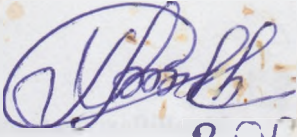




X. K. BAZAROV, A. B. ABDULAKIMOVA

VETERINARIYA VIRUSOLOGIIYASI




**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI QISHLOQ VA
SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI**

206 - g.

SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

BAZAROV X.K., ABDULAKIMOVA A.B.

VETERINARIYA VIRUSOLOGIYASI

O'QUV QO'LLANMA

O'zbekiston Respublikasi Oliy va O'rta maxsus ta'lim Vazirligi
huzuridagi Oliy va o'rta maxsus, kasb-hunar ta'limi yo'nalishlari
bo'yicha O'quv-uslubiy birlashmalar faoliyatini
Muvofiqlashtiruvchi kengash tomonidan
o'quv qo'llanma sifatida tavsiya etilgan.

616
B 21

Mualliflar: Dotsent Bazarov X.K., assistent Abdulakimova A.B.
Veterinariya virusologiyasi fanidan o'quv qo'llanma. Toshkent, 2015. 204 bet.

Ushbu o'quv qo'llanma qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining "5440100-Veterinariya" va "5111009-Kasb ta'limi (Veterinariya)" yo'nalishlarida ta'lim olayotgan talabalar uchun mo'ljallangan.

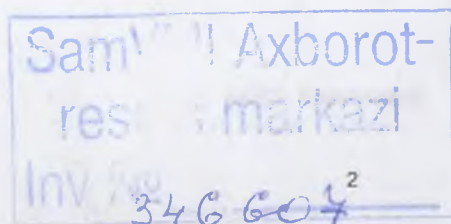
Taqrizchilar: Veterinariya fanlari doktori, professor
X.S.SALIMOV
Veterinariya fanlari doktori, professor
U.K.IZBASAROV

O'quv qo'llanmada umumiy va xususiy virusologiya bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan. Patologik materiallar, viruslar, o'stirilgan hujayralar bilan ishlash usullari va serologik reaksiyalar yordamida viruslarni differentsiatsiyalash uchun ko'rsatmalar berilgan.

Ayrim virus kasalliklariga laboratoriyada diagnoz qo'yish yo'llari bayon etilgan.

O'quv qo'llanma O'zbekiston Respublikasi Qishloq va Suv xo'jaligi Respublika o'quv-uslubiyot markazi tomonidan tasdiqlangan dasturga muvofiq yozilgan. Qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining veterinariya fakulteti talabalari va laboratoriya xodimlari uchun mo'ljallangan.

Veterinariya virusologiyasidan o'quv qo'llanma birinchi marta davlat tilida ya'ni lotin yozuvida yozilganligi uchun unda ayrim kamchiliklar uchrab turadi. Buni mualliflar navbatdagi ishlarida albatta bartaraf etadilar. Kitobxonlar bildirgan barcha tanqidiy fikr va mulohazalarni, istak va tilaklarni minnatdorchilik bilan qabul qiladilar.



Mualliflar.

UMUMIY VIRUSOLOGIYA

1-MAVZU

Viruslarning asosiy xususiyatlari, virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini va xavfsizlik texnikasi

Darsning maqsadi: Viruslar to'g'risida tushunchaga ega bo'lish; virusologiya laboratoriyasi, unda ishlash tartibi bilan tanishish, kafedraning virusologiya laboratoriyasi va u yerdagi asosiy asbob-uskunalar bilan tanishish. Virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini o'rganish. Laboratoriyada viruslarni saqlash va aseptika va antiseptika, dezinfeksiya, sterillash usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Virusologik tekshirish uchun kerak bo'lgan virusologiya laboratoriyasining xonasi va laboratoriyaning, asbob-uskunalar, stol ustiga o'rnatilgan boks, lyuminessent mikroskop, sentrifuga, sovg'ich, magnitli aralashtirgich, termostatlar, spirtovka, shisha idishlar (rezina nokcha, rezinali tiqin tiqilgan probirka, flakonlar, matraslar, petri likopchasi, pipetka) Takachi va Titertek apparati, asosiy reaktivlar va oziq muhitlar; talabalarni virusologiya laboratoriyasida ishlash jarayonida xavfsizlik texnikasi bo'yicha instruktaj o'tilganligini yozib borish uchun jurnal;

Veterinariya muassasasida ishlash qoidalarini to'g'risida tasdiqlangan qo'llanmalar va laboratoriyaning asosiy hujjatlari.

Viruslar – hayvonlar, o'simliklar hamda odamlarda kasallik qo'zg'atadi. Boshqa infeksiyon omillarga o'xshab tarkibida genetik axborotni va navbatma-navbat keladigan nuklein kislotaning molekularini (DNK yoki RNK) saqlaydi.

Uning boshqa yuqumli kasallik tarqatuvchilardan farqi shuki, viruslarning o'zida alohida moddalar almashinuvi bo'lmaydi. Shuning uchun hech narsa bilan oziqlanmaydi, nafas olmaydi va o'zidan hech narsa ajratib chiqarmaydi, viruslarda oqsil sintezlovchi, quvvat hosil qiluvchi tizim deyarli yo'q.

Viruslar faqat tirik hujayralarda ko'payadi. Shuning uchun viruslar biologik jihatdan o'zida genetik axborotni olib yuruvchi faqat hayvon va o'simliklarning tirik hujayralarida ko'payishi tufayli genetik axborotni amalga oshiradigan shaklni o'zida ifodalaydi.

Sanoat tipidagi xo'jaliklarda viruslar tomonidan o'tkir respirator va ichak kasalliklari paramiksoviruslar, tomonidan chaqirilib (paramiksoviruslar), yuqumli rinotraxiet (gripes-viruslar), virusli diareya (togaviruslar) adenoviruslar va boshqa viruslar tomonidan qo'zg'atiladi.

Ular homilada bo'ladigan patologik jarayonlarga ham sababchidir. Shuningdek, cho'chqalarda o'lat kasalligini chaqiruvchi virus homilaning mumlanib qolishida va o'lik tug'ilishida asosiy sabablardan biri hisoblanadi. Yuqumli rinotraxiet kasalligining virusi homilaning nuqsonli o'sishiga yoki ko'r tug'ilishiga olib keladi.

Viruslarni zararli shish, leykoz, Marek va boshqa kasalliklarni keltirib chiqarishdagi o'rni ham isbotlangan.

Hayvonlarning ko'pchilik virusli kasalliklari (quturish, virusli ensefalomielit, g'ovaksimon ensefalopatiya, skreypi, gripp, gemor-ragik isitma va boshqalar) odamlar uchun ham xavfli.

Virusli kasalliklarga qarshi muvaffaqiyatli kurashishda laboratoriyada tashhis qo'yish muhim ahamiyatga egadir.

Laboratoriyaning virusologiya bo'limi, ilmiy tekshirish veterinariya stansiyalari virus infeksiyasiga laboratoriya tashxisini qo'yish hayvonlarning virusli kasalliklari bilan kasallanishini epizootiya oralig'i paytida nazorat qilish hamda kasallikdan so'ngi spetsifik va vaktsinatsiyadan keyingi virusga qarshi immunitet kuchini hisobga olish, xizmat ko'rsatiladigan regionda virusli va xlamidioz kasalliklarga qarshi kurashish kabi profilaktik tadbir choralarni o'tkazishni tashkil qilishga qaratilgan.

Virusologiya laboratoriyasining tuzilishi ish jarayonidagi bajariladigan vazifasiga qarab belgilanadi. Laboratoriya iloji boricha ikki qavatli yoki bir-biridan alohida, maxsus ajratilgan binoga joylashtiriladi.

Birinchi qavatda alohida shkaflı garderob, sanitariya nazorati, sanitariya bo'linmalari, laboratoriya jihozlari va idishlarni saqlash uchun omborxona, oqovadan kelayotgan suvni qabul qilib zararsizlantirish uchun moslama, sog'lom va virus yuqtirilgan tajriba hayvonlarini saqlash uchun xona, ifloslangan havoni so'rib oluvchi, avtoklav, yuvgich xonalari mavjud bo'ladi.

Ikkinchi qavatda laboratoriya xonasi joylashtiriladi: to'qimalarni, hujayralarni o'stirish, serologik va virusologik tekshirishlar, apparatlar, termostat uchun xonalar va laboratoriya mudiri va xodimlari uchun xona ajratiladi. Uncha katta bo'lmagan diagnostik laboratoriya alohida 5-6 xonadan iborat bo'lishi kerak.

Laboratoriyada alohida yaxshi yoritilgan xona bo'lishi lozim. Viruslar bilan ishlaydigan xona yaxshi yoritilgan va ikki xonadan iborat bo'lishi kerak. Boks oldi xonasi 4 m² va boks 9 m² kam bo'lmasdan bular orasidagi devor shisha to'siq va eshikdan iborat bo'ladi.

Laboratoriyaning boks xonasida ish uchun zarur bo'lgan stol, stul va jihozlar o'rnatiladi. Stollarning usti oynadan, plastikdan yoki zanglamaydigan po'lat bilan qoplanib ish stolining ustiga BUV-30 (bakteritsid uviolevaya) xildagi chiroq o'rnatiladi.

Boksga kiradigan joyda dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilgan gilamcha to'shaladi. Boks oldi xonasida sterillangan xalatlar, durrachalar, yuz yopqichlar, yengil oyoq kiyimlari saqlanib, boksga kirish oldidan kiyiladi.

Ishning bajarilishiga qarab boksdan termostat, muzlatgich, suv hammomi, sentrifuga va boshqalar joylashtiriladi.

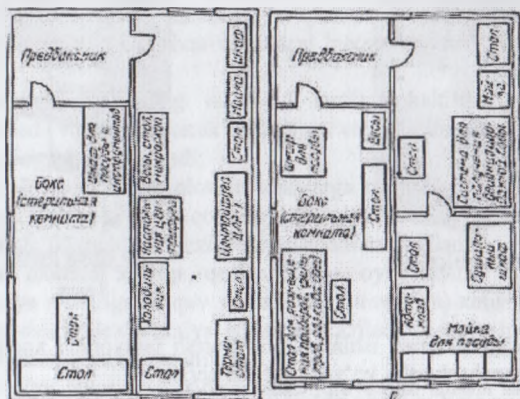
Laboratoriya xonalarining poli qattiq, namni o'tkazmaydigan, dezinfeksiyalovchi moddalarga chidamli (malaxit plitkasi, plastik, linoliyum) bo'lgan materialdan tayyorlanadi. Devor va shift yuvilishi yengil bo'lgan material – moyli bo'yoq yoki kafel plitkadan, oyna esa chivin va pashshalar yoki boshqa hashoratlar kirmasligi uchun to'r bilan to'siladi.

Laboratoriyaning virusologiya bo'limi sovuq va issiq suv, steril havo beruvchi moslama bilan ta'minlanadi. Tekshirish uchun yuborilgan patologik materialni rasmiylashtirib qabul qiluvchi xonaga bir nechta sinkli temir tunuka qoplangan stol va dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishlar (3%-xloramin, natriy gidroksidi yoki 5%-fenol) qo'yiladi.

O'lgan hayvonlarga xonada maxsus ishlov berilgandan so'ng yorib ko'rilgach navbatdagi tekshirish uchun material olinadi. Bu ishlov maxsus ajratilgan stol ustida

bajariladi. Shu xonada dezinfeksiyalovchi moddalar solingan idishlar, asboblardan: qaychi, pinset, skalpel, kornsang va boshqalarni saqlash uchun oynadan tayyorlangan shkaf, materialni yig'ishtirib olish uchun steril idishlar hamda maxsus kiyimlarni saqlash uchun shkaf bo'lishi kerak.

Boks xonalari maxsus virusologik tekshirish uchun jihozlanadi. Hujayralarni o'stirish uchun ishlatiladigan boksda virus saqlovchi material bilan ishlash taqiqlanadi. (1-rasm).



1-rasm. Xonalarda jihozlarni va asbob-uskunalarini joylashtirish tasviri. a) o'stirilgan hujayralar bilan ishlash uchun; b) hujayrani o'stirish, eritma va muhitlarni tayyorlash uchun.

Avtoklav o'rnatilgan xonada idishlar, oziq muhitlar, asbob-uskunalar, jihozlar va yuqumli materiallar zararsizlantiriladi. Ishlash uchun ikkita avtoklav kerak bo'lib, birinchisida toza materiallar ikkinchisida esa infeksiya bilan ifloslangan materiallar zararsizlantiriladi. Infeksiya bilan ifloslangan materialni yig'ish-tirish uchun bak, quritish shkafi, distillyator va steril idishlar saqlanuvchi shkaf bo'lishi kerak.

Infeksiya bilan ifloslangan idish, pipetka va instrumentlar zararsizlantirilgandan so'ng yuviladi. Laboratoriya hayvonlarini saqlash xonasida (vivariy) karantin xonasi alohida, sog'lom hayvonlar va tajriba qo'yib ko'rilgan hayvonlar uchun alohida xona bo'lishi zarur.

Laboratoriya hayvonlarini saqlovchi kataklarni dezinfeksiyalash, inventarlarni, maxsus kiyimlarni, xashaklarni tayyorlash, yem-xashakni saqlash, o'lgan laboratoriya hayvonlarini yondirish uchun ham alohida xonalar bo'lishi kerak.

Sog'lom va tajriba hayvonlari saqlanadigan bino bir-biridan alohida ajratilgan bo'lib chiqish eshiklari alohida bo'lishi shart.

Laboratoriya hayvonlari kataklarda saqlanadi. Har bir laboratoriya hayvoni turgan katakka pasport osib qo'yiladi va vivariyga olib kelingan kuni, massasi ko'rsatilgan bo'ladi. Katakda saqlanayotgan tajriba hayvonlarining pasportiga virus yuqtirilgan kun, virus saqlovchi materialning turi, ekspertiza nomeri va yuqtirilgan sanasi yozib qo'yiladi. Virusologiya laboratoriyasining barcha turida ham albatta stol

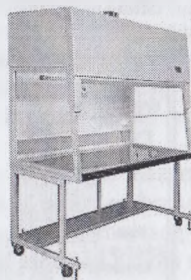
ustida o'rnatilgan boks bo'lishi lozim (2-rasm). Eng yaxshisi laminar boks hisoblanadi (3-rasm).

Murakkab bo'lmagan ishlarni bajarish uchun oynadan yasalgan to'siqdan foydalanish mumkin. Bu to'siq stolga o'rnatilib ishlayotgan xodimning yuzini, ish bajarayotgan paytda tekshirilayotgan materialdan alohida ajratib to'sib turadi.



Stol usti boksi

2-rasm.



Ko'chma boks

3-rasm.

Laboratoriyada tekshirish ishlarini olib borish jarayonida xonalarning rejasini tuzish va quyidagi asosiy shartlar ko'zda tutilishi kerak:

- 1.Xodimlarning xavf-xatarsiz ishlashini ta'minlash.
- 2.Tekshirilayotgan materialni mikroflora bilan kontaminatsiyalanishini bartaraf etish.
- 3.Laboratoriyadan infeksiyani tashqariga chiqib ketmaslik choralari ko'rish.

Virusologiya laboratoriyasida virus saqlovchi material bilan ishlovchi xodim mazkur talabni yodida saqlashi va ish rejimiga rioya qilishi kerak.

Virusologiya laboratoriyasida ishlash tartibi

Laboratoriyaning barcha xodimlari mehnat xavfsizligiga doir instruktaj o'tkazilib, talabga javob beradigan normaga asosan sanitariya himoya vositalari, maxsus oyoq kiyimi va maxsus kiyim bilan ta'minlanadi.

Virusologiya laboratoriyasining asosiy ish qoidalari quyidagilar:

- 1.Ishlab chiqarish binosiga begona kishilarning, hamda laboratoriya xodimlarining xalatsiz va maxsus oyoq kiyimisiz kirishi mumkin emas;
- 2.Laboratoriyadan tashqariga xalatda va maxsus oyoq kiyimida chiqish yoki xalat ustidan kiyim kiyish, chekish, ishlab chiqarish binosida ovqatlanish va oziq-ovqat mahsulotlarini saqlash taqiqlanadi.

Xodim boksda steril xalatda, yuz yopqichda, shippakda, zarur bo'lgan taqdirda rezina qo'lqopda va ko'zoynak taqib ishlaydi. Oyoq kiyim albatta almashtiriladi. Ish vaqtida so'zlashishga, yurishga yo'l qo'yilmaydi;

3.Laboratoriyaga tekshirish uchun olib kelingan barcha materialda infeksiya bor deb qaraladi. Infeksiya bor deb qaralgan material bilan ishlashda juda ehtiyot bo'lib ish ko'riladi, bankalarni ochayotgan paytda, tashqi tomonidan dezinfeksiyalovchi material surkalib, tagiga kyuveta qo'yiladi;

Bir necha qavat doka 5% xloramin eritmasi bilan namlanib ish stolining ustiga yopib qo'yiladi.

Virus saqlovchi suyuqliklarni quyish, dezinfeksiyalovchi eritma solingan kyuverta ustida bajariladi.

Pipetkalar bilan ishlashda rezina nokchalardan foydalaniladi. Oldin ishlatilgan pipetka, buyum va yopqich oynalar 5% xloramin eritmasi, fenol, lizol yoki sulfat kislotaga solib qo'yish yo'li bilan zararsizlantiriladi.

O'z joyida oldindan dezinfeksiya qilinmasdan turib laboratoriya jihozlari, inventarlar, materiallar va boshqa narsalarni laboratoriyadan tashqariga olib chiqish taqiqlanadi;

4. Ish tugagandan so'ng ish joyi tartibga keltirilib, so'ngra to'lasincha dezinfeksiyalanadi. Kelajakda kerak bo'ladigan virus saqlovchi material saqlash uchun muhrlanib muzlatgichga qo'yiladi;

5. Yuqumli materialni saqlovchi idishlarga mustahkam belgi qo'yilishi muhim ahamiyatga ega. Qo'lga kiyilgan qo'lqopni 5% xloramin eritmasi bilan yuvilib, so'ngra qo'lqop yechiladi, ikkinchi bor dezinfeksiyalanadi va yuviladi.

Yuqumli material xalatga, qo'lga, stolga, oyoq kiyimi va boshqalarga tushsa unda laboratoriya mudiriga (o'quv yurtlarida o'qituvchiga) xabar berilib, zudlik bilan uning nazorati ostida dezinfeksiya ishlari o'tkaziladi. Agarda infeksiya yuqqan deb gumonsiralsa, vrachga murojaat qilinadi.

Virusologiya laboratoriyasida ishlash jarayonida barcha xodimlar aseptika va antiseptika qoidalariga qat'iy rioya qilishlari kerak.

Aseptika – mikroorganizm va viruslarning tashqi o'rab turgan muhitdan odam organizmiga hamda tekshirilayotgan materialga tushishining oldini oladigan tadbirlar majmuasi.

Bunda steril instrumentlar va materiallardan foydalanish, xodimlarning qo'lga ishlov berish, sanitariya – gigiena qoida va usullariga alohida e'tibor berish ko'zda tutiladi.

Antiseptika – teri va shilliq pardalarga yoki jarohatlangan joylarga tushgan va yuqumli jarayon chaqiradigan mikroorganizmlar, viruslarni o'ldirishga qaratilgan kompleks tadbirlar.

Antiseptika vositalari sifatida har xil kimyoviy moddalar: 70% - etil spirti, 0,5-3% xloramin eritmasi, 0,1% - kaliy permanganat eritmasi, 0,5-1% formalin eritmasi, metil ko'kining 1-2% spirtli eritmasi yoki brilliant yashili ishlatiladi.

Dezinfeksiya – kimyoviy moddalar yoki fizikaviy usul bilan odam va hayvonlar uchun patogen bo'lgan mikroorganizm va viruslarni o'ldirish natijasida atrof muhitni va ob'ektlarni zararsizlantirish. Kimyoviy moddalardan (0,1-10%) xlorli ohak eritmasi, formalin, (0,5-5%) xloramin, (3-5%) fenol, (3-5%) lizol, (2-3%) o'yuvchi ishqor va boshqalar qo'llaniladi.

Dezinfeksiyalovchi moddalar va uning konsentratsiyasini tanlash dezinfeksiyalaydigan materialga bog'liq.

Laboratoriyada boksni dezinfeksiyalash uchun ko'pincha formalin bug'i (30-35 ml 40% formaldegid eritmasi 1 m³ havoda), beta propiolakton (1,1 ml 100 m³ havoda) yoki karbol kislotani (haftada bir marta) bug'lantirib va har kuni xloramin yoki o'yuvchi natriy eritmasidan foydalaniladi.

Sterillash – har xil materialdagi virus va mikroorganizmlarni to‘lasincha yo‘qotish, pushtini kuydirishdir.

Fizikaviy (yuqori harorat bilan ta’sir etish) ul’tabinafsha nurlar bilan nurlantirish, bakterial filtrlar orqali suyuqlikni filtrlash va kimyoviy usul bilan sterillash o‘tkaziladi.

Sterillashning fizikaviy usuli:

a) spirt lampasi yoki gorelka alangasida qizdirish. Bu usul cheklangan holda ishlatilib ignalarni, takachi apparatining halqalarini sterillashda foydalaniladi.

b) qaynatib sterillash. Bu usul bilan shprislarni, mayda xirurgik instrumentlarni, buyum va yopqich oynalarni va boshqa predmetlar sterillanadi. Qaynatish davri 30 daqiqadan kam bo‘lmasligi kerak, suvni qaynatish nuqtasini ko‘tarish va uni yumshatish uchun suvga 2% natriy gidrokarbonat qo‘shiladi.

Ammo ushbu usul to‘lasincha sterillikni ta’minlamaydi, ba’zi bir viruslar misol uchun gepatit virusi, bakteriyalarning sporalari yashovchanligini saqlab qolishi mumkin.

c) quritish shkafida quruq issiqlik bilan sterillash. Bu usul 165-180⁰Cgacha qizdirilgan havoning ta’siriga asoslangan quriq issiqlik bilan shisha idishlar sterillanadi;

d) avtoklavda bug‘ning bosimi bilan sterillash. Sterillashning bu usuli juda samarali bo‘lganligi uchun keng qo‘llaniladi.

d) kox apparati yoki avtoklavda oquvchi bug‘ yordamida 1-1,5 atm bosimda 30 daqiqa davomida, vitamin va uglevodlarni saqlovchi oziq muhitlarni yuqori harorat ta’sirida chidamsiz materiallarni sterillashda ishlatiladi.

e) ul’tabinafsha nurlar bilan sterillash. Ushbu usul ul’tabinafsha nurlarni 260-300 MKM uzun to‘lqinda bakteritsid ta’siriga asoslangan. Boksdagi havoni sterillash uchun BUV-15, BUV-30 lampalaridan foydalanamiz. Nurlantirish 1-2 soat davomida o‘tkaziladi.

f) bakterial filtrlar orqali suyuqliklarni filtrlash. Bu usul bilan oziq muhitlarni, qon zardobini, vitaminlarni bakteriyalardan tozalanadi, ammo oziq muhit, qon zardobi, vitaminlarni filtrlash yo‘li bilan viruslardan tozalab bo‘lmaydi.

Sterillashning kimyoviy usuli – bu usulda har xil kimyoviy moddalardan foydalaniladi (antiseptika, dezinfeksiyaga qaralsin).

Laboratoriyalarda viruslarni saqlash, yorliq yopishtirish, hisobga olish

Barcha virusologiya laboratoriyalarida viruslar bilan ishlash uchun yagona tartib o‘rnatilgan bo‘lib bunda viruslarni saqlash, ro‘yxatga olish laboratoriya sharoitida undan foydalanish va chetga chiqarish qonun qoidalari ko‘rib chiqilgan bo‘ladi.

Probirkadagi, flakondagi yoki boshqa idishlardagi virus saqlovchi materiallarga yorliq yopishtirilgan bo‘lib unda qanday virus borligi, shtammni olingan vaqti, passaj nomeri, hajmi va boshqa ma’lumotlar ko‘rsatilgan bo‘ladi. Yorliqda ko‘rsatilgan ma’lumotga laboratoriyadagi jurnalga yozilgan shtamm to‘g‘ri kelishi kerak.

Virus shtamlari muzlatgich xonada qulflangan, plombalangan yoki muhrlangan holatda saqlanadi.

Ajratilgan virus shtamlari, standart shtamlar bilan birgalikda serologik tekshirilgach solishtirib ko‘rish uchun, bir xil sharoitda uzoq hayotchanligi maksimal ta’minlangan holda saqlanadi.

Viruslarni konservatsiyalashning asosiy usullari

Viruslarni konservatsiyalashning quyidagi usullari qo'llaniladi:

1) Virus materialni saqlashda (organ yoki to'qimaning bir bo'lagi), ko'pchilik holda glitserinning fiziologik eritmada 50% eritmasi ishlatiladi. Bu eritma bakterioostatik ta'sirga ega bo'lib viruslarni yaxshi himoya qiladi. Viruslarni 4°C sharoitida bir necha oygacha saqlash mumkin;

2) Ko'pchilik holda viruslar - 20, - 30, - 70°C harorat bilan ta'minlangan muzlatgichlarda saqlanadi. Bunday haroratda viruslar tarkibiga himoyalovchi qo'shimchalar qo'shilmasa yuqumlilik xususiyatini juda tez yo'qotadi.

Ma'lumki virus saqlovchi aralashmada oqsil moddasi qancha kam bo'lsa, virusning turoqliligi shuncha kam bo'ladi, shuning uchun toza holdagi viruslar o'zining biologik aktivligini yo'qotadi.

Viruslarni muzlatib saqlashda quyidagi komponentlarning qo'shilishi yaxshi himoya vazifasini o'taydi.

Aktivligi yo'qotilgan qon zardobi, yog'sizlantirilgan sut (10 dan to 30%), jelatina (0,5-1,5%), DMSO (10%) va boshqalar.

Virusni - 196°C (suyuq azot) tezda muzlatib so'ngra saqlash natijasida bir necha oygacha titri pasaymasdan turadi. Viruslar vodorod ionining konsentratsiyasi pH kamayishiga sezgir bo'lib, ularni NaH₂PO₄ yoki KH₂PO₄ fosfatlarni saqlovchi suyuqliklarda muzlatish mumkin emas.

Ammo kislotali muhit juda past muzlash nuqtasiga ega. Na₂HPO₄ yoki K₂HPO₄ shqoriy reaksiyaga ega.

Viruslarni eritish tezligi uning aktivligiga deyarli ta'sir qilmaydi.

Viruslarni xona haroratida yoki 37°C suv hammomida qaytadan eritish mumkin. Bir turdagi virusni tez-tez eritib va yana qaytadan muzlatishni kamaytirish uchun virus saqlovchi materialni kichik-kichik miqdorda saqlash yoki bir marta titrlashga yetadigan, misol uchun neytrallashtirish reaksiyasini qo'yishga yetadigan qilib saqlash maqsadga muvofiqdir.

3) Vakum sharoitida muzlatilgan holda quritish, liofilizatsiya viruslarni yaxshi konservatsiyalash usulidir. Liofilizatsiyalashni o'tkazish uchun kerakli apparatlar zarur bo'lib, ma'lum bir (virusni turiga bog'liq bo'lgan) to'ldiruvchilar va ayniqsa quritish jarayonini to'lasincha o'tkazish zarur.

Liofilizatsiyalangan virusning barqarorligi faqatgina to'ldiruvchini tanlash bilan bog'liq bo'lmay, balki ampuladagi gazning tarkibiga ham bog'liq. 0,5% kislorod virusni tezda halokatga olib kelib, shu o'rinda 2-3% namlik deyarli ta'sir qilmaydi. Liofilizatsiya saqlash harorati 4°C dan yuqori bo'lmashligi kerak.

Liofilizatsiya ishlarini liofilizatsiyalash usuli bilan yaxshi tanish bo'lgan biolaborkada bajarilgani ma'qul. Viruslar liofilizatsiyalangan holda bir necha yilgacha saqlanishi mumkin.

Virusologiya laboratoriyasida quyidagi hujjatlar bo'lishi kerak.

1. Virusologik tekshirish (ekspertiza, qishloq xo'jalik hisob-kitob №13-vet forma) jurnali.

2. Kasallik yuqtirilgan hayvonlarni qabul qiluvchi jurnal.

3. Viruslarning ajratib olinganligi va yo'q qilib tashlanganligini qayd etish jurnali.

4. Ishlab chiqarish yoki muzey shtamlari harakati hisob-kitob va boshqa tasdiqlangan instruksiyalarga binoan qayd etish jurnali.

Kafedrada talabalarining virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini va xavfsizlik texnikasi

Virus saqlovchi material bilan ishlashda quyidagi talablarni bajarilishini ta'minlash lozim: viruslarni tashqi muhitga tarqalib ketishiga yo'l qo'yimaslik; begona mikroflora bilan virus saqlovchi materialni ifloslantirmaslik (kontaminatsiya) choralari ko'rish; shaxsiy xavfsizlikni ta'minlash;

Bu talablarni bajarish uchun quyidagi ish qoidalariga rioya qilinadi:

1. Juda hushyor bo'lib, ixcham kiyinib, tartibga aniq rioya qilish kerak;
2. Garderobda kiyimni almashirgach, laboratoriyaning xonasiga faqat xalatni kiygan holda kirib, xalatda tashqariga chiqiladi;
3. Ishlaganda tugmasi o'tkazilgan xalat, maxsus bosh kiyimi va dokadan bo'lgan yuzopqichdan foydalaniladi;
4. Laboratoriyada tozalikka va tartibga qat'iy rioya qilinadi. Ish stolining ustida hech qanday begona narsalar bo'lmasligi kerak. Chekish va ovqat iste'mol qilish taqiqlanadi;
5. Ish uchun instrumentlar va materialni navbatchi talaba kafedraning laborantidan olib, talabalarga tarqatadi;
6. Faqatgina steril instrument va idishlardan foydalaniladi;
7. Probirka, flakon, likopcha va boshqalarni ochish va yopish gorenkaning alangasida bajariladi;
8. Pipetka og'izga olinmaydi;
9. Ishlatilgan instrumentlar, shprislar (ajratilgan holda) sterilizatorga joylashtiriladi va qaynatish natijasida zararsizlantiriladi;
10. Ishlatilgan pipetkalar dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishga solinib, bir joyga to'planadi;
11. Qattiq va yumshoq chiqindilar (paxta, qog'oz va boshqa) maxsus mo'ljallangan konteynerga solinib so'ngra sterilanadi;
12. Chiqindilarni unitaz va rakovinaga oqizish yoki tashlash taqiqlanadi;
13. Agarda talaba to'satdan virus saqlovchi materialni ustiga tegizsa u holda shu to'g'rida o'qituvchiga xabar berishi va birgalikda ish joyini zararsizlantirishi kerak;
14. Talaba darsni oxirida ish joyini tartibga keltirib, navbatchiga barcha material va asbob-uskunalarni topshirgach qo'lini sovun bilan yaxshilab yuvishi lozim.

Nazorat uchun savollar

1. Hayvonlarning yuqumli kasalliklarida viruslarning qanday o'rni bor?
2. Virusologiya laboratoriyasida ishlash qoidalarini va xavfsizlik texnikasini to'g'risida gapiring.
3. Viruslarni konservatsiyalashning qaysi usulini bilasiz?
4. Laboratoriya amaliyotida viruslarni qaysi yo'l bilan yo'qotish samarali ekanligi haqida gapirib bering.
5. Laboratoriyada viruslarni saqlash, yorliq yopishtirish, hisobga olish qaysi tartibda amalga oshiriladi?

2-MAVZU

Patologik materialni olish va ishlov berish

Darsning maqsadi: Laboratoriyada tekshirish uchun patologik materialni olish va transport orqali yuborish qoidalarini talabalarni tanishtirish.

O'lgan yoki ataylab o'ldirilgan hayvonlarning organidan virus saqlovchi suspenziyani tayyorlash.

Virusologik tekshirish uchun kasal hayvonlardan yuvindi tayyorlash.

Material va jihozlar: Steril qaychi va pinset, sterilizator; spirt lampa, steril paxta tamponlari; paxta; spirt-rektifikat; 3-4 ml Xenks eritmasi quyilgan penitsillin flakonchalari; sovutuvchi aralashma solingan termos; leykoplaster; grafit qalam; kyuveta; parenximatoz organlardan bir bo'lakchadan solingan penitsillin flakonchalari; steril havoncha ezgichi bilan; steril qum; 5 va 10 ml pipetka; steril sentrifuga probirkalari; antibiotiklar; penitsillin va streptomitsin; GPA; GPSH; Xenks yoki Erla eritmasi; sentrifuga.

Laboratoriyada virus kasalliklariga aniq diagnoz qo'yishda eng avvalo patologik materialni to'g'ri olishga, laboratoriyaga o'z vaqtida yuborish, virus saqlovchi materialni tayyorlash sifatiga va tekshirish usuliga e'tibor berish kerak.



Patologik material uchun idish- konteyner

4- rasm.

Kasallangan, o'lgan yoki ataylab o'ldirilgan hayvonlardan tekshirish uchun materialni, iloji boricha kasallikning aniq belgilari paydo bo'lgach yoki klinik o'lim, bo'ysida o'ldirilgandan so'ng 2-3 soat oralig'ida olish zarur.

Kasallikdan, keyin 1-2 kunlari ichakning bar'elik roli kamayadi bunda qon tomirlarning o'tkazuvchanligi kuchayadi va ichakdagi floraning dissimatsiyasi sodir bo'ladi. Bulardan tashqari infeksiyon jarayonning davom etishi va ayrim holda chuqurlashib ketishi tufayli va organizmning himoya ta'siri natijasida viruslarning soni kamayib ketishi mumkin.

Virusni ajratib olish uchun patmaterial olinganda o'rganilayotgan infeksiyaning patogeni (virusning kirish darvozasi, organizmda virusning tarqalishi, uning ko'payish joyi va ajratib chiqish yo'llari)ga e'tibor beriladi. Respirator infeksiyalarda virusni ajratib olish uchun buruntamoq suyuqligi, burun va qizilangachdan surtma, traxeyadan qirtishlangan material va o'lgan hayvonlardan o'pkaning bir bo'lagi olinadi; enteroviruslarda-najas; neyrotrop viruslarda-bosh va orqa miyadan bir bo'lakcha; dermatrop infeksiyada-terining yangi jarohatlangan qismi va boshqalar (1-jadval).

1-jadval. Hayvonlarning ayrim virus kasalliklariga diagnoz qo'yish uchun patologik material olish

Kasallik	Burun suyugligi	Vesikula, pustula va afta tarkibidan	So'lak	Qon	Fekaliy	Jarohatlangan teridan	Jarohatlangan konyuktivadan	Miya	O'pka	Jigar	Limfa tugunlari	Orqa miya suyugligi	Taloqdan	Buyrakdan	Ichakning shilliq pardasi	O'smaning bir bo'lagidan	Bronx traxeyaning bir bo'lagidan
Quturish								+									
Oqsil		+				+											
Vezikulyar stomatit		+	+			+											
Aueski kasalligi	+							+	+	+			+	+			
Rotavirus infeksiyasi					+										+		
Parvovirus infeksiyasi					+										+		
Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeiti	+						+		+								+
Y.Sh.h. virusli diareyasi	+			+	+				+	+	+		+		+		
Y.Sh.h. paragripp kasalligi	+				+				+		+						+
Y.Sh.h.adenovirus infeksiyasi	+			+	+		+		+		+		+	+	+		+
Otlarning rinopnevmoniyasi	+								+	+							+
Cho'chqalarning o'lati				+				+	+	+	+	+	+	+	+		+

12

113-408

Kasallik	Burun suyugligi	Vesikula, pustula va afta tarkibidan	So'lak	Qon	Fekaliy	Jarohatlangan teridan	Jarohatlangan konyuktivadan	Miya	O'pka	Jigar	Limfa tugunlari	Orqa miya suyugligi	Taloqdan	Buyrakdan	Ichakning shilliq pardasi	O'smaning bir bo'lagidan	Bronx traxeyaning bir bo'lagidan
Cho'chqalarning afrika o'lati				+					+	+	+	+	+	+	+		
Teshen kasalligi					+										+		
Cho'chqalarning yuqumli gastroenteriti					+												
Cho'chqalarning grippi	+					+			+								+
Cho'chqalarning vezikulyar kasalligi		+				+											
Cho'chqalarning vezikulyar ekzantemasi		+				+											
Qo'y va echkilarning kontagiozli ektimasi		+				+	+										
Qo'yning chechagi						+	+										
O'rdakning grippi	+							+	+	+			+				
Tovuqlarning yuqumli laringotraxeiti	+						+		+								+
Tovuqlarning yuqumli bronxiti										+							+
O'rdaklarning virusli hepatiti				+						+			+				
Parrandalarning leykozi				+						+	+		+	+		+	
Marek kasalligi				+						+	+		+	+		+	
N'yukasi kasalligi	+			+	+		+	+	+				+				
Parrandalarning chechagi						+	+							+			

13

gi o'ldi,
niya b'ishi
i natida

akteklar
h malin
ida d'ib

'ganina
lard'ir
a to'lash
hsulami
homida

teria hiji
h nana
o'yalik
sagan
h ismini

ech tub

sterisi

l sa'abi

un'iva

nana
Biday
m'ulim
lat 5-

iridan
ch'qim
larim
h dan
yabisi
qalib
chani
ladi.
ydar,
t'ayli

Xullas shunday material olinadiki, shu materialda virusning yuqori darajadagi konsentratsiyasi mavjud bo'lishi lozim.

