

# Mic 12a-STAFİLOKOKLARIN İDENTİFİKASYONU:

written by Dr. Aydoğan Lermi

## STAFİLOKOKLARIN İDENTİFİKASYONU:

1. STAF KAT+
2. GRAM + KOK ( eski kültürlerde - boyanabilir),
3. Pigment identifikasyonda önemli değil en iyi 25 C de pigment yapar.
4. Katalaz + ise aureus - ise sapr / epid.
5. Glikozu fermentasyon - stafilokoklar fermentatif mikrokoklar oksidatif.
6. Koagülaz: aureus Koag + koagülaz tüpte yada lamda yapılabilir.
  1. Tüp koagülaz: tüpe 1 ml SF + 4 ml sitratlı tavşan plazması eklenir üzerine 1 öze S. Aureus eklenir 1 - 2 - 4 - 8 - 24 .saatlerde pıhtılaşmaya bakılır. Burada aureus ların salgıladıkları bağımsız koagülaz aranır, bu madde plazmadaki Coagulaz Reacting Factor ( CRF) ile ilişkili kurar ve fibrinojeni fibrine çevirir. Bunun için Ca+ gerekmez. S. Aureus, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Streptococcus fecalis te tüp koag + dir. Pseudomonas, cerratia ve strep CRF aktive ettikleri için değil sitratı metabolize ettiklerinden koagülaz + dirler. Citratlı tavşan plazması yerine EDTA lı tavşan plazması kullanılırsa koag negatif olur.
  1. Lam koagülaz: lama 2 bakteri süspansiyonu hazırlanır , birine sf diğerine 1 damla tavşan plazması damlatılır , karıştırılır koagülaza bakılır. Lam koagülaz bağlı koagülaza bakar ( clumping factor) bu salınmaz ve aktive olması için CFR gerekmez. Lam koag - ise tüp te de bakılmalı. Özellikle MRSA lar lam koag - olabilir, tüp bakılırsa + bulunur.
  1. Fibrinojen kaplı lateks parçaları ile de koag bakılabilir, bu yolla clumping faktör bakılır.
7. Termotabil nükleaz:
  1. S. Aureus ısıya dayanıklı nükleaz yapar (DNAz)
  1. S. Epidermidis ısıya dayanıksız nükleaz yapar.
    1. Bu ayırım için termonükleaz agar kullanılır buna DNAz agar denir ortamda termotabil nükleaz varsa (yani s. Aureus varsa ) oluşan oligonükleotidler toolidin mavisi ile pembeye döner + .
8. Lizostafin: stafilokoklar ve mikrokoklar lizostafin ve furazolidon direncine göre ayrılırlar.
9. Stafilokokların peptidoglikan tabakasındaki glisin bağları lizostafin ( lizozim) ile çözünür. Mikrokoklarda bu bağ yoktur. Lizostafin BY ortasına damlatılır hassas ise zon oluşur.
10. Slime test: patojen S. Epidermisler epitele yapışmak için glikokalix oluşturur, slime patojenitede önemlidir. Triptikoz soy buyyona ekim yapıp 1 gece bekletilir sonra BY dökülür tüp yüzeyinde tabaka oluşup oluşmadığına bakılır. İç yüzeyde yapışma varsa slime + denir.

11. Endotoksin: stafilokokal gıda zehirlenmelerinden sorumludur. Elisa ve ifa ile bakılabilir.

12. Stafilokokların antibiyotik duyarlılıkları ile ayrımı:

1. POLİMİKSİN DUYARLILIĞI >>>DİRENÇLİ İSE S. AUREUS

1. POLİMİKSİNE HASSAS İSE S. EPİDERMİDİS YADA SAPROFİTİKUS TUR DENİR.

1. NOVOBİOCİN HASSAS İSE>>>> S. EPİDERMİDİS

1. NOVOBİOCİN DİRENÇLİ İSE >>>S. SAPROFİTİKUS TUR.

13. Fibrinojen:

1. Plazma kaplı latex >>clumping faktör bakar >> + ise aureus

1. IgGkaplı latex >>prot A bakar>>+ ise aureus

STAFİLOKOK	POLİMİKSİN KAT KOAG NOVOBİOCİN NEOMİSİN BACİTRACİN			
		HASSAS	DİRENÇLİ	
S. AUREUS	DİRENÇLİ	+	+	
S. EPİDERMİDİS	HASSAS	+	-	HASSAS
S. SAPROFİTİKUS	HASSAS	+	-	DİRENÇLİ
STREPTOKOK		-		DİRENÇLİ
MİKROKOK		+		HASSAS

1. Stafilokokların faj tiplendirmesi : s. Aureus birguruh bakteriofaja karşı duyarlıdır. Faj tiplendirmesi hastane enfeksiyonlarında epidemiyolojik analizlerde kullanılır.

