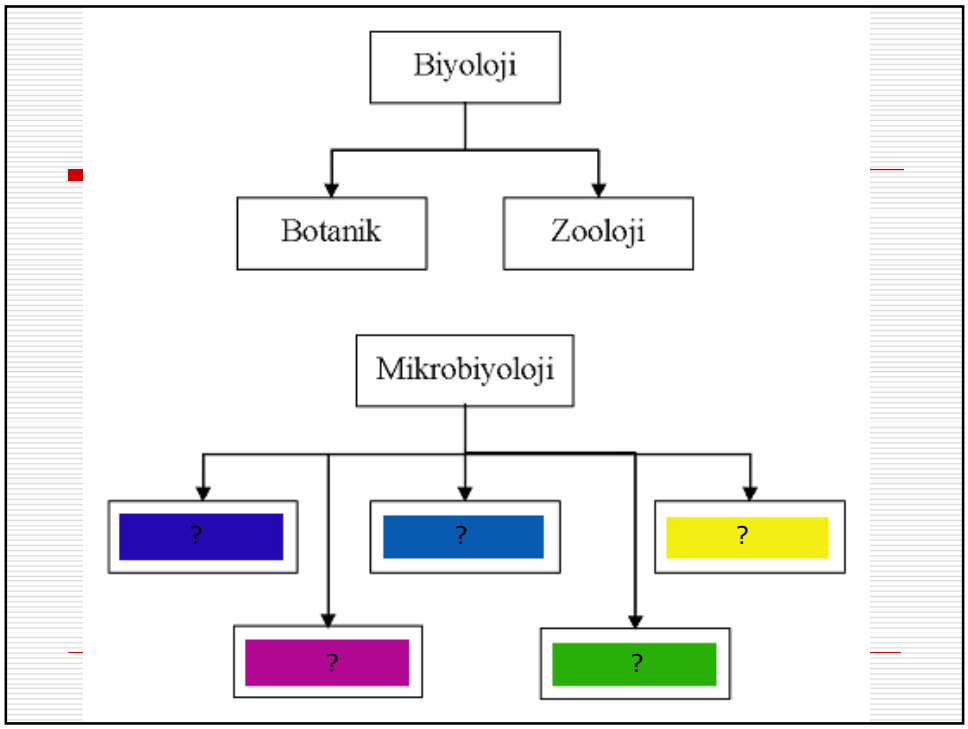
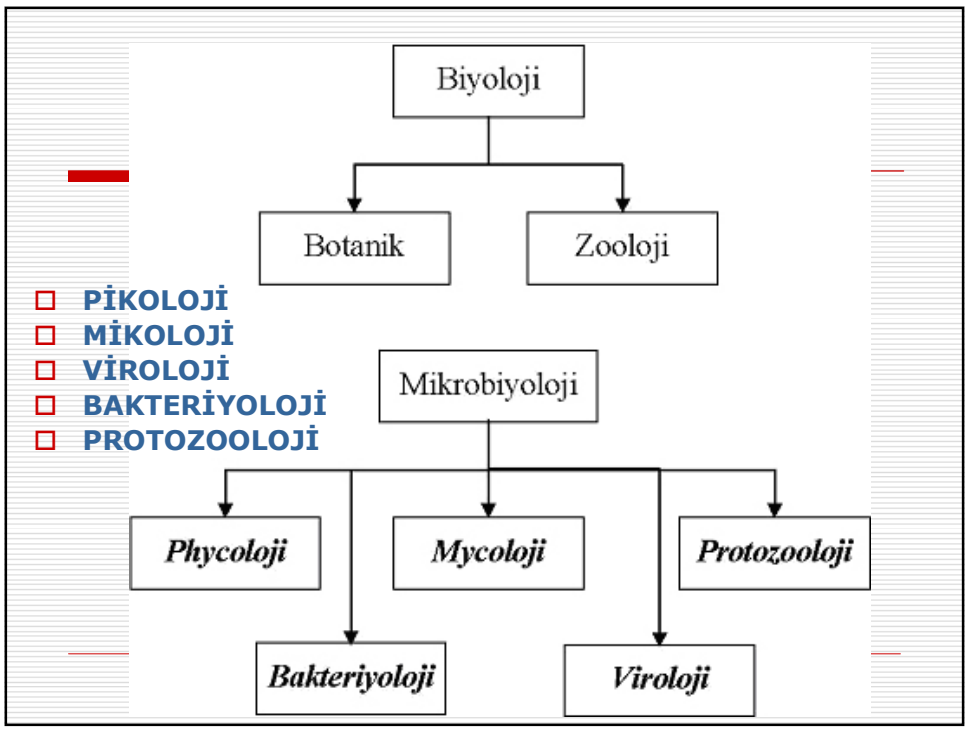




- PİKOLOJİ
- MİKOLOJİ
- VİROLOJİ
- BAKTERİYOLOJİ
- PROTOZOOLOJİ

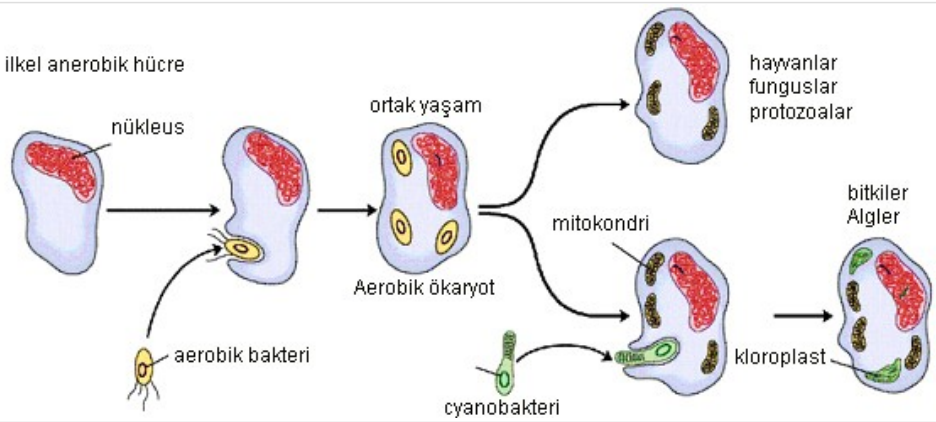
- **1- AŞAĞIDAKİLERDEN HANĞİSİ BİR HASTALIĞIN GÖZETİMİ VE TOPLUMDA YAYILIŞINI KONTROL EDER?**
  a. İMMUNOLOJİ
  b. EPİDEMİOLOJİ
  c. SÜT MİKROBİYOLOJİSİ
  d. BİYOTEKNOLOJİ
  e. ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİ

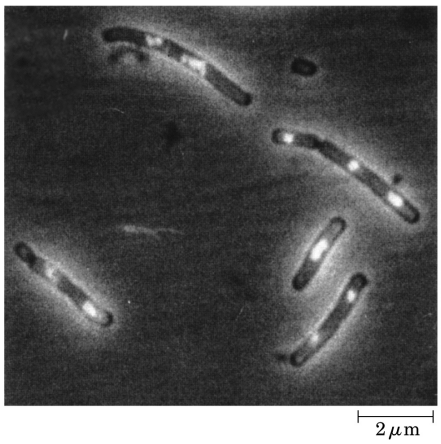
- **2- ELİNİZDEKİ BİR OBJENİN 100 m VE 10 nm BÜYÜKLÜKTE FORMLARI OLAN BİR ORGANİZMA OLARAK DÜŞÜNÜRSENİZ AŞAĞIDAKİ TEKNİKLERDEN HANGİSİNİ KULLANIRSINIZ?**

- a. SADECE GÖZLE İNCELERİM
  b. SADECE IŞIK MİKROSKOBU İLE İLE İNCELERİM
  c. IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELERİM
  d. SADECE ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELERİM
  e. GÖZLE VE IŞIK MİKROSKOBU İLE İNCELERİM

- **3-MİKROSKOPTA ÇÖZÜNÜRLÜK GÜCÜ:**
  a. OBJEYİ BÜYÜTEBİLME
  b. OBJENİN DETEAYLARINI GÖSTEREBİLME
  c. IŞIGIN KIRILMADAN OBJEKTİFLERDEN GEÇMESİ
  d. SADECE TEK BİR OKÜLERLİ OLMASI
  e. İKİ OKÜLERLİ OLMASI

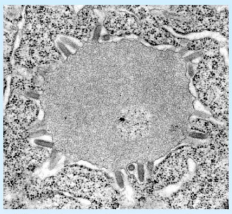
Endosimbiont teori



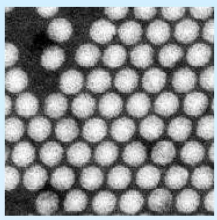


- Şekildeki görüntü hangi tip mikroskoptan alınmış olabilir?
  - a-Işık alan
  - b-Floresan
  - c-Elektron
  - d-Faz-kontras
  - e-Karanlık alan

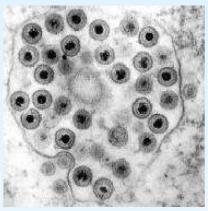
Electron Microscopy



Rabies virus and
Negri body



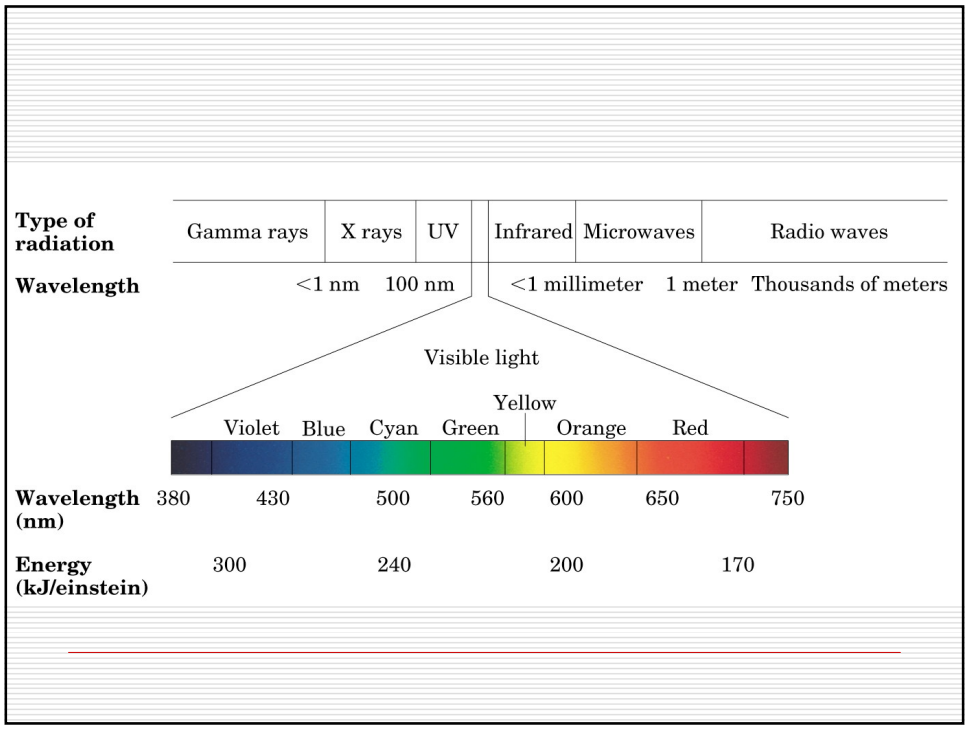
Polio virus

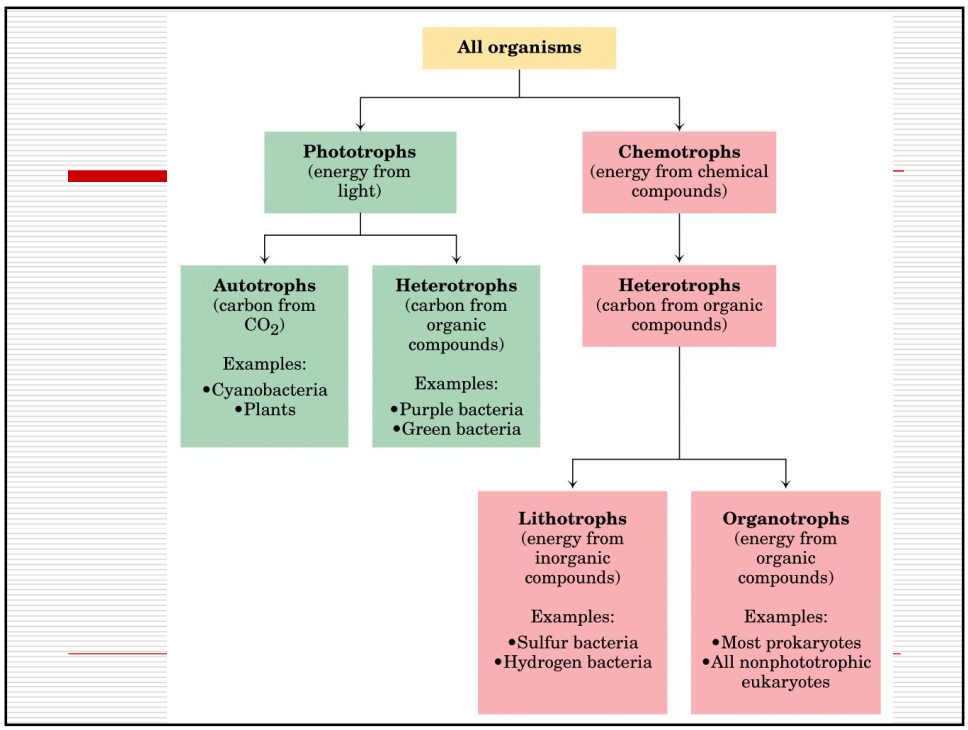


Herpes Simplex virus



Ebola virus


Type of radiation
Gamma rays
X rays
UV
Infrared
Microwaves
Radio waves
Wavelength
<1 nm
100 nm
<1 millimeter
1 meter
Thousands of meters
Visible light
Violet
Blue
Cyan
Green
Yellow
Orange
Red
Wavelength (nm)
380
430
500
560
600
650
750
Energy (kJ/einstein)
300
240
200
170


