

## ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

### 1. Εισαγωγή

Ταυτοποίηση (*Identification*) ενός βακτηρίου πρακτικά εννοούμε την ονοματοδοσία του και την εισαγωγή σε ταξινομική σχήμα, είτε ιεραρχικό είτε φυλογενετικό.

Η ταυτοποίηση έχει επίπεδα, ανάλογα με τα κριτήρια που χρησιμοποιούμε, δηλαδή μπορεί να είναι «*ταυτοποίηση σε επίπεδο γένους*», να συνεχίζει σε «*ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους*» και να προχωρά σε επίπεδο ορότυπου (*serotype*) ή βαριότυπου (*varians*) ή τέλος σε επίπεδο στελέχους (*strain identification*). Στην τελευταία περίπτωση κάνουμε χρήση χαρακτηριστικών αλληλουχιών βάσεων στο γενετικό υλικό των βακτηρίων, με τεχνικές DNA μοριακή ταυτοποίηση/τυποποίηση (Γενετική Διαφοροποίηση διαφορετικών στελεχών ίδιου είδους).

Η ταυτοποίηση μπορεί να διακριθεί σε δύο περιπτώσεις: **(α)** να αναζητούμε προς ταυτοποίηση εκ των προτέρων γνωστό βακτήριο (γένος, είδος ή ορότυπο) ή **(β)** να προσπαθούμε να ταυτοποιήσουμε πλήρως άγνωστα βακτήρια, δηλαδή να μην γνωρίζουμε εκ των προτέρων για το γένος ή το είδος του βακτηρίου που αναζητούμε.

Η πρώτη περίπτωση απαντάται συνήθως στις περιπτώσεις των παθογόνων βακτηρίων, τα οποία ελέγχονται από τη νομοθεσία, π.χ. απουσία *Salmonella* spp. ή *Listeria monocytogenes*. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι διαδικασίες ταυτοποίησης είναι απολύτως τυποποιημένες και ενσωματωμένες στα Διεθνώς αποδεκτά πρωτόκολλα (ISO, AOAC, AFNOR, κ.ά.) και το επίπεδο ταυτοποίησης μπορεί να φτάνει, κατά περίπτωση, είτε σε επίπεδο γένους, π.χ. απουσία *Salmonella* spp. στα τρόφιμα, χωρίς να είναι απαραίτητο να φτάνει σε επίπεδο είδους ή άλλες φορές είναι απαιτητός ο ορότυπος, όπως απουσία συγκεκριμένων οροτύπων από νωπά πουλερικά - *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium με αντιγονικό τύπο 1,4,[5],12:i:-. Για παράδειγμα, στην προηγούμενη περίπτωση, ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 200/2012 ορίζει ότι «*Η ανίχνευση ειδών σαλμονέλας διενεργείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO 6579-1*» και ότι ο οροτυπικός χαρακτηρισμός πραγματοποιείται σύμφωνα με το τρέχον σύστημα Kaufmann-White-LeMinor.

Η δεύτερη περίπτωση, δηλαδή να μην αναζητούμε προς ταυτοποίηση γνωστά εκ των προτέρων βακτήρια, απαντάται σε διερευνητικούς σκοπούς, π.χ. είδος βακτηρίου που προκαλεί αλλοιώσεις σε ένα τρόφιμο ή για ερευνητικούς σκοπούς, π.χ. ποια είδη βακτηρίων συμμετέχουν σε μία φυσική καλλιέργεια προζυμιού. Σε αυτές τις περιπτώσεις η διαδικασία της απομόνωσης κατ' αρχήν και μετά της ταυτοποίησης, μπορεί να είναι αρκετά πολύπλοκη και συχνά σημαντικό ρόλο έχει η εμπειρία.

