



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıdalarda Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü

Bakteri izolasyon ve identifikasyonu

11. Hafta

Bakteri izolasyon ve identifikasyonu

Aslında izolasyon, yabancı bir sözcük olup, değişik anlamlar belirtirse de; mikrobiyolojide ayırma anlamına kullanılır. Böylece, farklı cins ve türden mikroorganizmaların oluşturduğu karışımdan tek bir türün diğerlerinden veya her bir tipin, tek tek ayrılarak, arı kültürlerin eldesi izolasyon olarak tanımlanmış olmaktadır.

Doğal ortamlar mikroorganizma ile bulaşıktır ve ortam koşullarına göre bulaşık mikroorganizmalar az veya çok sayıda, farklı özelliklere sahip türler olabilirler. İster eğitim ve araştırma amaçlı laboratuvar çalışmaları, isterse teknik amaçlı üretim çalışmaları olsun, çoğu mikrobiyolojik uygulamalar arı kültürün eldesini zorunlu kılar. Bu da farklı özellikteki türlerin, karışık ortamdan ayrılarak, diğer bulaşma etkenlerinden arıtılmasıyla sağlanabilir. Bu amaçla uygulanan teknikler izolasyon yöntemleri olarak tanımlanır. Mikrobiyolojik çalışmalarda yararlanılan izolasyon yöntemleri, aslında fazla sayıda olmakla birlikte; günümüzde sıklıkla kullanılanlar sürme ve dökme yöntemleri olarak ikiye ayrılabilir. Bu uygulamalar mikroorganizmaların havaya karşı durumları dikkate alınarak geliştirilmiştir. Örneğin, aerob mikroorganizmaların izolasyonu için sürme yöntemi; fakültatif anaerob, mikroaerofilik ve anaerob mikroorganizmaların izolasyonu için ise dökme yöntemi daha uygundur. Ayrıca, mikroorganizmanın doğal ortamda bulunduğu sayısal duruma göre de doğrudan izolasyon ve zenginleştirme tekniği ile izolasyon şeklinde de iki ayrı uygulamadan söz etmek kaçınılmazdır. Mikrobiyolojik çalışmalarda özellikle son iki yöntem büyük farklara sahiptir. Bu da farklı uygulamaları gerektirir.

Eğer mikroorganizma izolasyonu için kullanılan örnekte, izolasyonu amaçlanan mikroorganizmanın, besiyerinde birbirinden tümünden ayrı kolonilerin oluşumu için yapılacak yeterli seyreltme oranında, yeterli sayıda koloni oluşturup, rastlanma olasılığı bulunuyorsa, doğrudan izolasyonla sonuca gidilebilir. Bu durumda, kullanılan örnekten doğrudan bir tartım veya hacim alınarak, her petride 50-150 koloni oluşması tahmin edilen seyreltme oranına kadar fizyolojik su ilavesiyle çözüldürülüp seyreltilir ve buradan ekim yapılır. Ekim ya yüzeye sürme veya petriye dökme şeklinde gerçekleştirilir.

Zenginleştirme

Zenginleştirme kültürü yöntemiyle izolasyonda asıl amaç, izolasyonu düşünülen mikroorganizma türünü, ortamı paylaştığı diğer türlerden kolayca ayırmak ve karışık ortamda doğal olarak azınlıkta bulunan bir türü çoğunluğa taşımaktır. Örneğin, doğal olarak bulaşmış bir örnek (toprak, besin, bitkisel veya hayvansal materyal) aynı anda bakteri, maya ve küflerle bulaşmıştır. Bu tür bir örnekte bakteri izolasyonu amaçlanmış ise; doğrudan izolasyonla sonuca gitmek çok zordur. Çünkü, maya ve küfler bakterilerden daha hızlı gelişecekler ve bakteri kolonilerini kapatacaklardır. Benzer şekilde, yalnızca bakterilerle bulaşık bir örnekten doğrudan izolasyonda, karışımı oluşturan türler birbirine yakın oranda iseler, bunların oluşturacağı koloniler de yaklaşık aynı oranı koruyacağı için, istenilen türe ait koloninin belirlenmesi zor olacak ve çok sayıda koloninin mikroskopik incelenmesi gerekecektir. Bir de, araştırılması amaçlanan tür, karışık ortamda diğer türlere göre azınlıkta kalıyorsa, uygun koloni sayısına ulaşmak için yapılacak seyreltmelerde, bu tür daha da azalacak ve rastlanma olasılığı ortadan kalkabilecektir. İşte bu sakıncaları bir ölçüde de olsa giderebilmek için, izolasyona başlarken doğal örneklerle, amaca uygun özelliklerde bir sıvı besiyerine aşılama yapılarak, amaçlanan türün etkinleşmesini ve çoğunluğa geçmesini sağlamak için oluşturulan kültüre zenginleştirme kültürü denir. Bu uygulama zenginleştirme, özel olarak belirlenen koşullar ise zenginleştirme koşulları olarak tanımlanır.