

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HEMOKÜLTÜR ÖLÇÜMLERİNİN BASINÇ YÖNTEMİ İLE MODELLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elk. Müh. Ahmet BULUTLUÖZ

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜH.

Enstitü Bilim Dalı : ELEKTRONİK

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gürsel DÜZENLİ

Şubat 2012

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEMOKÜLTÜR ÖLÇÜMLERİNİN BASINÇ YÖNTEMİ İLE MODELLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elk. Müh. Ahmet BULUTLUÖZ

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜH.

Enstitü Bilim Dalı : ELEKTRONİK

Bu tez 15 / 02 /2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.
Etem KÖKLÜKAYA
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr.
Gürsel DÜZENLİ
Üye

Yrd. Doç. Dr.
H. İbrahim ESKİKURT
Üye

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEMOKÜLTÜR ÖLÇÜMLERİNİN
BASINÇ YÖNTEMİ İLE MODELLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

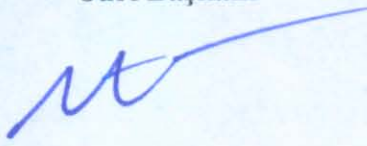
Elk. Müh. Ahmet BULUTLUÖZ

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜH.

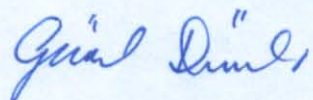
Enstitü Bilim Dalı : ELEKTRONİK

Bu tez 15 / 02 /2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

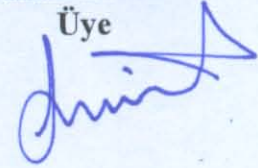
Prof. Dr.
Etem KÖKLÜKAYA
Jüri Başkanı



Yrd. Doç. Dr.
Gürsel DÜZENLİ
Üye



Yrd. Doç. Dr.
H. İbrahim ESKİKURT
Üye



ÖNSÖZ

Son yıllarda tanı yöntemlerindeki yeni gelişmelere rağmen bakteremi ve fungeminin tanısında kan kültürleri hala tek pratik ve güvenilir yöntem olma özelliğini korumaktadır. Türkiye’de ilk kez yedi-sekiz yıl önce kullanılmaya başlanan otomatize kan kültür sistemlerinden günümüzde çok sayıda laboratuvar yararlanmaktadır.

Hasta kanında mikro-organizma saptanması, sadece tanı açısından değil, hastanın tedavisi ve prognozu yönünden de son derece önemlidir. Kan kültürü pozitif olan hastalarda mortalite, kan kültüründe üreme olmayanlardan 12 kat yüksek olarak bildirilmiştir. Bu da bu sürecin hızlı ve doğru yönetilmesinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu tezi hazırlamamda büyük emeği geçen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Gürsel DÜZENLİ ‘ye, bu tezin fikir babası ve uygulama alanında her türlü katkısını sağlayan Prof. Dr. Oğuz KARABAY ‘a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca tezimdeki bütün çalışma (ifade, yöntem, uygulamalar, ...) Prof. Dr. Oğuz KARABAY ve Yrd. Doç. Dr. Gürsel DÜZENLİ ’nin PATENTİ altındadır.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	ix
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
AEROB MİKROORGANİZMALARIN İNKÜBASYONU	2
2.1. İnkübasyon Tanımı	2
2.2. Mikroorganizmalarda Üremeyi Etkileyen Çevre Faktörleri	2
2.2.1. Fiziksel faktörler.....	2
2.2.1.1. Isının etkisi.....	2
2.2.1.2. Osmotik basıncın etkisi	3
2.2.1.3. Nem ve kuruluğun etkisi	4
2.2.2. Kimyasal faktörler	4
2.2.2.1. Oksijenin etkisi.....	4
2.2.2.2. Oksido-redüksiyon potansiyeli.....	7
2.2.3. Biyolojik faktörler.....	7
2.2.4. Mekanik faktörler.....	7
2.3. Mikroorganizmalarda Üreme ve Çoğalma.....	7
2.3.1. Mikroorganizmalarda üreme hız ve dönemleri.....	10

2.4. İnkübasyon.....	11
2.4.1. Etüvde inkübasyon.....	13
2.4.2. Otomatik kan kültür cihazında inkübasyon.....	16
2.5. Mikroorganizmaların Besiyerde Üremeleri	19
2.5.1. Mikroorganizmaların sıvı besiyerinde üreme özellikleri	19
2.5.2. Mikroorganizmaların katı besiyerinde üreme özellikleri	20
2.5.2.1. Katı besiyerinde bakteri koloni özellikleri.....	21
 BÖLÜM 3.	
ÖLÇÜM.....	23
3.1. Basınç Ölçüm Yöntemi.....	23
3.2. Ölçüm Düzeneginde Kullanılan Basınç sensörü.....	25
3.2.1 Silikon basınç sensörleri	25
3.2.2 Ultra düşük basınç sensörleri	25
3.3. Ölçüm Düzenegi	26
3.4. Ölçüm Sonuçları.....	26
 BÖLÜM 4.	
VERİLERİN FORMÜLLE İFADESİ (EĞRİ UYDURMA)	32
4.1 Eğri Uydurma Tipleri.....	32
4.1.1. Doğruların ve polinomik eğrilerin verilere uydurulması.....	32
4.1.2. Diğer eğrilerin verilere uydurulması.....	35
4.1.3. Eğriler için geometric uyarlama yerine cebirsel uyarlama....	36
4.1.4. Eliptik şekiller için geometric uyarlama.....	37
4.1.5. Yüzeylere uygulama.....	37
4.2. Örnek Uygulama.....	38
 BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	39
 KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrad derece
pH	: Asitlik oranı
Psi	: İnç kareye pound cinsinden uygulanan basınç
Pa	: Paskal
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
CO ₂	: Karbondioksit
NH ₃	: Amonyak
H ₂ S	: Hidrojensülfür
CH ₄	: Metan
Eh	: Oksido-redüksiyon potansiyeli

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Bakterilerin sıvı besiyerinde oksijen ihtiyaçlarına göre üreme görünümleri	6
Şekil 2.2.	Bakterilerin üreme eğrisi	11
Şekil 2.3.	Etüv	11
Şekil 2.4.	Petri kutularının inkübasyona hazırlanması	13
Şekil 2.5.	Etüve plak besiyerlerinin yerleştirilmesi	14
Şekil 2.6.	Etüve plak ve tüpteki besiyerlerinin yerleştirilmesi	14
Şekil 2.7.	Etüv su cebine su eklenmesi	14
Şekil 2.8.	Etüve yayvan kapta su konması	15
Şekil 2.9.	Etüv iç ısını kontrol için termometre yerleştirilmesi	15
Şekil 2.10.	Etüv iç cam kapak ve dış kapağının kapatılması	15
Şekil 2.11.	Otomatik kan kültür cihazı	16
Şekil 2.12.	Otomatik kan kültür cihazı	16
Şekil 2.13.	Otomatik kan kültür cihazının inkübasyon bölümü	17
Şekil 2.14.	Kan kültür barkodunun okutulması	17
Şekil 2.15.	Kültür tüpünün cihazın inkübasyon bölümüne yerleştirilmesi ...	18
Şekil 2.16.	Üreme görülmeyen kan kültürünün inkübasyondan çıkarılması .	18
Şekil 2.17.	Katı besiyerinde S-koloniler	20
Şekil 2.18.	Şekil 2.18.: Katı besiyerinde R-koloniler	21
Şekil 2.19.	Katı besiyerinde M-koloniler	21
Şekil 3.1.	Mutlak basınç sensörü	22
Şekil 3.2.	Gösterge basınç	23
Şekil 3.3.	Fark basınç sensörü	23
Şekil 3.4.	Ultra-Düşük Basınç Sensörleri.	24
Şekil 3.5.	Ölçüm düzeneği	25
Şekil 3.6.	Temiz kan numunesi basınç grafiği	26

Şekil 3.7.	Temiz kan numunesi sıcaklık grafiği	26
Şekil 3.8.	Nötr numune basınç grafiği	27
Şekil 3.9.	Nötr numune basınç grafiği	27
Şekil 3.10.	Mikroplu numune basınç grafiği	28
Şekil 3.11.	Mikroplu numune sıcaklık grafiği	28
Şekil 3.12.	Candida mikroplu numune basınç grafiği	29
Şekil 3.13.	Candida mikroplu numune sıcaklık grafiği	29
Şekil 3.11.	Epiderimdis mikroplu numune basınç grafiği	30
Şekil 3.11.	Epiderimdis mikroplu numune sıcaklık grafiği	30
Şekil 4.1.	Doğruların ve polinomik eğrilerin verilere uydurulması	31
Şekil 4.2.	Dairenin geometrik uydurulması	35

ÖZET

Anahtar kelimeler: Hemokültür, İnhibikasyon, Tedavi yöntemleri, Basınç yöntemi

Teknolojik gelişmelerin her alanda olduğu hatta daha fazlasıyla tıp alanında kullanılmaya başlaması, erken teşhis ve bu sayede erken tedavi imkanları sağlamaktadır. Günümüzde kullanılan otomatik inkübasyon yöntemleri beklenen zaman ve ekonomiklik açısından incelendiğinde bu alanda yeni çalışmalar yapılması gereği ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmamızda hali hazırda kullanılmakta olan inkübasyon yöntemleri incelenmiş ve zaman olarak daha hızlı ön değerlendirme yapabileceğimiz yeni bir metod olarak “Hemokültür ölçümlerinin basınç yöntemi ile modellenmesi” konusunda yaptığımız çalışmalar bilgilerinize sunulmuştur.

THE MODELING OF HEMOCULTURE MEASURING BY PRESSING METHOD

SUMMARY

Key Words: Hemoculture , Incubation, Methods of treatment , Pressure method

Using technological developments in medicine as well as other fields provides opportunities for early treatments. Automatic incubation methods which currently using are neither economical nor efficiently in terms of timing . When examined it is obvious that new studies are needed in this field.

Incubation methods which currently using ,are examined with this study concluded by using “The modeling of hemoculture measuring by pressing method” is effectively quick for pre-diagnosis.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Günümüzde tıbbi teknolojiye ve uygulamalardaki gelişmeler infeksiyon riskini de arttırmaktadır. Toplumda ileriyaş grubunun artması, kronik hastalığı olanların yaşam sürelerinin uzaması, bağışıklığı baskılayan ilaçların yaygın kullanılması ve tanı ile tedavi amaçlı invazif girişimlerdeki artış infeksiyon riskinin de artışına neden olmuştur.

Son yıllarda tanı yöntemlerindeki yeni gelişmelere rağmen bakteremi ve fungeminin tanısında kan kültürleri hala tek pratik ve güvenilir yöntem olma özelliğini korumaktadır. Türkiye’de ilk kez yedi-sekiz yıl önce kullanılmaya başlanan otomatize kan kültür sistemlerinden günümüzde çok sayıda laboratuvar yararlanmaktadır.

Hasta kanında mikro-organizma saptanması, sadece tanı açısından değil, hastanın tedavisi ve prognozu yönünden de son derece önemlidir. Kan kültürü pozitif olan hastalarda mortalite, kan kültüründe üreme olmayanlardan 12 kat yüksek olarak bildirilmiştir.

Dolaşım sistemi infeksiyonları antimikrobiyal ve destekleyici tedavilere rağmen morbidite ve mortalitenin major nedenleri olmaya devam etmektedir. Bu nedenle kan dolaşımı infeksiyonlarının erken tanısı ve uygun tedavi edilmesi klinik açıdan önemlidir. Kan kültürleri şüpheli infeksiyon vakalarında mikrobiyal etyolojiyi tanımladığı gibi, tedavinin yönlendirilmesinde de rol oynar.

Bu çalışmamızda hali hazırda kullanılmakta olan inkübasyon yöntemleri incelenmiş ve zaman olarak daha hızlı ön değerlendirme yapabileceğimiz yeni bir metod olarak “ Basın Yöntemi ile Modelleme” konusunda yaptığımız çalışmalar bilgilerinize sunulmuştur.

BÖLÜM 2. AEROB MİKROORGANİZMALARIN İNKÜBASYONU

2.1. İnkübasyon Tanımı

İnkübasyon; besiyerine ekimi yapılmış mikroorganizmaları, üreyebilecekleri optimum sıcaklıkta, etüv ya da inkübatör adı verilen cihazlarda, belirli bir süre tutma işlemidir. Bu süre, mikroorganizmanın katı besiyerlerinde tipik koloni yapılarını oluşturmaya kadar geçen süre; sıvı besiyerinde ise mikroorganizmanın bulanıklık göstermesine kadar geçen süredir.

