

## ***E. coli* tip 1**

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. Aranması / Sayılması](#)

[02.01. Standart Kültürel Analiz Yöntemleri](#)

[02.02. MUG Yöntemi](#)

[03. Kullanılan Besiyerleri](#)

[03.01. LST Broth](#)

[03.02. EC Broth](#)

[03.03. Tryptone Water](#)

[03.04. EMB Agar](#)

[03.05. VRB Agar](#)

[03.06. Chromocult Coliform Agar](#)

[03.07. Chromocult TBX Agar](#)

[03.08. Fluorocult LST Broth](#)

[03.09. Kovacs' İndol Ayırıcı](#)

[03.10. Fluorocult LMX Broth](#)

[03.11. ReadyCult Coliforms](#)

[03.12. Fluorocult VRB Agar](#)

[03.13. Fluorocult MacConkey Agar](#)

[03.14. Fluorocult ECD Agar](#)

[03.15. UV El Lambası](#)

[03.16. Bactident \*E. coli\*](#)

### **01. Genel Bilgiler**

*Escherichia coli* ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve önce *Bacterium coli commune* olarak, daha sonra *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır. Bugün üzerinde en çok çalışılan ve genetik yapısı en iyi bilinen canlı türüdür.

*E. coli* 'nin doğada bulunduğu tek yer sıcak kanlı hayvanlar olarak bilinen memeli ve kanatlı hayvanların bağırsak sistemleri ve dolayısı ile bunların dışkılarıdır. Dolayısı ile bir gıda maddesinde, içme ya da kullanma suyunda *E. coli* 'ye rastlanması o örneğe doğrudan ya da lağım suyu aracılığı dışkı bulaştığının göstergesidir. *E. coli* tip 1 olarak tanımlanan standart *E. coli* suşları çok kolaylıkla belirlenebildiği için bir materyalde fekal kontaminasyon (dışkı bulaşıklığı) kontrolünde *E. coli* çok yaygın olarak kullanılan indeks (gösterge) bakteridir. Fekal kontaminasyon indeksi hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

Başlangıçta, bağırsakların doğal florası olarak kabul edilen ve burada B vitamini sentezine katılması nedeni ile yararlı olarak nitelendirilen *E. coli* 'nin İkinci Dünya Savaşından sonra diyarejenik (diyareye neden olan) suşlarının ortaya konulması ile bu bakteriye bakış değişmiştir. Bugün için gıda kaynaklı en tehlikeli patojen bakteri *E. coli* 'nin özel bir serotipi olan O157:H7 'dir.

*E. coli* hakkında daha fazla genel bilgi için [burayı tıklayın](#).

## 02. Aranması / Sayılması

Yukarıda da belirtildiği gibi *E. coli* tip 1, üzerinde en çok çalışılan bakteri olması nedeni ile kolaylıkla belirlenebilmektedir. Gıdalarda *E. coli* belirlenmesinde standart analiz yöntemi En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemidir. Katı besiyeri ve membran filtrasyon yöntemlerine ilaveten gelişmiş ve hızlı analiz yöntemleri de kullanılmaktadır.

### 02.01. Standart Kültürel Analiz Yöntemleri

Standart kültürel yöntemler ile *E. coli* tip 1 analizi aslında toplam fekal koliform bakteri analizinin devamıdır. Bir diğer deyiş ile *E. coli* tip 1 analizi yapılabilmesi için önce toplam koliform sonra fekal koliform analizlerinin yapılması gerekmektedir.

Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) ve dolayısı ile TSE 'nin *E. coli* arama / sayma yöntemi En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemidir. Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth (Merck 1.10266) besiyerinde standart toplam koliform aranması tamamlandıktan sonra **(bakınız ; Koliform Bakteriler)** gaz pozitif tüplerden EC Broth (Merck 1.10765) besiyerine ekim yapılır. 45,5 °C 'da 24 (gerekirse 48) saat yapılan inkübasyon sonunda tüplerde gelişme ve gaz oluşumunun görülmesi pozitif olarak değerlendirilir ve tüplerde fekal koliform olduğuna karar verilir **(bakınız ; Fekal Koliformlar)**. Bu tüplerden Tryptone Water (Merck 1.10859) besiyerine ekim yapılır. Yine su banyosunda 45,5 °C 'da 48 saat inkübasyon sonunda gelişme olan tüplere indol testi uygulanır. İndol pozitif olan tüpler *E. coli* tip 1 olarak değerlendirilir ve standart EMS tablosundan sayı hesaplanır. Fekal koliform analizinde olduğu gibi *E. coli* analizinde de inkübasyon sıcaklığı konusunda farklı kaynaklar 44,5 °C önermektedirler. Analiz raporuna inkübasyon sıcaklığı yazılmak kaydı ile bu sınırlar arasında inkübasyon sıcaklığı seçilebilir.

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 'nın *E. coli* arama/sayma yöntemi bundan daha uzun ve karmaşıktır. LST Broth besiyerinde pozitif sonuç veren her tüpten yine EC Broth besiyerine geçilip, 45,5 °C 'da 48 saat inkübasyona bırakılırken buna paralel olarak Eosin Methylen Blue (EMB) Agar (Merck 1.01347) besiyerine sürme yapılır. 37 °C 'da 24 saat inkübasyon sonunda metalik parlak yeşil koloniler muhtemel *E. coli* olarak değerlendirilir. Her petri kutusundan 5 adet koloni izole edilir, bunlara IMViC testleri uygulanır. IMViC testleri için **burayı tıklayın**. EC Broth uygulaması ile IMViC testleri artık IMVEC olarak adlandırılmaktadır. Her petri kutusundaki kolonilerden en az bir adedi IMViC testlerinde sırası ile ++ -- sonuç verirse ve EC Broth tüpünde gelişme olursa bu petrinin ekiminin yapıldığı LST Broth tüpü *E. coli* pozitif olarak değerlendirilir, standart EMS tablosundan sayı hesaplanır.

Gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların analizi ; temel ilkeler için **burayı tıklayın**.

Katı besiyeri olarak Violet Red Bile (VRB) Agar (Merck 1.01406), Eosin Methylen Blue (EMB) Agar (Merck 1.01347), Chromocult Coliform Agar (Merck 1.10426), Chromult Tryptone Bile X-glucuronide (TBX) Agar (Merck 1.16122) besiyerleri kullanılabilir. Standart VRB Agar besiyerinde 1- 2 mm çaplı kırmızı koyu renkli koloniler tümüyle koliform grup bakteri üyeleri olup, *E. coli* 'yi bunlar içinden ayırmak için ilave testlere gerek vardır. EMB Agar besiyerinde *E. coli* tipik metalik yeşil renkli koloniler oluşturmakla beraber, oluşan koloniler küçük olduğu için sayım zordur ve ayrıca kolonilerin ilaveten tanımlanmasına gerek duyulmaktadır. Chromocult Coliform Agar ise *E. coli* 'yi diğer türlerden belirgin bir renk

farklılığı ile ayırır. Chromocult TBX Agar besiyeri safra tuzları ve yüksek inkübasyon sıcaklığı ile (44 °C) refakatçi florayı inhibe eder, bu besiyerinde gelişen mavi – yeşil koloniler *E. coli* olarak sayılır.

*E. coli* 'nin analiz yöntemleri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

## 02.02. MUG Yöntemi

İlk kez Feng ve Hartman tarafından 1982 yılında ortaya konulan bir teknik ile *E. coli* aranmasında yeni bir yaklaşım gelmiştir. Bu yöntemin esası *E. coli* 'de yapısal olarak bulunan  $\beta$ -glucuronidase ( $\beta$ -GUR) enziminin belirlenmesidir ve bu enzim *E. coli* için karakteristiktir. *E. coli* 'nin geliştirileceği sıvı ya da katı besiyerine 4-methylumbelliferone glucuronide (MUG) ilave edilir. MUG,  $\beta$ -glucuronidase enzimi ile parçalanır ve parçalanma ürünlerinden olan methylumbelliferone 366 nm' de (uzun dalga boylu) UV ışını ile floresan verir.

