

Məşğələ 1

Tibbi mikrobiologiya və immunologiyaya giriş, fənnin əhəmiyyəti. Mikrobioloji laboratorianın quruluşu, orada iş rejimi. Mikrobioloji müayinə üsulları. Mikroskopik üsul. Mikroskoplar. İmmersion obyektivlə işləmə qaydası. Bakteriyaların təsnifatı, morfolojiyası və ultrastruktur. Patoloji materiallardan və mikrob kulturasından yaxmaların hazırlanması. Anilin boyaları. Sadə üsulla boyama.

Müzakirə olunan suallar:

1. Mikrobiologiya və immunologiya fənninə giriş, tibb təhsilində onun yeri, həkimlik fəaliyyəti üçün əhəmiyyəti. Fənnin bölmələri, məqsəd və vəzifələri.
2. Mikroorqanizmlərin təsnifatının müasir prinsipləri. Mikroorqanizmlərin əsas qrupları. Prokariotlar (bakteriya, spiroxet, aktinomiset, rikketsiya, xlamidiya, mikoplazmalar), eukariotlar (ibtidailər, göbələklər) və viruslar.
3. Taksonomiya və taksonomik kateqoriyalar: aləm-şöbə-sinif-dəstə-fəsilə-cins-növ-yarımnöv. Növ-əsas taksonomik kateqoriya kimi. Yarımnövün kateqoriyaları haqqında anlayış: biovar, serovar, faqovar. Kultura, ştam, klon anlayışları. Mikroorqanizmlərin nomenklaturası.
4. Prokariotların Berci təsnifatı
5. Bakteriyaların morfolojiyası (koklar, çöpvari, qıvrım və sapvari bakteriyalar)
6. Mikrobioloji laboratorianın növləri (bakterioloji, mikoloji, parazitoloji, virusoloji, immunoloji, molekulyar- genetik, xüsusi təhlükəli) və quruluşu. Avadanlıq və cihazlar.
7. Mikrobioloji müayinə üsulları.
 - mikroskopik
 - kultural
 - bioloji (eksperimental)
 - immunoloji (seroloji reaksiyalar, dəri-allergik reaksiyalar)
 - molekulyar-genetik üsullar.
8. Mikroskopik üsulun mahiyyəti.
9. Mikroskopların tipləri və texnikası (ışıq, qaranlıq görüş sahəli, kontrast fazalı, lüminessent, elektron, skaner mikroskopları). Mikroskopun böyütmə qabiliyyəti.
10. Obyektivlərin növləri. İmmersion obyektivlə işləmə qaydası.
11. Yaxmanın hazırlanma mərhələləri.
12. İrindən, bəlgəmdən, qandan və mikrob kulturasından yaxmaların hazırlanması.
13. Yaxmanın qurudulması
14. Yaxmanın fiksasiyası (fiziki, kimyəvi, qarışıq).
15. Anilin boyaları, onların kimyəvi tərkibinə və rənginə görə təsnifatı
16. Sadə üsulla boyama.

Yoluxucu xəstəliklərin diaqnozunu erkən və dəqiqliklə müəyyənləşdirmək üçün mikrobioloji laboratoriyalarda aparılan tədqiqatların rolu əvəzsizdir.

Mikrobioloji laboratoriyaların quruluşu, funksiyaları və orada işləmə qaydası. Xəstələrdən və onlarla təmasda olanlardan, mikrobəgəzdirənlərdən alınmış patoloji material bakterioloji, virusoloji, seroloji, mikoloji və sanitar-mikrobioloji laboratoriyalarda tədqiq edilir.

Laboratoriyada əsas müayinə otağı və köməkçi otaqların olması əsas şərtidir. Konkret məsələ və məqsəddən asılı olaraq otaqların avadanlıqla təchiz edilməsi dəyişilə bilər. Laboratoriya otaqları “yoluxucu” və “təmiz” zona adlandırılan hissələrə bölünür. Yoluxucu zonada mikroorqanizmlərlə manipulyasiyalar yerinə yetirilir, saxlanılır. Təmiz zonada isə mikroorqanizmlərlə iş aparılmır və onlar saxlanılmır. Laboratorianın “təmiz” zonasında növbəti otaqlar yerləşməlidir:

- hazırlıq işləri aparmaq üçün otaq (preparator otağı, yuma otağı, qidalı mühitlərin hazırlanması və tökülmə otağı və s.);
- laborator qabların sterilizasiya otağı;
- otaq-soyuducu kamera, yaxud qidalı mühitlər və diaqnostik preparatlar üçün soyuducu;
- istirahət və qida qəbulu otağı

“Yoluxucu” zonada isə, material qəbul edən və qeydiyyat otağı; boks və boks önü otaqlar, yaxud təchiz edilmiş bioloji təhlükəsiz bokslar; bakterioloji və virusoloji tədqiqat üçün otaq; immunoloji tədqiqatlar aparmaq üçün otaq; lüminessent mikroskop üçün otaq; helmintoloji tədqiqat

aparmaq üçün otaq; laborator heyvanlarla işləmək üçün otaq (yoluxdurulması və cəsədin yarılması); yoluxdurulmuş laborator heyvanlarının saxlanma otağı (vivarilər); zəncirvari polimeraza reaksiya otağı (ZPR diaqnostika); avtoklav otağı yerləşməlidir.

Təyinatından asılı olaraq laboratoriyalar aşağıdakı növlərə bölünürlər:

1. Diaqnostik laboratoriyalar. Bu laboratoriyalarda dizenteriya, salmonelloz, difteriya, vərəm, irinli-iltihabi proseslərin, spiroxetoz və s. xəstəliklərin diaqnostikası üçün müayinələr aparılır.
2. Xüsusi diaqnostik laboratoriyalar – burada daha təhlükəli xəstəliklərin diaqnostikası ilə məşğul olurlar. İşçilər xüsusi geyimdə olur, belə laboratoriyalar xüsusi rejimli laboratoriyalar hesab olunur. Burada, vəba, taun, tulyaremiya, brusellyozlu xəstələrin patoloji materialı müayinə olunur. Eyni zamanda, belə laboratoriyalara göndərilən patoloji materiallar da xüsusi qaydalara riayət edilməklə götürülür (Ümumdünya Səhiyyə Təşkilatının təlimatına əsasən).
3. Virusoloji laboratoriyalar – burada, əsasən, virusların törətdikləri xəstəliklərin diaqnostikası ilə məşğul olunur. Məsələn, qrip, poliomielit, ensefalit və s. Son zamanlar virus xəstəliklərinin çoxalması ilə əlaqədar olaraq virusoloji laboratoriyalar daha da genişləndirilir. Hepatit və QİÇS-in sürətlə yayılması belə laboratoriyaların daha müasir cihazlarla təmin olunmasını tələb edir. Virusoloji laboratoriyalarda virusoloji tədqiqat üsullarından istifadə olunur.

Mikrobioloji laboratoriyalar gigiyena və epidemiologiya mərkəzlərinin (GEM), poliklinikaların, xəstəxanaların və elmi-tədqiqat institutlarının nəzdində fəaliyyət göstərir. Mikrobioloji laboratoriyalar bir sıra otaqlardan təşkil olunur: 1) müayinə materiallarının qəbulu otağı; 2) preparator otağı – burada müayinələrin aparılması üçün lazım olan qidalı mühitlər, materiallar, rəng məhlulları və s. hazırlanır. Müayinə otağının tam təchiz olunmasına cavabdehlik preparatorların öhdəsinə düşür; 3) avtoklav otağı – burada sterilizasiya cihazları (aktoklav, Paster sobası və s.) yerləşdirilir və sterilizasiya aparılır; 4) yuma otağı – burada, içərisində patogen mikroblar əkilmiş Petri kasaları, sınaq şüşələri, kolbalar, istifadə edilmiş pipetkalar və s. dezinfeksiyaedici məhlulların içərisində zərərsizləşdirilir və sonra yuyulur; 5) müayinə otağı – burada, xəstələrdən götürülmüş müayinə materialları, yəni patoloji materiallar (irin, bəlgəm, qan, sidik, nəcis, onurğa beyni mayesi və s.) müxtəlif üsullarla müayinə edilir; 6) vivari otağı – burada, əsasən eksperimental üsul üçün lazım olan heyvanlar saxlanılır.

