

MATERYAL GÖNDERİMİ

## GENEL KURALLAR

- Laboratuvara gönderilen numune bakterilerin daha fazla bulunabileceği kısımlardan yeterli miktarda alınmalıdır.
- Numuneler aseptik koşullarda tüp, petri, erlen, svab, enjektör, vb. steril kaplara alınmalıdır.
- Numune kabının ağzı sıkıca kapatılarak, üzerindeki etikete numune bilgileri yazılmalıdır.
- En kısa sürede soğuk zincirde, laboratuvara ulaştırılmalıdır.
- Numuneye herhangi bir sulandırıcı sıvı (alkol ve formol gibi fiksatifler) konulmamalıdır.

- Laboratuvarda hemen ekilmeyecek olan numuneler  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmalıdır.
- Numuneler hastalığın dönemine uygun olarak alınmalıdır.  
Örneğin; Akut ve perakut dönemde etken izolasyonu için kan alınabilir. Ancak kronik dönemde kandan etken izole edilemez.
- Materyal alınırken hayvanların, antibiyotik almamış olması gerekmektedir.

# MATERYAL

- **Balgam (Kraşe):** Balgam steril bir petriye alınır. Boğaz kültürü yapılacak ise steril bir svab tonsillere sürülerek ağız mukozası ve dile temas ettirilmeden steril bir tüpe alınır.
- **Kan:** Steril cam boncuklu şişelere defibrine olarak alınır. Serolojik muayeneler için kanın serumu ayrılarak laboratuvara gönderilir.
- **İdrar:** Kontaminasyon riski yüksektir. Bu nedenle aseptik koşullarda; kateter ya da sonda ile vesica ürinaria'dan alınması gerekir.
- **Süt:** Meme ve meme başları dezenfekte edilir ilk sağım atılarak ikinci sağım steril tüplere alınır.
- **İç organlar:** Nekropside alınan kalp, karaciğer, dalak, böbrek gibi organlar gönderilir.
- **Deri, Kıl, Tırnak:** Mantar muayenesi için alınır. Lezyonlu deri bölgesinden steril bir bistüri ile kazınarak alınan deri kazıntısı, pensle çekilen kıllar ve lezyonlu tırnak kesiti gönderilir.

# MİKROORGANİZMALARIN ÜRETİLMESİ

## 1. Canlı Ortamlar

Hastalık oluşturan Riketsia, Klamidya ve virüsler ancak canlı hücrelerde üreyebilirler.

### a. Doku Kültürü

İzole edilmek istenen hücreye göre konak hücre seçilir.

Sığırdaki hastalık yapan virüsleri → sığır hücre kültürlerinde

### b. Embriyolu Tavuk Yumurtası

Virüsler ve zorunlu hücre içi bakterilerin izolasyonunda kullanılır.

## c. Deney Hayvanları

### Konvansiyonel Hayvanlar

Laboratuvarda yetişen, üreyen ve herhangi bir sağlık kontrolünden geçirilmeyen hayvanlardır. Bunlara sadece yem ve su verilerek bunun dışında özel bir bakım besleme uygulanmaz. Bu hayvanlar her türlü patojenik, apatojenik etkeni bulundurabilir.

### Spf (specific pathojen free) Hayvanlar

Bazı özel hastalık ve etkenlerden ari olan hayvanlardır.

### Germ-free Hayvanlar

Bütün mikroorganizmalardan ari olan hayvanlardır. Özel ortamlarda üretilirler.

## 2. Cansız Ortamlar

Bakterileri izole etmek, üretmek ve çeşitli testleri uygulamak için kullanılan katı ve sıvı besiyeleridir.

### a. Genel Besiyeleri

İçerisinde karbon, enerji faktörleri ve diğer maddeler bulunur.

Amaca göre içersine kan ve serum gibi maddeler katıldığında üreme kabiliyetleri artar.

Nutrient agar, Kanlı agar, Nutrient broth, vb.

Sıvı ya da katı olabilir. Katı besiyeleri **agar**, sıvı besiyeleri **buyyon** olarak da tanımlanır.