*E. coli* suşlarının %95' den fazlasının  $\beta$ -glucuronidase enzimi içerdiği saptanmıştır. *E. coli* dışında *Shigella sonnei*, *Ent. aerogenes*, *Ent. cloacae*, *Citr. freundii*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus* spp. içinde  $\beta$ -GUR pozitif olan suşlara nadiren rastlanmaktadır.

MUG, sıvı ve katı besiyerlerinde, bir diğer deyiş ile EMS yöntemi, katı besiyeri kullanılan yöntemler ve membran filitasyon yöntemi ile yapılan *E. coli* analizlerinde kullanılabilir. MUG, *E. coli* (daha doğrusu koliform grup) için selektif besiyerlerinde yaygın olarak kullanıldığı gibi Plate Count Agar gibi bir genel besiyerine ilave edilerek toplam aerob mezofil bakteri ve *E. coli* aynı besiyerinde beraberce sayılabilmektedir.

MUG 'lu besiyerleri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

*E. coli* dışında  $\beta$ -GUR pozitif suşların *E. coli* analizlerinde sahte pozitif reaksiyon vermesi indol testi ile önlenir.  $\beta$ -GUR pozitif bakteriler içinde indol pozitif olan tek bakteri *E. coli* 'dir. MUG içeren Fluorocult Lauryl Sulfate (LST) Broth (Merck 1.12588), Fluorocult LMX Broth (Merck 1.10620) gibi bazı besiyerleri triptofan içerirler. İnkübasyondan sonra UV ışını ile floresan veren tüplere Kovacs indol ayırıcı (Merck 1.09293) damlatılarak indol testi yapılır, floresan pozitif ve indol pozitif tüpler *E. coli* olarak değerlendirilir. Bu yöntemde toplam analiz süresi 37 °C' da 24 (gerekirse 48) saat inkübasyon süresi ile floresan ve indol testleri için gereken birkaç dakikalık süre toplamıdır. Sıvı besiyerlerinde genel olarak 18 – 24 saat sonunda gelişme olduğu dikkate alınırsa analiz süresi oldukça kısadır.

Floresan kontrolü için mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunan uzun dalga boylu UV lambaları ile her zaman tatmin edici sonuç alınmamaktadır. Bu nedenle MUG reaksiyonunun belirlenmesi için geliştirilmiş özel 366 nm dalga boyundaki UV el lambası kullanılması önerilmektedir (Merck 1.13203).

Bazı *E. coli* suşları yoğun üremeye bağlı olarak aşırı miktarda asit oluşturabilirler ve bu asitlik floresan ışınımı maskeler. Bu gibi durumlarda besiyerine 1 ml 1 N NaOH (Merck 101564) ilavesi ile floresan reaksiyon kesinleştirilir.

MUG sisteminin kullanıldığı besiyerlerinde doğal olarak koliform grup analizi de yapılmaktadır. Fluorocult Lauryl Sulfate Broth besiyerindeki Durham tüplerinde gaz oluşumu koliform grup pozitif olarak değerlendirilir. Koliform grubun standart olarak kanıtlanması için

pozitif tüplerden yukarıda belirtildiği gibi Brilliant Green Bile %2 Broth (Merck 1.05454) besiyerlerine ekim yapılmalıdır. Fluorocult Lauryl Sulfate besiyeri kullanıldığında, bir anlamda *E. coli* sonuçları, koliform grup sonuçlarından daha çabuk olarak alınmaktadır. Bu yöntemde gaz oluşan tüplerde floresan pozitif ve indol pozitif sonuç alınır, o tüp için koliform grup doğrulanmasına gerek kalmaz. Aslında yapılan araştırmalar MUG içeren ve içermeyen Lauryl Sulfate Broth besiyerlerinde koliform bakteri sayısının doğrulanmasına gerek olmadığını, bu besiyerlerinde alınan sonuçların "yeterince doğru" olduğu istatistik analizlerle gösterilmiştir. Ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