İnkübasyon, kültür elde etme işleminin son aşamasıdır. İnsanlarda hastalık yapan mikroorganizmaların besiyerlerinde üremelerini sağlamak için inkübasyon süresince gerekli olan ısı, nem, oksijen, karbondioksit vb. ihtiyaçlar karşılanır ve mikroorganizmaların kültürleri gerçekleştirilir.

2.2. Mikroorganizmalarda Üremeyi Etkileyen Çevre Faktörleri

Mikroorganizmaların üreyebileceği besiyerinin özellikleri ve bulundukları ortamdaki fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mekanik faktörler üremelerine etki eder.

2.2.1. Fiziksel faktörler

Besiyerinde mikroorganizmaların üremesini etkileyen ısı, osmotik basınç, nem ve kuruluğun etkisi gibi fiziksel faktörler aşağıda belirtilmiştir.

2.2.1.1. Isının etkisi

Mikroorganizmalar, kendi türlerine özgü farklı ısı derecelerinde ürer. Minimum ve maksimum sınırlar arasında en iyi üreme gösterdikleri ısı derecesine optimal ısı (uygun ısı) denir. Mikroorganizmaların üreme ısısı, minimal ısı derecelerinin altında ise hücre içindeki su kristalleşir ve hücre içi yoğunluk artar, üreme durur. Üremelerinin durmasına rağmen mikroorganizmalar, canlılıklarını muhafaza eder. Maksimum üreme ısısının üzerinde üreyemezler. Isının artışına bağlı olarak enzimlerinin denatüre olması nedeniyle ölümler de başlar.

Patojen mikroorganizmaların optimum üreme ısı dereceleri, yaşamaya uyum sağladıkları konakçının vücut ısısıyla uyum içindedir.

Mikroorganizmalar, üreyebildikleri ısı derecelerine göre psikrofil, mezofil ve termofil olmak üzere üç grupta incelenir:

Psikrofil (soğuk seven) bakteriler: Bu grupta toprak, su, deniz ve göllerde yaşayan bazı mikroorganizmalar bulunur. Bu mikroorganizmalar, balıklarda ve soğukkanlı hayvanlarda hastalık oluşturur. Psikrofil mikroorganizmalar, -10 ile $+20$ °C'de ürer. $+4$ °C'de buzdolabı sıcaklığında ürer ve gıdaların bozulmasına sebep olur. Psikrofil mikroorganizmaların optimum üreme ısıları $15-20$ °C'dir.

Mezofil (ılık seven) bakteriler: İnsanlarda hastalık yapan mikroorganizmalar, bu grupta yer alır. Bu mikroorganizmalar, $20-45$ °C'de üremelerini sürdürebilir. Mezofil bakterilerin optimum üreme ısıları $35-42$ °C'dir. İnsanlarda hastalık yapan türleri laboratuvar ortamında, inkübatörlerde, 37 °C'de üretilir.

Termofil (sıcak seven) bakteriler: Hayvan gübrelerinde, sıcak su kaynaklarında yaşayan bazı mikroorganizmalar bu grupta yer alır. Özel enzimleri sayesinde $50-70$ °C'de kolaylıkla yaşayabilir.

2.2.1.2. Ozmotik basıncın etkisi

Suyun seçici geçirgen bir zardan difüzyon (maddelerin çok yoğun ortamdan az yoğun ortama geçişi) una ozmoz denir. Bir ortamın ozmotik basıncı, içinde eriyen maddelerin konsantrasyonu ile ilişkilidir. Hücre içi ozmotik denge, hücrenin seçici geçirgen olan hücre zarı ile sağlanır. Mikroorganizmaların içinde üredikleri sıvı besiyerinin ozmotik basıncıyla hücre içi ozmotik basıncı, dengede (izotonik / izoozmotik) olmalıdır. Mikroorganizmaların üremesi, izotonik ortamlarda daha kolay gerçekleşir.

Bakteri hücresi, ozmotik basıncı azalmış ortamda (hipotonik) ise dışarıdan bakteri içine fazla sıvı girer ve bakteriyi şişirir. Olay devam ederse bakteri hücresi patlar. Bu olaya plazmoptiz adı verilir.

Bakteri hücresi ozmotik basıncı yükselmiş ortamda (hipertonik) ise hücre içinden fazla miktarda sıvı çıkışı meydana gelir. Fazla miktarda sıvı kaybeden bakteri

hücresinin stoplazmik membranı, hücre duvarından ayrılarak büzülür ve ortada toplanır. Bu olaya da plazmoliz adı verilir.

2.2.1.3. Nem ve kuruluğun etkisi

Mikroorganizmaların üremesinde gerekli olan besin maddelerinin hücre içine alınabilmeleri için suda erimiş olmaları gerekir. Hücre içi reaksiyonlar, metabolizma atıkları, hücre dışı enzimlerin dışarı salınması vb. olaylarda da su gereklidir. Mikroorganizmaları üretmek için kullanılan inkübatör havasındaki nem azalırsa mikroorganizmaların üremesinde yavaşlama veya durma görülür. İnkübatör havasındaki nem oranının uygun olması gerekir. İnkübatör havasındaki nemle, katı besiyerlerinin kuruması önlenir ve böylece mikroorganizmaların üremeleri için uygun ortam sağlanır.

2.2.2. Kimyasal faktörler

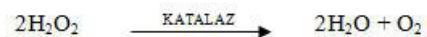
Laboratuvarda mikroorganizmaların üremesinde etkili olan kimyasal faktörlerden oksijen ve karbondioksitin etkileri aşağıda belirtilmiştir.

2.2.2.1. Oksijenin etkisi

Mikroorganizmaların metabolizmaları için gerekli enerjinin sağlanmasında yani oksido–redüksiyon (yükseltgenme–indirgenme / elektron alışverişinin olduğu kimyasal tepkimeler) olaylarında elektron aktarımı hidrojen iyonları ile gerçekleşir. Herhangi bir madde, hidrojen kaybetmekle elektron da kaybetmiş ve bu sayede hücreye enerji vermiş olur.

Mikroorganizmalar oksijeni kullanıp kullanmamalarına göre dört grupta incelenir:

Aerob mikroorganizmalar: Oksido–redüksiyon basamağının sonunda oluşan hidrojen iyonunu atmosferin serbest oksijenine bağlayan, son ürün olarak H_2O ve H_2O_2 (hidrojen peroksit) oluşturan mikroorganizmalara aerob mikroorganizmalar denir. Aerob mikroorganizmaların solunumu sırasında oluşan H_2O_2 mikroorganizmalar için zararlıdır ve toksik etkilidir. Ancak zararlı olan bu son ürünleri, bünyelerinde bulunan katalaz enzimi ile su ve oksijene çevirirler.



Aerob mikroorganizmalar, besiyerlerine ekildikten sonra üremeleri için (normal atmosfer havasının oksijeni yeterli olduğundan) hiçbir işleme tabi tutulmadan inkübatöre bırakılır.

Mikroorganizmaların üremelerinde oksijenin etkisini araştırmak için dik jelozda yapılan çalkalama kültürlerinde ve sıvı besiyerlerinde bu türdeki bakteriler, besiyeri yüzeyinde ürer.

Mikroareofil mikroorganizmalar: Bu tür mikroorganizmalar, % 1–4 oranında oksijen bulunan veya % 5 – 10 CO₂ katılarak karbondioksit oranı artırılmış, oksijen miktarı düşürülmüş ortamlarda iyi ürer. Katalaz enzimleri vardır. Oksijenli ortamlarda metabolizma sonucu fazla miktarda H₂O₂ oluşur, katalaz enzimi yetersiz kalırsa üremeleri durur.

Bu gruptaki mikroorganizmaların inkübasyonları şu ortamlarda yapılır:

- i. Mum yakılarak oksijenin azaltıldığı mumlu kavanoz
- ii. Karbondioksitli etüv
- iii. % 5–10 oranında CO₂ ilave edilmiş jar kavanoz
- iv. Mikroaerofilik gas pak kit ilave edilmiş kavanoz

Mikroorganizmaların üremelerine oksijenin etkisini araştırmak için yapılan dik jelozda çalkalama kültüründe bu türdeki bakteriler besiyeri yüzeyinden 1 – 1,5 cm kadar aşağıda ürer.

Anaerob mikroorganizmalar: Bu tür mikroorganizmaların solunumu oksijensiz ortamda gerçekleşir. Oksijenli ortamda üreyemezler. Anaerob mikroorganizmaların oksido–redüksiyon basamağının sonunda oluşan hidrojen iyonunu atmosferin serbest oksijenine bağlayacak enzimleri yoktur. Son hidrojen alıcısı olarak oksijen dışındaki azot, kükürt ve karbon gibi maddelere hidrojen bağlayan enzimleri vardır. Bu enzimler azot, kükürt ve karbona hidrojeni bağlayarak amonyak (NH₃), hidrojen sülfür (H₂S) ve metan (CH₄) gibi son ürünleri oluşturur.

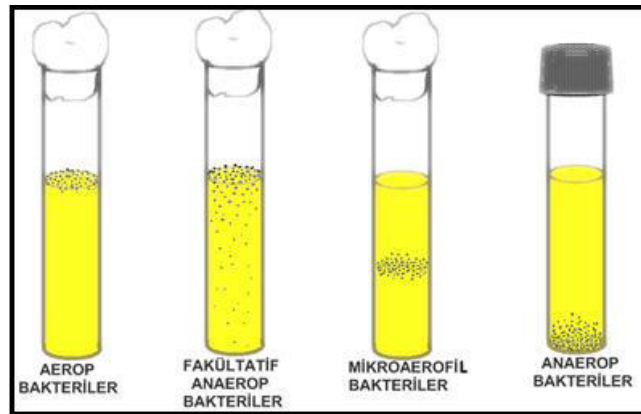
Bu gruptaki mikroorganizmaların inkübasyonları;

- i. Vakum pompası ile havası alınan besiyerlerine CO₂ ilave edilerek
- ii. Anaerobik gas pak kit ilave edilen jarlarla yapılır.
- iii. Mikroorganizmaların üremelerine oksijenin etkisini araştırmak için yapılan dik jelozda çalkalama kültüründe bu türdeki bakteriler besiyerinin dip kısmında ürer.
- iv. Anaerob mikroorganizmaların üreyebilmesi için üreme ortamlarında kesinlikle % 10 CO₂ li ortam sağlanmalıdır.

Fakültatif anaerob mikroorganizmalar: Hem oksijenli hem de oksijensiz ortamda üreyen mikroorganizmalardır. Oksijen varlığında aerobik solunum; yokluğunda anaerobik solunum yapabilecek enzimlere sahiptir.

Mikroorganizmaların üremelerine oksijenin etkisini araştırmak için yapılan dik jeloz çalkalama kültüründe ve sıvı besiyerinde bu türdeki bakteriler, besiyerinin her yerinde yaygın olarak ürer.

Bu gruptaki mikroorganizmalar, daha fazla enerji sağlayan aerobik koşullarda daha iyi ürer.



Şekil 2.1. Bakterilerin sıvı besiyerinde oksijen ihtiyaçlarına göre üreme görünümleri

2.2.2.2. Oksido–redüksiyon potansiyeli (Eh)

Oksidan maddeler elektron verici, redüktan maddeler elektron alıcıdır. Besiyeri içinde bulunan bu maddelerin aralarında elektron aktarımıyla oluşturdukları elektriksel potansiyele, oksido–redüksiyon potansiyeli denir. Besiyerindeki oksido–redüksiyon potansiyel fark milivolt cinsinden “Eh” simgesi ile ifade edilir. Elektron alıcı veya elektron alıcı gücünü gösterir.

2.2.3. Biyolojik Faktörler

Mikroorganizmalar, içinde kendilerine karşı etkili antibiyotik ve antikor bulunduran kanlı ve serumlu besiyerlerinde üreyemez.

2.2.4. Mekanik Faktörler

Sıvı besiyerine ekim yapılmış, zayıf üreme özeliği gösteren, hareketsiz mikroorganizmaların üremelerini hızlandırmak amacıyla mekanik olarak çalkalama yapan inkübatörler tercih edilebilir. İnkübasyonları yapılan sıvı besiyerinin çalkalanması çok hafif şekilde olmalıdır. Çalkalama hareketleri hızlı ve sert olursa mikroorganizmalarda ölüm meydana gelebilir.

2.3. Mikroorganizmalarda Üreme ve Çoğalma

Mikroorganizmaların üremesi, ortamdaki besin maddeleri ve uygun şartların varlığıyla ilişkilidir.

