

Z. J. SHAPULATOVA

MIKROBIOLOGIYA

TOSHKENT — 2013

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA MAXSUS
TA'LIM VAZIRLIGI

Z. J. SHAPULATOVA

MIKROBIOLOGIYA

*O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi
tomonidan o'quv qo'llanma sifatida tavsiya etilgan*

TOSHKENT – 2013

9
2009 №
9-899
15.360
88770
10 6

546.8
UO'K: 579.2 (075)

KBK 28.4

Sh-24

Sh-24 Z.J. Shapulatova. Mikrobiologiya. –T.: «Fan va texnologiya», 2013, 204 bet.

ISBN 978-9943-10-982-7

O'quv qo'llanma ikki bo'limdan iborat bo'lib, «Umumiy mikrobiologiya» bo'limida mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalarini, mikroorganizmlarni o'rganishning asosiy mikrobiologik, immunologik usullari yoritilgan. «Xususiy mikrobiologiya» bo'limida infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilarining laboratoriya diagnostikasi usullari, qo'llanadigan biopreparatlar berilgan. Qo'llanmada amaliy va laboratoriya mashg'ulotlarining uslubiy ko'rsatmasi, umumiy va xususiy mikrobiologiya bo'limlari bo'yicha talabalar bilimini mustahkamlash uchun nazorat savollari keltirilgan. Mustaqil ish mavzulari ham bayon etilgan.

Ushbu qo'llanma Oliy o'quv yurtlarining «5440100- veterinariya» ta'lim yo'nalishi talabalarini uchun mo'ljallangan. Undan zootexniya va qorako'chilik ta'lim yo'nalishlari talabalarini, laboratoriya mutaxassislari, veterinariya shifokorlari amaliyotida foydalanishlari mumkin.

UO'K: 579.2 (075)

KBK 28.4

Taqrizchilar:

H.S.Salimov – SamQXI Hayvonlar kasalliklari va parazitologiya kafedrası professori;

M.T.Isogov – Samarqand viloyat veterinariya laboratoriyasi direktori, veterinariya fanlari nomzodi

KIRISH

Ushbu o'quv qo'llanma mikroorganizmlarning umumiy xususiyatlari, morfologiyasi, fiziologiyasi, genetika va ekologiyasini, ularning tabiada moddalar aylanishi, sanoat va qishloq xo'jaligining har xil ishlab chiqarish tarmoqlaridagi roli, infeksiyon jarayonlarni, immunitet, uning turlarini, asosiy infeksiyon kasalliklarning qo'zg'atuvchilari, ularning diagnostikasi, maxsus oldini olish usullarini o'rgatadi hamda respublikamizdagi ijtimoiy-iqtisodiy islohotlar natijalari va hududiy muammolarning choyrachilik sohasida veterinariyaning istiqboliga ta'siri masalalarini qamraydi.

Oliy ta'lim muassasalarining qishloq va suv xo'jaligi veterinariya sohasida ta'lim olayotgan talabalar o'zlarida ushbu kasbiy ko'nikmalarini shakllantirish va rivojlantirish imkoniyatiga ega bo'lishlari va tanlangan mutaxassislikni egallashlari uchun ixtisoslik fanlarini chuqur o'rganishlari, yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlari kerak bo'ladi. *Mikrobiologiya* fani esa tayanch biologik asosiy ixtisoslik fani hisoblanadi. Ushbu o'quv qo'llanma umumiy va xususiy mikrobiologiya bo'limlaridan iborat. Umumiy mikrobiologiya bo'limida laboratoriyada ishlash qoidalarini, jihozlari, mikroorganizmlar fiziologiyasi, ularning patogenligini aniqlash, serologik reaksiyalarni qo'yish usullari, veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar, ularni nazorat qilish, xususiy mikrobiologiya bo'limida mikroblarni qiyoslash usullari, laboratoriya diagnostikasi keltirilgan. Mustaqil ish uchun mavzular ham berilgan.

Veterinariya, zootexniya va qorako'chilik bo'limi talabalarini, magistrantlar, laboratoriya mutaxassislari, veterinariya shifokorlari amaliyotida foydalanishlari mumkin.

Ushbu o'quv 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 erta aniqlash, ularning shakllarini farqlash, qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini aniqlash, ularning oldini olish va qarshi kurashishda xo'jaliklarga katta amaliy yordam beradi.

ISBN 978-9943-10-982-7

SamQXI Axborot

© Z.Shapulatova, 2013.
resurs markazi

inv № 363339

Laboratoriyada mikrobiologik tekshirish usullarini samarasi, aniq diagnoz qo'yishning muvaffaqiyati aslida patologik materialni to'g'ri olish, o'z vaqtida laboratoriyaga yetkazish, saqlash qoidalariga rioya qilish kabiylarga bog'liq. Har bir kasallikning o'ziga xos patogenez va mikrobing tropizmiga alohida e'tibor berish juda katta ahamiyatga ega. Talabalar patologik material bilan ishlashda to'g'ri, aniq, ehtiyotlik ita munosabada bo'lishni, shaxsiy gigiyena va o'zini zararlanshining oldini olish choralarini o'rgatish juda muhim.

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. Mashg'ulotlar ma'ruza materiallari bilan uzviy bog'langanligi tufayli talabalar hayvonlarning yuqumli kasalliklariga mikrobiologik diagnoz qo'yish usullarini yengil o'zlashtiradilar.

Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish bo'yicha o'quv qo'llanmada quyidagi maqsadlarni amalga oshirish ko'zda tutilgan:

Talabalar mikroorganizmlarning umumiy xususiyatlarini, tabiatda organizmda va xo'jalik ishlab chiqarishning turli tarmoqlarida xilma-xil biologik jarayonlaridagi roli, infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilari, ular chaqiradigan kasallikka diagnoz qo'yish, oldini olish bo'yicha maxsus zamonaviy samarador usullari, bunda qo'llaniladigan biopreparatlar bo'yicha yo'nalish profiliga mos bilim, ko'nikma va malakalarini shakllantirish va rivojlantirishdan iborat.

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 hissinii, o'ziga talabchanlikni ta'biyalaydi, kuchaytiradi. Birinchi amaliy darsda talabalarni katedra, laboratoriyaning ish tartibi va qoidalari bilan tanishtirish lozim: laboratoriyaga xalalda kirib o'zining ish joyini egallab; ish stolida barcha kerakli buyumlar bormi, mikroskop ish holatidami tekshiradilar va kamchiliklarni darhol o'qituvchiga aytadilar; amaliy darslarda nihoyatda

tinchlik saqlanishi kerak, maqsadsiz bir joydan ikkinchisiga ko'chish mumkin emas; ruxsatsiz laboratoriyadan tashqariga biorta materialni – probika, bo'yov, pipetka va h.k. chiqarish man etiladi; shaxsiy buyumlarni (kiyob, sumka) maxsus ajratilgan joyda qoldirib, o'zida daffar, rangli flomaster va ruchka qolishi kerak. Zarari materialni tekshirganda, tirik kulturalar bilan ishlaganda faqat kerakli asboblardan foydalaniladi (pinsetlar, bakteriologik ilmoq, shpatei va h.k.). Ishlatilgandan so'ng bu asboblal alangada cho'g' holiga keltirib, qaynatib yoki boshqa usullar bilan dezinfeksiya qilib zararsizlantiriladi. Bexosdan bakteriya kulturalasi to'kilsa, zarari material bilan iftoshlangan buyumlar darhol dezinfeksiyalanishi kerak.

O'qituvchi talabalar bilan savol-javoblal 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'zlarl 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 daffarga yozib, chizib olishlariga ruxsat beradi. Talabalar jadval va rangli plakat, targatma kartochkalardan ham foydalanib, bajarayotgan ishlarini qiyoslay olishlari, sinchiklab kuzatishlari, bir vaqtda tartib bilan ketma-ketlikni saqlagan holda ishlashga o'rganishlari kerak. Laboratoriyada talabalarga ajratilgan stolidagi asbob-uskuna, anjom, eritma, kultura bo'yovqlar bilan tanishib, ularni ishlatisini 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 bajaragan ishini 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 iktita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa, yanada yaxshi bo'ladi.

I BO'LIM. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

1 - m a v z u. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi.

Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalarini

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyasi, uning asosiy jihozlari va unda ishlash qoidalarini 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 mikroob 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 dafarga chizadi va asosiy qismlarining nomini yozadi.

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

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

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

Veterinariya laboratoriyasida patologik materialni qabul qilish, bakteriologiya, virusologiya, toksikologiya, serologiya, patanomiya, veterinariya-sanitariya ekspertizasi, parazitologiya, radiologiya bo'limlari bo'ladi. Bundan tashqari, alohida sterilizatsiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, oziq muhit tayyorlash xonalari, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks, laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqalari, oq kalamush, quyon, donor qo'yalar 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 ishi 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'yog bilan bo'yalgan hamda barcha kerakli jihoz, asbob-uskunalar, reaktiv va h.k. lar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak. Issiq, sovuq suv, kanalizatsiya, sovun, sochiq va dezinfektsiyalovchi erimlar bo'lishi zarur.

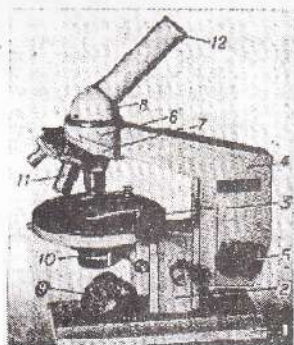
Mikrobiologiya laboratoriyasining jihozlari. Laboratoriyada ishlash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo'shimcha moslamalari bilan (yoritgich, fazli — kontrastli qurilma, qorong'i maydonli kondensor va h.k.), lyuminessentli mikroskoplar, termostatlari, sterilizatsiya uchun apparatura (quritgich shkaf, avtoklav, Kox apparati), pH — metr, distillangan suv olish uchun apparat (distillyator), sentrifugalari, texnik va analitik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikroanaerostat, sovutgichlar, paxta — dokali tiqinlar tayyorlash uchun apparat, asboblari to'plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k. lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'Ichamli pipetkalar) va boshqalar.

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

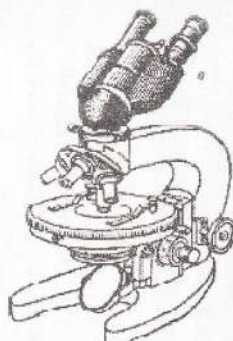
Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalarini. Laboratoriyada steril (nihoiyatda toza) muhit yaratish va tozalikka hamda tartibga qat'iy rioya qilish zarur. Xususan mikrobiologiya laboratoriyasida ish boshlashdan oldin talabalarni u yerdagi tartib-qoida bilan batafsil tanishtirish kerak.

1. Laboratoriyada oq xalat va qalpoq kiyib ishlash kerak. Xalatsiz kirish qat'iy man etiladi. Xalalda laboratoriya hududidan tashqariga chiqish mumkin emas.
2. Laboratoriyada har qaysi ish joyi talabga javob beradigan bo'lishi kerak. Daffar, ruchka, qalamdan boshqa narsa laboratoriyaga kiritilmaydi.
3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.
4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblari, idishlar, gaz, (spirtli) lamp) 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 metall yoki boshqa buyumlar bilan tegish mumkin emas.
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 kulturelarini saqlash, kuzatish va ularni yo'qotish maxsus ko'rsatmaga muvofiq amalga oshiriladi.

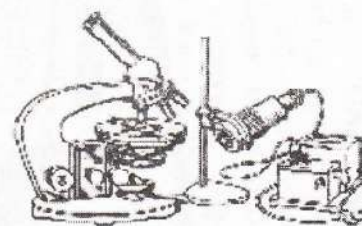
Mikroskop turlari



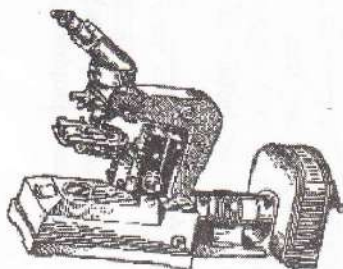
1-rasm. Biologik mikroskop «Biolam»



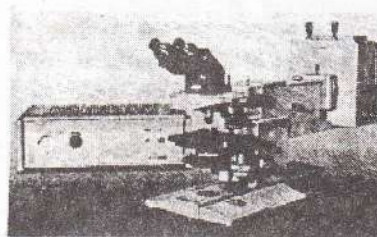
2-rasm. Binokulyar o'rnatma AU-12.



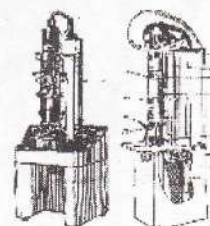
3-rasm. MBI-1 mikroskopi va yoritgich OI-7.



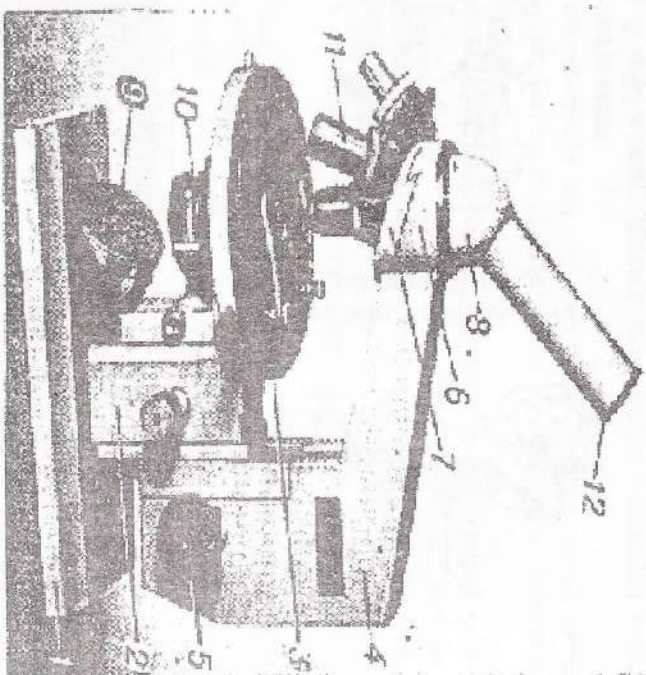
4-rasm. MI-2 lyuminescent mikroskopi.



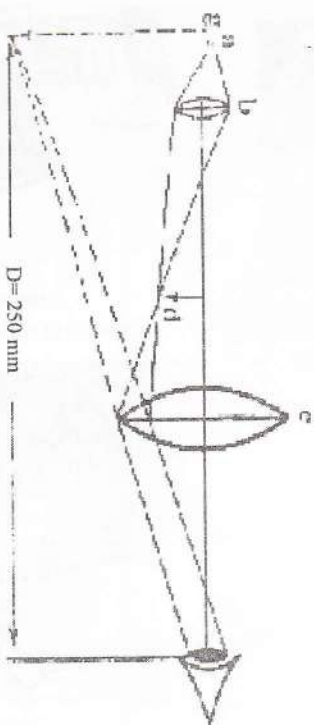
5-rasm. I-2 tipli «Lyumam» lyuminescent mikroskopi.



6-rasm. Elektron mikroskop.



7-rasm. «Biolam» biologik mikroskopining tuzilishi:
1-asosi; 2-mikrovint; 3-buyum stolchasi; 4-tubus tutgichi;
5-makrovint; 6-boshchasi; 7-revolver; 8-ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9-ko'zgu; 10-kondensor; 11-obyektiv; 12-okulyar.



8-rasm. Mikroskopning optik sxemasi:
a-obyekt; b-obyektiv linzasi; d-obyektning teskari ko'rinishi; c-okulyarning yuqoridagi linzasi; g-obyektning ko'rinadigan tasviri.

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, tinkorial xususiyatlari (har xil bo'yoqlar va bo'yash usullariga munosabati), kapsula, sporalari bor yoki yo'qligi, harakati aniqlanadi. Bu maqsadda mikroskoplar ishlatiladi. Laboratoriyada bir necha xil mikroskoplardan (biologik, lyuminescent, elektron, proton) foydalaniladi va mikroskopiyaning maxsus usullari (fazokontast, qorong'i maydonli) qo'llanadi (1-6-rasm).

Biologik mikroskop. Mikrobiologiya amaliyotida mikroskopning MBR-1, MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, «Biolam» va hokazo turlaridan ko'p foydalaniladi.

Ular obyektini 2000 va undan ko'p marta gacha kattalashtiradi. Mikroskopning: 1-asosi; 2-mikrovinti; 3-buyum stolchasi; 4-tubus tutgichi; 5-makrometrik vinti; 6-boshchasi; 7-revolver; 8-ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9-ko'zgu; 10-kondensor; 11-obyektiv; 12-okulyari bo'ladi (7-rasm).

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

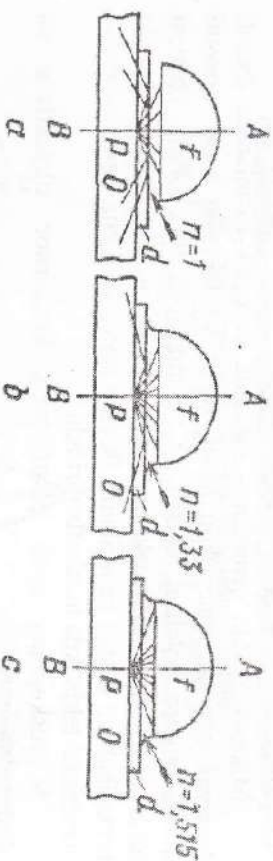
Mikroskopning optik qismini oyna, kondensor, obyektivlar va okulyardan iborat.

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

Kondensor oynadan kelayotgan yorug'lik nurlarini to'plab, preparatning sathiga yo'naltiradigan linzalardan iborat. Kondensor tugida 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.

Obyektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U obyektning 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 bor. Ular tasvirni tiniqligini ta'minlaydi. Frontal linzaning kattalashtirishi gancha ko'p bo'lsa, korreksion linzalar shuncha ko'p talab qilinadi.

Quruq va immersion (suvli, yog'li) obyektivlar bo'ladi. Quruq obyektivni ishlatganda obyektiv frontal linzasi bilan preparat orasida havo qatlami bo'ladi. Preparat oynasidan o'tayotgan yorug'lik nurlari havo qatlamiga tushadi, sinib qaytadi va obyektivga to'liq tushmaydi. Bunday obyektivlarning frontal linzalari 10, 20, 40 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Immersion obyektivlarning 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 yag'i tomliziadi, 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 (9-rasm).



9-rasm. Optik mikroskopning obyektivlari:

f – frontal linza; d – buyum 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 obyektiv bergan tasvirni kattalashtiradi. Monokulyar (bitta okulyarlik) va binokulyar mikroskoplar bor (1,2-rasm).

Mikroskopda tasvir quyidagicha paydo bo'ladi (8-rasm). Kondensor yordamida to'plangan yorug'lik nurlari obyektga tushadi unda aksini topadi, obyektiv linzasida sinib obyektning haqiqiy

kattalashgan teskari tasvirini paydo qiladi. Keyin okulyarning yuqoridagi linzasi qo'shimcha kattalashtirgich obyektning 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 obyektivdagi yozilgan songa okulyardagi yozilgan sonni ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, immersion obyektiv 90x va okulyar 10x bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi: $90 \times 10 = 900$ marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda, odatda, obyekt 630-900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

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

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

Preparatlarni immersion obyektivda ko'rishda tayyor bo'yalgan surtmaga bir tomchi immersion moy tomlizib, preparat buyum stolchasiga qo'yiladi, so'ngra revolvorni burab, immersion obyektivni (90x) o'rnatib, makrovint yordamida ehtiyotlik bilan pastga tushirib, frontal linzasini moy tomchisiga tegizish kerak. Shundan keyin okulyarga qarab preparat ko'rinishini tubusni ko'tarish kerak. Ko'zni mikroskopdan olmay makrovint 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'ilofga solib qo'yiladi.

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ular-dan foydalanish.
3. Biologik mikroskopning tuzilishi.
4. Biologik mikroskop bilan ishlash qoidalar. Preparat mikroskop-da qanday kuzatiladi?

5. Bo'yalgan va bo'yalagan preparatlarni mikroskopda ko'rish usuli.

2-m a v z u. Lyuminescent mikroskopiya

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni lyuminescent mikroskopiya, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli prinsipi va immuno fluoressensiya reaksiyasini qo'yish texnikasi bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Har xil modeldagi lyuminescent mikroskoplar, har xil yorug'lik filtrlari, fluoressensiyalanmagan immersiya moyi, bo'yalagan tayyor har xil mikrob preparatlari to'plami.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi talabalarga bakteriologik laboratoriyada lyuminescent mikroskop tuzilishini, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli prinsipini tushuntiradi, talaba:

1. Biologik lyuminescent mikroskop bilan tanishib, rasmini daftarga chizadi va asosiy qismlari nomini yozadi.

2. Preparatni mikroskopda ko'rish usullarini o'rganib, mustaqil ravishda immersion obyektivda bo'yalagan tayyor preparatlarni ko'radi.

Lyuminescent mikroskopiya – qorong'i fonda nurlanuvchi obyektni mikroskopda ko'rish. Birinchi lyuminescent mikroskopni 1908-yilda A.Keller va G. Zidentorflar yaratdi hamda 1910-yilda Vena shahrida ilmiy mikroskopchilar kursida uni namoyish qildilar.

Lyuminessensiya (*lumen* – yorug'lik, *eskent* – kuchsiz ta'sir) bu yutilgan yorug'lik energiyasining qo'zg'alishidan obyektning nurlanishidir. Veterinariya – bakteriologiya laboratoriyalarida ML va «Lyumam» (ishchi tipidagi modellari R-1, R – 2, R – 3, tadqiqot tipidagi modellari I – 1, I – 2, I – 3) seriyali lyuminescent mikroskoplari ishlatiladi.

Lyuminoforlar (lyuminogen, fluoroxtomlar) deb ataluvchi ba'zi moddalarning molekula, atom va ionlari energiyani yutib, yuqori energetik darajaga o'tadi (qo'zg'aladi va harakatga keladi). Bu holat uzoq davom etmaydi, qo'zg'algan molekula, atom va ionlar nurlanish shaklida ortiqcha energiyani chiqarib – lyuminessensiya, yana avvalgi holatiga qaytadi. Energiya manbaiga bog'liq ravishda foto-, elektro-, radio-, xemo- va rentgenolyuminessensiya farqlanadi.

Laboratoriya amaliyotida asosan yorug'lik energiyasi ta'siridan hosil bo'ladigan nurlanish -fotolyuminessensiya ishlatiladi. Nurlanishning davomiyligi bo'yicha qisqa vaqtli lyuminessensiya – *fluoressensiya*, u qo'zg'atuvchi nurlar ta'siri tugashi bilan tezda so'nadi hamda uzoq vaqt hatto qo'zg'alish jarayoni tugagandan keyin ham davom etadigan davomli – *fosforesensiya* farqlanadi. Stoks qoidasi bo'yicha fluoressensiya yorug'ligi to'liq uzunligini qo'zg'atuvchi yorug'likning to'liq uzunligidan kattaligi bilan farq qiladi. Shuning uchun obyektning ko'rinnas ultrabinafsha yoki qisqa ko'k-binafsha nurlar bilan yoritilganda oddiy ko'z bilan yaxshi ko'rinadigan obyektlarning uzun to'liq nurlanishi hosil bo'ladi. Agar qo'zg'atuvchi yorug'lik ko'k bo'lsa, unda fluoressensiyalovchi yorug'lik yashil bo'ladi.

Birlamchi va ikkilamchi fluoressensiya farqlanadi. Tirik organizm moddalarning deyarli barchasi o'z fluoressensiyasiga ega. U *birlamchi* yoki *avtofluoressensiya* deb ataladi, lekin ularning nurlanish intensivligi past bo'ladi. Birlamchi fluoressensiya xususiyatiga ega va fluoressensiyalanmagan moddalarga fluoressensiyalanish xususiyatini berish uchun fluoroxtomlar (fluoressensiyalovchi bo'yog'lar) ishlatiladi. Fluoroxtomlar hujayraning ma'lum kimyoviy tarkibi bilan birikib, obyekt (preparat)ni ko'k-binafsha nurlar bilan yoritilganda ularga yaxshi nurlanish xususiyatini beradi, bu *ikkilamchi fluoressensiya* deyiladi. Lyuminescent mikroskoplarda DRT – 250 qo'rg'oshin-kvarsli lampalar lyuminessensiyani qo'zg'atuvchi manba hisoblanadi. Lyuminescent mikroskop xonaning qorong'i qismida, qimirlamaydigan qilib, mustahkam stolga o'rnatiladi. Xona ventilyatsiyasi yaxshi bo'lishi kerak. Tok kuchi ish vaqtida 4-5A bo'lsa 5-10 daqiqadan keyin to'liq yorug'lik kuchiga ega bo'ladi. Lyuminescent mikroskopiyada yuqori sifatli fluoressensiyalanmagan immersiya moyi ishlatiladi. Muvaqqatlyatli lyuminescentli mikroskopiya uchun: 1) tekshirilayotgan obyektning nurlanishini qo'zg'atish va lyuminessensiya nurlari uzunligidagi nurlarni kesish(bo'linmas barcha ko'rish maydoni intensiv nurlanadi) uchun qo'rg'oshin-kvarsli lampadan kelayotgan yorug'lik oqimidan maxsus yorug'lik filtrlari yordamida spektorning qisqa to'liqini (ko'k-binafsha) qismini ajratish kerak. Buning uchun yorug'lik manbasi va tekshirilayotgan obyekt orasiga UFS-3, FS-1, SS-4 va boshqalar kabi (qo'zg'atuvchi) yorug'lik filtrlari qo'yiladi.; 2) tekshirilayotgan obyektidan okulyarga borayotgan yorug'lik oqimidan uzun to'liqini nurlanishini (lyuminessensiyani) o'tkazish va bir vaqtda kuzatuvchi ko'zini qisqa to'liqini (qo'zg'atuvchi) nurlardan ehtiyot qilish kerak. Bu

maqsadda obyekt va ko'z orasiga okulyarning (yopuvchi) JS-3, JS-18, T-1H va T-2H yorug'lik filtrlari o'rnatiladi.

Lyuminessent mikroskopning optik tizimida filtrlarni (qo'zg'atuvchi, yopuvchi) birga uyg'unlashtirib qo'llash *chatishtigan filtrlar prinsipi* deyiladi. Chatishtigan filtrlar samarasi ko'rish maydonining qorong'i fonda obyektga rangli (yashil-sariq) fluoressensiya beradi.

DRT lampasining nurlari obyektiiv va okulyar orasidagi yorug'lik bo'luvchi plastinkaga tushadi. Keraksiz uzun to'liq nurlar undan o'tib so'nadi. Qo'zg'atuvchi qisqa to'liq nurlarni esa plastinka tekshirila-yotgan obyektga qaytaradi (aks ettiradi). Qo'zg'atuvchi nurlarning bir qismi obyektida lyuminessensiyaning uzun to'liq nurlarga transformatsiyalanadi, qaysiki obyektiiv, yorug'lik bo'luvchi plastinka, yopuvchi filtrlardan o'tib, kuzatuvchi ko'ziga tushadi. Qo'zg'atuvchi nurlarning o'zgarishga uchramagan boshqa qismini yorug'lik bo'luvchi plastinka yorug'lik manbai tomonga qaytaradi. Yorug'lik bo'luvchi plastinkaning bunday farqlovchi xususiyati uning bir nechta dielektrik qatlamlardan iboratligi va unga tushadigan nurlarga nisbatan 45° burchakda joylashganligi bilan ifodalanaadi.

«Lyumamm» va ML seriyali mikroskoplarning farqi shundaki, «Lyumamm» da yorug'lik bo'luvchi plastinkalar har xil ko'rsatkichi qo'zg'atuvchi spektor va lyuminessensiya spektorlariga ega. U mos keladigan yopuvchi filtrlar va qo'zg'atuvchi yorug'lik filtrlari bilan birga ishlatiladi.

Lyuminessent mikroskopiyaning afzalliklari shundaki, rangli tasvir, yuqori darajada kontrastlik, tekshirilayotgan materialda kam miqdordagi bakteriyalarni ham ularni aniqlashga imkon beradi. Mikrobiologiyada infeksiyon kasalliklarning ekspress-diagnostikasida fluoroxtomlangan obyektlarning lyuminessent mikroskopiya va (FAU) fluoressensiyalovchi antitelolar usulining keng qo'llanilishi muhim ahamiyatga ega. Ushbu usulning prinsipi shundan iborat: fluoroxtom bilan birikkan antitelolar gomologik antigen bilan maxsus bog'lanish qobiliyatini saqlab qoladi. Hosil bo'lgan antigen + antitelo kompleksi lyuminessent mikroskopda fluoroxtom hisobiga o'ziga xos nurlanish beradi. Demak, bu reaksiya yordamida serologik reaksiyaning birinchi fazasini nazorat qilish mumkin hamda bu usul o'ta maxsus va yuqori sezuvchan.

Lyuminessent mikroskopiya qator muhim hujayra strukturalarini, organizmning har xil funksional holatlarida ularning o'zgarishini

o'rganish, o'lgan va tirik hujayralarni farqlashga imkon beradi, mikroorganizmlar miqdorini sanashni yengillashtiradi.

Nazorat savollari:

1. Lyuminessent mikroskopiyaning mohiyatini tushuntiring.
2. Lyuminessent mikroskopiyaning afzalliklarini ayting.

3 - m a v z u. Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari

Mashg'ulotning maqsadi: Bakteriologik bo'yoqlar bilan tanishish va ularning 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, gentsianviolet, metilen ko'ki, safranin, brilliant yashil, bo'yoqlarning tayyor eritmasi to'plam, 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), glitserin (probirkada), forfor hovoncha to'qmoq bilan, menzurka, etil spirti, ishlatilgan buyum oynachalarini solish uchun maxsus idishda 3-5% li fenol eritmasi, ishlatilgan pipetkalar uchun maxsus idishda 3-5% li fenol eritmasi, moy qalam. Mavzuga oid ko'rgazmali plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

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

Bakteriologik bo'yoqlar. Mikroblar tirik yoki o'lgan holatida mikroskopda ko'riladi. Mikroorganizmlarning morfologiya 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: asosi - fuksin, metil qizil, neytral qizil - eritmada qizil rangda bo'ladi; karboli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet, tayyor suyuq Gimza (azur - eozin) bo'yog'i - binafsha rangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashil. Quruq kukunsimon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi erimatalari tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli erimatalari qorong'ida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Eritmalarning bo'yash xossasini oshirish uchun ularga har xil kinyoviy moddalar (fenol, o'yuvchi kaliy) qo'shiladi yoki bo'yashdan oldin preparatlarga ular (xlorid, sulfat yoki xrom kislotalarining kuchsiz erimatalari) bilan ishlov beriladi. Shuningdek, bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq erimatalari faqat ishlatishdan oldin 1 - 2 %li erimalar ko'rinishida tayyorlanadi.

Spirtli suvli erimalar. *Karboli fuksin (Sil fuksin).* Avval to'yingan spirtli eritma tayyorlanadi: 100 ml 96° spirtga 5 - 10 g asosi fuksin olinadi. Spirtli erimalar yaxshi to'yinishi uchun bo'yoqlar batamom erib ketguncha termostada 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 spirtli eritma bo'yash uchun yaroqsiz bo'ladi, shuning uchun uning spirtli suvli erimatalari tayyorlanadi: 10 - 20 ml fuksinning to'yingan spirtli eritmasiga 100 ml tarkibida 5% fenoli bor distillangan suv qo'shiladi. Karboli fuksinning tayyor suv-spiritli eritmasi qog'oz filtri orqali filtrlanadi. Chunki eritmada cho'kma bo'lmasa, surtma bir tekis yaxshi bo'yaladi. Sil fuksin qator hollarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan (1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pleytler fuksin) hosil bo'ladi.

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

Karboli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet. Kristallviolet, metilviolet bo'yog'i erimatalari tez cho'kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko'rganda ular xalakit beradi. Ko'pincha gensianviolet bo'yog'i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo'yaladi. Uning spirtli suvli

eritmasini tayyorlash uchun 1 g quruq gensianviolet farfor havonchada 10 ml spirt, bir necha tomchi gliserin va 2% fenol (kristall holda) bilan yaxshi ezib aralashiriladi va 100 ml distillangan suv qo'shiladi. Eritmani saqlaganda cho'kma paydo bo'lishining oldini olish uchun filtri qog'oz varaqlariga bo'yoqning to'yingan spirtli eritmasi shindiriladi, havoda quritib, kichik o'lchamlarda qirg'iladi, qorong'i idishda saqlanadi.

Bo'yashda preparatga qirg'ilgan gensianviolet bo'yog'i shindirilgan quruq filtri qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir necha tomchi distillangan suv tomdiriladi, 2 - 3 daqiga turadi.

Metilen ko'ki eritmasi (ishqorli Leffler ko'ki). Eritmani tayyorlash uchun 3 g bo'yoq 100 ml 96° 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 erimalar. *2%li safra:* 2 g quruq bo'yoqqa 100 ml qaynoq distillangan suv quyib, filtrlanadi va shu zahoti bo'yash uchun ishlatiladi.

1%li malaxit yashil eritmasi: 1 g kristall holdagi 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 kochasi tubiga shisha tayogchalar 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, fiksatsiya qilish va bo'yashdan iborat.

Ishlatiladigan buyum oynalari nihoyatda toza va yog'sizlantirilgan bo'lishi kerak. Surtma tayyorlash uchun bakteriologik ilmoq (12-rasm) yoki Paster pipetkasi ishlatiladi. Preparat suyuq yoki zich muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasini, sut, qon, yiring (surtma), jigar, taloq yoki

boshqa organlar to'qimasi (tamg'ali, klyach – preparat) va h.k.lardan quyidagicha tayyorlanadi:

Suyuq muhida 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 tomziliadi, yengil aylana harakatlari bilan oynachaga surtiladi, so'ng havoda quritiladi (11-rasm), ilmoq alangada qizdirib sterilanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa, dizenfiksialovchi eritma - fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

Quritilgan preparat oynachada qotiriladi (fiksatsiyalanadi). Buning uchun ko'pincha fizikaviy usul ishlatiladi: ya'ni surtna orga tomonidan spirt lampasi alangasi ustidan 3-4 marta o'tkaziladi. Fiksatsialovchi kimyoviy vositalardan – efitr, etil yoki metil spirti, formalin, formalin-spirt va spirt-efit aralashmalari qo'llaniladi. Fiksatsiya uchun quritilgan preparat fiksatsialovchi 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 muhida o'sgan kulturalardan surtna tayyorlashda buyum oynasiga bir tomchi steril fizilogik eritma tomziliadi, unga alangada qizdirib sterilangan va sovutilgan bakteriologik ilmoqda probirkadan olingan mikroba kulturalari 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 Pfiyfer fuksini (1-2 daqiqa bo'yaladi) yoki metilen ko'ki (4-5 daqiqa bo'yaladi), karboli gentsianviolet (1-2 daqiqa bo'yaladi) ishlatiladi. Suv bilan yuvib, preparat filtr qog'ozda quritiladi, unga immersiya moyi tomdirib mikroskopning 90x obyektivida tekshiriladi.

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

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) staflokokklar – uzum shingiliga o'xshab; 5) streptokokklar – zanjirsimon; 6) sarsinalar – paket (kubik) shaklida joylashadi.

Tayovqhasimon bakteriyalar va basillalar. Bu shakldagi mikroblarning ba'zilar bakteriya, ba'zilar esa basilla deyiladi. Spora hosil qiladigan tayovqchalar – basilla va hosil qilmaydiganlari esa bakteriyadir. Tayovqhasimon bakteriyalarning joylashishiga qarab monobakteriya (monobasilla), diplobakteriya (diplobasilla) va streptobakteriya (streptobasilla) shakllari ajratiladi. Demak, spora hosil qiluvchi tayovqhasimon bakteriyalar har xil ataladi. Agar spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta bo'lmasa, basilla deb aytiladi. Agar spora mikroblarning ko'ndalang yuzasidan katta bo'lsa, klostridiyalari deyiladi. Basillalarning sporlari asosan mikroba 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 (yergul shaklli, bir burmali), spirillalar (ikki-uch va beshlagacha burmali), spiroxetalar (uda ko'p mayda, uzun va ingichka burmali) kiradi.

Riketsiya, xlamidiya va mikoplazmalarning morfologiyasi. Riketsiya va xlamidiyalari hujayra ichidagi obligat parazitlar bo'lib, kuchli polimorfizm bilan ifodalangan mayda grammanfiy mikroorganizmlar: kokksimon, tayovqhasimon va ipsimon shakllarda bo'ladi. Riketsiyalarning o'lchami 0,5 dan 3-4 mikrometrgacha, ipsimon shakllari 10-40 mikrometrgacha yetadi. Spora va kapsula hosil qilmaydi, Zdrodovskiy usulida qizil rangga bo'yaladi.

Xlamidiyalari sharsimon, oval yoki tayovqhasimon shakllarda bo'lib, o'lchamlari 0,1-2,5 mikrometrgacha. Xlamidiyalarning morfologiyasi ularning hujayra ichidagi rivojlanish sikliga bog'liq. U uncha katta bo'lmagan sharsimon elementar hosilaning yirik binar bo'lingan initial tanachalarga aylanishi bilan ifodalangan. Bo'linishdan oldin xlamidiya qismchalari bakteriya kapsulasini eslatadigan o'ziga xos tuzilmaga o'rnatiladi. Xlamidiyalari Romanovskiy – Gimza usulida bo'yaladi, grammanfiy.

Mikoplazmalar bakteriyalardan hujayra devorining yo'qligi bilan farq qiladi: uning o'rniga ularda uch qavatli sitoplazmatik membrana bo'ladi. Ularning o'lchamlari 125-250 mikrometrgacha. Sharsimon, oval yoki ipsimon shaklda, grammanfiy.

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ishlatiladigan bo'yloqlarni 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?

4 - mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Mikroboni 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'prikeyasi bilan, distillangan suv, etil spirti 96°, fiziologik eritma, bo'yloqlar eritmasi (karboli gensenviolet, sil fuksin), lyugol, probirka, bakteriya kulturası: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayvoqchalari).

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Surtmalarni bo'yashda ikki va undan ko'p bo'yloqlar 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 mikroob turining *tinktorial xususiyatlarini* aniqlashga imkon beradi.

Har xil mikroorganizmlarni protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular aynan bir xil bo'yloq bilan turlicha bo'yaladi. Bir qancha hollarda mikroob hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yovchi eritmalar tanlab ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884-yilda Xristian 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'yloqlar yod bilan mustahkam birikma

hosil qiladi. Grammanfiylarining pH 4-5, ularda bunday birikma hosil bo'lmaydi. Shu tufayli grammusbat bakteriyalar birinchi bo'yloq bilan bo'yagandan keyin spirt ta'sirida rangsizlanmaydi va binafshta rangni saqlab qoladi (13,14,17-rasmlar). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta'sirida rangsizlanadi va sil fuksin bilan qo'shimcha bo'yaganda, qizil rangga kiradi (15-16-rasmlar).

Gensenviolet (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 qatlamning g'ovaklari yirikroq bo'lib, spirtning o'tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo'lgan birikma parchalanib bo'yloqni tutib qololmaydi hamda spirt ta'sirida hujayra rangsizlanadi.

Gram usulida bo'yash

1. Alangaga tutib fiksatsiyalangan surtma filtr qog'oz orqali gensenviolet bo'yog'i bilan bo'yaladi - 2 daqiqa.
 2. Filtr qog'ozni olib, bo'yloq 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 fuksin bilan 2 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yaladi (fuksinni ishlatishdan oldin distillangan suv bilan 1:10 nisbada suyultirish kerak).
 6. Suvda yuvib, filtr qog'ozga shimdirib quritiladi va mikroskopning 90x obyektivida tekshiriladi.
- Suyuq gensenviolet (yoki kristallviolet) o'rniiga preparatga mos o'lchamda qirg'ilgan gensenviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'ozni ishlatish mumkin. Bunda preparatga qirg'ilgan bo'yloqli 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'yashining sababi nima?
4. Gram usulida bo'yash texnikasini ayting.
5. Lyugol eritmasining tarkibini ayting.

5 - m a v z u. 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 lampasi, bakterilogik ilmoq, kyuveta ko'prikeya bilan, 96^o li spirt, 5% li sulfat kislotasi eritmasi, distillangan suv, shisha idishlarda bo'yoqlar: Leftler metilen ko'ki, 0,5 % li neytralrot, karbolli Fuksin, Gimza bo'yog'i, 2 % li safranin (suvdagi eritmasi), fiziologik eritma, bakteriyalar kulturasini spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayogchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Sporalarni Auyksi, Meller, Zlatogorov, Peshkov usullarida 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. Doimiyliklarga – sitoplazma, qobiq, o'zak moddasi; doimiy emasliklarga esa ma'lum sharoitlarda faqat bakteriyalarning alohida turlarida shakllanib, turga oid belgi hisoblanadigan – spora, kapsula, xivchilar kiradi.

Sporalarni bo'yash. Tashqi muhitda spora hosil qiluvchi tayogchasiimon 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 kislotaga, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikrob 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'yalagan yorug'ilikni yaxshi sindiruvchi sporalar ko'rinadi. Demak, sporalar murakkab, maxsus usullarda bo'yaladi.

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

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

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

Zlatogorov usuli. Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksatsiyalashtirishda sporalar qobiq'ini bir oz yumshatish va ularni nobud qilish uchun spirt lampasi 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 daqiqaga 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 daqiqaga 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 obyektivdan foydalaniladi. Vegetativ hujayralar ko'k, sporalar qizil rangga bo'yaladi.

Peshkov usuli. Tayyorlangan surtmaga spirt lampasi alangasida fiksatsiyalanadi.

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

Kapsulalarni bo'yash. Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosilasidir. U muhim modda bo'lib yuqori molekulyar polisaxariddan iborat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziq muhitlarda ularga qon zardobi yoki fibrinsizlangan qon qo'shigandagina kapsula hosil bo'ladi). Kuydirgi, yomon sifati shish kasalliklari, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchilari kapsula hosil qiladi.

Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari



I SHARSIMON

II TAYYOQCHASIMON

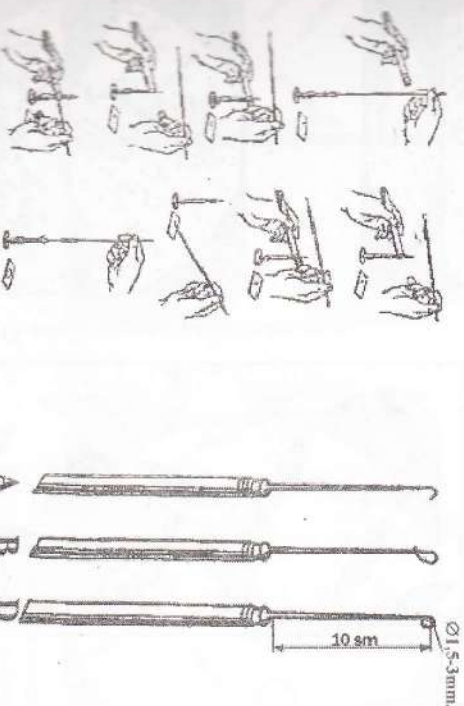
III BURAMASIMON

1. mikrokokklar
2. diplokokklar
3. tetrakokklar
4. streptokokklar
5. stafilokokklar
6. sarsinalar

1. monobakteriyalar
2. diplobakteriyalar
3. streptobakteriyalar
4. klostridiyalar
5. basillalar

1. vibriyonlar
2. leptospiralar
3. spiroxetalar
4. spirillalar

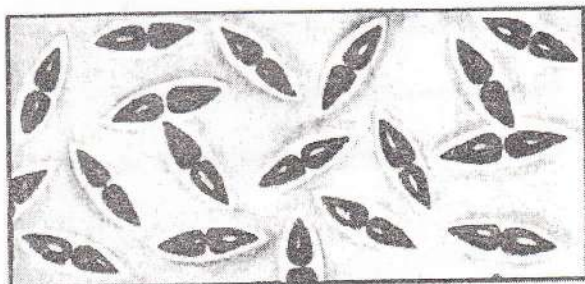
10-rasm. Bakteriyalarning asosiy shakllari.



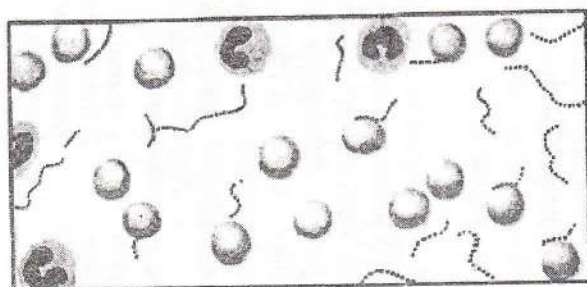
11-rasm. Surtma-preparat tayyorlash sxemasi.

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

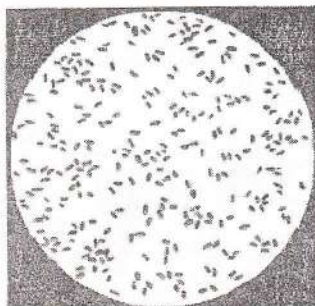
Gram usulida bo'yalgan surtmalarda bakteriyalarning ko'rinishi



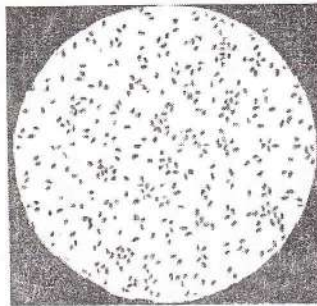
13-rasm. *Diplococcus pneumoniae*.



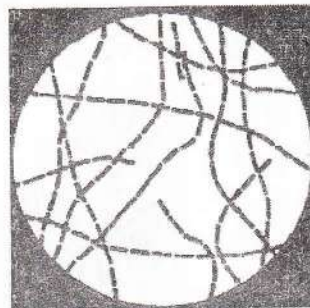
14-rasm. *Streptococcus pyogenes* qonda.



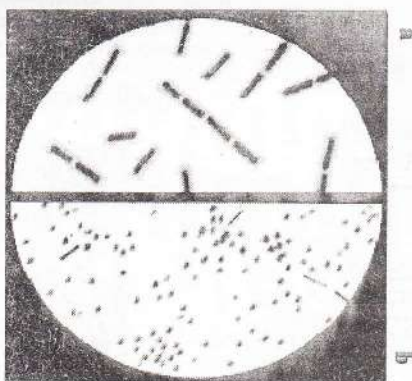
15-rasm. *E. coli* – grammanfiy
tayoqchalar.



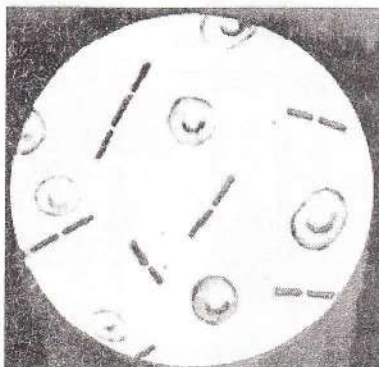
16-rasm. *Salmonella* – grammanfiy
tayoqchalar.



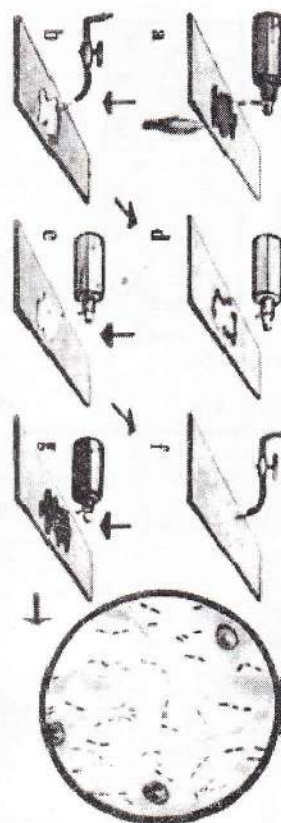
17-rasm. *Bac. anthracis* – grammusbat
tayoqchalar.



19-rasm. *Bac. anthracis*
Olt usulida bo'yalgan:
a-kapsulasi sarig',
basillalar-qo'ng'ir rangda
b-sporasi Sil-Nilsen
usulida bo'yalgan.



