

# MİKROBİYOLOJİ LABORATUVAR SÜRECİ

Dr. Özcan DEVECİ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı

# Mikrobiyolojik tanı yöntemleri

1. Direkt tanı yöntemleri

2. İndirekt tanı yöntemleri

a) Aglütinasyon Reaksiyonu

b) Kompleman Fiksasyon Testi

c) Nötralizasyon Testi

d) İmmunfloresan test

e) ELISA

f) RIA

g) Western Blot, RIBA



# Direkt Tanı Yöntemleri

---

Etken mikroorganizmanın görülmesi veya üretilmesi anlamına gelir.

1.Fresh preparat (lam-lamel arası)

2.Boyama yöntemleri

(Gram, metilen mavisi, Erlich Ziehl  
Nilsen (EZN) , çini mürekkep)

3.Işık Mikroskopu ile İnceleme

4.Kültür Yöntemleri

5.Doku Kültürü

6.Elektron Mikroskopik İnceleme



# Direkt Tanı Yöntemleri

---

- Etkene yönelik direk tanı yöntemlerinde enfeksiyonlu hastadan doğru tanı koymak için uygun numune örneğinin doğru alınması
- Doğru şekilde alınan numunenin laboratuara ulaştırılması da önemlidir.
- Mikroorganizmalar tüm doku ve organlarda yerleşebileceğinden hastalık numuneleride çok çeşitli olabilmektedir(idrar, kan, balgam)

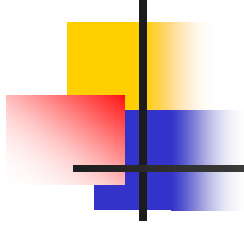


# İdrar nümunesi alma

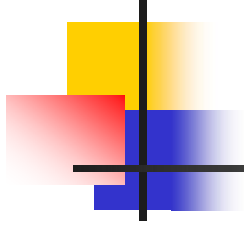
---

Yapılacak analizin özelliğine göre idrar toplanır.

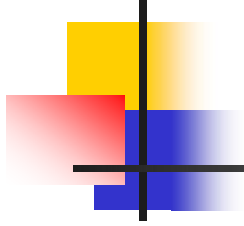
- Bakteriyolojik inceleme için orta idrar alınır.
- Herhangi bir anda ve kantitatif analiz için idrar numunesi: Sabah idrarı olması uygundur. Bu idrar daha konsantredir; nadiren çıkan maddeler kolayca tespit edilebilir



- Bebekler ve küçük çocukların idrarı özel torbalar içinde toplanır.
- Ticari olarak sağlanan bu torbalar, çocuğun genital organlarının etrafına yapıştırılır.
- Çocuk idrarını yaptıktan sonra bekletilmeden laboratuvara iletilir
- İdrarın soğukta saklanması hemen her analiz için koruyucu nitelik sayılır.

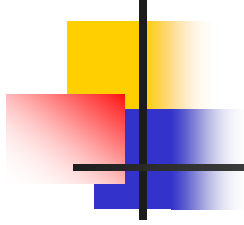


- **Makroskobik inceleme:** Örneğin çıplak gözle incelenmesi önemlidir.
- İshalli hastada dışkının kanlı-mukuslu olması, BOS incelenmesinde BOS örneğinin bulanık görünümde olması önemlidir.

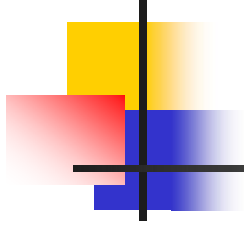


- Makroskopik inceleme; hem klinisyen ve hem de laboratuvar tarafından yapılmalıdır.
- Gaitanın şeklinin, kıvamının, renginin, kan ve müküs olup olmadığının incelenmesi bazan etiyolojik ajan hakkında aydınlatıcı bilgiler verebilir.
- Bundan ayrı olarak gaitada, tenya proglottileri, askaris gibi parazitler de görülebilir

