**Məşğələ 1.**

**Tibbi mikrobiologiya və immunologiya, onun məqsəd və vəzifələri. Mikroorqanizmlərin sistematikası və təsnifatı. Bakteriyaların təsnifatı. Mikrobioloji laboratoriyanın quruluşu, orada iş rejimi. Mikrobioloji müayinə üsulları. Mikroskopik üsul. Mikroskoplar, immersion obyektivlə işləmə qaydası**

**Məşğələnin planı:**

* Mikrobiologiya və immunologiya fənninə giriş, tibb təhsilində onun yeri, həkimlik fəaliyyəti üçün əhəmiyyəti
* Fənnin bölmələri, məqsəd və vəzifələri
* Mikroorqanizmlərin təsnifatının müasir prinsipləri. Mikroorqanizmlərin əsas qrupları. Prokariotlar (bakteriya, spiroxet, aktinomiset, rikketsiya, xlamidiya, mikoplazmalar), eukariotlar (ibtidailər, göbələklər) və viruslar.
* Taksonomiya və taksonomik kateqoriyalar: aləm-şöbə-sinif-dəstə-fəsilə-cins-növ-yarımnöv. Növ-əsas taksonomik kateqoriya kimi. Yarımnövün kateqoriyaları haqqında anlayış: biovar, serovar, faqovar. Kultura, ştamm, klon anlayışları. Mikroorqanizmlərin nomenklaturası.
* Prokariotların Berci təsnifatı
* Mikrobioloji laboratoriyanın növləri (bakterioloji, mikoloji, parazitoloji, virusoloji, immunoloji, molekulyar- genetik, xüsusi təhlükəli) və quruluşu.
* Avadanlıq və cihazlar.
* Mikrobioloji laboratoriyada iş rejimi.
* Mikrobioloji müayinə üsulları.

*- mikroskopik*

*- kultural*

*- bioloji (eksperimental)*

*- immunoloji (seroloji reaksiyalar, dəri-allergik reaksiyalar)*

*- molekulyar-genetik üsullar.*

* Mikroskopik üsulun mahiyyəti.
* Mikroskopların tipləri və texnikası (işıq, qaranlıq görüş sahəli, kontrast fazalı, lüminessent, elektron, skaner mikroskopları). Mikroskopun böyütmə qabiliyyəti.
* Obyektivlərin tipləri. İmmersion obyektivlə işləmə qaydası.

 ***Mikrobiologiya fənni haqqında məlumat***

**Mikrobiologiya** - (yunanca, mikros-kiçik, bios-həyat, logos-elm) kiçik, adi gözlə görünməyən mikroorqanizmlərin həyat və inkişaf qanunauyğunluqlarını öyrənən elmdir.

**Ümumi, təməl mikrobiologiya** - mikroorqanizmlərin morfologiyası (forma və quruluşu), fiziologiyası (qidalanma, metabolizm, tənəffüs və çoxalma), genetikasını (irsiyyət və dəyişkənlik) öyrənir.

**Xüsusi mikrobiologiya** - ayrı-ayrı mikroorqanizmlərin xüsusiyyətlərini öyrənir. Bundan asılı olaraq bakteriologiya, virusologiya, mikologiya, protozoologiya kimi şöbələrə ayrılmışdır.

Mikrobiologiyanın **tədqiqat obyektini** hüceyrəvi quruluşa malik olan prokariotlar (bakteriya, spiroxet, rikketsiya, xlamidiya, mikoplazma, aktinomiset), eukariotlar (mikroskopik göbələklər və ibtidailər), eləcə də hüceyrəvi quruluşa malik olmayan virus, viroid və prionlar təşkil edir.

