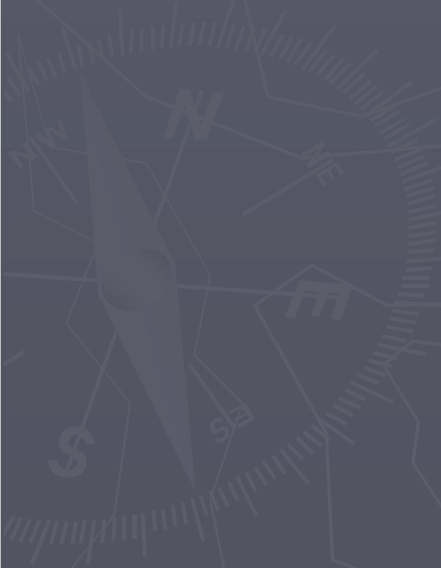


Mikroorganizmaların Üreme Özellikleri ve Boyalar



Bakterilerin çoğalması

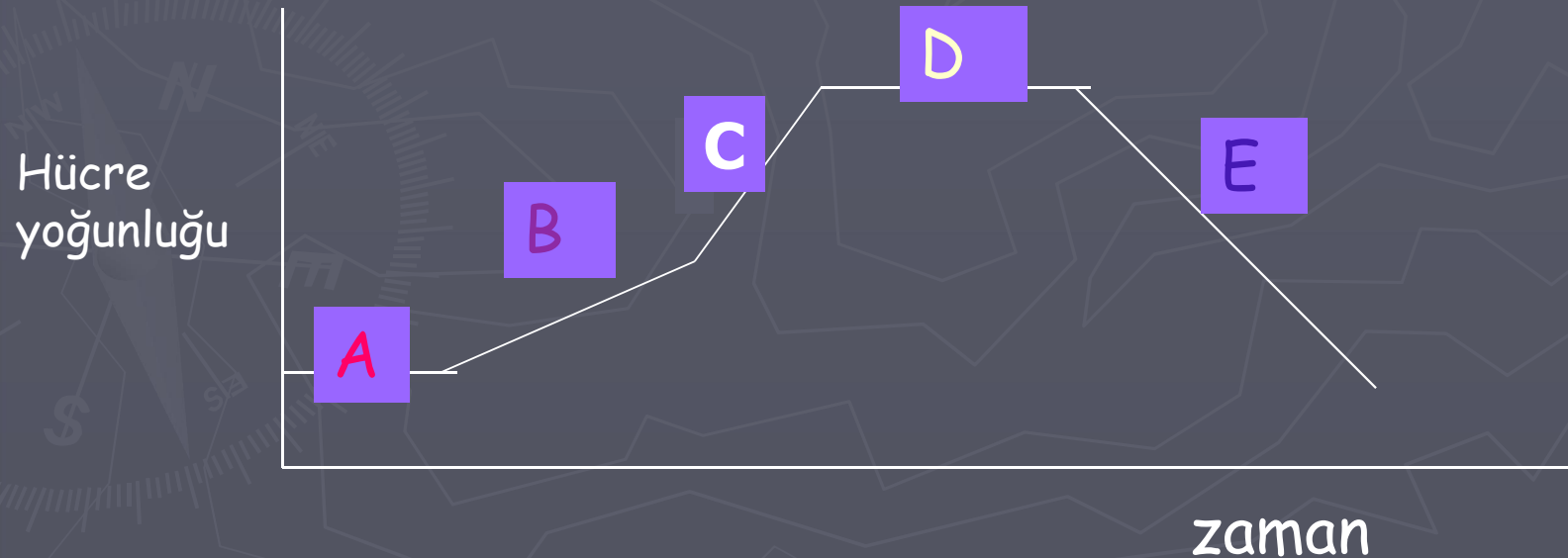
- ▶ Uygun koşullarda ikiye bölünerek çoğalma
- ▶ Aynı genotip ve fenotipte iki yavru hücre
- ▶ İki kopya DNA
- ▶ Birey sayısında artış: **Üreme**

- ▶ Bölünme başında bakteri hücresinin hacmi artar
- ▶ Hücre ve sitoplazma membranında içeri doğru çıkıntı oluşur
- ▶ İkiye bölünme

Bakterilerin üreme dönemleri

- ▶ Sıvı besiyerinde daha iyi izlenir (yer değişimi mümkün)
- ▶ Ekimden sonra düzenli zaman diliminde örnek alınıp 1 mm^3 deki bakteri sayısı izlenirse

Dönem	Üreme hızı
▶ A-Gizli (latent)	Sıfır
▶ B-Hızlanma	Artar
▶ C-Logaritmik artış	Sabit
▶ D-Duraklama	Bakteri ölümü ile dengeli
▶ E-Azalma ve ölüm	Sıfır



Gizli (latent) dönem: Yeni ortama uyum

- ▶ Çoğalma yok
- ▶ Hacim büyür, enzim ve ara maddeler sentezlenir
- ▶ Dönemin süresi mikroorganizmaya bağlı

Üremenin hızlandığı dönem:

- ▶ Uygun koşullar
- ▶ Dönem sonunda rejenerasyon zamanı minimuma ulaşır

Logaritmik üreme dönemi:

- ▶ Bakteri sayısı maksimuma ulaşır
- ▶ Üreme hızı sabit
- ▶ Hücreler küçük
- ▶ Fiziksel ve kimyasal etkilere duyarlılar
(biyoaktiviteleri yüksek)

Besiyerinde oksijen ve besinlerin azalması, toksik metabolitlerin birikimi ile dönem biter

Üremenin durma dönemi

- ▶ Besin azlığı ve metabolitlerin birikimi ile bakteri çoğalması-ölümü dengede

Azalma ve ölüm dönemi:

- ▶ Canlı bakteri sayısı azalır
- ▶ Tüm bakteriler ölebilir
- ▶ Canlı kalanlar ay/yıllarca yaşayabilir

Besin kaynakları

- ▶ Mikroorganizmaların kuru ağırlıklarınının %95'inden fazlasını karbon, azot, sülfür, fosfor, oksijen, hidrojen, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve demir oluşturur (temel elementler)
- ▶ Manganez, kobalt, çinko, nikel, bakır (eser elementler)

► Karbon kaynakları

- C, tüm fonksiyonlarda gerekli
- En önemlisi karbonhidratlar

► Azot kaynakları

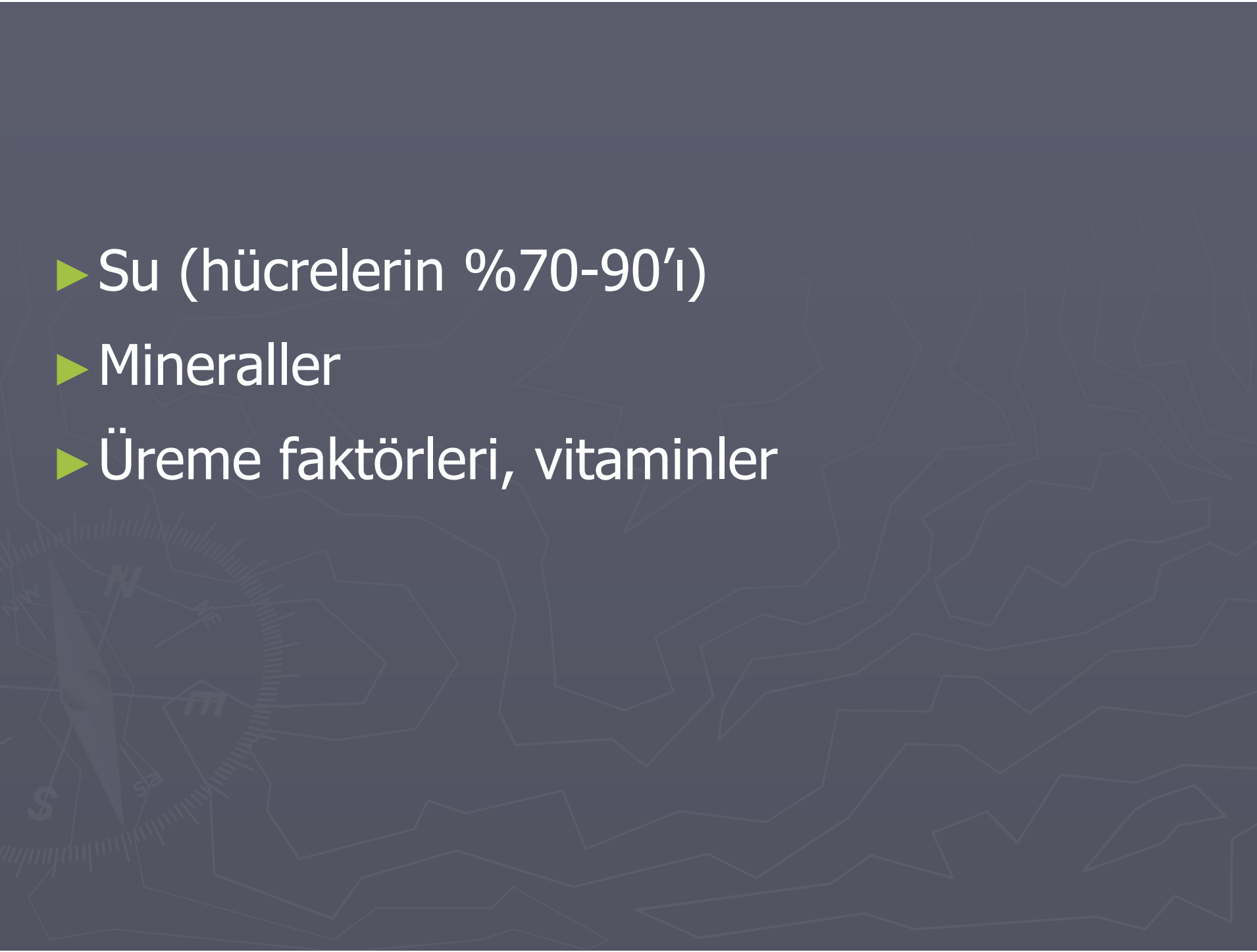
- Enzimler, proteinler, pürin ve pirimidinlerin yapısı
- Amonyum tuzları, organik asitler, aminoasitler

► Sülfür kaynakları

- Sülfat

► Fosfor kaynakları

- Fosfat tuzları

- 
- ▶ Su (hücrelerin %70-90'ı)
 - ▶ Mineraller
 - ▶ Üreme faktörleri, vitaminler

Bakterilerin çoğalması için gerekli faktörler

- ▶ oksijen (ya da yokluğu)
- ▶ enerji
- ▶ besin maddeleri
- ▶ optimal ısı
- ▶ optimal pH

Optimal üreme ısısı

- ▶ **Mezofil bakteriler**
- ▶ (10-45°C'de-en uygun 35-42°C)
 - İnsan vücut ısısı
 - ▶ Patojenler
 - ▶ Fırsatçılar
- ▶ **Psikrofil bakteriler** Soğuğa dayanıklı
- ▶ (-10-20°C'de-en uygun 15-20°C)
- ▶ **Termofil bakteriler** Sıcağa dayanıklı
- ▶ (50-70°C'de)

Besiyerleri

- ▶ Mikroorganizmaların uygun çevre koşulları sağlanarak in vivo veya in vitro ortamlarda üretilmeleri işlemine kültür yapmak, besleyici ortamda üretilmiş olan mikroorganizmaların tümüne kültür adı verilir.
- ▶ Bakteri ve mantarların çoğu in vitro olarak besiyeri adı verilen cansız ortamlarda üretilirler.