All organisms
Phototrophs (energy from light)
Chemotrophs (energy from chemical compounds)
Autotrophs (carbon from CO_2)
Examples:
•Cyanobacteria
•Plants
Heterotrophs (carbon from organic compounds)
Examples:
•Purple bacteria
•Green bacteria
Heterotrophs (carbon from organic compounds)
Lithotrophs (energy from inorganic compounds)
Examples:
•Sulfur bacteria
•Hydrogen bacteria
Organotrophs (energy from organic compounds)
Examples:
•Most prokaryotes
•All nonphototrophic eukaryotes



- YAŞAYAN VARLIKLARI ORGANİZE EDEN SINIFLANDIRAN VE İSİMLENDİREN SAHA:
  a. NOMENCLATURE
  b. TAXONOMY
  c. TAXA
  d. TANIMLAMA (IDENTIFICATION)
  e. SINIFLANDIRMA (CLASSIFICATION)

- IŞIK MİKROSKOBU İÇİN AŞAĞIDAKILERDEN HANĞİSİ YANLIŞTIR.
  a. OBJELER 1000X- 2000X ORANINDA BÜYÜTÜLEBİLİR
  b. ÇÖZÜNÜRLÜK KIRMIZI IŞIKTA MAVİ IŞIKTAN DAHA İYİDİR
  c. OBJELER GERÇEKTEN BİRAZ DAHA KARANLIK GÖRÜLÜR
  d. ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ EN FAZLA 230 NM'DİR
  e. ÇOĞU VİRÜSLER İÇİN UYGUN DEĞİLDİR

- AŞAĞIDAKİ MİKROSKOPLARDAN HANGİSİ UV IŞIK KULLANIR
  - a. IŞIK ALAN MİKROSKOBU
  - b. FAZ-KONTRAS MİKROSKOBU
  - c. KARANLIK ALAN MİKROSKOBU
  - d. FLORESAN (FLUORESCENT) MİKROSKOBU
  - e. İLKEL MİKROSKOP

- (DOGRU/YANLIŞ) SORUSU
- 0.3 MİKROMETRE ÇÖZÜNÜRLÜK GÜCÜ OLAN BİR IŞIK MİKROSKOBU İLE OBJE ÜZERİNDE 200 NM GÖRÜNÜR.

- Aşağıdakilerden hangi microorganizima (lar) zature'ye (pneumoniae) neden olabilir?
  - a) *Staphylococcus aureus* (bakteri)
  - b) *Streptococcus pneumoniae* (bakteri)
  - c) *Mycoplasma pneumoniae* (fungus)
  - d) Respiratory syncytial virus (RSV) (virus)
  - e) *Mycobacterium avium (bakteri)*
  - f) adenoviruses (virus)
  - g) *Chlamydia pneumoniae (bakteri)*
  - f) hepsi
  - h) hiçbiri

- 0.6 M Tris (MW: 121.1), 60 mM SDS (MW: 257), %1 süt tozu, 1.3 M NaCl (58.5). 500 mL çözelti için ne kadar, TRIS, SDS, NaCI ve süt tozu'na ihtiyaç duyarsınız?

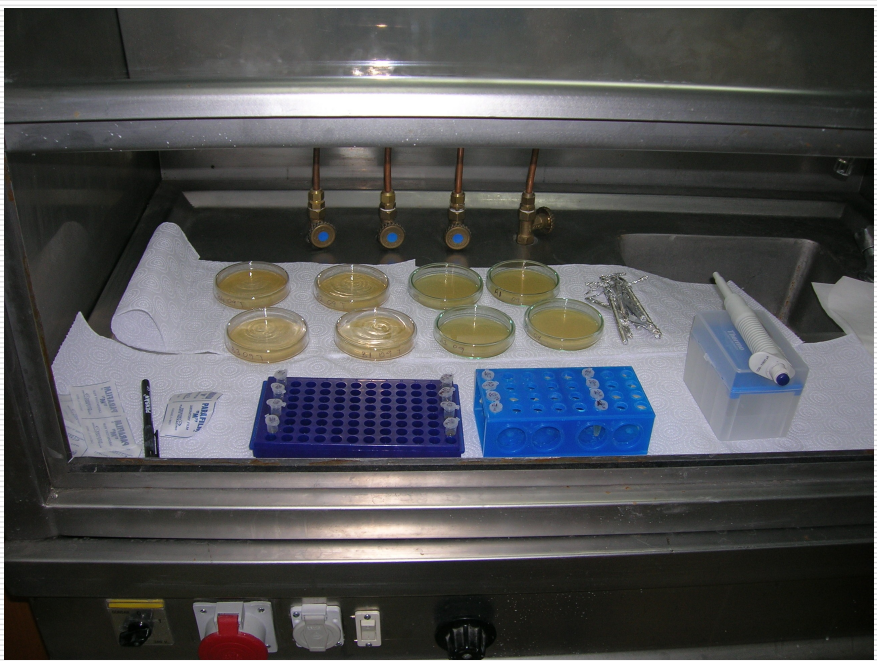
- Yanıt:
  - M: mole/L veya [g/MW. L] formülünü kullanarak sırasıyla
    400 mL steril suda
  - 36.3 g Tris
    7.71 g SDS
    5 g süt tozu
    38.03 g NaCl
    çözer ve çözeltinin hacmini 500 mL tamamlanır.

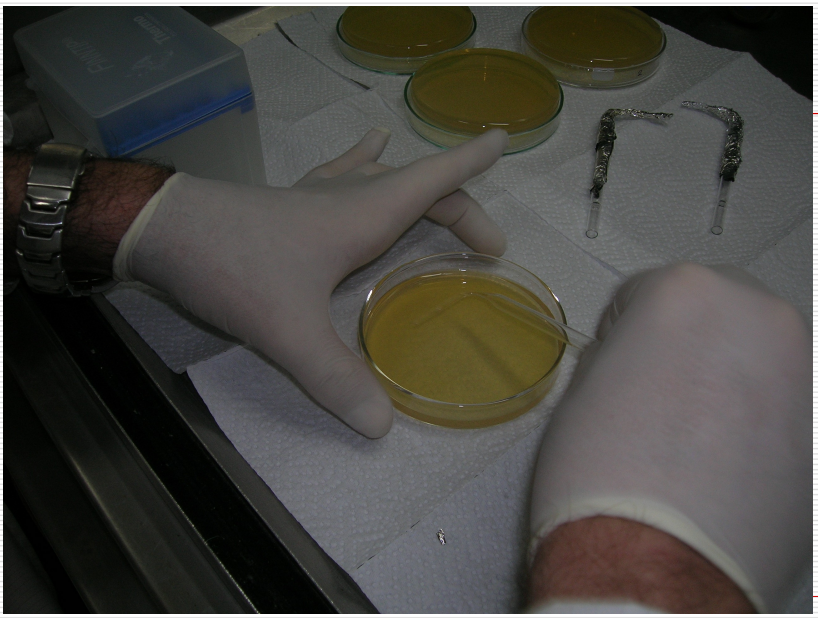
- **Elinizde 150X konsantrasyonda bir tampon çözelti var. Ancak arkadaşınız sizde 2.5 mL 1X konsantrasyonda bu tampondan istiyor nasıl hazırlarsınız? İpucu:1X demek örneğin 1M ise 2X 2 M, kısaca katlama anlamındadır.**

- **Yanıt:**
- **16.6 mikro litre 150X çözeltisini 2.484 ml steril su ekleyerek 2.5 mL halinde çevirirsiniz.**

- **C1 x V1 = C2 x V2,**
- **150X. x = 1X. 2.5**
- **150Xx=2.5X, x=0.016 ml = 16.6 mikro litre**
- **2.500-16.6= 2483 ml su**

ASPETİK TEKNİKLER







Aseptik Teknigin Uygulanması

- Çeker ocak veya Steril Kabin'in Hazırlanması
  - Yüzey Dezenfektanların Kullanımı
  - Gerekli olan bütün malzemelerin steril olarak hazır konumda bulundurulması
  - Özenin alevde 1 dakika tutularak sterilizasyonu
  - Özenin bekletilerik soğutulması
  - Eğer Broth kültürü ise: Tüpün kapağının açılması ve tüpün ağız kısmının alevle sterilizasyonu
  - Öze yardımıyla bir adet koloni alınır
  - Sonra alınan öze-dolu koloni:
    - Sıvı ortama daldırılarak ve parmaklare arasında döndürerek sıvı ortama bırakılır
    - Agar plakasına ekilecek ise öze Petri kabının orta yerinden başlayarak sürülmesi ve sonra L baget kullanarak agar yüzeyine yayılır

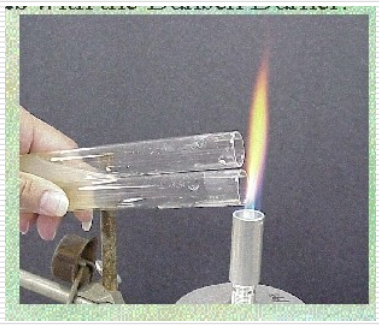
- Özenin bir kalem gibi tutularak bek alevinde sterilizasyonu.
- Koloni alımı







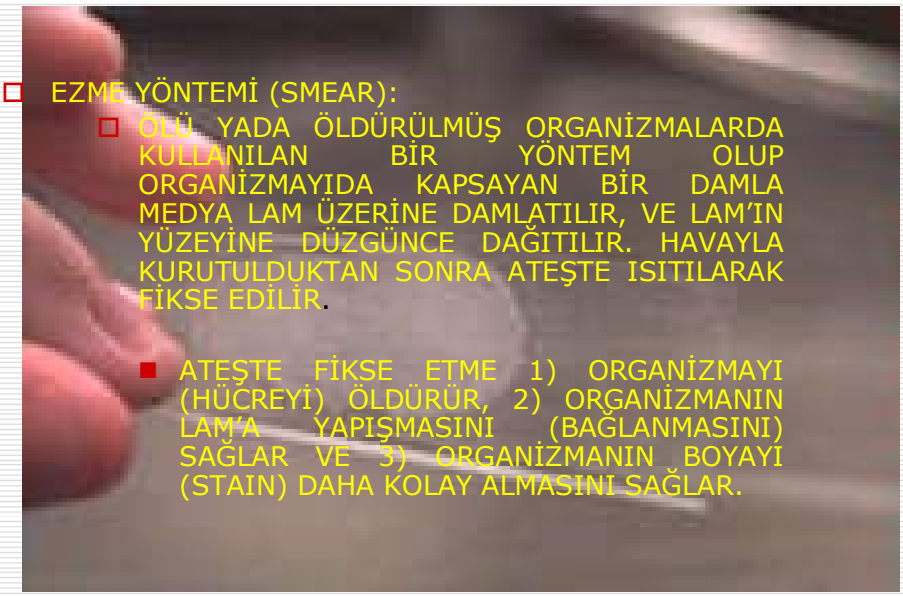




OBJELERİN (ÖRNEĞİN MİKROORGANİZMALARIN) IŞIK MİKROSKOBU İÇİN HAZIRLANMASI

- ISLAK MONTE (WET MOUNT):
  - BU TEKNİK DAHA ÇOK CANLI ORGANİZMALAR İÇİNDİR. ORGANİZMAYIDA KAPSAYAN BİR DAMLA MEDYA LAMIN ÜZERİNE KONUR. %2 LIK CARBOXYMETHYL CELLULOSE EKLENEREK ÇOK HAREKETLİ MİKROORGANİZMALARIN LAM ÜZERİNDE KAYMASI ENGELLENEBİLİR.
    - *Aerotaksi*
    - Fototaksi
    - Kemotaksi
    - Magnetotaksi

- ASILI DAMLA (HANGING DROP):
  - ORGANİZMAYIDA KAPSAYAN BİR DAMLA MEDYA LAMEL ÜZERİNE BIRAKILIR DAHA SONRA LAMEL DİŞLİ LAMIN ÜZERİNE TERS ÇEVRİLEREK MONTA EDİLİR. KARANIK SAHA MİKROSKOBUNDA BU YÖNTEM DAHA ÇOK KULLANILIR.



- EZME YÖNTEMİ (SMEAR):
  - ÖLÜ YADA ÖLDÜRÜLMÜŞ ORGANİZMALARDA KULLANILAN BİR YÖNTEM OLUP ORGANİZMAYIDA KAPSAYAN BİR DAMLA MEDYA LAM ÜZERİNE DAMLATILIR, VE LAM'IN YÜZEYİNE DÜZGÜNCE DAĞITILIR. HAVAYLA KURUTULDUKTAN SONRA ATEŞTE ISITILARAK FİKSE EDİLİR.
    - ATEŞTE FİKSE ETME 1) ORGANİZMAYI (HÜCREYİ) ÖLDÜRÜR, 2) ORGANİZMANIN LAM'A YAPIŞMASINI (BAĞLANMASINI) SAĞLAR VE 3) ORGANİZMANIN BOYAYI (STAIN) DAHA KOLAY ALMASINI SAĞLAR.