Bunlarla yanaşı mikoloji laboratoriyalar da mövcuddur ki, göbələk xəstəliklərinə diaqnoz qoymaq üçün xəstədən patoloji material (tük, dırnaq, dəri qaşınması və s.) burada götürülür və bu materiallar müayinə olunur. Sporların ətrafa yayılmaması üçün çox diqqətlə iş görülməlidir.

Laboratoriyalarda, xüsusən virusoloji laboratoriyalarda, aseptika qaydalarına tam riayət etmək, həm də müayinə materiallarının xüsusi işlənməsi məqsədilə boks və yarimbokslar da mövcud olur.

Laboratoriyaların tavanı, döşəməsi və divarları elə materiallardan hazırlanmalıdır ki, yumaq və dezinfeksiya aparmaq asan olsun. Əgər ehtiyatsızlıq nəticəsində patoloji material döşəməyə tökülərsə, dərhal zərərsizləşdirmə işləri aparılmalıdır.

Mikrobioloji laboratoriyalar xüsusi cihazlarla təchiz olunmalıdır: bioloji immersion, kontrast fazalı, lüminessent mikroskoplar, işıqlandırıcı cihazlar, quruducu şkaflar, soyuducu, termostat, sentrifuqa, pH- metr, bakterioloji filterlər, su hamamı və sterilizasiya üçün lazım olan cihazlar. Laborantın stolunun üstündə isə Kolle qələmi, steril şpatel, pipetkalar, Petri kasaları, sınaq şüşələri, qidalı mühitlər, əşya şüşələri, filtr kağızı, rəng məhlulları, su, üstünə körpü qoyulmuş qab, içərisində dezinfeksiyaedici maye olan qab, immersion yağ, antibiotiklər hopdurulmuş kağız diskələr və s. olmalıdır.

Laboratoriyada görülən işlərin hamısı alov yaxınlığında aparılmalıdır. Odur ki, iş stolunun üstündə spirt və ya qaz lampası qoyulmalıdır. Bakterioloji laboratoriya hər gün yaş üsulla dezinfeksiya edilməlidir.

Tibbi müəssisələrin mikrobioloji laboratoriyalarında patogen mikroorqanizmlərlə iş aparıldığına görə yenidən yoluxmanın və mikrobların yayılmasının qarşısının alınması məqsədilə aşağıdakı qaydalara, yəni rejimə mütləq riayət olunmalıdır:

- a) Laboratoriyaya xalatsız və kalpaksız girmək olmaz. Lazım gəlsə maskadan istifadə etmək lazımdır;
- b) Üst geyimlə laboratoriyaya girmək, otaqda çox gəzmək və danışmaq olmaz;
- c) Laboratoriyada yemək, çay içmək və siqaret çəkmək olmaz;

- d) Patoloji material təsadüfən xalata, stola, döşəməyə və s. yerlərə düşərsə, dərhal dezinfeksiyaedici maddə ilə işlənəlməlidir;
- e) İşlənən pipetka, şpatel, sınaq şüşələri, Petri kasaları dezinfeksiyaedici məhlul içərisinə atılmalı, Kolle qələmi isə alovda közərdilməlidir;
- f) İşin sonunda iş stolu yığışdırılmalı, dezinfeksiya edilməli, əkilmiş Petri kasaları termostata, muzey ştammları və artıq qalan qidalı mühitlər soyuducuya qoyulmalıdır;
- g) Mikroskopun əşya masası və 90 dəfə böyüdən obyektiv yağdan təmizlənməli və obyektivin altına tənzif parçası qoyulmalıdır. Toz basmaması üçün mikroskop xüsusi örtüklə örtülməlidir;
- h) Nəhayət, əllər dezinfeksiyaedici məhlul hopdurulmuş dəsmalla silinməli və sabunla yuyulmalıdır.

Mikrobioloji müayinə üsulları.

Xəstələrdən və mikrobəzdirənlərdən götürülmüş patoloji materiallar laboratoriyalarda aşağıdakı üsullarla tədqiq olunur:

1. Mikroskopik (virusoskopik) üsul;
2. Kultural (bakterioloji, virusoloji, mikoloji) üsul;
3. Bioloji və ya eksperimental üsul;
4. İmmunoloji üsul (seroloji və dəri-allergik);
5. Molekulyar-genetik üsul.

Mikroskopik üsul. Mikroskopik (bakterioskopik) üsulla müayinədə əsasən adi işıq (optik) mikroskoplarından istifadə edilir. Lakin bununla yanaşı, xüsusi mikroskoplar, yəni kontrast fazalı, luminescent, elektron və qaranlıq görüş sahəli mikroskoplar da işlədilir.

Mikroskopik üsulun köməyi ilə patoloji materialdan, yaxud alınmış mikrob kulturasından yaxma hazırlanır, müxtəlif üsullarla boyanır, bəzən də, boyanmamış halda mikroskopiya edilir. Bu üsulla mikroorqanizmlərin forması, yəni morfolojiyası müəyyən edilir. Eyni zamanda mikrobların bir sıra əlavə elementləri də (məsələn, kapsulası, sporları, flagellaları, başqa əlavələr – volyutin dənəcikləri və s.) mikroskopik üsulla aşkar edilir. Bu üsulla mikrobların morfolojiyasından başqa onun digər xüsusiyyətləri aşkar edilə bilmir (məsələn, tənəffüsü, qidalanma tipləri, ifrazatları, patogenliyi və s.)

Kultural (bakterioloji, mikoloji, virusoloji) üsul. Bu üsulla mikroorqanizmlərin fiziolojiyası öyrənilir. Xəstənin patoloji materialı müvafiq qidalı mühitlərdə əkilərək kultivasiya edilir. Qidalı mühitin səthində inkişaf edən mikrobların kultural xassələri öyrənilir. Mikrobların tənəffüs tipləri, qidalanması, ifrazatları aşkar edilir, mikrobların təmiz kulturası alınır və fermentativ aktivliyi öyrənilməklə onların identifikasiyası aparılır.

Bununla bərabər, kultural üsulla həm də xəstələrdən alınmış mikrobların antibiotiklərə qarşı həssaslığı öyrənilir. Bəzən məlum faqlarla naməlum mikrobun növü və tipi də təyin edilir (faqotipaj).

Bəzən kultivasiya etməklə təmiz mikrob kulturası almaq çətin olur (məs: patoloji material çox çirкли olduqda, ağ ciyər xəstəliklərində və s.), onda bioloji üsuldan istifadə edilir.

Bioloji və ya eksperimental üsul. Bu üsulla patoloji materialdan alınmış mikrobların patogenliyi, virulentliyi və toksigenliyi öyrənilir. Bu məqsədlə alınmış mikroblar müvafiq həssas eksperimental heyvanlara yoluxdurulur. Eləcə də yoluxdurulmuş heyvanlarda infeksiya prosesin inkişaf dinamikası da müəyyənləşdirilir.

Təzə dərman preparatlarının effektivliyi, təsir və ölüm dozası da eksperimental heyvanlar üzərində yoxlanılır.

İmmunoloji üsul. Bu üsul 2 yerə ayrılır: seroloji üsul, dəri-allergik. Seroloji üsulda qan zərdabında mikroorqanizmin özü deyil, onun orqanizmə düşməsi nəticəsində orqanizmdə əmələ gələn anticisimlər aşkara çıxarılır. Bu məqsədlə xəstənin dirsək venasından qan götürülür, zərdabı ayrılır və müxtəlif seroloji reaksiyalar qoyulur (aqqlütinasiya, presipitasiya və s.). Seroloji reaksiyaların vasitəsilə nəinki xəstənin qan zərdabında törədicilərə qarşı əmələ gələn anticisimlər tapılır, həmçinin məlum immun zərdabın köməyi ilə naməlum mikrobların növü və serovarı da (tipi) müəyyənləşdirilir. Bu üsulun digər üsullardan fərqi odur ki, bu zaman nəinki şəxsin hazırda xəstə olduğu, hətta nə vaxtsa xəstəlik keçirdiyi aşkara çıxarılır. Ona görə də Seroloji üsul ən etibarlı üsul sayılır. Lakin bu üsulun da çatışmayan cəhətləri vardır: xəstəliyin ilk günlərində anticisimlər kifayət qədər olmadığından diaqnoz qoymaq mümkün olmur.

