

Staphylococcus aureus

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. Sayılması/Aranması](#)

[03. Doğrulanması](#)

[03.01. Koagülaz testi](#)

[03.02. Lateks Aglutinasyon Testi](#)

[03.03. Tüpte Koagülaz testi](#)

[03.04. Biyokimyasal Doğrulama](#)

[04. Kullanılan Besiyerleri](#)

[04.01. Giolitti-Cantoni Broth Base](#)

[04.02. Baird Broth](#)

[04.03. Baird-Parker Agar Base](#)

[04.04. Chapman Agar \(Staphylococcus Medium 110\)](#)

[04.05. Vogel-Johnson Agar](#)

[04.06. Kranep Agar](#)

[04.07. Mannitol Salt Phenol Red Agar](#)

[04.08. Brain Heart Broth](#)

[04.09. Brain Heart Agar](#)

[04.10. DNase Test Agar](#)

01. Genel Bilgiler

Gıda mikrobiyolojisinde *Staphylococcus* ile kastedilen *Staphylococcus aureus* 'dur. *S. aureus*, başta ısıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlık gösterir. Dolayısı ile gıdalarda ve/veya proses ekipmanında bu bakteriye ve/veya enterotoksinlerine rastlanması zayıf bir sanitasyon göstergesidir.

Son yıllarda tavşan, sığır, domuz etleri, süt, krema ve peynir başta olmak üzere çeşitli gıdalara ilişkin gıda zehirlenme vakaları giderek artmaktadır.

Önceleri gıda kaynaklı tüm stafilokokal gıda zehirlenmelerinin nedeni olarak koagülaz pozitif *S. aureus* suşları sorumlu tutulurken ve buna bağlı olarak gıdalarda koagülaz ve termonukleaz üreten *S. aureus* suşlarının aranması ve sayılması üzerinde durulurken bugün pek çok *S. aureus* suşunun enterotoksin üretmediği, buna karşı bazı koagülaz negatif *S. aureus* suşlarının enterotoksin oluşturabildiği belirlenmiştir. Buna ilaveten *S. intermedius*, *S. delphini* ve *S. hyicus* olmak üzere üç *Staphylococcus* türünün koagülaz pozitif olduğu saptanmıştır.

S. aureus insanlarda menenjit, septisemi ve yara iltihaplarına ve önemli ölçüde gıda zehirlenmelerine neden olur. Stafilokokal gıda zehirlenme riski bakteriyel gelişmenin ve/veya toksin oluşumunun azalması ile kayda değer ölçüde azaltılabilir. Yeterli ısıl işlem ile gıdanın depolama koşulları bu konuda en etkili önlemlerdir. Genel olarak gıdada 10^5 - 10^9 adet/g *S. aureus* varlığı enterotoksin oluşumu için "toksik düzey" olarak kabul edilir. Bununla beraber yukarıda belirtildiği gibi gıdada *S. aureus* bulunması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olacağı anlamına gelmeyeceği gibi tersine olarak gıdada *S. aureus* bulunmaması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmayacağına dair güvence vermez. Başta ısıl işlem olmak üzere çeşitli uygulamalar *S. aureus* hücrelerini öldürebilmekte ancak daha önce oluşmuş enterotoksini tahrip edemeyebilmektedir.

Gıdaların *S. aureus* açısından analizinde kullanılan standart yöntemlerin çoğunda mikrokoklar da gelişerek koloni oluştururlar. Örneğin bu amaçla en yaygın kullanılan Baird – Parker Agar besiyerinde *S. aureus* kolonileri aşağıda açıklanacağı gibi tipik etrafı berrak zonlu siyah renkli koloniler oluştururken, *Micrococcus* türleri daha küçük, siyah ancak, zonsuz koloni oluşturarak *S. aureus* kolonilerinden çok rahat bir şekilde ayrılabilirler. Buna göre, aynı besiyerinde *S. aureus* yanında mikrokoklar da analiz edilebilir.

