

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI
SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

Z. J. Shapulatova

“MIKROBIOLOGIYA”

FANIDAN
USLUBIY QO'LLANMA
(amaliy, aboratoriya mashg'ulotlari)

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI
SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

Z. J. Shapulatova

“MIKROBIOLOGIYA”

FANIDAN
USLUBIY QO'LLANMA
(amaliy, laboratoriya mashg'ulotlari)

Ushbu uslubiy qo'llanma "Mikrobiologiya" fanidan (amaliy, laboratoriya ma'lumotlari) 610100 veterinariya bakalavr yo'nalishi uchun dastur va rida o'qituvchi Z. I. Shupulato'va tomonidan yozilgan.

Taqrizchilar:

M.P. Panmanov Samarqand viloyati Hayvonlar kasalliklari va parazitologiya kafedrasini professori

M.T. Isoqov Samarqand viloyati veterinariya laboratoriyasi direktori, veterinariya fanlari nomzodi

610100 Veterinariya bakalavr yo'nalishi talabalari uchun

"Mikrobiologiya" fanidan uslubiy qo'llanma (amaliy, laboratoriya ma'lumotlari) institut Markaziy o'quv va uslubiy kengashining 2009 yil 1 sonli yig'ilishida tasdiqlangan va uslubiy qo'llanma sifatida chop etishga tavsiya etilgan.

So'z boshi

Uslubiy qo'llanma umumiy va xususiy mikrobiologiya bo'limlaridan iborat. Umumiy mikrobiologiya bo'limida laboratoriyada ishlash qoidalari, jihozlari; mikroorganizmlar fiziologiyasi, ularning patogenligini aniqlash, serologik reaksiyalarni qo'yish usullari, veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar, ulami nazorat qilish; xususiy mikrobiologiya bo'limida mikroblarni qiyoslash usullari, laboratoriya diagnostikasi keltirilgan. Mustaqil ish uchun ham mavzular berilgan.

Veterinariya, zootexniya va qorako'lchilik bo'limi talabalari, magistrlar, laboratoriya mutaxassislari, veterinariya vrachlari amaliyotda foydalanishlari mumkin.

Ushbu uslubiy qo'llanma talabalarni mikrobiologiya fanidan olgan nazariy bilimlarini mustahkamlab, o'quv materialni mustaqil o'zlashtirish, mikrobiologik tekshirish uslublarini amalda o'rganishga imkon beradi. Laboratoriya tekshirish usullari qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalarda uchraydigan yuqumli kasalliklarni erda aniqlash, ularning shakllarini farqlash, qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini aniqlash, ularning oldini olish va qarshi kurashishda xo'jaliklarga katta amaliy yordam beradi.

Laboratoriyada mikrobiologik tekshirish usullarini samarasi, aniq diagnoz qo'yishning muvoffaqiyati aslida patologik materialni to'g'ri olish, o'z vaqtida laboratoriyaga etkazish, saqlash qoidalariga rioya qilish kabilarga bog'liq. Har bir kasallikning o'ziga xos patogenezini ba mikrobnining topilmiga alohida e'tibor berish juda katta ahamiyatga ega.

Mashg'ulotlar mavzusi dastur asosida ketma ketlikka rioya qilingan holda berilgan. Uslubiy jihatdan har bir mashg'ulot quyidagicha ishlangan: mavzu nomi, mashg'ulotning maqsadi, material va jihozlar, uslubiy ko'rsatma, nazorat savollari. Masg'ulotlar leksiya materiallari bilan uzviy bog'langanligi tufayli talabalar hayvonlarning yuqumli kasalliklariga mikrobiologik diagnoz qo'yish usullarini engil o'zlashtiradilar.

Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma

Talabalar ma'lum mavzuda amaliy mashg'ulotlarni bajarishlari uchun avval o'sha mavzu bo'yicha nazariy bilim va yaxshi tushunchaga ega bo'lishlari kerak. O'qituvchi talabalarni patologik material bilan aniq, toza va ehtiyotlik bilan ishlashga o'rgatadi. Laboratoriyaning muhiti, xonaning ideal tozaligi talabalarda mas'uliyat hissini, o'ziga talabchanlikni tarbiyalaydi, kuchaytiradi. Birinchi amaliy darsda talabalarni kafedra, laboratoriyaning ish tartibi va qoidalari bilan tanishtirish lozim: laboratoriyaga xalatda kirib o'zining ish joyini egallab, ish stolida barcha kerakli predmetlar bormi, mikroskop ish holatidami tekshiradilar va kamchiliklarni darhol o'qituvchiga aytadilar; amaliy darslarda nihoyatda finchlik saqlanishi kerak, maqsadsiz bir joydan ikkinchisiga ko'chish mumkin emas; ruxsatsiz laboratoriyadan tashqariga birorta materialni probirka, bo'yoq, pipetka va h.k. chiqarish man etiladi; shaxsiy buyumlarni (kitob, sumka) maxsus ajratilgan joyda qoldirib, o'zida dafdar, rangli flomaster va ruchka qolishi kerak. Zararli materialni tekshirganda, tirik kulturalar bilan ishlaganda faqat kerakli asboblardan foydalaniladi (pinsetlar, bakteriologik ilmoq, shpatel va h.k.). Ishlatilgandan so'ng bu asboblalar alangada cho'g' holiga keltirib, qaynatib, yoki boshqa usullar bilan dezinfeksiya qilib zararsizlantiriladi. Bexosdan bakteriya kulturasini, zararli material bilan ifloslangan predmetlar darhol dezinfeksiyalanishi kerak.

O'qituvchi talabalar bilan savol-javoblar o'tkazib, mavzuga tushuncha beradi. Talabalarga aniq topshiriq va vazifalar berib, ularni bajarish uslublari bilan tanishtiradi. Ba'zan mavzuga bog'liq holda uslublarni o'qituvchining o'zi talabalarga bajarib ko'rsatadi. Talabalar ko'rib, kichik guruhlariga bo'linib mashg'ulotlarda berilgan vazifalarni mustaqil ravishda o'zlari bajaradilar. O'qituvchi vazifani bajarish jarayonini nazorat qilib, kerak bo'lganda yordam beradi, talaba xatoga yo'l qo'ysa tezda uni tuzatib tushuncha beradi. Natijalarini o'qituvchi preparatni mikroskopda ko'rib nazorat qiladi, ish to'g'ri bajarilgan bo'lsa, uni daftarga yozib, chizib olishlariga ruxsat beradi. Talabalar jadval va rangli plakat, tarqatma kartochkalardan ham foydalanib, bajarayotgan ishlarini qiyoslay olishlari, sinchiklab kuzatishlari, bir vaqtda tartib bilan ketma-ketlikni saqlagan holda ishlashga o'rganishlari kerak. Laboratoriyada talabalarga ajratilgan stoldagi asbob, uskuna, anjom, eritma, kultura bo'yoqlari bilan tanishib, ularni ishlatishni o'zlashtiradilar.

Darsdan keyin har bir talaba ish joylarini tartibga keltirib, qo'llarini yaxshilab yuvib, dezinfeksiyalaydilar. O'qituvchi va talabalar shaxsiy gigiyena hamda texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilishlari shart.

Dars oxirida o'qituvchi talabalar bajargan ishni baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustahkamlab boradi. Xususiy mikrobiologiyani o'rganishda yuqumsiz kasallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olinganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa yanada yaxshi bo'ladi.

BO'LIM I UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

1. Amaliy mashg'ulot №1

Mavzu: Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyasi, uning asosiy jihozlari va unda ishlash qoidalari bilan tanishtirish. Mikroskopning tuzilishi va u bilan ishlash qoidalarini o'rganish.

Material va jihozlar: Har xil modeldagi biologik mikroskop; immersion moy, bo'yalgan tayyor har xil mikrob preparatlari to'plami.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi talabalarga bakteriologik laboratoriyada o'zini tutish va ishlash tartibini, texnika xavfsizligi va shaxsiy profilaktika qoidalariga amal qilish kerakligini tushuntiradi, talaba :

1. Biologik mikroskopning tuzilishi bilan tanishib, rasmini daftarga chizadi va asosiy qismlari nomini yozadi.

2. Preparatni mikroskopda ko'rish usullarini o'rganib, mustaqil ravishda immersion oby'ektivda bo'yalgan tayyor biologik preparatlarni ko'radi.

Veterinariya bakteriologiya laboratoriyasi bu – Davlat veterinariya xizmati korxonasi bo'lib, uning faoliyati chorvachilikni rivojlantirishga, hayvonlar yuqumli kasalliklarining oldini olish va ularni yo'q qilishni ta'minlashga, shuningdek xalqni hayvonlar va odamlar uchun umumiy bo'lgan kasalliklardan himoya qilishga qaratilgan. Ish masshtabi bo'yicha veterinariya laboratoriyasi tizimi quyidagicha: tuman, tumanlaro, (zonal), viloyat va respublika veterinariya laboratoriyalari.

Veterinariya laboratoriyasining asosiy vazifasi – qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalar, mo'ynali hayvonlar, baliq, asalari va h.k. lar kasalliklariga diagnoz qo'yish, hamda go'sht, sut, va boshqa hayvon va o'simliklardan olinadigan oziq ovqat mahsulotlari, oziqalarni ekspertiza qilishdan iborat. Laboratoriyalarda shuningdek ilmiy ishlar bajariladi.

Veterinariya laboratoriyasida qabul qilish, bakteriologiya, virusologiya, toksikologiya, serologiya, patanatomiya, veterinariya-sanitariya ekspertizasi, parazitologiya, radiologiya bo'limlari bo'ladi. Bundan tashqari alohida sterilizatsiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, oziqa muhit tayyorlash xonalari, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks. laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqalari, oq kalamush, quyon, donor

qo'ylar va h.k.) uchun vivariya, va alohida biosinov xonasi bo'lishi kerak. Bundan tashqari ma'muriyat va mutaxassislar uchun xonalar ajratilgan bo'lishi kerak. Laboratoriya ishchi xonalari yorug', keng, baland bo'lib, poli linoleum yoki kafellangan, devoriga plastika yoki kafel urilgan, stol 80 sm balandlikda usti plastika, linoleum, oyna bilan qoplangan yoki maxsus oq bo'yoq bilan bo'yalgan, hamda, barcha kerakli jihoz, asbob – uskunalar, reaktiv va h.k.lar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak. Issiq, sovuq suv, kanalizasiya, sovun, sochiq va dezinfeksiyalovchi eritmalar bo'lishi zarur.

Mikrobiologiya laboratoriyasining jihozlari. Laboratoriyada ishlash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo'shimcha moslamalari bilan (yoritgich, fazli – kontrastli qurilma, qorong'i maydonli kondensator va h.k.), lyuminissentli mikroskoplar, termostatlar, sterilizasiya uchun apparatura (quritgich sbkaf, avtoklav, Kox apparati), pII – metr, distillangan suv olish uchun apparat (distillyator), sentrifugal. texnik va analitik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikroanaerostat, sovutgichlar, paxta – dokali tiqinlar tayyorlash uchun apparat, asboblardan to'plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'lchamli pipetkalar) va boshqalar.

Laboratoriyada preparatlarni bo'yash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial bo'yoqlar, spirt, kislotalar eritmaları, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli gorelka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi eritmaları bor bankalar bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari. Laboratoriyada steril (nihoyatda toza) muhit yaratish va tozalikka hamda tartibga qat'iy rioya qilish zarur. Xususan mikrobiologiya laboratoriyasida ish boshlashdan oldin talabalarni u yerdagi tartib – qoida bilan batafsil tanishtirish kerak.

1. Laboratoriyada oq xalat va qalpoq kiyib ishlash kerak. Xalatsiz kirish qat'iy man etiladi. Xalatda laboratoriya hududidan tashqariga chiqish mumkin emas.

2. Laboratoriyada har qaysi ish joyi talabga javob beradigan bo'lishi kerak. Daftar, ruchka, qalamdan, boshqa narsa laboratoriyaga kiritilmaydi.

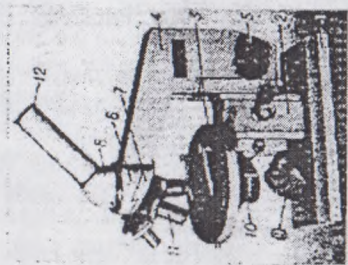
3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblardan, idishlar, gaz, (spirtli) lampa) shu jumladan mikroskop tayyorligiga ishonch hosil qilish zarur. Kamchilik, nosozliklar bo'lsa o'qituvchiga aytish kerak.

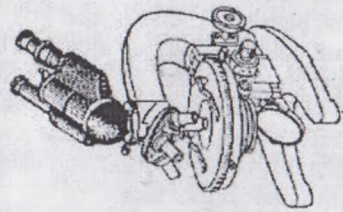
5. Gaz gorelkasi yoki spirt lampasini faqat gugurt bilan yoqish kerak.

6. Elektr tarmoqlari simlariga metal yoki boshqa predmetlar bilan tegish mumkin emas.

Mikroskop turlari



Rasm 1. Biologik mikroskop "Biolam"



Rasm2. Binokulyar o'rnatma AU-12



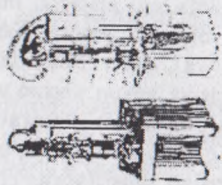
Rasm 3. MBI-1 mikroskopi va yordamchi OI-7



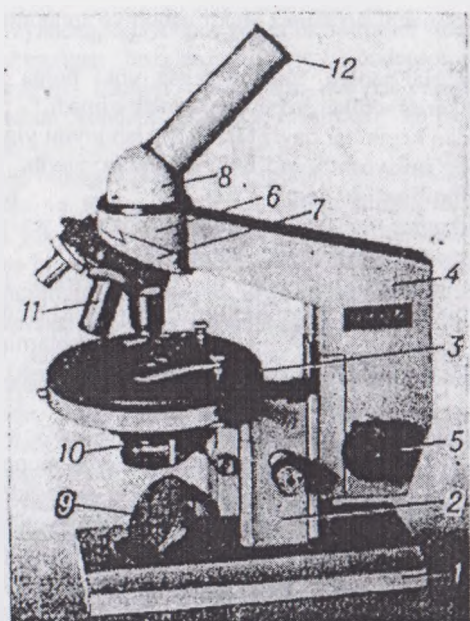
Rasm 4. ML-2 lyuminesent mikroskopi



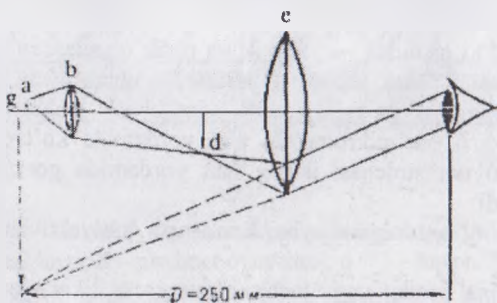
Rasm 5. I-2 tipli "Lyumom" lyuminesent mikroskopi



Rasm 6. Elektron mikroskop



Rasm 7. "Biolam" biologik mikroskopining tuzilishi
 1-asosi; 2-mikrovint; 3-predmet stolchasi; 4-tubus
 tutqich; 5- makrovint; 6-boshchasi; 7-revolver;
 8- ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9-ko'zgu;
 10-kondensor; 11-ob'yektiv; 12-okulyar.



Rasm 8. Mikroskopning optik sxemasi:
 a-ob'yekt; b-ob'yektiv linzasi;
 d-ob'yektning teskari ko'rinishi;
 e-okulyarning yuqondagi linzasi;
 g-ob'yektning ko'zgakorinadigan tasviri;

7. Talabalar o'qituvchi ruxsatisiz elektr asbob va apparaturalarni ishlatishi mumkin emas.

8. Yuqumli material stolga, xalatga tegsa yoki polga tushsa, shu joy dezinfeksiyalovchi eritma bilan yaxshilab tozalab olinadi.

9. Ish tugagandan keyin har qaysi talaba o'z ish joyini yig'ishtirishi, keyin xalatini va qalpog'ini yechib, qo'lini yaxshilab yuvib, quritib, so'ngra laboratoriyadan chiqib ketishi kerak.

10. Mikroorganizmlar kulturasini saqlash, kuzatish va ularni yo'qotish maxsus ko'rsatmaga muvofiq amalga oshiriladi.

Mikrobiologik tekshirish usullariga quyidagilar kiradi: 1) mikroskopiya, 2) kasallik qo'zg'atuvchisining sof kulturasini ajratish hamda uning kultural va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish, 3) mikroblarning patogenligini aniqlash (laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yish), 4) serologik diagnostika.

Mikroskopik tekshirishda mikroorganizmlarning morfologiyasi, tinktorial xususiyatlari (har xil bo'yoqlar va bo'yash usullariga munosabati), kapsula, sporali bor yo'qligi, harakati aniqlanadi. Bu maqsadda mikroskoplar ishlatiladi. Laboratoriyada bir necha xil mikroskoplardan (biologik, lyuminissent, elektron, proton) foydalaniladi va mikroskopiyaning maxsus usullari (fazokonstrast, qorong'u maydonli) qo'llanadi (rasm 1 – 6).

Biologik mikroskop. Mikrobiologiya amaliyotida MBR -1, MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, "Biolam" va hokazolardan ko'p foydalaniladi.

Ular ob'yektni 2000 va undan ko'p martagacha kattalashtiradi. Mikroskopning: 1-asosi; 2- mikrometrik fokusirovka (vinti); 3- predmet stolchasi; 4- tubus tutqichi; 5- makrometrik vinti; 6-boshchasi; 7- revolver; 8- ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9 - ko'zgu; 10- kondensor; 11- ob'yektiv; 12- okulyari bo'ladi (rasm 7).

Mikroskop ikki qismdan – mexanik va optik qismlardan iborat. *Mexanik qismiga* mikroskop asosi, tubus va tubusini tutib turuvchi qismi, predmet stolchasi, makrometrik va mikrometrik vint kiradi. Tubusni tutib turuvchi qismi makrometrik va mikrometrik vint yordamida ko'tariladi va pastga tushiriladi. Buyum stolchasi ikkita vint yordamida gorizonta tekislikda harakatlantiriladi.

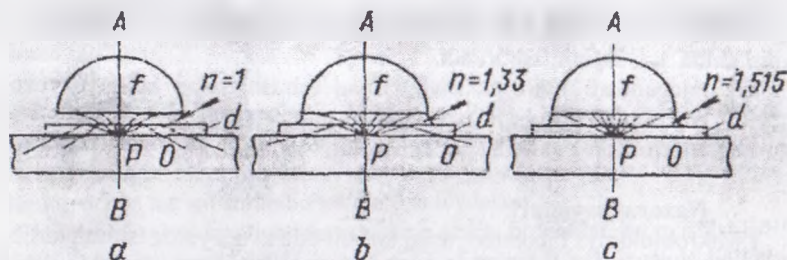
Mikroskopning *optik qismi* oyna, kondensor, ob'yektivlar va okulyardan iborat.

Mikroskopning *oynasi* unga tushayotgan yorug'likni aks ettiradi va uni preparatni yoritish uchun kondensorga yo'naltiradi. Oynasi harakatlanadigan qilib o'rnatilgan, bir tomoni yassi, undan istalgan yorug'lik manbasi va istalgan kattalashtirishda foydalaniladi. Ikkinchi botiq tomoni kichik kattalashtirishlarda kondensorsiz ishlashga mo'ljallangan.

Kondensor oynadan kelayotgan yorug'lik nurlarini to'plab, preparatning sathiga yo'naltiradigan linzalardan iborat. Kondensor tagida diafragma bo'lib, u yorug'lik kuchini boshqaradi. Ko'rish maydoni yorug'ligini kamaytirish uchun kondensor pastga tushiriladi, ko'paytirish uchun esa ko'tarish kerak.

Ob'yektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U ob'yektni haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasvirni tuzuvchi linzalar sistemasidan iborat. Tashqi, asosiy yoki frontal linza preparatga yo'naltirilgan. Bundan tashqari, yuqorisida yana bir nechta (3-4 tadan 10-12 tagacha) korreksion linzalari dor. Ular tasvirni tiniqligini ta'minlaydi. Frontal linzaning kattalashtirishi qancha ko'p bo'lsa, korreksion linzalar shuncha ko'p talab qilinadi.

Quruq va immersion (suvli, yog'li) ob'yektivlar bo'ladi. Quruq ob'yektivni ishlatganda ob'yektiv frontal linzasi bilan preparat orasida havo qatlami bo'ladi. Preparat oynasidan o'tayotgan yorug'lik nurlari havo qatlamiga tushadi sinib, qaytadi va ob'yektivga to'liq tushmaydi. Bunday ob'yektivlarning frontal linzalari 10, 20, 40 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Immersion ob'yektivlarning frontal linzalari 80, 90, 100 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Ularning fokus masofasi va diametri kichik bo'ladi. Kerakli yorug'likni hosil qilish uchun yorug'lik nurlarini tarqalishini oldini olish lozim, ya'ni preparatga immersion yog'i tomiziladi, uning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi (1,515) preparat oynasining yorug'likni sindirish ko'rsatkichiga yaqin (1,52) bo'lgani uchun yorug'lik nurlari tarqalmaydi (rasm 9).



Rasm. 9. Optik mikroskopning ob'yektivi.

f – frontal linza; d – predmet oynachasi; $n = 1$ – havoning; $n = 1,33$ – suvning; $n = 1,515$ – immersion moyning sindirish ko'rsatkichlari.

Okulyar tubusning yuqori qismiga qo'yiladi, ular 7x, 10x, 15x marta kattalashtiradi va yuqorida optik, pastda to'plovchi linzalari bo'ladi. Okulyar faqat ob'yektiv bergan tasvirni kattalashtiradi. Monokulyar (bitta okulyarlik) va binokulyar mikroskoplar bor (rasm -1, 2).

Mikroskopda tasvir quyidagicha paydo bo'ladi (rasm 8). Kondensor yordamida to'plangan yorug'lik nurlari ob'yektga tushadi unda aksini topadi, ob'yektiv linzasida sinib ob'yektning haqiqiy kattalashgan teskari tasvirini paydo qiladi. Keyin okulyarning yuqoridagi linzasi qo'shimcha kattalashtirgach ob'yektning mavhum tasviri hosil bo'lib, u kuzatuvchi ko'ziga kondensor va ko'zgu orasidagi tekislikda joylashgan haqiqiy tasvir bo'lib ko'rinadi.

Mikroskopning umumiy kattalashtirishi ob'yektivdagi yozilgan songa okulyardagi yozilgan sonni ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, immersion ob'yektivi 90x va okulyar 10x bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi: $90 \times 10 = 900$ marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda, odatda ob'yekt 650-900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

Mikroskop bilan ishlash qoidalari. Mikroskop bilan ishlashga kirishganda kondensorning holati tekshiriladi: u buyum stolchasi sathigacha ko'tarilgan, diafragma ochiq bo'lishi kerak. Mikroskop tubusini ko'tarib 8 yoki 10 chi ob'yektivlar o'rnatiladi. Okulyarga qarab, ko'zgu yordamida ko'rish maydoni to'liq yoritiladi.

Bo'yalmagan preparatlarni mikroskopda ko'rib diafragmaning tirqishi torayib yoki kondesorni tushirib, preparat yuzasiga yaqinlashtirish yo'li bilan ko'rish maydoni qorong'ilashtiriladi.

Preparatlarni immersion ob'yektivda ko'rishda tayyor bo'yalgan surtmaga bir tomchi immersion moy tomizib, preparat buyum stolchasiga qo'yiladi, so'ngra revolvorni burab, immersion ob'yektivni (90x) o'rnatib, makrovint yordamida ehtiyotlik bilan pastga tushirib, frontal linzasini moy tomchisiga tegizish kerak. Shundan keyin okulyarga qarab preparat ko'ringunicha tubusni ko'tarish kerak. Ko'zni mikroskopdan olmay mikrometrik vint yordamida tasvir tiniqlashtiriladi.

Ish tugagandan keyin makrovint bilan tubusni sekin ko'tarib, revolver neytral holatga keltiriladi, linzadagi moyni yumshoq mato bo'lakchasi bilan tozalab mikroskop g'illofiga solib qo'yiladi.

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ulardan foydalanish.
3. Biologik mikroskopning tuzilishi.
4. Biologik mikroskop bilan ishlash qoidalari. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?
5. Bo'yalgan va bo'yalmagan preparatlarni mikroskopda ko'rish usuli.

2. Amaliy mashg'ulot №2

Mavzu: Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari.

Mashg'ulotning maqsadi: Bakteriologik bo'yoqlar bilan tanishish va ular eritmasini tayyorlash usullarini o'rganish. Bakteriyali preparat tayyorlashni, oddiy bo'yash usulini o'rganish. Bakteriyaning asosiy shakllarini o'rganish.

Material va jihozlar: Shishalarda quruq bo'yoqlar: asosli va kislotali fuksin, gensianviolet, metilen ko'ki, safranin, brilliant yashili, bo'yoqlarning tayyor eritmasi to'plami, immersion moy, distillangan suv, biologik mikroskop, bakteriologik ilmoq, spirt lampasi, buyum oynalari va filtr qog'oz, kyuvetalar, Petri kosachasi, pipetkasi va probirkalarda turli shakldagi bakteriyalarning sof kulturalari. Etil spirti, fenol (kristall holda), gliserin (probirkada), forfor hovoncha to'qmoq bilan, menzurka, etil spirti, ishlatilgan predmet oynachalarini solish uchun maxsus idishda 3-5 % li fenol eritmasi, ishlatilgan pipetkalar uchun maxsus idishda 3-5% li fenol eritmasi, moy qalam. Temaga oid ko'rgazmali plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ko'p ishlatiladigan bo'yoqlar bilan tanishadilar.
2. Mikrob kulturasidan bakteriyali preparat tayyorlab, oddiy usulda bo'yashadi.
3. Tayyor preparatni mikroskopda ko'rib, bakteriyalar shaklini daftarga chizib olishadi.

Bakteriologik bo'yoqlar. Mikroblar tirik yoki o'lgan holatida mikroskopda ko'riladi. Mikroorganizmlarning morfologiyasi va tinktorial xususiyatlarini o'rganish uchun maxsus bo'yalgan preparatlar tayyorlanadi. Buning uchun har xil anilin bo'yoqlardan foydalaniladi.

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo'yoqlar ko'p ishlatiladi: asosli - fuksin, metil qizili, neytral qizili - eritmada qizil rangda bo'ladi; karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet, tayyor suyuq Gimza (azur - eozin) bo'yog'i - binafsha rangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashili. Quruq kukunsimon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi eritmaları tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmaları qorongida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Eritmalarning bo'yash xossasini oshirish uchun ularga har xil kimyoviy moddalar (fenol, o'yuvchi kaliy) qo'shiladi yoki bo'yashdan oldin preparatlarga ular (xlorid, sulfat yoki xrom kislotalarining

kuchsiz eritmaları) bilan ishlov beriladi. Shuningdek bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq eritmaları faqat ishlatishdan oldin 1 – 2 %li eritmalar ko'rinishida tayyorlanadi.

Spirтли suvli eritmalar. *Karbollı fuksin (Sil fuksini).* Avval to'yingan spirтли eritma tayyorlanadi: 100 ml 96^o spirtga 5 – 10 g asosli fuksin olinadi. Spirтли eritmalar yaxshi to'yinishi uchun bo'yoqlar batamom erib ketguncha termostatda saqlanadi (vaqt-vaqti bilan silkitib turiladi). Bir sutkadan keyin eritma tayyor bo'ladi. Uni shisha idishlarda tiqini zich berkitilgan holda saqlash kerak. Shisha idish tagida ozgina bo'yoq cho'kmasi bo'lishi eritmaning to'yinganlik ko'rsatkichi hisoblanadi. Toza spirтли eritma bo'yash uchun yaroqsiz bo'ladi, shuning uchun uning spirтли suvli eritmaları tayyorlanadi: 10 – 20 ml fuksinning to'yingan spirтли eritmasiga 100 ml tarkibida 5% fenoli bor distillangan suv qo'shiladi. Karbollı fuksinning tayyor suv-spirтли eritmasi qog'oz filtr orqali filtrlanadi. Chunki eritmada cho'kma bo'lmasa surtma bir tekis yaxshi bo'yaladi. Sil fuksinini qator hollarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan (1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pfeffer fuksini) hosil bo'ladi.

Ishchi eritmaları uchi rezinalı pipetka o'rnatilgan va bo'yoqning nomini yozib yopishtirib qo'yilgan shisha idishlariga quyib foydalaniladi.

Karbollı kristallviolet, metilviolet, gensianviolet. Kristallviolet, metilviolet bo'yog'i eritmaları tez cho'kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko'rganda ular xalaqit beradi. Ko'pincha gensianviolet bo'yog'i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo'yaladi. Uning spirтли suvli eritmasini tayyorlash uchun 1 g quruq gensianviolet farfor havonchada 10 ml spirt, bir nechta tomchi gliserin va 2% fenol (kristall holda) bilan yaxshi ezib aralashtiriladi va 100 ml distillangan suv qo'shiladi. Eritmani saqlaganda cho'kma paydo bo'lishining oldini olish uchun filtr qog'oz varaqlariga bo'yoqning to'yingan spirтли eritmasi shimdiriladi, havoda quritib, kichik o'lchamlarda qir qiladi, qorong'i idishda saqlanadi.

Bo'yashda preparatga qir qilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir nechta tomchi distillangan suv tomdiriladi, 2 – 3 daqiqa turadi.

Metilen ko'ki eritmasi (ishqorlı Leffler ko'ki). Eritmani tayyorlash uchun 3 g bo'yoq 100 ml 96^o spirtida uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

Suvli eritmalar. *2%li safranin:* 2 g quruq bo'yoqqa 100 ml qaynoq distillangan suv quyib, filtrlanadi va shu zahoti bo'yash uchun ishlatiladi.

1%li malaxit yashili eritmasi: 1 g kristall holidagi bo'yoq 100 ml qaynoq distillangan suvda eritiladi, uni filtrlab, sovutib bo'yash uchun ishlatiladi.

Tayyor suyuq azur – eozin bo'yog'i (Gimza bo'yog'i) bakteriyali preparatlarni maxsus bo'yash usullarida ishlatiladi. Uni ishlatishdan oldin distillangan suv bilan suyultirish kerak (1:10), lekin bunda tezda cho'kma hosil bo'ladi. Cho'kma preparatga ta'sir qilmasligi uchun, Romanovskiyning tavsiyasiga ko'ra quyidagicha bo'yaladi: Petri kocachasi tubiga shisha tayoqchalar yoki boshchasi olingan gugurt cho'plari qo'yiladi. Ularning ustiga preparat surtmasini pastga qaratib joylashtiriladi va bo'yoq eritmasi preparat ostiga quyiladi (Romanovskiy – Gimza usuli).

Bakteriyali preparatlarni tayyorlash. Mikroblarning shaklini, ularning tuzilishi va biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash maqsadida mikroskopik tekshirish uchun preparat buyum oynasida tayyorlanadi.

Bu jarayon buyum oynalarida surtma tayyorlash, quritish, fiksasiya qilish va bo'yashdan iborat.

Ishlatiladigan buyum oynalari nihoyatda toza va yog'sizlantirilgan bo'lishi kerak. Surtma tayyorlash uchun bakteriologik ilmoq (rasm 12) yoki Paster pipetkasi ishlatiladi. Preparat suyuq yoki zich muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasi; sut, qon, yiring (surtma), jigar, taloq yoki boshqa organlar to'qimasi (tamg'ali, klyach – preparat) va h.k.lardan quyidagicha tayyorlanadi:

Suyuq muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasidan preparat tayyorlash uchun chap qo'lga kulturali probirkani olib, o'ngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib sterilanadi, kichik o'ng barmoq bilan alangaga yaqin tutib probirka ochiladi, ilmoqni suyuqlikka botirib, bir tomchi olinadi, probirkani yopib, shtativga qo'yiladi. Chap qo'lga buyum oynasini olib unga tomiziladi, yengil aylana harakatlar bilan oynachaga surtiladi, so'ng havoda quritiladi (rasm 11), ilmoq alangada qizdirib sterilanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa dizenfiksiyalovchi eritma - fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

Quritilgan preparat oynachada qotiriladi (fiksasiyalanadi). Buning uchun ko'pincha fizikaviy usul ishlatiladi: va'ni surtma orqa tomonidan spirt lampa alangasi ustidan 3-4 marta o'tkaziladi. Fiksasiyalovchi kimyoviy vositalardan – efir, etil yoki metil spirti, formalin, formalin – spirt va spirt – efir aralashmalari qo'llaniladi. Fiksasiya uchun quritilgan preparat fiksasiyalovchi suyuqligi bor stakanga solinadi (yoki 1 – 2 tomchi suyuqlik preparatga tomdiriladi) va 3 – 5 daqiqa turadi. Surtmani suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

Zich muhitda o'sgan kulturalardan surtma tayyorlashda buyum oynasiga bir tomchi steril fiziologik eritma tomiziladi, unga alangada qizdirib sterilangan va sovutilgan bakteriologik ilmoqda probirkadan olingan mikroblar kulturasi aralashiriladi va oyna yuzasiga bir tekis surtiladi.

Mikroorganizmlarni bo'yash uchun oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi.

Oddiy bo'yash usuli va texnikasi. Oddiy bo'yash usulida bitta bo'yovchi eritma, ko'pincha Pfyffer fuksini (1-2 daqiqa bo'yaladi) yoki metilen ko'ki (4-5 daqiqa bo'yaladi), karbolli gensianviolet (1-2 daqiqa bo'yaladi) ishlatiladi. Suv bilan yuvib, preparat filtr qog'ozda quritiladi, unga immersiya moyi tomdirib mikroskopning 90x ob'yektivida tekshiriladi.

Bakteriyalarning asosiy shakllari. Bakteriyalar asosan uch xil shaklda: sharsimon (kokklar), tayoqchasimon, spiralsimon (burama) bo'ladi (rasm - 10).

Kokklar bo'linganlaridan keyin bir - biriga nisbatan har xil joylashadi va bir necha guruhga bo'linadi: 1) mikrokokklar - bittadan tartibsiz; 2) diplokokklar- ikkitadan; 3) tetrakokklar - to'rtta - to'rtta bo'lib; 4) stafilokokklar- uzum shingiliga o'xshab; 5) streptokokklar - zanjirsimon; 6) sarsinalar- paket (kubik) shaklida joylashadi.

Tayoqchasimon bakteriyalar va basillalar. Bu shakldagi mikroblarning ba'zilar bakteriya, ba'zilar esa basilla deyiladi. Spora hosil qiladigan tayoqchalar- basilla va hosil qilmaydiganlari esa bakteriyadir. Tayoqchasimon bakteriyalarning joylashishiga qarab monobakteriya (monobasilla), diplobakteriya (diplobasilla) va streptobakteriya (streptobasilla) shakllari ajratiladi. Demak, spora hosil qiluvchi tayoqchasimon bakteriyalar har xil ataladi. Agar spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta bo'lmasa - basilla deb aytiladi. Agar spora mikrobnig ko'ndalang yuzasidan katta bo'lsa klostridiyalari deyiladi. Basillalarning sporalari asosan mikrobnig hujayrasining markazida joylashadi. Spora klostridiyalari o'rtasida joylashsa markaziy spora, bir uchida bo'lsa - terminal spora, bir uchiga yaqin joylashsa - subterminal spora deyiladi.

Spiral shaklli bakteriyalar. Bularga vibriyonlar (vergul shaklli, bir burmali), spirillalar (ikki- uch va to beshtagacha burmali), spiroxetalar (juda ko'p mayda, uzun va ingichka burmali) kiradi.

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ishlatiladigan bo'yoqlarni ayting?
2. Bakteriyali preparatlarni tayyorlash jarayonini tushuntiring.
3. Mikroorganizmlarni oddiy bo'yash usuli deb nimaga aytiladi?
4. Bakteriyalarning asosiy shakllarini ayting
5. Bakteriyalar bilan basillalar bir-biridan qanday farq qiladi?

3. Amaliy mashg'ulot №3

Mavzu: Preparatlarni Gram usulida bo'yash.

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Mikrobn bo'yashning murakkab usuli bilan tanishish. 2. Gram usulida preparatni bo'yashni o'rganish.

Material va jihozlar: Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, etil spirti 96^o, fiziologik eritma, bo'yoqlar eritmasi (karbolli gensianviolet, sil fuksini), lyugol, probirka, bakteriya kulturasi: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayoqchalari).

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1. Murakkab bo'yash Gram usulini daftarga yozib olish. 2. Mikroorganizmlar aralashmasidan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yash. 3. Mikroskopda ko'rib, rasmni chizib olish.

Surtmalarni bo'yashda ikki va undan ko'p bo'yoqlar ishlatiladigan usul **murakkab bo'yash usuli** deyiladi. Murakkab bo'yash usuli hujayraning turli tarkibiy qismlari va ba'zi organik birikmalarini bor yo'qligini bilishga, shu orqali har bir mikroblarning *tinktorial xususiyatlarini* aniqlashga imkon beradi.

Har xil mikroorganizmlarni protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular aynan bir xil buyoq bilan turlicha bo'yaladi. Bir qancha hollarda mikroblarning hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yovchi eritmalar ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884 yilda Kristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yalishiga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2 – 3, uning tashqi qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday kislotali muhitda asosli bo'yoqlar yod bilan mustahkam birikma hosil qiladi. Grammanfiylarining pH 4 – 5, ularda bunday, birikma hosil bo'lmaydi. Shu tufayli grammusbat bakteriyalar birinchi bo'yoq bilan bo'yagandan keyin spirt ta'sirida rangsizlanmaydi va binafsha rangni saqlab qoladi (rasm 13, 14, 17). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta'sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo'shimcha bo'yaganda, qizil rangga kiradi (rasm 15 – 16).

Gensianviolet (yoki kristallviolet) va sitoplazmadagi nuklein kislotalar yod (Lyugol eritmasi: kristall holdagi yod – 1g, kaliy yod – 2g, distillangan suv – 300 ml) ishtirokida suvda erimaydigan hamda spirtida kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta'sir

ettirilganda hujayra devori qalin, ko'p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlamining g'ovaklari yirikroq bo'lib, spirtning o'tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo'lgan birikma parchalanib bo'yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta'sirida hujayra rangsizlanadi.

Gram usulida bo'yash

1. Alangaga tutib fiksasiyalangan surtma filtr qog'oz orqali gensianviolet bo'yog'i bilan bo'yaladi - 2 daqiqa

2. Filtr qog'ozni olib, bo'yoq to'kib tashlanadi va surtma ustiga Lyugol eritmasi quyiladi - 2 daqiqa .

3. Lyugol eritmasini to'kib, 96° spirt quyiladi (30 soniya).

4. Suvda yaxshilab yuviladi.

5. Sil fuksini bilan 2 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yaladi (fuksinni ishlatishdan oldin distillangan suv bilan 1:10 nisbatda suyultirish kerak).

6. Suvda yuvib, filtr qog'ozga shiindirib quritiladi va mikroskopning 90x ob'yektivida tekshiriladi.

Suyuq gensianviolet (yoki kristallviolet) o'miga preparatga mos o'lchamda qirqilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'ozni ishlatish mumkin. Bunda preparatga qirqilgan bo'yoqli filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir nechta tomchi distillangan suv tomdiriladi.

Nazorat savollari:

1. Mikroorganizmlarni murakkab bo'yash usuli deb nimaga aytiladi?
2. Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yashning mohiyati nimadan iborat?
3. Mikroorganizmlarning grammanfiy yoki grammusbat bo'yalishining sababi nima?
4. Gram usulida bo'yash texnikasini ayting.
5. Lyugol eritmasining tarkibini ayting.

4. Amaliy mashg'ulot №4

Mavzu: Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari.

Mashg'ulotning maqsadi: Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullarini o'rganish hamda mohiyatini tushunish.

Material va jihozlar: Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampa, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikcha bilan, 96^o li spirt, 5% li sulfat kislotasi eritmasi, distillangan suv, shisha idishlarda bo'yoqlar: Leffler metilen ko'ki, 0,5 % li neytralrot, karbolli Fuksin, Gimza bo'yog'i, 2 % li safranin (suvdagi eritmasi), fiziologik eritma, bakteriyalar kulturasi: spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayoqchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Sporalarni Auyski, Meller, Zlatogorov, Peshkov usullarda bo'yash, kapsulalarni Mixin, Romanovskiy Gimza, Olt usullarida, kislotaga chidamli bakteriyalarni Sil Nilsen usulida bo'yashni daftarga yozib olish.

2. Preparatlar tayyorlab spora, kapsulaga bo'yashning o'zingiz tanlagan bir usulda, kislotaga chidamli va chidamsiz bakteriyalarni Sil Nilsen usulida bo'yang. Mikroskopda ko'rib, rasmini chizib oling.

Mikrob hujayrasining tuzilishida doimiy va doimiy bo'lmagan elementlari farqlanadi. Doimiylariga – sitoplazma, qobiq, o'zak moddasi; doimiy emaslariga esa ma'lum sharoitlarda faqat bakteriyalarning alohida turlarida shakllanib, turga oid belgi hisoblanadigan – spora, kapsula, xivchinlar kiradi.

Sporalarni bo'yash. Tashqi muhitda spora hosil qiluvchi tayoqchasimon mikroblar basillalar deyiladi. Spora hosil bo'lish jarayonida hujayra sitoplazmasi quyuqlashib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko'p qavatli qobiqqa o'raladi. Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko'pchilik kislota, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikroblar turiga bog'liq ravishda hujayraning markazida, bir uchida yoki bir uchiga yaqin joylashadi. Oddiy yoki Gram usulida bo'yalgan preparatlarda mikroskopda hujayraning bo'yalgan vegetativ qismi va bo'yalmagan yorug'likni yaxshi sindiruvchi sporalar ko'rinadi. Demak sporalar murakkab, maxsus usullarda bo'yaladi.

Auyski usuli. 1. Havoda quritilgan preparatga 0,5% li sulfat kislota quyib 2-3 daqiqa qizdiriladi, sovutib, suv bilan yuviladi va alanga ustida fiksasiyalanadi. 2. Preparatga filtr qog'oz qo'yib, ustidan karbolli Sil fuksini quyiladi, bug' hosil bo'lguncha qizdirib 7-8 daqiqa bo'yaladi. 3. Bo'yoqni to'kib tashlab 5 % sulfat kislota eritmasi bilan 5-7 soniya ishlov beriladi, keyin yaxshilab suv bilan yuviladi. 3. Qo'shimcha metilen ko'ki bilan 4-5 daqiqa bo'yaladi Suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

Mikroskopda ko'rinishi: sporalar pushti-qizil, vegetativ hujayralar ko'k rangda.

Meller usuli. Alangada fiksasiyalangan surtmaga 5% li xrom kislota quyib 2-3 daqiqa ta'sir ettiriladi, suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi. Keyin Auyski usuli kabi davom ettiriladi. Bo'yash natijasi bir xil: sporalar pushti - qizil, vegetativ hujayralar ko'k rangda.

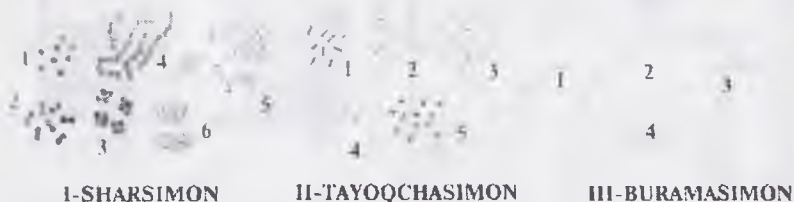
Zlatogorov usuli. Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksasiyalashda sporalar qobig'ini bir oz yumshatish va ularni nobud qilish uchun spirt lampa yoki gaz gorelkasi alangasi ustida 10 marta u yoq –bu yoqqa o'tkaziladi. Surtma ustiga filtr qog'oz qo'yib, karbol fuksini quyiladi, so'ngra bug' hosil bo'lguncha 8-10 daqiqa qizdiriladi (natijada bakteriyalarning sporasi ham, vegetativ shakllari ham bir xil qizil rangga bo'yaladi). Keyin filtr qog'ozni olib tashlab, 6-10 soniya davomida sulfat kislotaning 5% li eritmasida rangsizlantiriladi (sporalar qizil rangda qoladi) va suv bilan yuviladi. Endi metilen ko'kning eritmasi bilan 1 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yaladi (rangsizlangan vegetativ formalari bo'yaladi). So'ngra suv bilan yuvib filtr qog'ozda quritiladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda immersion ob'yektivdan foydalaniladi. Vegetativ hujayralar ko'k, sporalar qizil rangga bo'yaladi.

Peshkov usuli. Tayyorlangan surtma spirt lampa alangasida fiksasiyalanadi.

1. 15-20 soniya davomida (spirt lampasi alangasi ustida) qaynayotgan Leffler metilen ko'ki bilan bo'yaladi. 2. Suv bilan yuviladi. 3. 30 soniya davomida neytralrotning 0,5 % li eritmasida yana bo'yaladi. 4. Suv bilan yuvib, so'ng quritiladi. Mikroskopda ko'rinishi: sporalar havo rang yoki ko'k rangda, bakteriyaning vegetativ shakllari pushti rangda.