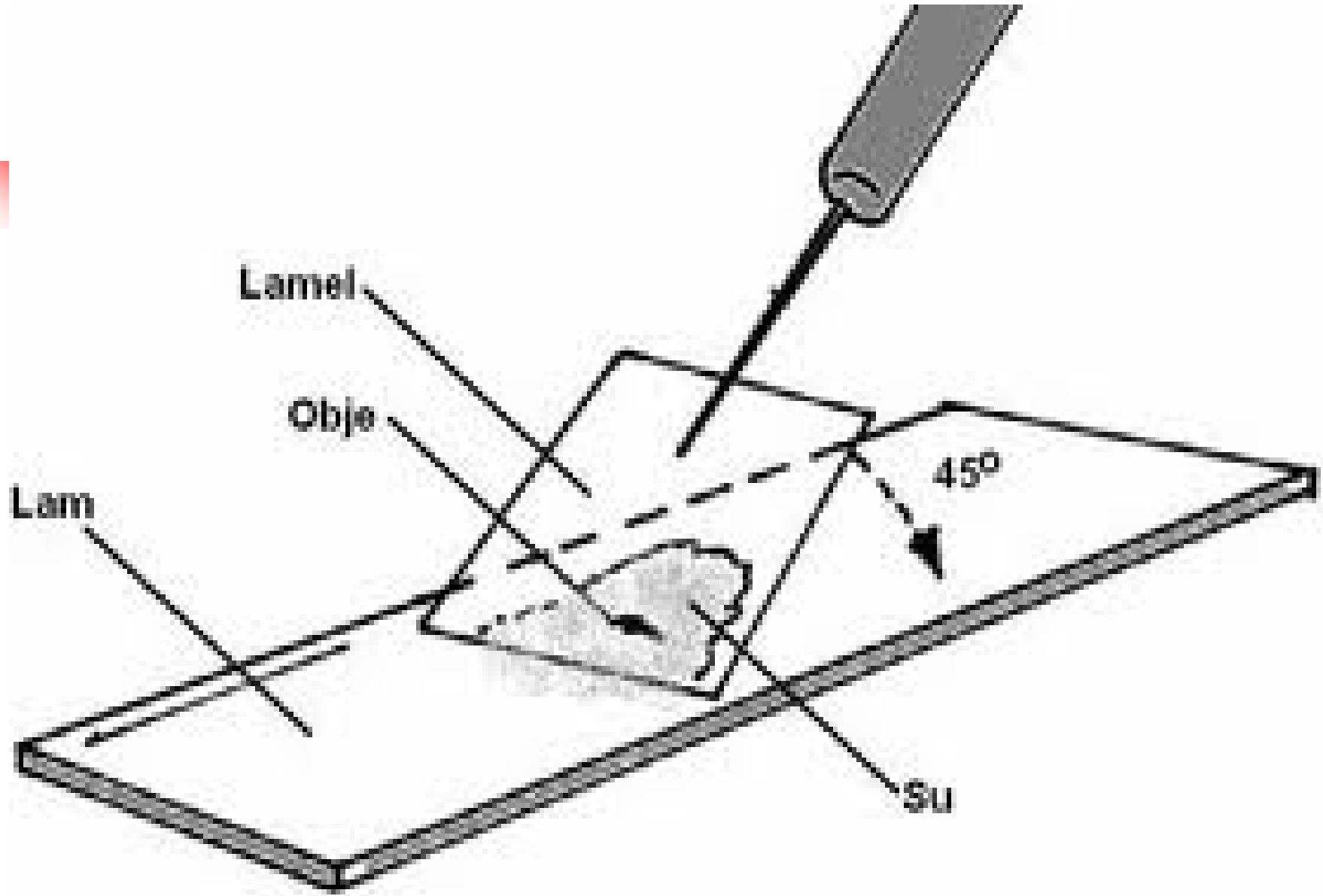


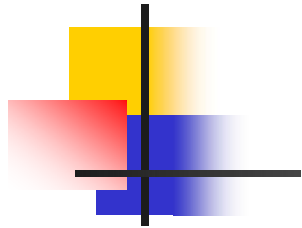


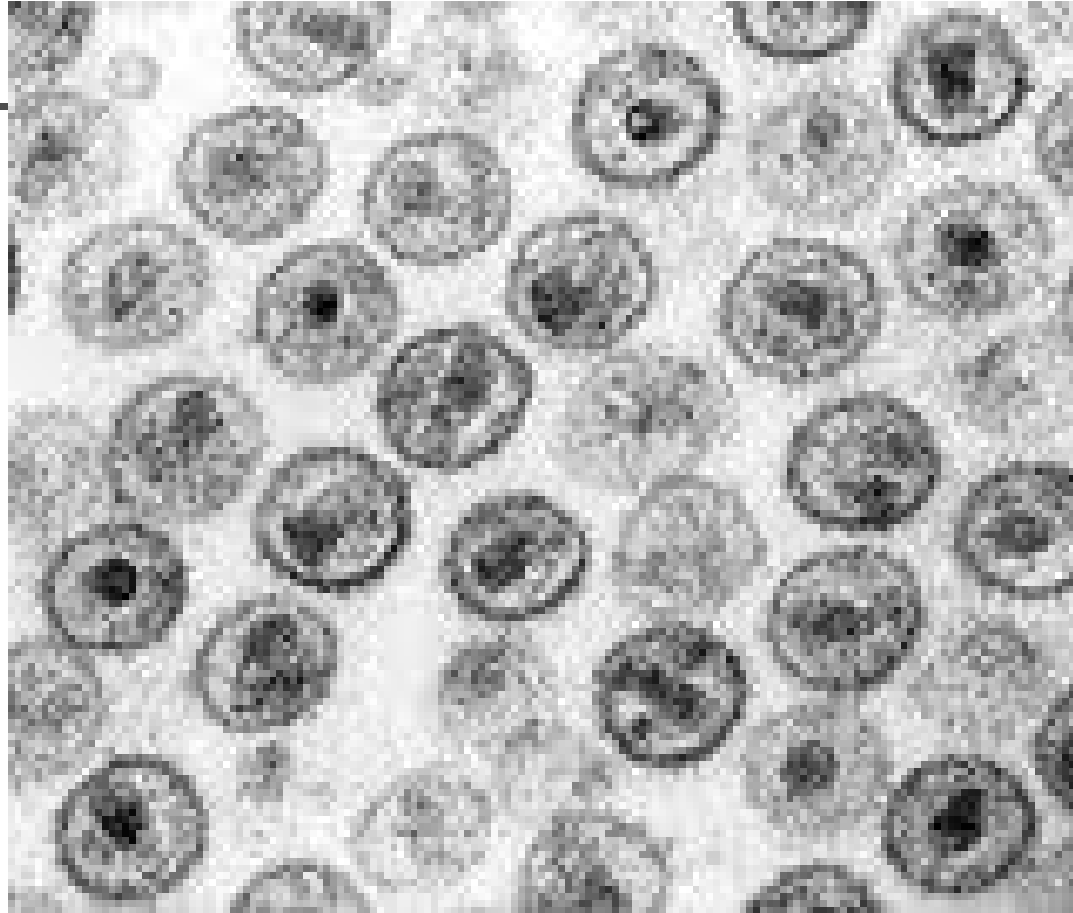
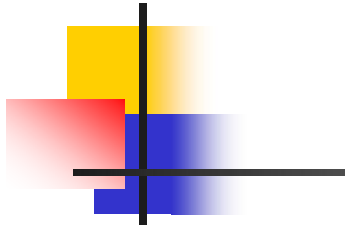
- **Mikroskopik İnceleme:** Doğrudan, Boyasız, Taze İncelemede ;idrar ve BOS gibi örnekler santrifüj edilerek çöküntüden taze preparat hazırlanır.
- Bu inceleme lökosit görülmesi enfeksiyon lehine yorumlanır

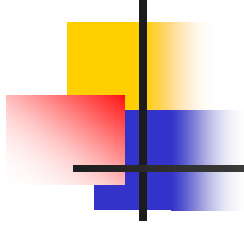


- Mikroskopik inceleme; hastadan **gaita** alınır alınmaz mikroskopik inceleme hemen yapılmalıdır.
- Bunun için, şekilli bir gaitada, bir kürdan veya öze ile değişik yerlere dokunarak alınan küçük parçacıklar bir lam üzerinde, bir damla şalinle ezilerek emülsifiye edilip üzerine bir lamel kapatılarak, sulu gaitalarda ve kanlı müküslü gaitalarda, öze ile alınan müküs partikülleri bir lam üzerine yayılıp, üzerine lamel kapatılarak incelemeye hazır vaziyete getirilir

