

# Süt ve Mamüllerinden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanımı Üzerinde Araştırmalar

Doç. Dr. Erol ERGÜLLÜ

Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ürün. Tek. Böl. — İZMİR

## 1. GİRİŞ

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan ve laktozu gaz oluşturarak fermente eden mikroorganizmalar gıda maddelerinde, özellikle süt ve mamülleri teknolojisinde önemli rol oynarlar. Süt ve mamüllerinin kalitesini olumsuz yönde etkileyen bu gruptaki bakteriler ayrıca gıda maddeleri üretim ve işlenmesinde genellikle temizlik ölçüsü ve indikatörü olarak da belirlenirler.

Literatürlerde «Koli bakterileri», «Koli-Aerogenes» veya genellikle belirtildiği üzere «Koliform grubu bakteriler» ismi altında yer alan bu bakteriler için Amerikan standard metodlarında bir tanımlama yapılmıştır (15). Bu tanımlamaya göre koliform grubu bakterileri içerisinde, aerob ve anaerob gelişen, spor oluşturmayan, laktozdan gaz meydana getiren, kaynak farkı gözetilmeksizin tüm gramnegatif bakteriler yer almaktadır.

Gramnegatif çubuk bakterilerinin tanımı, genellikle biyokimyasal kriterlere dayanılarak yapılmaktadır. Bu bakterilerin tanımı üzerinde genellikle tıp mikrobiyolojisinde detaylı çalışmalar yapılmış ve tanımdaki kriterler ortaya konulmuştur (4, 5, 6, 10, 13).

Enterobacteriaceae alt komitesi tarafından gramnegatif çubuk bakterilerinin tanımında 19 reaksiyonun ele alınması önerilmektedir (12). Bulling (2) daha az sayıdaki biyokimyasal kriterin tanımlamada yeterli olduğunu belirlemiş ve gram özellik ile hareketlilik kriterleri yanında 11 reaksiyonu ele almıştır.

Hechmann ve Leistner (7) tanımlamada kısa sürede sonuç veren bir yöntem üzerinde çalışmışlar ve çok farklı biyokimyasal testleri uygulamışlardır.

Texdorf ve arkadaşları (16) sütte izole ettikleri gramnegatif bakterilerin tanımına yönelik uygulamada, türlerin farklı değerler ortaya koyduğunu belirlemişlerdir.

Laktozu fermente eden Enterobakter'lerinin tanımı üzerinde Closs ve Digranes'in (3), keza Helmann'ın (8) yaptıkları çalışmalarda da çeşitli reaksiyonlar yanında IMVIC testleri esas alınmıştır.

Wiesner (17) koliform grubu bakterilerin tanımında gram özellik ve laktozdan gaz oluşturma yanında 5 farklı kriteri incelemiş ve bu kriterlere göre **Escherichia**, **Citrobacter**, **Arizona (Salmonella)**, **Klebsiella**, **Enterobacter aerogenes**, **Enterobacter cloacae**, **Enterobacter liquefaciens** ve **Hafnia** türlerini belirlemiştir.

## Ö Z E T

Araştırmada süt ve mamüllerinde izole edilen ve Enterobacteriaceae familyasında yer alan 942 kültürün tanımı yapılmış ve türlerin tanımında 15 farklı biyokimyasal kriter ele alınmıştır.

Elde edilen bulgulara göre laktozdan gaz oluşturan koliform grubu bakteri türlerinin belirlenmesinde en önemli kriterlerin indol, sitrat, H<sub>2</sub>S, Voges.-Proskauer, metilkırmızısı, hareketlilik, ornithindekarboksilaz, lisindekarboksilaz ve laktozdan gaz oluşturma reaksiyonlarının olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle özellikle rutin analizlerde belirtilen kriterlerin ele alınması koliform grubu bakteri türlerinin kesin tanımı için yeterli görülmektedir.

İzole edilen koliform grubu bakteri türleri arasında öncelikle **E. coli** ve **Ent. aerogenes**'in süt ve mamüllerinin yüksek oranlarda bulunduğu ve bunları sırasıyla **Citrobacter**, **Klebsiella** ve **Ent. cloacae**'nin izlediği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar, süt mikrobiyolojisinde gram negatif çubuk bakterilerinin tanımında belirli bazı güçlükler olduğunu göstermiştir (1, 9, 14). İzole edilen türlerin çok fazla sayıda irregüler ve intermediar tipleri içermesi nedeniyle, koliform grubu bakterilerin tanımında yer alan ve kısaca IMVIC olarak belirtilen testler, türlerin kesin ayırımını ortaya koymaktan uzak kalmaktadır.