Virusni ajratib olishda xar xil ekskretnlar va sekretlar,organning bo'lakchalari, qon, limfa material sifatida xizmat qiladi. Cho'chqalarda qon bo'yintiriq venasidan, dunining uchidan va quloqdan olinadi. Cho'chqalarning ko'zidagi vena chigalidan qon olish juda qulaydir.

Bunda 20 ml. mo'ljallagan "Rekord" shprisidan va N 12-30 ignadan foydalanib suyak orbitasining ichki burchagiga igna kiritiladi va qon olinadi. Virusni ajratib olish uchun fibrinsizlantirilgan qon, distillangan suv bilan 1:1 nisbatida aralashtirilgan qon, yoki qonning alohida elementlaridan (eritrotsitlar, leykotsitlar, plazma, zardob) foydalanish mumkin.

Virusga qarshi antitellolarni uchratish uchun bir turdagi hayvondan 2-3 hafta oraliq'da ikki marta qon olinadi. Har bir olingan zardobning miqdori 5,0 ml kam bo'lmasligi kerak.

Yuvindi burunning shilliq pardasidan, ko'zdan, halqumning to'ridan, to'g'ri ichakdan parrandalarning kloakasidan steril paxta tampon yordamida yuvib olinib, ularni maxsus suyuqlik qo'shilgan steril plastik idishlarga olinadi (4-rasm). Maxsus suyuqlik o'mida ko'pincha, Xenks eritmasi yoki hujayralarni o'stirishda ishlatiladigan laktal'bumin gidrolizati, Igla eritmali penitsillin va streptomitsindan 500, nistatindan 20 birlik 1 ml muhit tarkibiga qo'shilgan holda ishlatiladi.

Oqsilli stabilizatorlardan 0,5%-jelatina eritmasi yoki 0,5-1% buqaning qon zardobi qo'shilgan al'bumin eritmasi ishlatiladi. Ayrim viruslar tezda aktivligini yo'qotmasligi uchun (masalan paragripp virusi) stabilizatorlar qo'shiladi.

Burun, halqumdan material olishda Tomas va Stok tomonidan tayyorlanib moslashtirilgan asbobdan foydalanish mumkin. U diametri 9 mm va uzunligi 30 sm bo'lgan naydan iborat bo'lib ichiga zanglamaydigan sterjen, uchida neylon cho'tkasi bor bo'lgan ichki ingichka naydan iborat.

Asbob burun bo'shlig'ining yo'li (xoanaga) yoki xalqumga burun yo'li orqali yuborilgach cho'tka harakatga keltiriladi, asbobni organ ichidan chiqarib olishda nayni ichiga tortib olinadi. So'ngra cho'tkadagi shilliq va hujayralar 2 ml suyuqlik bilan yaxshilab yuvib olinadi.

Og'iz bo'shlig'i yoki so'lak bezlarida jarohatlanish belgilari bo'lsa so'lakni tekshirsa bo'ladi. Og'iz bo'shlig'idan oqib tushayotgan so'lakni tog'ridan-tog'ri probirkaga to'plab olish mumkin.

Agarda so'lak kam ajralayotgan bo'lsa, unda paxtadan tayyorlangan tamponga shimdirilib olib, so'ngra fiziologik eritma quyilgan probirkaga botiriladi va rezina tiqin bilan yopiladi. So'lak ajralishini tezlashtirish uchun hayvonlarning 1kg og'irligiga 0,02-0,05 g hisobida pilokarpin yuborish ham mumkin.

Siydik katetr yordamida olinib, steril idishga yig'iladi. Fekaliy shpatel yoki cho'p yordamida to'g'ri ichakdan olinib, steril penitsillin flakonchalariga joylashtiriladi. Vezikulyar suyuqlikni shpris yoki paster pipetkasi yordamida steril probirkaga to'planadi.

Terining yuzasidagi afta devorlari, po'sloq pinset yordamida olinadi. Orqa miya suyuqligi punksiya qilish orqali olinib,veterinariya amaliyotida kamdan-kam tekshiriladi.

Hayvon o'lgandan so'ng iloji boricha tezda organlarning bir bo'lagi olinadi, chunki ko'pgina virus infeksiyasida o'limdan so'ng favqulotda avtosterilizatsiya bo'lishi tufayli virusni umuman uchratmaslik yoki uni miqdori juda kamayib ketishi natijasida oddiy tekshirish usullari bilan virusni ajratib olish mumkin bo'lmay qoladi.

Materialni tezlik bilan olishga ikkinchi sabab shuki, murdaning bakteriyalar bilan ifloslanishi tez bo'lib, steril ravishda tekshirish uchun material olish mumkin bo'lmay qoladi. Tajriba sharoitida kasal hayvondan kasallikni agonal davrida o'ldirib yuqumli material olinadi.

Tekshiriladigan namuna bakteriyalar bilan kam ifloslangan bo'lgandagina antibiotiklarni ishlatish natija beradi. Ammo hayvon o'lgandan so'ng to'qimalardagi bir muncha o'zgarishlarni antibiotiklarni ishlatish tufayli bakteriyalarni o'sishidan to'xtatish mumkin bo'lib, zararlangan to'qimadagi zaharli substansiya, metabolitik mahsulotlarni neytrallash mumkin emas. Biroq bunday material bilan hayvonlarda, tovuq homilasida va o'stirilgan hujayralarda tajriba o'tkazish aslo mumkin emas.

Yuqorida aytilgan sabablarga ko'ra tekshirish uchun olingan material iloji boricha steril sharoitda olinishi zarur. Asosan ovqat hazm qilish traktida namuna olayotgan paytda namunaning oziqa qoldiqlari bilan ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik kerak, chunki oziqa tarkibida patogen bo'lmagan viruslar mavjud bo'lib, o'sayotgan hujayraning strukturasi buzilishiga sababchi bo'ladi va diagnostik tekshirish ishlarini qiyinlashtiradi.

Patologik material sifatida organlardan bir bo'lak (kattaligi bir necha kub santimetr keladigan va massasi 10-20g) namuna olinib, ularda:

a) normadan ko'zga sezilarli farqi bo'ladi (shakli, kattaligi, rangi, konsistensiyasi va avvaligiga o'xshamaydigan o'smalar);

b) kasallikni klinik belgisiga asosan o'lim oldidan jarohatlanib, virusni saqlashi mumkin;

c) ko'pchilik hollarda virusni jigar, taloq, o'pka, bosh miya, limfa tugunlari va buyrakda saqlaydi.

Namunani saqlash va transportda tashish.

Virusning aktivligini yo'qotish jarayonini sekinlashtirish uchun olingan namuna tezda virus faolligini saqlashga qodir bo'lgan sharoitda saqlash uchun qo'yiladi. Bunday sharoitni past harorat ta'minlaydi. Buning uchun patmaterial solingan va rezina tiqin bilan yopilgan probirkalar sovutuvchi aralashma solingan termosga joylashtiriladi. (5-temm).

Sovutuvchi aralashma sifatida quruq muzning (qattiq uglekislot) etil spirt bilan aralashmasi (minus 71°C haroratda bir necha kungacha) saqlab turadi. Uch qism og'irlikdagi muz va yoki bir qism og'irlikdagi osh tuzining aralashmasidan ham foydalanish mumkin. Natijada minus 15-20°C harorat olsa bo'ladi. Muzlatish uchun kimyoviy konservantlardan foydalanish yaxshi natija bermaydi. Shulardan eng yaxshisi toza glitserinning teng miqdordagi 0,85 foiz osh tuzi eritmasi (izotonik eritma bo'lib patmaterial shu aralashmaga joylashtiriladi). Ko'pchilik holda ushbu aralashmani to'qimalarni, parenximatoz organlarni bir bo'lagini konservatsiyalashda ishlatiladi. Virus saqlovchi suyuqlikka, glitserinning qo'shilishi ushbu material hayvonlar, homilalar, o'stirilgan hujayraga yuborilishi mumkin emas. Glitserinni ishlatish tufayli

patologik materialni immunofluoressensiya usulida tekshirish mumkin bo'lmaganidan qoladi. Shuning uchun patmaterial bilan birgalikda buyum oynasidan foydalanib ushbu materialdan tamg'a tayyorlanadi, fiksatsiyalangan lyuminessent mikroskopida tekshirib ko'rish uchun yuboriladi.

5-rasm. Virus namunalarini joylashtirishning asosiy qoidalari:



Birinchi idish: 1-Namunani saqlovchi zaharsiz rezina qistirma va buralib mahkamlanadigan tigin o'rnatilgan idish yoki kavsharlanib yopilgan shisha ampula:

2-ichki joylashtirish: 2-o'ziga singdirib oladigan material. Suyuqlik oqgan holatda singdirib olishga yetadigan miqdordagi papiros qog'oz yoki paxta;

3-Tolasiz leykoplaster bilan to'ldirilib yelimlangan plastik qopcha. Tashqi joylashtirish:

4-urilishga qarshi qo'yilgan qog'oz yoki paxta;

5-Suv o'tkazmaydigan qattiq konteyner; 6-buraladigan, leykoplaster bilan yelimlanadigan yoki maxsus qisqich bilan o'rnatilib mustahkam yopiladigan qopqoq.

Patmaterialga mustahkam va aniq yorliq yozilgan bo'lib, yozuvni buyum oynasiga yozadigan qalam bilan yozish mumkin emas. Probirka va flakonchalarga leykoplasterdan yorliq yopishtirish va oddiy (grafit) qalam bilan qaysi hayvondan qanday material olganligi ko'rsatilib yozilishi ishonchli hisoblanadi.

Namuna solingan termosga kartondan yoki fanerdan yorliq osilib u erda xo'jalikning nomi, hayvonning turi, materialning xili va sana ko'rsatiladi.

Termos albatta muhrlangan bo'lishi zarur. Patmaterial olingan hayvon to'g'risida to'la ma'lumotga ega bo'lgach, olingan patmaterial yo'llanma qog'ozida xo'jalikning epizootologik ma'lumoti, ehtimolli diagnozi va ko'riladigan chora, kasallikni bartaraf etish uchun (davolash, emlash va boshq.) shuningdek, sana, vrachning familiyasi ko'rsatilgan bo'lib maxsus kishi orqali yuboriladi. Laboratoriyaga keltirilgan namunadan virusni ajratish uchun tezlik bilan tekshirish kerak.

Agar qandaydir uzrli sabablarga ko'ra (eksperimental hayvonlar, tovuq homilasi, o'stirilgan hujayralarning yo'qligi tufayli tekshirish kechiktiriladigan bo'lsa, u holda materialni minus 40-70°C saqlash talab qilinadi.) Ko'pchilik viruslar qon tarkibi, orqa miya suyuligi siydikda, burun-tomoqning qirib va chayib olinganida, yirik shoxli hayvonlarning paragripp, respirator sinsital viruslari esa muzlatilganda tezda faolsizlanadi. Shuning uchun ularni ajratib olishda juda tezkorlik bilan tekshirish ishlarini olib borish kerak.

Tekshirilayotgan yuqumli kasallik virus tomonidan chaqirilganligiga ishonch yo'q bo'lib gumonsiralsa, u holda materialning bir qismini bakteriologik va mikologik tekshirish uchun beriladi.

Virus saqlovchi materialni tekshirishga tayyorlash.

Olingan patmaterial laboratoriyada konservantlardan ozod qilinadi, eritiladi, glitserindan yuvib tozalanadi tarozida tortib ko'riladi yoki o'lchanadi. Materialning bir

qismi virusologik tekshirish uchun, qolgan qismini esa qo'shimcha tekshirish uchun zarur bo'lib qolishi mumkin bo'lganligi sababli sovutgichga qo'yib saqlanadi. So'ngra yuborilgan materialni tekshirish rejası tuziladi.

Organ va to'qimani tayyorlash

Virusni organ hujayralaridan va to'qimalaridan ajratib olgach fosfat buferli eritmaga yoki Xenks eritmasiga solinadi. Buning uchun material hujayralardan qaychi bilan qirqib olib maydalangach, steril kvars qumi solingan havochada eziladi. Maydalangan shisha solish mumkin emas, chunki u ishqoriy xususiyatga ega bo'lib virus bo'lakchalarini aktivligini yo'qotishi mumkin.

Maydalangan qum yoki shisha bo'lakchalarida katta yuza mavjud bo'lib ushbu adsorbsiyalanish natijasida virus to'kib tashlanadigan cho'kma tarkibiga o'tib ketadi.

Fosfat bufer yoki Xenks eritmasida ezib tayyorlangan materialdan suspenziya tayyorlanadi. Olingan suspenziyani 1500-3000 ayl/daqiqada 15-daqiqa sentrifugalanadi, cho'kma yuzasidagi suyuqlik so'rib olinib steril flakonchalarga quyilgach, bakterial filtrdan yoki keng spektrda ta'sir qiluvchi antibiotiklardan penitsillin, streptomitsin, nistatin, tetratsiklin, kristallomitsin, qo'shib mikrofloradan ozod qilinadi.

Ushbu maqsadda foydalanilayotgan antibiotiklarning miqdori 1 ml tekshirilayotgan materialning xususiyatiga binoan 100 dan to 1-2 ming birlikkacha yoki undan ham yuqori bo'lishi mumkin.

Antibiotiklarni yuqori miqdorda ishlatishdan saqlanish kerak, chunki o'stirilgan hujayralarda yuqori miqdordagi antibiotiklarning to'planishi hujayrada spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga sabab bo'lishi mumkin.

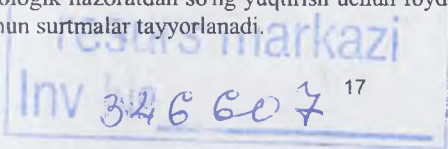
Qaysi antibiotiklardan qanday miqdorda ishlatish kerakligi, optimal sentrifugalash rejimi ma'lum bir virus kasalligiga diagnos qo'yish uchun chiqarilgan qo'llanmada ko'rsatilgan bo'ladi.

Suspenziyani antibiotiklar bilan 30-60 daqiqa xona haroratidagi ekspozitsiyasidan so'ng materialni bakteriyalar, zambrug'lar, borligiga bakteriologik nazorat qilish uchun GPA, GPSh, GPJB va Saburo muhitiga ekib ko'riladi. Bakteriologik nazorat natijalariga qarab, manfiy javob olgach virus saqlovchi materialni laboratoriya hayvonlariga, tovuq homilalariga yoki o'stirilgan hujayralarga yuqtirib ko'riladi.

Suspenziya bakteriologik nazorat qilishda musbat natija ko'rsatsa u holda antibiotiklar bilan qo'shimcha ishlov berilib, qaytadan nazorat qilinadi. Suspenziya minus 20-70°C saqlanadi.

Burundan, ko'zdan ajralgan suyuqlikni tayyorlash

Maxsus eritmaga solingan tamponlar 10-15 daqiqa chayqatiladi, yaxshilab qisiladi, olingan suyuqlik 2-3 ming ayl/daq. 20 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik so'rib olingach, steril probirkalarga solinadi har bir millilitr suyuqlikka penitsillin va streptomitsindan 500-1000 birlik qo'shilib saqlab turiladi. Bakteriologik nazoratdan so'ng yuqtirish uchun foydalaniladi. Hujayra cho'kmalaridan IFR uchun surtmalar tayyorlanadi.



patologik materialni immunofluoressensiya usulida tekshirish mumkin bo'lmagan qoladi. Shuning uchun patmaterial bilan birgalikda buyum oynasidan foydalanib ushbu materialdan tang'a tayyorlanadi, fiksatsiyalangan lyuminessent mikroskopida tekshirib ko'rish uchun yuboriladi.



5-rasm. Virus namunalarini joylashtirishning asosiy qoidalari:

Birinchi idish: 1-Namunani saqlovchi zaharsiz rezina qistirma va buralib mahkamlanadigan tiqin o'rnatilgan idish yoki kavsharlanib yopilgan shisha ampula;

2-ichki joylashtirish: 2-o'ziga singdirib oladigan material. Suyuqlik oqgan holatda singdirib olishga yetadigan miqdordagi papiros qog'oz yoki paxta;

3-Tolasiz leykoplaster bilan to'ldirilib yelimlangan plastik qopcha. Tashqi joylashtirish:

4-urilishga qarshi qo'yilgan qog'oz yoki paxta;

5-Suv o'tkazmaydigan qattiq konteyner; 6-buraladigan, leykoplaster bilan yelimlanadigan yoki maxsus qisqich bilan o'rnatilib mustahkam yopiladigan qopqog.

Patmaterialga mustahkam va aniq yorliq yozilgan bo'lib, yozuvni buyum oynasiga yozadigan qalam bilan yozish mumkin emas. Probirka va flakonchalarga leykoplasterdan yorliq yopishtirish va oddiy (grafit) qalam bilan qaysi hayvondan qanday material olganligi ko'rsatilib yozilishi ishonchli hisoblanadi.

Namuna solingan termosga kartondan yoki fanerdan yorliq osilib u erda xo'jalikning nomi, hayvonning turi, materialning xili va sana ko'rsatiladi.

Termos albatta muhrlangan bo'lishi zarur. Patmaterial olingan hayvon to'g'risida to'la ma'lumotga ega bo'lgach, olingan patmaterial yo'llanma qog'ozida xo'jalikning epizootologik ma'lumoti, ehtimolli diagnozi va ko'riladigan chora, kasallikni bartaraf etish uchun (davolash, emlash va boshq). shuningdek, sana, vrachning familiyasi ko'rsatilgan bo'lib maxsus kishi orqali yuboriladi. Laboratoriyaga keltirilgan namunadan virusni ajratish uchun tezlik bilan tekshirish kerak.

Agar qandaydir uzrli sabablarga ko'ra (eksperimental hayvonlar, tovuq homilasi, o'stirilgan hujayralarning yo'qligi tufayli tekshirish kechiktiriladigan bo'lsa, u holda materialni minus 40-70°C saqlash talab qilinadi.) Ko'pchilik viruslar qon tarkibi, orqa miya suyugligi siydikda, burun-tomoqning qirib va chayib olinganida, yirik shoxli hayvonlarning paragripp, respirator sinsitil viruslari esa muzlatilganda tezda faolsizlanadi. Shuning uchun ularni ajratib olishda juda tezkorlik bilan tekshirish ishlarini olib borish kerak.

Tekshirilayotgan yuqumli kasallik virus tomonidan chaqirilganligiga ishonch yo'q bo'lib gumonsiralsa, u holda materialning bir qismini bakteriologik va mikologik tekshirish uchun beriladi.

Virus saqlovchi materialni tekshirishga tayyorlash.

Olingan patmaterial laboratoriyada konservantlardan ozod qilinadi, eritiladi, glitserindan yuvib tozalanadi tarozida tortib ko'riladi yoki o'lchanadi. Materialning bir

qismi virusologik tekshirish uchun, qolgan qismini esa qo'shimcha tekshirish uchun zarur bo'lib qolishi mumkin bo'lganligi sababli sovutgichga qo'yib saqlanadi. So'ngra yuborilgan materialni tekshirish rejasi tuziladi.

Organ va to'qimani tayyorlash

Virusni organ hujayralaridan va to'qimalaridan ajratib olgach fosfat buferli eritmaga yoki Xenks eritmasiga solinadi. Buning uchun material hujayralardan qaychi bilan qirqib olib maydalangach, steril kvars qumi solingan havochada eziladi. Maydalangan shisha solish mumkin emas, chunki u ishqoriy xususiyatga ega bo'lib virus bo'lakchalarini aktivligini yo'qotishi mumkin.

Maydalangan qum yoki shisha bo'lakchalarida katta yuza mavjud bo'lib ushbu adsorbsiyalanish natijasida virus to'kib tashlanadigan cho'kma tarkibiga o'tib ketadi.

Fosfat bufer yoki Xenks eritmasida ezib tayyorlangan materialdan suspenziya tayyorlanadi. Olingan suspenziyani 1500-3000 ayl/daqiqada 15-daqiqa sentrifugalanadi, cho'kma yuzasidagi suyuqlik so'rib olinib steril flakonchalarga quyilgach, bakterial filtdan yoki keng spektrda ta'sir qiluvchi antibiotiklardan penitsillin, streptomitsin, nistatin, tetratsiklin, kristallomitsin, qo'shib mikrofloradan ozod qilinadi.

Ushbu maqsadda foydalanilayotgan antibiotiklarning miqdori 1 ml tekshirilayotgan materialning xususiyatiga binoan 100 dan to 1-2 ming birlikkacha yoki undan ham yuqori bo'lishi mumkin.

Antibiotiklarni yuqori miqdorda ishlatishdan saqlanish kerak, chunki o'stirilgan hujayralarda yuqori miqdordagi antibiotiklarning to'planishi hujayrada spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga sabab bo'lishi mumkin.

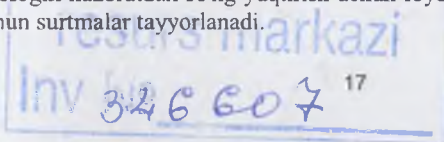
Qaysi antibiotiklardan qanday miqdorda ishlatish kerakligi, optimal sentrifugalash rejimi ma'lum bir virus kasalligiga diagnos qo'yish uchun chiqarilgan qo'llanmada ko'rsatilgan bo'ladi.

Suspenziyani antibiotiklar bilan 30-60 daqiqa xona haroratidagi ekspozitsiyasidan so'ng materialni bakteriyalar, zambrug'lar, borligiga bakteriologik nazorat qilish uchun GPA, GPSH, GPJB va Saburo muhitiga ekib ko'riladi. Bakteriologik nazorat natijalariga qarab, manfiy javob olgach virus saqlovchi materialni laboratoriya hayvonlariga, tovuq homilalariga yoki o'stirilgan hujayralarga yuqtirib ko'riladi.

Suspenziya bakteriologik nazorat qilishda musbat natija ko'rsatsa u holda antibiotiklar bilan qo'shimcha ishlov berilib, qaytadan nazorat qilinadi. Suspenziya minus 20-70°C saqlanadi.

Burundan, ko'zdan ajralgan suyuqlikni tayyorlash

Maxsus eritmaga solingan tamponlar 10-15 daqiqa chayqatiladi, yaxshilab qisiladi, olingan suyuqlik 2-3 ming ail/daq. 20 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik so'rib olingach, steril probirkalarga solinadi har bir millilitr suyuqlikka penitsillin va streptomitsindan 500-1000 birlik qo'shib saqlab turiladi. Bakteriologik nazoratdan so'ng yuqtirish uchun foydalaniladi. Hujayra cho'kmalaridan IFR uchun surtmalar tayyorlanadi.



Fekaliydan tayyorlash

Najasdan namuna olishda 1 grammga yaqin munchiq bankaga solinib 10 ml Xenks eritmasi yoki fosfat bufer eritmasidan quyiladi. Material chayqalib so'ngra 2-3 ming ayl/daq. 30 daqiqa gomogenizatsiyalash uchun sentrifugalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik so'rib olingach, penitsillin va streptomitsindan 500-1000 birlik/ml, nistatindan 30 birlik/ml va 200 mkg tetratsiklindan har bir millilitr suyuqlik tarkibiga qo'shiladi. 30-60 daqiqali qo'shilishdan so'ng steril ekanligini bilish uchun ekib ko'rilgach, minus 10-20°C muzlatilgan xolda saqlanadi.

Tekshirilayotgan material virus yuqtiriladigan kuni eritilib, yana qaytadan sentrifugalanadi, bundan maqsad muzlatish natijasida hosil bo'lgan cho'kmani ajratib tashlashdan iborat. Ishlatilmagan material muzlatilgan holda tekshirishning oxirigacha saqlab turiladi. Najasni tekshirishni, to'g'ri ichakdan surtma tayyorlash yo'li bilan almashtirilishi ham mumkin, chunki surtma tayyorlanganda kam vaqt sarflanadi.

Siydik 500-1000 birlik/ml antibiotiklar bilan ishlov berilgandan so'ng, yuqtirish uchun ishlatiladi. Teridagi unib chiqishlarda papulaning tarkibi, pufakchalar va pustula, qotgan yaralarni ustki qismi tekshiriladi. Papula va pufaklar 1:5 nisbatdagi fiziologik eritmada suyultiriladi. Yaraning qotgan qismi va po'stlog'i yaxshi ezilgach tuzli eritmaning 1:5-1:10 nisbatida eritilib aralashtirilgach, 2-3 ming ayl/daq. 10-15 daqiqa sentrifugalanadi 200-500 birlik/ml penitsillin va streptomitsin bilan ishlov berilgan material, yuqtirish uchun ishlatiladi.

Qonni tayyorlash - Virusni ajratib olish uchun fibrini ajratilgan yoki antikoagulyant qo'shilgan qon ishlatiladi. Probirkaga 5-6 tomchi geparin tomizilgach, 5-6 ml qon olinib muzlatiladi. Gemolizlangan qon qaytadan eritilgach, 2-3 ming ayl/daq. 15 daqiqa davomida sentrifugalanadi, so'ngra 100-200 birlik/ml penitsillin va streptomitsindan qo'shib steriligi tekshirib ko'rilgach, yuqtirish uchun ishlatiladi. Ushbu maqsad uchun ivigan qonni ishlatish ham bo'ladi. Havonchada qon yaxshi ezilgach, 1:1, 1:2 nisbatda Xenks eritmasidan qo'shiladi.

Serologik tekshirish uchun qon olish

Serologik diagnoz qo'yish uchun qondan (ikki namuna) kasallikning boshlanishida va kasallikning so'ngida juft zardob olinadi. Birinchi namunani iloji boricha ertaroq, ya'ni kasallikning yashirin davrida yoki kasallikning klinik belgilari paydo bo'lishi bilan, ikkinchi namuna tuzalish davrida yoki kasallangandan so'ng 2-3 kun o'tgach olinadi.

Qonni olishda va zardobni tayyorlashda sterillikka e'tibor berilib, antikoagulyantlar yoki konservantlarni qo'shish zardobni antikomplementar qilib qo'yishi, neytrallashtirish reaksiyasida virus aktivligini yo'qotishi, o'stirilgan hujayraga zaharli ta'sir etishi, umuman olganda, sterillikni yo'qolishiga sababchi bo'ladi. 10-15 ml hajmdagi qon steril probirkalarga olinib, rezina tiqin bilan bекitilgach, xona haroratida qon iviguncha tutib turiladi, so'ngra steril shisha tayoqcha bilan probirka devoridan ajratib chiqiladi va 4°C 18-20 soat sovitgichda saqlanadi.

Qon to'lasincha maksimal retraksiyaga uchragach, zardob so'rib olinadi va har bir millilitr zardobga 100 birlik/ml penitsillin va streptomitsindan qo'shilgach, bakteriologik muhitlarga ekib ko'riladi.

Sovitgichda qonni tindirishdan tashqari probirka devoridan qonni ajratgach, sentrifugalash ham mumkin. Virusologik diagnoz qo'yishda serologik usul juft zardob tekshirishni talab qiladi, shuning uchun birinchi olingan namunani, ikkinchi namunadan olib tekshirguncha saqlab turiladi.

Zardob 4°C da sovitgichda yoki muzlatilgan holda nomerlanish tartibiga qattiq rioya qilgan holda saqlanadi va jurnalga unga tegishli ma'lumotlar yoziladi.

Nazorat uchun savollar.

1. Kasal va o'lgan hayvonlardan material olishning umumiy qoidalarini gapirib bering.

2. Patologik material qanday konservatsiyalanadi va transport vositasi orqali qanday yuboriladi?

3. Patologik materialni tekshirishga tayyorlash deganda siz nimani tushunasiz?

4. Kasal hayvondan patologik material olishda nimalarga ahamiyat beriladi?

5. Viruslarning tropizmi deganda nimani tushunasiz?

3 - MAVZU

Patologik materialda virionlarni va kiritma tanachalarni uchratish yo'li bilan viruslarni indikatsiyalash

Darsning maqsadi: Tekshirilayotgan materialda virusning mavjudligi qaysi virus oilasi va avlodi ekanligi, asosan shartli kasal hayvondan olingan materialda kiritma-tanachalarini uchratish asosida amaliy mashg'ulotni tushuntirish.

Dars mobaynida virion va kiritma tanachalarini hosil bo'lishi va uning ahamiyati, tuzilishi to'g'risida aniq tasavvurga ega bo'lish.

Material va jihozlar: sitoplazmatik kiritma-tanachalarni saqlovchi bo'yalgan preparatlar; yadro ichida kiritma-tanachalarni saqlovchi bo'yalgan preparatlar; Morozov usulida bo'yalgan chechak vezikulasi yoki pat follikulasidan tayyorlangan surtnuq; Mikroskoplar yoritgichi bilan; immersion moy; elektron mikroskop, har-xil viruslar virionining elektron mikrofotoqrafiyasi.

Viruslar bir hujayrali va ko'p hujayrali organizmlarda ko'payadi. Hujayrada viruslar to'plangan holda uchrab, molekulalari bir-biri bilan bog'lanmagan RNK yoki DNK molekulasining bir bo'lagi holatida bo'lib,shu molekulada virus oqsili to'g'risidagi genetik axborot kodlangan bo'ladi.

Ushbu axborotning amalga oshishi tufayli hujayrada virus oqsili sintezlanib, molekulalar to'planadi. Viruslarning molekulalari hujayraning ichida (DNK, RNK, oqsil) bo'lib hujayradan tashqi buzuvchi faktorlardan (fermentlar, kislota, harorat, nurlanish va boshqa) himoyalangan bo'ladi.

Agar virus hujayradan tashqarida bo'lsa tezda emrilib ketadi.Ko'pchilik virus oqsillari strukturali oqsillar deyilib molekulalarning oraliq kuchi ta'sirida o'z-o'zidan bir joyga to'planish (o'z-o'zidan yig'ilish) xususiyatiga ega.

Har bir agregat (yig'ilishida) virus DNK va RNK sining bir molekulasi ishtirok etadi. Ayrim holda hujayradan paydo bo'lgan lipidlar ham ishtirok etadi. Shunday yo'l bilan hosil bo'lgan bo'lakchalar virion deyiladi.

Virionda oqsil molekulalari o'zaro chamalangan bo'lib,ularga proteolitik fermentlar ta'sir qilmaydi. Virusning DNK va RNK molekulalariga, nukleaza yetib bora olmaydi, ammo muhitning fizikaviy faktorlardan himoyalangan har bir alohida virus virionining shakllanishi, ma'lum turga mansub hujayralarda bo'ladi. Virionlarni tinch turuvchi aktiv bo'lmagan viruslar deb qaralsa bo'ladi. Shuning uchun virus, virion shaklida hujayradan tashqarida biologik aktivligini yo'qotmasdan ma'lum bir muddatgacha turishi mumkin. Xususan virion shaklida viruslarning hujayradan-hujayraga, bir organizmdan ikkinchi organizmga migratsiyasi amalga oshadi.

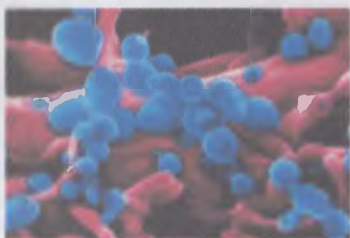
Viruslarning hujayra ichida bo'lishiga qaraganda virion shaklida hayot kechirishi ancha yaxshi o'rganilgan bo'lib,hujayra ichidagi hayoti o'rganishning texnik tomoni bilan bog'liq. Har qaysi virusning virioni shakli kattaligi strukturasi va xususiyati bilan bir-biridan farq qiladi. Ammo virusning virionlarga xos umumiy belgilari va xususiyatlari ham bor.

Har bir virion bitta to'la yoki to'lasincha bo'lmagan DNK yoki RNK molekulasini saqlab, kapsomer bilan mustahkam o'ralgan va bir yoki ko'p oqsil molekulasidan iboratdir.

Ma'lum tartibda yig'ilib to'plangan kapsomerlar yig'indisi kapsidni tashkil etadi. Kapsid nuklein kislota bilan birgalikda nukleokapsid (kimyoviy nuqtai nazardan nukleoproteid) deyiladi.

Ayrim viruslarning virionlari nukleokapsiddan tashqari superkapsid qobig'i bilan ham o'ralgan bo'lib, virion hujayradan tashqariga chiqish jarayonida hujayra qobig'ini o'ziga biriktirib olgan bo'ladi. Shunday viruslar ham uchraydiki, ularni virionida yana bir oraliq qobiq (M-qobiq) bo'lib, bu asosan lipid va oqsildan iborat bo'ladi. (6-rasm).

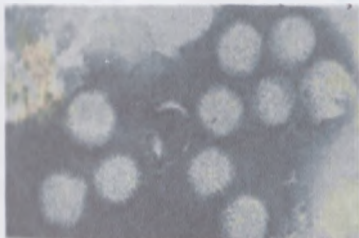
Nuklein kislota molekulası atrofida kapsomer spiralsimon o'ralgan bo'lib, uzun nukleoproteid ipini hosil qiladi. Bunday virionlar tayoqchasimon (hatto ipsimon), shakliga ega bo'lib superkapsid qobig'i bo'lmaydi, bunga o'simliklarda kasallik chaqiruvchi viruslar misol bo'la oladi. Ammo shunday viruslar ham borki, bularga hayvonlarning ortomiksoviruslari misol bo'la oladi. Bularda nukleoproteid ipi yumaloq shaklda, qobiqqa o'ralgan, virionining shakli esa yumaloq shaklda yoki tuxumsimon, ayrim holda o'qsimon shaklga ega bo'ladi. (7-rasm).



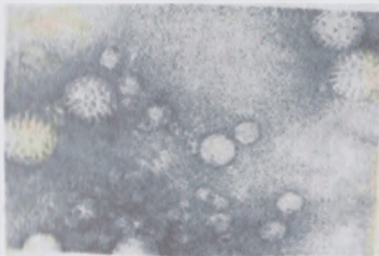
6-Rasm. Parrandalardagi gripp virusining virioni



7-Rasm. Vezikulyar stomati virusining virioni (Xautson va Uitmora bo'yicha).

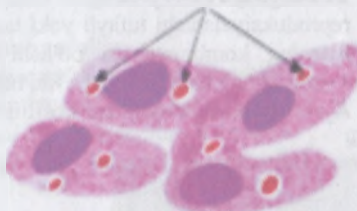


8-Rasm. Yirik shoxli hayvonlar adenoviruslarining virioni (Yu.V. Pantelev bo'yicha).

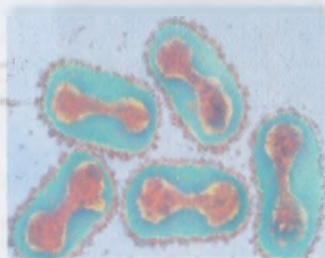


10-Rasm. Buzoqlarda rotaviruslarning virionlari (Yu.V. Pantelev bo'yicha).

Gvarnieri tanachalari



9-Rasm. Kiritma tanachalar



Chechak virioni

11-Rasm.

Hayvonlarda kasallik chaqiruvchi viruslarning ko'pchiligini virioni kub shaklidagi simmet-riyaga ega bo'lib,ko'p burchakli ko'rinishli ikosaedrni eslatadi.(8-12 rasmlar)

Ayrim viruslarning virionlari aniq simmetriyaga ega bo'lmay bunday viruslarga T-juft fagi, chechak kasalliginihg virusi misol bo'la oladi. Cho'psimon yoki kvaziferik (ikosaedr) shaklidagi virionlar uchraydi. Ularning kattaligi 10 dan to 350 nm bo'lib,shuning uchun ham ularni yorug'lik mik-roskopida ko'rib bo'lmaydi. Yorug'lik mikroskopida 300-400 nm bo'lgan viruslarni ko'rish mumkin. Viruslarning virionini ko'rishda elektron mikroskopdan foydalaniladi. 0,2 - 0,4 nm kattalikdagi ob'ektni farqlash faqat elektron mikroskopga xosdir.

Kasal hayvondan olingan materialda elektron mikroskop yordamida virionni ko'rish ushbu materialda virusning borligidan xabar topishga yordam beradi. Ayrim hayvonlarning virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda muhim hisoblanadi. Ammo bu usul texnikaviy murakkab va qimmat turishi, ajratilgan virusni aniq identifikatsiya qilmasligi mumkin, lekin immunoelektron mikroskopda ko'rish yuqoridagi nuqsonlardan holidir.

Faqat chechak virusi virionlarini yorug'lik mikroskopi yordamida ko'rishga muvassar bo'lamiz. Chunki boshqa viruslarga qaraganda bu virusning virionlari gigant bo'lib kattaligi 300 - 390 nm. Chechak kasalligi virionini yorug'lik mikroskop yordamida uchratish virusoskopiya deyiladi.

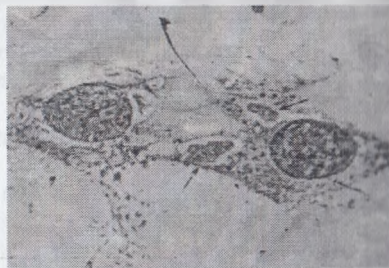
Ko'pgina viruslar hujayralarda reproduksiyanishi natijasida hujayralarda virus tanachalari kiritmalar hosil qiladi. Ular sitoplazmaga xos bo'lishi yoki yadro ichida hosil bo'lishi mumkin. (13-14 -Rasm).