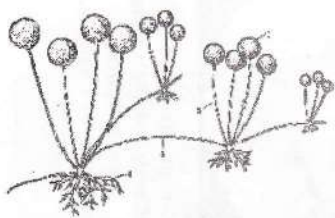
20-rasm. *Bac. anthracis*
Lefter usulida bo'yalgan:
kapsulasi pushti,
basillalar-ko'k rangda.



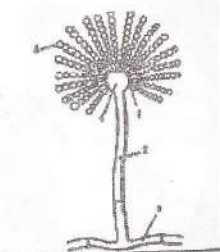
18-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.
a-sil fuksini bilan bug' paydo bo'lguncha olov ustida qizdirib bo'yaladi; b-bo'yog
suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e-avval spirt,
keyin f – suv bilan yuviladi va g – metilen ko'ki bilan bo'yaladi.
Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.

Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni
bo'yash usullari

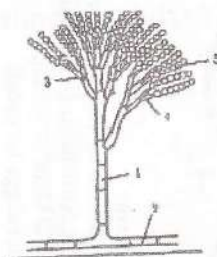
Zamburug'larning morfologiyasi



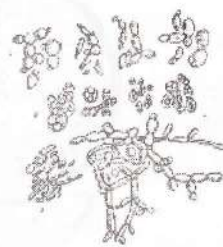
21-rasm. Mukor – boshchali mog'orning tuzilishi:
1-sporangiy; 2-sporangiofor;
3-stolon; 4-rizoidlar



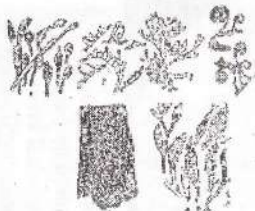
22-rasm. Aspergillus – zamburug'ining tuzilishi:
1-sterigmalar; 2-konidiofor;
3-vegetativ gif; 4-shaklli kengayish; 5-konidiyalar.



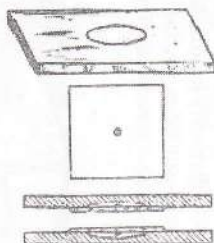
23-rasm. Penitsillum – zamburug'ining tuzilishi:
1-konidiofor; 2-vegetativ gif;
3-metulalar; 4-sterigmalar;
5-konidiyalar.



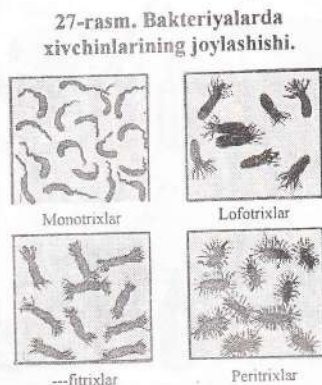
24-rasm. Aчитqı va aчитqısımın zamburug'lar:
1-haqiqiy aчитqılar (saxaromisetlar);
2-sporali asklar; 3-aчитqısımın zamburug'ların psevdomitseliylari blastosporalari bilan.



25-rasm. Takomillashmagan zamburug'-trixofiton:
1-klamidosporalar; 2-mitseliyning shoxlanishi;
3-sochda mikrokonidiy zanjirlari;
4-makrokonidiylar.



26-rasm. Osilgan tomchi usulida preparat tayyorlash.



27-rasm. Bakteriyalarda xivchınların joylashishi.

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

Olt usuli.

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

Maxin usuli. 1. Fiksatsiya qilingan gon yoki tang'ali surtma Leffler ko'ki bilan bug' hosil bo'lguncha qizdirib, issiq holda 5-7 daqiqa bo'yali. 2. Bo'yog'ni to'kib, tezda suv bilan yuviladi. 3. Filtr qog'ozda quritib, mikroskopda ko'riliadi. Kapsula – pushi-qizil; vegetativ hujayra – ko'k rangda bo'ladi (20-rasm).

Romanovskiy-Gimza usuli.

1. Fiksatsiya qilingan surtma, Petri kosachasida gugurt cho'plari ustiga surtmasi pastga qaratib joylashtiriladi. Uning ostiga Gimza bo'yog'ining 1:10 nisbatda distillangan suvdagi eritmasini quyilib 40-50 daqiqa bo'yali. 2. Suv bilan yuvib, quritiladi, mikroskopda ko'riliadi. Kapsula – pushi, hujayra – ko'k rangda.

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

Sil-Nilsen usuli

1. Fiksatsiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'oz qo'yib, ustiga karboli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdirib va 5-7 daqiqa ko'prikhada turadi.

2. Filtr qog'ozni olib tashlab, ustiga sufat 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'yali.

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

Mikroskopda kislotağa chidamli bakteriyalar — qizil; chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (Диагностика инфекционных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. М., Колос, 1968, с.101) surtmaga karbolli Sil fukisini quyib 1-2 daqiqaga bug' paydo bo'lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislota bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirt (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (18-rasm).

Qondan surtma tayyorlash va spiroxetalarini bo'yash. Toza, yog'sizlantirilgan buyum oynachasining bir chetiga yaqin bir tomchi qon tomdiriladi. Ikkinchi buyum oynachasining silliqdlangan tomoni tomchiga 45° burchakda qo'yiladi va pastdagi oynachaning ikkinchi tomoniga yengilgina surtish harakati bilan siljiladi. Natijada qon oynachada bir xilda yoyilib yupqa qatlam hosil bo'ladi. Uni havoda quritib metil spirti yoki etil spirti va efir aralashmasida fiksatsiya qilish kerak. Preparat Romanovskiy Gimza usulida bo'yog'ning ishchi eritmasi (1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo'yog') bilan 10-20 daqiqaga bo'yaladi. Suv bilan yuvib havoda quritiladi.

Leptospiralar pushti-binafsha, eritrotsitlar pushti, leykositlarning o'zagi binafsha rangda bo'ladi.

Riketsiyalarni Zdradovskiy usulida bo'yash. Surtma Sil fukisini suyultirmasi (10 ml distillangan suvga 10-15 tomchi) bilan 5 daqiqaga davomida bo'yaladi va suv bilan yuviladi. Surtmaga 0,5% li limon kislota eritmasi bilan islov beriladi. Keyin suv bilan yuviladi. Preparat metilen ko'ki bilan 1 daqiqaga davomida bo'yaladi, suv bilan yuviladi va quritiladi.

Riketsiyalar — qizil, ular parazitlik qilayotgan hujayra sitoplazmasi — moviy, o'zagi — ko'k rangda bo'ladi.

Nazorat savollari:

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

6 - m a v z u. 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 mukor, penitsillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zamburug'lar kulturasini. Suyuq oziq muhitida o'stirilgan achitqi kulturasini. Buyum va yopqich oynachalar, bakteriologik ilmoq, probirkada spirt, gliserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayog'chasi, pichan tayog'chasi kulturasini, mavzuga oid plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

2. Harakatchan mikroorganizmlar (ichak, pichan tayog'chalari)dan «ezilgan» va «osilgan» tomchi usullarida preparatlar tayyorlash. Ularni mikroskopda ko'rib, bakteriyalarni harakatlanishini kuzatish, o'rganib, dafarga 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 xlorofilli yo'q, zaxiradagi moddasi glikogen (kraxmal emas), hujayra devorida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug' hujayrasi ingichka ipchalardan iborat bo'lib bularga — giflar deyiladi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib zamburug' tanasini — mitseliysini hosil qiladi. Zamburug' mitseliysi oziq muhitida substratli (koloniya oziq muhitga mustahkam kiradi) va havoii (oziq muhit ustida) bo'ladi. Mitseliysining tuzilishi bo'yicha barcha zamburug'lar *tuban* va *yugori* zamburug'larga bo'linib to'rt sinfga kiritilgan. Fikomisetlar (Phycomycetes) — tuban zamburug'larga kirib, ularning mitseliysi bo'g'inlarga bo'linmagani, ko'p o'zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomisetlar

(Ascomycetes), bazidomitssetlar (basidiomycetes) va takomillashmagan zamburug'lar (Fungi imperfecti, Deuteromycetes) yuqori zamburug'larga kiradi (mikomitsetlar). Ularning mitseliysi giffari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat.

Zamburug'lar vegetativ, reproduktiv (jinsiy va jinsiz) usullarda ko'payadi. Vegetativ usulda maxsus ko'payish organlarisiz – mitseliy qismchalari, mitseliy parchalanganda hosil bo'lgan sporalar (xlamidaspora, oidiyalar, artrosporalar, blastosporalar va h.k.), bilan amalga oshadi. Reprodukativ usulda zamburug'lar maxsus organlar yordamida ko'payadi. Jinsiz ko'payish maxsus endogen (sporan-giyasporalar, zoosporalar) yoki ekzogen (konidiyalar) hujayralar yordamida kechadi. Jinsiy ko'payishda ikki hujayraning yadrosi, qo'shilib, keyin bo'linadi va maxsus giffar hosil bo'ladi. Giffarda esa spora hosil qiluvchi organlar paydo bo'ladi.

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

Zamburug'larning suslo agarda o'sishi.

Boshchali – mukor mog'ori fikomitsetlar vakili. Suslo agarda birinchi sutkada yumshoq kulrang pardak qatlam hosil qilib o'sadi. 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 (21-rasm).

Mikomitssetlarning vakili – penitsiliyum, aspergillus va h.k.lar mitseliysi ko'p hujayrali bo'g'inlarga bo'lingan, mitseliyalarning ichida konidiyalar, konidiyalarning 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, konidiyalarni tashuvchi uchlari to'g'inog'ich boshiga o'xshab, undan tarqalgan nurdek har tomonga zanjirsimon joylashgan ekzosporalar o'sib chiqadi (22-rasm).

Penitsilla ham takomillashmagan zamburug'. Suslo agarda ikkinchi-uchunchi sutkalarda momiq pardak kulrang – yashil yoki yashil cheti oq hoshiyali nozik qatlam hosil qilib o'sadi. Zamburug'ning mitseliysi bo'g'inlarga bo'lingan va shahobchasimon tarqalgan

ko'payuvchi giff bor. Uning uchida shingil shaklli konidiyalar (ekzosporalar) hosil bo'lib, zanjirsimon joylashadi (23-rasm).

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 glitserindan iborat suyuqlik yanada yaxshi) solinadi. Mitseliy iplarini tarqatib, yopqich oyna bilan yopiladi. Mukordan tayyorlangan preparat mikroskopning x8 obyektivida, penitsiliyum, aspergilluslar x40 obyektivda ko'riladi.

Aktinomitssetlar (nursimon zamburug'lar). Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomitssetlar mitseliysining giffari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giffalarning qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Mitseliysi avval substratli keyin havo bo'lib, koloniyalar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zich konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi. Aktinomitssetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomitssetlar 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 kulturedan ilmoq bilan olib, surtma tayyorlanadi. Qotirilgan surtma Pfeyffer fuksini bilan bo'yaladi.

Achitqilar (drojji) – xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular mitseliysiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar (24-rasm). 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 oziq moddalar zaxirasi (glukogen, 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 kultureasi olinadi. Yopqich oyna bilan yopib mikroskopning

immersiya sistemasida ko'riladi. Achiqgi hujayralarini x40 obyektivda 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 xivchilar yordamida harakatlanadi, ular mikrobtanasining turli qismlarida joylashadi. Shunga qarab, harakatlanishi ham turlicha bo'ladi (27-rasm).

1. Monotrix – xivchini bitta bo'lib, tanasining bir uchida joylashgan. Monotrix bakteriyalar xivchinsiz tomoniga qarab harakatlanadi.
2. Lofotrix – tanasining bir uchida bir tutam xivchilar joylashgan.
3. Amfitrix – bu guruh bakteriyalarda xivchilar tanasining ikki uchida to'p-to'p bo'lib joylashgan.

4. Peritrix – bu guruh bakteriyalarda xivchilar hujayrasining hamma tomonidan o'sib chiqqan. Tartibsiz harakatlanadi.

Bakteriyalarning harakatini «osilgan tomchi», «ezilgan tomchi» usullarida preparat tayyorlab, yarim 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 sterilangan fiziologik eritmada yoki suvda suspenziya tayyorlanadi.

«*Osilgan tomchi preparati*». Bu preparatni tayyorlash uchun o'rasi 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 yopiladiki, undagi tomchi chuqurchaning o'rtasida bo'lsin. Oyna ehtiyotlik bilan to'ng'ariladi, ana shunda zich yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (26-rasm). Preparat quruq obyektiv sistemasida, yengil qorong'ilashtirilgan ko'rish maydonida (diafragma va tushirilgan kondensordan foydalaniladi) tekshiriladi. Avval x8 obyektivda 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 putfakchalari bo'lmastigi kerak. Suyuqlikning ortiqchasi filtr qog'oziga shindirib olinadi. Bunday preparat tez qurib qolishi mumkin. Undan uzoq muddat foydalaniladigan

bo'lsa, qoplagich oyna chetlariga vazelin surtib qog'yish yoki «osilgan» tomchi preparatni tayyorlash kerak.

Nazorat savollari:

1. Mog'or zamburug'larining morfologik xususiyati.
2. Achiqjilarning morfologik xususiyatlari.
3. Bakteriyalarning xivchining joylashishi.
4. Bakteriyalarning harakatlanishining turi nimaga bog'liq?
5. Bakteriyalarning harakatlanishi qanday usullarda o'rganiladi?

7 - m a v z u. Oziq muhitlarini tayyorlash

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

Material va jihozlar: Oziq muhitini tayyorlash uchun ingridiyentlar (go'sht suvi, pepton, agar-agar, jelatina, kimyoviy toza osh tuzi); GPA, GPB, Kite-Tarossi, Endo, Levin muhitlari, tarozi toshlari bilan, voronka, Petri kosachasi, tiqini probirkalar, ko'balat, paxta dokali filtr, elektr plitka, shtativ, pH ni aniqlash uchun Mixaelis komparatori, lakmus qog'oz, mavzuga oid plakatlardir.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

2. Go'sht-peptonli bulonning pHni 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, olingugurt, 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'taridan olinadigan azotsiz organik modda, oziq muhiti zich holatga keltiradi.

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

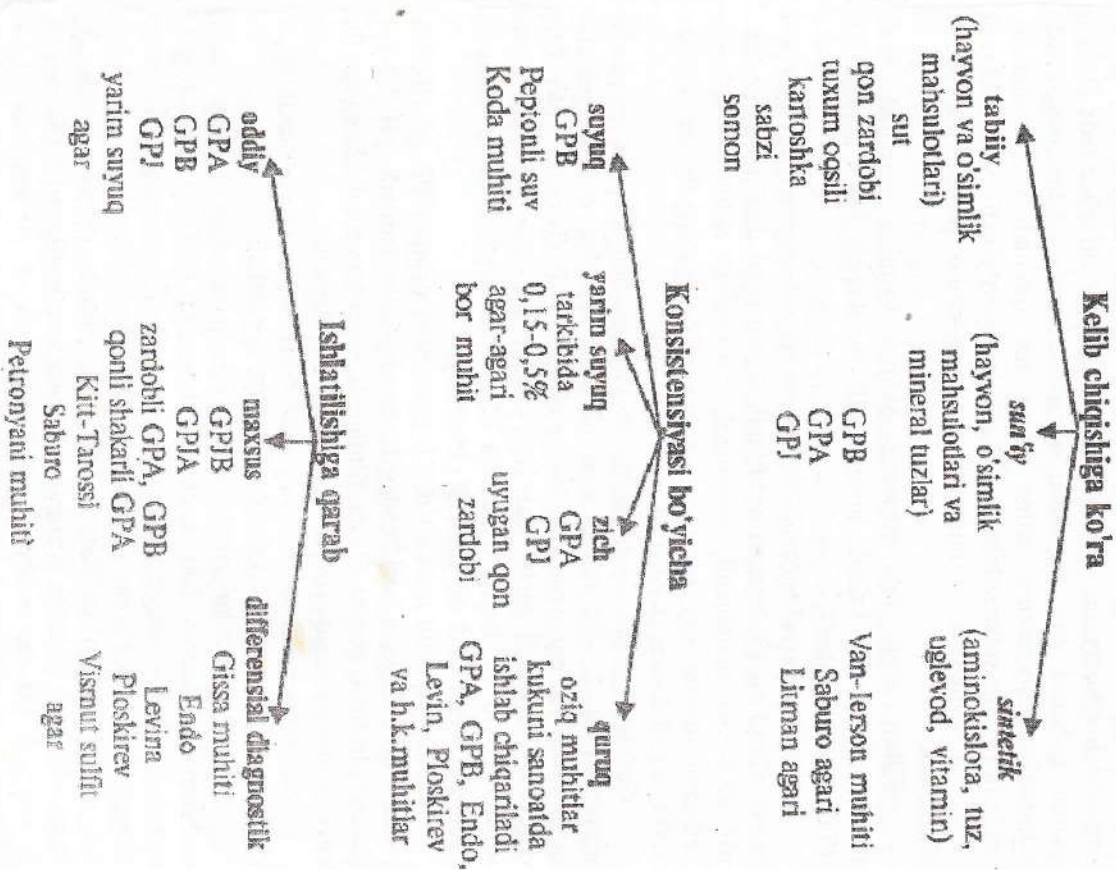
Jelatina – hayvonlar oqsili. Tog'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot.

Oziq muhittar kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi bo'yicha klassifikatsiyalanadi. Kelib chiqishi bo'yicha tabiiy, sun'iy va sintetik oziq muhittar farqlanadi. Tabiiy oziq muhittar hayvonot va o'simlik mahsulotlaridan (go'sht, sut, tuxum, qon zardobi, sabzavotlar, kazein va boshqalardan) tayyorlanadi. Sun'iy oziq muhittar hayvonot va o'simlik mahsulotlari, mineral tuzlardan tayyorlanadi (GPB, GPA, GPJ). Sintetik oziq muhittar tarkibi aniq nisbatlarda olingan kimyoviy toza moddalar – aminokislotalar, uglevodlar, vitaminlar, mineral tuzlardan tayyorlanadi (Saburo, Chapek muhittari).

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

Ishlatilishiga ko'ra oziq muhittar oddiy, maxsus va differensial - diagnostik turlariga bo'linadi. Oddiyiga 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 muhittar oddiy oziq muhittarda rivojlanmaydigan mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Selektiv, elektiv, to'plovchi oziq muhittar ham maxsus muhit turlari hisoblanadi. Selektiv oziq muhiti tekshirilyotgan 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 kislota hosil qiluvchi bakteriyalar, ichak tayogchasi, gemolitik staffilokokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).

Oziq muhittarning klassifikatsiyasi



Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktioagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalari 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 sovug suv quyiladi (1:2 nisbatda), aralashtirib, bir sutka salqin ($4-6^{\circ}\text{C}$) li joyga qo'yiladi yoki ikki soat 37°C da saqlanadi, so'ngra bir soat qaynatilib paxta-doka filtrda filtrlanadi.

Filtni siqib olib, filtratga oldingi hajmiga yetguncha suv qo'shildi. 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% natiriy xlorid va 1% pepton qo'shildi. Keyin u 10 daqiqa qaynatiladi, pH ($7,2-7,4$) aniqlanadi, sovutiladi, filtrlanadi; oldingi miqdoriga yetkazish uchun suv qo'shildi, zarur idishlarga quyib, avtoklavda 120°C da 30 daqiqa sterilanadi.

Go'sht-peptonli agar (GPA) tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib kegunicha 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 sterilanadi. Probikaldagi GPA qiyatiladi (35-rasm).

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

Go'sht-peptonli yarim suyuq agar GPB singari tayyorlanadi, faqat agar kammog miqdorda - ya'ni 0,15 - 0,5% qo'shildi.

Mikroorganizmlar muhit reaksiyasiga juda sezgir bo'ladi. Oziq muhitining reaksiyasi ikki usulda elektrometrik (LPU 01 markali pH-metrida) va kalorimetrik usulda aniqlanadi. Ko'pincha oddiy Mixeels to'plami, Uolpol komporatoridan foydalaniladi. To'plamda pH 5,4 - 8,4 gacha bo'lgan indikatorlar bor (metanitrofenol, paranitrofenol). Komporatoridagi maxsus 6 ta uyaga sxemada ko'rsatilgandek (34-rasm): 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 probikalar; 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 yetkaziladi va necha ml sarflanganini aniqlanadi. 2ml muhitga 0,3 ml sarflandi. Muhitning umumiy miqdori - 1litr. Unga qancha NaOH qo'shamiz? Demak, $0,3 \times 1000 : 2 = 150 \text{ ml}$ 0,1n. yoki 15 ml 1 n NaOH qo'shish kerak. Odatda pH 0,1-0,2 ga ko'proq olinadi, chunki avtoklavdan keyin u kisloratli tarafga o'zgaradi va optimal holga tushadi.

Nazorat savollari:

1. Oziq muhitlar klassifikatsiyasini ayting.
2. Pepton, agar-agar va jelatina nima? Ular qanday oziq muhiti 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.

8 - mavzu. Sterilizatsiya usullari

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Sterilizatsiya usullarini o'rganish. **Material va jihozlar:** avtoklav, Paster pechi, Kox apparati, Zeyts, Shamberlan filtri, temostat, sterilizator, Petri kosachalari, bakteriologik probikalar, kolbalar, darajali pipetkalar, shpris, igna, pinsetlar, mavzuga oid plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Laboratoriyalarda oziq muhitlar, shisha idishlar (probirka, pipetka, kolba va h.k.), asboblari, bog'lovchi materiallar, xalalar sterilanadi. Maxsus ish sharoitini yaratish uchun havo va boksda buyumlar harn sterilanadi. Sterillashning bir necha fizikaviy va kimyoviy usullari

mayjud. Bu usullarning ta'sir etish mexanizmi har xil bo'lgani bilan, ular ikkita asosiy talabga javob berishi kerak.

1. Mikrobnii to'liq nasizlantirish. 2. Sterillanayotgan materialni fiziko-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qolish.

Fizikaviy usul: 1. Qurug' issiq bilan sterillash. *Olovda* – bakterio-logik ilmoq, paster pipetkalari, oynalar, asboblari cho'g'dek qizartirib sterilanadi.

Qurug' qizdirilgan havo bilan sterillash maxsus ikki qavat devorli metall quritgich shkaf - yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (28-rasm). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterilanadi. Kolbalarni paxta tiqin 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 sterilashning 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, oziq muhitlar, rezina narsalarni qurug' issiqda sterilash mumkin emas.

2. Nam issiq bilan sterillash. *Qaynatish* – onson, oddiy sterillash usuli bo'lib, maxsus sterilizator (30-rasm) yoki toza idishlardan foydalaniladi. Bu usulda ignalar, shpris, pinsetlar, qaychi, skalpellar, rezinali va shisha narsalar sterilizator setkasidagi 2 – 3 qavatli doka ustiga qo'yib sterilanadi. Shprislarni qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblari – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rabi sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopguncha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20 – 30 daqiqaga 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 sterilashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (29-rasm). 100°C da 30-40 daqiqaga ketma-ket 3 kun sterilanadi. Avtoklavda ham 100°C da bo'lib-bo'lib sterilash mumkin. Bu usulda 100°C dan ortiq haroratga chidamsiz – uglevodli oziq muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterilanadi.

Tindalizatsiya – 100°C dan kam haroratda suv hammomida bo'lib-bo'lib sterilash. 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 sterilanadi.

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

Bug' bilan bosim ostida yugori haroratda sterilash (avtoklavlash) – 100°C dan ortiq haroratda sterilashning 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 mayjud (31,32-rasm). Avtoklavda 100°C ga chidamli oziq muhitlar (GPA, GPB, fiziologik eritma), qog'ozga o'rangan shisha idishlar, metall biksga solingan bog'lovchi materiallar, xalatlari zararsizlantiriladi. Sterillash vaqti tugashi 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 ketmaguncha avtoklavning qopqog'ini ochish mumkin emas. Chunki bosim tez tushganida avtoklavdagi suyuq muhitlar qaynab ketadi, natijada probirkalarning tiqini suyuqlik bilan birga otiladi.

Filtirlash usulida sterilanuvchi suyuqlik bakterio-logik filtrlardan (33-rasm) o'tkaziladi. Qattiq – keramikali (silindr shaklli Shamberlan, Berkefeld), asbestli (plastina ko'rinishida Zeyts, F₂ va SF) va membranali (g'ovakli ultrafiltrlar, kollodiyli membranalar) filtrlar bo'ladi.

* *Ultrabug' shisha nurlari bilan sterilash* uchun maxsus bakterisid lampalari ishlatiladi. Boks, operatsiya xonalarining havosini zararsizlantirishda ko'proq qo'llaniladi.

Ultrarovush bilan sterilash usuli suv, sut, ba'zi mahsulotlar, teri xomashyosini zararsizlantirishda ishlatiladi.

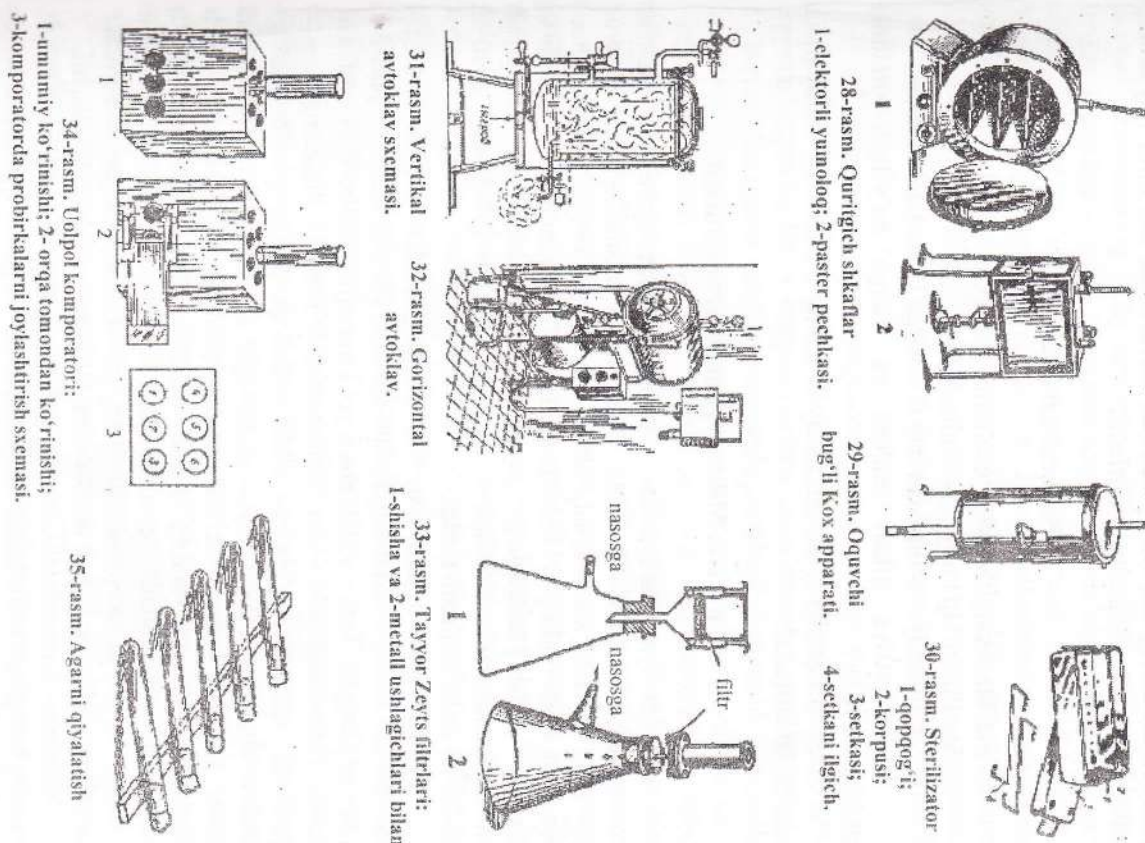
Kimyoviy moddalar yordamida sterilash laboratoriya amaliyotida cheklangan. Bu usul asosan: vaksina, davolovchi va diagnostik zardoblarni bakterial zararlanshidan saqlash uchun ishlatiladi – *konserveratsiya* qilinadi. Vaksina va zardoblar – fenol (0,25 – 0,5% li), xloroform (0,5% li), formalin (0,05% li), meriolat (1:500 - 1:10 000) bilan; agglutinatsiyalanuvchi zardoblar bor kislotasi, toluol, glitserin bilan konservatsiyalanadi.

Sterillash usullari

Fizikaviy			Kimyoviy
Quruq issiqlik	Nam issiqlik	Filtrlash va h.k. usullar	
1. Olov yordamida sterillash Flombirlash (bakteriologik ilmoq, pinset va h.k. metall predmetlar) 2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar). Quritgich shakllarda sterillash vaqti: 160° da - 2 soat 170° da - 1,5 soat 180° da - 1 soat	1. Qaynatish - sterilizatorida 20-30 min (shpris, igna, pinset, qaychi, skalpel va h.k.) 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 saqllovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi. 3. yuqorigi 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 4. Pasterizatsiya. Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min qizdirib tezda (4-8°C cha) sovutiladi - sut, go'sht, baliq va sabzovot konservalari.	Suyuqliklar quyidagi filtrlardan o'tkaziladi: 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeyts 4) Membranali filtr (ultrafiltrlar) Ultrabinafsha nurlari bilan bakterisid lampalar yordamida boks, operatsiya xonalari havosi sterillanadi. Ultratovush yordamida (suv, sut, ba'zi teri xomashyosi mahsulotlari)	I Oziq muhit, vaksina davolovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish 1. xloroform 2. toluol 3. efir 4. fenol 5. formalin 6. mertiolat 7 bor kislotasi 8. glitserinlar bilan. II. Dezinfeksiya uchun: - 1-3% li xloramin - 3-5% li fenol - 70% li spirt va hokazo

Sterillash (lotincha naslsizlash) - turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporal shakllarini) to'liq yo'qotishga - o'ldirishga qaratilgan.

Sterilizatsiya



Kimyoviy moddalar laboratoriyalarda *dezinfektsiya* uchun ham ishlatiladi: 1-3 % li xloramin, 3-5 % li fenol, 70 % spirt, 3-5-10 % li o'yuvchi ishqorlar. Dezinfektsiya sterillashdan farq qilib, unda faqat patogen mikroorganizmlar o'ldiriladi, sterillashda esa biror buyumdagi 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», «Dezinfektsiya» tushunchalarining mohiyati va amalda ishlatilishi?

9 - m a v z u. Mikroorganizmlarni o'stirish

Laboratoriya sharoitlarida o'stirilgan mikroorganizmlar mikrob kulturalari deb ataladi. Kulturalari olish uchun tekshirilayotgan material (qon, to'qimalar emulsiyasi, shish suyuqligi, yiring, sut va h.k.) probirka, kolba yoki petri kosachalarida steril oziq muhitlarga ekitiladi va ma'lum vaqtda termostatga joylanadi. Termostatda har xil guruh mikroorganizmlar uchun kerak bo'lgan harorat (37-38°C; 26-30°C; 22-25°C) doim saqlanib turadi.

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun jihozlar. Termostat ikki devorli shkak, tashqaridan issiqni izolatlaydigan material (plastika) bilan qoplangan. Termostatlar suvli yoki quruq-havoli bo'lishi mumkin. Suvli termostatda ikki devor orasiga suv (odatda distillangan suv) quyiladi, quruq-havolida esa ichki metall qavatning qizishi hisobiga unda aylanayotgan havo isiydi. Qizdirilgan suv yoki havo ichki metall devor orqali shkakning ichkarisiga issiqlik beradi. Termostat elektr tarmog'iga ulanadi, uning pastki qismida devorlar orasiga elektr istitgichlar o'rnatilgan. Termostatning ichida bir nechta to'rsimon tokchasi bo'lib, unga ekmal shtativlar, probirkalar solingan savatchalar, kolbalar, petri kosachalari, eksikatorlar, mikroaneroostatlar joylanadi.

Harorat termostatda termoregulator yordamida tutib turiladi. Harorat keragidan ortib ketrsa, termoregulator istigichni avtomatik tarzda

o'chiradi, pasayib ketrsa – uni qo'shadi. Termoregulatorlar bimetalli, «yostiqchal» va kontaktli (simobli) bo'lishi mumkin.

Bimetalli termoregulator ikkita o'zaro kavsharlangan sinkli va latunli U – shaklda egilgan plastinkalardan iborat. Bu plastinkaning bir tomoni termostatning ichki devoriga qimirlamaydigan qilib mahkamlanadi, ikkinchisi – erkin, harakatlanadigan tomoni elektrokontakt bilan elektr tarmog'iga ulangan klemmaga juda yaqin masofada turadi. Termostatni qizdirganda sinkli va latunli plastinkalar kengayish ko'effitsiyenti farqining kuchi bilan erkin tomoni siljib, termostatning qizishini to'xtatadi. Harorat termostatda oldindan klemmani termoregulatorning erkin plastinkasidan ma'lum masofada o'rnatib boshqariladi.

«Yostiqchal» termoregulatorlarning ta'sir etish prinsipi quyidagicha: yassi latunli qat-qat burmalangan qutiga suyuqlik kavsharlangan bo'lib, u maxsus qurilma bilan shunday mahkamlanadiki, harorat keragidan ortiq ko'tarilganda qutichadagi suyuqlik kengayib, uning devorlariga bosim o'tkazadi va tarmoqdan o'chish paydo bo'ladi. Termostat sovuqli bilan qutichadagi suyuqlik ham soviydi va uning devorlariga («yostiqchal») bosim o'tkazmaydi, shuning uchun «yostiqchal» richagli sterjenga tegib, u isitish tarmog'iga ulanadi.

Zamonaviy termostatlarda odatda **kontaktli termoregulatorlar** ishlatiladi – ikki tomoniga platinali simlar kavsharlangan simobli termometr. Simning bir uchi termometr kanaligacha keladi, ikkinchisi esa tashqaridan klemmada tugaydi. Sim tashqi magnit yordamida termometr simob ustunidan har xil darajada joylashtiriladi va harorat termostatda avtomatik tarzda tutib turiladi.

Anaerob va mikroaerofil bakteriyalarni o'stirish uchun eksikatorlar va anaerostatlar ishlatiladi.

Ekstat o'bu qopqog'i zich yopishadigan shisha idish. Uning tubiga havo kislorodini faol bog'laydigan kimyoviy modda (masalan, pirogallol bilan o'yuvchi natriy) solingan ochiq Petri kosachasi qo'yiladi. Yuqorida eksikatorning bo'rtiq qismiga teshikchali farfor plastina (taglik) qo'yiladi, uning ustiga ekmal probirka yoki kocachalarni joylab, qopqog'i zich yopiladi. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chelalariga vazelin surtiladi, keyin termostatga qo'yiladi.

Anaerostat – germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni (CO_2 , N_2 , O_2 va h.k.) berish uchun jo'mraklari va vakuum-monometrlari bor. Ekmalarni silindrning ichiga joylashtirib, qopqog'i yopiladi va nasos yordamida eksikator

ichidagi havo chiqariladi. Undagi holatni vakuum-monometr milimetr Simob ustunida (0 dan 760 gacha) ko'rsatadi. Anaerostat ekmalar bilan termostatga qo'yiladi.

Mikroblarni ekish texnikasi. Sut, yog', somon, silos, suv, yiring, o'lgan hayvonlar to'qimalaridan bakteriyali kulturalarini olish uchun steril oziq muhitlarga ekiyadi. Albatta ekish vaqtida tashqaridan bakteriya tushishiga yo'l qo'ymaslik uchun bu jarayon yonib turgan gaz yoki spirt lampasi alangasi yaqinida bajariladi. Ekish ilmoq yoki paster pipetkalar bilan olib boriladi. Laboratoriyaga tekshirish uchun keltirilgan har bir material maxsus jumallarda qayd etiladi.

Ekishdan avval maxsus moqalarni bilan probirkaga (kolba yoki Petri kosachasiga) ekspertiza rag'ami, mikroorganizm nomi va ekish sanasi yoziladi. Mikroorganizmlar zich oziq muhida o'stirilgan bo'lsa, ekish yoki preparat tayyorlash uchun bakterioologik material bakterioologik ilmoq yoki igna bilan olinadi; suyuq oziq muhitdan hujayralarni olish uchun esa steril pipetkalar ishlatiladi. Bakterioologik ilmoq ingichka platinali simdan yasalgan bo'lib, u metall tutqichga mahkamlanadi. Bakterioologik ilmoqning diametri 1,5 – 3 mm. Bakterioologik ilmoq (igna) mikroorganizm hujayralarini olishdan oldin sterilanadi. Buning uchun sim tutqich bilan tutashgan joyigacha yonib turgan gaz yoki spirt lampasi alangasida qizarguncha qizdiriladi. Bunda bir tekis sterilanishi uchun ilmoq alangada vertikal holatda tutib turiladi, keyin tezda mikroorganizmlar bor idishga solinadi.

Mikroorganizmlar hujayrasini shikastlamaslik uchun, ilmoq (igna) idishning ichki yuzasiga yoki oziq muhitning mikro o'smagan joyiga tegdirib sovutiladi va shundan keyingina kamroq miqdorda mikro massasi olinadi.

Probirkada zich oziq muhida o'stirilgan mikroorganizmlar hujayralari quyidagicha olinadi: kulturali probirka chap qo'lda ushlanadi, oziq muhitning mikroorganizmlar o'sgan yuzasi yuqoriga qaragan bo'lishi va yaxshi ko'rinishi kerak. Probirka gorizontali yoki sal qiya ushlanadi. O'ng qo'lda ilmoq qalander ushlanadi, gorelka alangasida qizdiriladi. So'ngra ilmoqni qo'yib yubormay, mayda va nomisiz barmoqlar bilan paxta-dokali tiqining tashqi tomoni kaftga bosilib, tiqin probirkadan olinadi. Ochiq probirkaning cheltari alanga ustida yengilgina qizdiriladi, probirkaga steril ilmoqni kiritib, kamroq mikro massasi olinadi va ilmoq probirkadan chiqariladi. Probirkaning cheltari yana gorelka alangasida qizdiriladi, keyin paxta-dokali tiqining

ichkariga kiradigan tomoni ham alangadan o'tkazib olinadi va probirka yopilib shativga qo'yiladi.

Olingan material preparat tayyorlash uchun ishlatiladi. Ilmoqda qolgan mikroorganizmlar hujayralari gorelka alangasida kuydiriladi.

Suyuq oziq muhida o'sgan mikroorganizmlar hujayralari steril pipetkada, kamroq hollarda – ilmoqda olinadi. O'ng qo'ling o'rtasi va bosh barmoqlari bilan steril pipetka olinadi, chap qo'liga suyuq muhiti probirka (kolba)ni ushlab, yuqorida aytilgan ehtiyot choralarini ko'rib, pipetka suyuqlikka yuboriladi. Bir qism muhitdan olib, probirka tiqin bilan yopiladi. Olingan namuna preparat tayyorlash uchun yoki yangi oziq muhitga ekish uchun ishlatiladi. So'ngra ishlatilgan pipetka atrofdagi buyumlarga tegdirmasdan tezda dezinfektsiyalovchi (0,5-3% li xloramining suvdagi eritmasi yoki 3-5% li fenolning suvdagi eritmasi) eritmaga solinadi.

Mikroorganizm hujayralarini bir muhitdan ikkinchisiga ekish, qayta ekish uchun chap qo'liga ikkita probirka – birida oziq muhit bor (o'zingizdan uzoqda), ikkinchisida – mikroorganizmlar kulturali bor (o'zingizga yaqin), o'ng qo'liga bakterioologik ilmoq olinadi. Ilmoq gorelka alangasida sterilanadi, keyin ikkala probirka tiqinlarini o'ng qo'ling kichik va nomisiz barmoqlari bilan kaftga bosib, probirkalar ochiladi. Bakterioologik ilmoq bilan mikroorganizmlar hujayralari olib olinadi va ilmoq qiyalatilgan steril oziq muhitga deyarli probirka tubigacha olib boriladi; ilmoq yuqoriga zigzag yoki to'g'ri (shtrix) chiziqli harakatlar bilan yurgizib olinadi. Igna bilan ekish ham xuddi shunday olib boriladi, faqat igna oziq muhitga tik yuboriladi.

Suyuq oziq muhitlarga ekish uchun, probirkalar deyarli vertikal ushlanadi, shunda tiqinlarga suyuqlik tegmaydi va ular namlamaydi. Ilmoq mikroorganizm hujayralari bilan to'g'ri oziq muhitga solinadi.

Yuqorida aytilgan barcha jarayonlar gorelka alangasi yonida (alangada emas!) imkon qadar tez bajariladi. Bu bilan kultura begona mikroorganizmlar tushishiga yo'l qo'yilmaydi. Tez harakatlanish, mikroorganizmlarni ekayotgan odam yonida yurish mumkin emas, chunki havo harakati kulturaning ifloslanishiga olib kelishi mumkin.

Suyuq oziq muhitlarga (sut, GPB) ekkanda chap qo'lda probirka surtmali preparatarni tayyorlagandagidek ushlanadi; o'ng qo'liga ektirilgan material bor ilmoq (yoki pipetka) va probirkalar tiqinlari olinadi. Gorelka alangasi yonida material tomchisi olingan ilmoq (yoki pipetka) probirkadagi steril muhitga yengilgina botirib olinadi. Probirkani tiqini bilan yopib, ilmoq olovda kuydiriladi, paster

pipetkasi esa dezinfektsiyalovchi eritma (karbol kislotasi, lizol, farmalin)ga solinadi. Ishlash jarayonida suyuqlik probirka tiqiniga tegmasligi va to'kilmasligi kerak. Tayyor ekitilgan oziq muhitlar termostatga qo'yiladi.

Zich oziq muhitga ekkanda qayta ekitiladigan kulturali va steril oziq muhiti (GPA) probirkalar chap qo'lida (agarning qiya yuzasi yuqorida) tiqinlari gorelka alangasi tomonga qaratib qiya ushlanadi. Gorelka alangasi yonida ochilgan kulturali yoki boshqa materialli probirkaga ehtiyotlik bilan ilmoq kiritiladi va yengilgina tekshirila-yotgan materialga tegdirib, kamroq miqdorda (bir tomchi) olinadi hamda steril oziq muhiti probirkaga o'tkaziladi. Ilmoqni probirka tubiga yetkazib, kondensat suyuqligiga botiriladi va zigzag harakatlar bilan qiya agarning yuzasidan yuqorigacha surtib boriladi. Zich muhitga tik ekkanda probirka gorizontol ushlanadi. Ekmalar (probirkalar) termostatga o'stirishga qo'yiladi. 16-18, 24-48 soatdan keyin natija hisobga olinadi va bakteriyalarning kultural xususiyatlari o'rganiladi.

Suyuq oziq muhida mikroorganizmlarning o'sishi bakteriya hujayralarining ko'payishi hisobiga bir xilda loyqalanish, cho'kmaga tushish (bu holda muhit tiniq bo'ladi) bilan namoyon bo'ladi. Mikroorganizmlarning ba'zi turlarida havo kislorodiga talab katta bo'lib, ular suyuq muhiting yuzida parda hosil qilib o'sadi, bunda buton loyqalanmaydi. Qator hollarda bakteriya kulturalari bir vaqtda muhitni loyqalantradi, ko'p cho'kma hosil qiladi va probirka devorida halqa paydo qiladi.

Zich oziq muhitlarda kultural xususiyatlar o'sayotgan koloniya xarakteriga qarab aniqlanadi. Muhit yuziga ko'p miqdorda bakteriya hujayralari ekilsa, mikrobyoyilib o'sadi. Oziq muhiting keng yuzasiga kamroq hujayra ekilsa, har bir bakteriya hujayrasi bo'linib ko'payishi hisobiga alohida koloniya shakllanadi. Koloniyaning diametriga bog'liq ravishda ular katta, kichik, shudingsimon bo'lishi mumkin. Ko'pchilik bakteriyalar, aktinomitsetlar, mog'or zamburug'lari turlarining koloniyalari har xil oziq muhitlarda o'sganda har xil rangga bo'yalishi mumkin. Bu ularning bo'yovchi moddalar – pigment hosil qilishi bilan ifodalanadi. Agar pigment eruvchan bo'lsa, muhit to'liq bo'yaladi, erinmaydigan bo'lsa, faqat koloniya bo'yaladi. Har xil mikroorganizmlar turlari uchun aniq rangli – tilla rang, ko'k-yashil, oq, sariq, qizil va h.k. pigment hosil qilishi xarakterlidir. Pigment hosil bo'lish zich oziq muhitlarda yaxshi namoyon bo'ladi. Bunda harorat ham ahamiyatga ega;

ko'pchilik turlar uchun 25-30°C optimum hisoblanadi. Havo kislorodi va yorug'lik nurlari ham ma'lum darajada ta'sir etadi.

Mikroorganizmlarning kultural xususiyatlari keyingi mavzularda (Bakteriyalarning kultural, biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash) yanada batafsil yoritilgan.

Nazorat savollari:

1. Kultura nima.
2. Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qanday jihozlar ishlatiladi.
3. Mikroblarni ekish texnikasini ayting.
4. Mikroblarni o'stirishning mohiyatini ayting.
5. Mikroblarni ekish va qayta ekishning farqini ayting.

10 - mavzu. Sof kultura ajratib olish usullari (aerob va anaerob mikroorganizmlarni)

Mashg'ulotning maqsadi: Sof mikroby kultasini 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, salmone'llalar, pichan tayog'chasi).

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, daffarga yozish.

Laboratoriya amaliyotida ba'zi materiallarni bakteriologik tekshirganda unda ikki yoki bir nechta tur mikrobylar aralashmasi bo'lishi mumkin. Undan ajratib olingan bir turga mansub mikrobyga sof kultura deyiladi.

Mikrobylarning sof (bir turining) kultasini ajratish bakteriologik tekshirishlarning asosiy ishi hisoblanadi. Mikrobylarning xususiyatlarini o'rganish va ularning turini aniqlash uchun faqat uning sof kulturasini ishlatiladi. Sof kulturani ajratish maqsadida maxsus ekish usullarida bakteriyalarni alohida koloniyalar hosil qilib o'sishiga erishiladi (zich

oziq muhida). Koloniya bitta mikroob hujayrasining ko'payib, rivojlanishidan hosil bo'lishini hisobga olsak, alohida bitta koloniyadan steril oziq muhiga qayta ekisa, sof kultura ajratib olishga imkon beradi. Sof kulturani ajratishning har xil usullari mavjud: Paster, Kox, Drigalskiy, fizikaviy, kimyoviy va biologik.

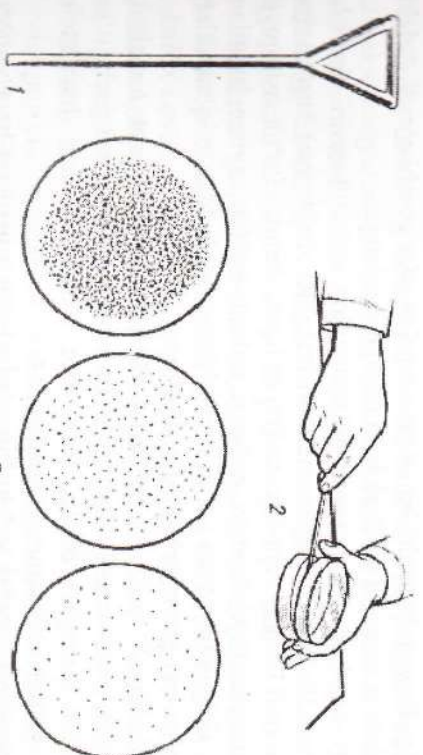
Paster usulida 8-10 probirkaga 9 ml dan GPB olinib, birinchisiga tekshiriladigan namundan pipetka bilan bir tomchi qo'shib, aralashiriladi va undan 0,1 ml ikkinchi va keyingi probirkalarga ketma-ket o'tkazilib aralashiriladi, oxirgi probirkagacha suyultiriladi. Suyultirish darajasi ortishi bilan mikroblar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

Kox usuli 5-6 probirkada eritilgan va 45-50°C gacha sovitilgan GPA 10-15 ml dan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'ng'arilib temostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. 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'rni oziq muhitini ishlatgan (38-rasm). Suv, sut, tezak va h.k. materiallarni tekshirishda qo'llanadi.

