

SALMONELLA ARANMASI

a. GENEL ÖZELLİKLERİ

Enterobacteriaceae familyasına ait, Gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, çubuk formunda olup, çoğu (*S.pullorum*, *S.gallinarum* ve *S.arizona* türleri hariç) peritrik flagellaları ile hareketlidir. 6 – 47 °C'ler arasında üreyebilmektedirler. Optimal üreme dereceleri 35 - 37 °C'dir. Soğuğa karşı çok dayanıklıdır. Buz içerisinde aylarca canlı kalabilirler. Optimal pH değeri 6.5 - 7.5'dir. Hatta pH 4.0 - 9.0 değerleri arasında da üreyebilmektedir. Su aktivitesi (a_w değeri) 0.945-0.999 değerleri arasındadır. % 8'lik tuz konsantrasyonlarında bulunabilmektedir. 55 °C'de 1 saatte, 60 °C'de 15 - 20 dakika inaktive olmaktadır. 70 °C'de 10 - 15 dakika canlı kalabilmektedir. Karbonhidratlardan gaz ve asit oluştururlar. Yalnız laktoz ve sakkarozu fermente edemezler.

Başlıca gıda zehirlenmelerine *S.enteritidis*, *S.typhimurium* ve *S.thyphi* yol açmaktadır. *S.enteritidis*'in 10^6 kob/g. miktarında alınması gıda zehirlenmesi yapması için yeterlidir.

Hayvansal gıdalar içerisinde; başta broilerler olmak üzere kontamine kanatlı hayvan etleri ve bunlardan yapılan ürünler, et ve et ürünleri, yumurta, yumurtadan yapılan ürünler, pastacılık ürünleri kontamine süt, krema, dondurma ve soslar ile kabuklu deniz ürünleri, çoğu insanda *Salmonella* infeksiyonlarına neden olan en önemli gıda kaynakları oluştururlar.

b. TANIMLAR

(1) Rappaport Vassiliadis :

Soya peptone	4.0 g
Sodium chloride	7.2 g
potassium dihydrojen phosphate	1.26 g
Disodium hydrojen phosphate	0.18 g
Magnesium chloride	13.58 g
Magnesium green	0.036 g
Distile Su	1000 ml
pH	5.2± 0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(2) Selenit/sistin Besiyeri (temel besiyeri):

Tripton	5,0 g
Laktoz	4,0 g
Disodyum hidrojen fosfat dodekahidrat	0,0 g
Sodyum hidrojen selenit	4,0 g
Distile Su	1000 ml

Sistin Çözeltisi :

Sistin	
Sodyum hidroksit	0,1 g

Bileşim :	çözeltisi(NaOH) = 1 mol/	15 ml
	Steril suyla tamamlanacak hacim	100 ml
	Temel besiyeri	1000 ml
	L-Sistin çözeltisi	10 ml

(3) SS (Salmonella Shigella) Agar :

Beef extract	5.0 g
Dipeptone	5.0 g
Lactose	10.0 g
Bile Salts	8.5 g
Sodium Citrate	8.5 g
Sodium Thiosulfate	1.0 g
Ferric Citrate	0.00033 g
Neutral Red	0.025 g
Agar	13.5 g
Distile Su	1000 ml
pH	7.0± 0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(4)XLD (Xylose Lysine Desoksikolat Agar:

Yeast Extract	3.0 g
Sodium chloride	5.0 g
D (+) xylose	7.5 g
Lactose	7.5 g
Sucrose	7.5 g
L (+) lysine	5.0 g
Sodium Deoxycholate	2.5 g
Sodium thiosulfate	6.8 g
Ammonium iron (III) Citrate	0.8 g
Phenol red	0.08 g
Agar agar	13.5 g

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(5) BPLS (Brillant GreenPhenol Red Lactose Sucrose)Agar :

Peptone	10.0 g
Lactose	10.0 g
Ox.Bile (Purified)	20.0 g
Brillant green	0.0125 g
Sucrose	10.0 g
Yeast extract	3.0 g
NaCl	5.0 g
Phenol Red	0.08 g
Agar	12.0 g
Distile Su	1000 ml
pH	6.9± 0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(6) Nutrient Agar Besiyeri :

Sığır eti ekstraktı	3.0 g
Pepton	5.0 g
Ağar	15.0 g
Distile su	1000ml
pH	6,8

bileşiminde hazırlanan besiyeridir

(7) Lysine Iron Agar :

Yeast extract	5.0 g
Glucose	3.0 g
L-lysine	1.0 g
Ferric ammonium citrate	0.5 g
Sodium thiosulphate	0.04 g
Bromocresel purple	0.02 g
Agar	14.5 g
Distile Su	1000 ml
pH	6.7±0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(8) Triple Sugar Iron Agar:

Lab-Lemco powder	3.0 g
Yeast extract	3.0 g
Peptone	20.0 g
Sodium chloride	5.0 g
Lactose	10.0 g
Sucrose	10.0 g
Glucose	1.0 g
Ferric citrate	0.3 g
Sodium thiosulphate	0.3 g
Phenol red	q.s
Agar	12.0 g
Distile Su	1000 ml
pH	7.4±0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

(9) Urea Broth Base:

Peptone	1.0 g
Glucose	1.0 g
Disodium phosphate	1.2 g
Potassium dihydrogen phosphate	0.8 g
Sodium chloride	5.0 g
Phenol red	0.004 g
Distile Su	1000 ml
pH	6.8±0.2

bileşiminde hazırlanan besiyeridir.

c. DENEY

(1) **Ön Zenginleştirme** : Gelen numuneden 25 gram alınarak 225 ml. tamponlanmış peptonlu su (TPS) içinde homojenize hale getirilerek 37 °C'de 16 - 20 saat (≈18 saat) inkübe edilir.

(2) **Selektif Zenginleştirme** : Rappaport Vassiliadis (RV) broth'a öze ile TPS'den geçilerek 42 °C'de 24 - 48 saat inkübe edilir. İkinci zenginleştirme besiyeri olarak selenit/sistin besiyeri kullanılabilir. Bu besiyeri kullanıldığında ön zenginleştirme besiyerinden 10 ml alınarak aktarılır ve işleme devam edilir.

(3) **İzolasyon** : Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose (BPLS), XLD, SS Agar'a RV broth'dan öze ile geçilerek 37 °C'de 20 - 24 saat inkübe edilir.

(4) **Biyokimyasal testler** : İnkübasyondan sonra Lab.Ks.amiri tarafından BPLS'de etrafı parlak kırmızı zon ile çevrili pembe-kırmızı renkli koloniler *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirilir. Ayrıca BPLS'de yayılmayan koloniler proteusları, küçük ve kenarı tırtıllı koloniler pseudomonasları, etrafı sarı bir zon ile çevrelenmiş sarı koloniler ise *E.coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* türlerine ait olabilmektedir. BPLS besiyerinden izolasyonun gerçekleştirilen kültürleri identifikasyonu amacı ile aşağıda belirtilen biyokimyasal testler uygulanır.

(a) **TSIA Testi** : TSIA yatık agara ekim yapılır ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. Dip kısmının sarı, yatık kısmının kırmızı olması pozitifdir. Ayrıca orta kısımda meydana gelebilecek siyahlaşmada dikkate alınmalıdır.

(b) **LIA Testi** : LIA yatık agara ekim yapılır ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. Rengin değişmemesi (menekşe rengi) ve siyahlaşma olması pozitifdir.

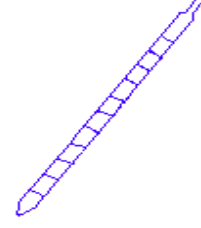
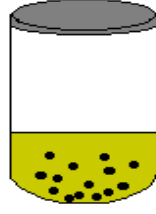
(c) **VP Testi** : VP brotha ekim yapılır ve 37 °C'de 18 saat inkübe edilir. Ayraçların ilavesi ile kırmızı renk meydana gelmemesi negatifdir.

(d) **İndol Testi** : İndol brotha ekim yapılır ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. İndolde Kovacs ayırıcı ile reaksiyonda menekşe renginde halka oluşmaması negatif olarak değerlendirilir.

(e) **Üreaz Testi** : Üre broth'a ekim yapılır ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. Test tüpünde kırmızı renk oluşmaması negatif olarak değerlendirilir.

(f) **Sitrat Testi** : Sitrat yatık agara ekim yapılır ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. Renk değişikliği pozitif olarak değerlendirilir.

25 gr. Numune
+
225 ml.TPS

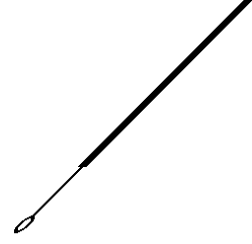


37 °C'de 18 saat

0.1 ml



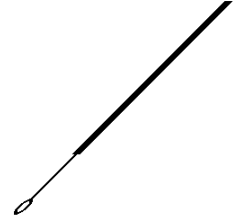
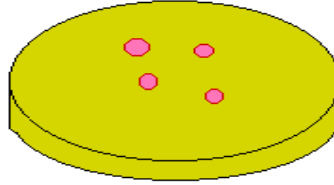
RV brotha ekim



42 °C'de 24-48 saat



BPLS agara ekim



37 °C'de 20-24 saat



TSIA (+)
37°C-24 s

LIA (+)
37°C-24 s

VP (-)
37°C-18 s

İNDOL (-)
37°C-24 s

ÜREAZ (-)
37°C-24 s

SİTRAT (+)
37°C-24 s

Kırmızı

Siyah

Sarı



Menekşe

Siyah



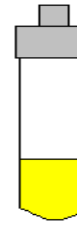
Sarı



Sarı



Sarı



Renk
Değişikliği