Tabiatiga qarab ko'p minglab virionlar hujayrada qolib bir joyda to'planishi yoki uning reproduksiyanishi tufayli yoki tarkibiga kirmaydigan ortiqcha oqsil yoki shu elementlarning kombinatsiyasi bo'lishi mumkin. Kiritma tanachalarning kattaligi hujayra yadrosining kattaligicha bo'lib, har bir hujayraga 10-12 donadan to'g'ri keladi.

Ayrim viruslar tomonidan hosil qilingan kiritma tanachalar maxsus nomi bilan ataladi.

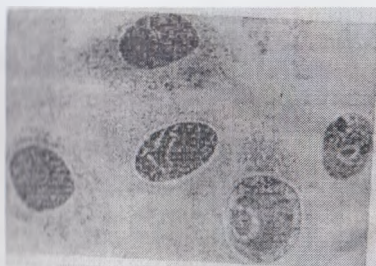


12-Rasm.Tuyalardagi chechak virusining virionlari (Yu.V.Pantelev bo'yicha).



13-Rasm. SHB hujayralarida Pg-3 virusi hosil qilgan sitoplazmatik kiritma tanachalar (Maer va boshqalar bo'yicha).

Quturish virusi tomonidan nerv hujayralarini sitoplazmasida hosil qilingan tanachalar Babesh-Nergi tanachalar, qushlarning epiteliy hujayralarining sitoplazmasida hosil qilgan chechak virusi tanachalari-Bollinger, sut emizuvchilarning chechak kasalligida Gvarneri, go'shtxo'r hayvonlarning o'lat kasalligida - Lentos



14-Rasm. Sb - 15 hujayralarida cho'chqalarning parvovirusi hosil qilgan yadro ichidagi kiritma-tanachalar (Mayru va boshqalar bo'yicha).

tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida-Zeyfred tanachalari hosil bo'ladi. RNK-saqlovchi viruslar sitoplazmada DNK-saqlovchi viruslar yadroning ichida kiritma tanachalar hosil qiladi.

Viruslarning uncha katta bo'lmagan guruhi sitoplazma hamda yadroning ichida kiritma tanachalar hosil qilishi aniqlangan. Hujayrada har bir virusning o'ziga xos spetsifik kiritma-tanachalari bo'lib joylashishi va shakli, strukturasi kattaligi u yoki boshqa bo'yoq bilan bo'yalish xususiyatiga ega.

Tekshirilayotgan materialda virusning bo'lishi qaysi virusdan u hosil bo'lganligi, asosan kasal hayvondan olingan materialda kiritma-tanachalarini uchratish o'sha virusning patmaterialda borligidan dalolat beradi. Quturish kasalligida kiritma-tanachalarni uchratish spetsifik hisolanib, qanday infeksiya borligi haqida fikr yuritish mumkin bo'ladi. Ko'pchilik holda kiritma-tanachalarni uchratish diagnostikada qo'shimcha vosita hisoblanadi. Kiritma tanachalarni uchratish uchun hayvon tirik vaqtida yoki o'ldirilgandan so'ng surtma yoki tamg'a tayyorlanib, maxsus usullar bilan bo'yalgach mikroskop yordamida qarab ko'riladi.

Har-xil viruslar tomonidan hosil qilingan kiritma tanachalarni bo'yash ham har qandir. Bo'yashning ko'p retseptlari ishlab chiqilgan. Shulardan eng universali gemotoksilin-eozin bilan bo'yashdir.

Nazorat uchun savollar.

1. Virion nima va uni patologik materialda qanday uchratish mumkin?
2. Har-xil viruslar virionining shakli va strukturasi haqida gapiring.
3. Virus kiritma-tanachalari nima va ularni qanday uchratish mumkin?
4. Virus kiritma-tanachalari va virionlarini uchratishning qanday diagnostik ahamiyati bor?
5. DNK yoki RNK saqlovchi viruslarning kiritma tanachalariga misollar keltiring.

4 - MAVZU

Laboratoriya hayvonlarining virusologiyada qo'llanishi, ularni saqlash va parvarish qilish

Darsning maqsadi: Tajribadagi laboratoriya hayvonlari turlari bilan tanishib, ularni saqlash va parvarish qilish, tajribadagi hayvonlardan qanday maqsadda foydalanishni o'rganish.

Kerakli asboblار, reaktivlar va hayvon turi: Mavjud laboratoriya hayvonlari: quyonlar; oq sichqonlar; dengiz cho'chqachalari; hayvonlar uchun kataklar; katak uchun yozuvli yorliqlar; metall yorliqlar, fuksin eritmasi, brilliant yashili, pikrin kislotaning eritmasi, qayshi.

Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan foydalanishdan maqsad viruslar tirik hujayralarda ko'payishi sababli virusologiyaning rivojlanish bosqichlarida viruslarni o'stirish, tekshirish uchun maxsus sharoitda o'stirilgan laboratoriya hayvonlari organizmidan foydalanilgan.

Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan quyidagi maqsadlarda foydalaniladi:

- patologik materiallarda virusni uchratishda;
- patologik materialdan virusni birinchi bor ajratishda;
- virus massasini to'plashda;
- laboratoriya sharoitida virusni aktiv holda saqlashda;
- virusni titrlashda;
- neytrallashtirish reaksiyasida test-ob'ekt sifatida;
- giperimmunoserdob olishda.

Eng avvalo, laboratoriya hayvonlaridan patologik materialdagi virusni biologik tajriba qo'yib indikatsiyalashda foydalaniladi. Shu maqsadda patmaterialdan suspenziya tayyorlab laboratoriya hayvonlariga yuqtirilgan va ularning yuqtirilgan materialga qanday reaksiya berishi kuzatilgan.

Virusologiyaning laboratoriya amaliyotida quturish kasalligiga diagnoz qo'yish uchun sichqonlarda, tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligida esa jo'jalarda biologik sinab ko'riladi. Ko'pincha hayvonlar orasida virusning borligi kam spetsifik belgilar berib xususan qaysi virus borligi to'g'risida xulosa qila olmaymiz. Uning turini aniqlash uchun yana tekshirish ishlarini olib borish talab qilinadi.

Ma'lum kasallikda ayrim holda biologik sinab ko'rish spetsifik bo'lgan o'ziga xos klinik ko'rinishda bo'ladi. U vaqtda biologik sinab ko'rish natijasiga asosan patologik material tarkibida virusning borligini bilibgina qolmay balki virusning turi to'g'risida xulosa chiqarsa bo'ladi. Masalan, o'lgan cho'chqa bolasining parenximatoz organidan tayyorlangan suspenziyani quyonning muskul ichiga yuborish va yuborgan joyda chidab bo'lmaydigan qichish, terisi va muskul to'qimasini tishlab, tirab tashlashi va o'limi Aueski virusi yuqtirilganligidan dalolat beradi. Shunday holda biologik sinab ko'rishning musbat natijasi nafaqat virusning borligi hatto, uning qaysi turga mansubligini aniqlashga ham yordam beradi.



laboratoriya hayvoni
dengiz cho'chqachasi

15-rasm

Biologik tekshirib ko'rish ko'pchilik holda spetsifik bo'lgan belgilarni ko'rsatishini tovuq yoki kabutarning chechak virusi yuqtirilganda va tovuqda, qo'zichoqlarda – qo'yning chechak virusi yuqtirilganda va shunga o'xshash tabiiy moil hayvonlarga virus yuqtirilganda o'ziga xos belgilarni beradi.

Kasallik yuqtirilgan hayvondan olingan virus saqlovchi material ajratib olingan virus hisoblanadi. Tajriba yo'li bilan kasallik yuqtirilgan hayvonlar organida virus to'plangach, identifikatsiyalanadi va so'ngra virusga qarshi vaksina ishlab chiqarishda foydalanish mumkin.

Tirik sistema sifatida yangi tug'ilgan quyon bolalaridan virusni to'plash uchun foydalanib oqsilga qarshi lapinizatsiyalangan gidrookis alyumin saponinformal vaksina tayyorlanadi.

Laboratoriyalarda ko'pincha viruslarni uzoq muddatga faol holatda saqlab turish talab qilinadi. Virusni tirik sistemalarga, shu jumladan laboratoriya hayvonlarining organizmida passaj qilish yo'li bilan saqlab turiladi va saqlash uchun konservatsiyalovchi sharoitga qo'yiladi.

Har qanday tezlik bilan viruslarni konservatsiyalaganda ham o'z faolligini yo'qotadi. Qaytadan passaj qilish tufayli virus yangidan tiklanadi. Virusning yangi populyatsiyasini olish uchun sezgir tirik sistemaga yuqtirish passaj deyiladi. Virus bilan ishlaganda ko'pchilik holda virusni yuqumli titrini bilish yoki materialdagi konsentratsiyasini aniqlash kerak. Uni aniqlash uchun har xil suyultirilgan virus saqlovchi material bilan, tekshirilayotgan virusga sezgir bo'lgan tirik sistemaga, shu jumladan, laboratoriya hayvonlariga yuqtirib kuzatiladi.

Virus infeksiyasiga diagnoz qo'yishda, laboratoriya hayvonlari indikator sifatida qo'llaniladi, shuning uchun virusni antitelo bilan aralashtirib neytrallashtirish reaksiyasi qo'yiladi va giperimmun zardob olishda foydalaniladi.

Laboratoriya hayvonlarining turlari

Virusologiyada quyonlar, dengiz cho'chqachalari (15-rasm), oq kalamush, oq sichqon, oltin rangli xomyaklar ishlatiladi. lekin sanab o'tilgan turdagi hayvonlarda ayrim viruslarni o'stirish mumkin xolos. Shu maqsad uchun ko'pchilik holda boshqa sezgir hayvonlar: tovuq, kabutar, mushuk, it bolalari va boshqalar ishlatiladi.

Parrandalarning chechak kaslligida – tovuqlarda, qo'ylarning chechak kaslligida – qo'ylarda, cho'chqalarning o'lat kasalligida cho'chqa bolalarida biologik tajriba qo'yib ko'rish tufayli kasallikka diagnoz qo'yiladi.

Laboratoriya hayvonlariga qo'yiladigan talablar

Virusologiyada tekshirish uchun hayvonlarni guruhlariga ajratgach quyidagi talablarni bajarish shart. Hayvonlar tekshirilayotgan virusga sezgir bo'lishi kerak; ko'pchilik viruslarni o'stirish uchun uni yoshi katta ahamiyatga ega. Bir qancha viruslar yosh, yaqinda tug'ilgan hayvonlar organizmida yaxshi ko'payadi.

Masalan: quturish va oqsil kasalligida biologik tajriba o'tkazish uchun sut emadigan sichqonlar, parrandalarning laringotraxeit kasalligida-jo'jalaridan foydalaniladi. Shu o'rinda shuni aytish kerakki, Aueski kasalligining virusi katta yoshdagi quyonlarga yuqtirilsa, kasallikka xos bo'lgan aniq klinik belgilarning paydo bo'lishiga olib keladi.

2-jadval. Virus kasalliklarida biologik tekshirib ko'rish uchun laboratoriya hayvonlaridan foydalanish.

Hayvonning turi	Virusga sezgirliigi	Yuqtirish usuli	Virusni ko'payish belgilari
Oq sichqonlar	Quturish	Intraserebral teri ostiga	Shollik, o'lim
	Oqsil	intraserebral	Spastik paraplegiya, shollik, o'lim
	Aueski kasalligi	Teri ostiga intraserebral	Shollik, o'lim
	Vezikulali stomatit	Qorin bo'shlig'iga, intraserebral	Ensefalit alomati, o'lim
	Otlarning gripp kasalligi	Burun ichiga	konyunktivit, toksikoz belgilari, 50% gacha o'lim
	Cho'chqalarning gripp kasalligi	Burun ichiga intraserebral	Shunday, ensefalit alomati o'lim
	Birtuyoqli hayvonlarning Afrika o'lati.	Intraserebral	Ensefalit alomati, o'lim
Oq kalamushlar	Cho'chqalarning gripp kasalligi	Burun ichiga	Nafas olish organlarining jarohatlanishi, o'lim
	Aueski kasalligi	Teri ostiga, burun ichiga	Shollik, o'lim
Dengiz cho'ch-qachalari	Quturish	intraserebral	Shollik, o'lim
	Oqsil	Terining ichiga	Yuborilgan joyda aftalar
	Vezikulali stomatit	Terining ichiga	Vezikulalar, buyrakning, jig-arning jarohatlanishi.
	Otlarning rinopnevmoniya kasalligi	Qorin bo'shlig'iga	Bola tashlash
	Go'shtxo'r hayvonlarning o'lat kasalligi	Teri ostiga, og'iz orqali	Haroratning ko'tarilishi
Quyvonlar	Quturish	Intraserebral, muskil ichiga	
	Oqsil	Teri ostiga	Shollik, o'lim
	Aueski kasalligi	Muskil ichiga, teri ostiga	Klinik alomatleri: ensefalit, qichish, meningial, o'lim shaklida:
	Qo'ylarning kontagiozli ektima kasalligi	Terini shilliq pardalarini timash	Yuborilgan joyda chechakka o'xshash jarohatlanish;
	Quyvonlarning miksoma kasalligi	Teri ostiga, teri ichiga	Bosh qismida, genitaliyda shish hosil bo'lishi

Standart sezgirlikka erishish uchun ma'lum yoshdagi va bir xil og'irlikdagi hayvonlar tanlanadi. Sezgirliigi jihatdan standart xususiyatga bir necha bor yaqin qarindoshlik yo'li bilan urchitilgan hayvonlar ega bo'ladi. Bunday hayvonlarga genetik bir xillik tufayli, reaksiya yoki boshqa ta'sirlar ham bir xilda ta'sir etadi. Hozirgi

paytda yaqin-qarindoshchilik yo'li bilan urchitilgan hayvonlar ilmiy-tekshirish ishlarida ishlatilmoqda.

Laboratoriya hayvonlariga bo'lgan eng muhim talablardan biri ularni sog'lomligidir. Virusologiya laboratoriyasining vivariysiga olib kelinadigan hayvonlar yuqumli kasalliklari bor bo'lmagan xo'jaliklardan olinishi kerak. Oq sichqon, kalamushlar 14 kun va boshqa turdagilari esa 21 kun ajratilgan holda karantinda saqlanadi. Shu davr ichida har kuni hayvonlar klinik tekshiruvdan o'tkaziladi. Hayvonlarda yuqumli kasallik borligi gumon qilinsa, laboratoriya tekshiruvidan o'tkaziladi. Karantindagi hayvonlar orasida yuqumli kasallik borligi aniqlansa, shu guruhdagi barcha hayvonlar o'ldirilib tashlanadi.

Hayvonlarni haqiqatdan ham sog'lom deb ishonch hosil qilish uchun bunday nazorat qilish yetarli emas. Laboratoriya hayvonlari ichida virus etiologiyasiga xos bo'lgan latent infeksiya tarqalgan bo'lishi mumkin. Bizga malumki latent infeksiya organizmda doimo bo'lib klinik ko'rinish bermaydi. Organizmga yomon ta'sir ko'rsatuvchi omil bo'lsa, qo'zg'atuvchi tezda ko'payishi natijasida kasallikning klinik belgilari namoyon bo'lishi mumkin.

Virusologik tekshirishda laboratoriya hayvonlariga virusni yuqtirish oldindan bor bo'lgan latent infeksiyani o'tkir kechuvchiga aylanishi tufayli kasallikni klinik belgilarini paydo bo'lishiga olib keladi, natijada tajriba o'tkazilayotgan hayvon reaksiya natijasini aniqlashni qiyinlashtiradi.

Laboratoriya hayvonlarining virus etiologiyali latent infeksiyalaridan eng ko'p tarqalgani oq sichqonlarning ekteromeliya kasalligidir. Uning qo'zg'atuvchisi chechak virusi oilasiga mansub. Kasallik oyoqlarning nekrozli yallig'lanishi bilan barcha organlarga tarqalganida, o'pka, jigar va taloqda nekrozli markazlar hosil bo'lishi bilan kechadi. Unga yaqin bo'lgan viruslar laboratoriya hayvonlarida virusli pnevmoniya chaqiradi. Shulardan eng ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi Senday virusi hisoblanadi. Virusli latent infeksiyaning uchinchi guruhi bu neyroinfeksiya bo'lib, tortishib qolish, falajlik, shollik holatida kechadi. Oq sichqonlarning limfotsitar xoriomeningiti, ensefalomieliti va boshqa laboratoriya hayvonlarini virusi latent ensefalitlaridir. Alohida o'stirilayotgan hayvonlarni latent infeksiyasidan nazorat qilish usuli bir bo'lib, shu maqsadda ataylab o'ldirilgan hayvonlar organidan suspenziya tayyorlangach, maxsus belgilangan usul bilan o'sha xo'jalikda bor bo'lgan hayvonlarga (misol uchun suspenziya miya ichiga interaserebral yo'l bilan) yuboriladi. Shu yo'l bilan passaj qilingan virus latent infeksiya bo'lsa kasallikning o'tkir kechishiga olib keladi.

Hayvonlarni saqlash va parvarish qilish

Laboratoriya hayvonlarini shunday joylashtirish kerakki, organizmning barcha sistemalari fiziologik normaga rioya qilgan holda o'z funksiyasini bajarishni ta'minlashi zarur bo'lib, boshqa tomonlama esa vivariy tashqarisiga infeksiya tarqalib ketishi va o'zaro kasallikni bir biriga yuqishining oldi olingan bo'lishi kerak. Vivariyda hayvonlarning fiziologik talabiga, xonalarning yoritilishi, haroratiga alohida e'tibor beriladi.

Demak sichqon va kalamushlarga yarim qorong'u va havoning harorati 20°C atrofida, dengiz cho'chqachalari, quyonlar, tovuqlar uchun kunduzgi yorug'lik, harorat 16-23°C, 14-18°C bo'lib, 0°C dan past bo'lib ketmasligi zarur. Joylashtirish zichligi

laboratoriya hayvonlarining 1g massasiga 1 sm² joy to'g'ri kelishi kerak. Hayvonlar o'z vaqtida to'yimli ozuqa va doimo ichadigan suv bilan taminlanadi.

Agar maxsus joy bitta bo'lsa, kasallik yuqtirilgan hayvonlardan sog'lom hayvonlarni alohida saqlab, xonani yig'ishtirish, tozalash, oziqlantirish sog'lom hayvonlar turgan xonadan boshlanadi. Kassallik yuqtirilgan hayvonlarni parvarish qilishda alohida anjomlar va oxurdan foydalaniladi.

Sog'lom va kasallik yuqtirilgan hayvonlarni saqlash uchun ikkita vivariy bo'lgani maqul. Vivariyda ishlovchi xodim ish jarayonida maxsus xalat, rezina qo'lqop, fartuk, suv o'tkazmaydirgan oyoq kiyimi bilan ta'minlanadi. Har kuni vivariydagi inventarlar, dezinfeksiyalanadi, xona esa suv sepilib tozalangandan so'ng dezinfeksiyalovchi modda bilan dezinfeksiyalanadi. Tajriba tugagach, o'lgan hayvonlar pechda yondiriladi yoki avtoklavda zararsizlantiriladi, hayvon turgan kataklar, idishlar dezinfeksiyalanadi.

Nazorat uchun savollar

1. Laboratoriya hayvonlarining turlari haqida gapirib bering.
2. Laboratoriya hayvonlaridan qaysi maqsadlarda foydalanamiz?
3. Laboratoriya hayvonlariga qo'yiladigan talablar nimadan iborat?
4. Laboratoriya hayvonlarini saqlash va parvarish qilishda qanday sharoit yaratilishi kerak?

5 - MAVZU

Tajribadagi laboratoriya hayvonlarini belgilash, virus yuqtirish va yorib ko'rish

Darsning maqsadi: Tajribadagi laboratoriya hayvonlarini maxsus belgilash, virus yuqtirish usullarini o'zlashtirish; virus yuqtirilgan laboratoriya hayvonini nazorat qilish; tajriba natijasini hisobga olish uchun laboratoriya hayvonini yorib, patologoanatomik o'zgarishlarni o'rganish.

Kerakli asboblari, reaktivlar va hayvon turi: Ektromeliya va ospovaksina virusining suspenziyasi; quyonlar; oq sichqonlar; parafin quyilgan kyuveta; steril instrumentlar (shprits, inyeksiya uchun ignalar, 10-14 santimetrlik anatomik pinsetlar, xirurgik qaychi, sterilizator; steril paxta; spirt; narkoz uchun efir; 0,5 l qopqoqli banka; sterilangan tamponlar; steril fiziologik eritma; filtr qog'oz; steril Petri kosachalari; dezinfeksiyalovchi eritmalar.

Tajribada foydalanilgan hayvonlarni belgilash eng muhim vazifalaridan biridir. Kasallik yuqtirilgan hayvonlar saqlanayotgan kataklarga yozuvli yorliq yopishtiriladi, bunda yuqtirishda ishlatiladigan virus (yoki tekshirilayotgan patologik materialning ekspertiza nomeri) yuqtirilgan hayvonlarning soni, virus yuqtirilgan sanasi agar zarur bo'lsa boshqa ma'lumotlar ham yoziladi.

Har xil turdagi hayvonlarga belgilashning har xil o'ziga xos usuli qo'llaniladi. Yirik hayvonlarga va tovuqlarga bosilib yozilgan nomerli metall yorliq ishlatiladi.

Quyonlarning qulog'ini ildiz qismiga kiydiriladi, dengiz cho'chqachasining qulog'iga sirg'a o'rnatiladi, tovuqlarning oyog'iga xalqasimon shaklda belgi kiydiriladi. Tajribada kam gruhdagi hayvonlardan qisqa muddatda foydalaniladigan bo'lsa, u holda elkasidagi juni, quyonlarda esa son qismidagi juni qirqilib belgilanadi.

Dengiz cho'chqachalarini farqlashda rangiga e'tibor berilib, ish jurnaliga ham yozib qo'yiladi. Oq sichqonlar, oq kalamushlar alohida oldingi va keyingi barmoq, oyoqlarini kesib tashlash yoli bilan belgilanishi mumkin. Ularning har biri u yoki bu tartib nomeriga to'g'ri keladi. Oldingi oyoqdagi bir sonini, keyingi oyoqdagi esa- o'n sonini bildiradi. Lekin ko'pchilik holda pigmentlanmagan junga rangli dog' surtish bilan belgilanadi. Barcha bo'yoqlarga (fuksin eritmasi, brilliant yashili) nisbatan pikrin kislotasining to'yingan eritmasi eng yaxshi belgilovchi bo'yog hisoblanib, jun va terida uzoq vaqtgacha saqlanib turadi. Rangli belgilar hayvonning ma'lum bir tartib nomeriga qo'yiladi. Agarda hayvon tanasini ko'z oldimizga keltirib uzunasiga uch bo'lakka bo'lsak (chap yonbosh, yelka, o'ng yonbosh) u holda rangli belgi qo'yishni chap tamonning yuqorini burchagidan, demak kurakchadan boshlaymiz va bu 1 bo'ladi, shu holda keyinga harakatlansak, chap yonbosh 2, chap son 3, so'ngra ensa 4, yelka 5, dumg'aza oblasti 6, o'ng yelka 7, o'ng yonbosh 8, o'ng son 9 bo'ladi. Ikki rangdan foydalanib birinchi rangda birlik, ikkinchi rangda o'nlik son bilan belgilanadi.

Laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun virus yuqtirish usullari

Laboratoriya hayvonlariga viruslarni saqlovchi materialni turli usullar bilan yuqtirsa bo'ladi. Ko'pincha quyidagi yuqtirish usullaridan foydalanamiz: teri ostiga (t/o), teri ichiga (t/i), muskul ichiga (m/i), qorin bo'shlig'iga (q/b), vena ichiga (v/i),

burun ichiga (b/i), miya ichiga intraserebral (m/i). Ammo har qanday aniq holatda ham materialni yuqtirishda shu usullardan birini tekshiruvchi tanlashi kerak.

Yuqtirish usulini tanlaganda virusni tropizmi inobatga olinadi. Virusni organizmning ma'lum bir turdagi hujayralarida ko'payishi (reproduksiyalanishi), virusning tropizmi deyiladi.

Nerv hujayrasida reproduksiyalanuvchi virusni neyrotrop (masalan quturish kasalligida) teri hujayralarida reproduksiyalanuvchi virusni dermatrop (masalan, chechak virusi), o'pka hujayralarida pnevmotrop (gripp virusi) viruslar deyiladi. Bir qancha turdagi hujayralarda reproduksiyalanadigan viruslarni politrop (yirik shoxli hayvonlarda yuqumli rinotraxeit kasalligini chaqiruvchi virus nafas olish va ko'payish organlarida reproduksiyalanadi), barcha turdagi hujayralarda reproduksiyalanuvchi viruslar pantrop viruslar deyiladi.

Pantrop viruslarga itlarda o'lat kasalligini chaqiruvchi virus misol bo'la oladi. Viruslarning tropizmini bilgan holda shu virusga sezgir bo'lgan organ hujayralariga virus materialini yuboriladi. Masalan gripp virusini—burun ichiga, chechak virusini — teri ichiga, quturish virusini- miya ichiga yuboriladi.

Pantrop viruslar vena ichiga yoki qorin pardasiga yuborilgandagina organizmga yaxshi tarqaladi. Tekshiruvchi material tarkibidagi virusning tropizmi to'grisida ma'lumotga ega bo'lmasa bir necha guruh hayvonlarga har xil usulda yuqtiriladi.

Yuboriladigan materialning hajmi va miqdori hayvonning turi, yuborish usuliga ko'pdan ko'p bog'liq.(3-jadval).

3-jadval. Laboratoriya hayvonlariga yuboriladigan materialning eng yuqori miqdori

Yuqtirish usuli	Quydonlar	Dengiz cho'- chqachalari	Oq kalamushlar	Oq sichqonlar
Teri ichiga	0.1	0.1	0.05	0.02
Teri ostiga	5.0	3.0	3.0	0.5
Muskul ichiga	5.0	2.0	1.0	0.3
Qorin bo'shlig'iga	10.0	5.0	2.0	1.0
Vena ichiga	5.0	2.0	2.0	1.0
Burun ichiga	1.0	0.3	0.1	0.03
Miya ichiga	0.3	0.05	0.03	0.02

Har xil turdagi hayvonlarga u yoki boshqa usul bilan yuqtirishda mahkam tutib turish, fiksatsiyalash usullari, yuqtirish usullari bir xil emas.

Quydonlarning kurakcha suyagi ustidagi terisidan bir qo'l bilan ushlab, ikkinchi qo'l bilan tananing keyingi qismi tutib turiladi. Bunday fiksatsiyalanganda tirmashni oldi olingan bo'ladi.

Dengiz cho'chqachalarini bir qo'l bilan ko'krigidan ikkinchi qo'l bilan keyingi oyoqlari tutib turiladi.

Kalamush va sichqonlarni dumidan ushlab, oldingi oyoqlari bilan metal to'rga, katakga tirmashishi uchun imkoniyat yaratiladi, chap qo'lning ikki barmog'i bilan ensa qismining terisidan ushlab hayvon sekin tortiladi.

Bunday paytda kalamushni kornsang bilan ushlab mustahkam va xavfsiz bo'lib, bosh qismini ikkita kornsang yordamida doim uning teri qatlamidan tutiladi. Ikkala kornsangni yordamchi chap qo'li bilan ushlab, dumni tutib turgan kornsangni o'ng qo'li bilan ushlanadi.

Oq sichqonlar yordamchisiz fiksatsiyalanadi, buning uchun Peano pinseti yordamida quloqlar orasidagi teri qatlamidan qistiriladi. Pinset halqasi, Bunzen shtativi ushlagichiga qistiriladi yoki shtativda turgan probirka tutib turuvchi vazifasini bajaradi.

Sichqonlarni bir qo'li bilan ushlab ham fiksatsiyalash mumkin. Material yuboriladigan joy yuqtirishdan oldin yodning 3% spirtli eritmasi bilan yaxshilab ishlov beriladi.

Teri ostiga yuqtirish- Teri qavatini chap qo'lning katta va ko'rsatkich barmoqlari bilan tutib ko'riladi va uning pastki qismiga tanaga parallel holda shprisli igna kiritiladi. Ko'pchilik hayvonlarda inyeksiya joyi bo'lib bo'yin qismi, yonbosh, yelka, kurakcha, itlarda esa ko'krak qafasining yonbosh qismi, dengiz cho'chqachalarida tizza qatlamlari, tovuqlarda bo'yin qismi hisoblanadi.

Terining ichiga yuqtirish-quyonlarda bu usulda virus yuqtirish uchun yonbosh yoki qorin qismidagi juni qirg'iladi, so'ngra terida qolgan junlarni o'tkir olmos yoki ustara bilan qirib tashlanadi.

Tayyorlangan joy spirt va fiziologik eritma bilan artiladi. Shprisli ignani o'tkir burchak ostida terining yuza qismiga bir necha mm kiritiladi. Material teri qavatida yumoloq shishcha hosil bo'lguncha yuboriladi.

Mayda laboratoriya hayvonlariga keyingi oyoqning plantar yuzasidagi teri ichiga material yuboriladi. Chap qo'lning ko'rsatkich barmog'i ustiga fiksatsiyalangach, o'ng qo'li bilan shpris ignani barmoqdan tizza tavon payiga qaratilgan holda terining ichiga yuboriladi.

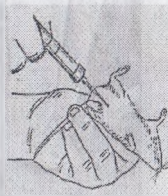
Dermotrop viruslarni organizmda ko'payishi uchun virus saqlovchi materialni timalgan teriga surkaladi (Masalan chechak kasalligining qo'zg'atuvchisi).

Terining yuzasi terining ichiga yuqtirilganday tayyorlanadi, igna va paster nayining singan bo'laklari bilan limfa suyuqligi tomchilari paydo bo'lguncha bir necha marta timaladi. So'ngra material tomizilib shpatel, shisha tayoqcha, yoki tish cho'tkasi bilan surkaladi. Yirik hayvonlarning timalgan terisiga virus yuqtirishda uning yonbosh yoki qorin qismiga, mayda hayvonlarning bel qismiga yuqtiriladi.

Muskul ichiga yuqtirish – bu usulda yuqtirish uchun ko'pincha son muskullari, tovuqlarda esa ko'krakning katta muskuli tanlanadi. Inyeksiya qilingan joy dezinfeksiyalangach ignani teri orqali, teriosti kletchatkasiga, so'ngra tana yuzasiga perpendikulyar holda muskulga kiritib yuqtiriladi. Materialni yuqtirib bo'lgach igna tortib olinib, inyeksiya o'rni qayta dezinfeksiyalanadi.

Qorin bo'shlig'iga yuqtirish – Hayvonlarga bu usulda yuqtirilganda bosh qismini pastga qaratib vertikal holatda fiksatsiyalanadi, chunki qorin bo'shlig'idagi organlar diafragma yaqinlashadi va igna kiritilgan vaqtda ichakni jarohatlamaydi (16-rasm).

Tovuqlarning chot qismiga yani to'sh qismining boshi va kloakaning o'rtasidagi oraliqga kichkina igna bilan qorin



16-rasm qorin pardasi ichiga yuqtirish

devorining terisi teshilib, tananing ko'ndalang o'qiga 45° burchak ostida yuboriladi.

Shu paytda chap qo'l bilan qorin devorining muskullarining inyeksiya qilinadigan tamoni taranglashishi uchun tovuqning oyog'i salgina tortiladi.

Ignani kirganligini qorin devorining qarshiligi sustligidan bilsa bo'ladi.

Vena ichiga yuqtirish - Eng muhimi shpris ichidagi havo pufakchalari, materialning bo'lakchalari tushmasligiga e'tibor beriladi, chunki havo pufakchalari hayvonda emboliya chaqirib, o'limiga sababchi bo'ladi.

Oq sichqon va kalamushlarga yuqtirishda dumning yonbosh venasidan foydalaniladi.

Yuqtirishdan oldin vena kengayishi uchun ksilol yoki issiq suv shimdirilgan tampon bilan artiladi.

Yordamchi chap qo'li bilan dumning ildizini qisadi, o'ng qo'li bilan hayvonni ensa terisidan tutib fiksatsiyalaydi. Ignani tashqi tomonga qiya qaratib o'tkir burchak ostida dumning pastki uchinchi qismiga yuboriladi

Agar igna tomirga tushsa shpris ichidagi suyuqlik engil oqib kirib, tomir esa uzunasiga oqaradi.

Dumning ildiz qismi bo'shatilgandan so'ng material sekinlik bilan yuboriladi. So'ngra igna chiqarib olinadi va inyeksiya qilingan joy quruq paxta bilan qisib turiladi.

Dengiz cho'chqachalarining yuragiga chap tamondan qilichsimon o'simtadan 1 sm yuqoriga qobirg'a oralig'ga ignani sanchib kiritib virusni qon oqimiga yuborish mumkin. Buning uchun yurak urayotgan joyni aniqlab shprissiz igna kiritiladi. Agar ignada qon ko'rinsa demak igna yurakka tushgan u holda ignaga shpris ulanadi va material ineksiya qilinadi.



Quyondi quloq venasiga zararlash

17- rasm



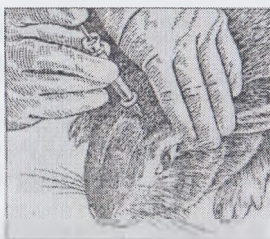
18-rasm sichqon miyasining ichiga yuqtirish.

Quyondar venasining ichiga material yuborilganda, quloqning cheki venasi tanlanib junlari oldindan qirib olinadi va igna kiritilish joyini sal pastki qismidan tomir bosib turiladi. Virus saqllovchi material qushlarning qanot osti venasiga yuboriladi. (17-rasm).

Burun ichiga yuqtirish-Quyondan tashqari ko'pchilik laboratoriya hayvonlarining burniga material tomizilganda aksa urishi tufayli virus saqllovchi suspenziyani sochib yuboradi.

Nafas olayotganda burunga tomizilgan material, havo bilan ichkariga kiradi. Quyoning narkozsiz bosh qismini orqaga qaratgan holda virus saqllovchi suspenziya tomchilatib yuqtiriladi.

Miyaning ichiga yuqtirish-Chichqonning bosh terisini chap qo'lning ko'rsatgich barmog'i bilan ensa tomoniga qarab tortiladi. Ko'zning tashqi tomonidan o'tuvchi o'rtanchi sagital chiziqdin va unga perpendikulyar bo'lib hosil bo'lgan kvadratning o'rtasidagi nuqtaga cheklovchisi bor shprisli igna 1-2 mm kiritiladi (18-rasm).



19-rasm qayon miyasining ichiga yuqtirish

Oq kalamushlarning miyasi ichiga trepanatsiyalangan teshik orqali yuqtiriladi, yosh qayon va dengiz cho'chqachalarini ko'z olmasining ustidagi eng yupqa kalla suyagi teshilib yuqtiriladi. Bu holda ham ignani 4-5 mm dan ko'p kirgizmasligi uchun cheklagichi bor ignadan foydalaniladi. Qari hayvonlarning miyasining ichiga trepanatsiyalangan teshik orqali yuqtiriladi. (19-rasm).

Hayvonlarga virus yuqtirilgandan so'ng, xonalarga joylashtirilib, yuqtirilgan virus yoki tekshirilayotgan materialni ekspertiza nomeri, yuqtirilgan hayvonlarning soni, yuqtirilgan vaqi yozilgan yorliq osib qo'yiladi.

Ish jurnalida virusning nomi yoki tekshirilayotgan materialning ekspertiza nomeri, yuqtirilgan hayvonlarning soni va tavsifnomasi, belgisi, yuqtirish usuli va virusning miqdori yozilgan bo'ladi.

Hayvonlarni kuzatib borib, ularning tashqi tuzilishiga, harakatchanligiga, ovqatlanishi va h.k. e'tibor beriladi. Shuni inobatga olish kerakki yuqtirilgandan so'ng birinchi soatlarda hayvonlarni o'lishi travma yoki tekshirilayotgan materialni zaharli ta'siri tufayli sodir bo'lishi mumkin.

Laboratoriya hayvonlari organizmida viruslarning ko'payish belgilari

Yuqtirilgandan so'ng hayvonlar har kuni nazorat qilinib klinik holati kuzatiladi. Organizmning sezgir hujayralarida viruslarning ko'payishi natijasida hujayralar jarohatlanadi yoki o'ladi. Viruslar blyan jarohatlanish kam miqdorda bo'lsa, u holda organ funksiyasini bajarib turuvchi bir qismi yoki barchasi butunlay buziladi. Bu esa hayvonning ma'lum darajada xulqini, holatini o'zgarishi bilan kechadi.

Respirator trakti hujayralarida virusning reproduksiyalanishi natijasida xirillash, yo'tal, hansirash sodir bo'lsa, miya hujayralarida virusning ko'payishi tufayli tortishib qolish, falajlik, shollik va h.k kuzatiladi.

Organizmning holatida va funksiyasini bajarishida ko'zga ko'rinarli o'zgarishlarning paydo bo'lishi kasallikning klinik belgilari deyiladi. Ularni tajriba uchun yuqtirilish tufayli paydo bo'lishi virus ko'payganligini ko'rsatuvchi dalil hisoblanadi. (20-rasm).

Bunda faqatgina paydo bo'lgan o'ziga xos o'zgarish inobatga olinibgina qolmay, balki yashirin davrning uzoq bo'lishi ma'lum bir kasallikka xos hisoblanadi.