S. aureus ile ilgili daha fazla genel bilgi için [burayı tıklayın](#).

02. Sayılması/Aranması

Stafilokok aranmasında katı besiyeri veya EMS yöntemi kullanılabilir. Katı besiyeri olarak en yaygın kullanılan besiyeri Baird-Parker Agar (Merck 1.05406) besiyeridir. Chapman Agar (=Staphylococcus Agar no 110 ; Merck 1.05469) besiyeri de pek çok laboratuvarında kullanılmaktadır. Standart analizde yayma yöntemine göre petri kutusuna 0,1 ml değil 1 ml' nin standart 3 petri kutusuna ekilmesi ve bu 3 petri kutusundaki sayının 1 ml ekim yapılmış tek petri kutusu olarak değerlendirilmesi ya da daha pratik olarak 14 cm çaplı büyük petri kutusuna doğrudan 1 ml ekim yapılması gerekir. Analiz edilecek gıdada stafilokok sayısı az ise EMS yöntemi kullanılır. Bu amaçla ise en uygun besiyeri Giolitti-Cantoni Broth (Staphylococcus Enrichment Broth acc. to Giolitti and Cantoni Merck 1.10675) Broth besiyeridir. Bunların dışında EMS yöntemi ile sayım ve/veya var/yok testinde Staphylococci Enrichment Broth acc. to Baird (Baird Broth ; Merck 1.07899), katı besiyeri olarak Vogel – Johnson Agar (Merck 1.05405), Mannitol Salt Phenol Red Agar (Merck 1.05404), KRANEP Agar (Potassium Thiocyanate Actidione Sodium Azide Egg-yolk Pyruvate Agar ; Merck 1.05395) çeşitli analizlerde kullanılmaktadır. Bunların dışında "Rabbit Plasma Fibrinogen Agar Medium " adlı besiyeri de son zamanlarda ISO tarafından standart analizlerde kabul edilmiştir.

S. aureus, koagulaz ve termonekroz pozitif olan ve telluriti telluriuma indirgeyen tek *Staphylococcus* türüdür. Bu indirgenme sıvı besiyerinde besiyerinin siyahlaşması, katı besiyerinde ise siyah koloni oluşması ile belirlenir. Tellurit içeren Giolitti-Cantoni Broth ile Baird-Parker Agar uluslararası testlerde kullanımı önerilen besiyerleridir. Mikrokoklar ve diğer stafilokoklar da bu besiyerlerinde hafif bir siyah renk veya siyahimsi koloni oluşturarak gelişirlerse de, bu kültürlerin *S. aureus* 'dan ayrımı kolaydır. Katı besiyerinde koloni etrafında yumurta sarısının parçalanmasına neden olan lesitinaz enzim aktivitesi ile berrak bir zon oluşur. Pek çok koagulaz pozitif *S. aureus* aynı zamanda lesitinaz pozitif iken Baird-Parker Agar besiyerinde gelişen diğer koloniler lesitinaz negatiftir. Atipik *S. aureus* suşları lesitinaz üretmezler. Süt ürünlerinde atipik *S. aureus* suşlarına sıklıkla rastlanmaktadır.

S. aureus ile ilgili daha fazla analiz yöntemi bilgisi için [burayı tıklayın](#).

03. Doğrulanması

İzolatin *S. aureus* olduğunun saptanmasında koagulaz testi önemlidir. Her ne kadar koagulaz negatif *S. aureus* mutant suşları varsa da bunlar oldukça nadirdir ve koagulaz testi stafilokok identifikasyonunda yaygın bir şekilde kullanılır. Bunun dışında biyokimyasal testler de *S. aureus* varlığını doğrular.

S. aureus ile ilgili daha fazla analiz yöntemi bilgisi için [burayı tıklayın](#).

03.01. Koagulaz Testi

Baird-Parker Agar besiyerinde etrafi berrak zonlu siyah koloniler tüpte koagulaz testi için Brain-Heart Infusion Broth (Merck 1.10493), lateks koagulaz testi için Brain-Heart Agar (Merck 1.13825) besiyerinde 37 °C' da 18-24 saat inkübe edildikten sonra buradan alınan kültürlerle koagulaz testi uygulanarak *S. aureus* doğrulanır. Koagulaz testleri taze kültür ile yapılmalıdır. 3 günden eski kültürler ile sahte negatif sonuç alınabilir. İdeal olarak Brain-Heart Broth veya Agar besiyerlerindeki inkübasyondan hemen sonra koagulaz testi uygulanmalıdır.

Baird – Parker Agar besiyerine yumurta sarısı – tellurit katkısı yerine kan plazması ilavesi ile de koagulaz testi yapılabilmektedir.