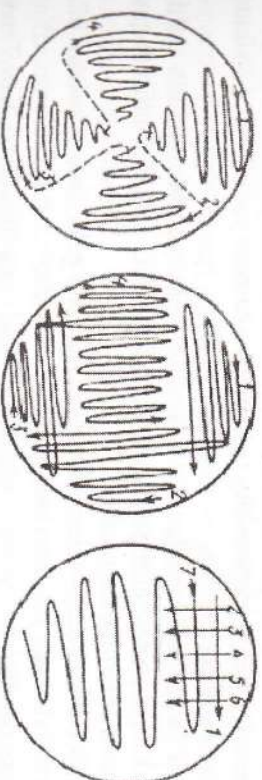
Drigalskiy usuli 5-6 GPA –li Petri kosachalari olinadi. Birinchi kosachadagi muhit makaziga bir tomchi tekshiriladigan material tomdirib shisha shpatei bilan muhit yuzasiga surtiladi (36-rasm).

Shpateidagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilib muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi kosachaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar o'sib chiqadi, ulardan tanlab steril oziq muhiga qayta ekib sof kultura ajratiladi. Shpatei o'rni oziq muhitni ilmoq ishlatish ham mumkin (37-rasm). Bu holda material zigzag yoki slirix chiziqlar ko'rinishida ekiladi.

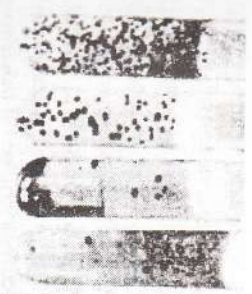
Fizikaviy usul – ko'pincha bakteriyalarning sporali shakllarini, sporasizlaridan ajratishi uchun qo'llaniladi. Tekshirilayotgan material suspenziyasi 80° C da 30-40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o'ladi, sporalar qoladi. Tekshirish Drigalskiy yoki Kox usullarida davom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



36-rasm. Mikroorganizmlar kulturetini zich oziq muhit yuzasiga shpatei bilan ekish: 1-Drigalskiy shpatei; 2-ekish; 3-mikroorganizmlarning o'sishi.



37-rasm. Mikroorganizmlar kulturetini zich oziq muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish:



38-rasm. Suyultirish usulida olingan anaerob bakteriyalarning chegaralangan koloniyalari.

Kimyoviy usul – oziq muhitlarga ma'lum miqdorda kimyoviy moddalar qo'shilganda bakteriyalarning ayrim turlari o'ladi (bakterisid ta'sir qiladi) ayrim – 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 kulturasini ajratishda qo'llaniladi: tekshiriladigan material (to'qima, bakteriya) suspensiyasi bilan moyil laboratoriya hayvon(oc sichqon, dengiz cho'chqasi, quyon) zararlantiriladi. Materialda patogen mikroob bo'lsa hayvon kasallanib o'ladi. O'lgan hayvoni yoritib, uning ichki organlaridan oziq muhitlarga ekinganda patogen mikroobning sof kulturasini ajratiladi.

Shukovich usuli – Material GPA ning kondensat tomchisiga ekinganda, harakatchan bakteriyalar muhitning yuqori qismigacha o'sadi va undan kangina olinib, toza oziq muhitga ekilisa, harakatchan bakteriyaning sof kulturasini ajratiladi.

Anaeroblarining sof kulturasini ajratish usullari ham yuqorida ko'rsatilgan prinsiplarga asoslanadi. Lekin maxsus anaerob mikrooblar o'sadigan muhitlardan foydalaniladi.

Drigalskiy usuli – Petri kosachalarida GPA o'miga maxsus qonli – glukozali GPA qo'llanilib, anaerob sharoit yaratiladi (eksikator, mikroanaerostat).

Vison-Bler muhitiga ekish usuli – oziq muhitda alohida-alohida gora rangli koloniyalar o'sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekinganda sof kultura ajratiladi.

Biosinov usuli – tekshirilayotgan material yoki aralash kultura bilan moyil laboratoriya hayvonlari zararlenganda, ular kasallanib o'ladi. Patologoanatomik yoritib, ularning ichki organlaridan Kitt-Tarossi muhitiga, yarim suyuq agar yoki qonli – glukozali agarga ekib, yuqorida ko'rsatilgan sof kultura ajratish usullaridan birini qo'llagan holda patogen anaeroblarning sof kulturasini ajratiladi.

Nazorat savollari:

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

11 - mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish

Mashg'ulotning maqsadi: talabalarni mikroorganizmlarning kultural xususiyatlari bilan tanishtirish, suyuq, yarim suyuq va zich oziq muhitlarda o'ziga xos o'sish xususiyatlarini o'zlashtirish. 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 – vorodod sulfid, indol, ammiakni aniqlash uchun. Tegishli javdallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Laboratoriyada har bir ajratilgan sof mikroob kulturalari albatta identifikatsiyalanadi (qiyoslash), 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 (ozig muhitlarda o'sishi)

4. Biokimyoviy xususiyatlari (saxarolitik, gemolitik, proteolitik)
5. Toksigenligi (ekzo- va endotoksinar hosil qilishi).
6. Patogenligi (laboratoriya hayvonlarini zararlash).
7. Antigenlik xususiyatlari (serologik reaksiyalar qo'yib).

Olingan ma'lumotlar maxsus qo'llanma Bergining (1984-yil) «Bakteriyalarni aniqlagich»dan foydalanib mikroob turi aniqlanadi. Mikroorganizmlarni identifikatsiyalashda faqat yosh (16 – 18 – 24 – 48

soat) bakteriya kulturalari ishlatiladi, chunki yoshi o'tishi bilan ularning xususiyatlari o'zgarishi mumkin. Zich oziq muhit yuzasida bakteriyalar o'ziga xos koloniyalar hosil qiladi.

Koloniya – deb bir tur bakteriya hujayrasining ko'payishidan hosil bo'lgan mikroblar to'planiga aytiladi. Har bir koloniyada bir necha yuz mingdan 2 mlrd.gacha mikroob hujayrasi bo'lishi mumkin.

Suyug oziq muhida o'sgan mikroorganizmlarning xususiyatlari:

1. Loyqalanish intensivligi va xossasi – bir xil (diffuz), kuchli, o'rta, kuchsiz.
2. Muhtining yuzasida – parda, halqa hosil bo'lishi. Pardaning rangi, tovlanishi (havorang, sarg'ish, kulrang, oq), qalinligi (ingichka, yo'g'on, nozik, dag'al), parda yuzining xossasi (qatlamlil, ajinli, silliq, to'simon, momiq), konsistensiyasi (mo'rt, shilimsiq, yog'li) hisobga olinadi.
3. Cho'kma hosil bo'lishi – ko'p, oz, yo'q. Holati – zich, yumshoq, donador, paxta bo'lakchasidek, ipr-ipt, ushqosimon, shilimsiq. Rangi – oq, sarg'ish, yashil, kulrang. Qoqib ko'rganda cho'kma tarqalib, muhiti bir xilda loyqalaniradi yoki yirik ba'zan mayda ipr-ipti bo'ladi. Shilimsiq cho'kma o'rigan soch ko'rinishida ko'tariladi. Mikroblar probirka devoriga yopishib rivojlanishi mumkin. Mikroorganizmlar ba'zan bir nechta xususiyatlarini namoyon qiladi.

Yarim suyug oziq muhida o'sgan mikroorganizmlarning xususiyatlari: harakatsiz bakteriyalar ekish yo'lidagi oq steygen ko'rinishida o'sadi, uning atrofidagi muhit tiniqligicha qoladi. Harakatlanarlari bulutchalar ko'rinishida tarqalib muhiti har xil darajada loyqalaniradi.

Zich oziq muhida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari:

Koloniyalar alohida chegaralangan va qo'shilib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanadi – ko'p, o'rta, kam. Keyin koloniyalar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi.

1. *Shakli* – to'g'ri (oval, yunalmoq), noto'g'ri (ildizsimon, yulduzsimon, amfobasimon, shoxlangan va h.k. (39-rasm)).
2. *O'lchami* diametrida ifodalanadi: yirik koloniyalar – 4 mm dan ortiq, o'rtaasi 2 – 4 mm, maydasi 1 – 2 mm va yanada mayda shudingsimonlari – 1 mm gacha bo'ladi.
3. *Chetlari* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'lginsimon, popukli, arratishli, jingalak (41-rasm).
4. *Tiniqligi va yaltirashi* (tushayotgan yorug'likda ko'rildi) – tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltiroq, fluoresensiyalovchi koloniya.
5. *Rangi* – kulrang-oq, rangsiz, oq, qora, sariq, qizil, ko'k, tillarang, yashil va boshqa rangli. Hosil qilgan pigmentning rangiga bog'liq.

6. *Yonidan ko'rinishi* o'stirilgan) kulturalar ishlatiladi, chunki eskrlarining kultural xususiyatlari (*releft*) – bo'rtiq, yassi, konussimon, tekis, markazi botiq va h.k. (40-rasm).
7. *Yuzasi* – silliq, g'adir-budir, unsimon, ajinsimon, qavat-qavat.
8. *Konsistensiyasi* – zich, ushqosimon, quruq, yarim suyug, xamirsimon, shilimsiq, kukunsimon, yog'li.
9. *Tuzilishi* – bir xil, sertola, donador, pardali (42-rasm).
10. *Hidi* – yo'q, bor (nimani eslatadi?).

Biokimyoviy xususiyatlar.

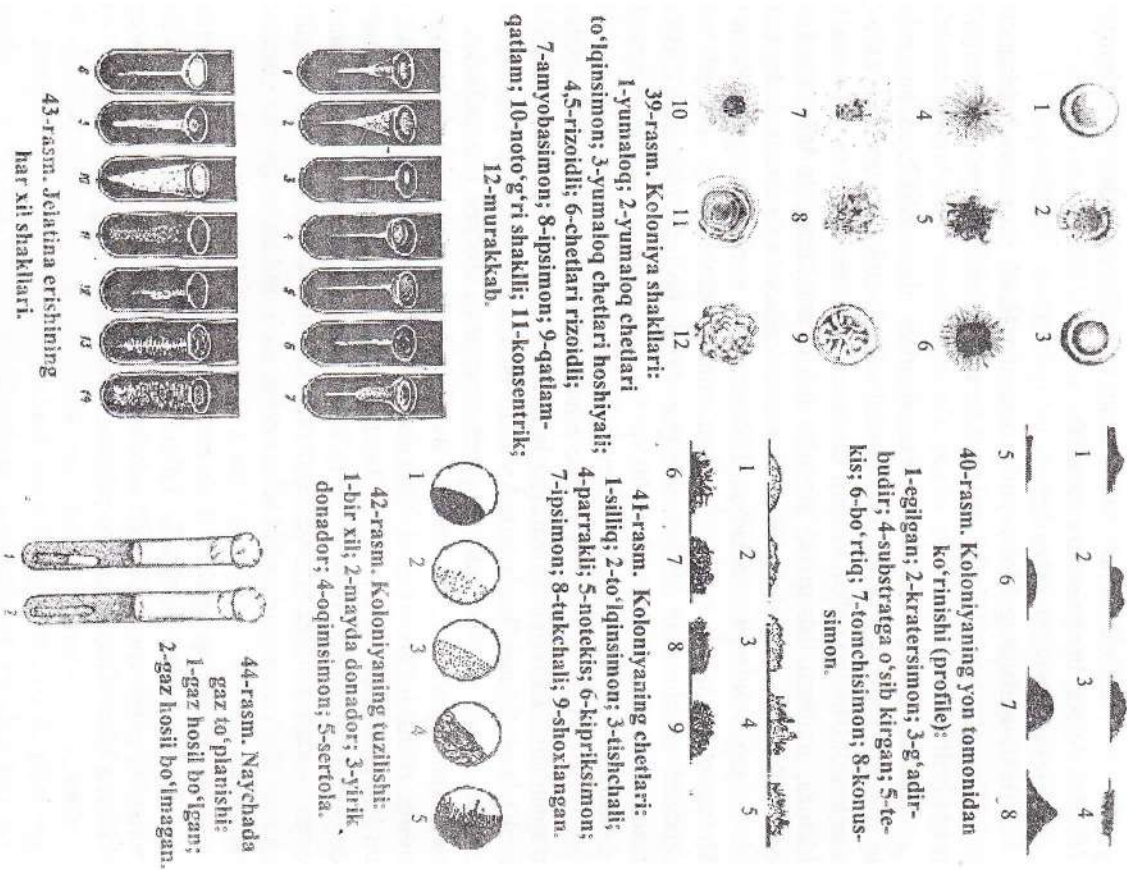
Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilarini aniqlashda muhim differensial diagnostik usul hisoblanadi.

Bakteriyaning saxarolitik xususiyatlari ularni tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlari bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning uchun kultura Gissa oziq muhiti (tarkibida – glukoza, laktoza, matoza, saxaroza, manit, dulsit, arabinoza, sorbit va h.k. bo'ladi) steril yog'sizlantirilgan sut, lakmusli sut, metilen ko'ki qo'shilgan sutlarga ekiladi. Termostatda o'stirib, uglevodlarni fermentatsiya qilish natijasi hisobga olinadi. Muhit rangi qizaradi – uglevod parchalanib kislotaga va gaz hosil bo'ladi (44-rasm). Bu magsadda uglevod va indikatorlar qo'shilgan yarim suyuqlirilgan agar, shuningdek, Endo, Levin, Ploskirev zich oziq muhitalari ishlatiladi.

Proteolitik xususiyatlarni ko'pincha GPJ ga kulturani tik ekib o'rganiladi. Bakteriya fermentlari ta'sirida jelatina proteolizga uchrab, muhida erish (suyulish) paydo bo'ladi. Har xil turdagi mikroob jelatinani eritishi har xil bo'ladi. Ba'zisi voronka, ba'zisi xaltachadek, paypogsimon va h.k. (43-rasm). Bakteriylar oqsilni parchalashning oxirgi mahsulotlari (indol, vodород sulfid, ammiak va h.k.) hosil bo'lishiga qarab aniqlanadi. Bunda maxsus tayyorlangan lakmus qog'ozlardan foydalaniladi. Qo'rg'oshin asetat eritmasi shindirilgan qogoz vodород sulfid ta'sirida qorayadi, ammiak ta'sirida pushti rangli lakmus qog'oz zangori, indol ta'sirida esa sariq indikator qog'oz pushti rangga kiradi.

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

Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish



Katalazani aniqlashning har xil usullari bor. 1. Agarda o'stirilgan sutkali kulturaning yuzasiga 1 ml 1%li vodorod peroksid (H_2O_2) eritmasi bir tekis yoyiladi. Katalaza bo'lsa, ajralgan kislorod gazli pufakchalari paydo bo'ladi. 2. Buyum oynasiga 3 – 10 %li vodorod peroksid eritmasi tomdirib unga bakterial ilmoqda agarli kultura aralashiriladi. Gaz pufakchalarining (kislorod) ajralishi katalazaning borligidan dalolat beradi. 3. Butonli kulturada katalazani aniqlash – probikaga 1 ml kultura quyib unga 1 ml 10%li vodorod peroksid eritmasi qo'shildi. Gaz pufakchalarining ajralishi (har xil darajada) katalazaning borligidan dalolat beradi.

Gemolitik xususiyatlar. Ba'zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, eritrotsitlarni lizisga uchratuvchi oqsil tabiiati moddalar-gemotoksinar hosil qiladi. U eritrotsit qobig'ini parchalaydi. Bakteriyalarning gemolitik xususiyatini aniqlash uchun kultura 5 % fibrinsizlangan qon aralashirilgan go'sht - peptonli agarga ekiladi (qonli agar). Agar gemolitik xususiyati bor bo'lsa, eritrotsitlar lizisga uchrab koloniya atrofiga tinig gemoliz paydo bo'ladi.

Nazorat savollari:

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

12 - 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 kosachasi, darajali 2 ml pipetka, mikroblar kulture (stafitokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shindirilgan qog'oz diski (flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik disklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi – antibiotiklarning faollik birligi, uni aniqlashni, bakteriyalarning antibiotiklarga sezganligini aniqlash usullarini tanishtiradi. Talabalarга vazifa beradi: qog'oz diskli usulini bajarish. Avvaldan tayyorlangan qog'oz diskli usulni xulosasini dafarga yozish. O'sishdan to'xtash zonasini o'lchash.

Antibiotiklar – bakteriyalardan (gramisidin, polimiksin, tirotrisin, subtilin va h.k.), aktinomisetlar (streptomisin, neomitsin, tetrasklin, eritromitsin va h.k.), mog'or va lishayniklar (penitsillin, grizeofulvin va h.k.), hayvonlar (lizosin, eritritin, ekmolin va h.k.) va o'simliklardan (allisin, fitoaleksin, aloe, piyoz va sarimsoq fitonsidlari va h.k.) olinadi. Bu ularning hayot faoliyatida 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 har xil guruh mikroblarga ta'sir etuvchi. Antibiotiklar sanoat asosida kaliy, natriy, kalsiyli tuzlari ko'rinishida tayyorlanadi va maxsus upakovkalarda chiqariladi. Hamma vaqt preparatni chiqarishdan avval uning faolligi aniqlanadi.

Antibiotiklar ma'lum mikroblar guruhiga antimikrobi ta'sir etib, ularni rivojlanishdan 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 oziq muhida unga sezgir standart test mikrobnı o'ldiradigan eng kam miqdoriga aytiladi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda o'ziga xos test mikroblar ishlatiladi: penitsillin uchun – *Bac. Subtilis*, biomitsin, 209-R, streptomitsin va tetrasklin uchun – *Bac. Subtilis*, biomitsin, levomitsetin uchun – *E.coli*. Antibiotiklarning biologik faol ta'sir birligi bir xil emas: penitsillinning 1 TB - 0,6 mkg, streptomitsin – 1 mkg, neomitsin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birlik (XTB) deyiladi.

Samarali antibiotiklarni tanlash uchun laboratoriyada ajratilgan sof kulturaning antibiotiklarga sezgirliги aniqlanadi. Mikroblarning antibiotiklarga sezgirliги 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 oziq muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish.

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

1-usul: a) oziq muhiti tanlash; b) antibiotikning eritmalarini tayyorlash; d) kulturani tekshirishga tayyorlash; e) natijani hisobga olish bilan bajariladi. Oziq muhiti mikroorganizmning turi va tekshirish uslubiga bog'liq ravishda kulturaning optimal o'sishini ta'minlashi kerak (pH 7,2 – 7,4). Bir turdagi mikrobnı bitta antibiotikka sezgirliğini aniqlashga: 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 oziq muhiti (GPB) olinadi. Antibiotiklarning asosiy va ishchi eritmalari ishlatiladi.

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

Qatoridagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisiga kolbadagi miqdori 0,5 mkg/ml bo'lgan antibiotikning ishchi eritmasidan 2 ml quyib, aralashtiriladi. Undan keyingi probirkaga 2ml dan ketma-ket o'tkazib birin-ketin suyultiriladi. Natijada birinchi probirkadagi oziq muhida antibiotik miqdori 0,25 mkg, ikkinchisida – 0,12 mkg, keyingisida – 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 mkg bo'ladi. Zich oziq muhida 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 dan (55°C) eritilgan GPA qo'stiladi va sekin chayqatib aralashtiriladi. Natijada Petri kosachalarida antibiotikning miqdori 20 marta kamayadi: 20, 10, 5, 2,5, 1,25 va 0,6 mkg. Muhit qolquncha stolda turadi. Antibiotik suyultirilgan oziq muhiti probirkalarga yoki Petri kosachalariga 16-18 soat o'stirilgan aniq konsentratsiyali (10000 mikroblar/ml) mikroblar kultursi 0,2 ml dan ektiladi. So'ng probirkalarning 1 ml da 1000 ta mikroblar bo'ladi. Termoskada 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdorini, yondagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdoriga qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakteriosatik miqdorini ko'rsatadi.

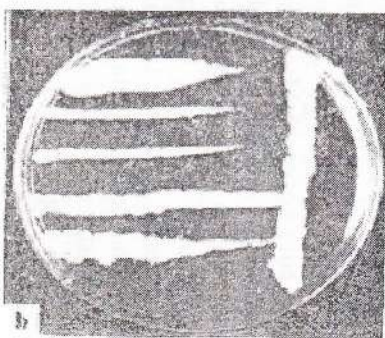
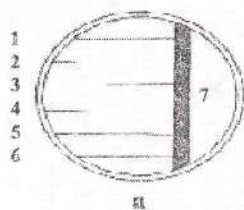
2-usul – laboratoriya amaliyotida ko'pincha agarga diffuzlash usuli qo'llaniladi. U perpendikulyar shtrixlar, agarli qoliplar, standart antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar usullarida bajariladi (45-46-rasm).

Antibiotikli standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalariga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so'ng, 1 ml 1 milliardli tekshiriladigan mikroob kultureni muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. O'rtiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalari 37°Cda 15 - 40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklarini 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 haroraida 2-3 soat, keyin 16-18 soat termostada saqlanib, natijasi diska qo'shib aniqlanadi: uning atrofiga mikroblar o'smagan hududning diametri lineyka bilan o'lchanib, mm larda ifodalanadi va quyidagicha baholanadi: o'smagan hududning diametri 15 mm gacha bo'lsa mikroob antibiotikka kam sezuvchan; 15-25 mm sezuvchan; o'smagan hudud bo'lmasa sezuvchan emas. O'smagan hudud diametri qancha katta bo'lsa, bakteriyaning ushbu antibiotikka sezuvchanligi shuncha yuqori bo'ladi.

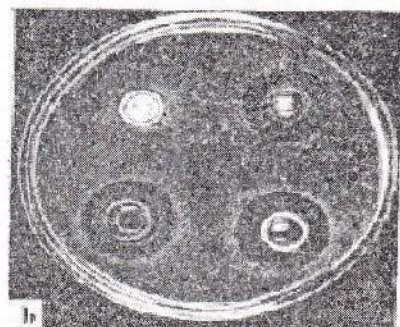
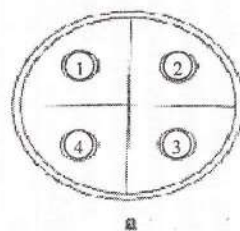
Nazorat savollari:

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 oziq muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyuqlirish usuli.

Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash



45-rasm. Kulturalarni antibiotiklarga seziluvchan perpendikular shtrixlar usulida aniqlash: a-ekish sxemasi; 1-6 test kultura shtrixlari; 7-antibiotik; b-ularning o'sishi.



46-rasm. Agarli qoliplar usulida antibiotiklarga seziluvchanlikni aniqlash: a-1-4 har xil antibiotiklar; b-kulturaning o'sishdan to'xtash zonas.

13 - m a v z u. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari

Mashg'ulotning maqsadi: Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullarini o'rganish. Mikroorganizmlarning LD-lethal dozasi, zararlantiruvchi dozasi – ZD aniqlashning 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, tegishli jadval va plakatlari.

Usulbiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar – fiziologik eritma bilan laboratoriya hayvonlarini zararlash usullarini o'rganadilar.

Laboratoriya hayvonlarini zararlash – biologik sinov o'tkazishdan maqsad: tekshiriladigan patmaterialdan qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratish, tekshiriladigan mikroob kulturasining patogenligini sinash, vaktsinalarning, immun zardoblarning samaradorligini aniqlash.

Sof kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlashga «biosinov» deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararliligi ham biosinovda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan mikroobning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroobning virulentlik (toksigenlik) xususiyatlari maxsus shartli birliklarda o'tchanadi: absolyut letal doza (Del – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %li letal doza (LD_{50}) - 50 % zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %li zararlavchi doza (ZD_{50}) - zararlangan hayvonlarni 50 % kasallanadi. LD_{50} va ZD_{50} – aniq ko'rsatkichlar hisoblanadi, chunki ular tajribaga olingan hayvonlarni ko'p qismini mikroobga sezuvchanligini ko'rsatadi. Del esa chidamli mikroob turlarini sezuvchanligini ko'rsatadi.

Tekshirilayotgan mikroob kulturasi LD_{50} ko'rsatkichi quyidagicha aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikroob hujayrasi bo'lgan suspenziyadan ketma-ket 500 mln, 250 mln, 125 mln, 62.5 mln ti suyultimalar tayyorlanadi. Har biri bilan 6 tadan oq sichqon qorin bo'shlig'i yoki terisi ostiga 0,5 ml dozada zararlantiradi. 10 kun davomida kuzatiladi. Odatda qo'zg'atuvchining hech qaysi dozasi zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmaydi. Shuning uchun LD_{50} statistik usulda aniqlanadi.

Rid va Mench usulida LD_{50} ni hisoblash

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

Rid va Mench usulida LD_{50} ni aniqlash. Jadvalda ko'rsatilgan tajriba natijasining haqiqiy raqamlari 3-4, kumulyativ ma'lumotlar esa 5-6 ustunlarda berilgan. 10^{-2} qatordagi 14 raqami shu dozada kichik doza bilan (10^{-3} , 10^{-4} va boshqalar) zararlangan barcha sichqonlar ham o'lishi mumkin edi degan ehtimoldan kelib chiqadi: $6+5+1=14$ ta sichqon. Xuddi shunday 5 ustundagi har bir dozaga qarshi, 6 ustundagi (tirik) barcha dozalar uchun kumulyativ ma'lumot aniqlanadi. Masalan, minimal dozada 10^{-6} zararlangan 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlanganidan keyin tirik qolgan barcha sichqonlar ham o'lmashgani mumkin edi. Demak, 10^{-6} dozada kumulyativ ko'rsatkich: $6+5+4+1=16$ ta sichqon. Boshqa dozalar uchun ham ko'rsatkichlar shu tarzda aniqlanadi. Kumulyativ ma'lumotlarga asoslanib, har bir dozada zararlangan o'lgan sichqonlar foizi hisoblanadi. Tajribada hech qaysi doza zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmagan, uni topish uchun matematik hisoblash kerak. Misolimizda LD_{50} 10^{-2} va 10^{-4} o'rtasida, ko'proq 10^{-4} ga yaqin. Farqini ($37,5$ dan 50% gacha) kattasiga nisbatan olib ($37,5$ dan $88,8\%$ gacha) proporsionallik faktori, ya'ni 10^{-4} dozani LD_{50} dan farqi aniqlanadi. Bu faktor suyultirish lagorifmiga ko'paytiriladi (faktor=10, lg=1). U 1 ga teng. $Uni 10^{-4}$ dan ayinsak LD_{50} 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, $LD_{50} = 10^{3,756}$. Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakteriya suspensiyasini suyuqlitirish darajasini topish uchun lagoritmik jadvaldan foydalaniladi. Antlogarifm va izlanayotgan suyuqlitirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun $10^3/ml$ bakteriya suspensiyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda, $LD_{50} = 10^3 \times 0,5 : 5747 = 87000$ mikrob hajiyasi.

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

Biosinov ko'pincha oq sichqon, kalamush, dengiz cho'chqasi, quyovlar, ayrim paytlarda tovuq, mushuk, it va yosh tabiiy moyil hayvonlar — qo'y, yirik shoxli hayvonlar va cho'chqalarda o'tkaziladi.

Laboratoriya hayvonlari maxsus xonalarda «Vivariyada» saqlanadi. Vivariyada chiqishi alohida ajratilgan karantin, sog'lom va zararlangan hayvonlar uchun bo'limlar bo'ladi. Zararlangan hayvonlar ular uchun ajratilgan alohida xonada saqlanadi. Yangi keltirilgan laboratoriya hayvonlarini veterinariya ko'rigidan o'tkazib, oq sichqonlar 10 kun, kalamush, dengiz cho'chqalari va quyovlar 21 kun karantinida saqlanadi. Vivariya kerakli anjom, laboratoriya idishlari, tarozi, termometr, hayvonlardan qon olish, zararlash, yorish va h.k. lar uchun asbob-uskunalar bilan jihozlanishi, sovuq kunlarda vivariyada harorat $12-20^\circ C$ bo'lishi kerak. Hayvonlar maxsus kataklarda saqlanadi, maxsus ratsion bilan oziqlantiriladi.

Biosinov o'tkazish uchun sog'lom, bir turda, yoshda va og'irlikda oq sichqonlar — 16 gr, dengiz cho'chqasi — 250-300 gr, quyov — 2, 3-5 kg tanlanadi. Ularning tana harorati o'lchanadi va belgilanadi: oq sichqon va kalamushlar anilin bo'yoqlar bilan, dengiz cho'chqasi va quyovlar temir sirg'a bilan belgilanadi. Qulay va xavfsiz ishlash uchun ular yaxshilab fiksatsiyalanadi (harakatsizlantiriladi).

Hayvonlarning zararlantirilgan joyi oq sichqondan tashqari jundan tozalanadi: spirt, 5% yod eritmasi, 2% karbol eritmasi bilan dezinfektsiyalanadi. Laboratoriya hayvonlarini zararlash uchun mikrob kulturasini, uning toksini yoki patmaterial suspensiyasi qo'llanadi. Patmaterialdan suspensiya steril 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 u yerga tekshiriladigan material surtiladi.

2. Teri orasiga — chap qo'l bilan teri tortiladi igna terining ichiga kirgiziladi, 0,2 ml gacha material yuboriladi. To'g'ri zararlangan yerda mayda, no'xatday shish hosil bo'ladi.

3. Teri ostiga—chap qo'l bilan teri ko'tarilganda uchburchak hosil bo'ladi va uning ichkarisiga shpritsning ignasi kiritiladi: quyov belining bir tomoniga 20-25 ml, dengiz cho'chqalariga 10 ml (50-rasm), oq sichqon va 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, quyovga 5-8 ml yuboriladi.

5. Qorin bo'shlig'iga laboratoriya hayvonining boshini pastga qaratib fiksatsiyalanadi va tekshiriladigan material 0,1-0,2 ml, shpritsning ignasi bilan, qorin bo'shlig'ining pastki 3 chi qismiga markaziy oq chiziqdan chetqoq yuboriladi (49-rasm).

6. Qon tomoriga — quyovlarning quloq venasiga (48-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (47-rasm), dengiz cho'chqasining to'g'ridan-to'g'ri yuragiga zararlantiriladi. Quyov, sichqon, kalamushlarni yuboriladigan yeri issiq suv yoki ksilol bilan ishlav beriladi. Shunda venalar qo'ng'ir to'q'irga o'zgarib ketadi.

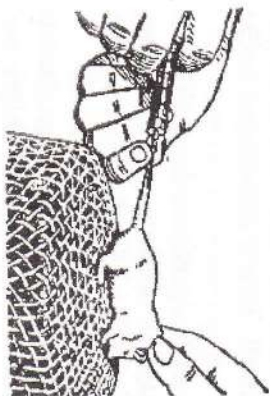
7. Bosh miyaga — quyovlarning ko'z usridagi suyagi binaqan joyiga (52-rasm), sichqonga esa shprits ignasi bilan miya suyagini testitib 0,2 ml yuboriladi (51-rasm).

8. Burunga — oldin hayvonning burmiga efir bilan namlangan paxta tutib narkozlanadi, keyin pipetka bilan material burmiga tomdiriladi.

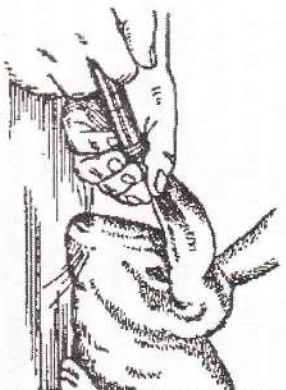
9. Og'iz orqali zararlash- patmaterial ovqat, suv bilan aralashtirib nonga shindirib laboratoriya hayvonlariga yediriladi yoki kichik zo'rd orqali yuboriladi.

10. Ko'z konyunktivasiga zararlash faqat yirik hayvonlar: it, quyov, dengiz cho'chqalarida o'tkaziladi. Ko'z qovoqlarini ushlab, material ko'zning ichki burchagiga 1-2 tomchi tomdiriladi.

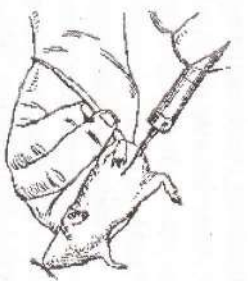
Laboratoriya hayvonlarini zararlash



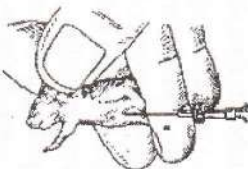
47-rasm. Sichqonning venasidan zararlash.



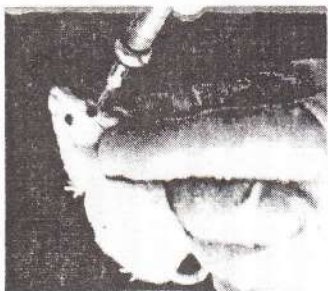
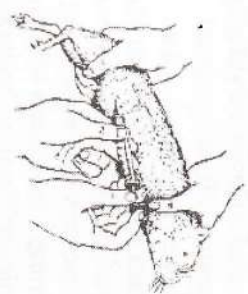
48-rasm. Quyoning quloq venasidan zararlash.



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



50-rasm. Dengiz cho'chqasini terisi ostiga zararlash.



51-rasm. Sichqonning miyasiga zararlash.



52-rasm. Quyoning miyasiga zararlash.

Nazorat savollari:

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

14 - m a v z u. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Jasadni bakteriologik tekshirish usulini o'rganish. 2. Patmaterial olib laboratoriyaga yo'llash qoidalarini bilish.

Material va jihozlar: Biosinovda o'lgan laboratoriya hayvoni jasadi, Paster pipetkalari, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, moyqalam, probirkalarda GPB, GPA, spirt, tamponlar, 5% fenol eritmasi bor idish, kyuveta, plakatlar, bo'yoqlar to'plami, mikroskop.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin, talabalar laboratoriyada hayvoni jasadini yoritib, ichki organlaridan GPA, GPB larga ekadi, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rishadi.

Diagnostik tekshirishda mikrobnig sof kulturasi ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoritiladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yoritib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobn atrof-muhitiga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblari bilan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (53-rasm), 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 ushlab, mushak, ikkala tomon qovurg'alarini yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'krak qafasi ochiladi. Oq sichqonning jigari va talog'i

alohida steril Petri kosachasiga olinadi. Undagi o'zgarishlar e'tiborga olinadi, jigar, taloq va yurak, o'pka, buyrak sirtini qizigan shpateida kuydirib, probirkali GPA, GPB larga ektiladi, surtmalar tayyorlanadi. Ekmalni probirkalarga, surtmalarga ekspertiza, organ raqamlari, sanasi yoziladi. Yurakdan steril paster pipetka bilan avval GPB, keyin GPAga ektiladi.

Xuddi shunday qorin bo'shlig'ini yaxshi ochish uchun qorin devorining chekkalari qaytarilib igna bilan mahkamlanadi. Qorin bo'shlig'i organlaridagi o'zgarishlar ham e'tiborga olinadi. Parenximatoz organlar, limfa tugunlardan, ilikdan oziq muhitlarga ektib, surtmalar tayyorlanadi. Ektilgan oziq muhitlar termostatlarga 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 stoli dezinfeksiyalanadi, asboblari sterilanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan qafas dezinfeksiyalanib, qolgan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash. Infeksion kasallikka gunon qilinganda vetvrach kerakli patologik materialni tekshirish uchun veterinariya laboratoriyasiga yo'llaydi. Material kasal, majburiy so'yilgan yoki o'lgan hayvonlardan olinadi. Lekin barcha hollarda antimikrobi preparatlar bilan davolanmagan hayvonlardan olingan ma'qul. Bakteriologik tekshirish uchun material sifatida mayda hayvonlar va parandalarning jasadlari, yirik hayvonlardan taloq, jigar (o't xaltasi bilan), buyrak to'qimalari, mushak, yurak (butunligicha), limfa tugunlar, qon (bakteriologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probirkalarda fibrinsizlangan qon; serologik tekshirish uchun ivigan qon), oshqozondagi massa, yiring, balg'am, sut, siydik, tashlangan homila, bosh miya, ichak qismchasi ikki tomoni boylangan holda, ilik suyagi, gunon qilingan oziqa namunasi, qondan tayyorlangan surtmalar va tamg'ali preparatlar yo'llanadi.

Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalariga 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 bir iktitasini 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 joylashishini inobatga olish kerak. Issiq kunlarda konservantni shunday tanlash kerakki, materialni buzilishdan saqlasin, qo'zg'atuvchini o'ldirmasin.

4. Patologik material germetik yopiladigan alyumini yoki emal idishga joylanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadi yog'och qirindisi solingan zich taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimib oladi). O'ta xavfli kasalliklarda (kuydirgi, manga, tuberkuloz, brutselloz, qorason) shisha idishga olingan bo'lsa, maxsus konteynerlarga joylanadi (54-55-rasm). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

5. Yo'llanma yoziladi. Unda xo'jalik manzili, jo'natilayotgan material nomi, 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 vaqtdagi epizootik holat, patologoanatomik yorish natijalari, o'zgarishlari, gunon qilingan diagnoz yoziladi.

6. Patumaterialni shaxsan veterinariya xodimining o'zi laboratoriyaga yetkazadi.

Laboratoriyada konservatsiya qilinmagan materialni 4°Cda 1-2 sutka, 50% li glitserinda konservatsiyalanganini bir necha hafta saqlash mumkin. Uzoq saqlash uchun material -15-20°Cda muzlatiladi.

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat: 1. Tekshirilayotgan materialda qo'zg'atuvchini aniqlash: Immunologik bo'lmagan usullar – bo'yalgan preparatlarni mikroskopik tekshirish, genetik usullarda (gen zondlari, PZR) qo'zg'atuvchining nuklein kislotalarini aniqlash. Immunologik usullar – serologik (PR, DPR, FAU, IF A va h.k.) reaksiyalarda qo'zg'atuvchi antigenini aniqlash. 2. Biosiniy qo'yish. 3. Materialni oziq muhitga ektib, qo'zg'atuvchi kulturatsini ajratish. 4. Serologik (retrospektiv) usul – AR, KBR.

Nazorat savollari:

1. Jasadni bakteriologik tekshirish usulini, maqsadini tushuntirng.
2. Patumaterial olish va laboratoriyaga yo'llash qoidalarini ayting.
3. Yo'llamada qanday ma'lumotlar bo'lishi kerak.

4. Bakteriologik tekshirish uchun qanday patologik materiallar olinadi.

5. Laboratoriya hayvonlarining jasadini yorish qoidasini aytin.

15 - m a v z u. Agglutinatsiya reaksiyasi

Mashg'ulotning maqsadi: Agglutinatsiya reaksiyasining mohiyatini bilish; probirkali agglutinatsiya reaksiyasini (AR), tomchili AR ni qo'yish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkalar, 1 va 5 ml. li pipetkalar, Paster pipetkalari, shativlar, y.sh.h. ijobiy (brutsellozli) zardobi, y.sh.h. normal zardobi; AR uchun brutselloz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, mavzuga oid plakalar.

Ushbu ko'rsatmalar

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

Barcha serologik tekshirishlar asosida antigen va antitelolarning o'zaro maxsus reaksiyalari yotadi.

Antigenlar – genetik begona moddalar, hayvon organizmiga parenteral yo'l bilan yuborilganda sensibilizatsiya, tolerantlik va antitelolar ishlab chiqarish kabi javob reaksiyasini paydo qilib, antitelolar bilan *in vivo* va *in vitro* maxsus o'zaro ta'sirlashadi. Korpuskular, hujayrali (bakteriyalar, eritrotsitlar) va eruvchi (molekular-dispersli) antigenlar farqlanadi. Antigenlarni polivalentli – antitelolar bilan bog' hosil qiluvchi bir qancha determinantli retseptorlari bor. To'liq qiyamali antigenlardan tashqari gaptenlar, ya'ni oqsilsiz polisaxaridlar, mikroob hujayrasi somatik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.

Antitelo – qon zardobi globulinli fraksiyasining yuqori molekuli maxsus oqsillari (immunoglobulinlar). Antigen va antitelolarning *in vitro* o'zaro ta'siri bo'yicha - cho'kmali (agglutinin, pretsipitin), erituvchi (bakteriolizin, genolizin) va neytrallovchi (toksinlarni zararsizlantiradi) reaksiyalar, antitelolar farqlanadi.

Diagnostik maqsadda qo'llanadigan serologik reaksiyalarda komponentlarning bittasi ma'lum bo'lishi kerak, u orqali maxsusligi tufayli boshqa komponentning borligi aniqlanadi. Serologik reaksiyalar

fiziologik eritmada qo'yiladi, chunki antigen va antitelo kuchsiz elektrolit muhida bog'lanadi.

Agglutinatsiya reaksiyasining mohiyati – qon zardobi tarkibidagi antitelo (agglutinin) maxsus antigen (agglutino-gen) bilan yopishib, cho'kma (agglutinat) paydo qiladi va probirka tubida xarakterli shaklda joylashadi. Mikroob hujayrasining antigen tuzilishiga bog'liq ravishda – O - somatik antigenlar mayda donador, xivchini H-antigenlar yirik donador cho'kma paydo qiladi. Veterinariya amaliyotida AR brutselloz, listerioz, leptospiroz, kampiobakterioz, salmonelloz, kolibakterioz va h.k. kasalliklariga diagnoz qo'yishda ishlatiladi.

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

Probirkali klassik usulda AR ni qo'yish texnikasi. Infeksiyaga bog'liq pavishta zardoblar yo'riqmaga asosan suyultiriladi. Yirik shoxli hayvonlar brutsellozida quyidagicha.

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

Y.sh.h. zardobi 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbada suyultiriladi. Shtativga birinchi qatorga 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbati 1:25 tayyorlanadi: 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 uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfektsiyalovchi eritmali idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0,05 ml dan antigen quyiladi (1 ml da 10 mlrd mikroob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo'ladi (56-rasm).

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

1. Ijobiy brutselloz zardobi + standart brutselloz antigeni natija - (+++++) ijobiy.

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

3. Standart brutselloz antigeni + fiziologik eritma natija (-) manfiy. Natijani hisobga olish (57-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

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

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

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

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

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

1:100 nisbatda agglutinatsiya (+ +) dan kam bo'lmasa natija ijobiy; 1:50 da gumoni hisoblanadi.

Tomchili AR usuli. Mikroob turini aniqlash va uni farqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun buyum oynachasiga aniq maxsus zardob va fiziologik erimadan (nazorat uchun) alohida tomchilar olinadi. Har bir tomchiga tekshirilayotgan mikroob bakterial ilmqda olib qo'shiladi, aralashiriladi. 5-10 daqiqada natija aniq bo'ladi. Ijobiy natijada suyuqlik tiniq, cho'kma donador bo'ladi. Bu usulda ko'proq kolibakterioz, salmonelloz qo'zg'atuvchilari tipizatsiya qilinadi (58-rasm).

Qon-tomchili AR usuli. Ko'pincha pulloroz, brutsellozga tekshirishda qo'llanadi. Yog'sizlantirilgan buyum oynasiga bir tomchi qon olib unga bir tomchi kerakli antigen (gemotoksilin bilan bo'yalgan) qo'shiladi va shisha tayyogcha bilan aralashiriladi. Musbat natijada 30-60 soniyadan keyin agglutinat paydo bo'ladi.

Sut halqali reaksiya. Y.sh.h. brutsellozga tekshirishda ishlatiladi. Probirkalarga 2-3 ml dan sut olib, 0,2 ml dan (2 tomchi) gemotoksilin bilan bo'yalgan antigen qo'shiladi. Sut bir xil bo'yalguncha aralashiriladi va 37°C da 45-60 daqqa saqlanadi. Sutta antitelo bo'lsa, antigen-antitelo kompleksi hosil bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko'tarilib ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi, halqa hosil bo'lmaydi (59-rasm).

Nazorat savollari:

1. Seroologik reaksiyalarning mohiyatini ayting.
2. Antigen, antitelo nima? Tushuncha bering.
3. Probirkali 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.

16 - m a v z u. Pretsipitatsiya reaksiyasi (PR)

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

Material va jihozlar: Probirkalarda ekstraksiya qilingan antigen, maxsus antigen, pretsipitatsiyalovchi zardob, normal zardob, Ullengut probirkalari, ularga shativ, Paster pipetkalari, rezina grushalar, Petri kosachalarida agar geli, eksikator, plakatlari, shamp - o'yiqalar hosil qilish uchun.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Pretsipitatsiya (lotincha *praecipitatus* - cho'kma) reaksiyasi antitelo (pretsipitnlar) va antigen (pretsipitinogenlar) o'zaro birlashib cho'kma (pretsipitat) hosil qilishi bilan ifodalanadi. PR da eruvchi (molekular-dispersi) antigenlar ishlatiladi. Pretsipitinogenlar yuqori haroratga (qaynatish, avtoklavlash) va chiritsiga chidamli. PR probirkalarda yoki agar gelida diffuz pretsipitatsiya usulida qo'yiladi. Ko'pincha kuydirgi kasalligiga tekshirishda Askoli (1910) halqali pretsipitatsiya reaksiyasi qo'llanadi.

Komponentlar:

1. Ekstrakt - tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patologik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqqa yoki 1 atmda. 1 soat sterilanadi. Sovugach uni maydalab ekstraksiyalanadi. Ekstraksiyalashning ikki usuli bor: a) issiq usul - maydalangan 1-2 g patmaterial probirkaga solinib, 1:10 nisbat fiziologik eritma quyiladi va suv hammomida 30-40 daqqa qaynatiladi; b) sovuq usul - 1-2 g patmaterialdan 1:10 nisbatda 0,3 % fenolli fiziologik eritma quyiladi va suspensiya tayyorlab 16-24 soat uy haroratida qoldiriladi. Ekstraktlar asbest paxta bilan filtrlanadi.

2. Standart pretsipitatsiyalovchi 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. *Zardob ustiga antigen quyish.* Ullengut probirkasiga 0,2-0,3 ml kuydirgi zardobi quyib, ustiga ohista probirka devoridan teng miqdorda

ekstrakt (antigen) quyiladi. Bunda komponentlar orasidagi chegara aniq ko'rinishi kerak.

2. *Antigen ostiga zardob quyish.* Ikkinchi usulda probirkaga avval 0,2-0,3 ml ekstrakt quyib, uning ostiga teng miqdorda Paster pipetkasi bilan kuydirgi zardobi quyiladi. Ikkala usulda ham natija ijobiy bo'lsa, ikkala komponentlar o'rtasida 1-2 daqiqada yaxshi ko'rinadigan tutunsimon rangda halqali pretsipitat hosil bo'ladi (61-rasm).

Nazorat reaksiyasi.

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

2. Sog'lom hayvon materiali ekstrakti + standart zardob (natija manfiy 1 soatda).

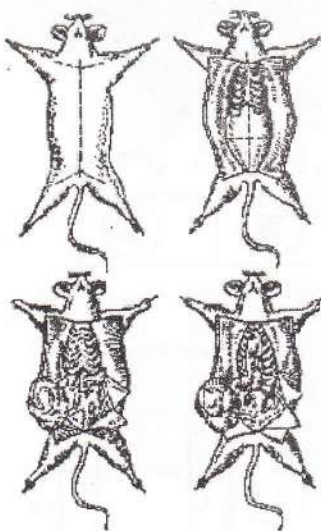
3. Standart antigen + normal zardob (natija manfiy 1 soatda).

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

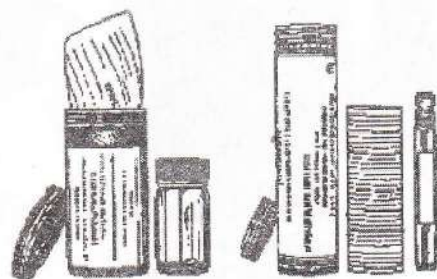
Natijani baholash. Ijobiy natija (+), gumonli natija (+-), manfiy natija (-).

Diffuzli PR. Buyum oynachasida yoki Petri kosachalaridagi 1 % agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yiqlar qilinadi (60,62-rasm). Markazdagi o'yiqa standart zardob, atrofidagilarga esa antigen namunalar Paster pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatorlarda bir sutka termostatda turgandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq pretsipitat chiziqlari ko'rinadi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Pretsipitatsiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun plastinalar fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiiy sulfat eritmasi quyiladi, bir necha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rinadi.