## 2. Απομόνωση καθαρής καλλιέργειας και ταυτοποίηση αγνώστου είδους

Στη συγκεκριμένη ενότητα δεν θα δοθεί έμφαση στα πρωτόκολλα απομόνωσης και ταυτοποίησης βακτηρίων, που εκ των προτέρων γνωρίζουμε και αναζητούμε, αλλά αγνώστων ειδών. Στην περίπτωση αυτή το δυσκολότερο τμήμα της όλης προσπάθειας είναι η απομόνωση καθαρών καλλιιεργειών από μία μικτή καλλιέργεια. Επίσης, δεν είναι καθόλου σπάνιες οι περιπτώσεις όπου δεν μπορούμε να απομονώσουμε όλα τα στελέχη βακτηρίων από μία μικτή καλλιέργεια ενός οικολογικού θώκου (*niche*). Σε αυτές τις περιπτώσεις έχουμε τα λεγόμενα «ζωντανά-μη-καλλιεργήσιμα» (*viable-but-not-culturable*) βακτήρια, διότι οι συνθήκες στο περιβάλλον από το οποίο προέρχονται δεν μπορούν να αναπαραχθούν σε εργαστηριακό περιβάλλον. Την παρουσία τους τη γνωρίζουμε έμμεσα, από την απομόνωση και ταυτοποίηση του DNA τους και όχι από τα ίδια τα βακτήρια ως κύτταρα. Ακολουθεί σύντομη και ενδεικτική περιγραφή των σταδίων απομόνωσης και ταυτοποίησης ενός αγνώστου είδους σε ένα Εργαστήριο Μικροβιολογίας, που έχει πολύ βασικό εξοπλισμό, δηλαδή ένα μικροσκόπιο, υλικά για χρώσεις και κλιβάνους. Η βασική φιλοσοφία της διαδικασίας αυτής είναι να υποβάλλουμε την υπό διερεύνηση μικτή καλλιέργειά μας σε μία σειρά δοκιμών, οι οποίες θα λειτουργήσουν εκλεκτικά/διαχωριστικά ως προς κάθε μία από αυτές. Μπορούμε να το παρομοιάσουμε ως μία σειρά από «κόσκινα», όπου σε κάθε ένα από αυτά θα συγκρατείται και ένα είδος βακτηρίου. Ο στόχος είναι από τη μικτή καλλιέργεια να καταλήξουμε να έχουμε απομονωμένες σειρές καθαρών καλλιιεργειών, που προέρχονται ουσιαστικά από τα κύτταρα που είχαμε δει κατά τη μικροσκοπία. Δηλαδή, εάν ονομάσουμε *v* την αρχική μικτή καλλιέργειά μας, να έχουμε, μετά το τέλος των σταδίων απομόνωσης, 1, 2, 3 ... *k* διαφορετικές καθαρές καλλιέργειες. Προφανώς, η διαδικασία απομόνωσης που ακολουθεί είναι ενδεικτική και υπάρχουν παραλλαγές αυτής, ανάλογα με τη φύση του δείγματος.

### 1<sup>ο</sup> βήμα: Χρώση Gram

Στο μικροσκόπιο, με τη βοήθεια των κατάλληλων χρώσεων μπορούμε να διαπιστώσουμε εάν η μικτή καλλιέργεια περιλαμβάνει κύτταρα Gram θετικά, Gram αρνητικά (χρώση Gram), εάν είναι σπορογόνα (π.χ. με πράσινο του μαλαχίτη), καθώς και τι σχήματα έχουν (κόκκος, βάκιλος, κοκκοβάκιλος). Ασφαλώς, κρατούμε σημειώσεις σχετικά με τις παρατηρήσεις μας.

### 2<sup>ο</sup> βήμα: Ανάπτυξη της αρχικής καλλιέργειας σε εκλεκτικά περιβάλλοντα.

Έχουμε στη διάθεσή μας ποσότητα του υγρού δείγματος της καλλιέργειας και υλοποιούμε τα ακόλουθα βήματα (Σχ. 1):

- **Διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις:** Από την αρχική καλλιέργεια πραγματοποιούμε διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις, με αποστειρωμένο πεπτονόχο φυσιολογικό ορό (*Peptone Water Buffered - PWB*), π.χ. 100 μL του δείγματος σε 900 μL PWB. Έστω ότι έχουν πραγματοποιηθήκαν 4 αραιώσεις (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000).
- **Επίστρωση σε υποστρώματα:** Από κάθε μία από τις διαδοχικές αραιώσεις, καθώς και από την αρχική καλλιέργεια, λαμβάνουμε 10 μL και τα απλώνουμε (επίστρωση) σε σειρά υποστρωμάτων, εκλεκτικών και μη. Συγκεκριμένα, υπάρχουν διαθέσιμα

στην αγορά αρκετά εκλεκτικά υποστρώματα (*selective culture media*), καθώς και υποστρώματα διαφοροποίησης, δηλαδή υποστρώματα στα οποία είναι δυνατή η απομόνωση ή/και η διαφοροποίηση βακτηρίων, είτε σε επίπεδο γένους ή σε επίπεδο είδους, όπως:

