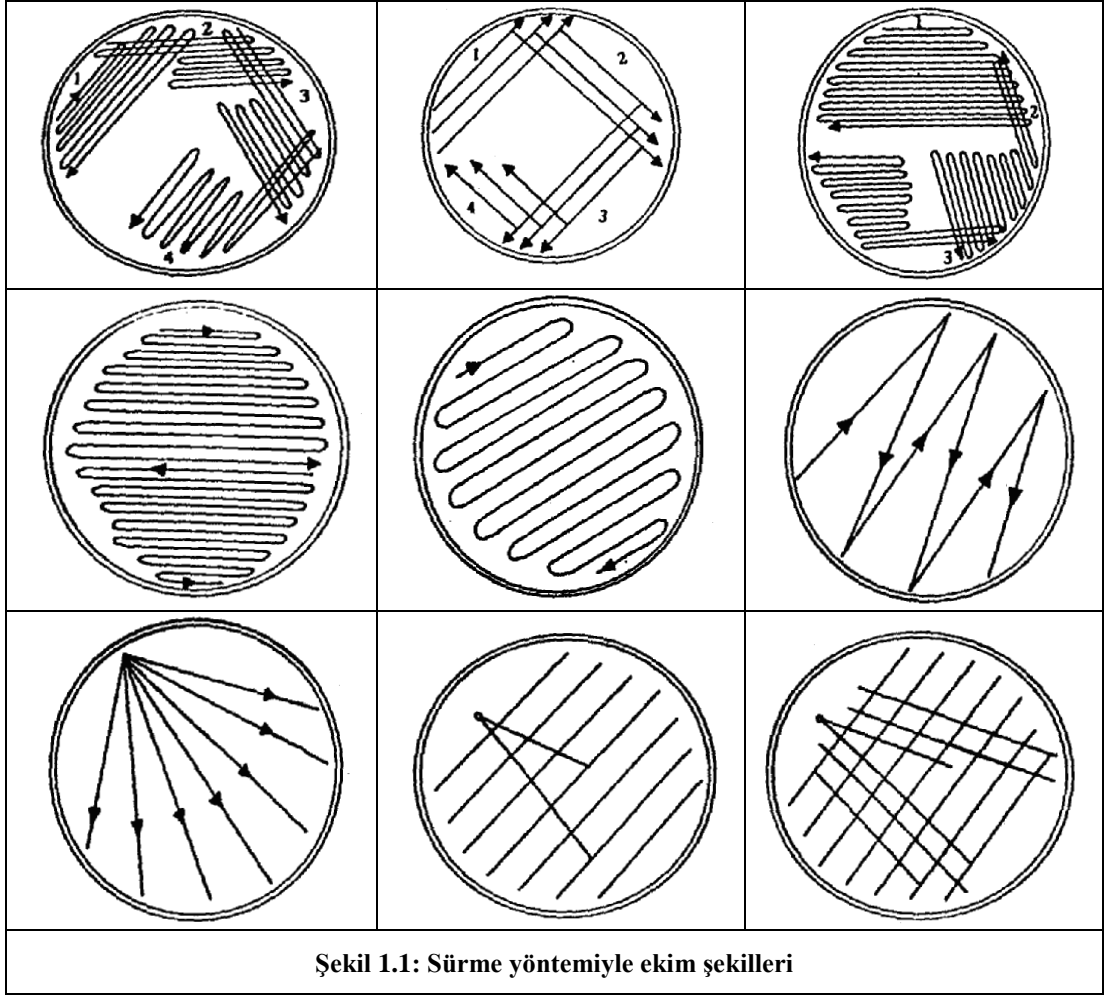
### 1.2.2.1. Sürme Yöntemi

Bu yöntemle petri kutusundaki katı besiyerinin belirlenen farklı bölgelerine numune ile temas ettirilen özenin sırayla sürülmesiyle numunenin miktarı ve içerdiği mikroorganizma sayısı giderek azalır. Böylece bakterilerin her sürme alanına bir önceki alandan daha az sayıda düşmeleri sağlanır. Son sürme alanında bakteri sayısı teke düşer. Bu bakteriler teke düştükleri bölgelerde çoğalarak tek koloni oluşturur.

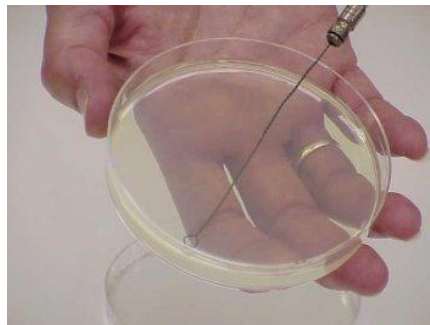
Bu yöntemle ekimin amacı her canlı hücrenin inkübasyon sonucu bir (1) adet koloni oluşturmasıdır. Bu nedenle sürme yöntemine tek koloni düşürme yöntemi de denir.

Sürme yöntemiyle ekim şu şekilde yapılır:

- Ekimi yapılacak örnek öze veya pipet ile sıvı besiyerine ekim işlemindeki gibi alınır.
- Agarlı besiyerini içeren petri kutusu sol elin ayasına yerleştirilir ve bu elin baş ve işaret parmağı ile kapak kısmı açılır.
- Öze bu aralıktan içeri sokularak öze ucunun örnek alınan kısmı agar yüzeyinin seçilecek bir bölgesine temas ettirilir. Örnek bu bölgede hafifçe ezilerek birkaç mm çapında yayılır.
- Daha sonra öze ile bu yayılma alanından başlayarak sürme işlemine geçilir. Sürme işlemi değişik şekillerde gerçekleştirilebilmektedir. Ancak ayrı ayrı koloni elde edebilmek için en ideal olanı 4 ayrı bölgenin çizilmesidir.

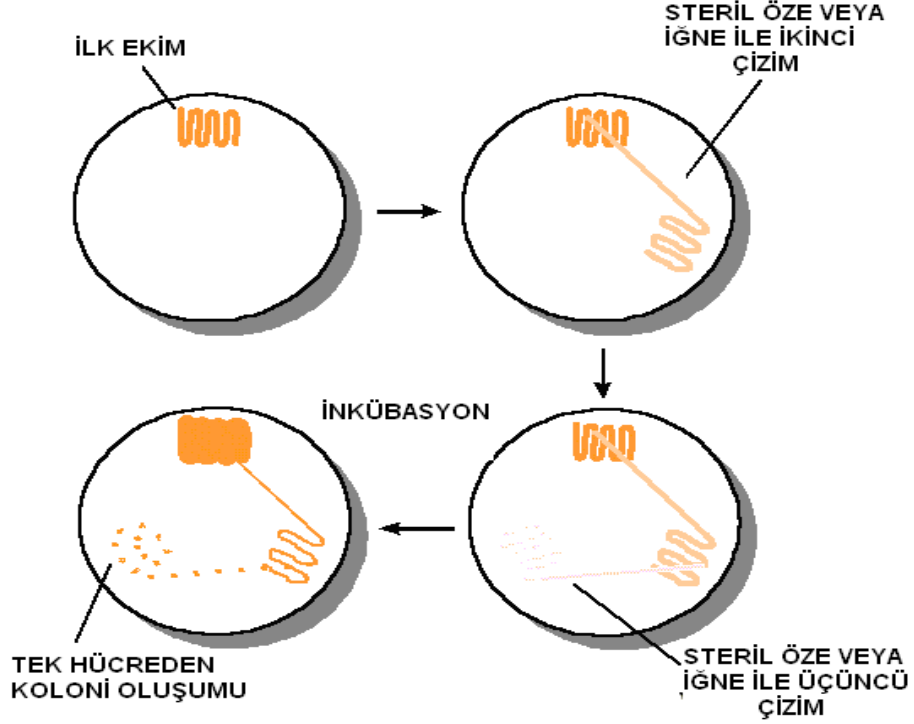


- Sürme yapılırken özenin agar yüzeyinde uygun açı ile tutulmasına ve agar yüzeyini parçalamadan temas ettirilmesine dikkat edilmelidir.



**Resim 1.9: Katı besiyerine sürme işlemi**

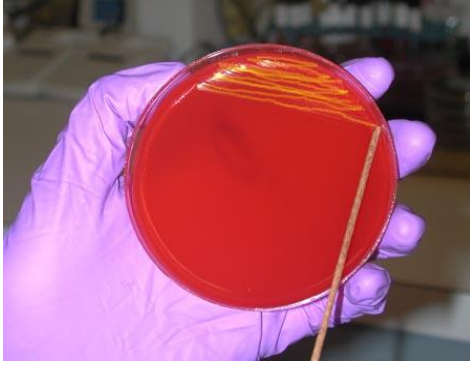
- Sürme olayı ilerledikçe örnekteki mikroorganizma sayısı, özenin ilk sürüldüğü bölgeye göre gittikçe azalacaktır. Bunun sonucunda da inkübasyondan sonra, son sürme işlemlerinin yapıldığı agar yüzeyi bölgelerinde izole koloniler elde edilebilecek, diğer bir deyimle koloniler tek tek düşebilecektir. İkinci, üçüncü ve dördüncü ekim bölgelerine her geçişte öze, bek alevinde tutularak soğutulduktan sonra bir önceki bölgeye temas ettirilir ve sürme işlemine devam edilir.



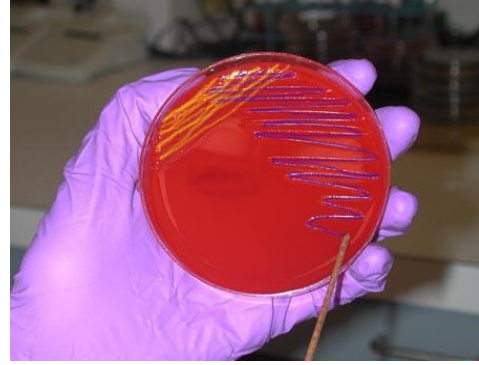
Şekil 1.2: Sürme yöntemiyle koloniye teke düşürme

- Sürme işlemi bitince petri kutusunun kapağı kapatılarak inkübasyona bırakılır.

Agar yüzeyinde bir bölgeden diğer bölgeye geçişte kaç defa sürme yapılacağı, aktarma yapılan örnekteki mikroorganizma yükünü tahmin etmeye bağlıdır.



