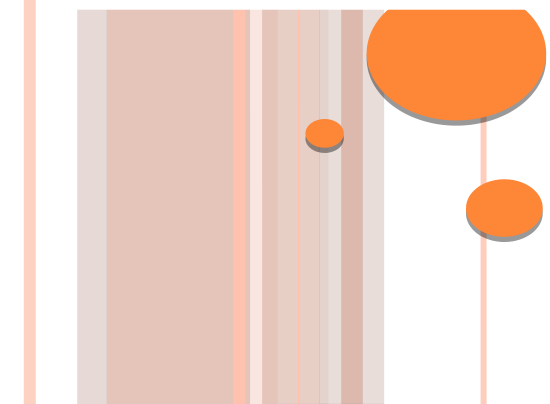




Mövzu 1

Mikrobioloji laboratoriyasının quruluşu, orada iş rejimi. Mikrobioloji müayinə üsulları. Mikroskopik üsul. Mikroskoplar, immersion obyektivlə işləmə qaydaları



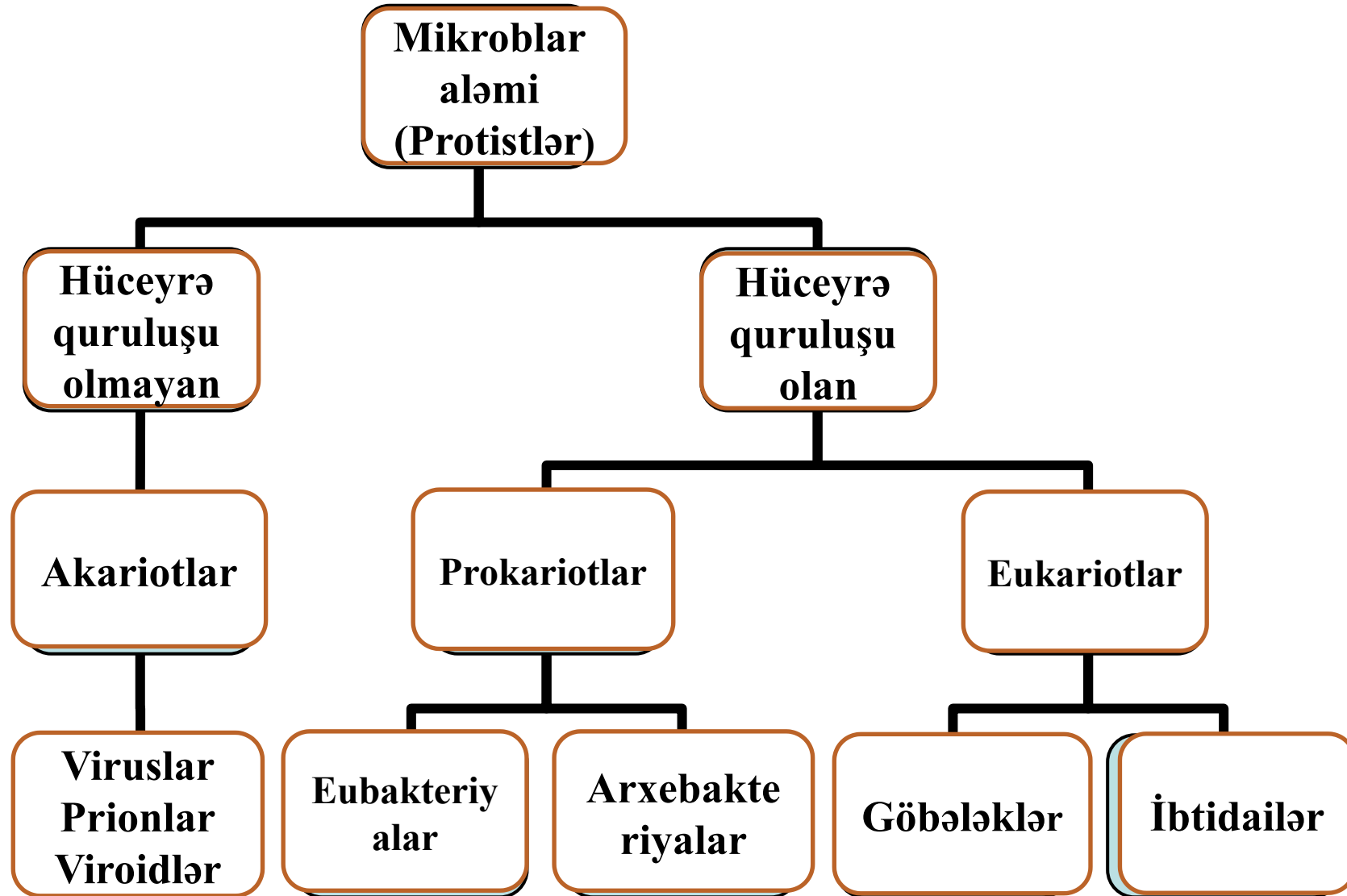
Mikrobiologiya fənni haqqında məlumat

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

Ümumi, təməl mikrobiologiya - mikroorqanizmlərin morfolojiyası (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.

MİKROBLAR ALƏMİNİN TƏSNİFATI



*İnfeksiyon 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*

Mikrobioloji laboratoriyaların növləri

*Mikrobioloji
laboratoriyanın növləri*

Bakterioloji

Mikoloji

Virusoloji

İmmunoloji

*Molekulyar
-genetik*

*Xüsusi-
təhlükəli*

MİKROBİOLOJİ LABORATORİYANIN QURULUŞU

MİKROBİOLOJİ LABORATORİYANIN BİR SIRA OTAQLARDAN TƏŞKİL OLUNUR

1. MÜAYİNƏ MATERİALLARININ (nümunə) QƏBULU OTAĞI

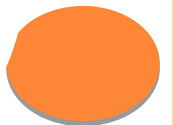
2. PREPARATOR OTAĞI – müayinənin aparılması üçün qidalı mühitlər, materiallar, rəng məhlulları və s. hazırlanır.