Kapsulalarni bo'yash. Kapsula – qobiqni tashqi qavatining hosilasidir. U mumsimon modda bo'lib yuqori molekularli polisaxariddan ibopat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziqa muhitlarda ularga qon zardobi yoki fibrinsizlangan qon qo'shgandagina kapsula hosil bo'ladi). Kuydirgi, yomon sifatli shish, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchilari kapsula hosil qiladi.

Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari



Rasm 10. Bakteriyalarning asosiy shakllari

- | | | |
|-------------------|------------------------|------------------|
| 1. mikrokokklar | 1. monobakteriyalar | 1. vibrionlar |
| 2. diplokokklar | 2. diplobakteriyalar | 2. leptospiralar |
| 3. tetrakokklar | 3. streptobakteriyalar | 3. spiroxetalar |
| 4. streptokokklar | 4. klostridiyalar | 4. spirillalar |
| 5. stafilokokklar | 5. basillalar | |
| 6. sarsinalar | | |



Rasm 11. Surtma-preparat tayyorlash sxemasi



Rasm 12. Bakteriologik ilmoqlar:
A va B - noto'g'ri; D - to'g'ri tayyorlangan

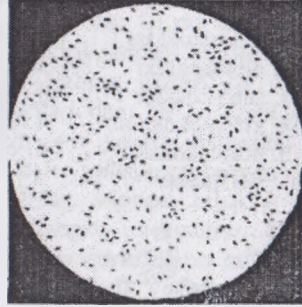
Gram usulida bo'yalgan surtmalarda bakteriyalarning ko'rinishi



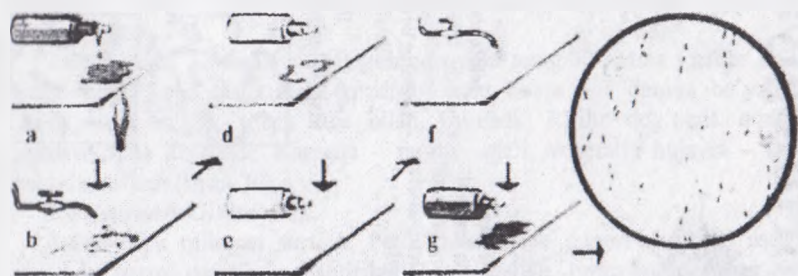
Rasm 13. *Diplococcus parvulus*



Rasm 14. *Streptococcus pyogenes* qonda



Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari



Rasm 18. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

a-sil luksini bilan bug' paydo bo'lgunicha olov ustida qizdirib bo'yaladi;
 b-bo'yoq suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi;
 e-avval spirt, keyin f - suv bilan yuviladi va g - metilen ko'ki bilan bo'yaladi.
 Tuberkulyoz tayoqchalari qizil, hoshqasi ko'k rangda bo'yaladi.



Rasm 19. *Bac. anthracis*
 Olt usulida bo'yalgan:
 a-kapsulasi sariq,
 basillalar-kung'ir rangda
 b-sporasi Sil-Nilsen
 usulida bo'yalgan

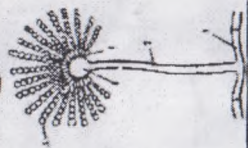


Rasm 20. *Bac. anthracis*
 Leffler usulida bo'yalgan:
 kapsulalar pushti,
 basillalar- ko'k rangda.

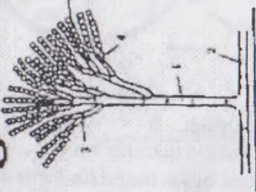
Zamburug'larning morfologiyasi



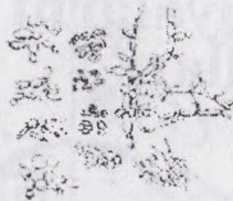
Rasm 21. *Micor* - boshchali mog'orning tuzilishi
1-sporangiy; 2-sporangiofor;
3-stolon; 4-rizoidlar.



Rasm 22. *Aspergillus* - zamburug'ining tuzilishi
1-sterigmalar; 2-konidkofor;
3-vegetativ qisim; 4-shakli kengayishi; 5-konidiyalar.



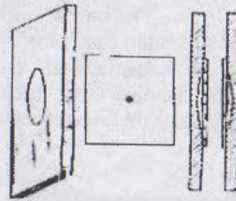
Rasm 23. *Penicillium* - zamburug'ining tuzilishi
1-konidkofor; 2-vegetativ qisim;
3-metullalar; 4-sterigmalar;
5-konidiyalar.



Rasm 24. Achitqi va achitqisimon zamburug'lar:
1-haqiqiy achitqi (sa'varomisetlar);
2-sporali asklar; 3-achitqisimon zamburug'larning psevdomisetlari
biestosporalari bilan.



Rasm 25. Takomillashmagan zamburug' - trixofiton:
1-xlamidosporalar; 2-miseliyning shoxlanishi;
3-sochda mikrokomidiy zanjirlari;
4-makrokomidiyalar.



Rasm 26. Osilgan tomchi ushida preparat tayyorlash



Mospinlar



Anfitrikalar



Lofitrikalar



Peritrikalar

Rasm 27. Bakteriyalarda xivchilarning joylashishi

Kapsula moddasini oddiy usulda bo'yash juda qiyin. Shuning uchun ularni metaxromaziya holatiga asoslangan (bitta bo'yoq bilan sitoplazma boshqa rangga, kapsula moddasi boshqa rangga bo'yaladi) maxsus usullarda bo'yash lozim.

Olt usuli.

1. Fiksasiya qilingan preparat, yangi tayyorlangan issiq 2% li safraninning suvdagi eritmasi filtrati bilan 5-7 daqiqa bo'yaladi. 2. Tezda suv bilan yuvib, quritiladi. Mikroskopda ko'riladi. Kapsula sariq, hujayra qo'ng'ir rangda bo'ladi (rasm 19).

Mixin usuli. 1. Fiksasiya qilingan qon yoki tangali surtma Leffler ko'ki bilan bug' hosil bo'lguncha qizdirib, issiq holda 5-7 daqiqa bo'yaladi. 2. Bo'yoqni to'kib, tezda suv bilan yuviladi. 3. Filtr qog'ozda quritib, mikroskopda ko'riladi: Kapsula - pushti -qizil; vegetativ hujayra - ko'k rangda bo'ladi (rasm 20).

Romanovskiy Gimza usuli.

1. Fiksasiya qilingan surtma, Petri kosachasida gugurt cho'plari ustiga, surtmasi pastga qarab joylashtiriladi. Uning ostiga Gimza bo'yog'ining 1:10 nisbatda distillangan suvdagi eritmasini quyib 40-50 daqiqa bo'yaladi. 2. Suv bilan yuvib, quritiladi, mikroskopda ko'riladi. Kapsula - pushti, hujayra - ko'k rangda.

Kislota, spirt, ishqorlarga chidamli bakteriyalarni bo'yash. Kislotaga chidamli bakteriyalar: tuberkulyoz, paratuberkulyoz kabi kasallik ko'zg'atuvchilari, grammusbat bakteriyalardir. Ularni boshqa grammusbat bakteriyalardan farqlash uchun ushbu Sil -Nilsen maxsus bo'yash usuli (rasm 18) qo'llaniladi. Kislotaga chidamli bakteriyalar sitoplazmasi va hujayra qobig'ida ko'p miqdorda yog' mumli moddalari, xususan steorin kislotalari borligi uchun, oddiy usulda bo'yoqni kirishi qiyin bo'ladi. Maxsus usulda bo'yalganda esa, kislota, spirt, ishqorlar ta'sirida rangsizlanmaydi.

Sil -Nilsen usuli

1. Fiksasiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'ozi qo'yib, ustiga karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdirib va 5-7 daqiqa ko'prikchada turadi.

2. Filtr qog'ozni olib tashlab, ustiga sulfat kislotasining 3-5 % li eritmasi quyiladi 5-7 soniya

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

4. Qo'shimcha Leffler metilen ko'ki bilan 4-5 daqiqa bo'yaladi.

5. Surtmani suv bilan yuvib, filtr qog'ozida quritiladi.

Mikroskopda kislotaga chidamli bakteriyalar - qizil; chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (diagnostika infeksiyonix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. M., Kolos, 1968,

s 101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug' paydo bo'lgu yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat k bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirt (e), keyin suv yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (rasm 18).

Nazorat savollari.

- 1.Sporalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
- 2.Kapsulalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
- 3.Oddiy bo'yashda sporalar va kapsulalar nimaga bo'yalmaydi?
- 4.Mikroblarning spora va kapsulasini aniqlashning qanday usullari bo'yashda?
5. Kislotaga chidamli bakteriyalar nima uchun oddiy usulda bo'yalmaydi?

5. Amaliy mashg'ulot №5

Mavzu: Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish.

Mashg'ulotning maqsadi: Mog'or zamburug'larini va achitqilarning morfologik xususiyatlarini o'zlashtirish. Bakteriyalarning harakatini o'rganish.

Material va jihozlar: Petri kosachasidagi zich oziq muhitlarda o'stirilgan mukur, penisillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zamburug'lar kulturasi. Suyuq oziqa muhitda o'stirilgan achitqi kulturasi. Predmet va yopqich oynachalar, bakteriologik ilmoq, probirkada spirt, gliserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayoqchasi, pichan tayoqchasi kulturasi, mavzuga oid plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Mukor, penisillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zamburug'lar va achitqilarning kulturasidan preparatlar tayyorlab mikroskopda tekshirish. Natijasini daftarga chizib, zamburug'larning strukturaviy elementlarini aniqlash.

2. Harakatchan mikroorganizmlar (ichak, pichan tayoqchalari)dan «Ezilgan» va «Osilgan» tomchi usullarida preparatlar tayyorlash. Ularni mikroskopda ko'rib, bakteriyalarni harakatlanishini kuzatish, o'rganib, daftarga yozib olish.

Zamburug'lar (fungi) - xlorofilsiz eukariot (o'zagi membranaga o'ralgan) mikroorganizmlar. Zamburug' hujayrasining qobig'i, protoplazmasi, o'zagi va kiritmalari bor. Qobig'i xitin, oqsil, glyukan, yog'lardan iborat. Tashqi ko'rinishi, oziqani o'zlashtirishi bo'yicha osimlikka o'xshaydi. Lekin farqi - zamburug'larning hlorofili yo'q, zahiradagi moddasi glikogen (krahalmas), hujayra devorida hitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug' hujayrasi ingichka ipchalardan iborat bo'lib bularga - giflar deyiladi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib zamburug' tanasini miseliysini hosil qiladi. Zamburug' miseliysi oziq muhitda substratli (koloniya oziq muhitga mustahkam kiradi) va havoli (oziq muhit ustida) bo'ladi. Miseliysining tuzilishi bo'yicha barcha zamburug'lar *tuban* va *yuqori* zamburug'larga bo'linib to'rt sinfga kiritilgan. Fikomisetlar (Phycomycetes) - tuban zamburug'larga kirib, ularning miseliysi bo'g'inlarga bo'linmagan, ko'p o'zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomisetlar (Ascomycetes), bazidomisetlar (basidiomycetes) va takomillashmagan zamburug'lar (Fungi imperfecti, Deuteromycetes) yuqori

... bilan birga kiradi. (mikomisetlar). Ularning miseliysi giflari bo'g'inlarga bo'linmayan bu yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat.

Zamburug'lar vegetativ, reproduktiv (jinsiy va jinssiz) usullarda ko'payadi. Vegetativ usulda maxsus ko'payish organlarisiz – miseliy qismchalari, miseliy parchalanganda hosil bo'lgan sporalar (xlamidaspora, oidiyalar, artrosporalar, blastosporalar va h.k.), bilan amalga oshadi. Reproduktiv usulda zamburug'lar maxsus organlar yordamida ko'payadi. Jinssiz ko'payish maxsus endogen (sporangiyasporalar, zoosporalar) yoki ekzogen (konidiyalar) hylayralar yordamida kechadi. Jinsiy ko'payishda ikki hujayraning yadrosi qo'shilib, keyin bo'linadi va maxsus giflar hosil bo'ladi. Giflarda esa spora hosil qiluvchi organlar paydo bo'ladi.

Jinsiy ko'payish xususiyatiga ega zamburug'lar – *takomillashgan*, jinsiy sikli yo'qlari – *takomillashmagan* (Deuteromycetes) deb ataladi (rasm 25). Takomillashgan zamburug'larning rivojlanish davrida jinssiz va jinsiy spora hosil qilish bosqichlari bo'ladi.

Zamburug'larning suslo agarda o'sishi.

Boshchali – mukor mog'ori Fikomisetlar vakili. Suslo agarda birinchi sutkada yumshoq kulrang pardek qatlam hosil qilib osadi. Bu zamburug'ning tanasi bo'g'inlarga bo'linmagan bo'lib boshchasi - sporangiyasi ichida 2-4 dona endosporalar paydo bo'ladi, yetilgandan so'ng sporangiya parchalanib sporalar tashqi muhitga tarqaladi (rasm 21).

Mikomisetlarning vakili - penisillium, aspergillus va h.k.lar miseylisi ko'p hujayrali bo'g'inlarga bo'lingan, miseliyalarning uchida konidiyalar, konidialarning chetida ekzosporalar joylashadi.

Aspergilla – takomillashmagan zamburug' bo'lib, mukorga nisbatan sekinroq o'sadi. Ikkinchi sutkada o'sish paydo bo'ladi. Konidiyalari qora (*Aspergillus niger*) va yashil-sariq (*Aspergillus oryzae*) rangda bo'lib, konidialarni tashuvchi uchlari to'g'nog'ich boshiga o'xshab, undan tarqalgan nurdek har tomonga zanjirsimon joylashgan ekzosporalar o'sib chiqadi (rasm 22).

Penisilla ham takomillashmagan zamburug'. Suslo agarda ikkinchi - uchunchi sutkalarda momiq pardek kulrang – yashil yoki yashil cheti oq hoshiyali nozik qatlam hosil qilib o'sadi. Zamburug'ning miseliysi bo'g'inlarga bo'lingan va shahobchasimon tarmoqlangan ko'payuvchi gifi bor. Uning uchida shingil shaklli konidiyalar (ekzosporalar) hosil bo'lib, zanjirsimon joylashadi (rasm 23).

Mikroskopik tekshirish uchun bo'yalmagan «ezilgan tomchi» preparati tayyorlanadi. Bu maqsadda mikologik ilmoq bilan materialni olib, buyum oynasidagi bir tomchi suyuqlikka (fiziologik eritma, steril suv, albatta teng hajmda olingan suv, spirt va gliserindan iborat suyuqlik yanada yaxshi) solinadi. Miseliy iplarini tarqatib, yopqich oyna bilan yopiladi. Mukordan

tayyorlangan preparat mikroskopning x8 ob'yektivida, penisillium, aspergilluslar x40 ob'yektivda ko'riladi.

Aktinomisetlar (nursimon zamburug'lar). Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomisetlar miseliysining giflari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarining qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Miseliysi avval substratli keyin havoli bo'lib, koloniyalar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zich konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi. Aktinomisetlar pigment hosil qilgani uchun - pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomisetlar aerob, kraxmal - ammiakli agarda 30 - 35°Cda o'sadi.

Preparat tayyorlash uchun buyum oynasiga ilmoq bilan kultura koloniyasi olinadi va ustiga ikkinchi shunday oynani qo'yib eziladi, ikki yoniga tortiladi. Natijada ikkita surtma paydo bo'ladi. Suyuq muhitda o'stirilgan kulturadan ilmoq bilan olib, surtma tayyorlanadi. Qotirilgan surtma Pfyffer fuksini bilan bo'yaladi.

Achitqilar (drojji) - xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular miseliysiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar (rasm 24). Achitqi hujayralarining qobig'i, sitoplazmasi, shakllangan o'zagi bor. Sitoplazmada vaqt o'tishi bilan vakuolalar paydo bo'ladi. Ularning diametri bakteriyalarnikidan katta 10 - 15 mkm gacha. Achitqi hujayrasining ichida 4 tadan 12 tagacha sporalar hosil bo'lib, ular xalta - askalarga aylanadi. Achitqilarning tinch holatdagi hujayralari vegetativ shakllaridan ikki qavatli qobig'i, ko'p miqdorda oziqa moddalar zahirasi (glikogen, yog') bor bo'lib, vakuoli yo'qligi bilan farq qiladi. Achitqilar kurtaklanish, spora hosil qilish, oddiy bo'linish va jinsiy yo'l bilan ko'payadi.

Preparat tayyorlash uchun ilmoq bilan buyum oynasiga bir tomchi achitqi kulturasi olinadi. Yopqich oyna bilan yopib mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Achitqi hujayralarini x40 ob'yektivda ham ko'rish mumkin.

Bakteriyalarning harakatini o'rganish.

Tirik mikroorganizmlarning ba'zilar harakatlanadi, ba'zilar esa yo'q. Bu ularning turlarini bir-biridan farq qilishdagi asosiy belgilardan biri. Mikroblar xivchinlar yordamida harakatlanadi, ular mikroob tanasining turli qismlarida joylashadi. Shunga qarab, harakatlanishi ham turlicha bo'ladi (rasm 27).

1. Monotrix - xivchini bitta bo'lib, tanasining bir uchida joylashgan. Monotrix bakteriyalar xivchinsiz tomoniga qarab harakatlanadi.

2. Lofotrix - tanasining bir uchida bir tutam xivchinlar joylashgan

3. Amfitrix - bu guruh bakteriyalarda xivchinlar tanasining ikki uchida to'p- to'p bo'lib joylashgan.

4. Peritrix - bu guruh bakteriyalarda xivchinlar hujayraning hamma tomonidan o'sib chiqqan. Tartibsiz harakatlanadi.

Bakteriyalarning harakatini «osilgan tomchi», «ezilgan tomchi» usullarida preparat tayyorlab, yarin suyuq GPA-ga tik ekib yoki GPA kondensatiga ekib aniqlanadi. Bakteriyalarning harakatlanishini tekshirish uchun bulonda o'stirilgan yosh (18-20 soatlik) bakteriya kulturasidan foydalaniladi. Agarda o'stirilgani ham bo'ladi. Ularni tekshirish uchun oddiy sterillangan fiziologik eritmada yoki suvda suspenziya tayyorlanadi.

«Osilgan» tomchi preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun o'rtasi chuqur maxsus buyum oynasi ishlatiladi. Tekshiriladigan materialdan qoplagich oynaga bir tomchi tomiziladi. Buyum oynasidagi chuqurning chetlariga vazelin surtiladi. Keyin buyum oynasi qoplagich oyna ustiga shunday yopiladi, undagi tomchi chuqurchaning o'rtasida bo'lsin. Oyna ehtiyotlik bilan to'ng'ariladi, ana shunda zich yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (rasm 26). Preparat quruq ob'yektiv sistemasida, yengil qorongilashtirilgan ko'rish maydonida (diafragma va tushirilgan kondensordan foydalaniladi) tekshiriladi. Avval x8 ob'yektivda tomchining chetini topib keyin x40 -60 ga o'tkaziladi.

«Ezilgan tomchi» preparati. Buyum oynasining o'rtasiga tekshiriladigan materialdan bir tomchi tomiziladi. Keyin yopqich oyna bilan usti yopiladi. Unda havo pufakchalari bo'lmasligi kerak. Suyuqlikning ortiqchasi filtr qog'oziga shimdirib olinadi. Bunday preparat tez qurib qolishi mumkin. Undan uzoq muddat foydalaniladigan bo'lsa, qoplagich oyna chetlariga vazelin surtib qo'yish yoki «osilgan» tomchi preparatini tayyorlash kerak.

Nazorat savollari:

1. Mog'or zamburug'larining morfologik xususiyati.
2. Achitqilarning morfologik xususiyatlari.
3. Bakteriyalar xivchinining joylashishi.
4. Bakteriyalar haraktlanishining turi nimaga bog'liq?
5. Bakteriyalarning haraktlanishi qanday usullarda o'rganiladi?

6. Amaliy mashg'ulot №6

Mavzu: Oziqa muhitlarini tayyorlash.

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Asosiy oziq muhitlar va ularni tayyorlash usullari bilan tanishish.

Material va jihozlar: Oziq muhiti tayyorlash uchun ingredientlar (go'sht suvi, pepton, agar – agar, jelatina, kimyoviy toza osh tuzi); GPA, GPB, Kitt – Tarossi, Endo, Levin muhitlari, tarozi toshlari bilan, voronka, Petri kosachasi, tiqinli probirkalar, kolbalar, paxta dokali filtr, elektr plitka, shtativ, pH ni aniqlash uchun Mixaelis komparatori, lakmus qog'oz. mavzuga oid plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: Go'shtli suv, go'sht-peptonli bulon va go'sht-peptonli agar tayyorlash bosqichlarini o'rganib, daftarga yozib olish;

1. Quruq oziq bulonidan va agardan oziq muhitini tayyorlash, uni probirkalarga quyish;

2. Go'sht-peptonli bulonning pH ni aniqlash.

Har qanday mikrobiologik ish, shuningdek amaliy vazifalarni bajarish mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziq muhitlarini tayyorlash bilan bog'liq.

Mikrobiologiyada mikroorganizmlarni o'stirish, to'plash, saqlash, aniqlash, ularni ajratib olish, ulardan har-xil biologik preparatlar va mahsulotlar (toksinlar, antibiotiklar va boshqalar) olish uchun oziq muhitidan ko'p foydalaniladi.

Har qanday oziq muhitida mikroorganizmlarning o'sishi va rivojlanishi uchun optimal sharoit yaratilgan bo'lib. quyidagi talablarga javob berishi kerak: tarkibida yetarli miqdorda organogen elementlar – azot, uglerod, kislorod, vodorod; fosfor, oltingugurt, kaliyli anorganik birikmalar, makro- va mikroelementlar, o'sish faktorlari bo'lishi kerak. 0,5% NaCl, pH muayyan darajada, namligi yetarli, steril, tiniq bo'lishi shart.

Agar - agar – dengiz suv o'tlaridan olinadigan azotsiz organik modda, oziqa muhitni zich holatga keltiradi.

Pepton – oqsillar parchalanishidagi oraliq mahsulot, shirdondan tayyorlanadi. Aminokislota, peptidlarga boy.

Jelatina – hayvonlar oqsili. Tog'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot.

Oziq muhitlar kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi bo'yicha klassifikasiyalanadi. Kelib chiqishi bo'yicha tabiiy, sun'iy va sintetik oziq muhitlar farqlanadi. Tabiiy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlaridan (go'sht, sut. tuxum. qon zardobi, sabzavotlar, kazein va

boshqalardan) tayyorlanadi. Sun'iy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlari, mineral tuzlardan tayyorlanadi (GPB, GPA, GPJ). Sintetik oziq muhitlar tarkibi aniq nisbatlarda olingan kimyoviy toza moddalar-aminokislotalar, uglevodlar, vitaminlar, mineral tuzlardan tayyorlanadi (Saburo, Chapek muhitlari).

Konsistensiyasi bo'yicha oziq muhiti suyuq, zich, yarim suyuq va quruq bo'lishi mumkin. Suyuq muhitlarga GPB, Peptonli suv, sut va h.k.lar kiradi. Oziq muhiti zich bo'lishi uchun 2-3 % agar-agar, yarim suyuq bo'lishi uchun esa 0,15-0,7 % qo'shish, GPJ tarkibida 20% jelatina bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda har xil miqdorda ishlatiladigan ko'pgina oziq muhitlar quruq holda ishlab chiqiladi. Quruq oziq muhit qopqog'i zich berkitiladigan shisha idishlarda sotiladi (uglevodlar va ko'p atomli spirtlar bo'lgan Gissa muhiti, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar J, quruq oziq agari va boshqalar).

Ishlatilishiga ko'ra oziq muhitlar oddiy, maxsus va differensial - diagnostik turlariga bo'linadi. Oddiy oziq muhitlar go'sht-peptonli bulon (GPB), go'sht peptonli agar (GPA) va go'sht peptonli jelatina (GPJ) kiradi. Ular juda ko'p mikroorganizmlarni o'stirishda ishlatiladi. Maxsus oziq muhitlar oddiy oziq muhitlarda rivojlanmaydigan mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Selektiv, elektiv, to'plovchi oziq muhitlar ham maxsus muhit turlari hisoblanadi. Selektiv oziq muhiti tekshirilayotgan materialdan (har xil bakteriyalar aralashmasi) faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Elektiv oziq muhiti faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi, boshqalari yo'qotiladi (anaeroblar, sut kislotasi hosil qiluvchi bakteriyalar, ichak tayoqchasi, gemolitik stafilokokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).

Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalari qarang qarab aniqlashga imkon beradi.

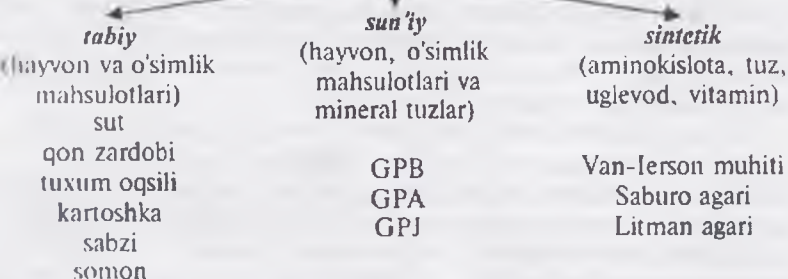
Mikrobiologiya amaliyotida asosan: go'sht-peptonli bulon, go'sht-peptonli agar va go'sht-peptonli jelatina ishlatiladi. Go'sht suvini tayyorlash uchun yangi so'yilgan mol yoki ot go'shti ishlatiladi. Buning uchun go'shtni pay, suyakdan ajratib, qiyimalagichdan o'tkaziladi. Chiqarilgan qiymaning ustiga sovuq suv quyiladi (1:2 nisbatda), aralashtirib, bir sutka salqin (4-6°C li) joyga qo'yiladi yoki ikki soat 37°C da saqlanadi, so'ngra bir soat qaynatib paxta-doka filtrda filtrlanadi.

Filtni siqib olib, filtaratga oldingi hajmiga yetguncha suv qo'shiladi. Keyin uni shisha idishga solib, avtoklavda 120°C issiqda 20-30 daqiqa sterilanadi.

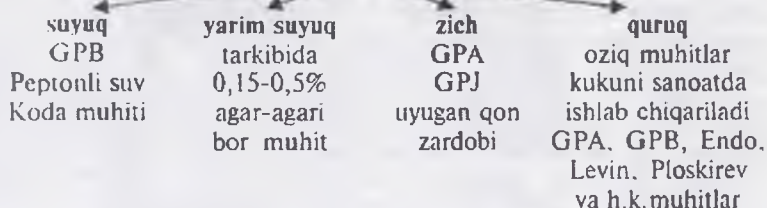
Go'sht-peptonli bulon (GPB) tayyorlash uchun go'sht suviga 0,9% natriy xlorid va 1% pepton qo'shiladi. Keyin u 10 daqiqa qaynatiladi, pH (7,2-7,4) aniqlanadi, sovutiladi, filtrlanadi; oldingi miqdoriga yetkazish uchun suv qo'shiladi, zarur idishlarga quyib, avtoklavda 120°C da 30 daqiqa sterilanadi.

Oziqa muhitlarning klassifikatsiyasi

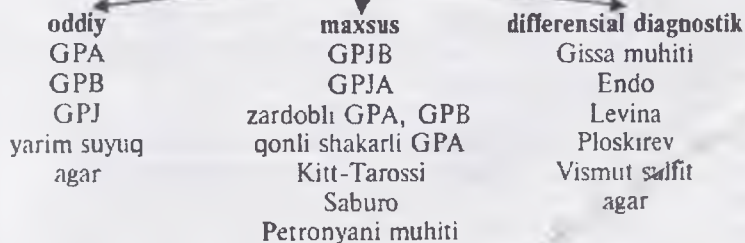
Kelib chiqishiga ko'ra



Konsistensiyasi bo'yicha



Ishlatilishiga qarab



Go'sht – peptonli agar (GPA) tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib ketgunicha qaynatiladi, so'ngra pH 7,2-7,4 aniqlanadi. Paxta-doka yoki filtr qog'ozda filtrlanadi, muhit reaksiyasi tekshiriladi va to'g'rilanadi, zarur idishga quyib 30 daqiqa davomida 120°C da avtoklavda sterillanadi. Probirkalardagi GPA qiyalatiladi (pasm 35).

Go'sht – peptonli jelatina (GPJ) tayyorlash uchun GPB ga 10-20% jelatina qo'shiladi, u bo'kkandan keyin eriguncha isitiladi. pH 7,2-7,4 gacha keltiriladi, qog'oz filtrda filtrlanadi, probirka va kolbalarga quyib, keyin 3 kun 20 daqiqadan Kox apparatida sterillanadi.

Go'sht – peptonli yarim suyuq agar GPB singari tayyorlanadi, faqat agar kamroq miqdorda – ya'ni 0,15 – 0,5% qo'shiladi.

Mikroorganizmlar muhit reaksiyasiga juda sezgir bo'ladi. Oziq muhitining reaksiyasi ikki usulda: elektrometrik (LPU 01 markali pH- metrda) va kalorimetrik usulda aniqlanadi. Ko'pincha oddiy Mixaelis to'plami, Uolpol komporatoridan foydalaniladi. To'plamda pH 5,4 – 8,4 gacha bo'lgan indikatorlar bor (metanitrofenol, paranitrofenol). Komporatordagi maxsus 6 ta uyaga sxemada ko'rsatilgandek (rasm 34): 2- uyaga 2 ml dan muhit va distillangan suv, 1 ml indikator; 1, 3 uyalarga 2 ml muhit va 3 ml distillangan suv; 5- uyaga 5 ml distillangan suv solingan probirkalar; 4, 6- uyalarga kavsharlangan standart indikatorlar joylanadi. pH talab qilingan ko'rsatkichdan past bo'lsa 0,1 n NaOH, yuqori bo'lsa 0,1 n HCl eritmasi bilan kerak darajaga etkaziladi va necha ml sarflangani aniqlanadi. 2ml muhitga 0,3 ml sarflandi. Muhitning umumiy miqdori – 1litr. Unga qancha NaOH qo'shamiz? Demak, $0,3 \times 1000 : 2 = 150 \text{ ml } 0,1 \text{ n}$. yoki 15 ml 1 n NaOH qo'shish kerak. Odatda pH 0,1-0,2 ga ko'proq olinadi, chunki avtoklavdar keyin u kislotali tarafga o'zgaradi va optimal holga tushadi.

Nazorat savollari:

1. Oziq muhitlar klassifikasiyasini ayting.
2. Pepton, agar-agar va jelatina nima? Ular qanday oziq muhit tayyorlashda ishlatiladi?
3. Asosiy oziq muhitlari va ularni tayyorlash usullari.
4. Oziq muhitlarning mikrobiologiya amaliyotida qo'llanilishi.
5. Oziq muhitlarning pH ko'rsatkichi qanday aniqlanadi.

7. Amaliy mashg'ulot №7

Mavzu: Sterilizasiya usullari.

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Sterilizasiya usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: avtoklav, Paster pechi, Kox apparati, Zeyts, shamberlan filtri, termostat, sterilizator, Petri kosachalari, baktriologik probpkalar, kolbalar, darajali pipetkalar, shpris, igna, pinsetlar, mavzuga oid plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Sterilizator, quritgich, avtoklavlar bilan tanishish. 2. Shisha idish, asbob-uskunalarni sterilizasiyaga tayyorlashni o'rganish.

Sterillash (lotincha – *sterillis*-naslsizlash) turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporal) shakllarini to'liq yo'qotishga, ya'ni o'ldirishga qaratilgan.

Laboratoriyalarda oziqa muhitlar, shisha idishlar (probipka, pipetka, kolba va h.k.), asboblar, bog'lovchi materiallar, xalatlar sterillanadi. Maxsus ish sharoitini yaratish uchun havo va boksda predmetlar ham sterillanadi. Sterillashning fizikaviy va kimyoviy usullari bor. Bu usullarning ta'sir etish mexanizmi har xil bo'lgani bilan, ular ikkita asosiy talabga javob berishi kerak.

1. Mikrobnl to'liq naslsizlantirishi. 2. Sterillanayotgan materialni fiziko-kimyoviy xususiyatlari saqlanib qolishi kerak.

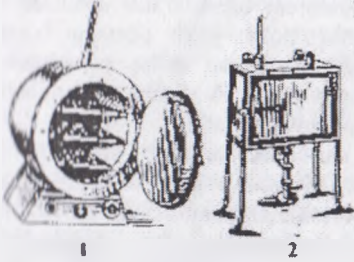
Fizikaviy usul: 1. Quruq issiq bilan sterillash. *Olovda* – bakteriologik tlmq, paster pipetkalari, oynalar, asboblar cho'g'dek qizartirib sterillanadi.

Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash maxsus ikki qavat devorli metal quritgich shkaf - yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (tasv 28). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterillanadi. Kolbalarni paxta tiqin bilan yopib, ustidan qog'oz bilan o'raladi va bog'lanadi. Probirka, Petri kosachasi va probirkalarni pergament qog'ozga o'rash lozim. Ularni quritgichga joylashtirgach elektr tarmoqqa ulab, kerak haroratga yetganida sterillashning boshlanish vaqti belgilanadi. Sterillash davomiyligi: 160°C -2 soat; 170°C -1,5 soat, 180°C -1 soat. Sterillash vaqti tugashi bilan jihozni o'chirib, harorati 45°C ga tushgandan keyingina u ochiladi. Yonuvchi moddalar, suyuqliklar, oziqa muhitlar, rezina narsalarni quruq issiqda sterillash mumkin emas.

Sterillash usullari

fizikaviy			kimyoviy
quruq issiqlik	nam issiqlik	filtrlash va h.k.usullar	
<p>1. Olov yordamida sterillash fombirlash (bakteriologik ilmoq, pinset va h.k. metall predmetlar)</p> <p>2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar). Qurug'ich shkalalarda sterillash vaqti: 160° da - 2 soat 170° da - 1,5 soat 180° da - 1 soat</p>	<p>1. Qaynatish - sterillazorda 20-30 min (shpris, igma, pinset, qeychi, skalpel va h.k.)</p> <p>2. Oquvchi bug' bilan bo'lib-bo'lib (100°C dan yuqori bo'lmagan haroratda). Kox apparati 100°C 30-40 min. 3 kun. a) tindalizatsiya (suv hammomida 100°C dan past haroratda bo'lib-bo'lib sterillash) 70-80°C-3 kun 60-65°C-5 kun 56-58°C-6-7 kun (kolloid eritmalar, zardob va oqsil saqlovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi.</p> <p>3. Yuqori bosim ostida (avtoklavda) sterillash 0,5 atm - 110-112°C 1 atm - 120-121°C 1,5 atm - 124-126°C 2 atm - 132-133°C</p> <p>4. Pasterizatsiya. Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min qizdirib tezda (4-8°C cha) sovutiladi - sut, go'shi, baliq va sabzavot konservalari.</p>	<p>Suyuqliklar quyidagi filtrlardan o'tkaziladi: 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeyts 4) Membranali filtr (ultrafiltrlar)</p> <p>Ultrabinafsha nurlari bilan baktetsid lampalar yordamida boks, operatsiya xonalari havosi sterillanadi.</p> <p>Ultratovush yordamida (suv, sut, bazi teri xom ashyosi mahsulotlan)</p>	<p>1. Oziq muhit, vaktsinadavlovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish 1. xloroform 2. toluol 3. efr 4. fenol 5. formalin 6. mentolol 7 bor kislotasi 8. gliserinlar bilan.</p> <p>11. Dezinfektsiya uchun: 1-3% li xloramin 3-5% li fenol 70% li spirt va hokazo.</p>

Sterilizasiya



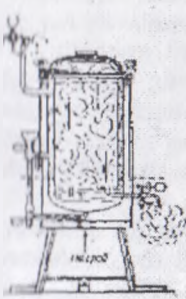
Rasm 28. Quritgich shkalalar
1 - elektorli yumloq; 2 - Paster pechkasi.



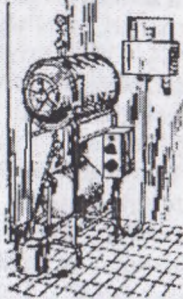
Rasm 29. Oquvchi bug'li Kox apparati



Rasm 30. Sterilizator
1 - qopqog'i;
2 - korpusi;
3 - setkasi;
4 - setkani ilgich



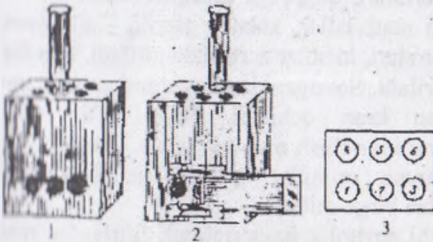
Rasm 31. Vertikal avtoklav sxemasi



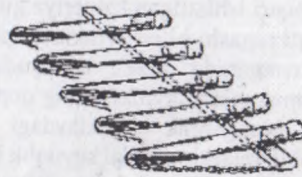
Rasm 32. Gorizantal avtoklav



Rasm 33. Tayyor Zeys filtrlari
1 - shishava; 2 - metal ushlagichlari bilan



Rasm 34. Uolpol komparatori:
1 - umumiy ko'rinishi; 2 - orqa tarafdin ko'rinishi;
3 - komparatorida probirkalarni joylashtirish sxemasi



Rasm 35. Agarni qiyalatish

Sterillash (lotincha nasizlash) - turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporal shakllarini) o'ldirish va ularni yoqish.

2. Nam issiq bilan sterillash. *Qaynatish* – onson, oddiy sterillash usuli bo'lib, maxsus sterilizator (rasm 30) yoki toza idishlardan foydalaniladi. Bu usulda ignalar, shpris, pinsetlar, qaychi, skalpellar, rezinali va shisha narsalar sterilizator setkasidagi 2 – 3 qavatli doka ustiga qo'yib sterillanadi. Shprislarni qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblari – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rab sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopgunicha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20 – 30 daqiqa qaynatiladi. Keyin suvini to'kib, sovugandan so'ng asboblari ishlatiladi.

Oqar bug' bilan 100°C da, 100°C dan kam haroratda bo'lib-bo'lib sterillashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (rasm 29). 100°C da 30 – 40 daqiqa ketma – ket 3 kun sterillanadi. Avtoklavda ham 100°C da bo'lib-bo'lib sterillash mumkin. Bu usulda 100°C dan ortiq haroratga chidamsiz uglevodli oziqa muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterillanadi.

Tindalizasiya – 100°C dan kam haroratda suv hammomida bo'lib-bo'lib sterillash. 70 – 80°C da 3 kun, 60 – 65°C da 5 kun, 56 – 58°C da 6 – 7 kun davomida: birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari esa bir soatdan sterillanadi. 56 – 58°C da kolloid eritmalar, qon zardoblari, ya'ni oqsil saqlovchi moddalar sterillanadi.

Pasterizasiya usulida oziq ovqat mahsulotlari – sut, go'sht, baliq, sabzavot konservalari 80°C da 30 daqiqa qizdiriladi va tezda 4 – 8°C gacha sovutiladi. Bunda bakteriyalarning vegetativ shakllari o'ladi, sporalar saqlanib qoladi. Tezda sovutish va ularni past haroratda (4 – 5°C) saqlash sporalarining o'sishi va ko'payishiga to'sinlik qiladi.

Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash) – 100°C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm. – 110-112°C, 1 atm. – 120-121°C, 1,5 atm. – 124-126°C, 2 atm. – 132-133°C. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (rasm 31, 32). Avtoklavda 100°C ga chidamli oziqa muhitlar (GPA, GPB, fiziologik eritma), qog'ozga o'ralgan shisha idishlar, metal biksga solingan bog'lovchi materiallar, xalatlar sterillanadi. Bundan tashqari ishlatilgan bakteriya kulturalari, idishlar zararsizlantiriladi. Sterillash vaqti tugashi bilan avtoklav o'chiriladi. Sovugandan keyin monometr nolni ko'rsatganida bug' chiqaradigan kran ochiladi. Bug' to'liq chiqib ketmagunicha avtoklavning qopqog'ini ochish mumkin emas. Chunki bosim tez tushganida avtoklavdagi suyuq muhitlar qaynab ketadi, natijada probipkalarning tiqini suyuqlik bilan birga otiladi.

Filtrlash usulida sterillanuvchi suyuqlik bakteriologik filtrlardan (rasm 33) o'tkaziladi. Qattiq – keramikali (silindr shaklli Shamberlan, Berkefeld), asbestli (plastina ko'rinishida Zeyts, F₂ va SF) va membranali (g'ovakli ultrafiltrlar, kolloidiy membranalar) filtrlar bo'ladi.

Ultrabinafsha nurlari bilan sterillash uchun maxsus bakterisid lampalar ishlatiladi. Boks, operatsiya xonalarining havosini zararsizlantirishda ko'proq qo'llaniladi.

Ultratovush bilan sterillash usuli suv, sut, ba'zi mahsulotlar, teri xom pchyoisini zararsizlantirishda ishlatiladi.

Kimyoviy moddalar yordamida sterillash laboratoriya amaliyotida ko'ri berilgan. Bu usul asosan: vaksina, davolovchi va diagnostik zardoblarni material zararklanishdan saqlash uchun ishlatiladi - *konservasiya* qilinadi. Ushbu ma va zardoblar fenol (0,25 - 0,5% li), xloroform (0,5% li), formalin (0,1% li), mertiolat (1:500 - 1:10 000) bilan; agglyutinasialanuvchi zardoblar bor kislotasi, toluol, gliserin bilan.

Kimyoviy moddalar laboratoriyalarda *dezinfeksiya* - uchun ham ishlatiladi: 1-3 % li xloramin, 3-5 % li fenol, 70 % spirt, 3-5-10 % o'yuvchi lichoqlar. Dezinfeksiya sterillashdan farq qilib, unda faqat patogen mikroorganizmlar o'ldiriladi, sterillashda esa biror buyundagi barcha mikroblar butunlay o'ldiriladi.

Nazorat savollari:

1. Sterillashning fizikaviy usullarini ayting.

2. Sterillashning kimyoviy usullarini ayting.

3. Sterilizatsiya usullari qanday talablarga javob berishi kerak.

4. Sterilizatsiya qilish usullari va ularga qo'yilgan umumiy talablarni ayting?

5. «Sterilizatsiya», «Dezinfeksiya» tushunchalarining mohiyati va amalda ishlatilishi?

8. Amaliy mashg'ulot №8

Mavzu: Sof kultura ajratib olish usullari (aerob va anaerob mikroorganizmlarni).

Mashg'ulotning maqsadi: Sof mikroorganizmlarini ajratishning diagnostik ahamiyati va sof kulturani ajratish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: har 2-3 talabaga probirkada 10 ml steril fiziologik eritma; 5-6 ta probirkada 9 ml GPA, darajali pipetkalar va 5-6 ta steril Petri kosachalari, probirkada bir-nechta tur bakteriyalar aralashmasi (stafilokokklar, salmonellalar, pichan tayoqchasi).

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi Sof kulturani ajratishning turli xil usullarini tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: sof kulturani ajratishda qo'llaniladigan turli usullarda ekishni o'zlashtirish va mustaqil bajarish, daftarga yozish.

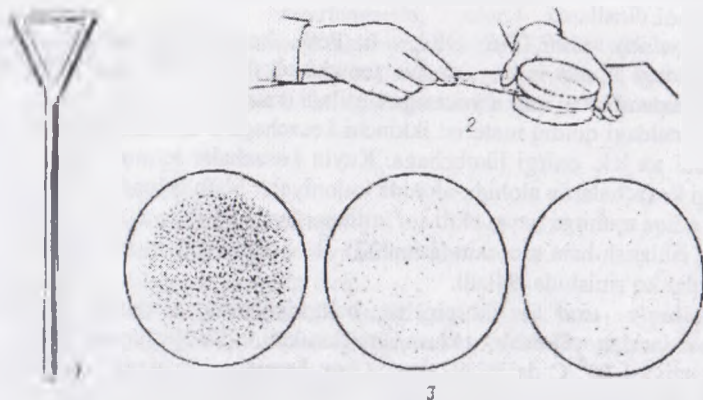
Laboratoriya amaliyotida ba'z materiallarni bakteriologik tekshirganda unda ikki yoki bir necha tur mikroblar aralashmasi bo'lishi mumkin. Undan ajratib olingan bir turga mansub mikroorganizmga sof kultura deyiladi

Mikroorganizmlarning sof (bir turining) kulturasi ajratish bakteriologik tekshirishlarning asosiy ishi hisoblanadi. Mikroorganizmlarning xususiyatlarini o'rganish va ularning turini aniqlash uchun faqat uning sof kulturasi ishlatiladi. Sof kulturani ajratish maqsadida maxsus ekish usullarida bakteriyalarni alohida koloniyalar hosil qilib o'sishiga erishiladi (zich oziq muhitda). Koloniya bitta mikroorganizm hujayrasining ko'payib, rivojlanishidan hosil bo'lishini hisobga olsak, alohida bitta koloniyadan steril oziq muhitga qayta ekilsa sof kultura ajratib olishga imkon beradi. Sof kulturani ajratishning har xil usullari mavjud: Paster, Kox, Drigalskiy, fizikaviy, kimyoviy va biologik.