Araştırmada süt ve mamüllerinden izole edilen ve Enterobacteriaceae familyasında yer alan kültürlerden laktozu gaz oluşturarak fermente eden mikroorganizmaların tanımı yapılmış ve bu gruptaki türlerin ayırımında, ilerde yapılacak çalışmalara yararlı olabilecek kriterlerin belirlenmesine çalışılmıştır. Tanımlamada basit, fakat türlerin tanımında kesin sonuç veren, biyokimyasal niteliklerin ele alınmasına özen gösterilmiştir.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada ele alınan gram negatif kültürler süt ve süt mamüllerinden izole edilmiştir. Kültürlerin izolasyonunda Kristalviole-neutral kırmızısı-safra-agar (VRB-agar), Mac Conkey-agar ve Desoxycholat-laktoz-agar olmak üzere 3 ayrı selektif besi ortamı kullanılmıştır.

İzole edilen kültürlerin saflaştırma işlemi için besi ortamlarından alınan koloniler pepton-maya-glikoz buyyonuna aşılansmış ve 24 saatlik inkübasyondan sonra, Case-agar çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. Gelişen koloniler morfolojik olarak (Şekil, büyüklük, pigment oluşturma v.s.) incelenmiş ve kolonilerin aynı görünümde olup olmadıkları belirlenmiştir. Saf olmayan kültürler tekrar buyyona alınmış ve kültürlerin saflaşmasına dek bu işleme devam edilmiştir. Saflaştırma işleminden sonra koloniden iğne öze ile alınarak stok-agara (pepton-maya-et ekstraktı-glikoz-agar) daldırma şeklinde aşılama yapılmış ve 12 saatlik inkübasyondan sonra tanımlama yapılmaya dek saklanmıştır. Kültürler 6 ayda bir yeniden aynı ortama aşılansarak muhafaza edilmiştir.

### 2.1. Kültürlerin ön ayırımı

Kültürlerin ön ayırımı için 24 saatlik buyyondan gram boyama yapılmış ve gram negatif özellik gösteren ve çubuk şeklinde görülen

kültürlerden Enterobacteriaceae familyasına dahil olanları ayırmak için cytochromoksidaz (sitokromoksidaz) testi ile oksidasyon-fermentasyon testi uygulanmıştır.

Cytochromoksidaz testi için Case-agar (Kaseinpepton-soyafasulyesi pepton-agar) geliştirilen kültürden bir koloni alınarak filtre kağıdına emdirilmiş cytochromoksidaz ayıracağına sürülmüştür. Pozitif reaksiyonda 1-2 dakika içerisinde mavi renk oluşmuştur. Uygulamada Enterobakterileri daima negatif reaksiyon vermiş, yani ayrıca renk değişimi olmamıştır. Şüpheli görülen reaksiyonlarda aynı ayıraktan petrideki koloniler üzerine de bir kaç damla dökülmek suretiyle işlem tekrarlanmış ve renk değişimi olup olmadığı gözlenmiştir. Belirtilen zamandan daha sonra meydana gelen koyu mavi renk değişimi dikkate alınmamıştır.

Oksidasyon - fermentasyon testi için kültür kolonisinden iğne öze ile oksidasyon - fermentasyon (O/F) besi ortamına daldırma şeklinde aşılama yapılmış ve bu işlem 2 ayrı tüpte uygulanmıştır. Aşılansadan sonra tüpün birisi steril sıvı parafinle kapatılmıştır. 37°C'de 24 - 48 saat inkübasyondan sonra her iki tüpte (parafinli ve parafinsiz) yeşil rengin sarıya dönüşmesi fermentatif, yalnız parafinsiz tüpte sarıya dönüşmesi oksidatif fermentasyon olarak değerlendirilmiştir. Enterobakterileri aerob ve fakültatif anaerob gelişmeleri ve glikozdan asit oluşturmaları nedeniyle her iki tüpte de sarı renk (Bromtimol mavisi indikatörü) oluşturmuşlar ve diğer gramnegatif bakterilerden ayırt edilmişlerdir (Çizelge 1).

Çizelge 1: Gram negatif bakterilerin genus düzeyinde ayırımı

Genus	Gram boyama	Cytochrom oksidaz reaksiyonu	Glikoz fermentasyonu	Suda çözünmeyen pigment oluşturma
Enterobacteriaceae	—	—	fermentatif	—
Pseudomonas	—	+	oksidatif	—
Achromobacter	—	—	oksidatif veya alkali	—
Alcaligenes	—	±	—	—
Flavobacterium	—	±	oksidatif fermentatif veya alkali	sarı
Aeromonas	—	+	fermentatif	—

## 2.2. Kültürlerin tanımı

Kültürlerin tanımında şu yöntemleri uygulanmıştır (4).

### 1. İndol oluşumu, H<sub>2</sub>S o'uşumu ve Hareketlilik deneyi :

Belirtilen testlerin uygulanmasında SIM-besi ortamı kullanılmış ve küçük deney tüplerindeki besi ortamına kültür kolonisinden iğne öze ile besi ortamının en alt yüzeyine kadar daldırma şeklinde aşılama yapılmıştır. 37°C de 24 saatlik inkübasyondan sonra aşağıdaki sıra ile değerlendirme yapılmıştır.