3. AVTOKLAV OTAĞI – sterilizasiya cihazları (avtoklav, hava sterilizatoru) yerləşir

4. YUMA OTAĞI – Petri kasaları, sınaq şüşələri, kolbalar, istifadə edilmiş pipetkalar dezinfeksiyaedici məhlulda zərərsizləşdirilir və yuyulur

5. MÜAYİNƏ OTAĞI - xəstələrdən götürülmüş müayinə materialları – irin, bəlgəm, qan, sidik, nəcis, onurğa beyni və s. mayesi müxtəlif üsullarla müayinə edilir.

6. VİVARIUM – eksperimental üsul üçün lazım olan heyvanlar saxlanılır



Müasir mikrobioloji laboratoriya





Mikrobioloji laboratoriyasının avadanlıqları



petri kasası



tamponlar



ilgək



iyənə



şpatel



sınaq şüşəsi



menzur



spirt lampası



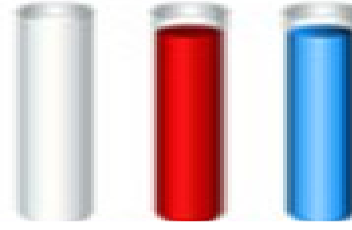
Mikrobioloji laboratoriya avadanlıqları



Stəkanlar



Reagent şüşələri



Sınaq boruları



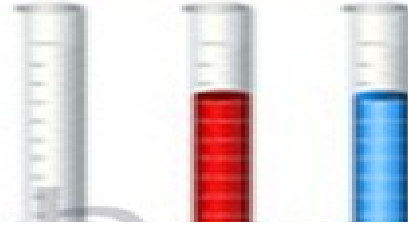
şativ



dayaq və sıxıcı



mikroskop



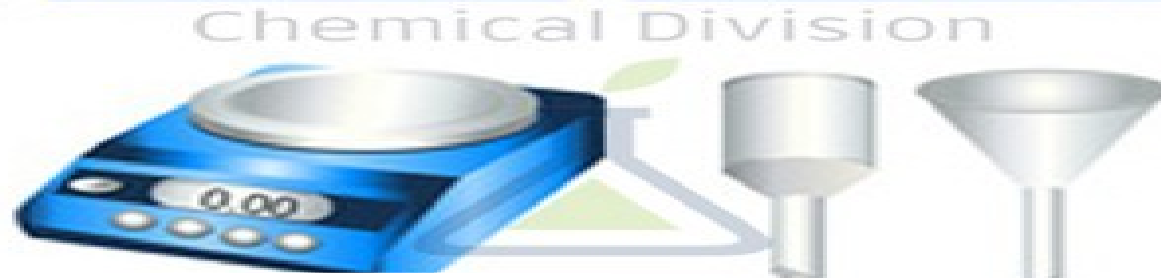
Ölçülü silindrlər - menzur



Qaz lampası



pipetka



elektron balans

filtr üçün qıflar



altı düz kolba



altı dəyirmi kolba



təhlükəsizlik eynəyi



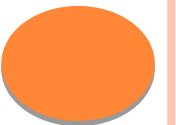
körpü



mikro spatel

MIKROBIOLOJİ LABORATORİYADA İSRİFADƏ EDİLƏN CIHAZLAR

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



MIKROBIOLOJİ LABORATORİYADA İSRİFADƏ EDİLƏN CIHAZLAR



Gaspak sistemi



Paster sobası



Sentrifuqa



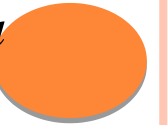
Soyuducuları şkaflar



Avtoklav



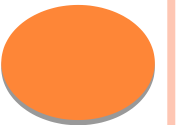
Maqnit qarışdırıcı



Bakterioloji analizatorlar

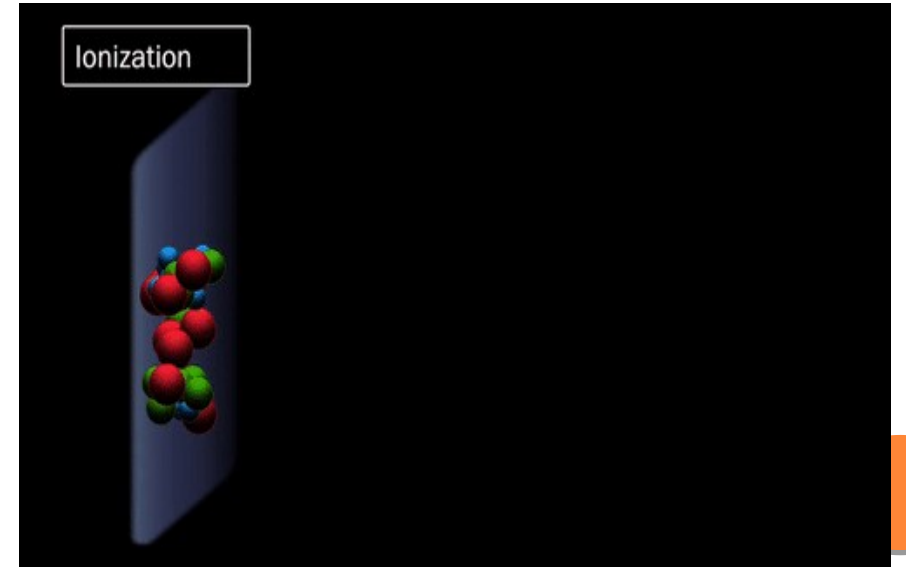


Mikroorqanizmlərin identifikasiyası, antibiotiklərə həssaslığı öyrənmək və hemakultura üçün analizatorlar



MALDI-tof mass spektrometriya

- *MALDI-tof mass spektrometriya (ing. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Matrisin aktivləşmiş lazer desorbsiyası (ionlaşması))*
- *Lazer şüalarının matriksdəki analiz olunan maddə ilə qarşılıqlı təsiri nəticəsində maddə ionlaşır*
- *Uçucu olmayan yüksək molekullu birləşmələr (peptid, zülallar, oliqonukleotid karbohidratlar) təyin edilir*
- *MALDI-tof cihazını yaratdığına görə yapon mühəndis Shimadzu K.T. 2002-ci ildə Nobel mükafatı almışdır*