OBJELERİN IŞIK MİKROSKOBU İÇİN BOYANMASI (STAINING)

- MİKROORGANİZMALAR OLDUKÇA KÜÇÜK OLDUKLARINDAN DOLAYI MİKROSKOP ALTINDA İNCELENMELERİ ZORDUR. İYİ BİR BİÇİM, BÜYÜKLÜK, İÇ VE DIŞ YAPILARININ GÖRÜNTÜLENEBİLMELERİ İÇİN BOYANMALARI İŞLEMİ BOYAMA OLARAK İSİMLENDİRİLİR.
- KARMEN VE HEMATOKSİLİN GİBİ DOĞAL BOYALAR HİSTOLOJİDE KULLANILMIŞ OLAN İLK BOYAR MADDELERDİR
- 1875 DE WEIGERT İLK DEFA METİL VİYOLEYİ BAKTERİLERDE KULLANMIŞTIR.
- KROMOJEN, BİYOLOJİK BOYA, STAIN: MOLEKÜLLERİ HÜCRENİN YAPISINA BAĞLANARAK KENDİ RENKLERİNİ VERİRLER.

- BOYAMANIN AVANTAJLARI
  - BOYAR VE GÖRÜNÜMÜNÜ KOLAYLAŞTIRIR
  - HÜCRE KISIMLARINI FARKLILAŞTIRIR
  - MİKROORGANİZMALARIN SINIFLANDIRILMASINDA KULLANILIR
- BOYAMANIN DEZAVANTAJLARİ
  - YAPISAL DEĞİŞİKLİK
  - CANLILIK
  - FLORESAN BOYALAR PAHALIDIR

- BAZİK (KATYONİK): BOYALAR
  - METHYLENE BLUE, CRYSTAL VIOLET, SAFRANIN, MALACHITE GREEN: POZİTİF YÜKLÜ BOYALAR OLDUGUNDAN NEGATİF YÜKLÜ HÜCRE KISIMLARINI KOLAYCA BOYAR.
- ASITİK (ANYONİK) BOYALAR:
  - EOSIN, PECRIC ACID, NIGROSIN, CANGO RED GİBİ BOYALAR OLUP NEGATİF YÜKLÜDÜR. BU BOYALAR OBJENİN ARKA PLANINI BOYADIGI İÇİN HÜCRE BOYANMAZ. HÜCRE YAPISI ETKİLENMEDİĞİNDEM BAZI ÇALIŞMALARA TERCİH EDİLİR

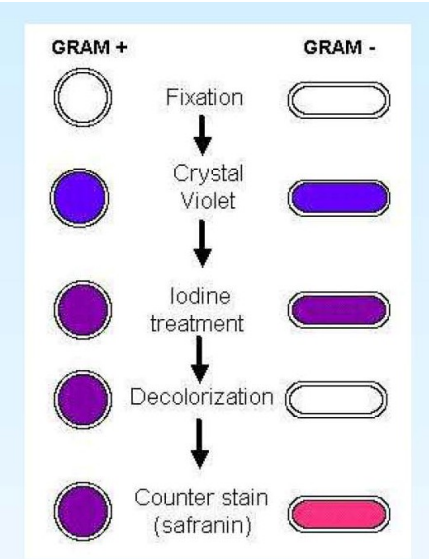
- BOYAMA BASİT VEYA DİFERENSİYEL BOYAMA ŞEKLİNDE OLABİLİR
  - BASİT BOYAMADA TEK BİR ÇEŞİT BOYA KULLANILIR. SADECE HÜCRENİN ŞEKLİNİ VE DÜZENİ HAKKINDA BİLGİ VERİR
    - METYLENE BLUE, SAFARNIN, CARBOLFUCHSİN VE GENTİIAN VIOLET

- Crystal violet ve methylene blue en çok kullanılan boyar maddelerdir.
- Aseptik teknikler yardımıyla sıvı veya katı medyadan alınan kültür mikroskop lamı üzerine iyi bir şekilde yayılır
- Bir veya bir kaç damla boyar madde ekle.
- Boyar maddenin lam üzerindeki ince tabaka olarak hazırlanan kültürü iyi kaplamasını sağla.
- Boyar maddenin lam üzerinde en az 1 dakika kalmasını sağla
- Lamı su ile dikkatlice sıkmalı plastik şişedeki steril su ile durula.
- Hücre morfoloji için anahtarları inceleyerek karar verilir.

Micrococcus luteus-methylene blue boyaması



- DİFFERENSİYEL BOYAMA:
  - HÜCRELERİ VEYA HÜCRE KISIMLARINI BİRBİRİNDEN AYIRMAK İÇİN EN AZ İKİ VEYA DAHA FAZLA SAYIDA STAIN KULLANILIR
    - GRAM BOYAMA, SCHAEFFER-FULTO SPOR VE ZİEHL-NEELSEN ACID-FAST BOYALARI



GRAM BOYAMA

- CHRISTIAN GRAM 1884 YILINDA ÖNEMLİ BİR YÖNTEM OLAN VE HALENDE KULLAILMAKTA OLAN GRAM BOYAMA METODUNU GELİŞTİRDİ. BU METOTTA ÖLÜ HÜCRELER HAVA VE ATEŞTE FİKSLEME VE BOYAMAYA GÖRE HÜCRE DUVARLARINDA FAZLA PEPTIDOGLYCAN (+) VE AZ OLAN (-) BAKTERİLERİ AYIRIMDA KULLANILMAKTADIR.

Gram Boyama Tekniği

- 1- Primeri Boyar: Crystal Violet
- 2-Mordan: Iodine
- 3-Renk Uzaklaştırıcı: Decolorizer (ethanol)
- 4: Karşı Boyar: Safranin
- Yıkama-Durulama:Su (Fışkırtmalı yada Sıkmalı Şişede (squirt bottle))



Gram Boyama Tekniği

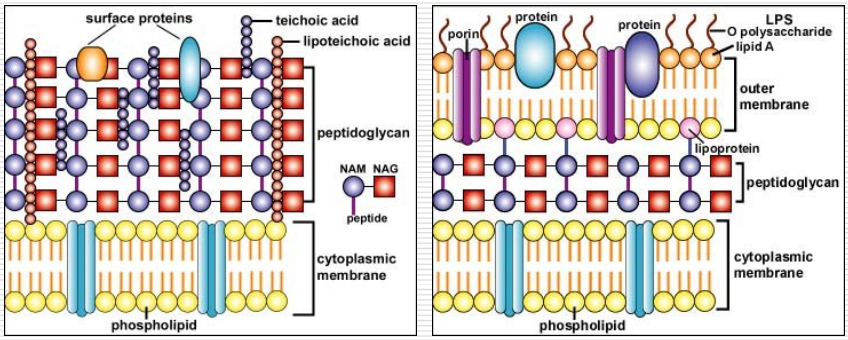
- Aseptik teknikler kullanarak sıvı yada katı medyadan alınan örnek mikroskop lamı üzerine alınarak dikkatlice lam üzerine yayılır.
- Bir veya iki damla crystal violet boyar maddesinden lamın üzerine ekle ve 1 dakika bekle
- Sıkmalı su şişesini kullanarak lamı durula ve kurula
- Bir veya birkaç dama iodine lam üzerine ekle ve 1 dakika bekle
- Uygun miktarda alkolle lamı durula 10 saniye
- Bir kaç damla saffranin lam üzerine eklenir ve 1 dakika beklenir
- Sıkmalı su şişesini kullanark lamı durula ve kurula
- Lamın kurumasını bekle ve mikroskop altında incele

Genel Hatalar

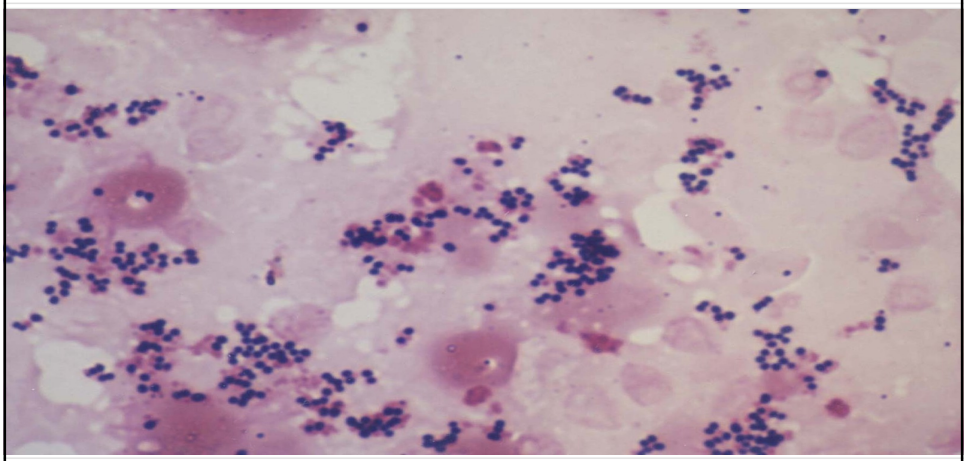
- Renkalma (Decolorizer)
- Fiksasyon (Fixing)
- Zamanlama (Timing)
- Dağıtım (Smear)

- *GRAM POZİTİF BAKTERİLERE ÖRNEK*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Streptococcus salivarius*
  - *Bacillus subtilis*
  - *Staphylococcus epidermidis*
- *GRAM NEGATİF BAKTERİLERE ÖRNEK*
  - *E. coli*
  - *Pseudomonas aeruginosa*
  - *Proteus vulgaris*
  - *Enterobacter aerogenes*

G+ VE G- BAKTERİ HÜCRE YAPISI (HÜCRE DUVARI)



NAG:N-ASETİLGLUKOZAMİN, N-ASETİLMURAMİK ASİT



MİKROORGANİZMALARIN SAYIMI

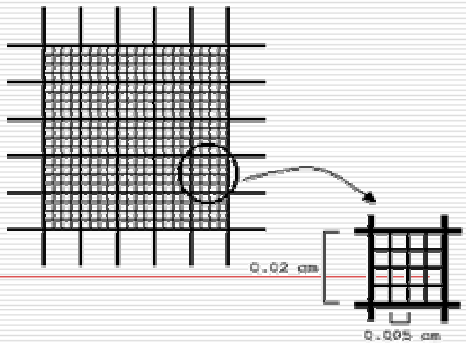
- MİKROORGANİZMALAR DOĞADA SAF OLARAK (TEK BAŞINA) BULUNMAZLAR. ANCAK DEĞİŞİK MİKROORGANİZMA BİR ARADA BULUNUR. ÖRNEĞİN TOPRAKTA TOPRAK BAKTERİLERİ BİR ARADA KARIŞIK OLARAK BULUNUR.
- BAZI DURUMLARDA MİKROORGANİZMALARIN SAYILARININ BİLİNMESİ ÖNEMLİLİK ARZE DEBİLİR.
- SAYIM İÇİN YETERLİ VE KALİTELİ, ALINDIĞI KAYNAĞI TEMSİL EDECEK ŞEKİLDE ÖRNEK ALINMALIDIR.
  - 1-DOĞRUDAN SAYIM
  - 2-DOLAYLI SAYIM

  - DOĞRUDAN SAYIM YÖNTEMLERİ
    - MİKROSKOPTA SAYIM, STANDART PLAKA SAYIMI, FİLTRASYON VE EN ÇOK OLASI SAYI ÖLÇÜMLERİ, FLOW CYTOMETRY
  - DOLAYLI SAYIM YÖNTEMİ
    - METABOLİK AKTİVİTE, KURU AĞIRLIK, TÜRBİTİDY (SPEKTROFOTOMETRİK)

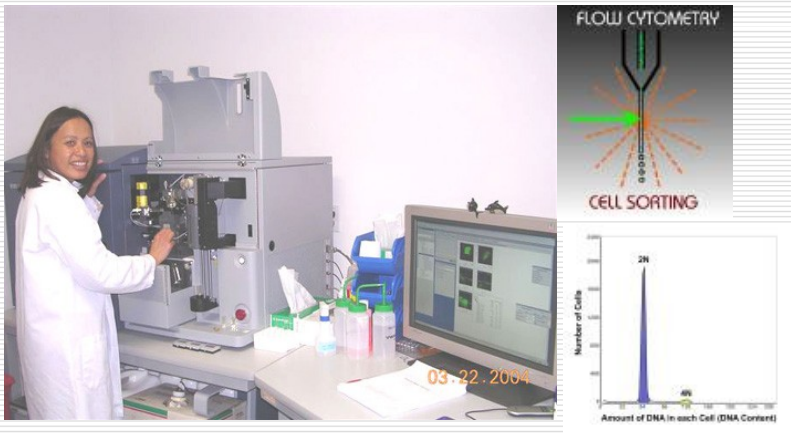
- CANLI HÜCRE SAYIMI: ÖLÜ HÜCRELERİ İÇERMEZ. STANDART PLAKA SAYIMI, FİLTRASYON VE EN ÇOK OLASI SAYI ÖLÇÜMLERİ CANLI SAYI TEKNİĞİNE GİRMEKTEDİR. BUNLARIN YANI SIRA DOLAYLI ÖLÇÜM TEKNİKLERİNDEN METABOLİK AKTİVİTENİN ÖLÇÜMÜDE CANLI HÜCRELERE YÖNELİKTİR.