- ▶ Mikroorganizmaları ilk olarak besiyerinde üretebilen bilim adamı Robert Koch'tur.
- ▶ Koch 1876 yılında *Bacillus anthracis*'i besiyerinde üretmiştir.

Agar

- ▶ Agar, agarophytes olarak tanımlanan Gellidium, Gracilaria, Pterocladia vb deniz yosunlarından elde edilen bir galaktoz polimeridir.
- ▶ Katılaştırma özelliğini içinde bulunan D-galakton sağlar.
- ▶ Normal inkübasyon ısı derecesinde erimemesi ve uzun dallanmış zincir yapısından dolayı mikroorganizmalar tarafından besin maddesi olarak kullanılmaması jelatine olan üstünlükleridir.

Fiziksel Özelliklerine Göre Besiyerleri

- ▶ Sıvı besiyerleri
- ▶ Yarı-katı besiyerleri
 - %0,05-0,5 agar
- ▶ Katı besiyerleri
 - %0,5-3 agar

Kimyasal Özelliklerine Göre Besiyerleri

- ▶ Sentetik veya kimyasal yapıları tam olarak bilinen besiyerleri
- ▶ Sentetik olmayan veya kompleks besiyerleri

Kullanım Amaçlarına Göre Besiyerleri

- ▶ Temel besiyerleri
- ▶ Seçici besiyerleri
- ▶ Zenginleştirici besiyerleri
- ▶ Ayırt edici (identifikasyon) besiyerleri
- ▶ Taşıma besiyerleri
- ▶ Saklama besiyerleri

Temel Besiyerleri

► **Buyyon:**

- Pepton (%1)
- Et özütü (%1)
- NaCl (%0,5)
- Distile su

► **Adi agar (Jeloz):**

- Buyyon+%2-3 agar

Zenginleştirilmiş besiyerleri

- ▶ Temel besiyerlerine kan, serum, glukoz, yumurta vb eklenerek elde edilir
- ▶ **Kanlı agar:** Mikrobiyolojide en sık kullanılan besiyerlerindedir.
- ▶ **Çikolatamsı agar:** Besiyeri 75-80°C de iken %5 oranında kan eklenir. Eritrositlerin hemolizi sonucu hemoglobin açığa çıkar

► **Lowenstein-Jensen besiyeri:**

M.tuberculosis üretiminde kullanılan yumurta içeren besiyerisidir

► **Mueller Hinton besiyeri:** Nişasta içerir

- Antibiyotik duyarlılık testlerinin yapıldığı besiyeridir

Seçici Besiyeri

- ▶ Birden fazla mikroorganizma içeren örneklerde üremesi istenmeyenlerin çoğalmasını baskılayıcı özellik taşır
- ▶ **Eozin Metilen Blue (EMB) agar:** İçeriğinde bulunan eozin ve metilen mavisi Gram pozitif bakterilerin üremesini baskılar. Bakterinin laktoza etkisi araştırılır

Seçici Besiyeri

▶ EMB

▶ MacConkey

- Gram pozitiflerin üremesi kristal viyole ve safra tuzları tarafından baskılanır.

Zenginleştirici Besiyeri

► Selenit F

- Dışkı rneklerinde Salmonella ve Shigella'nın üremesini arttırırken E.coli'nin üremesini baskılar

Ayırt edici besiyerleri (İdentifikasyon)

- ▶ Mikroorganizmaların belirli bir besin maddesini kullanıp kullanmaması, metabolizması sonucu ortaya çıkan ürünlerin gösterilmesi ile tanımlanmasına olanak sağlar
- ▶ **Kligler iron agar:** Mikroorganizmaların glikoz ve laktoza etkileri, Hidrojen sülfür oluşumunu araştırmada kullanılır

- ▶ **Sitrat besiyeri:** Sitratı kullanan bakteriler besiyerinin rengini maviye dönüştürür (İçinde bromtimol mavisini var)
- ▶ **Üre agar:** Üreyi parçalayan mikroorganizmalar besiyerinde alkali pH oluştururlar. Fenol kırmızısı ayırıcının rengi pembeye döner
- ▶ **Hareket besiyeri:** Yarı katı besiyeridir

- ▶ **Mannitollü tuzlu jeloz (MSA):** S.aureus ürettiğinde mannitolü fermente ederek fenol kırmızısının rengini sarıya çevirir (asit)
- ▶ **Safıralı eskulinli agar:** D grubu streptokoklar ürettiğinde eskulini parçalayarak siyah renk oluşturur

Taşıma Besiyeri

- ▶ Amies
 - ▶ Stuard
 - ▶ Cary-blair
- Amies besiyeri oksijeni absorbe eder. Bu nedenle anaerop örneklerin taşınması için uygundur.

Saklama Besiyeri

► Gliserinli Triptik soy broth

- İzole edilen kökenlerim -20 veya -70°C 'de saklanmasında kullanılır.

Besiyerlerinde kalite kontrolü

- ▶ Sterilliđi denetleme
- ▶ Mikroorganizmaları üretebilme, seçicilik, zenginleştirme ve biyokimyasal özelliklerini saptayabilme açısından uygunluğunu denetleme.

- ▶ Bordet-Gengou
- ▶ Breain-Heart infusion besiyeri
- ▶ Mannitol tuz besiyeri
- ▶ Çukulata agar
- ▶ Endo ve EMB besiyeri
- ▶ Kanlı agar
- ▶ Lysine Iron agar (bromkrezol purple)
- ▶ Lowenstein-Jensen besiyeri
- ▶ MacConkey besiyeri
- ▶ Middlebrook besiyeri
- ▶ Mueller Hinton besiyeri
- ▶ PPLO besiyeri
- ▶ SS besiyeri
- ▶ TCBS besiyeri
- ▶ Thayer-Martin besiyeri
- ▶ Tiyoglikolat besiyeri
- ▶ TSI besiyeri
- ▶ Üre Besiyeri

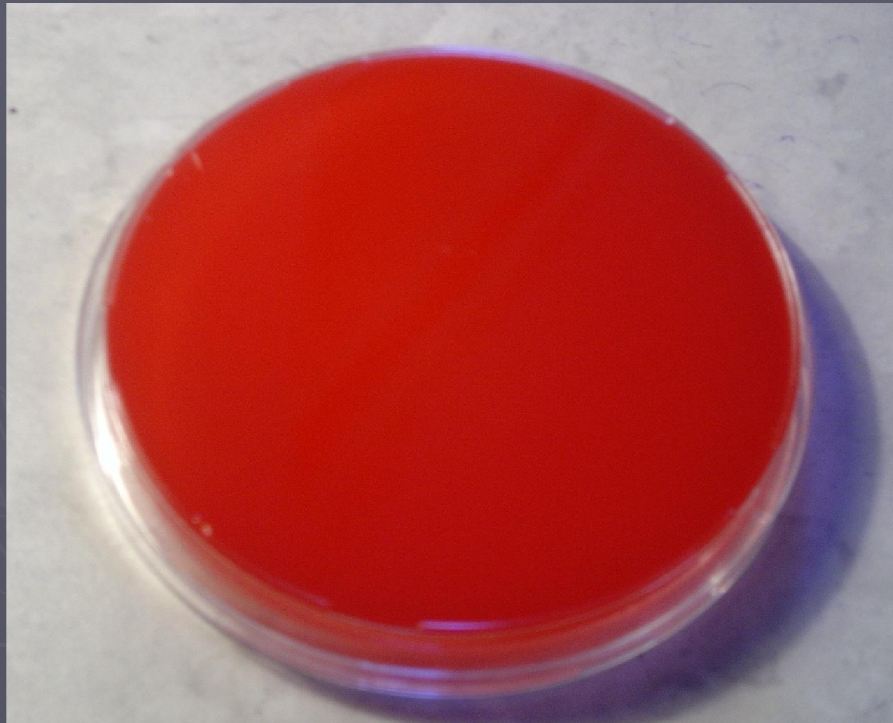
Bakteri kültürleri için besiyerleri

Besiyeri	Ana bileşikler	Kullanım yeri
Kanlı agar	Nutrient agar + % 5 at veya koyun kanı	Birçok Gram pozitif ve Gram negatif bakteri için seçtirici olmayan
Buffered charcoal yeast extract (BCYE) agar	Maya özeti, kömür, L-cystein HCl, α -ketoglutarate	<i>Legionella</i> türleri için seçtirici
Campylobacter besiyeri	Vankomisin, trimetoprim, amfoterisinli nutrient agar baz	<i>Campylobacter</i> türleri için seçtirici
Cefsoludin-irgason- novobiocin (CIN) agar	Antibiyotik eklenmiş pepton baz	<i>Yersinia</i> türleri için seçtirici
Charcoal cephalixin kanlı (CCBA) agar	Charcoal agar, koyun kanı, sefaleksin	<i>Bordetella</i> türleri için seçtirici
Çukolatamsı (ısıtılmış kanlı) agar	Isıtılmış kanlı agar. Hücreler parçalanır ve özgül üreme faktörleri salınır.	<i>Haemophilus</i> ve <i>Neisseria</i> türlerinin kültürleri
Cycloserine-cefoxitin- fructose agar (CCFA)	Fruktoz ve antibiyotikli yumurta sarısı baz	<i>Clostridium difficile</i> için seçtirici
Cystine-lactose-electrolyte deficient (CLED) agar	Laktoz ve L-sistinli pepton baz. Bromtimol mavisi indikatörü Proteus türlerinin yayılımını inhibe eder	İdrardaki bakterilerin izolasyonu
Deoxycholate-citrate agar (DCA)	Laktoz, deoksikolat ve nötral kırmızısı indikatörlü pepton agar baz	<i>Salmonella</i> ve <i>Shigella</i> için seçtirici
Kanamisin kanlı agar	Kanamisinli kanlı agar baz	<i>Bacteroides</i> türleri için seçtirici
Kligler iron agar (KIA)	Laktoz, glükoz, fenol kırmızısı ve ferrik sitratlı pepton agar baz	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> ve öteki <i>Enterobacteriaceae</i> 'leri ayırt edici eğik besiyeri

