

IMViC Testleri

Genel Bilgiler

- Mikroorganizmaların (bakterilerin) cins ve türlerini ayırmada serolojik, antijenik ve patojenik karakterleri yanı sıra biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi de çok önemlidir.
- Türlerin saptanmasında bu testlerin sonucuna göre karar verilir.
- Biyokimyasal testler çabuk yapılması, ucuz olması ve kısa zamanda sonuçlanması gibi avantajları vardır.
- Hatta, bazen tür tespiti sadece biyokimyasal testlere göre yapılabilmektedir.

Genel Bilgiler

- Bakteriler biyokimyasal aktivite yönünden oldukça farklıdırlar.
- Aynı cins içinde bulunan türler veya hatta aynı türün farklı bireyleri arasında bile ayrılıklar meydana gelebilir.
- Bu değişimler fenotipik veya genotipik özellikte olabilirler.
- Ayrıca, aynı birey her zaman sabit karakter de göstermeyebilir.
- Bazı özellikler, test şartlarında, değişik durumlar gösterebilir. Ancak, böyle varyasyonlar % 1'den düşüktür.

Genel Bilgiler

- Biyokimyasal testlerde temel prensip; bakterinin oluşturduğu reaksiyonların, ayıraçlar ya da besiyerindeki indikatörler yardımıyla renk değişiklikleri gözlenerek tanı konulabilmesidir.
- Bakterilere uygulanan biyokimyasal testler ile, bakterilerin çeşitli enzim varlıklarının ortaya konması veya çeşitli yıkım (katabolizma) ya da yapım (anabolizma) ürünlerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Genel Bilgiler

- Her bakteri kendine özgün enzimlere sahip olup, belirli maddeleri yine kendine özgün bir biçimde metabolize ederek, çeşitli yıkım ve yapım ürünleri meydana getirmektedir.
- Bilinmeyen ve tanımlanmak istenen bir bakteriye, belirli biyokimyasal testler uygulanır.

Genel Bilgiler

Biyokimyasal Testlerin Sınıflandırılması:

- **Renk değişimine bağlı biyokimyasal testler;** indol testi, metil kırmızısı testi, sitrat testi, voges - proskauer testi, fosfotaz testi, üre testi ve triple sugar iron agar testi vb.
- **Gaz veya hava kabarcığı oluşumuna bağlı biyokimyasal testler;** katalaz testi, eijkman testi ve karbonhidrat fermantasyon testi vb.
- **Pıhtı oluşumuna bağlı biyokimyasal testler;** koagülaz testi, aglütinasyon testi ve jelatin hidroliz testi vb.

IMViC Testleri

- Indol,
 - Metil kırmızısı,
 - Voges – Proskauer,
 - Sitrat (Citrat) testlerinin ilk harflerinden oluşur.
-
- Vi'deki "i" küçük harf olarak yazılır ve sadece okuma kolaylığı sağlar.
 - Bu testler, koliform grup bakterilerin (enterik bakterilerin) ayrımı için kullanılır.

İndol Testi

- İndol, IMViC test grubu içinde yer alan testlerden biridir.
- **İndol testi;** bakterilerin, bir aminoasit olan **triptofanı** ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılır.
- Aynı zamanda, bakterilerin cins ve tür ayrımında kullanılır.

İndol Testi

- İndol, bakterilerde bulunan triptofanaz enzimiyle triptofanın parçalanması ve hidrolize etmesi sonucu oluşan nitrojenli bir bileşiktir ve aldehidlerle reaksiyona girdiğinde, **kırmızı renkli** bir ürün oluşturur.
- *Escherichia coli*'de indol pozitif (+), *Salmonella Typhi*'de negatiftir.

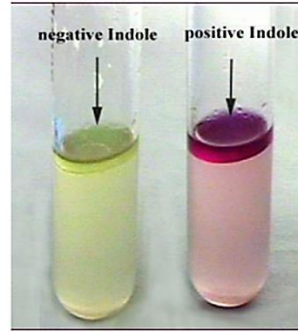
İşlem Aşamaları

1. İncelenecek bakteri kolonisinden özeyle alınarak temiz bir tüp içinde bulunan triptofanca zengin bir sıvı besiyerine ekim yapılır (Bu amaçla genellikle peptonlu su veya buyyon kullanılır).
2. Etüvde, 37°C'de 2-7 gün inkübe edilir.