Yashirin davr qo'zg'atuvchining xususiyatiga bog'liq bo'lmay, balki virusning miqdoriga, organizmga kirish yo'liga va organizmning holatiga ham bog'liq.

Biologik tajriba o'tkazish, y'ani virusni uchratish uchun virus yuqtirilgan laboratoriya hayvonlarida kasallikning klinik belgilari paydo bo'lishi tekshirilayotgan patmaterialda virus borligidan dalolat beradi.

Misol uchun: charchoqlik, ishtahaning pasayishi, hansirash va h.k belgilar ko'pchilik davrda ajralib turadigan xususiyatga ega bo'lmay, tekshirishning bu



20-rasm sichqonlarning elektromeliya (oyoqlar va dumning tushib qolishi.)

bosqichida qaysi turdagi virus kasallik chaqirganligiga yakun yasashning iloji bo'lmaydi.

Uchratilgan virus bunday vaziyatda serologik reaksiya yordamida indentifikatsiyalanadi. Bu holda noma'lum antigen bo'lib, tajriba uchun virus yuqtirilgan hayvonlarni yorib ko'rish tufayli olingan material tarkibidagi virus hisoblanadi. Ayrim holda kasallik o'lim bilan tugaydi, xuddi shunday holat virus yuqtirilgandan so'ng paydo bo'lib virusni organizmda ko'payish belgilaridan biri sanaladi.

Organizmda virus ko'payganligini klinik belgilarining paydo bo'lishi va hayvonning o'lishini ko'rsatibgina qolmay, balki virus yuqishi tufayli o'lgan hujayralar va to'qimalarda ko'rinarli o'zgarishlar paydo bo'lishi ko'riladi.

Patologoanatomik o'zgarishlar rangining o'zgarishi, kattaligi organning shakli va konsistensiyasi hamda normada uchramaydigan kiritmalarning paydo bo'lishida ifodalanadi.

Laboratoriya hayvonlariga yuqtirilganda materialda virusni borligini uchta kasallikning alomati, patologoanatomik o'zgarishlari va o'limi bildiradi. Otdan olingan patologik materialdagi virus, oq sichqonlar organizmda klinik belgilarni osonlikcha paydo qilib ko'paya olmaydi.

Birinci passajda virusning ayrim bo'laklari o'ziga mos bo'lgan sezgir hujayralarni topsa, bu organ uchun juda oz bo'lib organizmda ko'zga ko'rinarli o'zgarishlar paydo bo'lmaydi. Bunday passaj "ko'r passaj" deb nomlanadi.

Yuqtirilgan organizmda kasallikning belgilari paydo bo'lmasa, ma'lum ikki intervaldan so'ng hayvonlar o'ldiriladi va yorib qaralgach, patologik material olinadi. Bu materialda virus ko'payish natijasida toplangan bo'ladi. Birinci passajdan olingan material suspenziyasi bilan o'sha turdagi hayvonga yuqtiriladi.

Bu vaqtda birinci passajga nisbatan ko'proq virus bo'lakchalari organizmga tushib shunday sharoitda ko'paya boshlaydi. Lekin ikkinchi passajda ham virus yuqumli miqdorgacha to'planmay ko'zga ko'rinarli o'zgarish chaqirmasligi mumkin. U holda ikkinchi passaj bo'ladi.

Yuqoridagilarga asoslanib, uchinchi passaj o'tkaziladi. Kasallikning belgilari paydo bo'lishi tekshirilayotgan materialda virus borligidan dalolat beradi. Shunday javob reaksiyasini bergan hayvondan olingan virus saqlovchi materiall ajratib olingan virus hisoblanadi. Virusni uchratish uchun laboratoriyaning boshqa tirik sistemalarida yuqoridagi nuqtai nazarga asoslanib biologik tajriba qo'yib ko'riladi. Viruslarni uchratishda va ajratib olishda tabiiy moyil hayvonlar ishlatiladi. Chunki ular oldindan moslashtirishga muxtoj bo'lmay, birinci passajdayoq ma'lum belgilarni paydo qiladi.

Laboratoriya hayvonlarini yorib ko'rish

Tajriba uchun virus yuqtirilgan hayvonlarda patologoanatomik o'zgarishlarni ko'rish va virus saqlovchi materialni olish uchun yorib ko'riladi. Organ va to'qimalar hayvon tiriklik paytida shaxsan ichaklardagi shilliq pardalar ustidagi mikroflora bilan ifloslanmasligi uchun o'lgandan so'ng shu zohatiyoq yorib ko'riladi.

Agar virus yuqtirilgan hayvon o'lmasa, u holda kasallik alomatlari to'lasincha paydo bo'lgan vaqtda, agar alomatlar paydo bo'lmasa yuqtirilgandan 8-10 kun o'tgach ataylab o'ldiriladi. Hayvonlarni o'ldirish uchun ko'p miqdorda narkoz qilish, mayda hayvonlarning orqa miyasini uzish mumkin. Buning uchun o'ng qo'l bilan hayvonning

gavdasidan ya'ni ensasidan, chap qo'l bilan dumidan tutiladi tez va qisqa harakat qilinish, ipni uzganday tortiladi. Boshini kesib o'ldirish (dekapitatsiya) oqilona usul emas.

Yorib ko'rish qulay bo'lishi uchun hayvonning gavdasi fiksatsiyalanadi. Katta hayvonlarni maxsus ochish uchun mo'ljallangan stollar yoki oyoq va boshni fiksatsiyalash uchun taxtadan yasalgan moslamadan foydalaniladi. Mayda hayvonlarni eritilgan parafin solib qotirilgan kyuvetada fiksatsiyalanadi.

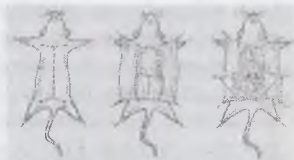
Fiksatsiyalash uchun in'eksion igna yoki bir sterjenli to'g'nog'ichdan foydalanamiz. Yorib ko'rish uchun steril instrumentlar ishlatiladi.

Hayvon yelka tomoni bilan yotqizilib, oldingi va keyingi oyoqlari fiksatsiyalangach qorin va ko'krak bo'shlig'i yorib ko'riladi. Kesib ochiladigan joydagi juniga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi. Mayda hayvonlarni yorib ko'rish uchun dumidan ushlab dezinfeksiyalovchi eritmaga to'lasincha botirib olinadi. Terini kesish tos suyagi qismidagi oq liniyadan boshlanib bo'ynigacha davom ettiriladi. Bu jarayonda qorin devorlarini kesib qo'ymaslik uchun chap qo'ldagi pinset yordamida teri tortilib tos suyagi ustidan ko'ndalangiga kesiladi.

Hosil bo'lgan teshikka qaychining bir uchi kiritilib hayvonning to bo'ynigacha kesib so'ngra alohida-alohida to'rtala oyoqlarigacha kesib chiqiladi. O'tmas usulda shkafning eshigini ikki tomonga ochgandek, terisidan ajratiladi. Kesilgan teri bo'lakchalari yuqorigi va pastki tomondan to'g'nog'ich bilan fiksatsiyalanadi.

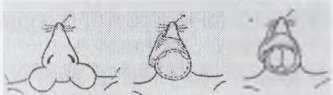
Instrumentlar boshqasiga almashtirilgach, qorin bo'shlig'i ochiladi. Buning uchun qorin bo'shlig'i devori diagfragmasi tagidan boshlab oq liniya bo'ylab tos suyagigacha kesiladi. Qorin bo'shlig'ining devor burchaklaridan tortgan holda chetki qismga fiksatsiyalanadi.

Virus saqlovchi material sifatida qorin bo'shlig'idan (mayda hayvonlardan butunlay organ) jigar, taloq, buyrak, qatqorin, limfa tugunlari, patologoanotomik o'zgarishlar bo'lsa ichakning bir qismidan ham olinadi. Ko'krak bo'shlig'ini ochishda uning qattiq devordan iborat ekanligi inobatga olinadi. Bu bo'shliqdagi organlarga tushish uchun bu yerdagi "Qopqoqni" olish kerak. Buning uchun qobirg'alar ko'ndalangiga qirqilib to'sh suyagi ham birgalikda olib tashlanadi (21, 22-rasm).



21-rasm. Qorin va ko'krak bo'shliqlarini ochish tartibi.

Hayvonlar qorin tomoni bilan yotqizilib o'rnashtirilgach kalla suyagi va bo'yniga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi. Gavda o'qiga perpendikulyar holda quloq orqasidan boshlab to chap va o'ng ko'zgacha kesiladi. Teri, quloqlar bilan birgalikda shilib olinib bosh suyagi yalong'ochlanib, oldingi qismga tashlanadi. Qaychining bir uchini bosh suyagining katta teshigiga keltirib suyaklarning chap va o'ng tomonlariga qarab kesiladi.



22-rasm. Bosh suyagi bo'shliqlarini ochish tartibi.

So'ngra ko'z oralig'idagi suyak qirqilib, barcha qirqilgan joy ajratib olinadi. Agarda bosh suyagi qalin bo'lsa, yuqoridagi ko'rsatma asosida arralanadi. Yumshoq surkalib ketadigan konsistensiyaga ega bo'lgan hayvonlarning miyasi, bosh suyagining asosi qaychining uchi bilan ko'tarilib bosh miya nervlari qirqilgach, ajratib

olinadi.

Virus saqlovchi materialga asosiy talab shundan iboratki u o'zining tarkibida maksimal holda virusni saqlashi kerak, bu esa virusning tropizmini belgilaydi. Ma'lum bir turdagi hujayralarda ularning ko'payishi hayvonlarning o'sha organida virus ularning to'planishidan dalolat beradi. Hayvon yorib ko'rilmagach, qaysi organlarida patologoanatomik o'zgarishlar borligiga qaraladi va o'sha joyda virusni saqlashi mumkin deb oldindan aytiladi. O'zgarishga uchragan organlardan virus saqlovchi material sifatida foydalaniladi. Shu bilan birgalikda, ushbu maqsadda zararlangan organlarning regional limfa tugunlaridan ham olinadi.

Pnevmotrop viruslar yuqtirilgan hayvonlardan virus saqlovchi material sifatida o'pka, o'pka oralig'i limfa tugunlari, traxeyadan olinadi.

Visserotrop viruslar qorin bo'shlig'idagi parenximatоз organlardan, jigar, taloq, qatqorin limfa tugunlari va ichak devorlarida to'planadi.

Neyrotrop viruslarni tekshirganda virus saqlovchi material bosh miyadan agar kerak bo'lsa orqa miyadan ham olinadi.

Har qaysi olingan materialni ikki qismga ajratib, alohida-alohida steril probirkalarga joylashtiriladi va rezina tiqin bilan bekitiladi. Birinchi probirkaga joylashtirilgan patologik material virusologik tekshirish uchun mo'ljallangan bo'lsa, ikkinchi probirkadagi to'qima gistologik tekshirish uchun mo'ljallangan bo'ladi. Shuning uchun bu probirkaga kerakli fiksatsordan qo'shiladi. Ma'lum bir infeksiyada virusni mikroskopik usulda uchratish uchun tekshirish ishlari olib boriladi. Virusni yorug'lik, lyuminessent mikroskopda ko'rish kerak bo'lsa, virus saqlovchi organlardan surtma va tamg'alar tayyorlanadi.

Virusga xos spetsifik o'zgarishlar organlarning har xil bo'limlarida joylashgan bo'lishi mumkin. Masalan, quturish kasalligida miyadan tamg'a quyidagicha tayyorlanadi. Mayda hayvonlarning bosh suyagi ochilgandan so'ng, miya strukturasi buzmasdan (10x10) kattalikdagi filtr qog'ozning ustiga qo'yiladi. Bu yerda u mustahkam fiksatsiyalanadi. Ko'z uchun ishlatiladigan qaychi bilan vertikal holatda miyaning bir qismi kesilib, yonbosh tomondagi qog'oz ustiga qo'yiladi.

So'ngra miyaning qolgan qismini kesib, avvalgi kesilgan miya turgan qog'oz ustiga navbatma-navbat joylashtiriladi.

Chap qo'ldagi qog'ozga fiksatsiyalangan miyani bir bo'lagidan olib o'ng qo'l bilan yog'sizlantirilgan buyum oynasi tegizilib tamg'a tayyorlanadi.

Nazorat uchun savollar

1. Laboratoriya hayvonlarining turlari va ularni virusologiya laboratoriyalarida ishlatishdan maqsad nima, laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun ko'p qo'llaniladigan yuqtirish usullaridan qaysilarini bilasiz?

2. Tajriba uchun olingan hayvonlar qaysi usulda belgilanadi?

3. Laboratoriya hayvonlarining organizmida viruslarni ko'payish belgilari qanday bo'ladi?

4. Biologik tajribani musbat bo'lishi va uning diagnoz qo'yishdagi ahamiyati nimadan iborat?

5. "Ko'r" passaj nima?

6. Yorib ko'rib virus saqlovchi materialni olishda, organi tanlab olinishi nimaga asoslangan?

6 – MAVZU

Tovuq homilalarining virusologiyada qo'llanilishi

Darsning maqsadi: Tovuq homilalarining virusologiyada qaysi maqsadlarda qo'llanishini; tovuq homilasining tuzilishini va tovuq homilasini virus yuqtirish uchun tayyorlashni o'rganish.

Darsga kerakli jihozlar, reaktivlar va tovuq homilalari; tovuq homilasi tasvirlangan rangli plakatlari, 9-11 kunlik tovuq homilalari; ovoskoplar; 24-36 sm kattalikdagi emallangan va doka salfetka to'shalgan kyuvetalar; probirkalar uchun shtativ; homilani fiksatsiyalovchi shtativ; spirtli va gazli gorelkalari; rezinadan tayyorlangan nokchalar, paxta tamponlar, yod qo'shilgan spirt; dezinfeksiyalovchi eritma.

Tovuq homilasi viruslarni laboratoriya sharoitida o'stirishda muhim ahamiyat kasb etib, virusologiya, fanining oldida turgan ko'pchilik vazifalarni hal etishda muvaffaqiyat qozondi. Tovuq homilalarining laboratoriya hayvonlariga nisbatan qator afzallik tomonlari bor. Tovuq homilalarini tashqi muhitdagi bakteriyalarning yuqishidan po'stloq va po'stloq osti qobig'i ishoncnli himoya qilib turadi. Homilaning muhim yutuqlaridan biri uning keng spektrdagi viruslarga yuqori sezgirligi bo'lib bu himoya mexanizmining to'lasincha rivojlanmaganligidir. Tovuq homilalari parrandachilik fabrikalari va inkubatoriylarning ko'pligi tufayli topilishi oson bo'lgan ob'ektdir. Bulardan tashqari tovuq homilalari tejamliligi bo'lib parvarishni, oziqlantirishni talab qilmaydi va virus yuqishi natijasida unga javoban antitelo hosil qilmaydi. Ammo tirik sistemaning steril ekanligiga to'lasincha kafolat berib bo'lmaydi, shuningdek, homilalar o'zining tarkibida viruslarni va patogen agentlardan (tovuqlarning yuqumli bronxit virusini, nyukasl kasalligini, gripp, leykoz, xlamidiyalar va mikoplazmalarni) saqlashi mumkin. Ushbu kasalliklarda viruslarning bor bo'lishi tekshirish natijalarini noto'g'ri ko'rsatishi mumkin. Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan qaysi maqsadda foydalangan bo'lsak tovuq homilasidan ham huddi shunday maqsadda foydalanamiz. Bular quyidagilar:

- biologik tajriba qo'yish tufayli patmaterial tarkibidagi aktiv virusni uchratishda;
- virusni birinchi bor ajratib olishda;
- ayrim sut emizuvchilarda, parrandalarda, kasallik chaqiruvchi viruslarni tovuq homilalarida o'stirish va ajratib olish juda qulayligi;
- laboratoriyada viruslarni saqlab turishda;
- viruslarni titrlashda;
- laboratoriya tekshirishlarida virusni to'plash va vakcina tayyorlashda;
- neytrallashtirish reaksiyasida test-ob'ekt sifatida.

Virus saqlovchi materialni tovuq homilasiga yuqtirishda unga quyidagi talablar qo'yiladi;

- homilalar yuqumli kasalliklar uchramaydigan xo'jaliklardan olinishi, tuxunning tashqi ohak qobig'i pigmentlanmagan, toza (yuvishtirish mumkin emas) bo'lishi kerak.

- homilaning yoshi tanlangan yuqtirish usuliga mos kelishi zarur.



23-rasm. 10 kunlik tovuq homilasining sxematik kesimi.

1-ohak qobig; 2-po'stloq osti qobig; 3-xorionallantois qobig; 4-allantois hoshliq; 5-sariq xalta; 6-aqsil; 7-havo kamerasi; 8-homilaning tanasi; 9-amnion bo'shlig'i.

Tovuq homilasining tuzilishi. Tovuqlar deyarli otalangan tuxum qo'yadi, bunda homila blastula yoki ertangi gastrula bosqichida bo'ladi. Tuxumni tovuq tanasidagidek harorat bilan isitilsa, u holda homilaning rivojlanishi davom etadi. Tovuq homilasi 5-12 kun rivojlanganidan so'ng unga virus yuqtirish mumkin (23-rasm). Tovuq tuxumi ichida rivojlanayotgan homila tashqi tomondan mayda teshiklari bor ohak tuxum po'chog'i bilan o'ralgan bo'lib unga po'choq osti po'stlog'i mustahkam yopishib turadi. Po'choq osti qobig'i tuxumni o'tmas qismida ikki varaqqa ajratib ular orasida havo kamerasini hosil qiladi. Tuxum ichida homilaning tanasi eksentr holatida yotib yelka tomoni bilan ohak qobiqga yaqin va bosh qismi esa havo kamerasi tamonga qaragan bo'ladi:

Homila tanasi atrofidagi suyuqlikga botgan holda bo'lib amnion bo'shlig'ini to'ldirib turadi va kindik orqali sariq xalta bilan birlashgan bo'ladi. Sariqxalta ham eksentr holatida o'mashib homilaga nisbatan tuxumning ko'ndalang qarama-qarshi ikkinchi tomonida joylashgan. Po'choq osti po'stlog'i ostida allantois bo'shlig'i bor bo'lib amnion va sariq xaltani o'rab 10-11 kundan so'ng tuxumning o'tkir qismida qo'shilib ketadi.

Allantois po'stlog'i o'sish davomida xorion bilan qo'shilib ketib, xorion allantois po'stlog'ini hosil qiladi (X.A.P.).

Tuxumning o'tkir qismida oqsil qoldig'i saqlanib turadi. Hujayra tuzilishiga ega bo'lgan barcha strukturalarda viruslar ko'payishi mumkin, bularga homila XAP va sariq xalta kiradi.

Viruslarning to'planishi ham shu strukturalarda bo'lib bir qancha viruslar allantois va amnion suyuqliklarida to'planib tayyor virus suspenziyasini hosil qiladi.

Homilaning u yoki bu qismida virus yuqtirish uni maksimal rivojlangan, yani sezgir hujayralar eng ko'p bo'lgan vaqtda o'tkaziladi. Inkubatsiya jarayonida homila strukturasining kattaligi ham o'zgarib bu esa ko'pchilik holda homilaning optimal yoshi yuqtirish vaqtini belgilaydi. Sariq xalta oziq moddalarning manbai bo'lib inkubatsiyadan oldin hajmi katta, 12 kundan keyin esa homilaning o'sishi tufayli u kichiklasha boradi. Sariq xaltaga inkubatsiyaning 5-7 kunlarida virus yuqtiriladi.

Amnion bo'shlig'i homilaning o'sishi uchun buferli muhit bo'lib, inkubatsiyaning 5 kunida homilani o'rab oladi.

Inkubatsiya davrining o'rtalariga kelganda suyuqlikning miqdori 1 ml atrofida bo'ladi. Amnion bo'shlig'iga yuqtirish uchun homilani 6-10 kunlik yoshdagisidan foydalaniladi.

Allantois bo'shlig'i moddalar almashinuvi tufayli hosil bo'lgan maxsulotlarni to'plab turadi. Bu vaqtda siydik tuzlari fosforli va azotli birikmalar yig'iladi. Homilaning o'sish va rivojlanish jarayonida allantois suyuqligi kislotali reaksiyaga ega bo'ladi.

Homilaning 9-12 kunlik o'sish davrida allantois bo'shlig'i maksimal kattalikka ega bo'ladi shuning uchun allantois bo'shlig'iga yuqtirish 9-11 kunlik inkubatsiya davrida o'tkaziladi.

Xorionallantois po'stlog'i qon tomirlarga boy bo'lib tuxum postlog'ining teshikchalari bor yuzasida ichki tomondan yaqin joylashgan. Bu esa homila tanasini kislorod bilan to'yinishini ta'minlab homilada nafas olish organi vazifasini bajaradi. 11-13 kunlar XAP maksimal rivojlangan payti hisoblanadi.

Xorionallantois po'stlog'iga yuqtirish inkubatsiyaning 10-12 kunlari amalga oshiriladi.

Virusni yuqtirish uchun tovuq homilalarini tayyorlash

Inkubator xonadan homilani, yo'lda sovutmasdan olib kelinadi. Laboratoriyada homilani 37°C va namligi 60-70% bo'lgan termostatda inkubatsiyalanadi. Namlik bilan doimiy taminlash uchun termostatga og'zi keng bo'lgan idishlarga suv solib qo'yiladi.

Termostatning shamollatuvchi teshiklari ochiq bo'lishi kerak. Homilani maxsus shtativlarga havo kamerasini yuqoriga qaratilib joylashtiriladi.

Yuqtirguncha bir kecha-kunduz davonida homila yangi olib kelingan sharoitga moslashishi va transportdagi bo'lgan stressdan so'ng funksiyalari normal holga kelishi kerak.

Agar laboratoriyaning shaxsiy inkubatoriysi bo'lsa tovuq tuxum qo'ygandan so'ng 10 kun davomida tuxum bostirishga qo'yish uchun yaroqli hisoblanadi.

Tovuq homilasiga yuqtirishidan oldin ovoskopda qarab ko'riladi po'choq qismi dezinfeksiyalanadi va ishlash uchun tegishli joy ham tanlanadi.

Ovoskopda qarab ko'rish uchun etarli darajada yorug'lik manbasi nur kerak bo'lib, tuxumni yoritilmagan qismida esa ichki strukturaning soyasi ko'rinadi (24-rasm).

Ovoskopda ko'rish uchun xona qarong'ilashtiriladi. Bunda tuxum pochog'ining ustki qismidan grafit qalam bilan havo kamerasini homila joylashgan o'rnini va qon tomirlari kam bo'lgan 0,5 x 0,5 sm joy belgilanadi.

Bu qo'yilgan belgi virus saqllovchi material yuborayotganda joyini ko'rsatuvchi belgi hisoblanadi.

Ovoskopda ko'rilayotganda homilani tirik yoki o'likligi aniqlanadi. XAP tomirlarining qon bilan to'la bo'lishi va aktiv harakatdagi homila tirik hisoblanadi.

Tovuq homilalariga aseptika sharoitida eng qulayi bokslarda virus yuqtiriladi. Boks oldi xonasida homilaga yo'd qo'shilgan spirt bilan ishlov berilib boksda yana qaytadan artiladi ayrim hollarda spirt shimdirilgan tampon yordamida alanga bilan ishlov beriladi.

Emallangan kyuvetaga 3-4 qavat doka to'shaladi va bu dokaga dezinfeksiyalovchi modda shimdiriladi uning ustidan homilani maxsus tutib turuvchi fiksatsiyalovchi shtativ o'rnatiladi. Ish jarayonida qaynatish natijasida sterillangan instrumentlardan foydalaniladi. Instrumentlar qaytadan ishlatilgudek bo'lsa spirt lampa alangasida qizdiriladi.



24-rasm. 10-kunlik tovuq homilasining ovoskopda ko'rinishi. Homilaning soyasi sariq xalta XAP qon tomirlari havo kamerasi ko'rinmoqda (X.K.Bazarov usuli boyicha)

Nazorat uchun savollar

1. Tovuq homilalarining laboratoriya hayvonlariga nisbatan afzalligini izohlab bering.
2. Tovuq homilalarini virusologiyada qo'llashdan maqsad nima?
3. Tovuq homilasini tanlashda nimalarga ahamiyat beriladi?
4. Tovuq homilasiga necha kunlikdan boshlab virus yuqtirish mumkin?
5. Tovuq homilasining tuzilishini so'zlab berining. Amnion va allantois bo'shlig'i, xorionallantois po'stlog'i tarkibi hamda vazifasi nimadan iborat?

7 - MAVZU

Tovuq homilasiga virus yuqtirish usullari, virusning ko'payish belgilari, virus saqlovchi materialni olish

Darsning maqsadi: Tovuq homilalariga n'yukasl kasalligi va tovuqlarning chechak virusini yuqtirish. Yuqtirilgan tovuq homilalarini ochish, XAP va allantois suyuqligini olish. Allantois suyuqligidan olib GAR tomchi usulida qo'yib ko'rish. XAP chechaklarni sanash va suratini chizish.

Darsga kerakli jihozlar va tovuq homilalari: 9-11 kunlik tovuq homilalari; B₁-shtammdagi n'yukasl kasalligining virusi; N'yu- Djersi shtammi kabutarlarning chechak virusi; qog'ozga o'rab joylashtirilgan va sterilangan paxtachalar, rezina tiqini bor probirkalar; steril Petri likopchasi; 2-5 ml pipetkalar; steril instrumentlar bilan birgalikda sterilizator (1 ml shprislar, anatomik pinsetlar, teshgichlar, infeksiya uchun ignalar, ko'z uchun ishlatiladigan qaychilar); fiziologik eritma; dezinfeksiyalovchi eritma; tovuqning 5% eritrotsitlari; tomchi GAR uchun oyna yoki keramikadan tayyorlangan plitka; doka yuz yopgichlar; 10x10 sm kattalikdagi qora qog'ozlar; meditsina leykoplasteri; tovuq homilasi va yuqtirish usullari tasvirlangan chizmalar.

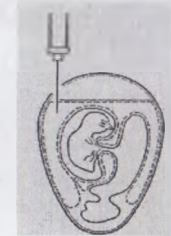
Tovuq homilalariga tajriba uchun virusni yuqtirish usullari

Homilalarga olti xil usulda virusni yuqtirish mumkin. Eng ko'p qo'llaniladigan yuqtirish usullari allantois boshliqqa va xorionallantois po'stloqqa, kamroq amnion bo'shliqqa va sariq xaltaga, homila tanasiga va XAP qon tomirlariga yuqtiriladi. Yuqtirish usulini tanlash virusning tropizmiga va yuqtirishdan ko'zda tutilgan maqsadga bog'liq. Har qaysi usul bilan yuqtirilganda ham 0.1-0.2ml yuqumli material yuboriladi.

Allantois bo'shliqqa virus yuqtirish.

Ushbu usul bilan yuqtirilganda gripp, Nyukasl kasalligining, otlarning rinopnevmoniya, vezikulyar stomatit va boshqa kasalliklarning viruslari yaxshi ko'payadi. Bu usulning bir necha variantlari mavjud.

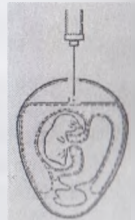
Homilaning o'tmas qismini yuqoriga qaratib vertikal holatda fiksatsiyalanadi. Tuxum postlog'ining homila yotgan tomonida, ayrim holda homilaga qarama-qarshi tomoni, havo kamerasing chegarasidan 5-6 mm yuqoridan 1 mm diametr kattalikdagi teshik ochiladi. Uzun o'qqa parallel holda ignani 10-12mm chuqurlikda kargiziladi.



25-rasm. Tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga virus yuqtirish (Nikolay bo'yicha).

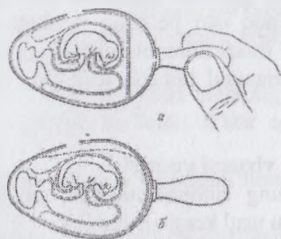
Tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga virus yuqtirish

Virus saqlovchi materialni ineksiya qilib bo'lgach igna tortib olinadi va hosil bo'lgan teshik parafinning erigan tomchilari bilan to'ldiriladi. Boshqa varianti shundan iboratki, havo kamerasi ustidagi pochoq teshilib, shu teshikdan havo chiqarib yuboriladi. Yuqtirish uchun xorionallantois qobiqning homila tomonidan qon tomiri kam qismi tanlanib teshiladi. Igna ko'pi bilan 2-3mm chuqurlikda kiritiladi 0.1-



26-rasm. Tovuq homilasining xorionallantois qobiq iga tabiiy havo kamerasi orqali virus yuqtirish (Nikolay bo'yicha)

0.2ml hajmdagi yuqtiruvchi suyuqlik ineksiya qilinadi va teshik parafin bilan bekitiladi (25-rasm).



27-rasm. Tovuq homilasining xorionallantois po'stloq'iga suniy havo kamerasi orqali virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar boyicha).



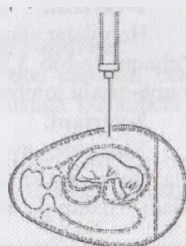
28-rasm. Tovuq homilasining sariq xaltasiga virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar bo'yicha).

Xorionallantois qobiqqa virus yuqtirish.

Bu usulda tovuq homilasiga yuqtirish epiteliotrop va pantrop viruslar chechak, parrandalarning yuqumli laringotraxeit kasalligi, qo'ylarning kataral isitma viruslarini o'stirishda qo'llaniladi. Yuqtirish tabiiy yoki suniy havo kamerasi orqali bajarilishi mumkin.

Tabiiy havo kamerasi orqali yuqtirishda homila shtativga o'tmas qismi yuqoriga qaratib vertikal holda o'rnatil-gach havo kamerasining markaziga qarshi 15-20 mm diametrli yumaloq darcha qirqib ochiladi. Pinset yordamida shu darcha orqali po'choq osti qobig'i ajratib olinadi.

Xorionallantois po'stloq ochilgan joyga 0.2 ml virus saqllovchi suspenziya yuboriladi (26-rasm). Teshikni leykoplastr yoki yopqich oyna bilan yopilib erigan parafin bilan mustahkamlanadi.



29-rasm Tovuq homilaning sariq xaltasiga virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar boyicha).

Sun'iy havo kamerasi orqali yuqtirish.

Ko'pchilik holda birinchi o'rinda ishlatiladi, chunki bunda virus saqllovchi materl XAP katta yuzasi bilan birga bo'lib, ko'proq miqdorda virus hosil bo'lishiga olib kiladi.

Bu usulda yuqtirish uchun shtativga homila yuqoriga qaratilgan holda gorizantal holatda o'rnatiladi.

Tuxum pochog'ida **ikk**i teshik teshiladi birinchisi havo kamerasining markazidan (havoni so'rib olish uchun mo'ljallangan), ikkinchisi 0.2-0.5 sm diametrda homila bor tomonning yonboshidan.

Bu usulning qiyinchilgi shundan iboratki, ikkinchi teshikni tayyorlashda, avvalo sekinlik bilan po'choqni bir bo'lakchasi ajratib olinadi, so'ngra sekinlik bilan XAP jarohatlanmay po'choq osti qobiq suriladi va hosil bo'lgan ochiq joydan havo kirishiga erishiladi.

So'ngra rezinali so'rg'ich yordamida havo kamerasi



30-rasm. Ochiq usul bilan tovuq homilasining amni oniga virus yuqtirish. (Nikolay va boshqa bo'yicha)

bo'shlig'idagi havo so'rib olinadi (27-rasm).

Yonboshdagi teshik orqali XAP yuzasiga yuqumli suyuqlik kiritiladi va teshik bir parcha leykoplastir bilan yopiladi. Birinchi teshikni yopishda hech qanday ehtiyoj bo'lmasdan, bu usulda yuqtirilganda po'choq osti po'stloq jarohatlanmaydi, ammo bar'erlik vazifasini bajarib tashqi muhitdagi mikrofloraning tushishiga to'sqinlik qiladi. Shu usulda virus yuqtirilgan homilani gorizontal holatda teshigini yuqoriga qaratib inkubatsiya uchun qo'yiladi.

Sariq xaltaqa virusni yuqtirish

Xlamidiya, Marek kasalligi, otlarning rinopnevmoniya, qo'ylarning kataral isitma va boshqa viruslarni o'stirishda ushbu usul keng qo'llaniladi.

Rif vodiysining virusli isitmasi 5-7 kunlik ayrim holda 2-3 kunlik yoshdagi homilalarga yuqtiriladi. Yuqtirishning ikki varianti qo'llaniladi.

1-variant.

Homilalar shtativga vertikal holatda o'rnatiladi. Havo kamerasing markazidagi po'choqni teshib 3,5-4 sm chuqurlikka vertikal o'qqa 45° burchak ostida homilaga qarama-qarshi tomonga igna kiritiladi.(28 rasm).

2-variant.

Yuqorida aytib o'tilgan yo'l bilan homilani shtativga gorizontal holda joylashtirib yuqtiriladi; bunda homila pastki qismda joylashib sariq xalta uning ustida bo'ladi. Tuxum po'chog'idagi teshikni eritilgan parafin bilan yopiladi. (29-rasm).

Amnion bo'shlig'iga virusni yuqtirish.

Buning uchun yoshi 6-10 kunlik homilalardan foydalaniladi. Bu usul gripp kasalligi virusini n'yukasl kasalligi, otlarning rinopnevmoniya va boshqa kasalliklarni virusini o'stirishda ishlatiladi.

Yuqtirish ning ikki usuli mavjud.

Yopiq usul. Yuqtirish qorong'ilashtirilgan boksda bajariladi. Tuxum ovoskopga gorizontal holatda homilani yuqoriga qaratib joylashtiriladi.

Havo kamerasing ustki qismidan tuxum po'chog'idagi teshik orqali igna homilaga tik holda kiritiladi.

Amnionga ignani kirganligini homilani tanasining igna harakati tomoniga qimirlashidan bilish mumkin.

Ochiq usul. Havo kamerasi ustidagi po'choqni 1,5-2,5 sm diametr qirqilib teshik ochiladi. Shu teshik orqali pinset yordamida po'choq osti qobig'i ajratiladi. So'ngra 14 sm uzynlikdagi pinset yordamida XAP homila tomoniga bosiladi. Pinset bosilishi natijasida amnion po'stlog'ini qisib olib XAP bilan birgalikda ochilgan teshik tomonga tortiladi. Pinsetni chap qo'lda ushlab amnion po'stlog'i tortib turiladi va virus saqllovchi material yuboriladi(30-rasm).

So'ngra po'stloq qo'yib yuboriladi, ochilgan teshik leykoplastir bilan yopilib, homila vertikal holatda inkubatsiyaga qo'yiladi. Yuqorida yozib o'tilgan usullar laboratoriya amaliyotida ko'p qo'llaniladi.

Homilaning tanasiga va XAP qon tomirlariga virus yuqtirish amaliyotda kam qo'llaniladi.

Homilani tanasiga virusni yuqtirish.

Yuqtirish uchun 7-12 kunlik yoshdagi homilalardan foydalaniladi. Bu usulning ikki varianti ma'lum.

1-variant. Yopiq usulda amnionga qanday yuqtirilsa xuddi shunday bajariladi. Ayrin farqlar bilan bo'lsada o'tkir igna olinib ovoskopning ko'rsatishiga qarab kiritiladi.

Homilaga ignani kirganligini homilani igna harakatiga mos qimirlashidan bilsa bo'ladi.

2-variant. Amnionga yuqtirilgandek ochiq usulda bajariladi, teshik orqali homilaning tanasi pinset yordamida tortiladi. Materialni bosh miyaga va tananing ma'lum qismlariga yuqtiriladi. Bu usulda yuqtirilganda homilalarning spetsifik bo'lmagan o'limi ko'proq foizni tashkil qiladi.

Xorionallantois pardaning qon tomirlariga virusni yuqtirish.

11-13 kunlik homilani ovoskopda qarash tufayli yirik qon tomirlari belgilab olinadi. Qon tomirlarning yo'nalishidagi tuxum po'chog'ining ustiga 1-2 tomchi spirt tomizilgach tuxum po'chog'i tiniqlashadi.

Ovoskopda ko'z bilan nazorat qilinib qon tomiriga igna kiritiladi, yonboshga ignani harakat qildirganda tomirni ham qimirlashi, ignani tomirga kirganligini bildiradi.

Po'choq osti qobiqning ochiq qismi leykoplaster bilan yopiladi. Qon tomirga bir qancha farqlanadigan usullar bilan ham materialni yuborish mumkin: havo kamerasi ustidagi tuxum po'chog'i qirqilib, po'choq osti qobiq spirt bilan yumshatiladi va ko'ringan XAP material yuboriladi. Teshikni bir parcha steril leykoplaster bilan yopiladi.

Tovuq homilasiga tajriba uchun yuqtirishning usullari yagona bo'lmagan, uning bir qancha variantlari ham mavjud.

Inkubatsiyaga qo'yishdan oldin tuxum po'chog'iga grafit qalam bilan qaysi usul bilan, virus yuqtirilganligi zarur bo'lsa boshqa ma'lumotlar ham yozib qo'yiladi.

Virus yuqtirilgan tovuq homilalari keyinchalik termostatga inkubatsiyalash uchun joylashtiriladi. So'ngra yuqtirilgan viruslarning reproduksiyalanish jarayoni boshlanib, tegishli strukturalarda to'plana boshlaydi.