Biomerieux VITEK 2 bakteriooloji analizator

- *Vitek 2 Compact analizatoru avtomatik sistemdir*
- *Mikroorqanizmlərin identifikasiyası*
- *Antimikrob preparatlara həssaslığı təyin edilir (1 gün ərzində)*
- *64 çökəkli plastik kartdan ibarətdir*
- *Qram mənfi bakteriyalar*
- *Qram müsbət bakteriyalar*
- *Maya göbələkləri*
- *Anaerob bakteriyalar, neyссерiyalar, hemofil çöplər*
- *Yüksək virulentli mikroorqanizmlərdən: Brucella melitensis, Burkholderia pseudomallei, Francisella tularensis, Burkholderia mallei, Escherichia coli O157, Vibrio cholerae, Yersinia pestis təyin edilir*
- *Nəticənin əldə edilmə vaxtı 6-8 saatdır*



*Növlərin
identifikasiyası
(ID) kartları*



*Antimikrob həssaslıq testi
–AHT (striplər)
antimicrobial
susceptibility testing-AST
testi*

Termostat

➤ **Termostat** - mikroorqanizmləri insan və heyvan orqanizmindən xaricdə, yəni suni qidalı mühitlərdə kultivasiya etmək üçün sabit və optimal temperatur şəraiti yaradan xüsusi ikiqat divarlı şkafdır

➤ Əksər patogen mikroorqanizmlər 37°C t-da bir neşə sutkaya, leptospira və göbələklər 28°C -də 3-10 gün müddətində çoxalır.



MIKROBIOLOJİ LABORATORİYADA İŞ REJİMİ

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

- a) Laboratoriyaya xalatsız və kalpaksız girmək olmaz. Lazım gəlsə maskadan istifadə etmək lazımdır*
- b) Üst geyimlə laboratoriyaya girmək, otaqda çox gəzmək və danışmaq olmaz*
- c) Laboratoriyada yemək, çay içmək və siqaret çəkmək olmaz*
- d) Patoloji material təsadüfən xalata, stola, döşəməyə və s. yerlərə düşərsə, dərhal dezinfeksiyaedici maddə ilə işlənməlidir*
- e) İşlənən pipetka, spatel, sınaq şüşüləri, Petri kasaları dezinfeksiyaedici məhlul içərisinə atılmalı*
- f) İşin sonunda iş stolu yığıldırılmalı, dezinfeksiya edilməli, əkilmiş Petri kasaları termostata, muzey ştammları və artıq qalan qidalı mühitlər soyuducuya qoyulmalıdır.*
- g) Mikroskopun əşya masası və 90 dərəcə böyüdən obyektiv yagdən təmizlənməli və obyektivin altına tənzif parçası qoyulmalıdır. Toz basmaması üçün mikroskop xüsusi örtüklə örtülməlidir;*
- h) Nəhayət, əllər dezinfeksiyaedici məhlul hopdurulmuş dəsmalla silinməli və sabunla yuyulmalıdır.*

Mikrobioloji laboratoriyada tədqiqatlar apararkən aşağıdakı qaydalara əməl edilməlidir:

- 1. Yoluxmuş materiallarla ancaq alətlərlə işlənməlidir (pinset, ilğək və s.)***
- 2. Kasada kultivasiya edilmiş materiala və kondensata toxunmaq qadağandır***
- 3. İş başlamamışdan əvvəl diqqətlə şüşə qabların bütövlüyünü, iynələrin keçidi, şprislərin dalğıcının etibarlığı yoxlanılmalıdır***
- 4. Materialı kultivasiya etdikdə sınaq şüşəsinə, Petri kasalarına, kolbaya, flakonlara ayın tarixi və analizin nömrəsi qeyd edilir***
- 5. Sınaq şüşəsinə, Petri kasasına material alov yanında köçürülməli, spatel, sınaq şüşələrinin kənarı alovdan keçirilməli, ilğək alovda közərdilməlidir***
- 6. İşləyəndə kultura olan kasalar küvetə yaxud podnoslara, sınaq şüşələrini ştativə yerləşdirilməlidir***
- 7. Patogen mikroorqanizmlər olan məhlul Paster pipetkəsi 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 daha digər qabların qalması qadağandır***

Mikrobioloji müayinə üsulları

1. Mikroskopik üsul

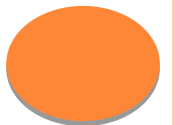
2. Kultural (bakterioloji, virusoloji, mikoloji, parazitoloji) üsul

3. Bioloji üsul

4. İmmunoloji üsul: - seroloji

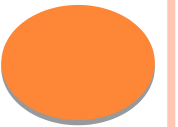
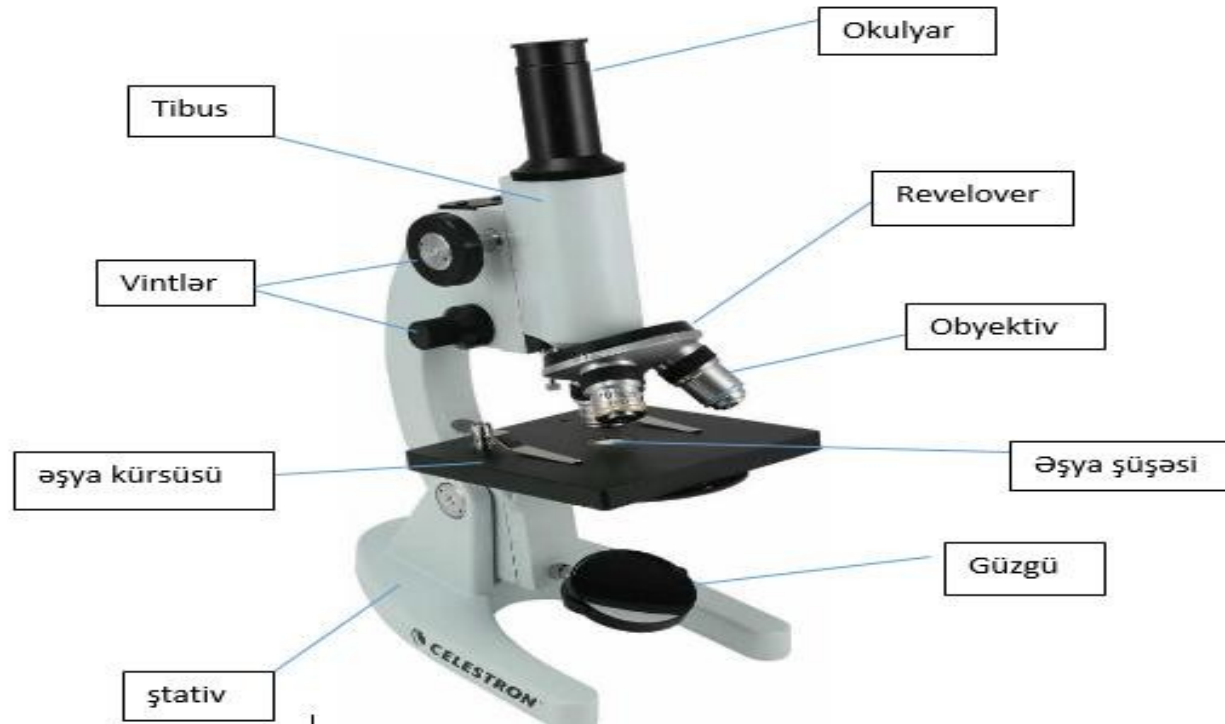
- dəri-allergik sınaqlar