2. S. Aureus antibiyotik direnci: s. Aureus Beta laktamazlar nedeniyle %80 - 90 penisiline dirençlidir. Penisilin direnci plazmide bağlıdır. Ayrıca penisilinaza diençli penisilinlere ( metisilin ozasilin nafcilin) karşı direnç artmaktadır. Metisilin direnci kromozomaldır (PBP ler değişir).

---

## Mic 12-GRAM POZİTİF KOKLAR

written by Dr. Aydoğan Lermi

**GRAM POZİTİF KOKLAR**

	STAFİLOKOK	MİKROKOK	STREPTOKOK
KATALAZ	+	+	-
GLUKOZ	<b>FERMENTATİF</b>	<b>OXİDATİF</b>	<b>FERMENTATİF</b>
LİZOSTAFİN	<b>DİRENÇLİ</b>	<b>HASSAS</b>	
FUROZOLİDON	<b>HASSAS</b>	<b>DİRENÇLİ</b>	
MODİFİYE OXİDAZ		+	
BACİTRACİN	<b>DİRENÇLİ</b>	<b>HASSAS</b>	

Stafilokoklar ve streptokoklar glikozu fermente eder.

## STAFİLOKOKLAR

Gram pozitif salkım şeklinde hareketsiz, kapsülsüz, katalaz +,

	KATALAZ	KOAGÜLAZ	MANNİTOL	NOVOBİOCİN	POLİMİKSİN
S. AUREUS	+	+	+	<b>HASSAS</b>	<b>DİRENÇLİ</b>
S. EPİDERMİDİS	+	-	-	<b>HASSAS</b>	<b>HASSAS</b>
S. SAPROFİTİCUS	+	-	-	<b>DİRENÇLİ</b>	<b>HASSAS</b>

En tipik kanlı agarda ürer. S. Aureus beta hemoliz yapar, sarı pigmentli S tipi koloni yapar. S. Epidermidis ve S. Saprofiticus ise bazıları sarı turuncu pigment yapar, bazıları hemoliz yapar. Stafilokoklar glikozu fermente ederek parçalar ve laktik asit üretirler. Stafilokoklar deri florasında, barsak florasında bulunur. normal insanların % 10 - 40 ında burun florasında S. Aureus, % 80-90 ında staf epidermidis var. S. Saprofiticus un ürogenital mukozaya yapışma özelliği vardır. Daha çok ürogenital bölgede kolonize olur, nadiren üriner enfeksiyona yol açar.

## STAFİLOKOKLAR :

- deride
  - Fronkül,
  - Karbonkül,
  - Pararis,
  - Derialtı apse,
  - Hidradenit,
  - Blefarit,
  - Flegmon,
  - Büllöz sellülit,
  - İmpedigo yapar.
  - Stafilokokal enfeksiyonlar sırasınca epidermolitik toksine bağlı olarak citte yaygın makülopapüler döküntü, görülebilir özellikle stafilokokal skalded skin sendrom da ve stafilokokal toksik şok sendromunda sık görülür.

- Mukozada
  - Tonsillit,
  - farenjit,
  - peritonsiller apse
  - üriner enfeksiyon yaparlar.
  - Stafilokoklar Sepsis ve endokardit yapabilirler.
  - Organ tutulumu
    - Pnemoni,
    - Enterit,
    - Akciğer absesi,
    - Periostit,
    - Tromboflebit,
    - Otitis media,
    - Menenjit,
    - Sinüzit,
    - Otit,
    - Üriner sistem enfeksiyonu yapar.
  - Gıda enfeksiyonu
    - Stafilokokal gıda zehirlenmesi. Enterotoksin yapan stafilokus aureus A-F suşlarının neden olduğu gastroenterittir. Past asüt ve kremada kolay ürerler.

