

## **Mikrobiyoloji Laboratuvarı**

Genel olarak bir hastalığın tanısı için biri klinik, diğeri laboratuvar olmak üzere iki yönlü inceleme yapılır. İnfeksiyon hastalıklarında da bu kural geçerlidir. Bazı mikrobik hastalıklarda sadece klinik inceleme ile kolayca tanı konabilirken, büyük bir kısmında ise kesin tanı ancak laboratuvar testleri ile konur. İnfeksiyon hastalıklarında çabuk ve doğru tanı konması çok önemlidir. Aksi takdirde hastalığın tanısının gecikmesi hem hastanın tedavisinin gecikmesine , hem de daha fazla temas olacağından çevredeki kişilere bulaştırması yönünden son derece tehlikeli olabilmektedir.

**Temel Mikrobiyoloji laboratuvarında Direk Tanı yöntemleri:** Hastadan alınan uygun hastalık örneğinde infeksiyon hastalığının nedeni olan etken mikroorganizmayı ortaya çıkarmak, üretmek ve onun hastalandırıcı etken olduğunu kanıtlamak için yapılan testlerdir. Etkene yönelik direk tanı yöntemlerinde enfeksiyonlu hastadan doğru tanı koymak için uygun numune örneğinin doğru alınması gerekir. Doğru şekilde alınan numunenin laboratuvara ulaştırılması da önemlidir. Mikroorganizmalar tüm doku ve organlarda yerleşebileceğinden hastalık numunelerinde çok çeşitli olabilmektedir.(İdrar, kan, balgam, dışkı vb).

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

**Mikroskopik İnceleme:** Doğrudan, Boyasız, Taze İncelemede ; idrar ve BOS gibi örnekler santrifüj edilerek çöktüden taze preparat hazırlanır. Bu inceleme lökosit görülmesi enfeksiyon lehine yorumlanır. Dışkı incelemesinde eritrosit, lökosit ve parazit görülmesi tanıya yardımcıdır.

**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.

### **Diğer boyama yöntemleri**

Ziehl-Neelsen = ARB = Asido - Resistan Boyama : Asido dirençli Mycobacteria = tüberküloz etkeni boyamalarında kullanılır.

Mantar incelemesi : Pamuk mavisi denen boya ile veya %10 KOH Solusyonu ile muamele edilerek örnekler incelenir.

Gümüşleme yöntemi: Daha çok spiral şekilli, basit boyaları almayan bakterilerin direkt

mikroskopik incelemelerinde kullanılır. Sifilis gibi

Floresan Boyama : FAT = Floresan antikor tekniği ile pekçok mikrop, hasta örneği preparatında doğrudan gösterilebilir.

Parazit boyaları: Lugol, Eosin ve Giemsa ile dışkı veya dokularda parazit aranabilir.

### **Kültür Yöntemleri:**

Enfeksiyon hastalıklarının tanısında esas amaç alınan örneklerden etken mikroorganizmanın saf olarak üretilmesi ve tanımlanmasıdır. Örnekler mikrobiyoloji laboratuvarına gelir gelmez (bazıları hasta başında) besiyerlerine ekilirler. Besiyerleri çok çeşitlidirler. Siteril olması gereken ve normal flora içermeyen hasta örneklerinde üreyen etkenler büyük bir ihtimalle hastalık etkenidir. (İdrar, BOS, kan). Boğaz sürüntüsü, balgam, dışkı gibi örneklerde hastalık etkeni mikroplar, normal flora ile birlikte üreyeceklerdir. Buradan hastalık etkeni olan mikroorganizmanın saf kültür halinde ayırılması gerekir. Mikrobik hastalığın etkeni izole edilerek idantifikasyonu yapıldığında, etkin bir tedavi yapılması gerekiyorsa, antibiyotik duyarlılık deneyi uygulanarak en uygun antibiyotigin tespiti yapılır.

**İndirek Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri:** İnfeksiyon hastalıklarının tanısında etken mikrobu göstermek, üretmek ve ortaya çıkarmak güçtür ve her zaman mümkün olamamaktadır. Böyle durumda hastalıklı mikroorganizmaya karşı gelişen bağışık yanıtın gösterilmesi tanı da çok yararlıdır. Bu yöntemler iki grupta toplanır. Özgül antikorların saptandığı serolojik testler ve deri testleridir.

Hastalık etkeni mikroplara ait bildiğimiz antijenleri kullanarak hastaların serum, BOS ve diğer vücut sıvılarında özgül antikorlar aranmasıdır. serolojik testler diye bildiğimiz deneyler bu grupta yer alır (Antikor Arama).

■ Daha önceden araştırma laboratuvarlarında hazırlanmış, bilinen antikorlar (antiserumlar) kullanarak çeşitli ortamlarda mikrop antijenleri aranmasına ve tanımlanmasına yönelik deneylerdir (Antijen Arama).

İnfeksiyon hastalıklarında antikorlar inkübasyon döneminin sonuna doğru oluşmaya başlar, hastalık döneminde yükselme gösterir ve iyileşmeden sonra da bir süre yüksek düzeyde kalırlar. Daha sonra antikor düzeyi azalır. Ancak bazı hastalıklarda ömür boyu saptanabilir düzeyde özgül antikor bulunabilir. Hastalığın akut döneminde IgM sınıfı antikorlar, daha sonra ise IgG sınıfı antikorlar mevcuttur. Immünglobulin sınıfının belirlenemediği serolojik testlerde ise biri hastalığın başlangıcında,

diğeri iyileşme döneminde olmak üzere (ortalama 2-3 hafta ara ile) iki serum örneğinde antikor aranması önerilmektedir. İki serumda yapılan testlerde antikorda artış saptanması hastalık tanısı lehinedir.

**Aglütinasyon Deneyleri:** Bakteri, eritrosit gibi hücreler yüzeylerindeki Ag'lere karşı antikorları ile karşılaştırıldığında kümeleşme oluştururlar. Bu kümeleşme gözle görülebilir. Aglütinasyon deneyleri lam üzerinde bir damla Ag solusyonu, bir damla hasta serumu ile karıştırılarak yapılabilir. Buna **lam aglütinasyonu** denir.

**Enzim İmmün Assay (EIA veya ELİSA):** İşaretli antikor deneyleri içinde son yıllarda en geniş kullanım alanı bulmuş çok hassas bir serolojik test yöntemidir. Yukarıda da açıklandığı gibi aranan antikorun antijenle birleşip, birleşmediğini ortaya çıkarmada, enzimle işaretli ikinci bir antikor kullanılır. Enzimle işaretli anti-immunglobun yapısındaki bu ikinci antikor, immün komplekse bağlanır. Ortama enzimin etkilediği substratın eklenmesiyle renk oluşumu, temelde bir spektrofotometre olan özel EIA okuyucularda da ölçülerek, değerlendirilir.