Resim 1. 10: Birinci sürme



Resim 1. 11: İkinci sürme



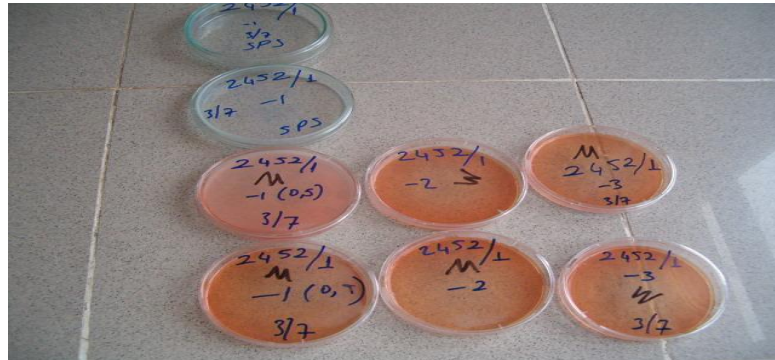
Resim 1. 12: Üçüncü sürme



Resim 1. 13: Dördüncü sürme

### 1.2.2.2. Yayma Yöntemi

- Ekim öncesinde standart petri kutularına 12–15 ml agarlı besiyeri dökülerek yüzeyin kuruması sağlanır.
- Petri kutusuna gerekli bilgiler yazılır.



Resim 1. 14: Petri kutusunun yazılması

- Numunenin bulunduğu tüp ya da kaptan 1 ml lik gibi düşük hacimli bir pipetle 0.1 ml örnek alınır.
- Petri kutusundaki katı besiyeri yüzeyine pipetle 0.1 ml örnek aktarılır.



**Resim 1. 15. Numunenin katı besiyerine aktarımı**

- Drigalski spatülü, temiz ve yeterli konsantrasyonda alkol ile sterilize edilir. Spatül üzerinde kalan alkol, besiyerine aktarılan mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etki yapabileceği için alevden geçirilerek uzaklaştırılır. Ancak mikroorganizmaya zararlı olabilecek kadar ısıtılmaz. Besiyeri üzerinde kültür aktarılmamış bir yerde dokundurularak soğuyup soğumadığı kontrol edilir ve örnek besiyeri yüzeyine homojen olarak yayılır.



**Resim 1. 16. Drigalski ıspatul ile numunenin yayılması**

- Numune yüzeye yayıldığı için tüm mikroorganizmalar eşit oranda oksijen varlığı nedeniyle aynı morfolojide koloni oluşturacaktır.
- Bu yöntem gıda maddesinin gramında 100'den fazla Staphylococcus aureus bulunma olasılığı varsa uygulanmaktadır.



### 1.2.2.3. Dökme Plak Yöntemi

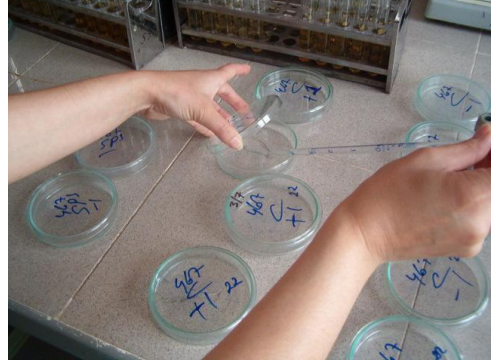
Bakterinin 45–50 °C'a kadar soğutulmuş katı besiyerinin her tarafına karıştırılmak suretiyle ekilmesidir.

Dökme plak yönteminde ekim şu şekilde yapılır.

- Dilüsyonu yapılmış gıda örneğinden 1 ml sıvı pipete alınır ve steril boş petri kaplarına aktarılır.



Resim 1. 17: Numunenin alınması



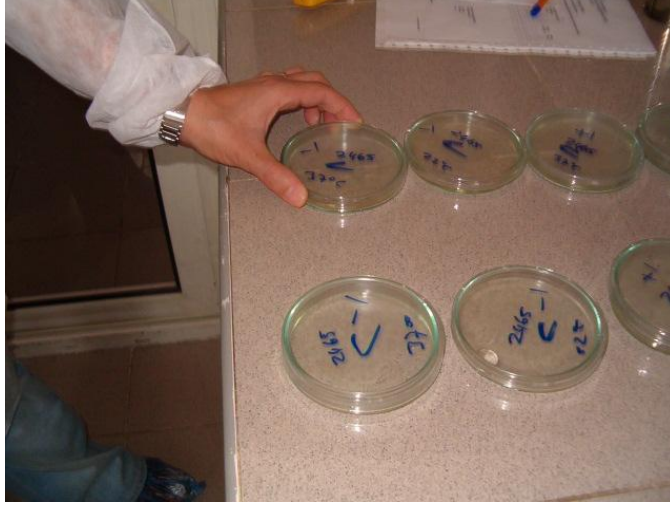
Resim 1. 18: Numunenin boş petriye aktarılması

- Örneğin üzerine 15–20 ml, yaklaşık 45°C' taki agarlı besiyeri dökülür. Besiyeri sıcaklığı fazla olursa termal şok nedeni ile mikroorganizmalar zarar görür, düşük olursa dökme esnasında katılaşacağı için istenen sonuç elde edilemez.



Resim 1. 19: Besiyerinin dökülmesi

- Besiyeri döküldükten hemen sonra düzgün bir zeminde dikkatlice hafif eğim verilerek ileri geri hareket ettirilir. Bu sayede numune ve örneğin tam olarak karışması sağlanır.



**Resim 1. 20: Petriye ileri geri sallama hareketinin yaptırılması**

- Petri kutularının düzgün bir zeminde kendi halinde jelleşmesi sağlanır.
- Uygun sıcaklıktaki inkübasyona bırakılır.

Besiyerine diğer yöntemlerden fazla numune aktarıldığı için daha hassas sonuç verir. Bu yöntemde numunenin tüm besiyeri kütesine yayılması nedeniyle mikroorganizmalar taban ve yüzeye yakın kısımlardaki oksijen varlığı nedeniyle farklı morfolojide koloni oluşturabilecektir.

### **1.2.3. Yüzeylerden Alınan Örneklerin Ekim İşlemi**

Yüzeylerden örnek alma;

- Eküvyon
- Agar sucuğu
- Sellobant tekniği
- Yüzey kazıma ya da yüzeyden ince kesitler alma,
- Yüzey yıkama
- Dilüsyon sıvısına daldırma tekniklerinden biri seçilerek yapılabilmektedir.

### **Eküvyon:**

- Steril eküvyon örnek alınacak bölgeye götürülür.
- Eküvyon çubuğu aseptik koşullarda tüpünden çıkarılır.
- Uçtaki pamuk kısma değişik eğimler verdirilerek örnek alınacak yüzeye kuvetlice bastırılır. Bu sayede yüzeydeki mikroorganizmaların pamuk ucunun tamamına geçmesi sağlanır. Eküvyon çubuğu bu işlemler sırasında üst ucundan tutulur.
- Eküvyon çubuğu daha sonra hiçbir yere temas ettirilmeden tüpüne yerleştirilerek tüp hızla laboratuvara ekim için götürülür.
- Eküvyon çubuk, alev çatısı altında tüpten çıkarılarak uç kısmı daha önceden hazırlanmış petri kutusundaki agarlı besiyeri yüzeyinin kenar kısmındaki herhangi bir noktaya temas ettirilir. Bu işlem sırasında besiyerinin yırtılmamasına dikkat edilmelidir.
- Daha sonra petri kutusunun kapağı kapatılır.
- Eküvyon çubuğu tüpüne yerleştirilerek sterilize edilmek üzere ayrılmalıdır.
- En son aşamada ise petri kutusundaki besiyerinde örneğin temas ettirildiği noktadan başlamak üzere öze ile sürme ekime geçilir.

Yüzeydeki mikroorganizmalar sayılmak istendiğinde ise eküvyon çubuğu laboratuvarında tüpten çıkarılarak, daha önceden hazırlanmış olan tüpteki steril 10 ml'lik dilüsyon sıvısına aseptik koşullarda daldırılır ve tüpün ağzı kapatılır. Bu işlemler sırasında çubuğun tüpe giren kısmına elle dokunulmamalıdır. Daha sonra sıvı besiyerine ekim işlemleri takip edilerek ekim gerçekleştirilir.

### **Agar sucuğu:**

Direkt olarak bir besiyerini örnekle temas ettirme esasına dayanır. Steril agar sucuğu yüzeye temas ettirilir daha sonra steril bistüri ile ince kesitler alınarak steril petri kutusuna yüzeye sürülen kısmı üste gelecek şekilde yerleştirilip laboratuvara gönderilir. Yaygın kullanımı yoktur.

### **Sellobant tekniği:**

Bu yönteme çok sık başvurulmamaktadır.

- İncelenecek yüzeye sellobantın yapışkan yüzeyi temas ettirilerek örnek alınır.
- Örnek alınan kısım petri kutusundaki agarlı besiyeri yüzeyine temas ettirilir
- Diğer yüzünden hafifçe baskı yapılarak belli bir süre beklenir.
- Daha sonra da bant buradan çıkarılarak bir dezenfektan çözeltisine atılır.
- Sürme ekim yöntemi uygulanarak inkübasyona bırakılır.

---

Bunların dışında;

- Yüzey kazıma ve yüzeyden ince kesitler alma
- Yüzey yıkama
- Dilüsyon sıvısına daldırma gibi yöntemlerde uygulanabilmektedir.

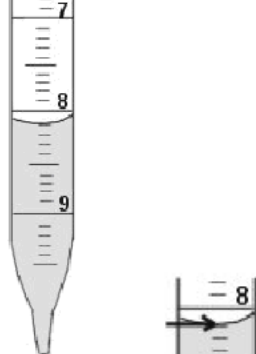
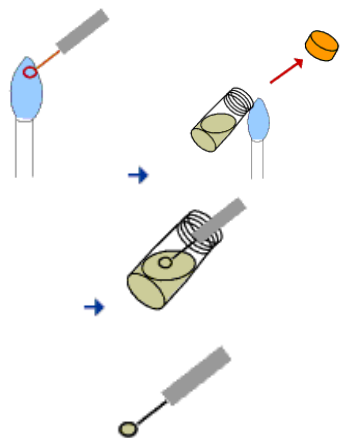

#### **1.2.4. Dik Agarlı Besiyerine Saplama Ekim**

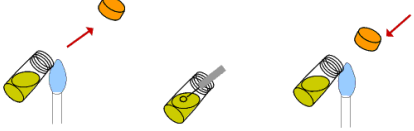
Tüpteki yüksek tabakalı (10–15 ml besiyeri bulunan) katı besiyerine, bakterinin uzun bir iğne ile tüpün dip kısımlarına kadar batırılmasıyla yapılan ekim yöntemidir. Bu şekilde bakterinin jelatin eritmesi veya karbonhidratlı jelozlu besiyerinde gaz oluşturması kolayca incelenir, üreme bölgesine göre bakterinin aerob, anaerob, fakültatif veya mikroaerobmi olduğu, bakterinin hareketli olup olmadığı hakkında bilgi edilir.