Mikroorganizmaların üremesi ve çoğalması, ortamdaki aminoasitlerin, karbonhidratların ve suyun kullanılmasını gerektirir. Bu da enzimlerin yardımıyla mümkün olan bir dizi metabolik olaylarla gerçekleşir.

– Mikroorganizmaların metabolizması ve enzimleri

- i. **Mikroorganizmaların metabolizması:** Vücudun temel fonksiyonlarını devam ettirebilmek için vücut içinde meydana gelen kimyasal reaksiyonların

tümüne metabolizma denir. Aynı zamanda metabolizma, canlılarda meydana gelen anabolizma ve katabolizma olaylarının tümüdür. *Katabolizma*: Alınan besin maddelerinin yıkılıp enerji açığa çıkması, yapı taşlarına ayrılması olayına denir. Bu yolla mikroorganizma için gerekli enerji sağlanır. *Anabolizma*: Besinlerin yapı taşlarının yeniden sentezlenmesi işlemlerinin tümüdür. Sentez işlemi için gerekli enerji ise, genellikle adenosin trifosfat (adenosine triphosphate = ATP) tarafından karşılanır. Metabolizma olayı bir mikroorganizmada enerji sağlanması, büyüme ve çoğalması için sindirim olaylarının kullanılmaya başladığı andan itibaren, artıkların ortaya çıkmasına kadar olan değişikliklerin hepsini kapsar. Protozoa ve virüs dışındaki mikroorganizmaların metabolizması ile ilgili olaylar dış enzimatik sindirim ile başlar. Virüs dışındaki mikroorganizmalar diğer canlılarda olduğu gibi metabolizmalarını enzimleri ile sağlarlar. Mantar ve bakterilerin hem hücre içi hem de hücre dışında görev yapan çok güçlü enzimleri vardır. Virüslerin hücre yapısı nedeniyle hücre metabolizmaları ve enzimleri yoktur. Girdikleri hücrenin metabolizmasına egemen olarak kendi öz maddelerini (DNA, RNA, kapsit) sentezlerler.

- ii. **Mikroorganizma enzimleri:** Enzimler, protein yapısında, biyolojik kimyasal reaksiyonları katalize eden ve küçük miktarlarda bulunan, organizma için önemli maddelerdir. Enzimler reaksiyon sonrasında harcanmaz ve ortamda kalır. Her enzimin bir substratı (enzimin etki ettiği madde) vardır. Her enzim özgül bir kimyasal reaksiyonu katalize eder. Mikroorganizmalar, metabolizma faaliyetini sürdürebilmesi için bir değil birden çok enzim sistemine ihtiyaç duyar. Bu enzimlerin bir kısmı hücre içinde (endoenzimler), bir kısmı da hücre dışında (eksoenzimler) görev yapar. *Eksoenzimler*, hücre dışında bulunan besinleri hücre içine alınacak hale getirir. *Endoenzimler* ise hücrenin yapı taşlarının oluşturulmasında ve hücre için gerekli enerjinin sağlanmasında görev alır. Enzimler çok etkili maddelerdir. Bir molekül enzim bir dakika içinde bir milyon substrat molekülünü etkileyebilir. Enzimler, genellikle etkiledikleri maddenin sonuna ase (az) eki getirilerek adlandırılır. Örneğin; hydrolase (hidrolaz = hidroliz yapan), lactase (laktaz = laktozu parçalayan), ürease (üreaz = üreyi parçalayan) gibi. Bir kısım enzimler

işlevleri sırasında kendilerini aktive eden protein yapıda olmayan organik molekülere gerek duyar. Bu molekülere prostetik grup ya da koenzim adı verilir. Bazı enzimler ise, aktive olabilmek için koenzimler dışında kofaktör denilen bazı aktivatör maddelere ihtiyaç duyar. Bu enzimler kofaktör olmaksızın etkinlik gösteremez. Kofaktörler çoğunlukla metalik iyonlardır. Başlıcaları ise Fe^{++} , Mg^{++} , Ce^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} 'dur. Enzimler, aktivite gösterirken birçok dış etmenden etkilenir. Bu dış etmenler şunlardır:

- a. Enzimler etkinlik gösterirken çevre ısısından direkt olarak etkilenir.
 - b. Ortamın pH derecesinden etkilenir.
 - c. Substrat, ortamda ne kadar yoğunsa, enzim etkinliği o denli azalır.
 - d. Ortamda tuz yoğunluğu fazla ise enzimatik etkinlik azalır.
 - e. Ortamda bulunan çeşitli kimyasal maddeler, enzimlerin yapısında bozulmaya neden olacağından etkinliklerinde de azalmaya neden olur.
 - f. Ultraviyole, X ışınları gibi fiziksel etmenlerden enzimlerin işlevleri olumsuz etkilenir.
- **Mikroorganizmaların Üremesi:** Mikroorganizmalar bitkiler ve hayvanlara göre çok hızlı şekilde ve ikiye bölünerek çoğalır. İnsan ve hayvanlarda hastalık oluşturan bakteriler ve spiroketler kısa eksen boyunca ortadan ikiye bölünmek suretiyle ürer. Genel olarak küfler, bakteri ve mayalara göre daha geç çoğalırlar.

Bölünme başlamadan önce bakteri, iki kardeş hücreye yetecek kadar enzimleri, gerekli diğer organik ve inorganik maddeleri hazırlar ve biriktirir. Bu işlem yapılırken toplu hâlde bulunan nukleus, orta bölgede uzamaya başlar, nukleus sitoplazmik membrandaki mezozoma bağlanarak replikasyon (DNA'nın kendini eşlemesi, kopyalama) başlar. Buna sitoplazmik membran da iştirak eder ve septumlar içeri doğru uzayarak hücreyi ortasından iki kardeş hücreye ayırır. Bu iki hücre, birbirinden ayrılarak tam bağımsız hâle gelir veya birbirine bitişik olarak kalır.

Bakteri popülasyonunda meydana gelen her bölünmeye jenerasyon; iki jenerasyon arasında geçen zamana jenerasyon süresi adı verilir. Jenerasyon süresi, bakterinin türüne özgü genetik yapısına bağlı olmakla birlikte, bir yandan da bulunduğu üreme ortamı ve çevre koşullarına bağlıdır. Örneğin; *Escherichia coli*'nin jenerasyon süresi inorganik tuzlar ve glikozdan ibaret bir besiyerinde 37 °C'de 60 dakika iken uygun üreticilik özelliği gösteren bir besiyerinde ve optimum çevre koşullarının sağlandığı ortamlarda 18-20 dakikadır.

Bazı bakterilerin optimum koşullarda üreme jenerasyon süreleri şöyledir: *Pseudomonas aeruginosa*'da 10 dakika; *Staph. aureus*'ta 27-30 dakika; *Brucella melitensis*'te 60-70 dakika; *Mycobacterium tuberculosis*'te 790-930 dakikadır.

2.3.1. Mikroorganizmaların üreme hız ve dönemleri

Besiyerine ekimi yapılmış, uygun üreme koşulları sağlanmış mikroorganizmaların üreme dönemleri:

- i. Latent (gizli) dönem: Mikroorganizmaların bulundukları ortama alışma dönemidir. Bakteri sayısında artış olmaz. Yeni ortamına alışamayan bakterilerin ölmesiyle sayıca azalma da meydana gelebilir.
- ii. Üremenin hızlandığı dönem: Mikroorganizmalar bulunduğu ortama alışmış, beslenmeye başlamalarıyla metabolizma faaliyetleri artmıştır. Yavaş yavaş bölünerek üremeye başlarlar. Bu dönemde mikroorganizmalar, türlerinin standartlarına göre en büyük hücre yapısını gösterir. Bu dönemin süresinin uzun ya da kısa olması mikroorganizmanın türüne bağlıdır. Jenerasyon süresi ekimi yapılan mikroorganizmanın sayısı, ısı, pH, oksijen vb. çevre koşulları, besiyerinin bileşimi gibi faktörler de etkili olur.

- iii. Logaritmik üreme dönemi: Bu dönemde mikroorganizmalar bulundukları ortama alışmıştır. Mikroorganizma türüne göre jenerasyon süresinin en kısa ve hücre yapısının türünün standartlarına göre en küçük olduğu dönemdir. Besiyerindeki mikroorganizma sayısı, en üst seviyeye çıkar. Mikroorganizmalar, bu dönemde fizyolojik olarak genç ve biyoaktiftir. Fiziksel olaylara, kimyasal maddelere ve antibiyotiklere karşı çok duyarlı oldukları dönemdir.
- iv. Üremenin durması dönemi: Ortamdaki besin maddelerinin, oksijenin azalması, toksik ürünlerin artması, hücre bölünmesini yavaşlatır ve ölümler balar. Bu dönemde mikroorganizma sayısında artış veya azalış meydana gelmez. Çoğalma ve ölüm sayısı eşit düzeydedir.
- v. Azalma ve ölüm dönemi: Besiyerindeki besin maddelerinin tükenmesi, ortamda toksik ürünlerin artması nedeniyle canlı mikroorganizma sayısında hızlı bir şekilde azalma meydana gelir. Bir süre sonra tüm bakteriler ölebilir. Ancak bu süre, bakteri cinsine göre değişir. Canlı kalabilen birkaç bakteri bulunduğu ortamda aylarca canlılığını sürdürebilir.



Şekil 2.2. Bakterilerin üreme eğrisi

2.4. İnkübasyon

Mikroorganizmaların inkübasyonu mikrobiyoloji laboratuvarında ısı, O_2 , CO_2 , nem vb. optimum çevre koşullarının sağlandığı inkübatörlerde, belirli bir süre tutulmaları ile sağlanır. Bu amaç için inkübatör olarak etüv kullanılır.

Etüv, çeşitli mikroorganizmaların üretilmesi için uygun olan ısıya ayarlanabilen, normal atmosfer havasında inkübasyon yapılan inkübatördür.

İnkübasyonda üç temel konu sıcaklık, süre ve gaz atmosferidir. Analizi yapılmakta olan hedef mikroorganizmaların özelliklerine göre bu üç faktör tam olarak sağlanmalıdır.



Şekil 2.3. Etüv

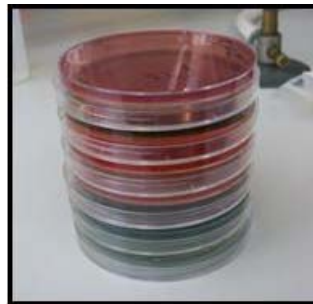
- İnkübasyon sıcaklığı: İnkübasyon, insanlarda hastalık yapan mezofil mikroorganizmaların en iyi üreme gösterdikleri sıcaklık olan 37 °C’de yapılır.
- Aerop inkübasyon gaz atmosferi: İnkübasyon, aerob ve fakültatif anerop bakterilerin üremek için ihtiyaç duyduğu gaz atmosferleri sağlanarak gerçekleştirilir.

Mikroorganizmalar, inkübasyon sırasında oksijene ihtiyaç duymalarına göre iki gruba ayrılır:

- i. Aerop mikroorganizmalar: Bu tür mikroorganizmaların üreyebilmesi için normal atmosfer havası yeterlidir. Ekimi yapılmış besiyerleri direkt olarak inkübatöre yerleştirilir. İnkübatör içindeki atmosfer havası, bunların gelişmesi için yeterlidir.
 - ii. Anaerop mikroorganizmalar: Zorunlu anaerop ve mikroaneorop mikroorganizmaların üretilmesi amacıyla çeşitli araç gereç ve yöntemler kullanılarak ve uygun atmosfer ortamı yaratılarak inkübasyon gerçekleştirilir.
- İnkübasyon süresi: Mikroorganizmaların inkübasyon süresi, üremeye bağlı sıvı besiyerinde meydana getirdiği bulanıklık, zar oluşturma, çöküntü vb. görünüm değişikliği ve katı besiyerinde gözle görülebilir incelemeye müsait mikroorganizmaların türüne özgü koloni oluşturma sürelerini ifade eder.