03.02. Lateks Aglutinasyon Testi

Bu amaçla test kartının (**Bactident Staph** ; Merck 1.13316) üst dairesine 1 damla 1 nolu çözültiden (test çözültisi), alt dairesine 2 nolu çözültiden (kontrol çözültisi) 1' er damla damlatılır. Damlatma işleminden önce çözültüler iyice çalkalanmalıdır. Şüpheli koloninin yarısı üst dairede, yarısı alt dairede damlanın kenarından başlayarak iyice süspanse edilir. Kültürün saf olduğundan emin olunur ise 2 ayrı koloni ile çalışılması daha doğrudur. Test kartı sağa sola ve öne arkaya eğilerek aglutinasyon izlenir. Bir kaç saniye içinde üst dairede aglutinasyon varken alt dairede aglutinasyon yoksa sonuç *S. aureus* 'dur. Her iki dairede aglutinasyon yok ise koloni *S. aureus* değildir. Üst dairede aglutinasyon yok iken alt dairede aglutinasyon varsa sonuç geçersizdir, test tekrarlanmalıdır. Bactident Staph ile 50 test yapılabilir.

03.03. Tüpte Koagulaz Testi

İdeal olarak Brain-Heart Broth kültürü kullanılmalıdır. Brain-Heart Agar kültürü kullanılacak ise koloni 1 ml steril distile su içinde süspanse edilerek kullanılabilir. Liyofilize tavşan plazması (**Bactident Coagulase** ; Merck 1.13306) 3 ml steril distile su ile sulandırılıp steril küçük tüplere 0,3 ml olacak şekilde dağıtılır ve üzerine 0,1 ml kültür ilave edilip 37 °C' da inkübasyona bırakılır. Her saat tüpte pıhtılaşma olup olmadığı tüpü yavaşça eğerek kontrol edilir ancak bu kontrol sırasında tüpün fazla eğilmemesine ve karıştırılmamasına özen gösterilmelidir. Tüpte belirgin pıhtı oluşumu (% 75 pıhtı) pozitif olarak değerlendirilir. 1 pakette 6 adet liyofilize şişe vardır. Her şişe 3 ml steril distile su ile sulandırılıp bundan 0,3 ml' si 1 örnek analizi için kullanılır. Buna göre 1 paket ile 60 test yapılabilir.

03.04. Biyokimyasal Doğrulama

Katı besiyerinde oluşan kolonilerin öncelikle katalaz pozitif olduğu kontrol edilmelidir. Bu amaçla **Bactident Catalase** (Merck 1.11351) kullanılabilir. DNase testi ise DNase Test Agar (Merck 1.10499) besiyerinde yapılır. *S. aureus* DNase pozitif bir bakteridir.

04. Kullanılan Besiyerleri

04.01. Giolitti-Cantoni Broth Base (Merck 1.10675)

Dehidre besiyeri 55 g/l olacak şekilde distile suda gerekirse ısıtılarak tümüyle çözündürülüp 18x180 mm büyük tüplere 19' ar ml dağıtılır ve otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı renktedir. Otoklav çıkışında potasyum tellurit çözeltisi ilave edilmeden buzdolabının alt raflarında 2 haftaya kadar depolanabilir. Besiyeri kullanılacağı zaman oda sıcaklığındaki tüplere filtre ile sterilize edilmiş %1 potasyum tellurit trihidrat (Merck 1.05164) çözeltisinden 0,1' er ml eklenir ve bu ekleme yapıldığında besiyeri kullanılmalıdır. Potasyum tellurit zehirli bir maddedir ve bu çözelti çeker ocak içinde hazırlanmalıdır. Benzer şekilde Giolitti-Cantoni Broth tüplerine 0,1' er ml potasyum tellurit eklenirken pipet asla ağızla değil puar ile kullanılmalı ve bu aktarma işlemi de çeker ocakta yapılmalıdır. Besiyeri bileşimindeki piruvat, glisin ve yüksek konsantrasyondaki mannitol stafilokokların gelişimini teşvik ederken refakatçi florada bulunan gram negatifler lityum klorür, gram pozitifler ise tellurit ile baskılanır. Mikrokokların baskılanması ise kısmen anaerobik inkübasyon ile sağlanır. Stafilokokların gelişimi besiyerindeki telluritin metalik telluriuma indirgenmesi sonunda oluşan siyah renk ile belirlenir. Giolitti-Cantoni Broth besiyeri gıdalarda EMS yöntemi ile *S. aureus* sayımı veya analiz edilen gıdanın belirli bir miktarında (hacim veya ağırlık) *S. aureus* 'un var/yok testi için kullanılır. Ekimden sonra tüplerin üzerine otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilmiş 2 ml steril sıvı parafin (Merck 1.07160) ilave edilerek kısmi bir anaerobik ortam sağlanır. 37 °C' da 18-24 saat inkübasyondan sonra siyahlaşma olan tüplerden Baird-Parker Agar (Merck) besiyerine sürme yapılarak sonuçlar doğrulanır. 500 gramlık 1 kutu dehidre Giolitti-Cantoni Broth ile 19 ml' lik 478 tüp hazırlanabilir. 1 kutu 100 g potasyum tellurit trihidrat 209 adet 500 g Giolitti-Cantoni Broth besiyeri için yeterlidir. 1 litre sıvı parafin şişesi ile 500 tüpte kısmi anaerob ortam sağlanır. ISO tarafından düşük sayıdaki stafilokokların belirlenmesinde kullanılması önerilen bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.02. Baird Broth (Merck 1.07899)