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



53-rasm. O'lgan sichqonning ko'krak va qorin bo'shlig'ini yorish tartibi.

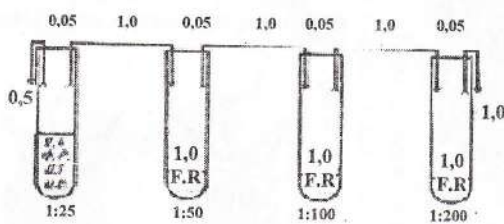


54-rasm. Patologik material namunalarini laboratoriyaga jo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).

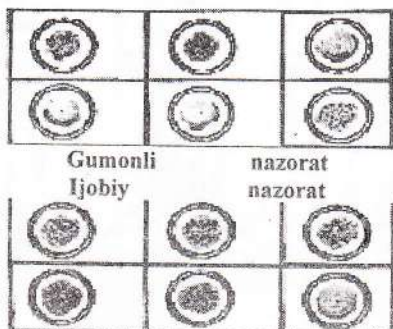


55-rasm. Namunani joylash elementlari:
1-namuna solingan idish, -tiqini leykoplastir bilan o'ralgan probirkalar yoki kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiros qog'oz; 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtirilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-g'ijimlangan qog'oz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

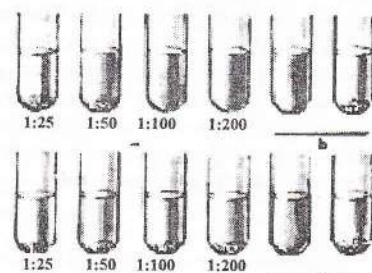
Agglutinatsiya reaksiyasi



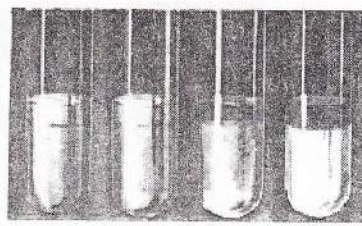
56-rasm. AR qo'yish sxemasi.



58-rasm. Plastinkali ARni baholash.

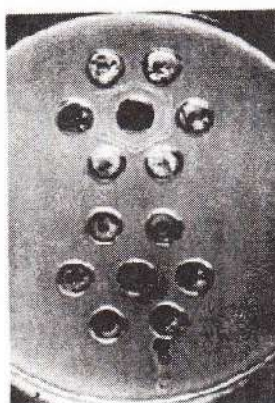
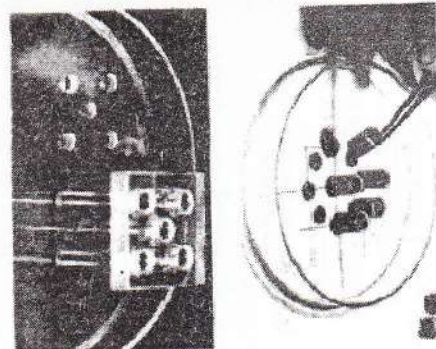
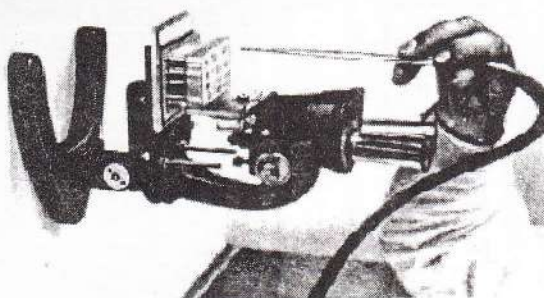


57-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol). A-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; t-nazorat.



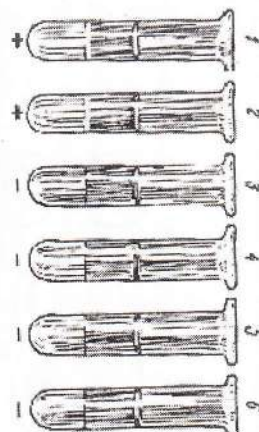
59-rasm. Sot haliqali reaksiya: a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.

60-rasm. DPR qo'yish usullari.



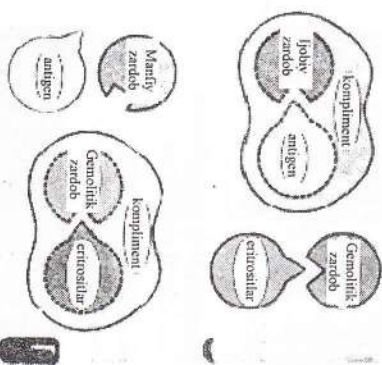
62-rasm. DPR. Chapda markazda pretsipitatsiyalovchi zardob, atrofidagi o'yiqlarda antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda markazda manfiy zardob, atrofidagi o'yiqlarda antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari yo'q.

61-rasm. Ijobiy pretsipitatsiya (Askoli) reaksiyasi.

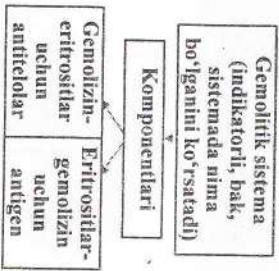
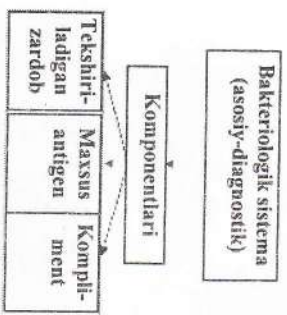


Pretsipitatsiya reaksiyasi

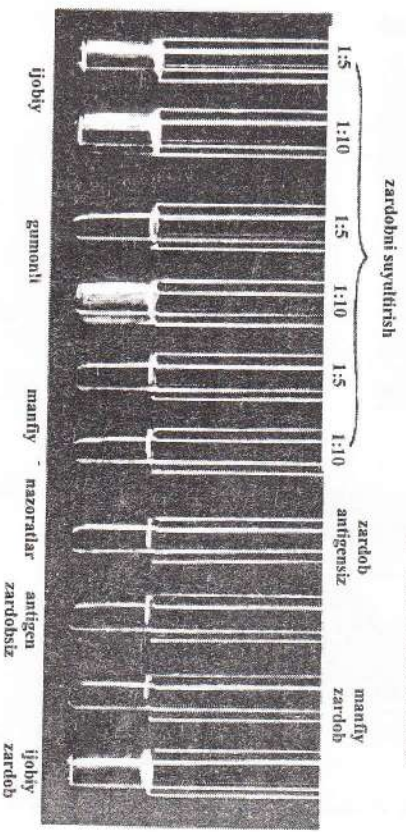
KBR - kompliment bog'lash reaksiyasi



63-rasm. KBR sxemasi:
1-ijoby; 2-manfiy



64-rasm. KBR sxemasi.



65-rasm. KBR natijasining ko'rinishi.

Nazorat savollari:

1. Pretsipitatsiya reaksiyasining amaliyotda ishlatilishi va mohiyati.
2. Pretsipitatsiya va agglutinatsiya reaksiyalarida antigenlarning farqi.
3. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasini qoyish texikasini tushuntiring.
4. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasining komponentlarini ayting.
5. Diffuz pretsipitatsiya reaksiyasini qo'yish, uning mohiyati.

17-m a v z u. Kompliment bog'lash reaksiyasi – KBR

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

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

Usuliy ko'rsatmalar

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

Kompliment bog'lash reaksiyasi Birinchi marta Borde va Jangular tomonidan 1901-yil ifoda etilgan, u juda sezgir va spetsifik reaksiya. Uning asosida – bakterioliz va gemoliz holatlari yotadi. Reaksiyaning namoyon bo'lishi AR va PR dan farq qilib, antigen va antitelolar faqat kompliment ishtirokidagina reaksiyaga kirishadi. Shuning uchun reaksiya ikki sistemada o'tadi:

1. Bakteriolitik – diagnostik sistema (antigen + antitelo + kompliment). Suyuqlik tinq, rangsiz bo'lgani uchun ularning o'zaro ta'siri natijasi ko'zga ko'rinmaydi.
2. Gemolitik-indikatorli sistema (gemolizin + eritrosit) bakteriolitik sistemada kompliment bog'langan yoki erkin qolganini aniqlashga imkon beradi. Demak, gemolitik sistemadagi gemolizin-antitelo; eritrositlar esa ular uchun antigen. Kompliment erkin qolsa aynan ularga ta'sir qiladi.

Bakteriolitik sistemaga gemolitik sistema qo'shildi. Eritrotsitlar gemoliz bo'lishiga yoki bo'lmastligiga qarab, bakteriolitik sistemada kompliment bog' bor, yo'qligi bilindi (63-64-rasm).

Ijroiy natijada qon zarodobidagi antitelolar bakteriolitik sistemada antigen bilan birikib, undagi komplimentni o'ziga bog'lab oladi. Natijada gemolitik sistema qo'shildigandan keyin eritrotsitlar lizisga uchramaydi (eritrotsitlar cho'kmaga tushadi).

Manfiy natijada antigen – antitelo kompleksi hosil bo'lmaydi, kompliment erkin qoladi, u gemosistemadagi eritrotsitlar bilan gemolizning o'zaro ta'sirida qatnashib eritrotsitlarni lizisga uchratadi. Probirkada suyuqlik, tiniq, qizil rangda bo'ladi, cho'kma bo'lmaydi.

Kompliment bog'lash reaksiyasini qo'yishdan maqsad: 1. Kasal hayvonning qon zarodobidagi spetsifik antitelolarni aniqlash (brutselloz, peripnevmoniya, munga, leptospiroz va boshqalarda). 2. Tekshirila-yotgan patmaterialdagi spetsifik antigenni maxsus immun zarodob ishtirokida aniqlash.

KBR komponentlari:

1. Tekshiriladigan qon zarдобi – hayvonlardan olinadi.
2. Standart zarдоб (musbat natijali) – biofabrikalarda tayyorlanadi.
3. Normal zarдоб (manfiy natijali) – sog'lom hayvondan olinadi.
4. Kompliment (oqsil tabiiati modda bo'lib, hayvon va odamlar zarдобi, limfa, to'qima suyuqliklarining tarkibiy qismi) – biofabrikada dengiz cho'chqasining qon zarдобidan tayyorlanadi. Aniq titrda suvutilirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
5. Antigen – aniq mikrobdan biofabrikada tayyorlanadi. Ularda seriya raqami, faolligi (titri) va qancha suvutilirishi ko'rsatilgan bo'ladi.
6. Gemolizin – biofabrikada, qo'y eritrotsitlari bilan quyovni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda glitserin qo'shigan bo'ladi. Aniq titrda suvutilirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
7. Qo'y eritrotsitlari 1:40 (2,5%) fiziologik eritmada tayyorlanadi.
8. Fiziologik eritma (0,85% li NaCl).

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish

Komponentlar	Tekshirilayotgan zarдобi probirkalar 1:10	Standart zarдобi	Normal zarдобi	Nazorat gemosistema
	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2
Zarдоб	0,2	0,2	0,2	0,2

Antigen	0,2		0,2		0,2				
Fiz. eritma		0,2		0,2		0,2		0,2	0,6
Kompliment	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2			
	37°C da 20 daqiqa suv hammomi								
Gem sistema	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	37°C da 20 daqiqa suv hammomi								
	GY	G	GY	G	G	G	G	GY	

GY – gemoliz yo'q, G – gemoliz.

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish. Zarдобlarni (tekshiriladigan, standart, normal) avval 1:10 nisbatda suvutilirib, 56°C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Shartivga tekshiriladigan qon zarдобlarining soniga ko'ra (har bir zarдоб uchun 2-tadan) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan bittadan) tekshiriladigan qon zarдобidan 0,2 ml dan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib, birinchi juftiga standart, ikkinchisiga – normal zarдобdan 0,2 ml quyiladi. 1-qatordagi probirkalarga 0,2 ml antigen, 2-qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi barcha probirkalarga 0,2 ml kompliment quyilib, probirkalar silkitib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37°C da 20-40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriolitik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 ml dan gemosistema (ishchi titrdagi gemolizin bilan eritrotsitlarning teng miqdordagi aralashmasi) qo'shildi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi.

Reaksiya natijasi ikki marta aniqlanadi: birinchi probirkalar suv hammomidan olingan zahoti, ikkinchisi yakuniy – 18-20 soat uy haroratida turgandan keyin.

Avval sinovli probirkalarning ikkinchi qatori va standart zarдобli nazorat probirkalarning ikkinchi qatori hamda normal zarдобli nazorat probirkalarga e'tibor beriladi – ularda eritrotsitlar gemolizga uchrab suyuqlik qizargan – natija manfiy.

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

KBR natijasini baholash

(+++++) – gemoliz yo'q eritrotsitlar to'liq nuqta shaklida cho'kmaga tushgan, suyuqlik tiniq.
(+++)- 25% eritrotsitlar gemolizga uchragan, suyuqlik och qizil rangda.

- (++) – 50% eritrotsitlar gemolizga uchragan, suyuqlik qizil rangda.
 (+) – 75% eritrotsit gemolizga uchragan, suyuqlik intensiv qizil rangda.
 (–) – gemoliz 100%, cho'kma umuman yo'q.
 (+++), (++++), (++) – natija diagnostik ijobiy; (+) – natija gumonli; (–) – natija manfiy.

Nazorat savollari:

1. Kompliment bog'lash reaksiyasining AR, PR laridan farqi?
2. Kompliment bog'lash reaksiyasining komponentli, sistemalarini aytin?
3. Kompliment bog'lash reaksiyasining asosiy tajribasi qanday qo'yiladi.
4. Kompliment bog'lash reaksiyasi natijasini hisobga olishni tushuntiring.
5. Kompliment bog'lash reaksiyasi mohiyatini tushuntiring.

18-m a v z u. Serologik tekshirishning immunoferment usuli (ELISA test)

Immunoferment usul mikroorganizmlar va antitelolarni aniqlash hamda qiyoslash uchun qo'llanadi. Immunoferment usulining ikki turi farqlanadi: gomogen va geterogen.

Geterogen usul (immunosorbentli ELISA test) va suvda erimaydigan polimerazali materiallar yuzasida adsorbiylangan enzimi nishonlangan antitelolar (yoki antigenlar) reaksiyasi (ENAR).

Gomogen immunoferment usulida qattiq (zich) faza ishlatilmaydi; asosan kichik molekuli antigenlarni (gormonlar, dorivor preparatlarni) aniqlash uchun ishlatiladi.

Zich fazali immunofermentli usul komponentlari:

1. Maxsus immunoglobulinlar (immun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho'kilib, keyin tozalab olinadi).
2. Turga qarshi globulinlar (giperimmun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho'kilib, keyin tozalab olinadi).
3. Oqsil A (tillarang stafilokokkdan olinadi) yoki ho'kiz zardobi albumini.

4. Antigen (zararlangan hayvonlar organlaridan tayyorlanadi). Oldindan ma'lum bo'lgan musbat va manfiy antigenlar.

5. Peroksidaza fermenti (xrendan olinadi).

6. Kon'yugatlar (periodatli oksidlanish usulida antitelo yoki antigen bilan bog'langan peroksidadaza).

7. Substratli aralashma (5- aminosalitsil kislotasi va vodorod peroksidi yoki ortofenilendiamin va vodorod peroksidi).

8. Detergent (sirtga faol moddalar: tvin – 20, – 80, triton X – 100, sorbital S – 20).

9. Immunologik planshet (shaffof polistiroldan tayyorlangan).

10. Shpris – dozator (peaksiya ingredientlarini quyish uchun).

Reaksiyani qo'yishning bevosita va bilvosita usullari mavjud.

Amaliyotda asosan bilvosita usul qo'llanadi.

Antigeni immunoferment usulida aniqlash. Reaksiyani

qo'yishdan avval, liofilangan komponentlar yorlig'ida ko'rsatilgan hajmda 0,01 M fosfatli bufer eritma yoki distillangan suv bilan eritiladi va ishchi eritma hajmiga yetkaziladi. Planshet o'yiqchalariga bosqichma-bosqich solinadigan komponentlar o'zaro teng hajmda bo'lib, 0,1 ml ni tashkil etadi.

Reaksiya bosqichlari:

1. Planshetni sensibillash. Planshet o'yiqchalariga maxsus antitelolar (immunoglobulinlar) yorlig'ida ko'rsatilgan ishchi eritmasi quyiladi. Planshet antitelolar bilan uch soat termostada 37°C da yoki 4°C ga 18 soat qo'yiladi. Keyin planshetlar tvinli fosfat bufer eritmasi bilan 3 – 4 marta yuviladi. Eritmaning qoldiqlari filtr qog'ozga planshetni bir necha bor qoqib olinadi.

2. Antigen quyish. Maxsus antitelolar bilan sensibillangan planshet o'yiqchalariga nazoratli musbat va manfiy antigenlar hamda 1 : 10 dan 1 : 1280 nisbatgacha suyultirilgan sinovli namunani quyib, termostada 37°C da 1 soat undiriladi. Inkubatsiya muddati o'ishi bilan planshet o'yiqchalaridagi antitelo bilan bog'lanmay qolgan antigenlarni uch marta yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

3. Antigen + antitelo kompleksini aniqlash uchun suyultirmalarga turga qarshi peroksidadali kon'yugatni quyish. Kon'yugat quyib chiqilgach planshetlar termostaga 37°C da 1 soat ga qo'yiladi. Keyin o'yiqchalarni uch marta tvinli fosfatli bufer bilan yuvib quritiladi.

4. Substratli aralashmani quyish. Reaksiya namoyon bo'lishi uchun planshet o'yiqchalariga substrat eritmasi (peroksidadaza indikator) – ortofenilendiamin quyiladi. Eritmaga antigen + antitelo – kon'yugat

kompleksini aniqlash uchun 3% li vodorod peroksid eritmasi qo'shildi. Planshetlarni yopib qorong'i joyda yu haroratida 15 – 30 daqqa qoldirildi.

5. Reaksiya ko'rish orgali yoki spektrofotometrik usulda hisobga olinadi. Reaksiya ko'rish orgali baholanganda nishonlar soni bilan ifodalanadi:

++++	- intensiv bo'yalgan;
+++	- sabzi rang bo'yalgan;
++	- och sabzi rang bo'yalgan;
+	- sariq rang bo'yalgan.

Ikki va undan ortiq nishonga baholangan namuna musbat hisoblanadi. Maxsus antitelo bilan reaksiyada eng yuqori suyultirishda planshetning nazorati o'yirlari rangidan intensivligi yuqori bo'lib, och sabzi rang bo'yalga (++) antigen titri hisoblanadi.

Reaksiya natijalarini spektrofotometrik hisobga olishda maxsuslik koeffitsiyenti hisoblanadi. U o'yiqchalardagi reaksiya mahsulotlarining nazorati musbat antigen (OZ1) optik zichligini (OZ) o'yiqchalardagi substrati aralashmani nazorati manfiy antigenli (OZ2) optik zichligi nisbatiga teng.

Maxsuslik koeffitsiyenti 2, 1 dan kam bo'lmasa peaksiya musbat, 2, 1 dan kam bo'lsa manfiy hisoblanadi.

Antitelolarni aniqlash (yoki titrlash) uchun immunofermentli usulni qo'yish texnikasi mikro antigenini aniqlash va qiyoslash singari bajariladi, farqi shundaki, material sifatida tekshiriladigan qon zarfobi ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Immunoferment usul qanday maqsadda qo'llaniladi va uning turlarini ayting.
2. Zich fazali immunofermentli usul komponentlarini ayting.
3. Antigeni immunoferment usulida aniqlashni mohiratini ayting.
4. Antigeni immunoferment usulida aniqlashda reaksiya natijasi qanday baholanadi.
5. Antitelsoni immunoferment usulida aniqlash texnikasini ayting.

19-m a v z u. Bakteriyalarning genetikasini o'rganish

Gen zondlari usuli. Juda ko'p hollarda bakteriyalarni qiyoslashda ishlatiladi. Bu usul oddiy DNK – DNK gibridlashdan total DNKni emas, balki uning o'zida aniq genni saqlovchi (genetik marker) ma'lum fragmentini (zondini) ishlatish bilan farq qiladi.

Oldindan tekshirilayotgan bakteriyalarning «genlar banki» yaratiladi. Bu maqsadda bakteriya DNKni endonukleazalar bilan eritib, elektroforez yordamida DNK fragmentlari ajratiladi, transformatsiya usulida ularning genetik xususiyatlari aniqlanadi, DNKning kerakli fragmenti ajratib olinadi va ligazalar yordamida vektor bo'lib xizmat qiladigan plazmidaga kiritiladi. Aniq gen bilan yaxlit holga keltirilgan plazmidni biror bir yetarlicha oson va yengil o'sadigan bakteriya shtammina kiritiladi. Ko'p miqdorda DNK – zond saqlovchi biomassa olinadi. Plazmidli DNKni ajratib, radioaktiv izotop bilan belgilanadi, keyin bu belgilangan DNK tekshirilayotgan bakteriyaning DNKsi bilan gibridlanadi. Autoradiografiya usulida makerning tekshirilayotgan DNK bilan gibridizatsiyasini nisbiy chastotasini aniqlab, shu ko'rsatkich orgali aniq bakteriya – DNK donori va tekshirilayotgan bakteriyaning genetik yaqinligi fikrlanadi.

Polimerazali zanjirli reaksiya – PZR (polymerase chain reaction – PCR). Reaksiyaning prinsipi shundan iboratki, DNK – polimeraza yordamida *in vitro* juda ko'p qayta - qayta DNKning ma'lum qismini nusxalari sintezlanadi (amplifikatsiya – to'planish).

PZR – siklik jarayon bo'lib, har bir sikli uch bosqichdan iborat.

1. Tekshirilayotgan DNKni issiqda (95°Cda) denaturatsiyalash. Bunda juft asoslarni bog'lanishni hosil qilgan vodorod bog'lar parchalanib, DNK zanjirlari tarqalib ketadi, ya'ni bir zanjirli DNK hosil bo'lib praymeronlar DNK polimerazalar kiritishi uchun yengillik paydo qiladi. Jarayonning davomiyligi 1 daqqa.

2. Praymerlarni DNKni ikkita antiparallel zanjirlarining komplementar qismlariga o'tkazish (yumshatish). Praymerlar 20 – 30 nukleotidlardan iborat ikkita sintetik oligonukleotidlardir. Ularning har biri qo'zgatuvchi DNKsi tanlab olingan chegaralangan segmentlari qismida qarama - qarshi DNK zanjirlariga komplementar bo'ladi. Demak, praymerlar qo'zg'atuvchi uchun maxsus bo'lgan DNK qismini chegaralaydi. Praymerlar reaksiya aralashmasiga keragidan ortiq qo'shildi, bu ularga bir zanjirli DNKlar ikki zanjirli birtikishdan

(renaturatsiya) avval o'zining komplementar qismlarini egallashiga imkon beradi. Bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiga.

3. Praymeri DNK – polimeraza ishtirokida reaksiya aralashmasiga qo'shilgan dezoksinnukleozidtrifosfatlardan tuzilib bitish jarayoni (elongatsiya). Odatda termofil bakteriya *Thermus aquaticus* (*Taq* – polimeraza) ning termostabil DNK-polimerazasi qo'llanadi, u polimerizatsiyani optimal haroratlarda 70 – 75°C olib borishga imkon beradi. DNK sintezida praymerlar uning molekulasiga kiradi. Polimeraza yordamida DNK sintezi faqat praymerlar orasida kechadi. Bunda DNKning aynan o'sha qismini nusxalari soni ikki hissa ortadi. Bitta praymer yordamida sintezlangan DNK molekulasida boshqa praymer yordamida komplementar DNK sintezi uchun matrisa bo'lib xizmat qilishi mumkin. Bu bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiga.

Birinchi sikl tugashi bilan reaksiyani to'xtatib, DNKni yana harorat bilan denaturatsiya qilindi. Sovutganda ortiqcha praymerlar yana boshlang'ich va yangi sintezlangan DNK zanjirlari bilan gibridlanadi. DNK – polimerazani qo'shganda polimerizatsiyaning ikkinchi siklini ta'minlaydi. Shu tariqa praymerlarning fermentativ uzaytirishini bir necha o'nlab sikllarini o'tkazish mumkin. Natijada ikki tarafidan praymerlar bilan chegaralangan DNK segmentlarining soni har siklda eksponensial ko'payadi. Demak, PZR usulini qo'llab, *in vitro* preparatni DNK fragment bilan tanlab aniq ketma - ketlikda million va undan ko'p marta boyitish mumkin. DNK fragmentlari sonining ko'payishi tekshirilayotgan namunada gomologik DNK, ya'ni infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchisi borligini isbot qiladi.

PZRni amaliyotda ishlatish uchun DNK matrisani nusxasini takrorlovchi zanjirning uchta uchlariga komplementar va nusxasi olinadigan DNK fragmentlarini chegaralovchi praymerlarni sintezlash kerak. Ular qo'zg'atuvchi genomini nukleotidlar ketma - ketligi rashtirovka qilingan va genetik o'zgarishlarga chidamli qismlari asosida tanlanadi. Masalan, *C. psittaci* qiyoslash uchun tashqi membrana oqsilini kodlashtiruvchi genlar asosida yoki 16s rRNK kodlashtiruvchi genlar asosida tanlangan praymerlar taklif etilgan. Brussellalarni qiyoslash uchun praymer 31 KDa tashqi membrana oqsilini kodlashtiruvchi gen asosida tanlangan va h.k.

PZR – diagnostikani o'tkazish uchun quyidagi komponentlar kerak: to'rt xil tipdagi dezoksitrifosfatlarning suvdagi eritmaları (dATP, dTTP, Dsrf, 10 mM, pH 7,0); birinchi praymer (5 mM); ikkinchi praymer (5 mM); *Taq* – polimeraza fermenti (5 TB/mk);

amplifitsirlanadigan DNK (- 1 mkg), Mg^{2+} ionlari (25 mM) polimerazaning ishini ta'minlash uchun; buterli eritma (10 karraali konsentrat), masalan, qoramol albumini va ionsiz detergentslar qo'shilgan tris-xlorid kislotasi (pH 6,8 – 7,7).

Ko'rsatilgan komponentlar, masalan quyidagi miqdoriy nisbatlarda probikatlarga solinadi: dezoksinnukleozidtrifosfatlar – 8 mkl, buffer – 10 mkl, amplifitsirlanadigan DNK – 1 mkg, praymerlar – 1 – 5 mkl dan, polimeraza – 0,5 mkl, distillangan suv – 100 mkl gacha. Bug'lanishning oldini olish uchun probirkadagi suyuqlik ustiga mineral yog' quyiladi. PZRni o'tkazishning birinchi bosqichida DNK denaturatsiyalanadi, keyin dezoksinnukleozidtrifosfat bor reaksiya aralashmasiga polimeraza quyib, amplifikatorga yoki termosikler (loyihalovchi termostat) ga solinadi. Amplifikatsiya termosiklerda berilgan programmada o'tkaziladi, masalan: 90°C – 1 daqiga, 60°C – 1 daqiga, 72°C – 1 daqiga (5 sikl), 93°C – 1 daqiga, 57°C – 1 daqiga, 92°C – 1 daqiga (5 sikl), 93°C – 1 daqiga, 55°C – 1 daqiga, 72°C – 3 daqiga (25 sikl).

Amplifikatsiya tugaganidan keyin PZR mahsulotlari, ya'ni amplifikonlarni aniqlash bosqichi keladi. DNK molekullari va ularning fragmentlari agar gelida elektroforez bilan ajratiladi. Gelda DNK etidiy bromidi bilan bo'yaladi, so'ng ultrabinafsa nurlari ostida foregrammalar analiz qilinadi, rasmi olinadi. Amplifikatsiyalangan DNK chiziqlarining maxsusligi belgilangan fragmentlar va standart DNKga nisbatan taqoslash bilan tasdiqlanadi. Qo'shimcha ravishda amplifikonlarning maxsusligini maxsus radioaktiv zond bilan gibridlash yo'li orqali tasdiqlash mumkin.

PZRda qo'zg'atuvchi kulturasini, qo'zg'atuvchisi bor to'qimalar tekshirish obyektini bo'lishi mumkin. Materialdan biror bir ushida DNK ajratib olinadi. Materialning xarakteriga bog'liq ravishda unga ishlov berish usullari har xil bo'ladi.

Infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilarini aniqlash yoki o'stirish qiyin bo'lgan yoki tipik bo'lmagan shaklli (L – shakl) bakteriyalarni topishda, shuningdek, mikroorganizmlarning biror patogenlik faktorlarini nazorat qiluvchi genlarini aniqlashda PZR – diagnostikasining yutuqi katta.

Kundalik diagnostik amaliyotda, odatda, mikroorganizmlarning patogenligini aniqlash bilan chegaralanadi; biopreparatlarni baholashda hayvonlarni zararlash uchun olingan mikroorganizmlar virulentligining miqdoriy xarakteristikalari kerak.

Nazorat savollari:

1. Gen zondlari usulining qo'llanilishi va mohiyatini tushuntirib.
2. PZRning prinsipi nimadan iborat.
3. PAR sikllari qanday bisqichlardan iborat.
4. PZR – diagnostikani o'tkazish uchun qanday komponentlar ishlatiladi.
5. PZR – diagnostikaning yutug'ini ayting.

20- m a v z u. Atrof-muhit obyektlarini mikrobiologik tekshirish usullari

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni atrof-muhiti obyektlari holatini sanitar - mikrobiologik baholashning asosiy usullari va ko'rsatkichlari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Koloniya sanash uchun asbob, kolbalarda suv, tuproq, sut namunalari, go'sht va go'sht mahsulotlari namunalari; steril Petri kosachalari, Petri kosachalarida GPA, qonli GPA, 9 ml steril suvi bor probirkalar. 10, 2, 0,1 ml hajimli pipetkalar, probirkalarda 10-12 ml dan steril GPA, o'lgangan tuproq, kolbada steril suv (200 ml), probirkalarda Keyssler, Vilson - Bler muhitlari, buyum oynalar, bakteriologik ilmoq, spirt lampasi, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, ichak tayogchasi kulturas mavzuga oid plakatlar.

Ushbu ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: Suvdagi mikroblarning umumiy sonini, suvning koli-titri va koli-indeksini aniqlash, havo, tuproq mikroflorasini tekshirish usullarini o'rganish, daftarga yozib olish.

Epizootik xavfsizlikni aniqlash maqsadida atrof-muhitning har xil obyektlarini sanitar - gigiyenik holati baholanadi va sanitar-bakteriologik tekshirishlar o'tkaziladi. Ularni to'g'ridan-to'g'ri aniqlash qiyin, chunki bu mikroorganizmlar miqdori suv, tuproqda kam bo'lib sekin ko'payadi. Shuning uchun sanitariya-mikrobiologiya amaliyotida ma'lum obyektning mikroblar bilan zararlanshini aniqlash va unda sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalarni topish usuli qo'llaniladi.

Mikrob bilan zararlanshni tekshirayotgan obyektning ma'lum hajm va massa birligidagi (1 sm³ suv, 1 g tuproq, 1 m³ havo) mikroorga-nizmlarning umumiy miqdori, ya'ni mikroblar soni bilan ifodalanadi.

Ulardagi sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalar titr va indekslarda baholanadi. Ushbu bakteriyalar topilgan minimal hajm yoki massa titr deb aytiladi. 1 litr suyuqlik, 1kg tuproq, 1 m³ havodagi sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalar soniga indeks deb ataladi.

Sanitariya ko'rsatkichli hisoblangan ichak tayogchalari guruhlari bakteriyalari enterobakteriya oilasining turli avlodlariga mansub.

Suvni sanitariya bakteriologik tekshirish uchun namuna olish.

Ochiq suv havzalaridan suv namunalari yuzadan 10-15sm chuqurlikda va tubidan 10-15 sm yuqori masofada olinadi. *Suv quvuridan* namuna olish uchun avval uning jo'mragini ochib, suv 10-15 daqiqa shartlatib oqiziladi, keyin suv berkitiladi. Jo'mrakning uchini alangada kuydirib, so'ngira suv 0,5 litrli flakonlarga olinadi. Suv havzasining tubidan namuna batometr bilan olinadi. Qudug'dan suv namunalari ertalab undan foydalanishdan oldin va qudug'dan suv olinish to'xtatilgandan 10-12 soatdan keyin olinadi. Suv namunalari steril idishga olingandan so'ng tezda tiqinlari bilan zich yopiladi.

Xlorlangan suvni tekshirishdan avval Na₂HSO₃ bilan 1 litr suvga 10 ml hisobidan qo'shib neytrallashtirish kerak.

Namuna olingandan bakteriologik tekshirishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan ko'p bo'lmagligi lozim (1-1,5°C haroratda 6 soatgacha saqlash mumkin).

Suvda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash. Suv quvuridan olingan suv namunasi 1 ml hajmda, ochiq suv havzalardan olinganlari esa – 1,0; 0,1; 0,01 ml hajmlarda olinadi. 0,1 va 0,01 ml suvni ekish uchun tekshirilayotgan suv suyultiriladi. Buning uchun probirkadagi 9 ml steril suvga 1 ml suv namunasi pipetkani suv sathidan 3 mm pastga tushirib qo'shiladi. Boshqa steril pipetka bilan pufkab aralashiriladi va undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,1 ml suv namunasi olingan bo'lsadi). Birinchi probirkadan 1 ml olib, ikkinchi probirkadagi 9 ml steril suvga qo'shiladi. Undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,01 ml suv namunasi olingan bo'lsadi). Petri kosachalaridagi barcha namunalar ustiga 10-12 ml dan eritilib 45-50°C ga cha sovutilgan GPA quyib, aylanna harakat bilan yaxshi aralashiriladi. GPA qotgach Petri kosachalarini to'ng'itib, ekmalarni 37°Cda 1-2 sutka o'stiriladi. Ochiq havzalardan olingan namunalar ikkitadan Petri kosachalariga ekitiladi. Bir qatori 37°Cda bir sutka, qolganlari 20°Cda 2 sutka o'stiriladi. Keyin ularning yuzasida va ichkarida o'sgan koloniyalar sanaladi hamda suvdagi mikroblarning umumiy soni, ya'ni 1 ml suvdagi mikroor-ganizmlar soni hisoblanadi.

1 ml quvur suvida mikroorganizmlarning umumiy miqdori 100 dan, ochiq havzalar suvida esa 1000 dan ortmasligi kerak.

Suvning koli-titri va koli-indeksini aniqlash. Suvning koli-titri bu suvning ichak tayogchasi uchraydigan eng kichik hajmidir (ml), koli-indeksi esa 1 litr suvdagi ichak tayogchalari miqdoridir. Koli - titrni aniqlash uchun titrlash usuli va membranali filtrlar usullari ishlatiladi.

Titrlash usuli. Har xil hajmdagi suv namunalari glukozepeptonli muhiga (1% peptonli suv, 0,5 % li glukoza eritmasi, 0,5 % NaCl eritmasi, Andrade va bir tomoni kavshartlangan naycha) ekilladi. Katta hajmli (100 va 10 ml) suv namunalari ekish uchun komponentlar 10 marta orttirilgan konsentrlangan holda ishlatiladi. 10 ml konsentrlangan muhiga 100 ml tekshirilayotgan suv, 1 ml konsentrlangan muhiga 10 ml suv namunasi ekilladi.

Ochiq suv havzalari namunalari 100, 10, 1 va 0,1 ml hajmda tekshiriladi. Suv quvuridan olingan suv namunalari tekshirish uchun 3 ta 100 ml dan, 3 ta 10 ml va 3 ta 1 ml hajmdan ekilladi. Ekmlar bir sutka 37 °Cda o'stiriladi. Naychada gaz pufakchalarning borligi big'ishdan dalolat beradi. Big'igan yoki loyqalangan namunalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi va oksidaza testi qo'yiladi. Oksidaza testi *Escherichia*, *Citrobacter* va *Enterobacter* avlodlariga mansub bakteriyalarni suvda uchraydigan *Pseudomonadaceae* oilasiga mansub grammanfiy bakteriyalardan hamda boshqa oksidaza hosil qiluvchi bakteriyalardan farqlashga imkon beradi. Buning uchun shisha tayogcha bilan 2-3ta koloniya oziq muhit yuzasidan olinadi va dimetil - n - fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga shtrixlar shaklida o'tkaziladi. Oksidaza testi manfiy bo'lsa qog'oz rangi o'zgarmaydi, musbat bo'lsa - u bir daqiqaga ichida ko'k rangga bo'yaladi.

Oksidaza hosil qilmaydigan grammanfiy tayogchalar, qayta big'ish testida tekshiriladi - 0,5 % li glukoza yarimsuyuq go'sit peptonli agarga ekilladi, 37 °Cda 1 sutka o'stiriladi. Natija musbat bo'lsa, koli - titri va koli - indeks statistik jadval bo'yicha aniqlanadi (1-jadval).

Suv quvurlarining suvi uchun koli - titr 333dan, ochiq suv havzalari uchun 111 ml dan kam bo'lmassligi kerak.

Membranali filtrlar usuli. Zeyts varonkasiga №3 membranali filtr qo'yiladi, u Bunzen kolbasiga o'rnatilib, vakuum-nasosga ulanadi. Membranali filtrlar distillangan suvda qaynatib, sterilangan bo'lishi kerak.

Suvda ichak tayogchasi indeksini aniqlash

1-jadval

Uch hajmda musbat natijalar soni			Koli - indeks	Indeks chegarasi		Koli - titr
100 ml dan	10 ml dan	1 ml dan		Past	Yuqori	
0	0	0	3 dan kam	-	-	333 dan ko'p
0	0	1	3	0,5	9	333
0	1	0	3	0,5	13	333
1	0	0	4	0,5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
3	3	2	1100	150	4800	0,9
3	3	3	1100 dan ko'p	-	-	0,9 dan kam

Suv quvurlari va artezian suv namunalari 333 ml hajmda filtrlanadi. Ochiq suv havzasidan olingan toza suv namunasi 100, 10, 1, 0 va 0,1 ml hajmda filtrlanadi. Nisbatan iflosroq suv namunasini filtrlashdan avval steril suv bilan suyultirish kerak. Keyin filtni Petri koschasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi va 37 °C da 1 sutka o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi.

2 - 3 ta qizil rangli koloniyalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi, oksidaza testi qo'yiladi. Buning uchun filtrdagi bakteriya koloniyalarini pinset bilan dimetil - n - fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga o'tkazish lozim. Oksidaza bor bo'lsa, indikator koloniyani ko'k rangga bo'yaydi. Rangi o'zgarmagan 2-3 ta koloniya 0,5% glukoza yarimsuyuq agarga ekilladi. Ekmlar 37 °Cda bir sutka o'stiriladi. Gaz hosil bo'lsa, filtrdagi qizil koloniyalarni sanab, koli-indeksi aniqlanadi.

Quvur suvining koli-indeksi - 3 (1 litr suvda ichak tayogchasi soni) va koli-titr 333 (333 ml suvda bitta ichak tayogchasi bo'lishi mumkin). Koli-titr qancha yuqori bo'lsa suv toza va aksincha, past bo'lsa sifatsiz, iflos suv hisoblanadi.

Koli-titrni koli-indeksga aylantirish uchun 1000 ni koli-titr ko'rsatkichiga bo'lish kerak (1000:333=3); koli-indeksni koli-titr ga aylantirish uchun esa 1000 ni koli-indeks ko'rsatkichiga bo'lish lozim (1000:3=333).

Havo mikroflorasi. Havoning miqdoriy mikrobiologik tekshirish usullari cho'kitirish (sedimentatsiya), aspiratsiya yoki filtratsiya prinsiplariga asoslangan.

Sedimentatsion usul. Go'sht peptonli agar solingan ikkita Petri kosachani ochib xonada 5-10 daqqa davomida qoldiriladi, keyin ekmalar termostatta 37°Cda o'stiriladi. Ikkala kosachada o'sib chiqqan koloniyalarning soni yig'indisi bo'yicha natija baholanadi: 250 dan kam koloniya bo'lsa havo toza hisoblanadi; 250-500 o'rtaicha ifloslangan; 500 koloniyadan ortiq ifloslangan.

Aspiratsion usul havodagi mikroblar sonini aniqlashning eng ishonchli usuli. Bunda havoni ekish uskunalari yordamida bajariladi.

Krotov apparati (202-rasm) shunday tuzilganki, havo berilgan tezlikda agarli Petri kosachasi yuzini yopib turgan pleksiglas plastinaning tor tirqishidan o'tadi. Bunda tarkibida mikroorganizmlar bor aerosol qismlari oziq muhit yuzasiga bir xilda tushadi, chunki kosacha tirqish ostida bir xilda aylanib harakatlana bormoqda.

Ekmalarni termostatta o'stirgandan keyin mikroblar soni hisoblanadi (X)

$$X = \frac{A \times 1000}{V}$$

A—kosachada o'sgan koloniyalar soni;
V—uskunadan o'tgan havo hajmi, dm³;
1000—izlanayotgan havo hajmi, dm³.

Havo tarkibidagi mikroblar sonini aniqlash uchun go'sht peptonli agar, gemolitik streptokokklarni ajratish uchun gensian violet go'shilgan qonli agar ishlatiladi. Gumonli koloniyalarni tanlab qonli agarda qayta ekiladi.

Oziq muhit tarkibi. Gensian violet go'shilgan qonli agar: 2% oziq agari, 5-10% fibrinsizlantirilgan (ot, quyon yoki go'y) qoni va gensian violet (1:50.000). Tuxum sarig'i-tuzli agar: 2% oziq agari, 10% natyiv xlorid, 20% (hajmi bo'yicha) tuxum sarig'i (1 ta tuxum sarig'i 200 ml natyiv xloridning izotonik eritmasi).

Havoni tekshirish uchun boshqa uskunalari (Dyakov, Rechenin, Klitenko, PAB-1-aerosolli bakteriologik namuna olgich, POV-1-havo olish uchun uskuna, unda ma'lum hajm havo suyuqlik yoki filtdan o'tkazilib, keyin oziq muhitariga o'lovchi ekishlar qilinadi). Bu uskunalar katta hajmli havolarni tekshirish hamda patogen bakteriya

va viruslarni aniqlash mumkin. Mikrobiologik boks, jarrohlik, akusher-ginekologik va boshqa xonalar havosi unda patogen, shartli-patogen bakteriyalar-infeksiya qo'zg'atuvchilarini (stafilokokklar, ko'k yiring tayvochalar va boshqa grammanfiy bakteriyalar) aniqlash maqsadida tekshiriladi.

Tuproq mikroflorasi. Tuproqning sanitariya-mikrobiologik tahlilida undagi mikroblar soni, koli-titri, perfringens-titri va termofil bakteriyalarning titri aniqlanadi. Zarur holatlarda nitrifikatsiyalovchi va ammoniy fikatsiyalovchi bakteriyalar, aktinomisetlar, zamburug'lar, sellulozali va boshqa mikroorganizmlar tarkibi tekshiriladi.

Tuproqni tekshirish uchun steril pichoq bilan 10-15 sm chuqurlikdan olib (tekshirilayotgan hududning har xil joyidan 10 ta namunadan kam bo'lmastligi kerak), steril bankaga solinadi. Namunalardan 30g o'lab, kolbadagi suvga (270 ml) solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. Ushbu suspenziyadan 10¹, 10⁴, 10⁵ suyultirmalar tayyorlanadi. Oxirgi ikkitasidan 0,1 ml olib 40ml 0,7%li eritilgan va 45°C gacha sovitilgan go'sht peptonli agar bilan aralashtiriladi. Keyin Petri kosachadagi 2%li GPA ushga quyiladi. Ekmalar 37°Cda o'stiriladi.

So'ngra o'sib chiqqan koloniyalar sonini hisoblab, mikroblar soni aniqlanadi.

Tuproqning koli-titri, perfringens-titri va termofil bakteriyalarning titrini aniqlash

Tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini probirkalardagi Keyssler muhritiga ekiladi va 43°C da 48 soat davomida o'stiriladi. Keyin tahlil suvning koli-titrini aniqlaganda qo'llangan sxema bo'yicha davom ettiriladi.

Perfringens-titrining aniqlash uchun tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini (1 ml) probirkalarda steril yog'sizlantirilgan sut yoki extempore tayyorlangan temisulfidli Vilson-Bler muhritiga ekiladi. Ekmalar 43°C da 24-48 soat davomida o'stiriladi va natijasi sutning ivishi yoki Vilson-Bler muhritiga *Clostridium perfringens*ning qora koloniyalari hosil bo'lishi bilan hisobga olinadi. Koloniyalardan surnmalar tayyorlanib, Gram usulida bo'yaladi, mikroskopda ko'rib, perfringens-titri aniqlanadi.

Termofil bakteriyalarning titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyalarning suyultirmalaridan (1ml) Petri kosachasiga quyib, ushga eritib, sovitilgan go'sht peptonli agar quyiladi. Ekmalar 60°C da

sutka davomida o'stiriladi va koloniyalar sonini sanab, 1 g tuproqdagi miqdori hisoblanadi.

Tuproq kompleks ko'rsatkichlar bo'yicha sanitar-mikrobiologik baholanadi. Ular ichida najas bilan zararlansh darajasi nihoyada muhim hisoblanadi.

Oziq muhiti tarkibi. *Keyssler muhiti:* 1% pepton, 5% o't suyuqligi, 0,25% laktoza, gensian violet grammusbat bakteriyalarini o'stirishdan to'xtatish uchun. *Teminsulfdi Vilson-Bler muhiti:* 3% go'sht peptonli agar, 1% glukoza, 2% natriy sulfid, 0,08% temir xlorid.

Sut va sut mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish. Sut va sut mahsulotlarining sanitar-bakteriologik holati mikroblar soni va koli-titri bo'yicha baholanadi.

Mikroblar sonini aniqlash uchun sut, natriy xloridning izotonik steril eritmasida suyultiriladi (1:10; 1:100; 1:1000); har bir suyultirilmadan (1ml) steril Petri kosachalariga solinadi. Ustiga eritib sovutitgan agar quyiladi. Ekmalar 37°C da sutka davomida o'stiriladi va koloniyalar soni hisoblanadi.

Koli-titrini aniqlash uchun sut 6 probirka Kesler muhitiga ekitiladi: 3 ta probirkaga bir ml dan qolgan uchtagiga 0,1 ml dan (1ml sut 10 karrata steril suv bilan suyultiriladi). Ekmalar 43°C da sutka davomida o'stiriladi. Natijani baholashda faqat glukoza kislotasi va gaz hosil qilib biyotadigan lekin nitratli Kozler muhitida o'smaydigan bakteriyalar inobatga olinadi.

Kozler muhiti: distillangan suv, 0,15% ammoniy natriy fosfat, 0,1% bir bosqichda almashgan kaliy fosfat, (kaliy digidrofosfat), 0,02% magniy sulfat, 0,25% natriy sitrat, slivka.

Sut-qatiq mahsulotlari ham xuddi shunday tekshiriladi. Koli-titri aniqlanib, me'yoriy ko'rsatkichlarga qarab mahsulot baholanadi.

Sutga patogen bakteriyalarni aniqlash uchun elektiv va differensial-diagnostik muhitlarga ekitiladi, sof kultura ajratiladi va qiyoslanadi.

Go'sht va go'sht mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.

Go'shtni mikroskopik tekshirganda 2x1,5x2,5 sm o'lchamdagi go'sht bo'laklaridan tayyorlangan tang'a-surtmalarda bakteriyalar soni aniqlanadi. Surtmalar Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi. Ko'rish maydonida 10ta gacha bakteriya hujayralari aniqlansa, go'sht yangi hisoblanadi.

GOST talablari bo'yicha kolbasa va go'sht mahsulotlarini bakteriologik tekshirish mikroblar sonini, shuningdek, ichak tayogacha-

lari guruhiga kiruvchi bakteriyalar, salmonella, listeriya, klostridiyalarni aniqlashni o'z ichiga oladi.

Mahsulotning yuza va chuqur qismidan namuna olingandan keyin 4 soatdan kechiktirmay tahlil qilinadi. Chuqur qismi tekshirilganda mahsulot namunalari spirt bilan ishlov berilib, olovdan o'tkaziladi.