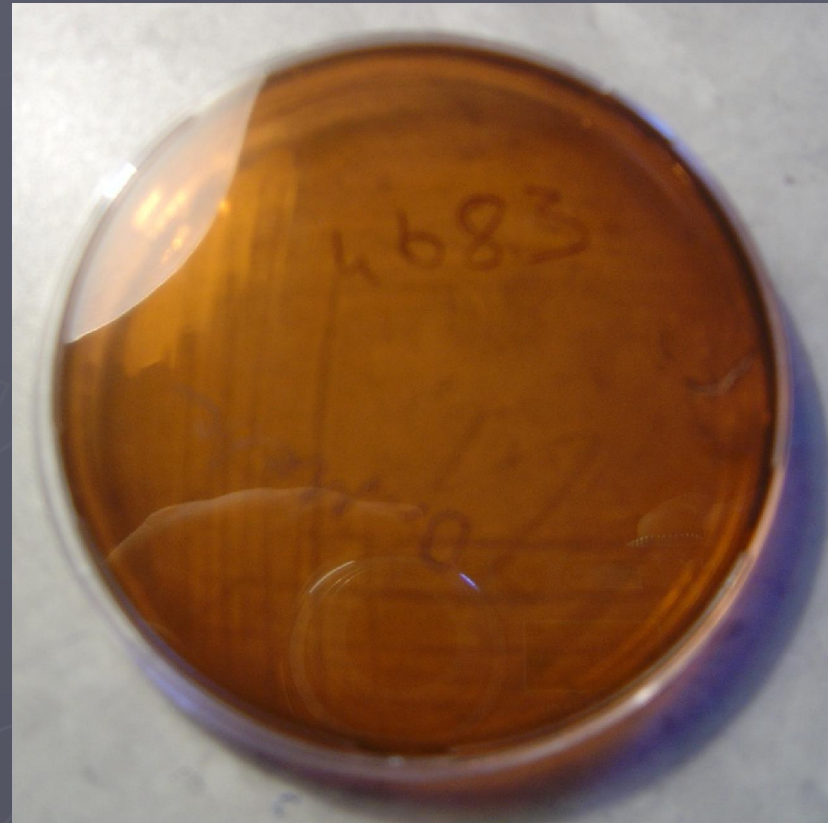
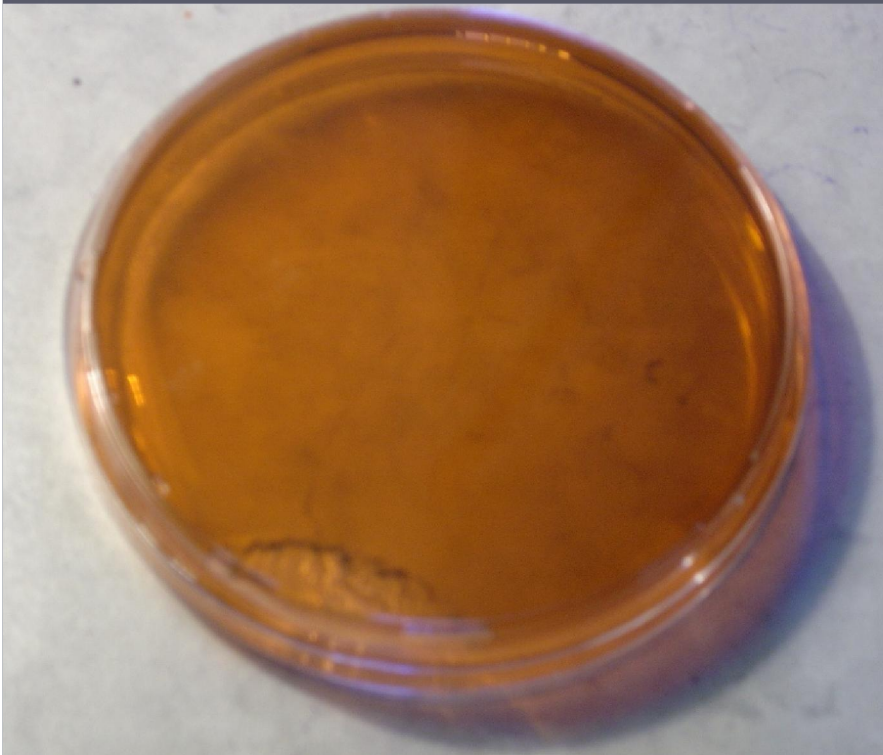
Bakteri kültürleri için besiyerleri (devam)

Besiyeri	Ana bileşimler	Kullanım yeri
Löwenstein - Jensen (LJ) besiyeri	Malaşit yeşilli yumurta bazlı besiyeri	Mikobakteriler için seçtirici
MacConkey agar	Safra tuzları, laktoz ve nötral kırmızısı içeren pepton baz. Laktozu fermente edenler asit üretir ve böylelikle pembe koloniler oluştururlar	Laktozu fermente edenleri fermente etmeyenlerden ayıran düşük düzeyde seçtirici
Mannitol tuzlu agar	Mannitol, sodyum klorid ve fenol kırmızısı içeren pepton baz	<i>Staphylococcus aureus</i> izolasyonu için seçtirici ve ayırt edici
Modifiye New York City (MNYC) besiyeri	Maya, hemoglobin ve vankomisin ile kolistinli pepton baz	Urogenital örneklerden <i>N.gonorrhoeae</i> izolasyonu için seçtirici
Salmonella-Shigella agar	Safra tuzları, laktoz, nötral kırmızısı ve ferrik sitrat içeren pepton bazlı besiyeri	<i>Salmonella</i> ve <i>Shigella</i> türleri için seçtirici
Sorbitol-MacConkey agar	Safra tuzları, sorbitol ve nötral kırmızısı içeren pepton baz	Sorbitolü fermente etmeyen <i>E.coli</i> (<i>E.coli</i> 0157)'nin ayırt edilmesi
Tellurit kanlı agar	Potasyum telluritli kanlı agar	Siyah koloniler oluşturacak şekilde tellurite indirgeyen <i>Corynebacterium diphtheriae</i> için seçtirici
Thayer-Martin Agar	Kolistin ve vankomisin ile suplemenlar içeren kanlı agar baz	<i>Neisseria</i> türleri için seçtirici izolasyon
Thiosulphate citrate bile salt (TCBS) agar	Tiyosulfat, sitrat, sükröz ve timol mavisi içeren pepton baz	<i>Vibrio</i> türleri için seçtirici. <i>V.cholerae</i> sukrozu fermente eder ve sarı koloniler oluşur.
Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar	Lizin, ksiloz, laktoz ve ferrik sitratlı maya özeti	<i>Shigella</i> (pembe koloniler) ve <i>Salmonella</i> (pembe/siyah koloniler) için seçtirici ve ayırt edici