MUG içeren besiyeri kullanılarak yapılan analizlerde sıklıkla kullanılan bir başka besiyeri de LMX Broth' dur. Bu besiyerinde ekim ve 37 °C' da 24 saat (gelişme olmayan tüpler için ilave 24 saat) inkübasyondan sonra gelişme olan tüplerin renkleri kontrol edilir. Koliform grup bakteriler besiyeri rengini mavi-yeşile dönüştürürken *E. coli* tayini yine floresan ve indol testi ile tamamlanır. Fluorocult LMX Broth besiyeri özellikle su analizleri için geliştirilmiş olup, fermente süt ürünlerinde (yoğurt, ayran, peynir) ve turşu gibi asitli gıdaların analizlerinde sahte pozitif sonuçlara neden olmaktadır.

MUG veya MUG + X-GAL kullanılan bu yöntemlerde eğer mutlaka fekal koliform aranmasına da gerek varsa koliform grubun pozitif olarak değerlendirildiği tüplerden yukarıda anlatıldığı gibi EC Broth besiyerine ekim yapılabilir. Kuşkusuz ekim, indol testinden ve floresan ışımının kesinleştirilmesi için NaOH ilavesinden önce yapılmalıdır. Fekal koliform olarak tanımlanan bakterinin %90' dan fazla olasılıkla *E. coli* olduğu göz önüne alınır, fekal koliform için analiz yapmaya ancak özel durumlarda gerek olduğu açıktır. Bu şekilde standart yöntemde belirtilen 6 günlük inkübasyon yerine 4 günlük bir inkübasyon uygulanmaktadır ve standart yöntemin tersine olarak bu gruptaki bakterilerin belirlenme sırası koliform grup ve *E. coli* (48 saat), fekal koliform (96 saat) şeklindedir.

MUG yöntemi ile standart analiz yöntemi yerine MUG yönteminin kullanılmasında bir takım gereksiz tartışmalar olmaktadır. *E. coli* suşlarının %95' inin MUG pozitif olduğu dikkate alındığında MUG sisteminin kullanıldığı yöntemlerde gerçek sayıya göre %5 daha az *E. coli* sayısı alınacağı açıktır. Bununla beraber analiz süresi standart yöntemde 6 gün sürer iken, özellikle gıda endüstrisi için önerilen ve MUG kullanılan otokontrol yönteminde analiz süresinin 2 gün sürmesi tartışmasız bir üstünlük sağlamaktadır. Fekal koliform analizi ise MUG kullanılan sistemlerde zorunlu olarak 4 gün sürmektedir. Rutin gıda analizinde Fluorocult LST Broth besiyerinde floresan reaksiyonu çoğunlukla 18 saatte alınabilmektedir.

Bunların dışında standart yöntem ile *E. coli* belirlenme yönteminde kayda değer endişeler vardır. Bu analiz mikropresör kontrollü su banyosunda 44,5 ± 0,1 °C sıcaklıkta yapılması gereken çok duyarlı bir analizdir. Su banyosu sıcaklığı 45 °C üzerine çıkarsa fekal koliformlar ile *E. coli* gelişemez ve gerçekte bu bakteriler olduğu halde sonuçta bu bakterilerin bulunmadığı şeklinde rapor yazılır. Bu sahte negatif (false negative) bir sonuçtur. Tersine olarak su banyosu sıcaklığı 43 °C' ı geçmezse bu kez de fekal olmayan koliformlar gelişerek sahte pozitif (false positive) sonuç verirler.

Bu gibi dezavantajlar dikkate alındığında tüm olumsuzluklarına karşın MUG yönteminin kullanılması standart yöntemle göre tartışmasız daha avantajlıdır.

MUG yönteminin bir dezavantajı piyasada bulunan bazı tüplerin kullanılan camın özelliğinden dolayı kendiliğinden floresan vermesidir. Bu tüpler MUG' lu besiyerleri ile kullanıldığında analiz sonucunda o tüpte gerçekte negatif sonuç olsa dahi tüpün kendisinden gelen floresan

ışma nedeni ile sahte pozitif sonuç alınmaktadır. Bu sakıncadan korunmak için tüplere MUG' lu besiyeri doldurulmadan önce tüpün kendiliğinden floresan verip vermediği kontrol edilmeli, tüp alınırken "366 nm UV el lambası ile kendiliğinden floresan vermeyen" tüpler sipariş verilmelidir. Benzer şekilde erlen, şişe, kavanoz konusunda da bu materyalin kendiliğinden floresan verip vermediği kontrol edilmelidir. Katı besiyeri için kullanılan petri kutularında bugüne kadar bu sorun ile karşılaşılmamıştır. Ancak bu konuda da dikkatli olmak gerekir.