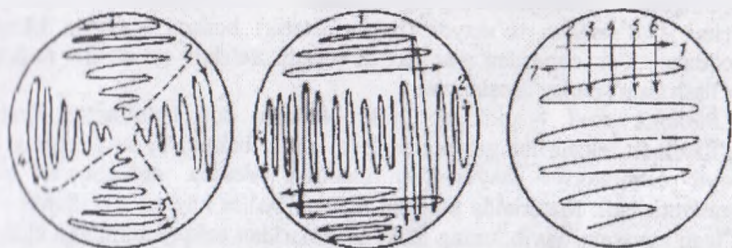
Paster usulida 8-10 probirkaga 9 ml dan GPA olinib, birinchisiga tekshiriladigan namunadan pipetka bilan bir tomchi qo'shib, aralashtiriladi va undan 0,1 ml ikkinchi va keyingi probirkalarga ketma - ket o'tkazilib aralashtiriladi, oxirgi probirkagacha suyultiriladi. Suyultirish darajasi ortishi bilan mikroblar soni kamayib boradi. Paster oxirgi probirkada bir tur mikroorganizm qoladi deb o'ylagan. Lekin ushbu usulda sof kultura ajratish ehtimoli kam. Hozirgi vaqtda Pasterning suyultirish usulidan yordamchi sifatida boshqa usullarni bajarishda foydalaniladi.

Kox usuli 5-6 probirkada eritilgan va 45-50°C gacha sovutilgan GPA 10-15 ml-dan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har-bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotqandari so'ng, kosachalar to'ngarilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi.

Sof kultura ajratish usullari



Rasm 36. Mikroorganizmlar kultasini zich oziqa muhit yuzasiga shpatel bilan ekish: 1-Dregalskiy shpateli; 2-ekish; 3-mikroorganizmlarning o'sishi.



Rasm 37. Mikroorganizmlar kulturastni zich oziqa muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish.



Rasm 38. Suyultirish usulida olingan anaerob bakteriyalarning chegaralangan koloniyalari

Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar shaklida bizni qiziqtirgan sof kultura o'sib chiqadi. Alohida koloniyadan steril GPB, GPA larga ekiladi. Kox Paster usulidan foydalanib, faqat suyuq muhit o'rniga zich oziq muhitini ishlatgan (rasm 38). Suv, sut, tezak va h.k. materillarni tekshirishda qo'llanadi.

Drigalskiy usuli 5-6 GPA -li Petri kosachalari olinadi. Birinchi kosachadagi muhit markaziga bir tomchi tekshiriladigan materialni quyib shisha shpatel bilan muhit yuzasiga surtiladi (rasm 36).

Shpateldagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilab muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi likobchaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar o'sib chiqadi, ulardan tanlab steril oziqa muhitga qayta ekib sof kultura ajratiladi. Shpatel o'rniga bakteriya ilmoq ishlatish ham mumkin (rasm 37). Bu holda material zigzag yoki shtrich chiziqlar ko'rinishida ekiladi.

Fizikaviy usul - ko'pincha bakteriyalarning sporali shakllarini sporasizlaridan ajratish uchun qo'llaniladi. Tekshirilayotgan materialni suspenziyasi 80° C da 30-40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o'ladi, sporalar qoladi. Tekshirish Drigalskiy yoki Kox usullarda davom ettiriladi.

Kimyoviy usul- oziqa muhitlarga ma'lum miqdorda kimyoviy moddalar qo'shilganda bakteriyalarning ayrim turlari o'ladi (bakterisid ta'sir qiladi) ayrimlari - o'sishdan to'xtaydi (bakteriostatik) boshqa turlariga kimyoviy moddalar ta'sir etmasdan ular yaxshi o'sadi. Selektiv va elektiv muhitlarni qo'llash ham shunga asoslangan.

Biologik usul - patogen mikroblarning sof kulturasi ajratishda qo'llaniladi: tekshiriladigan material (to'qima, bakteriya) suspenziyasi bilan moyil laboratoriya hayvoni(oq sichqon, dengiz cho'chqasi, quyov) zararlantiriladi. Materialda patogen mikroblar bo'lsa hayvon kasallanib o'ladi. O'lgan hayvonni yorib, uning ichki organlaridan oziqa muhitlarga ekilgan patogen mikroblarning sof kulturasi ajraladi.

Shukevich usuli - Material GPA ning kondensat tomchisiga ekilganda harakatchan bakteriyalar muhitning yuqori qismigacha o'sadi va unda kamgina olinib toza oziqa muhitga ekilsa harakatchan bakteriyaning sof kulturasi ajratiladi.

Anaeroblarning sof kulturasi ajratish usullari ham yuqoridagilardan ko'rsatilgan prinsiplarga asoslanadi. Lekin maxsus anaerob mikroblar uchun o'sadigan muhitlardan foydalaniladi.

Drigalskiy usuli - Petri kosachalarida GPA o'rniga maxsus qonli glyukozali GPA qo'llanilib, anaerob sharoit yaratiladi (eksikator mikroanacrostat).

Uyqumchilarning muhitiga ekish usuli — oziqa muhitda alohida-alohida qora qonli koloniyalar o'sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekkanda sof kultura ajratiladi.

Ilxosiy usuli — tekshirilayotgan material yoki aralash kultura bilan moyil laboratoriya hayvonlari zararlanganda, ular kasallanib o'ladi. Patologik-anatomik vorib, ularning ichki organlaridan Kitt-Tarossi muhitiga, qonli suyuqlik yoki qonli glyukozali agarga ekib yuqorida ko'rsatilgan usullaridan birini qo'llagan holda patogen anaeroblarning sof kultura ajratiladi.

Savol-savollari:

1. Sof kulturaga tushuncha bering.
2. Sof kultura ajratishning qanday usullari bor.
3. Kox, Drigalskiy usullarining farqi.
4. Fizik, fizikaviy va biologik usullarini ta'riflang.
5. Anaeroblarning sof kulturasi ajratish usullarini ta'riflang.

9. Amaliy mashg'ulot №9

Mavzu: Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.

Mashg'ulotning maqsadi: talabalarni mikroorganizmlarning kultural xususiyatlari bilan tanishtirish, suyuq, yarim suyuq va zich oziqa muhitlarda o'ziga xos o'sish xususiyatlarini ozlashtirish. Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini aniqlashning ba'zi usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: har 2-3 talabaga: GPB va GPA –da o'sgan mikroob kulturalari. Probirkalarda toza GPB va GPA, GPJ, Petri kosachalarida Levin, Endo, qonli agar, indikator qog'ozlar - vodorodsulfit, indol, ammiakni aniqlash uchun. Tegishli jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

Q'qituvchi talabalarni bakteriyalarning suyuq va zich oziqa muhitlarda o'sish xususiyatlari bilan tanishtiradi. Ularga vazifa beradi: mikroob kulturalarini ko'zdan kechirib tekshirish – makroskopik va mikroskopik (ob'yektiv 8 yoki lupa bilan). Mikroob kulturasi Petri kosachasida tanlangan mikroob koloniyasini maxsus qalam bilan belgilab tekshiriladi: a) sxema bo'yicha b) toza oziqa muhitlarga ekib v) surtma preparat tayyorlab. Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda tekshirib, natijasi daftarga chiziladi. Mikroob kulturasi uglevodli muhitlarga ekib –saxarolitik, GPJ –ga ekib proteolitik, qonli agarda gemolitik xususiyatlarini o'rganadi.

Laboratoriyada har bir ajratilgan sof mikroob kulturasi albatta identifikasiyalanadi (qiuoslash), ya'ni uning turi aniqlanadi. Buning uchun quyidagi xususiyatlari o'rganiladi:

1. Morfologiyasi (hujayraning shakli, o'zaro joylashishi, hajmi, spora va kapsula hosil qilishi, harakati).

2. Tinktorial xususiyatlari (oddiy, Gram va boshqa bo'yash usullariga munosabati).

3. Kultural xususiyatlari (oziqu muhitlarda o'sishi)

4. Biokimyoviy xususiyatlari (saxarolitik, gemolitik, proteolitik)

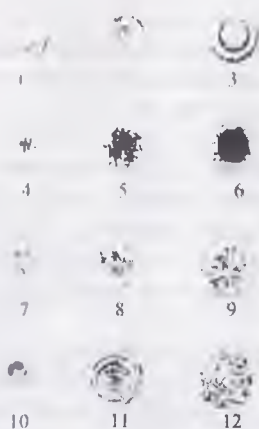
5. Toksigenligi (ekzo- va endotoksinlar hosil qilishi).

6. Patogenligi (laboratoriya hayvonlarini zararlab).

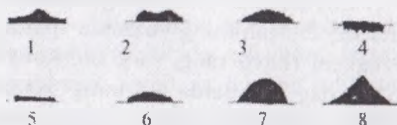
7. Antigenlik xususiyatlari (serologik reaksiyalar qo'yib).

Olingan ma'lumotlar maxsus qo'llanma Bergining (1984 yil «Bakteriyalarni aniqlagich»idan foydalanib mikroob turi aniqlanadi. Mikroorganizmlarni identifikasiyalashda faqat yosh (16 – 18 – 24 - 48 soat suyuq, zich oziq muhitda o'stirilgan) kulturalar ishlatiladi, chunki eskilarining kultural xususiyatlari o'zgarishi mumkin. Zich oziqa muhitida bakteriyalar o'ziga xos koloniyalar hosil qiladi.

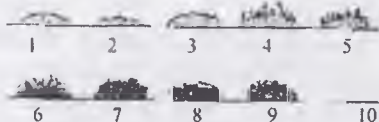
Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.



Rasm 39. Koloniya shakllari:
1-yumaloq, 2-yumaloq chetlari to'liqsimon;
3-yumaloq chetlari xoshiyali; 4,5-rizoidli;
6-chetlari rizoidli; 7-ainyobasimon;
8-rpsimon; 9-qatlam-qatlam;
10-notog'ri shaklli, 11-konsentrik;
12-murakkab.



Rasm 40. Koloniyaning yon tomonidan ko'rinishi (profil):
1-egilgan; 2-kratersimon;
3-g'adir-budir; 4-substratga o'sib kirgan;
5-tekis; 6-bo'rtiq; 7-tomchisimon;
8-konussimon.



Rasm 41. Koloniyaning chetlari:
1-silliq; 2-to'liqsimon;
3-tishchali; 4-parrakli;
5-notekis; 6-kipriksimon; 7-ipsimon;
8-tukchali; 9-shoxlangan.



Rasm 42. Koloniyaning tuzilishi:
1-bir xil; 2-mayda donador;
3-yirik donador; 4-oqimsimon;
5-sertola.



Rasm 43. Jelatin erishining har xil shakllari



Rasm 44. Naychada gaz to'planishi:
1-gaz hosil bo'lgan;
2-gaz hosil bo'lmagan.

Koloniya – deb bir tur bakteriya hujayrasining ko'payishidan hosil bo'lgan mikroblar to'plamiga aytiladi. Har bir koloniyada bir necha yuz mingdan 2 – mlrdgacha mikroblar hujayralari bo'lishi mumkin.

Suyuq oziqa muhitda o'sgan mikroorganizmlarining xususiyatlari:

1. Loyqalanish intensivligi va xossasi – bir xil (diffuz), kuchli, o'rtacha, kuchsiz. 2. Muhitning yuzasida parda, halqa hosil bo'lishi. Pardaning rang tovlanishi (havo rang, sarg'ish, kul rang, oq), qalinligi (ingichka, yo'g'on, nozik, dag'al), parda yuzining xossasi (qattamli, ajinli, silliq, to'rsimon, momiq), konsistensiyasi (mo'rt, shilimshiq, yog'li) hisobga olinadi. 3. Cho'kma hosil bo'lishi – ko'p, oz, yo'q. Holati zich, yumshoq, donador, paxta bo'lakchasidek, ipr-ipr, ushoqsimon, shilimshiq. Rangi oq, sarg'ish, yashil, kul rang. Qoqib ko'rganda cho'kma tarqalib, muhitni bir xil doimiy loyqalantiradi yoki yirik ba'zan mayda ipr-iprli bo'ladi. Shilimshiq cho'kma o'rtilgan soch ko'rinishida ko'tariladi. Mikroblar probirka devoriga yopishib rivojlanishi mumkin. Mikroorganizmlar ba'zan bir nechta xususiyatlar namoyon qiladi.

Yarim suyuq oziqa muhitda o'sgan mikroorganizmlarining xususiyatlari: harakatsiz bakteriyalar ekish yo'lida oq sterjen ko'rinishda o'sadi, uning atrofidagi muhit tiniqligicha qoladi. Harakatchanlari bulutchalar ko'rinishida tarqalib muhitni har xil darajada loyqalantiradi.

Zich oziqa muhitida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari: Koloniyalar alohida chegaralangan va qo'shilib birlashib ketgan bo'laklar. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 ob'yektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish xarakteri aniqlanadi – ko'p, o'rtacha, kam. Keyin koloniya shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. *Shakli* – to'g'ri (oval, yumaloq), noto'g'ri (ildizsimon, yulduzsimon, amyobasimon, shoxlangan va h.k. (rasm 39) 2. *O'lchami* diametri ifodalanadi: yirik koloniyalar – 4 mmdan ortiq, o'rtachasi 2 – 4 mm, mayda 1 – 2 mm va yanada mayda shudringsimonlari – 1mm-cha bo'ladi. *Chetlari* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'liqsimon, populyatsiyali, jingalak (rasm 41). 4. *Tiniqligi va yaltirashi* (tushayotgan yorug'likda ko'riladi) – tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltirashli, fluoressensiyalovchi koloniya. 5. *Rangi* – kul rang-oq, rangsiz, oq, qizil, sariq, qizil, ko'k, tilla rang, yashil, va boshqa rangli. Hosil qilingan pigmentning rangiga bog'liq. 6. *Yonidan ko'rinishi (relefi)* – bo'rtiq, yaltirashli, konussimon, tekis, markazi botiq va h.k. (rasm 40). 7. *Yuzasi* silliq, g'adir-budir, unimon, ajinsimon, qavat – qavat. 8. *Konsistensiyasi* – zich, ushoqsimon, quruq, yarim suyuq, xamirsimon, shilimshiq, kukunsimon, yog'li. 9. *Tuzilishi* – bir xil, sertola, donador, pardali (rasm 42). 10. *Hidroliz* yo'q, bor (nimani eslatadi?).

Biokimyoviy xususiyatlar.

Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish yuqumli kasallikning etuvchilarini aniqlashda muhim differensial diagnostik usul hisoblanadi.

Bakteriyaning saxarolitik xususiyatlari ularni tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlar bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning uchun Gissa oziqa muhiti (tarkibida –glyukoza, laktoza, galaktoza, saxaroza, mannit, dulsit, arabinoza, sorbit va h.k. bo'ladi) steril rangsizlantirilgan sut, lakmusli sut, metilen ko'ki qo'shilgan sutlarga kultura qo'yiladi. Termostatda o'stirib, uglevodlarni fermentasiya qilish natijasi ko'zga olinadi. Muhit rangi qizaradi – uglevod parchalanib kislota va gaz hosil bo'ladi (rasm 44). Bu maqsadda yarim suyultirilgan agar uglevod va indikatorli qo'shilgan holda, shuningdek zich oziqa muhitlar Endo, Levin, Gissalarni ishlatiladi.

Protokolit xususiyatkami ko'pincha GPJ ga kulturani tik ekib aniqlanadi. Bakteriya fermentlari ta'sirida jelatina proteolizga uchrab, muhitda erish (suyulish) paydo bo'ladi. Har xil turdagi mikrobnin jelatinani parchalashi har xil bo'ladi. Ba'zisi voronka, ba'zisi xaltachadek, paypoqsimon va boshqalar (rasm 43). Bakteriylar oqsilni parchalashining oxirgi mahsulotlari indol, vodorod sulfid, ammiak va h.k.) hosil bo'lishiga qarab aniqlanadi. Indolni maxsus tayyorlangan lakmus qog'ozlardan foydalaniladi. qo'rg'oshin eritmasi shindirilgan qogoz vodorod sulfid ta'sirida qorayadi, ammiak eritmasida pushti rangli lakmus qog'oz zangori, indol ta'sirida esa sariq indikator qog'oz pushti rangga kiradi.

Mikroblarning ba'zilari o'zining fermentlari ta'sirida reduksiyalash xususiyatini namoyon qiladi. Ya'ni organik bo'yoq – metilen ko'ki, malaxit yashil, neytral qizil kabilar qo'shilgan oziqa muhitga (sut) ekkanda 24 soat termostatda o'stirgandan keyin uni rangsizlantiradi.

Katalazani aniqlashning har xil usullari bor. 1. Agarda o'stirilgan sutkali kulturaning yuzasiga 1 ml 1%li vodorod perikisi eritmasi bir tekis yayiladi. Katalaza bo'lsa, ajralgan kislorod gazi pufakchalari paydo bo'ladi. 2. Buyum eritmasiga 3 – 10 %li vodorod perikisi eritmasi tomdirib unga bakterial bouqni agarli kultura aralastiriladi. Gaz pufakchalarining (kislorod) borligini katalazaning borligidan dalolat beradi. 3. Bulonli kulturada katalazani aniqlash probirkaga 1 ml kultura quyib unga 1 ml 10%li vodorod perikisi eritmasi qo'shiladi. Gaz pufakchalarining ajralishi (har xil darajada) katalazaning borligidan dalolat beradi.

Gemolitik xususiyatlar. Ba'zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, qonni plazmani lizisga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar- gemotoksinlar hosil qiladi. U eritrosit qobig'ini parchalaydi. Bakteriylarning gemolitik xususiyatini aniqlash uchun kultura 5 % fibrinsizlangan qon aralastirilgan

go'sht - peptonli agarga ekiladi (qonli agar). Agar gemolitik xususiyati bo'lsa eritrositlar lizisga uchrab koloniya atrofida tiniq gemoliz paydo bo'ladi.

Nazorat savollari:

1. Mikroblarning kultural xususiyatlari?
2. Identifikatsiyalashda mikroorganizmlarni qanday xususiyatlar o'rganiladi.
3. Bakteriyalarning saxarolitik xususiyatlari qanday aniqlanadi?
4. Proteolitik xususiyatlarning mohiyati nimadan iborat?
5. Gemolitik xususiyatlar qanday o'rganiladi?

10. Amaliy mashg'ulot №10

MAVZU: Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash.

Mashg'ulotning maqsadi: antibiotikning faolligini, bakteriyalarning ularga sezgiriligini va chidamliligini aniqlash usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: har 2-3 talabaga GPA quyilgan ikkita Petri tashiqchasi, darajali 2 ml pipetka, mikroob kulturasini (stafilokokk yoki enterixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskli flakonlar, pipetka, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA - da antibiotik disklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli javdallar.

Ushbu ko'rsatmalar

O'qituvchi - antibiotiklarning faollik birligi, uni aniqlashni, mikroorganizmlarning antibiotiklarga sezgiriligini aniqlash usullarini tanishtiradi. Talabalarga vazifa beradi: qog'oz diskli usulini bajarish. Avvaldan tayyorlangan qog'oz diskli usulini xulosasini daftarga yozish. O'sishdan to'xtash zonasini o'lchash.

Antibiotiklar olinadi - bakteriyalardan (gramisidin, polimiksin, tirotrisin, ampicilin va h.k.), aktinomisetlar (streptomisin, neomisin, tetrasiklin, gentomisin va h.k.), mog'or va lishayniklar (penicillin, grizeofulvin va h.k.), hayvonlar (lizosim, eritrin, ekmolin va h.k.) va o'simliklardan (allisin, jimbeksin, aloe, piyoz va sarimsoq fitonsidlari va h.k.). Bu ularning hayot faolligida hosil bo'lgan mahsulotlar. Davolash amaliyotida antibiotiklar ta'sir etish spektriga qarab farqlanadi: mikroorganizmlarning alohida bir guruhiga (masalan, grammusbat yoki grammanfiylariga) ta'sir etuvchi yoki bir xil guruh mikroblarga ta'sir etuvchi. Antibiotiklar sanoat asosida kaliy, natriy, kalsiyli tuzlari ko'rinishida tayyorlanadi va maxsus upakovkalarda saqlanadi. Hamma vaqt preparatni chuqarishdan avval uning faolligi aniqlanadi.

Antibiotiklar ma'lum mikroblar guruhiga antimikroblari ta'sir etib, ularni aniqlanishdan to'xtatadi yoki o'ldiradi.

Antibiotiklarning biologik faolligi - ta'sir birligi TB bilan belgilanib, 1 ml eritma (TB/ ml) va 1 mg preparatdagi miqdori (TB / mg) bilan ifodalanadi.

Antibiotikning ta'sir birligi (TB) deb ma'lum hajmdagi oziqa muhitda oziqa standart test mikrobnini o'ldiradigan eng oz miqdoriga aytiladi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda o'ziga xos test mikroob ishlatiladi: penicillin uchun - tilla rang stafilokokk 209-R, streptomisin va tetrasiklin uchun - *Bac. Subtilis*, biomisin, levomisetin uchun - *E.coli*. Antibiotiklarning faolligini ta'riflash ta'rif ta'sir birligi bir xil emas: penisillinning 1 TB - 0,6 mkg,

streptomisin – 1 mkg, neomisin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birligi (XTB) deyiladi.

Samarali antibiotiklarni tanlash uchun laboratoriyada ajratilgan so'z kulturaning antibiotiklarga sezgirligi aniqlaniladi. Mikrobnning antibiotiklarga sezgirligi ularning eng oz miqdori 16-18 soatda bakteriyalarning o'sishini to'xtatishi yoki o'ldirishi bilan aniqlanadi. Buning ikki usuli bor:

1. Suyuq yoki zich oziqa muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish.

2. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shindirilgan qog'oz disklar) usuli.

1 – usul: a) oziqa muhitni tanlash; b) antibiotikning eritmalarini tayyorlash; v) kulturani tekshirishga tayyorlash; g) natijani hisobga olish bilan bajariladi. Oziqa muhit mikroorganizmning turi va tekshurish uslubiga bog'liq ravishda kulturaning optimal o'sishini ta'minlashi kerak (pH 7,2-7,4). Bir turdagi mikrobn bitta antibiotikka sezgirligini aniqlashga: oziqa muhit (GPB) 6 ta probirkada 2 ml dan - antibiotikni ketma ket suyultirish uchun; 2 ta probirkada 9 – 10 ml dan kulturani suyultirish uchun va kolbada antibiotikning ishchi eritmasini tayyorlash uchun olinadi. Antibiotiklarning asosiy va ishchi eritmaları ishlatiladi.

Asosiy eritma 1ml distillangan suvga 1000 mkg (TB) antibiotik hisobida tayyorlanadi. Undan esa tajriba oldidan GPBda suyultirib ishchi eritma tayyorlanadi. Albatta mikroorganizmlarning taxminiy sezgirligi inobatga olinadi. Agar u 0,01 – 0,1 mkg/ml bo'lsa, antibiotikning kerakli miqdori olish uchun probirka va kolbada faolligi 0,5 mkg/ml bo'lgan steril ishchi eritma tayyorlanadi.

Qatordagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisiga kolbada miqdori 0,5 mkg/ml bo'lgan antibiotikning ishchi eritmasidan 2 ml quyib aralashtiriladi. Undan keyingi probirkaga 2ml dan ketma-ket o'tkazib birinchi ketin suyultiriladi. Natijada birinchi probirkadagi oziqa muhitda antibiotik miqdori 0,25 mkg, ikkinchisida – 0,12 mkg, keyingisida – 0,06; 0,03; 0,01; 0,007 mkg bo'ladi. Zich oziqa muhitda aniqlash uchun 6 ta probirkada antibiotik bir qator suyultiriladi: 400, 200, 100, 50, 25 va 12,5 mkg /ml. Har bir probirkadan 1 ml steril Petri kosachasiga quyib, ustidan 19 ml – oziqa (55°C) eritilgan GPA qo'shiladi va sekin chayqatib aralashtiriladi. Natijada Petri kosachalarida antibiotikning miqdori 20 marta kamayadi: 20,10, 5, 2,5, 1,25 va 0,6 mkg. Muhit qotguncha stolda turadi. Antibiotik suyultirilgan oziqa muhitli probirkalarga yoki Petri kosachalariga 16-18 soat o'stirilgan asosiy konsentratsiyali (10000 mikrob/ml) mikrob kulturasi 0,2 ml dan ekiladi. So'z probirkalarning 1 ml da 1000 ta mikrob bo'ladi. Termostatda 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdori, yonidagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdori qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakteriya o'sishini to'xtatish miqdorini ko'rsatadi.

sezuvchanligini aniqlash

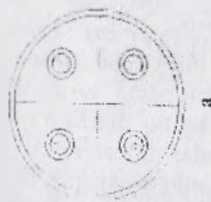


a

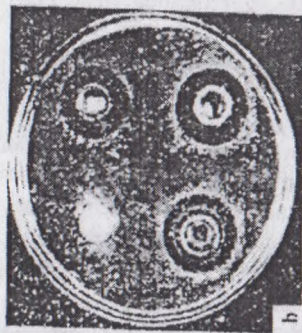


b

Rasm 45. Kulturalarni antibiotiklarga sezuvchanligini perpendikulyar shtrixlar usulida aniqlash
a-ekish sxemasi; 1-6 test kultura shuraxlari, 7-antibiotik; b-ularning o'sishi.



a



b

Rasm 46. Agarti qoliplar usulida antibiotiklarga sezuvchanlikni aniqlash
a-1-4 har xil antibiotiklar; b-kulturaning o'sishdan to'xtash zoni.

2- usul – laboratoriya amaliyotida ko'pincha agarga diffuzlash usuli qo'llaniladi. U Perpindikylyar shtrixlar, agarli qoliqlar, standart antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar usullarida bajariladi (rasm 45-46). Antibiotiklar standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalariga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so'ng, 1 ml 1 milliardli tekshiriladigan mikroorganizmlar kulturasi muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. Ortiqchasi pipetka bilan olinib tashlanadi. Ekmalar 37°C da 15 - 40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disk larni steril pinset bilan kosachalar chetidan va bir-biridan 2 sm masofada o'rnatib, ustidan sekin bosiladi. Kosachaning markaziga ham bir dona disk o'rnatiladi. Har bir diskni o'rnatgandan keyin pinsetni alangada sterillash lozim. Kosachalar uy haroratida 2-3 soat, keyin 16-18 soat termostatda saqlanib, natijasi aniqlanadi: diskka qo'shib uning atrofida mikroblar o'smagan xududning diametri lineyka bilan o'lchanilgan mmlarda ifodalanadi va quyidagicha baholanadi: o'smagan xududning diametri 15 mmgacha bo'lsa mikroorganizm antibiotikka kam sezuvchan; 15-25 mm bo'lsa sezuvchan; o'smagan xudud bo'lmasa sezuvchan emas. O'smagan xududning diametri qancha katta bo'lsa, bakteriyaning ushbu antibiotikka sezuvchanligi shuncha yuqori bo'ladi.

Nazorat savollari:

1. Antibiotiklar nima? Ular bakteriyalarga qanday ta'sir qiladi?
2. Antibiotiklarning ta'sir birligi deb nimaga aytiladi?
3. Agarga diffuzlash usulini ta'riflang.
4. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlashning usullarini ayting.
5. Suyuq yoki zich oziqa muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish usuli.

11. Amaliy mashg'ulot №11

Mavzu: Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.

Mashg'ulotning maqsadi: Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullarini o'rganish. Mikroorganizmlarning LD-letal dozasi, zararlantiruvchi dozasi - dozaning mohiyatini tushunish.

Material va jihozlar: Laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqasi, quyon), GPA da bakteriya kulturasini (*E.coli*), steril bakterial probirka, steril fiziologik eritma, steril shpris ignasi bilan, paxtali tamponlar, spirt, pinset, qog'ozli paflyal va plakatlar.

Ushbu ko'rsatmalar

Ushbu ko'rsatmalar darsni tushuntiradi. Talabalar - fiziologik eritma bilan laboratoriya hayvonlarini zararlash usullarini o'rganadilar.

Laboratoriya hayvonlarini zararlash - biologik sinov o'tkazishdan maqsad: zararlantiruvchi patmaterialdan qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratish, zararlantiruvchi mikroorganizmning patogenligini sinash, vaksinalarning, immun preparatlarining samaradorligini aniqlash.

Patogenlik kulturalarning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararsizligini baholashda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan preparatning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroorganizmning virulentlik (zararlanish qobiliyati) xususiyatlari maxsus shartli birliklarda o'lchanadi: absolyut letal doza (LD_{100}) - dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni zararlantiruvchi doza (LD_{50}) - 50% zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50% li zararlantiruvchi doza (ZD_{50}) - zararlangan hayvonlarni 50% kasallanadi. LD_{50} va ZD_{50} - aniq ko'rsatkichlar hisoblanadi, chunki ular tajribaga olingan hayvonlarni zararlantiruvchi mikroorganizmga sezuvchanligini ko'rsatadi. Del esa chidamli mikroorganizmning sezuvchanligini ko'rsatadi.

Rid va Mench usulida LD_{50} ni hisoblash

Bakteriya preparatining miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma'lumotlar		Kumulyativ ma'lumotlar			
		o'ldi	tirik	o'ldi	tirik	o'lganlarini zararlanganlariga nisbati	o'lim %
1	2	3	4	5	6	7	8
10^0	6	6	0	14	0	14:14	100
10^{-1}	6	5	1	8	1	8:9	88,8
10^{-2}	6	2	4	3	5	3:8	37,5
10^{-3}	6	1	5	1	10	1:11	9
10^{-4}	6	0	6	0	16	0:16	0

tekshirilayotgan mikroblarning kulturasi LD₅₀ ko'rsatkichi quyidagi aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikroblar hujayrasi bo'lgan suspenziyadan ket ket 500 mln, 250 mln, 125 mln, 62.5 mln li suyultirmalar tayyorlanadi. H biri bilan 6 tadan oq sichqon qorin bo'shlig'i yoki terisi ostiga 0,5 ml doz zararlanadi. 10 kun davomida kuzatiladi. Odatda qo'zg'atuvchining b qaysi dozasi zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmaydi. Shuning uch LD₅₀ statistik usulda aniqlanadi.

Rid va Mench usulida LD₅₀ ni aniqlash. Jadvalda ko'rsatilgan tajri natijasining haqiqiy raqamlari 3-4, kumulyativ ma'lumotlar esa ustunlarda berilgan. 10⁻² qatordagi 14 raqami shu dozada kichik doza bi (10⁻³, 10⁻⁴ va boshqalar) zararlangan barcha sichqonlar ham o'lishi mum edi degan ehtimoldan kelib chiqadi: 6+5+1=14 ta sichqon. Xuddi shunda ustundagi har bir dozaga qarshi, 6 ustundagi (tirik) barcha dozalar uch kumulyativ ma'lumot aniqlanadi. Masalan, minimal dozada 10⁻⁶ zararlang 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlangandan keyin tirik qol barcha sichqonlar ham o'lmasligi mumkin edi. Demak, 10⁻⁶ doz kumulyativ ko'rsatkich: 6+5+4+1=16 ta sichqon. Boshqa dozalar uchun h ko'rsatkichlar shu tarzda aniqlanadi. Kumulyativ ma'lumotlarga asosla har bir dozada zararlaganda o'lgan sichqonlar foizi hisoblanadi. Tajriba hech qaysi doza zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmagan, uni top uchun matematik hisoblash kerak. Misolimizda LD₅₀ 10⁻² va 10⁻⁴ o'rtasi ko'proq 10⁻¹ ga yaqin. Farqini (37,5 dan 50% gacha) kattasiga nisbatan o (37,5 dan 88,8% gacha) proporsionallik faktori, ya'ni 10⁻⁴ dozani LD₅₀ o farqi aniqlanadi. Bu faktor suyultirish lagorifmiga ko'pautiriladi (faktor= lg=1). U 1 ga teng. Uni 10⁻⁴ dan ayirsak LD₅₀ kelib chiqadi.

$$\frac{50-37,5}{88-37,5} = 0,243 \text{ (proporsionallik faktori). } 0,243 \times 1 = 0,243, 4,0 - 0,243 = 3,756$$

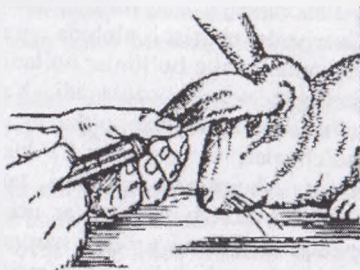
Demak, LD₅₀ = 10^{-3,756}. Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakter suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun lagorifmik jadval foydalaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tas etadi. Sichqonlarni zararlash uchun 10⁹/ml bakteriya suspenziyasi 0,5 hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda, LD₅₀ = 10⁹ × 0,5 : 5747 = 87 mikroblar hujayrasi.

Mikroorganizmlarning patogenligi ularning boshqa xususiyatla o'rganib ham aniqlanadi. Masalan plazmokoagulaza, gialuronida gemolizin, fibrinolizin, lesitinaza, DNK-aza testlari mikroblarning patogor belgilarini namoyon qiladi.

Laboratoriya hayvonlarini zararlash



Rasm 47. Sichqonning venasidan zararlash.



Rasm 48. Quyoning quloq venasidan zararlash.



Rasm 49. Qorin bo'shlig'iga zararlash. a-katta, b-yosh sichqonga.



Rasm 50. Dengiz cho'chqasini terisi ostiga zararlash.



Rasm 51. Sichqonning miyasiga zararlash.



Rasm 52. Quyoning miyasiga zararlash.

Biosinov ko'pincha oq sichqon, kalamush, dengiz cho'chqasi, quyon ayrim paytlarda tovuq, mushuk, it va yosh tabiiy moyil hayvonlar - qo'y, sh.h, cho'chqalarda o'tkaziladi.

Laboratoriya hayvonlari maxsus xonalarda «Vivariyada» saqlanadi. Vivariyada chiqishi alohida ajratilgan karantin, sog'lom va zararlan hayvonlar uchun bo'limlar bo'ladi. Zararlangan hayvonlar alohida ular uchun ajratilgan xonada saqlanadi. Yangi keltirilgan laboratoriya hayvonlari veterinariya ko'rigidan o'tkazib, oq sichqonlar 10 kun, kalamush, dengiz cho'chqalari va quyonlar 21 kun karantinda saqlanadi. Vivariyada kerakli anjom, laboratoriya idishlari, tarozi, termometr, hayvonlardan qon olish zararlash, yorish va h.k. lar uchun asbob – uskunalar bilan jihozlani. Sovuq kunlarda vivariyada harorat 12-20° bo'lishi kerak. Hayvonlar maxsus kataklarda saqlanadi, maxsus rasion bilan oziqlantiriladi.

Biosinov o'tkazish uchun sog'lom, bir turda, yoshda va og'irlikda sichqonlar – 16 gr, dengiz cho'chqasi -250-300 gr, quyon -2, 3-5 ta tanlanadi. Ularning tana harorati o'lchanadi va belgilanadi: oq sichqon kalamushlar anilin bo'yoqlar bilan, dengiz cho'chqasi va quyonlar teri sirg'a bilan belgilanadi. Qulay va xavfsiz ishlash uchun ular yaxshi fiksatsiyalanadi.

Hayvonlarning zararlanadigan joyi oq sichqondan tashqari junidan tozalanadi: spirt, 5% yod eritmasi, 2% karbol eritmasi bilan dezinfeksiyalanadi.

Laboratoriya hayvonlarini zararlash uchun mikroblar kulturasini, uning tokini yoki patmaterial suspenziyasi qo'llanadi. Suspenziya patmaterialdan suspenziya hovonchada yaxshilab ezib, fiziologik eritma bilan 1:5, 1:10 nisbatda tayyorlanadi.

Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.

1. Teri yuzasiga (skarifikatsiyalash) – skalpel bilan teri yuzasi timaladi va yerga tekshiriladigan material surtiladi.

2. Teri orasiga – chap qo'l bilan teri tortiladi igna terining ichki qismini kirgiziladi, 0,2 ml-gacha material yuboriladi. To'g'ri zararlangan yerni mayda, no'xatday shish hosil bo'ladi.

3. Teri ostiga–chap qo'l bilan teri ko'tarilganda uch burchak hosil bo'ladi va uning ichkarisiga shprisning ignasi kiritiladi: quyon belining bir tomonidan 20-25 ml, dengiz cho'chqalariga 10 ml (rasm 50), oq sichqon kalamushning dumg'ozasiga 1-10 ml yuboriladi.

4. Mushak orasiga- ko'pchilik hayvonlarning soniga (ichki tomondan) kabutar va tovuqlarning ko'krak mushagiga (to'shiga), oq sichqonga 0.5 ml, dengiz cho'chqasi va kalamushga 3-5 ml, quyonga 5-8 ml yuboriladi.

5. Qorin bo'shlig'iga laboratoriya hayvonining boshini pastga qaratib fiksatsiyalanadi va tekshiriladigan material 0,1-0,2 ml, shprisning ignasi bilan

qo'ng'irlikning pastki 3-chi qismiga markaziy oq chiziqdan chetqoq boriladi (rasm 49).

Qo'ng'irlikning tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (rasm 48), oq sichqon va dum chiqonning dum venasiga (rasm 47), dengiz cho'chqasining to'g'ridan-to'g'ri yuqoriga zararlanadi. Quyon, sichqon, kalamushlarni material bilan zararlash joyi issiq suv yoki ksilol bilan ishlav beriladi. Shunda venalar to'g'ri ko'rinadi.

Qo'ng'irlikning miyaga – quyonlarning ko'z ustidagi suyagi bitmagan joyiga (rasm 46) va cho'chqaga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (rasm 51).

Qo'ng'irlikning burniga – oldin hayvonning burniga efir bilan namlangan paxta tutib qo'yiladi, keyin pipetka bilan material burniga tomiziladi.

Qo'ng'irlikning orqali zararlash – patmaterial ovqat, suv bilan aralashtirib nonga qo'yiladi va laboratoriya hayvonlariga yediriladi yoki kichik zond orqali zararlash beriladi.

Qo'ng'irlikning ko'z kon yunktivasiga zararlash faqat yirik hayvonlar: it, quyon, cho'chqa va cho'chqalarida o'tkaziladi. Ko'z qovoqlarini ushlab, material bilan zararlash burchagiga 1-2 tomchi tomdiriladi.

Nazorat savollari:

1. Hayvonlarni zararlash, biosinov qo'yishdan maqsad nima?
2. Laboratoriyalarning virulentligi qanday shartli belgilanadi?
3. Rul va Mench usulida LD₅₀ ni aniqlash.
4. Laboratoriya hayvonlarning turlari va ularni zararlash usularini ayting.
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi.

12. Amaliy mashg'ulot №12

Mavzu: Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga jo'natish usullari.

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli o'rganish. 2. Patomaterial olib laboratoriyaga yuborish qoidalarini bilish.

Material va jihozlar: Biosinovda o'lgan laboratoriya hayvoni jasadini yoritish uchun paster pipetkalari, qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, moyqal, probirkalarda GPB, GPA, spirt, tamponlar, 5% fenol eritmasi bor idishlar, kyuveta, plakatlar, bo'yoqlar to'plami, mikroskop.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan, keyin talabalar laboratoriya hayvoni jasadini yorib, ichki organlaridan GPA, GPB larga ekadi, Gram usuli bilan tekshiradi, bo'yab, mikroskopda ko'rishadi.

Diagnostik tekshirishda mikrobnning sof kulturasini ajratish, sof kulturaning o'rganilishi bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasadni yoritiladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobn atrof muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, shundan so'ng asboblardan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (rasm ko'rsatganidek) terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinset bilan qalqonsimon o'simta ushlanib, mushak, ikkala tomon qovurg'alar yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'krak qafasi ochiladi. Oq sichqonni jigar va talog'i alohida steril Petri kosachasiga olinadi. Undagi o'zgarishlar e'tiborga olinadi jigar, taloq va yurak, o'pka, buyrak sirtini qizigan shpatel bilan kuydirib, probirkali GPA, GPBlarga ekiladi, surtmalar tayyorlanadi. Ekin probirkalarga, surtmalarga ekspertiza, organ raqamlari, sanasi yoziladi. Yurakdan steril paster pipetka bilan avval GPB, keyin GPAGA ekiladi.

Xuddi shunday qorin bo'shlig'ini yaxshi ochish uchun qorin devori tekshirish chekkalari qaytarilib igna bilan mahkamlanadi. Qorin bo'shlig'i organlarini o'zgarishlar ham e'tiborga olinadi. Parenximatoz organlar, limfa tugunlar, o'simta ilikdan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi. Etilgan oziq muhit termostatga qo'yiladi, preparatlarni bo'yab, mikroskopda ko'riladi.

Jasad qoldig'i avtoklavlanadi yoki maxsus pechlarda kuydiriladi. Kyuveta, taxtachaga 5%li fenol eritmasi quyib 10-12 soat qoldiriladi, ish s

Materialni saqlanadi, asboblari sterilanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan materialni dekontaminiatsiya qilingan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Patologik materialni hayvonlarning jasadini ham xuddi shunday tekshiriladi.

Patologik material olish va laboratoriyaga jo'natish. Infektsion kasalliklarni gumon qilinganda veterinarchi kerakli patologik materialni tekshirish uchun veterinariya laboratoriyasiga yo'llaydi. Material kasal, majburiy o'lgan yoki o'lgan hayvonlardan olinadi. Lekin barcha hollarda laboratoriyaga yopilgan preparatlar bilan davolanmagan hayvonlardan olingan materialni tekshirish uchun material sifatida mayda hayvonlar va qo'ndalarning jasadlari, yirik hayvonlardan taloq, jigar (o't xaltasi bilan), miya, to'qimqlari, mushak, yurak (butunligicha), limfa tugunlar, qon (patologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probubalarda fibrinsizlangan qon; serologik tekshirish uchun uyigan qon), oshpazondagi massa, yiring, balg'am, sut, siydik, tashlangan homila, bosh bo'g'i uchak qismchasi ikki tomoni boylangan holda, ilik suyagi, gumon olingan oziqa namunasi, qondan tayyorlangan surtmalar va tamg'ali preparatlar yo'llanadi.

Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalarga rioya qilish kerak:

1. Materialni yangi o'lgan hayvon jasadidan olish lozim (hayvon o'lgandan keyin 2-3 soatdan kechiktirmay). Ba'zi hollarda kasal hayvonlar guruhidan biridni majburiy so'yish maqsadga muvofiq bo'ladi.

2. Patologik materialni olishda qo'zg'atuvchini tarqalishiga, u bilan hayvon va odamlarning zararlanishiga yo'l qo'ymaslik kerak.

3. Patologik materialni olishda mikroorganizmlarning tropizmi va tarqalishini inobatga olish kerak. Issiq kunlarda konservantni shunday ishlatish kerakki, materialni buzilishdan saqlasin, qo'zg'atuvchini o'ldirmasin.

4. Patologik materialni germetik yopiladigan alyumin yoki emalli idishga saqlanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadini yog'och qirindilari solingan zich taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimib olib). O'ta havfli kasalliklarda (kuydirgi, manqa, tuberkulyoz, brusellyoz, qo'chon) shisha idishga olingan bo'lsa maxsus konteynerlarga joylanadi (qirindi 54-55). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

5. Yo'llanma yoziladi. Unda xo'jalik manzili, jo'natilayotgan material turi, soni, hayvon turi, yoshi, jinsi, kasallangan va o'lgan vaqti, qanday davolash vositalari ishlatilgan, kasallik belgilari haqida ma'lumot, qachon va qanday vaktsinalar bilan emlangan, avvalgi va shu vaqtidagi epizootik holat, patologoanatomik yorish natijalari, o'zgarishlari, gumon qilingan diagnoz ko'rsatiladi.

6. Patomaterialni shaxsan veterinariya xodimining o'zi laboratoriyaga olib boriladi.

Laboratoriyada konservasiya qilinmagan materialni 4°Cda 1-2 sutka, 5°Cda 3-4 sutka, 15-20°Cda 1-2 hafta saqlash mumkin. Ushbu materialni saqlash uchun material -15-20°C muzlatiladi.

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat:

1. Tekshirilayotgan materialda qo'zg'atuvchini aniqlash: Immunologik usullarda (gen zondlari, PSR) qo'zg'atuvchining nuklein kislotalarini aniqlash. Serologik usullarda (gen zondlari, PSR) qo'zg'atuvchining nuklein kislotalarini aniqlash. Immunologik usullar – serologik (PR, DPR, FAU, IFA va h.k.) reaksiyalarda qo'zg'atuvchi antigenini aniqlash.
2. Biosiniv qo'yish.
3. Materialni ozon muhitga ekib, qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish.
4. Serologik (retrospektiv) usul AR, KBR.