Nazorat savollari:

1. Suvning koli-titri nima? Uni aniqlash usullarini aytin.
2. Bakteriologik tekshirish uchun suv namunalarni olish qoidasini aytin.
3. Suvning umumiy mikroblar soni qanday aniqlanadi.
4. Suvning koli-indeksi qanday usullarda aniqlanadi.
5. Suvning sanitariya holati qaysi ko'rsatkichlar bilan baholanadi.
6. Havo mikroflorasi qanday usullarda tekshiriladi.
7. Tuproq mikroflorasi qanday usullarda tekshiriladi.
8. Sut va sut mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.
9. Go'sht va go'sht mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.

21-m a v z u. Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar, ularni nazorat qilish prinsiplari bilan tanishtirish. Talabalar yuqumli kasalliklarga qarshi kurashishda, maxsus diagnostika, kasalliklarning oldini olish va maxsus terapiya o'tkazishda biopreparatlarning o'rni tushunishi, bilishlari kerak.

Material va jihozlar: Diagnostikumlar (antigen, allergen, komplement, zardoblar); vaksinalar, davolash uchun qo'llaniladigan zardoblar, jadvallar, plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarga veterinariyada qo'llaniladigan biopreparat turlari, ularning qanday tayyorlanishi, qo'llashdan maqsad, ularning veterinariya amaliyotidagi o'rni tushuntiriladi. Talabalar ularning sifatini aniqlash usullari bilan tanishadilar.

Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlarga diagnostikumlar, antizardoblar, vaksinalar va davolovchi zardoblar kiradi.

Vaksinalar—yuqumli kasalliklarni maxsus oldini olishda ishlatiladi. Ular organizmda sun'iy aktiv immunitet hosil qilishga mo'ljallangan. Vaksinalar tirik kuchsizlantirilgan, inaktivatsiya qilingan

mikroorganizmlardan, zararsizlantirilgan ekzotoksinnlar, protektivni antigenlardan (kimyoviy vaksinnalar) tayyorlanadi. Vaksinnalarning har xil turlari bor. Vakcina tarkibidagi antigen miqdori bo'yicha ular mono-, di-, polivaksinnalar va assosirlangan vaksinnalar (ya'ni har xil antigenlari bor) bo'ladi.

Texnologiyasi. Standart mikroob suspensiyasi kimyoviy yoki fizikaviy usullarda inaktivlanadi yoki protektiv antigeni va ekzotoksinnlari ajratilib ular formaldegid yoki boshqa modda bilan antigen tarkibi buzilmaydigan qilib, zararsizlantiriladi.

Odada, ularga adyuvantlar qo'shiladi (organik yoki mineral yog'lar, neytral tuzlar yoki boshqa sorbentlar). emulgirlangan yoki adsorbirlangan antigenlar quyug bo'lib, organizmga yuborganda u deponirlanib, yuborilgan joyidan organizmga kichik-kichik dozada chiqib, tarqaladi. U vaksinnaning immunogenli samarasini oshirib, pirogenli, zaharli, allergik xususiyatlarini pasaytiradi.

Vaksinnalarning barcha turlari sifatini aniqlash uchun uch ko'rsatkich bo'yicha nazoat qilinadi: sterillik, zararsizlik, faollik.

Sterilligi (kuchsizlantirilganlari) yoki sof holda o'sishi (tiriklari) oziq muhitlarga ektib nazorat qilinadi.

Zararsizligi laboratoriya hayvonlariga yuborib aniqlanadi. Ular 10 kun kuzatiladi. Vakcina kasallik chaqirmasligi va undan hayvonlar o'limasligi kerak.

Faolligi (*immunogenligi*) moyil hayvonlarga vaksinani yuborib, ma'lum (faol immunitet hosil qilish uchun yetarli) vaqt 15-20 kundan keyin, gomologik mikroob bilan letal dozada zararlanadi. Nazorat guruhidagi yemlanmagan hayvonlarning 80% va undan ko'prog'i o'ladi, emlanganlari esa tirik qolishi kerak.

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

Ta'sir yo'nalishi bo'yicha bakteriyalarga qarshi, toksinnlarga qarshi, viruslarga qarshi immun zardoblar farqlanadi. Antitelolar miqdori kerakli darajaga yetganidan keyin hayvon organizmining, 1% hajmida qonni olinadi yoki to'liq (total)qonsizlantiriladi. Olingan qon separatlanib,

zardobi ajratib olinadi, filtrlab sterillanadi va 0,25 – 0,5 % li fenol, 0,01 – 0,03% li timorsal yoki boshqa moddalar bilan konservatsiyalanadi.

Tayyor zardob sterillikka, zararsizligiga, maxsus faollikka tekshiriladi.

Sterilligi oziq muhitlarga (GPA, GPB, GPJB, Saburo yoki Chapeka agarlari) ektib aniqlanadi. Har bir seriyasining *zararsizligi* zardobni dengiz cho'chqalariga yuborib nazorat qilinadi. Zardobning maxsus faolligini ta'sir yo'nalishi bo'yicha tekshiriladi.

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

Antitoksikli va qator viruslarga qarshi zardoblarning faolligi neytralizatsiya reaksiyalarida aniqlanadi. Zardobdagi antitelolar miqdori serologik 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 ektiladi. Ekmalar 37 va 20°C da (Caburo) 10 sutka saqlanadi. Oziq muhitlar sterilligicha qolishi kerak.

Zararsizligiga tekshirish: 17 – 20 grli 5 ta oq sichqonga 0,5 ml dan, 250 – 300 gr li 2 ta dengiz cho'chqasiga – 10 ml dan terisi ostiga yuboriladi. Hamma hayvonlar 10 sutka davomida tirik qolishi kerak.

Faolligini tekshirish: 17 – 20 gr li 15 ta oq sichqonning qorin bo'shlig'iga 0,01, 0,02 va 0,03 ml dozada (har bir dozaga 5 ta dan sichqon) zardob yuboriladi. 2 soatdan keyin barcha emlangan va 5 ta emlanmagan sichqonlar terisi ostiga 0,1 – 0,2 ml dozada 1:200 nisbatda suyultirilgan sutkalik cho'chqalar saramasi qo'zg'atuvchisini virulentli shtamm kulturasini yuboriladi. 10 sutkada emlanganlari tirik qolib, nazoratdagilari o'lsa (0,01 ml dozada emlanganlaridan 2 tasi o'lishi mumkin) zardob faol hisoblanadi.

Hozirgi vaqtda globulinlar, laktooglobulinlar, immunoglobulinlar ishlab chiqilmoqda. Ular ham maxsus davolovchi biopreparatlar hisoblanadi.

Diagnostikumlarni. Mikroorganizmlarning antigenli determinanti, ularning patogenligini namoyon qilishi xususiyatidan biologik preparatlar yoki diagnostikumlarni ishlab chiqarish uchun foydalaniladi.

Diagnostik antitelolar (Antizardoblar) odatda hayvonlarni giperimmunizatsiya qilish yo'li bilan olinadi. Diagnostik zardoblar yordamida mikroob antigenlari aniqlanadi va ajratilgan kultura identifikatsiyalanadi. Ishlatilish maqsadiga qarab: turga oid zardoblar (mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun), guruhga oid zardoblar (mikroorganizmlarni serologik guruh darajasida aniqlash 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: korpuskular antigenlar (AR, KBR), antigenlar bilan sensibillashgan eritrotsitlar (eritrotsiti diagnostikum Gadr uchun), eruvchi antigenlar (PR, DPR) farqlanadi. Ba'zan bo'yalgan antigenlar tayyorlanadi (suhalqali reaksiya). Antigenlarni tayyorlash texnologiyasi har xil, lekin har qanday antigen uchun mikroorganizmlar kulturasini asos bo'ladi.

Diagnostik antigenlarni nazorat qilish:

- sterillik nazorati vaktsina kabi bajariladi;
- antigenning optimal miqdori 1 ml da mikroblar soni bilan ifodalanadi va u serologik reaksiyalar uchun aniq ko'rsatiladi;
- antigenning faolligi serologik reaksiyalarda aniq maxsus zardob bilan aniqlanadi. Antigen aniq musbat natija berishi kerak. Ba'zan antigen titrlanib, ishchi titri aniqlanadi;
- antigenning maxsusligi ma'lum manfiy zardob bilan serologik reaksiyada aniqlanadi.

Korpuskular antigenlar cho'kmali serologik reaksiyalarda spontan agglutinatsiyaga tekshiriladi – antitelosiz cho'kmaga tushishi.

Allergenlar (brutsellin, tuberkulin, mallein) – bakteriyalar gidrolizati bo'lib, tirik hayvonlarda brutselloz, tuberkuloz, manqaga diaqnoz qo'yishda 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: brutsellin 18 – 25 grl oq sichqonlar bel qismiga 0,5 ml dozada yuboriladi. 10 kun davomida sichqonlar tirik qolishi, inyeksiya joyida yallig'lanish reaksiyasi bo'lmashi kerak. *Maxsuslik* nazorati: oq dengiz cho'chqalarining jini olingan yon tomoniga terisi orasiga 0,1 ml brutsellin yuboriladi va etalon preparat bilan taqqoslanadi. 24, 48 soatdan keyin inyeksiya joyida allergik reaksiya

bo'lmashi kerak. Allergen antigenlik xususiyatlarga ham tekshiriladi (AR, KBR). *Faolligi* nazorati: 10 – 15 ta dengiz cho'chqalari terisi ostiga (0,25 - 1)10⁹ B. *Meliensis* Rev 1 shtammi hujayralari yuboriladi. 4 haftadan keyin 0,1 ml brutsellin va etalon allergen yuboriladi. 24 soatdan keyin reaksiya hisobga olinadi. Sinovdagi va etalon allergenlarga reaksiya bir xilda bo'lishi kerak.

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

Nazorat savollari:

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

II BO'LIM. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA

22-m a v z u. Stafliokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Har xil yiringli-yallig'lanish jarayonlarida laboratoriyaga qanday patologik material yuborishni o'zlashtirish. Oziq muhitlar, stafliokokklarni ajratish va o'stirish usullari, patogen va patogen emas stafliokokklarni farqlash usullari bilan tanishish.

Material va jihozlar: Patmaterial, yiringli eksudat yoki mastit bilan kasallangan sigir sutini namunasi, oziq muhitlar GPB, GPA, selektiv muhit tuz-qonli GPA (stafliokokklarni ajratish uchun), glukoza — zardobli GPB, Paster pipetkalari, pinset, antibiotik diskilari, jadvallar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarga stafliokokkli infeksiyalarga laboratoriyada diagnoz qo'yish usullarini tushuntiradi. Talabalar patmateriallardan oziq muhitga ekishadi, surtna tayyorlab Gram usulida bo'yashadi. Mikroskopda ko'rishadi. Daftarga yozib, chizib olishadi.

Stafliokokklar — sharsimon shakldagi mikroorganizmlar bo'lib, *Staphylococcus* avlodiga mansub. Ularning 20 dan ortiq turlari bor. Hozirgi zamon klassifikatsiyasida patogenligi bo'yicha uch turga bo'linadi: *S. aureus* (66-rasm) — patogen; *S. epidermidis* — shartli patogen, teri va shillimshiq qavatlarda doimo uchraydi; *S. saprophyticus* — patogen emas stafliokokklar. Bu avlodning barcha turlari ichida hayvon va odamlarda har xil yiringli jarayonlarni — furunkul, karbunkul, flegmona, jarohatlarning yiringli yallig'lanishi, abscess, sepsis, septikopyemiya, stafliokokkli mastitni chaqiradigan shtammlari mavjud. Stafliokokklarning patogen shtammlari odamlarning oshqozon ichak tizimiga tushib, oziq toksikoinfeksiyasini chaqiradi. Chiritch xususiyatiga ega saprofit stafliokokklar xomashyo va oziq mahsulotlarini buzilishiga olib keladi. Amaliyotda patogen (gemolitik) kokklar muhim ahamiyatga ega.

Patologik material. 1. Steril olingan jarohat eksudati, yiring. 2. Mastitda 10-20 ml parenximal sut. 3. Sepsisda 5-10 ml fibrinsizlangan

qon. 4. Zaharlanishda yem-xashak, qusgandagi modda. 5. O'lgan hayvondan- parenximatoz organlardan bo'lakchalar.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan surtna tayyorlab, Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda grammusbat, spora, kapsula hosil qilmaydigan harakatsiz-kokklar (diametri 0,7-1,0 mkm, saprofitlari -2-4 mkm) ko'rinadi. Ular to'p-to'p uzum shingili shaklida joylashadi (67-rasm).

2. Bakteriologiya. Sof kultura ajratib, kultural xususiyatlarini o'rganish. Stafliokokklar — aeroblar, fakultativ anaeroblar. Oddiy oziq muhitlarda pH 7,2 — 7,8 yaxshi o'sadi. Stafliokokklar fizikaviy va kimyoviy faktorlarga ko'proq chidamli bo'lgani uchun ulardan dezinfeksiya sifatini aniqlashda test mikroob sifatida foydalaniladi. Stafliokokklar galofillar — 8-10% NaCl bor muhitda o'sadi.

Patmaterial — selektiv muhit tuz-qonli GPA (8-10% NaCl va 5% fibrinsizlangan qon qo'shilgan), GPB, GPA larga ekladi. Ekmalar 37°C da termostatta 12-24 soat o'stiriladi. GPB-joyqalanib, ko'p cho'kma tushadi. Halqa yoki parda hosil bo'lishi mumkin. GPA da yumaloq, uncha tiniq bo'lmagan, diametri 2-6 mmli koloniyalar paydo bo'ladi (68-rasm). Ularning rangi pigment hosil qilayotgan stafliokokk turiga bog'liq ravishda oqish, sarg'ish, tillarang bo'lishi mumkin. Qonli agarda koloniya atrofidan gemoliz zonasini hosil qiladi (69-rasm). Eritrotst-larning lizisi bakteriya gemotoksini tiplariga bog'liq — a, b, c, d va h.k. Bu ekzotoksinar antigenlik va immunogenlik xususiyatlarga, shuningdek, letal, nekrotik ta'sirga ega.

Koloniya GPB, GPB larga qayta ekib, o'sgan kultura farqlanadi. Ya'ni ularning biokimyoviy xususiyatlari aniqlanadi. Mannitni parchalashi, vodorod sulfid hosil qilishi, DNK-aza, kaogulaza fermenti hosil bo'lishi xarakterlidir.

Stafliokokklarning DNK-aza faolligini aniqlash. Eritib, bir oz sovu-tilgan GPAga (pH 8,4 — 8,6) 1 — 1,5 mg/ml DNKning nativli tuzi qo'shildi va 30 — 40 daqiga suv hammomida qaynatiladi. 50 — 60°C gacha sovuqach unga 0,8 mg/ml kalsiy xlorid aralashiriladi va Petri kosa-chalariga 10 — 15 ml dan quyib chiqiladi. Qotgandan so'ng 8 — 10 ta stafliokokk kulturesi belgilangan joylarga ilmoqni tegdirib ekladi, 18 — 20 soat 37°C da o'stiriladi. Keyin kosachaga 4 — 5 ml xlorid kislotasi-ni 1 n erimasini quyib, 2 — 3 daqiga o'tgach to'kib tashlanadi. Koloniya atrofidan tiniq hududining paydo bo'lishi DNK-aza borligini ko'rsatadi. Patogen stafliokokklar DNK-aza faollikka ega bo'ladi (70-rasm).

Patogen va patogen emas stafliokokklarni farqlash uchun maxsus selektiv muhit-kristalliviolet qo'shilgan GPA ga ekladi (1 litr 3,5%ii

GPA ga 3,3 ml 0,1%li kristallviolet qo'shildi). Kristallvioletning bakteriostatik ta'siridan patogen emas stafliokokklar o'smaydi. Patogenlari esa binafshta yoki to'q sariq rangli koloniyalar hosil qiladi.

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

Stafliokokklar ekzotoksin ajratadi. 1) gemotoksin (stafilolizin) eritrotsitlarni lizis qiladi. 2) leykotsidin-leykositlarni parchalaydi.

Letal toksini aniqlash – quyon qon tomiriga 0,75 ml/kg bulon kulturasini filtrat yuboriladi. *Nekrotoksini aniqlash* – quyon terisining ma'lum qismini junidan tozalani, dezinfeksiyalanadi, teri orasiga bulon kulturasini filtratidan 0,2 ml yuboriladi (1 ml da 2 mld mikroob hujayrasini) 24 soatdan keyin nekroz reaksiyasi (nekroz zonasi 1 – 2 kun davomida rivojlanadi) paydo bo'ladi.

Zaharlanishda stafliokokk *enterotoksini*ga tekshiriladi. 10 – 15 ml 3 – 4 sutkali stafliokokk kulturasini iliq sut bilan teng miqdorda aralashirib, 4 – 8 haftali mushuk bolasiga yediriladi. Ijroby natijada – ich ketish, qushish kuzatilib, mushukcha o'ladi.

Shularga asoslanib, yakuniy diagnoz qo'yiladi. Patogen stafliokokklar uchun: gemoliz, manitni parchalash, DNK-aza faollik, kristallviolet qo'shilgan muhitda o'sish, plazmokoagulyatsiya reaksiyasi, nekrotik xususiyati, letal toksini borligi xarakterli.

Biopreparatlar: autovaksina (30 daqiga 75°C qizdirilgan kultura), bakteriofaglar.

Nazorat savollari:

1. Stafliokokkli infeksiyalarda laboratoriyaga qanday patmaterial yuboriladi?
2. Stafliokokklarning morfologiyasi, kultural xususiyatlarini tushuntir?
3. Stafliokokklarning patogen va patogen emas shakllari oziq muhitida qanday farqlanadi?
4. Stafliokokklarning patogenligini biosinov qo'yish usulida aniqlash.
5. Patogen stafliokokklarning xarakterli xususiyatlarini ayting.

23-m a v z u. Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Probirkalarda streptokokk kulturasini, patmaterial, probirkalarda zarardoli GPB, glukozali GPA, Petri kosachalarida qonli GPA; sut (mastiti), 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

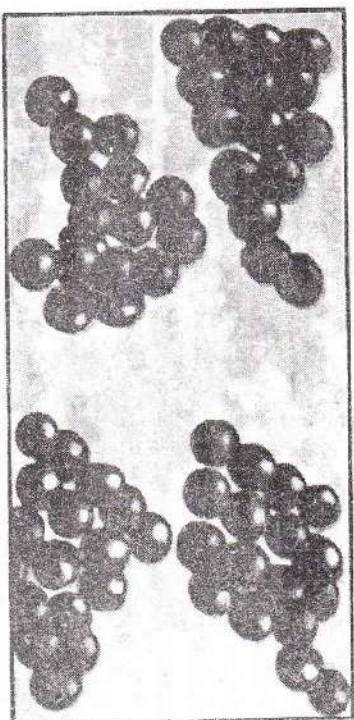
O'qituvchi streptokokkli infeksiyalarda patologik material olish va laboratoriyaga yo'llashni tushuntiradi. Bakteriologik tekshirish tartibi va usullari bilan tanishtiradi. Talabalar: 1) mikroob kulturasini, patmaterialdan surtma tayyorlab – Gram usulida bo'yaydilar va mikroskopda ko'rib, daftarga yozadilar,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

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 sog'ov, *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.salivarius*. Streptokokklar preispitatsiya reaksiyasida aniqlanadigan polisaxaridli maxsus antigeni bo'yicha 17 guruhga bo'lingan. Hayvon va odamlar patologiyasida, birinchi beshlasi muhim ahamiyatga ega bo'lib katta harflar bilan A, B, C, D, E belgilanadi.

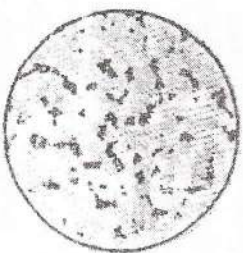
Yuqumli mastit qo'zg'atuvchisi. Yuqumli mastitni 80 dan ortiq mikroob turlari chaqiradi, ammo asosiy, juda ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi – *Str.agalactiae* (*Str.mastitidis*) va patogen stafliokokklar.

Patologik material. Klinik namoyon bo'lgan mastitda sut yelinining har bir zararlangan so'g'ichidan alohida steril holda probirkalarga

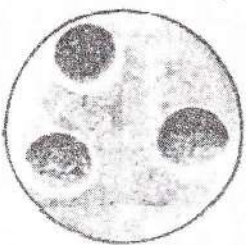
Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



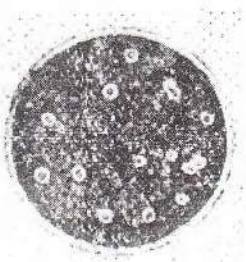
66-rasm. *Staphylococcus aureus* toza kulturada.
Gram usulida bo'yalgan.



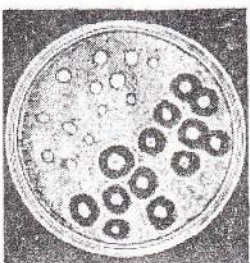
67-rasm. Stafilokokklarning
toza kultivatsiyasi.



68-rasm. GPAda
stafilokokk koloniyasi.

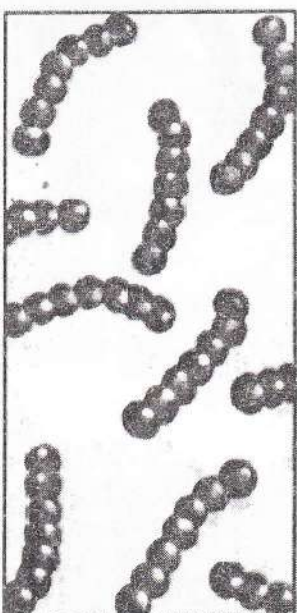


69-rasm. *Staphylococcus aureus* qonli
agarda gemoliz hosil qilgan.

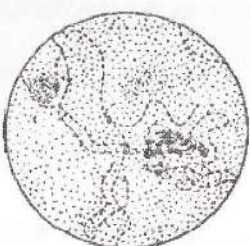


70-rasm. Stafilokokkning
DNK-azali faolligi.

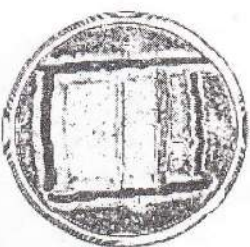
Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



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



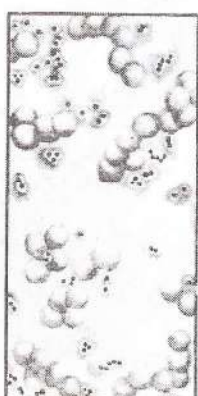
72-rasm. *Sagalactiae*
petmaterialdan tayyorlangan
surtmada.



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

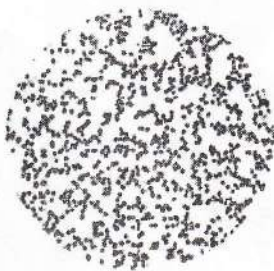


74-rasm. *Diplococcus pneumoniae* toza
kulturada. Gram usulida bo'yalgan.

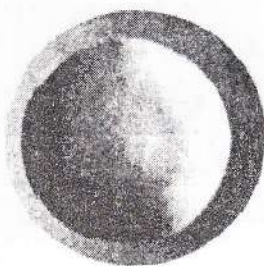


75-rasm. *Diplococcus pneumoniae*
balg'anda. Metilen ko'ki bilan bo'yalgan.

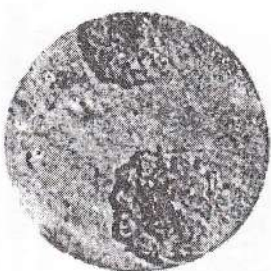
Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi



76-rasm. Pasterella GPB kulturasida tayyorlangan surtma.



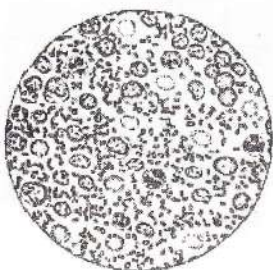
77-rasm. Pasterellaning S-shakli koloniyasi-agarda.



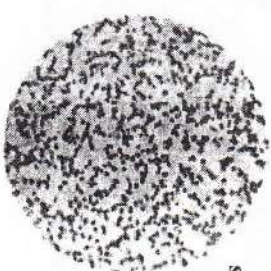
78-rasm. Pasterellaning R-shakli koloniyasi-agarda.



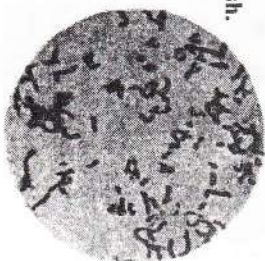
80-rasm. GPB da 2 sutkali pasterella cho'kmasini silkitgandan keyingi ko'rinish.



79-rasm. Pasterellalar. Patologik materialdan tayyorlangan surtmada.

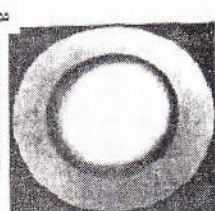


81-rasm. S-shakli pasterella surtmasi.

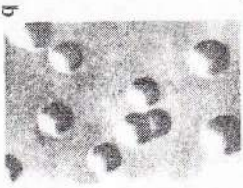


82-rasm. R-shakli pasterella surtmasi.

Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi



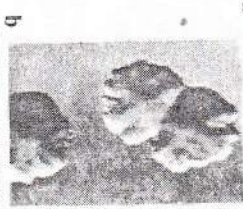
a



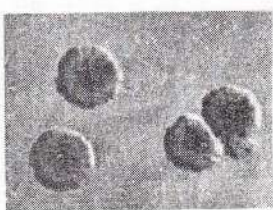
b



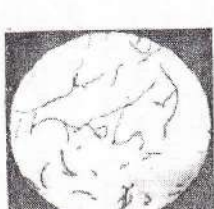
a



b



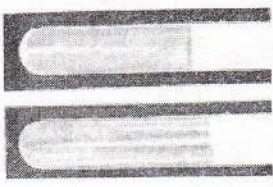
85-rasm. Oralig O(SR)-shakli mikrobbing eski koloniyalari pigmentli dog'lari bor.



83-rasm. Mikrobbing S-shakli koloniyasi (a,b); kengish R-shakli koloniyasi undan tayyorlangan surtmada ko'rinishi.

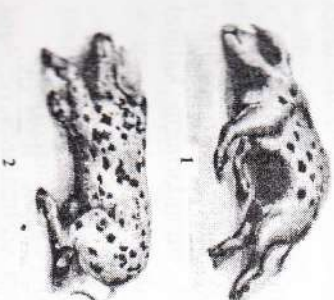
84-rasm. Mikrobbing S-shakli koloniyasi (a,b); undan tayyorlangan surtmada ko'rinishi.

86-rasm. A-GPB da kulturani qoqib ko'rganda «soch o'rini» singari ko'tarilishi, b-mikrobbing GPJ da o'sishi.



a

b



87-rasm. Saramas bilan kasallangan cho'chqalar: 1-kasallik o'tkir kechganda o'lgan; 2-yarim o'tkir kechganda o'lgan; 3-surunkali kechganda cho'chqa terisining nekrozga uchrashi.

88-rasm. Yurakning uch tabaqali klapanida hosil bo'lgan fibrinli to'plamlar.

olinadi. Subklinik mastitda avval sut alohida idishga sog'ib tashlanadi, keyin, yelini yuvib 70° spirt bilan dezinfeksiyalanadi va steril har bir so'g'ichdan alohida sterili probirkalarga sunning oxirgi porsiyalaridan (parenximai sut) sog'ib olinadi va og'zi yopiladi. Namunani 2 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak.

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

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

Biokimyoviy xususiyatlari – patogen streptokokklarning aktivligi past. GPJ ni suvultirmaydi, metilenli suvi rangsizlantirmaydi, ivitmaydi. Uglevodlar- glukoza, laktoza, saxapoza, maltoza, salislinarni parchalab kislotaga hosil qiladi. Sorbit va dulsini parchalamaydi.

S. agalactiae ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun CAMP (KAMP) usuli ishlatiladi. Atama avstraliyalik olimlar Kristi, Atkins, Munn - Petson nomlaridan olingan. Bu usul bita kosachada qonli GPA gemolitik xususiyatlari yo'qolgan yoki pasaygan B- guruh streptokokklari bilan gemolitik stafliokokklar yonma-yon ekilsa, ularning gemolitik xususiyati tiklanishiga asoslangan. Ekmalar 3 – 4 sutka 37°C da termostatda turadi (73-rasm).

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

Sog'ov qo'zg'atuvchisi – *Str. equi* antigen tuzilishi bo'yicha «C» guruhiga kiradi. Olti oylikdan ikki yoshgacha bo'lgan otlarda va bir tuyuqlilarda kasallik chiqiradi. Kasallik yuqori nafas olish yo'llari, hignilidoq, shilimsiq qavatlari, jag' osti limfa tugunlarining kataral yiringli yallig'lanishi bilan xarakterlanadi (klinik abscess, 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 kulturasidan

tayyorlangan surtmada zanjirlar qisqa bo'ladi, zich oziq muhitidan tayyorlanganlarida esa zanjirlar qisqa, hatto diplokokk ko'rinishida joylashadi. Gram, Romanovskiy usulida bo'yaladi. Qo'zg'atuvchi grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi o'Ichami 0,4-1 mkm.

2. **Bakteriologiya.** Qo'zg'atuvchi oddiy oziq 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. Zardobi glukozali agarda shudringimon yorug'lik o'tkazuvchi, mayda shilimsiq koloniyalar shaklida o'sadi. Qonli agarda β -gemoliz zonasi hosil bo'ladi.

Biokimyoviy xususiyati: sutni ivitmaydi, metilenli suvi rangsizlamaydi laktoza, sorbit, mannini parchalamaydi. Sog'ov antitirusi qo'shilgan muhitda o'smaydi.

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

Pnevmonokkli septisemiya qo'zg'atuvchisi – *Str. pneumoniae* (*Dipl. Septicum*, *Dipl. lanceolatus*). Kasallik yosh hayvonlarda o'pka va ichak orqali o'ladi. Hayvonlar 2-4 haftaligidan bir necha oylikkacha kasallanadi.

Patologik material. Kasal hayvonlardan ularning ajratmalari, qon olinadi. O'lgan hayvonlardan ularning jasadi yoki o'pka, taloqning zararlangan joylaridan bo'lakchalar, yurakdan qon, yiring, ilk suyagi olinadi.

Mikroskopiya. Gram, Romanovskiy-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. Kulturdan tayyorlangan surtmalarda qisqa zanjir shaklida joylashadi (74, 75-rasm). Kokklarning o'Ichami 0,5-1,5 mkm.

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

Patogen pnevmokokklar o't suyuqligida eriydi. Imulini parchalaydi (boshqa streptokokklardan farqi).

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

Biopreparatlar. Diplokokkii septisemiya qarsi vaksina buzoz, qo'zi, cho'chqa bolalaridan ajratilgan *Str.pneumoniye* shlamidan tayyorlanadi. Kulturan yarim suyuq agarda o'stirib, 0,4%li formalin eritmasida inaktivlanadi, sterillik, zararsizlik (dengiz cho'chqalarida), faolligi (oq sichqonlarda) tekshiriladi.

Assotsiatsiyalangan (polyvalent) vaksina cho'chqa bolalari paratit, pastereilloz va diplokokkii septisemiya qarsi *P.multocida*, *S.choleraesuis*, *Str.pneumoniye* kulturalarini o'z ichiga olgan.

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

Buzoz, qo'zi, cho'chqa bolalari diplokokkoziga qarshi zardob – qo'zg'atuvchilarning o'lik va tirik kulturalari bilan hayvonlarni giperimmuniab olinadi.

Nazorat savollari:

- 1.Mastitda sut namunasini olish qoidasi.
- 2.CAMP usulini qo'llashdan maqsad.
- 3.Mastit qo'zg'atuvchisining xususiyatlari.
- 4.Sogov qo'zg'atuvchisining yiring va kulturalardan tayyorlangan surtmalarda joylashish farqi.
- 5.Pnevmonokk septisemiya qo'zg'atuvchisining xususiyatlari, boshqa streptokokklardan farqi.

24-m a v z u. Pastereillozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Pastereillozga bakteriologik tekshirish uchun patmaterial olib laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'zlashtirish.

2.Pastereilloz qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini o'rganish. Bakteriologik tekshirishlar o'tkazishni o'rganish.

Material va jihozlar: GPA, GPB, qonli agarda, uglevodli Gissa multitida o'sgan kulturalar, steril GPA, GPB probirkalarda, Paster pipekalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum 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'yyadilar. Mikroskopda ko'rinishini daftarlarga chizib oladilar. Glukozali, laktozali, saxarozali, sorbit, dlistiti Gissa multitida qo'zg'atuvchining fermentativ xususiyatlarini natijasini o'rganadi.

Pastereilloz qishloq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar (parrandalar)da o'tkir o'tuvchi septik kasallik. U septisemiya, ichki organlar, seroz va shilliq qavatlarda 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 gliserining 30% li suvdagi eritmasida konservatsiya qilinadi. Ilik suyagi esa 5 – 10 %li formalin eritmasi shindirilgan dokaga o'raladi. Mayda hayvonlarning jasadi yo'llanadi.

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, mayda, qisqa tayogcha shaklida (0,25 -0,5 x 2 mkm), grammanfiy bakteriyadir. Leffler ko'ki yoki Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda pastereillalar bipolyar (bakteriyalarning uchlari intensiv bo'yalgan) holda ko'rinadi. Kulturalardan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikkitadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayogchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shlammlari kapsula hosil qiladi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rinadi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (76, 80, 81, 82- rasml).

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 ekmlar 24-48 soat termostada o'stiriladi. Agar o'sish bo'lmasa, ekmlar 4 – 5 sutkagacha termostada saqlanadi.

GPA da- pastereillalar mayda, silliq, bo'rtgan, tinig, yumaloq, chetlari teks (S-shakl) kuirang oq koloniyalar (77-rasml), ba'zan yirik, silimshiq (M- shakl) yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (R-

shakl) shaklida o'sadi (78-rasm). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

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

P. multocida glukoza, saxaroza, sorbit va mannini gazsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Laktoza, dulsitni parchalamaydi, suni ivitmaydi, indol hosil qilmaydi. Somaik va kapsulali antigenlari borligi aniqlangan.

3. Biosinov. Qoramol, cho'chqa, qo'ylardan tekshirilayotgan material bilan oq sichqon va quyvonlar zararlantadi. Material oq sichqonga-0,2 ml, quyonga-0,5 ml dozada terisi ostiga yuboriladi. Quyvonlarni avvalo pastarella tashuvchanlikga tekshiriladi - uch kun davomida ularning burun bo'shlig'iga 2 tomchidan 0,5 % li brilliart yashilining suvdagi eritmasi tomdiriladi. Burun bo'shlig'idan yiringli ajratmaning oqishi pastarella tashuvchanligini bildiradi. Ularda biosinov qo'yish mumkin emas. Parrandalardan tekshirilayotgan material bilan - kabutar, tovuq, o'rdaklar mushaklari orasiga 0,3 ml suspenziya yuborib zararlantadi. Ijoby natijada 18 - 36 soatda biosinovdagi hayvonlar o'ladi.

Natija ijoby hisoblanadi:

Patologik materialdan grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatsiz tayyogchasiimon bakteriyalar kulturas ajratilsa; ular glukoza, saxaroza, sorbit va mannini parchalasa, indol hosil qilmasa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa.

Biopreparatlar. Hozirgi vaqtda hayvonlarda pastorellozning oldini olish uchun o'ldirilgan va tirik vaktsinalar qo'llanadi. Oxirgi yillarda hayvon va parrandalar pastorelloziga qarshi veterinariya amaliyotiga emulgirlangan vaktsinalar kiritilgan. Immunitet 6-12 oy davom etadi.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy shtammlardan qishloq xo'jalik hayvonlarining pastorelloz, salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent radiovaktsina ishlab chiqilgan. Immunitet 6-12 oy davom etadi.

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

Qo'yalar pastorelloziga qarshi gidrooksalumlini formol vaktsina 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. Pastorellozga qachon ijoby natija - diagnoz qo'yiladi deb hisoblanadi.

4. Pastorellozga diagnoz qo'yishda biosinovning ahamiyati.
5. Laboratoriyaga yo'llanadigan patmatariallar va tekshirish usullari.

25-m a v z u. Tuyalar va odamlar o'lat kasalligining laboratoriya diagnostikasi

Tuyalar va odamlar o'lati qo'zg'atuvchisi (Y.pestis). Yersinia avlodi, *Enterobacteriaceae* oilasiga mansub.

Tuyalar va odamlar o'lati - tabiiy o'choqli kasallik. Tabiiy sharoitlarda kemiruvchilar qo'zg'atuvchi rezervuari hisoblanadi. Sog'lom hayvonlarni o'tkazuvchilar, birinchi navbada burgalar zararladi. Qishloq xo'jalik hayvonlaridan tuyalar kasallikka ko'proq moyil. Kasallik og'ir intoksikatsiya, o'pka, limfa tizimining zararlanshi, septisemiya bilan ifodalantadi.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun organlar, kemiruvchilar jasad, bubonlardan (shishgan limfa tuguni) yiring, balg'am, qon yo'llanadi. O'lat materiali bilan faqat maxsus laboratoriyalarda ishlashga ruxsat etiladi.

Mikroskopiya. Surtmalar Gram usulida bo'yaladi. Preparatlarda qo'zg'atuvchi ovoid yoki tayogchasiimon shaklda bo'lib, hujayra o'lchamlari 0,3-0,5x1-3 mkm. Bittadan, ikkitadan, ba'zan qisqa zanjir ko'rinishida joylashadi. Hujayralar grammanfiy, xivchilari yo'q, spora hosil qilmaydi.

Bakteriologiya. Qo'zg'atuvchi fakultativ anaerob, optimal harorat 28-29°C, pH 7,2-7,4 oddiy oziq muhitlarda yaxshi o'sadi. 37°C da o'stirganda 24 soatdan keyin zich oziq muhitlarda kengish, chetlari to'qlinsimon, markazi bo'rtiq sariq-qo'ng'ir koloniya hosil qiladi. GPBda muhit yuzida parda hosil qiladi, undan iplar osilib

tushayotgandek ko'rinadi (stalaktini eslatadi), probirka tubida donador cho'kma hosil bo'ladi.

Qo'zg'atuvchi glukoza, maltoza, mannit, galaktoza, arabinoza, ksilozalarni kislotalarigacha parchalaydi; jelatinani eritmaydi, indol hosil qilmaydi, katalaza ajratadi.

Kemiruvchilardan olingan materialni tekshirganda *Y.pseudotuberculosis*dan farqlash kerak. Ular *Y. pestis*dan ureaza hosil qilishi va rannozani parchalishi bilan farq qiladi.

Bundan tashqari tekshirilayotgan materialda qo'zg'atuvchi va uning antigenlarini aniqlashning tezkor usullari bor: immunofluoresensiya, gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi (GATR), bilvosita gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi, fag titrining o'rishi reaksiyasi, diffuz pretsipitatsiya reaksiyasi va h.k.

Biosinov. Begona mikroflora tushgan materialdan sof kultura ajratish uchun qo'llaniladi. Buning uchun material dengiz cho'chqalari terisi ostiga yuboriladi.

Begona bakteriyalar bilan ifloslanmagan material esa dengiz cho'chqalarining qorin bo'shlig'iga yuborib zarartlanadi. Chirigan material dengiz cho'chqasi qorin terisining junidan tozalangan qismiga ishab surtiladi. Natija ijobiy bo'lsa 3-7 kunlari hayvon o'ladi. Uni yorit, ichki organlari bakteriologik tekshiriladi.

Biopreparatlar. EV shlamdan tayyorlangan tirik, quruq o'lat vaksinasi.

Kimyoviy o'lat vaksinasi.

O'lat bakteriofagi.

Nazorat savollari:

1. Tuyalar va odamlar o'lati qanday kasallik.
2. Laboratoriyaga tekshirish uchun qanday patmateriallar yollanadi.
3. Patologik material qaysi usullarda tekshiriladi.
4. *Y.pestis*ning morfologiyasi va kultural xususiyatlarini ayting.
5. Tuyalar va odamlar o'latida biosinov qanday qo'yiladi.

26-m a v z u. Pseudotuberkulozning laboratoriya diagnostikasi

Pseudotuberkuloz qo'zg'atuvchisi (*Y. pseudotuberculosis*) – *Yersinia* avlodi, Enterobacteriaceae oilasiga mansub.

Pseudotuberkuloz (soxta tuberkuloz, rodentioz) – kemiruvchi va parrandalarda ko'proq uchraydigan infeksiyon kasallik bo'lib, parenximal toz organlarni tuberkulozdagi o'zgarishlarga o'xshash tugunlar hosil qilib zararlashi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun parenximal toz organlar, limfa tugunlar, kemiruvchi va parrandalarning jasadlari yo'llanadi.

Morfologiyasi va tinktorial xususiyatlari bo'yicha *Y. Pseudotuberculosis* *Y.pestis* dan farq qilmaydi.

Bakteriologiya. *Y. Pseudotuberculosis* – fakultativ anaerob. Ular uchun optimal harorat 28-30° C, pH 7,2-7,4. Qo'zg'atuvchining xususiyatlari uni o'stirish haroratiga bog'liq. Oziq muhitlarga talabchan emas.

Zich oziq muhitlarda 22-28° C da 24 soatdan keyin mayda (diametri 0,1-0,5 mm), yunalmoq, bo'rtiq, tiniq, kulrang-sarg'ildir, markazi ko'tarilgan, yaltiroq koloniyalar hosil bo'ladi. 37° Cda koloniyalarda polimorfizm namoyon bo'lishi mumkin. U bo'rtiq, markazi qo'ng'ir va chetlari ingichka to'lali D- koloniyalar shakllanishi bilan ifodalanadi. Past haroratlarda (22° C va undan past) xivchinlar hosil qiladi, shunisi bilan *Y. pestis*dan farq qiladi, 37° Cda harakatsiz bo'ladi. GPBda bir xilda loyqalanish, donador yoki yopishqoq cho'kma hosil qiladi.

Turini aniqlash maqsadida biokimyoviy xususiyatlari tekshiriladi. *Y. pseudotuberculosis* ureaza hosil qiladi, rannoz, melbiozani big'itadi, lizin – ornitindekarboksilazasi yo'q, jelatinani eritmaydi, indol hosil qilmaydi, Simmons muhitida o'smaydi. 25° C da Foges – Proskauer reaksiyasi manfiy.

Ajratilgan qo'zg'atuvchi kulturasini serovarianini aniqlash uchun serologik reaksiyalar qo'llaniladi. *Y. pseudotuberculosis* termostabil antigenlari bo'yicha 6 ta serologik guruhga va xivchinli antigenlari bo'yicha 5 variantga bo'linadi.

Biosinov. Patmaterial suspenziyasi yoki ajratilgan kultura bilan oq sichqon, dengiz cho'chqalari, quyonlar terisi ostiga yoki qorin bo'shlig'iga zarartlanadi. Ijobiy natijada oq sichqonlar 2-4 sutkada, dengiz cho'chqalari va quyonlar – 2-35 sutkada kultural viruslarning yuqulishiga bog'liq ravishda o'ladi. Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish uchun o'lgan hayvonlarning organlaridan oziq muhitlarga ekitiladi, surtmalar tayyorlanadi, bo'yalgan preparatlar mikroskopda ko'riladi.

Nazorat savollari:

1. Pseudotuberkuloz qanday kasallik.
2. Laboratoriyaga tekshirish uchun qanday patmateriallar yo'llanadi.
3. Pseudotuberkulozga patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi.
4. *X. Pseudotuberculosis* ning kultural xususiyatlarini ayting.
5. Pseudotuberkulozga biosinov qanday qo'yiladi.

27-m a v z u. 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 kulture, buyum oynachalari, moy-qalam, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, kyuveta, biopreparatlar, jadval, plakatlar.

Ushbu ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga topshiriq beradi. Talabalar qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini o'rganadi, kulturedan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yaydi, mikroskopa ko'rib morfologiyasini o'rganadi. Qo'zg'atuvchining fermentativ xususiyatlari bilan tanishadi. Jasadni yorib parenximatoz organlardan GPB, GPA, GPJ larga ekadi. Tang'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 saramas kasalligi qo'zg'atuvchisi – *Erysipelothrix rhusiopathiae*. O'tkir kechganda septik semiya, eritemali yallig'lanish, surunkali kechganda endokardit, artirit, bilan namoyon bo'ladigan yuqumli zoonotoponoz kasallik (87, 88-rasm). 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 yoki parenximatuz organlardan bo'lakchalar (yurak, jigar o't xaltasi bilan, talog, buyrak) ilik suyagi, yuboriladi. Kasallikning surunkali shakli gumon qilinganda yurakdan qon va endokard, artrida

bo'g'in suyug'ligi yo'llanadi. Lozim bo'lganda organ bo'laklari 30% li glitserin yoki osh tuzining to'yingan eritmasida konservatsiyalanadi. Ilk suyagini yumshoq to'qimalardan ajratib, 2 – 3% li fenol eritmasi shindirilgan dokaga o'raladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tang'ali surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Saramas qo'zg'atuvchisi spora, kapsula hosil qilmaydi, harakatsiz, grammusbat, bitta, ikkita yoki to'p-to'p bo'lib joylashgan tayogchasiyon bakteriyalardir. O'Ichami 0,2-0,3 x 0,5-1,5 mkm. Ba'zi adabiyotlarda berilgan ma'lumotlarda uzunligi 2-2,5 mkm gacha. Zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada uzun iplar shaklida joylashadi (83,84-rasm). Fluorescentli zardoblar bilan ham bo'yash mumkin. Lyuminescentli mikroskopiyada saramas qo'zg'atuvchisi intensivligi uch nishondan (+++) kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan GPB, GPA, GPJ larga ekiladi. Ekmalari 37°C da 18-24 soat termostatta o'stiriladi, o'sish bo'lmasa, yana 24 soatga qoldiriladi. *E. rhusiopathiae* 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 (86 a-rasm). Qoqib ko'rganda nozik bulut shaklida ko'tariladi.

GPA da saramas qo'zg'atuvchisi mayda, shaftof, shudringimon koloniyalar hosil qiladi (S-shakli). R-shaklida – yirik, yuzasi notekis, chetlari o'simlari koloniyalar – (kasallik surunkali o'lganda) paydo bo'ladi. Ba'zan oralik koloniyalar ham hosil bo'ladi (83,84,85-rasm).

GPJ ga tik ekitilganda uni suyultirmaydi, bir necha kundan keyin «yunaloq sim cho'tka» shaklida o'sadi (86 b-rasm).

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

Serologik farqlash. Buyum oynachasida tomchili usulda 1:50 nisbatda saramas zardobi bilan AR qo'yiladi. Bir sutkali GPA da o'sgan kultura ishltiriladi. Agar saramas qo'zg'atuvchisi bo'lsa zich, mayda, donador agglutinat 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 suspensiyasi yoki GPA da o'stirilgan 1-2 sutkali kultura suspensiyasi yuboriladi. Ijodiy natijada zararlantirilgan

kabutarlar 3 - 6 sutka, oq sichqonlar 2-4 sutkadan keyin o'ladi. Biosinov 7 kun kuzatiladi.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

1. Lyuminiscentli mikroskopda patmaterial, aralash kulturadan tayyorlangan surtmalarda saramas qo'zg'atuvchisi topilsa (toza kultura ajratilmasa ham);
2. Patmaterialdan qo'zg'atuvchiga xos xarakterli xususiyatli kultura ajratilisa;
3. Biosinovdagi hayvonlar o'lsa va organlaridan saramas qo'zg'atuvchisi kultura ajratilisa (hatto birlamchi qo'zg'atuvchi ajratilmasa ham).

Biopreparatlar. Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi konsentrlangan gidrookisalumini formolvaksina.

Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi deponirlangan vaktsina (tirik kultura ishlatilgan).

Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi quruq liofilangan tirik vaktsina. VR - 2 vaktsina shtammi kulturasiidan tayyorlangan.

Cho'chqalar saramas kasalligini 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'limasa faol hisoblanadi.

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

Nazorat savollari:

1. Saramasga tekshirish uchun patmaterial olib, laboratoriyaga yo'llash 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.

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

Material va jihozlar: GPA, GPB muhritlarida qo'zg'atuvchi kulturalari, steril - GPA, GPB, GPJ probirkalarda, Paster pipetkari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, agglutinatsiyalovchi zardoblar, mavzuga oid plakat, jadvallar, biopreparatlar.