- *Eosin methylene blue* (EMB): επιτρέπει την ανάπτυξη μόνο των Gram αρνητικών βακτηρίων.
- *DeMan, Rogosa, Sharpe Agar* (MRS Agar): συνιστάται για την απομόνωση *Lactobacillus* spp.
- *M17*: ευνοεί την ανάπτυξη *Lactococcus* spp. αλλά και *Lactobacillus* spp.
- *MacConkey Agar-Crystal violet/Sodium chloride/0.15% Bile salts*: εκλεκτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μόνο βακτηρίων της Οικ. Enterobacteriaceae.
- *ECC ChromoSelect Selective Agar*: επιτρέπει την απομόνωση του *Escherichia coli* και coliforms (κολοβακτηριοειδή).
- *KF-Streptococcus Agar*: επιτρέπει την ανάπτυξη βακτηρίων του είδους *Enterococcus* spp.
- *Baird-Parker agar* (BPA): επιτρέπει την διαφοροποίηση στελεχών του είδους *S. aureus*.

▪ **Επώαση υπό συνθήκες που δρουν εκλεκτικά:** Πέρα των εκλεκτικών υποστρωμάτων, επίστρωση από τις διαδοχικές αραιώσεις πραγματοποιείται και σε γενικό υπόστρωμα, όπως π.χ. το Plate Count Agar (PCA). Στην περίπτωση αυτή τα τρυβλία των αραιώσεων επωάζονται σε συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη συγκεκριμένων ομάδων βακτηρίων και πιο συγκεκριμένα:

- **Αναερόβια:** οι αποικίες που έχουν αναπτυχθεί υπό αναερόβιες συνθήκες είναι αναερόβια ή προαιρετικά αναερόβια και σίγουρα δεν είναι αυστηρά αερόβια.
- **Ψυχρότροφα:** η επώαση γίνεται σε θερμοκρασίες 6°C για 4 ημέρες. Οι αποικίες που θα αναπτυχθούν ανήκουν στην ομάδα των ψυχρότροφων.
- **Σπορογόνα:** ποσότητα της μικτής καλλιέργειας θερμαίνεται στους 80°C για 10 min και αμέσως μετά ψύχεται σε τριμμένο πάγο ή σε τρεχούμενο νερό. Το αποτέλεσμα της θερμικής αυτής επεξεργασίας είναι να εξαλειφθούν όλες οι βλαστικές μορφές πλην των σπορίων. Η επίστρωση του δείγματος αυτού σε κατάλληλο υπόστρωμα θα δώσει την ευκαιρία να αναπτυχθούν μόνο τα βακτήρια που παράγουν σπόρια.

### **3<sup>ο</sup> βήμα: Απομόνωση αποικιών από τα υποστρώματα**

Μετά τις επώσεις υπάρχουν διαθέσιμα τρυβλία - εκλεκτικά και μη - στα οποία έχουν αναπτυχθεί αποικίες, κάθε μία από τις οποίες έχει προέλθει από ένα (1) κύτταρο. π.χ. οι αποικίες που έχουν αναπτυχθεί σε MRS είναι οξυγαλακτικά βακτήρια (*Lactic Acid Bacteria*), οι αποικίες που έχουν αναπτυχθεί ECC ChromoSelect Selective Agar είναι κολοβακτηριοειδή (coliforms), τα βακτήρια που έχουν αναπτυχθεί σε BPA ανήκουν στο γένος *Staphylococcus* spp. κ.τ.λ.

Από το σύνολο των τρυβλίων που έχουμε στη διάθεσή μας και ειδικότερα από τα τρυβλία εκείνα που έχουν από 30 έως 300 αποικίες, επιλέγουμε τυχαία 5 έως 10 από

αυτές, ανάλογα με τον πληθυσμό και εμβολιάζουμε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν το κατάλληλο, κατά περίπτωση, υγρό θρεπτικό υπόστρωμα. Κατ' αυτό τον τρόπο έχουμε «καθαρές» υγρές καλλιέργειες, διότι έχουν προέλθει από μία αποικία η οποία έχει προέλθει από ένα κύτταρο.

#### **4<sup>ο</sup> βήμα: Μικροσκοπία**

Ένας πολύ γρήγορος τρόπος για να επιβεβαιωθεί η καθαρότητα των μεμονωμένων καλλιεργειών που έχουμε στη διάθεσή μας είναι να πραγματοποιήσουμε εκ νέου μικροσκοπία και να παρατηρήσουμε τις καλλιέργειές μας, οι οποίες θα πρέπει να είναι ομοιογενείς.

