

SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK YÜKSEKOKULU



TIBBİ LABORATUVAR TEKNİKLERİ

TLT116-TIBBİ MİKROBİYOLOJİ - I

Öğr. Gör. Nüket ÇALIŞKAN
nuket.caliskan@omu.edu.tr

1

GENEL LABORATUVAR KURALLARI

TLT116-TIBBİ MİKROBİYOLOJİ – I UYGULAMA

Hafta-1



2

GENEL LABORATUVAR KURALLARI

- Uygun laboratuvar kıyafetleri giy!
 - ✓ uzun beyaz önlük , önlük ilikli
 - ✓ Laboratuvar dışında önlük giyme!
 - ✓ Mikroorganizma bulaştırıya steril edilmeli!!
- El ve gözlerinizi koru!
 - ✓ Eldiven ve koruyucu gözlük
 - ✓ Laboratuvar dışında eldiven kullanma!
 - ✓ Laboratuvarlar arasında transfer gerekli ise:
 - ✓ tek eldiven prensibi
 - ✓ kırılmaz, sızdırmayan taşıyıcılar
- Kapalı ayakkabı giy .
 - ✓ Kimyasal madde dökülmesine ve cam kırıklarına tedbir olarak
- Kaygan zeminlere dikkat et!
- Çalışma esnasında saçlar topla



3

GENEL LABORATUVAR KURALLARI

- Yemek ve içmek için sadece belirlenen alanları kullan!
 - ✓ laboratuvar ekipmanları bu amaçla kullanma !
- Asla ağız ile pipetleme yapma!
- Laboratuvarda bulunan hiç bir kimyasal maddeyi koklama ve tatma!
- Dökülen maddeler olup olmadığını kontrol et!
- Laboratuvarda çatlak ve kırık cam eşyalar kullanma.
- Bunzen beklerini, elektrikli cihazları kullanılmadığı zaman kapat!
- Tehlikeli maddeler ile çalıştıktan sonra ellerini yıka!



4

GENEL LABORATUVAR KURALLARI

- Katı haldeki maddeler şişelerden daima temiz bir spatül veya kaşıkla al. Aynı kaşığı temizlenmeden başka bir madde içine sokma!
- Şişe kapaklarını hiçbir zaman alt tarafları ile masa üzerine koyma!
 - ✓ Kontaminasyon
 - ✓ Bozulma
- Etiketsiz bir şişeye veya kaba, kimyasal madde koyma.
 - ✓ boş kaba kimyasal bir madde konulunca hemen etiketle
 - ✓ Etiketli olmayan kimyasal maddeleri deneylerde kesinlikle kullanma
- Çalışma sonunda kullanılan cam malzemeler ve kaplar hemen temizle.
- Günlük çalışma sonunda çesmeler, gaz muslukları ve elektrik düğmeleri kapalı tut
- Çalışma bitiminde sonuçları dikkatli bir şekilde kaydet!
- Laboratuvar çalışmaları bittikten sonra elleri mutlaka sabun ve su ile yıka.



5

LABORATUVAR GÜVENLİK KURALLARI



6

Çalışılan materyalin "MİKROORGANİZMA" olduğu asla unutulmamalıdır!!!!



7

- ✖ Tüm sterilizasyon kurallarına uygun hareket edilmeli,
✖ İğne ve özeler, kullanılırken etrafa infekte madde sıçramaması için alevin mavi üst bölümüne 45-60°C'lik açılı tutularak kızıl dereceye kadar yakılmalıdır.
- ✖ Kullanılmış pipetler masanın üzerinde bırakılmamalı, içinde dezenfektan madde bulunan özel atık kaplarına atılmalıdır.
- ✖ İçinde besiyeri, kültür veya klinik örnek bulunan tüpler tüp taşıyıcısına bırakılmalıdır.



9

- ✖ Çalışma tezgahına kontamine materyal veya kültür dökülürse bu bölgeyi pamuk ile kapatıp üzerine dezenfektan dökülmelidir. 3-4 saat bekletildikten sonra temizlenmelidir.
- ✖ El veya yüz kontamine bir alet ile kaza sonucu yaralanırsa ya da göze sıçarsa antimikrobiyal madde sürülür veya damlatılır.
- ✖ Kullanılmadıkları sürelerde açık alev kısılmalı, mikroskopların ışıkları kapatılmalıdır.
- ✖ Çalışma tamamlandığında mikroskop tablası ve objektifler temizlenmeli, yerine kaldırılmalıdır. Alevler kapatılıp, tezgah temizlenmelidir.