Nazorat savollari:

1. Jasadni bakteriologik tekshirish usulini, maqsadini tushuntiring.
2. Patmaterial olish va laboratoriyaga yo'llash qoidalarini ayting.
3. Yo'llanmada qanday ma'lumotlar bo'lishi kerak.
4. Bakteriologik tekshirish uchun qanday patologik materiallar olinadi.
5. Laboratoriya hayvonlarining jasadini yorish qoidasini ayting.

13. Amaliy mashg'ulot №13

Mavzu: Agglyutinasiya reaksiyasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Agglyutinasiya reaksiyasining mohiyatini tushirib, probirkali agglyutinasiya reaksiyasini (AR), tomchili ARni qo'yish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkalar, 1 va 5 ml. li pipetkalar, Paster pipetkalar, shtativlar, y.sh.h. ijobiy (brusellyozli) zardobi, y.sh.h. normal zarfda. Ali uchun brusellyoz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, o'zaro o'ldiruvchi plakatlar.

1-tubiy ko'rsatmalar

1. O'qituvchi talabalarni AR – probirkali va tomchili usullari sxemasi bilan tanishtiradi. Keyin talabalar mustaqil AR ni qo'yishadi. Uni hisobga olishni o'zlashtirishlari kerak.

Darha serologik tekshirishlar asosida antigen va antitelolarning o'zaro reaksiyalarini o'rganishni o'zlashtirishlari kerak.

Antigenlar – genetik begona moddalar, hayvon organizmiga parenteral yo'l bilan yuborilganda sensibilizasiya, tolerantlik va antitelolar ishlab chiqarish kabi javob reaksiyasini paydo qilib, antitelolar bilan *in vivo* va *in vitro* maxsus o'zaro ta'sirlashadi. Korpuskulyar, hujayrali (bakteriyalar, eritrocytalar) va eruvchi (molekulyar-dispersli) antigenlar farqlanadi.

Antigenlarning polivalentli – antitelolar bilan bog' hosil qiluvchi bir qancha funktsionallik reseptorlari bor. To'liq qiymatli antigenlardan tashqari qisqartirilgan, ya'ni oqsilsiz polisaxaridlar, mikroob hujayrasi somatik qismlarining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.

Antitelolar – qon zardobi globulinli fraksiyasining yuqori molekullari maxsus qismlari (immunoglobulinlar). Antigen va antitelolarning *in vitro* o'zaro ta'siri bo'yicha: cho'kmali (agglyutinogen, presipitin), erituvchi (bakteriolizin, lizozim) va neytrallovchi (toksinlarni zararsizlantiradi) reaksiyalar, antitelolar farqlanadi.

Agglyutinasiya maqsadda qo'llanadigan serologik reaksiyalarda antitelolarning bittasi ma'lum bo'lishi kerak, u orqali maxsusligi tufayli bittasiga komponentning borligi aniqlanadi. Serologik reaksiyalar fiziologik eritmada qo'yiladi, chunki antigen va antitelolar kuchsiz elektrolit muhitda joylashadi.

Agglyutinasiya reaksiyasining mohiyati - qon zardobi tarkibidagi antitelolar (antigen) maxsus antigen (agglyutinogen) bilan yopishib, cho'kma (agglyutinogen) paydo qiladi va probirka tubida xarakterli shaklda joylashadi. Agglyutinasiya reaksiyasining antigen tuzilishiga bog'liq ravishda: O - somatik

antigenlar mayda donador, xivchinli H-antigenlar yirik donador cho'k paydo qiladi. Veterinariya amaliyotida AR brusellyoz, listerioz, leptospir kampilobakterioz, salmonellyoz, kolibakterioz va h.k. kasalliklariga tashdi qo'yishda ishlatiladi.

AR bir nechta usullarda qo'yiladi: probirkali (klassik) usul, tomchili, q tomchili, plastinkali Roz-bengal, sut-halqali, mikroagglutinasiya usullari.

Probirkali klassik usulda AR ni qo'yish texnikasi. Infeksiyaga bog pavishda zardoblar yo'riqnomaga asosan suyultiriladi. Brusellyoz quyidagicha.

Ishlatiladigan komponentlar: tekshirilayotgan zardob, standart brusellyoz antigeni, elektrolit muhit - fiziologik eritma (0,85% li NaCl).

Y.sh.h. zardobi 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatda suyultiriladi. Shtatid qator 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbat tayyorlanadi: 1:25 – 0,1 ml zardob+2,4 ml fiziologik eritma. Qolgan to'rtta probirkalarga bir xilda 1 ml dan fiziologik eritma quyiladi. Keyin maxsus pipetkada ketma-ket suyultiriladi - asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan keyin uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfeksiyalovchi erimali idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0,05 ml dan antiagglutinin quyiladi (1 ml da 10 mlrd mikroob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo'ladi (rasm 56).

Har bir komponent uchun alohida pipetka ishlatiladi. Probirkalar yaxshi silkitib aralashtiriladi va 37 °C da 4-6 soat termostatda keyin 14-16 soat haroratida turadi. Bir vaqtda nazorat reaksiyasi qo'yilishi shart:

1. Ijobiy brusellyoz zardobi + standart brusellyoz antigeni natijasi (+) - (+++) ijobiy

2. Normal zardob + standart brusellyoz antigeni natija (-) manfiy.

3. Standart brusellyoz antigeni + fiziologik eritma natija (-) manfiy.

Natijani hisobga olish (rasm 57) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

1. Cho'kma soyabon shaklida, suyuqlik tiniq - 100% agglutinasiya (++++).

2. Cho'kma soyabon shaklida, suyuqlik salgina loyqa - 75% agglutinasiya (+++).

3. Suyuqlik loyqa, soyabon yaxshi hosil bo'lmagan - 50% agglutinasiya (++)

4. Cho'kma tugma shaklida, suyuqlik loyqa - 25% agglutinasiya (+).

5. Suyuqlik loyqa, soyabon hosil bo'lmagan - agglutinasiya yo'q (-).

1:100 nisbatda agglutinasiya (++) dan kam bo'lmasa natija ijobiy 1:50 da gumonli hisoblanadi.

Tomchili AR usuli. Mikroob turini aniqlash va uni farqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun predmet oynachasiga aniq maxsus zardob fiziologik eritmadan

... (rasm 58)

Qon tomchili AR usuli. Ko'pincha pulloroz, brusllyozga tekshirishda ... yag' sizlantirilgan buyum oynasiga bir tomchi qon olib unga bir ... antigen (gemotoksilin bilan bo'yalgan) qo'shiladi va shisha ... bilan aralashtiriladi. Musbat natijada 30-60 soniyadan keyin ... paydo bo'ladi.

Sut halqali reaksiya. Y.sh.h. brusellyozga tekshirishda ishlatiladi. ... 2-3 mldan sut olib, 0,2 mldan (2 tomchi) gemotoksilin bilan ... antigen qo'shiladi. Sut bir xil bo'yalguncha aralashtiriladi va ... 45-60 daqiqa saqlanadi. Sutda antitelo bo'lsa antigen-antitelo ... bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko'tarilib ... paydo bo'ladi; sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda ... bo'lmaydi (rasm 59).

Uzorat savollari:

1. Serologik reaksiyalarning mohiyatini ayting.
2. Antigen, antitelo nima? Tushuncha bering.
3. Probenkali AR ning komponentlari, qo'yish texnikasi va hisobga olish.
4. Tomchili AR ning mohiyati, uni qo'yish texnikasini tushuntiring.
5. Sut halqali reaksiyani qo'yish texnikasini tushuntiring.

14. Amaliy mashg'ulot №14 Mavzu: Presipitasiya reaksiyasi (PR).

Mashg'ulotning maqsadi: Presipitasiya reaksiyasining mohiyatini, qo'yish usullari va amaliyotda qo'llanilishini bilish va o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Probirkalarda ekstraksiya qilingan antigen, maxsus antigen, presipitasiyalovchi zardob, normal zardob, Ulengut probirkalariga ularga shtativ, Paster pipetkalari, rezina grushalar, Petri kosachalarida qaynatilgan geli, eksikator, plakatlar, shtamp – o'yiqlar hosil qilish uchun.

Uslubiy ko'rsatmalar

Uqituvchi darsni tushuntirgandan keyin, talabalar PRni probirka va Petri kosachalarida qo'yib o'rganadilar.

Presipitasiya (lotinchadan *praecipitatus* - cho'kma) reaksiyasi antigen (presipitinlar) va antigen (presipitinogenlar) o'zaro birikib cho'kma (presipitat) hosil qilishi bilan ifodalanadi. PR da eruvchi (molekulyar dispersli) antigenlar ishlatiladi. Presipitinogenlar yuqori haroratga (qaynatilish avtoklavlash) va chirishga chidamli. PR probirkalarda yoki agar gelida diffuziya presipitasiya usulida qo'yiladi. Ko'pincha kuydirgiga tekshirishda Ascherson (1910) halqali presipitasiya reaksiyasi qo'llanadi.

Komponentlar:

1. Ekstrakt – tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patolojik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqiqa yoki 1 atm. 1 soat sterilizatsiya Sovugach uni maydalab ekstraksiyalanadi. Ekstraksiyalashning ikki usuli bor: a) issiq usul – maydalangan 1-2 g patmaterial probirkaga solinib, nisbat fiziologik eritmada, suv hammomida 30-40 daqiqa qaynatiladi. b) sovuq usul – 1-2 g patmaterialdan 1:10 nisbatda 0,3 % fenolli fiziologik eritmada suspenziya tayyorlab 16-24 soat uy haroratida qoldiriladi. Ekstraktlar asbest paxta bilan filtrlanadi.

2. Standart presipitasiyalovchi kuydirgi zardobi.

3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.

4. Nazorat uchun: standart kuydirgi antigeni, sog'lom hayvondan olingan material ekstrakti, normal zardob.

PR ni qo'yish texnikasi. Reaksiya ikki xil usulda qo'yiladi:

1. Ulengut probirkasiga 0,2-0,3 ml kuydirgi zardobi quyib, ustiga olingan probirka devoridan teng miqdorda ekstrakt (antigen) quyiladi. Barcha komponentlar orasidagi chegara aniq ko'rinishi kerak.

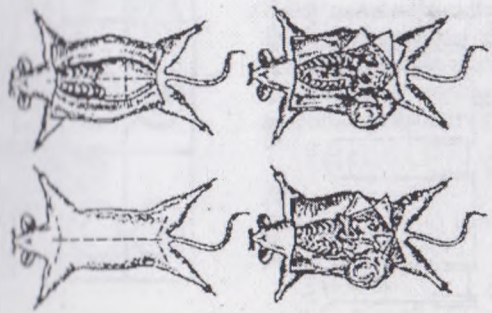
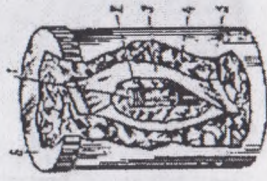
2. Ikkinchi usulda probirkaga avval 0,2-0,3 ml ekstrakt quyib, uning ostiga teng miqdorda Paster pipetkasi bilan kuydirgi zardobi quyiladi.

Jasadni bakteriologik tekshirish usuli.
Patologik materialni olish va laboratoriyaga
junatish usullari



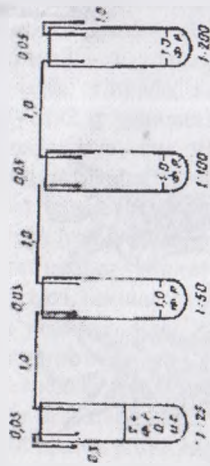
Rasm 54. Patologik material namunalari laboratoriyaga yo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).

Rasm 55. Namunani joylash elementlari:
 1-namuna solingan idish, -tiqini leykoplastir bilan o'ralgan probirkalar, yoki, kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiros qog'oz; 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtirilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-g'ijimlangan qog'oz yoki paxta; 5-mustahkam, siv o'tkazmaydigan tashqi konteyner. 6-zich yopiladigan qopqoq.



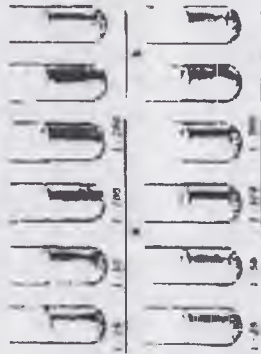
Rasm 53. O'lgan sichqonning ko'krak va qorin bo'shligini yorish tartibi.

Agglyutinasiya reaksiyasi



Rasm 56. AR qo'yish sxemasi.

Gimmonli		nazorat	
1:50	1:100	1:50	1:100



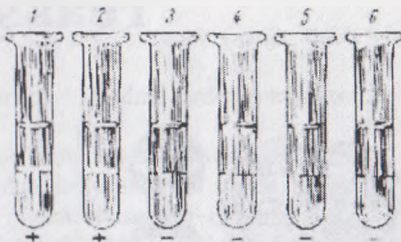
Rasm 57. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brusellyoz, qoramol).
 a-gimmonli AR, 1:50; b-nazorat;
 d-ijobiy AR 1:100-1:200;
 e-nazorat



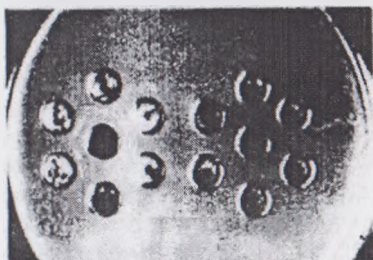
Presipitasiya reaksiyasi



Rasm 60. DPR qo'yish usullari.

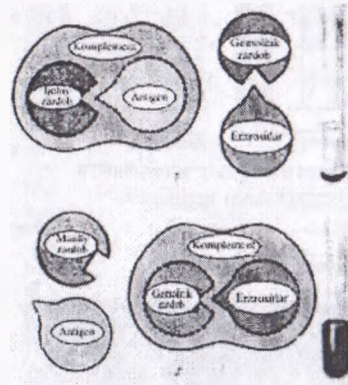


Rasm 61. Ijobiy presipitasiya (Askoli) reaksiyasi.

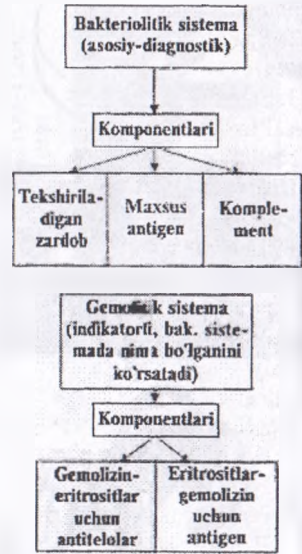


Rasm 62. DPR. Chapda markazda presipitasiyalovchi zardob, atrofidagi o'yiqlarda antigenlar-presipitasiya chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda markazda mansiy zardob, atrofiga o'sha antigenlar-presipitasiya chiziqlari yo'q.

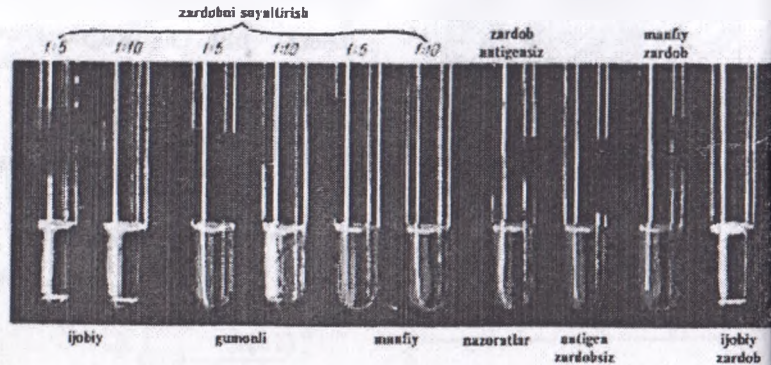
KBR - komplement bog'lash reaksiyasi



Rasm 63. KBR sxemasi:
1-ijobiy; 2-manfiy.



Rasm 64. KBR sxemasi.



Rasm 65. KBR natijasining ko'rinishi.

Rezultatlarda ham natija ijobiy bo'lsa, ikkala komponent o'rtasida 1-2 soatda yaxshi ko'rinishdagi tutunsimon rangda halqali presipitat hosil bo'ladi (rasm 61).

Nazorat reaksiyasi.

1. Standart kuydirgi antigeni + kuydirgi zardobi (natija ijobiy 1-2 soatda).

2. Standart hayvon materiali ekstrakti + standart zardob (natija manfiy 1 soatda).

3. Standart antigen + normal zardob (natija manfiy 1 soatda).

4. Fiziologik eritma + standart zardob (natija manfiy 1 soatda).

Natijani baholash. Ijobiy natija (+), gumonli natija (+-), manfiy natija (-).

Yulduzli PR. Predmet oynachasiga yoki Petri kosachalaridagi 1% agar qotqich qo'yiladi. Gjel qotqach standart shtamp bilan o'yiqlar qilinadi (rasm 62). Shtampdagi o'yiqa standart zardob, atrofidagilarga esa antigen susumalari Paster pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatorida bir sutka ushlab, keyin tepandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq presipitat chiziqlari ko'rinadi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Presipitatsiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun presipitatsiya fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiy sulfat eritmasi qo'yiladi, bu necha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rinadi.

Nazorat savollari:

1. Presipitatsiya reaksiyasining amaliyotda ishlatilishi va mohiyati.
2. Presipitatsiya va agglutinatsiya reaksiyalarida antigenlarning farqi.
3. Halqali presipitatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasini tushuntiring.
4. Halqali presipitatsiya reaksiyasining komponentlarini ayting.
5. Yulduzli presipitatsiya reaksiyasini qo'yish, uning mohiyati.

15. Amaliy mashg'ulot №15

Mavzu: Komplement bog'lash reaksiyasi – KBR

Mashg'ulotning maqsadi: KBR ning mohiyatini, uning asosiy tajriba qo'yishni o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Shtativda toza probirkalar, darajalangan pipetka flakonda fiziologik eritma, suv hammomi, aniq titrli gemolizin, antigelozin, komplement; sinovli zardoblar 1:10 (56°C da 30 daqiqa inaktivlangan), ijobiy normal zardoblar, qo'y eritrositlari 1:40, tegishli jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi KBR komponentlari, ularni titrlash usullari va maqsad asosiy tajribani qo'yishni tushuntiradi. Talabalar KBR ning asosiy tajribani qo'yib, reaksiya natijasini aniqlashadi.

Komplement bog'lash reaksiyasi juda sezgir va spesifik reaksiya. U asosida – bakteriolizis va gemoliz holatlari yotadi. Reaksiyaning namoyishi AR va PR dan farq qilib, antigen va antitelolar faqat komplement ishtirokidagina reaksiyaga kirishadi. Shuning uchun reaksiya ikki bosqichga bo'linadi:

1. Bakterial – diagnostik sistema (antigen + antitelo +komplement). Suyuqlik tiniq, rangsiz bo'lgani uchun ularning o'zaro ta'siri natijasi ko'rinmaydi.

2. Gemolitik-indikatorli sistema (gemolizin + eritrosit) bakterial sistemada komplement bog'langan yoki erkin qolganini aniqlashga imkon beradi. Demak gemolitik sistemadagi gemolizin-antitelo; eritrositlar esa ular uchun antigen. Komplement erkin qolsa aynan ularga ta'sir qiladi.

Bakterial sistemaga gemolitik sistema qo'shiladi. Eritrositlar gemoliz bo'lishiga yoki bo'lmasligiga qarab, bakteriologik sistemada komplement bog'bor, yo'qligi bilinadi (rasm 63-64).

Ijobiy natijada qon zardobidagi antitelolar bakteriologik sistemada antigen bilan birikib, undagi komplementni o'ziga bog'lab oladi. Natijada gemolitik sistema qo'shilgandan keyin eritrositlar lizisga uchratadi (eritrositlar cho'kmaga tushadi).

Manfiy natijada antigen – antitelo kompleksi hosil bo'lmasdan komplement erkin qoladi, u gemolitik sistemadagi eritrositlar bilan gemolizni o'zaro ta'sirida qatnashib eritrositlarni lizisga uchratadi. Probirkada suyuqlik tiniq, qizil rangda bo'ladi, cho'kma bo'lmaydi.

Komplement bog'lash reaksiyasini qo'yishdan maqsad: 1. KBR bilan hayvonning qon zardobidagi spesifik antitelolarni aniqlash (brusell, peritonit, leptospiroz va boshqalarda). 2. Tekshirish uchun.

komponentlari spetsifil antigenni maxsus immun zardob ishtirokida tayyorlanadi.

KBR komponentlari:

1. Tekshiriladigan qon zardobi hayvonlardan olinadi.
2. Standart zardob (musbat natijali) - biofabrikalarda tayyorlanadi.
3. Normal zardob (manfiy natijali) - sog'lom hayvondan olinadi.
4. Komplement (oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, qon plazmasi suyuqliklarining tarkibiy qismi) - biofabrikada dengiz suyuqligidan qon zardobidan tayyorlanadi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor zardob eritmasi ishlatiladi.
5. Antigen - aniq mikrobdan biofabrikada tayyorlanadi. Ularda seriya eritmasi, aktivligi (titri) va qancha suyultirishi ko'rsatilgan bo'ladi.
6. Eritma - biofabrikada, qo'y eritrositlari bilan quyovni qon eritmasidan tayyorlanadi. 1:1 nisbatda gliserin qo'shilgan bo'ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
7. Qo'y eritrositlari 1:40 (2,5%) fiziologik eritmada tayyorlanadi.
8. Fiziologik eritma (0,85% li NaCl).

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish

Komponentlar	Tekshirilayotgan zardobli probirkalar 1:10		Standart zardobli		Normal zardobli		Nazorat gemsistema
	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	
Zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Antigen	0,2		0,2		0,2		
Fiziologik eritma		0,2		0,2		0,2	0,6
Komplement	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
37° C 20 daqiqa suv hammomi							
Ham qatlam	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
37° C 20 daqiqa suv hammomi							
	GY	G	GY	G	G	G	GY

GY - gemoli yo'q, G - gemoliz.

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish. Zardoblarni (tekshiriladigan, standart normal) avval 1:10 suyultirib, 56°C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Keyin tekshiriladigan qon zardoblarning soniga ko'ra (har bir zardob uchun 2 qatlam) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan standart tekshiriladigan qon zardobidan 0,2 ml dan quyiladi. Nazorat uchun 0,2 ml probirkalar olinib, birinchi juftiga standart, ikkinchisiga standart zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1-chi qatordagi probirkalarga 0,2 ml standart zardob qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi probirkalarga 0,2 ml komplement quyilib, probirkalar silkitib yaxshi

aralashiriladi va suv hammomida 37°C da 20-40 daqiqa saqlanadi. U bakteriologik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 ml gemosistema (ishchi titrdagi gemolizin bilan eritrositlarning teng miqdorda aralashmasi) qo'shiladi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi.

Reaksiya natijasi ikki marta aniqlanadi: birinchisi probirkalar suv hammomidan olingan zahoti, ikkinchisi yakuniy – 18-20 soat uy harorati turganidan keyin.

Avval sinovli probirkalarning ikkinchi qatori va standart zardobli nazorat probirkalarning ikkinchi qatori hamda normal zardobli nazorat probirkalar e'tibor beriladi – ularda eritrositlar gemolizga uchrab suyuqlik qizargan natija manfiy.

Sinovli, standart zardobli probirkalarning birinchi qatori, gemosistema nazoratli probirkalarda gemoliz bo'lmaydi (rasm 65) – natija musbat.

KBR natijasini baholash

(++++) – gemoliz yo'q eritrositlar to'liq nuqta shaklida cho'kma tushgan, suyuqlik tiniq.

(+++) – 25% eritrositlar gemolizga uchragan, suyuqlik och qizil rangda.

(++) – 50% eritrositlar gemolizga uchragan, suyuqlik qizil rangda.

(+) – 75% eritrosit gemolizga uchragan, suyuqlik intensiv qizil rangda.

5.(-) – gemoliz 100%, cho'kma umuman yo'q.

(+++),(++),(+)- natija diagnostik ijobiy; (+)- natija gumonli; (-)- natija manfiy.

Nazorat savollari:

1. Komplement bog'lash reaksiyasining AR, PR laridan farqi?
2. Komplement bog'lash reaksiyasining komponentlari, bosqichlari qanday ayting?
3. Komplement bog'lash reaksiyasining asosiy tajribasini qanday qo'yiladi.
4. Komplement bog'lash reaksiyasining natijasini hisobga olishni tushuntiring.
5. Komplement bog'lash reaksiyasining mohiyatini tushuntiring.

16 Laboratoriya mashg'uloti №1

Mavzu Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar, ularni nazorat qilish prinsiplari bilan tanishtirish. Talabalar zamonaviy kasalliklarga qarshi kurashishda, maxsus diagnostika, profilaktika, oldini olish va maxsus terapiya o'tkazishda biopreparatlarining ahamiyatini, foydalanish usullarini, bilishlari kerak.

Material va jihozlar: Diagnostikumlar (antigen, allergen, komplement, toksinlar), vaktsinalar, davolash uchun qo'llaniladigan zardoblar, jadvallar, jarayonlar.

Ushbu darsning maqsadlari

Ushbu darsning maqsadi talabalarga veterinariyada qo'llaniladigan biopreparat turlari, ularning qanday tayyorlanishi, qo'llashdan maqsad, ularning veterinariya amaliyotida o'rinni tushuntiradi. Talabalar ularning sifatini aniqlash usullari bilan tanishadilar.

Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlarga diagnostikumlar, vaktsinalar, toksinlar va davolovchi zardoblar kiradi.

Vaktsinalar yuqumli kasalliklarni maxsus oldini olishda ishlatiladi. Ular organizmda mustahkam aktiv immunitet hosil qilishga mo'ljallangan. Vaktsinalar o'z ichiga olinadigan, inaktivatsiya qilingan mikroorganizmlardan, zaharlantirilgan ekzotoksinlar, protektivli antigenlardan (kimyoviy vaktsinalar) tayyorlanadi. Vaktsinalarning har xil turlari bor. Vaktsina tarkibiga antigen miqdori bo'yicha ular mono-, di-, polivaktsinalar va vaktsinaning vaktsinalar (ya'ni har xil antigenlari bor) bo'ladi.

Ushbu darsning maqsadi Standart mikrob suspenziyasi olinib kimyoviy yoki fizik usullarda inaktivlanadi yoki protektiv antigeni va ekzotoksinlari vaktsinaga formaldegid yoki boshqa modda bilan antigen tarkibi vaktsinaga qo'shib zararsizlantiriladi.

Vaktsinalar ad'yuvantlar qo'shiladi (organik yoki mineral yog'lar, emulsiyalar yoki boshqa sorbentlar). emulgirlangan yoki adsorbirlangan vaktsinalar quruq bo'lib, organizmga yuborganda u deponirlanib, yuborilgan vaktsinaning organizmga kichik-kichik dozada chiqib, tarqaladi. U vaktsinaning vaktsinalar vaktsinalarini oshirib, pirogenli, zaharli, allergik xususiyatlarini vaktsinalarini oshiradi.

Vaktsinalarning barcha turlari sifatini aniqlash uchun uch ko'rsatkich vaktsinalar nazorat qilinadi: sterillik, zararsizlik, faollik.

Vaktsinalar (toxinlar) yoki sof holda o'sishi (tiriklari) oziq-ovqat bilan vaktsinalar nazorat qilinadi.

Zararsizligi laboratoriya hayvonlariga yuborib aniqlanadi. Ular 10 kuzatiladi. Vaksina kasallik chaqirmasligi va undan hayvonlar o'lma kerak.

Faolligi (immunogenligi) moyil hayvonlarga vaksinani yuborib, ma (faol immunitet hosil qilish uchun yetarli) vaqt 15-20 kundan ke gomologik mikroorganizm bilan letal dozada zararlanadi. Nazorat guruhi emlanmagan hayvonlarning 80% va undan ko'prog'i o'ladi, emlanganlar tirik qolishi kerak.

Davolovchi - profilaktik zardoblar – kasal hayvonlarni davol kasallikning oldini olishda ishlatiladi. Passiv emlash uchun hayv organizmiga tayyor immunoglobulinlar (antitelolar) yuboriladi. In'eksiya 20-24 soat keyin passiv immunitet paydo bo'ladi va uzog'i bilan 2 – 3 davom etadi. Ummun zardoblar maxsus antigenlarni sxema asosida hayvonlarga bir necha marta yuborib, giperimmunlash yo'li bilan olinadi.

Ta'sir yo'nalishi bo'yicha bakteriyalarga qarshi, toksinlarga qarshi viruslarga qarshi immun zardoblar farqlanadi. Antitelolar miqdori ke darajaga etganidan keyin hayvon organizmini 1% hajmida qon olinadi to'liq (total)qonsizlantiriladi. Olingan qon separatlanib, zardobi aj olinadi, filtrlab sterillanadi va 0,25 – 0,5 % li fenol, 0,01 – 0,03% li tiome yoki boshqa moddalar bilan konservasiyalanadi.

Tayyor zardob sterillikka, zararsizligiga, maxsus faollikka tekshiriladi. *Sterilligi* oziqa muhitlarga (GPA, GPB, GPJB, Saburo yoki Chapeka agar ekib aniqlanadi. Har bir seriyasining *zararsizligi* zardobni de cho'choalariga yuborib nazorat qilinadi. Zardobning maxsus faolligini yo'nalishi bo'yicha tekshiriladi.

Zardobning preventivlik (himoya) xususiyatini tabiiy moyil laboratoriya hayvonlarida aniqlash uchun zardob ularning terisi o mushaklari orasiga yoki qorin bo'shlig'iga yuboriladi. 20 – 24 soatdan hayvonlarga titrlangan dozada gomologik virulent mikroorganizm yubori Immunlanganlari kasallanmaydi, nazoratdagi hayvonlar esa kasalla xarakterli belgilarni namoyon qiladi.

Antitoksinli va qator viruslarga qarshi zardoblarning faolligi neytraliz reaksiyalarida aniqlanadi. Zardobdagi antitelolar miqdori sero reaksiyalar (KBR, AR, DPR va h.k.) yordamida topiladi.

Misol. Cho'chqalar saramasiga qarshi immun zardobning nazorati.

Sterillikka tekshirish: zardob GPA, GPB, GPJB, Saburo agarlariga ek Ekmalar 37 va 20°C da (Caburo) 10 sutka saqlanadi. Oziqa mu sterilligicha qolishi kerak.

Zararsizligiga tekshirish: 17 – 20 gr li 5 ta oq sichqonga 0,5 mldan, 2 300 gr li 2 ta dengiz cho'chqasiga – 10 ml dan terisi ostiga yubor Hamma hayvonlar 10 sutka davomida tirik qolishi kerak.

Ushlab chiqarishda 17 – 20 gr li 15 ta oq sichqonning qorin bo'shlig'iga 0,1 ml GAD va 0,01 ml dozada (har bir dozaga 5 tadan sichqon) zardob tayyorlanadi. 2 soatdan keyin barcha emlangan va 5 ta emlanmagan sichqonlar tirik holida 0,1 – 0,2 ml dozada 1:200 nisbatda suyultirilgan sutkalik suyuqliklar suramasi qo'zg'atuvchisini virulentli shtamm kulturasida o'stiriladi. 10 sutkada emlanganlari tirik qolib, nazoratdagilari o'lsa (0,01 ml dozada emlanganlaridan 2 tasi o'lishi mumkin) zardob faol hisoblanadi.

Ushlab chiqarishda globulinlar, laktoglobulinlar, immunoglobulinlar ishlab chiqarilmoqda. Ular ham maxsus davolovchi biopreparatlar hisoblanadi.

Diagnostikumlar. Mikroorganizmlarning antigenli determinanti, ularning mavjudligini namoyon qilishi xususiyatidan biologik preparatlar yoki biopreparatlar ishlab chiqarish uchun foydalaniladi.

Diagnostik antitelolar (Antizardoblar) odatda hayvonlarni o'z immunitasini oshirish uchun yordam berish uchun ishlatiladi. Diagnostik zardoblar yordamida mikroorganizmlar aniqlanadi va ajratilgan kultura identifikatsiyalanadi. Ushlab chiqarish maqsadiga qarab: turga oid zardoblar (mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun), guruhga oid zardoblar (mikroorganizmlarni serologik guruhlariga ajratish uchun), serovariantga oid zardoblar (serovar darajasida aniqlash uchun) farqlanadi. Diagnostik zardoblar har xil serologik reaksiyalarda (AR, PR, DPR, KBR, NR) qo'llash uchun ishlab chiqariladi. Diagnostik zardoblar sterillik, faollik va maxsuslikka tekshirib nazorat qilinadi.

Diagnostik antigenlar hayvonlarning infeksiyon kasalliklarini tekshirish uchun ishlatiladi. Serologik reaksiyaning turiga qarab: korpuskulyar antigenlar (AR, KBR), antigenlar bilan sensibillashtirilgan critrositlar bilan o'zaro diagnostikum GadR uchun), eruvchi antigenlar (PR, DPR) ajratiladi. Ba'zan bo'yalgan antigenlar tayyorlanadi (sut-halqali reaksiya). Antigenlarni tayyorlash texnologiyasi har xil, lekin har qanday antigen uchun mikroorganizmlar kulturasini asos bo'ladi.

Ushlab chiqarishda antigenlarni nazorat qilish: sterillik nazorati vaksina kabi qilinadi.

Ushlab chiqarishning optimal miqdori 1 ml da mikroblar soni bilan ifodalanadi va u serologik reaksiyalarda aniq ko'rsatiladi;

Ushlab chiqarishning faolligi serologik reaksiyalarda aniq maxsus zardob bilan aniqlanadi. Antigen aniq musbat natija berishi kerak. Ba'zan antigen tirlanib, o'ziga o'xshash natija berishi aniqlanadi;

Ushlab chiqarishning maxsusligi ma'lum manfiy zardob bilan serologik reaksiyada aniqlanadi.

Ushlab chiqarishda antigenlar cho'kmali serologik reaksiyalarda spontan reaksiyalarga tekshiriladi – antitelosiz cho'kmaga tushishi.

Allergenlar (brusellin, tuberculin, mallein)– bakteriyalar gidroli bo'lib, tirik hayvonlarda brusellyoz, tuberkulyoz, manqaga diagnoz qo'yish uchun ishlatiladi. Ular rangsiz yoki bo'yalgan suyuqlik bo'lib ampulalarda chiqariladi. U sterillik, zararsizligi, maxsuslik, faollikka nazorat qilinadi. *Sterillik* nazorati vaktsina kabi bajariladi. *Zararsizlik* nazorati: brusellin 10⁹ 25 grli oq sichqonlar bel qismiga 0,5 ml dozada yuboriladi. 10 kun davomida sichqonlar tirik qolishi, in'eksiya joyida yallig'lanish reaksiyasi bo'lmay kerak. *Maxsusligi* nazorati: oq dengiz cho'chqalarining juni olingan tomoniga terisi orasiga 0,1 ml brusellin yuboriladi va etalon preparat taqqoslanadi. 24, 48 soatdan keyin in'eksiya joyida allergik reaksiya bo'lmay kerak. Allergen antigenlik xususiyatlarga ham tekshiriladi (KBR). *Faolligi* nazorati: 10 – 15 ta dengiz cho'chqalari terisi ostiga (0,1)10⁹ *B. Melitensis* Rev 1 shtammi hujayralari yuboriladi. 4 haftadan keyin 0,1 ml brusellin va etalon allergen yuboriladi. 24 soatdan keyin reaksiya hisobga olinadi. Sinovdagi va etalon allergenlarga reaksiya bir xilda bo'lmay kerak.

Faglar ham diagnostik maqsadda ishlatiladi. Ular o'ziga bakteriyalarni lizis qiladi.

Nazorat savollari:

1. Veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlarga nimalar kiradi?
2. Biopreparatlar qanday maqsadlarda ishlatiladi?
3. Diagnostikum, vaktsina va davolovchi zardoblarning farqini ayting?
4. Biopreparatlarni veterinariya amaliyotida qo'llanilishini tushuntirib bering.
5. Biopreparatlarning sifati qaysi ko'rsatkichlarga tekshiriladi?

III QISM. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA

1. Laboratoriya mashg'uloti № 2

Maqsad: stafilokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Har xil yiringli-yallig'lanish jarayonlarida hosil bo'lgan qo'nday patologik material yuborishni o'zlashtirish. Oziqa muhitda stafilokokllarni ajratish va o'stirish usullari, patogen va patogen emas stafilokokllarni farqlash usullari bilan tanishish.

Material va pibozlar: Patmaterial, yiringli eksudat yoki mastit bilan bog'langan shartli suti namunasi, oziq muhitlar GPB, GPA, selektiv muhitlar (GPA, stafilokokllarni ajratish uchun), glyukoza—zardobli GPB, fermentlar, puvset, antibiotik diskleri, jadvallar.

Teorik ko'rsatmalar

Ushbu mashg'ulotda stafilokokkli infeksiyalarga laboratoriyada diagnoz qo'yish usulini tushuntiradi. Talabalar patmateriallardan oziqa muhitga o'tkazish, sirtma tayyorlab Gram usulida bo'yashadi. Mikroskopda talabalar turgaga yozib, chizib olishadi.

Stafilokokklar — darsimon shakldagi mikroorganizmlar bo'lib, bakteriyalar aylovidiga mansub. Ularning 20 dan ortiq turlari bor. Hozirgi vaqtda laboratoriyada patogenligi bo'yicha uch turga bo'linadi: *S.aureus* — patogen, *S.epidernidis* — shartli patogen, teri va shilimshiq yarasida dahshatli o'chraydi, *S.saprophyticus* — patogen emas stafilokokklar. Ushbu mikroorganizmlar turkumi ichida hayvon va odamlarda har xil yiringli jarohatlar, furunkul, karbunkul, flegmona, jarohatlarning yiringli yallig'lanishi, abscess, sepsis, septikopiyemiya, stafilokokkli mastitni keltirib chiqaradigan shtammlari mavjud. Stafilokokklarning patogen shtammlari ko'pincha ichak tizimiga tushib, oziqa toksikoinfeksiyasini keltirib chiqarish xususiyatiga ega saprofit stafilokokklar xom ashyo va mahsulotlarni buzilishiga olib keladi. Amaliyotda patogen (gemolitik) mikroorganizmlar shantiyotga ega.

Teorik material: 1. Steril olingan jarohat eksudati, yiring. 2. Mastitda hosil bo'lgan qo'nday sut. 3. Sepsisda 5-10 ml fibrinsizlangan qon. 4. Infeksiyali qon — xashak, qusgandagi modda. 5. O'lgan hayvondan olingan organlardan bo'lakchalar.

Teorik mashg'ulot: Patmaterialdan sirtma tayyorlab, Gram usulida bo'yashadi. Mikroskopda grammusbat, spora, kapsula hosil qilmaydigan mikroorganizmlar (diametri 0,7-1,0 mkm, saprofitlari -2-4 mkm) ko'rinadi. Mikroorganizmlar shingili shaklida joylashadi (rasm 67).

2. Bakteriologiya. Sof kultura ajratib, kultural xususiyatlarini o'rgan. Stafilocokklar – aeroblar, fakultativ anaeroblar. Oddiy oziqa muhitlarda 7,2 – 7,8 yaxshi o'sadi. Stafilocokklar fizikaviy va kimyoviy faktor ko'proq chidamli bo'lgani uchun ulardan dezinfeksiya sifatini aniqlashda mikroob sifatida foydalaniladi. Stafilocokklar galofillar – 8 - 10% NaCl muhitda o'sadi.

Patmaterial – selektiv muhit tuz-qonli GPA (8-10% NaCl va fibrinsizlangan qon qo'shilgan), GPB, GPA larga ekiladi. Ekmalar 37° termostatda 12-24 soat o'stiriladi. GPB-loyqalanib, ko'p cho'kma tus. Halqa yoki parda hosil bo'lishi mumkin. GPA da-yumaloq, uncha bo'lmagan, diametri 2-6 mml koloniyalar paydo bo'ladi (rasm 69). Ular rangi pigment hosil qilayotgan stafilocokk turiga bog'liq ravishda o'sarg'ish, tillarang bo'lishi mumkin. Qonli agarda koloniya atrofida gemozonasini hosil qiladi (rasm 68). Eritrositlarning lizisi bakteriya gemotiplariga bog'liq – a, b, c, d va h.k. Bu ekzotoksinlar antigenli immunogenlik xususiyatlarga, shuningdek letal, nekrotik ta'sirga ega.

Koloniyadan GPA, GPB larga qayta ekib, o'sgan kultura farqlanadi. Ya'ni, ularning biokimyoviy xususiyatlari aniqlanadi. Mannitni parchalovodorod sulfid hosil qilishi, DNK-aza, kaogulaza fermenti hosil bo'lar xarakterlidir.

Stafilocokklarning DNK-aza faolligini aniqlash. Eritib, bir oz sovut. GPAGa (pH 8,4 – 8,6) 1 – 1,5 mg/ml DNKning natriyli tuzi qo'shiladi va 40 daqiqa suv hammomida qaynatiladi. 50 – 60°C gacha sovugach un 1 mg/ml kalsiy xlorid aralashtiriladi va Petri kosachalariga 10 – 15 ml quyib chiqiladi. Qotgandan so'ng 8 – 10 ta stafilocokk kulturasi belgilar joylarga ilmoqni tegdirib ekiladi, 18 – 20 soat 37°C da o'stiriladi. Kosachaga 4 – 5 ml xlorid kislotasining 1 n eritmasini quyib, 2 – 3 da o'tgach to'kib tashlanadi. Koloniya atrofida tiniq xududning paydo bo'lishi DNK-aza borligini ko'rsatadi. Patogen stafilocokklar DNK-aza faolligi bo'ladi (rasm 70).

Patogen va patogen emas stafilocokklarni farqlash uchun maxsus selektiv muhit-kristallviolet qo'shilgan GPA ga ekiladi (1 litr 3,5%li GPAGa 3,5%li kristallviolet qo'siladi). Kristallvioletning bakteriostatik ta'siri patogen emas stafilocokklar o'smaydi. Patogenlari esa binafsha yoki sariq rangli koloniyalar hosil qiladi.

3. Biosinov qo'yish (quyon, mushuk bolasida).

Stafilocokklar ekzotoksin ajratadi. 1) gemotoksin (stafilocokk eritrositlarni lizis qiladi. 2) leykosidin-leykositlarni parchalaydi.

Letal toksinni aniqlash – quyon qon tomiriga 0,75 ml/kg bulon kultura filtrati yuboriladi. *Nekrotoksinni aniqlash* - quyon terisining ma'lum joyidan tozalanib, dezinfeksiyalanadi, teri orasiga bul'on kulturasi filtri

filtrati yuboriladi (1 ml da 2 mlrd mikroob hujayrasi) 24 soatdan keyin nekroz zonalari nekroz zonasi 1 - 2 kun davomida rivojlanadi) paydo bo'ladi.

Patogen stafilocokk *enterotoksiniga* tekshiriladi. 10 – 15 ml 3 – 4%li stafilocokk kulturasi iliqlik sut bilan teng miqdorda aralashtirib, 4 – 8 soatda o'schuk holatiga yediriladi. Ijobiy natijada – ich ketish, qusish kuzatilib, mushukcha o'ladi.

Stafilocokk asoslab yakuniy diagnoz qo'yiladi. Patogen stafilocokklar uchun: mannitni parchalash, DNK-aza faollik, kristallviolet qo'shilgan muhitda o'sish, plazmokoagulyatsiya reaksiyasi, nekrotik xususiyati, letal ta'sirini borligi xarakterli.

Autovaksinlar – autovaksina (30 daqiqa 75°C qizdirilgan kultura), vaktsinodaglar.

Ma'rufat savollari:

- 1) Stafilocokkli infeksiyalarda laboratoriyaga qanday patmaterial yuboriladi?
- 2) Stafilocokklarning morfologiyasi, kultural xususiyatlarini tushuntiring?
- 3) Stafilocokklarning patogen va patogen emas shakllari oziqa muhitida qanday farqlanadi?
- 4) Stafilocokklarning patogenligini biosinov qo'yish usulida aniqlash.
- 5) Patogen stafilocokklarning xarakterli xususiyatlarini ayting.