Usulbiy ko'rsatmalar

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

Talabalar GPA, GPB muhritlarida o'sgan kulturaning xususiyatlarini o'rganadi, ulardan GPA, GPB, muhritlarga ekib, surtmalar tayyorlashadi. Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'radilar. Natijani dafarga 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, septicemiya namoyon bo'ladi.

Patologik material. Tekshirish uchun laboratoriyaga yangi o'lgan mayda hayvon jasadi yoki yirik hayvonlardan (ot, yirik shoxli mol, qo'yilar) parenximatuz 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. Mikrobing beshta-gacha xivchini bo'lib, ular faol harakat qiladi (89b-rasm). Ba'zi shtamlari tez xivchilarini yo'qotib, harakatsiz bo'lib qoladilar. Gramusbat (eski kulturada grammanfiylari ham uchraydi), o'lchami 0,3 - 0,5 x 0,8 - 2,0 mkm, polimorf, uchlari qayrilgan tayovqachalar, ba'zi oziq muhitda o'sganlari - yengil egilgan bo'ladi. U bittadan, rim raqami,

bir-biriga parallel, juft yoki qisqa zanjirchalar ko'rinishida joylashadi (89a-rasm). Spora va kapsula hosil qilmaydi. Fluorescentli zardoblar bilan bo'yalgan preparatlarda ijobiy natijada listerioz qo'zg'atuvchisiga xos konturda intensivligi ++++, +++ nishondan kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

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

Biokimyoviy xususiyatlari doimiy emas. Dulsit, inulin, raffinozani parchalamaydi; glukoza, maltoza, pannoza, salisilarni gazsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Katalaza aktivligi yangi tayyorlangan 5%li vodorod peroksidni teng miqdorda sutkali bulonli kultura yoki agari kultura bir necha tomchi qo'shib aniqlanadi. Gaz pufakchalarning hosil bo'lishi (ko'pik) kultura katalaza fermentining borligidan dalolat beradi. Bu esa listeriyalar uchun xarakterlidir (91d-rasm).

Listeriyalarni saramas kasalligi qo'zg'atuvchisidan farqlash uchun indikatorli bo'y oq qo'shilgan muhitar ishlatiladi. Listeriyalar lakmusli, neytralrot va metilen ko'ki qo'shilgan muhitlarni rangsizlantiradi, saramas qo'zg'atuvchisi esa rangsizlantirmaydi.

Serologik tekshirish. AR, KBR, pretsipitatsiya, bilvosita gemaglutinatsiya 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'lmastligi 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'kintir eritmalar paydo bo'ladi, oldingi oy oq panjasi (barmoqlari) falajlanadi* (92-rasm).

Dengiz cho'chqalari listeriya kultura bilan terisi ostiga, mushaklari orasiga va qorin bo'shlig'iga zararlenganda ularning bir qismigina o'ladi. Listeriyalarning spetsifik 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 kultura tomdiriladi va qovoqlari yengilgina paxta tampon bilan ugallanadi. Ijobiy natijada 2-4 kunlari yiringli keratokonyunktivit paydo bo'ladi (93a-rasm).

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

Katta quyonlarni terisi ostiga, mushaklar orasiga va qorin bo'shlig'iga qo'zg'atuvchi katta dozada yuborilgan ham, ularni o'ldirmastligi mumkin. Faqatgina venasiga 0,5 - 1 mlrd bakteriya ineksiya qilinganida ular markaziy asab tizimi faoliyatining buzilishi belgilari bilan o'ladi (93a-rasm). Quyonlarda ham dengiz cho'chqalari kabi kulturali terisi ichiga yuborib 24-72 soatda yallig'lanish jarayonini paydo qilish mumkin (93b-rasm). Bitta quyon terisining har joyiga bir necha kulturali yuborib tekshirish mumkin (95a-rasm).

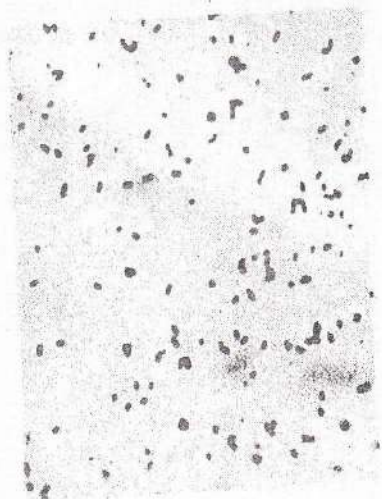
Listeriozdan o'lgan laboratoriya hayvonlarining jigari, talog'i va buyraklarida juda ko'p kulrang oqish nekroz tugunchalari paydo bo'ladi (95b-rasm).

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

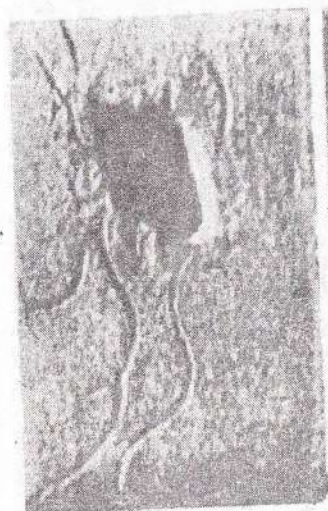
Biosinovdagi hayvonlar 14 sutka kuzatiladi.

Natija ijobiy hisoblanadi:

Patologik materialdan katalaza hosil qiluvchi, maltoza, pannoza, salisilarni gazsiz kislota hosil qilib parchalaydigan gramusbat,

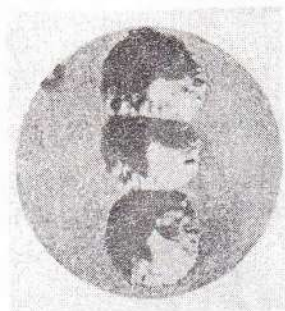


a

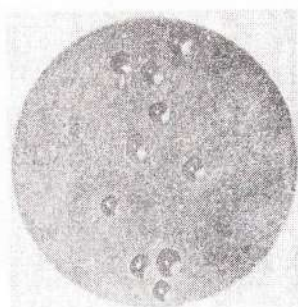


b

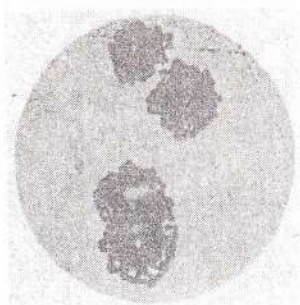
89-rasm. Listeriyalar - a) sutkali GPA kulturasidan tayyorlangan surtmada, b) elektronogrammada xivchilari bilan ko'rinishi.



a

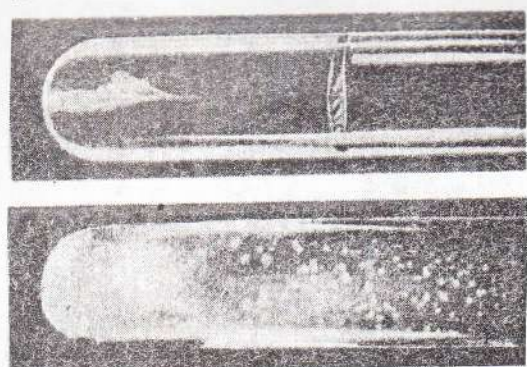


b

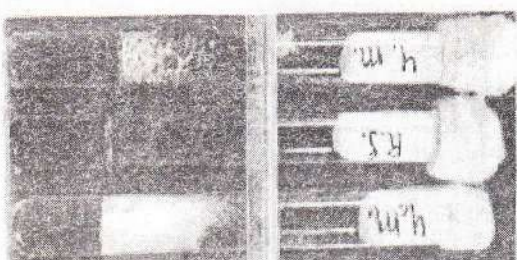


d

90-rasm. Koloniyaning a) - O (SR), b) - S, d) - R- shakllari.

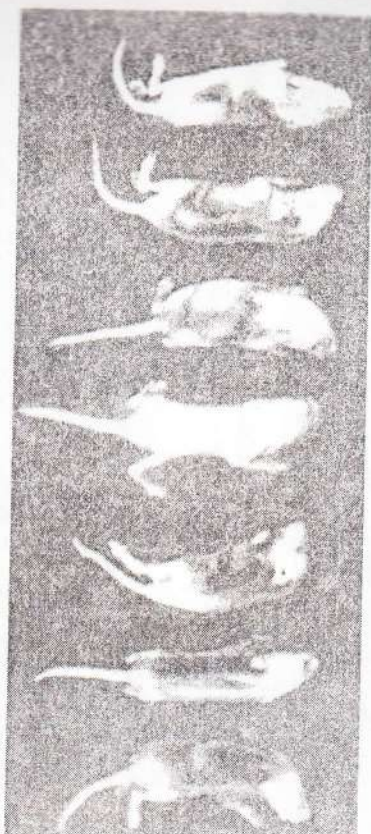


a

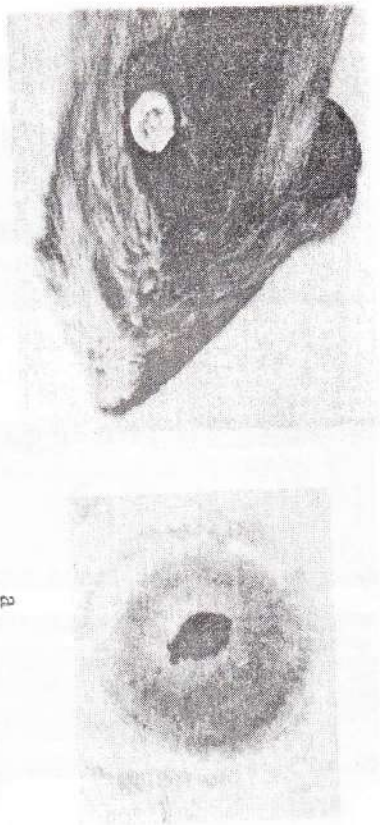


b

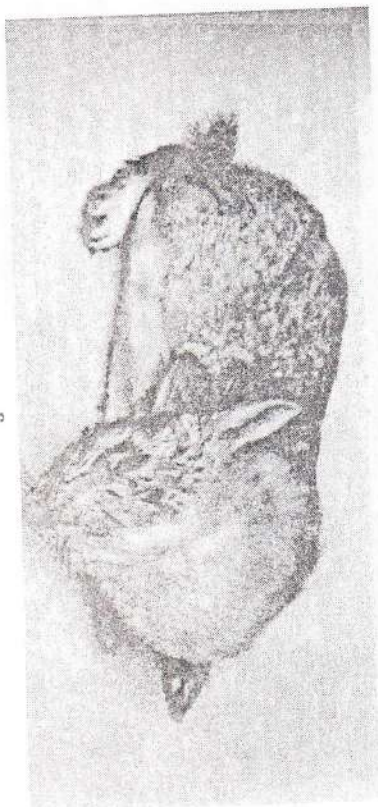
91-rasm. listeriyalar a) GPB da - cho'kma soch o'timi singari ko'tarilishi, b) GPBda o'sishi, d) katalaza namunasi.



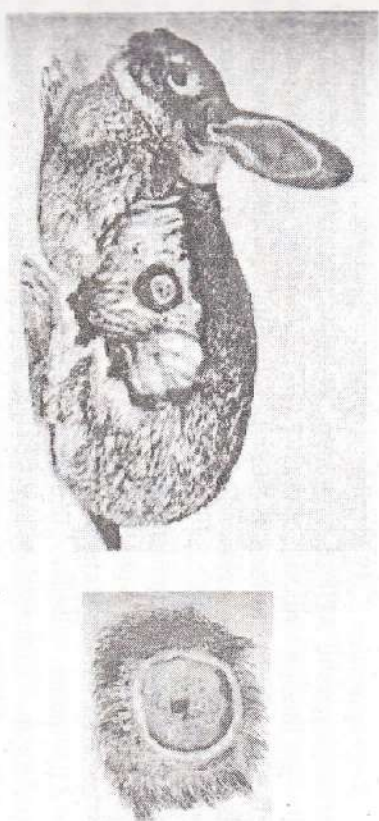
92-rasm. Listeriyalar bilan zararlangan 5-6 kunlik oq sichqonlarda eritema va oldingi oyog'lari falaji. Markazda sog'lom sichqon.



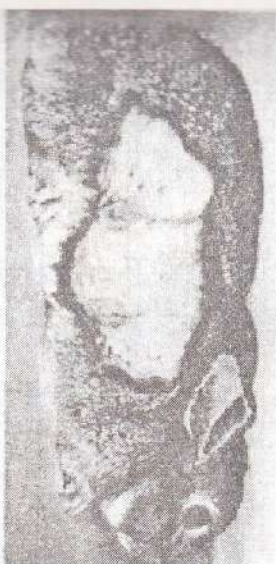
93-rasm. dengiz cho'chqasida a) kon'yunktival namuna – keratit, b) teri orasiga listeriyalar yuborilgan joyda yallig'lanish.



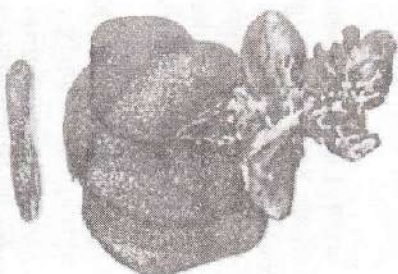
94-rasm. a) venasiga zararlangan quyonda listerioz. 126



94-rasm. b) quyon terisi orasiga listeriya kulturasini yuborilgan joyda yallig'lanish.



a



b

95-rasm. a) bir vaqtda bir nechta listeriya kulturasi quyon terisi orasiga yuborib tekshirish, b) listeriozdan o'lgan quyoning jigari va talog'ida mayda nekroz tugunchalari.

polimorf, harakatchan tayoqchalar 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 va lyuminessent mikroskopiyada ijobiy natija bersa.

Biopreparatlar. 1974-yilda qishloq xo'jalik hayvonlarining listerioziga qarshi, AUF shtammidan tayyorlangan quruq vaksina taklif etilib qo'llashga ruxsat etilgan. AUF vaksina birinchi serotip listeriyalarining attenuirlangan shtammini ifofillab quritilgan kulturasidir. Vaksinaning sterilligi, zararsizligi va immunogenligi quyolarda nazorat qilinadi.

Listeriozning diagnostik agglutinatsiyalovchi zardoblari.

Fluorensensiyalovchi listerioz zardoblari.

Listeriyalarning ikkita serotipidan tayyorlangan vaksinalar.

AR uchun ikkita listerioz antigeni; ikkita serogurudhan 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 yo'llash qoidasi.
2. Listerioz qo'zg'atuvchisining morfologik, kultural, biokimyoviy xususiyatlari.
3. Listeriozda qo'llanadigan biopreparatlar.
4. Listeriozda biosinov qo'yish usulini ayting.
5. Qachon listeriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

29 - m a v z u. 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 muhltarida *E. coli* kulturalari, probirkalarda steril oziq muhltar – GPA, GPB, GPJ a, vismut – sulfidli agar, Paster pipetkalari, patmaterial, qaychi, skapel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, agglutinatsiyalovchi zardoblar, ko'rsatish uchun jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

Ushbu ko'rsatmalar

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

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

Qo'zg'atuvchisi *E. coli*. *Escherichia* avlodiga mansub. Yosh hayvonlarning o'kir kechuvchi infeksiyon kasalligi bo'lib, kuchli ich ketish, holisizlanish 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, masit va endometrit qo'zg'atuvchisi ham bo'lishi mumkin.

Patologik metarial. Yangi o'lgan hayvon jasadi yoki ilk 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 % glitserin, 10 %li osh tuzida konservatsiyalash mumkin. Kasal hayvonning to'g'ri ichagidan tezagi olinadi.

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

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan GPA, GPB, Endo muhltariga ekiladi. Probirkali muhltarlarga Paster pipetkalari bilan, Petri kosachalaridagiga shpatel bilan yoki organlardan tamg'a usulida ekiladi. Ekmalur 37–38°C da termostatda bir sutka o'stiriladi. *E. coli* aerob va fakultativ anaerob. Endo muhltida xarakterli koloniy bo'lsa, undan GPA, GPB, qoni agarga ekiladi.

GPB – bir xilda loyqalanish, tez targovchi cho'kma hosil bo'ladi. GPA da 16–20 soatda namli, yumaloq chetlari tekis, yuzasi silliq,

morfologik, kultural xususiyatlarini tushuntiradi. Ishlatiladigan biopreparatlar bilan tanishtiradi.

Talaba: patmateriallardan, kulturaldan 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 salmonellozi «O» va «H» zardoblar bilan, tomchili AR ni buyum oynachalarida qo'yadi.

Salmonelloz 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 oylikkacha bo'lgan yoshda kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi *S. enteritidis* (dublin) va *S. typhimurium* lar. Kasallik istima va kuchli ich ketish bilan kechadi (katta yoshdagilari salmonella tashuvchi hisoblanib, kasallik klinik belgilarisiz o'tadi). Cho'chqalar 4 oylikkacha yoshda kasallanadi, qo'zg'atuvchisi *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*. Qo'yalar hamma yoshida kasallanadi, ona qo'ylarda salmonellozi homila tashlash kuzatiladi. Qo'zg'atuvchisi *S. abortus ovis*. Toyar ko'pincha ona qornida zararlanaadi, biyalar natijada homila tashlaydi. Ularda kasallikni *S. abortus equi* qo'zg'aydi. Parrandalar salmonellozi jo'yalar hayotining birinchi kunlari va haftalarida yalpi kasallanish va o'limi bilan namoyon bo'ladi. Tovug homilasi va katta yoshdagi parrandalar ham kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi *S. pullorum* (*S. gallinarum*).

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

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

2. Bakteriologiya. Patmateriallardan GPA, GPB va elektiv muhitlardan biortasiga – Endo, Ploskirev, Levin, vismut-sulfit agarga ekiladi. Muhitning pH 7,2 – 7,4. Ekmalar 37-38°C da bir sutka

davomida termostatda o'stiriladi. GPBda qo'zg'atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq, rangsiz, tiniq yoki kulrang-ko'kimtir, chetlari tekis (*S* shakli), ba'zan kengish (*R* shakli) koloniyalar paydo bo'ladi (103-rasm). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko'kimtir koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (107-rasm). Harakatchanligi yarimsuyug 0,2 – 0,3%li GPAga kulturani ekib aniqlanadi. *S. pullorum* (*S. gallinarum*) tik ekish yo'lida sterjen kabi o'sib, muhit yuzida parda hosil qiladi (104-rasm, o'rtadagi probirka). Harakatchan kultura esa muhitning butun qalinligi bo'yicha o'sadi va u ham muhit yuzida parda hosil qiladi.

Fermentativ xususiyatlari. Salmonellalar glukoza, mannitni parchalaydi, *laktioza*, *saxarozani parchalamaydi*, jelatinani eritmaydi, sutnu ivitmaydi, metilen ko'kili sutni rangsizlamaydi, indol hosil qilmaydi, ko'pchiligi vodorod sulfid (H_2S) hosil qiladi (105-rasm *S. typhimurium* kulturasiining rangli qatorda o'sishi). Metilrot bilan musbat, Foges – Proskauer bilan manfiy natija beradi.

Serologik tipizatsiya uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasiini avval polivalent salmonellozli agglutinatsiyalovchi «O» – zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (106-rasm). Ijobiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga kiruvchi alohida monoreseptorli «O» – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin avvan o'sha kulturalar monoreseptorli «H» zardob bilan (I va II fazalari raqam va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tasigari immunofluorescent 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 sich-qonlar terisi ostiga kultura suspenziyasi (50-100 mln mikroob tanachalari 1 ml)da 0,2-0,3 ml yuboriladi. Ijobiy natijada 3-10 kunda sich-qonlar o'ladi.

Biopreparatlar. Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrlangan formolachechiktoshi vaktsina.

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

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

Buzoqlar salmonelloziga qarshi vaktsina *S. dublin* №6 shlammdan tayyorlangan.

Qoʻylar salmonelloziga qarshi polivalentli formolionmersalli vaktsina.

Suvda suzuvchi parrandalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaktsina.

Buzoq, choʻchqa bolalari, qoʻzi va parrandalarning salmonelloziga qarshi polivalent antitoksinni zardob. *S. Dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortus ovis*, *S. choleraesuis* shtamlaridan iborat antigen bilan immunlangan hayvonlarning qonidan olinadi.

Buzoqlar salmonellozi va kolibakterioziga qarshi bakteriofag hamda parranda pulloroziga qarshi bakteriofaglar. Salmonelloz va kolibakterioz bilan kasallanib, sogʻaygan hayvonlardan ajratib olingan faglardan tayyorlanadi.

Oʻzbekiston veterinariya ilmiy tadqiqot institutida mahalliy shtamlardan buzoq, qoʻzi va choʻchqa bolalarining kolibakterioz va salmonellozlariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidalumini vaktsina va immun zardob yaratilgan.

Serologik tekshirish uchun salmonelloz antigeni – inaktivlangan salmonellalardan iborat gomogen suspensiya (miqdori 10^9 /ml), probir-kali AR uchun.

Pullorozli eritrositar antigen.

Parranda pullorozini tekshirish uchun rangli antigen. Formalin bilan oʻldirib, kristallviolet bilan boʻyalgan salmonellalarning gomogen suspensiyasi. Qon tomchili agglutinatsiya reaksiyasida parrandalar tirik vaqtida salmonellozga tekshirish uchun ishlatiladi.

Fluoresensiyalovchi salmonellozli O-zardoblar.

Salmonellozli O-kompleksi hamda monoreseptorli O- va H-agglutinatsiyalovchi zardoblar toʻplami. Hayvonlar, hayvonlar mahsulotlari va tashqi muhit obyektlaridan ajratiladigan 33 ta salmonella guruhini buyum oynasida AR usulida ekspress tekshirish uchun qoʻllaniladi.

Nazorat savollari:

1. Salmonellozda patmaterial olish va laboratoriyaga yoʻllash.
2. Salmonellalarning xususiyatlari.
3. Salmonellalarning differensial – diagnostik muhitlarda oʻsishi.
4. Salmonellalarning serologik tipizatsiyasi.
5. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini ayting.

134

31 - m a v z u. Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashgʻulotning maqsadi: kuydirgi kasalligiga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini oʻrganish. Patmaterialni mikroskopik, serologik (PR) usullarda tekshirishni oʻzlashtirish. Qoʻzgʻatuvchini saprofit basillalardan farqlash.

Material va jihozlar: kuydirgi kasalligini qoʻzgʻatuvchisining vaktsinali shtammi bilan zararlantirilgan oq sichqon jasadi, yorish uchun–steril asboblari; qoʻzgʻatuvchining GPA, GPB, GPJ da oʻsgan kulturalari; steril Paster pipetkalari, probikalarda steril GPA, GPB, GPJ, Ulengut probikalari shtativi bilan, preseptatsiyalovchi kuydirgi zardobi, normal zardob, boʻyoqlar toʻplami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, standart kuydirgi antigeni, fiziologik eritma, voronka, asbestli paxta, biopreparatlar, mavzuga oid javdallar, plakatlar.

Ushbu koʻrsatmalar

Oʻqituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: 1) Oʻlgan sichqonni yoritib, yuragi, jigari va talogʻidan GPA, GPB, GPJ ga ekib, termostatga qoʻyish. Organelardan tangʻali surtmalar tayyorlab Gram va Mixin usullarida boʻyash. Mikroskopda koʻrib, daftarga chizib olish. Patmaterialdan issiq usulda ekstrakt tayyorlab, halqali PR ni qoʻyish. Kuydirgi qoʻzgʻatuvchisining xususiyatlarini va uni saprofit basillalardan farqlash usullarini oʻrganish.

Kuydirgi kasalligi – qoʻzgʻatuvchisi *Bacillus anthracis* (*Bacillus avlodiga* mansub), 1857-yilda Brauel ajratgan va oʻrgangan. U koʻpchilik qishloq xoʻjalik, yovvoyi hayvonlar, shuningdek, odamlarda intoksikatsiya, isitma, septisemiya, karbunkulalar paydo boʻlishi bilan namoyon boʻladigan, oʻtkir yuqumli kasallik. Choʻchqalarda tamogʻ limfa tugunlari zararlanadi – angionoz shakli. Kuydirgi kasalligiga gumon qilinganda jasadni yoritish man etiladi.

Patologik material. Jasadning yotgan tarafidagi (pastdagi) qulogʻi asosi ikki tomonidan orasi 1 sm bogʻlanadi, oʻrtasidan kesib, kesilgan tomonlari qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. Kesilgan qulogʻni 3% bor kislotasi shindirilgan dokaga oʻrab, sellofanga solinadi, ustidan pergament qogʻoz bilan yana oʻrab, germetik yopiq idishga (karobka, metall yashik) solinadi. Qon olish uchun joyi dezinfeksiyalanadi, qon olinib, joyi olovda yoki qizdirilgan shpatelda kuydiriladi. Choʻchqalardan – tomogʻ limfa tugunlari va shishgan birlituvchi toʻqima boʻlakchalari olinadi. Agar yoritish vaqtida kuydirgi kasalligiga gumon qilinsa, yoritishni toʻxtatib, taloqning bir qismi tekshirishga olinadi.

135

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovskiy Gimza usullarida bo'yaliadi. Maxsus eritma 180 ml 96° etil spiriti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiriladi. Qo'zg'atuvchi harakatsiz, grammusbat tayogchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (108, 109-rasm). Tayogchani 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: tayogchalar qisqa, yo'g'on, egilgan yoki donachali bo'lib, o'rasi yoki ikki cheti shishgan bo'ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhida), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhida). Kultura dan tayyorlangan surtmalarda *B. anthracis* tayogchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (115-rasm). O'lchamlari 1-1,3 x 3,0-10,0 mkm. 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 termostatta 18-24 soat o'stiriladi, mikro o'smagan bo'lsa, yana ikki sutka termostatta turadi. *B. anthracis* - aerob. GPA da siliq (113-rasm), sal xira, kulrang, kengish (*R*, *RO*, *O* -shakl) koloniyalar hosil qiladi (110, 111, 112-rasm). Koloniyalarning markazi qorong'lashgan, chetlari bo'yra-bo'yra, jingalak sochdek bo'ladi. Koloniyalar mikroskopda ko'rganda «meduza kallasi» yoki «sher yoli» shaklida ko'rinadi.

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

Gumoni hollarda kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisini saprofit basillalardan farqlash maqsadida uning harakatchanligi, gemolitik xususiyatlari aniqlanadi, lyuminiscentli mikroskopiya, fagotiplash, «Marjon» testi o'tkazilib, laboratoriya hayvonlari zararlantiriladi. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi - harakatsiz. GPJ da yuzaga yaqin joyda kislorod yetarli bo'lib, yoniga shoxlanib ko'proq o'sadi. Chuqurlashgani sayin o'sish kamayib, shoxlanish qisqaradi, to'ng'arilgan archa shaklida bo'ladi (114 b-rasm). 3-5 kun o'tib, jelatina eriydi va voronkasimon shakl paydo bo'ladi, qonli agarda gemoliz hosil qilmaydi (117-rasm), organizmda kapsula hosil qiladi, penitsillingga sezuvchan - «Marjon» testi ijobiy (116-

rasm). 1 ml muhi tarkibida 0,5; 0,05 TB penitsillin bor GPA ga kultura ekiladi, 37-38 °C da 3 soat termostatta o'stiriladi, qo'zg'atuvchi hujayra marjon shakliga kiradi. Lyuminiscentli mikroskopiya «OKVC» fluoressent kuydirgi zardobi yordamida o'tkaziladi. Bevosiya yoki bivosiya fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llaniladi. Ijobiy natijada hujayra konturi to'rt yoki uch nishonga nurlanish beradi.

Fagotiplash: oqar 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 termostatta qo'yiladi. Keyin 4 ta probirkaga bir tomchidan fag agarning chetlaridan 8-10 mm qoldirib tomchitilib, 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 atrofdagi kultura odatdagidek o'sib, «bordur» shaklini beradi (118-rasm).

Unda boshqa tur mikroorganizm bo'lsa, kultura muhi sirtida bir xilda o'sadi va «bordur» shakli hosil bo'lmaydi.

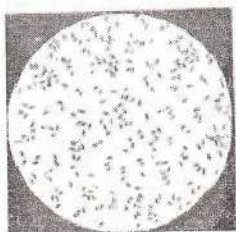
3. **Biosinov** patmaterial kelirilgan kuni qo'yilishi shart. Laboratoriya hayvonlaridan oq sichqon, dengiz cho'chqasi va quyonlarda qo'yiladi. 2 ta oq sichqon dum asosiga 0,1-0,2 ml, yoki dengiz cho'chqalari qorin qismi terisi ostiga 0,5-1 ml, quyonlarga 6,3 ml dozda patmaterial suspensiyasi yuboriladi.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

Serologik tekshirish (PR)

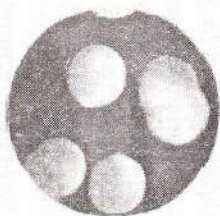
Qulog qonsizlantirib olingan bo'lsa, qo'shimcha PR ham qo'yiladi. Patmaterial aynigan bo'lib, bakteriologik tekshirishga yaramasa, fuqatgina PRni qo'yish bilan chegaralanadi.

Teri - mo'ynali xomashyolarni kuydirgiga tekshirishda pretseptivatsiya reaksiyasi muhim ahamiyatga ega. Materialdan namunalar iermetik yopiq idishda tekshirish uchun laboratoriyaga yo'llanadi.

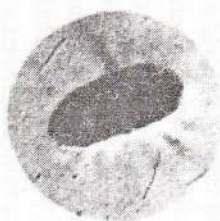
Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



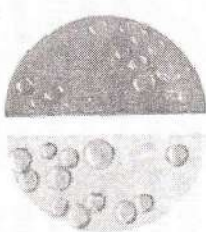
96-rasm. *E. coli* kulturasi – grammanfiy kalta tayogchalar.



97-rasm. *E. coli* kulturasi GPA da.



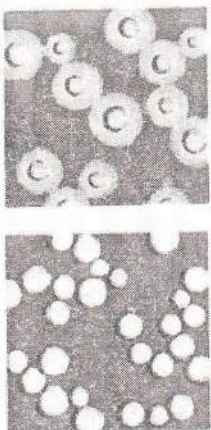
98-rasm. *E. coli*-uzilgan xivchilari bilan. Elektronogramma.



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



100-rasm. *E. coli* kulturasi «Rangli qatorda».

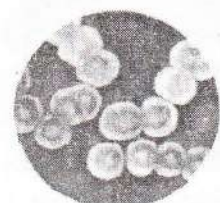
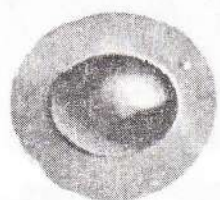


101-rasm. *E. coli* koloniyalari qonli agarda: chapda-gemolitik xususiyati, o'ngda-gemolitik xususiyati yo'q.



102-rasm. Shvartsman fenomeni.

Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



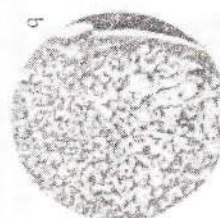
103-rasm. *Salmonella* koloniyalari. A) S-shaklda; b) R-shaklda.



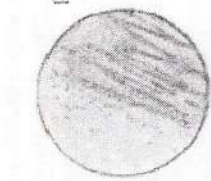
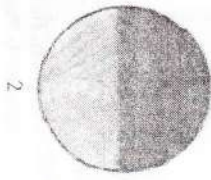
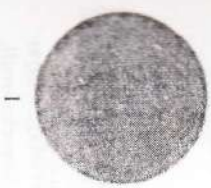
104-rasm. *Salmonella* kulturasini yarim suyuq GPA da o'sishi.



105-rasm. *S. typhimurium* kulturasi «Rangli qatorda» o'sishi.

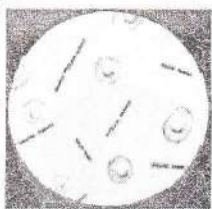


106-rasm. AR-plastinkada: a-manfiy; b-ijobiy.

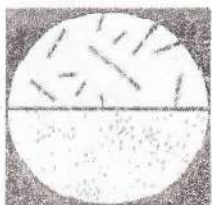


107-rasm. *E. coli* (a) va *S. typhi* (b) l-lakmus-laktozali agarda; 2-E-ndoda; 3-*S. typhi* koloniyalari vismut sulfid (d) agarda.

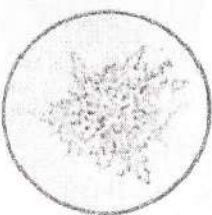
Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi



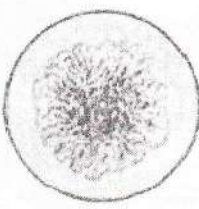
108-rasm. *Bac. anthracis* qondan tayyorlangan surtmada. Lyofiller usulida bo'yalgan (kapsula-pushti, basilla-ko'k rangda).



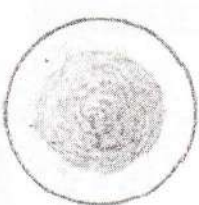
109-rasm. *Bac. anthracis* a-kapsulali mikroob, b-sporali.



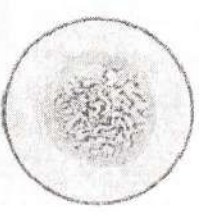
110-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



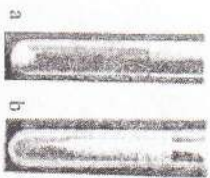
111-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



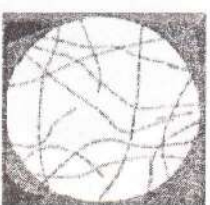
112-rasm. *Bac. anthracis* O-shakl koloniyasi.



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



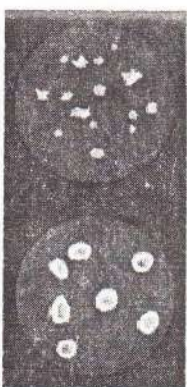
114-rasm. *Bac. anthracis* a-GPB, b-GPJ da o'sishi.



115-rasm. *Bac. anthracis* CPB dan tayyorlangan surtmada.



116-rasm. «Marjon» testi.



117-rasm. *Bac. anthracis* (chapda) va *Bac. anthracoides* (o'ngda) qonli agarida o'sishi.

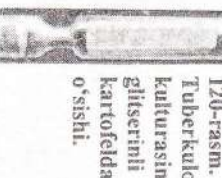


118-rasm. Bakteriofag: a-oqar tomchi; b-Petri kosachda usuli.

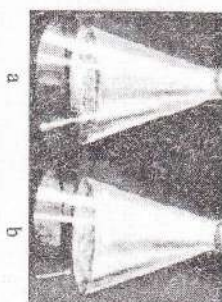
Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi



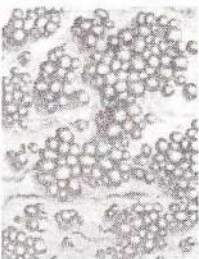
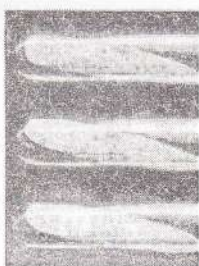
119-rasm. Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi (Sil-Nilsen usulida bo'yalgan).



120-rasm. Tuberkuloz kulturasi gliserinli kartofelda o'sishi.



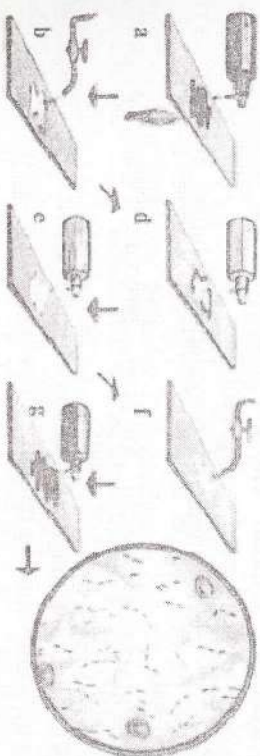
121-rasm. Tuberkuloz kulturasi gliserinli GPB da o'sishi: a-humans; b-bovinus tipli.



122-rasm. Tuberkuloz kulturasi Petryanzi muhitida o'sishi: chapdan-bovinus, humans, avium tiplari.

123-rasm. Marjon (plevra tuberkulozida hosil bo'lgan tuberkulalar).

124-rasm. Ohaklashgan lobulyar kazeoz.



125-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash. a-sil fuksini bilan bug' paydo bo'lganicha olov ustida qizdirib bo'yaladi; b-bo'yog suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e-avval spirt, keyin f-suv bilan yuviladi va g - metilin ko'ki bilan bo'yaladi. Tuberkuloz tayogchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.

Yakuniy diagnostik qo'yiladi

– patmatmaterialdan kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi ajratilsa, zararlangan hayvonning hech bo'lmasa bittasi o'lib, undan kultura ajratilsa;

– patmatmaterial ekilgan oziq muhitlarda kultura o'sib chiqmasa, lekin silu material bilan biosinov qo'yilgan hayvonlarning hatto bittasi o'lib, uning organlaridan qo'zg'atuvchi kultura ajratilsa;

– lyuminescent mikroskopiyaga muvofiq natija bera va patmatmaterialdan tayyorlangan surtmalarda kapsulali basillalar topilsa;

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

Biopreparatlar. STI tirik vaktsina – etalon shtammdan tayyorlangan. Agarda o'stirilgan kulturening sporalaridan (95 – 100%) iborat. Steril 30% li glicerol erimasidagi suspensiyaga ko'rinishida bo'lib, 1 ml da (2,5-3,5)10⁷ tirik spora mavjud.

GNKI vaktsinasi – GNKI etalon shtammdan tayyorlangan quruq, tirik vaktsina. 1 ml da 5x10⁷ tirik spora bor. Shtamm 55dan tayyorlangan kuydirgiga qarshi vaktsina.

Yirik shoxli hayvonlarning kuydirgi va qorason kasalliklariga qarshi assotsiatsiyalangan tirik, suyuq vaktsina.

Davolovchi – profilaktik zardoblar. Inaktivlangan kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi kultura bilan otlarni giperimmunos olinadi.

Kuydirgining pretseptitsiyalovchi zardobi. Materialni PR usulida tekshirishda ishlatiladi. Otlarni giperimmunos olinadi.

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

Lyuminesensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretseptitsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

Kuydirgining diagnostik bakteriofaglar. Bakteriofag bilan zararlangan qo'zg'atuvchining bulonli kultura filtrati. Bakteriofag titri 10.

Nazorat savollari:

1. Kuydirgi kasalligida patmatmaterial olish qoidalarini tushuntir.
2. Kuydirgi kasalligini laboratoriyada tekshirish usullari.
3. *B.anthraxis* ning xususiyatlarini ayting.

4. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisini «Marjon» testi, bakteriofag yordamida qiyoslash.

5. Kuydirgi kasalligiga yakuniy diagnostik nimaga asoslanib qo'yiladi.

32 - mavzu. Tuberkulozni laboratoriyada diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmatmaterial olish uni joylash va laboratoriyaga yuborish qoidalarini, bakteriofag tekshirish uchun patmatmaterialga ishlov berish (tayyorlash) usullarini o'zlashtirish. Keltirilgan patmatmaterialni tekshirish usullarini o'rganish.

Material va jihozlar: Probirkada o'ldirilgan mikobakteriya bilan birorta kislotaga chidamsiz bakteriyaning aralashmasi, steril glicerolli GPB, Petryanini muhiti, Sil-Nilsen usulida bo'yalgan tayyor mikobakteriya surtmalari, oziq muhitida o'stirilgan tayyor mikobakteriya kultura, patmatmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, biopreparatlar, jadvallar, plakalar.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

1. Kulturalar aralashmasidan ikkitadan surtna tayyorlab bittasini Gram, ikkinchisini Sil-Nilsen usulida bo'yalash.

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

3. Biopreparatlar bilan tanishish.

Tuberkuloz (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 (123, 124-rasm). Qo'zg'atuvchisini 1882-yilda R.Kox ochgan. Hozirgi vaqtda 5 tunda tuberkuloz qo'zg'atuvchisi ma'lum.

1. Odamlarda – *Mycobacterium tuberculosis*
 2. Qoramollarda – *Mycobacterium bovis*
 3. Parrandalarda – *Mycobacterium avium*
 4. Sichqonlarda – *Mycobacterium magerit* (murum)
 5. Sovuqqonli hayvonlarda – *Mycobacterium poykilothermorum*.
- Qishloq xo'jalik hayvonlari va odamlar patologiyasida *M.tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* turlari muhim ahamiyatga ega. Tuberkuloz asosan yashirin kechadi.

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.

Patologik material: Kasal hayvonlardan – burundan oqgan ajratma, balg'am, traxeya shilimsig'i, tezagi, siydik namunalari olinadi. O'lgandan–zararlangan organ bo'lakchalari, bronxial, tomoq, yelin ushi, 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 imkonini bo'lmasa 30–40% glitserinida kanservatsiya yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

1. Mikroskopiya: Qo'zg'atuvchi kislota-spirt-ishqorlarga chidamli bakteriyalar guruhiga kiradi. Uning qobig'ida steorin kislotalari va mumsimon moddalar bor. Bu moddalar suv, bo'yog, kislota va ishqorlarni suvdagi erimalarini hujayraga o'tkazmaydi. Shuning uchun ham tuberkuloz bakteriyalari bo'yogni qiyin qabul qiladi. Maxsus, Sif-Nilsen usulida bo'yaladi:

1. Fiksatsiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'oz, ustidan karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdiriladi va 5–7 daqiga ko'prikhada 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 daqiga bo'yaladi.

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

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

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

Gram usulida bo'yalgan surtmada grammusbat, tayogcha shakldagi, uzunligi 1,5–5–6 mkm, diametri 0,3–0,6 mkm bakteriyalar ko'rinadi. *M. tuberculosis* – ingichka, yengil egilgan, *M. bovis* – katta, yo'g'on, *M. avium*–boshqalariga nisbatan mayda, polimorf tayogcha. 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 kislotalaning suvdagi eritmasi bilan aralashtiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqqasiga 3000 aylanna tezlikda 10–15 daqiga sentrifuga qilinadi. Ekspozitsiya (kislotalaning ta'siri) 20–30 daqigadan oshmasligi kerak. Cho'kmadan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitiga ekitiladi. 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 havonchada 0,5m³ kattalikda maydalanib, ustiga 10–8–6%li sulfat kislotalaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10–20 daqiga turadi. Kislotalaning ekspozitsiya vaqti va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10–20 daqigadan keyin kislota to'kib tashlanib, o'rni fiziologik eritma quyiladi va 8 daqiga turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial havonchada yaxshilab eziyadi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5–6 probika oziq muhitiga ekitiladi.

Ishlov berilgan patmaterial - elektiv: tuxum-kraxmali, kartoshkali-glitsirin-bulonli (120-rasm) – begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhitlarga ekitiladi. Ko'pincha Petryanani (122-rasm), Levenshteyn-Iyensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Glitsirini GPB va GPA lari ham ishlatiladi (121-rasm).

Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi – aerob, sekin o'sadi (2–4 hafta va undan ko'proq). Glitsirini bulonda uzoq vaqt davomida (6–8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulozni 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 yuqqa, nozik, oqishroq 21 chi kuni kuchli ajinlashgan avval quruq, keyin shilimsiq parda hosil qiladi. Zich oziq muhitlarda boshida zo'rg'a ko'rinadigan mikrokoloniyalar paydo bo'ladi, keyin ular kattalashib boradi. Oziq muhit yuzasidan mayda yoki katta, yaltiroq yoki xiraroq, silliq yoki kengish 1–2 koloniyalar paydo bo'ladi, yoki koloniyalar birlashib ketib, yuzasi bilan bita oqish qatlam hosil qiladi. Bakteriologik tekshirish muddati- 2 oy. Ekmalarni har 4–5 kunda ko'rib natija yozib boriladi.

3. **Biosinov.** Dengiz cho'chqasi cho'tining terisi ostiga 1ml, quyondar quloq venasiga 2ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1-2ml suspensiyayuboriladi. Kuzatish muddati 3 oy.

Biosinovga olingan hayvonlar oldindan tuberkulozga tuberkulibilan allergik usulda tekshirilishi kerak. Manfiy natija berganlarigina biosinov uchun ishlatiladi. O'lgan hayvoni yorib, xarakterli tuberkulardan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitiga ekiladi.

Qo'zg'atuvchilarni farqlash (tipizatsiya).

M. bovis – kulturasi dengiz cho'chqalari va quyonda umumlashgan tuberkuloz jarayonini keltirib chiqaradi.

M. tuberculosis – dengiz cho'chqalarida umumlashgan, quyondar esa o'pkasida mahalliy jarayonni paydo qiladi.

M. avium–quyondar septik jarayon paydo bo'lgach, u o'ladi. Ba'zida mahalliy jarayon hosil qiladi. Dengiz cho'chqalarida faqat mahalliy jarayon (kultura yuborilgan joyda abscess) ni keltirib chiqaradi.

Virulentligi past kulturani kislotalga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3ta test o'tkaziladi: 1. katalazali aktivlik-50% peridrol eritmasi bilan gaz putakchalari hosil bo'lishi mm da o'lchanib aniqlanadi. Saprofitlarda bu xususiyat 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 (streptomitsin, ftivazid, PASK va h.k.) qo'shilgan oziq muhitida o'rganiladi.

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

Biopreparatlar. BSG vaksinasi – *M. Bovis* vaksinashtammimini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sutemizuvchilar uchun.

Altuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

Nazorat savollari:

1. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterial olish?
2. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterialga qanday usullarda ishlov beriladi?
3. Mikobakteriyalarining morfologik-tinktorial xususiyatlari?

146

4. Mikobakteriyalar qanday oziq muhitlarda o'sadi?
5. Mikobakteriyalarni farqlash (tipizatsiya) ni aytib bering?

33 - mavzu. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Kozlovskiy, Gram usullarida ishlatiladigan bo'yoqlar, Rozbengal-namuna uchun-brutselloz antigeni, sut halqali AR-uchun brutselloz antigeni, probirkalarda qoramol qon zardobi ji'biy, normal, sinovli. Yangi sog'ilgan sut (probirkada), pipetkalar 1, 0,1ml hajimli, reaksiya (RBN) uchun plastinalar, probirkalarda-brutsella kulturasi suspensiyasi, aralash kulturalar: jadvallar, biopreparatlar, tayyor Gram, Kozlovskiy usullarida bo'yalgan surtmalar, plakatlar.

Uslabiy ko'rsatmalar

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

Brutselloz – hayvon va odamlarda surunkali kechadigan yuqumli kasallik. Kasallik odatda klinik belgisiz kechadi, ba'zan-homilia tashlash, bursit, orxit, epididimit, endometrit kabi klinik belgilar namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisini birinchi bo'lib 1886-yilda Bryus o'rganigan va ilmiy isbotlagan

Qo'zg'atuvchisi – *Brusella* avlodiga mansub bo'lib, 6 ta turdan iborat: *melitensis* (qo'y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (cho'chqalarda), *ovis* (qo'chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotoma* (kalamushlarda). *Brusella ovis* – qo'chqorlarda infeksiyon epididimit kasalligini chaqiradi.

Patologik material. *Kacal hayvondan* tashlangan homilia, homilia pardasi bilan yoki ikki tomoni bog'langan homilia oshqozoni, jigar va taloq bo'lakchalari (126-rasm); 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

147

olingan kuni tekshirilishi kerak. Imkoni bo'lmasa, borat kislotasi bilan 10ml sug'a 0,1gr miqdorda konservatsiyalanadi.

Qo'chqorlardan (so'yilganda) urug'don xaltasi 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 mutaxassis olib keladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan iktitadan surtna tayyorlab Gram va Kozlovskiy usullarida bo'yaladi. Brussellalar-mayda, tayog'cha yoki koksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6-1,5mk, diametri 0,3-0,5mk, grammanfiy, harakatsiz, spora hosil qilmaydi, surtmada bitadan, iktitadan yoki to'p-to'p bo'lib joylashadi. Kozlovskiy usulida bo'yalgan surtnalarda-brussellalar qizil, boshqa mikroblar yashil rangda bo'ladi (130-rasm).