**a — Haraketlilik :** Hareketli kültürlerde aşılama kanal boyundan etrafa doğru diffuz bir yayılma gösterdiği gözlenmiş ve besi ortamında bulanıklık saptanmıştır. Hareketsiz kültürlerde ise, yalnız aşılama kanal boyunca gelişim olmuş ve besi ortamı berrak şekilde kalmıştır.

**b — H<sub>2</sub>S oluşumu :** Aşılama kanal boyunca veya besi ortamının tüm yüzeyinde rengin siyaha dönüşümü pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif reaksiyonda besi ortamında renk değişimi görülmemiştir.

**c — İndol oluşumu :** Besi ortamı üzerine birkaç damla (0.5 - 1 ml kadar) Kovacs indol ayracı katılmıştır. Pozitif reaksiyonda besi or-

tamının üst yüzeyinde hemen koyu kırmızı bir renk oluşmuştur. Negatif kültürlerde renk değişimi olmamış ve ayıraç ilavesinden sonra besi ortamı açık sarımsak bir renk almıştır.

### 2. Jelatinin sıvılaştırma deneyi :

Jelatin agara tek çizgi şeklinde aşılama kültürler 37°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmış ve petri kabındaki kültürler üzerine HgCl<sub>2</sub> ayracı dökülmüştür. Pozitif reaksiyonda koloniler etrafında veya altında (kültürün bir spatül ile uzaklaştırılmasından sonra belirlenir) berrak bir zon oluşmuştur. Negatif reaksiyonda besi ortamında değişiklik olmamıştır.

### 3. Metilkırmızısı (MR) ve Voges - Proskaver (VP) deneyi :

Belirtilen testlerin uygulanmasında aynı besi buyyonu kullanılmış ve içerisinde yaklaşık 3'er ml besi buyyonu bulunan 2'şer tüpe aşılama yapılmıştır. 37°C de 3 gün inkübasyona bırakılan tüplerde değerlendirme şu şekilde yapılmıştır.

**a — Metilkırmızısı :** Tüplerden birisine 5 damla metil kırmızısı ilave edilmiştir. Pozitif reaksiyonda besi buyyonunun rengi hemen kırmızıya, negatif reaksiyonda ise sarıya dönüşmüştür.

**b — Voges - Proskauer :** Tüplerden diğere yaklaşık 2 ml Barrit ayırıcı katılmış ve iyice karıştırıldıktan sonra takriben 60 dakika içerisinde değerlendirme yapılmıştır. Pozitif reaksiyonda besi ortamı üst kısımdan başlayarak kırmızı - viole bir renk almıştır.

Negatif reaksiyonda ise besi ortamı gri - kahverengi bir renk göstermiştir.

#### 4. Ornithin dekarboksilaz deneyi :

Kültür hem ornithin içeren ve hemde ornithin içermeyen (basal ortamı) besi buyyonuna aşılanmış ve her iki tüpteki besi ortamının üzeri yaklaşık 0.5 cm kalınlığında steril sıvı parafinle kapatılmıştır. 37°C de 4 gün süre ile inkübasyona bırakılan kültürler yaklaşık 8 - 10 saat sonra besi buyyonunun viole rengini sarıya dönüştürmüştür.

İlk değerlendirme 24 saat sonra yapılmış ve daha sonraki sürelerde her gün besi buyyonunun rengi kontrol edilmiştir. Reaksiyon sonucunun değerlendirilmesi renk değişimine göre şu şekilde yapılmıştır.

Ornithin'li besi ortamı	Ornithin'siz besi ortamı (Şahit tüp)	Sonuç
sarı	sarı	negatif
viole	sarı	pozitif

#### 5. Lysin dekarboksilaz deneyi :

Ornithin dekarboksilaz deneyinde uygulanan yöntem göre yapılmış, ancak besi ortamı L-lysin-hidroklorid içermiştir.

#### 6. Sodyummalonat deneyi :

İçerisinde yaklaşık 3 ml besi buyyonu bulunan tüpe kültür kolonisinden aşılama yapılmış ve inkübasyon 20 saat süre ile 37°C'de uygulanmıştır. Pozitif reaksiyonda besi ortamının yeşil rengi maviye dönüşmüş, negatif reaksiyonda ise renk değişimi olmamıştır.

#### 7. Simmons-sitrat agarda gelişme deneyi:

Kültür kolonisinden öze ile alınmış ve petri-deki besi ortamı üzerine çizgi şeklinde aşılanmıştır. Aşılama sırasında koloninin geliştirildiği besi ortamından herhangi bir besinin maddesinin alınmamasına özen gösterilmiştir. Aşı-

lanan kültür 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş-buna bağımlı olarak besi ortamı renginin koyu tir. Pozitif reaksiyonda kültürün geliştiği ve maviye dönüştüğü saptanmıştır. Negatif reaksiyonda ise kültürde gelişme görülmemiş ve besi ortamının birli yeşil rengi değişmemiştir.