#### **5<sup>ο</sup> βήμα: Διαχωρισμός βακτηρίων με την τεχνική της Διαδοχικής Διχοτόμησης**

Κατά το προηγούμενο στάδιο έχουν επιτευχθεί δύο στόχοι: **(α)** έχουμε στη διάθεσή μας καθαρές καλλιέργειες και **(β)** έχουμε ήδη συγκεντρώσει πληροφορίες σχετικά με ορισμένα χαρακτηριστικά τους, π.χ. σχήμα (κόκκος, βάκιλος, σταφυλόκοκκος), χρώση Gram, γένος σε ορισμένες περιπτώσεις, κ.ά. Ακολούθως, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί μία σειρά περαιτέρω δοκιμών, ώστε να συγκεντρωθούν, όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες, σχετικά με την κάθε καλλιέργεια. Τα χαρακτηριστικά αυτά θα αντιπαραβληθούν με τα χαρακτηριστικά γνωστών βακτηρίων, για να διαπιστωθεί ο βαθμός ομοιότητάς τους (*matching*), ώστε να καταλήξουμε σε ονοματοδοσία.

Η συλλογή αυτών των πληροφοριών αφορά κυρίως το μεταβολικό προφίλ, δηλαδή τα ένζυμα που φέρουν τα βακτήρια, η δράση των οποίων εντοπίζεται μέσω των μεταβολικών προϊόντων τους (π.χ. παραγωγή H<sub>2</sub>S, παραγωγή NH<sub>3</sub>, κ.ά.). Η αλληλουχία των βιοχημικών δοκιμών δεν γίνεται με τυχαίο τρόπο, αλλά με απολύτως συντεταγμένο, με μία διαδικασία που λέγεται δοκιμή διχοτόμησης (*Dichotomous key*). Η δοκιμή αυτή συνίσταται στο εξής: η απάντηση κάθε δοκιμής (test) οδηγεί σε πολύ συγκεκριμένη επόμενη ερώτηση (σημείο διχοτόμησης), η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε νέο σημείο διχοτόμησης (test) και ξανά μετά σε επόμενη ερώτηση. Οι βασικοί τρόποι εφαρμογής της Διχοτομικής Κλείδας είναι δύο: **(α)** μέσω αυτοματοποιημένων, προσχεδιασμένων και διαθέσιμων εμπορικών προϊόντων και **(β)** μέσω βιοχημικών δοκιμών που σχεδιάζονται επί του Εργαστηρίου.

Στην πρώτη περίπτωση, πολύ γνωστά είναι το API Microbial Identification Kits (bioMérieux) ή το σύστημα Biolog (Biolog Inc.), που βασίζεται σε 96 διαφορετικές βιοχημικές δοκιμές, οι οποίες πραγματοποιούνται παράλληλα. Σε αυτές τις περιπτώσεις η διαδικασία της Διχοτομικής Κλείδας είναι ενσωματωμένη στο σχεδιασμό των προϊόντων και τις οδηγίες χρήσης τους.

Επίσης, στις μέρες μας έχουν αναπτυχθεί λειτουργικά προγράμματα (*software*), που διαχειρίζονται Διχοτομικές Κλείδες, αλλά και στο διαδίκτυο υπάρχουν διαθέσιμες κλείδες για πολλά γένη και είδη βακτηρίων.

Στη δεύτερη περίπτωση, όπου δεν υπάρχουν διαθέσιμες εμπορικές εφαρμογές, θα πρέπει να σχεδιαστεί μια σειρά βιοχημικών δοκιμών, βασισμένη στις δοκιμές Διχοτόμησης. Στο διαδίκτυο, υπό τον όρο “*Dichotomous keys for bacterial identification*”, υπάρχουν διαθέσιμοι δικτυακοί τόποι, όπου δίνονται Κλείδες Διχοτόμησης. Στο **Σχ. 2** παρουσιάζεται ένα ενδεικτικό Διχοτομικό σχήμα ταυτοποίησης, ξεκινώντας από μία μικτή καλλιέργεια κόκκων και βακίλων, όπου οι απομονώσεις από τα υποστρώματα έδειχναν ότι μάλλον είχαμε *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. ή *Lactobacillus* spp. Μετά το πέρας της εργασίας θα πρέπει να γνωρίζουμε τα γένη και τα είδη των βακτηρίων που είχαμε στα τρυβλία μας, χωρίς ωστόσο, όμως, να είμαστε πάντοτε απολύτως βέβαιοι ότι έχουμε απομονώσει όλα ανεξαίρετως τα είδη ή τα υποείδη, που υπήρχαν στην αρχική μας καλλιέργεια.