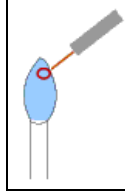
## UYGULAMA FALİYETİ

Uygun aktarma tekniğini kullanarak farklı besiyerlerine ekim yapma.

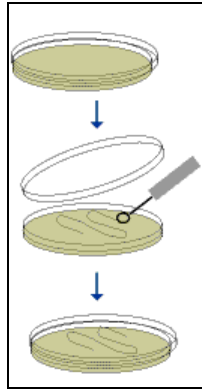
İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Pipet veya öze ile aktarma tekniklerinden hangisini kullanacağınıza karar veriniz ve buna göre aşağıdaki işlem basamağını uygulayınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Karar verirken öğretmenizden yararlanabilirsiniz.</li><li>➤ Verdiğiniz karar doğrultusunda kararınıza uygun işlem basamağını uygulayınız.</li><li>➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.</li><li>➤ Gerekli ise koruyucu malzeme kullanınız.</li><li>➤ Ellerinizi her çalışma öncesi ve sonrası yıkayıp dezenfekte ediniz.</li><li>➤ “Analiz Öncesi Hazırlık” modülünde öğrendiğiniz şekilde hazırlanınız.</li><li>➤ Bunzen bekini yakınız.</li><li>➤ Aktarma yapılacak gerci seçiniz.</li></ul>
<p>➤ Pipetle aktarma yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Pipet kutusunu bek alevi altında açınız.</li><li>➤ Aktarım yapılacak sıvı numune için en ideal hacimli pipeti seçiniz.</li><li>➤ Pipet kullanılmadan içerisinde sıvı damlası olup olmadığı kontrol ediniz.</li><li>➤ Pipeti sağ elinize alınız.</li><li>➤ Numunenin alınacağı tüpü sol elinize alarak sağ elin parmaklarıyla ağzındaki kapağı veya pamuk tıkacı çıkartınız.</li><li>➤ Kapağı veya pamuk tıkacı parmaklarınızın arasında çıkarttığınız şekilde tutunuz.</li><li>➤ Asla tezgâha bırakmayınız.</li><li>➤ Tüpün ağzını alevden geçiriniz.</li><li>➤ İstenilen hacimden biraz fazla sıvıyı pipete çekiniz.</li><li>➤ Pipetin içine sıvı çekildikten sonra üst ucu işaret parmağınızla kapatınız.</li><li>➤ Pipet içindeki sıvıyı işaret parmağınızı hafifçe açarak hacmi istenen seviyeye getiriniz.</li><li>➤ Pipet içindeki sıvı ve pipet dışındaki hacim çizgileri birbirine teğet olunca işaret parmağınızı tekrar pipetin ağzına kapatınız.</li></ul>

	<p>10 ml pipet</p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Numune tüpünün ağzını tekrar alevden geçiriniz.</li> <li>➤ Ağzını pamuk tıkacını yerleştirerek tüplüğe koyunuz.</li> <li>➤ Pipeti yan veya üst kısmı alta gelecek şekilde tutmayınız.</li> <li>➤ Aktarım yapılacak steril tüp ya da petri kutusuna pipetin içeriğini işaret parmağınızı kaldırarak boşaltınız.</li> <li>➤ Parmağınızı birden çekmeyiniz.</li> </ul>
<p>➤ Öze ile aktarma yapınız.</p> 	 <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Özeyi sol elinizle kalem gibi tutunuz.</li> <li>➤ Bunzen bekinde özenin ucu akkor haline gelinceye kadar tutarak sterilize ediniz.</li> <li>➤ Tüpün ağzını alevden geçiriniz.</li> <li>➤ Özeyi sıvı numuneyi alacağınız tüp içerisine daldırınız.</li> <li>➤ Özeye karıştırma hareketi yaptırarak halka içinin numune ile kaplanmasını sağlayınız.</li> <li>➤ Steril tüp ya da petri kutusuna özenin ucunu hafifçe temas ettirerek numuneyi aktarınız.</li> </ul>
<p>➤ Besiyerinden hangisini kullanacağınızı karar veriniz ve buna göre aşağıdaki uygun işlem basamağını uygulayınız.</p>	<p>➤ Elinizde varolan besiyerine uygun olarak karar veriniz ya da öğretmenizden bu konuda yararlanınız.</p>

<b>Sıvı besiyerine öze ile ekim yapmak için;</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tüm çalışmalarınızı alev çatısı altında yapınız.</li> <li>➤ Sorumluluklarınızı biliniz.</li> <li>➤ Dikkatli olunuz.</li> <li>➤ Ekim işlemini kontaminasyon riskini en aza indirmek için seri bir şekilde yapınız.</li> <li>➤ Sterillikinden kuşku duyulan veya kontamine olan araç gereçleri kullanmayınız.</li> <li>➤ Her kullanım öncesi ve sonrası özeyi mutlaka alevden geçiriniz.</li> <li>➤ Ellere bulaşma olduğunda ellerinizi dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Çalışma sırasında özeyi steril etmeden tezgaha koymayınız.</li> <li>➤ Tezgâha çalışma sırasında besiyeri, dilüsyon vb döküldüğünde tezgâhı temizleyip dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Dilüsyon tüplerini numune alımından sonra tüplüğe yerleştirirken alevden geçirip pamuklarını tekrar kapamayı unutmayınız.</li> </ul>
<b>Katı besiyerine ekim yapmak için:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ekim yöntemlerinden hangisini kullanacağınıza karar veriniz ve buna göre aşağıdaki uygun işlem basamağını uygulayınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Karar verirken öğretmenizden yararlanabilirsiniz.</li> </ul>
<b>Sürme yönteminde:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Agarlı katı besiyerine ekim yapmak için petri kutusuna 12–15 ml dökülüp soğutulmuş besiyerini hazırlayınız.</li> <li>➤ Petri kutularına gerekli bilgileri doğru ve eksiksiz olarak yazınız. Özeyi sol elinizle kalem gibi tutunuz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tüm çalışmalarınızı alev çatısı altında yapınız.</li> <li>➤ Sorumluluklarınızı biliniz.</li> <li>➤ Dikkatli olunuz.</li> <li>➤ Seri çalışınız.</li> <li>➤ Sterillikinden kuşku duyulan veya kontamine olan araç gereçleri kullanmayınız.</li> <li>➤ Her kullanım öncesi ve sonrası özeyi mutlaka alevden geçiriniz.</li> </ul>



- Bunzen bekinde özenin ucu akkor haline gelinceye kadar tutarak sterilize ediniz.
- Tüpün ağzını alevden geçiriniz.
- Özeyi sıvı numuneyi alacağınız tüp içerisine daldırınız.
- Öze karıştırma hareketi yaptırarak halka içinin numune ile kaplanmasını sağlayınız.
- Steril tüp ya da petri kutusuna özenin ucunu hafifçe temas ettirerek numuneyi aktarınız.
- Sürme yöntemiyle ekim yapmak için petri kutusunu sol elin ayasına yerleştiriniz.
- Baş ve işaret parmaklarıyla kapağını aralayarak sağ elimizdeki numune dolu özeyi agarlı besiyerinin bir kenarına temas ettiriniz ve biraz eziniz.

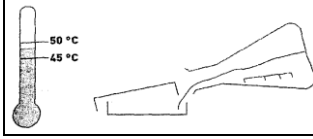


- Sonra öze yardımıyla istenilen şekilde çizerek sürme yöntemiyle ekimi gerçekleştiriniz.
- Petri kutusunun kapağını kapatarak üzerine gerekli ekim bilgilerini yazınız.
- Özeyi alevde sterilize edip uygun şekilde bırakınız.

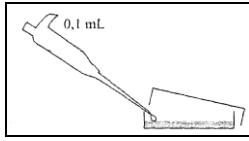
- Ellere bulaşma olduğunda ellerinizi dezenfekte ediniz.
- Çalışma sırasında özeyi steril etmeden tezgâha koymayınız.
- Tezgaha çalışma sırasında besiyeri, dilüsyon vb döküldüğünde tezgahı temizleyip dezenfekte ediniz.
- Dilüsyon tüplerini numune alımından sonra tüplüğe yerleştirirken alevden geçirip pamuklarını tekrar kapamayı unutmayınız.
- Petri kutusunun kapağını kapatarak üzerine gerekli ekim bilgilerini yazmayı unutmayınız.



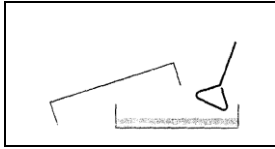
### Yayma yönteminde:



- Besiyerini steril ve usulüne uygun bir şekilde petri kutusuna boşaltarak katılaşmasını bekleyiniz.



- Yayma yöntemiyle ekim için 0.1 ml' lik numunenin olduğu pipeti agarlı besiyerinin yüzeyine boşaltınız.
- Alkolle sterilize edilmiş drigalski ıspatulu alevden geçiriniz.
- Kültür aktarılmamış besiyeri yüzeyinde soğutunuz.
- Agarlı besiyeri üzerindeki numuneyi homojen olarak yayınız.

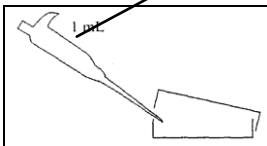


- Petri kutusunun kapağını kapatarak üzerine gerekli ekim bilgilerini yazınız.
- Drigalski ıspatulunu ve pipeti sterilizasyon için ayırınız.

- Tüm çalışmalarınızı alev çatısı altında yapınız.
- Sorumluluklarını biliniz.
- Dikkatli olunuz.
- Ekim işlemini kontaminasyon riskini en aza indirmek için seri bir şekilde yapınız
- Sterilliğinden kuşku duyulan veya kontamine olan araç gereçleri kullanmayınız.
- Besiyerini petri kutusuna aktarırken uygun sıcaklıkta olmasına ve topaklaşma olmamasına dikkat ediniz.
- Her kullanım öncesi ve sonrası drigalski ıspatulunu mutlaka sterilize ediniz.
- Ellere bulaşma olduğunda ellerinizi dezenfekte ediniz.
- Çalışma sırasında pipeti steril etmeden tezgaha koymayınız.
- Tezgaha çalışma sırasında besiyeri, dilüsyon vb. döküldüğünde tezgâhı temizleyip dezenfekte ediniz.
- Dilüsyon tüplerini numune alımından sonra tüplüğe yerleştirirken alevden geçirip pamuklarını tekrar kapamayı unutmayınız.

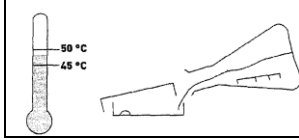
### Dökme plak yönteminde:

Otomatik pipet



- Dökme plak yöntemiyle ekim için boş steril petri kutularına 1 ml numune pipetle aktarılır.