Homilalarni inkubatsiyalash harorati 33°C to 38°C bo'lib yuqtirilgan virusning xususiyatiga ham bog'liq. Ovoskop yordamida homilalarni har doim kuzatib borib o'lganlari olib tashlanadi.

Birinchi bor yuqtirilgan 24 soat ichida homilalarning o'lishi zambrug'larning ko'payishi, inokulyat bilan birga tushgan bakterial mikroflora yoki yuqtirishdagi parazitlanish tufayli sodir bo'ladi. Bunda o'lim spetsifik bo'lib hisoblanmaydi. Homilalar virus yuqtirilgandan so'ng uzoq muddat o'tgandan keyin o'lishi uning virus o'lganligi tufayli nobud bo'lganligidan darak beradi.

Homilalarni o'lganlarini ko'rgach, darhol uni harorati 4°C bo'lgan sovutgichga qo'yiladi.

Bunday sharoit, birinchidan, homilada to'plangan virusni aktivligini saqlashga yordam bersa, boshqa tomondan to'qimalarni qotishi, qon tomirlarini qondan bo'shashga va keyinchalik homilani ochishni birqancha engillashtiradi.

Homilalar viruslar maksimal to'planguncha inkubatsiyalanadi. Har qaysi virus uchun bu muddat 2 sutkadan to'7-8 sutkagacha bo'lib, N'yukasl kasalligining H-shtammi uchun 2-3 kun, B-shtammi uchun 5 kundan iborat. So'ngra barcha homilalarni 3-4 soat mobaynida 4°C haroratda sovutish tufayli o'ldiriladi va ochib ko'riladi.

Tovuq homilasida virusning ko'payish belgilari.

Homilaga virus yuqganligini har qaysi virusga tegishli muddatda o'lishi ko'rsatadi. Virusni ko'payganligini ko'rsatuvchi boshqa belgilar, ya'ni homilaning barcha strukturalarida patologoanatomik o'zgarishlarni paydo bo'lishidir.

XAP shishlarning bo'lishi, qon quyilishi, tugunchalar (chechakcha-larning) paydo bo'lishidir. Tovuq homilasiga parandalarning chechak virusi, parrandalarning yuqumli laringotraxeit, Aueski kasalligi va boshqa viruslarning yuqtirilishi shunday jarohatlanishning paydo bo'lishiga olib keladi (31-rasm). Har xil turdagi viruslarning o'sishiga qaraganda chechakchalarning shakli ko'zda ko'rinarli darajada ajralib turadi. Homilaning o'zi yuqtirilmaganlarga qaraganda o'sishdan qolish fenomenini ko'rsatadi.

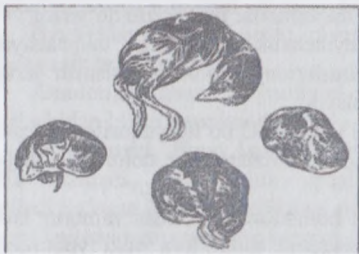


Herpesvirus tovuq homilasida

31-rasm

Homila tanasining barcha joylari har xil darajada suvsizlangan yoki mumlanganligi, bo'yin qismining buralishi bilan ta'riflanadi.

Yuqorida aytilgan belgilar parrandalarning yuqumli bronchit kasalligiga o'xshashdir (32-rasm). Homilaning terisi qizarib, qon quyilgan (33-rasm). Ichki organlarida ham virusning ko'payganlik belgilari bo'ladi.



32 rasm. Parrandalarning yuqumli bronxit kasalligi.



33 rasm. Chechakvaksina virusi yuqtirilgan tovuq homilasida chechakning butun tanada tarqalishi (Mairu va boshqa. bo'yicha).

Virus yuqtirilgan tovuq homilalarida homilaning o'smasdan va mumlanib qolishi. Yuqorida shu yoshdagi virus yuqtirilmagan homila (Mairu va boshqa bo'yicha).

Tovuq homilasida sariq yashil yoki qora yashil rangda jigar shishsa, o'ldaklarning gepatit virusi o'sayotganligini bildiruvchi belgi hisoblanadi. Boshqarilmadagi virus n'yukasl kasalligi tovuq homilasida o'saturib homilani o'ldirmaydi va patologoanatomik o'zgarishlar chaqirmaydi. Bunday viruslarni faqatgina gemagglyutinatsiya reaksiyasi (GAR) yordamida eritrotsitlarni agglyutinatsiyalash qobiliyatiga qarab uchratish mumkin.

Gemagglyutinatsiya hodisasi eritrotsitlarning tarkibiga gemaglyutinatsiyalovchi viruslar suspenziyasini qo'shish tufayli sodir bo'ladi. Gemagglyutinatsiyalash xususiyatiga shunday viruslar egaki, ularning virionlari yuzasida retseptorlar mavjud va ular eritrotsitlarning qobig'idagi retseptorlar bilan qo'shilish xususiyatiga ega.

Bunday virionlar eritrotsitlarning yuzasida adsorbsiyalanishi mumkin. Bir virion bir yo'la ikki eritrotsitga adsorbsiyalanishi tufayli, adsorbsiyalangan virion ikki eritrotsit oralig'ida ko'priklarni o'taydi.

Shunday ko'priklarning ko'pchilik eritrotsitlar oralig'ida hosil bo'lishidan eritrotsitlarning elimlanishi va ipir-ipir massa hosil qilishi kuzatiladi.

Ipir-ipir massa hosil bo'lganligini oddiy ko'z bilan ko'rish mumkin. Buning uchun buyum oynasi ustiga bir tomchi virus suspenziyasiga bir tomchi yuvilgan eritrotsitlardan qo'shib aralashtiriladi.

Virus va eritrotsit suspenziyasini aralashtirish natijasida probirkada eritrotsitlar bir qavat bo'lib cho'kmaga tushadi, tag qismida esa soyabonni eslatuvchi shakl paydo bo'ladi.

GAR- virusni uchratishda va titrlash uchun qo'llaniladi.

Eritrotsitlardan ipir-ipir massa hosil bo'lishi 5-10 daqiqa ichida virus saqlovchi suyuqlik tomchisiga eritrotsitlar aralashmasini aralashtirish natijasida hosil bo'ladi (34-rasm).

Gemagglyutinatsiyaning musbat bo'lishi faqatgina virus borligini bildiribgina qolmay, balki uning gemaglyuti-natsiyalovchi aktivligini ma'lum turdagi hayvonning eritrotsitlari yordamida amalga oshirishi tufayli diagnoz qo'yishda yordamchi vosita bo'lib xizmat qiladi. Homilani ochishda ko'pchilik holda virusning ko'payganligini bildiruvchi belgilar bo'lmaydi ammo virus tekshirilayotgan materialda mavjud. Bunday passajni yuqorida aytilgandek "ko'r" passaj deyiladi.



34-rasm. Tomchi usulda gemagglyutinatsiya reaksiyasi: a) virus saqlovchi suyuqlik, eritrotsitlar bilan aralashtirilgan dan so'ng hosil bo'lgan gomogen suspenziya. b) shu suspenziyada 10 daqiqa o'tgach ipir-ipir agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar.

Virus yuqtirilgan tovuq homilasini ochib, virus saqlovchi materialni olish.

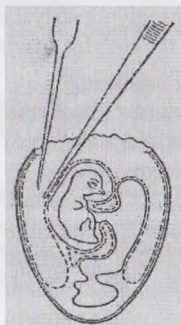
Tovuq homilalarini ochishdan maqsad virus ko'payganligini bilish va virus saqlovchi materialni olishdir. Virus saqlovchi materialni olish uchun homilani ochish asseptika qoidalariga amal qilinadi.

Homilaga qaysi virus yuqtirilganligini bilish uchun virusni homila strukturalaridagi tropizmiga e'tibor beriladi. Virus saqlovchi material bo'lib XAP, homila to'qimasi, sariq xalta devorlari, hamda allantois va amnion suyuqligi xizmat qiladi.

Amnion suyuqligidan virusni ajratib olish juda qulay, chunki allantois, amnion suyuqliklari tayyor virus suspenziyasi hisoblanadi. Homilasi bor tuxunning

po'chog'ini ochishdan oldin yod qo'shilgan spirt bilan ishlov beriladi ayrim hollarda flombirlash ham mumkin.

Ochib ko'rish steril boksda, steril instrument va idishdan foydalangan holda bajariladi. Havo kamerasi ustidagi tuxum po'chog'i virus yuqtirilgan joyidan qirqiladi. Bunday tuxum burchak ostida tutib turilib, po'choqning ichki qismiga tushishga yo'l qo'yilmaydi. Qaychi esa havo kamerasi tagidagi po'stloqni zararlamasligi uchun qirqishni havo kamerasining ustki qismi chegarasidan yuqoriroqdan o'tkazish kerak. Ochilgan XAP



35-rasm. Allantois suyuqligini so'rib olish (Nikolay va boshq. bo'yicha).

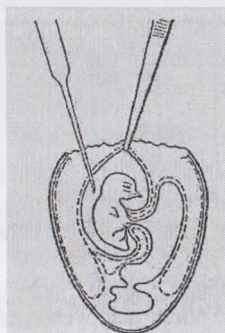
patologoanatomik o'zgarishlarni uchratish uchun pinset yordamida ko'tarilib qaraladi XAP virus saqllovchi material yuqtirilgan qismida ko'zga ko'rinarli o'zgarishlar kuzatiladi. Sinchiklab tekshirib chiqish uchun XAP bir qismini pinset yordamida ko'tarib, o'zgarishi bor joyi qaychi yordamida qirqib olinadi. XAP kuzatish uchun homila, sariq xaltadan, oqsildan ajratib tuxum po'chog'ining ichki qismidan xorionallantois po'stloq ajratib olinib fiziologik eritma quyilgan Petri likobchasiga solinadi.

Po'stloqni chayqatib yuvgach ikkita pinset yordamida tekislanadi va bir tomonlama yoyib kuzatiladi. Po'stloqdagi patologoanatomik o'zgarishlar aniq ko'rinishi uchun Petri likobchasining tagiga qora qog'oz qo'yiladi.

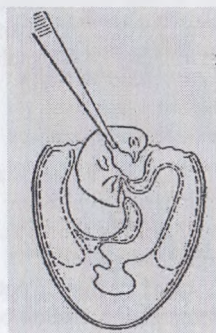
10 ml miqdordagi allantois suyuqligi po'choq osti po'stloq, homila tanasi ustidagi XAP teshilgach, pipetka yordamida so'rib olinadi (35-rasm).

Pipetkani bu holda yuborish sariq xaltaning devorini tasodifan teshilishini va olinadigan allantois suyuqligi bilan aralashib ketishining oldini oladi.

Amnion suyuqligini 1ml gacha so'rib olish mumkin. Buning uchun allantois suyuqligini olib bo'lgach, homila tanasining bosh qismi ya'ni bo'yin ostiga va amnion oralig'iga pipetka kiritiladi (36-rasm). Sariq xalta devorini virus saqllovchi material sifatida olish uchun, sariq xalta Petri likobchasida chiqarilgach, devori qaychi bilan qirqilib tarkibidagi moddalardan fiziologik eritma bilan yuvish tufayli tozalanadi. Homila tanasining bo'yin qismidan pinsetga qistirib chiqarib olinadi (37-rasm).



36-rasm. Amnion suyuqligini so'rib olish (Nikolay va boshq. bo'yicha).



37-rasm. Homila tanasini chiqarish (Nikolay bo'yicha).

Tovuq homilalarini ochib ko'rganda virus saqllovchi materialni bakteriologik nazorat qilish uchun GPSh, GPA, GPJSh, Saburo muhitlariga ekiladi. Virus saqllovchi material minus 25°C va undan past haroratda saqlanadi.

Tekshirish uchun savollar

1. Rivojlanayotgan tovuq homilasining tuzilishi qanday?
2. Tovuq homilasida viruslarni qanday indikatsiyalash usulini bilasiz?
3. Tovuq homilasida virusning ko'payganlik belgilarining namoyon bo'lishi nimada ko'rinadi?
4. Virus yuqtirilgan tovuq homilasidan virus saqllovchi materialni qaysi usulda olinadi?
5. Viruslarning gemagglutinatsiyalash xususiyati va ularni ishlatilishi hamda gemagglutinatsiyalash mexanizmi haqida gapirib bering.

8 - MAVZU

Hujayralarni o'stirishda ishlatiladigan oziq muhitlar va eritmalar

Darsning maqsadi: O'stirilgan hujayralarni etishtirishda ishlatiladigan oziq muhitlari va eritmalarining virusologiyada qo'llashdan maqsadini o'rganish.

Kerakli jihozlar, oziq muhitlar. 199 muhit, Igla muhiti, laktal'bumin gidrolizatli muhiti; Xenks, Versen va Erla eritmasi, 0,25% li tripsin eritmasi, 0,02% li versen eritmasi, 7,5% soda eritmasi, yirik shoxli hayvonning qon zardobi; penistillin, streptomitsin; normal o'stirilgan hujayra kulturas; turli hajmdagi idishlar.

Bir-biridan farq qiluvchi tabiiy va sun'iy (sintetik va yarimsintetik) oziq muhitlar bor.

Tabiiy muhitlar tuzli eritmalar aralashmasidan iborat bo'lib (Xenks, Erla), qon zardobi (odam va hayvon), to'qima (homila) ekstrakti (tovuq homilasi, odam homilasi) sigimning amnion suyuqligi va h.k. har bir komponentning soni har xil muhitning aralashmasida har xil bo'lishi mumkin. Bu muhitlar kamdan-kam ishlatiladi.

Hozirgi paytda, asosan, sun'iy muhitlar ko'p ishlatiladi. Yarim sintetik oziq muhitlarga fermentativ gidrolizatlar va har xil oqsilli mahsulotlar kiradi:

Laktal'bumin gidrolizati, muskul fermentativ gidrolizati, fermentativ-kazcinli achitqi gidrolizati, gemogidroztatning 5% va 2,5% eritmasi virusologiya amaliyotida keng qo'llaniladi.

Sintetik muhitlardan eng ko'p qo'llaniladigani 199 muhit va Igla muhiti bo'lib, 199 muhitning tarkibi 60 dan ortiq komponentdan iborat:

20 aminokislota, 17 vitamin, nuklein kislota komponentlari, lipidlar manba'lari, 8 mineral tuz va boshqa moddalardir. Igla muhitining tarkibi ham 60 komponentdan kam emas, chunki tarkibida aminokislotalar, vitaminlar, uglevodlar va boshqalarni saqlaydi.

Barcha oziq muhitlar va ayrim tuzli eritmalarda vodorod ionining konsentratsiyasini (pH) aniqlash uchun (0,002%) fenol qizil indikatoridan qo'shiladi. U yuqorida ko'rsatilgan aralashma holida hujayra va viruslarga zaharli ta'sir ko'rsatmaydi.

pH pasayishi natijasida muhit sarg'ayadi bu esa metabolizm mahsulotlari bilan oksidlanganidan dalolat berib oziq muhitni almashtirishni talab qiladi. Eritmadagi pH ishqoriy tomonga o'tishi qizil-malina rangini eslatadi. pH neytral bo'lsa (7,2-7,4) muhitning rangi to'q-sariq-qizil bo'ladi. Tuzli eritmalarida va oziq muhitlarda pH nazorat qilib tenglashtirib turish uchun 7,5% NaHCO₃ natriy bikarbonat va CH₃COOH sirka kislotasining 3% eritmasi ishlatiladi.

Mikroorganizmlarni yo'q qilish uchun oziq muhitni ishlatishdan oldin antibiotiklardan penitsillin va streptomitsin 100 birlik/ml qo'shiladi.

Zamburug'larni o'sishini to'xtatish uchun nistatinning natriyli tuzidan 1ml oziq muhitga 100 mkg qo'shiladi.

Barcha oziq muhitlarni ikki guruhga bo'lish qabul qilingan:

a) o'stiriluvchi, hujayra yashovchanligini taminlovchi, tarkibida 2-10% qon zardobini saqlab, hujayrani o'stirishning birinchi kunlari ishlatiladi.

b) quvvatlab turuvchi, hujayraning ko'payishiga aloqador bo'lmay, hayotiychanligini taminlovchi, lekin tarkibida qon zardobini saqlamaydigan o'stiruvchi

oziq muhitning doimiy komponenti bo'lib, yirik shoxli hayvonlarning qon zardobi hisoblanadi. Uning tarkibiga qator biologik aktiv hujayrani in vitro o'stirish uchun kerak bo'lgan moddalar kiradi. Zardob tarkibidagi aktiv bo'lgan albumin va fetuin fraksiyalari shisha yuzasida hujayraning yopishishini ta'minlaydi. Amaliy ishda go'sht konsentratlarida yirik shoxli hayvonlardan olingan zardob ko'p ishlatiladi. Hujayrani o'stirish uchun eng yaxshisi sigir homilasining zardobi hisoblanadi.

Zardobni olishda sterilikka qat'iy e'tibor berish kerak. O'stirilgan hujayraga aloqador har bir zardobning seriyasi sterilligi va zaharli xususiyati to'g'risida nazoratdan o'tkaziladi.

Eritmalar. Har xil tuz va glyukoza qo'shilgan Xenks va Erla eritmalarini bidistillangan suvda tayyorlab hujayralarni o'stirishda keng qo'llaniladi.

Xenks eritmasi: 1 l bidistillangan suvga 8,0 NaCl; 0,4 KCl; 0,1 MgSO₄·7H₂O; 0,14 CaCl₂; 0,06 KH₂PO₄; 0,06 Na₂HPO₄; 1,0 glyukoza; 0,02 fenolrot; 0,07 NaHCO₃ qo'shiladi.

Erla eritmasi: 1 l bidistillangan suvga 6,8 NaCl; 0,4 KCl; 0,1 MgSO₄; 0,2 CaCl₂; 0,125 NaH₂PO₄; 2,2 NaHCO₃; 1,0 glyukoza qo'shiladi.

Bu tenglashtirilgan tuzli eritmalar barcha oziq muhitni tayyorlashda ishlatilish mumkin, chunki ular pH tutib turishini ta'minlab, hujayralarga kerakli bo'lgan anorganik moddalarni tegishli konsentratsiyada saqlab turadi.

Bulardan tashqari ular o'stirilgan hujayralarda har-xil vazifalarni bajarishda to'stiruvchi muhitni yuvishda virusni suyultirishda) foydalaniladi. Hujayralarni o'stirishda dispergiyalovchi tripsin va versen eritmaları ishlatiladi. Tripsin eritmasi (0,25% fosfat bufer eritmasida) to'qimani alohida bo'lakchalarga ajratishda, shisha yuzasiga yopishgan hujayralarni ajratib olishda foydalaniladi.

Versen eritmasi. Etilendiamintetrauksus kislotasi (0,02% - Xenks eritmasida) shisha yuzasidan hujayrani ajratishda ishlatiladi. Barcha eritmalar tegishli rejimda sterilanadi.

Idishlar Organizmdan tashqarida hujayrani o'stirish uchun ishlatiladigan idishlarning sifati katta ahamiyatga ega.

Idishlar steril, yog'sizlantirilgan bo'lib, zaharli xususiyatga ega bo'lmasligi kerak. Hujayralarni o'stirish uchun probirkalar 50, 100, 250, 500, 1000, 1500 ml,

matraslar 500, 1000, 2000 ml roller kolbalari, har xil pipetkalar, oziq muhitlar va eritmalar uchun flakonlar, har xil hajmdagi kolbalar, voronkalar kerak bo'ladi. (38-rasm)

Idishlarga ishlov berishning ko'p usullari bo'lib, har qaysi laboratoriya shu usullardan tejimli, yaxshi natija beruvchisini qo'llaydi.

Hujayrani o'stirishda, idishlarni kolbalarini tayyorlash va sterillash ishiga katta talab qo'yiladi.

Ko'pchilik holda idishlarni



Hujayralarni o'stirish uchun idish matrats

38-rasm.

yuvish, sterillashni noto'g'ri tashkil etish shisha yuzasiga hujayraning yopishmasligi yoki bir qavatli hujayralarning buzulishiga sababchi bo'ladi.

Idishlarga ishlov berishda og'ir metallarning zaharli tuzlariga hujayraning sezgirligini inobatga olish zarur.

Hujayra bilan muvaffaqiyatli ishlash uchun suvning sifatiga alohida e'tibor beriladi. Idishlarni chayqash uchun distillangan, yaxsisi ikki marta distillangan yoki ionsizlantirilgan, elektr o'tkazuvchanligi $2 \cdot 10^{-6}$ om/sm pH 6,2-6,8 bo'lgan suv ishlatiladi. Shisha idishlariga ishlov berish bir necha bosqichlardan iborat bo'lib:

1. Infeksiya bilan ifloslangan idishni 2-3% NaOH eritmasida 5-6 soat botirib qo'yiladi;

2. Suv bilan 3-4 marta chayib tashlanadi;

3. Kechasi bilan 0,3-0,5% "Lotos", "Losk" yoki B markadagi sovun kukuniga ivitib qo'yiladi;

4. Iliq "Lotos", "Losk" eritmasida va sim cho'tka yordamida yaxshilab yuviladi;

5. 8-10 marta suv bilan chayqab tashlanadi;

6. 0,5% HCl saqlovchi distillangan suv bilan chayqab tashlanadi.

7. 4-5 marta suv bilan chayqab so'ng 3 navbat distillangan suv bilan chayqaladi;

8. Qurutish shikafida quritiladi;

9. Qurutish shkafida (rezina tiqindan tashqari) 180°C 3-4 soat sterillanadi yoki 2 atm, 1,5-2 soat avtoklavlanadi.

Yangi idishlar sovunli iliq suvda yuvilib, suv bilan chayqaladi va 3 soat xrompikka botiriladi, 9 soat davomida oqar suvda yuvilgach, distillangan suvda bir necha marta yuvilib, quritiladi va sterillanadi. Oldindan ishlatilib kelingan eski idishlarga xrompik bilan 1 soat davomida ishlov beriladi.

Yangi rezina tiqinlar 1 soat mobaynida 5% sodaga qo'shib qaynatiladi, so'ngra issiq suv bilan yuviladi va 1 soat distillangan suvda qaynatilib, shu vaqt ichida distillangan suv olti marta almashtiriladi.

Ishlatilgan tiqinlar avtoklavlanadi yoki 1 soat mobaynida qaynatiladi. Chotka bilan tozalab bir necha marta, yuvilgach distillangan suvda bir marta chayiladi. So'ngra distillangan suvda 1 soat mobaynida qaynatilib, 3 marta distillangan suv bilan yuvilgach avtoklavda sterillanadi.

Metall instrumentlar sovun qo'shilgan issiq suvda yuvilib so'ngra suv bilan, undan keyin esa distillangan suv bilan yuviladi, distillangan suvda 30 daqiqa mobaynida qaynatib sterillanadi.

Steril boksda ishlash vaqtida instrumentlar 96^{b} etil spirti solingan stakanda saqlanadi, ishlatishdan oldin instrumentlar spirtlampa alangasida qizdiriladi.

Nazorat uchun savollar

1. Virusologiya laboratoriyasida qaysi turdagi oziq muhitlari qo'llanadi?
2. Oziq muhitlari va eritmalarning bir biridan farqi nimada?
3. Oziq muhitlari va eritmalarning sifati qaysi tarkibiy ko'rsatkichlarga binoan aniqlanadi?
4. Hujayralarni o'stirishda qaysi turdagi idishlar ishlatiladi?
5. Hujayralarni o'stirishda ishlatiladigan idishlarni tayyorlash qanday amalga oshiriladi?

9 - MAVZU

O'stirilgan hujayralar va ularni virusologiyada qo'llanilishi

Darsning maqsadi: O'stirilgan hujayralarning qo'llanishi, turlari va olinishi haqida tushuncha va tasavvurga ega bo'lish. O'stirilgan hujayraga viruslarni yuqtirish usuli bilan tanishish.

Kernli jihozlar: O'stirilgan hujayra mavzusiga oid ko'rgazmali tasvirlar; matraslar; normadagi har xil shakldagi birlamchi o'stirilgan hujayralar va chirmashib o'sayotgan to'qima kul'turalari.

Hozirgi paytda biron bir virusologiya laboratoriyasi o'stirilgan hujayrasiz ishlay olmaydi. Laboratoriya hayvonlari, tovuq homilasiga nisbatan o'stirilgan hujayralar quyidagi afzalliklarga ega:

- o'stirilgan hujayralarni barchasiga virusni yuqtirish tufayli oqsil ballastlarsiz yuqori konsentratsiyadagi virus saqlovchi materialni olish mumkin;
- yuqimli jarayonni doimo nazorat qilib kuzatish mumkin;
- o'stiruvchi suyuqlik holatida virusni tayyor suspenziyasini olish mumkin;
- zamburug' va bakteriyalarga nisbatan o'stiruvchi suyuqlikni to'lasincha steriligi saqlanadi;
- yuqtirish usuli oddiy bo'lib, virus saqlovchi materialni olish oson;
- nisbatan arzon;
- o'stirilgan hujayra viruslarni o'stirish uchun qulay bo'lgan laboratoriya sistemasi hisoblanadi.

Virusologiya amaliyotida o'stirilgan hujayralarni qo'llashdan maqsad: viruslarni birinchi bor uchratishda, patologik materialdan ajtatib olishda, viruslarni bir joyga to'plab vaksina va diagnostikumlar tayyorlashda, virus shtammlarini laboratoriyada saqlab turishda, viruslarni titrlashda neytrallash reaksiyasini qo'yishda, test ob'ekt sifatida ishlatishdir.

O'stirilgan hujayra - ko'p hujayrali organizmdan olingan va sun'iy sharoitda organizmdan tashqarida alohida yashayotgan va ko'payayotgan hujayralardir. Hujayrani o'stirish usuli o'tgan asrning 40-yillaridan boshlab, muvaffaqiyat bilan rivojlana boshladi (39-rasm)

Hunga antibiotiklarning ochilishi natijasida ko'pincha o'stirilgan hujayraga bakterial infektsiyaning yuqishiga chek qo'yildi.

Xuang (1943) va Enders (1949) yilda viruslarni hujayralarda o'sishi natijasida hujayra strukturasi o'zgarishi ya'ni (sitopatik effekt) chaqirishini aniqladilar.

Viruslarni hujayrada o'sishini va bu orqali virusni indikatsiyalash mumkinligiga va nihoyat Dal'bekko va Fogt (1952) tripsinlash usulini va bir qavatli hujayrani o'stirish usulini taklif etdilar. Virusologiya amaliyotida quyidagi o'stirilgan hujayralar ishlatiladi.

Termostatdan foydalanib viruslarni matraslarda o'stirish



39-rasm.

1. Birlamchi – tripsinda ishlov berilgan hujayralar

Organ yoki to'qimalardan olingan faqat bir qavat bo'lib o'sayotgan hujayralardir. O'stirilgan hujayralarni xoxlagan hayvon yoki odam organidan yoki to'qimasidan (homilasidan) tayyorlash mumkin. Iloji boricha homila to'qimalaridan yoki organlardan tayyorlansa, hujayralarning o'sish imkoniyati kuchli bo'ladi. Shuning uchun ko'pincha, yosh hayvonlardan buyrak, o'pka, teri, timus, homilaning testikulari olib ishlatiladi. Birlamchi hujayrani olish uchun sog'lom hayvon so'yilgandan so'ng 2-3 soat o'tar-o'tmas tegishli organ va to'qimalari olinib kattaligi 1-4 mm gacha maydalanadi va tripsin, pankreatin, kollogenaza fermenti bilan ishlov beriladi.

Fermentlar hujayra oralig'idagi moddalarni buzib hujayralarni yakka holga keltiradi. Yakka holdagi hujayralarni oziq muhitga solinib 37°C o'stirishga qo'yiladi. Hujayralar probirka va matras devorlariga yopishgan holda bo'lina boshlaydi.

Hujayraning o'sish davri bir necha fazalardan iborat: adaptatsiya, logarifmik o'sish stasionardagi va hujayraning eskirishi tufayli o'lishi. Hujayra o'sish davrida shishaning butun borlig'ini yopib olgandan so'ng bir-biriga tegishi natijasida bo'linishdan to'xtaydi. Idish ichida bir hujayra qalinligida qavat hosil bo'lib, bunga bir qavatli o'sish deyiladi. (40-42 rasmlar).

Oziq muhiti hujayraning yashovchanlik vaqtida ajratib chiqargan mahsulotlar bilan ifloslanishi hisobga olinib, almashtirib turiladi. Bir qavatli o'sish o'zining yashovchanligini 7-21 kun davomida saqlab turadi. Viruslarni o'stirish uchun yosh o'stirilgan hujayralar ishlatiladi.



40-rasm.
Mikrotashigichda
hujayrani o'stirish.

Subkulturalar - virusologiya amaliyotida birlamchi hujayralar o'stirilgan matraslarning shisha devoridan tripsin va versen yordamida ajratib olinadi va oziq muhitida qaytadan suyultirilib boshqa matras yoki probirkalarga ko'chirib ekiladi. 2-3 sutka mobaynida bir qavatli hujayra hosil bo'ladi.

Amaliyotda subkulturalar birlamchi o'stirilgan hujayralardan olinadi. Subkulturalar viruslarga sezgirliги jihatidan birlamchi o'stirilgandan qolishmaydi, undan tashqari ular tejamli bo'lib, hujayralarni virus bilan kontaminatsiyalashini ko'rsatishi mumkin. Sub-kul'turalar 2-5 passajdan keyin ayrim holda 8-10 passajdan so'ng olinadi.

Keyinchalik passaj qilish natijasida hujayraning shakli o'zgarishi va so'ngra o'lishi mumkin. O'stirilgan hujayralar 10 marta passaj qilingandan so'ng chirmashib o'suvchi to'qimalarga o'tish bosqichida bo'ladi.



41-rasm. Qo'y homilasining o'pkasidan
tayyorlangan birlamchi o'stirilgan hujayra.



42-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlangan
birlamchi o'stirilgan hujayra.

2. Chirmashib o'suvchi to'qima kulturalari - Bu hujayralar organizmdan oshqoribida uzoq muddatgacha ko'payish qobiliyatiga ega. laboratoriya sharoitida ularni saqlash uchun bir idishdan ikkinchi idishga ko'chirib ekish tufayli saqlab, oziq muhit har doim yangisiga almashtirib turiladi.

O'sishda yuqori aktivlikka ega bo'lgan, ma'lum bir tartibda uzoq muddat ko'chirib o'tkazilgan birlamchi o'stirilgan hujayralardan chirmashib o'suvchi to'qima kulturalari tayyorlanadi. Yangi hujayra qatoridagi chirmashib o'suvchi to'qima kulturalarini kelib chiqish mexanizmini hujayraning genetik o'zgarishi natijasida yoki ayrim hujayralarni seleksiyalanishida- birlamchi tayyorlangan hujayra tarkibida bor bo'lgan hujayra deb tushuntiriladi.

Chirmashib o'suvchi to'qima bir xil shaklda bo'lib, o'sishi hatto ayrimlari onkogen aktivlikka ham ega. Chirmashib o'suvchi to'qimaning onkogen aktivlikka ega bo'lish xususiyati, viruslarni o'stirib vaksina tayyorlash vazifasini cheklaydi.

Chirmashib o'suvchi to'qima hujayralarini sog'lom hayvonlar to'qimasidan yoki zararli shish to'qimalaridan tayyorlash mumkin. Bularning ichida quyidagi qatoridagi hujayralar keng ishlatiladi:

Hela – (ayollar bachadonining bo'yin qismi hujayrasidan, rak kasalligida);

Hep – 2 (odam qizil o'ngachining kartsinomasida);

KB – (og'iz bo'shlig'ining rakida);

BNK – 21 (yangi tug'ilgan xomyakchalar buyragida);

PPES – (pervivaemaya pochka embriona svin'i) cho'chqa homilasining o'suvchi buyragi;

PPT (pervivaemaya pochka telyonka) - chirmashib o'suvchi buzoq buyragi;

PPO (pervivaemaya pochka ovets) - chirmashib o'suvchi qo'y buyragi;

TR (iz slizistoy traxei korov) - sigir traxeyasining shilimshig'i;

L (mishinie fibroblasti) - sichqon fibroblastlari;

COS (iz serdsa obezyani sinomolgus) - sinomol'gus maymunining yuragidan va boshqalar.

Chirmashib o'suvchi emlanadigan hujayralarning bir qator afzallik tomonlari bor:

Ularni tayyorlash deyarli oddiy, mehnat va moddiy vositalar tejraladi;

Bu kulturalarni oldindan latent virus yoki mikroflora borligiga tekshirish mumkin;

Klon liniyalari o'sishi uchun standart sharoit bilan taminlaydi, birlamchi hujayralarda esa hujayralarning aralash populyatsiyasi mavjud.

Birlamchi kulturalarga nisbatan ko'pchilik chirmashib o'suvchi hujayralar viruslarga keng spektrda sezgir. Ammo chirmashib o'suvchi hujayralarning kelib chiqishidan va viruslarga sezgirligining kamayishidan qat'iy nazar, zararli shish qatoridagi chirmashib o'suvchi hujayralardan foydalanish zarur.

Chirmashib o'suvchi hujayralarni har doim qayta ekib turish tufayli saqlab turiladi. Ko'pchilik holda sentrifugasiz usuldan foydalaniladi.

Navbatdagi ko'chirib ekish 2-3 kunlik kul'turani yaxshi qavatidan olish uchun oziq muhit to'kib tashlangach, hujayra qavatini 35-37°C qizdirilgan 0,02% - versen eritmasi bilan yopiladi.

Versenni dispergiyalash ta'siri Mg^{+} , Ca^{++} ikki valentli kationlari hujayrani shishaga yopishishini yaxshilab, hujayraning butunligini ta'minlaydi.

Versen ta'sirida hujayralar yumaloqlanib, shisha devoridan ajrala boshlaydi. Hujayra yumaloqlangandan so'ng 10-15 daqiqa o'tgach versen quyib olinib, 1 litrli matrasda 10-15 ml, 0,1 litrlida 2-3 ml qoldiriladi va 5-10 daqiqa vaqti-vaqti bilan chayqatilib tutib turiladi, so'ngra bir oz miqdordagi oziq muhitdan solinadi.

Hujayra oziq muhitida aralashtirilgach, Goryaev to'rida sanaladi. 1 ml 80-200 ming miqdordagi hujayra oziq muhit bilan aralashtirilib, probirka va matraslarga quyilib rezina tiqin bilan yopiladi, so'ngra $37^{\circ}C$ 3-4 kun termostatda to'lasincha bir qavat hujayra hosil bo'lguncha o'stirish uchun qo'yiladi.

Ko'pchilik holda Goryaev to'rida hujayrani sanamasdan 1:2, 1:6 koeffitsientda ekiladi bu holda hujayraning turi inobatga olinadi.

Oziq muhitning tarkibi hujayraning turiga bog'liq bo'lib, ko'pincha chirmashib o'suvchi hujayrani o'stirish uchun Igla muhiti, 199 yoki gidrolizat laktalbuminidan foydalaniladi.

Chirmashib o'suvchi hujayralarni tartibli ravishda qaytadan ekish uchun laboratoriyada bir matrasni doimo saqlab turilib, avvalgi ekish yaroqsiz bo'lgan holda hujayrani ushbu matrasdan olib ekiladi.

3. Diploidli hujayra kulturasi - Hujayra kulturasi bo'yicha xalqaro komitet diploidli hujayralarni quyidagicha ta'riflaydi - hujayra populyatsiyasi morfologik bir xil bo'lgan in vitro - o'stirish jarayoniga moslashgan, cheklangan hayotiychanlikka ega, uch fazada o'sishi, passaj natijasida kariotipni saqlab qoluvchi, olingan to'qimaga o'xshash kontaminantlardan ozod va xomyakchalarda transplantatsiyalashda tumorogen aktivlikka ega bo'lmagan hujayralardir.

Diploidli hujayra kulturasini ham chirmashib o'suvchi hujayralardek, birlanchi o'stirilgan hujayradan olinadi. Hujayra kariotipi juda labil bo'lib, oddiy usullarda o'stirilganda birinchi kundanoq o'zgaradi. Shuning uchun to'qimaga ishlov berishda maxsus usullardan foydalanish talab qilinadi.

Diploid holatida in vitro hujayrani uzoq vaqt saqlab turish uchun yuqori sifatga ega bo'lgan oziq muhitlardan foydalaniladi.

Bu vazifani amerikalik olimlar Xeyflik va Murxed (1961) birinchi bo'lib muvaffaqiyatli echdilar. Diploidli hujayralar (o'pka, buyrak, teri-muskul to'qimasi, yurak va boshqalar) odam homilasining har xil to'qimalaridan olingan bo'lib, yirik shoxli hayvon homilasining buyragidan, cho'chqa, BHK-21 xomyakchalarning buyragi va boshqalardan tayyorlanadi.

Diploid hujayralarni chirmashib o'suvchi hujayralardan farqi shuki ularda passaj qilish cheklangan.

Maksimal passaj qilish soni 50 ± 10 bo'lib so'ngra bo'linadigan hujayralar soni birdan kamayib, so'ngra o'ladi.