## Stafilokok kültürü

- Kanlı agar,
- Kalp infüzyon buyyon,
- Triptik soy buyyon da iyi ürer,
- Dışkıdan stafilokok identifikasyonu için mannitollü tuzlu ağara ekilir.
- Osteomyelit gibi kronik enfeksiyonlarda ve Antibiyotik kullanan hastalarda örnekte koklar olduğu halde kültürde üreme olmayabilir yada cüce koloniler oluşur. Besiyerine menadion - tiamin eklenirse normal koloni oluşur.
- Stafilokoklar kanlı besi yerinde yada mannitollü tuzlu agarda gayet iyi ürerler, 24/48 saatlik inkübasyondan sonra kolonileri görünür hale gelir. Koloniler genellikle yuvarlak, opak, kremsi veya sarı renkte görünebilir (özellikle S. aureus için).
- **Staphylococcus aureus**'u diğer koagülaz negatif stafilokoklardan ayırt etmek için koagülaz testi yapılır. S. aureus, koagülaz pozitifken, diğerleri genellikle koagülaz negatiftir.
- **Mannitol Tuzlu Agar:** S. aureus mannitölü fermente ederek agarın rengini sarıya çevirir. Diğer stafilokok türleri bu özelliği göstermez.
- **Katalaz Testi:** Stafilokoklar, hidrojen peroksidi oksidize ederek oksijen ve su üretirler. koloni lam üstüne alınıp %5 oksijen peroksit dökülürse köpürür KATALAZ + DENİR, BÜTÜN STAFİLOKOKLAR KATALAZ POZİTİFTİR.
- Ayrıca DNaz, lipaz ve ureaz testleri de yapılabilir.
- **Koagülaz Testi,** Staphylococcus aureus'u diğer Staphylococcus türlerinden ayırt etmek için

kullanılan bir laboratuvar testidir. Bu test, S. aureus'un koagülaz adı verilen bir enzim üretme yeteneğine dayanmaktadır. Koagülaz testi pozitif olan bakteriler genellikle hastalık yapma potansiyeline sahipken, koagülaz negatif olanlar genellikle daha az patojeniktir. BU AMAÇLA O+ insan kanı serumu kullanılabilir. lama 1 damla serum damlatılır üzerine öze ile koloni örneği alınarak karıştırılır kümeleşme agglutinasyon olursa KOAGÜLAZ POZİTİF DENİR ÖRNEK S. AUREUSTUR.

- **Katalaz + Koagülaz +** ise Staf aureus
- **Katalaz + Koagülaz -** ise Staf epidermidis veya Staf saprofiticus tur. novobiocin hassasiyetine bakılır: novobiocin dirençliyse S. saprofiticus, novobiocin hassas ise S. epidermidis tir.

Koagülaz negatif stafilokoklar ( S. Epidermidis ve S. Saprofiticus) imm. Sist. Düşük kişilerde enfeksiyon yaparlar. Koagülaz negatif stafilokokların hastalık nedeni olarak kabul edilebilmesi için :

1. İmmün sistemin baskılanmış olması,
2. Örneğe flora karışmadığından emin olunması,
3. Örnekte PNL görülmesi,
4. Steril şartlarda alınan BOS, Kan ve diğer sıvılarda koagülaz negatif stafilokokların üremiş olması gerekir.

**S. EPİDERMİDİS** immün sistemi baskılanmış kişilerde deri -ve yumuşak doku enfeksiyonu, pnemoni, menenjit, normal kapak endokarditi, penetran kafa yaralanmalarından sonra MSS enfeksiyonu, şant enfeksiyonu, protez enfeksiyonu, katater sepsisi, periton diyalizi sonrası peritonit yapabilir.

S. SAPROFİTİCUS: bayanlarda üriner enfeksiyon, yapabilir.

**STAF İDENTİFİKASYON KÜME ÜZÜM ŞEKLİNDE GRAM POZİTİF KOKLAR**

KATALAZ + KOAG +POZ >S. AUREUS

KATALAZ + KOAG - NEG > S. EPİD / S. SAPR NOVOBİOCİN 5 mg DİRENÇLİYE S. SAPROFİTİCUS / HASSAS İSE S. EPİDERMİDİS DİR.