Membran filtrasyon yönteminde de MUG katkısı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. MUG ilave edilen katı besiyerleri 18 saatten fazla inkübe edilmemelidir. Aksi halde floresan ışımaya tüm petriye yayılmakta ve hangi koloninin floresan pozitif, hangisinin negatif olduğu ayrılamamaktadır.

MUG ilave edilmiş katı besiyerlerinin en iyi kullanıldığı alanlardan birisi var / yok testi ile titre belirleme testleridir. Örneğin işletmede çalışanların el hijyeni için MUG katkılı Fluorocult VRB Agar yaygın ve etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

Bunların dışında MUG doğrudan *E. coli* identifikasyonunda da kullanılmaktadır. MUG emdirilmiş plastik şeritler ve basit bir inkübasyon küveti kullanılarak (Bactident *E. coli* ; Merck 1.13303) *E. coli* tanımlaması 30 – 120 dakika içinde yapılabilmektedir.

*E. coli* analizinde daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### **03. Kullanılan Besiyerleri**

#### **03.01. LST Broth (Merck 1.10266)**

Koliform analizlerinin başlangıç besiyeri olan LST Broth ile ilgili ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

#### **03.02. EC Broth (Merck 1.10765)**

Fekal koliform analizinde kullanılan EC Broth besiyeri ile ilgili ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

#### **03.03. Tryptone Water (Merck 1.10859)**

İndol testi için kullanılan dehidre besiyeri 15 g/l konsantrasyonda hazırlanır. Tüplere 10 'ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı olup oda sıcaklığında 2 aya kadar depolanabilir. İnokülasyondan sonra 35 –37 °C 'da 24 saat inkübasyondan sonra 1 ml Kovacs' indol ayırıcı (Merck 1.09293) damlatılarak indol testi yapılır. *E. coli* indol pozitif bakteridir. Standart *E. coli* analizinde inkübasyon sıcaklığı 45,5 °C 'dır. İndol testi için [burayı tıklayın](#). 500 g dehidre besiyeri ile 3333 adet 10 ml besiyeri hazırlanabilir.

#### **03.04. EMB Agar (Merck 1.01347)**

Koliform bakteri ve *E. coli* analizinde kullanılan EMB Agar ile ilgili ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.05. VRB Agar (Merck 1.01406)

Koliform bakteri analizlerinde kullanılan VRB Agar ile ilgili ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.06. Chromocult Coliform Agar (Merck 1.16122)