Besiyeri 43 g/l olacak şekilde distile su içinde eritilerek hazırlanır ve tüplere 9 'ar ml dağıtılıp, otoklavda 121 °C' da sterilize edilir. Kullanmadan önce buzdolabında 1 ay saklanabilen bazal besiyerine filtre ile sterilize edilmiş %1 potasyum telluritten (Merck 1.05164) 0,1' er ml ilave edilir ve bu ekleme yapıldığında besiyeri kullanılmalıdır. Potasyum tellurit zehirli bir maddedir ve bu çözelti çeker ocak içinde hazırlanmalıdır. Benzer şekilde Baird Broth tüplerine 0,1' er ml potasyum tellurit eklenirken pipet asla ağızla değil puar ile kullanılmalı ve bu aktarma işlemi de çeker ocakta yapılmalıdır. Tüplere 1 'er ml örnek ilave edildikten sonra 35 – 37 °C 'da 48 saate kadar inkübasyona bırakılır. Bu süre sonunda yoğun üreme ve siyahlaşma görülen tüpler muhtemel *S. aureus* olarak değerlendirilir. Besiyeri bileşimindeki lityum klorür ve potasyum tellurit refakatçi florayı inhibe ederken, diğer maddeler *S. aureus* gelişimin teşvik eder. 500 g besiyeri kutusu ile 9 ml olmak üzere 1291 adet tüp elde edilir. 100 g olan 1 kutu potasyum tellurit ile 100.000 tüp (77 kutu Baird Broth) için yeterli katkı elde edilir.

04.03. Baird-Parker Agar Base (Merck 1.05406)

58,0 g dehidre besiyeri 950 ml destile su içinde 1-2 dakika kaynatılarak tümüyle çözündürülür ve otoklavda 121 °C' da 20 dakika sterilize edilir. Bazal besiyeri 45 °C' a soğutulur ve manyetik karıştırıcıda yavaşça karıştırılırken üzerine önceden oda sıcaklığına getirilmiş 50 ml yumurta sarısı-tellurit (Egg-yolk tellurit ; Merck 1.03785) emülsiyonu ilave edilip standart 9 cm çaplı steril petri kutularına 12,5' er ml ve/veya büyük 14 cm çaplı steril petri kutularına 50' şer ml dökülür. Analiz edilecek örnekte *Proteus* kontaminasyonunun yüksek düzeyde olduğundan endişe ediliyor ise otoklav sonrası 50 mg/l konsantrasyonda olacak şekilde filtre ile sterilize edilmiş sulphamethazine ilavesi önerilmektedir. Hazırlanmış besiyeri yeknesak bir opak-beyaz bulanıklık gösterir. Petri kutuları strech filime sarılarak buzdolabının alt raflarında 2 aya kadar depolanabilir. Baird-Parker Agar besiyeri refakatçi floranın inhibisyonu için lityum klorür ve tellurit içerirken besiyeri bileşimindeki piruvat ve glisin stafilokokların gelişimini selektif bir şekilde stimüle eder. *S. aureus* kolonileri lipoliz ve proteoliz sonucunda koloni etrafında tipik zon ve halka oluşturmaları, tellurit telluriuma indirgenmesi sonucunda siyah koloni oluşturmaları olmak üzere 2 tipik karakteristik özellik ile belirlenirler. 37 °C' da 24 saat inkübasyon sonunda *S. aureus* 1-1,5 mm çapında siyah, parlak konveks koloniler oluşturur. Koloni çapı 48 saat inkübasyondan sonra 1,5-2,5 mm olur. Yumurta sarısı reaksiyonu ve tellurit indirgenmesi genellikle pozitif koagülaz reaksiyonu ile beraberce oluşur. Baird-Parker Agar besiyerinde yumurta sarısı yerine kan plazması ilavesi ile hemoliz testi de yapılabilir. İnsan kaynaklı *S. aureus* α-hemoliz yaparken sığır kaynaklı olanlar β-hemoliz yaparlar. Hemoliz reaksiyonu besiyerinin 37 °C' da 24 veya 48 saat inkübasyonu ve sonra oda sıcaklığında veya tercihen buzdolabında 1 gece bırakılması ile daha kesin olarak saptanır. 500 g 1 kutu Baird-Parker Agar besiyeri ile yumurta sarısı-tellurit emülsiyonu ilave edilmiş olmak üzere 689 adet standart 9 cm petri kutusu (12,5 ml/petri) veya 172 adet 14 cm çaplı büyük petri kutusu (50 ml/petri) hazırlanır. 500 g olan 1 kutu dehidre bazal Baird-Parker agar besiyeri için 9 kutu 50 ml' lik yumurta sarısı-tellurit emülsiyonu kullanılmaktadır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.04. Chapman Agar (Staphylococcus Agar no 110 ; Merck 1.05469)