---

## **Mic 3-GRAM NEGATİF ENTERİK BAKTERİLERİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

written by Dr. Aydoğan Lermi

1. Ayırıcı BY de şüpheli üreme OX - ise enterobacteriaceae olabilir.
  1. Hareket BY ek,

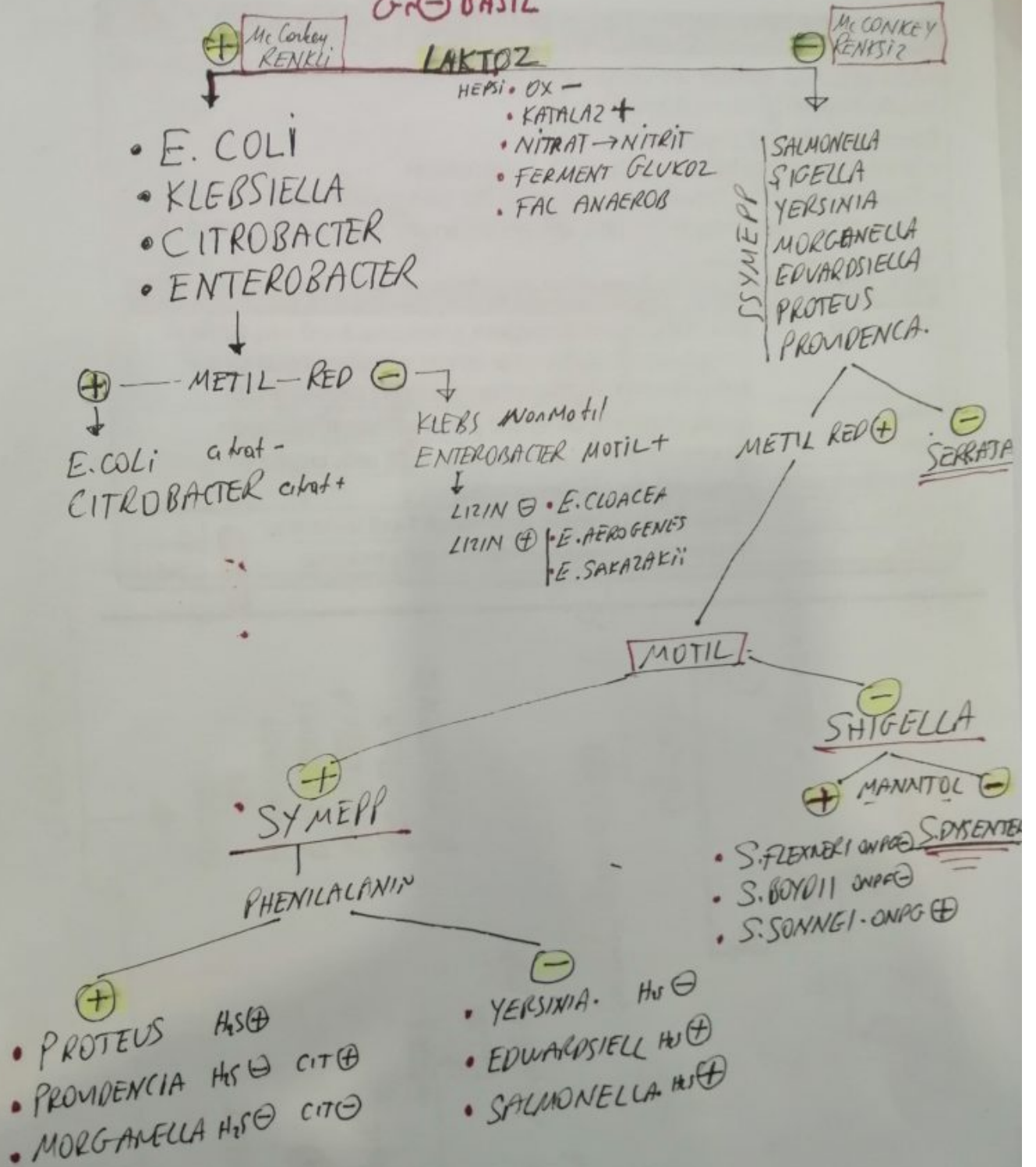
1. TSİ ek ( fenol kırmızısı pH ayracıdır, ferrik amonyum sülfat H2S ayracıdır)
1. LİA ek ( Lizin Arginin İron)
  1. Glikoz,
  1. Lizin,
  1. Kükürt,
  1. H2S ayracı ( ferrik amonyum sülfat),
  1. pH ayracı (Brom Krezol Blue)
    1. glikozu parçalarsa dip sarı olur,
    1. Lizin DEK varsa ( cadaverin) alkali reax bağlı dip mor olur,
    1. Lizin DEAMİNAZ varsa bu morluk sadece oksijen alan yerde yüzeyde olur,
    1. H2S yaparsa siyahlaşır.
1. İNDOL by: içinde triptofan var triptofan kullanan bakteriler bunu indol e çevirirler içine KOVAKS yada ERLİCH ayracı damlatılınca kırmızı olur İNDOL + denir.
1. CLARK LUBS by: bakteri clark lubs sıvı by ekilir.
  1. METİL RED TESTİ: Daha sonra burdan bir miktar alınır üzerine METİL KIRMIZISI damlatılır. Bakteri glikozdan asit yaptıysa metil kırmızısı damatılınca kırmızı kalır. MR+
  1. VOGES PROKAUSER TESTİ: Birmiktar by üzerine de alfa naftol ve KOH damlatılır. Glikozdan asetolin yaptıysa kırmızı olur. VP+ denir.
1. SİMMONS SİTRAT by bakterinin tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığına bakar. Kullanıyorsa ortam asitleşir. Bromtimol mavisi damlatılınca Prusya mavisi olur. Yada besiyeri mavileşir.
1. KRİSTENSEN ÜRE by: 24- 48 saat 35C bakteri üreyi parçalıyormu diye bakılır. Fenol kırmızısı ayracı kullanır üre parçalanırsa sarı BY kırmızı ya döner.
1. GRAM NEGATİF ENTERİK BAKTERİLERİN KARBONHİDRATLARA ETKİLERİ