Dehidre besiyeri 26,5 g/l olacak şekilde distile su içinde karıştırılarak yaklaşık yarım saat süre ile karıştırılarak kaynatılır ve soğuyunca steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Besiyerinde oluşabilecek bulanıklık besiyeri performansını etkilemez. Bu besiyeri otoklavlanmaz. Sterilizasyon kaynar su banyosunda besiyerini eritirken yapılmış olur. Aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır. Hazırlanmış besiyeri opalesent ve sarımsı renktedir. Buzdolabında, ışık almayacak şekilde ve kurumayı önlemek üzere stretch film ile sarılarak 6 ay depolanabilir. Besiyeri bileşiminde bulunan seçilmiş peptonlar, piruvat ve fosfat tampon ağır hasar görmüş koliform bakterilerin kendilerini onarmalarını sağlarken tergitol-7, gram pozitiflerin ve bazı gram negatiflerin gelişimini baskılar. Koliform grup bakteriler için karakteristik olan  $\beta$ -D-galactosidase enzimi Salmon-GAL kromojenik substratını parçalayarak koliform bakterilerin pembemsi kırmızı koloni oluşturmasını sağlar. Bileşimdeki X-Glucuronide substratı ise *E. coli* için karakteristik olan  $\beta$ -D-Glucuronidase enzimi tarafından parçalanır. Böylece *E. coli* koliform bakteri olarak Salmon-GAL' i parçalaması yanında X-Glucuronide substratını da parçalayarak diğer koliform bakterilerden koyu mavi-menekşe renkli koloni oluşturması ile ayrılır. Besiyeri bileşimindeki triptofan varlığı ile doğrudan koloni üzerinde indol testi yapılmasına izin verir. Chromocult Coliform Agar besiyerinde diğer gram negatifler renksiz koloni oluştururlar. Bunlardan bir kısmı  $\beta$ -D-Glucuronidase aktivitesi nedeni ile açık maviturkuvaz renkli koloniler meydana getirirler. Gıda analizlerinde özellikle *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türleri başta olmak üzere yoğun bir refakatçi flora kontaminasyonu var ise kaynatarak yapılan sterilizasyon sonrasında besiyeri 45-50 °C' a soğutulup cefsulodin ilavesinin besiyerinin selektivitesini artıracak belirtmektedir. İlave edilecek cefsulodin miktarı 1 litre besiyeri için yayma ve dökme yöntemleri ile ekim yapıldığında 5 mg ; membran filtre ekimlerinde 10 mg olmalıdır. Cefsulodin 5 mg' ı 1 ml distile su içinde çözülerek besiyerine ilave edilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1509 adet petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.07. Chromocult TBX Agar (Merck 1.16122)

Özellikle et ve et ürünlerinin analizinde kullanılan dehidre besiyeri 36.6 g/l konsantrasyonda ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir ve petri kutularına dökülür. Buzdolabında ve karanlıkta 1 hafta depolanabilir. Besiyeri bileşimindeki kromojen substrat 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (X- $\beta$ -D-glucuronide) *E. coli* 'deki  $\beta$ -D-glucuronidase enzimi ile 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- ve  $\beta$ -D-glucuronide 'e parçalar, sonuç olarak *E. coli* kolonileri mavi – yeşil renkli olarak görülür. Refakatçi flora safra tuzları ile baskılanır. İnkübasyonun 44 °C 'da yapılması da refakatçi florayı baskılayan bir başka etkidir. İşlem görmüş gıdalarda *E. coli* analizi için önce 35 –37 °C 'da 4 saat canlandırma işleminden sonra inkübasyon sıcaklığının 44 °C 'a çıkartılması önerilir. Bu besiyeri membran filtrasyon tekniğinde de başarıyla kullanılmaktadır. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 1092 petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.08. Fluorocult LST Broth (Merck 1.12588)

Dehidre besiyeri 36,5 g/l olacak şekilde distile su içinde eritilir, içinde durham tüpü bulunan tüplere 10' ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı renktedir. Buzdolabında 2 ay, oda sıcaklığında 1 ay depolanabilir. Bileşimde bulunan lauryl sulfatı refakatçi floranın gelişimini baskımlarken yüksek düzeyde bulunan besin maddeleri ve fosfat tampon "laktozu yavaş kullanan" koliform bakterilerin dahi hızlı gelişimini ve fazla miktarda gaz çıkışını sağlar. Gaz çıkışı durham tüplerinde gaz birikmesi ile belirlenir. Gaz pozitif olan tüpler koliform grup olarak işaretlenir, bunlar 366 nm uzun dalga boylu UV el lambası (Merck 1.13203) ile loş bir ortamda kontrol edilir. Floresan ışınım görülen tüpler *E. coli* olarak işaretlenir. Besiyerinde bulunan triptofan nedeni ile doğrudan indol testi yapmak mümkündür. İndol testi besiyerine 1 ml Kovacs Indol Reagent (Merck 1.09293) ilavesi ile yapılabilir. Kuşkusuz indol testi sadece floresan ışınım veren kültürlerle uygulanır ve bu şekilde sahte MUG pozitif sonuçlardan sakınılmış olunur. Floresanın belirginleştirilmesi için tüpe ilave edilen NaOH indol testini etkilemez. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyerinden 1369 tüp hazırlanır. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.09. Kovacs' İndol Ayıracı (Merck 1.09293)

İndol testi için kullanılan hazır çözeltilidir. 100 ml şişe içeriği ile standart olarak 100 test yapılabilir. İndol testi Fluorocult LST Broth be Fluorocult LMX Broth ile ReadyCult Coliforms besiyerlerinde doğrudan yapılabilir. İndol testi için [burayı tıklayın](#).

