

MİKROBİYOLOJİK TANI YÖNTEMLERİ



Mikrobiyolojide kullanılan araç ve gereçlerin tanıtılması

Doç. Dr. Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ

Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Çalışma Kuralları

1. Laboratuvara girerken beyaz ve temiz bir önlük giyilmelidir. Laboratuvar önlüğü laboratuvar dışında giyilmemelidir. Önlüğün önü kapalı olmalıdır.
2. Laboratuvara gereksiz eşya (palto, kitap, defter vb.) sokulmamalıdır.
3. Laboratuvarda herhangi bir şey yenilmemeli ve içilmemeli, çalışırken eller yüze sürülmemeli, ağıza herhangi bir şey sokulmamalıdır.
4. Çalışma sırasında masanın üzerinde gerekli malzemeden başka eşya bulunmamalı, masa üzerine oturmamalıdır.
5. İçinde kültür bulunan tüp, petri kutusu gibi malzeme açık olarak masa üzerine bırakılmamalı, tüpler önlük cebinde taşınmamalı, masa üzerine geliş güzel konulmamalıdır. Tüpler tüplükte tutulmalıdır.
6. Çalışırken laboratuvar kapı ve pencereleri kapalı tutulmalı, laboratuvarda yüksek sesle konuşulmamalı, mikroorganizma veya sporlarını etrafa yayacak gereksiz ve ani hareketlerden sakınılmalıdır.

- 
- 
7. Kültürlerin yere veya masaya dökülmesi veya kültür kaplarının kırılması halinde durum hemen laboratuvar sorumlusuna bildirilmeli ve dökülen kültürün üzeri anında uygun bir dezenfektan çözeltisi ile kaplanarak (rneęin %10'luk hipoklorit çözeltisi) 15-30 dakika beklenilmeli ve daha sonra temizlenmelidir.
 8. ze uğları her kullanımdan önce ve sonra Bunzen beki alevinde usulüne uygun şekilde yakılarak sterilize edilmelidir.
 9. Pipetleme yapılırken kesinlikle flenmemelidir.
 10. Etil alkol gibi yanıcı, tutuğucu maddeler Bunzen beki alevi çevresinden uzak tutulmalıdır.
 11. Ellerde kesik, yara ve benzeri durumlar varsa, bunların üzeri ancak su geçirmez bir bantla kapatıldıktan sonra çalışılmalı, aksi takdirde alışılmamalı ve durum sorumluya iletilmelidir.



12. Mikroskopun objektif ve oküler kısmı her kullanımdan önce ve sonra ince mercek kağıdı ile veya bir t lbent vasıtasıyla dikkatlice merceğe zarar vermeden temizlenmelidir.

13. Laboratuvardaki mikroskop, pH metre, terazi gibi aletler çok dikkatli kullanılmalı ve her kullanımdan sonra kapatılmalıdır.

14. Çalışma bittikten sonra kirli malzemeler kendilerine ait kaplara konulmalıdır. Örneęin; kullanılmış pipetler, lam ve lamel hemen içinde dezenfektan    eltisi bulunan özel kaplara aktarılmalıdır.

15. Çalışma sonunda, kullanılan cam malzemeler sorumlunun belirttiği şekilde sterilize edilmeli veya yıkanmalıdır.



16. Laboratuvardan çıkmadan önce havagazı ve su muslukları ile mikroskop lambaları kapatılmalıdır.

17. Çalışma bittikten sonra eller sabunlu su ve gerektiğinde antiseptik bir sıvı ile yıkanmalıdır.

18. Laboratuvardan kültür ve benzeri materyal dışarıya çıkarılmamalıdır.

19. Laboratuvar çalışması süresince, laboratuvar görevlilerinin ikaz, uyarı ve isteklerine uyulmalıdır.

20. Öğrenciler yapılacak olan laboratuvar çalışması ile ilgili bilgileri öğrenmek zorundadırlar.