18. Laboratoriya mashg'uloti №3

Mavzu: Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Mastit, soqov, yosh hayvonlarning yuqumli pnevmokokk (diplokokkli septisemiya) kasalliklarida patmaterial olib yuborish qoidalarini o'zlashtirish. 2. Ularni bakteriologik tekshirish tartibi va usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkalarda streptokokk kulturasi, patmaterial, probirkalarda zardobli GPB, glyukozali GPA, Petri kosachalarida qonli GPA; sut (mastitli), yiring, qon yoki o'pka, taloq bo'lakchalari; Paster pipetkalari, spirt lampasi, kyuveta, pinset, qaychi, skalpel; 5 %li karbol eritmasi, tegishli jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

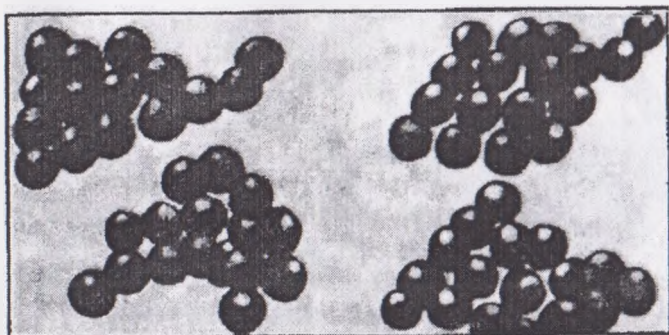
O'qituvchi streptokokkli infeksiyalarda patologik material olish va laboratoriyaga yo'llashni tushuntiradi. Bakteriologik tekshirish tartibi va usullari bilan tanishtiradi. Talabalar: 1) mikroob kulturasi, patmaterialdan surtma tayyorlab – Gram usulida bo'yaydi va mikroskopda ko'rib, daftariga yozadi, chizib oladi; 2) patmaterialdan oziq muhitlarga ekadi. Tayyor probirkalardagi streptokokk kulturasi kultural xususiyatlarini o'rganib, daftariga yozib oladi.

Streptokokklar – *Streptococcus* avlodiga kiradi, 20 dan ortiq turlari bor. Bergi klassifikatsiyasi bo'yicha uch guruhga bo'linadi: 1) yiringli gemolitik - *Str.pyogenes* (har xil yiringli – yallig'lanish jarayonlar- abscess, flegmona, sepsis qo'zg'atuvchisi), *Str.agalactiae* (*Str.mastitidis*)- mastit, *Str.equi*- otlarda soqov, *Str.pneumoniae*- diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchisi; 2) ko'kartiruvchi streptokokklar – *Str.viridans* (termofil, najasga oid va bosh.); 3) sut kislotali streptokokklar – *Str.lactis*, *Str.cremoris*, *Str. salivaris*. Streptokokklar presipitatsiya reaksiyasida aniqlanadigan polisaxaridli maxsus antigeni bo'yicha 17 guruhga bo'lingan. Hayvon va odamlar patologiyasida, birinchi beshtasi muhim ahamiyatga ega bo'lib katta harflar bilan A, B, C, D, E belgilanadi.

Yuqumli mastit qo'zg'atuvchisi. Yuqumli mastitni 80 dan ortiq mikroob turlari chaqiradi, ammo asosiy, juda ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi - *Str. agalactiae* (*Str. mastitidis*) va patogen stafilokokklar.

Patologik material. Klinik namoyon bo'lgan mastitda sut yelinning har bir zararlangan so'rg'ichidan alohida steril probirkalarga olinadi. Subklinik mastitda avval sut alohida idishga sog'ib tashlanadi, keyin, yelinni yuvib 70° spirt bilan dezinfeksiyalanadi va steril har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga sutning oxirgi porsiyalaridan (parenximali sut) sog'ib olinadi va og'zi yopiladi. Namunani 2 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak.

Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



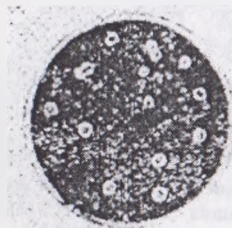
Rasm 66. *Stafylococcus aureus* toza kulturada. Gram usulida bo'yalgan.



Rasm 67. Stafilokokklarning toza kulturasi.



Rasm 68. GPAda stafilokokk koloniyasi.

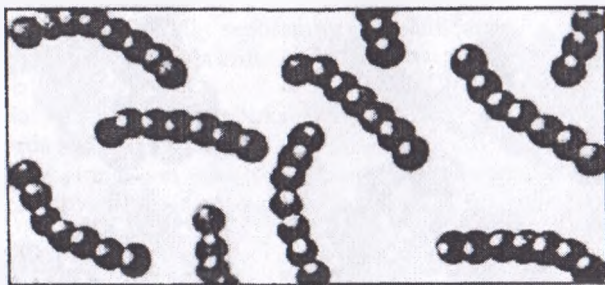


Rasm 69. *Stafylococcus aureus* qonli agarda gemoliz hosil qilgan.



Rasm 70. Stafilokokkning DNK-zali aktivligi.

Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



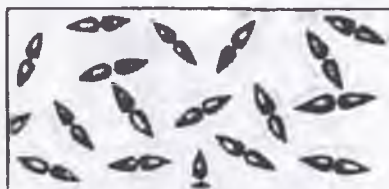
Rasm 71. *Streptococcus* GPB dan tayyorlangan surtmada. Gram usulida bo'yalgan.



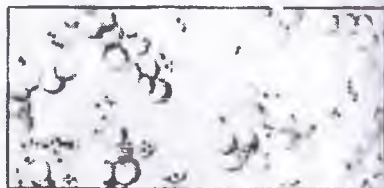
Rasm 72. *S. agalactiae* patmaterialdan tayyorlangan surtmada.



Rasm 73. Streptokokklar (2) va stafilokokklarning (1) gemolitik aktivligi CAMP usulida.



Rasm 74. *Diplococcus pneumoniae* toza kulturada. Gram usulida bo'yalgan.



Rasm 75. *Diplococcus pneumoniae* balg'amda. Metilen ko'ki bilan bo'yalgan.

Pasterellyozli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 76. Pasterella GPB kulturasida tayyorlangan surtmada.



Rasm 77. Pasterellaning S-shakli koloniyasi-agarda.



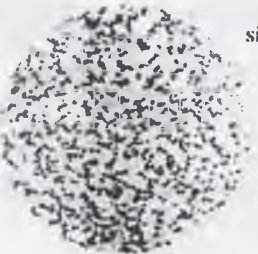
Rasm 78. Pasterellaning R-shakli koloniyasi-agarda.



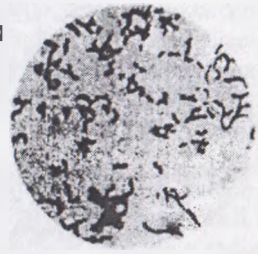
Rasm 80. GPB da 2 sutkali pasterella cho'kmasini silkitgandan keyingi ko'rinisi



Rasm 79. Pasterellalar. Patologik materialdan tayyorlangan surtmada.

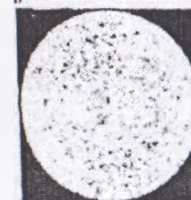


Rasm 81. S-shakli pasterella surtmasi.



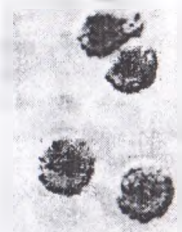
Rasm 82. R-shakli pasterella surtmasi.

Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi



Rasm 83. Mikrobnng S-shaklli koloniyasi (a,b); undan tayyorlangan surtmada ko'rinishi.

Rasm 84. Mikrobnng kengish R-shaklli koloniyasi (a,b); undan tayyorlangan surtmada ko'rinishi.



Rasm 85. Oraliq O(SR)-shaklli mikrobnng eski koloniyalari pigmentli dog'lari bor.



Rasm 86. a-GPB da kulturani qoqib ko'rganda "soch o'rinni" singari ko'tarilishi, b-mikrobnng GPJ da o'sishi.



Rasm 87. Saramas bilan kasallangan cho'chqalar: 1-kasallik o'tkir kechazanda o'lgan, 2-sarim o'tkir kechazanda o'lgan, 3-sarimsali kechazanda cho'chqa mikroba uclashi.

Rasm 88. Yurakning uch tabaqali klapanida hosil bo'lgan fibrinli to'planma.

1. **Mikroskopiya.** Patmarialdan tayyorlangan, Gram, Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda *Str. agalactiae* grammusbat, kokklardan iborat uzun zanjirlar, agarli kulturadan qisqa zanjirlar shaklida joylashadi. Kokklar diametri 0,5 – 1 mkm. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi (rasm 71, 72).

2. **Bakteriologiya.** Qo'zg'atuvchi a'erob, oddiy oziqa muhitlarda sekin o'sadi. Zardobli GPB da – muhit tiniq qolib, probirka tubida donador cho'kma paydo bo'ladi. Zardobli GPAda, kulrang, yorug'lik o'tkazuvchi mayda koloniyalar shaklida o'sadi. Qonli agarda ba'zi shtammlari β - gemoliz hosil qiladi.

Biokimyoviy xususiyatlari – patogen streptokokklarning aktivligi past. GPJ ni suyultirmaydi, metilenli sutni rangsizlantirmaydi, ivitmaydi. Uglevodlar- glyukoza, laktoza, saxapoza, maltoza, salisinlarni parchalab kislotaga hosil qiladi. Sorbit va dulsitni parchalamaydi.

S. agalactiae ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun CAMP (KAMP) usuli ishlatiladi. Atama Avstraliyalik olimlar Kristi, Atkins, Munx – Peterson nomlaridan olingan Bu usul bitta kosachadagi qonli GPAGA gemolitik xususiyatlari yo'qolgan yoki pasaygan B- guruh streptokokklarini gemolitik stafilokokklar bilan yonma-yon ekilsa, ularning gemolitik xususiyati tiklanishiga asoslangan. Ekmalar 3 - 4 sutka 37°C da termostatda turadi (rasm 73).

3. **Biosinov.** Oq sichqon yoki dengiz cho'chqasi qorin bo'shlig'iga 0,1 – 0,2 ml sut yoki yiringli eksudat yuboriladi. Ijobiy natijada sichqonlar 1 – 2 kunda kasallanib o'ladi.

Soqov qo'zg'atuvchisi – *Str. equi* antigen tuzilishi bo'yicha "C" guruhiga kiradi. Olti oylikdan ikki yoshgacha bo'lgan otlarda va bir tuyoqlilarda kasallik chaqiradi. Kasallik yuqori nafas olish yo'llari, hiqildoq, shilimshiq qavatlari, jag' osti limfa tugunlarining kataral yiringli yallig'lanishi bilan xarakterlanadi (klinik absess, burun oqishi bilan namoyon bo'ladi).

Patologik material. Steril idishlarga absessdan yiring (yorilmagan absessdan aseptik holda), yiringli burun oqmasi olinadi.

1. **Mikroskopiya.** Yiringdan tayyorlangan surtmalarda *Str. equi* kokklardan iborat uzun zanjir shaklida joylashadi. Bulon kulturasi tayyorlangan surtmada zanjirlar qisqa bo'ladi, zich oziqa muhitidan tayyorlanganlarida esa zanjirlar qisqa, hatto diplokokk ko'rinishida joylashadi. Gram, Romanovski usulida bo'yaladi. Qo'zgatuvchi grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi.

2. **Bakteriologiya.** Qo'zg'atuvchi oddiy oziqa muhitlarda o'smaydi, zardob yoki fibrinsizlangan qon, qo'shilgan muhit, Kitt – Tarossi muhitida o'sadi. Suyuq muhitda probirka devorida, tubida mayda donachalar shaklida o'sadi. Zardobli glyukozali agarda shudringsimon yorug'lik o'tkazuvchi, mayda

shilimshiq koloniyalar shaklida o'sadi. Qonli agarda β - gemoliz zonasi hosil bo'ladi.

Biokimyoviy xususiyati: sutni ivitmaydi, metilenli sutni rangsizlamaydi laktoza, sorbit, mannitni parchalamaydi. Soqov antivirusi qo'shilgan muhitda o'smaydi.

3. Biosinov. Oq sichqon yoki mushuk terisi ostiga yoki qorin bo'shlig'iga yuborib zararlanadi. Oq sichqon 3 – 10 kunda piyemiyadan o'ladi. Mushuk bolasi terisi ostiga bulon kulturasi 1:10000000 yuborganda o'ladi.

Pnevmonokokkli septisemiya qo'zg'atuvchisi - *Str. pneumoniae* (*Dipl. Septicum*, *Dipl. lanceolatus*). Kasallik yosh hayvonlarda o'pka va ichak shakllarida o'tadi. Hayvonlar 2-4 haftaligidan bir necha oylikgacha yoshda kasallanadi.

Patologik metirial. Kasal hayvonlardan ularning ajratmalari, qon olinadi. O'lgan hayvonlardan ularning jasad yoki o'pka, taloqning zararlangan joylaridan bo'lakchalar, yurakdan qon, yiring, ilik suyagi olinadi.

Mikroskopiya. Gram, Romonovskiy-Gimza usullarida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi juft, kapsulalarga o'ralgan kokklar shaklida joylashadi. U grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi. Kulturalarda kapsulalar hosil bo'lmaydi. Organlardan tayyorlangan surtmada ikkala kokkni o'rab olgan kapsula yaxshi ko'rinadi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda qisqa zanjir shaklida joylashadi (rasm 74, 75).

Bakteriologiya. *Str.pneumoniaye* 37°C da aerob va anaerob sharoitlarda o'sadi. Zardobli GPBda bir xilda loyqalanish, kamroq cho'kma hosil bo'ladi. Zardobli GPAda mayda shudringsimon koloniyalar, qonli agarda gemoliz zonasi bor koloniyalar hosil qiladi.

Patogen pnevmonokoklar o't suyuqligida eriydi. Inulinni parchalaydi (boshqa streptokokklardan farqi).

3. Biosinov. Bulonli kultura 1:1000000 nisbatda suyultirilib 0,5 ml oq sichqonlarning qorin bo'shlig'iga yuboriladi. Sichqonlar ikki uch kunda o'ladi.

Biopreparatlar. Diplokokkli septisemiyaga qarshi vaktsina buzoq, qo'zi, cho'chqa bolalaridan ajratilgan *Str.pneumoniaye* shtammidan tayyorlanadi. Kulturani yarim suyuq agarda o'stirib, 0,4%li formalin eritmasida inaktivlanadi, sterillik, zararsizlik (dengiz cho'chqalarida), faolligi (oq sichqonlarda) tekshiriladi.

Assosiasiyalangan (polivalent) vaktsina cho'chqa bolalari paratif, pasterellyoz va diplokokkli septisemiyasiga qarshi *P multocida*, *S.choleraesuis*, *Str.pneumoniaye* kulturalarini o'z ichiga olgan.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida olimlar mahalliy shtammdan qo'zilar diplokokkoziga qarshi GOA formol vaktsinaning tajriba seriyasini tayyorlab, sinab ko'rishgan (2006 y).

Buzoq, qo'zi, cho'chqa bolalari diplokokkoziga qarshi zardob — qo'zg'atuvchilarning o'lik va tirik kulturalari bilan hayvonlarni piperinmyulab olinadi.

Nazorat savollari:

1 Mastitda sut namunasini olish qoidasi.

2 CAMP usulini qo'llashdan maqsad.

3 Mastit qo'zg'atuvchisining xususiyatlari.

4 Choqov qo'zg'atuvchisining yiring va kulturalardan tayyorlangan sutmalarda joylashish farqi.

5 Pnevmonokk septisemiyasi qo'zg'atuvchisining xususiyatlari, boshqa streptokokklardan farqi.

19 . Laboratoriya mashg'uloti №4

Mavzu: Pasterellyozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Pasterellyozga bakteriologik tekshirish uchun patmaterial olib yuborish qoidalarini o'zlashtirish.
2. Pasterellyoz qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini o'rganish. Bakteriologik tekshirishlar o'tkazishni o'rganish.

Material va jihozlar: GPA, GPB, qonli agarda, uglevodli Gissa muhitida o'sgan kulturalar, steril GPA, GPB probirkalarda, Paster pipetkalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, biopreparatlar, jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar GPA, GPB, qonli GPA da *P. Multocida* ning kultural xususiyatlarini o'rganib, daftarga yozadi. Ushbu kulturalardan surtmalar tayyorlab Gram, Leffler ko'ki bilan bo'yaladi, mikroskopda ko'rinishini – qo'zg'atuvchi rasmini chizib, daftarga yozadi. Patmaterialdan oziq muhitlarga ekadi. Tamg'ali surtmalar tayyorlab, Gram usulida bo'yaydilar. Mikroskopda ko'rinishini daftarlariga chizib oladilar. Glyukozali, laktozali, saxarozali, sorbit, dulsitli Gissa muhitida qo'zg'atuvchining fermentativ xususiyatlarini natijasini o'rganadi.

Pasterellyoz qishloq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar (parrandalar)da o'tkir o'tuvchi septik kasallik. U septisemiya, ichki organlar, seroz va shilliq qavatlarida gemorragik yallig'lanish jarayonlari bilan xarakterlanadi. Qo'zg'atuvchisi – *Pasteurella multocida*, *Pasteurella* avlodiga mansub.

Patologik material. Tekshirish uchun laboratoriyaga jigar, taloq, buyrak, limfa tugunlari, yurak, ilik suyagi yuboriladi. Yozning issiq kunlarida masofa uzoq bo'lganda patmaterial gliserinning 30% li suvdagi eritmasida konservasiya qilinadi. Ilik suyagi esa 5 – 10 %li formalin eritmasi shindirilgan dokaga o'raladi. Mayda hayvonlarning jasadida yo'llanadi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, mayda, qisqa tayoqcha shaklida (0,25 x 2 mkm), grammanfiy bakteriyadir. Leffler ko'ki yoki Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda pasterellalar bipolyar (bakteriyalarning uchlari intensiv bo'yalgan) holda ko'rinadi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikittadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shtammlari kapsula hosil qiladi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rinadi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (rasm 76, 80, 81, 82).

2. Bakteriologiya. *P. multocida* – aerob sharoitda, 37- 38°C da, pH 7,2-7,4 bo'lgan GPA va GPB larda o'sadi. Lekin qonli GPA, zardobli GPA yoki GPB larda yaxshiroq o'sadi. Patmaterialdan ekilgan ekmalar 24-48 soat temostatda o'stiriladi. Agar o'sish bo'lmasa ekmalar 4 – 5 sutkagacha temostatda saqlanadi.

GPA da- pasterellalar mayda, silliq, bo'rtgan, tiniq, yumaloq, chetlari tekis (N- shakl) kul rang oq koloniyalar (rasm 77), ba'zan yirik, shilimshiq (M- shakl) yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (R- shakl) shaklida o'sadi (rasm 78). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

GPB da- muhit bir xilda loyqalanib, shilimshiq cho'kma hosil qiladi (rasm 79). Qoqib ko'rganda cho'kma “o'rilgan soch” shaklida ko'tariladi (S- shakl), mukoid shtammlari intensiv o'sib, ko'p shilimshiq cho'kma hosil qiladi (M- shakl). R- shaklli shtammlarida muhit loyqalanmaydi, mayda donachali cho'kma hosil bo'ladi. GP da avval alohida koloniyalar, keyin o'zaroq oq sterjen kabi o'sadi.

P. multocida glukoza, saxaroza, sorbit va mannitni gazsiz kislotaga hosil qilib parchalaydi. Laktoza, dulsitni parchalamaydi, Sutni ivitmaydi, indol hosil qilmaydi. Somatik va kapsulali antigenlari borligi aniqlangan.

3. Biosinov. Qoramol, cho'chqa, qo'ylardan tekshirilayotgan material bilan oq sichqon va quyonlar zararlanadi - terisi ostiga oq sichqonga- 0,2 ml, quyonga – 0,5 ml yuboriladi. Quyonlarni avvalo pasterellatashuvchanlikga tekshiriladi - uch kun davomida burun bo'shlig'iga 2 tomchidan 0,5 % li billiart yashilining suvdagi eritmasi tomchiriladi. Burun bo'shlig'idan yiringli ajratmaning oqishi pasterellatashuvchanligini bildiradi. Ularda biosinov qo'yish mumkin emas. Parrandalardan tekshirilayotgan material bilan kabutar, tovuq, o'rdaklar mushaklari orasiga 0,3 ml susperziya yuborib zararlanadi. Ijoby natijada 18 - 36 soatda biosinovdagi hayvonlar o'ladi.

Natija ijoby hisoblanadi:

Patologik materialdan grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatsiz tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa; ular glukoza, saxaroza, sorbit va mannitni parchalamasa, indol hosil qilmasa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa.

Biopreparatlar. Hozirgi vaqtda hayvonlarda pasterellyozning oldini olish uchun o'ldirilgan va tirik vaksinalar qo'llanadi. Oxirgi yillarda hayvon va parrandalarda pasterellyoziga qarshi veterinariya amaliyotiga emulgirlangan vaksinalar kiritilgan. Immunitet 6 – 12 oy davom etadi.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy shtammlardan pishloq xo'jalik hayvonlarining pasterellyoz, salmonellyoz va kolibakterioziga qarshi polivalent radiovaksina ishlab chiqilgan. Immunitet 6 - 12 oy davom etadi.

Qishloq xo'jalik hayvonlarining pasterellyoz, salmonellyoz va kolibakterioziga qarshi polivalent giperimmun qon zardobi ishlab chiqilgan. Qo'ylar pasterellyoziga qarshi gidrookisalyuminli formol vaksina yaratilgan. Ushbu biopreparatlar xo'jaliklarda keng qo'llanib, samarali natijalarga erishilmoqda.

Nazorat savollari:

1. *P. multocida*ning morfologik, tinktorial xususiyatlari.
2. *P. multocida*ning Kultural, fermentativ xususiyatlari.
3. Pasterellyozga qachon ijobiy natija - diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.
4. Pasterellyozga diagnoz qo'yishda biosinovning ahamiyati.
5. Laboratoriyaga yo'llanadigan patmaneriallar va tekshirish usullari.

20. Laboratoriya mashg'uloti №5

Mavzu: Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarga cho'chqalar saramas kasalligi qo'zg'atuvchisi, uning bakteriologik tekshirish tartibi va usullarini o'rgatish. Qo'llaniladigan biopreparatlar bilan tanishadilar.

Material va jihozlar: Saramasdan o'lgan oq sichqon o'ligi, uni yorish uchun asboblari, steril GPB, GPA. Paster pipetkalari. GPB, GPA da, Gissa muhitida o'sgan saramas kulturasi, predmet oynachalari, moyqalam, bo'yoqlar to'plamii, mikroskop. kyuveta. biopreparatlar, jadval, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga topshiriq beradi. Talabalar qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini o'rganadi, kulturadan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yaydi, mikroskopda ko'rib morfologiyasini o'rganadi. Qo'zg'atuvchining fermentativ xususiyatlari bilan tanishadi. lasadni yorib parenximatoz organlaridan GPB, GPA, GPJ larga ekadi. Tamg'ali surtmalar tayyorlab, Gram usulida bo'yaydi. Mikroskop ostida qo'zg'atuvchi morfologiyasini o'rganadi. Qo'zg'atuvchini serologik farqlash usulini o'zlashtiradi.

Cho'chqalar saramasi qo'zg'atuvchisi - *Erysipelothrix rhusiopathiae*. O'tkir kechqalar septisemiya, eritemali yallig'lanish, surunkali kechganda endokardit, artrit, bilan namoyon bo'ladigan yuqumli zooantroponoz kasallik (rasm 87, 88). Uch oylikdan bir yoshgacha bo'lgan cho'chqalar, uch to'rt haftadan katta qo'zilar kasallanadi. Boshqa tur hayvonlarda kasallik kam uchraydi. Odamlar ham kasallanadi.

Patologik material . Laboratoriyaga tekshirish uchun hayvonning jasadi voki parenximatoz organlardan bo'lakchalar (yurak, jigar o't xaltasi bilan, taloq, buyrak) ilik suyagi, yuboriladi. Kasallikning surunkali shakli gumon qilinganda yurakdan qon va endokard, artritda bo'g'in suyuqligi yo'llanadi. Tozini bo'lganda organ bo'laklari 30% gliserin yoki osh tuzining to'yingan eritmasida konservasiyalanadi. Ilik suyagini yumshoq to'qimalardan ajratib, 2-3% li fenol eritmasi shimdirilgan dokaga o'raladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tamg'ali surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Saramas qo'zg'atuvchisi spora, kapsula hosil qilmaydi, funkatsiz, grammusbat, bitta, ikkita yoki to'p-to'p bo'lib joylashgan tuyoqchasimon bakteriyalardir. Zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada uzun iplar shaklida joylashadi (rasm 83,84). Fluoressentli zardoblar bilan ham bo'yash mumkin. Lyuminissentli

mikroskopiyada saramas qo'zg'atuvchisi intensivligi +++ dan kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan GPB, GPA, GPJ larga ekiladi. Ekmalar 37°C da 18-24 soat termostatda o'stiriladi, o'sish bo'lmasa yana 24 soatga qoldiriladi. *E. rhusopathiae* aerob, mikroaerofil (5-10% CO₂ da yaxshi o'sadi).

GPB da – muhit yengilgina loyqalanadi. 48-72 soatdan keyin tinib, probirka tubida cho'kma hosil bo'ladi (rasm 86 a). Qoqib ko'rganda nozik bulut shaklida ko'tariladi.

GPA da saramas qo'zg'atuvchisi mayda, shaffof, shudringsimon koloniyalar hosil qiladi (S- shakli). R- shaklda – yirik, yuzasi notekis, chetlari o'simtali koloniyalar – (kasallik surunkali o'tganda) paydo bo'ladi. Ba'zan oraliq koloniyalar ham hosil bo'ladi (rasm 83,84,85).

GPJ ga tik ekilganda uni suyultirmaydi, bir necha kundan keyin "yumaloq sim cho'tka" shaklida o'sadi (rasm 86 b).

Biokimyoviy xususiyatlari – saramas qo'zg'atuvchisi vodorod sulfid ajratadi, katalaza hosil qilmaydi. Glyukoza, laktoza, galaktozalarni parchalab kislota, gaz hosil qiladi, saxaroza, mannit, salisinni parchalamaydi.

Serologik farqlash. Predmet oynachasida tomchili usulda 1:50 nisbatda saramas zardobi bilan AR qo'yiladi. Bir sutkali GPA da o'sgan kultura ishlatiladi. Agar saramas qo'zg'atuvchisi bo'lsa zich, mayda, donador agglyutinat paydo bo'ladi.

3. Biosinov. Kabutar va oq sichqonlarda qo'yiladi. Kabutarlar to'shiga 0.2-0.3 ml dozada, 16-18g li oq sichqonlar terisi ostiga 0,1 – 0,2 ml dozada patmaterial suspenziyasi yoki GPA da o'stirilgan 1-2 sutkali kultura suspenziyasi yuboriladi. Ijobiy natijada zararlantirilgan kabutarlar 3 – 6 sutka, oq sichqonlar 2- 4 sutkadan keyin o'ladi. Biosinov 7 kun kuzatiladi.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

1. Lyuminissentli mikroskopda patmaterial, aralash kulturali surtmalarda saramas qo'zg'atuvchisi topilsa (toza kultura ajratilmasa ham);

2. Patmaterialdan qo'zg'atuvchiga xos xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa;

3. Biosinovdagi hayvonlar o'lsa va organlaridan saramas qo'zg'atuvchisi kulturasi ajratilsa (hatto birlamchi materialdan qo'zg'atuvchi ajratilmasa ham).

Biopreparatlar: Cho'chqalar saramasiga qarshi konsentrlangan gidrookisalyuminli formolvaksina.

Cho'chqalar saramasiga qarshi deponirlangan vaksina (tirik kultura ishlatilgan).

Cho'chqalar saramasiga qarshi quruq liofillangan tirik vaksina .VR vaksina shtammi kulturasidan tayyorlangan.

Cho'chqalar saramasini davolovchi - profilaktik zardoblar: cho'chqalarni giperimmunlab olinadi; oq sichqonlarda sterillik, zararsizlik va faollikka nazorat qilinadi. 0,01; 0,02 va 0,03 ml dozalarda sichqonlar o'lmasa faol hisoblanadi.

Saramasning lyuminissensiyalovchi quruq zardobi bevosita immunofluoressensiya usuli uchun ishlab chiqilgan. Kultura va materialdan surtmalarda qo'zg'atuvchini serologik qiyoslashga mo'ljallangan.

Nazorat savollari:

1. Saramasga tekshirish uchun patmaterial olib, laboratoriyaga yuborish qoidasi.
2. Saramas qo'zg'atuvchisining morfologik, kultural, biokimyoviy xususiyatlari.
3. Saramas qo'zg'atuvchisini serologik farqlash usullari.
4. Saramasda biosinov qo'yish usulini ayting.
5. Qachon cho'chqalar saramasiga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Listeriozui laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish, patmaterialni bakteriologik tekshirish tartibi va usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: GPA, GPB muhitlarida qo'zg'atuvchi kulturalari, steril – GPA, GPB, GPJ probirkalarda, Paster pipetkalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, agglyutinasialovchi zardoblar, mavzuga oid plakat, jadvallar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi patmaterial olish, laboratoriyaga yuborish qoidalarini, *Listeria monocytogenes*ning xususiyatlarini tushuntiradi. Qo'llaniladigan maxsus biopreparatlar bilan tanishtiradi.

Talabalar GPA, GPB muhitlarida o'sgan kulturaning xususiyatlarini o'rganadi, ulardan GPA, GPB, muhitlariga ekib, surtmalar tayyorlashadi. Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'radilar. Natijani daftarga yozib olishadi.

Listerioz – keng tarqalgan zoonoz kasallik. U 44 ta mamlakatda, shuningdek O'zbekistonda ham hisobga olingan. Qo'zg'atuvchisi *Listeria monocytogenes*. *Listeria* avlodiga mansub. U kemiruvchilar, cho'chqa, yirik hamda mayda shoxli hayvonlar, ot, ba'zi mo'ynali hayvon va parrandalarda kasallik chaqiradi. Odamlar ham moyil. Kasallik septik shaklda o'tadi, markaziy asab tizimi shikastlanishi, homila tashlash, mastit, septisemiya namoyon bo'ladi.

Patologik material. Tekshirish uchun laboratoriyaga yangi o'lgan mayda hayvon jasadi yoki yirik hayvonlardan (ot, yirik shoxli mol, qo'ylar) parenximatov organlar va bosh miya yo'llanadi. Homila tashlagan hollarda tashlangan homila yoki uning organlari; mastitda zararlangan yelin qismidan sut namunalari yo'llanadi. Septik listeriozning boshlang'ich davrlarida gemokultura ajratish uchun qon olinadi.

1. Mikroskopiya. Patologik materialdan tang'ali preparatlar tayyorlab Gram va fluoressensiyalovchi antitelolar usulida bo'yaladi. *Listeria monocytogenes* –harakatchan bakteriya, Mikrobning beshtagacha xivchini bo'lib, ular faol harakat qiladi (rasm 89 - b). Ba'zi shtamlari tez xivchinlarini yo'qotib, harakatsiz bo'lib qoladilar. Gramnusbat(eski kulturada grammanfiylari ham uchraydi), o'lchami 0,5x1,0 – 2,0 mkm,

polimorf, uchlari qayrilgan tayoqchalar, ba'zi oziqa muhitda o'sganlari - yengil egilgan bo'ladi. U bittadan, rim v raqami, bir biriga parallel, juft yoki qisqa zanjirchalar ko'rinishida joylashadi (rasm 89.a). Spora va kapsula hosil qilmaydi. Fluorescentli zardoblar bilan bo'yalgan preparatlarda ijobiy natijada listeriaz qo'zg'atuvchisiga xos konturda intensivligi +++++, +++ dan kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan 1:5 nisbatda suspenziya tayyorlab undan oddiy yoki 1% glyukoza va 2-3% gliserin qo'shilgan GPB, GPA, go'sht peptonli jigarli bulon, qonli agar va elektiv muhitlarga ekiladi. *Listeria monocytogenes* aerob yoki fakultativ anaerob; optimal pH 7,2 - 7,4, harorat 37°C. Jinsiy organlar ajratmasi va sut 1% glyukoza, 2-3% gliserin qo'shilgan go'sht peptonli jigarli agar va 10%li NaCl li GPB ga ekiladi. Ekimlar ikki hafta kuzatiladi. Tekshirilayotgan materialning bir qismi sovutgichda (4°C) 30 kun saqlanadi. Bu haroratda listeriyalar rivojlanib ko'payadi. Birlanchi ekmalarning natijasi manfiy bo'lsa, har 10 kunda saqlangan materialdan qayta oziqa muhitlarga ekiladi. GPB da yengil loyqalanish paydo qiladi, 5 - 10 kundan keyin probipka tubida shilimshiq cho'kma hosil qiladi. Uni qoqib ko'rganda, soch o'rimi kabi ko'tariladi (rasm 91.a). Ba'zi shtamlari parda hosil qiladi. Zich oziq muhitda silliq, tiniq, ko'kish (o'tuvchi yorug'likda) va kulrang oq koloniyalar hosil qiladi. GPA da mayda, shaffof. shudring tomchisidek S - koloniyalar (rasm 90-91 b), shuningdek dissosiasiyaga uchragan - oraliq O - va kengish R- koloniyalari ham o'sadi (rasm 90. a, v). Virulentli shtamlari S-shakl, virulent emaslari R-shakl koloniyalarini hosil qiladi. GPJ ni critmaydi. Tik ekkanda ekish yo'lida 10 kundan keyin jelatina ichida chuqur perpendikulyar o'sadi. Hosil bo'lgan koloniyalar yasmiq shaklida bo'ladi. Qonli agarda gemoliz zonasini hosil qiladi.

Btokimyoviy xususiyatlari doimiy emas. Dulsit, inulin, raffinozani parchalaymaydi; glyukoza, maltoza, pannoza, salisinlarni gabsiz kislotaga hosil qilib parchalaydi. Katalaza aktivligi yangi tayyorlangan 5%li vodorod perikisini teng miqdorda sutkali bulonli kulturaga yoki agarli kulturaga bir necha tomchi qo'shib aniqlanadi. Gaz pufakchalarining hosil bo'lishi (ko'pik) kulturada katalaza fermentining borligidan dalolat beradi. Bu esa listeriyalar uchun xarakterlidir (rasm 91. v).

Listeriyalarni saramas qo'zg'atuvchisidan farqlash uchun indikatorli bo'yoq qo'shilgan muhitlar ishlatiladi. Listeriyalar lakmusli, neytralrot va metilen ko'ki qo'shilgan muhitlarni rangsizlantiradi, saramas qo'zg'atuvchisi rangsizlantirmaydi.

Serologik tekshirish. AR, KBR, presipitasiya, bilvosita gemagglutinasiya reaksiyalari qo'llanadi.

3. Biosinov. Og'irligi 18 g dan uchta oq sichqon terisi ostiga yoki qorin bo'shlig'iga patmaterial yoki kultura suspenziyasidan 0,3 – 0,5 ml yuboriladi. Biosinov yaxshi chiqishi uchun oq sichqonlarni zararlashdan 3 – 4 soat oldin ular mushagi orasiga 5 mg dozada kartizon yuborish kerak. Ijobiy natijada ular 2-6 sutkada o'ladi. Ularning jigari, talog'i va buyraklarida juda ko'p nekroz tugunchalari paydo bo'ladi. Ba'zan bo'lmasligi ham mumkin. *Ayniqsa 5-6 kunlik yosh onasini emadigan oq sichqonlar kasallikka juda moyil bo'lib*, 0,2 ml dozada bulonli kultura terisi ostiga yuborilganda ular 18-36 soatdan keyin o'ziga xos belgilar bilan o'ladi – terisida qizil - ko'kish eritemalar paydo bo'ladi, oldingi oyoq panjasi (barmoqlari) falajlanadi (rasm 92).

Dengiz cho'chqalari listeriya kulturasi bilan terisi ostiga, mushaklari orasiga va qorin bo'shlig'iga zararlenganda ularning bir qismigina o'ladi. Listeriyalarning spesefik xususiyatlari dengiz cho'chqalarida kon'yunktival namuna yoki terisi ichiga yuborish usulida tekshiriladi.

Kon'yunktival namuna – ikkita dengiz cho'chqasi ko'z kon'yunktivasiga 2 tomchi sinovdagi bulon kulturasi tomdiriladi va qovoqlari yengilgina paxta tampon bilan uqalanadi. Ijobiy natijada 2-4 kunlari yiringli keratokon'yunktivit paydo bo'ladi (rasm 93-a).

Terisi ichiga yuborish usulida dengiz cho'chqasi yon tomoni terisining juni olinadi va 0,3 – 0,5 ml bulon kulturasi yuboriladi. 24 – 48 soatdan keyin yallig'lanish paydo bo'lib, keyinchalik nekrozga uchraydi (rasm 93 – b).

Katta quyonlarni terisi ostiga, mushaklar orasiga va qorin bo'shlig'iga qo'zg'atuvchi katta dozada yuborilsa ham ularni o'ldirmasligi mumkin. Faqatgina venasiga 0,5 - 1 mlrd bakteriya in'yeksiya qilinganida ular markaziy asab tizimi faoliyatining buzilishi belgilari bilan o'ladi (rasm 94 a). Quyonlarda ham dengiz cho'chqalari kabi kulturani terisi ichiga yuborib 24-72 soatda yallig'lanish jarayonini paydo qilish mumkin (rasm 94 - b). Bitta quyon terisining har joyiga bir nechta kulturani yuborib tekshirish mumkin (rasm 95 - a).

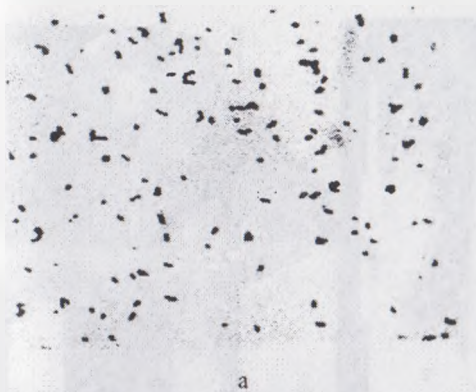
Listeriozdan o'lgan laboratoriya hayvonlarining jigari, talog'i va buyraklarida juda ko'p kulrang oqish nekroz tugunchalari paydo bo'ladi (rasm 95 – b).

O'lgan hayvonlarning ichki organlaridan surtmalar tayyorlanadi va oziq muhitlarga ekiladi.

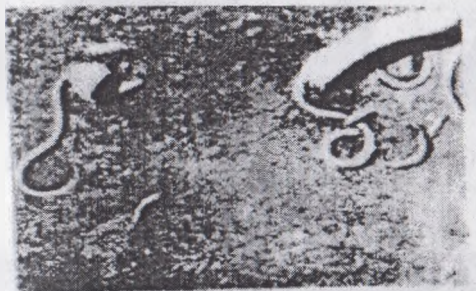
Biosinovdagi hayvonlar 14 sutka kuzatiladi.

Natija ijobiy hisoblanadi:

Patologik materialdan katalaza hosil qiluvchi, maltoza, ramnoza, salisinlarni gazsiz kislota hosil qilib parchalaydigan grammusbat, polimort, harakatchan tayyoqchalar ajratilsa; dengiz cho'chqasi va quyonda kon'yunktiva va teri orasiga yuborganda ijobiy natija bersa; listerioz zardoblari bilan AR ijobiy bo'lsa; laboratoriya hayvonlari uchun patogen bo'lsa va lyuminissent mikroskopiyada ijobiy natija bersa.



a



b

Rasm 89. Listeriyalar - a) sutkali GPA kulturasidan tayyorlangan surtmada, b) elektronogrammada xivchinlari bilan ko'rinishi.



a

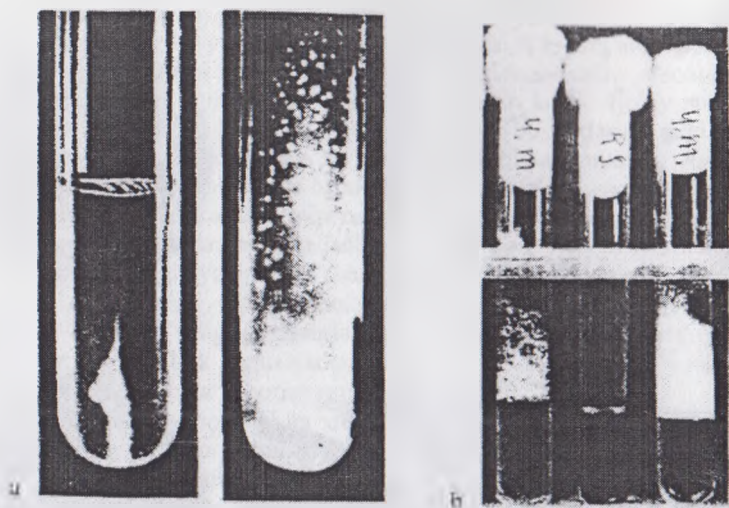


b



v

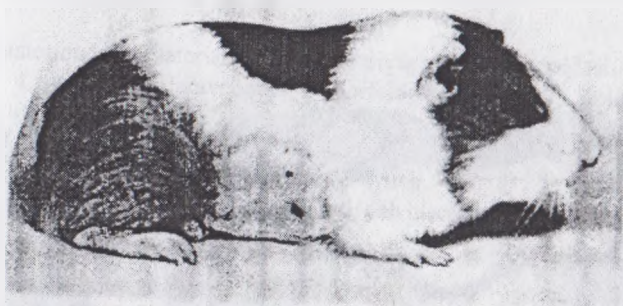
Rasm 90. Koloniyaning a) - O (SR), b) - S, v) - R- shakllari



Rasm 91. listeriyalar a) GPB da - cho'kma soch o'rini singari ko'tarilishi, b) GI'Bda o'sishi, v) katalaza namunasi.



Rasm 92. Listeriyalar bilan zararlangan 5-6 kunlik oq sichqonlarda eritema va oldingi oyoqlari falaji. Markazda sog'lom sichqon.



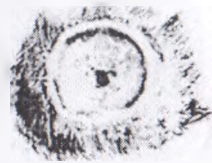
b

Rasm 93. dengiz cho'chqasida a) kon'yunktival namuna – keratit,
b) teri orasiga listeriyalar yuborilgan joyda yallig'lanish.



a

Rasm 94. a) venasiga zararlangan quyonda listerioz.



Rasm 94. b) quyon terisi orasiga listeriay kulturasi yuborilgan joyda yallig'lanish.



a

b

Rasm 95. a) bir vaqtda bir nechta listeriay kulturasi quyon terisi orasiga yuborib tekshirish, b) Listeriozdan o'lgan quyonning jigari va talog'ida mayda nekroz tugunchalari.

Biopreparatlar. 1974 yilda qishloq xo'jalik hayvonlarining listerioziga qarshi, AUF shtammidan tayyorlangan quruq vaktsina taklif etilib qo'llashga ruxsat etilgan. AUF vaktsina birinchi serotip listeriyalarning attenuirlangan shtammini liofillab quritilgan kulturasi. Vaktsinaning sterilligi, zararsizligi va immunogenligi quyonlarda nazorat qilinadi.

Listeriozning diagnostik agglyutinasialovchi zardoblari.

Fluoresensialovchi listerioz zardoblari.

Listeriyalarning ikkita serotipidan tayyorlangan vaktsinalar.

AR uchun ikkita listerioz antigeni; ikkita seroguruhdan tayyorlangan.

Listeriyalar suspenziyasi 1,5 soat suv hammomida qaynatib inaktivlangan.

KBR uchun listerioz antigenlari.

Liofillangan listerioz bakteriofaglarining diagnostik to'plami, ikkita – L2A va L4A monofaglardan iborat.

Nazorat savollari

1. Listeriozda patmaterial olib, laboratoriyaga yuborish qoidasi.
2. Listeriozqo'zg'atuvchining morfologik, kultural, biokimyoviy xususiyatlari.
3. Listeriozda qo'llanadigan biopreparatlar.
4. Listeriozda biosinov qo'yish usulini ayting.
5. Qachon listeriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

21. Laboratoriya mashg'uloti №6

Mavzu: Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish, patmaterialni bakteriologik tekshirish tartibi va usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: GPA, GPB. Endo muhitlarida *E. coli* kulturalari, steril GPA, GPB, GPJ probirkalarda, vismut – sulfitli agar, Paster pipetkalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, agglyutinasiyalovchi zardoblar, mavzuga oid jadvallar, plakatlar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi patmaterial olish, laboratoriyaga yuborish qoidalarini, *E. coli* ning xususiyatlarini tushuntiradi. Qo'llaniladigan maxsus biopreparatlar, ularni tayyorlash usullari bilan tanishtiradi.

Talabalar GPA, GPB, Endo muhitlarida o'sgan kulturaning xususiyatlarini o'rganadi, ulardan GPA, GPB, Endo muhitlariga ekib, surtmalar tayyorlashadi. Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'radilar. Natijani daftarga yozib olishadi. Ezilgan tomchi usulida harakatchanligini o'rganadilar.

Qo'zg'atuvchisi *E. coli*. *Escherichia* avlodiga mansub. Yosh hayvonlarning o'tkir kechuvchi yuqumli kasalligi bo'lib, kuchli ich ketish, holsizlanish va o'lim bilan xarakterlanadi. Uch shaklda namoyon bo'ladi - septik, enterotoksemik, enterit. Buzoqlar bir necha kunligida, cho'chqa bolalari hayotining birinchi kunlarida, sutdan ajratilgandan keyin – shish kasalligi belgilari bilan, qo'zilar tug'ilgandan 5 – 6 oylik yoshigacha, parrandalar asosan hayotining 2 – 3 oylarida kasallanadi. *E. coli* shuningdek mastit va endometrit qo'zg'atuvchisi ham bo'lishi mumkin.