5. Molekulyar-genetik üsul



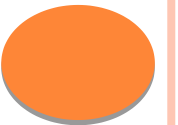
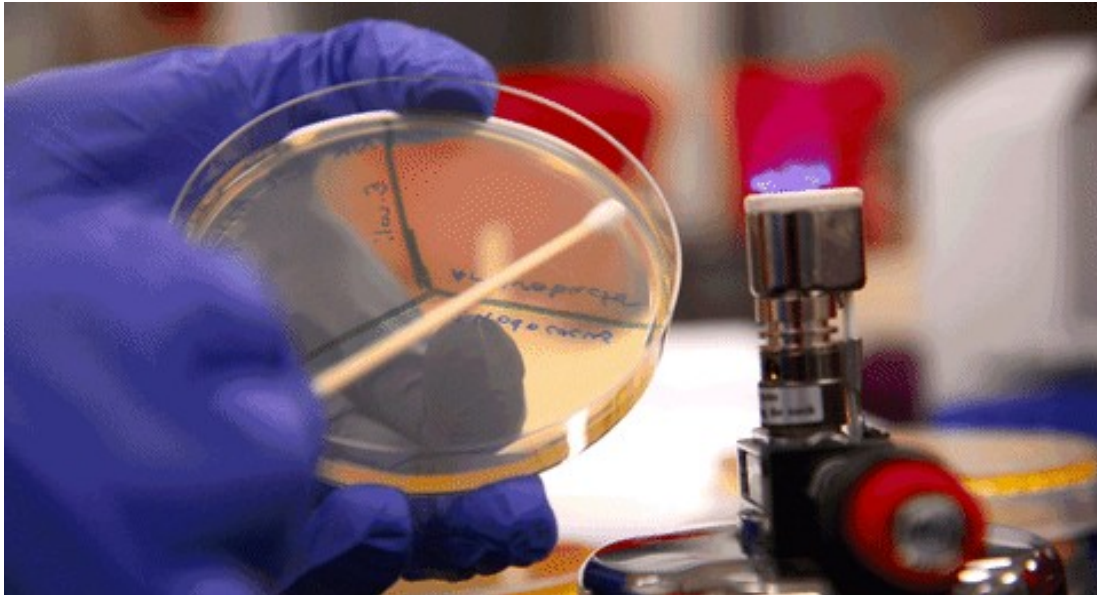
Mikroskopik üsul

- Mikroskopik üsulun köməylə müayinə materialında mikroorqanizmlərin olması və onların morfoloqiyası 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.



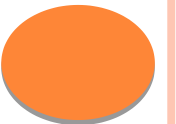
Kultural (bakterioloji) üsul

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



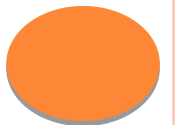
BIOLOJI VƏ YA EKSPERIMENTAL ÜSUL

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



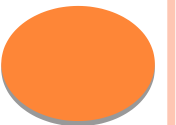
İMMUNOLOJİ ÜSUL

***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**).*



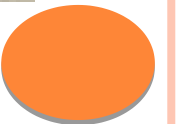
DƏRI-ALLERGIK SINAQ

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



MOLEKULYAR-GENETİK ÜSUL

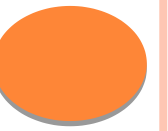
- **Polimeraza zəncirvari reaksiyası**
Prinsipi patoloji materialda və ya təmiz kulturada istənilən törədicinin nuklein turşusunu çoxaldaraq (amplifikasiya) təyin etməkdir.
- **DNT və ya RNT-nin molekulyar hibridizasiyası.** *Törədicilərə məxsus genom fraqmentlərinin təyin edilməsinə əsaslanır.*
- **Molekulyar-genetik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