İmmunoloji üsulun bir qolu da allergik diaqnostikadır. Bundan iki məqsədlə istifadə olunur: diaqnostika və immunitetin olub, olmamasını aşkar etmək üçün. Müəyyən edilmişdir ki, bəzi yoluxucu xəstəliklərdə törədici orqanizmə düşdükdə, orqanizmin immun-bioloji reaktivliyi dəyişir və həmin törədicinin özünün, yaxud da ifrazatının (toksininin) kiçik dozasını orqanizmin dərisi içərisinə yeritdikdə, ineksiya nəhiyəsində qızartı, infiltrat ağrı hissi ilə müşayiət olunan reaksiya baş verir (məsələn, vərəmdə Mantu, brusellyozda Bürne sınağı, tulyaremiyada tulyarin sınağı və s.).

Difteriya xəstəliyinə qarşı vaksinasiyadan sonra qoyulan Şik dəri sınağı isə immuniteti aşkar etmək üçün qoyulur. Bu məqsədlə törədicinin ekzotoksini kiçik dozada dəri içərisinə yeridilir. Əgər immunitet olarsa, yəni orqanizmdə törədicinin ekzotoksininə qarşı antitoksin yaranarsa, yeridilmiş toksin neytrallaşır və heç bir yerli reaksiya müşahidə olunmur. Əksinə, əgər immunitet yoxdursa, yəni antitoksin əmələ gəlməyibsə, ineksiya nəhiyəsində yeridilmiş toksin qızartı və ağrı hissi əmələ gətirir.

Molekulyar genetik üsul. Son illər mikrobiologiyada müayinə üsulları içərisində molekulyar genetik üsul özünəməxsus yer tutur. Bu üsul yüksək spesifikliyi ilə fərqlənir. Belə ki, bu üsul törədicinin nuklein turşularını aşkarlamağa imkan verir. Molekulyar üsul əsasən törədicinin izolə edilə bilmədiyi hallarda və diaqnozun qoyulması üçün seroloji üsullar kifayət etmədiyi hallarda istifadə olunur. Həmçinin antibiotiklərə davamlı ştamların aşkar olunmasında da geniş tətbiq olunur. Molekulyar üsulun əsas üstünlükləri spesifiklik və həssaslığın olmasıdır.

Üsulun əsas prinsipi klinik materialda istənilən törədicinin nuklein turşusunu çoxaldaraq (amplifikasiya) təyin etməkdir. Cinayət yerində tapılan dəlillər kimi infeksiya proses zamanı da törədicinin DNT, RNT və proteinləri klinik materiallarda aşkar oluna bilər.

Molekulyar genetik üsullara zəncirvari polimeraza, molekulyar hibridləşmə, retuksion analiz, sekventləşdirmə üsulu aid edilir.

Bunların içərisində ən çox yayılmış üsul zəncirvari polimeraza reaksiyasıdır (ZPR). ZPR vasitəsilə patoloji materialda törədici mikrobu gen fraqmentləri aşkar edilir. Metod müayinə materialının tərkibində axtarılan mikroorqanizmlərin DNT-sinin çoxaldılmasına (amplifikasiyasına) əsaslanır.

Müasir mikroskoplar və mikroskopiya qaydaları. Mikrobioloji laboratoriyalarda mikroorqanizmləri müayinə etmək üçün mikroskoplardan istifadə edilir. Mikroskop latın sözüdür, mikro-kiçik, skopid-baxıram deməkdir.

Hal-hazırda istifadə olunan mikroskoplar iki qrupa bölünür: işıq və elektron mikroskoplar. Işıq mikroskoplarında işıq şüalarından, elektron mikroskoplarında isə elektron selindən istifadə olunur.

Müasir mikroskoplara bioloji, faza-kontrastlı, lüminessent, elektron və b. mikroskoplar aiddir.

Bioloji mikroskop. Müasir bioloji mikroskop - mürəkkəb optik cihaz olub, işıqlı və qaranlıq sahədə, işıq şüalarından keçən obyektlərin öyrənilməsinə imkan verir. Bu mikroskoplar yüksək böyütmə qabiliyyətinə malikdir. Bioloji mikroskop iki hissədən ibarətdir- mexaniki və optik.

Mikroskopun mexaniki hissəsinə daxildir:

- a) ştativ
- b) dəstək
- v) tubus (hərəkətli müasir modellərdə əyilmiş)
- q) hərəkətli əşya masası
- d) makrometrik vint kobud(təxmini) kökləmək üçün
- e) mikrometrik vint - preparatın nazik fokusunu təmin edir j) revolver - obyektivlər üçün

Mikroskopun optik sistemi 2 hissədən ibarətdir – işıqlandırıcı və müşahidəçi. Işıqlandırıcı hissəyə: güzgü, kondensor, iris aperturalı diafraqma aiddir. Güzgünün iki üzü var: bir üzü hamar, digər üzü çökükdür. Kondensor güzgü vasitəsilə yönəldilmiş işıq şüalarını əşya masası üzərində qoyulmuş preparata doğru toplayır. Iris-diafraqma işıqlanmanın parlaqlığını tənzimləyir. Obyektiv və okulyar optik hissənin obyektidir. Əyilmiş tubusu olan mikroskoplarda xüsusi prizma var, o şüaları 45 dərəcə bucaq altında şaquli tərəfə göndərir.

Mikroskopun əsas optik hissələrindən biri də obyektivdir. Obyektiv xüsusi sağanağa yerləşdirilmiş iki tərəfi qabarıq linzalar sistemindən ibarətdir. Obyekti böyüdən frontal linza öndə (aşağıda), optik xəyalın qüsurlarını aradan qaldıran korreksiyaedici linza arxada (yuxarıda) yerləşir. Obyektin böyüdülmə dərəcəsi obyektivin qısa fokus məsafəyə malik olan ön linzasının qabarıqlığından asılıdır. Qabarıqlıq böyük olduqca onun böyütmə dərəcəsi də bir o qədər çox olar və əksinə. Müasir mikroskopların obyektivlərinin böyütmə dərəcəsi onların çərçivəsinin üzərində qeyd

edilir (8, 12, 20, 40, 60, 90 və s.). Obyektivlər quru və yağ (yağlı, immersion –immersio-latinca batırmaq) olmaqla iki sistemə bölünür.

Obyektivlər quru və immersion sistemə bölünür. Adətən bioloji mikroskopları iki quru (x8 və x40) və bir immersion (x90MJ) obyektivlə təhciz edirlər, lakin son modellər göstərilən obyektivlərdən başqa, təkmilləşmiş və müxtəlif optika ilə təchiz edilib. Hər obyektivin məlumatı onların çərçivəsinin üzərində qeyd edilir; onlara aiddir: a) böyütmə dərəcəsi x8,x40,x90; b) miqdarca (nömrə) appertura; v) obyektivin zavod nömrəsi. Bunlardan başqa immersion obyektivlərdə əlavə hərf indeksi var. Mikroskopiya etdikdə qabaqcadan preparatın üzərinə immersion yağ əlavə edilir və immersion obyektiv yağ damlasının içərisinə batırılır. Immersion yağın sındırma əmsalı şüşənin sındırma əmsalına yaxın olur-1,52 və bununla preparatdan keçən bütün şüalar obyektivə düşür, şüa itkisinin qarşısı alınır.