11

Mikrobiyoloji Laboratuvarı Çalışma Kuralları

• Uyulması zorunlu kurallar:

- ✖ Laboratuvar tezgahları çalışma öncesi ve sonrası temizlenmiş olmalı (dezenfektan maddeler ile),
- ✖ Eller, kağıt, kalem gibi eşyalar asla ağza sürülmemeli,
- ✖ Eller asla enfeksiyöz materyale değdirilmemeli, temas etme durumunda önce antiseptik madde sonra sabun ile yıkanmalıdır.



8

- ✖ İşi biten kültürler ve diğer infekte örnekler madeni bir kapta toplanmalı, otoklavda steril edildikten sonra yıkanmalıdır.
- ✖ Kontamine sıvılar asla lavaboya dökülmemeli, içinde dezenfektan bulunan bir atık kabına boşaltılmalıdır.
- ✖ Kullanılmış lam ve lameller dezenfektan konmuş atık kabına atılmalıdır.



10

LABORATUVARDAN ÇIKMADAN ÖNCE ELLER SU VE SABUN İLE YIKANMALIDIR!!!!



12



13

Çalışma Alanlarının Temizlenmesi

- 1) Laboratuvarda çalıştığınız alanı her zaman temiz tutunuz.
- 2) Laboratuvar çalışmalarının bitiminde, kullanılan tezgahlar ve cam malzemeler mutlaka temiz bırakılmalıdır.
- 3) Laboratuvar ortamına numune/kimyasal madde dökülmesi durumunda temizlenmeli ve gerekirse laboratuvar sorumlusuna haber verilmelidir.

14

- 4) Laboratuvar çalışmalarından çıkan atıklar, Laboratuvar Yönetimi'nce tanımlanan kurallar doğrultusunda uzaklaştırılmalıdır.
- 5) Laboratuvar malzemelerinin temizliği sırasında eldiven ve gerekli olması durumunda gözlük kullanılması zorunludur.
- 6) Çözeltiler ihtiyaca uygun miktarlarda hazırlanmalıdır.
- 7) Kimyasallar ana stoktan direk olarak değil ara stok hazırlanarak kullanılmalıdır.

15



16

Laboratuvarlarda Kullanılan Cam Malzemeler

Tıbbi laboratuvarlarda kullanılan cam malzemeler kimyasal reaksiyonlardan etkilenmeyen, deterjan ve asitlerle kolayca temizlenebilen malzemeler olup laboratuvarıda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Mezür: Miktarı fazla olan sıvıların hacmini ölçmekte kullanılan dereceli silindirik şeklindeki kaplardır.



17

Laboratuvarlarda Kullanılan Cam Malzemeler

Beher glass: Sıvı ve çözeltilerin karıştırılmasında, ısıtılmasında kullanılan değişik büyüklükte dibi düz cam kaplardır.



Erlen: Özellikle buharlaşması istenmeyen çözeltilerin hazırlanmasında, ısıtılmasında ve titrasyonlarında kullanılan değişik büyüklükte konik kaplardır.



Balon: Çözeltilerin hazırlanması ve ısıtılmasında kullanılan ateşe dayanıklı camdan yapılmış dipleri düz/ yuvarlak olan dar boyunlu cam kaplardır.



18

Laboratuvarlarda Kullanılan Cam Malzemeler

Balon joje: Çözelti hazırlamada kullanılan armut biçiminde uzun ve dar boyunlu kaplar olup boyunlarında belli sıcaklıkta belli bir hacmi gösteren çizgisi olan kaplardır.



Cam pipetler: Belirli ölçüde sıvıları bir kaptan değerine aktarmada kullanılan dar cam borular olup alt uçları ufak bir delik bırakacak şekilde aşağı doğru koniktir.



19

Laboratuvarlarda Kullanılan Cam Malzemeler

Deney tüpleri: Çeşitli deneylerin yapılmasında kullanılan uzun ince silindirik bir cam kaptır.



Petri kutusu: Yuvarlak biçimde kısa kenarlı besiyerlerinin döküldüğü, kültür elde etme amaçlı kullanılan kapaklı cam malzemedir.