## b. Özel Besiyerleri

**Selektif Besiyeri:** Besiyerlerinin bileşimine kimyasal maddeler katılarak selektif hale getirilirler. Böylece istenmeyen bakterilerin üremeleri inhibe edilir.

Örn: Baird Parker agar

**Differansiyel Besiyeri:** Besiyerine katılan çeşitli indikatörler ile üreyen koloniler aldıkları renge göre tanımlanabilir.

Örn: Mac Conkey agar, EMB agar v.s.

**Zenginleştirilmiş Besiyeri:** İstenmeyen bakterilerin üremesini önleyen ve istenen bakterilerin bol miktarda üremesini sağlayan, besiyerleridir. Genelde sıvı besiyerleridir.

Örn: *Salmonella* bakterileri için tetrathionat broth

**Biyokimyasal Besiyeri:** Sıvı ve katı olarak hazırlanan besiyerlerinin bileşimine çeşitli indikatörler ve kimyasal maddeler katılır. Bu maddeler yardımı ile bakterilerin çeşitli biyokimyasal özellikleri tespit edilebilir.





- İç organlardan ekim yaparken bir yüzeyi bir dağlanır. Dađlanan bölgeden ze ile girilerek organın iç kısmından alınan sıvı ve doku parçaları katı besiyerine zikzak Őeklinde ekilerek tek koloni düŐürülmeye çalıŐılır (seyreltme ile ekim).
- Svaplar katı besiyerine sürülerek ekilirler.
- Sıvı materyallerden ise 1-2 damla alınarak bir öze ile besiyerinin yüzeyine yayılır.

# Besiyerinin Bileşimine Giren Başlıca Maddeler

- Agar (jelöz), et ekstraktı, jelatin, kazein hidrolizatı, maya ekstraktı, pepton, su, tuz, karbon kaynakları, inorganik maddeler, vb.
- Kan: Çeşitli hayvanlardan steril olarak alınan kan besiyerini zenginleştirmek amacı ile kullanılır. Kan besiyerine otoklav işleminden sonra ve %5-10 oranında katılır.
- Serum: Zor üreyen bakterilerin izolasyonu için besiyerine %5-10 oranında katılır.

# MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONLARI

# Teşhis

1. Anamnez
2. Klinik bulgular
3. Otopsi bulguları
4. Laboratuvar teşhisi

## **İzolasyon**

Hastalık etkeni olabilecek çeşitli etkenlerin teşhis amacıyla in vivo veya in vitro ortamlarda üretilip elde edilmesidir.

## **İdentifikasyon**

İzole edilen etkenlerin bazı özellikleri kriter alınarak, isimlerinin konmasıdır.

# Laboratuvar Teşhisi

## **Bakteriyoskopi**

Gönderilen materyallerden basit ve bileşik boyama yöntemleri ile boyama yapılır. Mikroskopta incelenir.

## **Kültür**

Materyallerden besiyerlerine ekimler yapılır. Bakterilerin makroskopik morfolojileri, kokusu, hemoliz durumu, üreme süreleri değerlendirilir.

## **Biyokimyasal test**

Bakterilerin biyokimyasal aktivitelerinin belirlenmesi identifikasyonda çok önemlidir. Bu amaçla katalaz, oksidaz, indol, nitrat, vs. testler kullanılır.

## **Deney Hayvanları**

Bakterilerin hastalık oluşturma yetenekleri virülens faktörleri ile yakından ilişkilidir. Örn: adhezin, endotoksin, ekzotoksin vs. Bu özellikler, canlı dokulara inokulasyonlar sonucunda ortaya çıkar.

## **Serolojik Testler**

Bakterilerin antijenik bileşenleri (kapsül, pilus, flagella) vücutta antikor sentezini uyardığı için bu bileşenler serolojik tiplendirilmelerde kullanılabilir.

## **Bakteriyofaj Duyarlılık**

Spesifik fajlarla birlikte bakteri izolasyonu ve identifikasyonu yapılır.

## **Moleküler analizler**

PCR, dizi analizi, hibridizasyon yöntemleri (Southern blot, Northern blot, dot blot, vs.)