  1. GLİKOZ a etkileri: enterobacteriaceae ailesinin tümü FLİKOZU FERMENTE eder. Fakat hepsi gaz yapmaz. Glukozdan gaz oluşumu TSİ de görülür yada DURHAM tüpü ile görülür. Glukoz fermentasyon buyyonuna ekim yapılp durham tüpü ters kapatılır gaz yaparsa tüpte birikir.
  1. LAKTOZ a etki: bakterinin laktoza etkisi McConkey, ENDO ve EMB besiyerlerine ekimle anlaşılır. LAKTOZ + bakteriler renkli LAKTOZ - bakteriler renksiz koloniler yaparlar.
  1. DİĞER KHLara etki için ( sukroz, arabinoz, myoinozitol, malonat, xiloz, ramnoz vb.) aramak için fermentasyon BY hazırlanır. PEPTON+ bu KH lardan biri + pH ayracı konur. Ortam asitlenirse renk değişir. Bu KH dan gaz yapıp yapmadığı da durham tüpü kapatılarak bakılır.
1. LAO ( LİZİN ARGİNİN ORNİTİN) by: bakteride Lizin Arginin Ornitin dekarboksilaz var mı diye bakılır. Bu AA katıldığı by + pH ayracı konur. Ekildikten sonra üzeri mineral yağ ile kapatılarak java ile teması kesilir. GL fermente eden bakteri asit oluşturur, eğer asit ortamda bakteri bu AA leri DEK ediyorsa ortam alkaliye döner. Bu işlemi görmek için MOLLER DEKARBOKSİLİZ BAZ BESİYERİ kullanılır. By ne bu AA den biri eklenir, ekim yapılır, sarı renk oluşursa (gl ferm sonucu asit) her gün renk kontrolü yapılırbakteride DEK az varsa sarı renk kırmızı - mor renge döner.
1. DNAz: bakteride DNAz varsa ortamdaki DNA yı parçalar ve oligonükleotidler oluşur. DNA lı plak BY e çizgi ekim yapılır, DNAz varsa çizgi şeklinde presipitasyon bandı oluşur. İndikatör olarak toludin mavisi kullanılırsa DNAz + bakterilerin etrafında parlak pembe bir hat oluşur.
1. FENİL ALANİN DEAMİNAZ testi fenilalanini deamine ediyorsa ürer ve keto fenil prüvik asit oluşur, ferro klorik asit ile yeşil renk verir. PROTEUS PROVIDENCİA VE MORGANELLA da var. Diğer enterobakterlerde yok. PPM +
1. KCN testi: potasyum siyanür testi. Potasyum siyanür KCN bir sitokrom oksidaz