Okulyarın iki linzası vardır. Bunlardan biri yuxarı-göz üçün və ikinci aşağı-toplayıcı. Okulyarın çərçivəsinin üzərində böyütmə dərəcəsi qeyd edilir: x5(22mm), x7(18mm), x10(13mm), x15(11mm). Okulyar lupaya bənzər cihazdır, yalnız obyektivlərin böyütdüyü obyekti böyüdürlər.

Mikroskopun ümumi böyütmə dərəcəsi obyektivin və okulyarın böyütməsinin hasilinə bərabər olur. Məsələn, immersion obyektivlə mikroskopun böyütməsi x90 dəfə, okulyar x10 dəfə, mikroskopun ümumi böyütməsi isə $90 \times 10 = 900$ dəfə olur. Mikroskopun yuxarı böyütməsi 1500 dəfəyə çata bilər, gündəlik praktikada adətən 630-900 dəfəyə qədər böyütmə istifadə edilir. Mikroskopun həlledici qüvvəsini tam istifadə etmək üçün mütləq onun quruluşunu yaxşı bilməli və burada ən əsas şey öyrənilən obyekt düzgün işıqlandırmaqdır. Obyektlərin işıqlandırması ola bilər: təbii (gündüz) yaxud süni. Bir çox mikroskopların modellərində nəzərə alınır ki,obyektləri öyrənmək üçün ancaq süni işıqlandırmadan istifadə edilsin,ona görə ki, onlar işıqlandırıcı qurğu ilə təchiz edilib, işıq mənbəyi isə lampalardır.

Gündəlik iş zamanı süni işığın kondensorun tutqun işıq filtrindən keçirilməsi əlverişlidir. Hazırda firma “LOMO” (Sankt-Peterburq) mikrovizorlar hazırlayır yəni ki, bunlar da mikroskoplardır, lakin burada okulyar əvəzinə rəngli televizor iştirak edir.

Belə cihaz kompüterdəki şəkli rəqəmsallaşdırmağa imkan verir və eyni vaxtda şəkilə bir neçə nəfər insan baxa bilər.

Mikroskopda işıqlandırıcı qurğu olmayanda göstərilən üsulları müəyyən ardıcılıqla istifadə etmək məsləhət görülür:

1. İş üçün mikroskopun hazırlanması: güzgünün hamar tərəfi götürülür, (çökük tərəfindən nadir halda istifadə edilir), kondensoru axıra qədər qaldırılır, diafraqma tam açılır.
2. Öyrənilən preparat masanın üstünə qoyulur və xüsusi vintlərlə bərkidilir.
3. Güzgünü çevirməklə mikroskopun görüş dairəsinin işıqlanması daha da parlaq olur.
4. Makrometrik vintlə tubusu yuxarı və aşağı hərəkət etdirməklə preparatın görüş sahəsi tapılır, lazım olarsa kiçik obyektivlə baxılır.
5. Sonra revolveri döndərməklə immersion sistem qoşulur (obyektiv 90x1, 25). və preparatın üstünə bir damla immersion yağ əlavə edilir.
6. Kənardan baxaraq ehtiyatla obyektivin linzası yağa batırılır.
7. Görüş sahəsinin işıqlandırılması yoxlanılır və güzgünü əyərək preparatın işıqlanması yaxşılaşdırılır.
8. Makrometrik vinti fırlandıraraq öyrənilən preparatın kobud xəyalı alınır.
9. Öyrənilən obyektə daha dəqiq baxmaq üçün mikrometrik vint fırladılır.
10. Preparatın aydın işıqlanması üçün ancaq kondensorun diafraqması qaydaya salınır (buna görə kondensorun vəziyyətini dəyişmək məsləhət görülmür).

Qaranlıq görüş sahəli mikroskop. Mikrobiologiyada qaranlıq sahəli mikroskop şəklin kontrastını artırmaq üçün istifadə edilir, bakteriyaların hərəkətinin öyrənilməsində onun böyük əhəmiyyəti var, belə ki, bakteriyalar diri vəziyyətdə zəif kontrastlıdır və adi mikroskopla görünmür.

Bioloji mikroskopun kondensorunu paraboloid-kondensorla və ya kordiodid kondensorla əvəz etdikdə qaranlıq görüş sahəli mikroskop əldə edilir.

Paraboloid – kondensorun yuxarı linzasının kənarları dairəvi olub rəngsiz, mərkəzi isə qara rənglidir. Həmin linzanın qara hissəsinə düşən düz şüalar udulduğuna və şəffaf dairəvi kənarlardan keçən çəp şüalar obyektivə düşmədiyinə görə sahəsi qaranlıq olur. Mikroskopun masası üzərinə qoyulmuş preparatda mikroorqanizmlər olduqda, kondensordan keçən və görünməyən həmin çəp

şüalar mikroorqanizmlərə rast gəldikdə, onlar tərəfindən sındırılır və qayıdıb obyektivə düşür. Bunun nəticəsində qaranlıq mühitdə işıqlanan (Tindal effekti) mikroorqanizmlər görünür.

Qaranlıq sahədə mikroskopiya etmək üçün xüsusi diafraqması olan quru (obyektiv 40) sistemdən istifadə edilir. Qalınlığı 1,1 mm-dən artıq olmayan əşya şüşəsi üzərində, müayinə olunan materialdan “əzilən” damla preparatı hazırlanır. Həmin preparatı mikroskopiya etmək üçün kondensor preparata toxunana qədər qaldırılır və kondensorun üzərinə bir damla immersion yağı (yaxud distillə olunmuş su) tökülür. Sonra preparat onun üzərinə qoyulur və mikroskopiya edilir. Yağ kondensorun üst linzası ilə preparat arasındakı boşluğu tam doldurmalı və orada hava qabarcıqları qalmamalıdır.

Qaranlıq görüş sahəli mikroskopda mikroskopiya etmək üçün kifayət qədər güclü və sabit işıq seli lazımdır. Bu məqsədlə Oİ-7 və s. işıqlandırıcılardan istifadə edilir. Mikroskopiya nisbətən qaranlıq otaqlarda aparılır.

Qaranlıq sahəli kondensorla iş aşağıdakı ardıcılıqla yerinə yetirilir:

- 1) İşıqlandırıcı quraşdırılır və preparat qoyulur, adi kondensor qara sahəli kondensorla əvəz edilir
- 2) Kondensorun üzərinə 1 damla immersion yağ yaxud distillə olunmuş su tökülür, kondensor preparata toxunana qədər qaldırılır
- 3) Makro və mikro vintləri –fırıldırmaqla öyrənilən preparatın fokusu hazırlanır və bu zaman görüş dairəsində işıqlı halqa, mərkəzində isə qara ləkə görünür.
- 4) Kondensoru açıq ləkə əmələ gələnə qədər (əgər ləkənin yaxud həlqənin forması düz deyil, deməli immersion yağ azdır)qaldırırlar
- 5) Kondensorun vintilə ləkə görüş dairəsinə çıxarılır

Immersion obyektivlərlə işləyərkən mütləq obyektivin aperturasını azaltmaq üçün içinə xüsusi diafraqma qoyurlar, bu qaranlıq sahəli kondensorun toplanmasında var. Obyektivləri dəyişəndə kondensoru əlavə olaraq vintlərlə qururlar.

Kontrast fazalı mikroskop. Kontrast fazalı mikroskop zəif kontrastlı bioloji obyektləri (mikroorqanizm, bitki hüceyrələri) boyanmamış vəziyyətdə kontrastlı şəkili almağa imkan verir. Qaranlıq sahəli mikroskop obyektin konturunu göstərir, ondan fərqli olaraq kontrast fazalı mikroskopiya isə öyrənilən şəffaf obyektin daxili strukturunun elementlərini göstərir. Məlumdur ki, mikroskopiyanın keyfiyyəti obyektin kontrastlığından asılıdır, bu isə işıq şüalarını udma xüsusiyyətindən asılı olaraq amplitudalı və fazalı formalara bölünür.

Amplitudalı obyektlər müxtəlif işıq şüalarını udma xüsusiyyətinə görə fərqlənirlər, ona görə onlardan keçən işığın amplitudası dəyişir. Amplitudalı obyektlərə aid olan boyanmış preparatlar böyük yaxud kiçik kontrastla təsvir edilir.