Saat camı: Çeşitli ebatlarda saat camı tarzındaki (konkav) saydam cam malzemedir

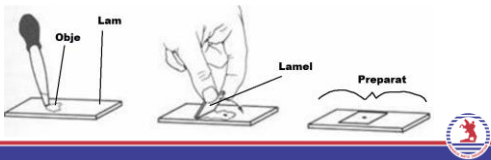


20

Laboratuvarlarda Kullanılan Cam Malzemeler

Lam: preparat hazırlamada kullanılan, dikdörtgen şeklinde, kalın cam malzemedir.

Lamel: preparatların mikroskopik incelenmesinde kullanılan, kare şeklinde, ince cam malzemedir.



21

Cam Malzemelerin Temizliği

- Her türlü cam malzeme analize başlamadan önce iyice yıkanıp saf sudan geçirilmeli, kurutulduktan sonra kullanılmalıdır.
- Steril olması gerekenler yıkandıktan sonra otoklav cihazında sterilizasyona tabi tutulmalıdır.
 - ✓ Kirliliğe önce çeşme suyunda gerekirse fırça kullanılarak yıkanır.
 - ✓ Daha sonra temizleyiciler ile temizlenir.
 - ✓ Son olarak çeşme suyu ve arkasından saf su ile durulanır.
 - ✓ Gerekli durumlarda otoklavda steril edilir.
- Cam kapların temizleme işleminden sonra kurutulması ya kendi haline ya da düşük sıcaklıkta vakum etüvüne bırakılarak yapılır.

22

Laboratuvarlarda Bulunan Araç Gereçler

Eküvyon: Ucuna pamuk sarılmış, tahtadan yapılmış bir çubuktur. Örnek alma işlemlerinde kullanılır. Steril poşet içinde olmalıdır. Tek kullanımlıdır.

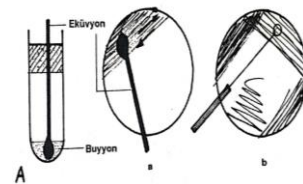


Öze: Isıyı az ileten metal bir sap ile platin veya yumuşak bir telden yapılmış uca sahiptir. Bu uç amaca göre çembersel veya iğne şeklinde (transfer iğnesi) olabilir. Öze örneklerin ve mikroorganizmaların besiyerine yayılmasında ve transferinde kullanılır.



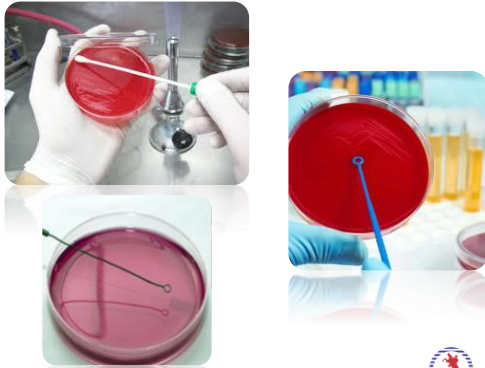
23

Laboratuvarlarda Bulunan Araç Gereçler



Şekil 2.3. Eküvyon (swab) ve öze ile ekim

24



25

Laboratuvarda Bulunan Araç Gereçler

Drigalski spatülü: Petri kutusundaki katı besiyeri yüzeyine sıvıyı yaymada kullanılan L veya üçgen şeklinde kıvrılmış cam çubuk



26

Laboratuvarda Bulunan Araç Gereçler

Tüp sporu: Tahta, plastik ya da demirden yapılmış olup standart delikleri olan çalışma esnasında tüplerin dik durmasını sağlayan bir malzemedir.



Piset: Ölçülü olması gerekmeyen az miktardaki sıvı ilavesinde kullanılan kaptır.



Spatül: Katı kimyasalları aktarmak için kullanılır.



Reaktif şişe: Reaktif saklanması için kullanılan şekilleri silindirik boyun kısımları dar koyu renkli veya renksiz olabilen cam malzemedir.



27

Laboratuvarda Bulunan Araç Gereçler

Bek: Deneysel çalışmalarda ısıtma işlemlerinin yapılmasında kullanılan alevin daha ince ve düzenli olmasını sağlayan cihazdır.



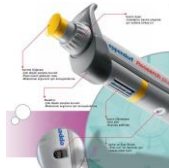
Pastör pipeti: Laboratuvarlarda çapraz bulaşma riskini ortadan kaldırarak sıvıların transfer edilmelerinde, aktarımlarında kullanılan araçtır.