Ammo diploidli hujayralar uzoq muddat ishlatilishi mumkin, chunki har bir passajda hujayralarni qisman minus $196^{\circ}C$ muzlatilib, kerak bo'lgan taqdirda yana qaytadan tiklash mumkin. Diploidli hujayralarni chirmashib o'suvchi va birlanchi hujayralarga nisbatan ustunligi bor:

Oziq muhitni almashtirganda ham ular 10-12 kun yashovchanlik holatini saqlab qoladi;

Haftada bir marta oziq mihit yangilanadi, 4 haftagacha yashovchanlik holatini saqlab turadi; shu to'qimaga nisbatan sezgirliги saqlanib qolgan viruslarni uzoq vaqtgacha o'stirish uchun yaroqli hisoblanadi.

Suspenziyali hujayra kulturası.

1953 yilda Ouens xodimlari bilan hujayraning suspenziyali holatda erkin ko'payish xususiyatlarini ko'rsatdi.

So'ngi yillarda bu usul bir necha bor takomillashtirildi: mukammal belgilangan (harorat, pH, almashtirish tezligi) parametrlı zamonaviy apparatlar ixtiro qilindi ko'p miqdordagi chirmashib o'suvchi hujayralar shu sharoitda BHK-21, Hep-2, MDBK ko'payishga moslashtirildi.

Suspenziyali kulturalarda viruslarning o'stirilishi ishlab chiqarish sanoatida vakcina va diagnostikumlarni tayyorlash mumkinligini isbotladi.

Lekin faqatgina chirmashib o'suvchi hujayralar suspenziyada yaxshi o'sadi. Suspenziyada hujayralarni o'stirish yangi yo'nalish bo'lib (sefadeks, silikagel, sitolar va boshqa) mikro tashigichlar ishlatila boshlandi. Mikrotashigichlarda o'stirilayotgan hujayralar (monosloy) bir qavat hosil qiladi.

Shunday qilib suspenziyali o'stirish usulida qattiq substratda yopishgan holda: birlamchi, subkultura, diploidli hujayralar parvarish qilinadi.

Bunday hujayralarni yuzaki-qaram bo'lganlar deb atash qabul qilingan.

Mikrotashigichlarda o'stirish uslubi hozirgi paytda juda ham mashxur bo'lib hujayra, biotexnologiyasida, vakcina yoki boshqa biologik aktiv moddalar (interferon, gormonlar va boshq.) olishda katta yo'nalishni tashkil etadi.

Hujayra kulturasini saqlash

Virusologiya tekshiruvlarida qo'llaniladigan asosiy uchta turdagi hujayra kulturasini – birlamchi kultura, diploidli shtammlar va chirmashib o'suvchi qatorlari ko'p holda konsepsvatsiyalashga to'g'ri keladi, chunki uzoq muddat in vitro passaj qilinishi tufayli bakteriyalar bilan ifloslanishiga va hujayrani nazorat qilib bo'lmaydigan o'zgarishlarga olib kelishi mumkin.

O'stirilgan hujayralarni konservatsiyalashning eng oddiy usuli 4°C 1-6 haftacha saqlab turish hisoblanadi. Hujayra shtammlarini saqlashda (minus 78°C) quruq muz yoki (minus 196°C) suyultirilgan azot muvaffaqiyatli qo'llanilmoqda.

Buning uchun hujayralar matrasdan ajratilib 10⁶ konsentratsiyagacha 1 ml oziq maholda aralashtiriladi. Himoya vazifasini o'tovchi 10-40% zardob va 10% tozalangan etil glitserin (glitserin o'rniga DMSO- dimetilsul'foksid) ishlatilishi mumkin.

So'ngra hujayra suspenziyasi ampulalarga quyilgach, kavsharlanadi, 4°C 1-3 soat itib turilgach hujayralar etil spirti aralashtirilgan quruq muz bilan muzlatiladi. Ho'lish tezligi 1 daqiqaga 1°C dan oshmasligi kerak.

Haroratni minus 25°C pasaytirgach ampulalarni saqlash uchun quruq muzga joylashtiriladi.

Agar saqlash uchun quruq azot ishlatilsa u holda hujayra solingan ampula minus 70°C sovutilib so'ngra suyuq azotga qo'yiladi.

Suyuq azotda hujayralarni bir necha yil saqlanishi ularning proliferativ aktivligini, viruslarga sezgiriligini o'zgartirmaydi. Muzlatilgan hujayralar solingan

ampula tezlik bilan suv hammomiga 1-2 daqiqaga solinib, engilgina silkitilib turiladi, so'ngra hujayralarni matrasga quygach, ma'lum miqdordagi o'stiruvchi muhit qo'shilib termostatda 37°C da o'stirish uchun qoldiriladi.

Glitserinni yoki DMSO ajratish uchun hujayra ekilganining ertangi kuni oziq muhit almashtiriladi.

Hujayralarni transport orqali yuborishda matrasda o'sgan bir qavat hujayra ustiga qo'shimcha oziq muhitdan quyilib, so'ngra rezina tiqin bilan yopiladi.

Laboratoriyada oziq muhit quyib olinib, shu hujayralarni o'stirishda qo'shimcha oziq muhit sifatida ishlatiladi. Hujayra suspenziyasini 4°C tashuvchi orqali yuborish mumkin.

Qizdirish va muzlatish bo'lmaganda transport orqali yuborish vaqtida 80-90% hujayralar yashovchanligini 7-8 kungacha saqlab qoladi.

O'stirilgan hujayralar bilan ishlashda foydalaniladigan idishlar mukammal tozalanadi, eritmalarni, bunda oziq muhitni va yuqori sifatli suvning toza bo'lishi talab qilinadi.

Virusni muvaffaqiyatli ajratib olish uchun quyidagi qoidaga rioya qilish zarur:

1) Ishlatilayotgan hujayra, o'rganilayotgan virusga sezgir bo'lishi kerak. Hujayralar yosh hayvonlardan (homiladan) olingan bo'lsa virusga sezgirligi katta bo'ladi;

2) Yuborilayotgan virus eski bo'lmasdan, uzoq saqlanmagan bo'lishi kerak. Aktivligi yoqotilgan virus populyatsiyasi virusning virulent bo'lakchalarining ko'payishini to'xtatadi.

Viruslarni virulentligi ma'lum bir suyultirish tufayli navbatma-navbat o'tkaziladigan seriyali passaj tufayli oshadi;

3) Virusni hujayraga yuqtirishda aniq nisbatda tenglashtirib o'stirilib boriladi. 10mln hujayraga 10^6 - 10^4 TST₅₀ o'rtacha kattalikda tavsiya etiladi;

4) Virus hujayraga o'rnatish adsorbsiyalanib olgandan song quvvatlab turuvchi muhitdan qo'shiladi.

Ko'pincha 22-37°C 1-2 soatdan so'ng amalga oshishi virusga ko'pdan ko'p bog'liq. Bir qavat hujayralarga virusni bir tekisda yuqtirish lozim;

5) Viruslarning ko'payishi uchun optimal harorat 36-38°C. Iliq muhitda erkin holda virusning bo'lishi uning aktivligini yo'qolishiga olib keladi. Virusning 75% sitopatogen ta'sir ko'rsatganini olish maqsadga muvofiq.

Nazorat uchun savollar

1. Virusologiyada o'stirilgan hujayralardan nima maqsadlarda foydalanamiz?
2. O'stirilgan hujayralarning boshqa tirik sistemalarga nisbatan afzallik tomonlari nimada?
3. O'stirilgan hujayralarning turlari to'g'risida gapiring va ularni ta'riflab bering.
4. O'stirilgan hujayralarning yashovchanlik davri necha kun va u qanday omillarga bo'liq?
5. O'stirilgan hujayra kulturalari qanday sharoitda saqlanadi

10 - MAVZU

O'stirilgan hijayralarga virusni yuqtirish va indikatsiyalash.

Darsning maqsadi: Tovuq homilasining fibroblastlaridan birlamchi o'stirilgan hujayra olish; o'stirilgan hujayraga viruslarni yuqtirish; sitopatik ta'sir bo'yicha hujayrada virusning ko'payganligini aniqlash usullari; gemadsorbsiya reaksiyasini qo'yiladi o'zlashtirish.

Kerakli jihozlar: sterillangan maxsus kiyim (xalatlar, bosh kiyimi, yuz yopqichi); 9-11 kunlik tovuq homilalari; ovoskoplar yoki OI-19 yoritgichi; tuxumni qo'yish uchun moslama; spirt lampalar; steril instrumentlar joylashtirilgan sterilizatorlar (to'g'ri va egri ko'z qaychilari, anotomik pinsetlar); magnitli aralashtirgich; sentrifuga; steril sentrifuga probirkalari; muz solingan idish; mikroskoplar; Goryaev kamerasi; probirkalami joylashtirish uchun moslama; steril idishlar (petri likopchasi, bankachalar, tripsinlash uchun magnit solingan kolba; doka filtrlar, graduirlangan 1, 2, 5 va 10 ml pipetkalar, rezina tiqimli probirkalar, 100-1500 ml matraslar, roller kolbalari); eritmalar va muhitlar (normadagi birlamchi o'stirilgan hujayralar tovuq fibroblastlari) chirmashib o'sadigan to'qima kul'turalari (PPT yoki Hep-2) va viruslar yuqtirilgan (nyukasl kasalligi, YuRT, Pg-3) probirkalar; eritmalarning 0,5%- suspensiyasi yoki dengiz cho'chqachasiniki; virus saqlovchi material; blyashkasi bor matraslar, o'stirilgan to'qima kulturalaridan tayyorlanib bo'yalgan mikropreparatlar, rangli ko'rgazmali tasvirlar va slaydlar.

Tovuq homilalarining teri-muskul to'qimasidan birlamchi tripsinlangan hujayra olish

9-11 kunlik tovuq homilalari ovoskopda qarab ko'riladi. Qon tomirlari yaxshi ko'ringan, harakatchan homilasi bor tuxum tanlanadi. Oddiy qalam bilan havo kamerasi va homilaning joylashishi belgilanadi. Tuxum po'chog'iga yod qo'shilgan spirt surtilib so'ngra yondiriladi.

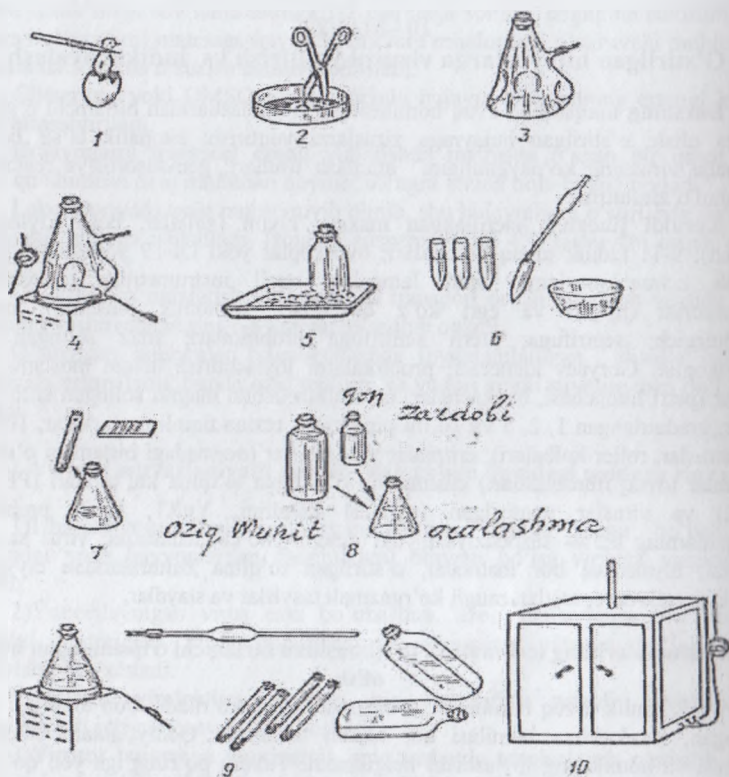
Steril qaychi bilan havo kamerasining chegarasidan 2-3mm yuqoridan qirqiladi, po'choq osti, xorionallantois parda yirtilib, homilaning bo'ynidan tortib olingach steril Petri likopchasiga qo'yiladi (43-rasm).

Homilaning boshi, qanotlari, oyoqlari va ichki organlari olib tashlanadi. Qolgan teri-muskul xaltasi steril bankaga solinib qaychi bilan 3-4 mm kattalikda qirqiladi.

Maydalangan to'qima 2-3 marta Xenks eritmasi bilan yuvilib, shilim-shiq va qo'q elementlaridan tiniq suyuqlik hosil bo'lguncha yuviladi va tozalangach tripsinlash uchun kolbaga quyiladi.

Kolbaga 10,15%-li tripsin eritmasi 35-37°C qizdirilib quyiladi (to'qimaning va tripsinning nisbati 1/3) so'ngra steril magnitcha solinib magnitli aralashtirgichga qo'yiladi (44-rasm).

Tripsinlash bo'lib-bo'lib bajariladi, har 3-5 daqiqada ajralib chiqqan hujayralar tripsin bilan birgalikda sentrifuga probirkalariga quyiladi va muz ustiga yoki muzxonaga hujayraga tripsin ta'sir qilmasligi uchun qo'yiladi. Kolbalardagi qolgan massaga tripsinning yangi porsiyasi, pufak hosil bo'lmasligi uchun magnitli aralashtirgich moslashtiriladi. Bu jarayon to'qima to'lasincha ariqlaguncha 3-5 marta takrorlanadi.



43-rasm. Hujayrani o'stirish uchun tayyorlash sxemasi.

1-homilani chiqarish; 2-boshini kesish; maydalash; 3-bir necha marta yuvish; 4-tripsinlash; 5-hujayra aralashmasini muz ustiga qo'yish; 6-sentrifugalash va tripsindan ajratish; 7- cho'kmani oz miqdordagi muhi bilan qayta sentrifugalash va hujayrani sanash; 8-kerakli konsentratsiyaga etkazish; 9-hujayralarni matras va probirkalga ekish; 10-termostatga qo'yish.

Trypsin eritmasida hujayra suspenziyasini tripsinlagach 1000 ayl/daq. 10 daqiqa sentrifugalanadi.

Cho'kma ustidagi suyuqlik 37°C bo'lgan oziq muhitda aralashtiriladi va 3 qavatli doka filtdan o'tkaziladi. Hujayralar yaxshi aralashtirilgach 1 ml olinib hujayralarning soni aniqlanadi.

Hujayralarni o'stirishdagi muvaffaqiyat ko'p jihatdan ekiladigan miqdor, bog'liq. Hujayralar kam ekilganda uzoq vaqt inkubatsiyalanganida ham bir qavatli hujayra (monosloy) hosil bo'lmaydi.

Juda katta miqdorda ekilgan hujayrada intensiv ravishda proliferatsiya kuchib, hosil bo'lgan qavat tez qariydi, spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga uchraydi.

Hujayralarni sanash Goryaev torida bajariladi. 1ml hujayra aralashmasiga 0,1 N limon kislotasida tayyorlangan 0,1% kristallviolet eritmasidan teng miqdorda qo'shiladi.

Kamera tayyor bo'lgach hujayra aralashmasi bilan to'ldiriladi va yadrosi va sitoplazmasi zararlanmagan barcha hujayralar sanaladi; oziq konturidagi hujayra guruhi bir hujayra hisobidan sanaladi. Ikki kameradagi hujayrani sanash tufayli o'rtacha arifmetik son olinadi.

4 ml suspenziyadagi hujayralar soni (x) quyidagi formula bilan hisoblanadi: $X = (Ax \times 1000) : 0,9$;

bu erda A-bir kameradagi hujayralarning o'rtacha soni;

0,9 – Goryaev to'ringining hajmi, mm^3 ;

1000- 1 sm^3 da mm^3 soni;

2 qo'shilgan bo'yoq hajmida suyultirilgan suspenziyaning koeffitsienti.

Hujayralar sanalgach, oziq muhitda shunday hisobda suyultiriladi, demak 1ml da 700 mingdan to 1mln. gacha hujayra (tovuq fibroblastlari uchun) bo'lsin.

Misol. Olingan 1ml hujayra suspenziyasida 4mln hujayra bo'lsa, demak 100ml suspenziyada jami hujayralarning soni 400 mln. Ekish konsentratsiyasi 1ml ga 1mln hujayra, 100 ml hujayra suspenziyasiga 400 ml bo'lguncha oziq muhitdan qo'shiladi.

So'ngra matras yoki probirkalarga quyiladi. Probirkalarga 1ml dan, 1000, 250, 100 ml hajmdagi matraslarga 100, 40 va 15 ml hujayra aralashmasi quyiladi. Matras va probirkalar steril rezina tiqin bilan (muhit ishqorlanib qolmasligi uchun zichlab yopiladi, va kul'turaning turi, sana yozib qo'yiladi).

Probirkalarga mumli qalam bilan uzunasiga chiziq chiziladi, chiziqni yuqoriga qaratilgan holda 5^0 qiyalikda maxsus shtativga yotqizilib 37^0C termostatga joylashtiriladi. Har kuni mikroskopning kichik kattalashtirgichida hujayraning o'sish jarayoni aniqlab boriladi. Agar hujayralarda proliferatsiya bo'lmasdan yumaloq, donador, hujayra qora rangda qavat-qavat bo'lib shishadan ajralib tursa bu esa muhitdagi zardobning zaxarli ta'siridan dalolat beradi. Proliferatsiyalanayotgan hujayra tiniq, sitoplazmatik o'simtalar bilan birlashgan, bir qavatli plastdek o'sadi. Hujayraning ko'payish jarayonida moddalar almashinu-ving mahsuloti ajraladi, bunday oziq muhitining pH kislotali tamonga o'tib muhitni sarg'aytiradi. Bu esa hujayralarga yomon ta'sir ko'rsatib, hatto hujayraning o'lishiga sababchi bo'ladi. Bunday muhit yangisiga almashtiriladi.

Tovuq fibroblastlari to'lasincha bir qavatli hujayralarni (monosloyni) 36-48 soat ichida hosil qiladi. Birgina tovuq homilasidan 70-120 mln hujayra olinadi.

Tovuq fibroblastlaridan tayyorlanib o'stirilgan hujayralar Aueski kasalligining virusi, parrandalarning o'lat, n'yukasl kasalligi, parrandalarning gripp, Raus sarkomasi virusi va boshqa viruslar bilan ishlashda qo'llaniladi.

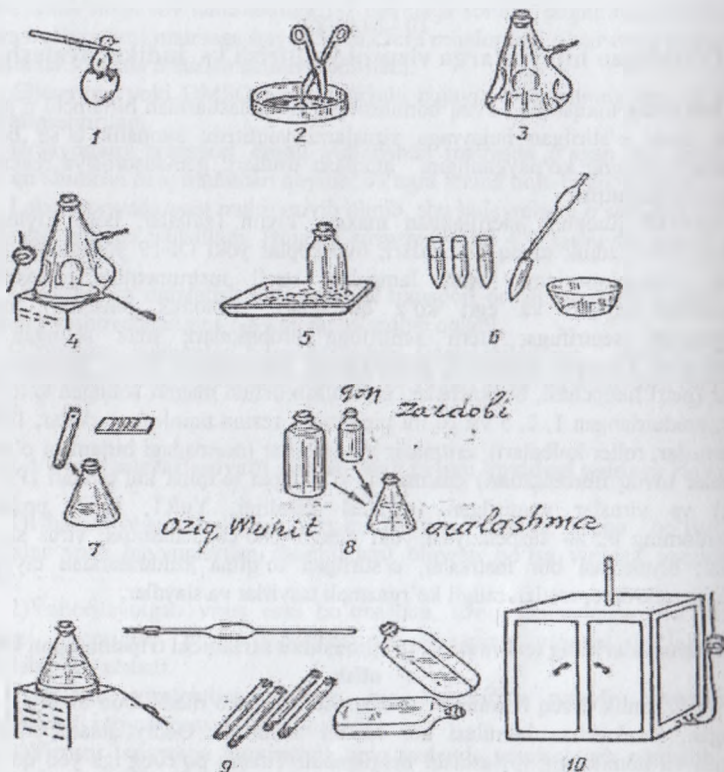
Viruslarni o'stirilgan hujayralarda o'stirish

O'stirish uslubi quyidagilardan iborat:

- 1) o'stirilgan hujayrani tanlash;
- 2) virus saqllovchi materialni olish;
- 3) yuqtirish uchun tayyorlash;
- 4) virus saqllovchi materialni hujayraga yuqtirish;



44-rasm. Magnitli aralashtirgich.



43-rasm. Hujayrani o'stirish uchun tayyorlash sxemasi.

1-homilani chiqarish; 2-boshini kesish; 3-bir necha marta yuvish; 4-tripsinlash; 5-hujayra aralashmasini muz ustiga qo'yish; 6-sentrifugalash va tripsindan ajratish; 7-cho'kmani oz miqdordagi muhit bilan qayta sentrifugalash va hujayrani sanash; 8-kerakli konsentratsiyaga etkazish; 9-hujayralarni matras va probirkalarga ekish; 10-termosta'ga qo'yish.

Tripsin eritmasida hujayra suspenziyasini tripsinlagach 1000 ayl/daq. 10 daqiqaga sentrifugalanadi.

Cho'kma ustidagi suyuqlik 37°C bo'lgan oziq muhitda aralashtiriladi va 3 qavatli doka filtdan o'tkaziladi. Hujayralar yaxshi aralashtirilgach 1 ml olinib hujayralarning soni aniqlanadi.

Hujayralarni o'stirishdagi muvaffaqiyat ko'p jihatdan ekiladigan miqdorga bog'liq. Hujayralar kam ekilganda uzoq vaqt inkubatsiyalanganda ham bir qavatli hujayra (monosloy) hosil bo'lmaydi.

Juda katta miqdorda ekilgan hujayrada intensiv ravishda proliferatsiya kechib, hosil bo'lgan qavat tez qariydi, spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga uchraydi.

Hujayralarni sanash Goryaev torida bajariladi. 1ml hujayra eritmasiga 0,1 N limon kislotasida tayyorlangan 0,1% kristallviolet eritmasidan teng miqdorda qo'shiladi.

Kamera tayyor bo'lgach hujayra aralashmasi bilan to'ldiriladi va yadrosi va sitoplazmasi zararlanmagan barcha hujayralar sanaladi; oziq konturidagi hujayra guruhi bir hujayra hisobidan sanaladi. Ikki kameradagi hujayrani sanash tufayli o'rtacha arifmetik son olinadi.

4 ml suspenziyadagi hujayralar soni (x) quyidagi formula bilan aniqlanadi: $X = (A \times 2 \times 1000) : 0,9$;

bu erda A-bir kameradagi hujayralarning o'rtacha soni;

0,9 – Goryaev to'rtining hajmi, mm^3 ;

1000- 1 sm^3 da mm^3 soni;

2-qo'shilgan bo'yoq hajmida suyultirilgan suspenziyaning koeffitsienti.

Hujayralar sanalgach, oziq muhitda shunday hisobda suyultiriladi, demak 1ml da 700 mingdan to 1mln. gacha hujayra (tovuq fibroblastlari uchun) bo'lsin.

Misol. Olingan 1ml hujayra suspenziyasida 4mln hujayra bo'lsa, demak 100ml suspenziyada jami hujayralarning soni 400 mln. Ekish konsentratsiyasi 1ml ga 1mln hujayra, 100 ml hujayra suspenziyasiga 400 ml bo'lguncha oziq muhitdan qo'shiladi.

So'ngra matras yoki probirkalarga quyiladi. Probirkalarga 1ml dan, 1000, 250, 100 ml hajmdagi matraslarga 100, 40 va 15 ml hujayra aralashmasi quyiladi. Matras va probirkalar steril rezina tiqin bilan (muhit ishqorlanib qolmasligi uchun zichlab yopiladi, va kul'turaning turi, sana yozib qo'yiladi).

Probirkalarga mumli qalam bilan uzunasiga chiziq chiziladi, chiziqni yuqoriga qaratilgan holda 5^o qiyalikda maxsus shtativga yotqizilib 37^oC termostatga joylashtiriladi. Har kuni mikroskopning kichik kattalashtirgichida hujayraning o'sish jarayoni aniqlab boriladi. Agar hujayralarda proliferatsiya bo'lmasdan yumaloq, doimiy, hujayra qora rangda qavat-qavat bo'lib shishadan ajralib tursa bu esa muhitdagi zardobning zaxarli ta'siridan dalolat beradi. Proliferatsiyalanayotgan hujayra tiqin, sitoplazmatik o'simtalar bilan birlashgan, bir qavatli plastdek o'sadi. Hujayraning ko'payish jarayonida moddalar almashinu-vining mahsuloti ajraladi, bunday oziq muhitning pH kislotali tamonga o'tib muhitni sarg'aytiradi. Bu esa hujayralarga yomon ta'sir ko'rsatib, hatto hujayraning o'lishiga sababchi bo'ladi. Bunday muhit yangisiga almashtiriladi.

Tovuq fibroblastlari to'lasincha bir qavatli hujayralarni (monosloyni) 36-48 soat ichida hosil qiladi. Birgina tovuq homilasidan 70-120 mln hujayra olinadi.

Tovuq fibroblastlaridan tayyorlanib o'stirilgan hujayralar Aueski kasalligining virusi, parrandalarning o'lat, n'yukasl kasalligi, parrandalarning gripp, Raus sarkomasi virusi va boshqa viruslar bilan ishlashda qo'llaniladi.

Viruslarni o'stirilgan hujayralarda o'stirish

O'stirish uslubi quyidagilardan iborat:

- 1) o'stirilgan hujayrani tanlash;
- 2) virus saqlovchi materialni olish;
- 3) yuqtirish uchun tayyorlash;
- 4) virus saqlovchi materialni hujayraga yuqtirish;



44-rasm. Magnitli aralashtirgich.

- 5) hujayrada viruslarni o'stirish;
- 6) o'stirilgan hujayrada virusni indikatsiyalash;
- 7) o'stiruvchi suyuqlikni to'plab u erdagi virusni identifikatsiyalash

O'stirilgan hujayrani tanlash - Har xil hujayralar istalgan virusga sezgir emma. Viruslarni birlamchi o'stirilgan hujayralarga moshlashuvi, ushbu virusga sezgilar bo'lgan hayvon organidan tayyorlangan bo'lsa muvaffaqiyatli bo'ladi. Ammo chirmashib o'suvchi hujayralarga viruslarning moslashuvi murakkab bo'lib, ko'pchilik holda amalga oshmaydi. Ayrim viruslarni o'stirish uchun hozirgi kungacha o'stirilgan hujayralardan foydalanish mumkin bo'lmasdan kelmoqda.

Viruslarni o'stirish uchun yosh hujayralar ishlatiladi, birinchi kundanoq ayrim hollarda (cho'chqalarning parvoviruslarida) hujayrani ekish jarayonida virus yuqtiriladi, chunki bo'linib ko'payayotgan hujayrada viruslar ham samarali ko'payish boshlaydi.

Hujayraga yuqtirish - Buning uchun bir qavat hujayra hosil qilingan probirka, matras mikroskopning kichik kattalashtirgichida qarab ko'rilgach, tanlab olinadi. O'stiruvchi oziq muhit quyib olinadi, so'ngra hujayrani zardob antitellolari va ingibitorlaridan ajratish uchun 1-2 marta Xenks eritmasi bilan yuviladi.

Har bir probirkaga 0,1-0,2 ml virus saqllovchi material quyilib, hujayra yuzasiga bir tekisda tarqatib chiqiladi. Shu holatda probirkalar matraslar 1-2 soat davomida 22-37°C hujayra yuzasiga virus adsorbsiyalanishi uchun qoldiriladi.

So'ngra virus saqllovchi materialni probirka, matrasdan quyib olinib quvvatlab turuvchi muhitdan probirkalarga 1-2 ml matras hajmining 10% miqdorida quyiladi. Patologik materialdan virusni ajratib olishda ayrim namunalar (fekaliy va boshqa) hujayraga zaharli ta'sir ko'rsatishi mumkin, shuning uchun virus bir qavatga so'rilgandan so'ng Xenks eritmasi yordamida 1-2 marta yuvib tashlanib, so'ngra quvvatlab turuvchi muhit quyiladi.

Virislarni o'stirish - Probirkalar, matraslar rezina tiqin bilan mustahkam yopilgach inkubatsiya uchun 37°C termostatga qo'yiladi.

Hozirgi paytda stasionarda viruslarni inkubatsiyalash keng qo'llanilmoqda. Bunday sharoitda matraslar gorizontol holatda joylashtiriladi, probirkalar 5° burchak ostida yotqizilib hujayra monosloyi oziq muhit tagida turishi kerak.

Bir qator laboratoriyalarda virus yuqtirilgan hujayralar aylanadigan Rollee sistemasida inkubatsiyalanadi. Bunday statsionar usuldan foydalanish tufayli virusni yuqori titrda o'stirib ko'p miqdorda olish mumkin. Materialning har bir namunasiga 0-10 probirkadagi o'stirilgan hujayra kerak bo'ladi.

Nazorat qilish uchun 4-6 probirkada yuqtirilmagan hujayra qoldirilib ularning o'stiruvchi muhitini quvvatlab turuvchi muhitga almashtiriladi.

Virus yuqtirilgan hujayralarning oziq muhitini 7-kun davomida almashtirilmagan ham bo'ladi, oziq muhitni pH (6,9-7,4) 7,5% natriy bikarbonatning eritmasi yordamida tutib turish mumkin.

Adenoviruslar yuqtirilgan hujayralar uzoq muddat o'sishi sababli oziq muhit almashtiriladi.

Barcha probirka, matraslardagi hujayralarga virus yuqtirilgandan so'ng har kuni mikroskopning kichik kattalashtirgichida hujayrani taqqoslab ko'rib turish uchun virus yuqtirilgan nazoratdagi hujayralar tekshirib boriladi.

Termostatda, hujayraga adsorbsiyalangan virus bo'lakchalarining hujayra ichkariga kirishi natijasida ularning reproduksiyalanishi boshlanadi.

Hujayra ichida hosil bo'lgan yangi virus bo'lakchalari to'lasincha yoki qisman hujayradan ajralib chiqadi. So'ngra jarohatlanmagan yangi hujayralarga kirib u erda reproduksiyalanadi va ularni ham zararlantiradi. Bunday holat zararlannmagan hujayra qolmaguncha davom etaveradi.

Bu jarayonda probirkadagi, matrasdagi hujayralar virus bilan zararlantiradi. Ammo shartliyt barcha hujayralar virus bilan zaralanadi, deb aytishimiz mumkin emas.

Viruslar o'stiruvchi suyuqlik tarkibida to'planib, ayrim virionlar virus buzib chiqqumagan hujayra ichida qolishi mumkin.

Hujayra tarkibida qolgan virusdan ajratish uchun, hujayrani bir necha bor 2-3 marta muzlatilib so'ngra eritish tufayli yoki ultratovush yordamida ajratib olinadi.

O'stirilgan hujayralarda virusni indikatsiyalash

O'stirilgan hujayrada virusni indikatsiyalashning quyidagi asosiy usullari mavjud:

Sitopatik effekt yoki sitopatik ta'sir (SPE, SPT) bo'yicha; GADR musbat bo'yicha;

Toshma (blyashka) hosil bo'lishi bo'yicha;

Hujayra ichidagi kiritmalarni uchratish; IFR immunofluoressensiya reaksiyasi yordamida virusni ko'rish; viruslarning interferensiyasini ko'rish;

Hujayra metabolizmini o'ziga bo'ysindirmoq (rangli namuna);

Elektron mikroskop va boshqalar bo'yicha.

SPT. O'stirilgan hujayralarda virusni ko'payganligini ko'pchilik holda sitopatik effekt yoki sitopatik ta'sirga binoan aniqlanadi.

SPT deb o'stirilgan hujayrada viruslarning ko'payishi tufayli sodir bo'lgan har qanday o'zgarishga aytiladi.

Fiziologik yo'l bilan hujayradagi o'zgarishni aniqlash ancha qiyin bo'lib, morfologik o'zgarishlarni uchratish ancha oson. Buning uchun mikroskopning buyum uchchasiga, probirka, matrasdagi yuqoriga qaratilgan hujayra yuzasini mikroskopning kichik kattalashtirgichida (ob'ektiv 8-10, okulyar 7-10) qarab ko'riladi.

Probirkadagi virus yuqtirilgan hujayra bilan solishtirib ko'rish maqsadga muvofiq. Virus yuqtirilgan probirkadagi hujayrada har qanday o'zgarishning, nazoratdagi probirkadagi hujayraga nisbatan paydo bo'lishi SPT yuzaga kelishi deb tushuniladi.

Bu farq barcha yuzadagi hujayrani egallab olishi natijasida yoki normadagi hujayra yuzasida uncha katta bo'lmagan o'choqchalarga o'xshash holdagi ko'rinishni o'z ichiga oladi.

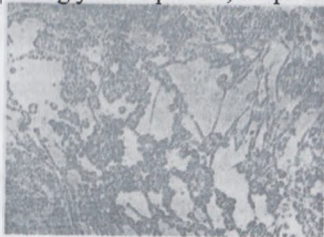
SPT- intensivligi hujayra qavatining qaysi qismi viruslar tomonidan ko'pgatirilganligi bilan ifodalanadi.

SPT-umum qo'llaniladigan baholash sistemasi yo'q bo'lib uni ko'pchilik holda nishonlar yoki ballar bilan baholanadi. Probirkadagi, matrasdagi bir qavat o'stirilgan hujayrani nazoratdagi o'zgarishga SPTni to'rt nishonga, agar 3/4 -uch nishonga. Agar 1/2 itki nishonga, 1/4 -bir nishonga baholanadi. Lekin bu shartli baholash hisoblanadi.

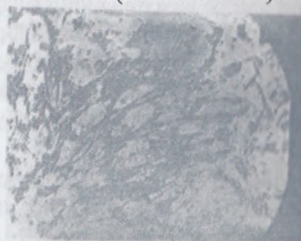
SPT-shakli virusning biologik xususiyatiga hujayraning turiga, yuqtirish miqdoriga, o'stirish sharoitiga bog'liq. Ayrim viruslar yuqtirilgandan keyin (enteroviruslar) 2-3 sutkadan so'ng, adenoviruslar 1-2 haftadan so'ng SPT hosil qiladi.

Bir qator mualliflar SPT o'xshash shakllarni guruhlashga urinib ko'rdilar. Ayrimlarida 23 shakl, boshqalarida 11, uchinchisida 5 shakl bo'lib chiqdi.

SPT bir-biridan tubdan farqlash uchun uch shakl: hujayraning fragmentlanishi, hujayraning yumaloqlanishi, simplast hosil qilishdan iborat (45- 46 rasmlar)



45-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlangan hujayraga yirik shoxli hayvonlar adenoviruslarining sitopatik ta'siri.



46-rasm. Qo'y homilasining o'pkasidan tayyorlangan hujayralarga qo'ylarda cheshaq kasalligini chaqiruvchi virusning sitopatik ta'siri.



SITOPATIK TA'SIRNI O'RGANISH

47-rasm.

Fragmentlanish- hujayralarning bo'lak-bo'lak fragmentlarga bo'linib ketishi natijasida shisha devoridan ajralib, o'stiruvchi suyuqlik tarkibiga hujayra detritiga o'sib o'tib ketishi (vezikulyar stomatit kasalligining virusi).

Yumaloqlashish – hujayraning shisha devoriga yopishish qobiliyatini yo'qolishi natijasida hujayra shisha devorining ustida sharsimon shaklga ega bo'lib, o'stiruvchi alohida ajralishi tufayli o'stiruvchi suyuqlik yuzasida erkin suzib yuradi va o'ziga o'ladi (enteroviruslar, adenoviruslar va boshq.).

Stimplast hosil qilish - hujayra qobig'ining erib ketishi natijasida qo'shni hujayra sitoplazmalari qo'shib ketib, yagona butunlik hosil qiladi, bu holda hujayra yadrosi bir chetga joylashgan bo'ladi.

Bunday ko'p yadroli sitoplazmatik massani paydo bo'lishi (gigant ko'p yadroli) stimplast deyiladi.

Ularning paydo bo'lishi ikki xilda tushintiriladi: viruslarning ta'siri natijasida hujayralarning bo'linish jarayoni buziladi bu hol ayrim viruslarda letsitinaza fermentining saqlanishi tufayli hujayra qobig'iga yaqin joylashgan sitoplazma qo'shib ketadi (47-rasm)

Hujayrada SPT ko'pchilik viruslarni o'stirilgan hujayralarda indikatsiyalashda keng qo'llaniladi. Ammo ayrim viruslar o'stirilgan hujayralarda ko'payib SPT ko'rsatmaydi, bularga quturish virusi, cho'chqalarning o'lat kasalligining virusi, yirik shoxli hayvonlarda diareya kasalligini qo'zg'atuvchi viruslar misol bo'la oladi. Hujayralar o'likligicha qolib, hujayralarning bo'linishi pasayadi vaqt o'tishi bilan ularning shakli ham o'zgaradi.

Zararlangan hujayralarning neoplastik transformatsiyalanishida bir qavat hujayrada har xil kattalikda oq rangdagi qattiq fokuslar (Raus sarkomasi virusida) hosil bo'ladi. Birinchi passajda SPT bo'lmazligi virusning yo'qligini bildirmaydi, chunki virus tez rivojlanmaganligi tufayli ko'zga tashlanuvchi SPT ko'rsatmaydi. Shuning uchun "ko'r" passaj o'tkaziladi. Tekshirilayotgan materialda virusning borligini bilish uchun hech bo'lmaganda 3 marta "ko'r" passaj o'tkaziladi.