2.4.1. Etüvde inkübasyon

- Etüv inkübasyona hazırlanır. Bu amaçla;
 - i. Etüvün temizliği kontrol edilerek gerekli temizlik işlemleri yapılır.
 - ii. İnkübasyonu yapılacak besiyerlerinin durumuna göre iç raf aralıkları ayarlanır.
 - iii. Etüv ısısı inkübasyon ısisına getirilir.
 - iv. Etüv havalandırma kapaklarının açıklığı kontrol edilir.
 - Ekim işlemi yeni bitmiş petri kutularındaki besiyerleri 10-15 dakika bekletilerek besiyerinin ekim örneğini iyice absorblaması sağlanır. Yüzeye yaygın ekimlerde, fazla miktardaki sıvı örneğini besiyerinin absorblaması için bu süre önemlidir.
 - Petri kutuları, kapakları altta olacak şekilde hazırlanır. İnkübasyon ısisına bağlı plak içinde meydana gelecek buharlaşmanın petri kutusu kapağında birikmesiyle oluşan su damlacıklarının besiyeri yüzeyine damlaması sonucu oluşabilecek aşağıdaki olumsuzluklar önlenir. Bunlar;
 - i. Oluşan koloni yapılarını bozması,
 - ii. Olduğundan büyük koloni yapılarının oluşması,
 - iii. Kontaminasyon sebebi olarak besiyeri yüzeyinde olduğundan daha fazla bakteri kolonisinin oluşmasıdır.
 - Fazla miktarda plak besiyeri varsa etüve sığdırabilmek amacıyla üst üste en fazla 6 petri kutusu konularak sıralanır.



Şekil 2.4. Petri kutularının inkübasyona hazırlanması

- Ekim yapılmış tüpteki besiyerleri tüp sporlarına konur.
- Ekimi yapılmış örnek raporları besiyerlerinin etüve kaldırılış sırasına göre sıralanır. Raporlar inkübasyon süresince uygun bir yerde saklanır. Etüv içi hava sirkülasyonunu bozması nedeniyle raporların ekim örnekleriyle birlikte etüve konması uygun değildir.
- Petri kutuları, tüp sporları kendi aralarında ve etüvün iç cidarına 2,5 cm boşluk oluşturacak, etüv içi ısı dağılımı ve hava sirkülasyonuna engel olmayacak şekilde yerleştirilir.



Şekil 2.5. Etüve plak besiyerlerinin yerleştirilmesi



Şekil 2.6. Etüve plak ve tüpteki besiyerlerinin yerleştirilmesi

- Etüv içinde besiyerlerinin inkübasyon sıcaklığına bağlı kurumasını önlemek ve bazı etüvlerde uygun nem sağlamak amacıyla su cepleri bulunabilir. Su cepleri distile su ile doldurulur.



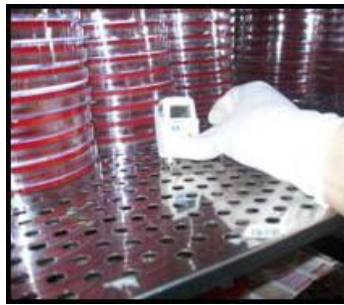
Resim 2.7. Etüv su cebine su eklenmesi

- Su cebi bulunmayan etüvlerde uygun nem sağlamak amacıyla kapaksız, ağzı geniş petri kutusu, beher vb. bir kapta su konur.



Şekil 2.8. Etüve yayvan kapta su konması

- Etüv iç sıcaklığı ve raflar arası sıcaklığı kontrol amacıyla etüv içine termometre yerleştirilir. Etüv iç ısısı inkübasyon süresince zaman zaman bu termometreyle kontrol edilir. İnkübasyon ısısından 0,5 oC'lik ısı sapmalarında gerekli ısı ayarlamaları yapılır.



Şekil 2.9. Etüv iç ısısını kontrol için termometre yerleştirilmesi

- Etüv iç camı ve dış kapağı sıkıca kapatılır.



Şekil 2.10. Etüv iç cam kapak ve dış kapağının kapatılması

- İnkübasyon süresince etüv kapaklarının gereksiz yere açılmamasına dikkat edilir.

2.4.2. Otomatik kan kültür cihazında inkübasyon

Otomatik kan kültür sistemleri pahalı olmasına rağmen mikroorganizmaları erken izole etmesi açısından tercih edilmektedir. Bu tür cihazlarda şişelerde hazırlanmış geniş üreticilik özelliği olan besiyerleri kullanılır. Besiyerlerinde karbondioksit gazına duyarlı ayıraçlar bulunmaktadır. Besiyeri şişesinde üremeye bağlı oluşan karbondioksit gazının indikatörlerde meydana getirdiği renk değişiklikleri sensörler aracılığıyla algılanarak üremenin olduğu besiyeri bilgisi bilgisayar ekranına aktarılır.



Şekil 2.11. Otomatik kan kültür cihazı



Şekil 2.12. Otomatik kan kültür cihazı

Otomatik kan kültür sistemleri şu bölümlerden oluşur:

- İnkübasyon bölümü: Otomatik olarak çalışan, uygun inkübasyon ısısında, çalkalamalı inkübasyonun yapıldığı asıl bölümdür. Bu bölümde aynı anda çok sayıda hasta örneğinin inkübasyonu yapılabilir.



Şekil 2.13. Otomatik kan kültür cihazının inkübasyon bölümü

- Barkod okuyucu: Besiyeri şişesinin üzerindeki barkod okutularak hasta bilgileri ve inkübasyon tarihini otomatik olarak hafızasına alan bölümdür. Üreme olmuş, besiyeri ve inkübasyon süresi dolmuş besiyerlerinin barkodları barkod okuyucuya okutularak inkübasyondan çıkarılır.
- Bilgisayar kısmı: İnkübasyon ve barkod okuyucularına bağlı olarak hasta bilgilerinin ve inkübasyondaki besiyerleri sensörlerinden gelen bilgilerin izlendiği bölümdür.

Bu sistemlerde inkübasyon ve inkübasyon takibi aşağıda belirtilen şekilde uygulanır:

- Ekim yapılmış besiyeri şişelerinin barkodu, barkod okuyucuya okutulur.



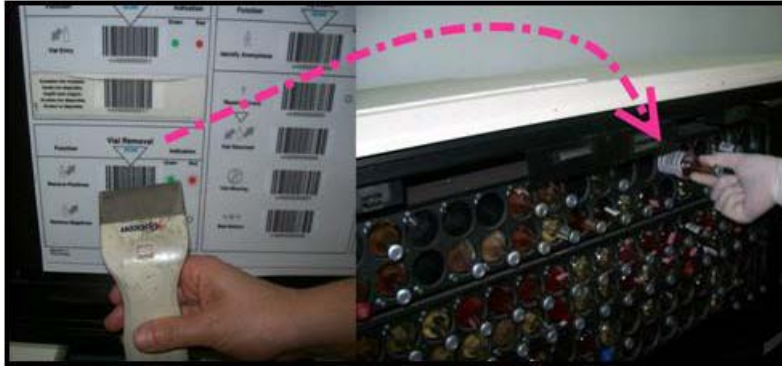
Şekil 2.14. Kan kültür barkodunun okutulması

- İnkübasyon bölümünde; bilgisayar ekranında örnek sıra numarası belirtilen alana besiyeri şişesi yerleştirilir.



Şekil 2.15. Kültür tüpünün cihazın inkübasyon bölümüne yerleştirilmesi

- Bilgisayar ekranında üreme uyarısı beliren besiyeri numarası okunarak inkübasyon bölümünden barkod okuyucuya okutulup çıkarılır.
- Bilgisayar ekranında inkübasyon süresi dolmuş üreme görülmeyen besiyeri yine barkod okuyucuya okutularak inkübasyondan çıkarılır.



Şekil 2.16. Üreme görülmeyen kan kültürünün inkübasyondan çıkarılması

2.5. Mikroorganizmaların Besiyesinde Üremeleri

Mikroorganizmaların besiyerinde üremeleri ile ilgili özellikleri aşağıda açıklanmıştır.

2.5.1. Mikroorganizmaların sıvı besiyerinde üreme özellikleri

Mikroorganizmalar uygun koşullarda sıvı besiyerinde, katı besiyerine göre daha hızlı ürer. Mikroorganizmaların ekildikleri sıvı besiyerinin tüm besin kaynaklarından yararlanması hızlı üremede etkilidir.

Bakteriler üretildikleri sıvı besiyerinde, besiyerine farklı görünüm kazandırır.

Bunlar;

- Az veya çok yoğun homojen bulanıklık,
- Sıvı besiyeri yüzeyinde zar oluşumu,
- Sıvı besiyeri dibinde çökelti meydana gelmesi,
- Sıvı besiyeri dibinde, çalkalamayla kaldırılan hücrelerin birbirine yapışık kümeler oluşturmasıdır.

Yukarıda belirtilen üreme şekillerinin birden fazlası bir arada olacak şekilde üreme de olabilir.

2.5.2. Mikroorganizmaların katı besiyerinde üreme özellikleri

Katı besiyerine ekilen mikroorganizmalar, sıvı besiyerine göre daha sınırlı üreme özelliği gösterir.

Katı besiyerine ekilen mikroorganizmalar, düştüğü alanda bölünüp çoğalarak koloniler oluşturur. Koloniler, birçok hücrenin üst üste, yan yana gelmesiyle oluşan bir hücre yığıdır.

Katı besiyerinin bazı özellikleri ve üreme sonucu oluşan kolonilerin yapıları nedeniyle inkübasyon süresinin ilerlemesiyle üremeyi engelleyici ve durdurucu faktörler oluşmaya başlar.

- Koloni üst kısmındaki bakterilerin basıncı, koloni tabanındaki bakteriler üzerinde dejenerasyonlara neden olur.
- i. Koloninin üst ve alt kısmındaki bakterilere, besin maddelerinin difüzyonu güçleştiği için dejenerasyon başlar.
- ii. Bakteriler birbirine bitişik olduğundan üreme güçleşir.
- Katı besiyerinde difüzyonun zor olması ve inkübasyon sıcaklığının besiyeri yüzeyini kurutması sonucu;
 - i. Ortamdaki besin maddelerinin hücre içine difüzyonu güçleşir.
 - ii. Metabolizma sonucu oluşan toksik maddelerin difüzyonunun güçleşmesi nedeniyle hücre içinde birikerek toksik etki yaratır.

iii. Hücre içinden ortama salınması gereken enzimler hücre dışına çıkarılamaz.

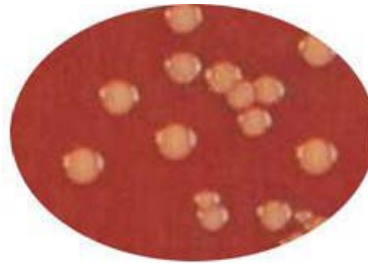
- Ortamdaki diğer bakteri kolonilerinin gelişmesiyle, uzaktaki besin maddelerinin kullanılması engellenir.

2.5.2.1. Katı besiyerinde bakteri koloni özellikleri

Bakteri kolonileri her bakteri için özeldir. Prensip olarak belirli bir cins bakteri, aynı birleşimdeki besiyeri ve aynı ortam koşullarında her zaman aynı morfolojik özellikte koloniler oluşturur. Bakteri kolonilerinin büyüklüğü, biçimi, rengi, kokusu, hemolitik aktivitesi bakteri türlerinin ayırt edici özelliklerindendir.

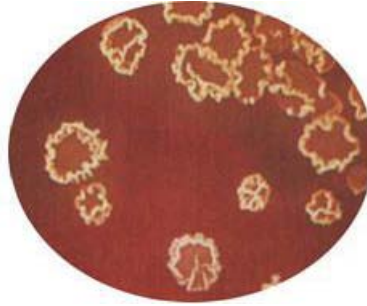
Genel olarak bakterilerde dört farklı tip koloni gözlenir:

- S (smooth) koloni: Yuvarlak, düzgün kenarlı, düzgün yüzeyli, hafif kabarık, nemli ve homojen kolonilerdir. Klinik önemi olan bakterilerin çoğu S-koloni oluşturur. İngilizce smooth (düzgün) sözcüğünün ilk harfine bakılarak S-koloni adı verilmiştir.



Şekil 2.17. Katı besiyerinde S koloniler

- R (rough) koloni: Düzgün olmayan, yüzeyleri buruşuk veya tanecikli, kenarları girintili çıkıntılı, yassı, basık görünümlüdür. *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*'in kolonileri R Şeklindedir. S ve M koloni oluşturan bakterilerin kültürleri uzun süre bekletilir veya uygun olmayan besiyerlerinde üretilirlerse R-koloni tarzında üreme gösterirler. İngilizce rough (pürtüklü) sözcüğünün ilk harfine bakılarak R-koloni adı verilmiştir.



Şekil 2.18. Katı besiyerinde R koloniler

- M (mucoid) koloni: Polisakkarit kapsüllü bakterilerin oluşturduğu koloni tipidir. Bu bakteriler, uygun zenginleştirilmiş besiyerinde üretildiklerinde, sümüksü görünümlü, yapışkan, parlak koloniler oluşturur. Koloniye öze ile dokunulup çekildiğinde koloni iplik gibi uzar. Örneğin; *Klebsiella pneumoniae* gibi M-koloni oluşturan bakteriler, uygun olmayan zenginleştirilmemiş besiyerlerinde S tipi koloniler oluşturur. Bu kolonilerden uygun zenginleştirilmiş besiyerlerine pasajlarda tekrar M-koloni oluşturur.