KANLI AGAR



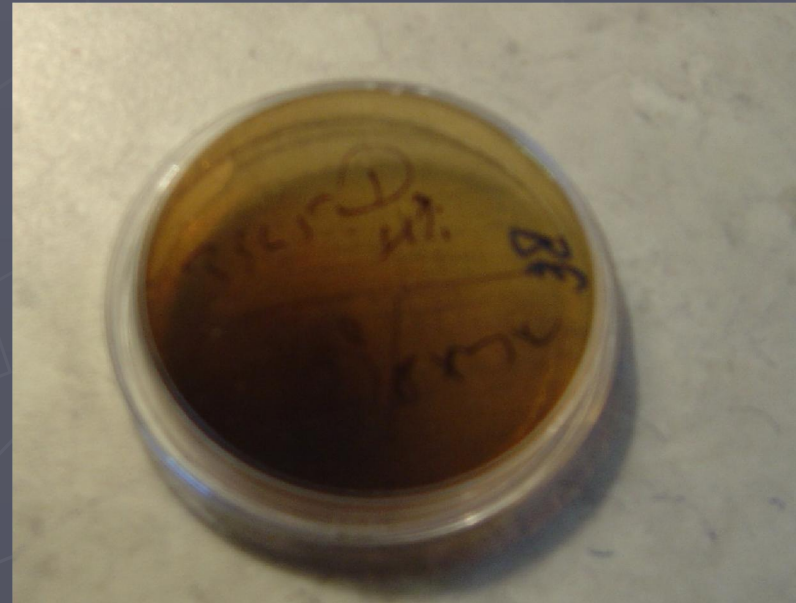
EMB AGAR



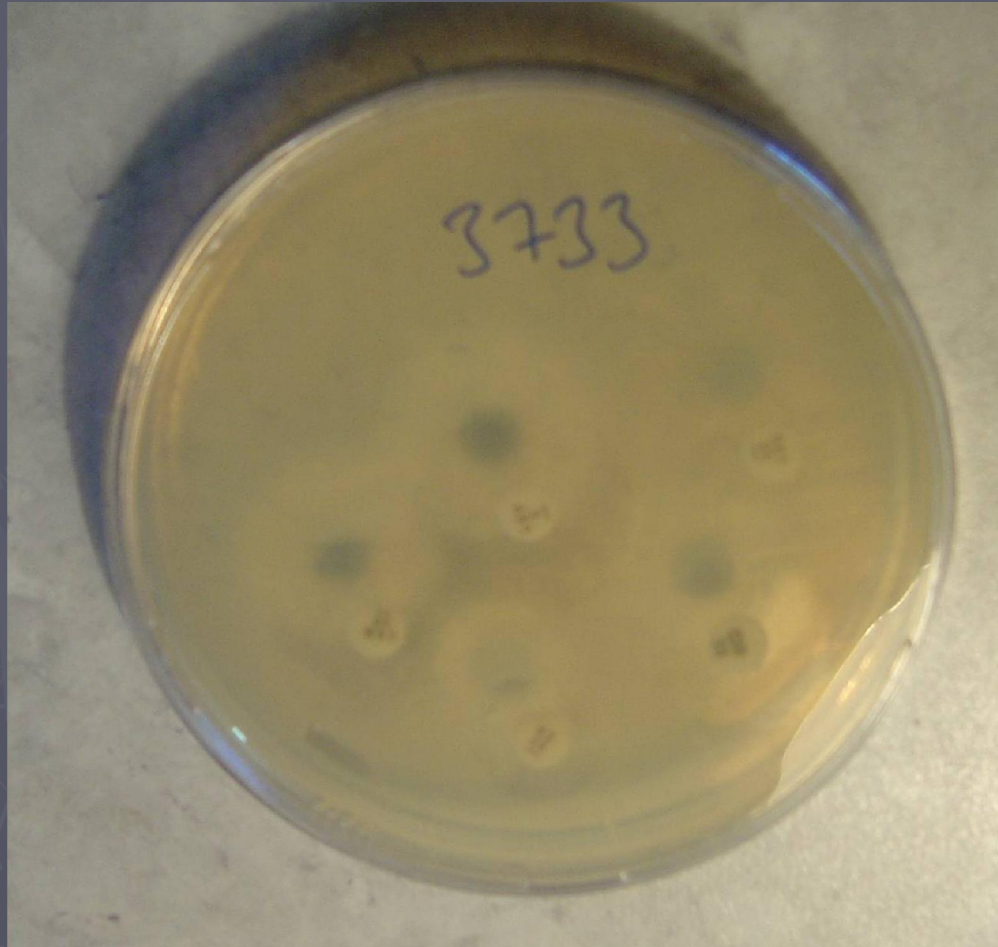


MSA

BİLE ESCULİN AGAR



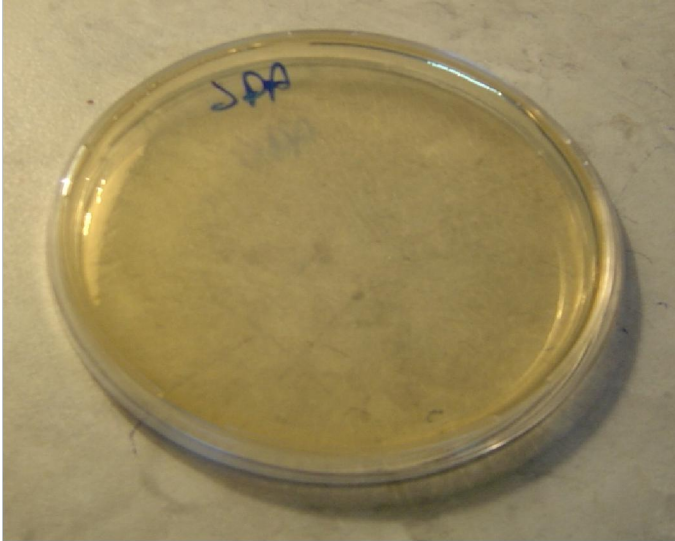
MUELLER HINTON AGAR



KAN KÜLTÜRÜ



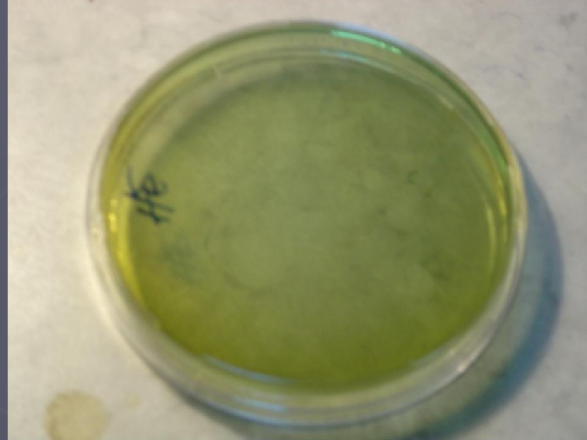
SDA



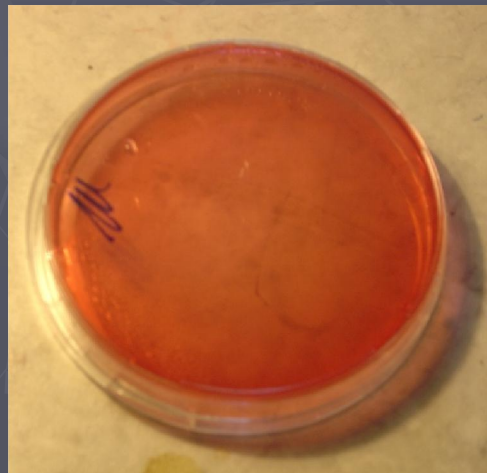
LÖWENSTAIN JENSEN BESİYERİ



HEKTOEN ENTERIC AGAR



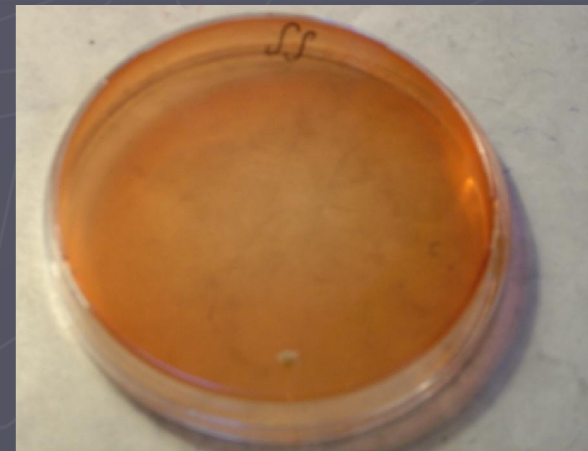
MAC CONKEY AGAR



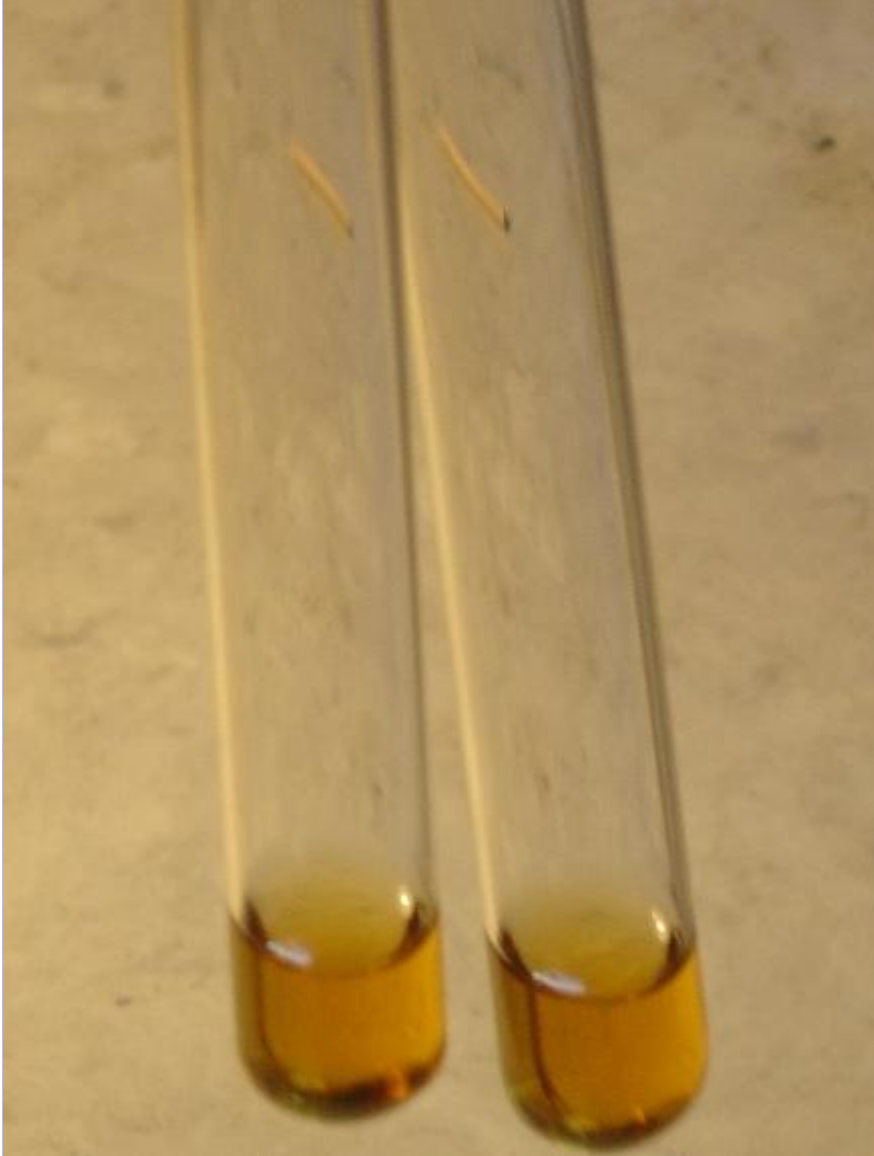
BISMUTH SULPHATE AGAR



SALMONELLA SHIGELLA AGAR

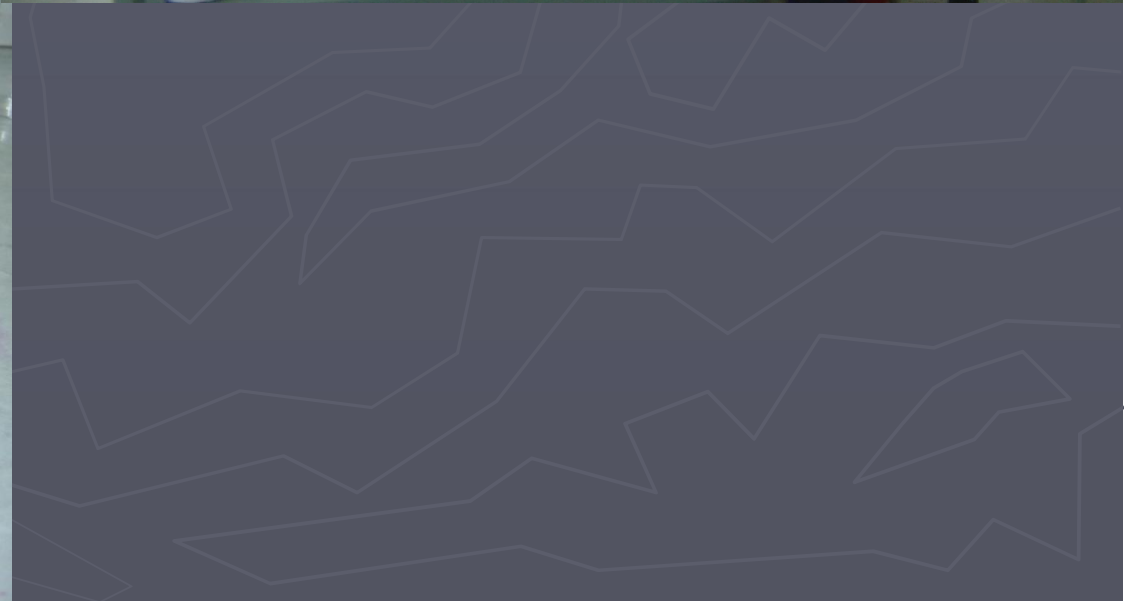


SAKLAMA BESİYERİ



HAREKET BESİYERİ





BESİYERİ DÖKÜMÜ





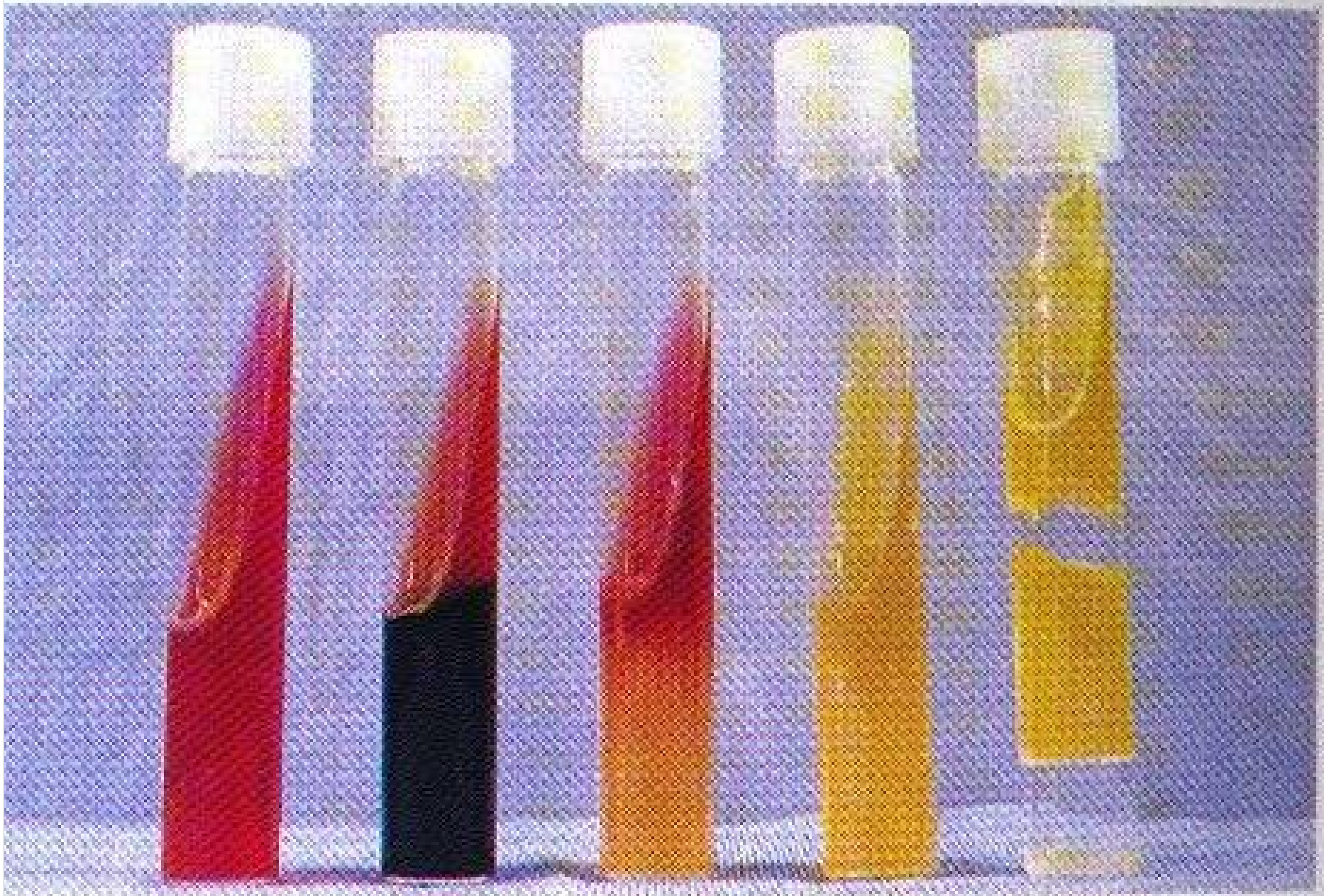
EMB besiyerinde laktoz (-) ve laktoz (+) koloniler