21. Laboratuvar bitiminde, bir çalışma raporu hazırlanarak sorumluya teslim edilmelidir.

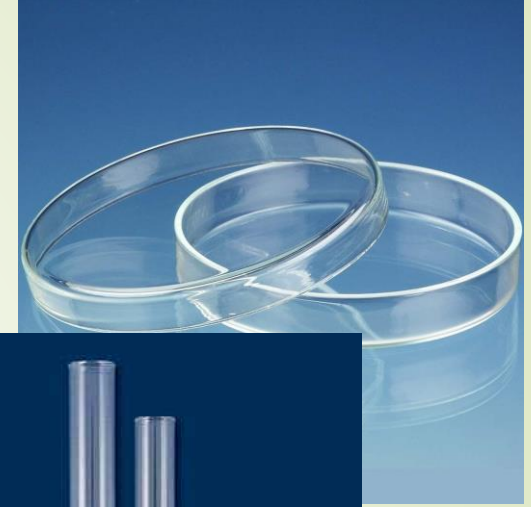
Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Malzeme Ve Araçların Tanıtımı

1. CAM MALZEMELER

- **PETRİ KUTUSU:** Cam ve plastikten, çeşitli büyüklükte olabilir. içlerine steril katı besiyerleri dökülür
- **DENEY TÜPÜ:** Farklı boy ve çapta, cam veya plastikten yapılmazdır. İçlerine sıvı besi ortamları veya solüsyonlar konularak kullanılır.

Örnek: santrifüj, kapiller tüp

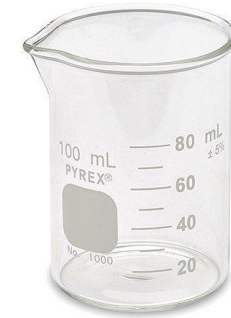
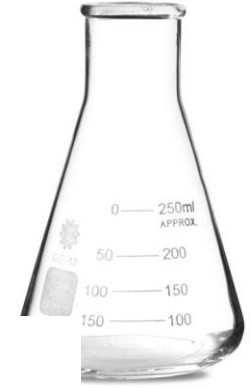
- **DURHAM TÜPÜ:** Mikroorganizmaların sıvı besiyerinde belli bir maddeyi kullanıp gaz oluşturup oluşturmadığını tespit etmek için kullanılır. Test tüpünün içine ters olarak yerleştirilir. Daha sonra bu test tüpü, içine sıvı besiyeri konularak sterilize edilir.



- **RENKLİ ŞİŞELER:** Boyalar gibi ışıktan zarar görebilen çeşitli solüsyonların saklanması için kullanılan çeşitli hacimlerde olabilen şişelerdir.
- **DAMLALIK:** Çeşitli boya çözeltilerini veya reaktifler damlatmak için kullanılan şişelerdir.
- **PİPET:** İnce uzun camdan yada plastikten yapılmış borucuklardır. Üzerinde ml. cinsinden bölmeler bulunan çeşitli hacimlerde (0.5, 1, 2, 5, 10, 25 ml.) borulardır. Cam pipetler metal kutular içerisinde veya kağıda sarılarak steril edilir.
- **PASTEUR PİPETİ:** Bir ucu açık cam tüptür. Dar ucunun çapı 1 mm.dir. Geniş uca pamuk takılır. Kullanmadan önce geniş ucuna plastik piston takılır.