28

Laboratuvarda Bulunan Araç Gereçler

Otomatik pipet/ Mikro pipet: 5-1000µl sıvıların aktarmak ya da dilüsyon amacıyla tıbbi laboratuvarlarda kullanılır.



Otomatik pipet uçları: Otomatik pipetlere takılan çeşitli ebatlardaki plastik tek kullanımlık uçlardır



29

Laboratuvarda Bulunan Elektrikli Cihazlar

Mikroskop: Bir mercek düzeneği yardımıyla küçük nesneleri büyütüp daha belirgin duruma getirmeye veya çıplak gözle görülmeyenleri göstermeye yarayan alettir



Etüv, belirli sıcaklıklarda mikrop üretme, sterilize etmekte, ısıtma, pişirme, veya kurutma amaçlı kullanılan laboratuvar fırınıdır. Etüvler değişik hacimlerde olup, sıcaklık 60 °C ile 250 °C arasında çalışan cihazdır.



Pasteur fırını: Cam malzemelerin kurutulmasında ve kuru sıcak hava yöntemiyle sterilizasyonda kullanılan 50-350 °C arasında çalışan cihazdır.



30

Laboratuvarda Bulunan Elektrikli Cihazlar

Santrifüj: Deney tüplerini yüksek hızda çevirmek suretiyle sıvı içindeki parçacıkların dibe çökerek ayrımalarını veya farklı yoğunluktaki sıvıların birbirinden ayırmaya yarayan cihazdır.

- Santrifüj ile çalışırken şu noktalara dikkat edilmelidir:
- ✓ Kırık ve çatlak tüpler kullanılmamalıdır.
 - ✓ Santrifüj tüpleri hazneye karşılıklı yerleştirilmeli ve eşit ağırlıklı olmalıdır.
 - ✓ Tüp ağız kısmından en fazla 2 cm aşağıya kadar doldurulmalıdır.
 - ✓ Tüplerdeki sıvı düzeyi karşılıklı olarak eşit olmalıdır.



31

Laboratuvarda Bulunan Elektrikli Cihazlar

Otoklav: Basıncılı buhar sistemiyle laboratuvarda kullanılan araç gereç ve malzemeleri tüm mikroorganizmalardan arındırmak (sterilizasyon) amacıyla kullanılan cihazdır.

Distile su cihazı: Suyu anorganik ve inorganik maddelerden arındıran cihazdır.

Su banyosu/Benmar: Deneylerin sabit sıcaklık ve nemli ortamda yürütülmesinde kullanılan cihazdır.

pH Metre: Sıvıların pH sınıfı ölçmeye yarayan cihazdır. Cihazın pH ölçmeye yarayan kısmına elektrot denir.



32

Laboratuvarda Bulunan Elektrikli Cihazlar

Karıştırıcılar/Rotator: Çözeltilerin hazırlanmasında zor çözünen maddelerin karıştırılarak çözünmelerini ve çözelti içinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlayan cihazlardır.

Buzdolabı: +4 °C ye kadar soğuk ortam sağlayan cihaz.

Derin dondurucu: Daha sonra çalışılacak numunelerin (serum, idrar vb) uzun süre saklandığı cihazlardır -20 °C ile -80 °C arasında soğutma kapasitesine sahiptir.

Hassas Teraziler: Kimyasal reaktif maddelerini tartmak için kullanılan araçlardır.



33

Hassas Terazi Kullanımında Dikkat Edilmesi Gerekenler

- Hassas terazi kullanılmadığı zamanlarda kapalı ve yüksüz olmalıdır.
- Hassas terazinin dengesi kontrol edilmelidir. Su terazisindeki hava kabarcığının ortalanmış olması gerekmektedir.
- Hassas terazi üzerine veya etrafına kimyasal madde dökülmemesine özen gösterilmelidir.
- Dökülen kimyasal madde fırça ile temizlenmelidir.
- Tartım yaparken hassas terazinin bulunduğu alanda hareket ve hava akımı olmamalıdır.
- Terazinin üç dokunmatik düğmesi bulunur. Aç- kapa (on-off) düğmesi ile terazi açılır ve kapatılır. Sonra sıfırlama düğmesine (tarre) basılarak sıfırlama yapılır. Kefenin ortasına tartılacak madde konularak ağırlık dijital ekrandan okunur.
- Şayet kapta tartım yapılacaksa önce kabın darası alınır.