**Prокаriоtlаrın təsnifаtı**

* Prокаriоtlаrın müаsir təsnifаtının əsаsındа Bеrci təsnifаtı dаyаnır. Ilк dəfə Аmеriка bакtеriоlоqu D.Bеrci tərəfindən 1923-cü ildə vеrilmiş bu təsnifаt Bакtеriyаlаrın Sistеmаtiкаsı üzrə Bеynəlхаlq Коmitə tərəfindən dövrü оlаrаq yеniləşdirilir.
* Оnun sоnuncu – 9-cu nəşrində bütün prокаriоtlаr hücеyrə divаrının quruluşunа görə 4 böyüк каtеqоriyаyа аyrılmışdır.
* Hər bir каtеqоriyа çoxsaylı qruplardan ibarətdir.

**Prокаriоtlаrın müаsir Bеrci təsnifаtı**

* Hücеyrə divаrınа mаliк Qrаm mənfi еubакtеriyаlаr
* Hücеyrə divаrınа mаliк Qrаm müsbət еubакtеriyаlаr
* Hücеyrə divаrı оlmаyаn еubакtеriyаlаr
* Аrхеbакtеriyаlаr

Hər bir mikroorqanizm sistematikada müəyyən taksonomiyaya (yun. taxis-yer, sıra) malikdir.

Taksonomiyaya aiddir:

* Təsnifat
* İdentifikasiya
* Nomenklatura

**Mikroorqanizmlərin identifikasiyası:**

Fenotipik

* morfoloji
* tinktorial
* kultural
* biokimyəvi
* antigen

Genotipik

* Q+S faizlə miq.,
* DNT-nin hibridləşmə,
* sekvenləşmə,
* restriktaza fer.-nin ə.g.
* DNT-nin uzunluğunda polimorfizmə görə və s.

Filogenetik

* 16S ribosom RNT konservatizmi
* RNT və ribosom zülallarını kodlaşdıran genlər

**Mikroorqanizmlərin nomenklaturası:**

* Mikroorqanizmlərin nomenklaturası, yaxud adlandırılması üçün (viruslar istisna olmaqla) K.Linney tərəfindən təklif edilmiş binominal nomenklatura tətbiq edilir.
* Bu zaman birinci söz cinsi göstərir və böyük hərflə yazılır, ikinci söz isə növün adını göstərir və kiçik hərflə yazılır.

Məs., Mycobacterium tuberculosis

 Francisella tularensis

 Staphylococcus aureus və s.

* **Növ -** vahid mənşə və genotipə malik olub, bioloji əlamətlərə görə oxşar olan irsi möhkəmlənmiş, standart şəraitdə keyfiyyətcə təyin edilən proseslər törədən fərdlərin məcmudur.
* **Ştamm** - müxtəlif mənbələrdən (yaxud eyni mənbədən) müxtəlif vaxtlarda alınmış bir növə aid mikroorqanizmlərin təmiz kulturasıdır.
* **Klon** - bir mikrob hüceyrəsindən inkişaf edən kulturadır.
* **Koloniya** - bərk qidalı mühitlərdə bakteriyaların əmələ gətirdiyi yığıntıya (populyasiyaya) deyilir.
* **Təmiz mikrob kulturası** - tək bir növə mənsub olan mikroorqanizmin bərk qidalı mühitdə əmələ gətirdiyi populyasiya nəzərdə tutulur.

**Növdaxili yarımnöv və ya variantlar (var)**

* morfovar - əsas növdən morfoloji xüsusiyyətinə görə fərqlənən variant
* biovar - bir neçə bioloji xassəsinə görə fərqlənir
* serovar - antigen quruluşuna görə fərqlənənlər
* faqovar - fərqli bakteriofaqa həssaslığına görə
* xemovar - biokimyəvi xassələrinə görə
* rezistovar - antimikrob preparatlara həssaslığına görə fərqlənirlər.

**Xəstəliklərin diaqnostikasında mikrobioloji laboratoriyanın rolu**

İnfeksion xəstəliklərin diaqnozunu erkən və dəqiqliklə müəyyənləşdirmək üçün mikrobioloji laboratoriyalarda aparılan tədqiqatların mühüm əhəmiyyəti vardır.