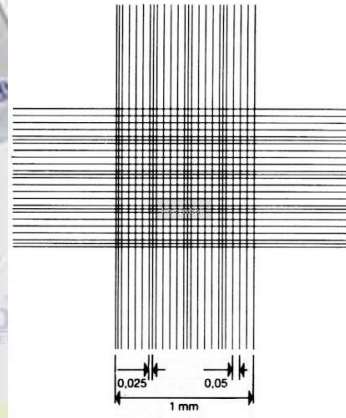
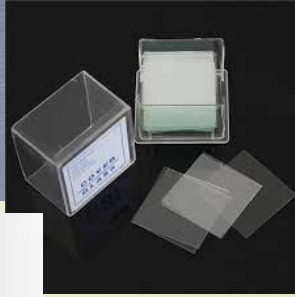
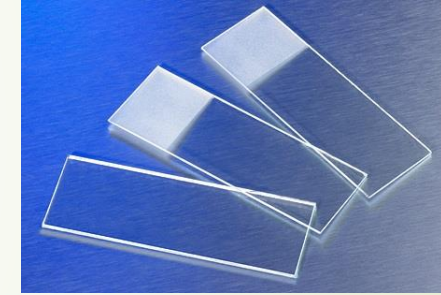
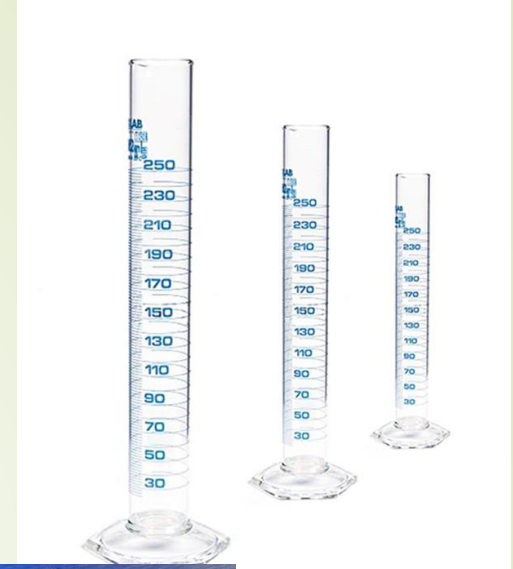


- **ERLENMAYERLER:** Tabanları geniş, ağız kısımları çeşitli çap ve şekillerde olabilen, besiyerlerin hazırlanmasında kullanılan cam malzemelerdir.
- **BALON JOJE:** Yuvarlak gövdeli, ağız kısmı dar olan besiyeri hazırlanmasında kullanılan cam malzemeler
- **BEHERLER:** Ağız ve taban kısımları aynı çapta olan, çeşitli besiyeri ve çözeltileri karıştırmada kullanılan cam malzemelerdir.
- **HUNİ:** Bir süspansiyonun bir kaptan dar ağızlı bir başka kaba aktarılması veya süzülmesi için kullanılan; alt kısmı ince boru, üst kısmı ise geniş koni şeklinde olan cam malzemelerdir. Çeşitli büyüklüklerde



MEZÜR: Sıvıları belirli hacimlerde alabilmek için bölmelere ayrılmış ölçü silindirleridir.

- **LAM:** Camdan yapılmış, dikdörtgen şeklinde, birkaç mm. kalınlığındaki laboratuvar malzemesidir. Mikroorganizmaların doğrudan veya boyanarak mikroskop altında incelenmesinde kullanılır.
- **LAMEL:** Lam üzerine kapatılan daha küçük ebatlı, camdan yapı, kare yada dikdörtgen şeklindeki malzemedir. Lamelin eni lamdan 1-2 mm. daha kısadır ve daha ince yapıdadır.
- **THOMA LAMI:** Bu lamda 25 büyük kare bulunur ve bu büyük karelerin her biri 16 küçük kareye bölünmüştür. Bazı thoma lamlarında ise, 16 büyük kare ve her bir büyük kare 25 küçük kareye bölünmüştür. Bu lamda esas, 0,1 mm³ hacimde sayım yapılmasıdır. Her bir küçük karenin hacmi lam üzerinde yazılı olarak belirlenmiştir.



2. ARAÇ VE GEREÇLER:

- **TÜPLÜK (SUPOR):** Metal ya da tahtadan yapılmış tüplerin dik olarak içine yerleştirilip taşınmasını ve saklanmasını sağlayan taşıyıcıdır.
- **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 ucu alevde kırmızı renk olana kadar tutulduğunda steril edilir. Öze örneklerin ve mikroorganizmaların besiyerine yayılmasında ve transferinde kullanılır. Özenin yuvarlak tel kısmı 10 µl. sıvı taşır. Tek kullanımlık özelerde mevcuttur



- **EKÜVYON:** Ucuna pamuk sarılmış, tahtadan yapılmış bir çubuktur. Örnek alma işlemlerinde kullanılır. Alüminyum kağıtlara sarılarak veya cam tüplere konularak steril edilir.
- **FİLTRELER:** Sıvıları süzmede sterilize etmede kullanılırlar. Yapıldıkları maddelere göre değişik tipte filtreler mevcuttur.
- **MİKROPİPETÖRLER (Otomatik pipet):** Solüsyonların istenilen hacimlerde küçük miktarlarının başarılı bir şekilde dağıtılmasını sağlarlar.