- DİĞER YÖNTEMLER ÖLÜ VE CANLI HÜCRELERİ SAYAR.

- MİKROSKOP YARDIMIYLA SAYIMDA BELİRLİ BİR HACİMDE BAKTERİ ALINIR VE ÖZEL BİR LAM (ÖRNEĞİN PETROFF-HAUSER BAKTERİ SAYARI (HEMOSİTOMETRE: HEMACYTOMETER)) ÜZERİNE YERLEŞTİRİLİR VE HÜCRELER MİKROSKOP ALTINDA SAYILIR.



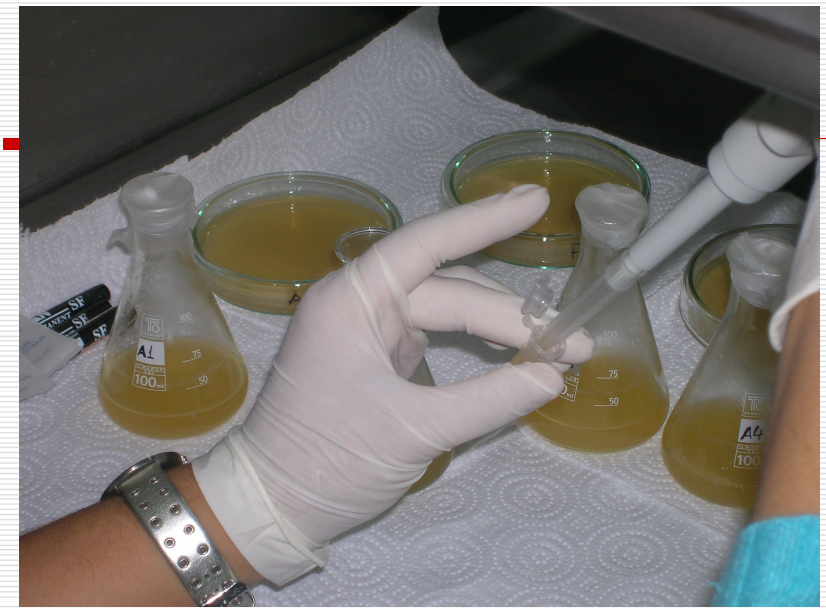
AKIŞ SİTOMETRESİ (FLOW CYTOMETRY)

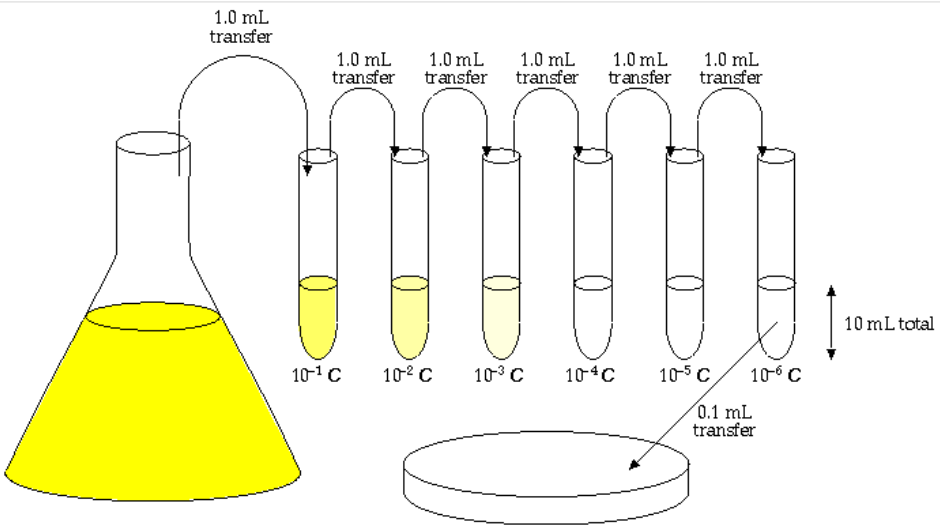


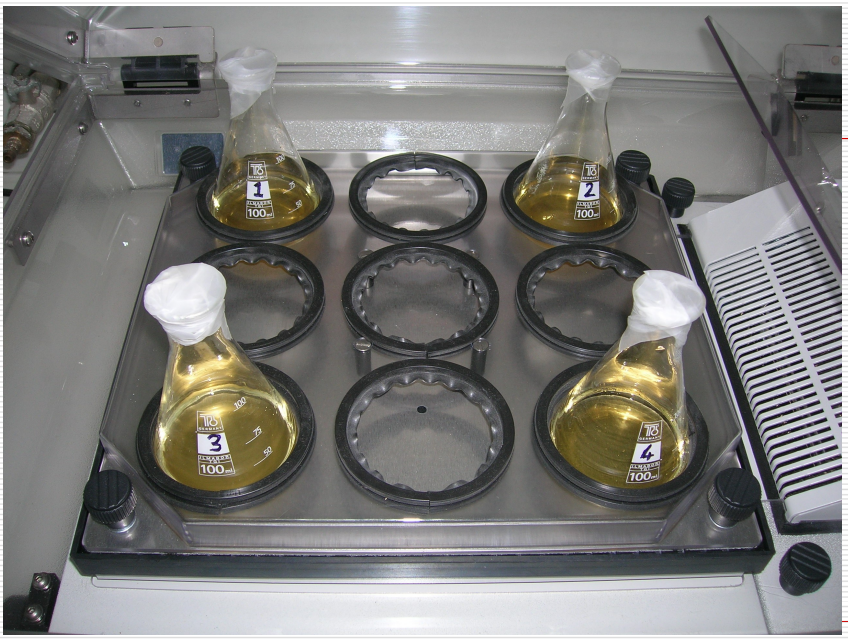
Bu yöntemle boyanmış (etiketlenmiş) hücreler bir basınç altında sıvı içerisinde akıtarak sayımları gerçekleştirilir

- STANDART PLAKA SAYIMI (STANDARD PLATE COUNTS) EN ÇOK KULLANILAN YÖNTEM OLUP CANLI BİR HÜCRENİN UYGUN BİR KÜLTÜR ORTAMINA KOYULDUĞUNDA KOLONİ OLUŞTURACAĞI FİKRİNE DAYANIR VE KOLONİ OLUŞTURMA ÜNİTESİ OLARAK SAYILI
  - KOLONİ OLUŞTURMA ÜNİTESİ (COLONY FORMING UNITS= [KOLONİ SAYISI/ÖRNEK HACMİ] X SEYRELTME KATSAYISI

    - SEYRELTME KATSAYISI: (A+B/A): 2+8/2: **5**
    - SERİYAL SEYRELTME: 1 ml ORGANİZMA 9 ml SAF KÜLTÜR ORTAMINA ALINIR, BURADAN YİNE 1 ml ALINARAK 9 ml YENİ BİR KÜLTÜR ORTAMINA EKLENİR, BU İŞLEMLER BELİRLİ SAYIDA DEVAM ETTİRİLİR.




1.0 mL transfer
1.0 mL transfer
1.0 mL transfer
1.0 mL transfer
1.0 mL transfer
1.0 mL transfer
10 mL total
10^{-1} C
10^{-2} C
10^{-3} C
10^{-4} C
10^{-5} C
10^{-6} C
0.1 mL transfer



- STANDART PLAKA SAYIMINDA İKİ ANA YÖNTEM VARDIR BİRİNCİSİ PLAKAYA DAĞITIM YÖNTEMİ OLUPÖZE YARDIMIYLA ALINAN BAKTERİ PLAKA ÜZERİNİ L- BAGET KULLANARAK UYGUNCA DAĞITILIR. İKİNCİ YÖNTEM İSE ÖRNEK KÜLTÜR İÇİNE EKLENİR. EN UYGUN PLAKALAR ÜZERİNDE 30 İLE 300 KOLONİ OLUŞTURAN PLAKALARDIR.

FİLTRASYON YÖNTENİ:

SERİYAL OLARAK SEYRELTİLEN BAKTERİ SÜSPANSİYONU FİLTREDEN GEÇİRİLİR, FİLTREDEKİ HÜCRELER SONRA AGAR PLAKADA BÜYÜTÜLEREK STANDARD PLAKA YÖNTEMİNDE OLDUĞU GİBİ SAYILIR

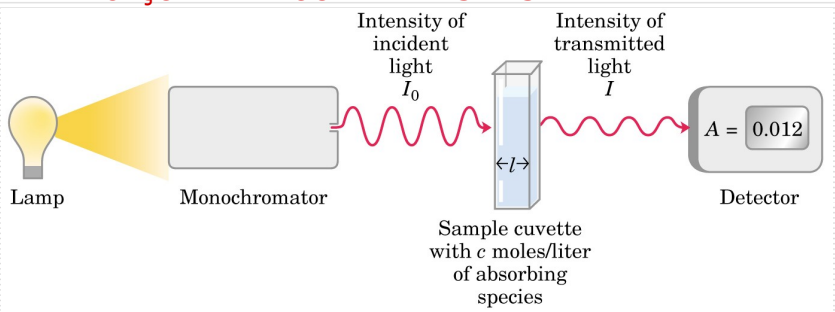
İdrar Yolları Enfeksiyonu Testi

- Eğer kültürde 10,000 colony forming units (CFU)/ml) varsa pozitif olarak değerlendirilir.
- Ancak eğer kültürde 24 veya 48 saat içerisinde büyüme olmazsa yada 10,000 CFU/ml den daha az koloni oluşmuşsa kültür negatif olarak bulunur.



- EN OLASI SAYI (MOST PROBABLE NUMBER) METODU:
  - BU YÖNTEMDE SERİYAL SEYRELTME YÖNTEMİYLE 1 ML DE 1 HÜCRE OLACAK ŞEKİLDE SEYRETMEYE DAYANIR. SEYRELTİLMİŞ ORTAM KÜLTÜRE ALINARAK BÜYÜYÜP BÜYÜMEDİĞİ KONTROL EDİLEREK HÜCRE SAYISI TAHMİN EDİLİR.

- SPEKTROFOTOMETERE ÖLÇÜM YÖNTEMİ
  - BU YÖNTEMDE SEYRELTİLEN YADA DOĞRUDAN ALINAN KÜLTÜRÜN OPTİKAL YOĞUNLUĞU ÖLÇÜLEREK HÜCRELERİN SAYISI TAHMİN EDİLİR.



MİKROBİYAL KONTROL

Terimler

- CIDAL: organızmayı öldüren anlamı olup bakteride Baktericide, Virus: Viricide, Fungus: Fungucide, Spor: Sporocide
- GERMICIDE: geniş spektrumlu cidal olup antiseptan ve dezenfektanları kapsar
- SEÇİCİ TOKİSİTE: antmikrobiyal maddenin konuktan çok konukçuya zarar vermesi

- **MİKROBİYAL ÖLÜM ORANI**
- 1. Yüksek sıcaklık veya antimikrobiyal kimyasallara tabi tutulan mikroorganizmaların ölümü sabittir.
- 2. Ölüm eğrisi bu nedenle logaritmatik olarak çizildiğinde mikroorganizma ölüm oranı bir düz çizgi olarak ortaya çıkar.
- 3. Mikroorganizma populasyonunun ölüm zamanı ile poulasyonda bulunan mikroorganizma sayısı arasında doğrusal ilişki vardır.
- 4. mikroorganizmaların fiziksel ve kimyasal maddelere karşı gösterdikleri tepki yaşam döngülerinde farklılık gösterir. Örnegin sprorlar daima daha dirençlidir.
- 5. Organik madde içeriği kimyasal ve sıcaklık mikroorganizmalar üzerindeki etkileri değiştirebilir.
- 6. Uzun süreli düşük sıcaklık etkisi kısa süreli yüksek sıcaklık etkisine benzer bir etki yapar.

NASIL ETKİLENİR?

- **ANTIMİKROBİYAL MADDELERİN ETKİLEME MODLARI**
- **MEMBRAN GEÇİRGENLİĞİNİN DEĞİŞTİRİLMESİ**
- 1. Lipit ve protein kompozisyonunun değiştirilmesi.
- 2. Bazı kimyasallar plazma zarının geçirgenliğini bozmaktadırlar.

- **PROTEİN VE NÜKLEİK ASİTLERİN ZARAR GÖRMESİ**
- 1. hidrojen ve kovalent bağlarının kırılması.
- 2. Biyosentezlerinin durdurulması.

FİZİKSEL YÖNTEMLERLE MİKROORGANİZMALARIN KONTROLÜ

- Yüksek sıcaklık sık olarak kullanılan bir mototttur
  - **Nemli yada buharlı ısı mikroorganizmaların proteinlerini denatüre ederek öldürür**
  - **Termal Ölüm Noktası (Thermal death point** (**TDP**))
  - Sıvı ortamlarda 10 dakika içerisinde bütün bakterileri öldürmeye yetecek en düşük sıcaklık noktasıdır.
  - **Termal Ölüm Zamanı (Thermal death time** (**TDT**))
  - Belirli bir sıcaklıkta bir sıvı ortamında bulunan bütün bakterileri öldürebilen süredir.
  - **Desimal Düşürme Zamanı (Decimal reduction time** (**DRT**))
  - Belirli bir sıcaklıkta bir sıvı ortamında bulunan bakterilerin %90'nın ölmesini sağlayan süredir.
  - **Kaynatma (Boiling)**
  - 100°C 10 dakika süreyle kaynatarak bazı virüz ve bakterilerin öldürülmesidir.

