

KARANLIK ALAN MİKROSKOPUNDA İNCELEME

Tanım

Karanlık alan mikroskopunun çalışma prensibi, preparata gelen merkezi ışınların engellenerek sadece oblik ışınların incelenecek örneğe ulaşmasını sağlamaktır. Bu amaçla kondansatörün altına opak bir disk yerleştirilir. Böylece sadece kenardan gelen ışınlar kondansatörden geçerek oblik olarak preparata ulaşır. Öncesinde sadece karanlık bir alan şeklinde görülürken, preparat yerleştirildiğinde oblik ışınlar partiküller tarafından yön değiştirerek objektife, okülere ulaşır. Bu yansımalar karanlık alan içinde parlak aydınlık görüntüler olarak algılanır.

Kullanım Alanları

- 1-Genellikle boyanmamış örneklerin görüntülemesinde yararlıdır.
- 2-Havuz suyu, deniz suyu gibi sıvıların içerik incelemesinde kullanılır.
- 3-Hücre süspansiyonlarında hücrelerin görüntülenmesinde kullanılır. Örneğin bakteri, maya, protozoa içeren süspansiyonlar ya da yanak epitel hücreleri, kan hücreleri gibi hücre ve doku ekstratları bu yöntemle bir ön inceleme yapılabilir.
- 4-Hücre kültürlerinin incelemesinde, kültürlerde hareketliliğin belirlenmesinde kullanılır.
- 5-Otoradyografi uygulanmış preparatların incelemesinde kullanılır.

Dermatolojide sifilizin farklı aşamalarında kullanılabilen karanlık saha mikroskobu, *Treponema pallidum*'un doğrudan saptanmasını sağlayarak sifiliz tanısında en özellikli ve hızlı yöntem olmuştur. Primer, sekonder, enfeksiyöz relaps ve nemli lezyonların bulunduğu erken konjenital sifilizde tanı koydurucudur.

Gereçler

- 1-Serum fizyolojik (%0,9 NaCl)
- 2-Eldiven
- 3-Gazlı bez
- 4-Lam
- 5-Lamel
- 6-Karanlık saha mikroskobu
- 7-İmmersiyon yağı

Uygulama

A)Örneğin Alınması

- 1-Örnek, antibiyotik tedavisi başlamadan alınmalıdır.
- 2-Birden fazla lezyon varsa en yenisi seçilmelidir.
- 3-Lezyon temizse hemen, kurutulmuş ya da kirli ise silindikten sonra alınmalıdır. Antiseptik, antibakteriyel, sabun kullanmadan sadece serum fizyolojik emdirilmiş gazlı bez ile silme ya da dikkatli ve nazikçe kurutu kaldırma işlemi yapılır. Temizleme esnasında mümkün olduğunca az miktarda sıvı kullanılmalıdır, fazla miktarı organizmaları seyrelterek *T.pallidum*'un bulunmasını zorlaştırabilir.
- 4-Lezyon temizlendikten sonra gazlı bezle yüzeysel olarak, çok hafif kanama odakları görene dek kazınır. Bir kaç dakika kan elemanlarının çökmesi beklenir.
- 5-Lezyonun tabanına ve kenarlarına lezyondan şeffaf eksuda gelene kadar hafif basınç uygulanır (lezyonun iki tarafındaki deri, her iki elin başparmağı ya da tek elin baş ve işaret parmakları kullanılarak gerilip bastırılır, sıkılmaz).
- 6-Şeffaf eksuda lam üzerine damlatılır. Hemen lamel ile kapatılır ve organizmalar henüz canlı iken incelenmek üzere hızla karanlık alan mikroskobuna yerleştirilir.

7-Servikal ve vajinal lezyonlarda spekulomla muayene edilerek lezyon belirlenir. Serum fizyolojik ile silinir ve gazlı ped ile hafifçe kazınır. Pastör pipeti ile alınan şeffaf eksuda lam üzerine yayılır.

B)Karanlık alan mikroskopunda değerlendirme

1-Birkaç damla immersiyon yağı, karanlık alan mikroskopunun kondansatörü üzerine damlatılır.

2-Kondansatör yavaşça aşağıya indirilerek yağın dağılması sağlanır.

3-Preparat mikroskoba yerleştirilir ve kondansatör preparat ile iyi temas edene dek yükseltilir. Yağ içinde hava kabarcıklarının kalmamasına dikkat edilmelidir.

4-Önce 10x büyütme ile preparat odaklanır; 40x büyütme ile değerlendirilir.

Yorum

T.pallidum siyah zeminde beyaz, soluk görülür. Tipik morfolojisi, boyutu ve hareketi ile tanınır. Tirbuşon şeklinde olup 8-20 düzenli kıvrımdan oluşur. Oldukça ince olan organizmanın boyu 6-15 µm'dir. Kendi etrafında uzun ekseni boyunca dönerek ileri ve geri hareket eder. Hareketi sırasında oldukça tipik olarak dar ya da geniş açılar çizer.

Karanlık alan mikroskopunda organizmanın görülmemesi sifiliz tanısını ekarte ettirmez. Üç farklı günde işlem tekrarlanmalıdır.

Hasta antimikrobiyal tedavi almaktaysa ya da lezyonda organizma sayısı yetersizse (özellikle eskimiş, iyileşmekte olan lezyonlarda) inceleme negatif sonuçlanabilir. Ayrıca işlemin deneyimli personel tarafından yapılması ve değerlendirilmesi de önem taşır.