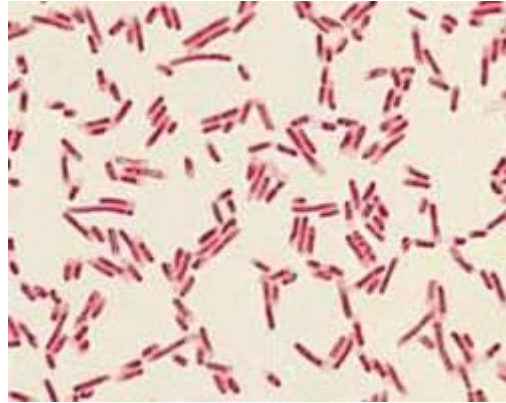
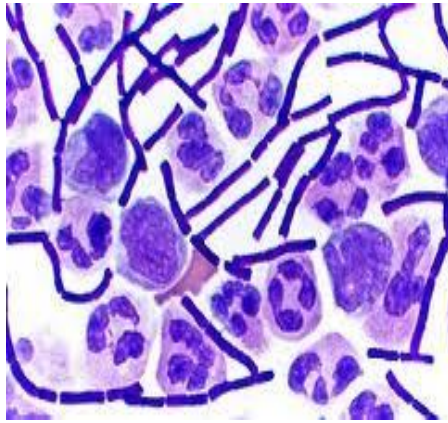
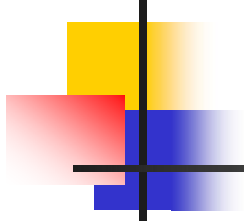


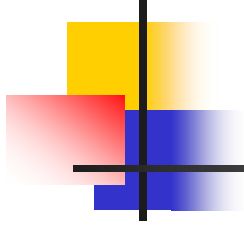






- **Boyalı, Mikroskopik İnceleme:**  
Hasta örneklerinden veya besiyerinden üreyen mikroorganizmadan alınan örnek lam üzerine yayılır.
- Daha sonra çeşitli boyama yöntemleri ile boyanır.
- Gram boyama en çok kullanılan boyama yöntemidir





- Ziehl-Neelsen:ARB
- Mantar incelemesi:%10 KOH Solusyonu ile muamele edilerek örnekler incelenir.
- Parazit boyaları: Lugol, Eosin ve Giemsa ile dışkı veya dokularda parazit aranabilir

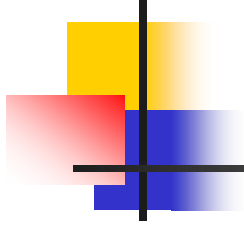




# Kültür Yöntemleri:

---

- Örnekler mikrobiyoloji laboratuvarına gelir gelmez (bazıları hasta başında) besiyerlerine ekilirler.
- Besiyerleri çok çeşitlidirler



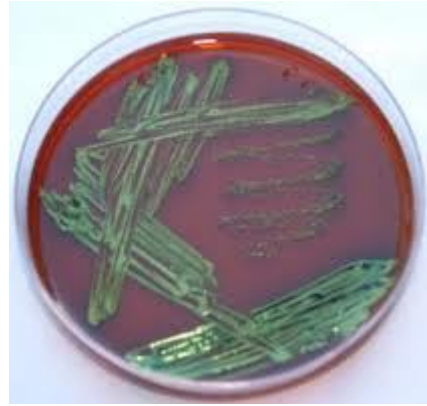
- Mikroorganizmaların izolasyonu için besiyerleri kullanılır.
- Kanlı agar, Çukulatalı agar, Selenit-F, EMB, endo ve MacConkey, salmonella shigella (SS) besiyerleri