- **ETÜV (İNKÜBATÖR):** Sabit ısı sağlayan bir araçtır. Ekimi yapılan örnekler üremeleri için etüvde belirli sürelerde tutulur (inkübe edilir). CO2 etüvü, soğutmalı etüv ve çalkalamalı etüv gibi çeşitleri vardır.
- **PASTEUR FIRINI (STERİLİZATÖR):** Mikroorganizmaların öldürmeleri için kullanılır. Cam malzemeler Pasteur fırını içinde 150 °C'de 3 saat, 160 °C'de 2 saat ya da 170 °C'de 1 saat tutularak kuru ısı ile steril edilirler.
- **OTOKLAV:** Nemli ısı ile laboratuvar malzemelerinin ve besiyerlerinin sterilizasyonda kullanılır.



- **SU BANYOSU (BENMARI):** Paslanmaz metalden yapı, içindeki suyu istenilen ısıda tutan bir araçtır. Çalkalamalı olanları da vardır.
- **SANTRİFÜJ:** Tüpler içerisinde santrifüje yerleştirilen materyali/solüsyonu dakikada belli bir hızda döndüren alettir. Eğer böyle bir solüsyonda bakteri varsa merkez kaç kuvvetinin etkisi ile bakteriler yoğunlukları dolayısıyla dibe çökerek sıvıdan ayrılır. Belirli hücrelerin yoğunlaştırılmasında da santrifüj kullanılır.
- **SPEKTROFOTOMETRE:** Spektrofotometre örnek saflığının kalitatif analizinde, DNAprotein oranlamasında, hücre yoğunluğu ölçümünde, enzimlerin katalizlediği reaksiyon ölçümlerinde kullanılır. Spektrofotometrenin temelinde çeşitli maddelerin özel dalga boylarını farklı olarak absorbe etme ilkesi yer alır.



- **pH METRE:** Sıvıların pH ölçümünde kullanılır
- **STERİL KABİN:** 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. Çeşitli steril kabinler vardır.



- **ROTARY ÇALKALAYICI:** Belirli bir sıcaklığa ve dakikada belirli bir devre ayarlanabilen inkübatörlerdir. Çalkalamalı kültür elde etmede kullanılırlar.
- **TERAZİLER:** Hassas (miligram seviyesinde) ve kaba (gram seviyesinde) teraziler mevcuttur.
- **BUZDOLABI, DERİN DONDURUCULAR:** Besiyerleri ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de beklemesi gereken malzemler buzdolabında saklanır. Bakteri stoklarını ve stok kültürleri saklamak için derin dondurucular kullanılırlar (-20°C , 40°C ve -80°C)
- **MANYETİK KARIŞTIRICI:** Bazı besiyerlerinin karıştırılması veya bazı kimyasal maddelerin çözelti hazırlanırken eritilmesi için kullanılan, manyetik olarak çalışan aletlerdir.



► MİKROSKOP

Mikroorganizmaları görülebilmeleri için büyütölmeleri ve gözle görölür hale getirilmeleri gereklidir. Bu amaçla mikroskop kullanılır. Mikroskopun çeşitli tipleri olup, uygulama laboratuvarında kullanılanları ışık mikroskopudur.



- 
- 
- Bakteriler genellikle immersiyon objektifi 100'lük objektifte incelenir.
 - İmmersiyon objektifi ile çalışılırken dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, obje en küçük büyütmede (x10) bulunmalı, daha sonra immersiyon objektifine geçilmelidir (x100)
 - ✓ Lam-lamel arası preparatlarda (x40): Kondansatör aşağıda diyafram kısık
 - ✓ Boyalı preparatlarda (x100): Kondansatör yukarıda diyafram açık

Teşekkürler...