inhibitörüdür ve anaerobik solunumu önler. Enterobacteriaceae ler fakültatif anaerob olduklarından KCN den etkilenmezler. KCN de üreme enterobacteriaceae leri non fermentatif ( aerob) bakterilerden ayırmada kullanılır. ( bazı nair aeroblar flavoprotein kullandıklarından KCN den etkilenmezler.

1. ONPG testi (ORTO NİTRO PARA BETA D GALAKTOZİDAZ) : laktoz bakteri içine permeaz ile girer bakteriler laktozu beta galaktozidaz la parçalarlar:

# ENTEROBACTERIALEAE

G<sup>-</sup> BASIL



laktoz — permeaz — laktoz —> beta galaktozidaz —> glikoz + galaktoz. Her iki enzimde indüklenebilir. Bu iki enzimi (permeaz ve beta galaktozidaz) taşımayan bakteriler LAKTOZ NEGATİF tir. Zamanla oluşan mutantlar laktoz + olabilirler (geç laktoz pozitif bakteriler). ONPG bu tür geç laktoz pozitif olan beta galaktozidaz + bakterilerin ayrımında kullanılır. Laktoz içeren bir BY de



üreyen koloni alınır, süspansiyon yapılır, içine tolüen atılır, bu Beta galaktozidazı ortaya çıkarır, üstüne ONPG damlatılıretüve konur, 1. 8. Ve 18. Saatlerde bakılır sararırsa ONPG .... Saatte + dir denir. ONPG hücre içine girmek için permeaz gerektirmez.

ONPG->betagalaktozidaz->galaktoz+ orto nitro fenol e ayrılır ortonitrofenol sarı rengi verir.

1. NİTRATLARIN NİTRİTLERE ÇEVİRİLMESİ: bütün enterobacteriaceaeeler nitratları nitritlere çevirirler( erwinia hariç).
  1. PYER testi: PROLİDON NAFTİLAMİD hidrolizi esas alınarak ENTEROBACTERİACEAE VE STREPTOKOKLARIN ayrımında kullanılır. KOLİ, HAFNİA, PROTEUS, SS, AEROMONAS, VİBRİO PYR- DİR, CİTROBACTER, EİKENELLA, KLESİELLA, YERSİNİA PYR + DİR.

---

## Mic 2-ENTEROBACTERİACEAE İDENTİFİKASYONU

written by Dr. Aydoğan Lermi

- I. 1 Adet kanlı agar ( zengin BY ayırıcı değil) + 1 adet AYIRICI BY ( MC conkey, EMB , ENDO) ekim yapılır
  1. SS söz konusu ise ÇOĞALTICI BY ( SELENİT F, TETRATİONATLI ) ekilir, burdan SEÇİCİ BY aktarılır ( SS, XLD AGAR; HEKTOEN, BİZMUT SÜLFAT)
- II. Koloniler incelenir. ENDO, McConkey, EMB besiyerleri laktoz + ile - bakterileri ayırır. Laktoz + olan koli, klebsiella, enterobakter gibi bakteriler renkli koloni yapar. Laktoz negatif SS, Proteus, Morganella, Providencia, Serratia renksiz koloni yapar. SSSPPM -
  1. SALMONELLA III ( S. Arizona laktoz + dir. Bazı E. Koli ler ise geç laktoz + yada laktoz - olabilirler.
  1. Selenit F ve Tetrasyonat sıvı BY çoğaltıcıdır.
  1. SS: salmonella ve Şigella renksiz bazen ortası siyah koloni yapar. Laktoz + bakteriler SS besiyerinde baskılanırlar, ürerlerse de pembe mat koloniler yaparlar.
  1. XLD besiyerinde
    1. LAKTOZ + bakteriler SARI
    1. SALMONELLA : PEMBE,
    1. ŞİGELLA : RENKSİZ koloni yapar.
  1. HEKTOEN besiyerinde
    1. LAKTOZ + LER SARI,
    1. SS: MAVİ YEŞİL koloni yapar:

- III. Kolonilere OXİDAZ testi yapılır. Enterobacteriaceae ailesi OX - dir. Oksidaz testi ayırıcı BY den yapılmaz( Mc Conkey, ENDO, EMB). Oksidaz testinin ayırıcı tetra metil fenilindi metil fenilin dir ve sitokrom oksidaz varmı diye bakar. Enterobacteriaceae lerde yoktur.
- IV. Kùltürden saf koloni elde edilip biyokimyasal özelliklerine bakılır.