**Mikrobioloji laboratoriyalar:**

* gigiyena və epidemiologiya mərkəzləri
* poliklinikalar
* xəstəxanalar və
* elmi-tədqiqat institutlarının nəzdində fəaliyyət göstərir

**MİKROBİOLOJİ LABORATORİYANIN QURULUŞU:**

**MİKROBİOLOJİ LABORATORİYA BİR SIRA OTAQLARDAN TƏŞKİL OLUNUR:**

1. Müayinə materiallarının (nümunə) qəbulu otağı

2. Preparator otağı - müayinənin aparılması üçün qidalı mühitlər, materiallar, rəng məhlulları və s. hazırlanır.

3. Avtoklav otağı - sterilizasiya cihazları (avtoklav, hava sterilizatoru) yerləşir

 4.Yuma otağı - Petri kasaları, sınaq şüşələri, kolbalar, istifadə edilmiş pipetkalar dezinfeksiyaedici məhlulda zərərsizləşdirilir və yuyulur

5. Müayinə otağı - xəstələrdən götürülmüş müayinə materialları - irin, bəlğəm, qan, sidik, nəcis, onurğa beyni və s. mayesi müxtəlif üsullarla müayinə edilir.

6. Vivarium - eksperimental üsul üçün lazım olan heyvanlar saxlanılır.

***Mikrobioloji laboratoriyada istifadə edilən cihazlar:***

1. Mikroskoplar
2. Avtoklav
3. Hava sterilzatoru
4. Termostat
5. Su hamamı
6. Soyuducu şkaf
7. Sentrifuqa

Mikrobioloji laboratoriyada iş rejimi

Tibbi müəssisələrin mikrobioloji laboratoriyalarında patogen mikroorqanizmlərlə iş aparıldığına görə yenidən yoluxmanın və mikrobların yayılmasının qarşısını almaq  məqsədilə aşağıdakı  qaydalara, yəni rejimə mütləq riayət olunmalıdır:

1. Laboratotiyaya xalatsız və kalpaksız girmək olmaz. Lazım gəlsə maskadan istifadə etmək mütləqdir.
2. Üst geyimi ilə laboratoriyaya girmək, otaqda çox gəzmək və danışmaq olmaz.
3. Laboratoriyada  yemək, çay  içmək və siqaret çəkmək olmaz.
4. Patoloji material təsadüfən xalata, stola, döşəməyə və s. yerlərə düşərsə, dərhal  dezinfeksiyaedici maddə ilə işlənməlidir.
5. İşlənilən pipetka, şpatel, sınaq şüşələri, Petri kasaları dezinfeksiyaedici məhlul içərisinə atılmalıdır.
6. İşin sonunda iş stolu yığışdırılmalı, dezinfeksiya edilməli, əkilmiş Petri kasaları termostata, muzey ştamları və artıq qalan qidalı mühitlər soyuducuya qoyulmalıdır.
7. Mikroskopun əşya masası və 90 dəfə böyüdən obyektiv yağdan təmizlənməli və obyektivin altına tənzif parçası qoyulmalıdır. Çirklənməməsi üçün mikroskop xüsusi örtüklə örtülməlidir;
8. Sonda əllər dezinfeksiyaedici məhlul hopdurulmuş dəsmalla silinməli və sabunla yuyulmalıdır.