### 03.10. Fluorocult LMX Broth (Merck 1.10620)

Özellikle su analizlerinde kullanılır. Tek kuvvette 17,0 g/l ; çift kuvvette 34,0 g/l olacak şekilde dehidre besiyeri distile su içinde eritilir, tüplere 10' ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarı renktedir. Oda sıcaklığında 6 ay depolanabilir. 15 °C altında depolanırsa besiyeri performansını etkilemeyen bir çökelti görülebilir. Bileşimde bulunan lauryl sulfatı refakatçi floranın gelişimini baskımlarken fosfat tampon koliform bakterilerin hızlı gelişimini sağlar. Bu besiyerinin bileşiminde bulunan 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-galactopyranoside (X-GAL), koliform grup tarafından parçalanarak besiyerinin mavi-yeşil renk almasını sağlayan bir kromojenik substrattır. Rengi mavi-yeşil olan tüpler 366 nm uzun dalga boylu UV el lambası (Merck 1.13203) ile loş bir ortamda kontrol edilir. Floresan ışınım görülen tüpler *E. coli* olarak işaretlenir. Tüp içinde aşırı asit gelişimi olur ise floresan net bir şekilde alınmayabilir. Bu gibi durumlarda tüpe 1 ml 1 N NaOH ilavesi ile floresan belirginleştirilir. Besiyerinde bulunan triptofan nedeni ile doğrudan indol testi yapmak mümkündür. Kuşkusuz indol testi sadece floresan ışınım veren tüplere uygulanır ve bu şekilde sahte MUG pozitif sonuçlardan sakınılmış olunur. Floresanın belirginleştirilmesi için tüpe ilave edilen NaOH indol testini etkilemez. Fluorocult LMX Broth besiyerinde durham tüpü kullanımına gerek olmaması bu besiyerine büyük bir kullanım kolaylığı sağlar. Gıda analizlerinde özellikle gram pozitif refakatçi flora yoğun ise otoklavlama öncesinde 30 mg/l konsantrasyonda novobiosin (Merck 1.06255) ilavesinin besiyerinin selektivitesini artıracak belirtmektedir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyerinden 2941 tüp hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.11. ReadyCult Coliforms (Merck 1.01295 ; 1.01298)

Su analizleri için hazırlanmış ve ışınlanarak sterilize edilmiş dehidre formdaki besiyeridir. Analiz edilecek suya ilave edilip karıştırılır ve doğrudan inkübasyona bırakılır. Besiyeri bileşimindeki lauryl sulfate refakatçı florayı inhibe ederken, kromojenik substrat X-GAL koliform bakterilerin, MUG ise *E. coli* 'nin belirlenmesinde kullanılır. Buna göre 35 –37 °C 'da 18 –24 saat inkübe edilir. Bu süre sonunda besiyerinin mavi – yeşil olması koliform bakterilerin varlığını gösterir. Besiyerinin sadece üst kısmında bu renk değişimi olur ise aynı şekilde koliform grup bakteri pozitif olarak değerlendirilir. Koliform grup pozitif bulunan örnekler daha sonra UV lambası ile (Merck 1.13203) floresan testi yapılır. Floresan ışımaya *E. coli* varlığını gösterir. Readycult Coliforms 50 ml (Merck 1.01295) ve 100 ml (Merck 1.01298) su analizinde koliform ve *E. coli* varlığını / yokluğunu gösteren test için kullanılmaktadır. Bu nedenle analizin yapılacağı kabın önceden sterilize edilmiş olması gereklidir. Aynı şekilde besiyeri su örneğine ilave edilirken gerekli hijyenik kurallara uyulmalıdır. Bu besiyeri 20 analizlik paketler halindedir. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### 03.12. Fluorocult VRB Agar (Merck 1.04030)