Fazalı obyektlərin işıq şüalarını udma xüsusiyyəti müxtəlif yerlərdə eynidir, lakin optik sıxlığına görə fərqlənirlər. Belə obyektlərdən keçən işığın amplitudası dəyişmir, tərpənmə fazası dəyişir, bu isə gözlə görünür. Fazalı obyektlərə boyanmamış diri mikroorqanizmlər aiddir. Bunların təsviri adi mikroskopda çox az kontrastlı olur.

Kontrast fazalı mikroskopda obyektədən keçən işıq şüalarının faza dəyişkənliyini amplitud dəyişkənliyinə çevirmək mümkündür, bunun nəticəsində də şəffaf mikroorqanizmlər görünür. Şəffaf bioloji obyektlər kontrast fazalı mikroskopiyaada yüksək kontrastlı olurlar-faza lövhəcikdən asılı olaraq onlar işıqlı sahədə qara rəngli şəkil verir (müsbət kontrast fazalı şəkil) yaxud qaranlıq sahədə işıqlanan şəkil verir (mənfi kontrast fazalı şəkil). Cihazın tipi adətən pasportda qeyd edilir. Kontrast fazalı mikroskopiya üçün aşağıdakılar istifadə edilir: adi mikroskop və əlavə kontrastlı fazalı cihazlar.

Kontrast fazalı mikroskopiyaada Oİ-32, yaxud Oİ-35 tipli işıqlandırıcılar istifadə edilir. Kontrast fazalı üsulla öyrənmək üçün “əzilən” damla preparatı hazırlanır. Preparatı nazik əşya şüşəsi üzərində hazırlamaq lazımdır. Uzun müddət müşahidə edəndə örtük şüşənin kənarları vazelinlə isladılır.

Kontrast fazalı mexanizmlə işin ardıcılığı:

1. Mikroskopun kondensoru xüsusi kontrast fazalı kondensorla əvəz edilir və onu elə qururlar ki, qaldıranda frontal linza və əşya masası eyni hündürlükdə olsun. Həlqə diafraqma “O” revolverlə daxil edilir.
2. Adi obyektivləri fazalı obyektivlərlə əvəz edirlər

3. Preparat mikroskopun əşya masası üzərinə qoyulur
4. Öyrənilən preparat makrometrik vintlə dəqiq fokuslaşdırılır
5. İşıqlandırıcı quraşdırılır, (Kelerin qaydalarına) bundan sonra işıqlandırıcı lampa, güzgü və kondensorun vəziyyətində heç bir dəyişiklik etmək olmaz
6. Okulyar əvəzinə köməkçi mikroskop qurulur. Köməkçi mikroskopun okulyarını tubusun içində hərəkət etməklə faza həlqənin aydın şəkli alınır. Belə halda okulyarı vintlə bərkidirlər.
7. Kondensorun revolveri fırladılır, nəticədə okulyarda obyektivin qara-boz faza həlqəsi görünür. Bundan əlavə kondensorun diafraqmasının işıqlı həlqəsi görünür.
8. Mərkəzi vintləri hərəkətdə kondensorun işıqlı həlqəsi obyektivin qara həlqəsinə uyğunlaşdırılır
9. Köməkçi mikroskop okulyarla əvəz edilir
10. Obyekti öyrəndikdə sarı-yaşıl işıq filtrləri istifadə edilir.

Bunlar kontrast fazalı qurğunun komplektinə daxildir. Işıqlanmanı düzgün quraşdıranda preparatda obyektin şəkli gərək olduqca kontrastlı alınsın. Obyektivləri yaxud preparatı dəyişəndə kondensorun həlqə diafraqmasını və obyektivin faza həlqəsinin uyğunluğunu mütləq yoxlamaq lazımdır.

Lüminessent mikroskop. Lüminessensiya (lat. *Lumen* – işıq deməkdir) maddənin udduğu potensial enerjinin işıq enerjisinə çevrilməsindən və həmin maddənin soyuq halda işıq saçmasından ibarətdir.

Fotolüminessensiya - obyektin udduğu enerjinin hesabına obyektlərin işıqlanmasıdır. Bəzi səbəblərdən lüminessensiya işığı udulmuş nisbətən (Ştoks qaydası) böyük dalğa uzunluğuna malikdir. Ona görə lüminessensiyanı ya ultrabənövşəyi (30-40 nm), ya da göybənövşəyi şüalarla törətmək faydalıdır. Hər halda, lüminessensiya rənglər spektrində bütöv sahədə, yaxud görünən sahənin bütöv hissəsində yaranır, bu isə rəngli şəkil verir. Obyekt lüminessensiya vermirsə onu xüsusi boyalarla rəngləyirlər – flüoroxromlarla, bundan sonra isə flüoresensiya verməyən preparatın komponentləri rəngli şəkil göstərir. Sintetik flüoroxromlardan narıncı akridin, korifosfin, primudin, rodamin ən yaxşı nəticə verir. Lüminessent mikroskop adi mikroskopla müqayisə etdikdə bir sıra üstünlüklə fərqlənir: rəngli təsvirləri; qaranlıq sahədə yüksək dərəcəli kontrast işıqlanan obyektlər; həm şəffaf, həm də qeyri-şəffaf canlı obyektləri öyrənmək mümkündür; müxtəlif həyat proseslərin inkişafının dinamikada öyrənilməsi. Bir neçə model lüminessent mikroskop var. Bu mikroskoplarla obyektin öyrənilməsi stasionar yaxud sahə şəraitində ötürülən yaxud əks olunan işıq şüaları ilə edilir.

Lüminessensiya və ya flüoresensiya birincili və ikincili olmaqla iki yerə bölünür. Birincili flüoresensiya zamanı maddənin tərkibində olan potensial enerji ultrabənövşəyi şüaların təsirindən işıq enerjisinə çevrilir və həmin maddənin işıq saçmasına səbəb olur.

İkincili, yaxud süni flüoresensiya əldə etmək üçün flüoroxrom adlanan xüsusi flüoresensiyaedici maddələrdən (akridin, auramin, neytral qırmızı, tripaflavin, korifosfin, rodamin, flüoressein və s.) istifadə edilir. Həmin maddələrlə işlənmiş preparat gözlə görünməyən ultrabənövşəyi şüalarla, yaxud spektrin gözlə görünən qıscadalğalı göy şüalarıyla şüalandıqda işıq saçmağa başlayır.

Mikrobioloji praktikada ikincili flüoresensiyadan daha geniş istifadə edilir.

Lüminessent mikroskopiya üçün əşya şüşələri üzərində yaxma, yaxud “əzilən” damcı hazırlanır. Sonra həmin preparat flüoroxromlarla işlənir və mikroskopiya edilir. Kimyəvi tərkibindən asılı olaraq maddələr ayrı-ayrı flüoroxromları müxtəlif cür qəbul edir və bundan asılı olaraq müxtəlif rəngdə işıq saçır. Buna görə də mikroorqanizmləri, eləcə də onların ayrı-ayrı elementlərini aşkara çıxarmaq üçün müxtəlif flüoroxromlardan istifadə edilir. Məsələn, vərəm mikobakteriyaları auraminlə, difteriya korinobakteriyaları korifostinlə, qonokoklar sarı akridinlə və s. flüoroxromlaşdırılır.

Lüminessent mikroskop (ML-2) mahiyyət etibarilə adi mikroskopdan fərqlənmir. Lakin ona, dalğa uzunluğu ultrabənövşəyi şüaların dalğa uzunluğundan böyük olan şüaları udan filtrlər sistemi, civə-kvars lampalı (SVD-120A) Oİ işıqlandırıcı əlavə edilir.

ML-2 mikroskopu ilə işlədikdə əvvəlcə onun qidalandırıcı bloku elektrik şəbəkəsinə birləşdirilir. Sonra preparat mikroskopun əşya masası üzərinə qoyulur. Makrometrik və mikrometrik vintlər vasitəsilə preparat fokuslaşdırılır. Mikroskopun lampası yandıqdan 10 dəq sonra preparat müayinə edilir. Mikroskopiya qaranlıq otaqda aparılır.