GADR Gemadsorbsiya – virus bilan zararlangan hujayraning yuzasiga eritrotsitlarning yopishib qolishini birinchi bor Fogel va Shelkovlar (1957) gripp virusi yuqum to'qima kul'turasida uchratgan. Keyinchalik aniqlanishicha bunday qobiliyatga chechak va chechakvaktsina virusi, Nyukasl kasalligi, sut emizuvchilarning va porandalarning gripp viruslari ega ekan.

Hayvonlarning paragripp viruslarini identifikatsiyalashda (yirik shoxli hayvonlarning PG-3, qo'yarning paragripp, Senday virusida) bu reaksiya juda qimmatli hisoblanadi.

Reaksiya asosida, zararlangan hujayra ustidagi virus bilan, eritrotsitlarning retseptori qardosh bo'lganligi tufayli gemagglyutinatsiya reaksiyasi amalga oshadi.

Ushbu reaksiyaning ijobiy yutuqlari shundan iboratki, virus hujayraga yuqumdan keyin paydo bo'lishi kerak bo'lgan sitopatik o'zgarishlar paydo bo'lmadan o'ziga musbat natijani ko'rsatib turadi. Reaksiyani qo'yish uchun dengiz cho'chqachasining eritrotsitlari, maymunning, odamning (o-guruhidagi) va boshqa eritrotsitlardan foydalaniladi. Ushbu eritrotsitlar virusni gemagglyutinatsiyalash ta'siriga sezgir.

G A D R quyidagi usullardan iborat

Infeksiya yuqtirulgandan 3-4 kun o'tgach bir xilda o'stirilgan hujayrasi bor ikkita probirka olinib, birinchisiga virus yuqtiriladi, ikkinchisi esa nazorat qiluvchi hisoblanadi. Ikki probirkadagi hujayraning ustida 5-10 daqiqa eritrotsitlar (stol ustiga gorizontall yotqizilib) qo'yiladi, so'ngra fiziologik eritma yordamida yengilgina yuviladi, yuvilgandan so'ng mikroskopning kichik kattalashtirgichida tekshirib ko'riladi. Nazoratdagi probirkada eritrotsitlar fiziologik eritma yordamida to'lasincha yuvib olinadi.

Virus yuqtirilgan probirkadagi hujayrani fiziologik eritma bilan yuvish natijasida eritrotsitlar olinmasdan, demak hujayra yuzasiga yopishgan holda tursa u holda GADR musbat hisoblanadi.

Virus va hujayraning turiga bog'liq holda eritrotsitlarning joylashuvi 3 xil bo'lishi mumkin:

Eritrotsitlar hujayraning chetki qismiga (cho'chqalarda afrika o'lati kasalligining virusi) joylashgan;

Eritrotsitlar hujayra qavatiga to'planib (gripp virusi) joylashgan;

Eritrotsitlar hujayra qavatida diffuziyali (paragripp virusi) joylashgan.

Har bir virus ma'lum bir turdagi hayvonlar qonidagi eritrotsitlarga adsorbsiyalanishga qodir. Eritrotsitlarni gemagglutinatsiyalanishiga qodir bo'lgan viruslar gemadsorbsiya qobiliyatiga ham ega bo'ladi.

Agar virus o'stirilgan hujayraga SPT ko'rsatsa GADR, SPT nisbatan oldin paydo bo'ladi. Bu usul o'stirilgan ayrim viruslarni indikatsiyalashda ko'p qo'llaniladi. Ammo bir qator viruslarni (cho'chqalarning afrika o'lati, yirik shoxli hayvonlarning paragripp -3 va boshqa) indikatsiyalashda bu reaksiyaning o'rmini hech bir reaksiya bosa olmaydi.

Kasallik yuqqandan so'ng 3-4 kunlar gemadsorbsiya bo'lmasa har 2-3 kundan so'ng navbatdagi probirkalar olinib, virus yuqqan hujayralarda yuqorida aytib o'tilgan usul asosida GADR qo'yiladi.

O'stirilgan hujayra bor probirkalar 14-20 kun kuzatish ostida bo'ladi. Gemadsorbsiya reaksiyasi birinchi passajda manfiy bo'lsa navbatdagi passaj va GADR o'tkaziladi.

GADR o'stirilgan hujayrada virusning borligini bilish uchun ishlatiladi. Hayvonlar qonining zardobida antitelolarni aniqlash uchun titrlanadi va neytrallash reaksiyasi qo'yib ko'riladi.

Toshma (blyashka) hosil qilish usuli

Bu usul viruslarni ko'rish uchun texnik jihatdan juda murakkab bo'lib, asosan viruslarni titrlashda qo'llaniladi. Dal'bekko va Fogt 1954 yilda agar ostidagi tovuq fibroblastlari kulturasida otlarning g'arbda uchrovchi ensefalomielit virusidan foydalanib, toshma olish usulini taklif etdilar. So'ngi yillarda ko'pchilik mualliflar bir qancha viruslarni o'rganishda ushbu usuldan foydalanmoqda.

Bunga oqsil, vezikulyar stomatit, nyukasl kasalligi, parrandalarning o'lat, poliomieli, koksaki va boshqalar misol bo'la oladi.

Virusologiyada toshma usuli keng qo'llanilishining sababi virusning toza populyatsiyasini olish, asosan, viruslarning genetik xususiyatlarini o'rganishga

asoslangan. Hozirgi paytda toshma tayyorlashni Dal'bekko va Fogt soddalashtirib, bir biridan qator farq qiladigan har xil viruslarni o'rganish usullarini ishlab chiqdilar.

Toshma usuli agar, muhiti quyilgan va o'zida vital-bo'yoq neytralrotni saqlovchi, bir qavatli hujayralarda viruslar tamonidan hosil qilinadigan negativ koloniyalar yoki toshmalaridir (48-rasmga qaralsin). Toshmalarni kul'turada rangsizlangan joylari bo'lib bu virus ta'siri natijasida o'lgan hujayralardan iborat. Virusni boshqa joyga o'tkazish zarur bo'lsa agar o'miga kraxmal yoki metilsellyulozadan foydalanish mumkin. Ayrim viruslar agar bilan yopmaganda ham toshma hosil qiladi, bularga yirik shoxli hayvonlarning o'lat virusi, ospovaksina, gerpsevirusning ayrim vakillari misol bo'la oladi.

Toshmalarni qo'yganda kul'turaning sifatiga alohida e'tibor beriladi, degeneratsiya belgilarisiz hujayra bir tekis o'sgan bo'lishi kerak.

Yaxshisi flakonlarda yoki har xil turdagi matraslarda o'stirilgan kulturalardan foydalaniladi. Xenks eritmasi bilan yuvilgan virus 37-38°C(1-2 soat) kontaktga qo'yilib doimo chayqatilib turiladi. Adsorbsiyalanmagan virusni Xenks eritmasi yordamida yuvib tashlanadi, yoki paster pipetkasi yordamida so'rib olinadi, so'ngra hujayra qavatiga maxsus agar qoplamasi quyiladi.

Yopiladigan muhitni tanlash hujayraning va virusning turiga bog'liq.

Yopish uchun ishlatiladigan agarni har galgidek komponentlari quyidagilar: agar, Erla eritmasi.(NaHCO₃), muhit va antibiotiklar.

Agar 30-60 daqiqadan so'ng qotgach, agar yuzasidagi kondensat namlikni quyib tashlanadi, flakonlar termostatga joylashtirilib hujayrani yuqoriga qaratib inkubatsiyalanadi. Inkubatsiyalash vaqti va harorat shu virus toshma hosil qilishi uchun optimal bo'lishi zarur.

Toshma hosil bo'lganligini ko'rish uchun bir necha kun davomida kuzatish olib boriladi. Bu vaqt ichida hujayraga adsorbsiyalangan viruslar hujayra ichiga kiradi, reproduksiya sikli o'tadi so'ngra hujayra ichidan chiqib qo'shni hujayralarni jarohatlaydi.

Tirik hujayralarning butun bir qatorida virusning ko'payishi natijasida o'lgan hujayralarning orolchalari paydo bo'ladi. Bo'yoq eritmasi faqat tirik hujayrani bo'laydi.

Shuning uchun matrasda tekis qizg'ish fonda rangsiz dog'lar paydo bo'lib, bu dog'larni Dal'bekkoning negativ dog'lari yoki toshmalar (inglizcha plack) deyiladi. Har bir toshma, hujayralarning o'lgan orolchalariga binoan paydo bo'ladi. O'stirilgan hujayralarda ko'pgina viruslar toshma hosil qiladi. Juda tig'iz joylashganda toshmalar bir-biri bilan qo'shilishib ketadi.

Toshmalarning paydo bo'lish vaqti va shakli virus shtammining turiga, hujayraning xiliga va o'stirish sharoitiga bog'liq. Dal'bekko va Fogt viruslarni titrlashdagi kuzatishlari asosida hosil bo'lgan blyashkalarining soni yuborilgan virus miqdori bilan to'g'ri proporsionalligini ko'rsatadi. Bir toshmaning hosil bo'lishi uchun bir yuqumli virus bo'lakchasi etarli ekanligini isbotladi.

Ammo bu qoida ma'lum bir sharoitda aniq bo'lib, eng avval kul'turaga yuqori suyultirilgan viruslarni tushirganda hujayraning ko'plab zararlanishiga imkoniyat bo'lmaydi.

Rangli namuna – Laboratoriya tekshiruvlarida rangli namunani birinchi bor Solk, Yangner va Uord 1954 yilda taklif etdi. Bu usulni ishlab chiqishga Enders, Ueller va Robbinsning kuzatuvlari sabab bo'lib, ular virus yuqtirilmagan to'qima kulturasida metabolizmi natijasida pH kislotali tamonga o'tib, bunday holatni muhitga qo'shilgan fenolrotning sarg'ayishi tufayli bilish mumkin. Shunday holatda virus yuqtirilgan to'qima kulturasidagi suyuqlik tirik hujayralarni o'ldirib, o'zining qizil rangini saqlab qolgan. Sekin o'suvchi hujayralarda katta tezlik bilan ko'payadigan viruslar o'stirilganda ko'zga ko'rinarli aniq natijalar beradi.

Rangli namuna usuli o'zining yuqori aniqligi bilan ajralib turmaydi shuning uchun amaliyotda kam foydalaniladi.

Hujayra ichida hosil bo'lgan kiritmalarni ko'rish

Ko'pchilik virus kasalliklarida hujayrada (sitoplazma va yadro) ba'zi organ yoki to'qimalarda maxsus birikmalar paydo bo'lib, ularni kiritmalar deb nomlanadi.

Ular hujayralarda joylashuvi, nuklein kislotasining tarkibi, tinktorial xususiyati va gomogenligiga asosan sinflarga ajratiladi. Kiritma tanachalar tanlagan holda joylashadi: chechak, gripp, quturish, paragripp va boshqa kasalliklarda sitoplazmatik kiritmalar paydo bo'ladi.

Yirik shoxli hayvonlarning rinotraxeit kasalligida, parrandalarning laringotraxeit kasalligida, adenovirus infeksiyalari va boshqalarda – yadro kiritmalar hosil bo'ladi. Kiritma tanachalarini ko'rish maqsadida hujayralar yopqich oynalarda, probirkalarda yoki penitsillin flakonchalarda o'stirilib, tekshirilayotgan material yuqtiriladi va ma'lum muddatgacha 37°C da inkubatsiyalangan oyna chiqarib olinib Xenksning iliq eritmasida yoki fiziologik eritmada (pH 7,0-7,2) yuviladi, filtrlovchi qog'ozda quritilgandan so'ng fiksatsiyalovchi eritmalarining biri bilan; Buen eritmasi 10-15 daqiqa, Karnua fiksatorida -10, Senker 20-30, metil spirtida 15 daqiqa yoki boshqa fiksatorlarda fiksatsiyalanadi. So'ngra preparatlar bo'yaladi.

Gemotoksilin-eozin bo'yog'i bilan bo'yalgan preparatlarda virusning kiritma-tanachalari yaxshi ko'rinadi. Buning uchun yopgich oynada fiksatsiyalangan hujayralar distillangan suv bilan yuvilib, 5-15 daqiqa gemotoksilin eritmasiga botiriladi (Mayer, Erlix, Karatssi gemotoksilini)/ har qaysi o'stirilgan hujayra va bo'yoq uchun, bo'yash vaqti empirik tanlanadi. So'ngra preparat suv bilan yuvilib, 1-2 daqiqa ammiakli suvga (200 ml distillangan suvga 2-3 tomchi ammiak qo'shilib botirib qo'yiladi).

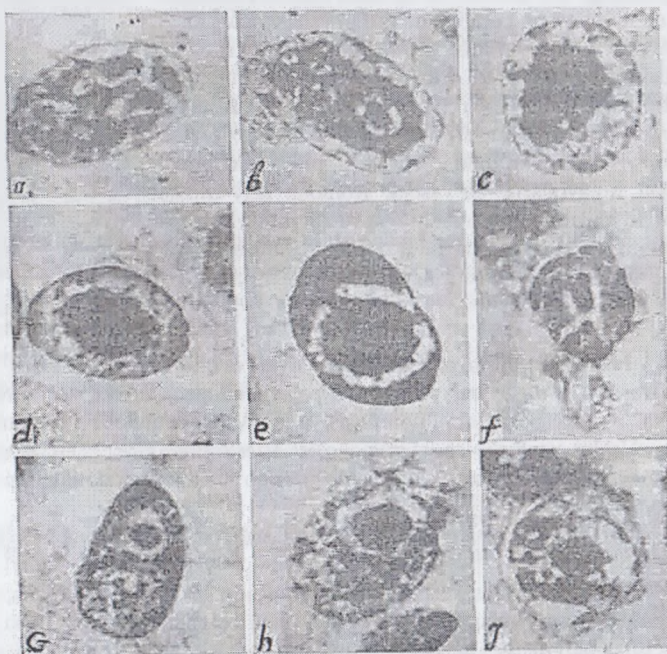
Ishqorli muhitda hujayra yadrosi ko'k rangda bo'ladi. So'ngra preparatlar 0,1% eozinning suvdagi eritmasida 30-60 soniya bo'yaladi, filtrlovchi qog'oz bilan ortiqcha namlik olingach spirtni ortib boruvchi konsentratsiyasidan o'tkazilib 70, 80, 96(1), 96(2), 100⁰+ ksilol (1:1), ksilol 2 va balzamlash bilan yakunlanadi.

Har qaysi spirt va ksilolda preparatlar 1 daqiqagacha saqlanadi. Preparatni bir boksdan ikkinchi boksga o'tkazayotganda albatta filtrlovchi qog'oz yordamida ortiqcha nam shimdirilib olinadi, aks holda navbatdagi boksda spirtning suvi ko'payib ketadi.

Gemotoksilin eozin bilan bo'yalganda virusga bog'liq holda hujayra yadrosi ko'k rangga, sitoplazmasi esa qizil rangga bo'yaladi (48 rasm).

Gripp kasalligida kiritma tanachalarini ko'rish uchun ko'pincha o'stirilgan hujayra Klisenko usuli bilan bo'yaladi. Buning uchun virus yuqtirilgan hujayralar

issiqligi 37°C fiziologik eritma bilan yuviladi va Dyuboska-Brazila-Buena suyuqligida 20 daqiqadan to bir necha haftagacha fiksatsiyalanadi.



48-rasm. Yadro ichidagi kiritma tanachalar. Gemotoksilin eozin bilan bo'yalgan (L. N. Nosach va boshq. boyicha).

- a-e-chirmashib o'suvchi PT-80 hujayra, yirik shoxli hayvonlarning birinchi turdagi adenovirusi yuqtirilgan:
- a-yadroda mayda ko'p sonli donachalarning paydo bo'lishi;
- b-rangsiz doiraga o'ralgan yagona donacha kiritmalarini hosil bo'lishi;
- c-rangsiz doirani kengayishi va kiritmaning zichlashishi;
- d-dag'al bazofil yadro markazidagi kiritma;
- e-shunday kiritmasi hor hujayra, yadroning pastki qismida esa marginirlangan xromatinning to'planganlari ko'rinadi;
- f-yadroning markaziy qismi, oz ho'yalgan, uzunasiga yadro membranasida paydo bo'lgan va yumaloq joylashgan material ko'proq bo'yalgan;
- g-i-yirik shoxli hayvonlar adenovirusining ettinchi turi yuqtirilgan buqa testikulasining birlamchi o'stirilgan hujayrasi;
- g-unchalik katta bo'lmagan yakka holdagi va h-o'zgarmagan xromatin orasida yumaloq kiritma shaklidagi yirik donador eozinofillar va mayda bazofil donachalar kiritma atrofiga rangsiz doira shaklida;
- i-nukleoplazmalarning rangsiz fonida hujayra ikki kiritmadan iborat.

3-4 marta distillangan suvda to'lasincha yuvilgan ob'ektlar 1% - akridin sariq eritmasi bilan 10 daqiqa bo'yaladi, so'ngra distillangan suv bilan yaxshilab yuviladi, so'ngra yana 1% eozin eritmasi bilan 30 daqiqa bo'yalgach, distillangan suv bilan yuvilib, (1:1000) metilen ko'ki shimdiriladi. Metilen ko'kini ishlatishdan oldin 1% bosh (matochnaya) eritmasi tayyorlab olinadi.

Bo'yalgan preparatlar distillangan suv bilan yuvilib, (50ml spirtdagi 2-3 tomchi muzli sirka kislota) absolyut spirtda qizil ko'k rang bo'lguncha differensiatsiyalanadi.

Absolyut spirt bilan suvsizlantirilgan, ksiloldan o'tkaziladi va balzamlanadi. Sitoplazma nozik-qizil rangga bo'yalib, yadrosi-qizil och binafsha rangga, yadrochasi ko'k rangga, virus kiritmalari ochiq qizil rangga bo'yaladi. Qon hujayralarini, ko'mikni yoki limfoid organlardan o'stirilgan hujayralarni bo'yashda Romonovskiy-Gimza usulidan foydalaniladi. Virusologiya amaliyotida kiritma tanachalarni ko'rish uchun oddiy fluoroxromlash usuli ishlatilib akridin, akridin to'q sariqdan foydalaniladi. (49-rasm).



49-rasm. Akridin to'q sariq bilan bo'yalgan kiritma-tanachalar.

Immunofluoressensiya reaksiyasi orqali virusni ko'rish

Virusni o'stirilgan hujayralarda ko'payishi sitopatik effekt, gemadsorbsiya bilan kechmasa, uning borligini fluoressensiya-lanuvchi antitelolar yordamida ko'rish mumkin. Ushbu usul cho'chqalarning o'lat kasalligida, cho'chqalarning parvovirus infeksi-yasida va boshqa kasalliklarga diagnos qo'yishda keng qo'llaniladi

Immunoperoksidaza reaksiyasi (immunoferment tahlil) yordamida virusni ko'rish

Immunoperoksidaza reaksiyasi immunofluoressensiyaga o'xshash, ammo farqi shuki reaksiyani qo'yish uchun flyoroxrom bilan belgilangani emas balki peroksidaza fermenti bilan belgilangan antitelodan foydalaniladi.

Reaksiya natijalarini hisoblash lyuminescent mikroskopi ostida emas, yorug'lik mikroskopi ostida olib boriladi. Reaksiyani bevosita va bilvosita variantlarda qoyib ko'riladi. Bevosita immunoperoksidaza usuli yordamida antigenni topishda virusga qarshi kon'yugatlardan foydalaniladi, kon'yugatlar antitelolardan olinib spetsifik zardoblardan ajratilib, ferment bilan belgilangan bo'ladi. Kon'yugatlar maxsus moslashtirilgan biologik sanoat korxonalari tomonidan tayyorlanadi. Bevosita usulda virus antigenini topish uchun 50-rasmda ko'rsatilgan bosqichdagi ishlar bajariladi. Buning uchun: yopqich oynada o'stirilgan va virus yuqtirilgan hujayra 10 daqiqa davomida minus 10-20°C sovutilgan atsetonda fiksatsiyalanadi; preparat havoda quritiladi; unda 0,2-0,3ml immunoperoksidaza kon'yugatining ishchi eritmasi tomiziladi, 1-2 soat 37°C nam kamerada inkubatsiyalanadi (inkubatsiya muddati zarur bo'lsa 6 soatgacha uzaytiriladi); preparatni 15 daqiqa fiziologik eritma bilan yaxshilab yuviladi, distillangan suv bilan yuviladi va havoda quritiladi; preparatga bir necha tomchi diaminobenzidin-tetraxlorid (3,3-DAB 4HCL) tomiziladi, 5-10 daqiqa inkubatsiyalangach 10-15 daqiqa fiziologik eritma bilan yuviladi va distillangan suv bilan yuviladi.

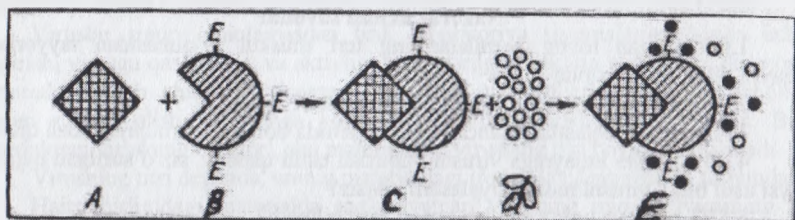
Musbat holatda demak tekshirilayotgan preparatda antigen bor bo'lsa. belgilangan ferment bilan antigen+antitelo kompleksi hosil bo'ladi.

Preparatga substrat quyilgandan so'ng, ferment ta'sirida parchalana boshlab reaksiyaning ko'k rangdagi mahsuloti hosil bo'lib, tezda jigar rangga aylanib ketadi

buni yorug'lik mikroskopida ko'rish mumkin. Preparatda sariq-jigar rang diffuz bo'yalgan jigar rang yoki qora rang granulani ko'rsa bo'ladi.

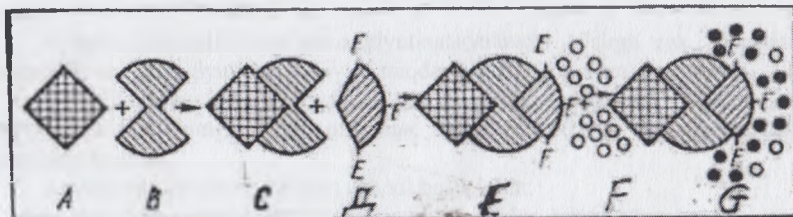
Nazoratdagi preparatlarda bunday bo'yalish bo'lmaydi. Bilvosita immunoperoxidaza testida turga qarshi immunoperoxidaz kon'yugatlaridan foydalaniladi (51-rasm) buning uchun yopqich oynada o'stirilgan hujayra 10 daqiqa davomida minus 10-20°C sovutilgan atsetilgan fiksatsiyalanadi; preparat havoda quritiladi; unga 0,2- 0,3 ml izlanayotgan antigenga spetsifik bo'lgan zardob tomizilib nam kamerada 37°C 1-2 soat inkubatsiyalanadi; 5 daqiqa preparatni fiziologik eritma bilan yuviladi va havoda quritiladi; unda 0,2-0,3 ml turga qarshi ishchi suyultirilgan immunoperoxidaz kon'yugatdan tomiziladi, 37°C 1-6 soatgacha inkubatsiyalanadi. So'ngra bevosita usul uchun yozilgan ishlar bajariladi. Tekshirilayotgan materialda virusga spetsifik antigen, spetsifik zardob tonmiziladi, antigen+antitelo kompleksi hosil qilsa, ularni ko'rish uchun ferment bilan belgilangan turga qarshi yoki ikkilamchi antitelodan foydalaniladi;

Birinchi galdagiga qaraganda murakkab kompleks hosil bo'ladi: antigen+antitelo+ikkilamchi antitelo+ferment.



50-rasm. Antigenni bevosita peroksidaza usuli bo'yicha topishning tasviri:

a-antigen saqlovchi to'qimaning kesmasi; b-ferment bilan belgilangan antitelo; c-antigen+antitelo+ferment kompleksi; d-substrat; e-substrat yordamida namoyon qilingan antigen+antitelo+ferment kompleksi;



51-rasm. Antigenni bilvosita peroksidaza usuli bo'yicha topishning tasviri: a-antigenni saqlovchi to'qimaning kesmasi; b-A-antigenga spetsifik antitelo; c-antigen+antitelo kompleksi; d-fermenti bilan belgilangan ikkilamchi antitelo; e-ferment bilan belgilangan antigen+antitelo+ikkilamchi antitelo kompleksi; f-substrat; g-substrat yordamida namoyon qilingan kompleks.

Hosil bo'lgan kompleksni substrat qo'shish orqali ko'rish mumkin, chunki ferment ta'sirida parchalanadi va fermentativ reaksiyaning rangli maxsulotini hosil qiladi. Natijalami hisoblash yorug'lik mikroskopida o'tkaziladi. Bilvosita usulning afzalligi -turga qarshi globulinlarning universalligi, hamda bevosita usulga qaraganda kuchli sezgirligidir.

Elektron mikroskop yordamida viruslarni ko'rish

Bu usul viruslarning interferensiyasiga asoslangan o'stirilgan hujayralarda ayrim viruslar ikkinchi bir virusning ko'payish qobiliyatini pasaytiradi.

Misol, cho'chqalarning o'lat virusi, oqsil virusining yuqumli aktivligini, nyukasl kasalligining virusi-vezikulyar stomatit virusini yuqumli aktivligini pasaytiradi.

Deyarli bu usul o'stirilgan hujayralarda SPT ko'rsatmaydigan viruslarni ko'rish uchun ishlatiladi.

O'stirilgan hujayrada cho'chqalarning o'lat virusini ko'rish uchun (chunki u SPT ko'rsatmaydi) infeksiya yuqqa hujayraga ikkinchi oqsil virusini eng kamida 100 TST₅₀ miqdorda yuqtirilib, so'ngra 37⁰C termostatga joylashtiriladi. Bir necha kun o'tgach, natijasi mikroskop ostida qoraladi.

O'stirilgan hujayraga SPT ko'rsatmasa, demak u hujayrada cho'chqalarning o'lat virusi bor deb hisoblanadi. Agar barcha probirkalarda SPT bo'lsa, demak o'lat virusi yo'q, oqsil virusi sitopatogen ta'sir ko'rsatganligi aniqlanadi.

Interferensiya usuli hatto SPT ko'rsatmaydigan viruslarni titrlashda ham qo'llaniladi.

Nazorat uchun savollar

1. O'sayotgan tovuq homilalarining teri muskul to'qimasidan tayyorlangan hujayra olish tartibi qanday?

2. Tripsin eritmasi nima maqsadda ishlatiladi?

3. Tovuq fibroblastlari qancha muddat ichida boir qavatli hujayra hosil qiladi?

4. O'stirilgan hujayraga virusni yuqtirish usuli qanday, siz o'stirilgan hujayrada qaysi usul bilan virusni indikatsiyalashni bilasiz?

5. SPT nima va uning qanday turlari farq qilinadi?

6. Qaysi reaksiyalar yordamida hujayra ishidagi viruslarni ko'rish mumkin?

11 - MAVZU

Viruslarni titrlash

Darsning maqsadi: Viruslarni titrlash to'g'risida aniq tasavvurga ega bo'lish, aniq ma'lumotlar asosida 50% yuqumli ta'sir ko'rsatuvchi virusning titrini hisoblab topish.

Gemagglyutinatsiyalovchi tasir birliklarida allantois suyuqligidagi Nyukasl kasalligi virusining titrini aniqlash.

Kerakli jihozlar: Aniq ma'lumotlarga asoslanib virusning titrini NM_{50} aniqlash uchun misollar; har bir talabaga kamida 10 variantdan iborat bittadan misol yozilgan varaq beriladi; nyukasl kasalligining virusi yuqtirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligi; yuvilgan eritrotsitlarning 1% - suspenziyasi; fiziologik eritma (NaCl izotonik eritmasi); chuqurchasi bor pleksiglas panellar; 1 ml darajalarga bo'lingan pipetkalar; rezina noklar; dezinfeksiyalovchi eritma solingan idish; shishaga yozish uchun qalamlar.

Laboratoriya ishlarida, biofabrikalarning ishlab chiqarishida va veterinariya amaliyotida doimo u yoki bu materialdagi virusning sonini aniqlash kerak boladi

Viruslar sonini aniqlamasdan tirik laboratoriya sistemalariga tajriba uchyn yuqtirish, virusga qarshi tirik va aktivligi kamaytirilgan vaksina tayyorlash, diagnostik preparatlar ishlab chiqarish virusga qarshi tirik vaksinalarni aktivligini baholash, immun zardob olish va boshqa kopchilik ishlarni bajarish mumkin emas. Biror materialdagi virusning miqdori, shu materialdagi virusning titri boyicha aniqlanadi.

Virusning titri deganda, uning materialdagi ifodali konsentratsiysi tushuniladi.

Hajm birligidagi materialda saqlanayotgan virusning miqdori virusning titri deyiladi.

Virusning miqdorini odatdagidek (hajm, massa va boshqa) birliklarda ifodalash mumkin emas, demak o'lchash uchun tasir birligi yoki aktivlik birligiga tayanmoq kerak.

Viruslar yuqumlilik va gemagglyutinatsiyalovchi ta'sirga ega. Viruslarning yuqumlilik va gemagglyutinatsiyalovchi miqdor birliklari shundan olingan.

Bu birliklarning kattaligi foydalanilayotgan suspenziyada to'la qimmatli va to'la qimmatsiz virionlarning o'zaro nisbatiga, ob'ektga, titrlash usuliga va boshqa faktorlarga bogliq.

Amaliyotda virusning miqdori uch xil birlik bilan;

1- muayyan joyni jarohatlagan yuqumli birliklar, viruslar tomonidan chaqirib yagona natija bilan baholanadi;

2- tirik sezgir ob'ektga viruslarni yuqumli birliklarini 50% ta'sirini statistik yo'l bilan baholash;

3- gemagglyutinatsiyalovchi birliklar.

Viruslar tomonidan chaqiriladigan muayyan joydagi jarohatlanishning deyarli tanish bo'lgani (tirik hujayra qavatida o'lgan hujayra orolchasi) tugunchalar, blyashkalar bo'lib, (52-rasm), o'stirilgan hujayralarga chechak yoki boshqa viruslarni yuqtirish tufayli tovuq homilasining XAP (nekrozga uchragan tugunchalar) chechakchalari (53-rasm) hosil boladi.

Viruslarni yuqumli aktivligining bunday holatda paydo bo'lishi viruslar miqdorini toshma (blyashka) hosil qiluvchi birlik (THB) yoki chechak hosil qiluvchi (ChHB) bilan o'lchash mumkin bo'ladi. Bir THB-bir toshma, bir (ChHB) bir chechakcha hosil qilishga qodir miqdorga teng. Virusning titrini THB va ChHB aniqlash quyidagicha bajariladi.

Aniq o'lchangan bir xil hajmdagi tekshirilayotgan virus saqlovchi material bilan matrasda o'stirilgan hujayralarga, yoki tovuq homilasining XAP yuqtiriladi.

So'ngra har qaysi neytral qizil qo'shilgan va agar bilan yopilgan matrasda qancha toshma hosil bo'lganligini sanab chiqib, o'rtacha arifmetik son hisoblab chiqiladi. Bunda THB va

ChHB yuqtirilgan virus saqlovchi materialning miqdoriga tengligi aniq bo'ladi.

Qanday bo'lganda ham yuqtirilgan miqdorning hajmi doimo aniq ma'lum bir birlik hajmdagi virus saqlovchi materialga qancha THB yoki ChHB to'g'ri kelishini

hisoblash qiyin emas. Xuddi o'sha material tarkibidagi virus konsentratsiyasini ifodalovchisi yoki titri bo'ladi. Virusning titrini (T) oddiy formula yordamida hisoblab chiqish mumkin.

$$T = \frac{n}{V_a}$$

Bu yerda, n-bir matrasdagi toshma yoki bir tovuq ho-milasidagi chechakchalarning o'rtacha arifmetik con; a-yuqtirish uchun olingan virus saqlovchi materialni eritib aralashtirish; V -



53-rasm. Sigirlarning chechak virusi yuqtirilgan tovuq homilasining XAP-da paydo bo'lgan chechakchalar.

yuqtiriladigan miqdorning hajmi.

Misol. Chechak kasali bilan kasallangan tovuqning, zararlangan terisining bir bo'lagidan suspenziya tayyorlangan. Shu suspenziyadagi chechak virusining titrini aniqlash kerak. 0,5 ml suspenziyadan olib, 4,5 ml fiziologik eritma qo'shdik demak 10 barobar aralashtirdik (1:10).

Suspenziya ancha quyuq konsentratsiyaga ega bo'lib, yopishqoq. Eritib suyultirilgan suspenziyadan 0,2ml olib 5 dona tovuq homilasining XAP yuqtirdik. Termostatda inkubatsiyalanayotgan 5 dona tovuq homilalarini 6 kun o'tgach barchasini yorib, XAP hosil bo'lgan chechaklarni sanadik. Ma'lum bo'lishicha 10, 11, 13, 18 va 8 o'rtacha arifmetik son.

$$n = \frac{10+11+13+18+8}{5} = 12$$

Olingan natija (n=12 chechakcha, a=1:10=0,1. V=0,2ml. Formulaga qo'ysak

$$T = \frac{12}{0,2 \cdot 0,1} = \frac{12}{0,02} = \frac{12 \cdot 100}{2} = 600 \text{ hosil bo'ladi.}$$

Shunday qilib, suspenziyadagi virusning titri 600 ChHB/ml teng, demak suspenziyaning har bir millilitrida 600 miqdordan chechak virusini saqlaydi, shulardan har qaysisi XAP bittadan chechakcha hosil qilishga qodir. Misolda virusni titrlash soddalashtirilgan bo'lib, bu materialdagi virusning yuqori konsentratsiyasini hisobga



52-rasm. O'stirilgan hujayrada virus toshmalarining paydo bo'lishi.

olmaydi, bunday holda o'stirilgan hujayradagi toshmalar yoki XAP chechaklar bir-biri bilan qo'shib ketishi tufayli sanash mumkin bo'lmagan qoladi. Ularning soni matrasda yoki XAP 50 dan oshmasa, toshma va chechakchalarni sanash mumkin.

Qanchalik bo'lsa ham virusning titri tekshiriladigan materialda odatdagicha noma'lum (uni aniqlashimiz kerak) yuqtirish uchun materialni qanday suyultirish ham noma'lum, chunki toshma yoki chechakchalarni qo'shib ketishini oldini olishimiz kerak.

Bunday vaziyatda tekshirilayotgan materialdan bir nechta aralashma tayyorlanadi (odatdagidek 10 koeffitsienti bilan) har bir aralashma bilan bir xil miqdorda, teng guruhda o'stirilgan hujayraga yoki tovuq homilalariga yuqtiriladi, so'ngra har-bir suyultirilgan aralashmadagi toshma yoki chechakchalarning o'rtacha arifmetik soni hisoblanib, ayrim joylarda hisoblash mumkin bo'lmaganlari olib tashlanadi.

U holda virusning titri quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$T = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_n}{V(a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n)}$$

Bu formula oldingilariga o'xshash bo'lib lekin, biroz murakkablashtirilgan.

Misol. Titrlash natijalari 4 jadvalga keltirilgan.

4-jadval. THB bo'yicha titrlashning natijalari.

Virusni aralashtirish	Yuqtirish miqdori (ml)	Matrasdagi toshmaling o'rtacha arifmetik soni
$a_1=1:10$	0,2	$n_1=134$
$a_2=1:100$	0,2	$n_2=28$
$a_3=1:1000$	0,2	$n_3=5$

$$T = \frac{134 + 28 + 5}{0,2 \left(\frac{1}{10} + \frac{1}{100} + \frac{1}{1000} \right)} = \frac{167}{0,2 \cdot 0,111} = \frac{167 \cdot 10000}{222} = 7522$$

THB usulida viruslarni titrlash, virus konsentratsiyasi to'grisida ishonchli ma'lumotlar beradi ammo toshmalarini sanash bilan bogliq texnik qiyinchiliklar uchrab turadi.

Chechakchalarga tegishli titrlash, ulardan foydalanish uqchalik ko'p bo'lmagan viruslarga ta'alluqli bo'lib, hamma viruslar ham tovuq homilasining XAP tugunchalar hosil qilavermaydi, shu sababdan cheklangan holda ishlatiladi. Virusning yuqumli ta'sirini 50% birlikda aniqlash keng qo'llaniladigan har tomonlama (universal) usul hisoblanadi. Bu usulda virus miqdorining birligi sifatida shunday miqdor qabul qilindiki, yuqtirilgan test-ob'ektlarga 50%-yuqumli ta'sir ko'rsatadi, u NM_{50} -50% natijali miqdor deb aytiladi. Ma'lum birlikdagi materialda viruslarning bunday miqdori shu materialdagi virusning titrini ifodalaydi.