### **3. Εναλλακτικός τρόπος εργασίας – με μοριακή παρέμβαση**

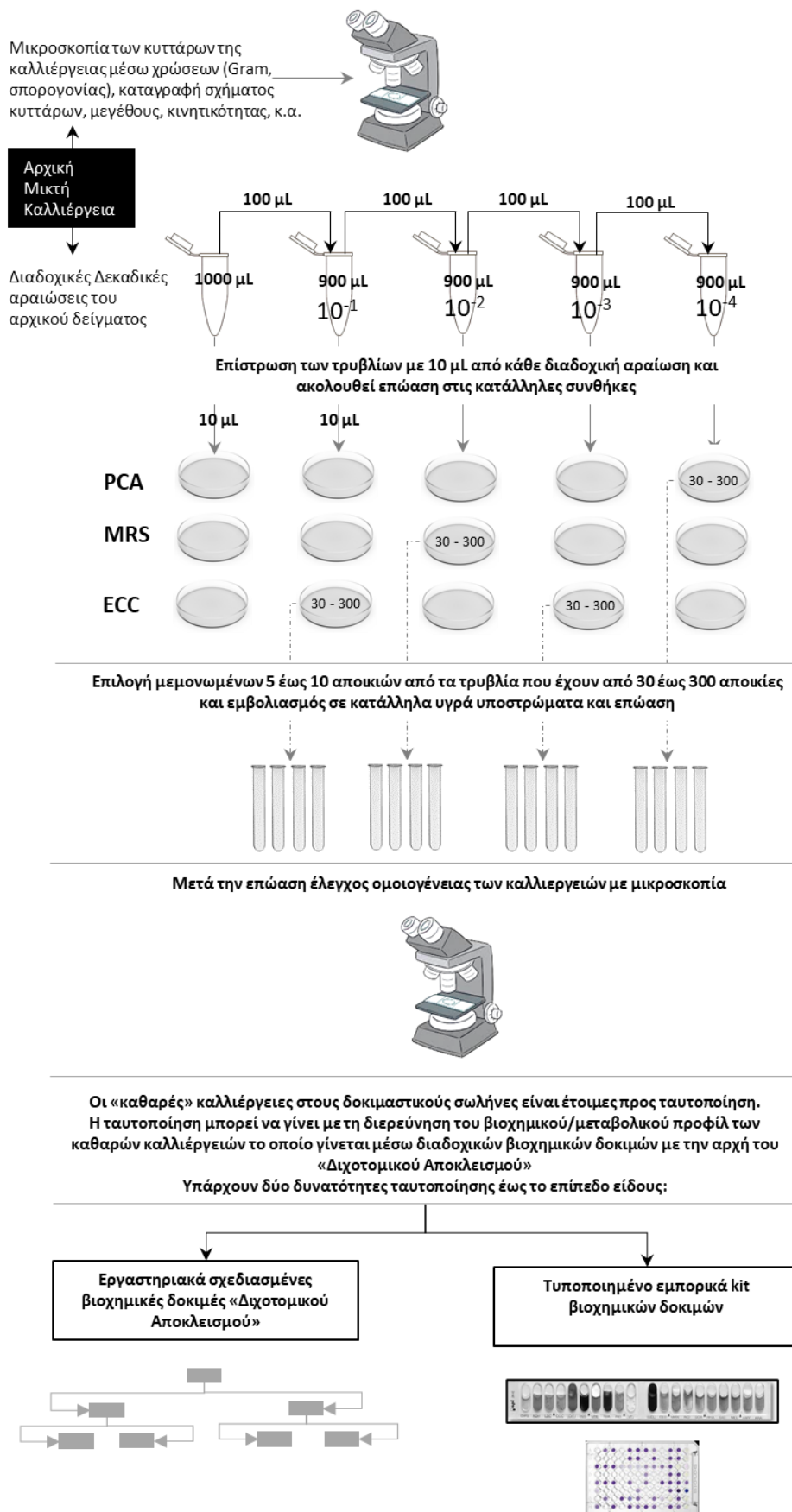
Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην αρχή του Κεφαλαίου αυτού, είναι σαφώς πολύ πιο εύκολη η διαδικασία απομόνωσης και ταυτοποίησης όταν αναζητούμε, από την έναρξη της διαδικασίας, γνωστά είδη. Αυτό πλέον μπορεί να γίνει και όταν έχουμε την απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών άγνωστης μικτής καλλιέργειας, μέσω της παρέμβασης μοριακών τεχνικών.

Στην κλασική περίπτωση η διαδικασία είναι: απομόνωση καθαρών καλλιεργειών και ακολούθως ταυτοποίηση αυτών.