Şekil 2.19. Katı besiyerinde M-koloniler

- L tipi koloni: Yüzeyleri kabarık, granüllü, besiyeri içine doğru mih gibi uzantı yapan, bu kolonilerin görünümü aynı zamanda “sahanda yumurta” görünümü olarak da tarif edilir. Bakterilerin L formları ve Mycoplasma türleri L-koloni oluşturur. Bu bakterilerin kolonileri büyüteçle görülebilecek kadar küçüktür.

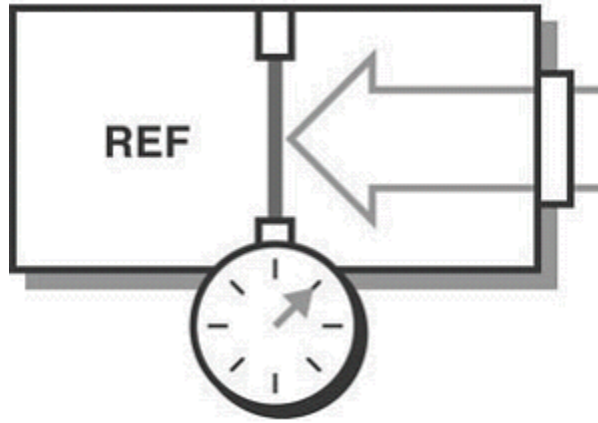
BÖLÜM 3. ÖLÇÜM

3.1. Basınç Ölçüm Yöntemi

Basınç, statik veya dinamik basınç olarak ikiye ayrılır. Hiçbir hareket olmadan meydana gelen basınç, statik basınç olarak adlandırılır. Statik basınca örnek olarak bir kapta duran su veya bir balon içindeki havanın basıncı gösterilebilir. Çoğu zaman, bir sıvının hareketi çevresini değişime zorlar. Böyle bir basınç ölçümü, dinamik basınç ölçümü olarak bilinir. Örneğin, bir balon içindeki ya da bir su havzasının alt kısmındaki basınç balondaki havanın kaçması veya suyun dökülmesiyle değişir.

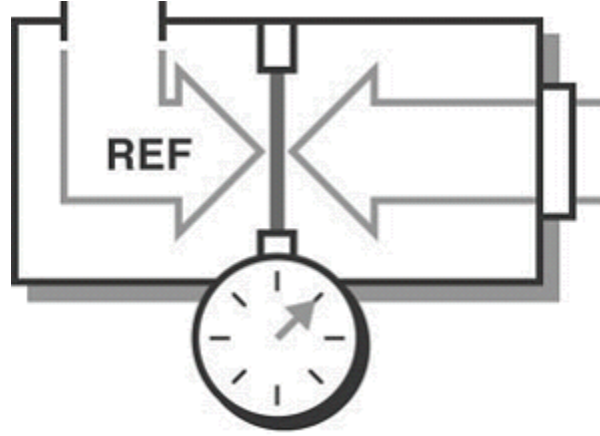
Bir basınç ölçümü daha çok yapılan ölçümün şekline göre tarif edilebilir. Basıncı ölçümlerinde üç yöntem vardır: mutlak, gösterge ve diferansiyel.

Mutlak basınç ölçümü, vakuma göre ölçülür.



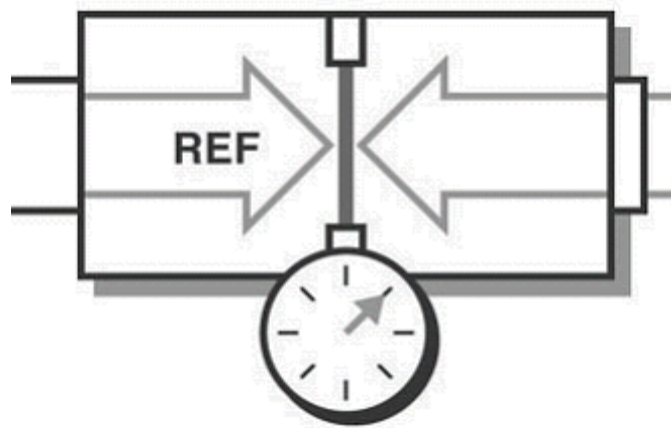
Şekil 3.1. Mutlak basınç sensörü

Gösterge basınç ortamın atmosferik basınca göre ölçümüdür.



Şekil 3.2. Gösterge basınç

Fark basınç, gösterge basınca benzer ancak ortamdaki atmosferik basınca göre ölçmek yerine, belirlenen ortamın basıncını referans alarak bir basınç ölçümü yapar.



Şekil 3.3. Fark basınç sensörü

Tasarladığımız devre çok amaçlı kullanıma uygun olarak tasarlanmıştır. Basınç sensörüne gelen uçlar kapalı olduğunda mutlak basınç sensörü görevi görmekte, ucu açık bırakıldığında gösterge basıncı ölçerek fırının ortam basıncını almakta böylece fırın kapağı açılıp kapatıldığında hissetmekte, iki şişeli çalışma sırasında ise fark basınç sensörü olarak çalışmaktadır.

3.2. Ölçüm Düzenğinde Kullanılan Basınç Sensörü

3.2.1. Silikon basınç sensörleri

Silikon basınç sensörlerinde algılama elemanı, kimyasal desenlere sahip ince bir silikon diyafram ile galvanizli dört adet piezoresistörden oluşur. Bir basınç değişikliği mekanizmaya, diyafram ve gömülü dirençlerdeki büyük bir yük değişimine karşı esneklik kazandırır. Uygulanan basınçla orantılı olarak değişen direnç değerleri elektriksel bir akım üretmektedir. Böylece bu tür sensörler, diyaliz makineleri, kan tahlili gibi potansiyel uygulamalarda başarılı bir performans sağlar.

3.2.2. Ultra-düşük basınç sensörleri

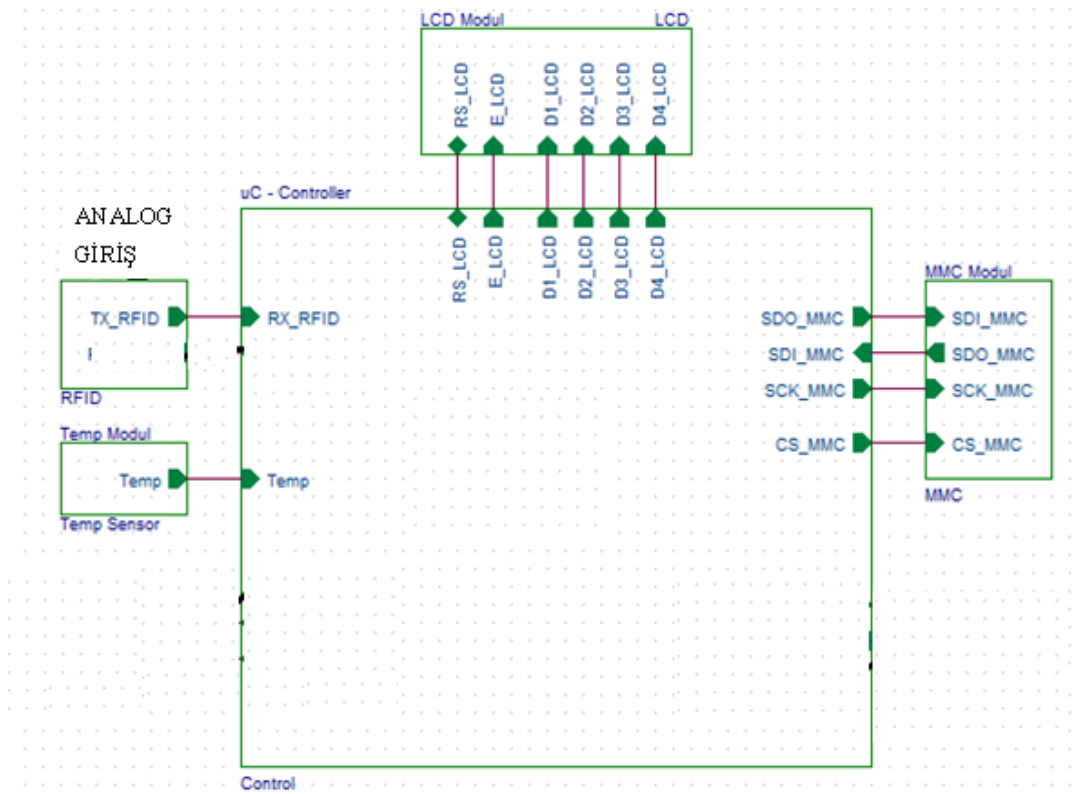
Basınç altında daha iyi çalışma.

İnsan vücudu eşit algısal gözlem gerektiren, fevkalade hassas bir mekanizmadır. Kullanılan basınç sensörlerinin ölçüm kategorileri mutlak, fark basıncı ölçer veya vakum ölçerdir. “0 psi ile 250 psi (0 bar ile 17.24 bar) basınç aralığını kapsayan bu sensörler ile dijital çıkış, küçük boyut, azaltılmış maliyet, gelişmiş güvenilirlik, zor koşullar altında tekrarlanabilirlik ve doğruluk elde edilmektedir.



Şekil 3.4. Ultra-Düşük Basınç Sensörleri.

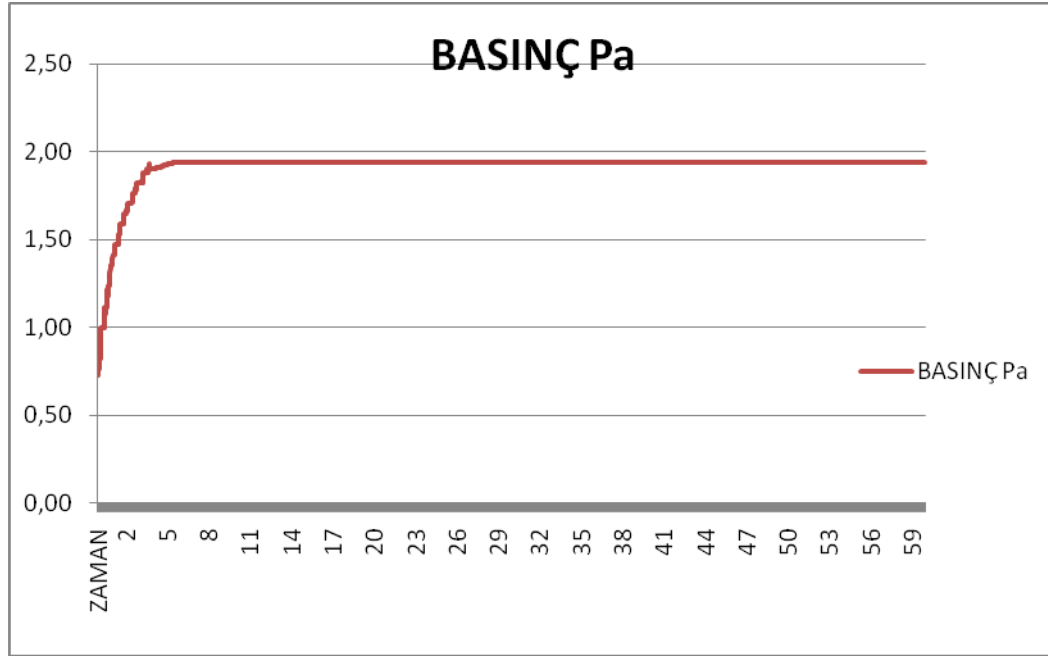
3.3. Ölçüm Düzeneği



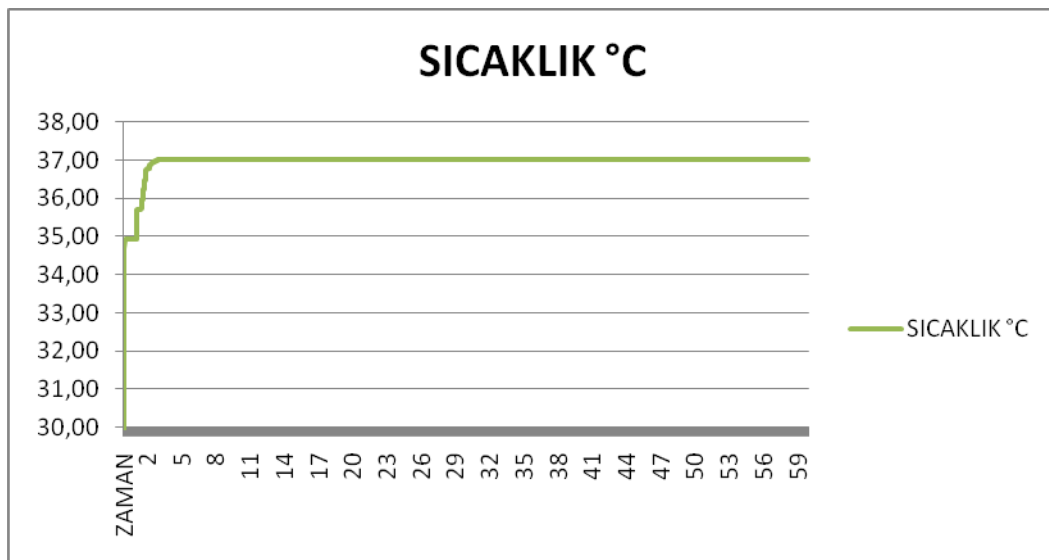
Şekil 3.5. Ölçüm düzeneği.