McConkey agarda Klebsiella kolonileri



**Kanlı besiyerinde proteus
kolonileri**



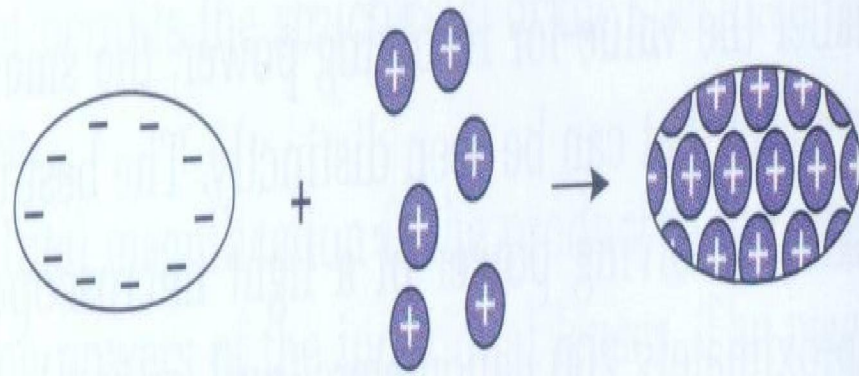


BOYALAR



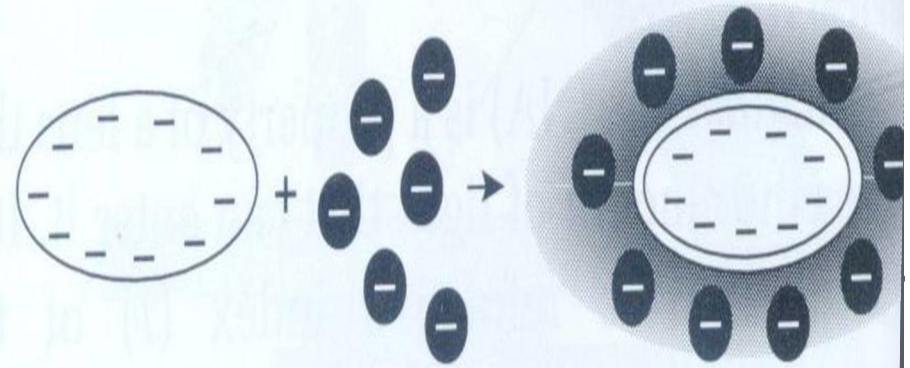
- ▶ Mikroorganizmalardaki biyolojik moleküller görünen ışığı iyi absorbe etmezler. Bu nedenle mikroorganizmaların boyanarak incelenmesi gerekir.
- ▶ Boya molekülleri ışığı farklı şekilde absorbe ederek görünmelerini sağlar.

- ▶ Bakteriler genellikle bazik boyalarla boyanırlar. Zengin nükleik asit içeren bakteri hücre nükleolusu fosfat grupları nedeni ile negatif yük taşımaktadır. Bu nedenle pozitif yüklü bazik boyalarla birleşir.
- ▶ Asit boyalar genellikle zeminde kontrast yaratmak için kullanılır.