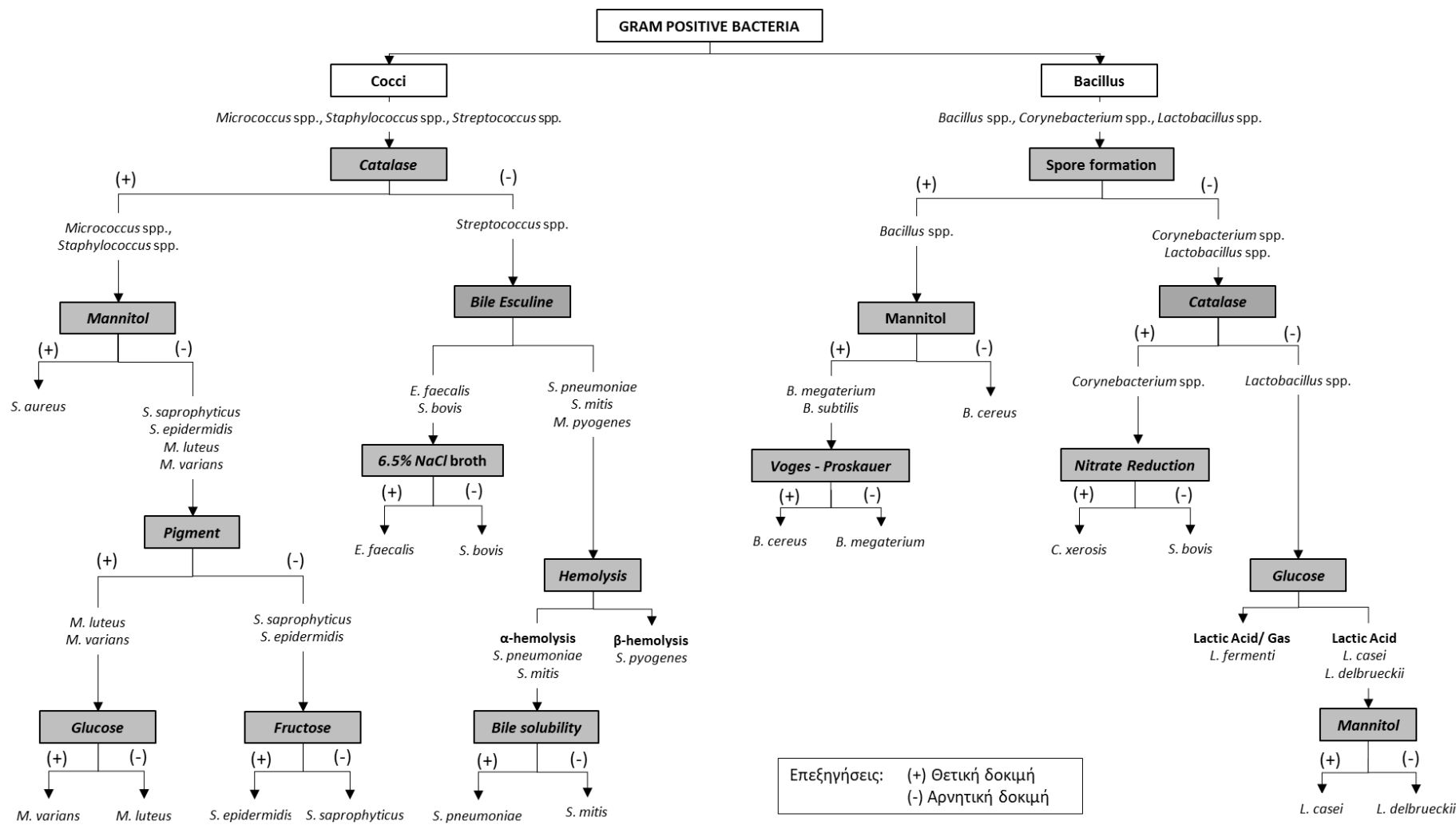
Στον προτεινόμενο εναλλακτικό τρόπο εργασίας η διαδικασία είναι: ταυτοποίηση/ανίχνευση των γενών βακτηρίων μέσω μοριακών τεχνικών, απομόνωσή τους σε θρεπτικά/εκλεκτικά υποστρώματα και μετά ταυτοποίηση/επιβεβαίωση, εκ νέου, των καθαρών καλλιεργειών.