- **Otoklavlama (Autoclaving)**
- 121°C ve 15 dakikada basınç altında mikroorganizmaların öldürülmesi olup en etkin sterilizasyon yöntemlerinden birisidir. Buharın ve basıncın sterilize edilecek objeye direk verilmesi gerekmektedir.
- **Pastörizasyon (Pasteurization)**
- Kısa bir zaman aralığında (15 saniye) ve yüksek bir ısıda (72°C) gıda maddelerinin yapısının bozulmadan içinde var olabilecek patojenlerin öldürülmesi işlemidir.
- **Ultra Yüksek Sıcaklı (Ultra-high-temperature (UHT)**
- Oldukça yüksek bir sıcaklıkta (140°C) çok kısa bir süre (3 saniye) süt ürünlerinin sterilizasyonu işlemidir.

- **Kuru Isı Sterilizasyonu Medotu (dry heat sterilization)** Doğrudan alevde veya yakma (incineration) veya sıcak havda (160-170°C) yapılan sterilizasyon işlemidir. Kuru ısı öldürmesi oksidasyon işlemidir. (Fırınlama, alevleme örnektir).

- **FİLTRASYON (Filtration)**
- Filtrasyon yada filtreden geçirme işlemi sıvı veya gaz halindeki maddelerin açıklığı çok küçük olan gözeneklerden geçirilerek mikroorganizmaların filtre üzerinde tutulması işlemidir.
- Mikroorganizmalar yüksek randımanlı hava filtrelerinden geçirilerek havadan uzaklaştırılabilir. (Hastanelerdeki havalandırma sitemlerinde bu tür filtreler bulundurulmalıdır)
- Bakteri, virüz ve bazı büyük proteinlerin filitrelendirilmelerinde nitrocellulose veya cellulose acetate'dan yapılmış filitreler genellikle kullanılmaktadır.
- Günümüzde filtrasyon mikroorganizma kontrolü dışında bazı biyomolekkülerin ayrımında da kullanılmaktadır.

- **DÜŞÜK SICAKLIKLAR (Low Temperature)**
  - Düşük sıcaklık uygulamsı mikroorganizma tipine ve uygulamanın yoğunluguna bağlıdır. the application.
  - Çoğu mikroorganizma buzdolabi sıcaklığında çoğalamazlar (0°-7°C).
  - Çoğu mikroorganizma sıfırın altındaki sıcaklıklarda hayatta kalabilir ancak çoğalamazlar.

- **Kurutmal (Desiccation)**
  - Suyun yokluğunda bazı mikroorganizmalar büyüyemezler ancak canlı kalabilmektedir.
  - Virüzler ve endosporlar kurutma yöntemiyle sterilizasyona dayanıklı olabilmektedir.

- **Ozmotik Basınç (Osmotic Pressure)**
- Bazı mikroorganizmalar yüksek yoğunluktaki tuz veya şeker içerisinde kaldıkları zaman plasma membranları yırtılır ve ölürler. Bu olay plazma erimesi plasmolysis olarak isimlendirilmektedir.

- Küf ve mayalar (Molds and yeasts) bakterilere oranla yüksek basınçta ve düşük nemde varlıklarını daha iyi sürdürebilmektedir.

- **RADYASYON (Radiation)**
- Radyasyonun etkis ışığın dalgaboyuna, yoğunluk ve süresine (wavelength, intensity, and duration) bağlı olarak değişir.

- **İyonlaştırıcı Radyasyon (Ionizing radiation)**
- **G**amma ışınları, X ışınları ve yüksek enerjili elektron ışık demeti (**G**amma rays, X rays, ve high-energy electron beams) yüksek oranda penetrasyon (işleme, girme) kabiliyetlerinden dolayıbirincil derecede suyla interaksiyona girerek reaktif hidroksil radikaller (reactive hydroxyl radicals) oluşturarak canlılara zaralı hale dönüşür.

- **Ultraviole Radyasyon (Ultraviolet (UV) radiation)**
- Iyonlaştırıcı olmayan bu tür radyasyonun işeleme kabiliyeti yüksek olmamakla birlikte mikroorganizmalar 260 nm dalğa boyunda zarar görürler. En çok Primidin= primidim dimerleşmesiyle DNA'da replikasyon, transkripsiyon ve translasyon işlemlerinde aksamalara neden olur. Bu tür radyasyon daha çok yüksek ısı yarattığı için mikroorganizmalara zaralıdır. Örneğin mikrodalga fırın ile sterilizasyon işlemi yapılabilir.

- Görünür Işık: Bazı ışığa duyarlı bakterilerin kontrolinde kullanılırır. Salt Işıkta veya karanlıkta yaşayamayan bazı mikroorganizmalar vardır.

- **Solarizasyon**: sera topraklarında polietilen kaplayarak üretim zamanı dışındaki uygulamalar

Kimyasal Yöntemlerle Mikrobiyal Kontrol (Chemical Methods of Microbial Control)

- Kimyasal maddeler yaşayan doku veya mikroorganizmalar üzerinde antiseptan (**antiseptics)** olarak ve cansız objeler içinde dezenfektan (**disinfectants**) olarak kullanılmaktadır.

- Etkin Dezenfeksiyonun İlkeleri
- Kullanılan kimyasallara ait özellik ve kullanılacak konsantrasyon iyi şekilde belirlenme ve bilinmelidir.
- Ortamdaki organik madde varlığı, organizmalara işleme derecesi, sıcaklık gibi unnsurlar düşünülmeli

Dezenfektanların Değerlendirilmesi (Evaluating a Disinfectant)

- Dezenfektannın kullanma klavuzunda (**use-dilution test**) belirtilen seyreltme miktarına bağlı kalarak *(Salmonella choleraesuis, Staphylococcus aureus,* ve *Pseudomonas aeruginosa)* bakterilerinin ölüm oranları belirlenir. Ayrıca virüsler, endospor oluşturan bakteriler, mycobacteria, ve fungus kullanma testinde kullanılabilir.

- Disk Yayılama Metodunda (disk-diffusion method) disk şeklindeki filtre kağıdı üzerinde çalışılan kimyasala batırılarak agar kültür ortamına yerleştirilir. Bu diskin etrafında veya altındaki büyüme kontrol edilerek kimyasalın etkisi belirlenir.



Dezenfektan Tipleri (Kimyasal) (Types of Disinfectants)

- **Fenol ve Fenolikler (Phenol and Phenolics)**
- Fenolik bileşikler plazma membranını yaralayarak zarar verir.

- **BisFenoller (Bisphenols)**
- triclosan ve hexachlorophene evsel kullanımları oldukça yaygındır.

- **BiGuanidinler (Biguanides)**
- Chlorhexidine bazı bakterilerin plazma membranına zarar verir.

- **Halojenler (Halogens)**
- **iodine** ve **chlorine** gibi bazı halojenler yalnız veya organik veya inorganik solisyonlarla birlikte kullanılmaktadır.
- Iodine amino asitlerle birlikte kullanılarak enzimlerin hücresel proteinlerin ve enzimlerin inaktive edilmesinde kullanılır.
- Iodine alkolle birlikte çok seyreltik olarak yada organik molekküllerle birleşik olarak (**iodophor) olarak bulunur.**
- Klorin suya eklendiği zaman hipokloroz asite (hypochlorous acid) dönüşerek antimikrobiyal forma dönüşür.
- Klorin gaz olarak (Cl_2) veya bileşik olarak calcium hypochlorite, sodium hypochlorite, veya chloramines halinde dezenfektan olarak kullanılır.

- **Alkol (Alcohols)**
  - Alkol proteinleri denatüre ederek veya lipitleri çözerek antiseptik olarak kullanılır.
  - Az miktarlarda diğer antiseptik maddelere katılarak onların etkilerini güçlendirebilir.
  - Sulu etanol (60-90%) ve isopropanol dezenfektan olarak kullanılır.

- **Ağır metaller ve onların bileşikleri (Heavy Metals and Their Compounds)**
  - Gümüş (Silver), Cıva (mercury), bakır (copper), selenyum, arsenik ve Çinko (zinc) mikrop öldürücü (germicidal) olarak kullanılmaktadır.
  - Antimikrobiyal aktivitesi proteinlerdeki -SH (sulfhydryl) grubuyla birleşerek proteinlerin ve enzimlerin denatüre olmalarını sağlar.

Yüzey Dezenfektanları (Surface-Active Agents)

- **Sabun ve deterjanlarda** olduğu gibi yüzey dezenfektanları moleküllerler sulu yüzeyler arasındaki tutunma gücünü zayıflatırlar
- Sabunun antimikrobiyal etkisi düşük olmasına rağmen mikroorganizmaların ovmayla birlikte deriden uzaklaşmasına yardımcı olur.
- **Asit-anyonik deterjanlar** (Acid-anionic detergents) süt ürünleri cihazlarının temizlenmesinde kullanılır.

- **Kuatern Ammonyum Bileşikler(Kuat)**
- Kuat'lar NH4 bileşenli katyonik deterjanlardır.
- Plazma membranını yaraladıkları için hücre içi moleküllerin dışarı akmasına ve dolaysıyla mikroorganizmanın ölümüne neden olurlar
- Quat'lar daha çok G + bakterilere daha fazla zarar verir neden?

Mikrobiyal Faaliyetlerin Gıda Maddelerinde Engellenmesi

- **Kimyasallar**
- 1. **S02, sorbic acid, benzoic acid**, ve **propionic acid** fungal aktiviteleri azaltır
- 2. **Nitrate** ve **nitrite tuzları *Clostridium botulinum*** endosporların ette gelişimini engeller.

- **Antibiyotik**
- Nisin ve natamycin antibiyotikleri özellikle peynir ve diğer bazı gıdaların korunmasında kullanılır

- **Aldehitler (Aldehydes)**
- F**ormaldehyde** ve **glutaraldehyde gibi aldehitler proteinleri inaktive ederek antimikrobiyal etki gösterirler.**
- Bu nedenle aldehitli maddeler kimyasal dezinfektanların yapımında oldukça fazla kullanılır.

- **Gaz Kemo Sterilizerler (Gaseous Chemosterilizers)**
- **Ethylene oxide** gazı sterilizasyonda en fazla kullanılır.
- Çoğu materyalin içerisine girer ve mikroorganizmaların proteinlerini denatüre ederek öldürür.

- **Peroxygens (Oxidizing Agents)**
- **Ozone**, **peroxide**, ve **peracetic acid** hücre içerisinde molekülleri oksitleyerek antimikrabiyal oalarak gmörev yapar.

- Organik Asitler
  - Benzoik asit, propionik asit ve sorbik asit olup daha çok gıda maddelerinin funguslara karşı korunmasında kullanılır
- Antiseptik Boyalar
  - Avriflavine, crytal violet, antibakteriyal boyalar hücre duvarı sentezi ve DNA replikasyonunu engeller.

Mikrobiyal Karakterler ve Mikrobiyal Kontrol

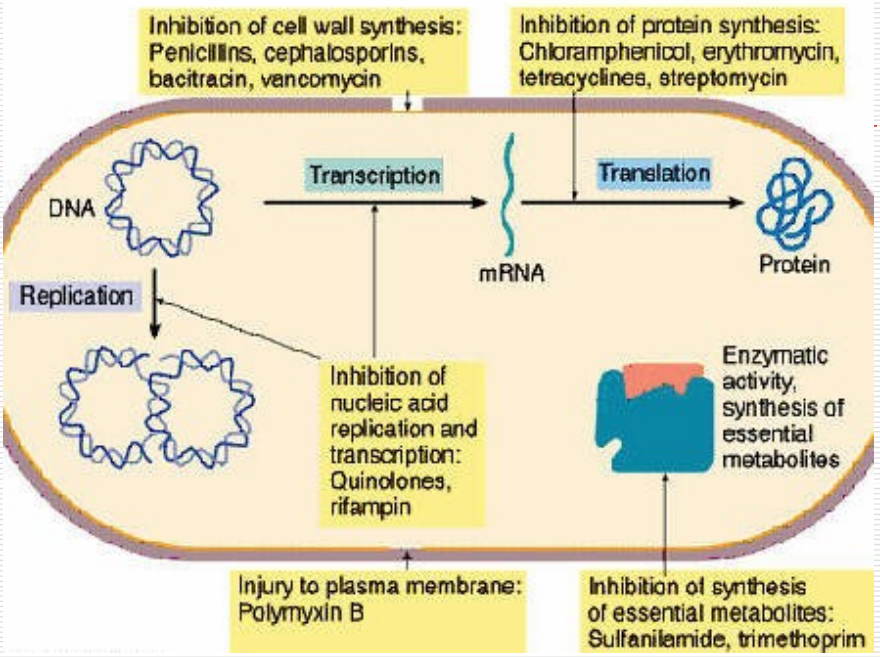
- **1. Gram-negatif bakteriler genellikle antiseptan ve dezenfektanlara daha dayanıklıdır.**
- **2. Mycobacteria, Spores, Protozo antiseptan ve dezenfektanlara daha dayanıklıdır**
- **3. Örtüsüz (Nonenveloped) virusler ötrülü (enveloped) viruslere göre antiseptan ve dezenfektanlara daha dayanıklıdır**
- **4. Organic maddeler genellikle kimyasal kontrol maddelerin aksiyon modlarını etkiler**
- **5. Dezenfektantların etkisi yüksek sıcaklıklarda daha etkilidir.**

Antibiyotik (Antibiotics)

- Bu maddeler bazı bakteri veya funguslar tarafından diğer organizmalardan korunma amaçlı sentezlenirler.
- Örneğin – Penicillin *Penicillium notatum* adlı küften sentezlendiği Alexander Fleming tarafından tespit edilmiştir.

