

IMViC (İndol ve Sitrat Testi)

İndol, Metil red, Voges - Proskauer ve Sitrat, (Citrat) testlerinin ilk harflerinden oluşmuştur. Vi 'deki "i" küçük harf olarak yazılır ve sadece okuma kolaylığı sağlar. Bu testler koliform grup bakterilerin ayrımı için kullanılmaktadır. Son zamanda IMViC testleri IMVEC olarak kullanılmaktadır. E harfi Eijkman, testini simgelemektedir. Koliform grup bakteriler için HOMoC testleri de uygulanmaktadır.

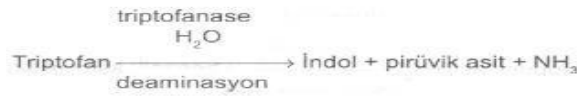
IMViC testleri, özellikle Enterobacteriaceae üyelerinin ilk tanımlama basamağında klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için vazgeçilmez testlerdir. Bu UMS'nin amacı IMViC test paketinde yer alan testlerin doğru uygulanmaları ve yorumlanmaları için bir rehber sunmaktır.

Bakteri	İndol	MR	VP	Sitat
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-
<i>Salmonella spp.</i>	-	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+
<i>Shigella spp.</i>	-	+	-	-

İndol Testi

Bu test, mikroorganizmaların bir aminoasit olan triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılır.

Aynı zamanda, bakterilerin cins (*Salmonella* (-), *Edwardsiella* (+), *E. coli* (+), *Klebsiella* (-), *Enterobacter* (+), ve türlerin (*P. multocida* (+), *P. haemolytica* (-), *P. mirabilis* (-), *P. vulgaris* (+)) ayırımında da işe yarar.



Materyal

- 1) İçinde triptofan bulunan sıvı besi yeri veya peptonlu su (tüpte, 5 ml).
- 2) Mikroorganizmaların saf ve taze kültürleri
- 3) Kontrol pozitif (*E. coli*) ve negatif (*S. gallinarum*) kültürleri
- 4) Ekilmemiş sıvı besi yeri
- 5) Kovaks veya Ehrlich ayırıcı

Metot

Mikroorganizmalar sıvı besi yerine veya peptonlu sıvıya ekildikten sonra 37 °C de 1-5 gün inkubasyona bırakılır. Kültürlerin üzerine kovacs (veya Ehrlich) ayırıcından 0.5 ml ilave edilir ve iyice karıştırılır.

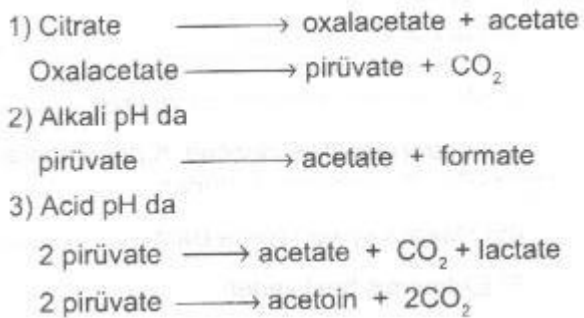
Değerlendirme

Tüplerin üst kısmında bir iki dakika içinde kırmızı bir halkanın oluşması pozitif reaksiyon (indol formasyonunu) ifade eder. Sarımsı halka indolun oluşmadığını gösterir (negatif indol testi). Renk, indol içinde bulunan pyrrole'den ileri gelir.

Sitrat Testi

Bu test, mikroorganizmaların, besi yerlerine katılan sitratı karbon kaynağı ve amonyum tuzlarını da nitrojen kaynağı olarak kullanabilme yeteneğini saptamada, bakteri cins ve türlerini identifikasyonda kullanılır. Bakteriler tarafından sitratın ayrışması (sitrat metabolizması) enzim sistemi tarafından gerçekleştirilir. Bu enzime citritase (citrate oxalacetate-lyase) veya citrate demolase adı verilir.