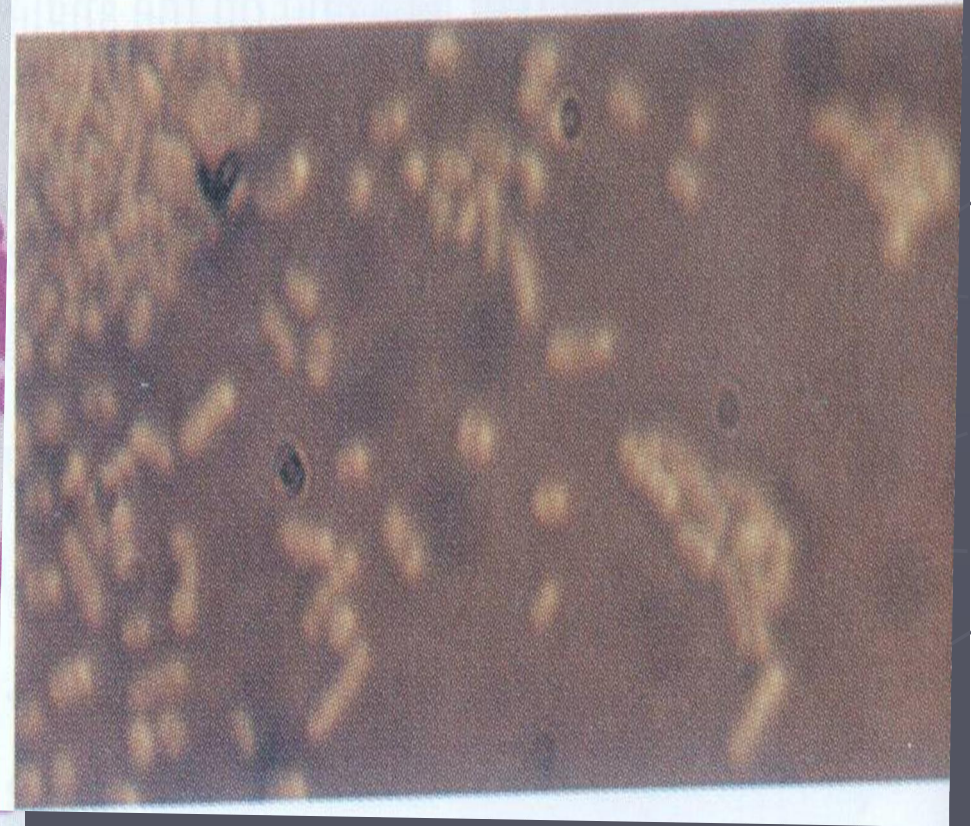
Cell

Chromophores



Cell

Chromophores



Preparatların Hazırlanması

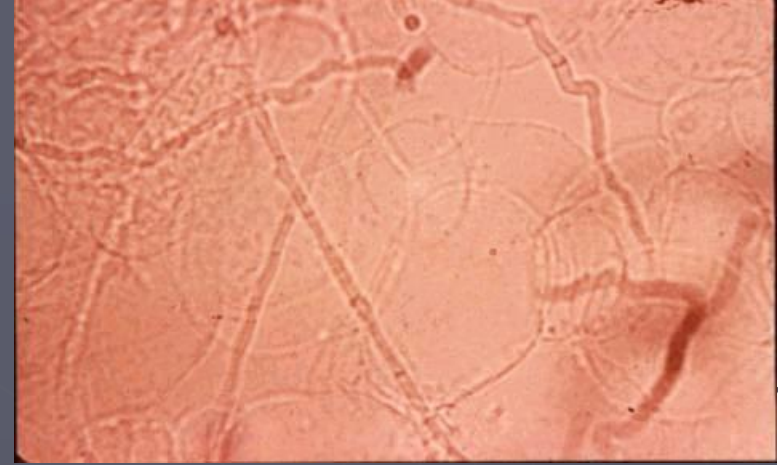
- ▶ Lamlar temiz, yağsız, çiziksiz olmalı
- ▶ % 50 lik etil alkolde tutulup silinebilirler
- ▶ Kullanılan malzeme steril olmalı
- ▶ İşi biten lamlar dezenfekte edilmeli

Boyasız preparatlar

Bakteri hareketlerinin incelenmesi
Karanlık alanda inceleme
Hücrelerin görülmesi
Protozoa ve parazitlerin görülmesi

Lamlar silinerek temizlenir
Preparat hazırlanacak yüzü alevden geçirilir
Doğrudan sıvı madde ya da serum fizyolojikle
sulandırılmış yarı katı materyal ile preparat
hazırlanır.

KOH ve NaOH preparatları



Kıl, deri, tırnak gibi keratinize dokunun mantar infeksiyonlarında mantar aramasında kullanılır

Örnek üzerine bir damla % 15 lik potasyum hidroksit (KOH) eriyiğı damlatılıp lamel kapatılır. X40 büyütmede hifler, sporlar vs mantar elemanları görülür.

Boyalı preparatların incelenmesi

- ▶ Temiz lamlarla uygun koşullarda preparat hazırlanır
- ▶ Havada kurutulur
- ▶ Materyal tespit edilir
 - Havada kurutarak (2-3 hatta 18 saat)
 - Alevde tespit
 - Kimyasal maddelerle tespit (etil alkolle 8-10 dk, metil alkolle 3 dk, aseton ile 5 dk)

Basit boyama yöntemleri

Tek bir boyama eriyiği kullanılır



1. Metilen mavisi ile boyama

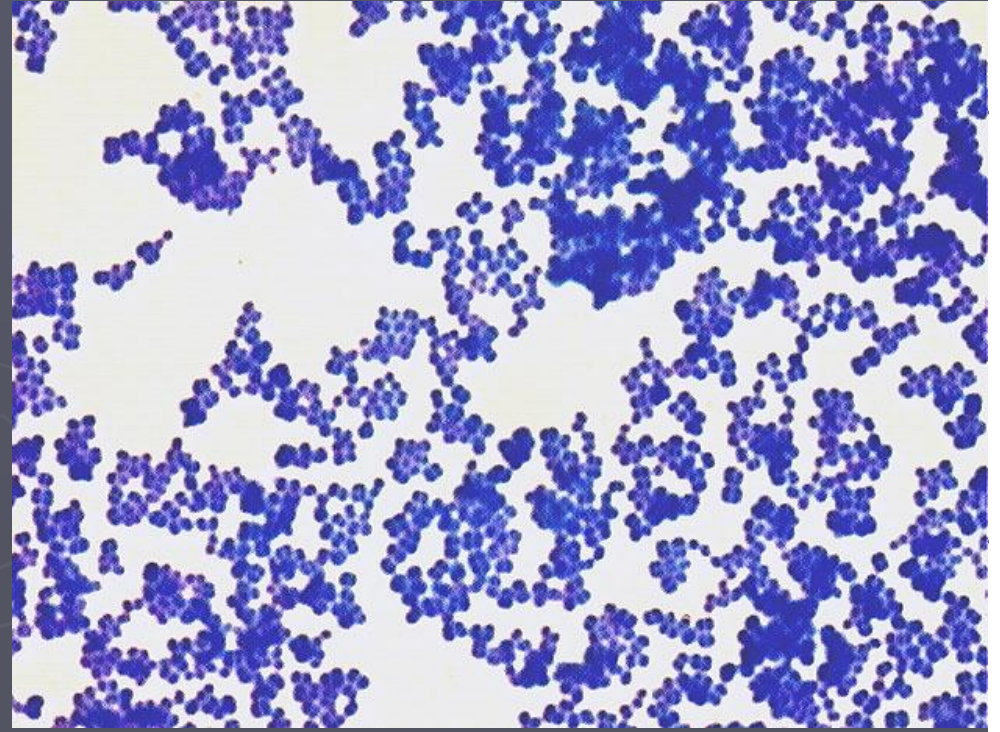
Preparat tespit edilir

Üzerini kaplayacak şekilde boya dökülür

30-60 sn bekletilip su ile yıkanır

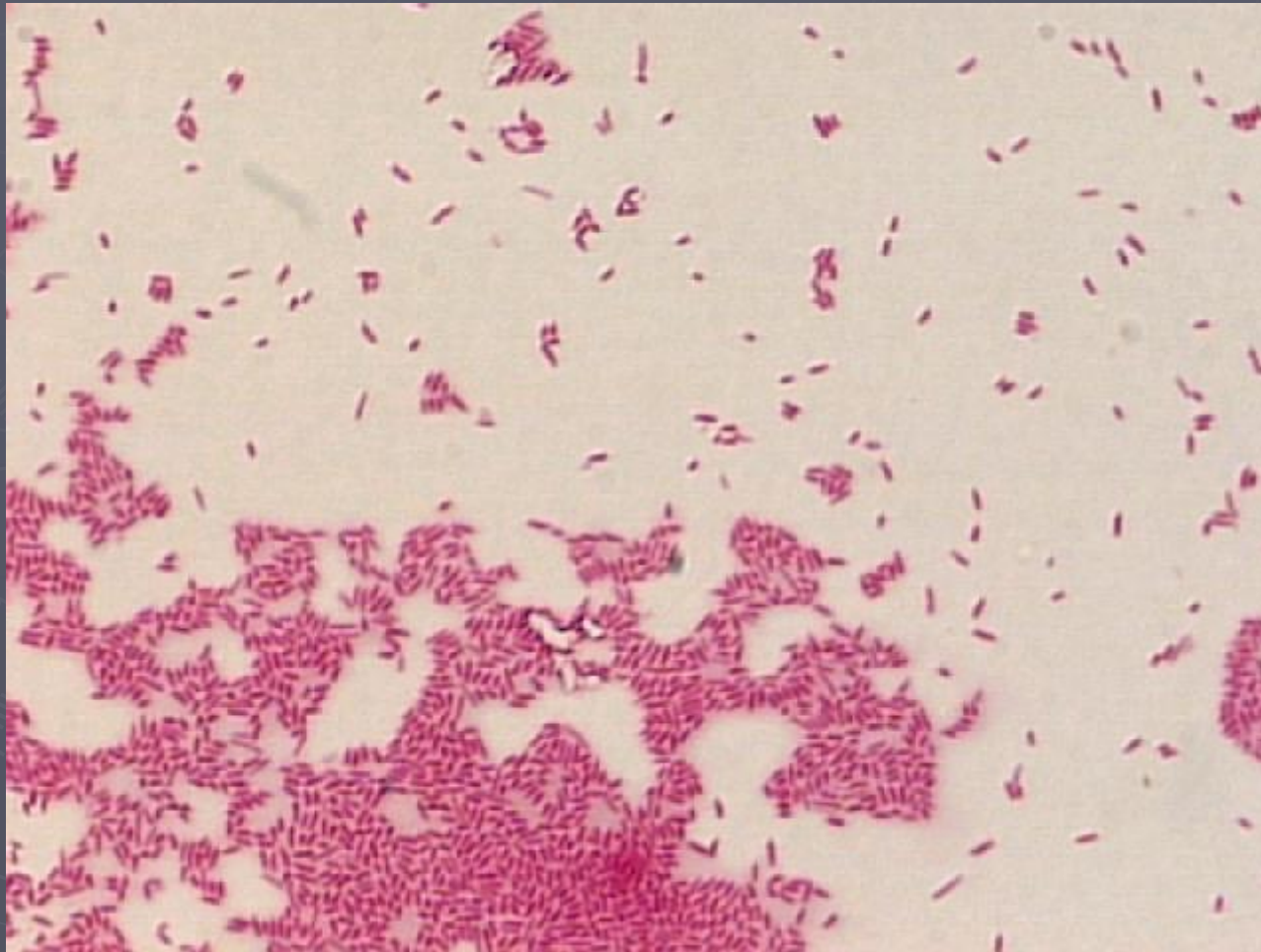
Kurutulur immersiyon objektifi ile incelenir