- Aseptik teknikle çalışınız.
- Ekimi yapılacak dilüsyonlar seçildikten sonra sayım sonuçlarının güvenilirliğini artırmak için aynı tüpten 2 ya da tercihen 3 petri kutusuna ekim yapılır (2 paralelli, 3 paralelli ekimler). Sayım sonuçları paralel ekim sonuçları ortalaması olarak verilir.

 <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Numune üzerine 15–20 ml yaklaşık 45°C'deki agarlı besiyeri dökülür.</li> <li>➤ Zemin üzerinde 888 hareketi yaptırılarak numune ve besiyerinin karışması sağlanır.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Petri kutusunun kapağını kapatarak üzerine gerekli ekim bilgilerini yazınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Sonucunuzu rapor ediniz.</li> <li>➤ İşinizin bittiği malzemeleri uygun şekilde kaldırınız.</li> <li>➤ Çalışma alanınızı temizleyip dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Laboratuvarın son kontrollerini yapınız.</li> <li>➤ Önlüğünüzü çıkarıp yerine asınız.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Analiz sonrası işlemleri yapınız.</li> </ul>	

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

**Bu faaliyet kapsamında hangi bilgileri kazandığınızı aşağıdaki soruları cevaplayarak belirleyiniz.**

**Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.**

1. Yüzeylerden örnek alma ve ekim işlemlerinde aşağıdaki yöntemlerden hangisi kullanılır?  
A) Öze ile aktararak  
B) Pipet ile aktararak  
C) Agar sucuğu kullanarak  
D) Drigalski ıspatulu ile yayılarak
2. 1-Pipet 2-Öze 3-Eküvyon 4-Drigalski ıspatulu  
Yukarıdakilerden hangisi ya da hangileri sıvı besiyerine ekim yaparken kullanılmaz?  
A) Yalnız 4  
B) 3 ve 4  
C) 1 ve 2  
D) 1, 3 ve 4
3. Mikroorganizmaların transferinde kullanılan, ucunda nikel-krom veya platinden yapılmış, yuvarlatılmış tel bulunan araca ne ad verilir?  
A) Öze  
B) Eküvyon  
C) Drigalski ıspatulu  
D) Pipet
4. Petri kutusundaki agarlı besiyerine aktarılan numunenin drigalski spatülü ile düzeltildiği ekim yöntemi aşağıdakilerden hangisidir?  
A) Yayma yöntemi  
B) Dökme plak yöntemi  
C) Sürme yöntemi  
D) Hiçbiri
5. Aşağıdakilerden hangisi yüzeylerden örnek almada ve ekimde kullanılan araçlardan birisidir?  
A) Pipet  
B) Öze  
C) Eküvyon  
D) Etüv

**Boşlukları aşağıdaki tabloda verilen doğru kelime ile eşleştiriniz.**

6. Aktarılacak numune tüpünü homojen olarak karıştırmaya yarayan araca.....denir.
7. Deney tüpü cep ya da banko üzerine değil .....adı verilen taşıyıcılara konulmalıdır.

Homojenizatör
Tüplük
Vorteks tüp karıştırıcısı

**Doğru/yanlış testini uygulayınız.**

8. ( ) Agarlı besiyerine sürme yöntemiyle ekimin amacı her canlı hücrenin inkübasyon sonucu 1 adet koloni oluşturmasıdır.
9. ( ) Ekim (inokülasyon), numunenin steril besiyerine aseptik tekniğe uygun olarak aktarılması olayıdır.
10. ( ) Sürme ekim tekniğinde numunenin besiyeriyle tam olarak karışması için petri kutusuna 888 hareketi yaptırılır.

**DEĞERLENDİRME**

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulamalı teste geçiniz.

## UYGULAMALI TEST

Eski kaşar numunesini uygun dilüsyona getirerek küf varlığını belirlenmek amacıyla PDA ( Potato Dextrose Agar) besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapınız. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

## KONTROL LİSTESİ

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Çalışma öncesi hazırlıklarınızı yaptınız mı?		
2. Aseptik çalışma şartlarını oluşturduğunuz mu?		
3. Numuneyi uygun dilüsyona getirdiniz mi?		
4. Pipet veya öze ile aktarma tekniklerinden hangisini kullanacağınıza karar verdiniz mi ?		
5. Standart petri kutusuna 12–15 ml PDA dökerek yüzeyin kurummasını sağladınız mı?		
6. 1 ml'lik bir pipetle 0.1 ml. numuneyi dilüsyon tüpünden aldınız mı?		
7. 0.1 ml lik numunenin olduğu pipeti agarlı besiyerinin yüzeyine boşalttınız mı?		
8. Drigalski ıspatulunu temiz ve yeterli konsantrasyonda alkol ile sterilize ettiniz mi?		
9. Drigalski ıspatulu alevden geçirerek alkolü uzaklaştırdınız mı?		
10. Drigalski ıspatulu besiyeri üzerinde kültür aktarılmamış bir yerde gezdirerek soğuttunuz mu?		
11. Drigalski ıspatulu ile numuneyi agarlı besiyeri üzerinde homojen olarak yaydınız mı?		
12. Petri kutusunun kapağını kapattınız mı?		
13. Petri kutusuna gerekli bilgileri yazdınız mı?		
14. Petri kutusunu inkübasyona bıraktınız mı?		
15. Drigalski ıspatulunu ve pipeti sterilize ettiniz mi?		
16. Çalışma sonrası işlemleri yaptınız mı?		

## DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi “Evet” ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz. Cevabı “Hayır” olan işlemleri tekrar deneyiniz.

# ÖĞRENME FAALİYETİ- 2

## AMAÇ

Tekniğine uygun olarak inkübasyonu yapabileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Aşağıdaki mikroorganizmaların inkübasyon koşullarını araştırınız.
  - Bakteriler
  - Küfler
  - Mayalar
- Mikroorganizmaların üremesinde ortam sıcaklığı ve süre ilişkisini araştırınız.
- Araştırmalarınızı rapor haline getirip sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

## 2. İNKÜBASYON

Ekimi gerçekleştirilen sıvı ya da katı besiyerinin bulunduğu tüp veya petri kutusunun, uygun bir inkübatörde, mikroorganizmaların üreyebileceği sıcaklık ve sürede tutulması işlemine inkübasyon denir.

İnkübasyon sıklıkla etüv ve su banyosunda gerçekleştirilir. Küflerin inkübasyonu oda sıcaklığında yapılabilmeyle birlikte kontrolsüz ortam olduğu için tercih edilmemektedir.

### 2.1. Etüvde İnkübasyon

Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan, 0-90°C aralığında çalışmaya imkân veren etüvlere inkübatör adı verilir. İnkübatörde (etüvde) mikroorganizmaların üremesi için uygun sıcaklık ve süre diğer bir deyişle üreme ortamı sağlanır.

İnkübatör ( etüv ); mikroorganizmanın üremesi için gerekli ısıya göre ayarlanabilen ve bu sıcaklığı belli derecede muhafaza edebilen elektrikli cihazlardır. En çok 100°C civarında sıcaklık sağlanabilir. Sterilizatör ve kurutma dolaplarına benzer, genellikle dört köşelidir. Tek veya iki kapılı olanları vardır. Anaerob tipleri de mevcuttur.



**Resim 2 1: Etüv çeşitleri**

## **2.2. Su Banyosunda İnkübasyon**

Su banyosunda genellikle yüksek sıcaklığa duyarlı besiyerlerinin inkübasyonu yapılır. Burada önemli olan su banyosunun termostatlı olması ve istenilen sıcaklığın homojen şekilde dağılmasını sağlayan karıştırma düzeneğinin olmasıdır. Ayrıca inkübasyon süresince sıcaklık kontrolleri de yapılmalıdır.



**Resim 2 2: Su banyosu**

Su banyolarında sıcaklık  $100^{\circ}\text{C}$ ' ye kadar ayarlanabilir. Bu banyo içine daldırılan bir kaptaki maddenin sıcaklığı en fazla  $80\text{--}85^{\circ}\text{C}$ 'ye yükseltilebilir. Sıcaklığı ayarlanabilen, termostatlı su banyoları ile istenilen sıcaklığı ayarlamak mümkündür. Su banyoları ile uzun süre çalışılacaksa içlerindeki suyun tamamen buharlaşmamasına dikkat edilmeli ve eksilen su ilave edilmelidir.



**Resim 2 3: Su banyosu çeşitleri**

### **2.3. İnkübasyonda Dikkat Edilecek Hususlar**

İnkübasyonda aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir;

- Belirtilen inkübasyon süresi ile sıcaklık derecesine dikkat edilmelidir. Bu amaçla inkübatör sıcaklığı minimum-maksimum termometre ile kontrol edilmelidir. Anaeroblar için gaz atmosferine uyulmalıdır.
- İnkübasyon 37°C ve üstündeki sıcaklık derecelerinde gerçekleştiriliyorsa petri kutuları ters çevrilerek (tabanları üstte, kapakları altta olacak şekilde) inkübatöre konulmalıdır. Bu sıcaklık derecelerindeki inkübasyon 24 saatten fazla sürecekse, inkübatöre içinde su olan bir beher konularak petri kutularında yüzey kurumayı önlenmelidir. Petri kutularının strech filme sarılması veya naylon torba içerisinde inkübatöre bırakılması da kurumayı önleyici bir uygulamadır.
- Membran filtrasyon uygulamalarında petri kutuları düz çevrilerek (kapakları üstte, tabanları altta) inkübatöre konulmalıdır.
- İnkübatörde cam petri kutuları 6 'dan plastik petri kutularında 8' den daha fazla üst üste konulmamalıdır.



**Resim 2 4: İnkübatörde inkübasyon için yerleştirilmiş besiyerleri**



- 
- İnkübatörde sıcaklık değişmelerini önlemek için kapağın gereksiz yere açılmamasına özen gösterilmelidir.
  - Petri kutularının ve inkübatör duvarlarının arasındaki boşluk sıcaklık dağılımının düzenli olması için yaklaşık 2.5 cm olmalıdır.
  - İnkübasyon sonrasında petri kutusu tartılmalıdır. İnkübasyon öncesi ve sonrasında izin verilen maksimum ağırlık kaybı oranı %15'tir. Ağırlık kaybı daha fazla ise düzeltici işlemler yapılmalıdır.
  - İnkübasyon sıcaklık derecesi üremesi istenen bakteri özelliği doğrultusunda şu şekilde belirlenir:
    - Bazı mikrokok çeşitleri gibi serin sıcaklığı seven **psikrofil** bakteriler için inkübasyon sıcaklığı genel olarak +7°C'dir.
    - Ilık sıcaklığı seven **mezofil** bakteriler için 25-40°C'dir.
    - Yüksek sıcaklıkları seven **termofil** bakteriler için inkübasyon ısı derecesi genellikle 55-60°C'dir.
    - Çok yüksek sıcaklıkları seven **ekstrem termofiller** için ise inkübasyon sıcaklığı genel olarak 85°C'dir.