Ye.V. Kozlovskiy bo'yash usuli (1936): fiktsiya qilingan surtnaga 2 % li safranining suvdagi eritmasini quyib, pufakcha hosil bo'lguncha qizdiriladi, keyin suv bilan yuvib, qo'shimcha 0,75% - 1 % li malaxit ko'ki bilan 30 sekund bo'yaladi. Brussellalar qizil rangda, boshqa bakteriyalar va to'qima hujayralari yashil rangga bo'yaladi.

2. Bakteriologiya. Brussellalar maxsus oziq muhitlarda o'sadi: go'sht-peptonli jigarti bulon (GPJB), jigar-glukoza-glitserinli agar (JGGA) va bulon (JGGB), eritrit-agar, zardobi-dekstrozali agar va h.k. Patmaterialdan bir probika bulon, ikki probika agarga, oshqozondan ikki probika bulon, beshta probika agarga ekitiladi.

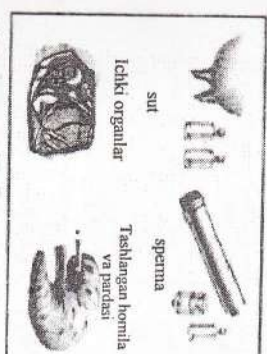
Qo'chqor patmaterialidan ekitilgan oziq muhitlar 10-15% karbonat angidridli, atmosferada o'stiriladi.

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

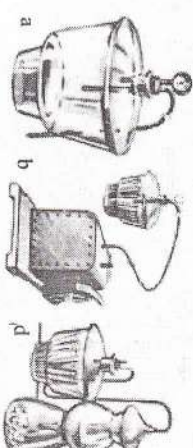
Ekmalar 30 kun termotarda 37-38°C o'stiriladi.

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

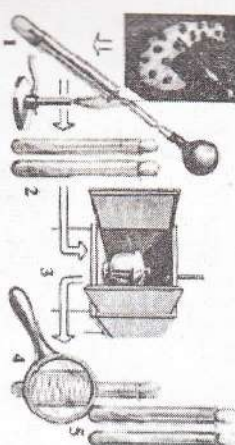
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi



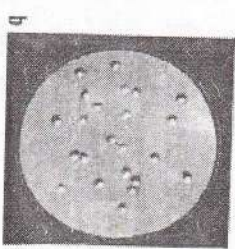
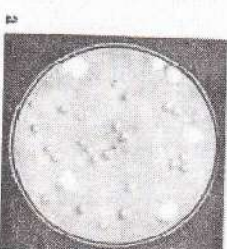
126-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



127-rasm. a-bruselloz kulturasi o'stirish uchun eksikator, b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikator, d-KIPP apparati yordamida uglekislota hosil qilish.



128-rasm. Ekish, o'stirish va brussella kulturasi ko'rish sxemasi

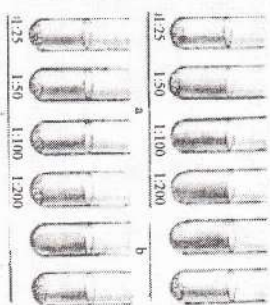


130-rasm. Brussellarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtna 2% li safranining suvdagi eritmasi bilan bug' hosil bo'lguncha qizdirib bo'yaladi (a), bo'yog suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li metilin ko'ki yoki malaxit yashil bilan bo'yaladi (d). Brussellalar qizil, boshqa mikroblar

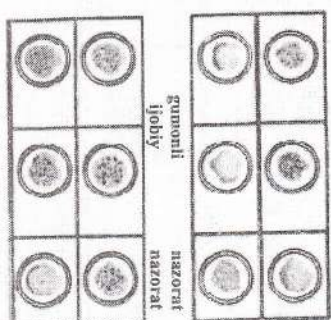
ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (c).

129-rasm. Brucella koloniyasi: a-jigarti agarda; b-kristall violet buyog'i va antibiotik qo'shilmagan agarda (begona mikroflora o'smagan).

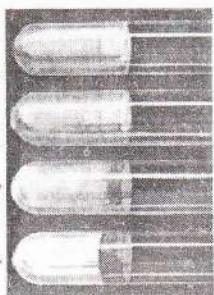
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



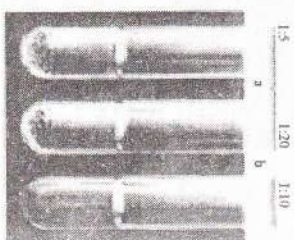
131-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramo).
a-gumoni AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy
AR 1:100-1:200; e-nazorat.



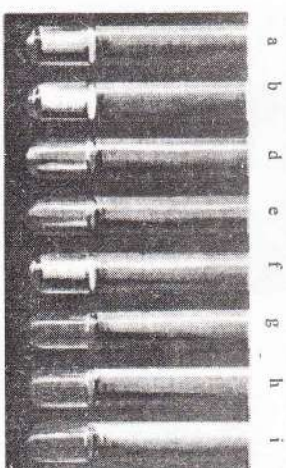
132-rasm. Plastikali ARni baholash.



133-rasm. Sut halqali reaksiya:
a-manfiy; b-gumoni; d-ijobiy.



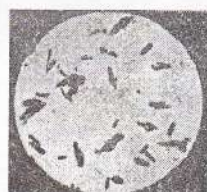
134-rasm. AR urug' plazmasi bilan:
a-ijobiy; b-manfiy.



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

150

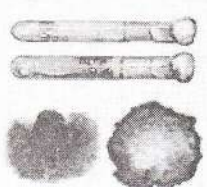
Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi



136-rasm. *Cl. Chauvoei*
Kit-Tarossi muhitidan
tayyorlangan surtmada.



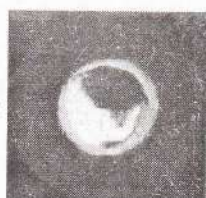
137-rasm. *Cl. Chauvoei*
xifchilni tayogcha.
Elektronogramma x20000.



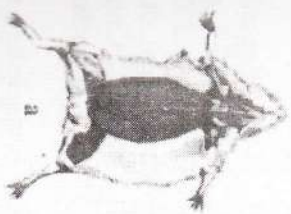
138-rasm. *Cl. Chauvoei*
qandli agarda o'sishi va
koloniyalari
(Grossberg bo'yicha).



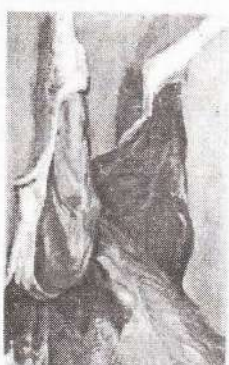
139-rasm.
Cl. Chauvoei
Kit-Tarossi
muhitida
o'sishi.



140-rasm. *Cl. Chauvoei* qandli agarda: a-silliq yumaloq koloniya
genolizi bilan; b-uzun bargi shaklida; d-hoshiyal koloniyalar.



141-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz
cho'chqasi (24 soadda): a-teri osti
kletchakasi serozli gemorragik
yallig'langan; mushaklari qoraygan;
b-ichaklarda atoniya, gaz yo'q, jigar
qonga to'lgan.



142-rasm. Biosinov buzogda. *Cl. Chauvoei* kulturasi mushakka
yuborib zararlangan.

151

Suyuq oziq muhida bir xil loyqalanish, ko'kimir tovlanadigan halqa hosil qiladi, keyin kamroq cho'kma tushadi. Ko'proq iftoshlangan materialni ekish uchun 1:800000 kristallviolet yoki antibiotik qo'shingan muhiga ekiladi (129 a, b-rasm). Ularida begona mikroflora o'smaydi, kristallvioletli muhida brusellalar ko'kimir, yaltiroq, silliq, yumaloq koloniyalar ko'rinishida o'sadi.

Brusella turlarini farqlashning bakteriostatik usuli. Brusellalarning oziq muhiga qo'shingan bo'yoqqa munosabati inobatga olinadi. Go'sht peptoni jigari agaraga alohida probirkalarda – fuksin (1:2500), tionin (1:50000-1:100000) aralashtiriladi.

Ulariga brusellalarning sof kultursi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhida, *B. abortus* tioninli muhida o'smaydi. *B. melitensis* ikkala bo'yoqlar qo'shingan muhida o'sadi.

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

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho'chqalari sonining ichki tarafga terisi ostiga yuboriladi. 15, 25, 40 - kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brutsellozga 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 AT Isoat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan (131, 132, 133, 134, 135-rasm) 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 ikki nishonga 1:50 va undan yuqori titr), Y.sh.m, ot, tuyalarda 1:50 dan 1:400 gacha (ikki nishonga 1:100 va yuqori titr ijobiy). Dengiz cho'chqasi va mo'ynali hayvonlarda 1:10 dan 1:80 gacha (ikki nishonga 1:10 va yuqori titr ijobiy).

RBN. 0,3 ml zardob maxsus emalli plastinkalar o'yichalariga quyiladi. Ustiga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo'yalgan brutselloz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, aralashtiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar, fiziologik eritma bilan reaksiya qo'yiladi. Ijobiy natijada pushiti rangda agglutinat 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 antigenidan 0,2 ml (2 tomchi) ustiga qo'shildi. Probirkalarni silkitib, yaxshilab aralashtiriladi, 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 (124-rasm).

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. Brutsellozga qarshi shtamm 82 kulturasidan tayyorlangan tirik, quruq vaktsina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vaktsina.

Shtamm 19 vaktsina shlammidan tayyorlangan AR, KBR, UKBR lar uchun yagona brutselloz antigeni.

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

Fluoresensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardobidan tayyorlangan.

Ijobiy brutselloz zardobi, hayvonlarni giperimmunlab olinadi. Serologik reksiyalarda nazorat uchun ishlatiladi.

Nazorat savollari:

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

34 - m a v z u. Tulyaremiya kasalligining laboratoriya diagnostikasi

Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi – *Francisella tularensis*. Mak-Koye va Chepinlar (1912) tomonidan Tulyare tumanida (Kaliforniya) ochilgan. Frensis (1921) to'liq o'rganib, ifodalagan va uning sharafiga qo'zg'atuvchi avlodiga nomi berilgan. Qo'zg'atuvchi *Brusellaceae* oilasi, *Francisella tularensis* mansub. *Francisella tularensis* hayvonlar va otlarida o'tkir infeksiyon kasallik chiqiradi. Tulyaremiya septik

kechadi, limfa tugunlarining zararlanishi (shish, tvorogsimon o'zgarish), isitma bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Laboratoriyaga kasal hayvonlardan kattalashgan (yumshoq) limfa tugunlardan punktat, tashlangan homila (yoki homilaning organlari), siydigi, tezagi yo'llanadi; o'lgan hayvonlarning – jigari, buyragi, talog'i, yirik hayvonlardan shishgan limfa tugunlar; kemiruvchi va boshqa mayda hayvonlarning jasadlari yo'llanadi. Tekshirilayotgan material kuchli zararlanganagina tamg'ali preparatlarda tulyaremiya qo'zg'atuvchisini topish mumkinligini e'tiborga olish lozim.

Mikroskopiya. *Francisella tularensis* – kulturedan tayyorlangan sutmalarda mayda, kokklarga o'xshaydigan bakteriya, organlardan tayyorlangan preparatlarda ingichka tayogcha shaklida ko'rinadi. O'lchami 0,3 mkm. Spora hosil qilmaydi, harakatsiz. Makroorganizmda nozik kapsula hosil qiladi. Gramanfiy Romanovskiy-Gimza usulida pushti-havorang, ko'pincha bipolyar bo'yaladi.

Bakteriologiya. *Francisella tularensis* aerob. O'sish harorati 37°C, pH 6,7-7,4. Qon qo'shligan oziq muhitida 1-2 sutkadan keyin havo rangga moyil oq rangli mayda, yumaloq, bo'rtiq, chetlari tekis, silliq, yaltiroq koloniyalar paydo bo'ladi. Suyuq oziq muhitlarda yomon o'sadi. Qo'zg'atuvchini o'stirishda koloniyalar uchun Vi- va O-antigeni bor, virulentli hamda immunogen silliq S - shakl xos ekanligini e'tiborga olish kerak. *Francisella tularensis*ning R-shaklida faqat O-antigen bo'lib, virulentli emas. Serologik diagnostikada bakteriya hujayrasining brussellalar bilan umumiy bo'lgan antigenlari hisobga olinadi. *Francisella tularensis*ni o'stirish uchun maxsus oziq muhitlar qo'llanadi: Mak-Koy muhiti, Frensis shokoladli agari, Yemelyanovning qonli muhiti va h.k.

Mak-Koy muhiti: 60 qism tuxum sarig'iga 40 qism steril fiziologik eritma(pH 7,0-7,2) qo'shiliadi. Quyulishi uchun muhit 80°C da 1 soat qizdiriladi. Muhitga tamg'a usulida ekiladi: organ bo'lakchasi olovga tutib olinadi, steril qaychi bilan kesilgan tomoni muhit yuziga yengilgina bosib olinadi. 18-24 soatdan keyin o'sish kuzatiladi va 2-3 sutkadan keyin maksimal o'sadi. Material kam ekilganda 3-6 sutkalarda siyrak joylashgan koloniyalarni ko'rish mumkin.

Frensis muhiti: tarkibida 1% pepton va 0,5% NaCl (pH 7,3) bo'lgan GPAGA 0,1% sistein hamda 1% glukoza qo'shiliadi. Bir necha daqqa qaynatib, 50°C gacha sovutiladi va 10% fibrinsizlangan, steril olingan quyon qoni qo'shiliadi.

Yemelyanov muhiti: baliq-achitqili agarga 0,1% sistein va 1% glukoza qo'shiliadi. Keyin agarni eritib, 45°C gacha sovutiladi, 10%

fibrinsizlangan qon qo'shiliadi va Petro kosachalari yoki probirkalarga quyiladi. Bu muhit ko'proq sezuvchan, tulyaremiya qo'zg'atuvchisining alohida koloniyalarini olish uchun qulay.

B i o k i m y o v i y x u s s i y a t l a r i. Oqsil miqdori kam bo'lgan maxsus oziq muhitlarda *Francisella tularensis* glukoza, maltoza, mannoza, glicerin, dekstrinlarni gazsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Proteolitik xususiyatga ega oqsillarni parchalab, vodorod sulfid hosil qilmaydi. Indol hosil qilmaydi.

Biosinov. Oq sichqon, dengiz cho'chqalarini terisi ostiga, qorin bo'shlig'iga patologik material suspensiyasini 0,5 ml dozada yuborish yoki terisiga surkash yo'li bilan zararlantiriladi. Natija ijobiy bo'lsa oq sichqonlar 3-4 sutkalarda (ba'zan 8-12 chi sutkalarda), dengiz cho'chqalari – 4-5 sutkadan keyin o'ladi. Agar material kam zararlangan bo'lsa, 8-15 sutkalarda o'lishi mumkin. O'lgan laboratoriya hayvonlarini yoritib ko'rganda o'pkasi, talog'i, jigar, limfa tugunlarida nekroz o'choqlari bo'ladi; ular bakteriologik tekshiriladi.

Ajratilgan kultura probirkali AR usulida tekshiriladi. Antigen sifatida Mak-Koy muhitida ikki sutka o'stirilgan kultura ishlatiladi. Mikroob massasi ilmoq bilan olib (yuvish mumkin emas), fiziologik eritmada suspensiyalanadi. Tulyaremiya mikrobi standarti bo'yicha uning 1 ml da 5 mlrd mikroob hujayrasi bo'lishi kerak. Mikroob suspensiyasi 0,5 ml dan maxsus zardobning har xil suyuqlimalariga (1:2000 dan kam emas) quyib chiqiladi. Silkitib aralashiriladi, 2 soatga termostaga qo'yiladi, keyin uy haroratida 20-22 soat qoldiriladi. Agglutinatsiya yaqol nanoyon bo'lsa (cho'kma ustidagi suyuqlik to'liq shaffof), natija musbat hisoblanadi.

Serologik diagnostika. Nihoyatda sezgir reaksiya sifatida KBR, kemiruvchi va mo'ynali hayvonlarda kasallikni tez aniqlash uchun PR qo'llaniladi. Antigen sifatida patologik material ekstrakti ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Tulyaremiyaga tekshirish uchun laboratoriyaga qanday patologik materiallar yo'llanadi.
2. Tulyaremiyaga laboratoriyada qaysi usullarda tekshiriladi.
3. *Francisella tularensis* ni o'stirish uchun qanday oziq muhitlar qo'llanadi.
4. Biosinov qaysi tur laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi.
5. Tulyaremiyada serologik tekshirish usullarini ayting.

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

Material va jihozlar: Kit-Tarossi oziq muhitida o'stirilgan *Cl. chauvoei* kulturasini, patmaterial, steril muhitar probirkalarda Kit-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali-gonli agar, steril Paster pipetkalarini, oldindan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar, bo'yoqlar komplekti, biopreparatlar, jadvallar, plakalar.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Qorason shoxli hayvonlarga oid o'tkir o'tuvchi infeksiyon kasallik bo'lib, tananing mushaklarga boy qismlarida o'ziga xos tovush krepat-siya paydo qiluvchi tez kattalashadigan gazli shish hosil bo'lishi, istimning ko'tarilishi bilan namoyon bo'ladi. Qoramol 3 oylikdan 4 yoshgacha kasallanadi. Qo'y, echkilarda kasallik kam uchraydi. Hayvonlar asosan alimantar yo'l bilan zararlantiradi.

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

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlantirgan mushak bo'lakchalari (steril asboblar bilan chuqurroq kesib, mushakning o'rta qismidan 3x3x3 sm o'lchamda zararlantirgan to'qima bo'lakchasi kesib olinadi), krepatatsiya qiladigan shishning eksudati yuboriladi. Jasad yoritilgan bo'lsa jigar, taloqdan bo'lakchalalar, yurakdan qon olinadi. Patmaterial hayvon o'lgandan keyin 4 soatdan kechiktirilmay olinadi.

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

2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kit-Tarossi oziq muhitiga ekiladi. Buning uchun mushak, jigar, taloq bo'lakchalari olovdan

o'tkazib, keyin oziq muhiti probirkaga solinadi. Qon, eksudatlar Paster pipetkasida ekiladi. Bir vaqtda Petri kosachalarida glukozaga – gonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo'lsa, undan fiziologik eritmada birga to'rt nisbada suspenziya tayyorlab, 15-20 daqqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmal 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitda 24-48 soat turishi kerak.

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

Seyssler agarida koloniyalar yaltiroq tugma yoki uzum bargi singari chetlari qirg'ilgandek o'sadi, koloniya atrofiga uncha katta bo'lmagan gemoliz zonasi paydo bo'ladi (140-rasm). Glukozali tlk agarda yasniqsimon koloniyalar hosil qiladi (138-rasm).

Sutni ivitadi. Glukozaga, saxaroza, 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, zararlantirgan hayvonlar 24-96 soat davomida o'ladi. Jasadni yoritib, bakteriologik tekshirish kerak. Terisida serozli – nekrozli ajratma, qon quyilishlar bo'ladi. Teri zararlantirgan mushakdan qiyin ajraladi. Ko'krak, qorin, orqa oyoq mushaklari qoramtir qizil rangda bo'ladi. Chot va qo'ltiq osti qismlarida kangina gaz pufakchalari yig'iladi (141, 142-rasm).

Quyidagi hollarda qorasonga diagnostika qo'yildi deb hisoblanadi:

1. Patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasini ajratilgan hamda hech bo'lmasa bitta biosinovdagi hayvon tipik belgilar bilan o'rtib, undan qo'zg'atuvchi kulturasini ajratib olinasa;

2. Keltirilgan patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasini ajratilgan ham, ikkita biosinovdagi hayvonning hatto bittasi tipik belgilar bilan o'rtib, undan qo'zg'atuvchi kulturasini ajratib olinasa.

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

Biopreparatlar. Yirik shoxli hayvonlar va qo'yalar qorason kasalligiga qarshi gidrooksisilarni inaktivlangan vaktsina. Immunitet 6 oy davom etadi.

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

Nazorat savollari:

1. Qorasonga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini.
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 diagnostik qo'yildi deb hisoblanadi.

36 - m a v z u. 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 glukozali-qonli Seyssler agarari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar to'plami, jadvallar, biopreparatlar, plakalar.

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 dafarga yozish.

Gazli gangrena – barcha turdagi hayvonlarga oid, tez tarqaluvchi, jarohtanish yoki shikastlanish natijasida yallig'lanib, shishning rivojlanishi, to'qima nekrozi, organizm intoksikatsiyasi bilan namoyon bo'ladir. Gazli gangrena polimikrob etiologiyaga ega. Qo'zg'atuvchilari *Cl. septicum*, *Cl. oedematis*, *Cl. perfringens*, *Cl. sordei*, *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 eksudati, parenximatiz 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 tayogacha, seroz qavatlardan tayyorlangan surtmada ipsimon shaklda bo'ladi. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari, uchlari yoki markazda joylashadi, harakatchan (143, 144, 145-rasm).

Cl. oedematis – 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 (151, 152-rasm).

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

Cl. histolyticum – ingichka uchlari qayrilgan tayogchalar. 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 uchlarida joylashgan. Harakatchan (163-rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, qonli glukozali 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, Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir ro'molsimon, chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan (146, 147-rasm).

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

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 (158, 159-rasm) namoyon bo'ladi.

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

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 kletchakasi och qizil rangda, ko'p miqdorda gaz pufakchalari bor. Ichaklar shishgan, gazli suyuq massa bilan to'lgan (148, 149, 150-rasm).

Cl. oedematiens – dengiz cho'chqasi 12-36 soatda o'ladi. Inyeksiya joyida jelatina sifatli, dirillagan shish sarg'ish-pushiti rangda paydo bo'ladi. Mushaklar oqimtir (155, 156-rasm).

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

«B» va «C» tiplarida – inyeksiya joyida teri yengil ajraladi, lekin ajralib tushmaydi. Mushaklar, quruq, qizil rangda. Ichaklar shishgan, go'morragik yallig'langan, ba'zan yaralar paydo bo'ladi (160, 161, 162-rasm).

Cl. histolyticum – dengiz cho'chqalari 18-48 soatda o'ladi. Teri ostiga yuborganda ular ko'pincha sog'ayib ketadi. Son mushagiga zararlenganda teri qizil siyohrang, taranglashgan bo'lib, ba'zan yoriladi (166-rasm). Mushaklar strukturasi yo'qotib, bo'iqasimon massaga aylanadi. Yumshoq to'qimalar suyak va tomirlardan ajralib qoladi. Gaz bo'lmaydi. O'lgan biosinovdagi hayvonlar bakteriologik tekshiriladi.

Biopreparat. Immunitet hosil qilish uchun bradzo, infeksiyon enterotoksemiya, qo'ylarning yomon sifatli shishi va qo'zilarining dizenteriyasiga qarshi tayyorlangan polivalentli gidrooksalumini vaktsina 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).

37 - m a v z u. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

1. **Mikroskopiya.** *Cl. tetani* – ingichka, 4-0,6 mkm o'lchamli, bir uchida yunaloq sporasi bor (baraban tayogchasi shaklida) tayogcha. Gramusbat, harakatchan (167, 171-rasm).

Toksinni ajratish.

Patmaterialdan birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanib, ikkiga bo'linadi. Biri qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

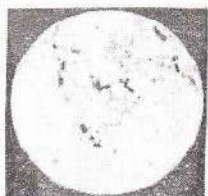
Ikkinchisi toksinni ekstraksiya qilish uchun uy haroratida bir soat qoldiriladi, keyin filtrlanadi.

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

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

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

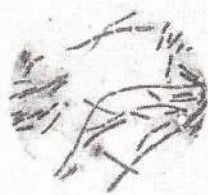
Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



143-rasm. *Cl. Chauvoei*
Kitit-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



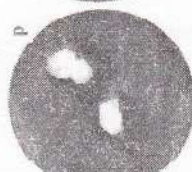
144-rasm. *Cl. Septicum*-
tayogcha xifchilari bilan.



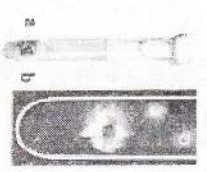
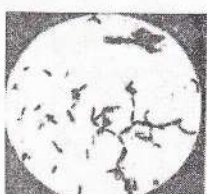
145-rasm. *Cl. Septicum*-
dengiz cho'chqasi jigari
yuzasidan tayyorlangan
surtmada.



147-rasm. *Cl. Septicum* koloniyalari qandli-qonli
agarda: a-nozlik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va
o'simali; d-o'simali gemoliz zonasi bilan.



154-rasm. *Cl. oedematiens* qandli-qonli agarda: a-kengish; b-markazi
chuqurlashgan; d-silliqli; e-kengish, markazi chuqurlashgan koloniyalar.



151-rasm. *Cl. oedematiens*
Kitit-Tarossi dan
tayyorlangan surtmada.

152-rasm. *Cl. oedematiens*
xifchinli tayogcha.

153-rasm. *Cl. oedematiens*
kultivatsi: a-Kitit-Tarossi dag;
b-qandli agarda; d-jelatinada.



149-rasm.
Yomon sifatli
gazli shish
cho'chqada:
a-mushaklari;
b-oshqozon.



148-rasm. Biosinovdan o'tgan
dengiz cho'chqasi (*Cl. Septicum*): a-
teri osti kletchakasida serozii
gemorragik shish, mushaklari och
qizil rangda gaz pufakchalari
bilan; b-ichki organlari ichaklari
shishgan, tomirlari bo'rtgan.

150-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozonda
gemorragik shish va qon quy'ilishlar.



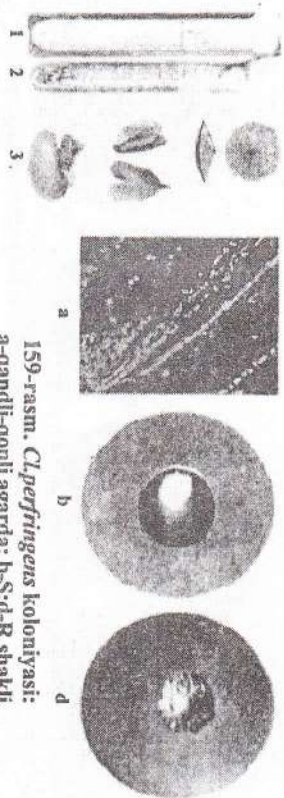
155-rasm. Biosinovda o'tgan
dengiz cho'chqasi (36 soatda):
a-teri osti kletchakasida dirilloq
shish; b-uning ichki organlari.

156-rasm. Biosinovda
o'tgan qo'yning jigari.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi

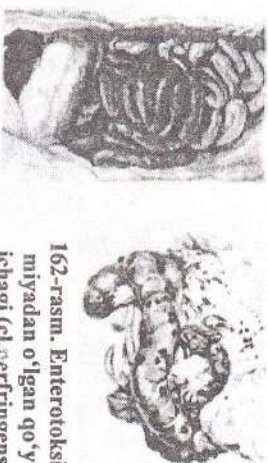


157-rasm. *Cl. Perfringens*: 1-kapsulali tayyoqchalar dengiz cho'chqasi jigaridan tayyorlangan surtmada; 2-sporali tayyoqchalar (kulturada); 3-xifchinsiz tayyoqcha.



158-rasm. *Cl. perfringens* kulturasini: 1-sutda; 2-kitt-Tarossida; 3-qandli o'sishi.

159-rasm. *Cl. perfringens* koloniyasi: a-qandli-qonli agarda; b-S; d-R shakli.



161-rasm. Nekrotik enteritidan o'lgan cho'chqaning ichaklari:

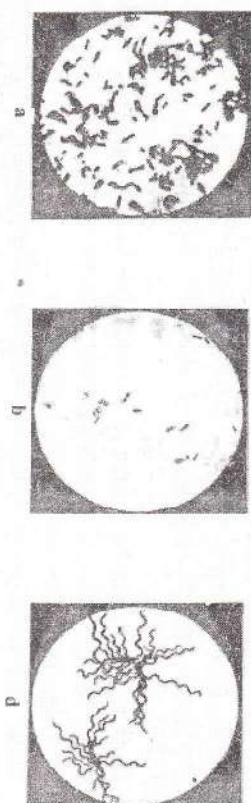


162-rasm. Enterotoksiniyadan o'lgan qo'y ichagi (*cl. perfringens* D tipi) xarakterli qon quyilishlar.

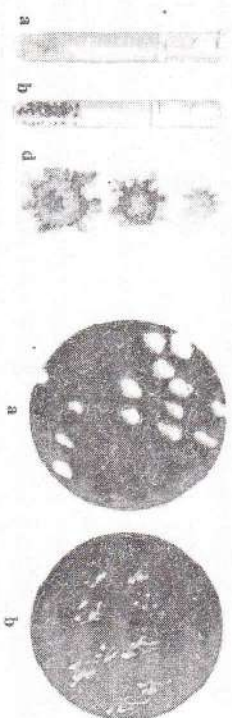
160-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi mushaklar bo'shashgan, teri osti ketlechatkasida serozii gemorragik shish, gaz pufakchalari.

166-rasm. *Cl. histolyticum* kulturasini bilan mushak orasiga zaratlangan dengiz cho'chqasi: inyeksiya joyda yumshoq to'qimalar erigan.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi

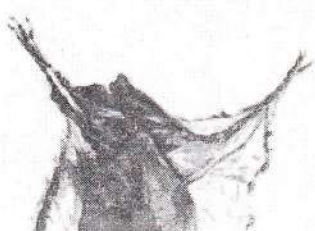


163-rasm. *Cl. histolyticum*: a-Kitt-Tarossidan; b-qandli qonli agar kulturasidan tayyorlangan surtmada; d-xifchinni tayyoqcha.



164-rasm. *Cl. histolyticum* kulturasini: a-Kitt-Tarossida; b-miyali muhida (qoraygan); d-chuqur ekilgan agardagi koloniyalar.

165-rasm. *Cl. histolyticum* koloniyasi qandli-qonli agarda: a-S; b-R shakli.



Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish.

2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikki probirka Kit-Tarossi muhritiga ekiladi. Bittasi 80 °C da bir soat qizdiriladi. Ekmalar termostatta 37-38 °C da o'stiriladi.

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

Kultura termostatta 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 o'zina ko'tarilgan, o'smalari bor, nozik koloniyalar, ba'zan mayda yumaloq koloniyalar hosil qiladi. Gemoлиз zonasi bilan o'ralgan alohida koloniyalar ham uchraydi (169-rasm).

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 immunizatsiya uchun konsentrlangan, bir foiz aqchilq 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 toksini ajratish usulini ayting.
4. Qotma qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
5. Qotmada ishlatiladigan biopreparatlar.

38 - m a v z u. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikro kulturalardan tayyorlangan surtnalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari jadval, biopreparatlar, plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtna tayyorlab, Gram usulida bo'yashadi va mikroskopda ko'rishadi. Natijani daffarga yozib olishadi. *

Botulizm – barcha hayvonlarga oid toksikoinfeksion kasallik. Botulinum zaharini saqlovchi oziqlarni yeyish natijasida paydo bo'lib, markaziy asab tizimining og'ir zararlanishi, biqildoq, 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 tiplari. Bu tiplar faqatgina immunologik 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, jigari bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni yuboriladi.

Patmaterial hayvon o'lganidan keyin ikki soatdan kechiktirmasdan olinadi.

Patmaterialdan birga bir yoki birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Ekstraksiya bo'lish uchun ikki soat uy haroratida turadi. Bir qismini – toksini ajratish uchun, ikkinchisi – qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

1. Mikroskopiya. *Cl. botulinum* – uchlari aylanasiimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayogcha. Sporalar oval shaklida bo'lib hujayra uchlari yag'in joylashgani uchun **tennis raketkasi** shaklida bo'ladi. Gramusbat, harakatchan. O'ichami 4-6 mkm (172, 173-rasm). Toksini 15-20 daqiqadan ikki soatgacha qaynatilganda parchalanadi. Sporalar juda chidamli, 5-6 soat qaynatilganda o'ladi.

Botulizm toksinini ajratish

Patmaterial va oziq namunalaridan tayyorlangan suspenziya filtrlanadi. Ikkiiga bo'linib bir qismi qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Bittasiga qaynatilgan va ikkinchisiga qaynatilmagan filtratlar ikkitadan oq sichqon qorin bo'shlig'iga 0,5-0,8 ml dozada yoki dengiz cho'chqalari (300-350 g vaznli) terisi ostiga 3-5 ml dozada yuboriladi (176-rasm).

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 beldek») o'ladi. Qaynatilgan filtrat yuborilgan hayvonlar esa sog' qoladi.

Ajratilgan toksin maxsus har xil tiplardagi botulizm zardobi bilan neytralizatsiya 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.

Qo'zg'atuvchini ajratish.

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, Xottinger buloni, qonli Seyssler agariga ekitiladi. 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 asta-sekin loyqalanib (2-3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan achigan moyning hidi keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5-7 sutkada aniqlanadi (174-rasm).

Seyssler agarida – *Cl. botulinum* koloniyalari yunaloq, ildizimon o'smalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasi bo'ladi (175-rasm).

Biopreparat. Odatda, norkalar botulizmga qarshi farmol kvassli anatoksini vaktsina bilan emlanadi. Immunitet bir yilgacha saqlanadi. Davolash uchun botulizmga qarshi antitoksik zardob taklif etilgan. Neytralizatsiya reaksiyasi uchun maxsus butulizm tiplari zardobi ishlab chiqilgan.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

– tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturas ajratilmasa ham);

– patologik materialdan botulizm qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyati kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharligi aniqlansa.

Nazorat savollari:

1. Botulizmga tekshirish uchun qanday patmaterial laboratoriyaga yuboriladi.
2. *Cl. botulinum* ning morfologik, kultural, biologik xususiyatlarini aying.
3. Botulizm toksinini ajratish usulini aying.
4. Botulizm qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini aying.
5. Botulizm ishlatiladigan biopreparatlar.

39 - m a v z u. 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, plakalar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmaterialardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini daftarga chizib, yozib olish.

Bradzot – qo'yilarda tez va o'tkir o'tadigan toksikoinfeksiya bo'lib, hayvonning umumiy zaharlanishi, shirdon, 12 barmog ichak shilimsiq pardalarining gemorragik yallig'lanishi, hazm traktida gazlarning to'planishi, deyarli hamma kasallangan qo'yilarning 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 parenximatov organlar (jigarning nektroz o'choqlari bo'lgan qismi), shirdonning o'zgan devoridan, shishgan to'qima, ilk suyagi, ikkala tomondan bo'ylangan 12 barmog ichak qismchasi, 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 tayogcha, bittadan joylashgan gram-musbat tayogchalar. Seroz qavallardan tayyorlangan surtmalarda esa – uzun iplar shaklida ko'rinadi. Sporlari oval makazda yoki uchlari joylashgan. Harakatchan, kapsula hosil qilmaydi. (177, 178, 179- rasm).

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. Sporlari oval makazda yoki uchlari joylashadi. Harakatchan (151, 152- rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan Kit-Tarossi, Seyssler muhitlariga ekitiladi. Ekmalari 37-38 °C da 24-48 soat termostada o'stiriladi. Kosa-chadagi ekmalari anaerob sharoitda (mikroanaerostada) bo'lishi kerak.

Cl. septicum – Kit-Tarossi oziq muhitining intensiv ravishda bir xilda loyqalanib, ko'p gaz hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi. Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir to'molsimon chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan (180, 181- rasm).

Cl. oedematiens – Kit-Tarossi oziq muhitida probirka pastida intensiv loyqalanadi, 18-24 soatdan keyin bulon tinqlashib, cho'kma paydo bo'ladi. Kam gaz hosil bo'ladi (153- rasm). Seyssler agarida kengish, ildizsimon, qattimli, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'lashgan koloniya paydo bo'lib, kuchli gemoliz hosil qiladi (154- rasm).

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 kletchkasida e'tiborga olarli miqdorda gaz pufakchalari, ichaklar shishgan, ko'krak bo'shlig'i va yurak kuylakchasida ko'p miqdorda transsudat bo'ladi (182, 183- rasm).

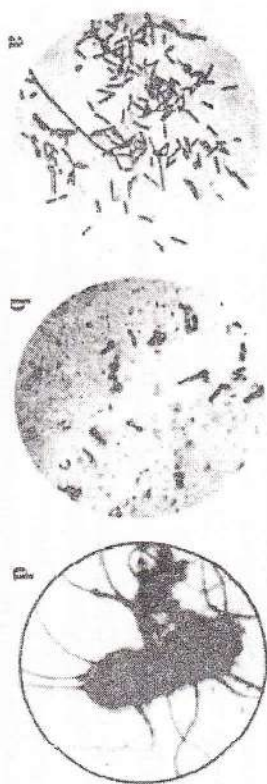
Cl. oedematiens bo'lsa – dengiz cho'chqalarining material yuborilgan joyida dirilloq shish, birlituvchi to'qima mushaklarining shishi kuzatiladi. Shish sarigroqdan och pushti ranggacha, mushaklar qonsiz, parenximatov organlari o'zgarishsiz bo'ladi (155, 156- rasm).

O'lgan dengiz cho'chqasining patmaterial yuborilgan joyidan, yurakdagi qon va jigridan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi. **Biopreparatlar.** Emilash uchun bradzotga qarshi konsentrlangan polivalentli gidrooksialuminiyli vaksina ishlatiladi.

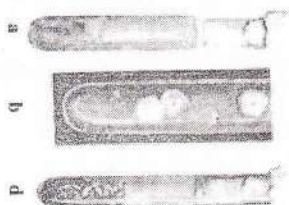
Nazorat savollari:

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.

Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi



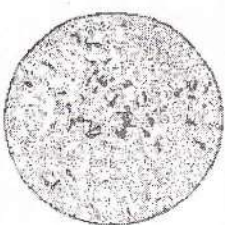
167-rasm. *Cl. tetani*: a-kulturdan; b-bulyondan tayyorlangan surtmada; d-xitichini tayyogcha.



168-rasm. *Cl. tetani* kulturası: a-Kitt-Tarossi muhitida; b-chuqur ekitgan gandi agarda; d-miyali muhitida (qoraygan).



169-rasm. *Cl. tetani* gandi-qonli agarda: a-yumaloq koloniyas-S shakli; b-R-shakl; d-harir ro'molsimon koloniyas-R-shakl.

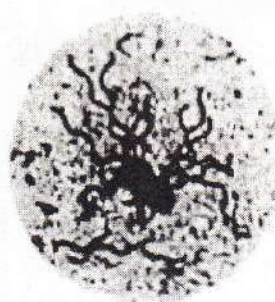
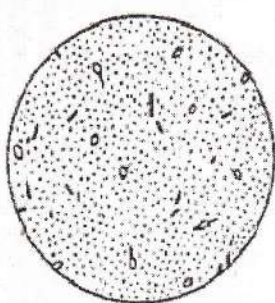


171-rasm. *Cl. tetani* kulturada. Sporali tayyogchalar.



170-rasm. dengiz cho'chqasida qotmaning klinik ko'rinishi.

Botulizmi laboratoriya diagnostikasi



172-rasm. *Cl. botulinum* kulturdan tayyorlangan surtmada.

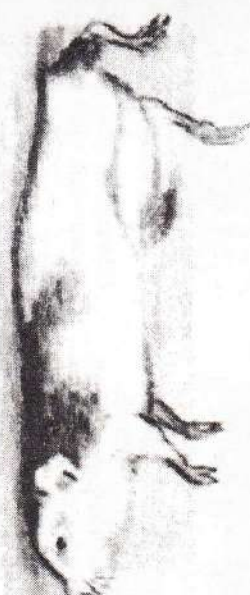
173-rasm. *Cl. botulinum* tayyogcha xivchini bilan.



174-rasm. *Cl. botulinum* chapda-jigari bulyonda, o'ngda-gandi agarda o'sishi.



175-rasm. *Cl. botulinum* koloniyalari qonli agarda.



176-rasm. *Cl. botulinum* bilan zararlangan dengiz cho'chqasi.

Bradzotni laboratoriya diagnostikasi



177-rasm. *Cl. septicum* Kilt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



178-rasm. *Cl. septicum*-tayoqcha xifchilari bilan.



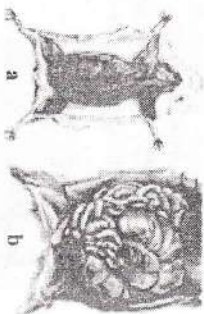
179-rasm. *Cl. septicum*-dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



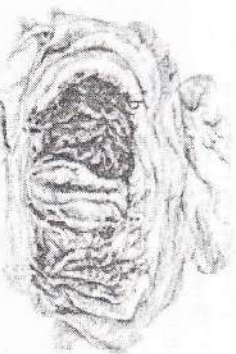
180-rasm. *Cl. septicum*: a- Kilt-Tarossi da o'sishi (o'ngda nazorat); b-qandli agarda Veynberg bo'yicha koloniyalar.



181-rasm. *Cl. septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a-nozik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasi bilan.

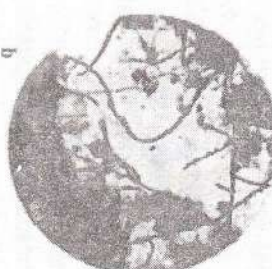
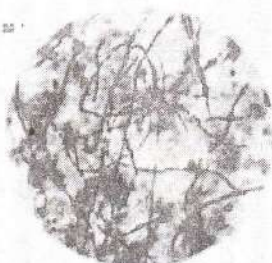


182-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. septicum*): a-teri ostki kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari och qizil rangda gaz putakchalari bilan; b-ichki organlari-ichaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.

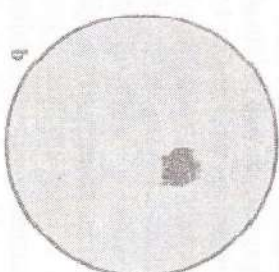


183-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozonda gemorragik shish va qon quytilishlar.

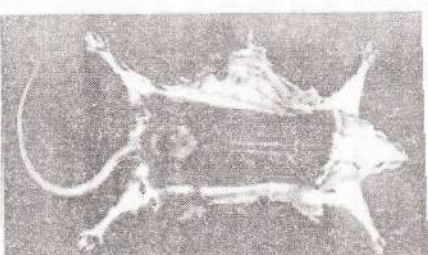
Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



184-rasm. *Bact. Necrophorum*: a-Kilt-Tarossi da o'sgan kulturedan; b-patologik materialdan tayyorlangan surtmada.



185-rasm. *Bact. Necrophorum*: a-zardobda; b-qandli zardobli agarda o'sishi.



186-rasm. *Bact. necrophorum* kulture bilan zararlangan quyon: oq sichqon: dum asosida inyeksiya joyida nekroz.



186-rasm. *Bact. necrophorum* kulture bilan zararlangan quyon: quloq suprasining zararlanishi.

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

Material va jihozlar: *F. necrophorum* kulturasini, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhiti, steril Paster pipetkalari, bo'yovlar, 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 mahsulot hayvonlarga xos teri va shilimsiz qavlatlar, ayrim to'qimalar, ba'zan hatto parenximatoz organlarning nekrozi bilan xarakterlanadigan infeksiyon kasallik. Qo'zg'atuvchisi *Fusobacterium necrophorum*.

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 nekroza uchragan to'qimalar chegarasidan qirib olinadi. Materialni shu holda yoki 30% li glitserin eritmasida konservatsiya qilib yuborish mumkin.

Nekrobakteriozga tekshirish patmaterialdan tayyorlangan surtmalarni mikroskopiya qilish, oziq muhitlariga ekish va laboratoriya hayvonlarini zararlantirishdan iborat.

1. Mikroskopiya. Nekroza uchragan to'qimalardan surtmalar tayyorlab Muronsev, Ramanovskiy Gimza yoki Leffler ko'ki, shuningdek, Gram usullarida bo'yaladi. Sog' va nekroza uchragan to'qima chegarasidan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmada, qo'zg'atuvchi grammanfiy, maxsus usullar bilan bo'yalganda esa – har xil uzunlikdagi iplar, eski o'choqlardan esa – qisqa tayovchalar va hatto kokklar shaklida ko'rinadi. O'lchamlari 2-5 mkm.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga, GPB va GPA larga ekiladi. Bundan tashqari zardobli – glukozali agarni ishlatish mumkin. Umumiy qabul qilingan usullarni birortasi bilan anaerob sharoit yaratib ekmal kosachalar termostatga qo'yiladi. Kitt-Tarossi oziq muhitini ekish oldidan regeneratsiya qilinadi – qaynoq suv

hammomida 20 – 30 daqiqa qizdirib, tezda 45 - 50°C gacha sovuyladi. Ekmal 37 – 38 °C da 5 sutka o'stiriladi, bunda ular har kuni ko'rib boriladi.

Kitt-Tarossi oziq 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 ushogsimon cho'kma tushadi. Kulturdan tayyorlangan surtmalarda tayovchalar uzun, donachali, bir - biri bilan chalkashib ketgan iplar, ba'zi birlari esa, kolbasimon kengaygan bo'ladi (184-rasm).

Kosachalardagi zardobli - glukozali agarda anaerob sharoitida 48 – 72 soatdan keyin mayda shudring tomchisimon koloniyalar hosil qiladi (185-rasm), keyinroq, koloniyalar o'lchami kattalashadi va yaqqolroq ko'rinadigan yumaloq, uzunchoqroq shaklda bo'lib gemoliz, zonasini hosil qiladi. *F. necrophorum* ning toza kulturasini birlamchi materialdan zich oziq 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 nisbada fiziologik eritma bilan suspensiya tayyorlanadi. Suspensiya 0,5-1 ml dozada quyon 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 kulturasini, shu dozalarda ishlatish mumkin. Zararlantirilgan hayvonlar 10 sutka davomida kuzatiladi.

2. Tekshirilayotgan patmaterial yoki kulturada *F. necrophorum* bo'lsa, quyonning qulog'ida inyeksiya qilingan joyida 3-4 kundan keyin nekroz rivojlanadi (187-rasm).

Zararlantirilgan oq sichqonlar esa 6-10 kundan keyin o'ladi. Material yuborilgan joyi atrofta nekroz jarayonlarini paydo qilib, chuqur zararlantishiga olib keladi (186-rasm).

Bobilyeva (1940) yaxshi anaerobioz sharoitlarini yaratish uchun oq sichqonlarni inyeksiya qiladigan joyini oldindan skarifkatsiya 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 xususiyati kultura ajratilisa va quyon yoki oq sichqonlarning material yoki kultura yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilisa;

– zararlanitilgan oq sichqon yoki quyoning material yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilisa, hatto birlamchi patmaterialdan ekilgan oziq 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.

41 - m a v z u. Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni dermatomikozlarda (trixofitiya, mikrosporiya), kandidamkoz va mog'or mikozlarda patmaterial olish qoidalarini, mikologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Saburo muhitida o'stirilgan zamburug' kulturalari, trixofitiya va mikrosporiya bilan kasallangan hayvonlardan olingan patmaterial, mikologik ilmoq, buyum va yopqich oynalar, plakatlari, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

Uqtuvchi 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'ormikoz, kandidamkoz qo'zg'atuvchilari kiradi (188-rasm).

Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari. Dermatomikozlarga teri va uning hosillarini 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 achorion avlodlarini o'z ichiga oladi (189-rasm).

Trixofitiya – surunkali kasallik bo'lib, teri va junning keskin chegaralangan tang'a shaklida zararlanishi bilan ajralib turadi. Qo'zg'atuvchisi: buzoq va qo'zilarida – *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 yunalq sporalarning joylashganligini ko'rish mumkin. Zararlangan jun mikroskopda ko'rilsa, zamburug' va uning sporalari jun ichida yoki atrofiida 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, qattiq-qattiq, ba'zida unsimon qattiq koloniyalar hosil bo'ladi. Koloniyalardan oziq muhitga kuchli, chuqur shoxlanish paydo bo'ladi.

Parranda trixofitiyasi (favus, parsha) – teri, patlari va ichki organlarning zararlanishi bilan xarakterlanadi. Tojida, sirg'asi, tumshug'iga yaqin joylarda kulrang-oqish qatlamlari – skutulalar paydo qiladi. Qo'zg'atuvchisi *Tr. gallinae*.