Adi mikroskopiya fərqli olaraq, lüminessent mikroskopiya obyektin daha kontrast rəngli xəyali alınır. Bundan başqa bu üsulla qidalı mühitlərdə olan ölü və diri mikrobların morfoloqiyasını öyrənmək, müayinə olunan materialda mikroblar hətta çox az miqdarda olduqda belə onları aşkar etmək, toxumalarda, hüceyrələrdə olan və hətta immunoloji reaksiyalarda iştirak edən mikroorqanizmləri də aşkar etmək mümkündür.

Elektron mikroskopu. Elektron mikroskopunda elə obyektlər öyrənilir ki, onların adi işıq mikroskopunda öyrənilməsi mümkün olmur.

Elektron mikroskopun quruluş prinsipi işıq mikroskopuna uyğun gəlir. Lakin mahiyyətə bunlar bir-birindən fərqlənir. Elektron mikroskopunda işıq şüaları əvəzinə elektron şüalarından (selindən) istifadə edilir. Elektron şüasının dalğa uzunluğu 0,005 nm-ə yaxın olub, işıq şüasının dalğa uzunluğundan 200000-300000 dəfə kiçikdir. Ona görə də elektron mikroskopunun böyütmə qabiliyyəti çox yüksəkdir. Çünki şüaların dalğa uzunluğu nə qədər kiçik olarsa, onların böyütmə qabiliyyəti bir o qədər böyük olur. Müasir elektron mikroskopları obyekti 1000000 dəfəyə qədər böyüdə bilər.

Elektron mikroskopunda elektron selinin mənbəyi vakumda yerləşən və katod vəzifəsini yerinə yetirən volfram naqildir (elektron topu). Bu naqıl elektrik cərəyanı ilə qızdırıldıqda, ondan elektronlar çıxır və böyük sürətlə anoda doğru hərəkət edirlər. Bu zaman anodla katod (volfram naqıl) arasında 30000-50000V elektrik sahəsi əmələ

Elektron mikroskopunda kondensorun, obyektivin və okulyarın şüşə linzaları əvəzinə elektromaqnit linzalardan istifadə edilir. Kondensorun elektromaqnit linzası katoddan çıxan elektronlar selini toplayır və anoda tərəf yönəldir. Anoda çatan elektronların müəyyən hissəsi anod yarığından keçib preparatın üzərinə düşür.

Elektron mikroskopu çox kiçik obyektləri – virusları, bakteriya və digər mikroorqanizmlərin struktur elementlərini, makromolekulyar strukturları və başqa submikroskopik cisimcikləri görməyə imkan verir.

Elektron mikroskopiya üçün hazırlanan preparatlar işıq mikroskopunda müayinə olunan preparatlardan fərqlənir, çünki elektron mikroskopda əşya şüşəsi əvəzinə, üstü nazik kolloid qatla örtülmüş metal tordan istifadə edilir.

Mikroskopik tədqiqat üsulları. Yaxmaların hazırlanması və fiksasiyası. Mikroorqanizmlər mikroskop altında çox zaman rənglənmiş halda tədqiq olunur, çünki rənglənmiş mikrobun quruluş xüsusiyyətlərini daha aydın və dərinlən öyrənmək olur. Mikrobları rənglənmiş halda öyrənməkdən ötrü əvvəlcə onlardan preparat-yaxma hazırlamaq lazımdır. Yaxma hazırlamaq üçün iş stolunun üstündə əşya və örtük şüşələri, Kolle qələmi və Paster pipetkəsi, distillə edilmiş su və fizioloji məhlul (natrium-xlorin 0,85%-li izotonik məhlulu) və dezinfeksiyaedici məhlul olmalıdır.

Əksəriyyət patogen mikroorqanizmlərin ölçüləri kiçikdir (2-30mkm böyüklükdə) buna görə də onların morfoloqiyasını ancaq xüsusi optik cihazlar -mikroskoplar (mikro-kiçik, skopid-baxıram) vasitəsilə öyrənmək mümkündür. Onlar xeyli böyüdülmə verir və yüksək həll edilmə bacarığı var, yəni iki nöqtə arasında məsafə ən az olur, görüş dairəsi ayrı-ayrı şəkillər verir. İnsan gözünün həll etmə bacarığı 80mkm-dən çox olur. Patogen mikroorqanizmlərin ölçüləri göstərilən ölçüdən kiçikdir, buna görə biz onları görmürük. Hətta mikroorqanizmlər biri o birisindən 80mkm-dən yaxın olarsa, onları aydın görmək olmur. Müasir mikroskoplar ayrı-ayrı böyüdülmüş mikroorqanizmlərin və başqa obyektlərin, strukturlarını insana mümkün olmayan şəklini adi gözlə almağa imkan verir.

Mikroorqanizmlərin rənglənmiş cisimləri ümumi fondan kəskin fərqlənir ki, bu da obyektin müəyyən edilməsinə imkan yaradır:

- a) öyrənilən obyektin təxmini mikrob mənzərəsini
- b) ayrılmış təmiz kulturanın dərəcəsini
- c) mikroorqanizmlərin bəzi morfoloji xüsusiyyətlərini (formasını, ölçüləri, spora, kapsula, flaqellalar olması)

Rənglənmiş preparatın hazırlanması bir neçə ardıcıl etaplardan ibarətdir: yaxmanın hazırlanması, qurudulması və fiksasiyası. Bu iş üçün təmiz yağsızlaşdırılmış əşya şüşələrindən istifadə edirlər. Yağsızlaşdırmanın ən asan üsulu əşya şüşəsinin səthinə quru sabun sürtürlər, sonra təmiz tənziflə silirlər. Belə hazırlanmış əşya şüşəsinə bir damla su əlavə ediləndə o çox yaxşı yayılır.

Kolle qələmi iki hissədən ibarətdir: uc və tutacaq. Qələm metal çubuqdan hazırlanarsa, onun baş tərəfi istiliyi pis keçirən maddə ilə örtülür, bu da əlin yanmasının qarşısını alır. Qələmin ucu isə platin məftildir. Işın xüsusiyyətlərindən asılı olaraq platin uc müxtəlif şəkildə salına bilər: iynə şəklində

və ilgək (həlqə) şəklinə. Platin məftil tez sınımr, ərimə dərəcəsi yüksəkdir, paslanmır, tez qızarır, tez də soyuyur. Közərdilmiş Kolle qələmi ilə dərhal material götürmək olmaz, mikroblar ölə bilər, ona görə də qələm sınaq şüşəsinin içində, mikrob kulturasından azad yerdə soyulur.

Pipetka ilə material götürüldə isə sonda onu mikrobdan azad etmək üçün dezinfeksiyaedici maddə içərisinə salmaq lazımdır.

Əgər yaxma hazırlamaq üçün təzə əşya şüşələri götürülürsə, onlar işlədilməzdən əvvəl təmizlənməlidir, yəni 1%-li soda məhlulunda qaynadıb su ilə yuduqdan sonra xlorid turşusunun zəif məhlulunda bir qədər saxlanılır və yenidən su ilə yaxşıca yuyulur. Üzərində yaxma hazırlanmış əşya şüşələri isə başqa cür işlənilir. Belə ki, bu şüşələr ya sulfat turşusunun qatı məhlulunda, ya da sulfat turşusu kalium-bixromat-su qarışığında (100:50:1000) 2 saat saxlanılır, sonra su ilə yuyulur və soda məhlulunda qaynadıldıqdan sonra su ilə yaxşı-yaxşı yuyulub silinir. Yaxma hazırlanan zaman isə əşya şüşəsinin bir kənarından tutub alov üzərindən keçirmək lazımdır ki, şüşə yağsızlaşdırılsın, əks təqdirdə, damlanı şüşə üzərində yaymaq olmur.