34

Laboratuvarda Bulunan Elektrikli Cihazlar

Steril Kabin: Laminar Flow: Laboratuvarlarda kontaminasyon riski çalışma alanlarının yüzeylerinin uygun dezenfektanlar ile silinmesiyle, havanın filtre edilerek fungi, bakteri spor ve hücrelerinin elimine edilmesi ile sağlanabilir. Bakteriyolojik çalışmalar bazen steril kabin (safety cabinet) içinde yapılır.

- SINIF II steril kabinlerde steril hava devamlı olarak çalışma yüzeyine dik olarak akar ve hava daha sonraki filtrasyon için dışarıya verilir. Çalışmalar kabinin önündeki açık panel yardımı ile yapılır.
- SINIF III steril kabinler ise gaz sızdırmaz kabinlerdir. Hava içeri alınmadan ve verilmeden önce filtre edilir. Çalışmalar ön panele monte edilmiş kol uzunluğundaki plastik eldivenler yardımı ile yapılır.

- SINIF II kabinler laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılırken, SINIF III kabinler çok patojen mikroorganizmalar ile çalışırken kullanılır.



35

36

Cihaz Kullanımında Dikkat Edilmesi Gerekenler

- Cihazların düzgün çalışmasını sağlamak için mutlaka rutin bakımları yapılmalı ve gerekiyorsa kalibrasyona gönderilerek yardım alınmalıdır.
- Çalışma öncesi ve sonrası cihazların temizliğine özen gösterilmelidir.
- Etüv gibi cihazların sıcaklık ayarları kesinlikle değiştirilmemelidir



37



- Aletlerin kapakları uzun süre açık bırakılmamalıdır.
- Çözücülerle/solventlerle yıkanan cam malzemeler patlamaya engel olmak amacıyla etüv gibi cihazların içerisinde kurutulmamalıdır.
- Plastik eldivenle etüv, fırın kullanılmamalıdır. Yüksek sıcaklıklarda çalışırken maşa kullanılmalıdır.



38

- Hassas terazi gibi cihazlar kullanılmadığı zaman mutlaka kapakları kapalı tutulmalı ve üzerine herhangi bir yük bulunmamalıdır.
- Hassas terazi üzerine veya etrafına kimyasal madde dökülmemesine özen gösterilmelidir. Dökülen kimyasal madde hemen temizlenmelidir.
- Çalışma bittikten sonra tüm cihazların elektrik bağlantısı kesilerek kapalı olduğundan emin olunmalıdır.



39

Besiyeri: Mikroorganizmaların üremesi için gerekli besin elementlerini içeren ortamdır.

Enfeksiyon veya Enfeksiyon: Mikroorganizmaların canlıya bulaşmasıdır.

Fiksasyon: Mikroskopta incelenecek olan preparatların bek alevinden birkaç kez geçirilerek lam üzerine sabitlenmesi işlemidir.

İnkuvasiyon: Mikroorganizmaların gelişmesi ve üremesi için inkübatör vb. donatılarda gerekli sıcaklık ve atmosferik koşullarda belli süre bekletilmesi işlemidir.

İnokülasyon: Mikroorganizmaların bir ortamdan diğerine, çeşitli aktarma tekniklerinden yararlanılarak, uygun bir şekilde aktarılması, diğer bir deyişle aşılama olayıdır.

İnokulum: İnokülasyon yapılırken bir defada aktarılan miktardır.

İzolasyon: Mikroorganizmaların söz konusu örnekten özel yöntemler ile seçilerek ayrılması işlemidir.

Kontaminasyon: Mikroorganizmaların çevreye ve cansız materyale bulaşmasıdır.

Kolon: Bir bakteri hücresinin katı veya katılaşmış bir besiyerine düştüğü herhangi bir noktada çok sayıda bölünmeler geçirerek oluşturduğu ve çıplak gözle görülebilen hücre topluluğu şeklindeki yapıdır.

Kültür: Üzerinde veya içinde mikroorganizma üretilmiş veya üremiş besiyerleridir.

Preparat: Lam (75 mm boy ve 25 mm enindeki ince cam plaka) üzerine damlatılan ve çoğunlukla bir lamel (14, 18, 20 veya 22 mm en ve boyunda, 0,2 mm kalınlığında ince cam plaka) ile kapatılan veya lam üzerinde su ile ıslatılan edilen kültürün fiksasyonu ile hazırlanan deney örneğidir.



40