Σήμερα ορισμένα Εργαστήρια – Πανεπιστημιακά κυρίως – τα οποία έχουν μοριακό σύστημα NEXT GENERATION -16S ριβοσωμικό RNA sequencing – μπορούν μέσω βιοπληροφορικής (*Bioinformatics*) να εντοπίσουν εξ αρχής τα γένη και είδη που υπάρχουν στην αρχική μας μικτή καλλιέργεια. Από τη στιγμή που θα έχουμε στη διάθεσή μας τις πληροφορίες αυτές, ο σχεδιασμός της πορείας απομόνωσης που θα ακολουθήσουμε και των υποστρωμάτων που θα επιλέξουμε είναι σαφώς περισσότερο ρεαλιστικός και ασφαλής. Ασφαλώς, μετά την απομόνωση των καθαρών καλλιεργειών θα γίνει ταυτοποίηση, με τεχνικές που εμείς θα επιλέξουμε, κατά περίπτωση. Βέβαια, θα πρέπει να σημειωθεί ότι με τις μοριακές τεχνικές πάντοτε ελλοχεύει η πιθανότητα να εντοπίζονται αλληλουχίες γονιδίων βακτηρίων (διαφορετικά στελέχη του ίδιου είδους), τα οποία δεν εντοπίζονται τελικά επί των τρυβλίων. Στην περίπτωση αυτή υπάρχουν τρία ενδεχόμενα: **(α)** τα βακτήρια δεν είναι πλέον ζωντανά, οπότε δεν μπορούν ασφαλώς να αναπτυχθούν επί τρυβλίων, **(β)** πρόκειται για «ζωντανά-μη-καλλιεργήσιμα» στελέχη, δηλαδή για στελέχη που δεν μπορούμε να τα αναπτύξουμε επί τρυβλίων, διότι δεν μπορούμε να επαναλάβουμε σε αυτά τις συνθήκες που είχαν στην καλλιέργεια, από την οποία προήλθαν και **(γ)** το

πρωτόκολλο απομόνωσης που έχουμε δομήσει έχει «κενά». Σε κάθε περίπτωση όμως, η αρχική πληροφορία που μας παρέχεται είναι πολύτιμη και μπορεί να αξιοποιηθεί κατάλληλα.