Patologik metarial. Yangi o'lgan hayvon jasadi yoki ilik suyagi, jigar bo'lakchasi o't xaltasi bilan, taloq, buyrak, yurak, ichak limfa tugunlari, ingichka ichak bo'lagi ikki tomondan boylangan holda (u boshqalaridan bo'lak idishga joylanadi). Materialni 4 soat ichida laboratoriyaga yuborish kerak. Masofa uzoq bo'lsa 30 %li gliserin, 10 %li osh tuzida konservasiyalash mumkin. Kasal hayvonning to'g'ri ichagidan tezagi olinadi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Qo'zg'atuvchisi uchlari qayrilgan, grammanfiy (pushti – qizil rang) tayoqchasimon bakteriyalar; spora hosil qilmaydi; uzunligi 1 – 3 mkm, eni – 0,8 mkm (rasm 96). Bittadan joylashadi. Faqat 08, 09, 0101 shtamnlari kapsula hosil qiladi. Harakatchan va harakatsiz turlari bor (rasm 98).

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan GPA, GPB, Endo muhitlariga ekiladi. Birkali muhitlarga Paster pipetkalari bilan, Petri kosachalaridagiga shpatel bilan yoki organlardan tamg'a usulida ekiladi. Ekmalar 37–38°C da termostatda bir sutka o'stiriladi. *E. coli* aerob va fakultativ anaerob. Endo muhitida xarakterli koloniya bo'lsa, undan GPB, GPA, qonli agarga ekiladi. GPB da – bir xilda loyqalanish, tez tarqovchi cho'kma hosil bo'ladi. GPA da 16–20 soatda namli, yumaloq chetlari tekis, yuzasi silliq, kulrang koloniyalar hosil qiladi (rasm 97). Qonli GPA da koloniya atrofida gemoliz zonasi hosil bo'ladi (rasm 101).

Biokimyoviy xususiyatlari – Endo muhitida (rasm 99) uch xil: qizil qoramtir tovlanadigan, malina rangli pushti tovlanadigan va pushti koloniyalar hosil qiladi (laktozaning parchalanishi hisobiga). Indol hosil qiladi, vodorod sulfid hosil bo'lmaydi, sutni ivitadi, metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy reaksiya beradi. Gissa rangli qatorda (rasm 100) glyukoza, laktozani kislota va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sitrat tuzlarini o'zlashtirmaydi. Ajratilgan kultura ARda tipospesifik agglutinasiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizasiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik "O", qobiqli "K", xivchinli "H" antigenlar farqlanadi. Biofabrikada faqat "O" antigenga diagnostik zardoblar ishlab chiqilgan. Shu bilan *E. coli* ning seroguruhi va serotiplari buyum oynasida tomchili usulda AR da aniqlanadi. AR ko'rsatma asosida qo'yiladi. Avval 4 ta polivalent zardob bilan, keyin monovalent zardoblar bilan qo'yiladi. Xar bir polivalent zardobga – 8 – 10 tadan monovalent zardoblar kiradi.

Ozbekistonda *E. coli* ning 026, 0111, 078, 055, 041, 020, 09, 0119, K99, 41, A 25, 086, 015, 08 va h.k. shtamlari uchraydi.

E. coli ning ba'zi shtamlari antibiotik tabiatli modda - kolisinlar ishlab chiqaradi. Kolisinlar alohida ichak tayoqchalari shtammini o'sishga yo'l qo'ymaydi, ammo boshqa tur bakteriyalarga ta'sir etmaydi.

3. Biosinov. Uchta oq sichqonning qorin bushlig'iga sutkalik *E. coli* kulturasi suspenziyasi 500 mln/ml konsentrasiyada yuboriladi. 5 sutka kuzatiladi. Shu vaqt ichida bittasi o'lsa ham natija ijobiy hisoblanadi. Zaharlilik xususiyatiga ega kultura Shvarsman fenomenida quyonlar terisi orasiga yuborganda nekroz o'chog'i paydo bo'ladi (rasm 102).

Biopreparatlar. Cho'chqa bolalari, buzoq va qo'zilar kolibakterioziga qarshi polivalent gidrooksidalyumli formolitiomersal vaksina.

Mo'ynali hayvonlar salmonellyoz va kolibakterioziga qarshi polivalent vaksina.

VIEV koliprotektani.

Qishloq xo'jalik hayvonlari kolibakterioziga qarshi polivalent zardob.

Agglutinasiyalovchi O koli zardoblar.

Antiadgeziv koli – zardoblar K 88, K 99, 987 R. A20, I-41.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida: mahalliy shtamlardan qo'zilar, cho'chqa bolalari va buzoqlar kolibakterioziga qarshi konsentrlangan gidrooksidalyuminli vaktsina.

Buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalarining kolibakterioz va salmonellyoz kasalliklariga qarshi assosiasiyalangan gidrooksidalyuminli vaktsina.

Qishloq xo'jalik hayvonlarining pasterellyoz, salmonellyoz va kolibakterioziga qarshi polivalent radiovaktsina. Immunitet 6 – 12 oy davom etadi.

Qishloq xo'jalik hayvonlarining pasterellyoz, salmonellyoz va kolibakterioziga qarshi polivalent giperimmun qon zardobi ishlab chiqilgan.

Nazorat savollari:

1. Kolibakteriozga tekshirish uchun patmaterial olish va yuborish qoidasi.
2. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini ayting.
3. Serologik tipizasiya o'tkazishdan maqsad.
4. Differensial – diagnostik oziq muhitlarda *E.coli* ning o'sish xarakterini ayting.
5. Kolibakteriozda ishlatiladigan biopreparatlarni ayting.

22. Laboratoriya mashg'uloti № 7

Mavzu: Salmonellyozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish, laboratoriyaga yuborish qoidalari, uni tekshirish tartibi, salmonellyoz qo'zg'atuvchilarini ajratish va farqlash usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Probirkada GPA dan fiziologik eritma bilan yuvib olingan salmonella kulturasi suspenziyasi; steril oziq muhitlar – GPA, GPB, Endo, Ploskirev agari, vismut-sulfit agar, diagnostik agglyutina siyalovchi zardoblar. Har xil oziq muhitlarda o'stirilgan salmonella kultura lari, patmaterial. qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, bo'yoqlar to'p lami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi: patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasini tushuntiradi. Tekshirish usullarini aytib o'tadi. Qo'zg'atuvchining morfologik, kultural xususiyatlarini tushuntiradi. Ishlatiladigan biopreparatlar bilan tanishtiradi.

Talaba: patmateriallardan, kulturalardan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini yozib oladi. Salmonellalarning kultural xususiyatlarini – GPA, GPB, Endo, Ploskirev, vismut-sulfit agarda o'sgan kulturalarda o'rganib, yozib oladi. Patmaterialdan oziq muhitlarga ekadi. Monoreseptorli salmonellyozli "O" va "H" zardoblar bilan, tomchili AR ni predmet oynachalarida qo'yadi.

Salmonellyoz barcha turdagi yosh hayvonlarning septik shaklida namoyon bo'ladigan, o'tkir o'tuvchi yuqumli kasallik. Qo'zg'atuvchilari *Salmonella* avlodiga kiradi. Bakteriyalarni birinchi bo'lib Salmon (1885), o'rgangani uchun uning sharafiga nomi berilgan. Buzoqlar 3-4 haftadan 4 oyligacha bo'lgan yoshda kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi *S. enteritidis* (dublin) va *S. typhimurium* lar. Kasallik isitma va kuchli ich ketish bilan kechadi (katta yoshdagilari salmonella tashuvchi hisoblanib, kasallik klinik belgilarisiz o'tadi). Cho'chqalar 4 oyligacha yoshda kasallanadi, qo'zg'atuvchisi *S. choleraesuis*. *S. typhimurium*. Qo'ylar hamma yoshida kasallanadi, ona qo'ylarda salmonellyozli homila tashlash kuzatiladi. Qo'zg'atuvchisi *S. abortus ovis*. Toylar ko'pincha ona qornida zararlanadi, biyalar natijada homila tashlaydi. Ularda kasallikni *S. abortus equi* qo'zg'aydi. Parrandalar salmonellyozi jo'jalar hayotining birinchi kunlari va haftalarida yalpi kasallanish va o'limi bilan nomoyon bo'ladi. Tovuq homilasi va katta yoshdagi parrandalar ham kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi *S. pullorum* (*S. gallinarum*).

Patologik material. Yangi o'lgan hayvon jasadi yoki ilik suyagi, jigar bo'lakchasi o't haltasi bilan, buyrak, taloq, yurak, charvi limfa tugunlari, kasal hayvondan – tezagi; homila tashlagan hayvonlardan – tashlangan homila, plasentasi, ajratmalari yoki oshqozoni va parenhimatoz organlari.

1. **Mikroskopiya.** Pamateriallardan tayyorlangan tamg'ali surtmalar, ajratilgan qo'zg'atuvchi kulturasidan tayyorlangan surtmalar Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rinishi: salmonellalar grammanfiy, tayoqchasimon, 2-4 mkm kattalikdagi bakteriya. Spora va kapsula hosil qilmaydi, bittadan, ba'zan ikkitadan joylashadi. *S.pullorum* dan tashqari, barchasi harakatchan (peritrihlardir). Harakati ezilgan yoki osilgan tomchi usulida tekshiriladi.

2. **Bakteriologiya.** Potmateriallardan GPA, GPB va elektiv muhitlardan birortasiga – Endo, Ploskirev, Levin, vismut-sulfit agarga ekiladi. Muhitning pH 7,2 – 7,4. Ekmalar 37-38°C da bir sutka davomida termostadda o'stiriladi. GPBda qo'zg'atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq, rangsiz, tiniq yoki kulrang-ko'kish, chetlari tekis (*S* shakl), ba'zan kengish (*R* shakl) koloniyalar paydo bo'ladi (rasm 103). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko'kish koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (rasm 107). Harakatchanligi yarimsuyuq 0,2 – 0,3%li GPAGA kulturani ekib aniqlanadi. *S.pullorum* (*S.gallinarum*) tik ekish yo'lida sterjn kabi o'sib, muhit yuzida parda hosil qiladi (rasm 104, o'rtadagi probirka). Harakatchan kultura esa muhitning butun qalinligi bo'yicha o'sadi va u ham muhit yuzida parda hosil qiladi. Fermentativ xususiyatlari. Salmonellalar glyukoza, mannitni parchalaydi, laktoza, saharozani parchalamaydi, jelatinani eritmaydi, sutnu ivitmaydi, metilen ko'kili sutni rangsizlamaydi, indol hosil qilmaydi, ko'pchiligi vodorod sulfit hosil qiladi (rasm 105 *S.typhimurium* kulturasining rangli qatorda o'sishi). Metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy natija beradi.

Serologik tipizasiya uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasini avval polivalent salmonellyozli agglyutinasialovchi “O” – zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (rasm 106). Ijobiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga kiruvchi alohida monoreseptorli “O” – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin aynan o'sha kulturalar monoreseptorli “H” zardob bilan (I va II fazalari raqam va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tashqari immunofluoresent diaqnoz qo'yish usulini qo'llash mumkin.

Antigen tuzilishi bo'yicha *S.typhimurium*, *S.abortus equi* “B” guruhga; *S.enteritidis*, *S.pullorum* (*S.gallinarum*) “D” guruhga; *S.choleraesuis* “C” guruhga kiradi.

3. **Biosinov**, zarur hollarda qo'yiladi. 15-18 g massali oq sichqonlar terisi ostiga kultura suspenziyasi (50-100 mln mikroob tanachalari 1 ml) 0,2-0,3 ml yuboriladi. Ijobiy natijada 3-10 kunda sichqonlar o'ladi.

Biopreparatlar. Buzoqlar salmonellyoziga qarshi konsentrlangan formolachchiqtoqli vaktsina.

Cho'chqa bolalari salmonellyoziga qarshi vaktsina – 50% *S.choleraesuis*, 25% *S.typhimurium*, 25% *S. dublin* shtammlaridan tayyorlangan.

Cho'chqalar salmonellyoziga qarshi quruq tirik vaktsina *S.choleraesuis* ning TS-177 Shtammdan tayyorlangan.

Buzoqlar salmonellyoziga qarshi vaktsina *S. dublin* №6 shtammdan tayyorlangan.

Qo'ylar salmonellyoziga qarshi polivalentli formolmiersalli vaktsina.

Suvda suzuvchi parrandalar salmonellyoziga qarshi quruq tirik vaktsina.

Buzoq, cho'chqa bolalari, qo'zi va parrandalarning salmonellyoziga qarshi polivalent antitoksikli zardob. *S. Dublin*, *S.typhimurium*, *S. abortus ovis* *S. choleraesuis* shtammlaridan iborat antigen bilan immunlangan hayvonlarning qonidan olinadi.

Buzoqlar salmonellyoziga va kolibakterioziga qarshi bakteriofag hamda parranda pulloroziga qarshi bakteriofaglar. Salmonellyoz va kolibakterioz bilan kasallanib, sog'aygan hayvonlardan ajratib olingan faglardan tayyorlanadi.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy shtamlardan buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalarining kolibakterioz va salmonellyozlariga qarshi assosiasiyalangan gidrooksidalyumli vaktsina va immun zardob yaratilgan.

Serologik tekshirish uchun salmonellyoz antigeni – inaktivlangan salmonellalardan iborat gomogen suspenziya (miqdori 10^9 /ml), probirkali AR uchun.

Pullorozli eritrisitar antigen.

Parranda pullorozini tekshirish uchun rangli antigen. Formalin bilan o'ldirib, kristallviolet bilan bo'yalgan salmonellalarning gomogen suspenziyasi. Qon tomchili agglutinasiya reaksiyasida parrandalar tirik vaqtida salmonellyozga tekshirish uchun ishlatiladi.

Fluoressensiyalovchi salmonellyozli O- zardoblar.

Salmonellyozli O- kompleksli hamda monoreseptorli O- va H- agglutina siyalovchi zardoblar to'plami. Hayvonlar, hayvonlar mahsulotlari va tashqi muhit ob'yektlaridan ajratiladigan 33 ta salmonella guruhini buyum oynasida AR usulida ekspress tekshirish uchun qo'llaniladi.

Nazorat savollari:

1. Salmonellyozda patmaterial olish va laboratoriyaga yo'llash.
2. Salmonellalarning xususiyatlari.
3. Salmonellalarning differensial – diagnostik muhitlarda o'sishi.
4. Salmonellalarning serologik tipizatsiyasi.
5. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini aytib.

23. Laboratoriya mashg'uloti № 8

Mavzu: Kuydirgini laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: kuydirgiga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Patmaterialni mikroskopik, serologik (PR) usullarda tekshirishni o'zlashtirish. Qo'zg'atuvchini saprofit basillalardan farqlash.

Material va jihozlar: kuydirgi qo'zg'atuvchisining vaksinali shtammi bilan zararlantirilgan oq sichqon jasadi, yorish uchun steril asboblari; qo'zg'atuvchining GPA, GPB, GPJ da o'sgan kulturalari; steril Paster pipetkalari, probirkalarda steril GPA, GPB, GPJ, Ulengut probirkalari shtativi bilan, preseptasiyalovchi kuydirgi zardobi, normal zardob, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, standart kuydirgi antigeni, fiziologik eritma, voronka, asbestli paxta, biopreparatlar, mavzuga oid jadvallar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: 1) O'lgan sichqonni yorib, yuragi, jigari va talog'idan GPA, GPB, GPJ ga ekib, termostatga qo'yish. Organlardan tamg'ali surtmalar tayyorlab Gram va Mixin usullarida bo'yash. Mikroskopda ko'rib, daftarga chizib olish. Patmaterialdan issiq usulda ekstrakt tayyorlab, halqali PR ni qo'yish. Kuydirgi qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini va uni saprofit basillalardan farqlash usullarini o'rganish.

Kuydirgi – qo'zg'atuvchisi *Bacillus anthracis* (*Bacillus* avlodiga mansub). 1857 yilda Brauel ajratgan va o'rgangan. U ko'pchilik qishloq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar, shuningdek odamlarda intoksikasiya, isitma, septisemiya, karbunkulalar paydo bo'lishi bilan namoyon bo'ladigan, o'tkir yuqumli kasallik. Cho'chqalarda tamoq limfa tugunlari zararlanaadi – angionoz shakli. Kuydirgiga gumon qilinganda jasadni yorish man etiladi.

Patologik material. Jasadning yotgan tarafidagi (pastdagi) qulog'i asosi ikki tomonidan orasi 1 sm bog'lanadi, o'rtasidan kesib, kesilgan tomonlari qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. Kesilgan quloqni 3% bor kislotasi shimdirilgan dokaga o'rab, sellofanga solinadi, ustidan pergament qog'oz bilan yana o'rab, germetik yopiq idishga (karobka, metal yashik) solinadi. Qon olish uchun joyi dezinfeksiyalanadi, qon olinib, joy olovda yoki qizdirilgan shpatelda kuydiriladi. Cho'chqalardan – tamoq limfa tugunlari va shishgan biriktiruvchi to'qima bo'lakchalari olinadi. Agar yorish vaqtida kuydirgiga gumon qilinsa, yorishni to'xtatib, taloqning bir qismi tekshirishga olinadi.

Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 96. *E. coli* kulturasi - grammanfiy kalta tayyoqchalar.



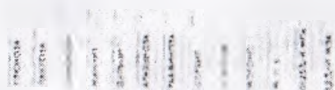
Rasm 97. *E. coli* kulturasi GPA da.



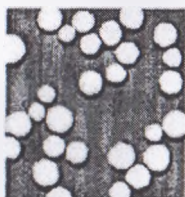
Rasm 98. *E. coli* ezilgan xivchilari bilan. Elektronogramma.



Rasm 99. *E. coli* kulturasi (chapda) va *salmonella* (o'ngda) Endo muhitida.



Rasm 100. *E. coli* kulturasi "Rangli qatorda".



Rasm 101. *E. coli* koloniyalari qonli agarda: chapda-gemolitik xususiyatli, o'ngda-gemolitik xususiyati yo'q.



Rasm 102. Shvartsman fenomeni.

Salmonellyozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 103. *Salmonella* koloniyalari. a) S-shaklda; b) R-shaklda.



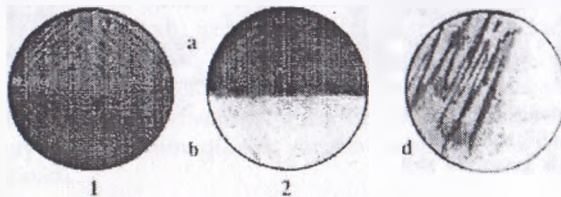
Rasm 104. *Salmonella* kulturasi yarim suyuq GPA da o'sishi.



Rasm 105. *S. typhimurium* kulturasi rangli qatorda o'sishi.



Rasm 106. AR-plastinkada: a-mantli; b-iibiy.



Rasm 107. *E. coli* (a) va *S. typhi* (b) 1-lacmus-laktozali agarda; 2-Endoda; *S. typhi* koloniyalari vismat sulfit (d) agarda.

Kuydirgini laboratoriya diagnostikasi



Rasm 108. *Bac. anthracis* qondan tayyorlangan surtmada. Lyoffler usulida bo'yalgan (kapsula-pushdi, basilla-ko'k rangda).



Rasm 109. *Bac. anthracis* a-kapsulali mikroob b-sporalan.



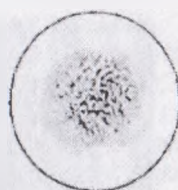
Rasm 110. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi



Rasm 111. *Bac. anthracis* RO-shakl koloniyasi.



Rasm 112. *Bac. anthracis* O-shakl koloniyasi.



Rasm 113. *Bac. anthracis* S-shakl koloniyasi.



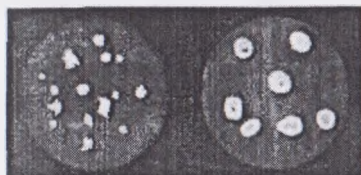
Rasm 114. *Bac. anthracis* a-GPB. b-GPB da o'sishi.



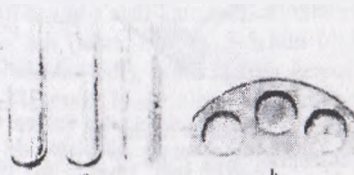
Rasm 115. *Bac. anthracis* GPB dan tayyorlangan surtmada.



Rasm 116. "Marion" testi.

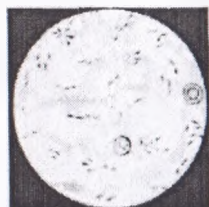


Rasm 117. *Bac. anthracis* (chapda) va *Bac. anthracoides* (a'ngda) qonli agarda o'sishi.

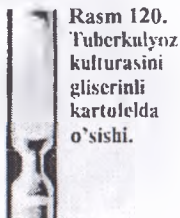


Rasm 118. Bakteriofag: a-ogir tonchi; b-Petri kosachasub.

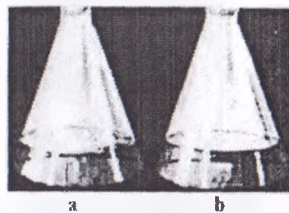
Tuberkulyozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 119. Tuberkulyoz qo'zg'atuvchisi (Sil-Nilsen usulida bo'yalgan).



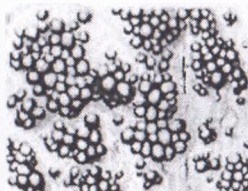
Rasm 120. Tuberkulyoz kulturasi ni gliserinli kartufelda o'sishi.



Rasm 121. Tuberkulyoz kulturasi ni gliserinli GPB da o'sishi a-*humanus*, b-*bovinus* tipi.



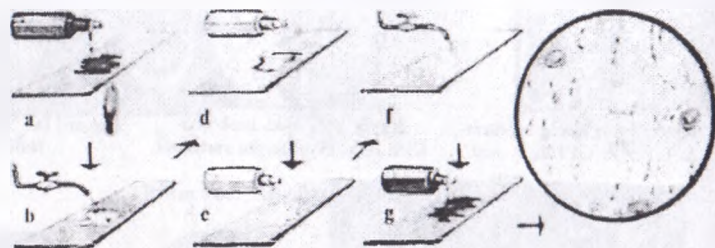
Rasm 122. Tuberkulyoz kulturasi ni Petranyani muhitida o'sishi: chapdan-*bovinus*, *humanus*, *avium* tiplari.



Rasm 123. Marjon (plevra tuberkulyozida hosil bo'lgan tuberkulalar).



Rasm 124. Ohaklashgan lobulyar kazeoz.



Rasm 125. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

a-sil fuksini bilan bug' paydo bo'lgunicha olov ustida qizdirib bo'yaladi;
 b-bo'yoq suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi;
 c-avval spirt, keyin f- suv bilan yuviladi va g - metilen ko'ki bilan bo'yaladi.
 Tuberkulyoz tayoqchalar: qizil. boshqasi ko'k rangda bo'yaladi

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovskiy Gimza usullarida bo'yaladi. Maxsus crituna 180 ml 96^o etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiriladi. Qo'zg'atuvchi harakatsiz, grammusbat, tayoqchalar, qisqa zanjirchalar ko'rinishida, yoki juft-juft, bittadan joylashadi (rasm 108, 109). Tayoqchani bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan bo'ladi. Ko'pincha cho'chqalardan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchining shakli o'zgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yo'g'on, egilgan yoki donachali bo'lib, o'rtasi yoki ikki cheti shishgan bo'ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturadan tayyorlangan surtmalarda *B anthracis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (rasm 115). Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani ta'kidlanadi.

2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan GPB, GPA larga (pH 7,2-7,6) ekib, 37 °C da termostatda 18-24 soat o'stiriladi, mikrobo'smagan bo'lsa yana ikki sutca termostatda turadi. *B.anthraxis* - aerob. GPA da silliq (rasm 113), sal xira, kulrang, kengish (*R, RO, O* -shakl) koloniyalar hosil qiladi (rasm 110, 111, 112). Koloniyalarning markazi qorong'ilashgan, chetlari buyra-buyra, jingalak sochdek bo'ladi. Koloniyalar mikroskopda ko'rganda "meduza kallasi" yoki "sher yoli" shaklida ko'rinadi.

GPB tiniq (shaffof) holda qolib, tubida yumshoq paxtasimon cho'kma hosil bo'ladi (rasm 114 a). Probirkani qoqib ko'rganda cho'kma mayda bo'lakchalarga bo'linadi yoki bulut kabi ko'tariladi. Ba'zan kultura diffuz holda o'sib (yengil loyqalanish), qoqqanimizda muar to'lqinlarini paydo qiladi.

Gumonli hollarda kuydirgi qo'zg'atuvchisini saprofit basillalardan farqlash maqsadida uning harakatchanligi, gemolitik xususiyatlari aniqlanadi, lyuminissentli mikroskopiya, fagotiplash, "Marjon" testi o'tkazilib, laboratoriya hayvonlari zararlantiriladi. Kuydirgi qo'zg'atuvchisi - harakatsiz. GPJ da yuzaga yaqin joyda kislorod etarli bo'lib, yoniga shoxlanib ko'proq o'sadi. Chyqyrlashgani sayin o'sish kamayib, shoxlanish qisqaradi, to'ng'irilgan archa shaklida bo'ladi (rasm 114 b). 3-5 kun o'tib, jelatina eriydi va voronkasimon shakl paydo bo'ladi), qonli agarda gemoliz hosil qilmaydi (rasm 117), organizmda kapsula hosil qiladi, penisillinga sezuvchan - "Marjon" testi ijobiy (rasm 116). 1 ml muhit tarkibida 0,5; 0,05 TB penisillin bor GPA ga kultura ekiladi, 37-38 °C da 3 soat termostatda o'stiriladi, qo'zg'atuvchi hujayrasi marjon shakliga kiradi. Lyuminissentli mikroskopiya "OKVC" fluoressent kuydirgi zardobi yordamida o'tkaziladi.

Bevosita yoki bilvosita fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llaniladi. Ijobiy natijada hujayra konturi to'rt yoki uch plusga nurlanish beradi.

Fagotiplash: oqayotgan tomchi usuli ("Gamma - MVA" yoki "K" VIEV) kuydirgi bakteriofaglari bilan probirkalarda yoki mikrousulda bajariladi. 6 ta probirkadagi qiya GPA ga bir xilda tarqatib tekshirilayotgan kultura ekiladi 15 daqiqa 37 °C termostatga qo'yiladi. Keyin 4 ta probirkaga bir tomchidan fag agarining chetlaridan 8-10 mm qoldirib tomdirilib, shtativga qo'yiladi. 37 °C da 6-8 soatdan keyin fagolizis paydo bo'ladi, 12-18 soatdan keyin yanada ko'proq namoyon bo'ladi – ya'ni tomchining oqish yo'llarida kultura o'smaydi, uning atrofida kultura odatdagidek o'sib, "bordyr" shaklini beradi (rasm 118).

Unda boshqa tur mikroorganizm bo'lsa kultura muhit sirtida bir xilda o'sadi va "bordyr" shakli hosil bo'lmaydi.

3. **Biosinov** patmaterial keltirilgan kuni qo'yilishi shart. Laboratoriya hayvonlaridan oq sichqon, dengiz cho'chqasi va quyonlarda qo'yiladi. 2 ta oq sichqonga 0,1-0,2 ml dum asosi, yoki dengiz cho'chqalariga 0,5-1 ml qorin qismi terisi ostiga, quyonlarga 6,3 ml dozada patmaterial suspenziyasi yuboriladi. Hayvonlar 10 kun kuzatiladi. O'lgan hayvon yorib ko'riladi, to'liq bakteriologik tekshiriladi.

Serologik tekshirish (PR)

Quloq qonsizlantirib olingan bo'lsa, qo'shimcha PR ham qo'yiladi. Patmaterial aynigan bo'lib, bakteriologik tekshirishga yaramasa, faqatgina PRni qo'yish bilan chegaralanadi.

Teri – mo'ynali xom ashyolarni kuydirgiga tekshirishda presipitatsiya reaksiyasi muhim ahamiyatga ega. Materialdan nanunalar germetik yopiq idishda tekshirish uchun laboratoriyaga yo'llanadi.

Yakuniy diagnoz qo'yiladi:

- patmaterialdan kuydirgi qo'zg'atuvchisi ajratilsa, zararlangan hayvonning hech bo'lmasa bittasi o'lib, undan kultura ajratilsa .

- patmaterial ekilgan oziq muhitlarda kultura o'sib chiqmasa, lekin shu material bilan biosinov qo'yilgan hayvonlarning hatto bittasi o'lib, uning organlaridan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilsa.

- Iyuminissent mikroskopiya musbat natija bersa va patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda kapsulali basillalar topilsa.

- aynigan (eski) materialdan, PR natijasi ijobiy bo'lganda .

Biopreparatlar. STI tirik vaksina - etalon shtammdan tayyorlangan. Agarda o'stirilgan kulturaning sporalaridan (95 - 100%) ibopat. Steril 30% li gliserin eritmasidagi suspenziya ko'rinishida bo'lib, 1 ml da (2,5-3,5)10⁷ tirik sporalari mavjud.

GNKI vaksinasi – GNKI etalon shtammidan tayyorlangan quruq, tirik vakcina. 1 ml da 5×10^7 tirik sporalari bor.

Stamm 55 dan tayyorlangan kuydirgiga qarshi vakcina.

Yirik shoxli hayvonlarning kuydirgi va qorason kasalliklariga qarshi assosiasiyalangan tirik, suyuq vakcina.

Davolovchi - profilaktik zardoblar. Inaktivlangan kuydirgi kulturasi bilan otlarni giperimmunlab olinadi.

Kuydirgining presipitatsiyalovchi zardobi. Materialni PR usulida tekshirishda ishlatiladi. Otlarni giperimmunlab olinadi.

Kuydirgini standart antigeni presipitatsiya reaksiyasi uchun. Presipitatsiyalovchi zardobning faolligini nazorat qilishda ishlatiladi. *B.anthraxis*ni inaktivlangan bakteriyalaridan olingan ekstrakt ko'rinishida bo'ladi.

Lyuminissensiyalovchi kuydirgi zardobi Presipitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

Kuydirgining diagnostik bakteriofaglari. Bakteriofag bilan zararlangan qo'zgatuvchining bulonli kulturasi filtrati. Bakteriofag titri 10.

Nazorat savollari:

1. Kuydirgida patmaterial olish qoidalarini tushuntiring.
2. Kuydirgini laboratoriyada tekshirish usullari.
3. *B.anthraxis* ning xususiyatlarini ayting.
4. Kuydirgi qo'zg'atuchisini "Marjon" testi, bakteriofag yordamida qiyoslash.
5. Kuydirgiga yakuniy diagnoz nimaga asoslanib qo'yiladi.

24. Laboratoriya mashg'uloti № 9

Mavzu: Tuberkulyozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish uni joylash va laboratoriyaga yuborish qoidalari, bakteriologik tekshirish uchun patmaterialga ishlov berish (tayyorlash) usullarini o'zlashtirish. Keltirilgan patmaterialni tekshirish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkada o'ldirilgan mikobakteriya bilan birorta kislotaga chidamsiz bakteriyaning aralashmasi, steril gliserinli GPB, Petryanani muhiti, Sil-Nilsen usulida bo'yalgan tayyor mikobakteriya surtmalari, oziq muhitda o'stirilgan tayyor mikobakteriya kulturasini, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, predmet oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, biopreparatlar, jadvallar, plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni patmaterialni tekshirish tartibi bilan tanishtiradi, vazifa beradi.

1. Kulturalar aralashmasidan ikkitadan surtma tayyorlab bittasini Gram, ikkinchisini Sil-Nilsen usulida bo'yash. Mikroskopda ko'rib, natijasini daftarga yozish.

2. Tayyor bo'lgan surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish.

3. Biopreparatlar bilan tanishish.

Tuberkulyoz (sil) -- uy va yovvoyi hayvonlar, jumladan parrandalar va odamlarning surunkali yuqumli kasalligi bo'lib, har xil organ va to'qimalarda o'ziga xos tugunlar (tuberkulalar) hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi (rasm 123. 124). Qo'zg'atuvchisini 1882 yilda R.Kox ochgan. Hozirgi vaqtda 5 turdagi tuberkulyoz qo'zg'atuvchisi ma'lum.

1. Odamlarda - *Mycobacterium tuberculosis*

2. Qoramollarda - *Mycobacterium bovis*

3. Parrandalarda - *Mycobacterium avium*

4. Sichqonlarda - *Mycobacterium. microt (murium)*

5. Sovuqqonli hayvonlarda - *Mycobacterium poykilothormorum* .

Qishloq xo'jalik hayvonlari va odamlar patologiyasida *M.tuberculosis, M bovis, M. avium* turlari muhim ahamiyatga ega. Tuberkulyoz asosan yashirin kechadi.

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi

Patologik material: Kasal hayvonlardan - burundan oqqan ajratma balg'am, traxeya shilimshig'i. tezagi, siydik namunalarini olinadi. O'lganidan

zararlangan organ bo'lakchalari, bronxial, tamoq, yelin usti, kurak oldi limfa tugunlari olinadi. O'lgan parrandaning jasadi yuboriladi. Patmaterial olishda aseptika, shaxsiy profilaktika, texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilish shart. Patmaterial olingan zahoti laboratoriyaga yuboriladi. Buning imkoni bo'lmasa 30-40% gliserinda konservasiyalab yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

1. Mikroskopiya: Qo'zg'atuvchi kislota-spirit-ishqorlarga chidamli bakteriyalar guruhiga kiradi. Uning qobig'ida steorin kislotalari va mumsimon moddalar bor. Bu moddalar suv, bo'yoq, kislota va ishqorlarni suvdagi eritmalarini hujayraga o'tkazmaydi. Shuning uchun ham tuberkulyoz bakteriyalari bo'yoqni qiyin qabul qiladi. Maxsus, Sil-Nilsen usulida bo'yaladi:

1. Fiksasiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'ozni qo'yib, ustiga karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirit lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdiriladi va 5-7 daqiqa ko'prikchada turadi.

2. Filtr qog'ozni tashlab, ustiga sulfat kislotasining 3-5 % li critmasi quyiladi 5-7 soniya.

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

4. Qo'shimcha Leffler metilen ko'ki bilan 4-5 daqiqa bo'yaladi.

5. Surtmani suv bilan yuvib, filtr qog'ozida quritiladi.

Mikroskopda kislotaga chidamli bakteriyalar – qizil (rasm 119); chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (diagnostika infeksiyonix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. M., Kolos, 1968, s. 101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug' paydo bo'lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislota bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirit (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (rasm 125).

Gram usulida bo'yalgan surtmada grammusbat, tayoqcha shakldagi, uzunligi 1,5-5mkm, diametri 0,5mkm bakteriyalar ko'rinadi. *M. tuberculosis* -ingichka, yengil egilgan, *M. bovis* -kalta, yo'g'on; *M. avium*-boshqalariga nisbatan mayda, polimorf tayoqcha. Surtmada bittadan, to'p-to'p bo'lib joylashadi. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi. Kulturadan tayyorlangan surtmada ipsimon uzun shakli ham uchraydi.

2. Bakteriologiya: Avval Gon yoki Alikayev usullaridan birida patmaterialga ishlov beriladi.

Gon usuli: Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan aralastiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqiqasiga 3000 aylanma tezlikda 10-15daqiqa sentrafuga qilinadi. Ekspozisiya (kislotaning ta'siri) 20-30 daqiqadan oshmasligi kerak.

Cho'k madan surtmalar tayyorlanadi, oziqa muhitga ekiladi. Biosinov uchun cho'kma 1-2 marta steril fiziologik eritma bilan yuviladi.

Alikayev usuli: Ko'pincha patmaterial yangi, kam ifloslangan bo'lganda qo'llaniladi. Patmaterial steril hovonchada 0,5sm³ kattalikda maydalanib, ustiga 10-8-6%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10-20 daqiqa turadi. Kislotaning ekspozitsiya vaqti va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10-20 daqiqadan keyin kislota to'kib tashlanib, o'rniga fiziologik eritma quyiladi va 8 daqiqa turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial hovonchada yaxshilab eziladi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5-6 probirka oziq muhitga ekiladi.

Ishlov berilgan patmaterial - elektiv: tuxum-kraxmalli, kartoshkali-gliserin-bulonli (rasm 120) - begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhitlarga ekiladi. Ko'pincha Petranyani (rasm 122), Levenshteyn-Yensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Gliserinli GPB va GPA lar ham ishlatiladi (rasm 121).

Tuberkulyoz qo'zg'atuvchisi - aerob, sekin o'sadi (2-4 hafta va undan ko'proq). Gliserinli bul'onda uzoq vaqt davomida (6-8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulyozni aniqlashda foydalaniladi. Suyuq muhitda qo'zg'atuvchi 10-30 kundan keyin o'sib parda hosil qiladi.

M.tuberculosis-qalin parda, *M.bovis*- to'rsimon o'simtali parda, *M.avium*- esa 7-10 chi kuni yupqa, nozik, oqishroq 21 chi kuni kuchli ajinlashgan avval quruq, keyin shilimshiq parda hosil qiladi. Zich oziqa muhitlarida boshida zo'rg'a ko'rinadigan mikrokoloniyalar paydo bo'ladi, keyin ular kattalashib boradi. Oziqa muhit yuzasidan mayda yoki katta, yaltiroq yoki xiraroq, silliq yoki kengish 1-2 koloniyalar, yoki koloniyalar birlashib ketib, yuzasi bilan bitta oqish qatlam hosil qiladi. Bakteriologik tekshirish muddati- 2 oy. Ekmalarni har 4-5 kunda ko'rib natija yozib boriladi.

3. Biosinov. Dengiz cho'chqasi chotining terisi ostiga 1ml, quyonlar quloq venasiga 2ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1-2ml suspenziya yuboriladi. Kuzatish muddati 3 oy.

Biosinovga olingan hayvonlar oldindan tuberkulyozga tuberkulin bilan allergik usulda tekshirilishi kerak. Manfiy natija berganlarigina biosinov uchun ishlatiladi. O'lgan hayvon patanatomya yorib ko'riladi, tuberkulalardan xarakterli surtmalar tayyorlanadi, oziqa muhitga ekiladi.

Qo'zg'atuvchilarni farqlash (tipizasiya).

M.bovis - kulturali dengiz cho'chqalari va quyonda generalizasiyalangan tuberkulyoz jarayonini paydo qiladi.

M.tuberculosis - dengiz cho'chqalarida generalizasiyalangan, quyonlarda esa-o'pkasida mahalliy jarayonni paydo qiladi.

M. avium-quyonlarda septik jarayon paydo qiladi, u o'ladi. Ba'zida mahalliy jarayon paydo qiladi. Dengiz cho'chqalarida faqat mahalliy jarayon (kultura yuborilgan joyda abscess) paydo qiladi.

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3ta test o'tkaziladi: 1.katalazali aktivlik-50% pergidrol eritmasi bilan gaz pufakchalari hosil bo'lishi mm da o'lchanib aniqlanadi. Saprofitlarda bu hususiyat yuqoriroq bo'ladi. 2.Formamidaza aktivligi-formamid eritmasi va bir nechta kimyoviy moddalar bilan ishlov berilgan kulturali probirkada ko'k halqa paydo bo'ladi. Bu hol faqat saprofitlardagina namoyon bo'ladi. 3.Dorilarga sezgirligi-tuberkulostat preparatlar (streptomisin, ftivazid, PASK va h.k) qo'shilgan oziq muhitda o'rganiladi.

M. tuberculosis va *M. bovis* lar ularga sezgir, saprofitlar va *M. avium* esa chidamlidir.

Biopreparatlar. BSG vaksinasi - *M. Bovis* vakcina shtammini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sut emizuvchilar uchun.

Altuberkulin, sut emizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

Nazorat savollari:

- 1.Tuberkulyozga tekshirish uchun patmaterial olish?
2. Tuberkulyozga tekshirish uchun patmaterialga qanday usullarda ishlov beriladi?
- 3.Mikobakteriyalarining morfologik-tinktorial xususiyatlari?
4. Mikobakteriyalar qanday oziq muhitlarda o'sadi?
5. Mikobakteriyalarni farqlash (tipzasiya) ni aytib bering?

25. Laboratoriya mashg'uloti № 10

Mavzu: Brusellyozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasini o'rganish. Patmaterialni brusellyozga bakteriologik, serologik usullarda tekshirishni o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Kozlovskiy, Gram usulida ishlatiladigan bo'yoqlar, Rozbengal-namuna uchun-brusellyoz antigeni, sut halqali AR-uchun brusellyoz antigeni. qoramol qon zardobi-probirkalarda ijobiy, normal, sinovli. Yangi sog'ilgan sut (probirkada). pipetkalar 1, 0,1ml hajmli, reaksiya (RBN) uchun plastinalar, probirkalarda-brusella kulturasi suspenziyasi, aralash kulturalar: tablisalar, biopreparatlar, tayyor Gram, Kozlovskiy usullarida bo'yalgan surtmalar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntirib, ishlash vaqtida texnika xavfsizligi va shaxsiy profilaktika qoidalariga rioya qilish kerakligini ta'kidlaydi. Talabalar probirkadagi suspenziyadan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usulida bo'yaydi, mikroskopda ko'rib, daftariga chizib oladi. Sut halqali AR, plastinkali Roz-bengal namuna-ARni qo'yadi.

Brusellyoz - hayvon va odamlarda surunkali kechadigan yuqumli kasallik. Kasallik odatda klinik belgisiz kechadi, ba'zan-homila tashlash, bursit, orxit, epidedimit, endometrit kabi klinik belgilar namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisini birinchi bo'lib 1886 yilda Bryus ochgan, o'rgangan.

Qo'zg'atuvchisi -*Brusella* avlodiga mansub bo'lib, 6 ta turdan iborat: *melitenzis* (qo'y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (cho'chqalarda), *ovis* (qo'chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotoma* (kalamushlarda). *Brusella ovis* qo'chqorlarda yuqumli epidedimit kasalini chaqiradi.

Patologik material. *Kasal hayvondan*-tashlangan homila, homila pardasi bilan yoki ikki tomoni bog'langan homila oshqozoni, jigar va taloq bo'lakchalari (rasm 126); gigroma moddasi, sut - (yelinni yuvib, 70° spirtida dezinfeksiyalab, keyin har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga oxirgi porsiyalardan 10-15ml olinadi). Qo'y va echkidan esa, sut yelindan shpris ignasi bilan steril holda olinadi. Sut, namuna olingan kuni tekshirilishi kerak. Imkoni bo'lmasa borat kislotasi bilan 10ml sutga 0,1gr miqdorda konservasiyalanadi.

Qo'chqorlardan (so'yilganda) urug'don haltasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial bo'lak selofan, pergament qog'ozlarga alohida o'ralib, suv o'tkazmaydigan idishga (polietilen paket, yashik, banka) joylanadi. Homila tashlagan hayvonlar qonini albatta tekshirish shart (homila tashlagandan bir hafta keyin). Patmaterialni laboratoriyaga yo'llanma bilan mutahasis olib keladi.

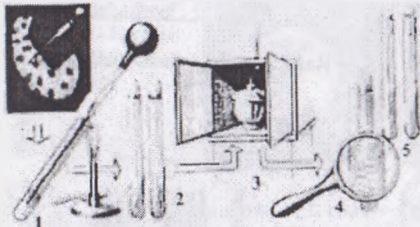
Brusellyozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 126. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



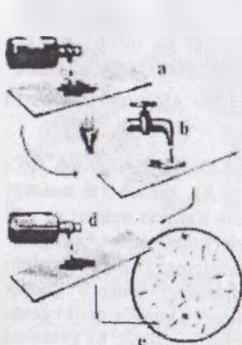
Rasm 127. a-brusellyoz kulturasi o'zlashtirish uchun eksikator. b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikator. d-KIPP apparati yordamida uglekislota hosil qilish



Rasm 128. Ekish, o'zlashtirish va brusella kulturasi ko'rish sxemasi.



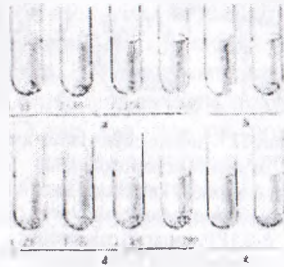
Rasm 129. Brusella koloniyasi: a-jigarli agarda: b-kristall violet buyog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (begona mikroflora o'smagan).



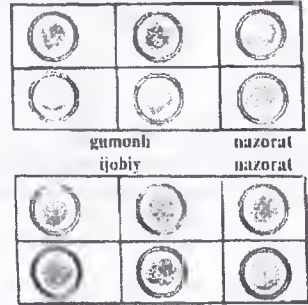
Rasm 130. Brusellalarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtma 2% li safraninning suvdagi eritmasi bilan bug' hosil bo'lgunicha qizdirib bo'yaladi (a), bo'yq suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li metilen ko'ki yoki malaxit yashil bilan bo'yaladi (d). Brusellalar qizil, boshqa mikroblar

ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (c).