İşlem Aşamaları

3. İnkübasyondan sonra üzerine, tüpün kenarından yavaşça akıtmak suretiyle 0,5 mL kovaks ayıracı ilave edilir ve tüp çalkalanır. Kovaks yerine Ehrlich's ayıracı da kullanılabilir.
4. Renk değişimi gözlenir; 1-2 dakika içinde besiyerinin üst kısmında, parlak kırmızı bir halka oluşması, testin pozitif olduğunu gösterir.

İndol Testi



Resim 1.5: Triptofandan indol oluşumu

İndol test sonucu (+) ve (-)

Metil Kırmızısı Testi

- **Metil kırmızısı testi**, besiyerinde bakterilerin **glukozu** fermente edip organik asit oluşturarak **ortamın pH'sını 4,4'ün** altına düşürme esasına dayanır.
- Metil kırmızısı testinde; *Escherichia coli* pozitifdir. *Klebsiella pneumoniae* negatiftir.

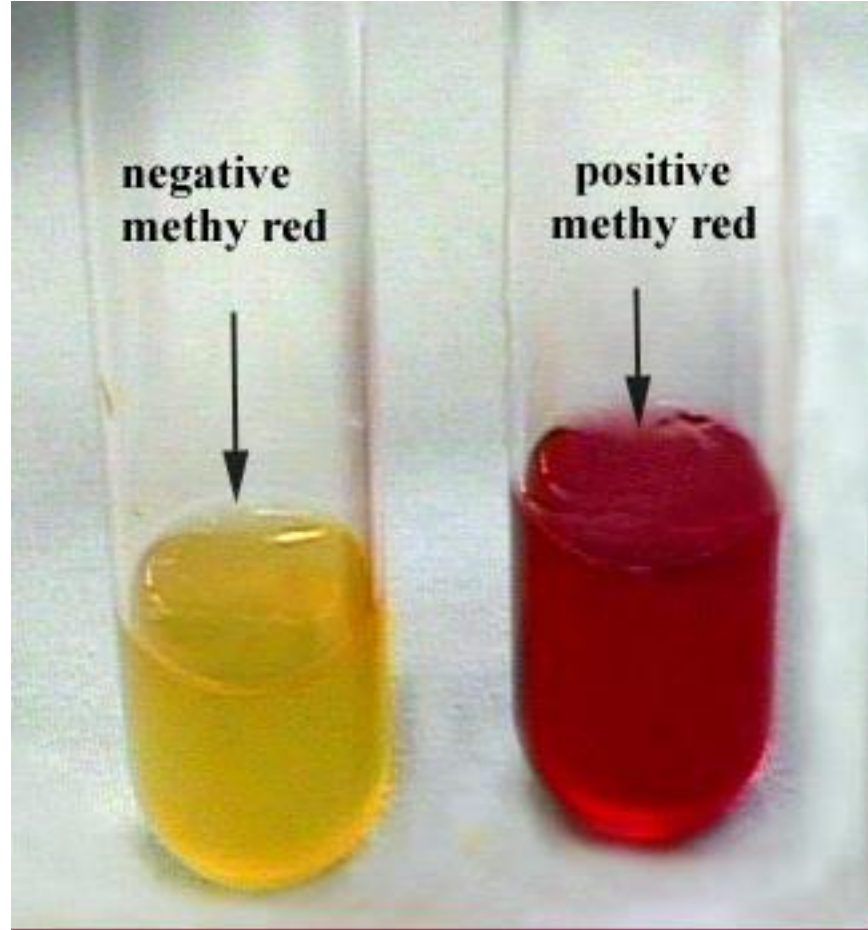
İşlem Aşamaları

1. İncelenecek bakteri kolonisinden öze ile alınarak Glukoz-Fosfat Broth besiyerine ekim yapılır.
2. Etüvde, 37°C'de 2-7 gün inkübe edilir.
3. İnkübasyondan sonra tüpe, 5 mL bakteri gelişmiş besiyerine 5 damla olacak şekilde metil kırmızısı ayıracı ilave edilir, iyice karıştırılır.