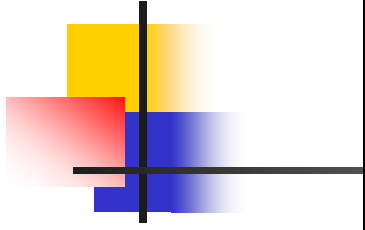
# Kültür-Antibiyogram Yöntemleri

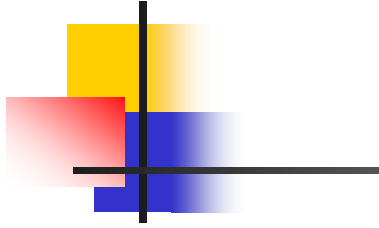


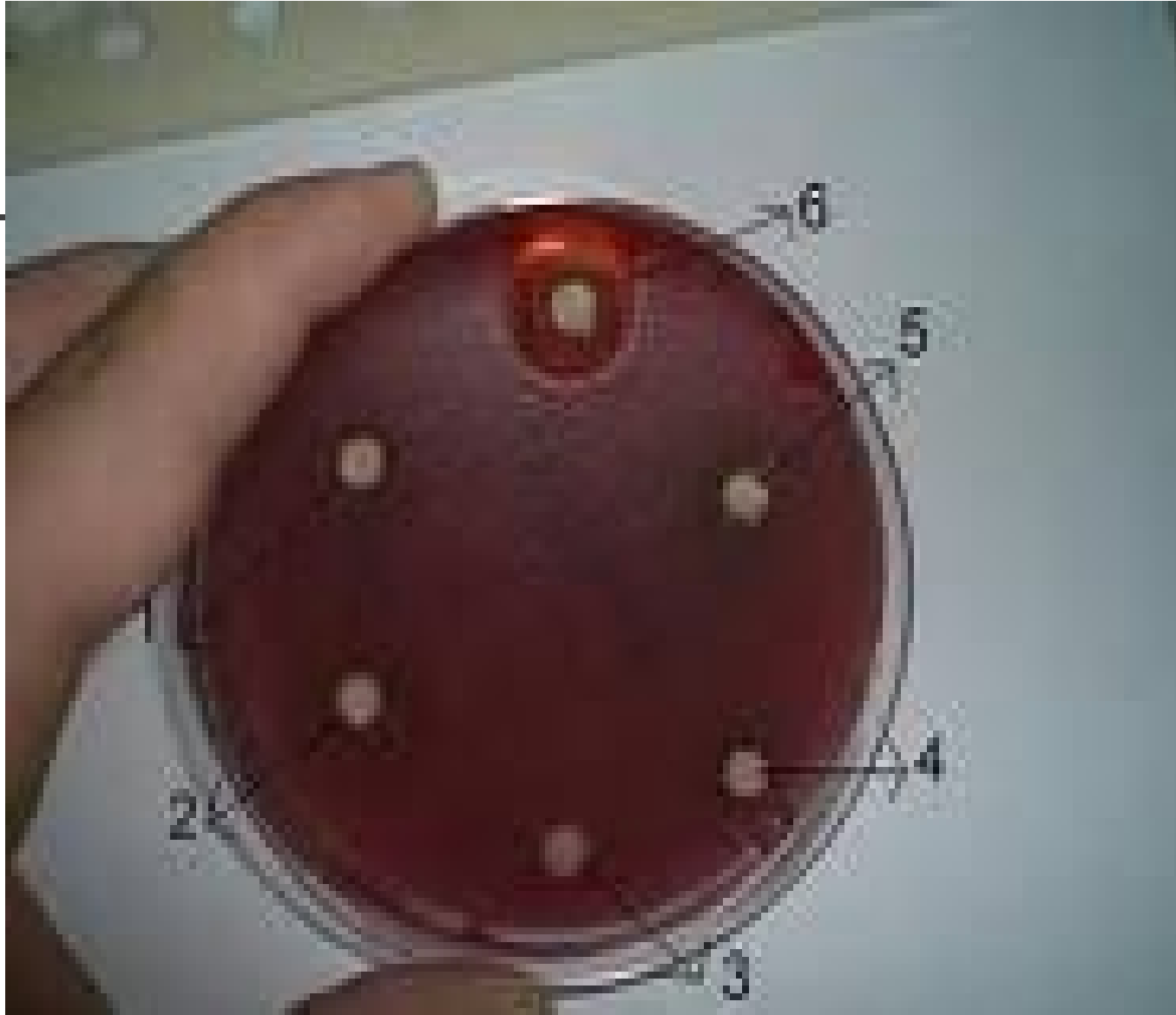
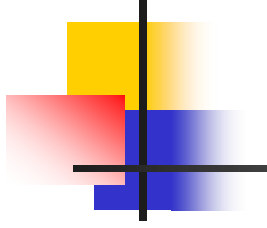
---