#### 8. Karbonhidratların fermentasyon deneyi:

Küçük deney tüplerine (12/120) 3 ml doldurulan besi buyyonuna aşılama 24 saatlik kültür buyyonundan yapılmış ve tüplere yaklaşık 0.04 ml (1 damla) kültürden ilave edilmiştir. Aşılanan kültürler 1 hafta süre ile 37°C de inkübasyona bırakılmış, ancak her 24 saat ara ile tüpler kontrol edilmiştir. Asit oluşumundaki değişim besi buyyonuna indikatör olarak katılan bromtimol mavisi ile belirlenmiştir. Pozitif reaksiyonda besi buyyonunun mavi rengi sarıya dönüşmüştür. Negatif reaksiyonda ise besi buyyonunda gelişim (bulanıklık) olduğu halde, renk değişimi olmamış ve besi buyyonunun mavi rengi değişmemiştir.

Karbonhidratlardan gaz oluşumunun belirlenmesinde durham tüpleri kullanılmış ve aşılanan tüplerdeki besi buyyonunun üzeri yaklaşık 0.5 cm steril sıvı parafinle kapatılmıştır.

Pozitif reaksiyonda, deney tüpüne ters yönde konulan durham tüpünde gaz birikimi saptanmıştır.

Fermentasyon testlerinde karbonhidratlar besi ortamına % 1 oranında ilave edilmiştir.

#### 3. BULGULAR

Süt ve mamüllerinden izole edilen 942 Enterobacteriaceae kültürünün biyokimyasal özellikleri çizelge 2'de verilmiştir. Çizelgede her türe ait incelenen kültürlerin sayısı, biyokimyasal kriterler ve bu kriterlere göre kültürlerin gösterdikleri reaksiyonlar yer almıştır.

Çizelgede de görüldüğü üzere *E. coli*, *Klebsiella*, *Ent. aerogenes*, *Ent. cloacae* ve *Citrobacter* türlerinin tümü glikoz ve laktozdan gaz oluşturmuşlar, ancak Enterobacteriaceae familyasına dahil diğer 42 kültürün laktozu fermente yapmadığı belirlenmiştir.

**Çizge 2: Süt ve mamüllerinden izole edilen koliform grubu bakteri kültürlerinin biyokimyasal özellikleri**

İncelenen	Escherichia coli					Klebsiella aerogenes		Enterobacter cloacae		Citrobacter		Diğer Entero. bakterileri	
izolat sayısı		517	80	186	33	84	42						
Glikozdan +		517	80	186	33	84	42						
gaz —		0	0	0	0	0	2						
Laktozdan +		517	80	186	33	84	0						
gaz —		0	0	0	0	0	42						
Indol +		517	2	0	0	4	12						
—		0	78	186	33	80	30						
Metil. +		508	12	0	0	82	18						
kırmızı —		9	68	186	33	2	24						
Voges +		4	68	186	33	2	24						
Proskauer —		513	12	0	0	82	18						
Sitrat +		0	80	186	33	80	19						
—		516	0	0	0	4	23						
H <sub>2</sub> S +		0	0	0	0	84	11						
—		517	80	186	33	0	31						
Hareket. +		387	0	183	33	84	40						
lililik —		130	80	3	0	0	2						
Jelatin +		0	0	40(28)	33	0	8						
—		517	80	146	0	84	34						
Lisin +		367	80	180	0	0	17						
—		150	0	6	33	84	25						
Ornithin. +		390	0	179	32	31	19						
—		127	80	7	1	53	23						
Malonat +		17	78	145	22	5	27						
—		500	2	41	11	79	15						
Dulcitol +		217	37	16	3	26	14						
—		300	43	170	30	58	28						
Mannit +		509	79	185	33	82	31						
—		8	1	1	0	2	11						
Sorbit +		503	80	183	32	79	20						
—		14	0	3	1	5	22						

**E. coli** : İncelenen **E. coli** kültüründen tümünün indol oluşturduğu, sitratta gelişmediği, keza jelatini sivilaştırmadığı belirlenmiştir. Metil kırmızısı testinde kültürlerin 9'u (% 1.7) negatif, VP testinde ise 4'ü (% 0.8) pozitif reaksiyon göstermiştir.