Mikrob kulturasından yaxmanın hazırlanma qaydası:

- 1) sağ əldə tutulmuş bakterioloji ilgəyi (Kolle qələmi) alov üzərində közərənədək qızdırırlar;
- 2) bir damla fizioloji məhlul götürüb, yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərinə qoyurlar;
- 3) içərisində mikrob kulturası olan sınaq şüşəsi sol əldə elə maili tutulur ki, qidalı mühitin səthi görünsün, tıxacı hərləndərək sınaq şüşəsindən sağ əlin çeçələ barmağı və ovucu içərisində çıxarırlar;
- 4) sınaq şüşəsinin qıraqları alovdan keçirilir, ehtiyatla ilgək sınaq şüşəsinin içinə daxil edilir və material götürülür;
- 5) ilgəyi çıxarırlar, sınaq şüşəsinin qıraqlarını alovdan keçirir, sınaq şüşəsini tıxacı ilə bağlayırlar;
- 6) əşya şüşəsi sol əldə tutulur, ilgəyin ucunda olan mikrob kulturası fizioloji məhlul damlasında qarışdırılaraq emulsiya şəklinə salınır, sonra isə 1sm diametrində bərabər sürətdə şüşə üzərinə yayılır;
- 7) ilgək yenidən alovda közərdilir.

Çalışmaq lazımdır ki, yaxma nazik olsun, belə yaxmalar tez quruyur və yaxşı rənglənir. Yadda saxlamaq lazımdır, bu dövrdə canlı mikroorqanizmlərlə işləyirlər, ona görə kəskin hərəkətlər materialın yayılmasına, əllərin və ətraf mühitin çirklənməsinə gətirib çıxara bilər.

Duru mühitdə olan mikrob kulturasından yaxma hazırlamaq üçün (eləcə də sidik, süd, mikrob emulsiyası və s.) Paster pipetkası və ya ilgəklə yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərinə 1 damla material qoyub onu ilgəklə şüşənin səthində 1-2 sm² sahədə yaymaq lazımdır. Sonra pipetkanı dezinfeksiyaedici maye içərisinə salır, ilgəyi isə alovda közərdib sterilizasiya edirlər. Bəzən yaxma o qədər nazik olur ki, gözlə görünmür, ona görə də əşya şüşəsinin arxa səthində şüşəyazan karandaşla işarə edilməlidir.

Bəlgəm və irindən yaxma hazırlamaq üçün iki əşya şüşəsi yağsızlaşdırılır və bunlardan birinin üzərinə Kolle qələmi ilə 1 damla material qoyub, qələmi alovda közərdirlər, sonra ikinci əşya şüşəsi birincinin üzərinə elə qoyulur ki, hər iki tərəfdən barmaqlar üçün, yəni tutmağa yer qalsın. Bundan sonra damlanın üstündən yüngülcə basılır və şüşələr bir-birinin əksi istiqamətində hərəkət etdirilir. Bu zaman hər iki əşya şüşəsində yaxma alınır.

Daxili orqanlardan basma-iz yaxmalar hazırlamaq üçün (qaraciyər, dalaq, ağciyər, bağırsaq, əzələlər və s., eləcə də müxtəlif qida məhsullarından - ət, kolbasa və s.) steril skalpellə toxumanın səthindən kəsilib atılır, sonra həmin sahədən azacıq kəsib yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərinə qoyur, yavaşca basır, yaxud üstündən ikinci bir əşya şüşəsi qoyurlar, toxuma əzilir. Beləliklə, hər iki əşya şüşəsi üzərində yaxma alınır.

Qandan preparat hazırlanması. Qandan iki cür yaxma hazırlanır: nazik yaxma və qalın damla. Nazik yaxmanın hazırlanması: Yağsızladırılmış əşya şüşəsinin bir kənarına bir damla qan qoyub, tez bir zamanda qanın laxtalanmamasına görə, ucları çilalanmış başqa əşya şüşəsi ilə sola hərəkət etməklə damlanı yayırlar (45°-li bucaq). Hazırlanmış yaxmanı otaq hərəratində yaxud isti havada alovdan uzaqda qurudurlar. Preparatın həddindən artıq qızdırılmasına yol vermək olmaz, çünki mikroorqanizmlərin quruluşu pozular. Yaxma hazırlanmış şüşənin hər iki kənarında 1-1,5sm yer boş qalmalıdır. Qandan hazırlanmış preparatlar kölgədə qurudulmalıdır.

Qalın damlanın hazırlanması. Qalın damla hazırlamaq üçün əşya şüşəsi üzərinə 1-2 damla qan qoyulur və Kolle qələminin ilgəyi ilə bu damla 1 sm diametr böyüklükdə yayılır. Çox vaxt qanda parazitləri asan görmək üçün qalın damlalar hazırlanır.

Yaxmaların qurudulması və fiksasiyası. Yuxarıda göstərilən qaydaların hər hansı biri ilə hazırlanmış yaxmalar otaq temperaturunda havada qurudulur. Əgər yaxma qalındırsa və ya təcili lazımdırsa belə yaxmalar termostatda və ya alov üzərində qurudulur. Belə ki, sağ əlin baş və şəhadət barmaqları ilə, yaxma olan səth üstə olmaqla əşya şüşəsinin kənarından tutulur, orta barmaq isə alt tərəfdə saxlanılır. Yaxma belə qurudularsa, nə bakteriyada olan zülal pıxtalaşmaz, nə də hüceyrə quruluşu pozulmaz.

Yaxmaların tam quruduğuna əmin olduqdan sonra onlar fiksasiya (təsbit) edilməlidir. Fiksasiya bir sıra məqsədlər üçün aparılır:

- 1) yaxma əşya şüşəsinin üzərinə möhkəm yapışdırılır ki, yuma və rəngləmə zamanı axıb getməsin;
- 2) mikroorqanizmlər öldürülür və ölmüş mikroblar da dirilərə nisbətən yaxşı rənglənir;
- 3) fiksasiya edildikdən sonra yaxmalar, işləyən şəxs və ətraf mühit üçün təhlükəsiz olur.

Yaxmalar əsasən fiziki və ya termiki üsulla, bəzən kimyəvi və qarışıq üsulla da fiksasiya edilir. Yaxmaların termiki fiksasiyasında əşya şüşəsi (yaxmalı səth üstə olmaqla) 3 dəfə alovdan keçirilir. Bu üsulla fiksasiya etdikdə bakteriyaların forması, spora, volyutin dənəcikləri yaxşı qalır. Lakin qan yaxmalarını, orqanlardan hazırlanan basma yaxmaları hazırladıqda bu üsuldən istifadə etmək olmaz, çünki formalı elementlər deformasiyaya uğrayar, zülali maddələr pıxtalaşar. Bunun üçün kimyəvi fiksasiyalardan istifadə edilir. Belə ki, metil spirtində 5 dəq, etil spirtində 10 dəq, osmium turşusunun buxarında 2-3 dəq, formalin buxarında bir neçə saniyə, asetonda 5 dəq, Nikiforov qarışığında (etil spirtilə bərabər həcmdə efirin qarışığından ibarətdir) 10 dəq saxlayaraq fiksasiya edirlər. Kimyəvi üsulla fiksasiya zamanı formalı elementlərin deformasiyasının qarşısı alınır.

Rəng məhlulları və onların hazırlanması. Mikroskopik müayinə üçün hazırlanmış preparat qurudulub fiksasiya edildikdən sonra rənglənməlidir.

Bakterioloji laboratoriyalarda tətbiq edilən kimyəvi rənglər daş kömürdən alınır və anilin boyaları adlanır. Bu rənglər reaksiyasına görə üç cürdür: qələvi, turş və neytral. Qələvi rənglər seçici xassəyə malik olub, ancaq hüceyrənin nüvəsini, turş rənglər isə protoplazmanı rəngləyir. Təcrübədə ən çox qələvi rənglər işlənir, çünki mikrob hüceyrəsi tərkibcə nüvə maddələrinə daha yaxındır, ona görə də qələvi rəngləri yaxşı qəbul edir.