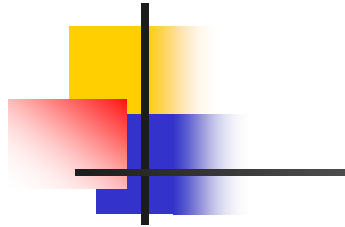
- Disk difüzyon yöntemi
- E test
- Phoenix-Vitek Tam Otomatik Sistem Tanımlama ve Antibiyotik Duyarlılık Sistemleri
- API
- BACTEC











Sehr gut wirksam: In diesem Fall ist dieses Antibiotikum das Mittel erster Wahl.



Unwirksam  
(kein Hemmhof)

Mäßig wirksam (für die Therapie ungeeignet!)



# KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEĞİ ALMA TEKNIĞİ

- Girilecek damarın tekrar palpasyonu gerekirse, eldiven parmak uçlarına iyodin uygulanmalı
- Kan şişeye enjekte edildikten sonra pıhtılaşmaması ve besi yeri ile karışması için şişe çalkalanmalı
- Pratikte ateş yükselmeye başlarken kan kültürü almak için en iyi zamandır
- Kültür kanda antibiyotik düzeyinin en az olduğu dönemde yani bir sonraki dozdan hemen önce alınmalı



# KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEĞİ ALMA TEKNIĞİ

---

- Kültür alınacak ven palpe edildikten sonra deri merkezden perifere doğru %70'lik etil alkolle silinmeli
- Ardından 30-60 saniye iyodin solüsyonu uygulanmalı
- Derinin iyi temizlenmemesi cilt florasıyla kontaminasyona yol açar

# KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEĞİ ALMA TEKNIĞİ

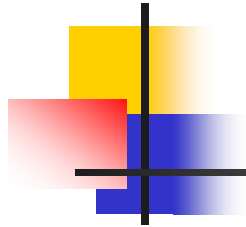
- Hematolojik ve biyokimyasal tetkikler için kan alınırken kan kültürü alınmamalı
- Çok amaçlı alımlarda kontaminasyon riski artar
- Her kan kültür örneği ayrı venlerden alınmalı
- Steril eldiven giyilmeli



# HEMOKÜLTÜR



- Gelen örnekler bekletilmeden Bact/Alert (kan kültür cihazı) cihazına yüklenmelidir.
- Yükleme işleminde numunenin ne zaman, nereden alındığı, hastanın kullandığı antibiyotik gibi önemli bilgiler not edilmelidir.
- İnkübasyon süresi 7 gündür.
- Hemokültür için kan 1/10 oranında sulanacak şekilde özel hemokültür besiyerine alınır

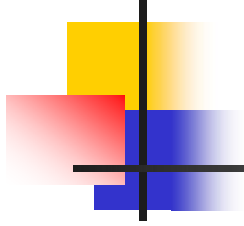




# İndirekt Tanı Yöntemleri

---

- Etken mikroorganizmaya karşı vücutta oluşan antikor cevabının belirlenmesidir.
- Antijen: Bir organizmaya girdiğinde bu organizmanın özel bağışıklık cisimcikleri oluşturmaya yol açan her çeşit maddeye **antijen** adı veriler



- Antikor:çok hücreli hayvansal organizmaların bağışıklık sistemi tarafından; kendi organizmalarına ait olmayan organik yapılara karşı geliştirilen glikoproteinin yapısındaki moleküllerdir.
- immünglobulinler; IgG, IgM, IgA, IgD, IgE tipleri vardır.