Hareketlilik kriteri **E. coli** kültürlerinde farklılık göstermiş ve 387 kültür (% 74.9) hareketli, buna karşın 130 kültür (% 25.1) hareketsiz bulunmuştur. Aynı durum lizin dekarboksilasyon deneyinde de saptanmış ve kültürlerden % 29'u negatif, % 71'i pozitif reaksiyon göstermiştir. Keza 517 izolattan 127'si (% 24.6) ornithini dekarboksile etmemiş, buna karşın 390'ında (% 75.4) dekarboksilasyon saptanmıştır. Ayrıca kültürlerin ancak % 3.3 oranında sodyummalonatı indirgediği belirlenmiştir.

**Klebsiella** : **Klebsiella** kültürlerinin incelenen biyokimyasal kriterlerde genellikle yeksenak sonuç verdikleri görülmüştür. 80 kültürden ancak 2'si (% 2.5) indol oluşturmuş ve sodyummalonatı indirgemştir. Indol oluşturan **Klebsiella** suşlarına Closs ve Digranes (3) tarafından da rastlanılmıştır. Kültürlerin gösterdikleri farklılık MR ve VP testlerinde de ortaya çıkmış ve 12 kültürün her iki testte farklı reaksiyon oluşturdıkları belirlenmiştir. Ancak diğer kriterler göz önüne alındığında, bu şekilde farklı reaksiyon veren kültürlerin **Klebsiella** içerisinde yer almasını zorunlu kılmıştır **Klebsiella** kültürleri içerisinde hareketli suşlara rastlanılmamış ve tüm kültürler sitrata indirgemişlerdir.

**Enterobacter aerogenes** : İzole edilen 186 kültürden 3'ü (% 1.6) hareketsiz bulunmuş ve 6 kültür lisindekarboksilasyon, 7 kültürde ornithin testinde farklı sonuç ortaya koymuştur. Sodyummalonat testinde ise en büyük farklılık görülmüş ve kültürlerden % 22.0'si negatif, % 80.0'i pozitif reaksiyon göstermiştir. **Ent. aerogenes** kültürlerinden bazıları jelatini sivilaştırmış, ancak 40 pozitif kültürden 28'inin zayıf ölçüde jelatine etki yaptığı ve 146 kültürün ise negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Tüm kültürler MR testinde negatif, VP testinde ise pozitif reaksiyon göstermiş ve sitrata ortamda gelişmiştir. Indol ve H<sub>2</sub>S oluşturan kültürlere rastlanılmamıştır.

**Enterobacter cloacae** : Genellikle tüm testlerde kesin sonuç vermiş, ancak 1 suş ornithini dekarboksile etmemiştir. Keza izole edilen 33 **Ent. cloacae** kültüründen 11'i (% 33.3) sodyummalonatta negatif, 22'si (% 66.7) ise pozitif reaksiyon göstermiştir. Buna karşın kültürlerin tümü jelatini sivilaştırmış ve sitrata indirgemştir. MR testinde pozitif reaksiyon gösteren kültürler, VP testinde negatif reaksiyon vermiştir.