Antibiyotiklerin Aksiyon Modları

- Hücre duvarının sentezini engeller (peptidoglycans)
- Plazma membranının yapısını bozar
- Folik asit üretimini engeller
- Protein sentezini durdurabilir veya engeller
- Nükleik asitlerin sentezlenmesini engeller
- Ribosomala etkileşim yaparak yapısını veya fonkisyonunu engeller.



Antibiyotik Üretimi

- **Actinomycete'lardan Antibiyotik Üretimi**
- Actinomycete'ler toprak bakterileridir.
- Üretmiş oldukları bileşikler diğer mikroorganizmaların gelişimini engeller
- Neden?
  - Besin
  - Habitat
  - Yayılma

- **Eczacılık (Pharmacology)**
- Doğal moleküllerin yapıları dizayn edildikten sonra bakterilere sentezletilerek sentetik ilaçlar üretilmektedir.
- Sonra bu sentetik ilaçların antimikrobiyal etkileri in vitro ve in vivo ortamlarda belirlenir.

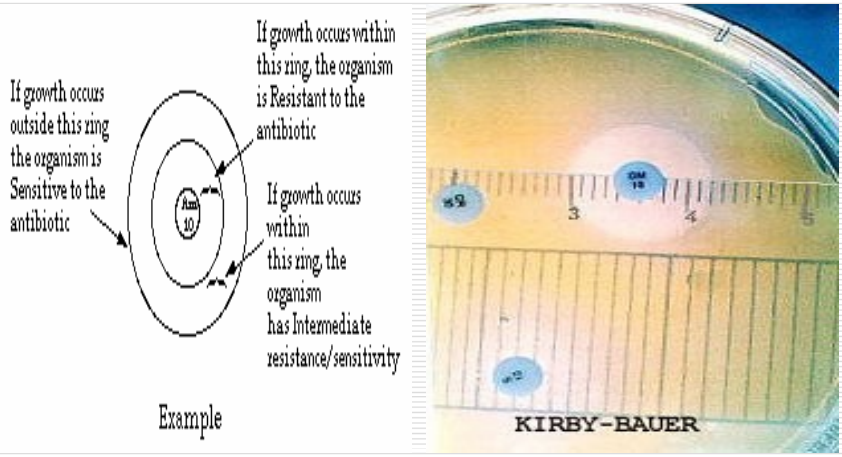
Kirby-Bauer Yöntemi

- Mikroorganizmaların herhangi bir antibiyotiğe dayanıklılığının veya hassaslığının belirlenmesi
- Dayanıksızlık yada Duyarlılık (Sensitivity): Organizmanın büyümesi antibiyotiğin varlığında durdurulur.
- Dayanıklılık (Resistance): Mikroorganizma büyümesi durmaz. Antibiyotiğin etkisi mikroorganizma tarafından engellenmektedir.

Kirby Bauer Yöntemiyle Antibiyotik Dayanıklılığının Belirlenmesi

- Bakteriler Mueller Hinton Agar ortamına uygun yöntem kullanılarak yayılır.
- Antibiyotiğe batırılmış kağıt disk agar yüzeyine konur
- İnkübasyon başlatılır

Antibiyotik Etkisine Dyanıklılık Testi (Kirby-Bauer YÖNTEMİ



- DOĞAL İLAÇLAR
  - MİKROORGANİZMALAR TARAFINDAN SENTEZLENEN İLAÇLAR
- SENTETİK İLAÇLAR
  - İNSAN TARAFINDAN LABDA YAPILAN İLAÇLAR
- YARI-DOĞAL İLAÇLAR

- **Antibiyotiklerle Nükleikasit Sentezinin Engellenmesi**
- Mitomycin C: selektif olarak RNA ve Protein-Sentezini etkilemeden, doğrudan DNA- Sentezini engeller.
- Actinomycin D: DNA-çift sarmalı ile kompleksler oluşturur. Burada Guanin yığılır. Bu da üç tip ribonükleikasit sentezini engeller, fakat DNA-Reduplikasyonunun engellemez.
- Rifampicin: DNA'ya bağımlı RNA-Polymerase'na etki eder ve bakterilerde mRNA sentezini engeller.

- **Antibiyotiklerin Protein Sentezini Engellemesi**
- Bir çok prokaryotiklerde protein sentezi çok sayıdaki antibiyotikler tarafından engellenmektedir. Etki yeri ise 70S-Ribosom'larınm fonksiyonlarıdır.
- Streptomycin ve Neomycin aminoasitlerinin birleşme olayını engellemektedirler. Erythromycin ise 50S-Altbirimlerinin fonksiyonunu etkilemektedir.
- Tetracycline'ler de Aminoacyl-tRNA'ların Ribosom'larda birikmesini engellemektedir.
- Chloramphenicol aminoasitlerinin proteine inşaasını engellemektedir.
- Bu antibiyotikler ökaryotiklerin kloroplastlarına, mitokondrideki ribozomlara etki etmektedirler. Ancak prokaryotiklere düşük konsantrasyonlar da da etki edebilirken, ökaryotikler de daha yüksek konsantrasyonlarda etki ederler

Mikrobiyal Kontrol (Özet)

- Antimikrobiyal ilaçların:
  - konuk için toksik olmamalı
  - allerjiye yol açmamalı
  - çözülebilir olmalı
  - dayanıklılık yaratmamalı
  - uzun raf ömürlü

- SİNERJİTİK ETKİ:
  - ANTİBİYOTİĞİN ETKİSİ DİĞER KİMYASALLARLA BİRLİKTE ARTIRILMASIDIR
- ANTİGONİSTİK ETKİ
  - SİNERJİK ETKİNİN TAM TERSİDİR
- EN DÜŞÜK ENGELLEME KONSANTRASYONU (MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION-MIC): MİKROBİYAL FAALİYETİ ETKİLEYEN EN DÜŞÜK İLAÇ MİKTARI
- EN DÜŞÜK ANTİBAKTERİYAL KONSANTRASYONU: HÜCRE MORFOLOJİSİNİ VEYA GELİŞİMİNİ ENGELLEYEN EN AZ MİKTAR

- FUNGUSLARDAN ELDE EDİLEN ANTİBİYOTİKLER:
  - PENİSİLLİN, CEPHALOSPORİNS
- BAKTERİLERDEN
  - NYSTAIN, NEOMYCIN, KANAMYCIN, ERTHROMYCIN, TETRACYCLINE, BACITRACIN, POLYMYXIN

- **ANTIFUNGAL VEYA ANTIMİKOTİKLER:**
  - HÜCRE BÖLÜNMESİ, PROTEİN VE NÜKLEİK ASİT SENTEZİNİN ÖNLENMESİ
    - AMPHOTERICIN B, CLOTRIMOZOLE, MICRONAZOLE, NYSTATIN
- **ANTIPROTOZOAL:**
  - QUINACRINE HYDROCHLORIDE. METRONİDAZOLE
- **ANTİVIRAL:**
  - İNTERFERONLAR, ACYCLOVIR, AMANTADINE

MİKROORGANİZMALAR İÇİN GEREKİ OLAN FİZİKSEL VE ÇEVRESEL FAKTÖRLER:

OKSİJEN

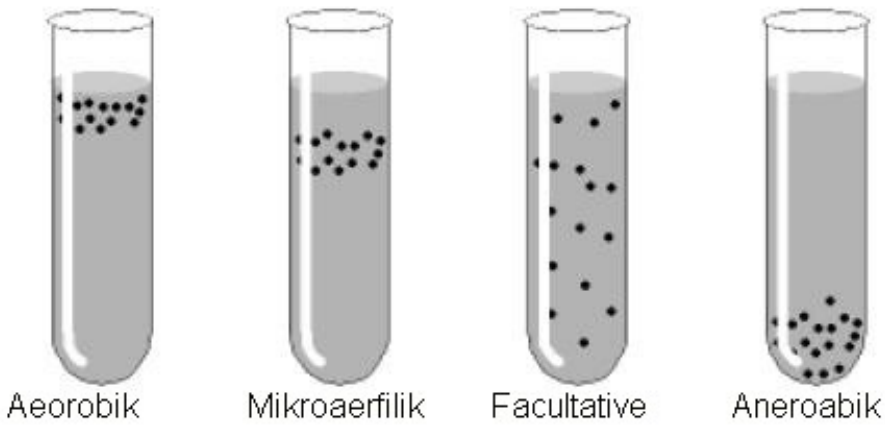
- OKSİJEN HÜCRELER İÇİN ÜNİVERSAL BİR KOMPONENT ANCAK PROKARYOTLAR OKSİJEN İSTEĞİNE GÖRE FARKLILIK GÖSTERİRLER
  - ZORUNLU AEROBE (OBLIGATE):
    - OKSİJEN BÜYÜME İÇİN GEREKLİ OLUP SOLUNUMDA OKSİJEN FİNAL ELEKTRON ALICI OLARAK KULLANILIR
    - MİKROAEROPHİLE (MICROAEROPHILE): ÇIK AZ DÜZEYDE OKSİJENE İHTİYAÇ DUYARLAR

- ZORUNLU AN-AEROBE (OBLIGATE)
  - OKSİJEN ZARARLI OLUP ÖLDÜRÜCÜDÜR. FERMENTASYON, METHANOGENESİS
- FAKÜLATİF (SEÇİMLİ) ANAEROBE VEYA FAKÜLATİF AEROBE (FACULTATIVE)
  - BU TİPLER OKSİJENLİ VEYA OKSİJENSİZ METABOLİK İŞLEVLER ARASINDA DEĞİŞİM YAPABİLİRLER
- AEROTOLERANT ANAEROBE:
  - BU ORGANİZMALAR FERMENTE TİPİ OLUP ORTAMDA OKSİJENİN BULUNMASI ONLARI ETKİLEMEZ.

GRUP	***Aerobic***	***Anaerobic***	***O_2 ETKİSİ***
Obligate Aerobe	BÜYÜR	BÜYÜMEZ	SOLUNUMDA
Microaerophile	ÇOK YÜKSEK DEĞİLSE BÜYÜMEZ	BÜYÜMEZ	0.2 atm ALTINDA ISTER
Obligate Anaerobe	BÜYÜMEZ	BÜYÜR	ÖLDÜRÜCÜ
Facultative Anaerobe Facultative Aerobe	BÜYÜR	BÜYÜR	BÜYÜME İÇİN ŞART DEĞİL ANCAK VARSA KULLANIR
Aerotolerant Anaerobe	BÜYÜR	BÜYÜR	İSTEMEZ VE KULLANMAZ

Serbest Radikaller (Free radicals)

- Serbest radikaller atom veya moleküllerden oluşan oksidasyon artıklarıdır. Diğer molleküllerle etkileşim içerisinde olduklarından dolayı onların yapılarını elektron alarak bozarlar ve bu durumda hücre için zararlıdır.
- Aerobik bakterilerde serbest radikaller solunum sırasında oluşur.
- Aerobik bakteriler solunum sırasında oluşan bu serbest radikalleri parçalama yeteneklerine sahiptirler.
- Zorunlu (Obligate) aerobik bakterilerde catalase veya superoxide dismutase enzimu bu serbest radikallere bozarak solunum sonrası hücrenin zarar görmesini engellerler

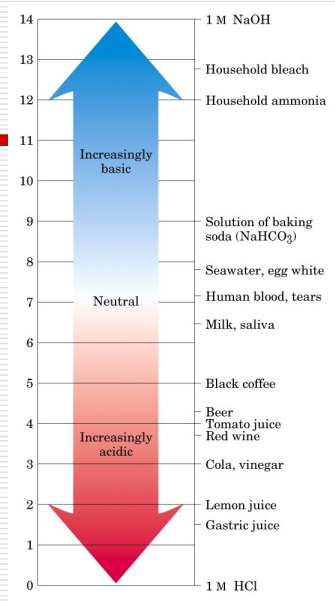


ORTAMIN pH'SI

- pH: 7.0'IN ALTINDA YAŞAYAN MİKROORGANIZMALARA ACIDOPHİL, NÖTÜR pH'DA YAŞAYANLA NEUTROPHİLE, ALKALI ORTAMLARI SEVENLER İSE ALKALİPHİLE OLARAK İSİMLENDİRİLİR

- ÖKARYOTLARDAN ALG *Cyanidium* pH: 0'DA YAŞAYABİLMEKTEDİR.