**Mikrobioloji laboratoriyada tədqiqatlar apararkən aşağıdakı qaydalara əməl edilməlidir:**

1. Yoluxmuş materiallarla ancaq alətlərlə işlənməlidir (pinset, ilgək və s.).
2. Kasada kultivasiya edilmiş materiala və kondensata toxunmaq qadağandır.
3. İş başlamamışdan əvvəl diqqətlə şüşə qabların bütövlüyünü, iynələrin keçidi, şprislərin dalğıcının etibarlılığı yoxlanılmalıdır.
4. Materialı kultivasiya etdikdə sınaq şüşəsinə, Petri kasalarına, kolbaya, flakonlara ayın tarixi və analizina nömrəsi qeyd edilir.
5. Sınaq şüşəsinə, Petri kasasına material alov yanında köçürülməli, şpatel, sınaq şüşələrinin kənarı alovdan keçirilməli, ilgək alovda közərdilməlidir.
6. İşləyəndə kultura olan kasalar küvetə yaxud podnoslara, sınaq şüşələri isə ştativə yerləşdirilməlidir.
7. Patogen mikroorqanizmlər olan məhlul Paster pipetkası ilə rezin balona yığılmalıdır.
8. Məhlulları ağızdan sormaq və bir qabın qırağından başqa qaba tökmək olmaz.
9. İş bitdikdən sonra iş masalarının üstündə fiksə edilməmiş preparatlar, Petri kasaları, sınaq şüşələri, yoluxmuş materialla çirklənmiş digər qabların qalması qadağandır.

Mikroskopik üsul

* Mikroskopik üsulun köməyilə müayinə materialında mikroorqanizmlərin olması və onların morfologiyası müəyyən edilir.
* Əlavə elementlər - kapsula, spora, flagellalar, başqa əlavələr - volyutin dənəcikləri də təyin edilir.
* Bir çox mikroorqanizmləri morfoloji və tinktorial xüsusiyyətlərinə əsasən təyin etmək mümkün olmadığından mikroskopik üsul təxmini diaqnostik üsuldur.

Kultural (bakterioloji) üsul

* Bu üsulla müayinə apararkən patoloji material müvafiq qidalı mühitlərə əkilir və kultivasiya edilir, kulturası alınır və identifikasiya edilir.
* Mikrobioloji diaqnostikada “qızıl üsul” olub, törədicini dəqiq təyin etməyə və tanımağa imkan verir.

Bioloji və ya eksperimental üsul

* Patoloji materialı laborator heyvanlara yoluxdurmaqla aparılır.
* Bakterioloji üsulla təmiz kultura almaq mümkün olmadıqda bioloji üsuldan istifadə olunur.
* Mikrobun patogenliyi, virulentliyi və toksigenliyi öyrənilir.
* Yeni dərman preparatlarının eksperimental sınaqları aparılır.

İmmunoloji üsul (seroloji və dəri-allergik)

 Seroloji üsul – qan zərdabında törədicinin antigenləri, yaxud onların əleyhinə əmələ gəlmiş anticisimlər təyin edilir, eləcə də məlum immun zərdabın köməyilə naməlum mikrobun növü və serovarı müəyyən olunur (seroloji identifikasiya).

Dəri-allergik sınaq

* Bir çox törədicilərin antigenləri sensibilizasiyaedici təsirə malik olduğundan infeksion xəstəliklərin diaqnostikasında allergik reaksiyalar da istifadə olunur.
* Vərəmdə - Mantu sınağı
* Bruselyozda - Bürne sınağı
* Tulyaremiyada - Tulyarin sınağı və s.

***Molekulyar-genetik üsul***

* Zəncirvari polimeraza reaksiyası prinsipi patoloji materialda və ya təmiz kulturada istənilən törədicinin nuklein turşusunu çoxaldaraq (amplifikasiya) təyin etməkdir.
* DNT və ya RNT-nin molekulyar hibridizasiyası. Törədicilərə məxsus genom fraqmentlərinin təyin edilməsinə əsaslanır.
* Molekulyar-genetik üsulların əsas üstünlüyü yüksək həssaslıq və spesifikliyə malik olmalarıdır.

**Mikroskoplar**

* Mikrobioloji laboratoriyalarda mikroorqanizmləri müayinə etmək üçün mikroskoplardan istifadə edilir.
* Mikroskop (lat. *mikro*-kiçik,  *skopid*-baxıram) - obyektin təsvirinin böyüdülməsi, həmçinin gözlə görünə bilinməyən hissənin ölçülməsi üçün cihazdır.
* Müasir bioloji mikroskop mürəkkəb optik cihaz olub, işıqlı və qaranlıq sahədə, işıq şüalarından keçən obyektlərin öyrənilməsinə imkan verir.
* Ölçüləri 0,2 mkm-dən böyük olan mikroorqanizmlərin forması, quruluşu, ölçüləri və s. xassələri işıq mikroskopu ilə tədqiq edilir.