## UYGULAMA FAALİYETİ

Ekimi yapılmış besiyerlerinin inkübasyonunu sağlama

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Ekimi yapılmış numunede üremesi istenen mikroorganizmalar için sıcaklık ve süreyi belirleyiniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.</li><li>➤ Gerekli ise koruyucu malzeme kullanınız.</li><li>➤ Ellerinizi her çalışma öncesi ve sonrası yıkayıp dezenfekte ediniz.</li><li>➤ “Analiz Öncesi Hazırlık” modülünde öğrendiğiniz şekilde kişisel hazırlıklarınızı yapınız.</li><li>➤ Süre ve sıcaklığı belirlemede mikrobiyolojik analiz metotlarından veya ilgili kaynaklardan faydalanabilirsiniz.</li><li>➤ Ekip çalışmasına yatkın olunuz.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ İnkübatörde inkübasyonu yapacaksanız etüvde inkübasyon işlem basamaklarına geçiniz.</li><li>➤ Küfleri oda sıcaklığında inkübe edecekseniz küf inkübasyonu işlem basamağını uygulayınız.</li><li>➤ Su banyosunda inkübasyonu yapacaksanız su banyosu işlem basamaklarına geçiniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Numunenize uygun inkübasyon şeklini seçimini doğru yapınız.</li><li>➤ Bunun için öğretmenizden yararlanabilirsiniz.</li><li>➤ Yeniliklere açık olunuz.</li></ul>
<b>Küfler için oda sıcaklığında inkübasyon:</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Küfler için oda sıcaklığını ayarlayınız.</li><li>➤ Ekimi tamamlanmış besiyerlerini oda sıcaklığında laboratuvarında banko üzerine bırakınız.</li><li>➤ Petripleri tek sıra halinde yerleştiriniz.</li><li>➤ Ortam sıcaklığını termometre ile kontrol ediniz.</li><li>➤ Sürenin dolup dolmadığını kontrol etmeyi unutmayınız.</li><li>➤ Süre sonunda üreme olup olmadığını kontrol ediniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Küf inkübasyonu için laboratuvarınızda uygun bölgeyi işaretleyiniz.</li><li>➤ İnkübasyon bölgesinin hava akımının yoğun olmamasına dikkat ediniz.</li><li>➤ Ortam sıcaklığını ayarlama ısıtıcı kullanabilirsiniz.</li><li>➤ Süre doluncaya kadar periyodik olarak ortam sıcaklığını kontrol etmeyi unutmayınız.</li><li>➤ İnkübasyon süresince petri kapaklarını asla açmayınız.</li><li>➤ Üreme kontrolünü kapakları açmadan yapınız.</li><li>➤ Etüvü oda sıcaklığına ayarlayarak aynı işlemleri etüvde de yapabilirsiniz.</li><li>➤ Zamanı iyi kullanınız.</li></ul>
<b>Etüvde inkübasyon;</b>	

<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İnkübatörü (etüv) belirlenen sıcaklık derecesi ve süresine ayarlayınız ve çalıştırınız.</li> <li>➤ İnkübatöre (etüv) ekimi tamamlanmış besiyerlerini yerleştirip kapağını kapatınız.</li> <li>➤ İnkübatörün çalışıp çalışmadığını kontrol ediniz.</li> <li>➤ İnkübasyonu tamamlanmış besiyerlerinde üremeleri kontrol ediniz.</li> <li>➤ Üreme yoksa bir süre daha inkübe ediniz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Etüv kullanma talimatına mutlaka uyunuz.</li> <li>➤ Sıvı besiyerlerinin bulunduğu tüpleri tüplüklere yerleştirdikten sonra etüve yerleştiriniz.</li> <li>➤ Cam petrilerin en fazla 6 tanesini üst üste koyunuz.</li> <li>➤ Plastik petrilerde bu sayı azami 8'dir, unutmayınız.</li> <li>➤ Etüvün çalışıp çalışmadığını kontrol etmeyi unutmayınız.</li> <li>➤ Belirlenen süre kadar besiyerlerini etüvde tutunuz.</li> <li>➤ Üreme kontrolünü kapakları açmadan yapınız.</li> <li>➤ Yeterli inkübasyon sağlanamamışsa inkübasyonu tekrarlamayı unutmayınız.</li> </ul>
<b>Su banyosunda inkübasyon;</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Su banyosunu istenilen sıcaklığa ayarlayınız.</li> <li>➤ Ekimi tamamlanmış besiyerlerini su banyosuna yerleştiriniz.</li> <li>➤ Besiyerini belli bir süre su banyosunda tutunuz.</li> <li>➤ Su banyosunun sıcaklığını periyodik olarak kontrol ediniz.</li> <li>➤ Belirlenen süreyi tutunuz ve takip ediniz.</li> <li>➤ Belirlenen sürenin sonunda besiyerlerini su banyosundan alınız.</li> <li>➤ İnkübasyonu tamamlanmış besiyerlerinde üremeleri kontrol ediniz.</li> <li>➤ Üreme yoksa bir süre daha inkübe ediniz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Su banyosu kullanma talimatına uyunuz.</li> <li>➤ Petri kutularını su banyosuna koymayınız.</li> <li>➤ Tüplerdeki besiyerleri burada inkübe edilir. Unutmayınız.</li> <li>➤ Ekimi tamamlanmış besiyerini yerleştirirken devrilmemesi için gerekli önlemleri alınız. Bunun için ağırlık halkalarından faydalanabilirsiniz.</li> <li>➤ Termometre ile su banyosu sıcaklığını ölçerek uygun ortam sıcaklığını kontrol edebilirsiniz.</li> <li>➤ Sürenin tutulmasında başlangıç ve çıkarma saatini bir yere kaydedebilirsiniz.</li> <li>➤ Süreyi takip etmeyi unutmayınız.</li> <li>➤ Üreme kontrolünde pamukları açılmadan dışardan kontrol edildiğini asla unutmayınız.</li> <li>➤ Üreme yoksa bir süre daha inkübe ediniz. veya su banyosu koşullarını bir daha kontrol etmeyi unutmayınız.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Çalışma sonrası işlemleri yapınız</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Sonucunuzu rapor ediniz.</li> <li>➤ İşinizin bittiği malzemeleri uygun şekilde kaldırmız. İşiniz bittikten sonra kullandığımız besiyerlerini steril edip sonra imha ediniz.</li> <li>➤ Çalışma alanınızı temizleyip dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ediniz.</li> <li>➤ Laboratuvarın son kontrollerini yapınız.</li> <li>➤ Önlüğünüzü çıkarıp yerine asınız.</li> </ul>

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Bu faaliyet kapsamında hangi bilgileri kazandığınızı aşağıdaki soruları cevaplayarak belirleyiniz.

**Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.**

1. Aşağıdakilerden hangisi inkübatör olarak kullanılan bir araçtır?  
A) Bunzen beki  
B) Hava gazı  
C) Etüv  
D) Hiçbiri
2. Aşağıdakilerden hangisi etüvün haricinde besiyerleri inkübasyonunda kullanılır?  
A) Su banyosu  
B) Mikrodalga  
C) Kül fırını  
D) Otoklav
3. Aşağıdakilerden hangisi inkübasyon sırasında dikkat edilecek noktalardan değildir?  
A) 37°C'yi geçen inkübasyonlarda petri kutuları ters çevrilerek inkübatöre konmalıdır.  
B) İnkübatörün kapağı gereksiz yere açılmamalıdır.  
C) İnkübatör duvarlarıyla besiyerlerinin arasındaki boşluk 2.5 cm civarında olmalıdır.  
D) En fazla 10 tane cam petri kutusu üst üste konulabilir.

**Boşlukları aşağıdaki tabloda verilen doğru kelime ile eşleştiriniz.**

4. Ekimi gerçekleştirilen sıvı ya da katı besiyerinin bulunduğu tüp veya petri kutusunun uygun bir inkübatörde mikroorganizmaların üreyebileceği ısı ve sürede tutulması işlemine .....denir.
5. ....saati geçen inkübasyonlarda petri kutularında yüzey kurumasını önlemek için inkübatöre beher içinde su konulmalıdır.

4-5
İnkübasyon
24
Sterilizasyon

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrar inceleyiniz.

## UYGULAMALI TEST

Ekimi yapılmış katı besiyerinin etüvle inkübasyonunu sağlayınız. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

### KONTROL LİSTESİ

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. İnkübatörü (etüvü) çalışmaya hazırladınız mı?		
2. İnkübatörü kullanma talimatına göre üremesi istenen mikroorganizma için gerekli sıcaklık derecesine ve süreye ayarladınız mı?		
3. İnkübatörü çalıştırdınız mı?		
4. İnkübatöre ekimi tamamlanmış besiyerlerini yerleştirip kapağını kapattınız mı?		
5. Petri kutularını en fazla 6 tanesi üst üste gelecek şekilde yerleştirdiniz mi?		
6. İnkübatörün çalışıp çalışmadığını kontrol ettiniz mi?		
7. Besiyerlerini belirtilen süre kadar etüvde tuttunuz mu?		
8. İnkübasyonu tamamlanmış besiyerlerinde üremeleri kontrol ettiniz mi?		
9. Üreme yoksa bir süre daha inkübe ettiniz mi?		
10. Çalışma sonrası işlemleri yaptınız mı?		

### DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi “Evet” ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz. Cevabı “Hayır” olan işlemleri tekrar deneyiniz.

# ÖĞRENME FAALİYETİ- 3

## AMAÇ

Tekniğine uygun olarak saf ve stok kültür elde edebileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Saf kültür elde etme aşamalarını araştırınız.
- Stok kültür elde etmenin amacını araştırınız.

## 3. KÜLTÜR

Mikroorganizmaların üremesi için gerekli olan besin maddelerini içeren besiyerleri (kültür ortamı), ekim işleminden sonra uygun fiziksel ve kimyasal koşul altında belli sürelerde bekletildiğinde mikroorganizmalar ürer. Besiyerinde üretilen mikroorganizmaların tümüne “kültür” adı verilmektedir.

### 3.1. Kültür Çeşitleri ve Tanımları

#### 3.1.1. Saf Kültür

Doğada her yerde mikroorganizmalar, birçok farklı türlerin oluşturduğu topluluklar şeklinde bulunur. Buradan alınan örnekler besiyerine ekilerek birçok bakteri türü bir arada üretilir. Birden fazla bakteri türünün ürediği kültürlere karışık kültürler denir.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında her bir mikroorganizmanın özelliğinin incelenmesi ve tanısının yapılabilmesi için saf kültürlerinin elde edilmesi de gerekir. Bu nedenle karışık kültürlerin saflaştırılması gerekmektedir.