146,5 g besiyeri ısıtılarak 1 litre distile su içinde eritilir ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilip, petrilere dökülür. Besiyeri sarımsı kahverengidir. Standart olarak yayma yöntemi ile ekim ve 35 – 37 °C 'da 48 saat inkübasyon yapılır. Besiyeri bileşimindeki %7,5 sodyum klorür konsantrasyonu pek çok refakatçi bakteri için inhibitör etki yapar. *Bacillus* türlerinin daha fazla inhibisyonu için besiyeri bileşimine 65 mg/l sodyum azid (Merck 1.06688) ilavesi önerilmektedir. Gelişen koloniler içinde *S. aureus* mannitolden asit oluşturma, jelatini parçalama ve pigment oluşumu ile ayrılır. *S. aureus* altın sarısı koloni oluşturur, koloni üzerine 1 damla %0,04 bromtimol mavisi (Merck 1.03026) çözeltisi ilave edildiğinde mannitolün kullanımına bağlı olarak sarı renge döner. Jelatinin parçalanması ise toksisitenin göstergesi olarak kabul edilir. Koloni üzerine doymuş amonyum sülfat (Merck 1.01217) çözeltisi ya da %20 'lik sülfosalisilik asit (Merck 1.00691) çözeltisinden damlatıldığında koloni etrafında berrak zon oluşumu jelatinin parçalandığını gösterir. *S. aureus* jelatini parçalama, mannitolü kullanma ve pigment oluşturma özelliği ile bu besiyerinde gelişen diğer türlerden ayrılır. 500 gram olan 1 kutu besiyeri ile standart 12,5 ml/petri hesabı ile 273 petri kutusu hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.05. Vogel-Johnson Agar (Merck 1.05405)

Bu besiyerinin hazırlanışında farklı bir uygulama vardır. 58 g/l olarak distile suya ilave edilip 30 dakika kendi halinde bırakılır. Bu süre içinde 5 dakika aralıklarla karıştırılır. Son karıştırmadan sonra otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilip, 45 °C 'a soğutulur ve filtre ile sterilize edilmiş 0,24 g potasyum tellurit (Merck 1.05164) çözeltisi ilave edilir, karıştırılıp petri kutularına dökülür. Besiyeri bileşimindeki tellurit ve lityum klorür refakatçı florayı baskımlarken, mannitol *S. aureus* gelişimini teşvik eder ve aynı zamanda fenol red ile belirlenen şekilde koloni etrafında berrak zon oluşmasını sağlar. *S. aureus* aynı zamanda telluriti metalik telluriuma indirgeyerek koloninin siyah renkli olmasını sağlar. Petri kutularına dökülmüş kırmızı renkli berrak besiyeri buzdolabında 1 hafta depolanabilir. Ekim standart yayma yöntemi ile yapılır ve 35 °C 'da 48 saat inkübasyon sonunda gelişen siyah renkli ve etrafında sarı zon olan koloniler *S. aureus* olarak sayılır. 500 g olan 1 kutu besiyeri ile 689 adet standart 12,5 ml petri kutusu hazırlanır. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.06. Kranep Agar (Merck 1.05395)