Bu enzimin aktivitesi için magnezyum veya manganez tarafından sağlanan divalen katyonlara gereksinim vardır. Sitrat metabolizmasında elde edilen ürünlerin ortamın pH'sı ile sıkı bir ilişkisi vardır. Son ürün ne olursa olsun, sitrat fermentasyonunda esas basamak, piruvat'ın meydana gelişidir. Pirüvatın ayrışma ürünleri besi yerinin pH 'sına bağlıdır.



Yukarıda da görüldüğü gibi alkali pH da (No.2), daha fazla acetate ve formate meydana gelmesine karşın, asit ortamda (No.3) acetylmethylcarbinol (acetoin) ve lactate'lar esas ürünler arasında bulunmaktadır. Sitrat fermentasyonu için kullanılan besi yerlerinde amonyum tuzlarının bulunması nedeniyle de, bakterilerin bu tuzu nitrojen kaynağı olarak kullanabilme yetenekleri de ölçülmektedir. Amonyum tuzu ayrışınca amonyak (NH₃) meydana gelerek ortamın pH sı yükselir. Bakteriler tarafından organik asit ve tuzlarının karbon kaynağı olarak kullanılması sonucu karbonatlar ve bikarbonatlar meydana gelir.

Materyal

- 1) Tüp içinde yatık Simmons citrate agar besi yeri (4-5 ml, pH 6.9 ve yeşil renkte) veya Christensen sitrat sülfid besi yeri (4-5 ml pH 6.7, açık renkte)
- 2) Test edilecek mikroorganizmaların taze ve saf kültürleri
- 3) Kontrol pozitif (Klebsiella aerogenes) ve negatif (E. coli) mikroorganizmaları
- 4) Ekilmemiş besi yerleri

Metot

Muayeneleri yapılacak saf kültürler steril fizyolojik su veya buffer ile biraz sulandırıldıktan sonra besi yerlerine ekimler yapılır ve tüpler 2-7 gün 37 °C inkubasyonda tutulur. Christensen besi yerine iğne ile inokulasyon yapılır ve yatık yüzeye de iğne sürülür.

Değerlendirme

- 1) Simmons citrate besi yerinde, uygun bir inkubasyon süresi sonunda hiçbir üremenin olmaması ve ortamın orijinal yeşil rengini muhafazası negatif reaksiyon ve ekim hattı boyunca üreme ile birlikte koyu mavi rengin meydana gelmesi de pozitif reaksiyon olarak değerlendirilir.
- 2) Christensen sitrat sülfid besi yerinde hiç bir renk değişikliğinin görülmemesi (açık rengin muhafaza edilmesi) negatif reaksiyon ve ekim hattı boyunca üreme ile birlikte pembe-kırmızı rengin oluşumu da pozitif reaksiyonu ifade eder.
- 3) Değerlendirme, kontrollere bakılarak yapılmalıdır.

Bazı organizmalar sitratı tek karbon (enerji) kaynağı olarak kullanırlar. Sitrat testi bakterilerin sitratı kullanma yeteneklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılır. Test için sitrat agar (Simmon's citrate agar) kullanılır. Tüpte yatık hazırlanan bu besiyeri karbon kaynağı olarak sadece sitrat içerir; nitrojen kaynağı olarak da amonyum tuzları bulunur. **Sitratı kullanan organizmalar** inorganik amonyum tuzlarını da tek nitrojen kaynağı olarak kullanabildiklerinden, **metabolizma alkali ürünlerin (amonyak) artışı ile sonuçlanır (pH>7.6)**. Ortamda bulunan indikatör madde bromtimol mavisi olup, pH'ın yükselmesine paralel olarak besiyerinin rengi yeşilden koyumaviye döner (7,8). Bakterilerin sitratı kullanma yeteneğinin test edilmesi özellikle Enterobacteriaceae üyelerinin ve diğer bazı gram negatif bakterilerin tanımlanmasında anlamlıdır. Çok az köken hariç Salmonella, Edwardsiella, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Serratia ve Providencia türleri sitrat pozitif iken Escherichia, Shigella, Morganella ve Yersinia sitrat negatiftirler.