MİKROORGANİZMALAR İÇİN 3 TEMEL pH NOKTASI (KARDİNAL NOKTA) VARDIR BUNLAR
1: MİNİMAL pH: BUNUNN ALTINDA YAŞAYAMAZLAR
2: MAKSİMUM pH: BUNUN ÜZERİNDE YAŞAYAMAZLAR
3: OPTİMUM pH: ORGANİZMANIN BÜYÜDÜĞÜ EN İYİ pH'DIR



Organizma	*Minimum pH*	*Optimum pH*	*Maximum pH*
Thiobacillus thiooxidans	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
Sulfolobus acidocaldarius	1.0	2.0-3.0	5.0
Bacillus acidocaldarius	2.0	4.0	6.0
Lactobacillus acidophilus	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
Staphylococcus aureus	4.2	7.0-7.5	9.3
Escherichia coli	4.4	6.0-7.0	9.0
Nitrobacter sp	6.6	7.6-8.6	10.0

SICAKLIK

- MESOPHILE: BÜYÜMELERİN 37^0C CIVARINDA SÜRDÜRENLER
- THERMOPHILE: 45-70^0C
- HYPERTHERMOPHILE: 80^0C VE YUKARISI

GRUP	*Minimum*	*Optimum*	*Maksimum*
Psychrophile	0 ^{0}C ALTINDA	10-15 ^{0}C	20 ^{0}C ALTINDA
Psychrotroph	0 ^{0}C	15-30 ^{0}C	25 ^{0}C ÜZERİNDE
Mesophile	10-15 ^{0}C	30-40 ^{0}C	45 ^{0}C ALTINDA
Thermophile	45 ^{0}C	50-85 ^{0}C	100^{0}C ÜZERİNDE

BAKTERİ	*Minimum*	*Optimum*	*Maksimum*
Listeria monocytogenes	1 ^{0}C	30-37 ^{0}C	45 ^{0}C
Vibrio marinus	4 ^{0}C	15 ^{0}C	30 ^{0}C
Thiobacillus novellus	5 ^{0}C	25-30 ^{0}C	42 ^{0}C
Escherichia coli	10 ^{0}C	37 ^{0}C	45 ^{0}C
Streptococcus pyogenes	20 ^{0}C	37 ^{0}C	40 ^{0}C
Thermus aquaticus	40 ^{0}C	70-72 ^{0}C	79 ^{0}C
Pyrobacterium brockii	80 ^{0}C	102-105 ^{0}C	115 ^{0}C

SU DURUMU

- SU BİR ÇÖZÜCÜDÜR VE YAŞAM MOLEKÜLLERİ BU ÇÖZÜCÜDE BULUNUR. SUYUN ALINABİLİRLİĞİ ATMOSFERDEKİ VARLIĞINA VE ORTAMDA BULUNMASINA BAĞLIDIR.

  ALINABİLİR SU: A_W: SU AKTİVİTESİ OLUP SAF SUDA DEĞERİ 1 DİR (%100 SU). İNSAN KANININ A_W: 0.99, DENİZ SUYUNUN 0.98, TARIM TOPRAKLARININ A_W: İSE 0.9 İLE 1.0 ARASINDADIR.

  DOGADA EN FAZLA ÇÖZÜNEN OLAN TUZ OLDUĞUNDAN MİKROORGANİZMALAR, TUZA GÖSTERDİKLERİ REAKSİYONA GÖRE GRUPLANMIŞLARDIR.
  BAZI MİKROORGANİZMALAR İSE TUZSUZ YAŞAYAMAZLAR BU ORGANİZMALAR HALOPHIL OLARK BİLİNİR.

- EKSTREM HALOPHIL'LER: %15-30 TUZ (ARCHAEA)
  ORTA HALAPHIL'LER: %6-16 TUZ
  HAFİH HALOPHIL'LER: %1-6 TUZDA

  ORTA DÜZEYDE VEYA TUZSUZ ORTAMDA YAŞAYAN BAKTERİLER HALOTOLERAN ORGANİZMALAR, OSMOPHIL ORGANİZMALAR ŞEKERLİ ORTAMDA YAŞAYAN ORGANİZMALARDIR.
  SUZUZ ORTAMDA YAŞAYABİLEN ORGANİZMALAR İSE XEROPHIL'LERDİR

Organizma	***BÜYÜME İÇİN EN DÜŞÜK*** A_W
Caulobacter	1.00
Spirillum	1.00
Pseudomonas	0.91
Salmonella/E. coli	0.91
Lactobacillus	0.90
Bacillus	0.90
Staphylococcus	0.85
Halococcus	0.75

MİKROORGANİZMALAR İÇİN GEREKİ OLAN FİZİKSEL VE ÇEVRESEL FAKTÖRLER (ÖZET OLARAK)

- MİKROORGANİZMALAR İÇİNDE BULUNDAKİ ÇEVRENİN, OKSİJENİ, SICAKLIĞI, SU DURUMU, pH'SI, IŞIK DURUMU İLE UYUM İÇERİSNDE OLMAK ZORUNDADIRLAR.
- EKSTREM ORTAMLARDA YAŞAYAN MİKROORGANİZMALARIN ULTRASTRÜKTÜREL YAPILARI, ORGANANELLERİ, PROTEİN İÇERİKLERİ, ENZİMLERİ FARKLIDIR.
- ÖRNEĞİN ÇOK DÜŞÜK SICAKLIKLARDA YAŞAYAN MİKROORGANİZMALAR YAĞ ASİTLERİ DOYMAMIŞ LİPİTLERDEN OLUŞUR.
- İNSANOĞLU MİKROORGANİZMA FAALİYETİNİZ AZALTMAK İÇİN SICAKLIK VE SUYU GELENEKSEL OLARAK KULLANMAKTADIR. ÖRNEĞİN YİYECEKLERİNİ SALAMURA VEYA TURŞU ŞEKLİNDE SAKLARKEN DİĞER TARAFTAN BUZDOLAPSIZ HİÇ BİR BULUNMAMAKTADIR.
- DİĞER TARAFTAN YÜKSEK SICAKLIKLARA DAYANIKLI ORGANİZMALARDAN ELDE EDİLEN ENZİMLER (TAQ DNA POLİMERAZ) BİYOTEKNOLOJİDE YAYGIN BİR ŞEKİLDE KULLANILMAKTADIR.

HALOFİLLER (Halophiles)

- Bu mikroorganizmalar 0.2 M veya biraz yukarısındaki NaCl ve diğer tuzlarda yaşayabilmektedirler.
- Plazma membranları ve metabolizmaları yüksek basınca dayanıklılık göstermektedir.

ASİTOFİLLER (Acidophiles)

- Bu mikroorganizmalar pH 0-5.5 uyum sağlayabilmektedir

HALOTOLERANT (Halotolerant)

- Bu mikroorganizmalar düşük düzeydeki tuz seviyesine uyum sağlaybilmektedir.
- Bu mikroorganizmalar aynı zamanda osmotolerant olup çevrelerindeki tuz konsentrasyonunu bağlı olarak düşük tuzlulugu hücre içerisinden potasyum çıkarabilmektedirler.
- Böylelikle hücreler basınçtan zarar görmemektedir.

Nötrofiller (Neutrophiles)

- pH 5.5 VE 8
- Bunların çoğu patojen (pathogen)
- E. coli ve Salmonella hücre duvarları ve plazma membranıda proton giriş çıkışını kolayca ayarlayarak pH' değişimine uyum gösterebilmektedir.

MEZOFIL BAKTERİLER (Mesophile)

- 25-40^{o}C TERCİH EDERLER
- İNSAN İÇİN PATOJEN OLAN BAKTERİLERİN BÜYÜK KISMI MEZOFIL'DIR

KARYOFİLLER (Psychrophiles (Cryophiles))

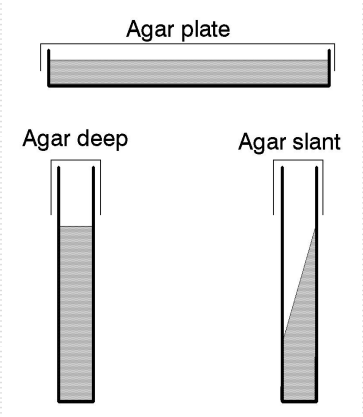
- BUZDA VEYA BUZDOLABINDA YAŞAYABİLİRLER
- 7^{o}C TERCİH SICAKLIĞI
- BU BAKTERİLER 30 ^{o}C ZARA GÖRÜRLER

ALKALİFİLLER (Alkalophiles)

- Alkalophiles pH'SI YÜKSEK ortamları tercih ederler. Bu ortamlar alkalı veya baz ortamlardır.

- SICAKLIK İSTEK SINIRI DAR OLAN MİKROORGANİZMALAR STENOTHERMAL, GENİŞ OLANLAR EURYTHERMAL OLARAK İSİMLENDİRİLİR.

MEDYA TİPLERİ



MİKROORGANİZMALARIN KÜLTÜRÜ

- MİKROORGANİZMALARIN BİR BESİORTAMINDA BÜYÜTÜLMESİ MİKROORGANİZMA KÜLTÜR OLARAK İSİMLENDİRİLİR.
- ASEPTİK TEKNİK: MİKROORGANİZMA KÜLTÜRLERİNE MİKROBİYAL BULAŞMAYI ÖNLEMEYE DÖNÜK YÖNTEM VE UYGULAMALARDIR.

- KÜLTÜR ORTAMI VEYA MEDYASI: KATI VEYA SIVI OLARAK HAZIRLANABİLEN MİKROORGANİZMA BESİ ORTAMLARIDIR.
- KATI ORTAM AGAR PLAKA
- SIVI ORTAM BROTH OLARAK SİSMLENDİRİLİR
  - KÜLTÜR ORTAMI İÇİNDE BULUNDURDUĞU MİKROORGANİZMALAR İÇİN GEREKLİ OLAN ENERJİ KAYNAGINI (KARBON YADA AZOT) İLE DİĞER GEREKLİ (C, H, O, N, S P, K, Mg, Fe, Ca, Mn, VE AZ MİKTARDA Zn, Co, Cu, VE Mo.) BESİN ELEMENTLERİNİ, FİZİKSEL KİMYASAL GEREKLİLİĞİ SAĞLARLAR.
  - KÜLTÜR ORTAMLARINDA AGAR GENELLİKLE ORTAMI KATILAŞTIRMAK İÇİN EKLENİR

MİKROORGANİZMA KÜLTÜRÜNDE ANA-TEMEL ELEMENTLER VE İŞLEVLERİ

- **KARBON: ORGANİK BİLEŞİKLERDEN VEYA CO2 TEMİN EDİLİR HÜCRESEL MATERYALİN ANA TEMELİDİR.**
- **OKSİJEN: SUDAN, ORGANİK BİLEŞİKLERDEN, CO2 VE SERVEST OKSİJENDEN ALINIR, HÜCRENİN YAPISINDA VE SUYUNDA BULUNDUĞU GİBİ AEROBİK SOLUNUMDA ELEKTRON ALICIDIR.**
- **AZOT: SUDAN, ORGANİK BİLEŞİKLERDEN, SERBEST AZOTTAN ALINIR AMİNO ASİTLERDE, NÜKLEİK ASİTLERDE VE KOENZİMLERDE KULLANILIR.**
- **HİDROJEN: SUDAN, ORGANİK BİLEŞİKLERDEN VE SERBEST HİDROJENDEN ALINIR, HÜCRE SUYUNDA VE ORGANİK BİLEŞİKLERDE KULLANILIR.**

- FOSFOR: İNORGANİK FOSFATTAN ALINIR, NÜKLEİK ASİTLERİN, FOSFOLİPİTLERİN YAPIMINDA VE DİĞER BİR ÇOK ANABOLİK VE KATABOLİK İŞLEMLERDE KULLANILIR.
- SÜLFÜR: SO4, H2S, SO, ORGANİK SÜLFÜRDEN SAĞLANIR, CYSTEİNE, METHİONİNE, GLUTATHİONE VE BİRKAÇ KOENZİM OLARAK GÖREV YAPAR.
- MAGNEZYUN: MAGNEZYUM TUZLARINDAN SAĞLANIR, HÜCREDE INORGANIK KATYON, BAZI ENZIMLER IÇIN KOFAKTÖR OLARAK GÖREV YAPAR.
- KALSIYUM: KALSIYUM TUZLARINDAN SAĞLANIT, HÜCREDE INORGAN KATYON, ENDOSPERLARIN KOMPONENTI VE BAZI ENZIMLER IÇIN KOFAKTÖRDÜR.
- DEMIR: DEMIR TUZLARINDAN SAĞLANIR, CYTOCHROMUN VE BAZI DEMIR IÇERMEYEN PROTEINLERIN KOMPONENTI, BAZI ENZIMSEL FAALIYETLER IÇIN KOFAKTÖR

KÜLTÜR İÇİN BÜYÜME FAKTÖRLERİ (Growth Factors)

- OTOTROF VEYA HETOTROF ORGANİZMALAR BAZI ESENSİYAL FAKTÖRLERE (VİTAMİNLER, KOFAKTÖRLER, DİĞER BAZI BÜYÜME REGÜLATÖRLERİ) İHTİYAÇ DUYARLAR VE BU FAKTÖRLERİ KENDİ KENDİLERİNE SENTEZLEYEMEZLER BÖYLE FAKTÖRLERE BÜYÜME FAKTÖRLERİ DENİR. ÇOK İZ DE OLSA BU FAOTÖRLER BİYOGENESİS İÇİN ÇOK GEREKLİDİR.
- BÜYÜME FAKTÖRLERİ
  - 1-PURİNLER VE PRİMİDİNLER (purines and pyrimidines): DNA VE RNA SENTEZLENMESİNDE GEREKLİDİR.
    - DE NECO VE SALVAGE PATİKALARIYLA
  - 2-AMİNO ASİTLER (amino acids): PROTEİN SENTEZİ İÇİN GEREKLİDİR:
    - BAZI ÖZEL AMİNOASİTLER DIŞARIDAN ALINMAK ZORUNDADIR
  - 3- VİTAMİNLER (vitamin): KOENZİM OLARAK VE BAZI ENZİMLERİN FONKSİYENEL GRUBU OLARAK GEREKLİDİR.