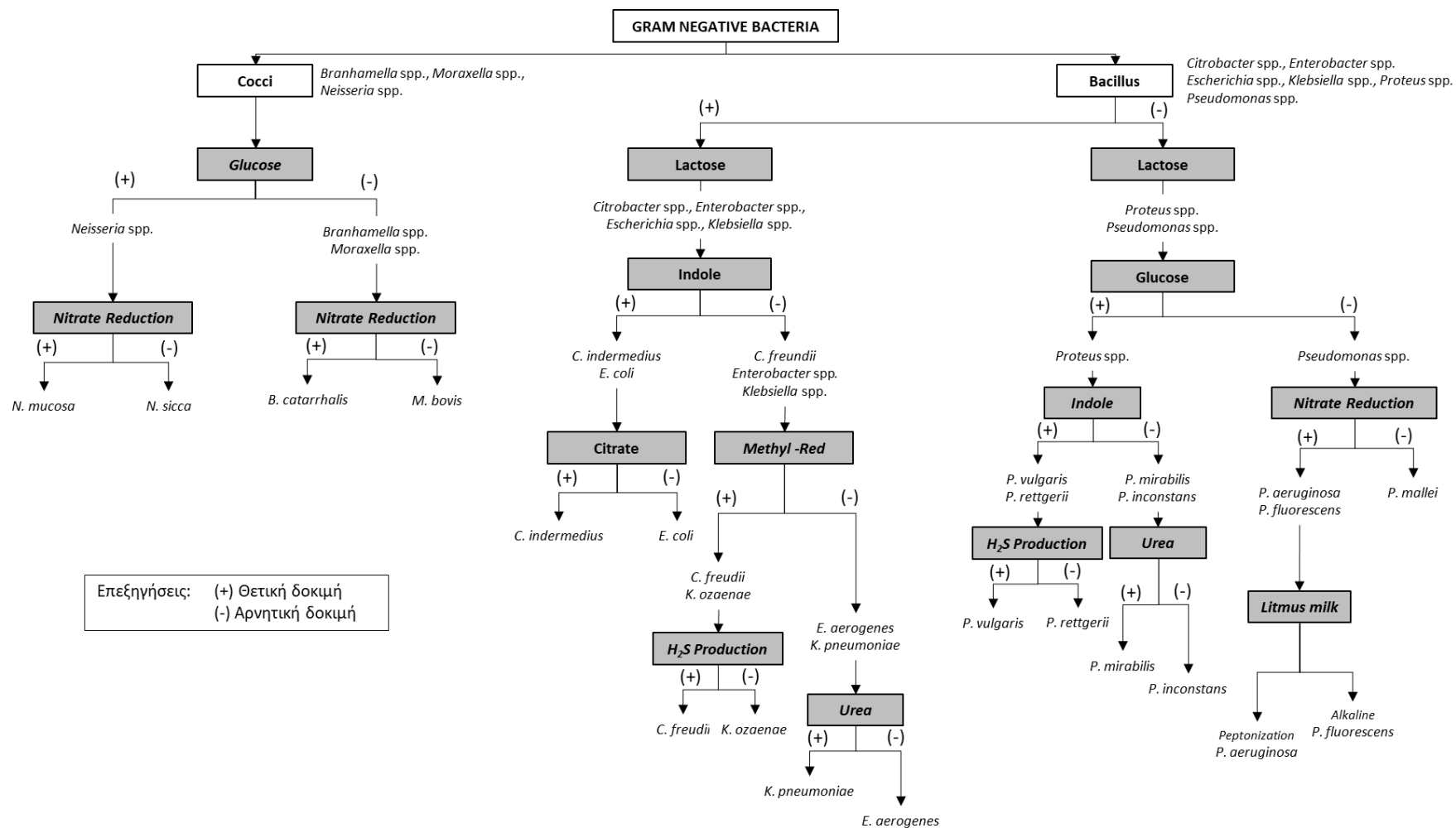


**Σχήμα 1:** Συνοπτικό διάγραμμα ροής απομόνωσης και ταυτοποίησης άγνωστων βακτηρίων από αρχική μικρή καλλιέργεια.



**Σχήμα 2:** Ενδεικτική Διχοτομική Κλείδα ταυτοποίησης άγνωστης καθαρής καλλιέργειας αποτελούμενης από θετικά κατά Gram βακτήρια.





**Σχήμα 3:** Ενδεικτική Διχοτομική Κλείδα ταυτοποίησης άγνωστης καθαρής καλλιέργειας αποτελούμενης από αρνητικά κατά Gram βακτήρια.

	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. lactis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
<b>Μορφολογία</b>	Βάκιλος	Βάκιλος	Κόκκοι	Κοκκοβάκιλος	Κόκκοι	Κόκκοι	Κόκκοι	Κόκκοι	Κόκκοι
<b>Χρωστικές</b>	-	-	-	-	Μπλε/ Κόκκινη	-	Κίτρινη	-	-
<b>Κινητικότητα</b>	+	+	-	+	+	-	-	-	-
<b>Σπορογονία</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>Υδρ. αμύλου</b>	[+]	+	+	-	-	-	-	[-]	[-]
<b>Καταλάση</b>	+	+	d	+	+	-	+	+	+
<b>Οξειδάση</b>	[+]	-	-	-	+	-	+	-	-
<b>Ινδόλη</b>	-	-	-	[+]	-	-	-	-	-
<b>Voges – Prosc.</b>	+	+	+	-	-	+	d	+	+
<b>Κιτρικά</b>	[+]	[+]	[-]	-	+	-	+	d	[-]
<b>Ουρεάση</b>	[-]	-	-	-	[+]	-	d	+	+
<b>Ζελατινάση</b>	+	+	d	-	[+]	-	[+]	+	[+]
<b>Νιτρικά</b>	+	+	-	+	+	-	[-]	+	+
<b>Γλυκόζη</b>	+	+	+	+	-	+	[-]	+	+
<b>Λακτόζης</b>	-	[-]	+	+	-	+	-	+	+
<b>Σακχαρόζης</b>	+	+	+	d	-	+	[-]	+	+
<b>Αέριο</b>	-	-	-	[+]	-	-	-	-	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Eh</b>	Προαιρ. Αναερ.	Υποχρ. Αερ.	Προαιρ. Αναερ.	Προαιρ. Αναερ.	Προαιρ. Αναερ.	Προαιρ. Αναερ.	Υποχρ. αερόβιο	Προαιρ. Αναερ.	Προαιρ. Αναερ.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1:** Ενδεικτικές βιοχημικές δοκιμές ορισμένων κατά Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων.

**ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ**

<b>Προαιρ. Αναερ.</b>	Προαιρετικά Αναερόβια
<b>Υποχρ. Αερ.</b>	Υποχρεωτικά Αερόβια
<b>+</b>	> 90% στελεχών θετικά στη δοκιμή
<b>-</b>	> 90% στελεχών αρνητικά στη δοκιμή
<b>d</b>	26-75% των στελεχών θετικά
<b>[+]</b>	76-89 % των στελεχών θετικά
<b>[-]</b>	76-89 % των στελεχών αρνητικά