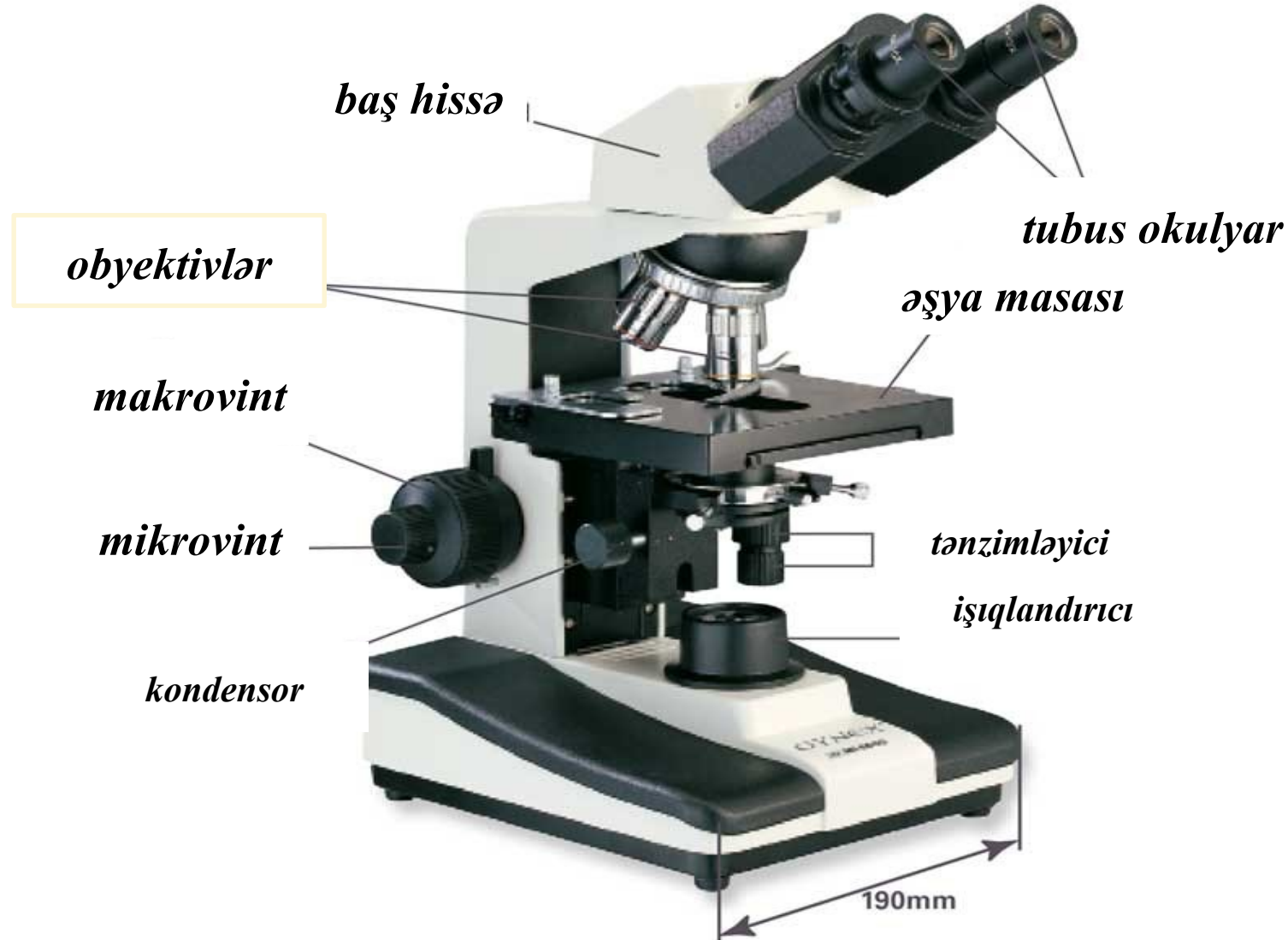
Mikroskoplar

- *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 b. xassələri işıq mikroskopu ilə tədqiq edilir.*

*o
nt
ra
st
ju
za
ti
m
ni
ar
i*



İŞIQ MİKROSKOPUNUN QURULUŞU



Bioloji mikroskop 2 hissədən ibarətdir:

Mexaniki

- Ştativ*
- Dəstək*
- Tubus*
- Əşya masası*
- Makrometrik v.*
- Mikrometrik v.*
- Revolver*

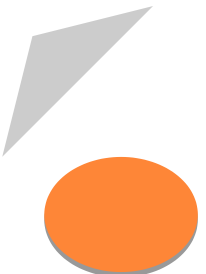
Optik

- obyektivlər*
- okulyar*
- güzgü*
- kondensor*

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.*



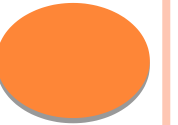
TUBUS



✓ *Okulyarla revolver arasında tubus və ya baxış borusu yerləşir.*

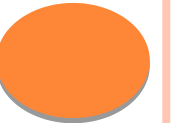
✓ *Tubus istiqamətləndirici funksiyasını daşıyır. Başqa sözlə, xəyaldan gələn işıq dalğalarını gözə doğru istiqamətləndirir.*

✓ *Obyektiv ilə okulyar arasındakı məsafə tubusun optik uzunluğu adlanır*



Okulyar

- ✓ Okulyar sözü "**okulus**" sözündən gəlib "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.



OBJEKTİVLƏRİN TIPLƏRİ

✓ *Mikroskopun optik hissəsinə aid olub
2 tərəfi qabarıq linzalardan ibarətdir*

-frontal linza öndə

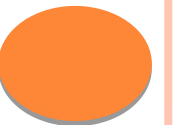
-korreksiyaedici linza arxada (yuxarıda)