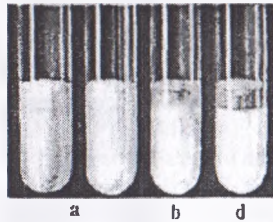
Brusellyozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



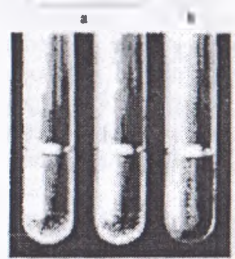
Rasm 131. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brusellyoz, qoramol).
a-gumonli AR 1:50; b-nazorat;
d-ijobiy AR 1:100-1:200;
c-nazorat.



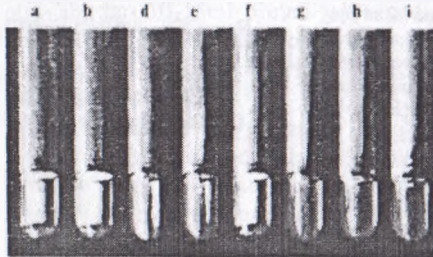
Rasm 132. Plastinkali ARni baholash.



Rasm 133. Sut halqali reaksiya:
a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.



Rasm 134. AR urug' plazmasi bilan:
a-ijobiy; b-manfiy.

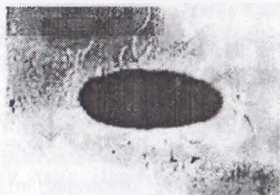


Rasm 135. KBR. Zardob 1:5 va 1:10 (a,b), zardob 1:5 nazorat (d), umumiy nazorat uchun: e) normal zardob+komplement+antigen+gemsistema; f) ijobiy zardob+komplement+antigen+gemsistema; g) antigen+komplement+gemsistema+fiziologik eritma; h) gemsistema+fiziologik eritma; i) ijobiy zardob+komplement+fiziologik eritma.

Qorasonni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 136. *Cl. chauvoei* Kitt-Tarossi muhitidan tayyorlangan surtmada.



Rasm 137. *Cl. chauvoei* xifchinli tayoqcha. Elektronogramma x20000.



Rasm 138. *Cl. chauvoei* qandli agarda o'sishi va koloniyalari (Grossberg bo'yicha).



Rasm 139. *Cl. chauvoei* Kitt-Tarossi muhitida o'sishi.



a



b



d

Rasm 140. *Cl. chauvoei* qandli qonli agarda: a-silhq yumaloq koloniva gemolizi bilan; b-uzunt barqi shaklida; d-xoshivali koloniyalar.



a



b

Rasm 141. Biosinoyda o'lgan dengiz cho'chqasi (24 soatda): a-teri osti kletchatkasi serozli gemorragik yallig'langan; mushaklari qora gan; b-ichaklarda atoniya, gaz xo'q, jigar qonga to'lgan.



Rasm 142. Biosinov buzoqda. *Cl. chauvoei* kulturasi mushakka yuborib zararlangan.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usullarida bo'yaladi. Brusellalar-mayda, tayoqcha yoki kokksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6-1,5mkm, diametri 0,3-0,5mkm, Grammanfiy, harakatsiz, spora hosil qilmaydi, surtmada bittadan, ikkitadan yoki to'p-to'p bo'lib joylashadi. Kozlovskiy usulida bo'yalgan surtmalarda-brusellalar qizil, boshqa mikroblar yashil rangda bo'ladi (rasm 130).

2. Bakteriologiya. Brusellalar maxsus oziq muhitlarda o'sadi: go'sht-peptonli jigarli bulon (GPJB), jigar-glyukoza-gliserinli agar (JGGA) va bulon (JGGB), eritrit-agar, zardobi-dekstrozali agar va h.k. Patmaterialdan bir probirka bulon, ikki probirka agarga, oshqozondan ikki probirka bulon, beshta probirka agarga ekiladi.

Qo'chqor patmaterialidan ekilgan oziq muhitlar 10-15% karbonat angidridli, atmosferada o'stiriladi.

Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari esa yarmi 10-15% karbonat angidridli, qolganlari odatdagi atmosferada o'stiriladi (rasm 127, 128).

Ekmalari 30 kun termostatda 37-38°C o'stiriladi.

Zich oziq muhitda – mayda, tiniq, bo'rtgan, yumaloq, yaltiroq, yuzasi silliq (*S*-shakl) va ko'kish tovlanadigan (*R*-shakl ham uchraydi) koloniyalar hosil qiladi. Uzoq o'stirilganda koloniyalar xiralashib, pigment hosil bo'lishi bilan – qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

Suyuq oziq muhitda bir xil loyqalanish, ko'kish tovlanadigan halqa hosil qiladi, keyin kamroq cho'kma tushadi. Ko'proq ifloslangan materialni ekish uchun 1:800000 kristallvioletli muhitda yoki antibiotik qo'shilgan muhitga ekiladi (rasm 129 a, b). Ularda begona mikroflora o'smaydi, kristallvioletli muhitda brusellalar ko'kimtir, yaltiroq, silliq, yumaloq koloniyalar ko'rinishida o'sadi.

Brusella turlarini farqlashning bakteriostatik usuli. Brusellalarning oziq muhitga qo'shilgan bo'yoqqa munosabati inobatga olinadi. Go'sht peptonli jigarli agarga alohida probirkalarda fuksin (1:25000), tionin (1:50000-1:100000) aralashtiriladi.

Ularga brusellalarning sof kulturasi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhitda, *B. abortus* tioninli muhitda o'smaydi. *B. melitensis* ikkala bo'yoqlar qo'shilgan muhitda o'sadi.

3. Biosinov. Avval 350-400 grammligina dengiz cho'chqalari yuragidan qon olib, zardobi AR usulida brusellyozga tekshiriladi. 1:5 nisbatda manfiy natija olinsagina ularda biosinov qo'yish mumkin.

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho'chqalari sonining ichki tarafiga terisi ostiga yuboriladi. 15, 25, 40 – kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brusellyozga tekshiriladi. 1:10 va undan yuqori nisbatlarda musbat natija olinsa, keltirilgan patmaterialdan kultura ajratilmasa ham, tekshirish

natijasi ijobiy hisoblanadi. Biosinov ikki oy kuzatiladi. Ajratilgan barcha kulturalar ish yakunida avtoklavda 1,5 ATda 1soat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan(rasm 131, 132, 133, 134, 135) AR, KBR, UKBR, RBN, sut halqali AR qo'yiladi. AR 1 ml hajmda 4 ta nisbatda qo'yiladi. Qo'y, echki, ohu, itlar qon zardobi 1:25 dan 1:200 gacha (ijobiy natija 1:50 va undan yuqori titr). Y.sh.m. ot, tuyalarda 1:50 dan 1:400 gacha (1:100 va yuqori titr ijobiy). Dengiz cho'chqasi va mo'ynali hayvonlarda 1:10 dan 1:80 gacha (1:10 va yuqori titr ijobiy).

RBN. 0,3 ml zardob maxsus emalli plastinkalar o'yiqchalariga quyiladi. Ustiga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo'yalgan brusellyoz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, aralashiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar, fiziologik eritma bilan reaksiya qo'yiladi. Ijobiy natijada pushti rangda agglyutinat paydo bo'ladi. Ijobiy natija bergan zardoblar namunasi AR, KBR da qayta tekshiriladi.

Sut halqali reaksiya. Probirkaga 2-3 ml yangi sog'ilgan sut quyib, unga gemotoksilin bilan bo'yalgan antigendan 0,2 ml (2 tomchi) ustiga qo'shiladi. Probirkalar silkitib, yaxshi aralashiriladi, 37°C da 45-60 daqiqa suv hammomi yoki termostatda turadi. Ijobiy natijada - ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi (rasm 124).

Allergik tekshirish. Xo'jalikda allergenlar qo'llanadi brusellizat, brusellogidrolizat, brusellin. Hayvon terisi orasiga 0,2 ml dozada yuboriladi va 24-48 soatdan keyin natija hisobga olinadi.

Biopreparatlar. Brusellyozga qarshi shtamm 82 kulturasiidan tayyorlangan tirik, quruq vaksina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vaksina.

Shtamm 19 vaksina shtammidan tayyorlangan AR, KBR, UKBR lar uchun yagona brusellyoz antigeni.

Sut halqali reaksiya uchun gemotoksilin bilan bo'yalgan rangli antigen. *B.abortus* (shtamm 19) kulturasiidan tayyorlangan.

Fluoressensiyalovchi brusellyoz zardobi. Ijobiy brusellyoz zardobidan tayyorlangan.

Ijobiy brusellyoz zardobi, hayvonlarni giperimmunlab olinadi. Serologik reaksiyalarda nazorat uchun ishlatiladi.

Nazorat savollari:

- 1.Brusellyozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini ayting?
- 2.Brusellyozga laboratoriyada diagnoz qo'yish prinsiplari?
- 3.Brusellalarning kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari?
4. Brusellyozga qanday serologik usullarda tekshiriladi.
- 5.Brusellyozga biosinov qo'yish?

26. Laboratoriya mashg'uloti № 11

Mavzu: Qorasonni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va uni laboratoriyaga yo'llash qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Kitt-Tarossi oziq muhitida o'stirilgan *cl.chauvoei* kulturasi, patmaterial, steril muhitlar- probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glyukozali- qonli agar, steril Paster pipetkalari, oldindan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar, bo'yoqlar komplekti, biopreparatlar, tablisalar, plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patmaterialdan oziq muhitlarga ekish, ulardan surtmalar tayyorlab Gram va sporalarni maxsus usullarning birida (Peshkov) bo'yash. Mikroskopda ko'rib, daftarga chizib olish.

Qorason shohli hayvonlarga oid o'tkir o'tuvchi yuqumli kasallik bo'lib. tananing mushaklarga boy qismlarida qirsildoq tovush paydo qiluvchi tez kattalashadigan gazli shish hosil bo'lishi, isitmaning ko'tarilishi bilan namoyon bo'ladi. Qoramol 3 oylikdan 4 yoshgacha kasallanadi. Qo'y, echkilarda kasallik kam uchraydi. Hayvonlar asosan alimantar yo'l bilan zararlanadi.

Qo'zg'atuvchisi – *Clostridium chauvoei*, anaerob.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari (steril asboblari bilan chuqurroq kesilib, mushakning o'rtasi qismidan 3x3x3 sm o'lchamda zararlangan to'qima bo'lakchasi kesib olinadi), krepatasiya qiladigan shishning eksudati yuboriladi. Jasad yorilgan bo'lsa jigar, taloqdan bo'lakchalar, yurakdan qon olinadi. Patmaterial hayvon o'lgandan keyin 4 soatdan kechiktirmay olinadi.

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram, Peshkov usulida bo'yaladi. Mikroskopda bo'lak-bo'lak yoki ikkitadan joylashgan polimorf (urchuqsimon, sharsimon, noksimon) donachali grammusbat tayoqchalar ko'rinadi. Peshkov usulida bo'yalgan surtmada sporalar ko'k rangda ko'rinadi. U tayoqchani o'rtasida, chetlarida joylashishi, erkin holda bo'lishi ham mumkin. Kapsula hosil qilmaydi, harakatchan, uzunligi 2-8 mkm. eni 0,5-0,7 mkm, anaerob (rasm 136, 137).

2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga ekiladi. Buning uchun mushak, jigar, taloq bo'lakchalarini olovdan o'tkazib, keyin muhitli probirkaga solinadi. Qon. eksudatlar Paster pipetkasida ekiladi. Bir vaqtda Petri kosachalarida glyukoza – qonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo'lsa undan fiziologik eritmada birga to'rt nisbatda suspenziya tayyorlanib, 15-20 daqiqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmalar 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitda 24-48 soat turishi kerak.

Kitt-Tarossi muhitida - *Cl.chauvoei* – bulon bo'yicha bir hilda loyqalanish paydo bo'ladi. 36-48 soatda tinib, cho'kma hosil qiladi. Gaz kam hosil qiladi (rasm 139).

Seyssler agarida koloniyalar yaltiroq tugma yoki uzum bargi singari chetlari qirqilgandek o'sadi, koloniya atrofida uncha katta bo'lmagan gemoliz zonasi paydo bo'ladi (rasm 140). Qandli (glyukoza) tik agarda yasmiqsimon koloniyalar hosil qiladi (rasm 138).

Sutni ivitadi. Glyukoza, saxaroz, laktoza va maltozalarni intensiv kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi.

3. **Biosinov.** Patmaterialdan 1:10 nisbatda suspenziya tayyorlanadi. Suspenziya 0,5-1 ml dozada 350-450 g og'irlikdagi ikkita dengiz cho'chqasining qorin qismi terisi ostiga yuboriladi. Hayvonlar 8 sutka kuzatiladi. Material ijobiy bo'lsa zararlangan hayvonlar 24-96 soat davomida o'ladi. Jasadni yorib, bakteriologik tekshirish kerak. Terisida serozli – nekrozli ajratma, qon quyulishlar bo'ladi. Teri zararlangan mushakdan qiyin ajraladi. Ko'krak, qorin, orqa oyoq mushaklari qoramtir qizil rangda bo'ladi. Chot va qo'ltiq osti qisimlarida kamgina gaz pufakchalari yig'iladi (rasm 141, 142).

Quyidagi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

1. Patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilsa, hamda hyech bo'lmasa bitta biosinovdagi hayvon tipik belgilar bilan o'lib, undan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratib olinsa;

2. Keltirilgan patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilmasa ham, ikkita biosinovdagi hayvonning hatto bittasi tipik belgilar bilan o'lib, undan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratib olinsa.

Biopreparatlar. Emlash uchun konsentrlangan gidrookisfarmol vaktsina ishlatiladi. Immunitet 6 oy davom etadi. 3 oylikdan 4 yoshgacha bo'lgan qoramol, 6 oylikdan katta bo'lgan qo'ylar emlanadi.

Yirik shoxli hayvonlar va qo'ylar qorason kasalligiga qarshi gidrookisalyuminli inaktivlangan vaktsina. Immunitet 6 oy davom etadi.

Konsentrlangan gidrookisalyuminli tirik vaktsina. Immunitet 6 oy davom etadi. Ikkala vaktsinalarning dozasi 2 ml, mushaklar orasiga yuboriladi

Nazorat savollari:

1. Qorasonga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalari.
2. *Cl.chauvoei* ning morfologik, tinktorial xususiyatlari.
3. *Cl.chauvoei* ning kultural xususiyatlari.
4. Qorasonga biosinov qo'yish, undagi patanatomik o'zgarishlar.
5. Qaysi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi

27. Laboratoriya mashg'uloti № 12

Mavzu: Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Probirkalarda Kitt-Tarossi muhitida o'stirilgan *Cl. septicum*, *Cl. perfringens* kulturalari, patmaterial, steril oziq muhit - probirkalarda, Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glyukozali-qonli Seyssler agari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar to'plami, tablisalar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patmaterialdan oziq muhitlarga ekish, surtma tayyorlash. Gram va Peshkov usullarida bo'yab, mikroskopda ko'rish, natijani daftarga yozish.

Gazli gangrena – barcha turdagi hayvonlarga oid, tez tarqaluvchi, jarohatlanish yoki shikastlanish natijasida yallig'lanib, shishning rivojlanishi, to'qima nekrozi, organizm intoksikatsiyasi bilan namoyon bo'ladi. Gazli gangrena polinikrob etiologiyaga ega. Qo'zg'atuvchilari *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*, *Cl. perfringens*, *Cl. sordelii*, *Cl. histolyticum*, *Cl. chauvoei*, har qaysisi alohida kasallik chaqirishi mumkin, lekin ko'pincha birgalikda uchraydi.

Patmaterial. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima ekssudati, parenhimatoz organlar jo'natiladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda:

Cl. septicum – ingichka, uchlari qayrilgan, polimorf, uzunligi 2-10 mkm, eni 0,8-1 mkm tayoqcha, seroz qavatlardan tayyorlangan surtmada ipsimon shaklda bo'ladi. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari, uchlari yoki markazda joylashadi, harakatchan (rasm 143, 144, 145).

Cl. oedematiens – yirik, polimorf, uchlari qayrilgan, alohida, ba'zan 2-3-4 tadan iborat zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 5-15 mkm, eni 0,8-1,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi. Sporalari markazda yoki uchlarida joylashadi. Harakatchan (rasm 151, 152).

Cl. perfringens – yo'g'on, uchlari yengilgina egilgan, tayoqchalar, bittadan alohida joylashgan, uzunligi 4-8 mkm, eni 1-1,5 mkm. Ba'zan kokksimon bo'lishi mumkin. Grammusbat, kapsula hosil qiladi (hayvon organizmida), sporalari markazida yoki uchlarida joylashgan. Harakatsiz. (rasm 157).

Cl. histolyticum – ingichka uchlari qayrilgan tayoqchalar. Bittadan, ikkitadan, ba'zan zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 2-5 mkm, eni 0.2-0,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari mayda, markazda yoki uchlari joylashgan. Harakatchan.(rasm 163)

2. **Bakteriologiya.** Patmaterial Kitt-Tarossi, qonli glyukozali Seyssler agarlariga ekiladi. 24-48 soat 37-38 °C da termostatda anaerob sharoitda o'stiriladi.

Cl. septicum - Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish, ko'p gaz hosil qiladi, Seysler agarida nozik, rangsiz, harir ro'molsimon, chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan (rasm 146, 147).

Cl. oedematiens – Probirka pastida intensiv o'sadi, 18-24 soatdan keyin bulon tiniqlashib, cho'kma paydo bo'ladi. Kam gaz hosil qiladi. Seyssler agarida kengish, ildizsimon, qattamlı, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'ilashgan, kuchli gemoliz hosil qiladi (rasm 153, 154).

Cl. perfringens - Kitt-Tarossi muhiti ertaroq loyqalanadi, ko'p intensiv gaz hosil qiladi. Seyssler agarida yumaloq, silliq, bo'rtgan kulrang-yashil koloniyalar hosil qiladi, kuchli gemoliz (rasm 158, 159).

Cl. histolyticum - Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish, gaz hosil qilmaydi. Seyssler agarida mayda, yumaloq, silliq, chetlari tekis koloniyalar o'sadi, gemoliz bo'lmaydi (rasm 164, 165).

3. **Biosinov.** Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikkita 350-400 g vazndagi dengiz cho'chqasining qorin qismi terisi ostiga 0,5-1 ml dozada yuboriladi. 8 kun kuzatiladi.

Cl. septicum - dengiz cho'chqalari 14-28 soatda o'ladi. Teri mushaklaridan yengil ajraladi. Mushak, teri osti kletchatkasi och-qizil rangda, ko'p miqdorda gaz pufakchalari bor. Ichaklar shishgan, gazli suyuq massa bilan to'lgan.(rasm 148, 149, 150).

Cl. oedematiens - dengiz cho'chqasi 12-36 soatda o'ladi. In'yeksiya joyida jelatina sifatli, dirillagan shish sarg'ish-pushti rangda paydo bo'ladi. Mushaklar oqishroq.(rasm 155, 156)

Cl. perfringens - dengiz cho'chqalari 36-48 soatda o'ladi. "A" va "D" tiplarida – in'yeksiya joyida teri mushaklaridan xaltacha singari ajralib turadi, mushaklar qaynatilgan go'shtdek bo'ladi. Ichaklar shishgan, qon tomirlar bo'rtgan bo'ladi.

"B" va "C" tiplarida – in'yeksiya joyida teri yengil ajraladi, lekin ajralib tushmaydi. Mushaklar, quruq, qizil rangda. Ichaklar shishgan, gemorragik yallig'langan, ba'zan yaralar paydo bo'ladi.(rasm 160, 161, 162)

Cl. histolyticum - dengiz cho'chqalari 18-48 soatda o'ladi. Teri ostiga yuborganda ular ko'pincha sog'ayib ketadi. Son mushagiga zararlanganda teri qizil siyoh rang, taranglashgan bo'lib, ba'zan yoriladi (rasm 166). Mushaklar strukturasi yo'qotib, bo'tqasimon massaga aylanadi. Yumshoq

to'qimalar suyak va tomirlardan ajralib qoladi. Gaz bo'lmaydi. O'lgan biosinovdagi hayvonlar bakteriologik tekshiriladi.

Biopreparat. Immunitet hosil qilish uchun bradzot, infeksiyon enterotoksemiya, qo'ylarning yomon sifatli shishi va qo'zilarning dizenteriyasiga qarshi tayyorlangan polivalentli gidrooksialyuminli vaksina ishlatiladi. Immunitet 4-5 oy davom etadi.

Nazorat savollari:

1. Gazli gangrenada tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi.
2. Qo'zg'atuvchilarning morfologik xususiyatlari.
3. Qo'zg'atuvchilarning kultural xususiyatlari.
4. Gazli gangrenaga biosinov qo'yish.
5. Qo'zg'atuvchilarning biologik xususiyatlari (biosinovdagi patanatomik o'zgarishlari).

28. Laboratoriya mashg'uloti № 13

Mavzu: Qotmani laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikroob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari, jadval, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rishadi. Natijani daftarga yozishadi.

Qotma hayvon va odamlarning yuqumli, jarohatli kasalligi bo'lib, mikrobnin toksini ta'sirida kuchli qo'zg'alish, skelet mushaklarining reflektor tortilishi bilan namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisi *Cl. tetani*.

Patologik material laboratoriyaga tekshirish uchun jarohat sekreti, zararlangan joyning eng chuqur qatlamlaridan olingan to'qima bo'lakchalari yuboriladi. O'lgan hayvonlardan bundan tashqari (5-10 ml) qon, jigar va raloq bo'lakchasi olinadi.

Laboratoriya tekshirishlari ikki yo'nalishda olib boriladi: toksinni ajratish, qo'zg'atuvchi kulturasini ajratib, uning zaharlilikini aniqlash.

1. Mikroskopiya. *Cl. tetani* – ingichka, 4-0,6 mkm o'lchamli, bir uchida yumaloq sporasi bor (baraban tayoqchasi shaklida) tayoqcha. Grammusbat, harakatchan. (rasm 167, 171).

Toksinni ajratish.

Patmaterialdan birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlab, ikkiga bo'linadi. Biri qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi. Ikkinchisi toksinni ekstraksiya qilish uchun uy haroratida bir soat qoldiriladi. Keyin filtrlanadi.

2. Filtrat bilan 16-18 g vazndagi 2-3 ta oq sichqon orqa oyog'i terisi ostiga 0,5-1 ml dozada yoki ikkita 300-350 g vazndagi dengiz cho'chqasiga 3-5 ml dozada yuborib zararlantiriladi. Patmaterialda qotmaning toksini bo'lsa 48-96 soatdan keyin biosinovdagi hayvonlarda mushaklarning tetanik qisqarishi bilan xarakterlanadigan kasallik belgilari rivojlanadi. Hayvonlar xarakterli holatda – oyoqlari cho'zilgan, umurtqa pog'onasi material yuborilgan tomoniga qiyshaygan holda o'ladi (rasm 170).

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

Tekshirilayotgan materialda qotma toksini ajratilsa, kulturani ajratish uchun tekshirish o'tkazilmaydi.

Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish .

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikki probirka Kitt-Tarossi muhitiga ekiladi. Bittasi 80 °C da bir soat qizdiriladi. Ekmalar termostatda 37-38 °C da o'stiriladi.

Bu muhitda *Cl. tetani* – intensiv loyqalanish paydo qilib kamroq gaz hosil qiladi. 48-72 soatdan keyin bulon tiniqlasha boshlaydi, cho'kma hosil bo'ladi. Kulturadan o'ziga xos **kuydirilgan shox hidi** keladi. (rasm 168)

Kultura termostatda yana o'stiriladi, 4-5 chi sutkada, unda toksinning bor yoki yo'qligi tekshiriladi. Buning uchun kultura – oq sichqon yoki dengiz cho'chqalariga yuboriladi.

Qonli agarda *Cl. tetani* – markazi ozgina ko'tarilgan, o'smalari bor, nozik koloniyalar, ba'zan mayda yumaloq koloniyalar hosil qiladi. Gemoliz zonasi bilan o'ralgan alohida koloniyalar ham uchrab turadi (rasm 169).

Qotmani bakteriologik tekshirish muddati 15 kun.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

tekshirilayotgan patologik materialda qotma toksini aniqlansa (kulturasini ajratilmasa ham);

patologik materialdan toksin hosil qiluvchi qotma qo'zg'atuvchisi kulturasiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa.

Biopreparat. Aktiv immunizasiya uchun konsentrlangan, bir foiz achchiq toshli anatoksin ishlatiladi. Immunitet 30 kundan keyin hosil bo'lib, bir yildan ko'p saqlanadi, otlarda esa besh yilgacha. Profilaktika, davolash maqsadida qotmaga qarshi zardob ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Qotmada patmaterial olish qoidalari.
2. *Cl. tetani* ning morfologik, kultural, biologik xususiyatlari.
3. Qotmada toksinni ajratish usulini ayting.
4. Qotma qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
5. Qotmada ishlatiladigan biopreparatlar.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



Rasm 143. *Cl. septicum* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



Rasm 144. *Cl. septicum*-tayoqcha xifchinlari bilan.



Rasm 145. *Cl. septicum* dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



Rasm 146. *Cl. septicum*: a-Kitt-Tarossi da o'sishi (o'ngdanazorat); b-qandli agarda Veynberg bo'yicha koloniyalar.



Rasm 1467. *Cl. septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a-molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasi bilan.



Rasm 148. Biosinovdan o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. septicum*): a-teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari och qizil rangda gaz pufakehalari bilan; b-ichki organlari ichaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.



Rasm 149. Yomon sifatli gazli shish cho'chqada: a-mushaklari; b-oshqozon.



Rasm 150. Bradzot qo'ya: oshqozonida gemorragik shish va qon qo'yilishlar.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



Rasm 151. *Cl. oedematiens* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



Rasm 152. *Cl. oedematiens* xifehini tayoqcha.



Rasm 153. *Cl. oedematiens* kulturasi: a-Kitt-Tarossi; b-gandli agarda; d-ielatinada



Rasm 154. *Cl. oedematiens* qandli-qonli agarda: a-kengish b-markazi chuqurlashgan; d-silliq; e-kengish, markazi chuqurlashgan koloniyalar.

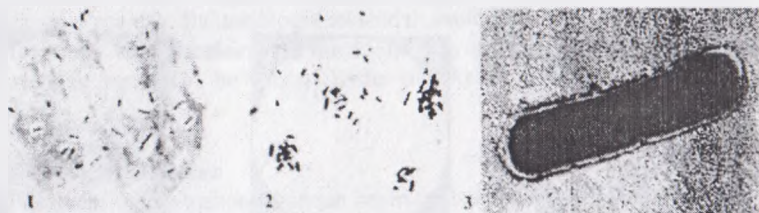


Rasm 155. Biosinoyda o'lgan dengiz cho'chqasi (36 soatda): a-teri osti kletchatkasida dimitiloxsish; b-uning ichki organlari

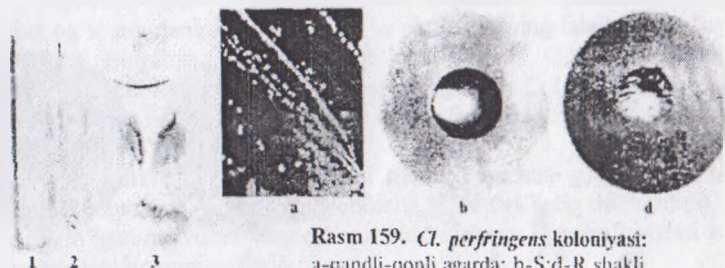


Rasm 156. Biosinoyda o'lgan qo'ning jigari.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



Rasm 157. *Cl. perfringens*: 1-kapsulali tayoqchalar dengiz cho'chqasi jigaridan tayyorlangan sirtmada; 2-sporali tayoqchalar (kulturada); 3-yi'chinsiz tayoqcha.



Rasm 158. *Cl. perfringens* kulturasi: 1-sutda; 2-Kitt- Farossida; 3-qandli agarda o'sishi.



Rasm 159. *Cl. perfringens* koloniyasi: a-qandli-qonli agarda; b-S;d-R shakli.



Rasm 160. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi mushaklar bo'shashgan, tert osti cho'chkatkasida serozli gemorragik shish, gaz pufakchalari.



Rasm 161. Nekrotik enteritdan o'lgan cho'chqaning ichaklari; ingichka ichak gemorragik yallig'langan.



Rasm 162. Enterotoksivadan o'lgan qo'y ichagi (*Cl. perfringens* D tipi) xarakterli qon quyilishlar.

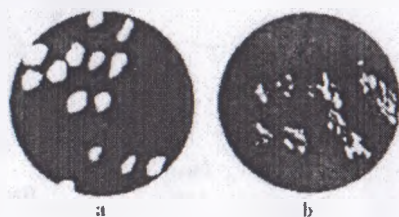
Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



Rasm 163. *Cl. histolyticum*: a-Kitt-Iarossidan; b-qandli qonli agan kulturasiidan tayyorlangan surtmada; d-xifchirli tayoqcha.



Rasm 164. *Cl. histolyticum* kulturasi:
a-Kitt-Iarossida;
b-miyali muhitda(qoraygan);
d-chuqur ekilgan agardagi kolonivalar.



Rasm 165. *Cl. histolyticum* koloniyasi qandli-qonli agarda:
a-S; b-R shakl.



Rasm 166. *Cl. histolyticum* kulturasi bilan mushak orasiga zararlangan dengiz cho'chqasi in'yeksiya joyda yumshoq to'qimalar erigan.

29. Laboratoriya mashg'uloti № 14

Mavzu: Botulizmni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikroob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari jadval. biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yashadi va mikroskopda ko'rishadi. Natijani daftarga yozib olishadi.

Botulizm barcha hayvonlarga oid toksikoinfeksion kasallik. Botulinum zaharini saqlovchi oziqlarni yeyish natijasida paydo bo'lib, markaziy asab tizimining og'ir zararlanishi, hiqildoq, til va pastki jag'ning falajlanishi bilan xarakterlanadi. Botulizm bilan odam ham kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi – spora hosil qiluvchi anaerob – *Cl. botulinum* ning A, B, C, D, E, F tiplardir. Bu tiplar faqatgina immunalogik jihatdan o'zaro farq qiladi: har biri o'zining o'xshash zardoblari bilan neytrallanadi.

Patologik material – laboratoriyaga tekshirish uchun gumon qilingan oziqalardan namunalar (silos, don, kombikorm, go'sht va baliq chiqindilari), shuningdek o'lgan hayvonlarning oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni yuboriladi.

Patmaterial hayvon o'lganidan keyin ikki soatdan kechiktirmasdan olinadi. Patmaterialdan birga-bir yoki birga ikki nisbatda fiziologik critma bilan suspenziya tayyorlanadi. Ikki soat uy haroratida ekstraksiya bo'lish uchun turadi. Bir qismi -- toksinni ajratish uchun, ikkinchisi – qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

1. Mikroskopiya. *Cl. botulinum* – uchlari aylanasimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayoqcha. Sporolari oval shaklida bo'lib hujayra uchlariga yaqin joylashgani uchun **tennis raketkasi** shaklida bo'ladi. Gramusbat, barakatchan. O'lchami 4-6 mkm (rasm 172, 173). Toksini 15-20 daqiqa dan ikki soatgacha qaynatilganda parchalanadi. Sporolari juda chidamli, 5-6 soat qaynatilganda o'ladi.

Botulizm toksinini ajratish.

Patmaterial va oziqa namunalaridan tayyorlangan suspenziya filtrlanadi. Unga bo'linib bir qismi qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Unga qaynatilgan va ikkinchisiga qaynatilmagan filtratlar ikkitadan oq

sichqon qorin bo'shlig'iga 0,5-0,8 ml, yoki dengiz cho'chqalari (300-350 g vaznli) terisi ostiga 3-5 ml yuboriladi (rasm 176).

Agar botulizm toksini bo'lsa qaynatilmagan filtrat yuborilgan laboratoriya hayvonlari, ikkinchi beshinchi sutkada botulizmga xos klinik belgilari bilan (muvozanatni yo'qotish, nafasning tezlashishi, skelet mushaklarining bo'shashi, qorin devorining tushishi "ari belidek") o'ladi. Qaynatilgan filtrat yuborilgan hayvonlar esa sog' qoladi.

Ajratilgan toksin maxsus har xil tiplardagi botulizm zardobi bilan neytralizasiya reaksiyasi qo'yiladi. Buning uchun filtrat polivalent antitoksik botulizm zardobi bilan aralashtirilib, bir ikki soat termostatga qo'yiladi. Keyin aralashma laboratoriya hayvonlariga yuboriladi. Toksin zardob bilan neytrallanib, hayvonlar tirik qoladi. HP natijasi to'rt kun davomida hisobga olinadi.

Quzg'atuvchini ajratish.

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, Xottinger buloni, qonli Seyssler agariga ekiladi. Ekmalar 30-35 °C da termostatga qo'yiladi. Petri kosachalaridagi ekmalarni anaerostatga joylashtirib, anaerob sharoit yaratish kerak. Qo'zg'atuvchi ikki- to'rt sutka o'sadi.

Kitt-Tarossida qo'zg'atuvchining o'sishi- muhit sekin-asta loyqalanib (2-3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan **achigan moyning hidi** keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5-7 sutkada aniqlanadi (rasm 174).

Seyssler agarida *Cl. botulinum* koloniyalari yumaloq, ildizsimon o'simalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasi bo'ladi (rasm 175).

Biopreparat. Odatda norkalar botulizmga qarshi formol kvassli anatoksin vaksina bilan emlanadi. Immunitet bir yilgacha saqlanadi. Davolash uchun botulizmga qarshi antitoksik zardob taklif etilgan. Neytralizasiya reaksiyasi uchun maxsus butulizm tiplari zardobi ishlab chiqilgan.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturasini ajratilmasa ham);

patologik materialdan botulizm qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharliliigi aniqlansa.

Nazorat savollari:

1. Botulizmga tekshirish uchun qanday patmaterial laboratoriyaga yuboriladi
2. *Cl. botulinum* ning morfologik, kultural, biologik xususiyatlarini ayting.
3. Botulizmga toksinni ajratish usulini ayting.
4. Botulizm qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
5. Botulizmga ishlatiladigan biopreparatlar.

30. Laboratoriya mashg'uloti № 15

Mavzu: Bradzotni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini; bakteriologik tekshirish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkalarda *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens* kulturalari, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhitlari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmateriallardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini daftarga chizib, yozib olish.

Bradzot qo'ylarda tez va o'tkir o'tadigan toksikoinfeksiya bo'lib, hayvonning umumiy zaharlanishi, shirdon, 12 barmoq ichak shilimshiq pardalarining gemorragik yallig'lanishi, hazm traktida gazlarning to'planishi, deyarli hamma kasallangan qo'ylarning o'lishi va o'likning juda tez chirishi kabi xususiyatlarga ega.

Qo'zg'atuvchilari anaerob mikroorganizmlar – *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun parenximatoz organlar (jigarning nekroz o'choqlari bo'lgan qismi), shirdonning o'zgan devoridan, shishgan to'qima, ilik suyagi, ikkala tomonidan boylangan 12 barmoq ichak qisimchasi, ko'krak va qorin bo'shliqlari eksudatlari, teri osti kletchatkasi infiltrati yuboriladi. Material yangi o'lgan hayvondangina olinadi.

1. Mikroskopiya. Patmateriallardan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. *Cl. septicum* – ingichka, uchlari qayrilgan, polimorf, uzunligi 2-10, eni 0,8-1 mkm li tayoqcha, bittadan joylashgan grammusbat tayoqchalar. Seroz qavatlardan tayyorlangan surtmalarda esa – uzun iplar shaklida ko'rinadi. Sporalari oval markazda yoki uchlarida joylashgan. Harakatchan, kapsula hosil qilmaydi. (rasm 177, 178, 179).

Cl. oedematiens – yirik, polimorf, uchlari qayrilgan, bittadan ba'zan kalta zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 5-10 mkm, eni 0,8-1,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi. Sporalari oval markazda yoki uchlarida joylashadi. Harakatchan. (rasm 151, 152).

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan Kitt-Tarossi, Seyssler muhitlariga ekiladi. Ekmalar 37-38 °C da 24-48 soat termostatda o'stiriladi. Kosachadagi o'limalar anaerob sharoitda (mikroanaerostatda) bo'lishi kerak.

Cl. septicum– Kitt-Tarossi oziq muhitining intensiv ravishda bir xilda loyqalanib, ko'p gaz hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi. Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir ro'molsimon chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan.(rasm 180,181)

Cl. oedematiens –Kitt-Tarossi oziq muhitida probirka pastida intensiv loyqalanadi, 18-24 soatdan keyin bulon tiniqlashib, cho'kma paydo bo'ladi. Kam gaz hosil bo'ladi (rasm 153). Seyssler agarida kengish, ildizsimon, qatlamlı, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'ilashgan, kuchli gemoliz hosil qiladi (rasm 154).

3. Biosinov. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya 350-450 g vazndagi ikkita dengiz cho'chqasining qorin qismi terisining ostiga 0,5-1 ml dozada yuboriladi. 8 sutka davomida kuzatiladi.

Materialda qo'zg'atuvchi bo'lsa ular 16-48 soatdan keyin o'ladi. Ularda quyidagi patanatomik o'zgarishlar namoyon bo'ladi: materialda

Cl. septicum bo'lsa - dengiz cho'chqalarining terisi mushaklaridan oson ajraladi. Material yuborilgan joyida mushaklar ho'l, och-qizil rangda, teri osti kletchatkasida e'tiborga olarli miqdorda gaz pufakchalari, ichaklar shishgan, ko'krak bo'shlig'i va yurak kuylakchasida ko'p miqdorda transsudat bo'ladi (rasm 182, 183).

Cl. oedematiens bo'lsa – dengiz cho'chqalarining material yuborilgan joyida dirilloq shish, biriktiruvchi to'qima mushaklarining shishi kuzatiladi. Shish sariqroqdan och pushti ranggacha, mushaklar qonsiz, parenhimatoz organlari o'zgarishsiz bo'ladi.(rasm 155, 156).

O'lgan dengiz cho'chqasining patmaterial yuborilgan joyidan, yurakdagi qon va jigaridan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi.

Biopreparatlar. Emlash uchun bradzotga qarshi konsentrlangan polivalentli gidrooksalyuminiyli vaksina ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Bradzotga tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?
2. Bradzot qo'zg'atuvchilarining morfologik, kultural xususiyatlari.
3. Bradzotga biosinov qo'yish, o'lgan dengiz cho'chqalaridagi patanatomik o'zgarishlar.
4. Bradzotni bakteriologik tekshirish usullari.
5. Bradzotda ishlatiladigan biopreparatlar.

Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Yuqumli anaerob enterotoksemiya laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalari; bakteriologik tekshirish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkalarda *Cl. perfringens* kulturalari, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhitlari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar, jadvallar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmateriallardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini daftarga chizib, yozib olish.

Yuqumli enterotoksemiya o'tkir infeksion kasallik bo'lib, barcha turdagi hayvonlarga xos, tez tarqaluvchi, yallig'lanib shishning rivojlanishi, to'qima nekrozi hamda organizm intoksikatsiyasi bilan namoyon bo'ladi.

Qo'ylarning yuqumli enterotoksiniya qo'zg'atuvchisi – spora hosil qiluvchi anaerob *Cl. perfringens* ning "C" va "D" tiplari, qo'zilar anaerob dizenteriyasini esa – "B" tipidir. Boshqa turdagi hayvonlarda esa kasallikni *Cl. perfringens*ning A, B, C, D, E, F tiplari qo'zg'aydi.

Patologik material. Tekshirish uchun laboratoriyaga o'lgan hayvon jasadini yoki ingichka ichakning ko'proq zararlangan joyidan qirqib, ikkala tomoni boylangan holda, undan tashqari jigar bo'lakchasi, taloq va buyrak yuboriladi. Patmaterialni hayvon o'lgandan keyin 3-4 soatdan kechiktirmay olinadi.

Laboratoriya tekshirishlari ikkita yo'nalishda olib boriladi. A) ingichka ichak ichidagi massasidan toksinni ajratish, patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratish va uning toksinlarini aniqlash.

Toksinni ajratish.

Biosinov. Ichakdagi massa 1:1 yoki 1:2 (massaning quyuqligiga qarab) fiziologik eritma bilan aralashtiriladi, uy haroratida 1 soat davomida ekstraksiya qilinadi, paxta-dokalik filtdan o'tkazib filtrlanadi va 20 daqiqa soatiga 3-5 ming aylanma tezlikda sentrifuga qilinadi.

Sentrifuga qilingandan keyin olingan suyuqlik toksinga tekshiriladi. Buning uchun ikkita oq sichqon (16-18 g massali) venasiga yoki qorin bo'shlig'iga 0,5 ml dozada, yoki quyoning (1,8-2,0 kg massali) venasiga 1,0-1,5 ml dozada yuborib kuzatiladi. Materialda toksin bo'lsa hayvonlar 12 soat ichida o'ladi. Hayvonlar kechroq (24 soatgacha) muddatda o'lsa. O'lgan

oq sichqon va quyonlar boshqa ikkilamchi infeksiyaga bakteriologik tekshiriladi.

Tekshirilgan materialdan toksin ajratib olinsa, neytralizasiya reaksiyasi qo'yiladi.

Neytralizasiya reaksiyasi *Cl. perfringens* ning asosiy letal toksinlari tipini aniqlash uchun qo'yiladi.

Reaksiya 16-18 g massali oq sichqonda o'tkaziladi. Bu maqsadda dengiz cho'chqasi yoki quyonlar ham ishlatiladi. Buning uchun reaksiya qo'yishdan bir sutka oldin biqinida belning sagital chizig'iga yaqinroq joydan beshta qismida 2x2 sm kattalikda juni qirqib tashlanadi.

Asosiy toksin tipini aniqlash uchun beshta probirkaga yuqorida aytilib o'tilganidek tayyorlangan filtratdan 1,0 ml quyiladi va unga 1,0 ml. dan *Cl. perfringens* ning diagnostik zardobi qo'shiladi. Buning uchun zardobni steril fiziologik eritma bilan 1 ml da 10 AB (aktiv birlik) hosil bo'lguncha suyultirish kerak. Birinchi probirkaga – A tip, ikkinchisiga – C, uchinchisiga

D, to'rtinchisiga – E tipdagi zardob quyiladi. Beshinchi probirkaga esa 1,0 ml. Fiziologik eritma quyiladi (nazorat uchun). Probirkalar 30 daqiqa davomida 37°C da turishi kerak. Har bir probirkadagi aralashmadan 0,5 mldan ikkita oq sichqon venasi yoki qorin bo'shlig'iga; dengiz cho'chqasi yoki quyon terisi orasiga 0,2 ml dan yuboriladi. Hayvonlar 48 soat nazorat qilinadi. Antitoksik zardob bilan toksin gomologik bo'lsa oq sichqonlar o'lmaydi, dengiz cho'chqasi va quyonlarda nekroz rivojlanmaydi. Yuqumli enterotoksemiyada hayvonlar organizmidagi o'zgarishlar 160, 161, 162 rasmlarda keltirilgan.

Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish.

1. Mikroskopiya. Ingichka ichak massasi va organlardan tayyorlangan surtmalar Gram usulida bo'yaladi. Qo'zg'atuvchi yo'g'on, uchlari yengilgina egilgan, tayoqchalar, bittadan alohida joylashgan, uzunligi 4-8 mkm, eni 1-1,5 mkm. Ba'zan kokksimon bo'lishi mumkin. Grammusbat, kapsula hosil qiladi (hayvon organizmida), sporalari markazida yoki uchlarida joylashgan. Harakatsiz. (rasm 157).

2. Bakteriologiya. Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratib olish uchun maxsus usullar qo'llaniladi.

Qo'zg'atuvchining tez o'sish xususiyatini e'tiborga olgan holda, toza kulturani ajratish uchun Kitt-Tarossi oziqa muhitiga tez-tez qayta ekish usuli ishlatiladi. Qayta ekishlar sonini qisqartirish maqsadida probirkalarda Kitt-Tarossi oziqa muhitidagi ekimlar suv hammomiga 65°C da 10 daqiqa davomida qizdiriladi, hamda 16-18 soat termostatda 37-38°C da o'stiriladi. Keyin o'sib chiqqan kultura mikroskopik tekshiriladi.

Agar ozgina begona mikroflora o'sgan bo'lsa, glyukozali qonli agarga ekiladi.

Begona mikroflora ko'p miqdorda o'sgan bo'lsa, Kitt-Tarossi oziqa muhitlariga 2-3 marta qayta ekiladi, keyingina Seyssler agariga ekiladi.

Kosachalrdagi ekmalar anaerob sharoitda 37-38°C haroratda 20-24 soat davomida o'stiriladi.

Cl. perfringens Kitt-Tarossi oziqa muhitida juda tez o'sib, bulyon bir xilda kuchli loyqalanadi hamda ko'p, kuchli gaz hosil qiladi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda grammusbat, qisqa, yo'g'on, uchlari tekis qirqilgandek sporasiz tayoqchalar ko'rinadi (rasm 158).