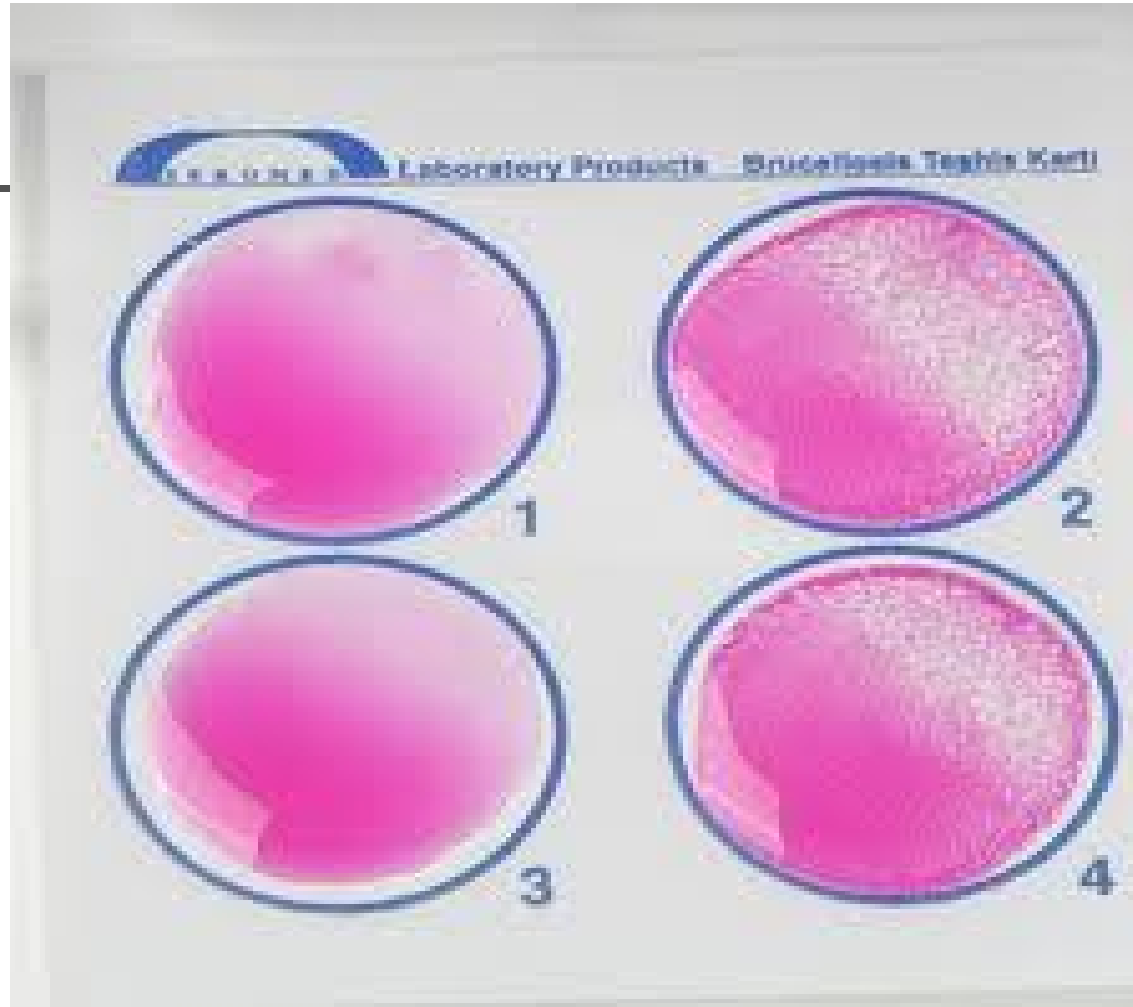
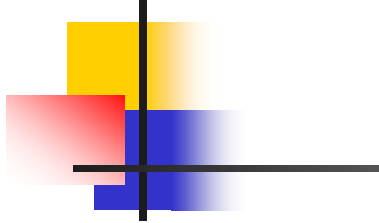


# Aglütinasyon Reaksiyonu

---

- Uygun antikor varlığında mikroorganizmaların kümelenmesine aglütinasyon denir.
- Örnek: Gruber Widal aglütinasyonu, Wright (Brusella) aglütinasyonu