Bir koloniden alınan ve üretildiğinde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genel özellikleri birbirinin aynı olan bakteri kültürüne “saf kültür” adı verilmektedir. Saf kültür yalnızca bir tür mikroorganizma üretilmesi ile elde edilen kültürdür.

Gıdada mevcut mikroorganizmanın cins, tür düzeyinde tanısını yapabilmek ve adlandırmak için saf kültür halinde üretilmesi zorunludur.

Saf kültür, önce katı besiyerinde oluşmuş her farklı koloniden steril bir başka tüp içindeki sıvı veya katı yatık agara ekim yapılarak elde edilir. Saf kültür için tek koloni elde etme gerekliliği vardır.

### 3.1.2. Stok Kültür

Saf kültürün laboratuvarında yapılacak sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere saklanması işlemine “**stok kültür**” elde etme denir. Ölmeden saklanmaları için yeni besiyerlerine ekilmelidir. Bazı bakteriler eski kültürlerinde de uzun süre canlı kalabilmektedir. Saf kültürün yeni besiyerlerine ekilmesi veya deney hayvanlarına nakledilmesi işlemine “pasaj yapmak” denir.

## 3.2. Saf Kültür Elde Etme Aşamaları

### Birinci aşama: İzole koloniler elde etme

Saf kültür elde etmede öncelikle izole koloniler elde edilmelidir. İzole kolonileri elde etmek için;

- Örnekten ekim yapılarak karışık kültür elde edilir.
- Bir miktar kültür öze ile alınır, mikroorganizma hücrelerinin daha rahat yayılarak ayrı ayrı koloni oluşturmaları için petri kutusuna sürme tekniği ile ekilir. Bu sırada bir önceki sürme alanına değmemeye özen gösterilir. Petri kutusunun tercih nedeni besiyeri yüzeyinin daha geniş olmasıdır.



**Resim 3.1: Sürme tekniği ile ekim**

- Petrinin üzerine gerekli bilgiler yazılarak ters çevrilir.
- Önerilen sıcaklık ve sürede inkübe edilir.
- İnkübasyon sonrası oluşan koloniler incelenir. Tek kolonilerin gelişip gelişmediğine bakılır.
- Tek hücreden oluşmuş koloniler seçilir ve seçim yaparken tipik koloni görünümünde olmalarına ve diğer bir koloni ile temasta olmamalarına dikkat edilmelidir. Son izolasyon bölgelerinde tek düşen mikroorganizma hücresi çoğalarak saf koloniyi oluşturur.



**Resim 3.2: İzole koloninin tespiti**

- Eğer tek koloniler gelişmemişse, daha seyreltilmiş kültürlerden tekrar ekim yapılır. Diğer tüm işlemler tekrarlanır.

### **İkinci aşama: Saf kültür elde etme**

Bunun için;

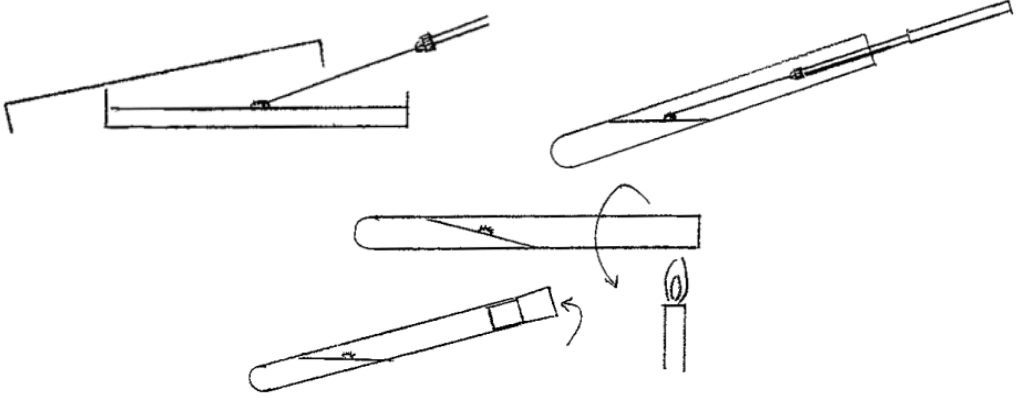
- İzole koloni öze ile önce sıvı bir besiyerine adaptasyon ve canlandırma amacıyla aktarılır. Bu aşamada koloniler birbirine çok yakınsa iğne öze tercih edilmelidir.



**Resim 3.3: İzole koloninin alınması**



- Tüp üzerine gerekli bilgiler yazılır ve önerilen sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyonu takiben elde edilecek kültürden uygun bir katı besiyerine, genellikle tüpteki yatık agarlı besiyerine tekrar ekim yapılarak inkübasyon gerçekleştirilir. İnkübasyon sonrasında saf kültür elde edilmiş olur.



Şekil 3 1: Saf kültür elde etme

### Üçüncü aşama: Saflık kontrolü

Elde edilen kültürün saf olup olmadığı kontrol edilir. Bunun için;

- Elde edilen kültürden tek koloni düşürme tekniklerinden birisi kullanılarak petri kutusundaki agarlı besiyerine ekim yapılır ve inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyon sonrasında besiyeri yüzeyinde oluşan koloniler şekil, yapı, büyüklük, renk vb özellikleri yönünden incelenir. Farklı özelliklere sahip kolonilerin varlığı gözlemlendiğinde kültürün karışık olmasından şüphelenilir.

### 3.3. Stok Kültür Elde Etme Aşamaları

Stok kültür elde etmenin 2 temel yöntemi vardır:

**1.Yatık kültür:** Bu yöntemde tüp içinde yatık agarlı uygun bir besiyeri kullanılır.



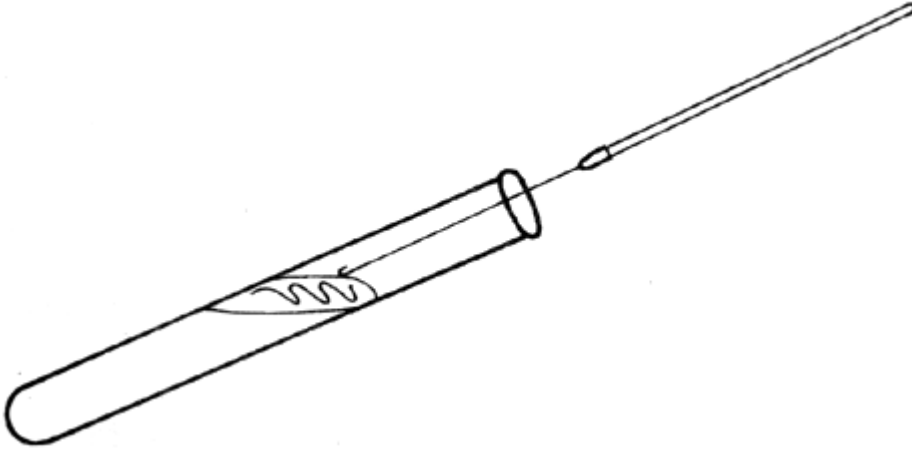
**Resim 3.4: Yatık agar kültürleri**

Bakteri ve maya kültürleri bu şekilde stoklanır.

**Yatık agarlı kültür elde etmek için;**

- Öze ile örnek alınır ve alınan örnek tüpteki yatık agar yüzeyinin en alt kısmına temas ettirilir. Örnek burada öze ile hafifçe ezilir ve tüpteki besiyeri içinde, yukarı doğru zikzaklar çizerek tüpten çıkartılır.

Küf kültürlerinin yatık agarlı besiyerine ekimi için öze ile alınan örnek tüpteki yatık agar yüzeyinin tam orta kısmına temas ettirilerek ekilir.



**Şekil 3 2: Yatık besiyerine ekim**

- Besiyerleri inkübasyona bırakılır. Stok kültürde inkübasyon süresi kısa tutulur, yüzeyde kolonilerin görünmesine yetecek kadar süre yeterlidir.

**2.Liyofilize (dondurulmuş ve kurutulmuş) kültürler:** Bu yöntemle kültürler uygun ambalaj materyali içerisinde liyofilize edilerek uzun süre dayanabilir. Dondurarak kurutma (freze-drying) adı da verilen liyofilizasyon tekniğinde, yüksek oranda canlılık ve aktivite elde edilir. Bu yöntem özel bir liyofilizasyon aleti ile gerçekleştirilir. Bu yöntemde seçilen bakteriler besiyerinde üretilerek santrifüjlenir. Mikroorganizma kültürü cam bir şişe veya tüp

içinde mikroorganizmaların tahrip olmasını önlemek için steril süt, kan serumu veya bazı koruyucu maddelerle eşit oranda karıştırılarak süspansiyon yapılır. Sıvının bulunduğu şişe buz ve alkol karışımı içinde tutularak, kültür -40 ile -70°C arasında dondurulur.



**Resim 3.5: Kùltürlerin dondurulması**

<0.1mm Hg basınç altında kültürdeki donmuş su, sıvı hale geçmeden vakumlanır, kurutulur ve toz haline getirilerek ambalajlanır. Ambalaj içindeki kültür kullanılmak istendiğinde aseptik koşullarda uygun sıvı besiyerine aktararak inkübasyona bırakılır.

### **3.4. Kùltürleri Muhafaza Etme**

Saklama esnasında izole koloni kültür bakterilerin çoğunun canlı kalması ve mümkün olduğu kadar genetik, fizyolojik değişikliklere uğramaması gerekmektedir.

Bunun için, çeşitli saklama yöntemleri geliştirilmiştir. Soğukta muhafaza, dondurma ve kurutma yöntemleri bunlardan başlıcalarıdır.

Kùltürler buzdolabında 0-5°C’de muhafaza edilmektedir. Bazı fakültatif anaeroplara, tüpte yüksek jelozda üretildikten sonra buzdolabında saklanır. Aerop bakteriler, yatık agar besiyerinde buzdolabında aylarca saklanabilirse de bu yöntem uzun süreli saklamalar için kùltürlerin pasajları esnasında mutasyonlar oluşacağından uygun değildir. Ancak diğer yöntemler kullanılarak bu zorlukların üstesinden gelinebilir.

Dondurarak derin dondurucuda; -20°C’de, muhafaza edilir. Mikroorganizmalar liyofilize stok kùltürlerini hazırlayarak kuru formda canlılık ve aktivitelerini yitirmeden uzun süre saklanabilir.