Preparattakiler maviye boyanır



2.Sulu fuksin ile boyama

Preparat pembe-kırmızı boyanır



Gram boyama

- ▶ **Hans Christian Joachim Gram**
- ▶ **Bakterilerin çoğu Gram olumlu ya da olumsuz boyanır**
- ▶ **Önce jansiyen moru ya da kristal moru ardından da mordan olarak lugol eriyiği uygulanır (tüm bakteriler boyayı alırlar)**
- ▶ **% 96 lık etil alkol ile renksizleştirme işlemi yapılır (Gram olumlular boyayı bırakmaz, olumsuzlar renksizleşir)**
- ▶ **Zıt boya eriyiği ile Gram olumsuzlar boyanarak görünür hale getirilir**
- ▶ **Sulu fuksin kullanılırsa pembe, eozinle kırmızı , safraninle turuncu, parlak yeşili ile yeşil, pikrik asitle sarıya boyanırlar.**

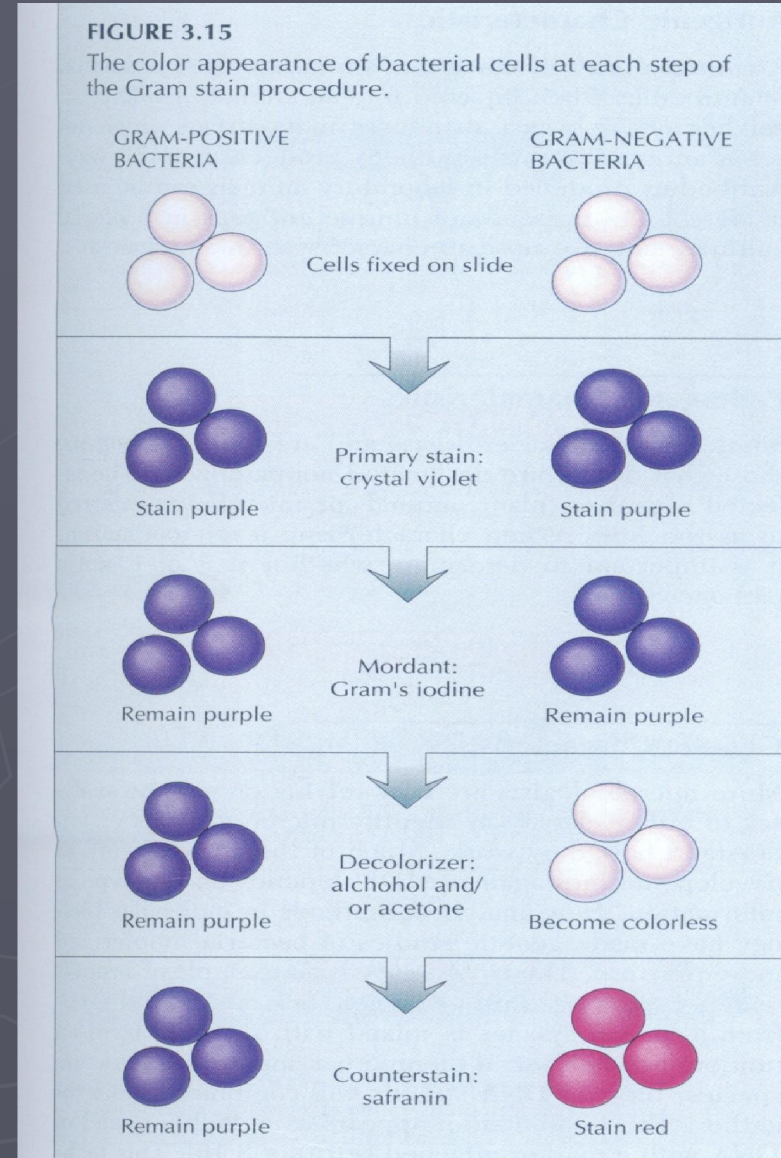
Gram boyama

- ▶ Bazı bakteriler sınırdaki tepkime verebilir
- ▶ Gram olumlu olduđu halde eskiyen kùltùrlerde olumsuz gibi boyanabilir
- ▶ Bazı Gram (+)'ler besiyerinde en az % 5 serum ya da kan bulunmadıkça Gr (-)'leşme eğilimindedirler
- ▶ Ortam pH sınırın asitleşmesi Gram olumsuzlaşmaya eğilimi artırır
- ▶ Kesin karar verilirken boyamanın yenilenmesi ve aynı preparatta kesin Gram (+) ya da (-) olduğu bilinen kontrol bakterilerin boyanması iyi olur

- ▶ **Gram (+) bakterilerdeki peptidoglikan tabaka Gram (-) göre daha kalındır ve hücre çeperinde teikoik asit içerirler.**
- ▶ **Gram (-) lerde ise farklı olarak peptidoglikan tabakanın dışında bir lipopolisakkarit tabaka bulunur**
- ▶ **Kristal viyole ve lugol her iki bakteride hücre çeperini geçerek hücre içine girer, Gram (+) lerde bu maddeler hücre çeperi ile zor ayrılabilen bileşikler oluşturur.**

Gram boyama

- ▶ Tespit edilen preparat üzerine kristal viyole eriyiği dökülüp 1-2 dk beklendikten sonra yıkanır.
- ▶ Lugol eriyiği dökülür, 30-60 sn beklendikten sonra yıkanır.
- ▶ Aseton alkol ile 10-15 saniye renksizleştirilir, preparat yıkanır
- ▶ Sulu fuksinle 30 sn boyanır, kurutulduktan sonra immersiyon objektifi ile incelenir
- ▶ Gram olumlu bakteriler mor, Gram olumsuzlar pembe-kırmızı renkte görülür



Gram boyamada diğer zıt boya eriyikleri

- ▶ Nötral kırmızısı
- ▶ Safranin
- ▶ Bismark kahverengisi
- ▶ Asit pikrik
- ▶ Malaşit yeşili

ARB Boyama

- ▶ Karbol fuksin
- ▶ Asit alkol
- ▶ Metilen mavisi

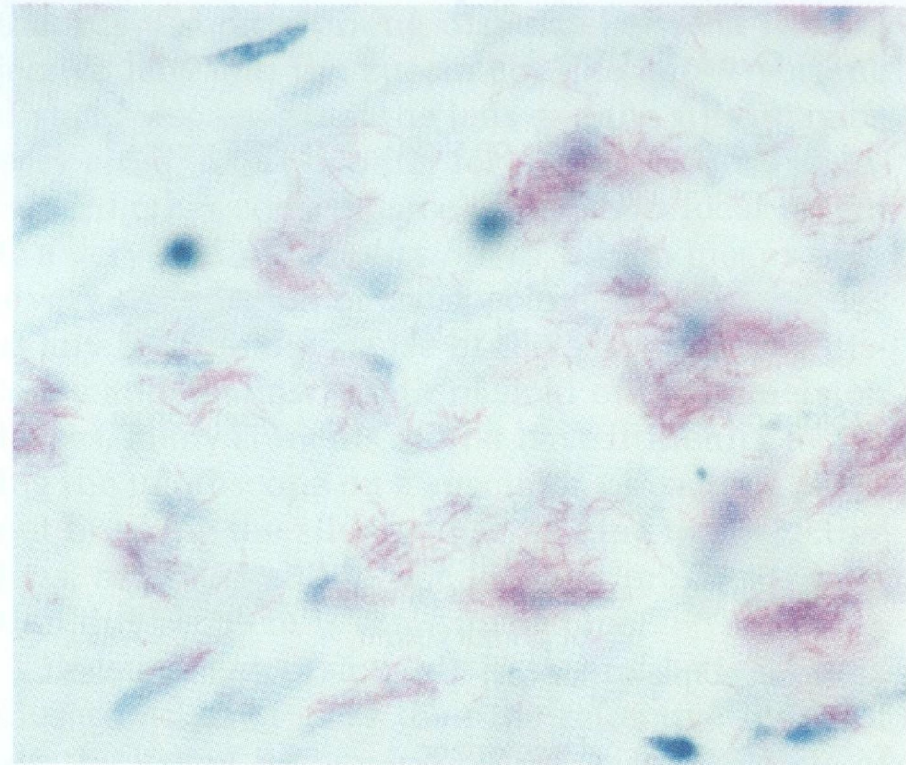
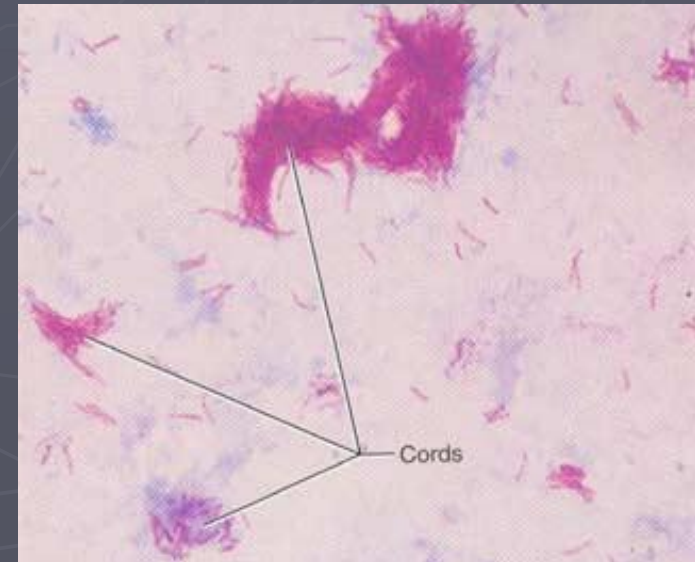


Fig. 2-11 Acid-fast Mycobacteria. Micrograph of *Mycobacterium tuberculosis* in a sputum sample of an individual with tuberculosis. (300 \times .) The appearance of red rods after acid-fast staining indicates the presence of mycobacteria and is diagnostic of tuberculosis.