3.4. Ölçüm Sonuçları

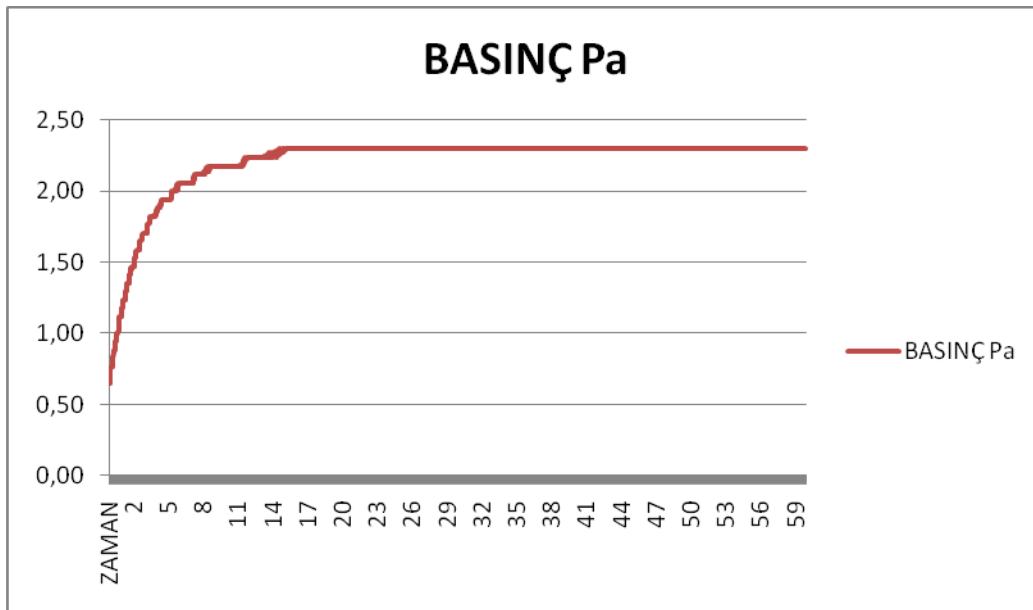
Yapılan devreyle mikroişlemci satte 1300 değer okuyup bunları Olympic scoring yöntemi ile 130 değere indirip kaydedildi. Bu ölçümlere ait basınç ve sıcaklık grafikleri aşağıdaki gibidir.



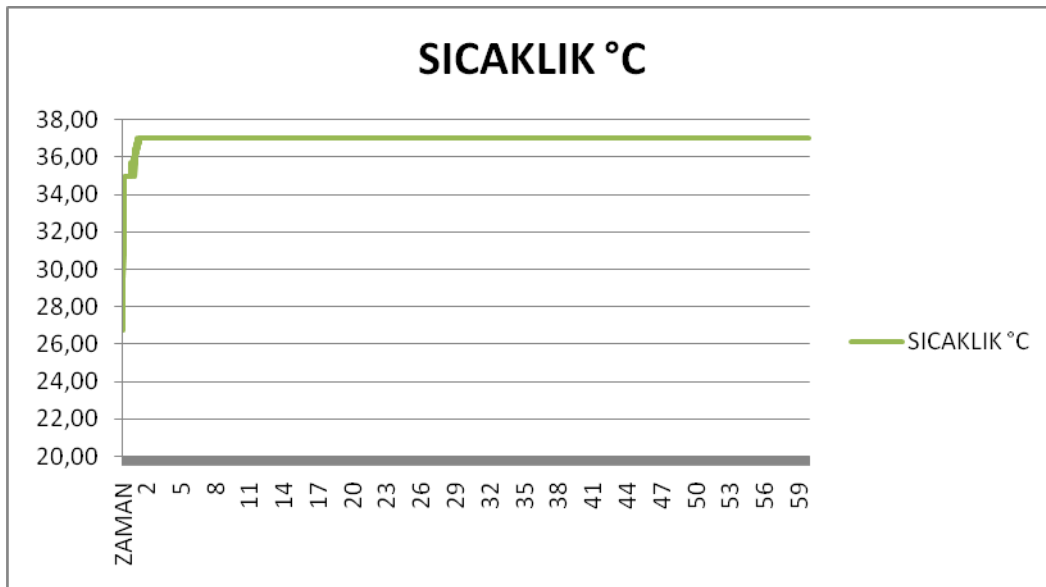
Şekil 3.6. Temiz kan numunesi basınç grafiği



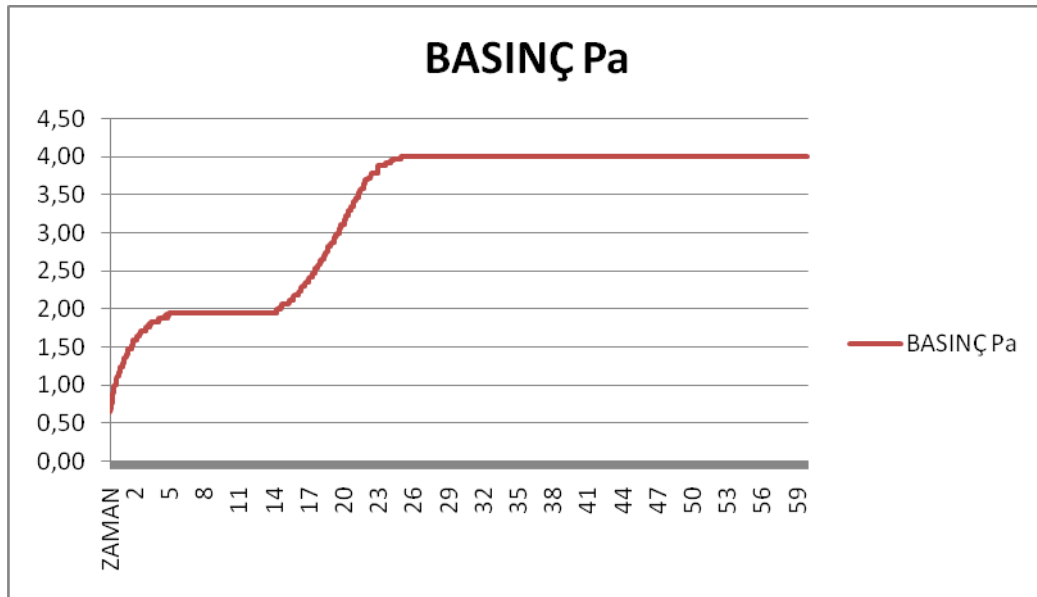
Şekil 3.7. Temiz kan numunesi sıcaklık grafiği