---

Buharlaşmayı önlemek için, tüpün ağzı steril mineral yağı ile kapatılır. Zorunlu anaeroplara “tiyoglikolatlı buyyon” gibi kuvvetli indirgen ortamlarda üretildikten sonra saklanır. Şayet saklanan mikroorganizma metabolizma ürünü olarak asit oluşturursa, kullanılan vasatın iyi bir şekilde tamponlanması gereklidir.

Petri kutuları veya tüpteki kültürleri buzdolabında muhafaza ederken hava ile direkt teması kesmek ve yüzeysel kurumayı önlemek için, petri kutularının alt ve üst kapakları parafilm (veya sellobant) ile birbirine tutturulur, tüplerin ise ağız kısımları parafilm ile kaplanır. Tüpler için parafilm yerine erimiş vazelin, parafin veya vaspara daldırılmış pamuk tıkaçlar da kullanılabilir. Ağız vida kapaklı tüplerde bunlara gerek yoktur.

## UYGULAMA FAALİYETİ

Verilen kültürden saf kültür elde ederek muhafaza etme

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Size verilen petride oluşmuş farklı koloni tiplerini ayırt ediniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Kolonileri ayırt etmede, tipik koloni görünümünde olmalarına ve diğer bir koloni ile temasta olmamalarına dikkat ediniz.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Seçtiğiniz koloniden öze ile bir miktar örnek alınız.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.</li><li>➤ Gerekli ise koruyucu malzeme kullanınız.</li><li>➤ Ellerinizi her çalışma öncesi ve sonrası yıkayıp dezenfekte ediniz.</li><li>➤ Kişisel hazırlıklarınızı yapmayı unutmayınız.</li><li>➤ Mikroorganizma hücrelerinin daha rahat yayılarak ayrı ayrı koloni oluşturmaları için petri kutusundaki besiyerini seçiniz.</li><li>➤ Bu aşamada koloniler birbirine çok yakınsa iğne öze tercih ediniz.</li><li>➤ Özeyi sterilize ediniz. Sağ elinize kalem tutar gibi yerleştiriniz.</li><li>➤ Petrinin kapağını açınız. Petri kutusunu sol ele alınız, besiyeri bulunan tarafı kendinize dönük dik olarak tutunuz.</li><li>➤ Özeyi agarlı besiyerinin üreme olmayan bir bölgesine bastırarak soğutunuz.</li><li>➤ Ucunu titretmeden tek bir koloniye değdiriniz.</li><li>➤ Petrinin kapağını kapatınız.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Aldığınız örneği petri kutusuna sürme tekniği ile ekiniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Sürme yöntemi işlem basamaklarını uygulamaya dikkat ediniz.</li><li>➤ Aseptik çalışınız.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Petrinin üzerine gerekli bilgiler yazarak ters çevirip inkübatöre yerleştiriniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Petri üzerine yazılacak bilgileri hatırlayarak uygulayınız.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Önerilen sıcaklık ve sürede inkübe ediniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ İnkübatör kullanma talimatlarına uyunuz.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ İnkübasyon sonrası oluşan kolonileri inceleyiniz. Tek kolonilerin gelişip gelişmediğine bakınız.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Dikkatli olunuz.</li><li>➤ İnceleme yaparken asla petri kapağı açmayınız.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Tek hücreden oluşmuş kolonileri seçiniz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Seçim yaparken tipik koloni görünümünde olmalarına ve diğer bir koloni ile temasta olmamalarına dikkat edilmelidir.</li></ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Eğer tek koloniler gelişmemişse, daha seyreltilmiş kültürlerden tekrar ekim yaparak diğer tüm işlemleri tekrarlayınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Seyreltilmiş kültürle ekim işlemini yapmayı unutmayınız.</li> <li>➤ Tüm işlemleri tekrarladığınızı kontrol ediniz.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İzole koloniyi öze ile sıvı bir besiyerine aktarınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Bu aşamada koloniler birbirine çok yakınsa iğne öze tercih ediniz.</li> <li>➤ Bu aşamalar adaptasyon ve canlandırma amacıyla yapılır, unutmayınız.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tüp üzerine gerekli bilgileri yazınız ve önerilen sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İnkübatör kullanma talimatlarına uyunuz.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Elde edilen yeni kültürden uygun bir katı besiyerine tekrar ekim yaparak inkübasyonu gerçekleştiriniz saf kültürü elde ediniz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tek koloni düşürme tekniğini hatırlayarak işlem basamaklarını uygulamaya dikkat ediniz.</li> <li>➤ Steril çalışmaya ve seri olmaya gayret ediniz.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Saf kültür kontrolü için;</b> tüpteki yatık agarlı besiyerine tekrar ekim yaparak inkübasyonu gerçekleştiriniz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Steril yatık agarlı besiyeri kullanmayı unutmayınız.</li> <li>➤ Saf kültür bulunan besiyerindeki koloniyi iğne öze ile alınız</li> <li>➤ Ekim yapacağınız yatık agarlı besiyerini içeren tüpü sol ele alınız ve eğik yüzeyi üst tarafta kalacak şekilde yatık tutunuz. Tüpün kapağını ya da pamuğunu sağ elin küçük parmağı ile ayası arasında sıkıştırarak yerinden çıkarınız.</li> <li>➤ Tüpün ağzını alevden geçiriniz.</li> <li>➤ İğneyi besiyerinin dibinden yukarıya doğru yatık yüzey üzerinde, birbirine paralel iki çizgi arasında yine dipten yukarı doğru zikzaklar çiziniz.</li> <li>➤ Küflerin ekimini besiyerinin ortasına nokta ekim yapınız.</li> <li>➤ Tüpün ağzını alevden geçirdikten sonra kapatınız.</li> <li>➤ Özeyi elinizden bırakmadan kızıl dereceye kadar sterilize ediniz.</li> <li>➤ Tüpü inkübasyona bırakınız.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Elde edilen kültürden tek koloni düşürme tekniklerinden birisini kullanılarak petri kutusundaki agarlı besiyerine ekim yapınız inkübasyona bırakınız.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tek koloni düşürme tekniğini hatırlayarak işlem basamaklarını uygulamaya dikkat ediniz.</li> <li>➤ Steril çalışmaya ve seri olmaya gayret ediniz.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İnkübasyon sonrasında besiyeri yüzeyinde oluşan koloniler şekil, yapı, büyüklük, renk vb. özellikleri yönünden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Saf kültürlerde aynı özelliklere sahip koloniler gelişir. Farklı özelliklere sahip</li> </ul>

inceleyiniz.	<p>kolonilerin varlığı gözlemlendiğinde kültürün karışık olmasından şüphelenilir, unutmayınız.</p> <p>➤ Bu durumda işlemleri baştan tekrarlayınız ya da aseptik çalışıp çalışmadığınızdan emin olunuz.</p>
➤ Petri kutularının ve tüplerin alt ve üst kapaklarını parafilm (veya sellobant) ile birbirine tutturunuz	<p>Petri kutuları veya tüpteki kültürleri buzdolabında muhafaza ederken hava ile direkt teması kesmek ve yüzeysel kurumayı önlemek için;</p> <p>➤ Tüpün ağzını steril mineral yağı ya da parafilm ile kaplayınız.</p> <p>➤ Tüpler için parafilm yerine erimiş vazelin, parafin veya vaspara daldırılmış pamuk tıkaçlar da kullanılabilirleriniz.</p> <p>➤ Ağız vida kapaklı tüplerde bunlara gerek yoktur.</p>
➤ Elde ettiğiniz saf kültürü buzdolabında muhafaza ediniz.	<p>➤ Soğukta muhafaza için buzdolabı sıcaklığının 0-5°C de olup olmadığını kontrol ediniz.</p> <p>➤ Dondurarak saklamak için derin dondurucuyu -20°C'ye ayarlayınız.</p>
➤ Çalışma sonrası işlemleri yapınız.	<p>➤ Sonucunuzu rapor ediniz.</p> <p>➤ İşinizin bittiği malzemeleri uygun şekilde kaldırınız. İşiniz bittikten sonra kullandığınız besiyerlerini steril edip sonra imha ediniz.</p> <p>➤ Çalışma alanınızı temizleyip dezenfekte ediniz.</p> <p>➤ Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ediniz.</p> <p>➤ Laboratuvarın son kontrollerini yapınız.</p> <p>➤ Önlüğünüzü çıkarıp yerine asınız.</p>

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Bu faaliyet kapsamında hangi bilgileri kazandığınızı aşağıdaki soruları cevaplayarak belirleyiniz.

**Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.**

1. Besiyerlerinde tek cins mikroorganizma üremiş kültürlerle ne ad verilir?  
A) Ana kültür  
B) Saf kültür  
C) Stok kültür  
D) Karışık kültür
2. Aşağıdakilerden hangisi kültürleri saflaştırma nedenidir?  
A) Mikroorganizmaları izole etmek için  
B) Kolonileri teke düşürmek için  
C) Mikroorganizmanın özelliğinin incelenmesi ve tanısının yapılabilmesi için  
D) Hepsisi
3. Aşağıdakilerden hangisi stok kültür elde etme yöntemlerinden birisidir?  
A) Yatık kültür  
B) Petri kutusu  
C) Sıvı besiyeri  
D) Hiçbiri
4. Aşağıdakilerden hangisi kültürleri muhafazada kullanılan bir yöntem değildir?  
A) Soğukta saklama  
B) Dondurarak saklama  
C) Liyofilize etmek  
D) Etüvde saklama

**Boşlukları aşağıdaki tabloda verilen doğru kelime ile eşleştiriniz.**

5. Bir koloniden alınan ve üretildiğinde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genel özellikleri birbirinin aynı olan bakteri kültürüne ..... adı verilmektedir.
6. Saf kültür elde etmede öncelikle izole koloniler öze ile petri kutusuna ..... ile ekilir.
7. ....yatık kültürde stoklanır.

Karışık kültür
Bakteri ve maya
Saf kültür
Sürme yöntemi
Tek koloni düşürme tekniği



---

**Doğru/yanlış testini uygulayınız.**

8. ( ) Saf kültürün laboratuvarda yapılacak sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere saklanması işlemine stok kültür elde etme denir.
9. ( ) Stok kültür elde edilirken inkübasyon süresi uzun tutulur.
10. ( ) Liyofilize stok kültürleri, kuru formda canlılık ve aktivitelerini yitirmeden uzun süre saklanabilir.

**DEĞERLENDİRME**

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığımız sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrar inceleyiniz.