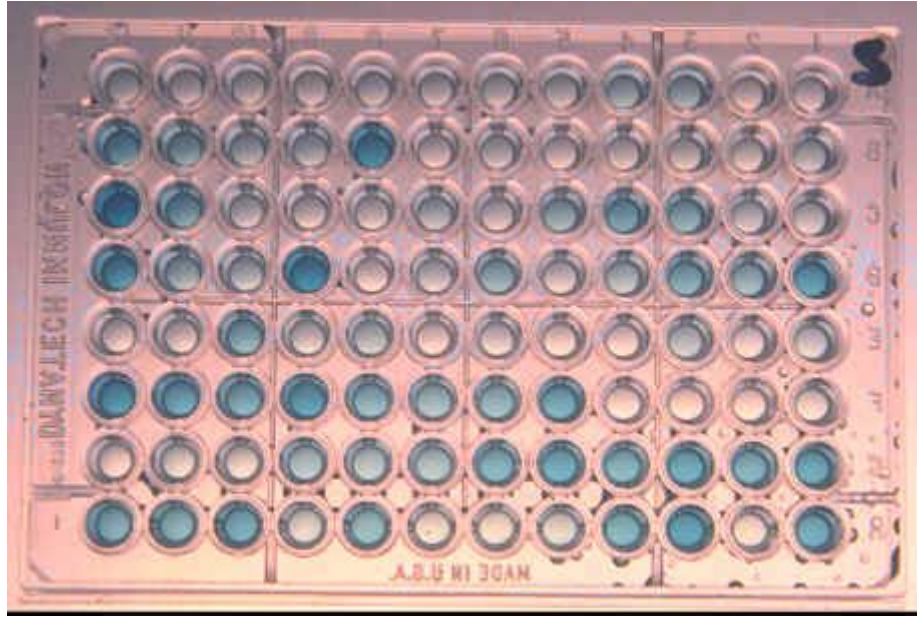
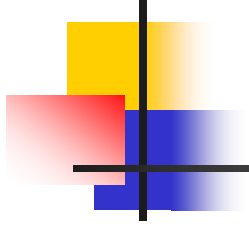


# ELISA

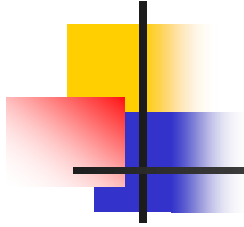
■ **Enzyme-Linked Immunosorbent Assay** testinin İngilizce kısaltmasıdır.

---

- **Antijen-antikör** ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak temeline dayanan **kantitatif** ölçüm yöntemidir.
- Antijene karşı **antikör** ya da antikora karşı **antijen** aramak mümkündür. **Virüs** ve **parazit enfeksiyonlarında** kullanılan bir tanı yöntemidir;



# ELISA-prosedür



1. Bilinen antijen plastik bir yüzeye yapıştırılır. Mikro-Elisa sisteminde bu antijen her hasta için kullanılmak üzere yapılan çukurların yüzeyine kaplanır.
2. Antikor aranacak hasta serumu bu çukurlara konur. Bir süre beklenir ve yıkanır. Eğer serumda uygun antikor varsa antijenle birleşir.

# ELISA-prosedür

2. Bir enzim ile işaretlenmiş insan globülini antiserumu eklenir. Bir süre beklenir ve yıkanır.

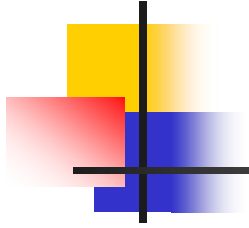
İncelenmekte olan serumda antijene uygun **antikor** var ise antijene bağlanmış olacağından bu son eklenen enzim ile işaretlenmiş insan antiglobülini de bağlayacak ve **yıkama** ile uzaklaştırılamayacaktır.

# ELISA-prosedür



---

3. Enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Sisteme bağlanmış enzim bu substratı parçaladığında ortaya çıkan **renk**, yapılacak kolorimetrik yöntemlerle ölçülerek bağlanmış olan enzim dolayısıyla bağlanmış olan **antikor** hakkında fikir verecektir.



SON