yerləşir

Bioloji mikroskoplar

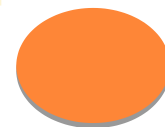
(x8, 10, 40, 60) - quru

*(x90, x100) - immersion obyektivlə təchiz
olunur.*

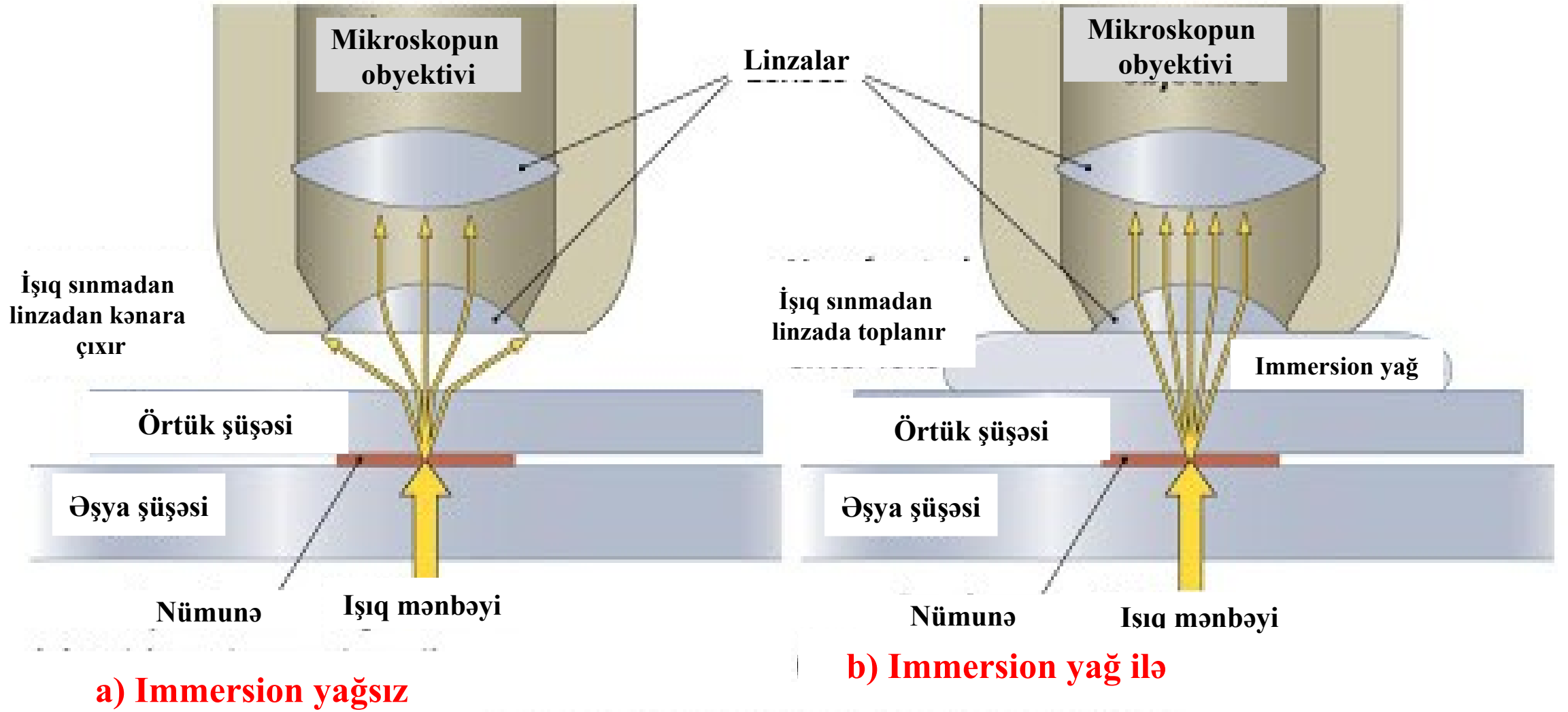


Immersion obyektivlə işləmə qaydası

- ✓ *Mikrobioloji tədqiqatlarda əksərən böyütmə dərəcəsi yüksək olan (90 dəfə böyüdən) yağ (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.*
- ✓ *Immersion yağ obyektiv ilə preparat arasındakı boşluğu doldurur, preparatdan keçən bütün şüalar obyektivə düşür, mikroskopun böyütmə qabiliyyəti artır.*

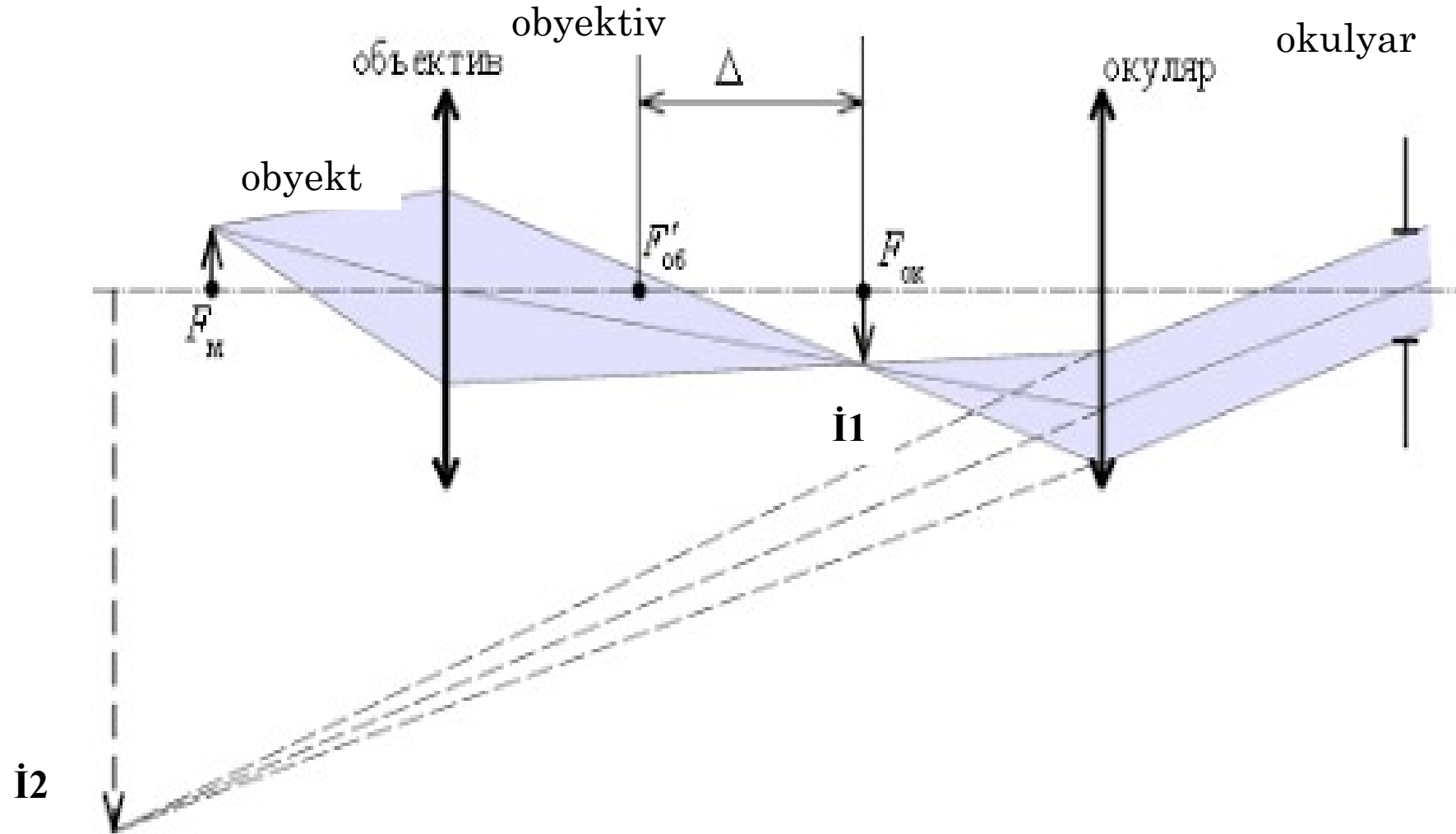


Immersion obyektivlə işləmə qaydası



İşıq mikroskopunda quru(a) və immersion(b) obyektivlərlə müayinənin sxemi

Mikroskopun işləmə prinsipi



➤ *Mikroskop linzası gözün ön fokus müstəvisində əşyanın(obyekt) həqiqi böyüdülmüş tərs görüntüsünü yaradır.*