İşlem Aşamaları

4. Besiyerinde; kırmızı renk oluşması testin pozitif olduğunu, sarı renk oluşması ise testin negatif olduğunu gösterir.
5. Metil kırmızısı ayıracı pH 6,0 ve üzerinde sarı renk, pH 4,4 ve altında ise kırmızı renk verir.

Metil Kirmızısı Testi



Metil kırmızısı test sonucu (-) ve (+)

Voges - Proskauer Testi

- Bu test, bakteri türlerini belirlemede kullanılır.
- Bazı bakteriler, glukozu parçalayarak nötral bir ürün olan **asetil metil karbinol (acetoin)** oluşturur.
- Asetil metil karbinol, potasyum hidroksid (KOH) varlığında okside olarak diasetil meydana getirir.
- Bu ürün ise alfa naftol (kreatin, arginin veya kreatinin) ile reaksiyona girdiğinde kırmızı renk oluşturur.
- *Klebsiella pneumoniae*'da pozitif, *Escherichia coli*'de negatiftir.

İşlem Aşamaları

1. İncelenecek bakteri kolonisinden öze ile alınarak tüpteki Glukoz-Fosfat Broth besiyerine ekim yapılır.
2. Tüpler etüvde, 37°C'de 1-7 gün inkübasyona bırakılır.
3. İnkübasyondan sonra üzerine, 1 mL %40'lık KOH, daha sonra 3 mL %5'lik alfa naftol ilave edilir ve karıştırılır.
4. Besiyerinin hava ile temas etmesi için kuvvetli çalkalandıktan sonra 2-5 dakika içinde pembe-kırmızı renk oluşması testin pozitif olduğunu gösterir.

Voges- Proskauer Testi



Voges-Proskauer test sonucu (+) ve (-)

Sitrat Testi

- Bazı bakteriler karbon-enerji kaynağı olarak sitrat kullanır.
- Sitrat testi, bakterinin tek karbon kaynağı olarak **sitrati** kullanıp kullanmadığını, aynı zamanda bakterinin cins ve türlerini belirlemek için yapılır.
- Bakteriler tarafından sitratın metabolizması, **citratase** veya **citrate demolase** adı verilen enzimleriyle gerçekleşir.
- *Klebsiella pneumoniae*'da sitrat pozitif, *Escherichia coli*'de negatiftir.

İşlem Aşamaları

1. İncelenecek bakteri kolonisinden iğne öze ile alınarak tüpteki Simon's Sitrat Yatık Agar besiyerinin yüzeyine ekim yapılır.
2. Tüpler etüvde, 37°C'de 2-7 gün inkübasyona bırakılır.
3. İnkübasyon sonunda, orijinal rengi yeşil olan ve indikatör olarak %0,2'lik Brom timol mavisi kullanılan besiyerinde, besiyerinin rengi maviye dönüşür ve pozitif olarak değerlendirilir.

Sitrat Testi



Sitrat test sonucu (+) ve (-)

İlgili Örnek Videolar

- <https://www.youtube.com/watch?v=ue-wuKJ41to>
- <https://www.youtube.com/watch?v=az0dXYmXgAg>
- <https://www.youtube.com/watch?v=m27wzevB9bA>
- <https://www.youtube.com/watch?v=Qm0x8SsCR0w>
- https://www.youtube.com/watch?v=U_3qcDhrw3w
- https://www.youtube.com/watch?v=LZ_mVPRLayQ

Kaynaklar

- <http://depo.btu.edu.tr/dosyalar/gida/Dosyalar/2019-2020%20g%C3%BCz%20d.%20g%C4%B1da%20mikrob.%20f%C3%B6y%C3%BC.pdf>
- <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/hilal.ay/135332/Biyokimyasal%20Testler.pdf>
- <https://www.youtube.com/watch?v=ue-wuKJ41to>
- <https://www.youtube.com/watch?v=az0dXYmXgAg>
- <https://www.youtube.com/watch?v=m27wzevB9bA>
- <https://www.youtube.com/watch?v=Qm0x8SsCR0w>
- https://www.youtube.com/watch?v=U_3qcDhrw3w
- https://www.youtube.com/watch?v=LZ_mVPRLayQ