## UYGULAMALI TEST

Size verilen petrideki karışık kültürden saf kültür elde ediniz. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

### KONTROL LİSTESİ

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Gerekli ise koruyucu malzeme kullandınız mı?		
3. Ellerinizi her çalışma öncesi ve sonrası yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
4. Kişisel hazırlıklarınızı yaptınız mı?		
5. Size verilen petride oluşmuş farklı koloni tiplerini ayırt ettiniz mi?		
6. Seçtiğiniz koloniden öze ile bir miktar örnek aldınız mı?		
7. Aldığınız örneği petri kutusuna sürme tekniği ile ektiniz mi?		
8. Sürme ekim tekniğini doğru olarak uyguladınız mı?		
9. Petrinin üzerine gerekli bilgileri yazılarak ters çevirip inkübatöre yerleştirdiniz mi?		
10. Önerilen sıcaklık ve sürede inkübe ettiniz mi?		
11. İnkübasyon sonrası oluşan kolonileri inceleyip tek kolonilerin gelişip gelişmediğine baktınız mı?		
12. Tek hücreden oluşmuş kolonileri seçtiniz mi?		
13. Eğer tek koloniler gelişmemişse, daha seyreltilmiş kültürlerden tekrar ekim yaparak diğer tüm işlemleri tekrarladınız mı?		
14. İzole koloniyi öze ile sıvı bir besiyerine aktardınız mı?		
15. Tüp üzerine gerekli bilgileri yazarak önerilen sıcaklık ve sürede inkübasyona bıraktınız mı?		
16. Elde edilen yeni kültürden uygun bir katı besiyerine tekrar ekim yaparak inkübasyonu gerçekleştirip saf kültürü elde ettiniz mi?		
17. Saf kültür kontrolü için tüpteki yatık agarlı besiyerine tekrar ekim yaparak inkübasyonu gerçekleştirdiniz mi?		
18. Elde edilen kültürden tek koloni düşürme tekniklerinden birisini kullanarak ve petri kutusundaki agarlı besiyerine ekim yaparak inkübasyona bıraktınız mı?		
19. Seçtiğiniz tek koloni düşürme tekniğini doğru olarak uyguladınız mı?		
20. İnkübasyon sonrasında besiyeri yüzeyinde oluşan kolonileri şekil, yapı, büyüklük, renk vb özellikleri yönünden incelediniz mi?		
21. Kültürünüzde aynı özelliklere sahip koloniler gelişti mi?		
22. Sonucunuzu rapor ettiniz mi?		
23. İşinizin bittiği malzemeleri uygun şekilde kaldırdınız mı?		

24. İşiniz bittikten sonra kullandığınız besiyerlerini steril edip sonra imha ettiniz mi?		
25. Çalışma alanınızı temizleyip dezenfekte ettiniz mi?		
26. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
27. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		
28. Önlüğünüzü çıkarıp yerine astınız mı?		

## DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi “Evet” ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz. Cevabı “Hayır” olan işlemleri tekrar deneyiniz.

# MODÜL DEĞERLENDİRME

Belirlediğiniz bir örnekten pipetle aktarma ve katı besiyerine yayma yöntemi ile ekim yaparak elde edeceğiniz kültürden saf kültür elde edip muhafaza ediniz. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Gerekli ise koruyucu malzeme kullandınız mı?		
3. Ellerinizi her çalışma öncesi ve sonrası yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
4. Kişisel hazırlıklarınızı yaptınız mı?		
5. Aseptik koşulları hazırladınız mı?		
6. Aseptik ortamda çalışıyor musunuz?		
7. Numuneyi hazırladınız mı?		
8. Kullanacağınız numunenin dilüsyon serileri hazır mı?		
9. Kullanacağınız besiyeri hazır ve steril mi?		
10. Kullanacağınız besiyerini uygun sıcaklığa getirdiniz mi? (45 °C)		
11. Standart petri kutusuna 12–15 ml PDA dökerek yüzeyin kurummasını sağladınız mı?		
12. 1 ml'lik bir pipetle 0.1 ml numuneyi dilüsyon tüpünden aldınız mı?		
13. 0.1 ml lik numunenin olduğu pipeti agarlı besiyerinin yüzeyine boşalttınız mı?		
14. Drigalski ispatulunu temiz ve yeterli konsantrasyonda alkol ile sterilize ettiniz mi?		
15. Drigalski ispatulunu alevden geçirilerek alkolü uzaklaştırdınız mı?		
16. Drigalski ispatulunu besiyeri üzerinde kültür aktarılmamış bir yerde gezdirilerek soğuttunuz mu?		
17. Drigalski ispatulu ile numuneyi agarlı besiyeri üzerinde homojen olarak yaydınız mı?		
18. Drigalski ispatulunu ve pipeti sterilize ettiniz mi?		
19. Petri kutusunun kapağını kapattınız mı?		
20. Petri kutusuna gerekli bilgileri yazdınız mı?		
21. İnkübatörü (etüvü) çalışmaya hazırladınız mı?		
22. İnkübatörü kullanım talimatına uygun çalıştırdınız mı?		
23. Petri kutusunu inkübasyona bıraktınız mı?		
24. İnkübatöre ekimi tamamlanmış besiyerlerini yerleştirip kapağını kapatınız mı?		
25. Petri kutularını en fazla 6 tanesi üst üste gelecek şekilde yerleştirdiniz mi?		
26. İnkübatörün çalışıp çalışmadığını kontrol ettiniz mi?		
27. Besiyerlerini belirtilen süre kadar inkübatörde tuttunuz mu?		

28. İnkübasyonu tamamlanmış besiyerlerinde üremeleri kontrol ettiniz mi?		
29. Üreme yoksa bir süre daha inkübe ettiniz mi?		
30. Size verilen petride oluşmuş farklı koloni tiplerini ayırt ettiniz mi?		
31. Seçtiğiniz koloniden öze ile bir miktar örnek aldınız mı?		
32. Aldığınız örneği petri kutusuna sürme tekniği ile ektiniz mi?		
33. Sürme ekim tekniğini doğru olarak uyguladınız mı?		
34. Petrinin üzerine gerekli bilgileri yazarak ters çevirip inkübatöre yerleştirdiniz mi?		
35. Önerilen sıcaklık ve sürede inkübe ettiniz mi?		
36. İnkübasyon sonrası oluşan kolonileri inceleyip tek kolonilerin gelişip gelişmediğine baktınız mı?		
37. Tek hücreden oluşmuş kolonileri seçtiniz mi?		
38. Eğer tek koloniler gelişmemişse, daha seyreltilmiş kültürlerden tekrar ekim yaparak diğer tüm işlemleri tekrarladınız mı?		
39. İzole koloniyi öze ile sıvı bir besiyerine aktardınız mı?		
40. Tüp üzerine gerekli bilgileri yazarak önerilen sıcaklık ve sürede inkübasyona bıraktınız mı?		
41. Elde edilen yeni kültürden uygun bir katı besiyerine tekrar ekim yaparak ve inkübasyonu gerçekleştirerek saf kültürü elde ettiniz mi?		
42. Saf kültür kontrolü için tüpteki yatık agarlı besiyerine tekrar ekim yaparak inkübasyonu gerçekleştirdiniz mi?		
43. Elde edilen kültürden tek koloni düşürme tekniklerinden birisini kullanarak ve petri kutusundaki agarlı besiyerine ekim yaparak inkübasyona bıraktınız mı?		
44. Seçtiğiniz tek koloni düşürme tekniğini doğru olarak uyguladınız mı?		
45. İnkübasyon sonrasında besiyeri yüzeyinde oluşan kolonileri şekil, yapı, büyüklük, renk vb özellikleri yönünden incelediniz mi?		
46. Kültürünüzde aynı özelliklere sahip koloniler gelişti mi?		
47. Tüpün ağzını, steril mineral yağı ya da parafilm ile kapladınız mı?		
48. Petri kutularının ve tüplerin alt ve üst kapakları parafilm (veya sellobant) ile birbirine tutturdunuz mu?		
49. Elde ettiğiniz saf kültürü buzdolabında muhafaza etmek üzere uygun şekilde yerleştirdiniz mi?		
50. Soğukta muhafaza için buzdolabı sıcaklığının 0-5°C' de olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
51. Dondurarak saklamak için derin dondurucuyu -20° C'ye ayarladınız mı?		
52. Sonucunuzu rapor ettiniz mi?		

53. İşinizin bittiği malzemeleri uygun şekilde kaldırdınız mı?		
54. İşiniz bittikten sonra kullandığınız besiyerlerini steril edip sonra imha ettiniz mi?		
55. Çalışma alanınızı temizleyip dezenfekte ettiniz mi?		
56. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
57. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		
58. Önlüğünüzü çıkarıp yerine astınız mı?		

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı öğretmeninizle birlikte inceleyerek, değerlendiriniz. Cevabınızın hepsi “Evet” ise modülü tamamladınız, tebrik ederiz. Cevabı “Hayır” olan işlemlerinizi var ise modülün bu işlemlerle ilgili bölümlerini bir kez daha gözden geçiriniz.

# CEVAP ANAHTARLARI

## ÖĞRENME FAALİYETİ- 1 CEVAP ANAHTARI

1.	C
2.	B
3.	A
4.	A
5.	C
6.	Vorteks tüp karıştırıcısı
7.	tüplük
8.	D
9.	D
10.	Y

## ÖĞRENME FAALİYETİ- 2 CEVAP ANAHTARI

1.	C
2.	A
3.	D
4.	inkübasyon
5.	24

## ÖĞRENME FAALİYETİ- 3 CEVAP ANAHTARI

1.	B
2.	C
3.	A
4.	D
5.	Saf Kültür
6.	Sürme Tekniği
7.	Bakteri ve Maya
8.	D
9.	Y
10.	D

# KAYNAKÇA

- ARDA Mustafa, **Temel Mikrobiyoloji**, Ankara, 2000.
- ÇOTUK Aysin, **Genel Mikrobiyoloji Laboratuar Yöntemleri**, Nobel Kitapevi 2003.
- HALKMAN A.Kadir, **Gıda Mikrobiyolojileri Uygulamaları**, Ankara, 2005.
- METGE, **Mikrobiyolojiye Giriş**, Ankara, 2000.
- METGE, **Pratik Mikrobiyoloji**, Ankara, 2000.
- TEKİNŞEN Cenap, Mustafa Atasever, **Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür**, Konya, 1994.
- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- YILDIZ Mustafa, Handan Yıldız, **Biyolojide Laboratuar Teknikleri ve Uygulamaları**, Afyon, 2003.
- [www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org)
- [www.kimyaevi.org](http://www.kimyaevi.org)
- [www.rlc.dcccd.edu](http://www.rlc.dcccd.edu)
- [www.faculty.clintoncc.suny.edu](http://www.faculty.clintoncc.suny.edu)
- [www.madsci.org](http://www.madsci.org)
- [www.fao.org](http://www.fao.org)
- [www.wine1.sb.fsu.edu](http://www.wine1.sb.fsu.edu)