Qələvi rənglərə metilen abısı, qələvi fuksin, safranin, neytralpot (qırmızı), gentsian-violet (bənövşəyi), metil-violet, kristal-violet, vezuvin, xrizoidin (qəhvəyi) və s. aiddir. Turş rənglərə isə turş fuksin, eozin (qırmızı) aiddir. Göstərilən rənglər ya toz, ya da kristal halında olur. Bunlardan rəng məhlulları üç növ hazırlanır:

- 1) rəngin doymuş spirtli məhlulu;
- 2) rəngin doymuş sulu məhlulu;
- 3) rəngin doymuş spirtli –sulu məhlulu.

Doymuş spirtli məhlulları hazırlamaq üçün 100 ml 96%-li spirtə 7 q metilen abısı və ya 4,8 q gentsian-violet, ya da 8q qələvi fuksin əlavə edərək həll edilir. Tam doymuş məhlul hazırlamaq üçün onu möhkəm çalxalayıb saxlamaq lazımdır.

Rəngin doymuş sulu məhlullarını da bu qayda üzrə hazırlayırlar, ancaq burada 100ml distillə olunmuş suya 1-2 q rəng tökülür.

Rənglərin spirtli-sulu məhlullarını hazırlamaq üçün 1 hissə doymuş spirtli məhlul üzərinə 4, yaxud 9 hissə distillə olunmuş su əlavə edilir. Bəzən rəngin rəngləyici qabiliyyətini artırmaq üçün ona bir sıra kimyəvi maddələr – rəngablar əlavə olunur: karbol turşusu, KOH, ammoniyak, sirkə turşusu, tannin, yod, süleymani məhlulu və s. Bu maddələrin təsirindən preparat asan və yaxşı rənglənir.

Mikrobların rənglənməsi mürəkkəb fiziki-kimyəvi prosesdir. Rəng məhlulu ilə mikrob hüceyrəsinin qarşılıqlı təsiri nəticəsində duzlar əmələ gəlir ki, bu da rəngləmənin davamlı olmasını təmin edir.

Mikrobların rəng məhlullarına münasibəti tinktorial xüsusiyyət adlanır.

Bakteriyaların morfologiyası. Ali orqanizmlərdən fərqli olaraq, bakteriyaların morfoloji formaları çoxsaylı deyildir. Bakteriyalar birhüceyrəli mikroorqanizmlərdir.

Bakteriya hüceyrələri formalarına görə kürəşəkilli, çöpşəkilli və qıvrım formalara bölünürlər. Lakin miselişəkilli, sapşəkilli bakteriyalar da mövcuddur. Hüceyrələrin diametri, bir qayda olaraq 1mkm-dən 2mkm-ə qədər olur. Çöpşəkilli bakteriyalar daha böyük qruplar təşkil edirlər. Bu qruplara daxil olan bakteriyalar silindrik quruluşa malikdirlər. Belə hüceyrələrin uzunluğu mkm-in yüzdə bir hissəsindən 5-10mkm-ə qədər dəyişə bilər. Belə bakteriyalar çox vaxt cüt-cüt yaxud zəncirşəkilli (məsələn qarayara çöpləri) yığımlar əmələ gətirirlər. Çöpşəkilli bakteriyalar tək-tək də yerləşə bilərlər (məsələn enterobakteriyalar). Vergül şəklində əyilmiş bakteriyalar (vəba vibriyonu, kampilobakterlər, helikobakterlər) vibriyon adlanırlar.

Miseli əmələ gətirən bakteriyalara həqiqi aktinomisetlər aiddirlər. Onlar güclü şaxələnmiş miselilərə malikdirlər. Miseli nokardiyalarda və mikobakteriyalarda müvəqqəti xarakter daşıyır və inkişafın müəyyən fazalarında əmələ gəlir. Korinebakteriyalarda da şaxələnmə meylili olur, lakin kulturanın inkişafı zamanı hüceyrələrdə pleomorfizm müşahidə olunur.

Yuxarıda qeyd olunan bakteriya növlərindən başqa hüceyrə divarı olmayan bakteriyalar-mikoplazmalar da məlumdur.

Qeyd edildiyi kimi, formalarına görə bakteriya hüceyrələri kürəşəkilli, çöpşəkilli və yayşəkilli formalara bölünürlər. Kürəşəkilli bakteriyalar (kokklar, kokk-giləmeyvə dem.) girdə formada olub aşağıdakı qruplara bölünürlər:

- nizamsız (səpələnmiş) yerləşən kokklar – mikrokokklar, bunlar yaxmada tək-tək görünürlər.
- cüt-cüt yerləşən kokklar (diplokokklar), bunlara pnevmokokklar, qonokokklar, meningokokklar aiddir.
- zəncir şəklində yerləşən kokklar - streptokokklar;
- dördü bir yerdə yerləşən kokklar (tetrakokklar), yaxud səkkizi bir-birinə sıxılmış (taya formasında) yerləşən kokklar- sarsinlər (bunlar insanlarda xəstəlik törətmirlər);
- üzüm salxımını xatırladan formada bir yerə toplaşmış kokklar - stafilokokklar adlanırlar.

İki üçbucaqlını xatırladan və küt tərəfləri qarşı-qarşıya yerləşən kokklar pnevmokokklar adlanırlar. Əgər kokk, cüt-cüt yerləşən və formalarına görə paxlamı və ya kofe dənəsini xatırladırlarsa, onlar ya meningokokklar ya da qonokokklar adlanırlar.

Yayşəkilli bakteriyalar bir və ya bir neçə dəfə burulmuş yay şəkilli çöplərdirlər. Borreliyalər çox vaxt cinsi orqanlarda bitmiş tükələri xatırladırlar, leptospirlərin bir qayda olaraq uclarında qarmaqlar yerləşir və latın hərfi “S” –i xatırladır. Treponemlər üçün burulmuş kəndirə bənzər forma xarakterikdir.

Bir növdən ibarət bakteriya kulturasında, eyni zamanda kürəşəkilli, ovalşəkilli, armudşəkilli, diskşəkilli və hətta şaxələnmiş və şaxələnməmiş çöpşəkilli formalar görünə bilər.

Rəngləmə üsulları. Sadə üsul. Rəngləmə üsulları sadə və mürəkkəb olur. Sadə rəngləmə üsulunda bir rəng-sulu fuksin (1-2 dəq), metilen abısı (3-5 dəq) və s. istifadə edilir. Göstərilən müddət keçdikdən sonra preparat su şırnağı ilə yuyulur, havada, otaq temperaturunda, yaxud filtr kağızı ilə qurudurlar. Bu üsulla yalnız mikrobun ümumi quruluşu (morfologiyası) öyrənilir.

Beləliklə, müxtəlif patoloji materiallardan, eləcə də mikrob kulturasından hazırlanmış yaxma qurudulur, fiksasiya olunur və körpü üzərinə qoyularaq pipetka ilə o qədər rəng məhlulu əlavə edilir ki, yaxmalı səth örtülsün. Deyilən vaxt keçdikdən sonra preparat yuyulur, qurudulur, üzərinə 1 damla immersion yağ əlavə edilib, mikroskopun 90Nə-li obyektivlə tədqiq olunur.

Pleyffer fuksini hər cür mikrob növünü eyni rəngdə rəngləyir. Metilen abısı ilə preparat daha aydın rəngləyir. Lakin bütün elementlər eyni cür rənglənmir. Məsələn, irindən hazırlanmış preparatda leykositlərin nüvələri protoplazmalarına nisbətən tünd rəngləyir. Faqositoza uğramış mikroblar isə, xüsusən qonokokklar və meningokokklar olduqca tünd rəngdə rəngləndiyindən asanlıqla fərqlənir.

Sadə üsulla rənglənmə müayinə olunan materialda mikrobun olub-olmamasını, miqdarını, forma və yerləşməsinə öyrənmək üçün istifadə edilir. Bu zaman metilen abısı işlənilsə preparatda fon mikrob hüceyrəsinə nisbətən çox zəif rəngləyir.