***İŞIQ MİKROSKOPUNUN QURULUŞU***

Bioloji mikroskop 2 hissədən ibarətdir:

Mexaniki Optik

1. Ştativ obyektivlər
2. Dəstək okulyar
3. Tubus
4. Əşya masası İşıqlandırıcı
5. Makrometrik v. güzgü
6. Mikrometrik v. kondensor
7. Revolver

Əşya masası

* Əşya masası mikroskopun mexaniki hissəsinə aiddir.
* Mikroskopun üzərinə preparat qoyulub tədqiq edilən hissəsidir.
* Üzərində bərkidici yaylar yerləşir. Bu bərkidici yaylar elastiki olub, tədqiq olunan cismi əşya masasına sıxır.

 Tubus

* Okulyarla revolver arasında tubus və ya baxış borusu yerləşir.
* Tubus istiqamətləndirici funksiyasını daşıyır. Başqa sözlə, xəyaldan gələn işıq dalğalarını gözə doğru istiqamətləndirir.
* Obyektiv ilə okulyar arasındakı məsafə tubusun optik uzunluğu adlanır.

Okulyar

* Okulyar sözü "okulus" sözündən olub "göz" mənasını verir.
* Okulyar tubusun yuxarı hissəsində yerləşir.
* Mikroskopun əsas böyüdücü iki hissəsindən biri olub lupa funksiyasını yerinə yetirir.
* Mikroskopda əşyanı izlədiyimiz zaman gözümüzü okulyara söykəyirik.
* Okulyar 2 linzadan və onları saxlayan çərçivədən ibarətdir.
* Bu linzalardan tubusa daha uzaq olanı yuxarı linza və ya "göz linzası", digəri isə aşağı linza adlanır.

OBYEKTİVLƏRİN TİPLƏRİ:

Mikroskopun optik hissəsinə aid olub iki tərəfi qabarıq linzalardan ibarətdir:

 - frontal linza öndə

 - korreksiyaedici linza arxada (yuxarıda) yerləşir

Bioloji mikroskoplar:

(x8, 10, 40, 60) - quru

(x90, x100) - immersion

obyektivlə təchiz olunur.

Mikroskopun böyütmə qabiliyyəti:

* Mikroskopun böyütmə dərəcəsi obyektiv və okulyarın böyütmələrinin hasilinə bərabərdir.

 Obyektiv X okulyar = tam böyütmə

* Obyektiv 100 dəfə, okulyar 10 dəfə böyüdürsə mikroskopun ümumi böyütməsi 100x10=1000 dəfə olar.
* Bioloji işıq mikroskopları obyekti 2000-3000 dəfəyə qədər böyütməyə imkan verir.
* Fərqləndirmə qabiliyyəti isə 0,00027 mm-dir.

 Qaranlıq sahəli mikroskop

* İşıq mikroskopunun kondensorunu paraboloid və ya kardioid-kondensor ilə əvəz etməklə əldə edilir.
* Paraboloid-kondensorun yuxarı linzasının kənarı dairəvi olub rəngsiz, mərkəzi isə qara rənglidir. Qara hissəsinə düşən şüalar udulur, şəffaf dairəvi hissədən keçən çəp şüalar mikoorqanizmlərə rast gəldikdə sındırılır və obyektivə düşür (difraksiya). Nəticədə qaranlıq mühitdə işıqlanan (Tindal effekti) mikroorqanizmlər görünür.
* Əsasən spiroxetlər kimi çətin boyanan mikroorqanizmlərin rənglənmədən tədqiq edilməsində istifadə edilir.