Glyukozali – qonli agarda *Cl. perfringens* yirik, silliq bo'rtgan, chetlari tekis, bitta yoki ikkita uncha, tiniq bo'lmagan (to'liq bo'lmagan) gemoliz zonalarini bilan o'rab olingan koloniyalar hosil qiladi (rasm 159).

Kosachalarni mikroanaerostat yoki eksikatoridan olgandan keyin koloniyalar kulrang bo'ladi, keyinroq havoda turganidan keyin yashilroq bo'lib qoladi, oziqa muhit esa jigarrang – qo'ng'ir bo'lib qoladi. Qo'zg'atuvchi uchun tipik bo'lgan koloniyalar Kitt-Tarossi oziqa muhitiga ekiladi.

Toksinni aniqlash uchun Kitt-Tarossi oziqa muhitida o'stirilgan 8 – 16 soatlik kultura 16 -18 g li oq sichqonlarning qorin bo'shlig'i yoki venasiga 0,5 ml dozada yuboriladi.

Toksin tiplari yuqorida ko'rsatilganidek neytralizatsiya reaksiyasida aniqlanadi.

Hayvonlarning yuqumli enterotoksemiyasi va qo'zilar anaerob dizinteriyasiga quyidagi hollarda diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

ingichka ichak massasidagi filtratdan biologik usulda toksin ajratilib, maxsus tipik zardoblar bilan neytralizatsiya reaksiyasida uning tipi aniqlansa;

ingichka ichak massasidan qo'zg'atuvchiga xos, xarakterli xususiyatli, toksin hosil qiladigan kultura ajratilib, maxsus tipik zardoblar bilan neytralizatsiya reaksiyasida uning tipi aniqlansa.

Tekshirish muddati – 8 kun.

Biopreparatlar:

Qo'ylar yomon sifatli shish, yuqumli enterotoksemiya, bradzet va qo'zilar anaerob dizinteriyasiga qarshi polivalent konsentrlangan hidrookisalyumli vaktsina.

Qo'ylar klostridiazlariga qarshi cultural polivalent anatoksin.

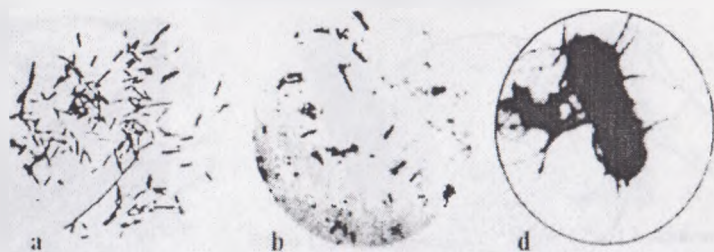
Antitoksinli zardob qo'ylarning yuqumli enterotoksemiya va qo'zilar anaerob dizinteriyasiga qarshi.

Antitoksik zardoblar *Cl. perfringens*ning A, C, D, E tiplaridan tayyorlangan. *Cl. perfringens* chaqiradigan kasalliklarni tekshirishda ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Yuqumli enterotoksemiyaga tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?
2. Yuqumli enterotoksemiyaga tekshirish usullarini ayting.
3. Yuqumli enterotoksemiyaga biosinov qo'yish.
4. Yuqumli enterotoksemiyada bakteriologik tekshirish usullari.
5. Yuqumli enterotoksemiyada ishlatiladigan biopreparatlar.

Qotmani laboratoriya diagnostikasi



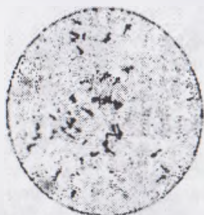
Rasm 167. *Cl. tetani*: a-kulturadan; b-balyondan tayyorlangan surtmada; d-xifelinli tayoqcha.



Rasm 168. *Cl. tetani* kulturasi:
a-Kitt-Tarossi muhitida;
b- chuqur ekilgan qandli agarda;
d-miyali muhitda(qoraygan).



Rasm 169. *Cl. tetani* qandli-qonli agarda:
a-yumaloq koloniya-S shakl; b-R-shakl;
d-harir ro'olsimon koloniya-R-shakl.

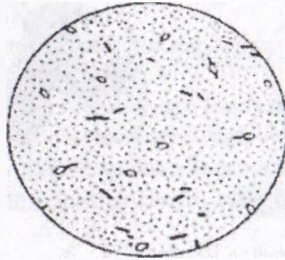


Rasm 171. *Cl. tetani* kulturada.
Sporali tayoqchalar.

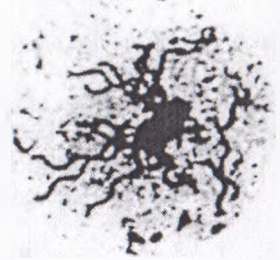


Rasm 170. Dengiz cho'chqasida
qotmaning klinik ko'rinishi.

Botulizmni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 172. *Cl. botulinum* kulturadan tayyorlangan surtmada.



Rasm 173. *Cl. botulinum* tayyoqcha xivchinlari bilan.



Rasm 174. *Cl. botulinum* chapda-jigarli bulyonda, o'ngda-qandli agarda o'sishi.



Rasm 175. *Cl. botulinum* koloniyalari qonli agarda.



Rasm 176. *Cl. botulinum* bilan zararlangan dengiz cho'chqasi.

Bradzotni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 177. *Cl. septicum* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



Rasm 178. *Cl. septicum*-tayoqcha xifchilari bilan.



Rasm 179. *Cl. septicum* - dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



Rasm 180. *Cl. septicum*: a Kitt Tarossi da o'sishi (o'zindanazorat); b qandli agarda Veynberg bo'vicha koloniyalar.



Rasm 181. *Cl. septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a nozik ro'molsimon, b-alohida yumoloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasi bilan.



Rasm 182. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. septicum*): a-teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari osh qizil raneda gaz putakchalari bilan; b-ichki organlari-rebaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.

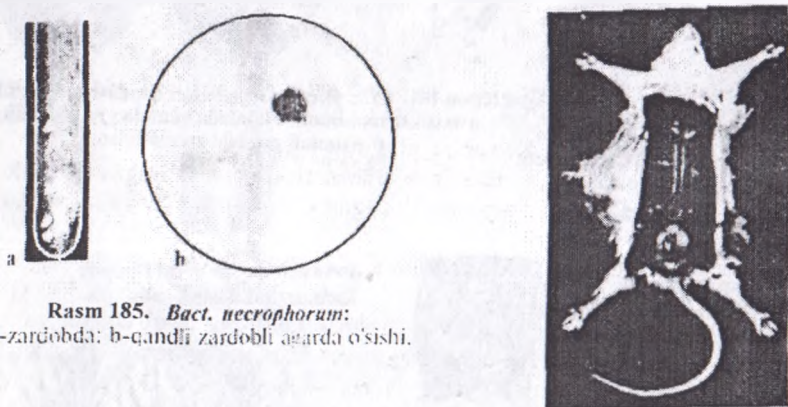


Rasm 183. Bradzot qo'yda: oshqozonida gemorragik shish va qon qo'yilishlar.

Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 184. *Bact. necrophorum*:
a-Kitt-Farossi da o'sgan kulturadan;
b-patologik materialdan tayyorlangan surimada.



Rasm 185. *Bact. necrophorum*:
a-zardobda; b-qandli zardobli agarda o'sishi.

Rasm 186. *Bact. necrophorum*
kulturasi bilan zararlangan
oq sichqon: dum asosida
in'yeksiya joyida nekroz.



Rasm 187. *Bact. necrophorum*
kulturasi bilan zararlangan
quyon: quloq suprasining zararlanishi.

Laboratoriya mashg'uloti.

Mavzu: Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini; bakteriologik tekshirish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: *B.nekroforum* kulturasi, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhitlari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar, jadvallar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmateriallardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini daftarga chizib, yozib olish.

Nekrobakterioz barcha turdagi mahsuldor hayvonlarga xos teri va shilimshiq qavatlar, ayrim to'qimalar, ba'zan hatto parenximatoz organlarning nekrozi bilan xarakterlanadigan infeksiyon kasallik. Qo'zg'atuvchisi *Fusobacterium nekrophorum*.

Bacteroidaceae oilasi, *Fusobacterium* avlodiga mansub. Mikrobnii birinchi bo'lib 1881 yilda P.Kox ajratgan.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun o'lgan mayda hayvonlarning jasadini, yirik hayvonlardan zararlangan to'qimalar va nekroz o'choqlari bor parenximatoz organlardan bo'lakchalar yuboriladi. Tirik hayvonlardan esa zararlangan joylarning sog' va nekrozga uchragan to'qimalar chegarasidan qirib olinadi. Materialni shu holda yoki 30% li ehterom eritmasida konservatsiya qilib yuborish mumkin.

Nekrobakteriozga tekshirish patmaterialdan tayyorlangan surtmalarni mikroskopiyaga qilish, oziq muhitlariga ekish va laboratoriya hayvonlarini namlantirishdan iborat.

1.Mikroskopiya. Nekrozga uchragan to'qimalardan surtmalar tayyorlab Mumomsev, Ramanovskiy Gimza yoki Leffler ko'ki, shuningdek Gram usullarida bo'yaladi. Sog' va nekrozga uchragan to'qima chegarasidan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmada, qo'zg'atuvchi grammanfiy, maxsus usullar bilan bo'yalganda esa – xar xil uzunlikdagi iplar, eski o'choqlardan esa – qisqa tayoqchalar va hatto kokklar shaklida ko'rinadi.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga, GPB va GPA larga ekiladi. Bundan tashqari zardobli – glyukozali agarni ishlatish mumkin. Umumiy qabul qilingan usullarni birortasi bilan anaerob sharoit yaratib ekmali kosachalar termostatga qo'yiladi. Kitt-Tarossi oziq muhitini ekish oldidan regeneratsiya qilinadi – qaynoq suv hammomida 20 – 30 daqiqa qizdirib, tezda 45 - 50°C gacha sovutiladi. Ekmalar 37 – 38 °C da 5 sutka o'stiriladi. bunda ular har kuni ko'rib boriladi.

Kitt-Tarossi oziqa muhitida *F. necrophorum* 13 - 24 soatdan keyin, avval oziq muhitning pastki qismida, keyinroq ustki qismida intensiv loyqlanish paydo qiladi. 5 – 8 chi sutkalarda bulyon tiniqlasha boshlaydi va probirka tubiga ushoqsimon cho'kma tushadi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda tayoqchalar uzun, donachali, bir – biri bilan chalkashib ketgan iplar, ba'zi birlari esa, kolbasimon kengaygan bo'ladi (rasm 184).

Kosachalardagi zardobli - glyukozali agarda anaerob sharoitida 48 - 72 soatdan keyin mayda shudring tomchisimon koloniyalar hosil qiladi (rasm 185), keyinroq, koloniyalar o'lchami kattalshadi va yaqqolroq ko'rinadigan yumaloq, uzunchoqroq shakilda bo'lib gemoliz, zonasini hosil qiladi. *F. nekrophorum* ning toza kulturasi birlamchi materialdan zich oziqa muhitiga ekib ajratib olish qiyin bo'lgani uchun, uni biologik usulda ajratib olish maqsadga muvofiq.

3. Biosinov. Nekrobakterioz qo'zg'atuvchisiga ko'proq quyon va oq sichqonlar moyildir. Patmaterialdan toza kulturani ajratish uchun quyon ko'proq to'g'ri keladi. Patmateriallardan 1: 10 nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Suspenziyani 0,5-1 ml dozada qulog'ining tashqi yuzasi terisi ostiga yuboriladi, oq sichqonlarga esa dum asosi terisi ostiga 0,2-0,4 ml dozada yuboriladi. Zararlash uchun qo'zg'atuvchining sutkalik bulyon kulturasi. Shu dozalarda ishlatish mumkin. Zararlantirilgan hayvonlar 10 sutka davomida kuzatiladi

2. Tekshirilayotgan patmaterial yoki kulturada *F. Necrophorum* bo'lsa, quyonning qulog'iga in'eksiya qilingan joyida 3-4 kundan keyin nekroz rivojlanadi (rasm 187).

Zararlantirilgan oq sichqonlar esa 6-10 kundan keyin o'ladi. Material yuborilgan joyi atrofida nekroz jarayonlarini paydo qilib, chuqur zararlantirishga olib keladi (rasm 186).

Bobilieva (1940) yaxshi anaerobioz sharoitlarini yaratish uchun oq sichqonlarni in'eksiya qiladigan joyini oldindan skarifikasiya qilish yoki dumini yengilgina kuydirish yo'li bilan ekstravazatlar hosil qilgandan keyingina material yuborib zararlantirishni taklif qiladi.

Nekroz o'choqlaridan tayyorlangan bo'yalgan surtmalarda, nekrobakterioz qo'zg'atuvchisiga xarakterli donachali bo'yalgan iplar ko'rinsa, biosinov musbat (ya'ni nekrobakterioz bor) deb hisoblanadi.

Quyidagi hollarda nekrobakteriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

• patmaterialdan nekrobakterioz qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa va quyon yoki oq sichqonlarning material yoki kultura yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilsa:

- zararlantirilgan oq sichqon yoki quyonning material yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilsa, hatto birlamchi patmaterialdan ekilgan oziqa muhitlarda qo'zg'atuvchi o'sib chiqmasa ham.

Tekshirish muddati - 10 kungacha.

Biopreparatlar : Maxsus oldini olish usullari ishlab chiqilmagan.

Nazorat savollari:

1. Nekrobakteriozga tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?
2. Nekrobakteriozga mikroskopik tekshirish usullarini ayting.
3. Nekrobakteriozga biosinov qo'yish.
4. Nekrobakteriozga bakteriologik tekshirish usullari.
5. Qaysi hollarda nekrobakteriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

31. Laboratoriya mashg'uloti № 16

Mavzu: Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni dermatomikozlarda (trixofitiya, mikrosporiya), kandidamkoz va mog'or mikozlarda patmaterial olish qoidalari, mikologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Saburo muhitida o'stirilgan zamburug' kulturalari, trixofitiya va mikrosporiya bilan kasallangan hayvonlardan olingan patmaterial, mikologik ilmoq, predmet va yopqich oynalar, plakatlar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar trixofitiya va mikrosporiyaning morfologiyasi bilan tanishadilar. Patmaterial va zamburug' kulturalaridan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlaydilar. Qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini o'rganadilar.

Mikozlar-patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi. Ularga dermatomikoz, mog'orli mikoz, kandidamkoz qo'zgatuvchilari kiradi.(rasm 188)

Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari. Dermatomikozlarga teri va uning hosilalarini zararlash bilan kechadigan mikozlar kiradi. Qo'zg'atuvchi keratini bor to'qimalarda parazitlik qiladi. Barcha qishloq xo'jalik hayvonlari (ko'pincha yoshlari). mo'ynali va yirtqich hayvonlar, shuningdek odamlar ham kasallanadi. Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari takomillashmagan mog'or zamburug'lariga kiradi (Deuteromycetes sinfi). Trihofiton. mikrosporon va aharon avlodlarini o'z ichiga oladi (rasm 189).

Trixofitiya – surunkali kasallik bo'lib, teri va junning keskin chegaralangan tamg'a shaklida zararlanishi bilan ajralib turadi. Qo'zg'atuvchisi: buzoq va qo'zilarda - *Tr.verrucosum*, otlarda – *Tr.equinum*, kemiruvchilarda – *Tr.gypseum*, parrandalarda *Tr.gallinae*.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Mikroskopda zamburug'larning tanasi (miseliysi) mayda shoxlangan ipchalardan tuzilganligi va unda rangsiz yumaloq sporalarning joylashganligini ko'rish mumkin. Zararlangan jun mikroskopda ko'rilsa, zamburug' va uning sporalari jun ichida yoki atrofida tartibli zanjirsimon joylashganligi ma'lum bo'ladi.

Trixofitiya qo'zg'atuvchisi - aerob, maxsus oziq muhitlarda yaxshi o'sadi. Saburo agarida 26-28 °C da termostatda 10-20 sutka o'tgandan keyin silliq, terisimon, qatlam-qatlam, ba'zida unsimon qatlamli koloniyalar hosil bo'ladi. Koloniyalardan oziqa muhitga kuchli, chuqur shohlanish paydo bo'ladi.

Parranda trixofitiyasi (favus, parsha) – teri, patlari va ichki organlarning zararlanishi bilan xarakterlanadi. Tojida, sirg'asi, tumshug'iga yaqin joylarida kulrang-oqish qatlamlari – skutulalar paydo qiladi. Qo'zg'atuvchisi *Tr.gallinae*.

Biopreparatlar. Aktiv profilaktika qoramollar uchun LTF 130 vak sinasi, otlar uchun SP– I, mo'ynali hayvonlar va quyonlar uchun "Mentavan" vaksinasi ishlatiladi. Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mikrosporiya – it, mushuk, yirtqich va boshqa hayvonlarda teri epidermisining yallig'lanishi, junning sinishi bilan o'tadigan yuqumli kasallik bo'lib, uni mikrosporon avlodiga mansub zamburug'lar qo'zg'aydi. Odamlar ham kasallanadi.

Qo'zg'atuvchilari: itlarda *Mikrosporum canis (lanosum)*, otlarda *M.equinum*, *M. gypseum* va boshqalar.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Patmaterialda zamburug' shoxlangan miseliy shaklida ko'rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofida sporalar tartibsiz joylashib chechol ko'rinishini eslatadi. Trixofitiyadan farqi glyukozali Saburo agarida 26-28 °C da *M. equinum* 6-7chi kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish miseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporum avlodi zamburug'lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi.

Lyuminissentli analiz patmaterialni Petri kosachasiga qo'yib, qorong'i xonada sinob-kvarsli lampaning (PRK-2, PRK-4) ultra binafsha nurlari ostida 20 sm masofada qaraganda mikrosporiya bilan jarohatlangan jun tolalari yashil nurlanish beradi. Bu usulda mikrosporiyaning yashirin shaklini aniqlash mumkin.

Laboratoriyaga tekshirish uchun jarohatlangan zararlangan epidermis va jun tolalari qirindisi sog'lom to'qima bilan chegara joyidan olinib paketga solib yuboriladi.

Trixofitiya, mikrosporiyaga laboratoriyada diagnostika mikroskopiyasi usulida qo'yiladi. Patmaterial 10 % li ishqorda 20-30 daqiqa turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qozg'oq bo'lakchasi predmet oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20 % li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirtovka alangasi ustida). So'ngra ustiga bir tomchi 50 % li gliserin eritmasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yopiladi. Avval x8 ob'yektiv, keyin x40 ob'yektivda yoki immersion sistemada ko'riladi.

Zamburug' miseliysi va sporalar borligi diagnostika qo'yishga asos bo'ladi. Trixofiton va mikrosporumlar sporalarning zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo'lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, lyuminisenti analiz va biosinov qo'yiladi. Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glyukozali GPA, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

Biosinov - dengiz cho'chqasi yoki quyoning terisi tinalib, patmaterial surtiladi.

Mog'or mikrozlari qo'zg'atuvchilari – *Aspergillus, penicillium, Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug'lar kiradi (rasm 190).

Aspergillez - uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba'zan y.sh.h., m.sh.h., ot. cho'chqa. arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan o'pkaning granulematoz zararlanishi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Yangi o'lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum. Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo'hori agari, GPA lardan foydalaniladi.

25-37°C da 3-5 chi sutkada zich oziq muhitlarda aspergilla koloniyalari o'sadi. *A. fumigatus* Chapeka muhitida tekis yoki kengish koloniya hosil qiladi. Rivojlangan miseliysi avval oq, keyinchalik yashil rangda kigizsimon shakl beradi. Yetilgan kulturalar spora hosil qilish bosqichida qora rangda bo'ladi.

Mukormikoz qo'zg'atuvchilari – mukor avlodiga mansub, ko'proq *M.M. racemosus* uchraydi. Mukormikoz limfa bezlari, o'pka, boshqa organ va to'qimalarda granulematoz jarayonlarining rivojlanishi bilan xarakterlanadigan surunkali kasallik.

Patologik material. Yiring, nekrozga uchragan to'qima, eksudat, granulematozli to'qima.

Mikroskopiya. Surtmada bo'g'inlarga bo'linmagan miseliy, sporalar ko'rinadi.

Chapeka muhitida (Petri kosachasida) 25-30 °C da o'stiriladi. Uchinchi sutkada zamburug' kulturalari kigiz tutami shaklida kulrang-oq koloniyalar hosil qiladi. Keyinroq qo'ng'ir ranggacha o'zgaradi.

Kandidamikoz qo'zg'atuvchisi – *Candida albicans*. *Kandida* avlodiga mansub achitqisimon zamburug'. U fakultativ parazit bo'lib hayvonlarning shilimshiq qavatlarida doimiy yashab, kandidamikoz (molochnisa) kasalligini qo'zg'aydi. Hazm trakti shilimshiq qavati, har xil organ va to'qimalarni zararlashi bilan xarakterlanadi. Asosan parrandalar zararlanadi. Kamroq buzoq, qo'zi va h.k. yosh mollar kasallanadi.

Patologik material. Og'iz, qizilo'ngach, zob, qatlamlardan qirindi olinadi.

Mikroskopiya. Bo'yalgan (Gram. Sil- Nilsen), bo'yalmagan preparatlar ko'riladi. Bo'yalmagan surtmada ko'pgina oval achitqisimon hujayralar ko'rinadi.

Saburo agari, suslo-agar, glyukozali GPA larda o'sadi. Ekmalar 25-30 °C da o'stiriladi. Birinchi koloniyalar 2-3 chi kuni o'sadi. Suyuq muhitlarda *C. albicans* halqa va cho'kma hosil qiladi. Kulturaning patogenligi quyon, dengiz cho'chqasi, oq sichqonlarda biosinov qo'yib aniqlanadi. Kultura suspenziyasi tomirga yuboriladi. Musbat natijada barcha ichki organlarida zamburug' rivojlanadi.

Nazorat savollari:

1. Trixofitiya va mikrosporiya qo'zg'atuvchilarining bir-biridan farqlovchi belgilari.
2. Dermatomikozlarga tekshirish uchun patnaterial olish.
3. Kandidamikoz, aspergillez qo'zg'atuvchilari, ularni o'stirish.
4. Kandida avlodiga kiruvchi zamburug'larning patogen xususiyatlari.
5. Zamburug'lar qaysi oziq muhitlarda o'sadi.

32. Laboratoriya mashg'uloti № 17

Mavzu: Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada leptospira kulturasi, predmet, yopqich oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglyutinasiyalovchi leptospiroz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglyutinasiya reaksiyasini qo'yish, ARni predmet oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Leptospiroz – qishloq xo'jalik hayvonlari, kemiruvchi va barcha go'shtxo'r hayvonlarga xos yuqumli kasallik bo'lib, isitma, sarg'ayish, gemoturiya, anemiya va shilimshiq parda hamda terida to'qimalarning nekrozi bilan namoyon bo'ladi. Odamlar ham kasallanadi.

Leptospiralalar *Spirochetaceae* sinfi, *Leptospira* avlodiga mansub. Ularning ikki guruhi farqlanadi - *L.interrogans* – hayvon va odamlar uchun patogen va *L.biflexa* – patogen emas.

Asosiy leptospiroz qo'zg'atuvchilariga: *bataviye*, *gebdomadis*, *grippotifoza*, *ikterogemorragiye*, *kanikola*, *pomona*, *tarassovi* lar kiradi.

Patologik material. Kasal hayvondan 5-10 ml qon, siydik, tashlangan homila yuboriladi. O'lgan mayda hayvonlarning jasadida, yirik hayvonlardan yurak, parenhimatoz organlardan bo'lakchalar, buyrak, siydik xaltasi boylangan holda. orqa miya suyuqligi yuboriladi. Siydik ertalab yem hashak berishdan oldin olinadi.

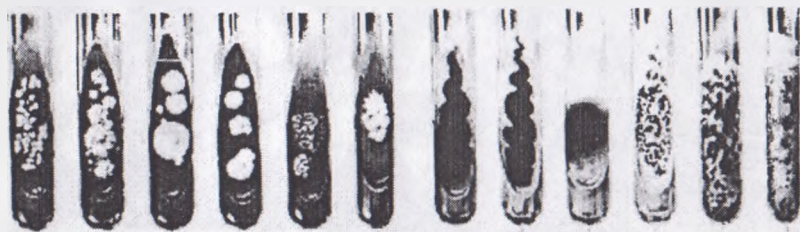
Patmaterialni laboratoriyada 6 soatdan (sovutgichda saqlansa 10-12 soatdan) kechiktirmay tekshirish kerak.

Diagnoz bakteriologik va serologik usullarda qo'yiladi.

1. Mikroskopiya. Leptospiralalar bo'yoqni yomon qabul qiladi. Ular ezilgan tomchi usulida, qorong'ilashtirilgan kondensorda tekshiriladi. Leptospiralalar spiral shakldagi, to'g'ri yoki *S* holdagi ingichka, harakatchan ipsimon organizm. Uzunligi 5-20 mkm, diametri 0,1-0,2 mkm, uchlari ilmoq shaklida egilgan. Leptospiralalar fibrillalar yordamida harakatlanadi (rasm 191, 192, 193, 194). Grammanfiy, Ramonovskiy Gimza usulida 48 soat bo'yaganda pushti-binafsha rangda bo'ladi. Lyuminissent mikroskopiyada leptospirozning maxsus fluorensensiyali globulini ishlatiladi.

Mikroskopik tekshirishda leptospiralalar aniqlansa, diagnoz qo'yishda shu bilan chegaralanish mumkin.

Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 188. Patogen va zaharli zamburug'larning kulturasi. Patogen zamburug'lar:

- 1-*Trichophyton verrucosum*; 2-*Trichophyton gypseum*; 3-*Microsporum lanosum*
 4-*Candida albicans* (suslo agarda); 5-*Histoplasma farciminosum*; 6-*Actinomyces bovis*,
 aerob shakl (glyukoza li GPA da); 7-*Aspergillus fumigatus* (Chapeka agarida).

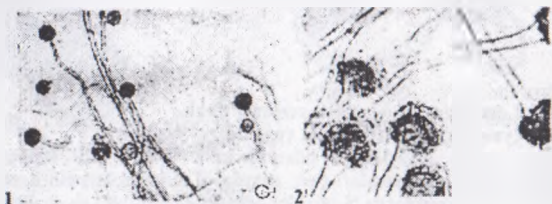
Zaharli zamburug'lar: 8-*Aspergillus flavus*.

- 9-*Stachybotrys alternans*; 10-*Dendrodochium toxicum* (Chapeka agarida);
 11-*Fusarium sporotrichioides* 12-*Fusarium graminearum* (guruch donida).



Rasm 189. Dermatomitsellar zararlangan sochda. Patogen zamburug'lar:

- 1-*Trichophyton schoenleini*. 2-*Trichophyton violaceum*. 3-*Microsporum canis*.



Rasm 190. 1-*Mucor* zamburug'i sporangiyalan; 2-*Aspergillus fumigatus* kulturada.

Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi



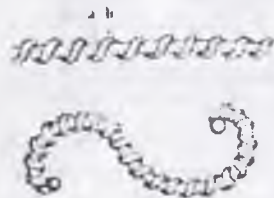
Rasm 191. Leptospiralari:
a-buzilgan jigari to'qimasida; b-buyragi kanalchalarida.



Rasm 192. Leptospiralari
ezilgan tomchida
qorong'i maydonda.



Rasm 193. Leptospira.
Spiralsimon tuzilishi va
tana o'q ipi aniq ko'ringan.



Rasm 194. Leptospiraning tuzilish sxemasi tinch holatida (yuqorida) va harakatda (pastda).
Elastik oq ip (a), periplast (b) bilan bir hil qalindlikda. Birinchi o'ramlari zich, mayda, ikkinchilari leptospiralarga S-shaklni beradi.

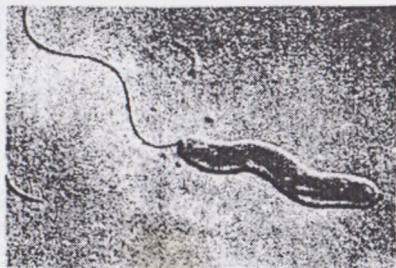


Rasm 195. Mikroagglutinatsiya va lizis reaksiyasi: 1-mantiy (leptospiralari harakati va shaklini saqlab qolgan), 2-5-ujibiy (leptospiralari harakatidan agglutinatsiyavazilisa) uchratilgan.

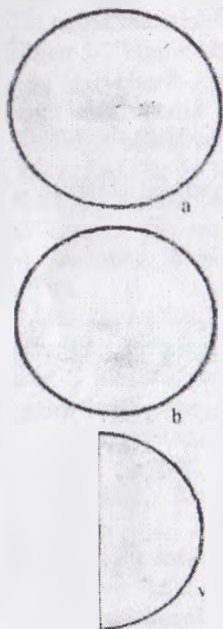
Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



Rasm 196. *Vibrio fetus veneralis*
2 sutkalik kultura surtmasida.



Rasm 197. Elektronogramma. Xiv chinli
vibriion



Rasm-198. Qonli agarda vibriion
koloniyalarining shakllari:
a – b - koloniyaning S- va R-
shakllari; v- mayda shudringsimon
qoplama shakli.

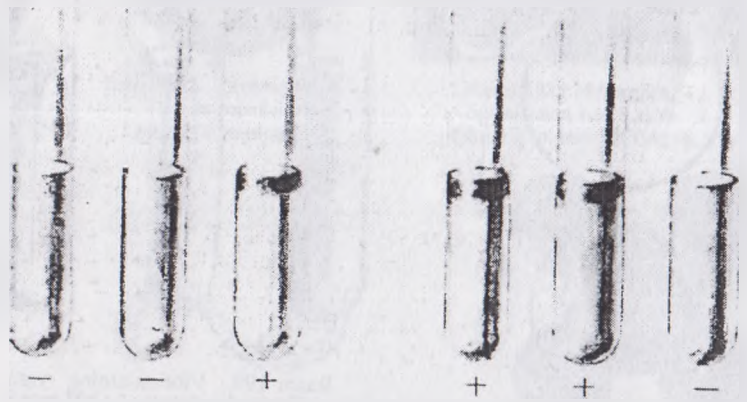


Rasm 199. Vibriionlarning yarim
suyuq agarda tik ckkanda o'sishi.



a Katalaza aktivligi b N₂S hosil qilishi v Glisinga chidamliligi

Rasm 200. Vibriionlarning biokimyoviy xususiyatlarini tekshirish.



A B

Rasm- 201. Vibriionlarning o'sishi:
 A - 3,5% li NaCl li muhitda.
 B - 4% li o't suyuqligi qo'shilgan muhitda.

2. **Bakteriologiya.** Patmaterial (siydik 10-15 ming aylanma tezlikda 30 daqiqa sentrifugalanib, cho'kmasi va ustidagi suyuqligi, qonning plazmasi, organlardan suspenziya tayyorlab tekshiriladi) maxsus L.yubashenko, Ulengut oziq muhitlariga ekiladi. Har bir namunadan 3-5 tomchidan 5-6 ta probirka yarimsuyuq yoki suyuq oziq muhitga ekiladi. Leptospiralalar fakultativ aerob, 28-30 °C da 3 oy o'sadi. 3,5,7,10 kundan keyin, so'ngra har 5 kundan keyin hamma probirkalardan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, ko'riladi.

Patmaterialdan oziq muhitlarda leptospiralalar hamma vaqt ham ajratilavermaydi.

3. **Biosinov.** Ikkita 20-30 kunlik tilla rang og'maxon terisi ostiga 0,3-0,5 ml yoki qorin bo'shlig'iga va 10-20 kunlik quyon bolalariga 2-3 ml tekshirilayotgan material yuboriladi. 4-5 kuni bittasi o'ldiriladi, ikkinchisi o'lmasa 14-16 kundan keyin o'ldiriladi. Jasadni yorib, qoni MAR da 13 ta seroguruh antigen (leptospiralalar) bilan 1:10 nisbatda suyultirib tekshiriladi. Musbat natija, materialda leptospiralalar borligini ko'rsatadi.

Ajratilgan 5-7 kunlik kultura patogenligi uni 0,1 ml dozada og'maxon qorin bo'shlig'iga yuborib aniqlanadi. Ular 5-12 kunda o'lsa leptospiralalar yuqori virulentli hisoblanadi.

Serologik tekshirish usullaridan MAR, (mikroagglyutinasiya reaksiyasi), AR, KBR, FAU lar qo'llaniladi.

Kasal hayvondan qon zardobi ikki marta 5-7 chi, 7-10 kunlari olinadi. Yangi olingan, filtr qog'ozida quritilgan yoki konservasiya qilingan (fenol bilan) zardoblar ishlatiladi. Antigen sifatida tirik leptospira kulturalari ishlatiladi.

MAR. Zardoblar 1:50, 1:100, 1:1250 nisbatda suyultiriladi. Reaksiya o'yiqchali plastinkalarda qo'yiladi. Har bir suyultirilgan zardobdan, alohida 6 ta qator 3 tadan o'yiqqa (antigen soniga qarab) 0,1 mldan quyiladi. 6 ta leptospira kulturasi har biridan 0,1 ml dan 3 ta o'yiqqa zardob ustiga quyib, aralashiriladi, bunda zardoblar 1:100, 1:500, 1:2500 nisbatda suyultirilgan bo'ladi. Platinani soniyain chayqatib, termostatga 30 °C 1 soatga qo'yiladi. Bir vaqtda nazorat qo'yiladi: 0,1 ml kultura +0,1 ml (iziologik eritma. Natija ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, mikroskopda tekshirib aniqlanadi. Barcha suyultirilgan zardoblarda agglyutinasiya 4,3,2 plyusga baholansa – musbat hisoblanadi. Nazorat reaksiyasidan tashqari.

Makroagglyutinasiya reaksiyasi AR tomchili usulda predmet oynachasida qo'yiladi. 0,04 ml har bir suyultirilgan zardob yoki zardobning uzidan + bir tomchi antigen shisha tayoqcha bilan yoki chayqatib aralashiriladi. Reaksiya 10 daqiqa davomida hisobga olinadi. Agglyutinasiya

4, 3, 2 plusga baholansa musbat, bir plusga – manfiy hisoblanadi (rasm 195).

Biopreparat. VGNKI ning polivalentli, deponirlangan vaksinalari. Giperimmunli qon zardobi qo'llaniladi.

Nazorat savollari:

1. Leptospirozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasi.
2. Leptospiroz qo'zg'atuvchisining morfologik, tinktorial, kultural xususiyatlari.
3. Leptospirozni serologik tekshirish usullari.
4. Serologik tekshirishlar uchun ishlatiladigan leptospiroz antigenini ayting.
5. Leptospirozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakterialogik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada kampilobakter kulturasi, predmet, oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglyutinasialovchi kampilobakterioz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglyutinasiya reaksiyasini qo'yish, AR predmet oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Kampilobakterioz (vibrioz) sigir, g'unajin, qo'ylarning surunkali kasalligi bo'lib, homila tashlash, bepushtlik, yosh hayvonlarning o'limi, yo'ldoshini ushlanib qolishi, metrit, vaginit bilan xarakterlanadi. Qo'ylarda bo'g'ozligining ikkinchi yarmida yalpi homila tashlash kuzatiladi.

Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisi – *Campylobacter fetus* (foetes), *Campylobacter* avlodi, *Spirochaetales* qatori, *Spirillaceae* oilasiga kiradi. *Campylobacter* oilasi uch turni o'z ichiga oladi: *C. Sputorum*, *C. fecalis*, *C. fetus*. Qo'zg'atuvchini birinchi marta 1913-1918- yillarda Mak-Fediyen va Shtokmanlar ochgan. Hozirgi vaqtda uch xil patogen homila vibriolari mavjudligi aniqlangan. Ya'ni *S. fetus* uch ta kenja turga bo'linadi: *C. fetus subsp. venerealis* - yirik shoxli hayvon, dengiz cho'chqasi va tovuq homilasi uchun patogenli; *C. fetus subsp. intestinalis* - asosan qo'ylarda sporadik hollarda, sigirlarda homila tashlashni paydo qiladi, juda kam hollarda odamlarni zararlaydi, uning ichak va o't xaltasida rivojlanadi. *C. fetus S. Jejuni* - qo'ylarda homila tashlashni paydo qiladi, sog'lom yirik shoxli hayvon, cho'chqa, parrandalarning ichagida uchraydi. Juda kam hollarda odamlar zararlanadi.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun sigirlardan - placentasi, bachadon bo'ynidan olingan shilimshiq (bola tashlagandan keyin 3-4 chi kuni yoki kuyga kelgan davrida steril holda olinadi); naslli buqalardan prepusial shilimshiq, sperma, jinsiy bezlar sekreti; diagnostik maqsadda o'ldirilgan hayvonlardan – qin, bachadon, toz bo'shlig'ining limfa tugunlari yuboriladi.

I. Mikroskopiya. Kampilobakter yosh kulturalarda vergul, ya'ni burama shaklida bo'ladi (rasm 196), uzunligi 3 - 7mkm, eni 0,2 - 0,5 mkm. Patologik materialdan tayyorlangan surtmalarda vergul, uchayotgan chayka, spirilla

shaklida bo'ladi. Ular to'planishib, vibrion iplarini paydo qilish, xuddi spirillalardek bo'lishi mumkin. Vibriionning bir uchida xivchini bor (rasm 197), juda harakatchan, spora va kapsula hosil qilmaydi. Anilin bo'yoqlari bilan yaxshi bo'yaladi, ayniqsa karbol fuksini bilan (1:5), Romanovskiy Gimza usulida bo'yaganda hujayra tanasida donachalar bo'ladi.

2. Bakteriologiya. *C. fetus* mikroaerofildir, kulturada 10% CO₂ bo'lgan sharoitda o'sadi. Optimal harorati 37,5°C. Birlamchi kulturani ajratish uchun qon yoki zardob qo'shilgan yarim suyuq, zich oziq muhitlar ishlatiladi. Yarim suyuq jigarli 0,2% li agarda 2 - 7 kunda muhit yuzasiga yaqin joyida kulrang oqish halqa shaklida o'sadi (rasm 199). 2% li go'sht - jigar peptonli agarda 3 - 4 kuni mayda koloniya yoki yoyilib o'sgan shakli namoyon bo'ladi. Qonli yoki zardobli bulonda, nozik bulutcha shaklida o'sadi. Qonli agarda 2-4-6-8 sutkalarda mayda shudringsimon qoplama shakli, S-silliq va R-kengish shaklli koloniyalar paydo bo'ladi (rasm 198 a,b,v). Yarim suyuq peptonli agarda kultura 10 - 20 kundan ortiq saqlanmaydi. Uzoq muddat saqlab qolish uchun uni yarimsuyuq yoki Kitt Tarossi muhitida qayta ekiladi va sovutgichda saqlanadi.

Patmaterialdan qo'zg'atuvchini ajratish uchun shuningdek safranin - temir - novobiosinli muhit taklif qilingan.

Biokimyoviy xususiyatlari. *C. fetus* uglevodlarni parchalamaydi, lakmusli sutni o'zgartirmaydi, katalaza ajratadi, 3,5% li NaCl li GPB da o'smaydi. Qo'ylardan ajratilgan vibrionlar. kuchsiz vodorod sulfid ajratadi, 4% li o't suyuqligi qo'shilgan muhitda o'sadi, 1% glisinga chidamli. *C. fetus subsp. intestinalis* chidamli emas (rasm 200, 201). Zahar hosil qilishi aniqlanmagan.

Biosinov patmaterialda vibrionni topish, kulturani tozalash, vibrion kulturasi virulentlik darajasini aniqlash uchun qo'yiladi. Buning uchun patmaterial yoki kultura 0,5 ml dozada bo'g'oz dengiz cho'chqalari qorin bo'shlig'iga yoki qiniga zararlanadi, tashlagan homilasi bakteriologik tekshiriladi. Agar 10-12 kun davomida homila tashlamasa dengiz cho'chqasini o'ldirib, homilasi va bachadonidan oziq muhitlarga ekiladi. Naslli buqalarning vibrion bilan zaralanganligini aniqlash uchun biosinov yetilgan g'unajinlarda qo'yiladi.

Serologik tekshirish uchun AR, KBR, DKBR, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llanadi. Sigir, g'unajinlardan olingan qin shilimshig'i bilan agglutinasiya reaksiyasi qo'yiladi. Shilimshiq hayvonlar kuyga kelmagan, tinch holatida doka tamponlarda olinadi va ekstrakt tayyorlanadi. Filtrlangan ekstrakt 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatlarda ishlatiladi. Probirkalardagi barcha nisbatdagi 0,5 ml zardoblarga 0,5 ml dan fiziologik eritma bilan 1:9 nisbatda suyultirilgan kampilobakterioz antigenining I serologik tipi qo'shiladi. Probirkalar 24 soat termostatda 37°C da va uy haroratida 3-6 soat turadi. Qo'ylar kompilabakteriozi diagnozi AR da kasal

hayvonlar qon zardobida maxsus antitelolalarni aniqlashdan iborat. Buning uchun homila tashlagan (birinchi I - 20 kunlikda) ona qo'ylardan olingan qon zardobi va vibriozning II serologik tipi antigeni kerak. P.A. Trilenko ma'lumoti bo'yicha qoramol vibrioziga davomli komplement bog'lash reaksiyasi (DKBR) va komplement bog'lash reaksiyalari bilan ham diagnoz qo'yish mumkin.

Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisini farqlash uchun kampilobakterioz lyuminissent zardoblari ham qo'llaniladi.

Biopreparatlar. Adabiyotlarda qo'ylar vibriozini vaksina bilan oldini olish mumkinligi to'g'risida ma'lumotlar bor.

Qo'ylar kampilobakterioziga qarshi inaktivlangan emulgirlangan vaksina.

Kampilobakteriozni agglyutinasialovchi zardoblari.

Kampilobakterioz antigeni.0,3%li formalin eritmasida inaktivlangan kampilobakteriyalar suspenziyasi.

Nazorat savollari:

1. Kampilobakteriozga tekshirish uchun patmaterial olish qoidasi.
2. Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisining morfologik, kultural xususiyatlari.
3. Kampilobakteriozni serologik tekshirish usullari.
4. Serologik tekshirishlar uchun ishlatiladigan antigenni ayting.
5. Kampilobakteriozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

Adabiyotlar:

1. Kislenco V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. M.KolosS, 2005.
2. Kostenko T.S. i dr. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. M. 1989.
3. Smirnova N.I. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po veterinarnoy mikrobiologii. M. 1977.
4. Antonov B.I. i dr. Laboratorniye issledovaniya v veterinarii. Bakterialniye infektsii. M. 1986.
5. V.V. Pavlovskiy i dr. Diagnostika infektsionnix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. M. Kolos, 1968.

MUNDARIJA

bo'li.	3
liy va laboratoriya ma'lumotlari uchun uslubiy ko'rsatma	4
QISMI 1 UMUMIY MIKROBIOLOGIYA	
1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi. filozofiyasi, maqsadi. Biologik mikroskop. uning tizilishi va ishlash usullari	6
2. Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari.	13
3. Preparatlarni Gram usulida bo'yash	17
4. Yulduz kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari	19
5. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish	27
6. Oziqa muhotlarini tayyorlash.	31
7. Sterilizasiya usullari	35
8. Sol kultura ajratib olish usullari	40
9. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash	44
10. Mikroorganizmlarni antibiotikka sezuvchanligini aniqlash	49
11. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari	53
12. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga jo'natish usullari	58
13. Agglyutinasiya reaksiyasi	61
14. Presipitatsiya reaksiyasi	64
15. Komplemen bog'lash reaksiyasi	70
16. Veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar	73
QISMI 2 XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA	
17. Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi	77
18. Streptokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi	80
19. Pasterellyozni laboratoriya diagnostikasi	88
20. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi	91
21. Listeriozni laboratoriya diagnostikasi	94
22. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi	102
23. Salmonellyozni laboratoriya diagnostikasi	105
24. Kuydirgini laboratoriya diagnostikasi	108
25. Tuberkulyozni laboratoriya diagnostikasi	116
26. Brusellyozni laboratoriya diagnostikasi	120
27. Qorasonni laboratoriya diagnostikasi	126
28. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi	128
29. Qotmani laboratoriya diagnostikasi	131
30. Botulizmni laboratoriya diagnostikasi	137
31. Bradzotni laboratoriya diagnostikasi	139
32. Yuqumli anaerob enterotoksemiyaning laboratoriya diagnostikasi	141
33. Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi	149
34. Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi	152
35. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi	156
36. Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi	163

Z. J. Shapulatova

“MIKROBIOLOGIYA”

**FANIDAN
USLUBIY QO‘LLANMA**
(amaliy, laboratoriya mashg‘ulotlari)

Бичими 60x84 1/16. Тайме гарнигураси. Оффсет боsx-и
Адади 100 нусха. Буюртма № 10/26.

«Н Доба» ХТ томонидан chop этилди
Фарход кучаси, 4 уй