- *E. coli* GİBİ BAZI BAKTERİLER BÜYÜME FAKTÖRLERİNE İHTİYAÇ DUYMAZLAR ÇÜNKÜ BUNLARI KARBONU ENERJİ KAYNAĞI OLARAK KULLANARAK BU MADDELERİ KENDİLERİ SENTEZLEYEBİLİRLER.
- *Lactobacillus* İSE PURİNE, PİRİMİDİN, VİTAMİN VE BİRKAÇ AMİNO ASİTİ SENTEZLEYEMEZLER. BU MADDELERİN BÜYÜTME KÜLTÜRLERİNE EKLENMESİ GEREKİR.
- BAZI DURUMLARDA MUTANT IRKLAR OLABİLİR BU TÜR IRKLARA AUKSOTROF (**auxotroph)** OLARAK İSİMLENDİRİLİR.
  - ÖRNEĞİN tryptophan AMİNO ASİTİNİ YAPAMAYAN *E. coli E. coli****trp-***

- **ÇOĞU KÜLTÜR ORTAMLARINDA İZ VEYA TRACE ELEMENTLER EKLENMEZ ÇÜNKÜ BU ELEMENLER KÜLTÜR ORTAMI HAZIRLARKEN SUDAN VEYA BAŞKA YOLLARDAN MEDYAYA (KÜLTÜR ORTAMINA) GEÇER.**
- **TRACE ELEMENTLER METALLLER OLUP BAZI HÜCRELER TARAFINDAN İHTİYAÇ DUYULUR**
- **İZ ELEMENTLER METABOLİK FAALİYETLERDE KOFAKTÖR OLARAK GÖREV YAPARLAR**
- **Mn, Co, Zn, Cu, VE Mo İZ ELEMENTLERDİR**

Vitamin	Coenzyme Formu	Fonksiyonu
Pantothenic Asit	Coenzyme A ve Acyl taşıyıcı Protein (ACP)	Metabolizimde Keto Asit ve Acyl Grup Taşiyicisi
Pyridoxine (B_6)	Pyridoxal Phosphate	Transamination, Deaminasyon, Dekarboksilasyon
Riboflavin (B_2)	FMN (Flavin Mononucleotide) ve FAD (Flavin Adenine Dinucleotide)	Red-Oks
Thiamine (B_1)	Thiamine Pyrophosphate (TPP)	Keto Asit ve Transaminaz Dekarboksilasyon Reaksiyonlarinda
Vitamin B_{12}	Cobalamine Coupled To Adenine Nucleoside	Metil Grubu Transferi
Vitamin K	Quinones ve Napthoquinones	Elektron Transpor İşlemlerinde

Vitamin	Coenzyme Formu	Fonksiyonu
P-aminobenzoic Acid (PABA)	-	Folik Asit İçin Öncü
Folic Acid	Tetrahydrofolate	Metionin, Serin, Purin ve Timin Sentezlerinde Tek Karbon Transferinde
Biotin	Biotin	CO2 Fiksasyonu gerektiren Biyosentetik Reaksiyonlar
Lipoic Acid	Lipoamide	Keto Asitleri Oksidasyonu İçin Acyl Grup Transferi
Mercaptoethane-sulfonic Acid	Coenzyme M	METAN ÜRETİMİ (Methanogens)
Nicotinic Acid	NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) ve NADP	Dehidrasyon Reaksiyonlarinda Elektron Taşiyici

Cell culture



- No Dead Corners! 100% Cell Retrieval Every Time!
- T.C. Treated on Bottom Only - *No More Cells on Walls*
- *Absolutely* the Flattest Flask on the Market Today!
- Leak Proof!
- *Impeccable* Optical Clarity for Under a Microscope
- White Print Scale & Marking Area











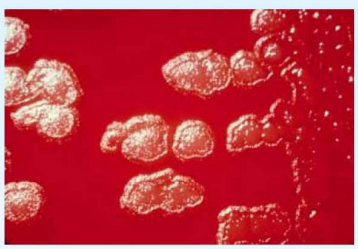
- YAPILARINA GÖRE KÜLTÜR ORTAMI ÇEŞİTLERİ
  - SIVI ORTAM (LIQUID MEDIA BROTH)
    - ÜRETİM AMAÇLI MİKROORGANİZMALARIN BÜYÜTÜLMESİNDE KULLANILIR.
    - BAZI MİKROORGANİZMALAR METABOLİT ÜRETİMİNDE SIVI ORTAMLARDA ÜRETİLİR
  - YARI KATI ORTAM (SEMISOLID MEDIA: AGAR PLAKA)
    - AGAR İÇEREN ORTAMLAR OLUP MİKROORGANİZMA TANI VE TEŞHİSİNDE YADA SAF MİKROORGANİZMA ELDESİ İÇİN KULLANILIR
      - AGAR 100 C ERİR, 40 C SIVI KALIR
      - AGAR KENDİSİ METABOLİSM EDİLMEZ
      - ŞEFFAF VE MANUPLASYONU KOLAYDIR

- SÜREKLİ KÜLTÜR:
- Ortama belirli bir debi ile akan besin maddesini içeren bir besleme tankından (kabından), kültür kabından ve havalandırma düzeneğinden oluşmaktadır. Karıştırıcı ile de besin maddesinin homojen olarak ortamda yayılması sağlanmaktadır. Besin çözeltesinin giriş debisi kadar bir debi ile de bakteri süspansiyonu sistemden çıkmaktadır.

- SABİT KÜLTÜR:
- Kapalı sistemde bakteriler için belirli bir besin maddesi sunusu vardır ve yaşamlarını bununla sürdürürler. Metabolizma atıkları da bu sistem içinde kalır

- CANLI ORTAMLAR
  - ORGANİZMA, DOKU VEYA HÜCRELERDEN OLUŞTURULUR





YAPAY (SENTETİK: Basit) ORTAM: KİMYASAL İÇERİĞİ BELİRLİ OLAN BESİNORTAMLARIDIR, TEKRAR YARATILABİLİR (SIVI ORTAM)

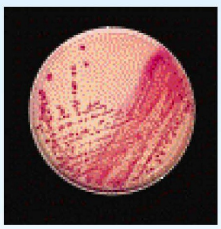
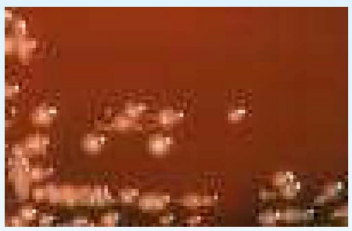
KOMPONENT	MİKTAR	FONKSİYONU
SUKROZ	10.0 g	KARBON VE ENERJİ
K_2HPO_4	2.5 g	pH buffer; P, K KAYNAĞI
KH_2PO_4	2.5 g	pH buffer; P, K KAYNAĞI
$(NH_4)2HPO_4$	1.0 g	pH buffer; N, K KAYNAĞI
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.20 g	S VE Mg^{++} KAYNAĞI
$FeSO_4$ $7H_2O$	0.01 g	Fe^{++} KAYNAĞI
$MnSO_4$ $7H_2O$	0.007 g	Mn^{++} KAYNAĞI
H2O	HACİM SU İLE1 L TAMAMLANIR	ORTAMIN OLUŞUMU
pH 7.0		

KOMPLEKS ORTAM: İÇERİĞİ TAM OLARAK BİLİNMEYEN ORTAMLAR. KAN, SÜT, MAYA EKSTAKTI, DANA ETİ EKTRAKTI BU TÜR ORTAMLARDA BULUNUR

KOMPONENT	*MİKTAR*	*FONKSİYONU*
Beef extract	1.5 g	VİTAMİN VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ KAYNAĞI
Yeast extract	3.0 g	VİTAMİN VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ KAYNAĞI
Peptone	6.0 g	N, S, P, VE AMİNO ASİT KAYNAĞI
Glucose	1.0 g	C VE ENERJİ KAYNAĞI
Agar	15.0 g	KATILAŞTIRMA VE DESTEK
H20	1 L	
pH 6.6		

Saf kültür ve karışık



Seçici Medya (Selective Media)

- Bu tür meday bakteri populasyonlarından tek bir türün seçilmesinde veya bakteri ayrımında kullanılır.
- Medayanın içerisine eklenen kimyasallar yardımıyla bir grup bakteri büyümeye teşvik edilirken diğer grup bastırılır.
- Örneğin:
- **Mannitol Tuz Agar (Mannitol Salt Agar):**
- Bu medyada %7.5 oranında tuz bulunarak çoğu bakterinin büyümesi bastırılır. Tuz konsantrasyonuna dayanıklı bakteriler gelişebilir Örneğin Staphlococci.
- Ayrıca medyada bulunan Karbonhidrat mannitol staphylococci tarafından fermente edilebilir.

- **MİNIMAL ORTAM: SENTETİK ORTAM OLUP ÖZEL BİR ORGANİZMANIN MİNİMAL BESİN İÇERİĞİNİ VE BÜYÜME FAKTÖRLERİNİ İÇERİR.**
  - *TREPONEMA PALLIDUM*, (FRENGİ ETMENİ)
    MYCOBACTERIUM LEPRAE, (CÜZAM HASTALIĞI SEBEBİ)
    BU BAKTERİLER İÇİN TAM ANLAMIYA YAPAY BİR ORTAM HENÜZ GELİŞTİRİLEMEMİŞTİR.

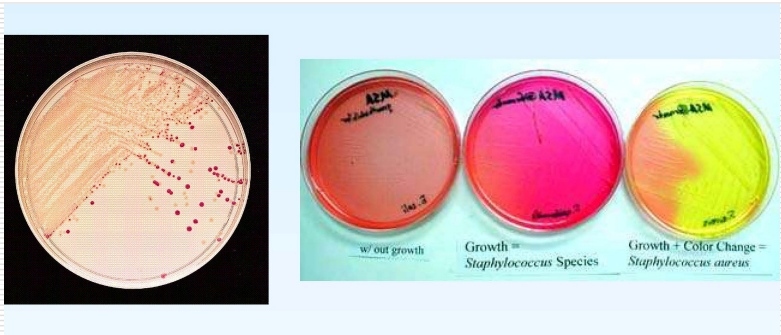
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ORTAM (**enrichment medium)** halophile (*Halococcus*) %25 [NaCl] BÜYÜYEBİLİRKEN DİĞERİ BÜYÜYEMEZ

KOMPONENT	***MİKTAR***	***FONKSİYONU***
Casamino acids	7.5 g	AMİNO ASİT, N, S VE P KAYNAĞI
Yeast extract	10.0 g	BÜYÜME FAKTÖRLERİ KAYNAĞI
Trisodium citrate	3.0 g	C VE ENERJİ KAYNAĞI
KCl	2.0 g	K^+ KAYNAĞI
$MgSO_4$ 7 H_2O	20.0 g	S VE Mg^{++} KAYNAĞI
$FeCl_2$	0.023 g	Fe^{++} KAYNAĞI
NaCl	250 g	Na^+ (ZENGİNLEŞTİRİLMİ (halophiles)
H2O	1 L TAMAMLANIR	
pH 7.4		

Difrensiyal Medya (Differential Media)

- Bu özel medyada bulunan özel kimyasallar yardımıyla birbirine yakın olan bakteri türleri birbirlerinden görünüş farklılıklarına dayanılarak ayırt edilebilmektedir.
- Örneğin
- **MacConkey Medyası:**
- Bu medyada laktoz, safra kesesi tuzları ve pH gösterici olarak nötür kırmızı kullanılır. Eğer bakteriler laktozu fermentlerlerse pembemsi bir renk, fermentasyon olmaz ise koloniler mor olarak görülür.

MacConkey Medyası



- **Phenol Red Medyası**
- Fenol Kırmızısı pH için bir gösterici olarak kullanılır. Ortamın asit olması durumunda Phenol red sarıya döner.
- Mannitolun fermentasyonu ortamın asite dönmesini ve dolayısıylada ortamın renginin değişmesini sağlar. Bu tür medayada aerobik bakteri aneorabik bakteriden ayırt edilebilir.
- **Eosin – Methylene Blue (EMB)**
- Bu kültür ortamında Laktoz (Lactose sugar) şekeri ve boyar madde olarakta eosin ve methylene blue bulunur ve laktoz fermentleyen bakterilerle fermenteyemeyen bakterilerin ayırımlarında kullanılır.
- Ayrıca bu medyada *E. coli* bakterisininde teşhisi mümkündür. Eğer üzerinde çalışılan bakteri *E. coli* ise kültürde karakteristik mavi-siyah renkli metalik yeşil renki koloniler görülür.

- **PEA (Phenylethyl alchohol agar)**
- Bu kültür ortamı G + bakterilernin belirlenmesinde kullanılır
- Phenyl ethyl alchohol G- bakterilerinin hücre duvarlarının gelişimini önlediği için bu bakteriler bu medayada büyümez.
- Ancak bazı durumlarda G- çokda az olsa büyüyebilir ancak kolonileri oldukça küçüktür.