Aside dirençli bakterilerin boyanması

- ▶ **Asiderezistan bakteriler diğer yöntemlerle kolay boyanmazlar**
- ▶ **Boyanmaları için fenollü ve yoğun boya eriyiklerinin uzun süre ya da sıcaklık etkisi ile uygulanması gerekir**
- ▶ **Bu şekilde boyama sonrası asit, asitli alkol ve diğer renk gidericilerle boyalarını bırakmazlar**

- ▶ **Asidorezistan bakterilerin hücre çeperi yapısında diğer bakterilere oranla çok daha fazla lipid bulunur**
- ▶ **Fenollü fuksin lipid ortamda alkol ve sulu ortama göre daha kolay eridiğinden bakteri lipidlerini kolayca geçer, bakteriyi boyar. Renksizleştiricilerde daha az eridiğinden bunların uygulanması ile bakteriyi terk etmez**



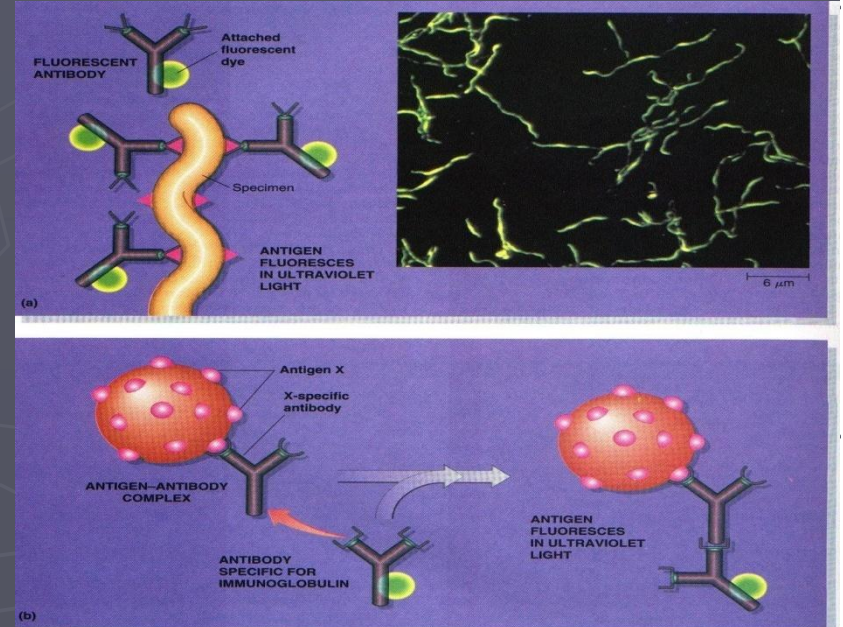
- ▶ Tespit edilmiş preparat üzerine karbolfuksin dökülür
- ▶ Alttan alev geçirilerek kaynatılmadan 3-5 dk ısıtılır. Boya azalırsa eklenir.
- ▶ Yıkanıp asit alkol ile 2 dk dekolarize edilir
- ▶ Zıt boyama için 1-2 dk metilen mavisi ile boyanır, yıkanıp kurutulur ve X100 büyütmede incelenir. Mikobakteriler kırmızı, zemin mavi renkte görülür.
- ▶ Zıt boyamada farklı boyalar kullanılabilir.

Florsan Boyama

- ▶ Florosein isotiosiyanat (FITC)
- ▶ Tetrametilrodamin isothionat (TMRI)

- Klamidya, legionela birçok virüs

- ▶ Auramine ve rhodamine
 - Mycobacterium için



Metakromatik cisimciklerin boyanması

- ▶ Başta Corynebacterium'lar olmak üzere olmak üzere bazı bakterilerin hücre yapısında bulunan
- ▶ Çoğunluğu volütinden oluşmuş
- ▶ Bazik boyalarla boyanan cisimciklerdir
- ▶ Löffler'in metilen mavisi ile boyamada: açık mavi bakterilerin orta ve uç kısımlarında koyu mavi boyalı metakromatik cisimcikler görülür

Boyama

- ▶ Bir tp içerisinde 2 kısıım Neisser A ve 1 kısıım Neisser B eriyikleri karıştırılır
- ▶ Havada kurutulmuş ve tespitlenmiş preparatın üzeri boya ile kaplanır. 10 saniye sonra kurutma kağıtları arasında kurutulur
- ▶ Preparat zerine krizoidin eriyiği dökülür. 3 sn sonra kurutma kağıtları arasında kurutulur
- ▶ İmmersiyon objektifi ile incelendiğinde sarı boyalı bakterilerin ilerinde koyu kahverengimor boyalı metakromatik cisimcikler görülür

Kapsül boyama yöntemleri

- ▶ Çini mürekkebi yöntemi
- ▶ Lam üzerine bir iki öze çini mürekkebi konur. Kültürden bir öze bakteri alınarak süspansiyon haline getirilir. Üzerine lamel kapatılıp immersiyon objektifi ile incelendiğinde bakteri hücresinin parlak çeper sınırı ile siyaha boyalı zemin arasında boşluk halinde kapsül görülür



Giemsa boyası

- ▶ Eozin ve metilen mavisi eriyiklerinden oluşur
- ▶ Lökosit çekirdekleri mor, sitoplazmalar mavi ve eritrositler pembeye boyanır
- ▶ Ticari olarak satılan eriyik ya da toz halde satılan giemsa boyası kullanılabilir
- ▶ Toz giemsa boyası 1 gr
- ▶ Gliserin 66 ml
- ▶ Metil alkol 66 ml

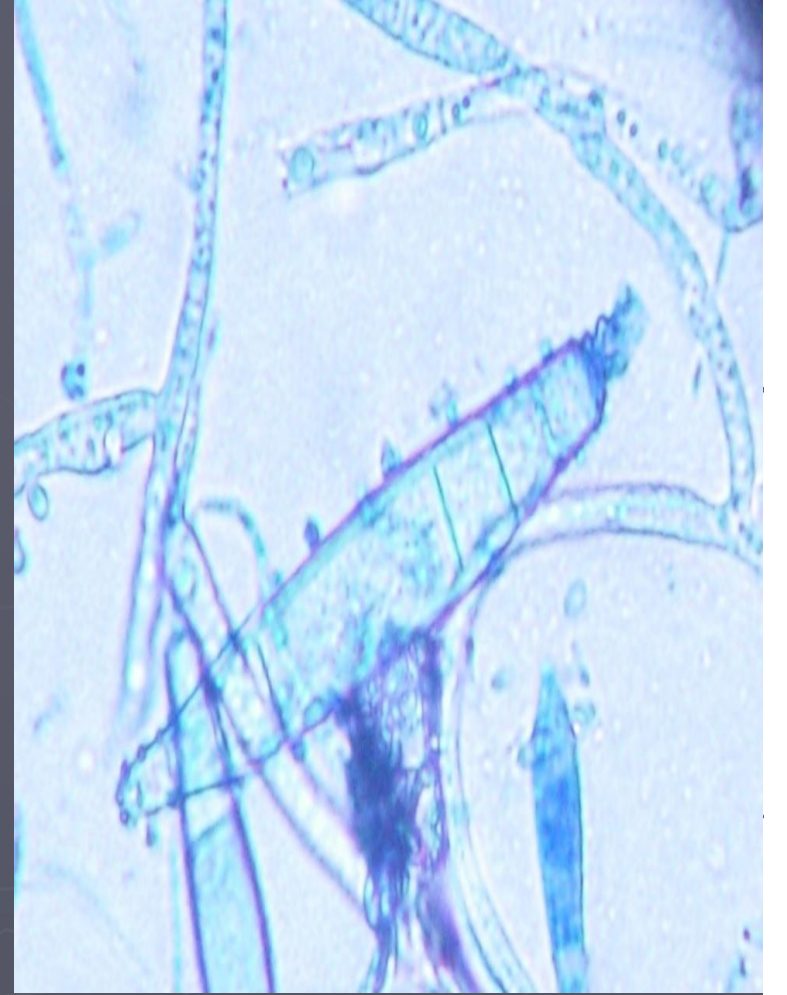
- ▶ Yayma kan preparatlarının boyanması
- ▶ Kan lam üzerinde yayılarak kurutulur
- ▶ Metanol ile 2-3 dk, ya da etanolle 5 dk tespit edilir
- ▶ Bir mezure preparat başına 3 ml distile su konur, ml başına birer damla giemsa eriyiği damlatılıp yavaşça karıştırılır
- ▶ Preparat üzeri kaplanıp 30 dk beklenir ve saf su ile yıkanır.

Mantarların incelenmesi

- ▶ Gram boyama: Tüm mantarlar Gram olumludur.
- ▶ Laktofenol pamuk mavisi yöntemi
 - **Laktik asit** **20 ml**
 - **Fenol kristal** **20 gr**
 - **Gliserin** **40 ml**
 - **Saf su** **20 ml**
- ▶ Pamuk mavisi (Poirrier mavisi) 0.075 gr
- ▶ Saf su, Laktik asit ve Gliserin karıştırılır. Isıtılırken Fenol kristalleri eklenir boya atılır ve eritilir.

Selofanbant-Laktofenol pamuk mavisı yöntemi: Selofan banttan kesilerek yapışkan yüzü alt tarafa gelecek şekilde bir penset ile tutularak mantar kolonisine dokundurulur (küflerde)

Üzerinde bir damla boya olan lam üzerine yapıştırılarak X40 büyütmede incelenir



- ▶ Acridine –Orange
- ▶ Metilen mavisi
- ▶ Kalkoflor beyazı
- ▶ Gümüşleme yöntemi
- ▶ Giemsa
- ▶ Periodic Acid-Schiff