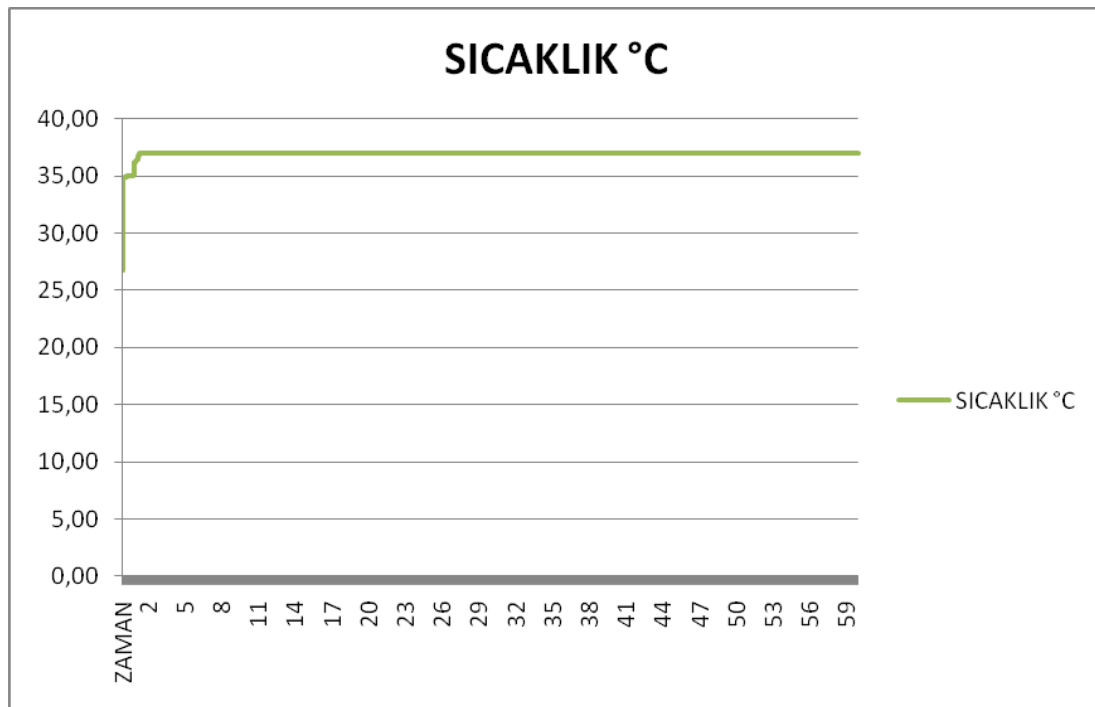
Şekil 3.8. Nötr numune basınç grafiği



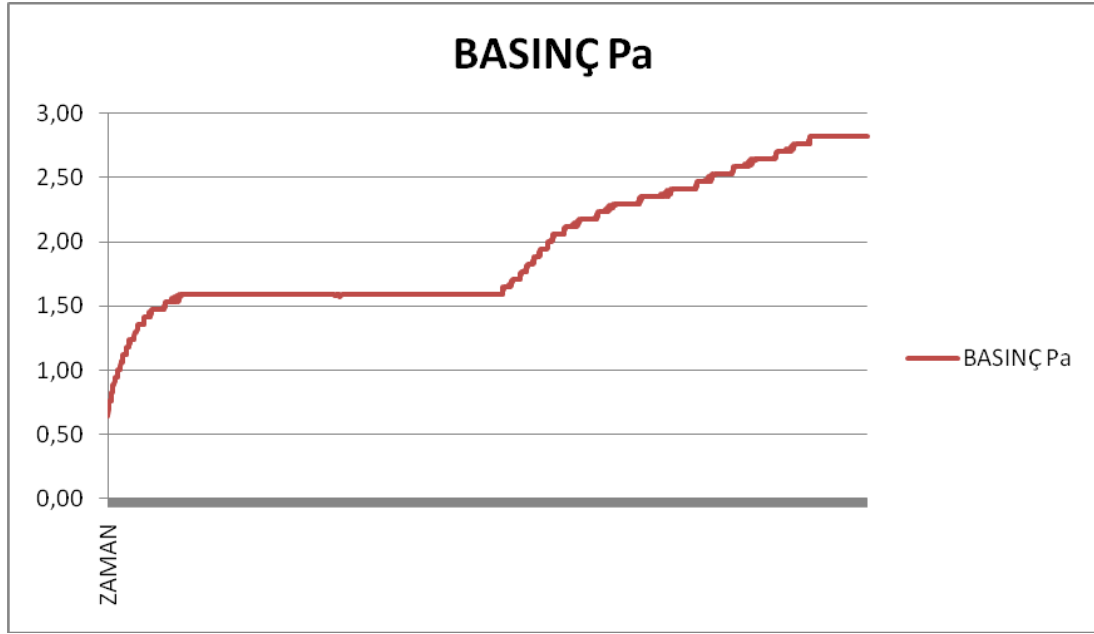
Şekil 3.9. Nötr numune sıcaklık grafiği



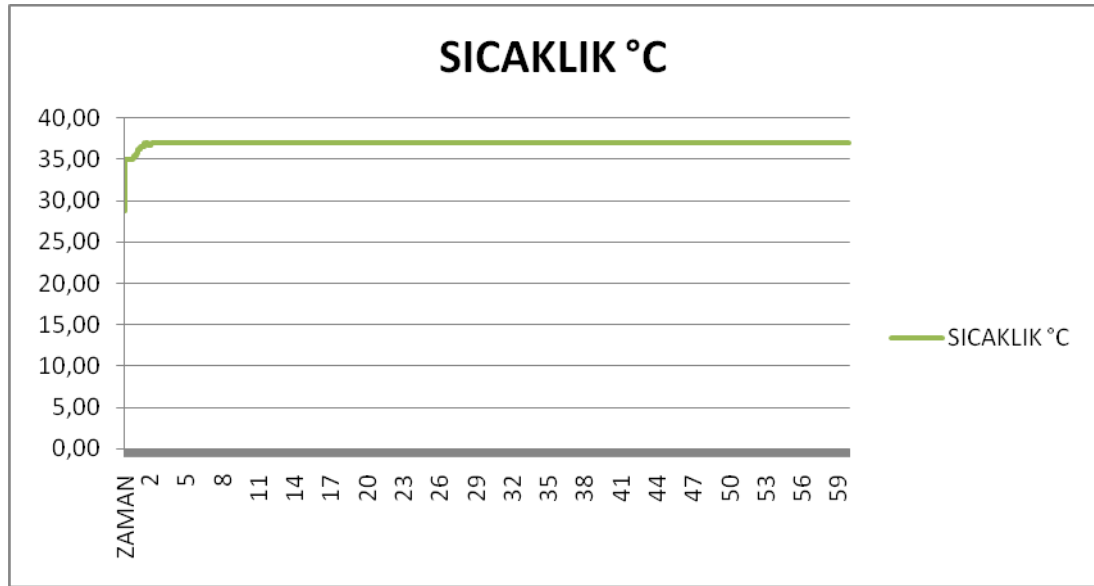
Şekil 3.10. Mikroplu numune basınç grafiği



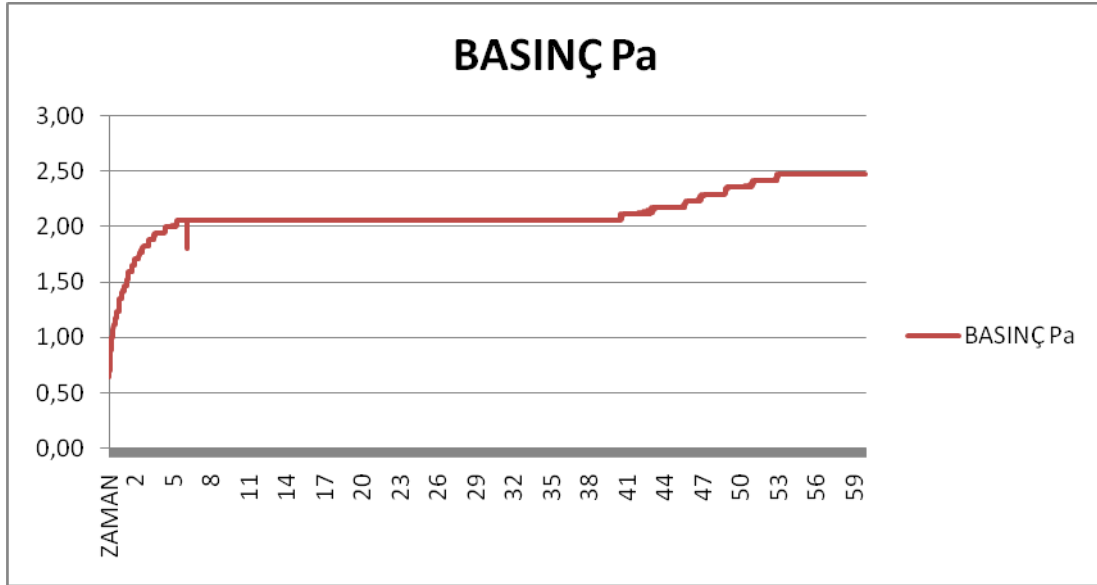
Şekil 3.11. Mikroplu numune sıcaklık grafiği



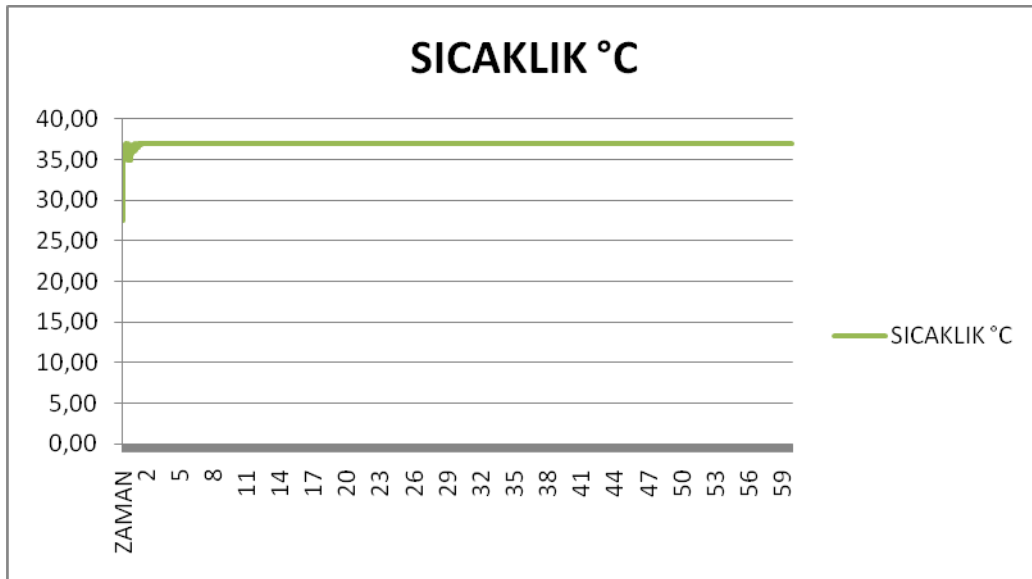
Şekil 3.12. Candida mikroplu numune basınç grafiği



Şekil 3.13. Candida mikroplu numune sıcaklık grafiği



Şekil 3.14. Epiderimdis mikroplu numune basınç grafiği



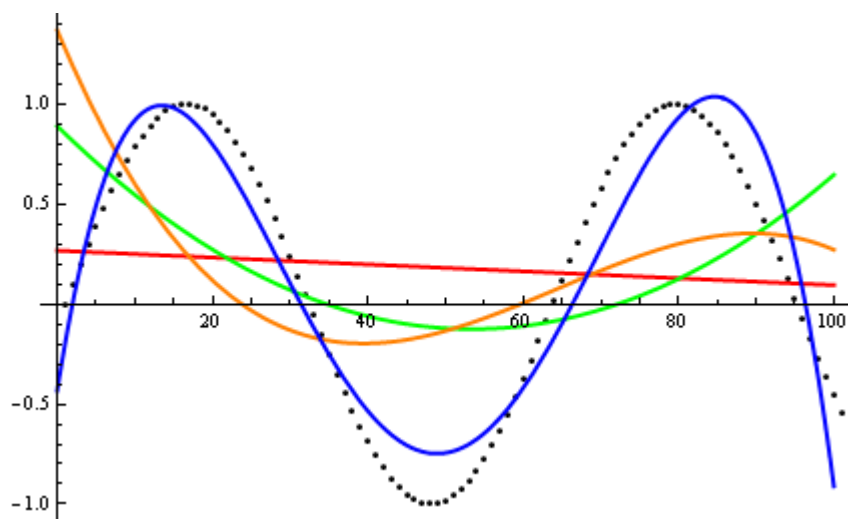
Şekil 3.15. Epiderimdis mikroplu numune basınç grafiği

BÖLÜM 4. VERİLERİN FORMÜLE İFADESİ (EĞRİ UYDURMA)

Eğri uydurma bir eğri veya bir dizi veri değerini ifade etmek için kullanılan en uygun matematiksel fonksiyon ya da işlemdir. Eğri uydurma, bir diziyi tam ifade etmek için interpolasyon ya da, "yumuşak" bir fonksiyonu yumuşatarak yaklaşık verileri elde etmek için en uygun yöntemdir. Bu konuyla ilgili olarak regresyon analizi de böyle bir eğride istatistiksel değerlendirmeler sonucunda ne kadar kesin olmayan değerler oluştuğuna odaklanır. Uydurulmuş eğriler herhangi bir verisi mevcut olmayan bir fonksiyonun anlaşılması ve iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkileri özetlemek için görselleştirmede kullanılan yardımcı bir metottur. Dışdeğerbiçim gözlenen veri aralığının ötesinde uydurulmuş bir eğrinin kullanılması anlamına gelir ve gözlenen verileri yansıttığından daha çok eğri oluşturmak için kullanılan yöntem hakkındaki bir belirsizlik derecesi yansıtır olabilir.

4.1. Eğri Uydurma Tipleri

4.1.1 Doğruların ve polinomik eğrilerin verilere uydurulması



Şekil 4.1. Doğruların ve polinomik eğrilerin verilere uydurulması

Birinci derece polinom denklemi ile başlayalım:

$$y = a x + b$$

Bu eğimi a olan bir doğru. Doğrunun iki noktayı birleştiren bir çizgi olduğunu biliyoruz. Dolayısıyla birinci dereceden bir polinomun farklı x koordinatlarındaki iki noktayı uyumlu hale getiren bir eşitlik olduğunu söyleyebiliriz.

Polinomun derecesini 2.dereceye artırırsak aşağıdaki denklemi elde ederiz

$$y = a x^2 + b x + c$$

Bu üç noktayı basit bir eğri ile tam olarak uyumlu hale getirecektir.

Polinomun derecesini 3.dereceye artırırsak aşağıdaki denklemi elde ederiz

$$y = a x^3 + b x^2 + c x + d$$

Bu denklem dört noktayı basit uyumlu hale getirecektir.

Daha genel bir deyimle tam dört kısıtlamayı uyumlu hale getirecek demektir. Her bir kısıtlama bir nokta, açı ya da eğrilik olabilir (ortak özellikleri olan bir dairenin yarıçapı karşılık gelir). Açı ve eğrilik kısıtlamaları bir eğrinin ucuna en sık eklenir ve bu gibi durumlara uç koşulları denir. Özdeş uç koşulları sık sık tek bir eğri cetveli içinde bulunan polinom eğrileri ile yumuşak bir geçiş sağlamak için kullanılır. Yüksek mertebeden sınırlamalar, örneğin "eğrilik oranı değişim" de ayrıca eklenebilir.

Bu uygulanan kuvvetler değişim oranını anlamak için, karayolu yonca tasarımını örnek verebiliriz, arabanın sarsıntısız şekilde dönebileceği makul hız sınırını ayarlama da faydalı olabilir. Şunu akılda tutmalıyız ki, birinci dereceden polinom eşitliği bir noktayı uyarlamak için, 3.dereceden polinomik eşitlikle bir açı 2 noktanın

ve bir aç kısıtlamasının uyarlanmasına yeterlidir. Bu ve daha yüksek mertebeden polinom denklemler ve kısıtlamalar için pek çok kombinasyonlar mümkündür.

Eğer biz $n + 1$ den fazla kısıtlamaya sahipsek (n polinom derecesi) biz hala bu kısıtlamalar yoluyla polinom eğrisi çalıştırabiliriz. Tam bir uyarlama mümkün olmayabilir (ancak aynı doğru üzerinde sıralanmış 3 noktayı 1.dereceden bir polinom uyumlu hale getirebilir) Ancak genel olarak, bazı yöntemler sonuca yaklaşmak için değerlendirmelere ihtiyaç duyar. En küçük kareler yöntemi sapmaları karşılaştırmak için bir yoldur.

Şimdi siz, sadece polinom denkleminin derecesini artırmak ve tam bir eşleşme olması yerine, neden yaklaşık bir uyum elde etmek istediğimizi merak ediyor olabilirsiniz. Bunun birkaç nedeni var.

Tam bir eşleşme var olsa bile onu bulmak için aynı yolu takip etmemiz gerekmez. Kullanılan algoritmaya bağlı olarak birbirinden farklı bir durumda karşılaşırsak, tam bir uyum hesaplanmadığında çözümü bulmak bilgisayarla çok uzun alabilir. Her iki şekilde de, sonunda yaklaşık bir çözümü kabul etmek zorunda kalabiliriz. Biz gerçekten eğriye tam olarak uyması için deforme etmek yerine sorgulanabilir veri puan ortalamasını tercih edebiliriz.