➤ *Okulyar ən yaxşı görmə məsafəsində xəyali görüntü yaradır.*

Mikroskopun böyütmə qabiliyyəti

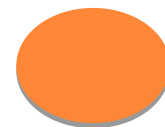
➤ *Mikroskopun böyütmə dərəcəsi obyektiv və okulyarın böyütmələrinin hasilinə bərabərdir*

Obyektiv X okulyar = tam böyütmə

➤ *Obyektiv 100 dəfə, okulyar 10 dəfə böyüdürsə mikroskopun ümumi böyütməsi $100 \times 10 = 1000$ dəfə olar.*

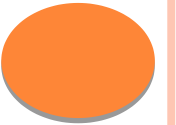
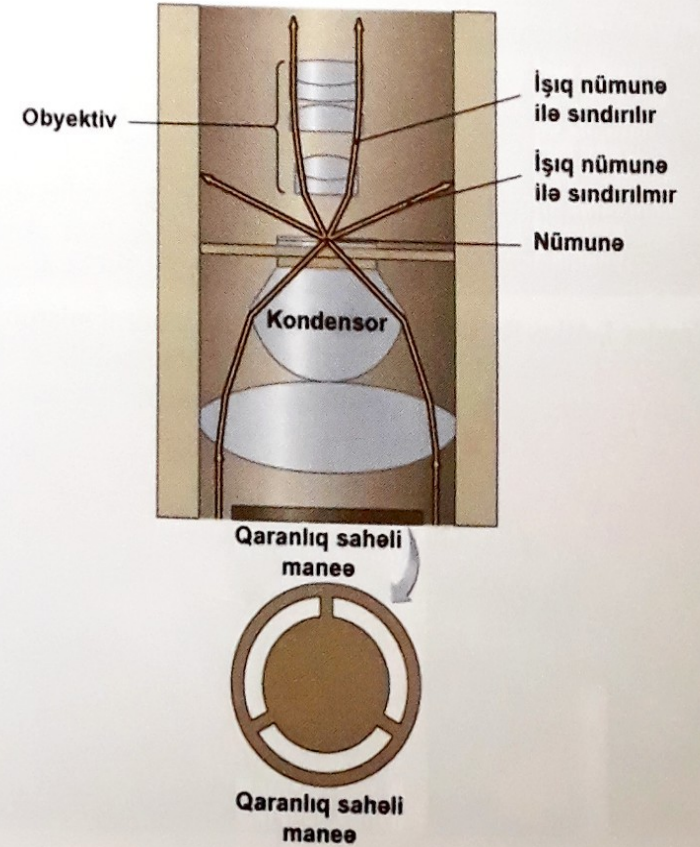
➤ *Bioloji işıq mikroskopları obyektini 2000-3000 dəfəyə qədər böyütməyə imkan verir.*

➤ *Fərqləndirmə qabiliyyəti isə 0,00027 mm-dir*



Qaranlıq sahəli mikroskop

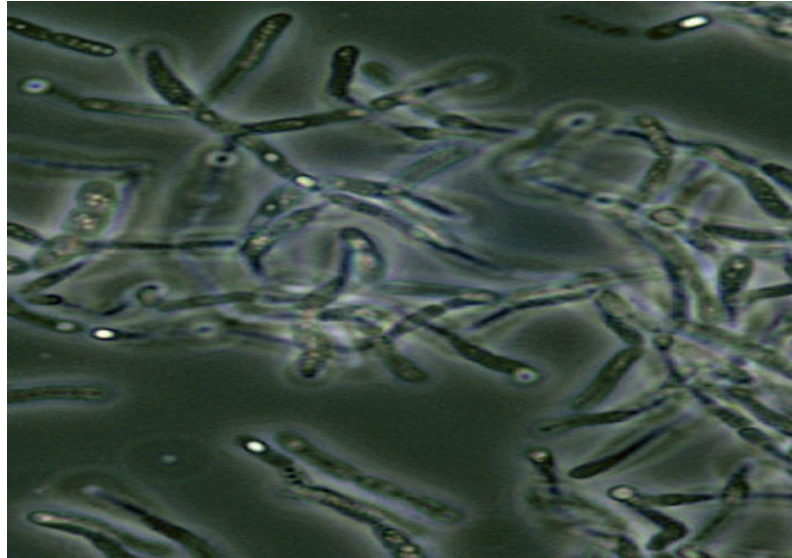
- İşıq mikroskopunun kondensoru **paraboloid** və ya **kardioid-kondensor** ilə əvəz etməklə əldə edilir.
- Paraboloid-kondensorun yuxarı linzasının kənarı dairəvi olub rəngsiz, mərkəzi isə qara rənglidir. Qara hissəsinə düşən şüalar udulur, şəffaf dairəvi hissədən keçən çəp şüalar mikroorqanizmlərə rast gəldikdə sındırılır və obyektivə düşür (difraksiya). Nəticədə **qaranlıq mühitdə işıqlanan (Tsindal effekti) mikroorqanizmlər** görünür.
- Əsasən spiroxetlər kimi çətin boyanan mikroorqanizmlərin rəngləmədən 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 obyektədən keçən işıq şüalarının faza dəyişkənliyi amplituda dəyişkənliyinə çevrilir və şəffaf obyektlər mikroskopda görünür