Normal VRB Agar besiyerinden farkı hazırlanmasının 39,6 g/l şeklinde yapılması ve inkübasyon sonrasında koliform grup bakteriler arasından uzun dalga boylu UV el lambası ile (Merck 1.13203) *E. coli* 'nin ayrılmasıdır. Kolonilerin floresan ışımaya dağıtması nedeni ile gerçekte olduğundan daha fazla *E. coli* sayılmasından sakınmak için inkübasyon 18 saati geçmemelidir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1010 adet petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#). Standart VRB Agar besiyeri için [burayı tıklayın](#).

### 03.13. Fluorocult MacConkey Agar (Merck 1.04029)

Normal MacConkey Agar besiyerinden farkı hazırlanmasının 50,1 g/l şeklinde yapılması ve inkübasyon sonrasında koliform grup bakteriler arasından uzun dalga boylu UV el lambası ile (Merck 1.13203) *E. coli* 'nin ayrılmasıdır. Kolonilerin floresan ışımaya dağıtması nedeni ile gerçekte olduğundan daha fazla *E. coli* sayılmasından sakınmak için inkübasyon 18 saati geçmemelidir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 798 adet petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#). Standart MacConkey Agar besiyeri için [burayı tıklayın](#).

### 03.14. Fluorocult ECD Agar (Merck 1.04038)

Bu besiyeri *E. coli* Direct olarak da adlandırılır. Dehidre besiyeri 53,1 g/l konsantrasyonda ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri sarımsı kahve renklidir. İnkübasyonun 44 °C 'da yapılması ve safra tuzları refakatçı florayı baskılar. Floresan yayılmanın önüne geçmek için inkübasyon 18 saat süre ile yapılmalıdır. Bu süre sonunda gelişen koloniler UV el lambası ile (Merck 1.13203) kontrol edilir ve floresan ışımaya verenler *E. coli* olarak işaretlenir. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 12,5 ml/petri hesabı ile 753 petri kutusu hazırlanabilir. Bu besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).



### **03.15. UV El Lambası (Merck 1.13203)**

MUG reaksiyonunun belirlenmesi için kullanılan uzun dalga boyu (366 nm) UV ışını sağlayan el lambasıdır. Diğer amaçlar için kullanılan UV lambaları ve çeşitli cihazlar ile kombine halde bulunan UV lambaları MUG reaksiyonunun belirlenmesinde sıklıkla sahte negatif sonuçlar vermektedir. UV el lambası ile ilgili olarak daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### **03.16. Bactident *E. coli* (Merck 1.13303)**

MUG reaksiyonundan yararlanılarak bir katı besiyerinden elde edilen izolatuın 30-120 dakika içinde *E. coli* olup olmadığının belirlenmesi için geliştirilmiş bir test kitidir. Koloninin izole edildiği besiyerinin karbohidrat içeriği ne kadar az ise sonuç o denli hızlı alınır. Sistemin uygulanması koloninin 0,2 ml distile su içinde yoğun bir bulanıklık verecek şekilde çözülmesi, test şeridini bu süspansiyona daldırarak ve her 30 dakikada kontrol ederek en çok 2 saat süre ile 37 °C' da inkübe edilmesi, uzun dalga boylu UV el lambası (Merck 1.13203) ile yapılan kontrollerde floresan ışınım görülürse koloninin *E. coli* olduğuna karar verilmesi şeklindedir. Floresan pozitif sonuçlar için inkübasyonun yapıldığı küvete 1 damla Kovacs' indol çözeltisi damlatılarak floresan pozitif bakterinin *E. coli* olup olmadığı kesinleştirilir. Test kiti 50 test şeridi, 50 reaksiyon küveti, bu küvetler için özel spor tüp ve 50 test için yetecek şekilde Kovacs' indol çözeltisi olan şişe olarak pazarlanmaktadır. Bactident *E. coli* ile ilgili daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).