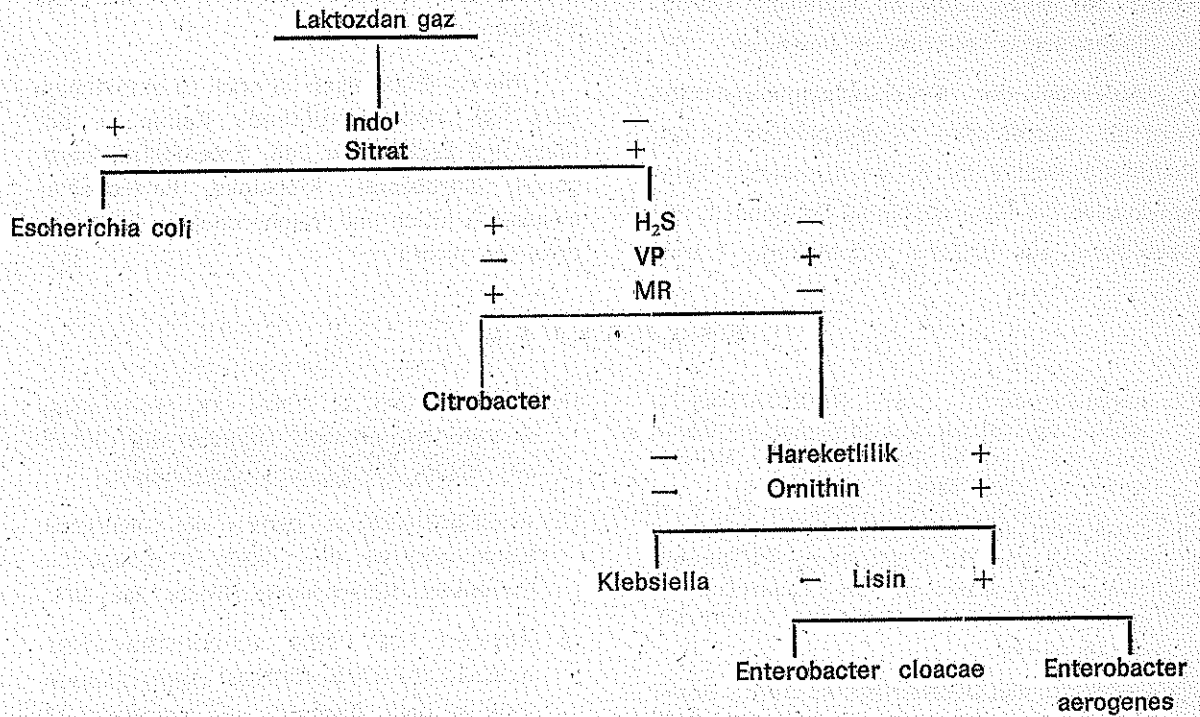
**Citrobacter** : İzole edilen 84 kültürün tamamı H<sub>2</sub>S oluşturmuş ve bu kriter **Citrobacter**'i diğer türlerden ayıran en önemli nitelik olmuştur. Kültürlerden % 4.7'si sitrata indirgememiş, 5 kültürde sodyummalonat testinde pozitif sonuç vermiştir. Kültürlerin tümü hareketli bulunmuş ve lisindekarboksilasyon testi ile jelatin testinde negatif reaksiyon göstermiş, buna karşın 4 kültürün indol oluşturduğu belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Süt ve mamüllerinden izole edilen 942 gramnegatif kültürün negatif cytochromoksidaz reaksiyon göstermeleri ve glikozu fermentatif fermente etmeleri nedeniyle Enterobacteriaceae familyasına dahil oldukları saptanmış ve 15 test uygulamak suretiyle kültürlerin tanımı yapılmıştır. Uygulanan testlerde ortaya çıkan bulgular genellikle diğer araştırma sonuçları ile benzerlik sağlamıştır (2, 3, 4, 7, 8, 10, 13, 16, 17). Ancak bazı kültürlerin düşük oranlarda da olsa farklılık gösterdikleri ve özellikle MR ve VP testlerinde bu farklılığın daha belirgin olduğu görülmektedir. Bu durumun, diğer bazı araştırmacıların da (1, 9, 11, 14) belirttikleri gibi sütte izole edilen suşların, dışkıdan izole edilenlere göre farklı biyotop göstermelerinden ileri geldiği kabul edilebilir.

Elde edilen bulgulara dayanılarak gramnegatif ve laktozu gaz oluşturarak fermente eden koliform grubu bakterilerin belirlenmesinde basit ve kısa sürede sonuca götüren, ancak türlerin ayırımında kesin sonuç veren kriterleri ele almak pratik uygulamalarda yarar sağlayacaktır. Bu nedenle gramnegatif kültürlerin ön ayırımını yaptıktan ve Enterobacteriaceae familyasında yer alan kültürleri belirledikten sonra, özellikle indol, sitrat, H<sub>2</sub>S, VP, MR, hareketlilik, lisindekarboksilaz ve ornithindekarboksilaz testlerini uygulamak, bu gruptaki bakterilerin kesin tanımını yapmak için geçerli ve yeterli görülmektedir (Çizelge 3).

Çizelge 3: Koliform grubu bakterilerin tanımındaki en önemli kriterler.



Çizelgeden de görüldüğü üzere indol yanında, VP, MR ve sitrat testleri testleri (IMVIC) koliform grubu bakterilerin tanımında yine vazgeçilmez kriterler olmaktadır. Ancak yalnız bu testlere dayanılarak kesin tanım yapmak mümkün olmadığından, bunlara ek olarak hareketlilik, H<sub>2</sub>S, lizin ve ornithindekarboksilasyon testlerinin de birlikte yapılması zorunlu görülmektedir. Bu durumda indol oluşturan *E. coli* ve H<sub>2</sub>S oluşturan *Citrobacter*, diğer türlerden kolaylıkla ayrılmaktadır. *Klebsiella*'nın hareketsiz olması nedeniyle, hareketli olan *Ent. aerogenes* ve *Ent. cloacae* türlerinden ayırımı mümkün olmaktadır.

*Ent. aerogenes* ve *Ent. cloacae*'nin ayırımını sağlayan en önemli kriter ise lisindekarboksilasyon testi bulunmaktadır.

Uygulamada SIM-besi ortamını kullanmak suretiyle indol, H<sub>2</sub>S ve hareketlilik testlerini aynı ortamda izlemek mümkün olmakta ve hem zaman tasarrufu ve hemde ekonomik açıdan yararlı görülmektedir. Diğer taraftan MR ve VP testlerinde 24 ve 72 saat sonra alınan sonuçlar farklı bulunmamıştır. Bu nedenlerle özellikle pratiğe yönelik çalışmalarda belirtilen testleri ele almak suretiyle koliform grubu bakterilerin tanımını çok kısa sürede gerçekleştirmek ve türlerin ayırımını kesin şekilde ortaya koyabilmek mümkün olacaktır.

## ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Differenzierung von 942 Stämme aus der Familie der Enterobacteriaceae, die aus Milch und Milchprodukten isolierten, wurden 15 biochemische Leitkriterien bewertet

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse wird für ausreichend vorgeschlagen, in der Routinediagnostik der laktosespaltenden Enterobakterien die leistungsfähige Reaktionen, wie Gasbildung aus Lactose, Indolbildung, Citrat-

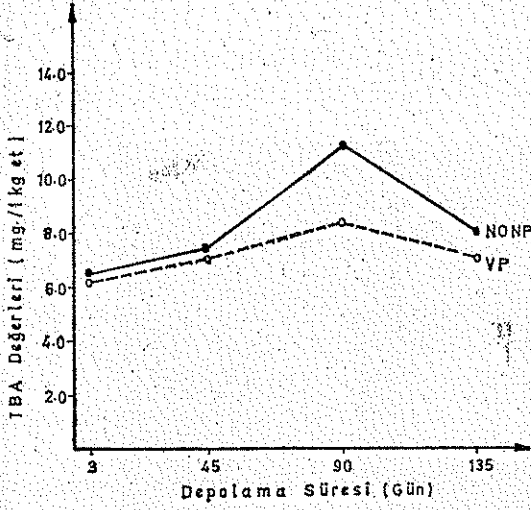
Ausnutzung, Schwefelwasserstoffbildung, Voges-Proskauer, Methylrot, Beweglichkeit, Ornithin-Decarboxylase und Lysin-Decarboxylase anzusetzen.

Aus der Ergebnisse ist noch zu entnehmen, dass die laktosevergärende Keime in der Rangfolge *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter cloacae* in Milch und Milchprodukten häufig zu erwarten waren.

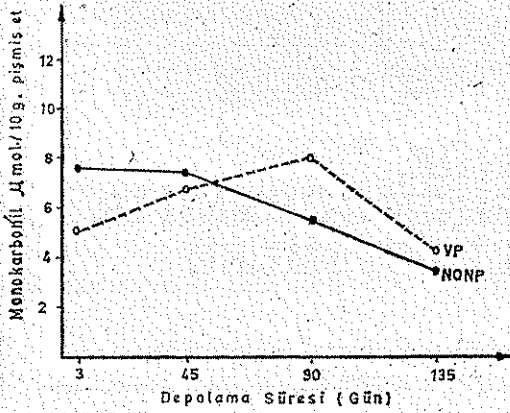
## KAYNAKLAR

1. ANDERSON, L. and STORGARDS, T. (1959): Identiflering och förekomst av fekala coliforma i mjölk. Ber. XV. Int. Milchw. Kongr. 3, 1341 - 1344.
2. BULLING, E. (1965): Beiträge zur Salmonella - Diagnostik. I. Mitteilung. Die biochemische Differenzierung der Enterobacteriaceae. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 78, 52 - 56, 61 - 65.
3. CLOSS, O. and DIGRANES, A. (1971): Rapid identification of prompt lactosefermenting genera within the family Enterobacteriaceae. Acta path. microbiol. scand. Section B. 79, 673 - 678.
4. COSTIN, I.D. (1969): Die biochemische Identifizierung der Enterobacteriaceae. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. 219, 81 - 151.
5. COWAN, S.T. and STEEL, K.J. (1974): Manual for the Identification of medical bacteria. Cambridge University Press.
6. EWING, W.H. (1966): Isolation and Identification of Enterobacteriaceae principles and practice. NCDC Publication, Atlanta-Georgia.
7. HECHELMANN, H. und LEISTNER, L. (1969): Schnelnachweis gramnegativer Stäbchen. Archiv f. Lebensmittelhyg. 20, 169 - 179.
8. HELMANN, E. (1969): Ergebnisse der Differenzierung von Enterobacteriaceen aus Milch. Archiv f. Lebensmittelhyg. 20, 241 - 246.
9. JONES, G.A., GIBSON, D.L. and CHENG, K. - J. (1967): Coliform Bacteria in Canadian Pasteurized Dairy Products. Can. J. of Publ. Health. 257 - 264.
10. KAUFFMANN, F. (1966): The Bacteriology of Enterobacteriaceae. Scandinavian University Books, Munksgaard - Copenhagen.
11. KLEEBERGER, A. (1970): Die wichtigsten Enterobakterien der Milch. 2. Symposium Technische Mikrobiologie, Berlin, 259 - 266.
12. REPORT OF THE ENTEROBACTERIACEAE SUBCOMMITTEE (1963): Intern. Bull. of Bact. Nomencl. and Taxonomy 13, 69 - 93.
13. SEDLAK, J., SLAJSOVA, M. und TOMASOFFOVA, A. (1961): Zur biochemischen Differenzierung von Enterobacteriaceae. Zf. d. ges. Hyg. und ihre Grenzgeb. 7, 774 - 788.
14. SOBECK - SKAL, E. und BINDER, W. (1961): Über kältetolerante coliforme Flora in Molkereibetrieben. Milchwirtschaftliche Berichte 11, 255 - 233.
15. Standard Methods for the examination of dairy products. (1960): American Public Health Association, Inc.
16. TEXDORF, I., KIELWEIN, G. und ERGÜLLÜ, E. (1975): Ein Beitrag zur Differenzierung von aus Milch stammenden Enterobakterien. Archiv f. Lebensmittelhyg. 26, 46 - 49.
17. WIESNER, H. - U. (1970): Differenzierung coliformer Keime mit einem polytrophen Medium. Archiv f. Lebensmittelhyg. 21, 267 - 270.