Runge fenomeni: Yüksek mertebeden polinomlar yüksek salınımlı olabilir. A ve B olmak üzere iki nokta arasında bir eğri çalıştırırsanız bunun A ile B nin orta noktasında olmasını bekleriz. Bu yüksek dereceden polinom eğrileri ile olmaz, çünkü bu polinomlar pozitif ve negatif çok büyük değerler alabilirler. Düşük dereceden polinomları ile, eğrinin orta noktasına yakın bir düşüş olasılığı daha yüksektir. (birinci derece polinom bile tam orta noktası üzerinden çalışmasını garantidir)

Düşük dereceden polinomlar pürüzsüz ve yüksek dereceden polinom eğrileri "yumrulu" olmak eğilimindedir. Daha doğrusu n . dereceden bir polinom eğrisinde maximum $n-2$ tane köşe/dönüm noktası bulunur. Bir dönüm noktası,

pozitif bir yarıçaptan negatife geçen bir eğri üzerindedir. Bunu "su tutma" dan, "su akıtan" a geçişlerde diye de söyleyebiliriz. Yüksek mertebeden polinomları yumrulu olacağını "mümkün" olmakla beraber yumuşak da olabilirler ama bunun aksine, düşük dereceden polinom eğrileri ile bunun hiçbir garantisi yoktur. Bir on beşinci derece polinom, onüç dönüm noktasına sahip olabilir ama sıfırdan 12 ye kadar farklı sayıda köşe de olabilir.

Şimdiye kadar tam bir uyum için gerekli olan çok düşük bir derece ile ilgili konuştuk, şimdi polinom eğrisi tam bir uyum için gerekli olandan daha yüksek derecede ise neler olacağını tartışacağız. Bu, yüksek mertebeden polinomlar için daha önce listelenen tüm nedenlerden daha kötü ama aynı zamanda sonsuz çözüm durumuna da imkân verir. Örneğin, genelde kısıtlı birinci dereceden polinom (çizgi) belirten iki nokta yerine sadece bir tek nokta, bize sonsuz sayıda çözümler verebilir. Bu da sorunun yanı sıra, yazılım ve insanlar için bir sorun olan sadece tek bir çözümün karşılaştırma ve seçimin nasıl yapılacağı problemini de ortaya çıkarır.

Bu nedenle, yaklaşık bir uyum kabul edilebilir ise genellikle bütün kısıtlamaları kesin bir eşleme için mümkün olduğunca düşük bir derece ve belki daha da düşük bir derecede seçmek için en iyisidir.

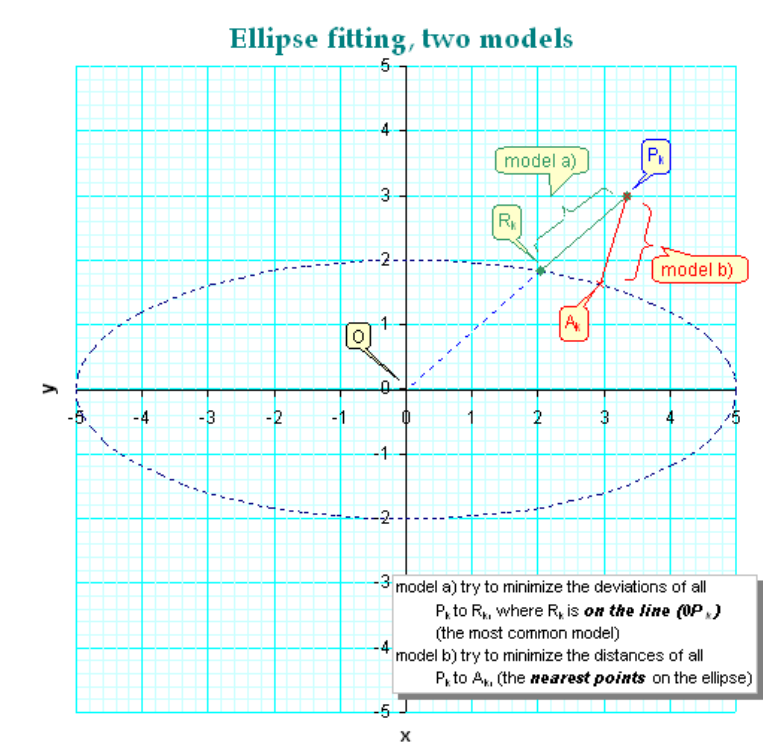
4.1.2. Diğer eğrilerin verilere uydurulması

Bazı durumlarda konik kesitler (dairesel, eliptik, parabolik) veya trigonometrik fonksiyonlar gibi diğer eğri türleri de kullanılıyor olabilir. Örneğin, yerçekimi etkisi altındaki nesnelerin yörüngeleri hava direnci göz ardı edildiğinde parabolik bir yol izler. Bu nedenle, yörüngeye uyan veri noktalarını parabolik bir eğri ile uyarlamak mantıklı olur. Gelgit sinüsoidal kalıpları izler, dolayısıyla gelgit veri noktaları sinüs dalgalarına uyumlu olmalıdır yada Ay ve Güneş'in etkileri düşünüldüğünde farklı zamanlı iki sinüs dalgasının toplamına uyarlanabilir.

4.1.3. Eğriler için geometrik uyarlama yerine cebirsel uyarlama

Cebirsel veri analizi, "uydurma" için genellikle bir noktanın dikey (y eksen) deplasman eğrisi en aza indiren eğriyi bulmak için çalışıyoruz anlamına gelir (örneğin en küçük kareler yöntemi). Ancak geometrik uydurma grafik ve görüntü uygulamaları için uygun olan görseli sağlamak için çalışır. Genellikle eğride (örneğin, en az toplam kareler) dik mesafeyi en aza indirmek için çalışıyor demektir, yada eğrideki bir noktanın her iki eksen de başka bir noktanın deplasman deplasmanını sağlamak için. Geometrik uyarlama, daha estetik ve geometrik olarak doğru bir sonuç avantaj olmasına rağmen, genellikle doğrusal olmayan ve / veya yinelemeli hesaplamalar gerektirdiğinden popüler değildir.

Daire için geometrik uyarlama



Şekil 4.2. Dairenin geometrik uydurulması

Coope bir dizi 2B veri noktalarının dairesel uyarlaması için en iyi görseli bulmaya çalışırken soruna yaklaşır. Bu yöntem zarif bir şekilde yinelemeli sayısal yöntemler kullanmadan normalde doğrusal olmayan bir sorunu, çözülebilecek doğrusal bir sorun haline dönüştürüyor dolayısıyla daha önceki yöntemlere göre daha hızlı bir yöntem sağlıyor.

4.1.4. Eliptik şekiller için geometrik uyarlama

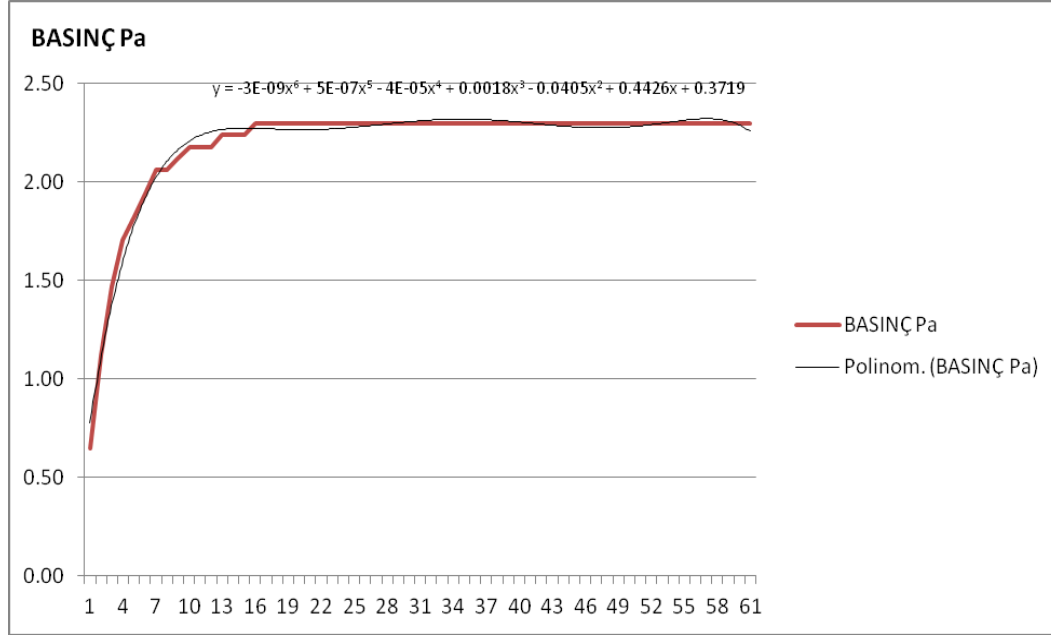
Yukarıdaki teknik, non-lineer bir adım ekleyerek, hızlı bir yöntemle, görsel olarak tatmin edici rastgele bir yönlendirme ve yer değiştirme sağlayan genel elips denklemi haline gelmiştir.

4.1.5. Yüzeylere uygulama

Şunu unutmamak gerekir ki bu tartışma 2D eğrilerden başlar ama bu mantık aynı zamanda 3 boyutlu yüzeyler kadar uzanır, her yama genellikle u ve v olarak adlandırılan iki parametrik yönde net eğrilerle tanımlanır. Bir yüzey her yönde bir veya daha fazla yüzey yamalarından oluşuyor olabilir.

4.2. Örnek Uygulama

Örnek olarak nötr kan basınç grafiği üzerinde eğri uydurma yöntemi ile analiz yapıldığında aşağıdaki denklem elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Eğri uydurma yöntemi ile nötr numune basınç-zaaman değişimi formülünün elde edilmesi

BÖLÜM 5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Geliştirdiğimiz otomatize olmayan sistemin bakteri üremesini pozitif demek için gereken sürenin ortalama 20 saat ve negatif demek için gereken sürenin ortalama 60 saattir. Oysa şu anda kullanılan pahalı ithal sistemlerin (BD) ortalama pozitif demek için gereken minimal süre 72 saat ve negatif demek için gereken süre ise 240 saattir. Başka bir ifadeyle mevcut geliştirdiğimiz otomatize olmayan sistem pozitif için 9 kat ve negatif için 15 kat daha hızlıdır.

KAYNAKLAR

- [1] HALKMAN, A., Kadir, Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları, Ankara, 2007.
- [2] Türkiye’de Bulaşıcı Hastalıkların Epidemiyolojik Sürveyansı ve Kontrolü Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, (TR 0403.06), Temel Laboratuvar Yönetimi Eğitimi, Kurs Kitabı Ankara, Mart, 2007.
- [3] ÇOTUK, A., Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri, Nobel Tıp Kitabevleri, 2003.
- [4] TEMİZ A., Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- [5] SEZGİN N., Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, 2002.
- [6] BİLGEHAN H., Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi (11. Baskı), İzmir, 2005.
- [7] BİLGEHAN H., Klinik Mikrobiyolojik Tanı (4. Baskı), İzmir, 2004.
- [8] USTAÇELEBİ Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevleri, 1999
- [9] AKMAN M., GÜLMEZOĞLU E., Tıbbi Mikrobiyoloji, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-15, Ankara, 1976.
- [10] HAYRAN M., KOCAGÖZ T., Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar El Kitabı, Ankara, 1991.
- [11] COOPE, I.D., Circle fitting by linear and nonlinear least squares, Journal of Optimization Theory and Applications Volume 76, Issue 2, New York: Plenum Press,
- [12] SHEER, P., A software assistant for manual stereo photometry, M.Sc. thesis, 1997

ÖZGEÇMİŞ

Ahmet BULUTLUÖZ, 18.01.1972’de Malatya’ da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Malatya’da tamamladı. 1989 yılında Malatya Lisesinden mezun oldu. 1989 yılında başladığı İTÜ Sakarya Mühendislik Fakültesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği bölümünü 1995 yılında bitirdi. 1995 – 2003 Yılları arasında farklı işyerlerinde imalat mühendisi ve yönetici olarak çalıştı. 2003 yılında 2 ortağıyla birlikte Penta Sistem Mühendislik Ltd.Şti. kurdu. Halen bu firmada şirket ortağı olarak inşaat taahhüt ve bilişim alanlarında çalışmaktadır.

A. BULUTLUÖZ		HEMOKÜLTÜR ÖLÇÜMLERİNİN BASINÇ YÖNTEMİ İLE MODELLENMESİ		ŞUBAT 2012
---------------------	--	--	--	-------------------