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

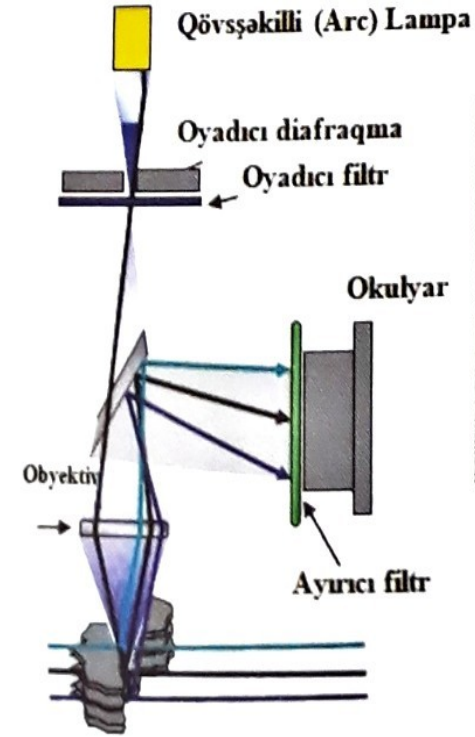


B.antracis sporunun kontrast fazalı mikroskopda g.

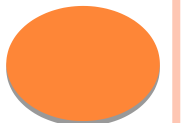


Lüminessent (fluorescent) mikroskop

- **Lüminessensiya (lat. lumen -ışık deməkdir)** maddənin udduğu potensial enerjinin işıq enerjisinə çevrilməsi və soyuq halda işıq saçmasından ibarətdir.
- **UBŞ –dan 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 flüoressensiya verən cisimlər kimi görünür**



Fluorescent mikroskopun sxemi (sol), fluorescent mikroskopda spiroxetlərin görünüşü (sağ)



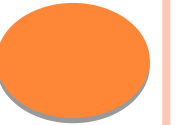
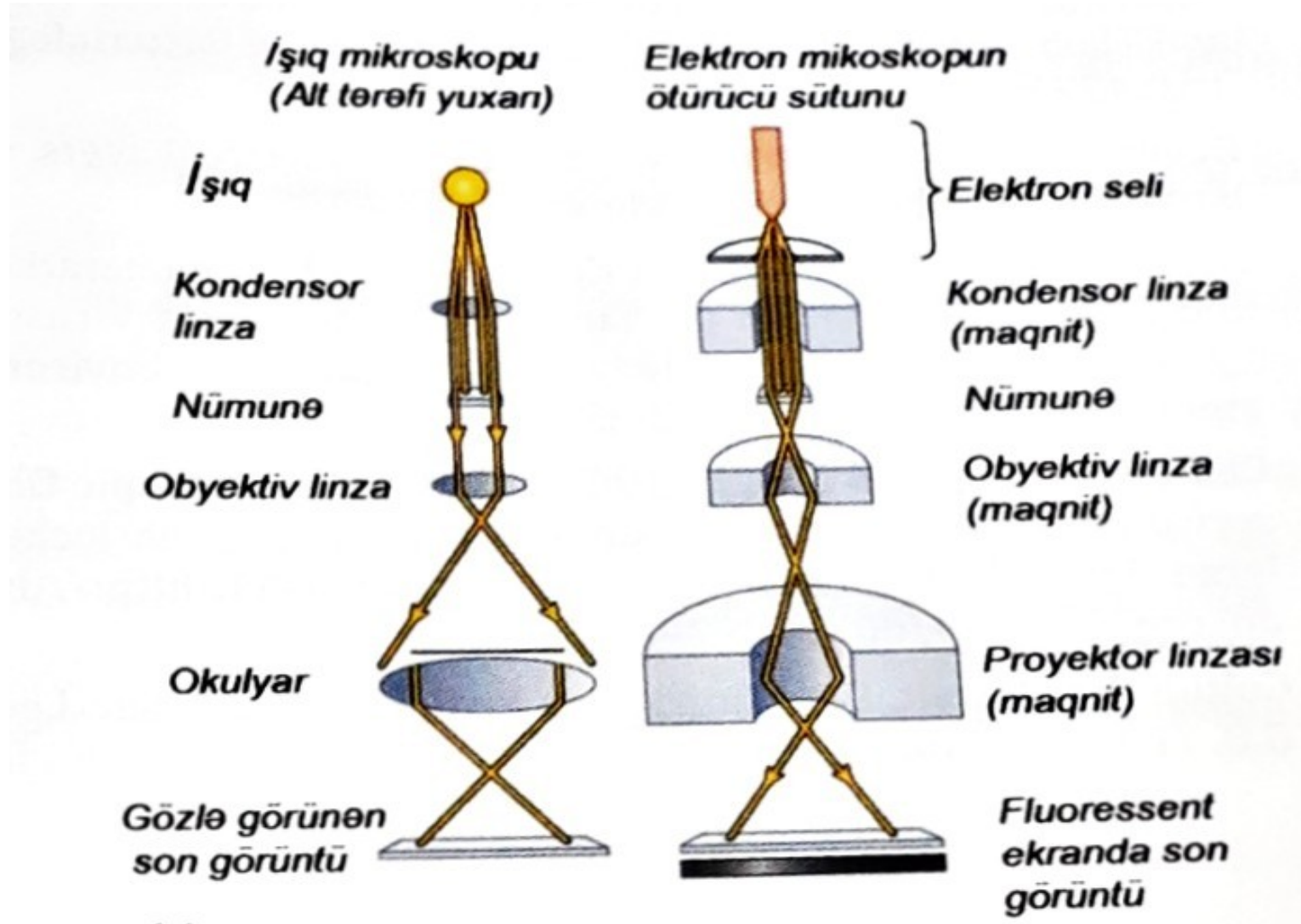
Elektron mikroskopu

- ✓ *İşıq şüaləri 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, işıq şüasının dalğa uzunluğundan 200000-300000 dəfə kiçikdir.*
- *Elektronların dalğa uzunluğu işıqdan daha kiçik olduğundan, elektron mikroskopunda faydalı böyütmə ən yuxarı limitə çatır və işıq mikroskopundan 1000 dəfə çox böyütmə { x1 000 000} təmin edilir*

Elektron mikroskopu



İşıq və elektron mikroskoplarının prinsipial sxemi



Skən elektron mikroskopu

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

▪ *Böyük (0,4 nanometrə 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*