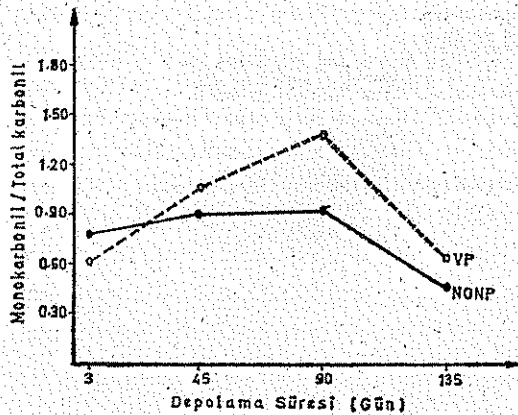




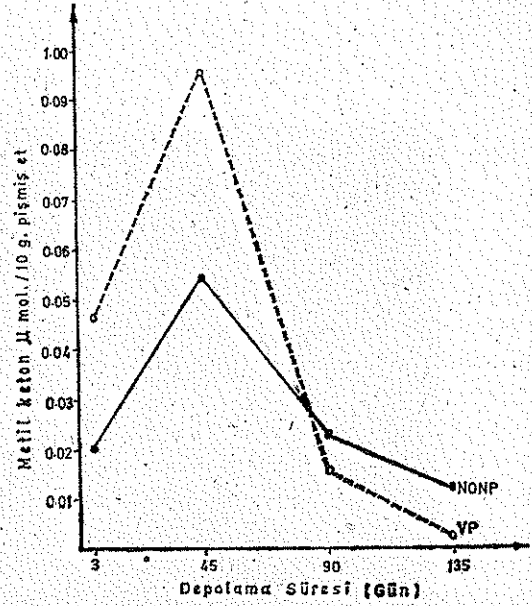
**Çizim 1.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince yağda çözünebilir toplam karbonil konsantrasyonu değişimi.



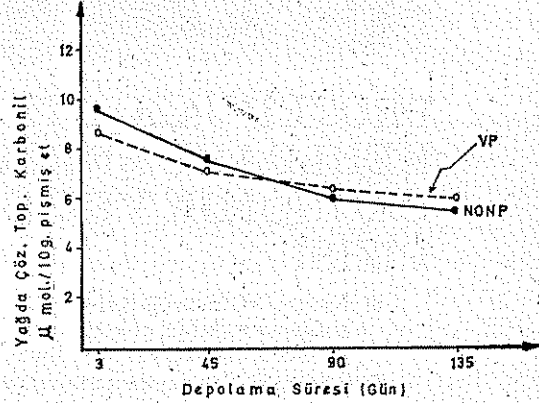
**Çizim 2.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince monokarbonil konsantrasyonu değişimi.



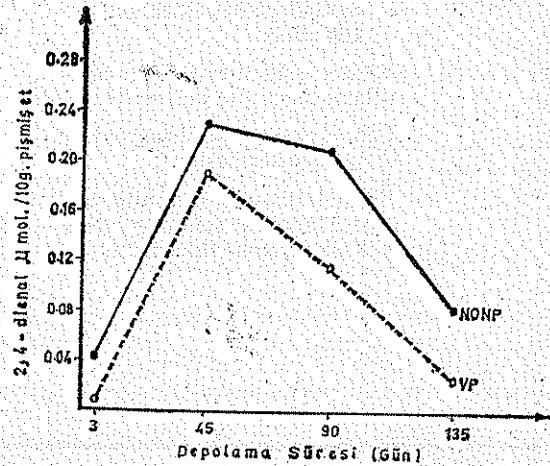
**Çizim 3.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince monokarbonillerin toplam karbonillere oranı.



**Çizim 4.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince metil keton konsantrasyonu değişimi.



**Çizim 5.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince 2,4 - dienal konsantrasyonu değişimi.



**Çizim 6.** VP ve NONP örneklerde depolama süresince TBA değerlerinde meydana gelen değişimler.