Kontrast fazalı mikroskop

 Hər hansı obyektin optik sıxlığı çox olan sahəsindən keçən işıq şüaları fazaca digər sahələrdən geri qalır. Belə sahələr şəffaf olduğundan mikroskopda görünmür. Ona görə də kontrast xəyal əldə etmək üçün kontrast fazalı qurğunun köməyi ilə obyektdən keşən işıq şüalarının faza dəyişkənliyi amplituda dəyişkənliyinə çevrilir və şəffaf obyektlər mikroskopda görünür.

* Bu qurğu dalğa uzunluğu böyüklüyünü faza böyüklüyünə çevirir.
* İşıq mikroskopuna xüsusi diafraqma və onun qarşısına difraksiya lövhəsi qoyularaq hazırlanır.
* Orqanellalar müxtəlif şəkildə işıqlanır və mikroskopda asanlıqla ayırd edilir.
* Bakteriyaların struktur elementləri, çoxalması, sporulyasiyası, kimyəvi maddələrin təsiri öyrənilir.

Lüminessent (flüoressent) mikroskop

* + Lüminessensiya (lat. lumen -işıq deməkdir) maddənin udduğu potensial enerjinin işıq enerjisinə çevrilməsi və soyuq halda işıq saçmasından ibarətdir.
	+ UBŞ istifadə edilir. İnsan gözü bu şüaları görmədiyi üçün preparat əvvəlcə flüoressensiya verən boya (akridin, auramin, neytral qırmızı, flüoressein və s.) ilə işlənir.
	+ Mikroorqanizmlər qara sahədə fluoressensiya verən cisimlər kimi görünür.

*Elektron mikroskop*

* İşıq şüalari əvəzinə elektron selindən istifadə edilir.
* Elektron mikroskopu çox kiçik obyektləri - virusları, bakteriya və digər mikroorqanizmlərin struktur elementlərini, makromolekulları və başqa submikroskopik cisimləri görməyə imkan verir.
* Elektron şüasının dalğa uzunluğu 0,005 nm-ə yaxın olub, işiq şüasının dalğa uzunluğundan 200000-300000 dəfə kiçikdir.
* Elektronların dalğa uzunluğu işıqdan daha kicik olduğundan, elektron mikroskopunda faydalı böyütmə ən yuxarı limitə çatır və işıq mikroskopundan 1000 dəfə çox böyütmə (x1000000) təmin edilir.

*Skan elektron mikroskopu*

Skan elektron mikroskopu (ing. Scanning Electron Microscope - SEM) – elektron mikroskop sinfindən cihazdır.

* Böyük (0,4 nm-ə qədər) obyektin səthinin görüntüsünü, habelə səthi qatlarının tərkibi, quruluşu və bəzi digər xüsusiyyətləri barədə məlumat əldə etmək üçün hazırlanmış cihazdır.
* Elektron şüanın tədqiq olunan obyektlə qarşılıqlı təsir prinsipinə əsaslanır.
* Əldə olunan məlumatlardan kompüter şəkil tərtib edir.

İmmersion obyektivlə işləmə qaydası:

* Mikrobioloji tədqiqatlarda əksərən böyütmə dərəcəsi yüksək olan (90 dəfə böyüdən) yaş (yağlı) immersion (immersio - lat. batırmaq) sistemdən istifadə olunur.
* Mikroskopiya zamanı preparatın üzərinə düşən şüalar şüşədən keçib havaya düşdükdə müəyyən hissəsi səpələndiyindən obyektivə düşmür, göstərmə qabiliyyəti azalır.
* Ona görə də şüa itkisinin qarşısını almaq üçün işıq şüalarını sındırma əmsalı şüşənin sındırma əmsalına yaxın olan immersion yağ (sındırma əmsalı -1,52) istifadə edilir.
* İmmersion yağ obyektiv ilə preparat arasındakı boşluğu doldurur, preparatdan keçən bütün şüalar obyektivə düşür, mikroskopun böyütmə qabiliyyəti artır.