Özellikle dondurma analizleri için önerilen bu besiyeri Potassium thiocyanate Actidione Sodium Azide Egg-yolk Pyruvate Agar olarak da bilinir. Hazırlanması için 900 ml distile su içinde 74,0 g dehidre besiyeri ısıtılarak eritilir, otoklavda diğer stafilokok besiyerlerinden farklı olarak 110 °C 'da 20 dakika sterilize edilir. 45 °C 'a soğutulup üzerine oda sıcaklığına getirilmiş 100 ml steril %50 yumurta sarısı emülsiyonu (Egg-yolk Merck 1.03784) ilave edilir, karıştırılır ve petri kutularına dökülür. Standart yayma yöntemi ile yapılan ekim ve 35-37 °C 'da 48 ve gerekirse oda sıcaklığında ilave olarak 24 saat inkübasyon sonunda oluşan ve etrafı belirgin bir opak zon ile çevrili altınimsı sarı – kahverengi, parlak konveks koloniler *S. aureus* olarak sayılır. Besiyeri bileşimindeki sodyum azid ve lityum klorür çoğu refakatçı floranın gelişimini baskımlarken, potasyum tiyosiyanat Gram negatif florayı inhibe eder. Actidione (Cycloheximide) küflerin ve sporlu bakterilerin gelişimini engeller. Sodyum piruvat inhibitör maddelerin *S. aureus* üzerine olası baskılamasını ortadan kaldırır ve bu bakterinin gelişimini sağlar. Mannitol de benzer şekilde *S. aureus* için gelişmeyi teşvik edici etki yapar. Yumurta sarısı ise *S. aureus* 'un lesitinaz aktivitesinin göstergesidir. 500 g olan 1 kutu besiyeri ile standart 12,5 ml/petri hesabı ile 540 petri kutusu hazırlanır. Bu miktar için gereken 100 ml 'lik %50 yumurta sarısı emülsiyonu ise 7 adettir. %50 Egg – yolk emulsion (Merck 1.03784) 10 adet 100 ml şişe olarak pazarlandığına göre 1 kutu 500 g bazal besiyeri için 1 kutu katkı yeterlidir.

04.07. Mannitol Salt Phenol Red Agar (Merck 1.05404)

Chapman Agar (Staphylococcus Medium 110) 'un modifikasyonudur. 108 g/l olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika süre ile sterilize edilir ve petri kutularına dökülür. Standart yayma yöntemi ile ekim ve 35-37 °C 'da 3 güne kadar yapılan inkübasyon sonunda parlak kırmızı besiyerinde gelişen ve etrafı sarı zon ile çevrili büyük parlak sarı – opak koloniler *S. aureus* olarak sayılır. Besiyeri bileşimindeki yüksek tuz konsantrasyonu refakatçı floranın gelişimini baskımlar. Mannitol *S. aureus* 'un gelişimini desteklerken, aynı zamanda koloni etrafında fenol red ile belirlenen sarı zon oluşumunu sağlar. 500 g besiyeri ile standart 12,5 ml/petri hesabı ile 370 petri hazırlanabilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.08. Brain Heart Broth (Merck 1.10493)

Dehidre besiyeri 37 g/l olacak şekilde distile su içinde gerekirse ısıtılarak eritilip tüplere 10' ar ml dağıtılır ve otoklavda 121 °C' da sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kahverengidir. Buzdolabında 2 ay depolanabilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 1351 adet tüp hazırlanabilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

04.09. Brain Heart Agar (Merck 1.13825)

Dehidre besiyeri 52 g/l olacak şekilde distile su içinde gerekirse ısıtılır ve otoklavda 121 °C' da sterilize edilir ve steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri hafif opalesent ve kahverengidir. Buzdolabında 2 ay depolanabilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 769 petri kutusu hazırlanabilir. Brain Hearth Infusion (Merck 1.10493) besiyerine 15 g/l olacak şekilde agar (Merck 1.01613) ilavesi ile de Brain Hearth Agar besiyeri hazırlanabilir.

04.10. DNase Test Agar (Merck 1.10449)

Dehidre besiyeri 42 g/l olacak şekilde distile su içinde gerekirse ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C' da 15 dakika sterilize edilip steril petri kutularına 12,5' er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri opalesent ve kahverengidir. 37 °C' da 18-24 saat inkübasyon sonunda oluşan kolonilerin üzeri 1 N HCl (Merck 1.00317) ile kaplandığında koloni etrafında berrak zonlar oluşumu DNase pozitif olarak değerlendirilir. 500 g olan 1 kutu dehidre besiyeri ile 952 petri kutusu hazırlanabilir.