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: iltlarda *Microporum canis (lanosum)*, otlarda *M. equinum*, *M. gypseum* va boshqalar.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Patmaterialda zamburug' shoxlangan mitseliy shaklida ko'rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofiga sporalar tartibsiz joylashib chexol ko'rinishini eslatadi. Trixofityadan farq glukozali Saburo agarida 26-28 °C da *M. equinum* 6-7chi kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish mitseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporium avlodi zamburug'lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi.

Lyuminiscentli analiz – patmaterialni Petri kosachasiga qo'yib, qorong'i xonada simob-kvarslı lampaning (PRK-2, PRK-4) ultrabinafshta 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.

Trixofitya, mikrosporiyaga laboratoriyada diagnoz mikroskopiya usulida qo'yiladi. Patmaterial 10 % li ishqorda 20-30 daqqa turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qozg'oq bo'lakchasi buyum oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20 % li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirt lampasi alangasi ustida). So'ngra ustiga bir tomchi 50 % li glicerin eritmasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yopiladi. Avval x8 obyektiv, keyin x40 obyektivda yoki immersion sistemada ko'riladi.

Zamburug' mitseliysi va sporalar borligi diagnoz qo'yishga asos bo'ladi. Trixofiton va mikrosporiumlar sporalarining zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo'lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, lyuminiscentli analiz va biosinov qo'yiladi.

Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glukozali GPA, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

Biosinov – dengiz cho'chqasi yoki quyoning terisi tirnaltib, patmaterial surtiladi.

Biopreparatlar. Aktiv profilaktika maqsadida:

Qoramollar uchun TF – 130 va LTF – 130 quruq vaktsina *Trichophyton verrucosum* (*faviforme*)ning attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Otlar uchun SP-1 vaktsinasi *Trichophyton equinum* shtammidan tayyorlangan.

Qo'yalar uchun Trixovis quruq vaktsinasi *Trichophyton verrucosum* (avtoflokkum) shtammidan tayyorlangan.

Mo'ynali hayvonlar va quyonlar uchun MENTAVAK vaktsinasi *Trichophyton mentagrophytes* kulturesidan tayyorlangan.

Tuyalar uchun Kamelvak – TC vaktsinasi *Trichophyton scarisovi* zamburug'ining attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Go'shxo'r hayvonlar, nuriya va quyonlar uchun MIKOLAM vaktsinasi.

Iltar dermatomikozlarga qarshi Polivak - TM inaktivlangan vaktsina *Trichophyton* va *Microsporium* avlodlari zamburug'larining 8 turidan iborat.

Dermatomikozlarga qarshi VAKDERM vaktsinasi: it, mushuk, mo'ynali hayvonlar va quyonlar mikrosporiyasi hamda trixofityasiga qarshi kurashish uchun mo'ljallangan. *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* va *Trichophyton*.

Mentagrophytes larning yuqori immunogeni shtamlaridan tayyorlanadi.

Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mog'or mikozlari qo'zg'atuvchilari – *Aspergillus*, *penicillium*, *Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug'lar kiradi (190-rasm).

Aspergilloz – uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba'zan yirik shoxli hayvonlar, mayday shoxli hayvonlar, ot, cho'chqa, arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan o'pkaning granulematoz zararlaniishi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Yangi o'lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum, Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo'xori 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 mitseliysi avval oq, keyinchalik yashil rangda kizgizsimon 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.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Patmaterialda zamburug' shoxlangan miseliy shaklida ko'rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofiga sporalar tartibsiz joylashib chehol ko'rinishini eslatadi. Trixofityadan farqi glukoza Saburo agarida 26-28 °C da *M. equinum* 6-7chi kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish miseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporium avlodi zamburug'lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi.

Lyuminiscentli analiz – patmaterialni Petri kosachasiga qo'yib, qorong'i xonada simob-kvarslil lampaning (PRK-2, PRK-4) ultra-binafshta 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.

Trixofitya, mikrosporiyaga laboratoriyada diaqnoz mikroskopiya usulida qo'yiladi. Patmaterial 10 % li ishqorda 20-30 daqiga turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qozg'oq bo'lakchasi buyum oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20 % li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirt lampasi alangasi ustida). So'ngra ustiga bir tomchi 50 % li glikserin erimasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yopiladi. Avval x8 obyektiv, keyin x40 obyektivda yoki immersion sistemada ko'riladi.

Zamburug' miseliysi va sporalar borligi diaqnoz qo'yishga asos bo'ladi. Trixofiton va mikrosporiumlar sporalarining zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo'lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, lyuminiscentli analiz va biosinov qo'yiladi.

Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glukoza GP, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

Biosinov – dengiz cho'chqasi yoki quyunning terisi tirnaltib, patmaterial surtiladi.

Biopreparatlar. Aktiv profilaktika maqsadida:

Qoramollar uchun TF – 130 va LTF – 130 quruq vaksina *Trichophyton verrucosum* (*faviforme*)ning attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Otlar uchun SP-1 vaksinasi *Trichophyton equinum* shtammidan tayyorlangan.

Qo'yilar uchun Trixovis quruq vaksinasi *Trichophyton verrucosum* (avtotrofikum) shtammidan tayyorlangan.

Mo'ynali hayvonlar va quyovlar uchun MENTAVAK vaksinasi *Trichophyton mentagrophytes* kultasidan tayyorlangan.

Tuyalar uchun Kamelvak – TC vaksinasi *Trichophyton sarcosovi* zamburug'ining attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Go'shtxo'r hayvonlar, nuriya va quyovlar uchun MIKOLAM vaksinasi.

Itlar dermatomikozlariga qarshi Polivak - TM inaktivlangan vaksina *Trichophyton* va *Microsporum* avlodlari zamburug'larining 8 turidan iborat.

Dermatomikozlarga qarshi VAKDERM vaksinasi: it, mushuk, mo'ynali hayvonlar va quyovlar mikrosporiyasi hamda trixofityasiga qarshi kurashish uchun mo'ljallangan. *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* va *Trichophyton*.

Mentagrophytes larning yuqori immunogenli shtammlaridan tayyorlanadi.

Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mog'or mikozlari qo'zg'atuvchilari – *Aspergillus*, *penicillium*, *Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug'lar kiradi (190-rasm).

Aspergilloz – uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba'zan yirik shoxli hayvonlar, mayday shoxli hayvonlar, ot, cho'chqa, arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan o'pkaning granulomatoz zararlaniishi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Yangi o'lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum, Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo'xori 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 klizsimon 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 granulomatoz jarayonlarining rivojlanishi bilan xarakterlanadigan surunkali kasallik.

Patologik material. Yiring, nekrozga uchragan to'qima, eksudat, granulematozli to'qima.

Mikroskopiya. Surtmada bo'g'inlarga bo'linmagan mitseliy, 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 qavatlari doimiy yashab, kandidamikoz (molochnitsa) kasalligini qo'zg'aydi. Hazm trakti shilimshiq qavati, har xil organ va to'qimalarni zararlashi bilan xarakterlanadi. Asosan parrandalar zararlanaadi. Buzoq, qo'zi va boshqa yosh mollar kamroq kasallanaadi.

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, glukozali 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 quyvon, dengiz cho'chqasi, oq sichqonlarda biosinov qo'yib aniqlanadi. Kultúra 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 patmaterial olish.
3. Kandidamikoz, aspergilloz qo'zg'atuvchilari, ularni o'stirish.
4. Kandida avlodiga kiruvchi zamburug'larning patogen xususiyatlari.
5. Zamburug'lar qaysi oziq muhitlarda o'sadi.

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada leptospira kulturasi, buyum, yopqich oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglutinasyalovchi leptospir zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, javdallar, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglutinasiya reaksiyasini qo'yish, ARni buyum oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Leptospiroz – qishloq xo'jalik hayvonlari, kemiruvchi va barcha go'shtxo'r hayvonlarga xos yuqumli kasallik bo'lib, istima, sag'ayish, gemoturiya, anemiya va shilimshiq parda hamda terida to'qimalarning nekrozi bilan namoyon bo'ladi. Odamlar ham kasallanaadi.

Leptospiral *Spirochaetaceae* sinfi, *Leptospira* avlodiga mansub. Ularning ikki guruhni farqlanadi – *L. interrogans* – hayvon va odamlar uchun patogen va *L. biflexa* – patogen emas.

Asosiy leptospiroz qo'zg'atuvchilarga: *balavie*, *gebdomidis*, *grippotifoz*, *ikterogenorrhagiye*, *kanikola*, *pomona*, *tarassovi* lar kiradi.

Patologik material. Kasal hayvondan 5-10 ml qon, siydik, tashlangan homila yuboriladi. O'lgan mayda hayvonlarning jasadi, yirik hayvonlardan yurak, parenximatov organlardan bo'lakchalar, buyrak, siydik xaltasi bo'ylangan holda, orqa miya suyuqligi yuboriladi. Siydik ertalab yem-xashak berishdan oldin olinadi.

Patmaterialni laboratoriyada 6 soatdan (sovutgichda saqlansa 10-12 soatdan) kechiktirmay tekshirish kerak.

Diagnoz bakteriologik va serologik usullarda qo'yiladi.

1. Mikroskopiya. Leptospiralarni bo'yovni yomon qabul qiladi. Ular ezilgan tomchi usulida, qorong'ilashtirilgan kondensorda tekshiriladi. Leptospiralarni spiral shakldagi, to'g'ri yoki S holdagi ingichka, harakatchan ipsimon organizm. Uzunligi 5-20 mikm, diametri 0,1-0,2 mikm, uchlari ilmoq shaklida egilgan. Leptospiralarni fibrillalar yordamida harakatlanadi (191, 192, 193, 194- rasm). Grammanfiy, Romanovskiy Olmiza usulida 48 soat bo'yaganda pushti-binafsa rangda bo'ladi.

Lyuminiscent mikroskopiyada leptospirozning maxsus fluoresensiyali globulini ishlatiladi.

Mikroskopik tekshirishda leptospiralar aniqlansa, diagnoz qo'yish-da shu bilan chegaralanish mumkin.

2. Bakteriologiya. Patmaterial (siydik 10-15 ming aylanna tezlikda 30 daqiga sentrifugalanib, cho'kmasi va ustidagi suyuqligi, qonning plazmasi, organlardan suspenziya tayyorlab tekshiriladi) maxsus Lyubashenko, Ulgut oziq muhitlariga ekitiladi. Har bir namundan 3-5 tomchidan 5-6 ta probirka yarimsuyuq yoki suyuq oziq muhitga ekitiladi. Leptospirolar – 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 leptospiralar hamma vaqt ham ajratilavermaydi.

3. Biosinov. Ikki 20-30 kunlik tillarang og'maxon yoki 10-20 kunlik quyon bolalarida qo'yiladi. Tekshirilyotgan material og'maxon-larga 0,3-0,5 dan 1 ml gacha, quyon bolalariga -2-3 ml dozada terisi osti-ga yoki gorin bo'shlig'iga yuboriladi 4-5 kuni bittasi o'ldiriladi, ikkinchisi o'limasa 14-16 kundan keyin o'ldiriladi. Jasadni yoritib, qoni MAR da 13 ta seroguruh antigen (leptospirolar) bilan 1:10 nisbatda suyultirib tekshiriladi. Musbat natija, materialda leptospiralar borligini ko'rsatadi.

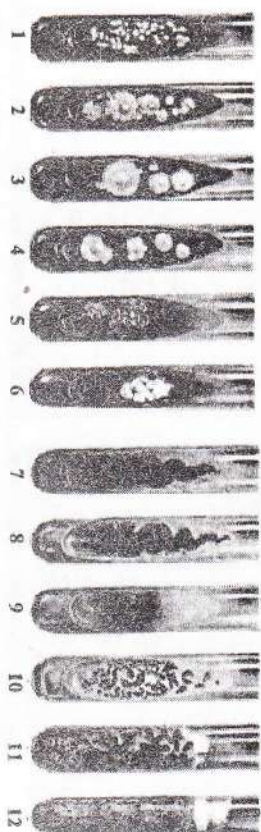
Ajratilgan 5-7 kunlik kultura patogenligi uni 0,1 ml dozada og'maxon qorin bo'shlig'iga yuborib aniqlanadi. Ular 5-12 kunda o'lsa leptospiralar yuqori virulentli hisoblanadi.

Serologik tekshirish usullaridan MAR, (mikroagglutinatsiya reak-siyasi), AR, KBR, FAU lari qo'llaniladi.

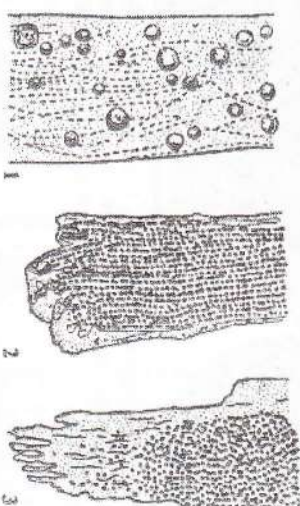
Kasal hayvondan qon zardobi ikki marta 5-7 chi, 7-10 kunlari olinadi. Yangi olingan, filtr qog'ozida quritilgan yoki konservatsiya qil-ingan (fenol bilan) zardoblar ishlatiladi. Antigen sifatida tirik leptospira kulturalari ishlatiladi.

MAR. Zardoblar 1:50, 1:250, 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 ml dan quyiladi. 6 ta leptospira kulturalarining 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. Plastinani sekin chayqatib, termostatga 30 °C 1 soatga qo'yiladi. Bir vaqtda nazorat qo'yiladi: 0,1 ml kultura +0,1 ml fiziologik eritma.

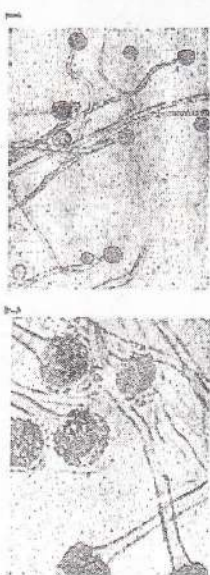
Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi



188-rasm. Patogen va zaharli zamburug'larning kulturalari. Patogen zamburug'lari: 1-*Trichophyton verrucosum*; 2-*Trichophyton gypseum*; 3-*Microsporum lanosum*; 4-*Candida albicans* (susto agarda); 5-*Histoplasma farciminosum*; 6-*Actinomyces bovis*, aerob shakli glukozali GFA da); 7-*Aspergillus fumigatus* (Chapeka agarida). Zaharli zamburug'lari: 8-*Aspergillus flavus*; 9-*Stachybotrys alternans*; 10-*Dendrodochium toxicum* (Chapeka agarida); 11-*Fusarium sporotrichioides*; 12-*Fusarium graminearum* (guruch donida).

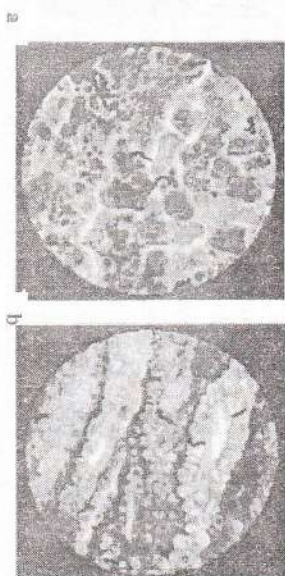


189-rasm. Dermatomisetlar zararlangan sochda. Patogen zamburug'lari: 1-*Trichophyton schoenleinii*; 2-*Trichophyton violaceum*; 3-*Microsporum canis*.



190-rasm. Imukor zamburug'i sporangiyalari; 2-*Aspergillus fumigatus* kulturalari.

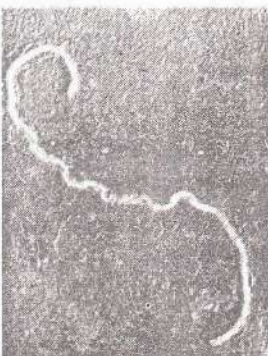
Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi



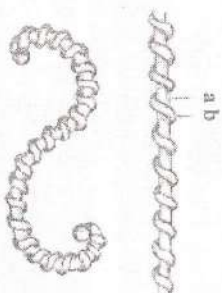
191-rasm. Leptospiralar: a-buzoq jigari to'qimasida;
b-buyragi kanalchalarda.



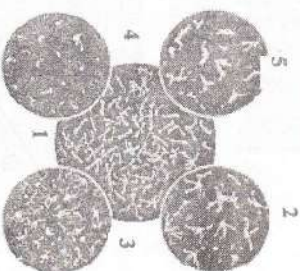
192-rasm. Leptospiralar
ezilgan tomchida qorong'i
maydonda.



193-rasm. Leptospira.
Spiralsimon tuzilishi va tana
o'q ipi aniq ko'ringan.



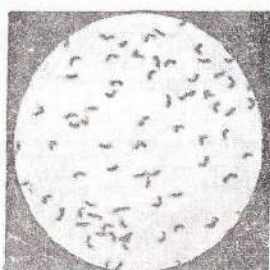
194-rasm. Leptospiraning tuzilish sxemasi:
tinch holatda (yugorida) va harakatda
(pastda). Elastik oq ip (a), periplast (b) bilan
bir xil qalinlikda. Birtinchi o'ramlari zich,
mayda, ikkinchilari leptospiralarga S-
shaklini beradi.



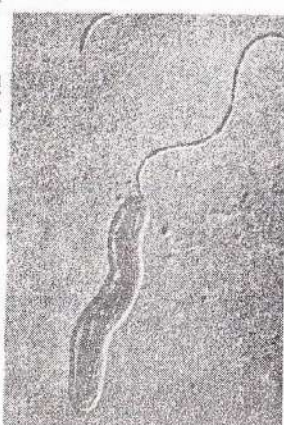
195-rasm. Mikroagglutinatsiya va
lizis reaksiyasi: 1-mantiy (leptospiralar
harakati va shaklini saqlab qolgan); 2-
5-ijobiy (leptospiralar har xil darajada
agglutinatsiya va lizisga uchragan).

186

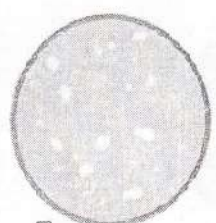
Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



196-rasm. *Vibrio fetus* *venerealis*.

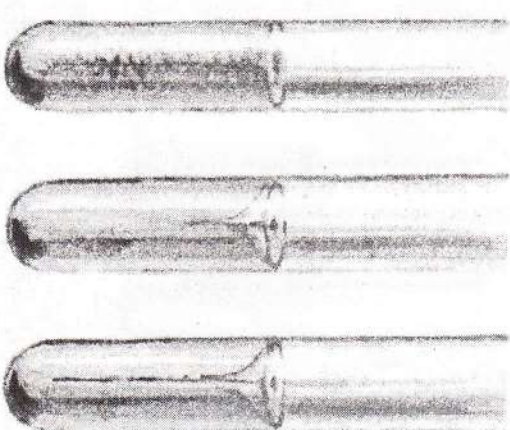


197-rasm. Elektronogramma. Xivchimli.



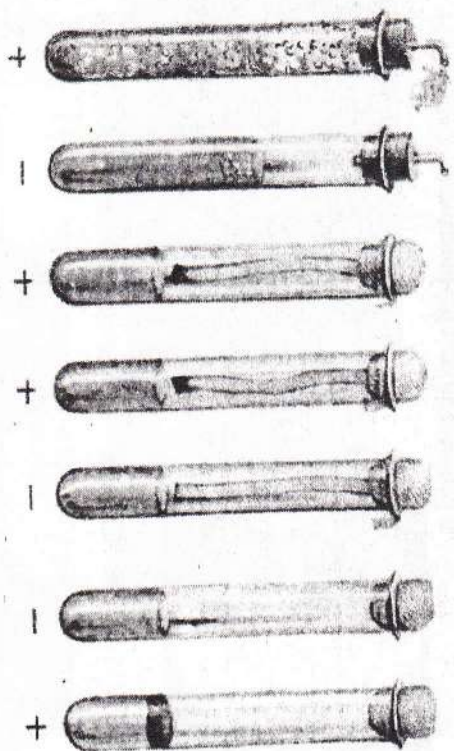
2 sutkalik kultura surmasida vibriyon

198-rasm. Qonli agarda vibriyon
koloniyalarining shakllari:
a - b - koloniyaning S- va R-
shakllari; d - mayda shodrigsimon
qoplam shakli.

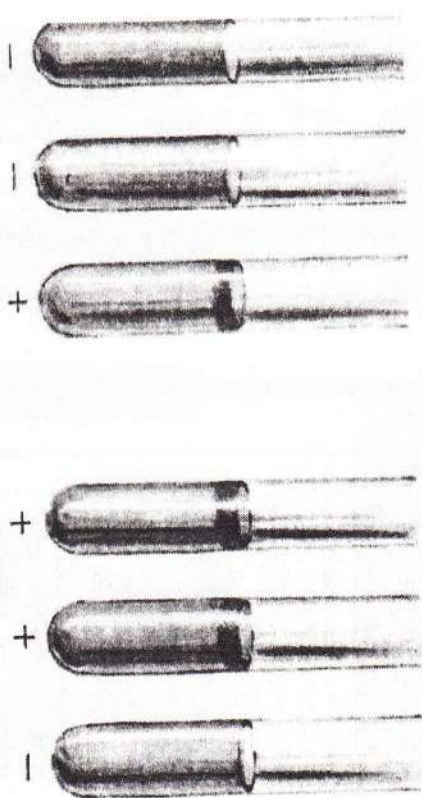


199-rasm. Vibriyonlarning yarim
suyuq agarda tik ekkanda o'sishi.

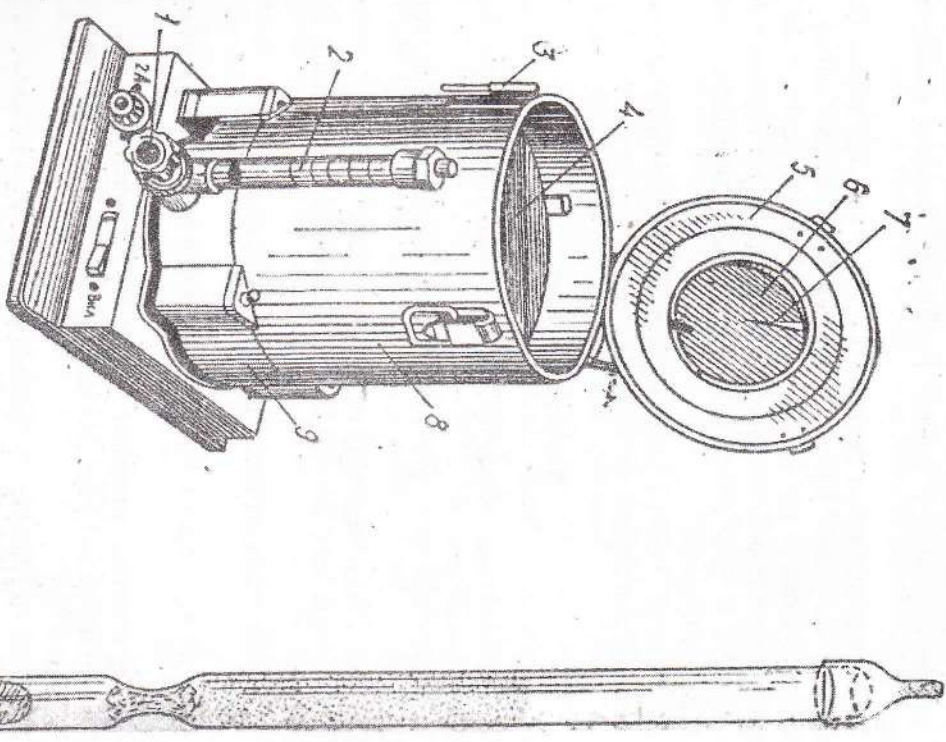
187



200-rasm. Vibriionlarning biokimyoviy xususiyatlarini tekshirish.



201-rasm. Vibriionlarning o'sishi:
A - 3,5% li NaCl li muhitida.
B - 4% li o't suyuqligi qo'shilgan muhitida.



202-rasm. Krotov apparatining tuzilishi.

- 1 - rotometrning jo'mragi,
- 2 - rotometr,
- 3 - ilmoqli qulfi, mikel
- 4 - aylanadigan disk, naychasi
- 5 - qopqoq, 6 - disk,
- 7 - pona, 8 - korpus, 9 - osti.

Natija ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, mikroskopda tekshirib aniqlanadi. Barcha suyultirilgan zardoblarda agglutinatsiya 4,3,2 plusga baholansa – musbat hisoblanadi. Nazorat reaksiyasidan tashqari.

Makragglutinatsiya reaksiyasi – AR – tomchili usulda buyum oynachasida qo'yiladi. 0,04 ml har bir suyultirilgan zardob yoki zardobning o'zidan + bir tomchi antigen shisha tayog'cha bilan yoki chayqatib aralashiriladi. Reaksiya 10 daqiqa davomida hisobga olinadi. Agglutinatsiya 4, 3, 2 plusga baholansa musbat, bir plusga – manfiy hisoblanadi (195-rasm).

Biopreparat. VGNKI ning polivalentli, depozitlangan vaktsinalari. Giperrimmuni 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 antigeni aytish.
5. Leptospirozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

43 - m a v z u. Kampiobakteriozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada kampiobakter kulturasini, buyum, oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglutinatsiyalovchi kampiobakterioz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlari.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, makragglutinatsiya reaksiyasini qo'yish, AR buyum oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Kampiobakterioz (vibrioz) – sigir, g'unajin, qo'yilarning surunkali kasalligi bo'lib, homila tashlash, bepushtlik, yosh hayvonlarning o'limi, yo'ldoshini ushlab qolishi, metrit, vaginit bilan xarakterlanadi. Qo'ylarda bo'g'ozligining ikkinchi yarmida yalpi homila tashlash kuzatiladi.

Kampiobakterioz qo'zg'atuvchisi – *Campylobacter fetus* (*foetes*), *Campylobacter* avlodi, *Spirchaetales* qatori, *Spirillaceae* oilasiga kiradi. *Campylobacter* oilasi uch turni o'z ichiga oladi: *C. spiroorum*, *C. fecalis*, *C. fetus*. Qo'zg'atuvchini birinchi marta 1913–1918-yillarda Mak-Fediyen va Shtokmanlar ochgan. Hozirgi vaqtda uch xil patogen homila vibriolarni mavjudligi aniqlangan. Ya'ni *S. fetus* uchta kenja turga bo'linadi: *C. fetus-subsr. veneralis* – yirik shoxli hayvon, dengiz cho'chqasi va tovuq homilasi uchun patogenli; *C. fetus subsr. intestinalis* – asosan qo'ylarda sporadik hollarda, sigirlarda homila tashlashni paydo qiladi, juda kam hollarda odamlarni zararladi, 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 zararlantadi.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun sigirlardan – plasentasi, bachadon bo'ynidan olingan shilimsiq (bola tashlagandan keyin 3-4 chi kuni yoki kuyga kelgan davrida steril holda olinadi); nasilli buqalardan – prepusial shilimsiq, sperma, jinsiy bezlar sekreti; diagnostik maqsadda o'ldirilgan hayvonlardan – qin, bachadon, toz bo'shlig'ining limfa tugunlari yuboriladi.

1. Mikroskopiya. Kampiobakter yosh kulturalarda vergul, ya'ni burama shaklida bo'ladi (196-rasm), uzunligi 3 - 7 mikm, eni 0,2 - 0,5 mikm. Patologik materialdan tayyorlangan surtmalarda vergul, uchayotgan chayka, spirilla shaklida bo'ladi. Ular to'planishib, vibriolarni paydo qilish, xuddi spirillalardak bo'lishi mumkin. Vibriolarning bir uchida xivchini bor (197-rasm), juda harakatchan, spora va kapsula hosil qilmaydi. Anilin bo'yog'lari bilan yaxshi bo'yaladi, ayniqsa, karbol fuksin bilan (1:5). Romanovskiy-Gimza usulida bo'yaganda hujayra tanasida donachalar bo'ladi.

2. Bakteriologiya. *C. fetus* mikroaerofilidir, kulturalarda 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 jigari 0,2% li agarda 2 - 7 kunda muhit yuzasiga yaqin joyida kulrang oqish halqa shaklida o'sadi (199-rasm). 2% li go'sht – jigar peptonli agarda 3 - 4 kuni mayda koloniyaga

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-siliq va R-kengish shaklli koloniyalar paydo bo'ladi (198 a,b,d - rasm). Yarim suyuq peptoni agarda kultura 10 - 20 kundan ortiq saqlanmaydi. Uzoq muddat saqlab qolish uchun uni yarimsuyuq yoki Kitt - Tarossi muhitida qayta ektiladi va sovutgichda saqlanadi.

Patmaterialdan qo'zg'atuvchini ajratish uchun, shuningdek, safranin - temir - novobiosini 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 vibriionlar, kuchsiz vorodod sulfid ajratadi, 4% li o't suyuqligi qo'shlangan muhitda o'sadi, 1% glitsinga chidamli. *C. fetus subsp. intestinalis* chidamli emas (200, 201 - rasm). Zahar hosil qilishi aniqlanmagan.

Biosinov — patmaterialda vibriionni topish, kulturani tozalash, vibriion kulturasiining 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 zararlani, tashlagan homilasi bakterilogik tekshiriladi. Agar 10-12 kun davomida homila tashlamasa, dengiz cho'chqasini o'ldirib, homilasi va bachadonidan oziq muhitlarga ektiladi. Naslli buqalarning vibriion bilan zaralanginini aniqlash uchun biosinov yetilgan g'unajinlarda qo'yiladi.

Serologik tekshirish uchun AR, KBR, UKBR, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llanadi. Sigir, g'unajinlardan olingan qin shilimsig'i bilan agglutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Shilimsig 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 termostada 37°C da va uy haroratida 3-6 soat turadi. Qo'ylar kompliabakteriozi diagnozi AR da kasal hayvonlar qon zardobida maxsus antitelolarni aniqlashdan iborat. Buning uchun homila tashlagan (birinchi 1 - 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 lyuminescent zardoblari ham qo'llaniladi.

Biopreparatlar. Adabiyotlarda qo'ylar vibriozini vaktsina bilan oldini olish mumkinligi to'g'risida ma'lumotlar bor.

Qo'ylar kampilobakteriozga qarshi inaktivlangan emulgirlangan vaktsina.

Kampilobakteriozni agglutinatsiyalovchi zardoblari.

Kampilobakterioz antigeni 0,3%li formalin eritmasida inaktivlangan kampilobakteriyalar suspensiyasi.

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.

44 - mavzu. Patogen rickettsiyalar

Magsad: Talabalarni qo'zg'atuvchining xususiyatlari, rickettsiozlarning laboratoriya diagnostikasi, biopreparatlar bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: tovuq homilalarida rickettsiya kulturalari, tayyor qotirilgan rickettsiya preparatlari (vaktsina shtammi), Stemp usulida bo'yash uchun bo'yoqlar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni tayyorlash, bo'yash va mikroskopda ko'rib, daffarga yozish.

Rickettsiyalar *Rickettsiales* qatori *Rickettsiaceae* oilasiga kiradi. Ilk bor Ricketts (1909-1910) tomonidan ifodalangan va uning sharafiga mikroorganizmlar shunday nomlangan. *Rickettsiaceae* oilasi odam, issiq qonli hayvonlar, parranda va bo'g'imoyoqlilarni zararllovchi, obligat hujayra ichidagi, grammanfiy mikroorganizmlar guruhini o'z ichiga oladi. Ko'pchilik rickettsiozlarda qo'zg'atuvchilar bo'g'imoyoqli qon so'ruvchilar—kana, bit, burgalardan o'tadi.

Rickettsiyalar — polimorf mikroorganizmlar, morfologik jihatdan bakteriyalarga o'xshaydi (oval, kokk, tayovqchasimon shakllari).

Tayoqchasimon shakllarining uzunligi 0,3-1,2 mkm, diametri 0,2-0,3 mkm. Rikketisyalarning bo'yalishi qiyin, ular bipolar, grammanfiy. Romanovskiy-Gimza usulida boshqa mikroorganizmlardan farqli ravishda pushiti rangga bo'yaladi (metoxromaziya).

Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisi (Coxiella burnetii). Kasallik Avstraliyada Derrick (1937) tomonidan ifodalangan. Qo'zg'atuvchi Kvislend provinsiyasining bosh harfi bilan nomlangan. Zoonoz rikketisiozni chaqiradi (yirik shoxli hayvon, qo'y va odamlar kasallanadi). O'tkazuvchilari-kanalar. Odamlar asosan qaynatilmagan sutni iste'mol qilishdan zararlanadilar. Qo'zg'atuvchi ko'pincha kokksimon shaklda bo'lib, tayoqchasimon, ipsimon shakllari kamroq uchraydi.

Tovuq homiliasining sariq xaltasida o'stirish mumkin. O'stirilgan rikketisiyalar bilan dengiz cho'chqalari, yunronqoziq yoki og'maxonlarni istalgan usulda zararlantirib biosinov qo'yish mumkin. Kasallik istima bilan namoyon bo'ladi. Oq sichqon, oq kalamush, quyvonlar qo'zg'atuvchiga chidamli. Ularni qon tomiriga yoki ko'zining oldingi kamerasiga (anesteziyadan keyin) zararlantirib rikketisioz simptomisiz o'tadi. Zararlantirgan hayvonlarni o'ldirganda qo'zg'atuvchi buyraklar, taloqda topiladi.

Diagnostikasi. Biosinovga asoslanadi: Kasal hayvonning istima davrida olingan qoni dengiz cho'chqalari qorin bo'shlig'iga yoki testikulasiga zararlantiradi.

Tana harorati juda yuqori bo'lgan vaqtida dengiz cho'chqasini o'ldirib, jigar to'qimalari yoki taloqdan tayyorlangan surtmalarda rikketisiyalar topiladi.

Rikketisiozlarda, shuningdek, serologik (AR, PR, GAR, KBR) va allergik diagnostika usullari ham qo'llaniladi. ARsi uchun antigen-konservatsiya qilingan rikketisiyalar suspenziyasi, KBR va PRLari uchun esa zararlantirgan tovuq homilasi sariq xaltasi suspenziyasidir. Shuningdek, fluorensensiyalovchi antitelalar usuli ham ishlatiladi.

Gidropertikardit qo'zg'atuvchisi (Cowdria ruminantium). Kovdri tomonidan 1925-yilda ochilgan. Kokksimon shaklda, tomir devorining endotelialarida rivojlanadi. Yirik shoxli hayvon, qo'y, echkilar kasallanadi. O'tkazuvchisi – kanalar. Kasallik yuqori harorat (41-42°C), umumiy holsizlik, tomir topilishi bilan xarakterlanadi. Homila tashlash ham kuzatilishi mumkin. O'tkir kechadi.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun kasal hayvonning qoni, RES hujayralari (ilik suyagi, taloq) yo'llanadi.

Qo'zg'atuvchi istima vaqtida (kasal hayvonda) qondan va bo'yinturug venasi qirindisidan (o'lgan hayvondan) tayyorlangan surtmalarda topiladi.

Biosinov. Qo'y yoki quyvonlar, dengiz cho'chqalari va oq kalamushlarda qo'yiladi. Intrasebreal yoki qorin bo'shlig'i zararlantiradi. Patologik materialni gistologik tekshirganda rikketisiyalar miya va buyrak tomirlari endotelialarida topiladi.

Nazorat savollari:

1. Rikketisiyalar qanday mikroorganizmlar.
2. Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisining diagnostikasi.
3. Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisini serologik tekshirish usullari.
4. Hidropertikardit qo'zg'atuvchisi diagnostikasi.
5. Hidropertikarditda qanday patologik materiallar laboratoriyaga yo'llanadi.

45 - m a v z u. Patogen xlamidiyalar

Mashg'ulotlarning maqsadi: Talabalarni qo'zg'atuvchining xususiyatlari, xlamidionlarning laboratoriya diagnostikasi, biopreparatlar bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: tayyor qotirilgan xlamidiya preparatlari (vaksina shlammi), Stemp usulida bo'yash uchun bo'yoqlar, biopreparatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni bo'yash va mikroskopda ko'rib, dafarga yozish.

Xlamidiyalar – antigenligi bo'yicha yaqin, tinktorial va morfologik xususiyatlari o'xshash mikroorganizmlarning o'ziga xos taksonomik guruh. Ular hayvonlarda o'tkir va yashirin kechadigan patogeni va klinik belgilari har xil bo'lgan infeksiyon kasalliklari chaqiradi. Bu qo'zg'atuvchilarning o'ziga xosligi, aynan ularda uchraydigan g'aroyib rivojlanish sikli, shuningdek, bakteriya va viruslar uchun xarakterli alohida xususiyatlari bilan ifodalanadi.

Xlamidiyalar qo'zg'atadigan kasalliklar–xlamidionlar deyarli barcha organ va to'qimalarni zararlaydi. Boshqa taksonomik guruh

infekcion (viruslar, bakteriya, sodd hayvonlar) kasalliklari bilan birgalikda ular qator kasalliklarning kechishi va oqibatini og'irlashtiradi.

Xlamidiya-grekechadan *Chlamydia*-maniya so'zidan olingan, chunki ular zararlangan hujayralarda mantiyaga o'xshash qobiqqa o'ralgan kiritmalar hosil qiladi.

Xlamidiaz qo'zg'atuvchilari *Chlamydiales* qatori, *Chlamydiaceae* oilasiga kiradi. Bitta avlod *Chlamydia* va ikkita turdan iborat: *C. trachomatis* hamda *C. psittaci*. Ular grammanfiy harakatsiz polimorfizmi yaqqol ko'rinadigan ko'proq kokksimon shaklli obligat parazitlar, spora hosil qilmaydi, xivchin va kapsulasi yo'q. *C. trachomatis* odam va sichqonlar uchun patogen. *C. psittaci* hayvonlar va parrandalarda qator infeksiyon kasalliklar chaqiradi. Patologik jarayonning rivojlanishi qo'zg'atuvchining joylashgan joyiga bog'liq. Xlamidiyalar ko'proq parranda, qo'zi, buzoq, cho'chqa bolalarining respirator organlari va ichak traktini zararladi; yirik va mayda shoxli hayvonlarning genitaliyasini; buzoq, cho'chqa bolalari, qo'zi, toylarning sinovial to'qimalarini; yirik shoxli hayvonlar, cho'chqa, qo'y, mushuk va h.k.lar ko'z shilliq pardalarini zararladi. Xlamidiazlarning klinik namoyon bo'lishi ham har xil: diareya, pnevmoniya, konjunktivit, poliartrit, perikardit, ensefalit, homila tashlash, o'lik tug'ilish, bepustlik, vaginit, endometrit va boshqa belgilar. *C. psittaci* ga yovvoyi va uy parrandalari (130 turdan ortiq) moyil. Uy parrandalaridan ko'proq o'rtaq, kurka, g'o'z, kamroq tovuq, kabutarlar (ornitoz) moyil.

Bakteriologik tekshirish. Birlamchi materialda yorug'lik va lyuminescent mikroskopiya usullarida qo'zg'atuvchini aniqlash, biosinov usulida sof kulturasini ajratish hamda morfologik xususiyatlari bo'yicha qo'zg'atuvchini farqlashdan iborat.

O'lgan yoki majburiy so'yilgan hayvonlardan laboratoriyaga parenximatov organlardan bo'lakchalar, homila tashlaganda-homila yoki uning parenximatov organlari va oshqozoni; kasallaridan-eyakulyat namunalari yoki muzlatilgan spermasi, serologik tekshirish uchun qon yo'llanadi. Material hayvon o'lgandan yoki homila tashlagandan keyin 2 soat ichida olinadi va muz solingan termosga joylanadi.

Mikroskopiya. Yorug'lik mikroskopida ko'rish uchun patologik materialdan tayyorlangan surtmalar Romanovskiy-Gimza (Xlamidiyalar rivojlanish bosqichiga bog'liq ravishda qizil yoki ko'k-binafsha rangda bo'ladi), Stemp usullarida bo'yaladi. Stemp usulida bo'yash uchun preparatlar qizdirib qotiriladi. Sil fuksinining (pH 7,4) distillangan suvda tayyorlangan 1:5 nisbatdagi eritmasi bilan 15 daqqa bo'yaladi. Keyin

0,05%li sulfat kislotasi eritmasi bilan 1 daqqa ishlav beriladi, qayta distillangan suv bilan yuviladi va malaxit yashilining 1%li suvli eritmasi bilan 30 soniya qo'shimcha bo'yaladi. So'ngra suv bilan yuviladi va mikroskopda ko'riladi: xlamidiyalar-hujayralarning yashilroq fonida och qizil rangda. Immuofluoresent usulda materialda xlamidiyalarni aniqlash uchun bevosita va bilvosita variantlari qo'llaniladi; morfogenez bosqichlariga bog'liq ravishda xlamidiyalarning o'Ichami 0,2-0,4 dan 0,6-1,5 mkm gacha bo'ladi.

Kultural-biokimyoviy xususiyatlari.

Xlamidiyalarni ajratish uchun 6-7 sutkalik tovuq homilalari yoki laboratoriya hayvonlaridan foydalaniladi. Materialdan fiziologik eritmada (1:10) suspenziya tayyorlanadi, sentrifugalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik antibiotiklar (100 TB/ml penisillin, 500 TB/ml streptomisin) bilan 4°Cda 24 soat davomida ishlav beriladi va bir vaqtning o'zida sterillikka nazorat qilinadi. Keyin tekshirilayotgan material 0,2 ml hajmda homilaning sarig xaltasiga yuboriladi. Homilalar termostatda 37°C da 75 nisbiy namlikda o'stiriladi. 4-12chi sutkalarda o'lgan homilalarni yoritib, allantois suyuqligi bakterial kontaminatsiyaga nazorat qilinadi. Sariq xaltadan tang'a-surtmalar tayyorlanadi va mikroskopiya usulida xlamidiyalarga tekshiriladi. O'lmagan homilalar 12 chi sutkada yoriladi va undan ikkinchi, lozim bo'lganda uchinchi marta qayta tovuq homilalariga yuborib tekshiriladi.

Biosinov. Xlamidiyalarni ajratish uchun 5ta oq sichqon yoki ikki-uchta dengiz cho'chqasi zararlantiriladi. Yuqorida ko'rsatilgandek tayyorlangan material sichqonlarga 0,3 ml, dengiz cho'chqalariga-0,5ml dozada qorin bo'shlig'i yoki ko'krak bo'shlig'iga yuboriladi. 3 sutka davomida kuzatiladi. Ijbiy natijada hayvonlar 7-10 chi sutkalarda o'ladi. Ularni yoritib ko'rganda seroz-fibrinozli eksudat, o'choqli pnevmoniya, o'pka plevrasi ostida qon quyilishlar ko'rinadi. Hayvonlar o'lmasa, ulardan qayta zararlashlar o'tkaziladi. Xlamidiyalarni aniqlash va farqlash yuqorida ko'rsatilgandek o'tkaziladi.

Serologik tekshirish. KBR yoki DKBR larini qo'yishga asoslangan. Zardoblar 1:5 va 1:10 nisbada ++ - ++++ nishonlarga gemoliz bo'lmasa natija ijbiy; 1:10 nisbada + va 1:5 nisbada - - ++++ larga gemoliz bo'lmasa natija gumonli hisoblanadi.

Biopreparatlar. Qo'yilarning xlamidiazli homila tashlashiga qarshi inaktivlangan, emulgirlangan vaktsina. Qishloq xo'jalik hayvonlari xlamidiazlarini serologik tekshirish uchun antigen va zardoblar to'plami.

1. Xlamidiyalar qanday mikroorganizmlar.
2. Xlamidiozga tekshirish uchun patmaterial olish qoidasi.
3. Xlamidiyalarning morfologik, kultural xususiyatlari.
4. Xlamidiozga serologik tekshirish usullari, biosinov.
5. Xlamidiozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

1. Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. –M.: Koloss, 2005.
2. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 1. Obschaya mikrobiologiya. –M.: Koloss, 2006 g.
3. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 2. Immunologiya. –M.: Koloss, 2006 g.
4. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: Koloss, 2007 g.
5. Vorobyev A.A. Meditsinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g.
6. Kostenko T.S. i dr. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. –M., 1989.
7. Smirnova N.I. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po veterinarnoy mikrobiologii. –M., 1977.
8. Antonov B.I. i dr. Laboratorniye issledovaniya v veterinarii. Bakterialniye infektsii. Spravochnik. –M.: Agropromizdat, 1986.
9. V.V. Pavlovskiy i dr. Diagnostika infektsionnix i protozoynnix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. –M.: Kolos, 1968.
10. Kolichev N.I., Gosmanov R.G. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. –M.: «Koloss», 2003 g.
11. Zooveterinariya jurnallari, –Toshkent.
12. Internet ma'lumotlari
www.Ziyo.net.uz.
email: zooveterinariya@.ru
email: sea@mail.net21.ru
email: veterinariy@.actavis.ru
email: fyat@.academy.uzsci.net

MUNDARIJA

Kirish.....	3
Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma	4

I BO'LIM. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

1-mavzu. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tizilishi va ishlash qoidalari.....	6
2-mavzu. Lyuminessent mikroskopiya.....	14
3-mavzu. Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari.....	17
4-mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash.....	22
5-mavzu. Spora, kapsula va kislotaaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari.....	24
6-mavzu. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish.....	33
7-mavzu. Oziq muhitlarini tayyorlash.	37
8-mavzu. Sterilizatsiya usullari.....	41
9-mavzu. Mikroorganizmlarni o'stirish.....	46
10-mavzu. Sof kultura ajratib olish usullari.....	51
11-mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.....	55
12-mavzu. Mikroorganizmlarni antibiotikka sezuvchanligini aniqlash.....	59

13-mavzu. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.....	64
14-mavzu. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari.....	69
15-mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi.....	72
16-mavzu. Pretsipitatsiya reaksiyasi.....	75
17-mavzu. Komplement bog'lash reaksiyasi.....	81
18-mavzu. Serologik tekshirishning immunoferment usuli (ELISA test).....	84
19-mavzu. Bakteriyalarning genetikasini o'rganish.	87
20-mavzu. Atrof-muhit obyektlarini mikrobiologik tekshirish usullari.	90
21-mavzu. Veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar	97

II BO'LIM. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA

22-mavzu. Stafillokokklli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi.....	102
23-mavzu. Streptokokklli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi.....	105
24-mavzu. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi.....	112
25-mavzu. Tular va odamlar o'lat kasalligining laboratoriya diagnostikasi.....	115
26-mavzu. Pseudotuberkuloznining laboratoriya diagnostikasi.....	116
27-mavzu. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	118
28-mavzu. Listeriozni laboratoriya diagnostikasi.....	121
29-mavzu. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi.....	128
30-mavzu. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi.....	131
31-mavzu. Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	135

32-mavzu. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi.....	143
33-mavzu. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi.....	147
34-mavzu. Tuliyaremiya kasalligining laboratoriya diagnostikasi	153
35-mavzu. Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	156
36-mavzu. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi.....	158
37-mavzu. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	161
38-mavzu. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	167
39-mavzu. Bradzotni laboratoriya diagnostikasi.....	169
40-mavzu. Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi.....	176
41-mavzu. Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi.....	178
42-mavzu. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi.....	183
43-mavzu. Kampliobakteriozning laboratoriya diagnostikasi.....	190
44-mavzu. Patogen riketsiyalar.....	193
45-mavzu. Patogen xlamidiyalar	195
Foydalanilgan adabiyotlar	199

Z. J. SHAPULATOVA

MIKROBIOLOGIYA

Toshkent – «Fan va texnologiya» – 2013

Muharrir:	M. Hayitova
Tex. muharrir:	M. Xolmuhamedov
Musavvir:	B. Nasritdinov
Musabihli:	F. Ismoilova
Kompyuter	
sahifalovchi:	N. Hasanova

E-mail: tipografiyaenl@mail.ru Tel: 245-57-63, 245-61-61.
 Nashr.lits. AINo149, 14.08.09. Bosislga ruxsat etildi 31.10.2013.
 Bichimi 60x84 1/16. «Timez Uz» garnituras. Ofset bosma usulida bosildi.
 Shartli bosma tabog'i 12,5. Nashriyot bosma tabog'i 12,75.
 Tiraji 500. Buyurtma No151.

«Fan va texnologiyalar Markazining bosmaxonasi» da chop etildi.
100066, Toshkent sh., Olmazor ko'chasi, 171-uy.