Laboratoriyalarda test-ob'ekt sifatida odatdagidek oq sichqonlardan, tovuq homilalaridan va o'stirilgan hujayralardan foydalaniladi, ularga virusning yuqumli ta'siri o'lim, klinik alomat, patologoanatomik o'zgarish va sitopatik natija holda namoyon bo'ladi. Har qaysi virus uchun sezgir test-ob'ekt tanlanadi va uning yuqumli ta'sirini, hisoblash shakliga qarab yuqtirish effekti baholanadi. Test-ob'ektning turiga va yuqumli ta'sir ko'rsatish shakliga bog'liq holda 5 jadvalda ko'rsatilgan turlarning

biri qabul qilinadi. Boshqacha aytganda: $10 \cdot M_{50}$ -bu 50% laboratoriya hayvonlarini (odatdagidek oq sichqonlar) o'ldiruvchi virusning miqdori;

$1YUM_{50}$ - virus yuqtirilgan laboratoriya hayvonlarida 50%- klinik alomat yoki patologoanatomik o'zgarishlar chaqiruvchi virusning miqdori;

$1HO \cdot M_{50}$ -50% tovuq homilasini o'ldiruvchi virusning miqdori.

$1HYUM_{50}$ - virus yuqtirilgan 50% tovuq homilasida patologoanatomik o'zgarishlar chaqiruvchi virusning miqdori;

5-jadval. 50%- yuqumli ta'sirni aniqlashda viruslarning miqdor birliklarining turi.

Test-ob'ektlar	Viruslarning yuqumli ta'sirining ko'rinishlari	Viruslarning miqdor birliklari	
		Birlikning nomi	Qisqartirib belgilash
Laboratoriya hayvonlari	O'lim	50%- o'ldiruvchi letal miqdor	$O \cdot M_{50}$
Shu ham	Klinik alomatlari yoki patologo-anatomik o'zgarishlari	50%-yuqumli miqdor	YUM_{50}
Tovuq homilasi	O'lim	50%-homilani o'ldiradigan miqdor	$HO \cdot M_{50}$
Shu ham	Patologoanatomik o'zgarishlar	50%-homilani yuqumli miqdori	$HYUM_{50}$
O'stirilgan hujayra	Sitopatik ta'sir qilmoq	50%-sitopatik miqdor	SPM_{50}

$1SPT_{50}$ -O'stirilgan hujayralarga yuqtirilganda 50% sitopatik ta'sir ko'rsatuvchi virusning miqdori (odatdagidek probirkada o'stirilgan hujayralarda).

NM_{50} ($O \cdot M_{50}$, YUM_{50} , $HO \cdot M_{50}$, $HYUM_{50}$ yoki SPT_{50}) virusning miqdori bir hajm birligida virus saqlovchi material tarkibidagi virusning miqdori, shu materialdagi virusni (T)titrini ifodalaydi. Misol, $T=10^{3,48}$ $SPT/0,1$ ml shunday ma'noni anglatadiki har bir 0,1ml virus saqlovchi materialda $10^{3,48}$ (demak 1000 dan ko'p, ammo 10000 dan kam, shaxsan $10^{3,48}=3020$)miqdorda virusni saqlaydi, shulardan har biri o'stirilgan hujayra quyilgan probirkalarning 50% sitopatik ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega.

Virusning 50% yuqumli ta'siri deb nomlangan birliklar ($O \cdot M_{50}$, YUM_{50} , $HO \cdot M_{50}$, $HYUM_{50}$, SPT_{50}) virusni statistik ta'siri bo'yicha yuqumliligini baholashda foydalanib, virusni yuqumlilik ta'siri, o'ldiruvchi ta'siri, klinik alomatlari, patologoanatomik o'zgarishlari yoki sitopatik ta'siri bo'yicha hisob olib borishda muhim o'rinlarni egallaydi. Viruslarning 50% yuqumli ta'siri bo'yicha titrlash universal usul bo'lib barcha viruslarni, tirik sezgir sistemani tanlay olsak (test ob'ektni) titrlash uchun ham bo'ladi.

Lekin viruslarni bu usulda titrlash ko'p mehnat talab qilib, uzoqqa cho'ziladi va statistik hisoblashni talab qiladi.

50% yuqumli ta'sir birligida virusni titrini aniqlash masalasi shunga olib keladiki, tekshirilayotgan virus saqlovchi materialni darajasini topish. ($O \cdot M_{50}$, YUM_{50} ,

HO'M₅₀, HYUM₅₀, SPT₅₀) uchun yuqtirilgan hajm miqdorida bir NM₅₀ saqlab va so'ngra shu hajm miqdordagi virus saqlovchi materialdan shunday hajmda nechta birlik saqlashi hisoblanadi va o'sha ushbu materialdagi virus titrining ko'rsatgichi bo'ladi.

Masalani yechish uchun avvalo tekshirilayotgan virus saqlovchi material qator ketma-ket 10 karrali suyultiriladi. 10- marta suyultirish 2 sababga ko'ra olinadi:

Birinchidan, virusning yuqumlilik ta'siri virusning miqdoriga bog'liqligi grafikdan ko'rinib turmoqda (54- rasm). Egri chiziqli NM₅₀ tegishli nuqtaga yaqin bo'lib, biroz kesishgach to'g'ri chiziqqa yaqinlashadi. Bu esa ma'lum bir bo'limgacha bo'lib, markazi NM₅₀ nuqtada.

Virusning miqdor logarifmi bilan ta'siri oraligida to'g'ri chiziqli bogliqlik bor demak virusni yuqumlilik ta'sirining logarifmi, virusning miqdor logarifmiga proporsionaldir. Oz miqdorda va deyarli katta miqdorda bu bog'liqlik buziladi.

Ikkinchidan keyingi bajariladigan hisoblab chiqish 10 karrali suyultirishda osonlashadi.

Har bir 10 karrali suyultirilgan virus saqlovchi material bilan ushbu virusga sezgir bo'lgan test ob'ektlarga (sichqonlar, tovuq homilasi yoki o'stirilgan hujayra) bir xil hajmda yuqtiriladi.

Bunda har bir guruhda eng kamida 4-6 test-ob'ekt bo'lishi kerak, agarda bu sondan kam bo'lsa, virusning titrini statistik hisoblaganda, virus titrini o'lchash kattaligida juda katta xatoga yo'l qo'yilgan bo'ladi. Ob'ektlarga yuqtirilgach virusning ta'sir natijasini (o'lim, klinik alomatlar, patologoanatomik o'zgarishlar yoki SPT) hisoblab, virusning qaysi turi aralashtirilgani 50% sezgir ob'ektlarga ta'sir ko'rsatganligi aniqlanadi.

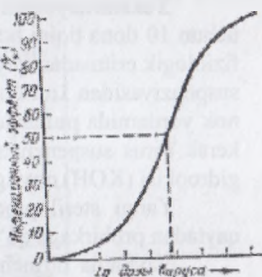
50%-ta'sir ko'rsatgan aralashma to'g'ri chiziqli interpolyatsiya usuli bilan hisoblanadi. Qachonki shunday yuqtiriladigan hajmdagi virus aralashmasi topilsa, aralashtirish tufayli topilgan miqdor (50% ta'sirga to'g'ri keladi) bir NM₅₀ saqlaydi. Shu hajmdagi suyultirilmagan virus saqlovchi material necha marta ko'p (NM₅₀) saqlashi, INM₅₀ bergan material necha marta aralashtirilganligi aniqlanadi.

So'ngra 50% yuqumli ta'sir ko'rsatuvchi virus, (ml) hajmdagi virus saqlovchi materialda nechta shunday birlik saqlashini hisoblab chiqamiz, bu esa shu materialdagi virus titrini ifodalaydi. Aytilganlarni aniq misollarda yechamiz.

Demak, biz 12ml ektromeliya virusi suspenziyasini oldik va zamburuglardan ozod qilinganligiga, bakteriologik nazorat paytida ishonch hosil qildik. Vazifamiz ko'rsatilgan suspenziyadagi virusning titrini aniqlash.

Avvalo, shu virusga sezgir bo'lgan tirik laboratoriya sistemalaridan tanlab olamiz. Ektromeliya virusi sichqonlarning qorin pardasining ichiga yuqtirilganda o'ldirishini tushuntiramiz.

Suspenziyamizdagi virusni oq sichqonlardan foydalanib titrlashga kirishamiz. Buning uchun ogirligi bir xil va kasallik belgilari bo'lmagan 60-ta sichqonni tanlab



54-rasm. Virusning yuqumlilik ta'siri virusning miqdoriga bogliqligini ko'rsatuvchi grafik.

olamiz. 10 katakchaga 6 sichqondan qo'yib chiqamiz (yoki 10 litrlik og'zi keng bankalarga) so'ngra har bir yashik nomerlanadi.

Tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 10 karrali ketma-ket qator aralashma tayyorlaymiz.

Suyultirish miqdori molj'allangan virusning titriga bogliq (qancha yuqori bo'lsa, shuncha ko'p aralashtirish kerak). Ularni shunday aralashtirish kerakki, eng oxirgi (ancha yuqori) aralashtirish umuman yuqumli ta'sir ko'rsatmasligi kerak.

Agar virusning ehtimolli titr doirasini bilish qiyin bo'lsa, yaxshisi u vaqtda ko'p suyultiriladi, ortiqcha suyultirish virusning titrini aniqlashga hech qachon halaqit bermaydi, oxirgi aralashtirilgan nol ta'sir ko'rsatmasa u holda virusni titrini aniqlash qiyin yoki umuman mumkin bo'lmaydi.

Aralashtirish darajasining kattaligiga qarab shunga mos ravishda laboratoriya hayvonlari ham tanlanadi va shularda virus titrlanadi (bizning misolimizda virusdan 10 aralashma tayyorlangan edi, shunga mos qilib sichqonlarni 6 tadan 10 guruhga bo'lib chiqdik).

Tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 10 ketma-ket aralashma tayyorlash uchun 10 dona tiqini bor probirka shtativga olinib, nomerlangach har biriga 9ml steril fiziologik eritmadan quyib chiqamiz, so'ngra birinchi probirkaga tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 1ml quyiladi, suspenziyani oxirgi tomchilarini tushirish uchun rezina nok yordamida puflanadi, shu paytda pipetkaning uchi fiziologik eritmaga tegmasligi kerak. Virus suspenziyasi olingan pipetka (3% natriy gidrooksi (NaOH), yoki kaliy gidrooksi (KOH) quyilgan idishga botiriladi.

Yangi steril pipetka yordamida probirkadagi suyuqlik pipetkaga olinadi va qaytadan probirkaga qo'shilishi tufayli yaxshilab aralashtiriladi.

Navbatda birinchi probirkadagi aralashmadan 1ml olinib, ikkinchi probirkaga fiziologik eritmaga tegizmasdan quyiladi. Undan so'ng uchinchi steril pipetkaga olinib, ikkinchi probirkadagi aralashma yaxshilab aralashtirilgach 1 ml ikkinchi probirkadan uchinchi probirkaga o'tkaziladi va shunday yo'l bilan o'ninchi probirkagacha takrorlanadi.

Natijada virus aralashmasining 10 karrali ketma-ket qatori hosil bo'ladi.

Probirkaga 9 ml fiziologik eritma, olinishi so'ngra ketma-ket 1ml dan o'tkazib quyish shart emas. Bu hajmni 2,5 yoki 10 barobar kamaytirish ham mumkin. Demak 4,5 ml fiziologik eritmadan quyib chiqib 0,5 ml dan o'tkazish yoki 1,8 ml fiziologik eritma quyib chiqish 0,2 ml dan o'tkazish, yoki 0,9 ml fiziologik eritma quyib chiqib 0,1 ml dan o'tkazish ham mumkin. Shuni bilish kerakki, qanchalik hajmni kam olsak, shunchalik o'lchash noaniq bo'lib virusning titrini aniqlashdagi aniqlik ham kam bo'ladi.

10-karrali ketma-ket suyultirish jarayonini quyidagi jadvaldagidek ko'z oldimizga keltirishimiz mumkin.

Probirkalarning nomeri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fiziologik eritma	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Tekshiriladigan virus	0,5	0,5ml dan ketma-ket o'tkazish.								
Olingan aralashma	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}

Virus suspenziyasidan aralashma tayyorlangach, yuqtirilgan miqdor tanlanadi u texnik jihatdan qulay bo'lib, yuqtirilganda aniq samara berishi kerak.

Laboratoriya ob'ektlari deyarli katta bo'lmaganligi uchun yuqtiruvchi miqdor ham kam tanlanadi. Hatto sichqon uchun (qorin pardasining ichiga yuqtirilganda) 0,1 dan to 0,5 ml gacha bo'ladi.

Faraz qilaylik, har bir sichqonning qorin pardasining ichiga 0,3 ml yuqumli materialdan turlicha konsentratsiyada yuborish kerak. U holda virusning birinchi aralashtirilganini (10^{-1} yoki 1:10) 0,3 ml birinchi guruhdagi 6 sichqonga, 10^{-2} (1:100) 0,3 ml ikkinchi guruhdagi 6 sichqonga yuborish kerak.

Yuqtirilgan sichqonlardan o'z vaqtida (sutkasiga kamida bir marta) kuzatilib, o'lganlari esa yozib boriladi. Virus yuqtirilgach, dastlabki 48 soat ichida o'lganlarini virusning ta'siri tufayli o'ldi, deb aytish qiyin (asosan yuqori suyultirishda), uni spetsifik emas deb hisoblab, hisob-kitob qilishda inobatga olinmaydi. Virus yuqtirilgan sichqonlarning o'lishi to'xtagach 2-3 sutka ichida sichqonlar orasida yana o'lim kuzatilmasa, natija yakunlandi deb aytish mumkin. Tajriba natijalari daftarga yozib boriladi. Quyidagi natijani oldik, deb faraz qilaylik.

Virusni suyultirish	tirik	o'ldi
10^{-1} (1:10)	0	6
10^{-2} (1:100)	0	6
10^{-3} (1:1000)	1	5
10^{-4} (1:10000)	4	2
10^{-5} (1:100000)	5	1
10^{-6} (1:1000000)	6	0
10^{-7} (1:10000000)	6	0

Hisoblash tufayli shunday virus aralashmasini topishimiz kerakki, u virus, yuqtirilgan sichqonlarni 50% o'ldirgan bo'lishi kerak. Buning uchun bir necha (grafikli) usullar mavjud bo'lib, ammo ko'pchilik holda Rid va Mench yoki Kerber usulidan foydalanamiz.

Rid va Mench bo'yicha 50% samara beruvchi (SBM_{50}) virus aralashmasi miqdorini hisoblash

Bu usul viruslarning organizmda to'planib, kuchli ta'sir qilishini ko'zda tutadi. Ma'lum miqdordagi virus yuqtirilganda tirik qolgan sichqonlar, kam miqdordagi virus yuqtirilganda tirik qolgan sichqonlar, kam miqdordagi virus yuqtirilganda ham albatta tirik qolgan bo'lar edi.

Yoki uning aksi ma'lum miqdordagi virus yuqtirilgan sichqonning o'lishi kam suyultirilgan (katta miqdordagi) virus yuqtirilganda ham o'lar edi.

Bunday izohlashga tirik qolganlar va o'lganlar soni har bir aralashtirilganda fikrimizda oldingilarni qo'shgan holda ortib boradi. Bizning misolimizda qanday bo'lishini ko'rib chiqamiz.

Buning uchun natijani 6-jadvaldagidek yozish kerak. Viruslarni organizmda to'planib, kuchli ta'sir qilishini bilish uchun quyidagicha fikr yuritamiz. Yuqtirishda

manfiy reaksiya bergan haqiqiy ma'lumotni barchasi qator bo'yicha olinib (bizda virus yuqtirilgach tirik qolgan sichqonlar) oz ko'rsatgichdan ko'p ko'rsatgichga qarab boradi.

6-jadval. Virusni sichqonlarga yuqtirish natijalari

Virusni suyultirish	Haqiqiy ma'lumot		Organizmga to'planib kuchli ta'sir ko'rsatish natijalari			
	tirik	o'ldi	Tirik qoldi	O'ldi	O'lganlarni tirik qolganlarga nisbati	O'lim, %
10^{-1}	0	6	0	20	20:20	100
10^{-2}	0	6	0	14	14:14	100
10^{-3}	1	5	1	8	8:9	88.8
10^{-4}	4	2	5	3	3:8	37.5
10^{-5}	5	1	10	1	1:11	9
10^{-6}	6	0	16	0	0:16	0
10^{-7}	6	0	22	0	0:22	0

0,3 ml miqdordagi 10^{-1} suyultirilganda bironta sichqon tirik qolmadi; 10^{-4} suyultirilganda tirik qolgan 4, 10^{-3} suyultirilganda tirik qolgan 1, 10^{-4} tirik qolgan (10^{-3} qaraganda, 10^{-4} kam) uni 4 ga qo'shiladi, 10^{-5} uchun tirigi 5, o'lgani 1, 10^{-3} da ham o'lmasdan qolgani 4, 10^{-4} tirik qolgani 10^{-5} dan kam tirik qolgan bo'lar edi.

Ularning barchasini tirik qolgan 5 ga qo'shiladi. Qolgan aralashmadagilar to'g'risida ham xuddi shunday fikr yuritiladi. Yuqtirishga musbat javob bergan (ya'ni o'lgan) mulohaza qarama-qarshi tartibda o'tkazilib, kam miqdordagiga ko'p miqdordagi ma'lumot jamlanadi.

Organizmga to'planib, kuchli ta'sir qilish ma'lumotini olgach, yuqtirishga ijobiy javob berganlar foyizi hisoblab chiqiladi (misolimizda o'lganlar) har bir aralashtirilganlik uchun (masalan 10^{-4} aralashtirilgani uchun o'lgan 3, o'lmasdan qolgan 5 demak 8 tadan 3 tasi o'ldi, demak bu $3/8 \cdot 100 = 37,5\%$). Olingan natijadan ko'rinib turibdiki, 0,3 ml virus suspenziyasi olingan aralashmalarimizda 50% sichqonlarning birortasini ham o'ldirmaydi. Bunday virus aralashmasini (yoki $O'M_{50}$ virus miqdorini) hisoblab chiqish kerak.

6-jadvaldan ko'rinib turibdiki, 10^{-3} aralashtirilgan 0,3 ml virus suspenziyasi 50% ko'p sichqonlarni o'ldiradi (88,8 %), 10^{-4} aralashtirilgani esa 50% dan kam (37,5%) o'ldiradi. Demak, izlanayotgan aralashma 10^{-3} (1:1000) va 10^{-4} (1:10000) oralig'ida. Uni topish uchun quyidagi formuladan foydalanishimiz kerak.

$$\lg O' M_{50} = \lg B \frac{b-50}{b-a} \lg d,$$

bu yerda $O'M_{50}$ -izlanayotgan virusning aralashmasi; B-50% yuqori natija beruvchi aralashma; b-B aralashmaga to'g'ri kelgan foyiz; a-50% kam natija beruvchi aralashmaning foyizi; d-aralashma koeffitsienti (bizning suyultirish darajamiz 10-karrali, demak koeffitsient 10 ga teng). Misolimizda olingan sonlarni formulaga qo'ysak:

$$\lg O' M_{50} = \lg 10^{-3} - \frac{88,8-50}{88,8-37,5} \lg 10 = -3 - \frac{38,8}{51,3} = -3 - 0,76 = -3,76$$

Demak, 0,3 ml virus aralashmasi yuqtirilgan 50% sichqonlarni o'ldirishga qodir, bu yerda $10^{-3,76}$ yoki $1:10^{3,76}$ ga teng.

Boshqacha aytganda $10^{3,76}$ marta suyultirilgan 0,3 ml virus bir $O'M_{50}$ (50% sichqonlarni o'ldirishga qodir bo'lgan virusning miqdorini) saqlaydi.

U holda 0,3 ml asos qilib olingan (sinalayotgan) virus suspenziyasida shunday miqdordan $10^{3,76}$ saqlaydi.

Demak, virusning titri $T=10^{3,76} O'M_{50}/0,3$ ml, yoki $T=10/3 \cdot 10^{3,76} O'M_{50}/ml$ bo'ladi.

50%-natija beruvchi izlanayotgan noma'lum virus aralashmasining natijali miqdori (NM_{50}) tashkil etar ekan.

Buni boshqa yo'l bilan ham topsa bo'ladi. Bizning misolimizda $O'M_{50}$ 10^{-3} va 10^{-4} aralashmasining oralig'ida yotadi. Foizlar orasida farq 50% dan yuqori va 50% ga teng $88,8-50=38,8$ yuqori va past ko'rsatkichning farqi $88,8-37,5=51,3$ ga teng.

$38,8:51,3$ nisbati 10^{-3} qaysi kattalik 10^{-3} qanday kattaligi bilan ajralib turishini ko'rsatadi, uni agar suyultirish logarifm koeffitsientiga ko'paytirsak, ($lg10=1$) unda quyidagiga ega bo'lamiz: $38,8:51,3=0,76$ Demak, izlanayotgan $O'M_{50}$ aralashma $10^{-3-0,76}=10^{-3,76}=1:10^{3,76}$ ga teng. Viirusning titri esa $T=10/3 \times 10^{3,76} O'M_{50}/ml$

Kasr sondagi ko'rsatkich bilan ifodalangan virusning titri, deyarli shu ko'rinishda qoldiriladi. Ammo antilogarifm jadvalidan foydalanib, absolyut kattalikka aylantirish mumkin (V.M.Bradisni to'rt xonali matematik jadvali).

Bizning misolimizda $10^{3,76}=5754$. Shuning uchun virus titrini ifodalab, yozishimiz mumkin. Demak, $T=10/3 \times 5754$. $O'M_{50}/ml$, yoki $T=19180 O'M_{50}/ml$.

Rid va Mench usuli musbat 50% nisbatan bir muncha ma'lumotni talab qiladi (Misol, 0 dan 100%, 10 dan to 90%, 20 dan to 80% va boshqa). Har bir virus aralashmasiga o'zgarma sondagi hayvonlar sonini bo'lib, spetsifik bo'lmagan sabablarga musbat natijani ko'rsatmaslik kerak.

Bu usulning kamchiliklariga quyidagilar kiradi:

1) yuqori miqdordagi virus hamma vaqt ham juda yuqori yuqumli natija ko'rsatmaydi;

2) standart xatoni hisoblash mumkin bo'lmaydi;

3) aslidagiga qaraganda ko'p sondagi test-ob'ektlarda ish olib borilgandek ta'surot qoldiradi.

Bu usul ham aniq usullar bilan olingan ko'rsatkichlarga mos kelib ko'rsatkichlari yaqinroq keladigan kattaliklarni beradi.

50% natija beruvchi (NB_{50}) virus miqdorini Kerber bo'yicha hisoblash.

Virusni suyultirish	Tirik qoldi	O'ldi
10^{-1}	0	6
10^{-2}	0	6
10^{-3}	1	5
10^{-4}	4	2
10^{-5}	5	1
10^{-6}	6	0
10^{-7}	6	0

Bu usul oddiy bo'lib, organizmda to'planib kuchli ta'sir qilish dalillarini hisoblashni talab qiladi, spetsifik bo'lmagan sababga ko'ra musbat natija ko'rsatgan hollardagina yaroqli.

Lekin yuqori ishonchli natijalar olish uchun musbat ma'lumotlar 0 dan to 100% aniq bo'lishi zarur. Oldingi misoldagi titrlash natijalari bo'yicha $O'M_{50}$ hisoblab chiqamiz.

Bu yerda $O'M_{50}$ hisoblash uchun quyidagi formuladan foydalanamiz (bizning modifikatsiyamiz):

$$\lg O'M_{50} = \lg D + \frac{\lg d}{2} - \lg d \sum \frac{r}{n};$$

bu yerda D—100% natija beruvchi virusning yuqori suyultirilgani;

d- suyultirish koeffitsenti;

n- suyultirilganning har qaysi yuqtirilgan, test-ob'ektlar soni;

r-har qaysi suyultirilganining ta'siriga musbat javob bermoq;

$\sum \frac{r}{n}$ -barcha musbat javob bergan test-ob'ektlarining qiymatini, barcha suyultirib yuqtirilgan va 0 dan to 100% gacha natija beruvchilarga nisbati.

Harf belgilarni formulalarga qo'yamiz:

$$\lg O'M_{50} = \lg 10^{-2} + \frac{\lg 10}{2} - \lg 10 \left(\frac{0}{6} + \frac{1}{6} + \frac{2}{6} + \frac{5}{6} + \frac{6}{6} \right) = -2 + 0,5 - \frac{14}{6} = -2 + 0,5 - 2,33 = -3,83$$

suyultirilgan (yoki $10^{3,83}$ marta) 0,3 ml virus bir $O'M_{50}$ virusni saqlaydi.

So'ngra Rid va Mench bo'yicha hisoblagandek fikr yuritamiz. Agar $\lg O'M_{50} = -3,83$ unda $O'M_{50} = 10^{-3,83}$ yoki $1:10^{3,83}$.

Demak $1:10^{3,83}$ suyultirilgan 0.3 ml virusda bir $O'M_{50}$ saqlaydi, lekin asos qilib olingan dastlabki 0.3 ml virusda shunday miqdor $10^{3,83}$ marta ko'p, shuningdek $10^{3,83} O'M_{50}$.

Demak, suspenziyada virusning titri $T = 10^{3,83} O'M_{50}/0,3\text{ml}$, yoki $T = (10:3) \cdot 10^{3,83} O'M_{50}/\text{ml}$, yoki $T = (10:3) \cdot 6761 O'M_{50}/\text{ml}$ yoki $T = 22537 O'M_{50}/\text{ml}$.

Virusning titri to'g'risidagi unchalik katta bo'lmagan farqni ikki usul bilan hisoblash tufayli bo'lib, ikkala usulda ham absolyut aniqlik yo'qligidan kelib chiqadi.

Viruslarni laboratoriya hayvonlarida titrlaganda reaksiya natijalarini o'lim bo'yicha emas, balki "o'ldi" degan jadvalni, "musbat javob beradi" deganga almashtirilgan holda virusning titri ($O'M$ o'mida) YUD_{50} deb aniqlanadi.

Viruslarni tovuq homilalarida titrlaganda ham xuddi yuqorida laboratoriya hayvonlarida titrlagandagidek bajariladi, lekin titr $HO'M_{50}$ yoki $HYUM_{50}$ deb ifodalanadi.

Viruslarni o'stirilgan hujayralarda titrlaganda natijalari jadvalga "SPN" yoki "SPN bo'lmashligi" (yoki "+" va "-") yozilib, titri SPT_{50} deb ifodalanadi.

Ba'zi bir viruslar ma'lum bir sharoitda, ma'lum bir turdagi hayvonlarni eritrotsitlarini agglutinatsiyalash xususiyatiga ega. Bunday viruslarning gemmaglutinatsiyalovchi titri birliklarda (GAB) ifodalanadi.

1 GAB deb shunday miqdor qabul qilinganki, ma'lum hajmdagi virus 1% li yuvilgan eritrotsitlar suspenziyasini 50% agglutinatsiyalashga qodir.

Viruslarni gemmaglyutinatsiyalovchi ta'siri bo'yicha titrlash uchun bir qator probirkalar yoki bir qator pleksiglas panelining chuqurchasidan foydalanamiz.

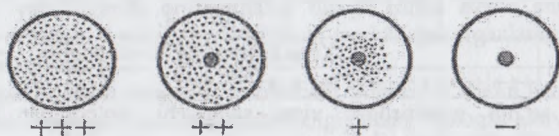
Bajariladigan ishning ketma-ketligi quyidagicha:

-titrlanayotgan virusni agglyutinatsiyalashga ega bo'lgan hayvonlardan olingan va yuvilib tayyorlangan eritrotsitlarning 1% li suspenziyasi;

-teng hajmdagi tekshirilayotgan virus saqlovchi materialni ketma ket 2 karrali suyultirilgan qatori;

-virus saqlovchi materialning barcha suyultirilganiga aniq shuncha hajmdagi eritrotsitlarning yuvilgan 1% suspenziyasidan qo'shib chiqiladi;

-Har qaysi chuqurchada (probirkada) 0 gemmaglyutinatsiyaning tezlik bilan kechishini quyidagi ko'rsatkich bo'yicha krestlar bilan baholab boriladi (55-rasm).



55-rasm krestlar bilan GAR ni baholash tartibi.

Eritrotsit cho'kmasining ko'rinishi	Krestlar bilan GAR baholash.
Barcha eritrotsitlar agglyutinatsiyalangan va to'lasincha bir qavat tekis "soyabon" hosil qilgan	+++
Eritrotsitlarning asosiy massasi agglyutinatsiyalangan va soyabon hosil qilgan, ammo markazda bir joyda to'planib agglyutinatsiyalanmagan eritrotsitlar borligi aniq ko'rinib turibdi.	++
Eritrotsitlarning asosiy massasi agglyutinatsiyalanmagan, "tugmaga" o'xshab markazga cho'kkan, atroflarida esa bir nechta eritrotsitlar agglyutinatsiyalangan va unchalik katta bo'lmagan "soyabon" bo'lib atroflari notekis "tugmachani" eslatadi.	+
Barcha eritrotsitlar agglyutinatsiyalanmagan va probirkaning eng chuqur joyiga "markaziga" atroflari notekis tugmaga o'xshab cho'kmaga tushgan.	-

Virus saqlovchi materialning yuqori suyultirilgani ikki krestdan kam bo'lmasa u holda GAR (eritrotsitlarning 50% agglyutinatsiyalanligiga to'g'ri keladi) 1 GAB virusni saqlaydi. Shunday hajmdagi tekshirilayotgan materialning (suyultirilmagani) shu miqdordagi material necha marta suyultirilgan bo'lsa shuncha 1 GAB saqlaydi. Agar gemmaglyutinatsiya beruvchi yuqori suyultirilganlik ikki krestga baholansa 1:128 bo'ladi bu esa 128 marta suyultirilgan virus shu hajmda 128 GAB bo'ladi, demak virusning titri (T) ushbu materialda 128 GAB teng (7 jadval).

7-jadval. GAR-uchun virusni titrlash.

Ko'rsatkichlar	Probirkaning nomeri										Eritrotsitlarni nazorat qilish
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Virusni suyultirish	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	
Fiziologik eritma, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Virus saqllovchi material	0,5	Ketma-ket 0,5 ml o'tkazish									-
Eritrotsitlarning 1% li suspenziyasi, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Expozitsiya	Xona haroratida 30-40 daqiqa										
Natija	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-

* Eng so'ngi suyultirilgan virus saqllovchi materialdan 0,5 ml olinib dezinfeksiyalovchi eritmaga quyiladi.

Eritrotsitlar suspenziyasini va virus saqllovchi materialning aralashtirilgani teng hajmda olinadi, chunki 128 GAB qanday hajmga to'g'ri kelishining farqi yo'q, chunki bir komponentning hajmi oshib borishi bilan ikkinchi komponent ham shunchaga oshib bormoqda. Shuning uchun virus saqllovchi materialda eritrotsit suspenziyasining va virionlarning hajmi o'zgargan taqdirda ham natija o'zgarmaydi, demak GAB soni o'zgarmaydi.

Nazorat uchun savollar

1. Virusning titri nima, virusning miqdori qanday birlik bilan o'lchanadi?
2. ChHB va THB bo'yicha virusning titrini aniqlashni so'zlab bering.
3. 50% yuqumli ta'sir birliklarida, virusning titrini hisoblashning mohiyati nimadan iborat?
4. Virusning titrini 50% yuqumli ta'sir birliklarida hisoblash usuli nimadan iborat?
5. Virusni GAB bo'yicha titrini aniqlashdagi nuqtai nazar nimaga asoslangan, viruslarni har xil usullar bilan titrlashdagi yutuq va kamchiliklarni gapiring?

12- MAVZU

Viruslar uchun gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi (GATR) yordamida antitelolarni titrlash.

Darsning maqsadi: laboratoriya sharoitida quyonning qon zardobida n'yukasl kasalligiga qarshi antiteloning titrini GATR yordamida aniqlash.

Kerakli jihozlar va zardoblar: Titri aniq bo'lgan n'yukasl kasalligining virusi (oldingi mashg'ulotdan); n'yukasl kasalligiga qarshi immunlangan CO₂ bilan ishlov berilgan quyonning qon zardobi; fiziologik eritma NaCl; 1% yuvilgan xo'roz eritrotsitlarining suspenziyasi; pleksiglas panellar; 1 ml belgilangan pipetkalar; rezina noklar; Kipp apparati.

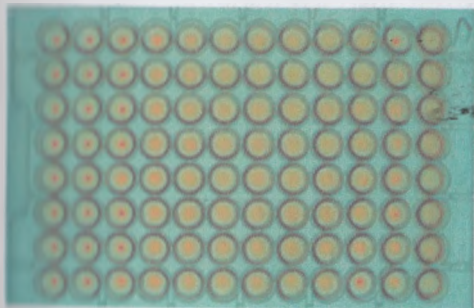
Issiq qonli hayvonlar organizmiga yuqori molekulyar yot moddalar parenteral yo'l bilan yuborilganda organizmning ularga qarshi ishlab chiqargan oqsillariga antitelolar deyiladi. Antitelo hosil qiluvchi moddalarni organizmga yuborilganda esa antigenlar deyiladi.

Viruslar deyarli antigenlar hisoblanadi. Antitelo o'zlarini hosil qilgan antigenlar bilan o'zaro ta'sir qilib, (antitelo spetsifligi) uning biologik aktivligini neytrallaydi. Bu tariqa antitelo organizmni yuqumli agentlardan himoya qiladi, ularning hosil bo'lishining mohiyati ham shunda..

Antitelolar gomologik antigenlar bilan nafaqat in vivo balki in vitro sharoitda ham o'zaro ta'sir qilishi mumkin. Odatda antiteloning manbai qon zardobi (serum) hisoblanganligi sababli va organizmdan tashqarida in vitro sodir bo'lgan antitelo va antigenlar reaksiyasini serologik reaksiya deyiladi. (56-rasm)

Gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi GATR oddiy reaksiyalardan biri hisoblanadi.

Bu reaksiya, antiteloning gomologik virus (antigen) bilan uchrashib, uning nafaqat yuqumli ta'sirini, balki gemagglutiniatsiyalovchi qobiliyatini neytrallash xususiyatiga asoslangan bo'lib, virionning gemagglutinatsiyalovchi retseptorlarini o'rab oladi va u bilan antigen + antitelo kompleksi hosil qiladi. GATR hatti harakati shundan iborat, probirkaga bir xil hajmda qon zardobi va virus suspenziyasi quyilib aralashirilgach, ma'lum vaqtdan so'ng eritrosit suspenziyasi quyilib, aralashmada virus borligi aniqlanadi.



Gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi

56-rasm

Aralashmada eritrotsitlarning agglutinatsiyalangani virusning borligidan, cho'kmaga tushishi esa virusni yo'qligidan dalolat beradi. Virus va zardob aralashmasidagi virusning yo'qolishi zardobdagi antitelo bilan virus o'rtasida o'zaro aloqa belgisi hisoblanadi.

Demak, antitelo antigenlar bilan ma'lum miqdorda qat'iy o'zaro aloqaga kirishadi. Shuning uchun, ma'lum miqdordagi virusning gemagglutinatsiyalovchi qobiliyatini bartaraf qilish uchun

antiteloning aniq minimum miqdori talab qilinadi.

Odatdagidek, GATR komponentlaridan biri hamma vaqt noma'lum, shuning uchun reaksiyani qator probirkalarda antiteloning har xil miqdori bilan qo'yiladi.

Buni amalga oshirish uchun zardobning har-xil suyultirilgan ma'lum hajmi va virusning esa bir xil suyultirilgan ma'lum hajmi yoki virusning har xil suyultirilgan ma'lum hajmi, zardobning esa bir xil suyultirilgan ma'lum hajmi olinadi.

GATR quyidagi masalalarni yechadi: zardobdagi antiteloning virusni gemagglutinatsiyalovchi ta'siriga nisbatan titrini aniqlaydi; aniq zardob yordamida gemagglutinatsiyalovchi noma'lum virusni farqlaydi; ikki xil virusning bir-biriga o'xshashlik darajasini aniqlaydi. GATR ning ustunligi; qo'yish tartibi oddiy, tez bajariladi, antiseptik sharoit talab qilmaydi, nihoyatda spetsifik va arzon. GATRning kamchiligi—bu reaksiya faqat gemagglutinatitsiyalovchi viruslar bilan bajariladi.

GATR antitelolarni titrlash tartibi quyidagidan iborat: Tekshiriladigan zardobning ketma-ketli (odatda 2 karrali) suyultirilganini bir xil hajmda (ko'pincha 0,25 yoki 0,2 ml) bir qator qilib tayyorlash; Har qaysi suyultirilganiga shu hajmda gomologik virusdan 4 GAB qo'shish;

Aralashma aniq haroratda ma'lum vaqtgacha (n'yukasl kasalligi virusi uchun 40-60 daqiqa xona haroratida) saqlab turiladi. Barcha aralashmaga bir xil hajmda 1% yuvilgan eritrotsitlar suspenziyasidan qo'shish; ma'lum vaqtdan so'ng har bir aralashmadagi gemagglutinatsiya krestlar bilan baholanadi.

Reaksiyada zardobga, virusga va eritrotsitlarga nazorat belgilanadi. Zardobning eng yuqori suyultirilgan darajasining gemagglutinatsiyani to'lasincha to'xtata olishiga zardobdagi antiteloning titri deb qabul qilingan.

8-jadval. GATR yordamida antitelolarni N'yukasl kasalligining virusiga qarshi titrlash.

Reaksiyaning komponentlari	Tajriba								Nazorat					
	Zardobni suyultirish								zar-dob-lar	Erit-rotsitlar	Virusning GAB			
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			2	1	1/2	1/4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Zardob, ml	0,2	0,2	ml dan ketma-ket o'tkazish*						-	-	-	-	-	-
Virus T=4GAB, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	0,4	0,4 dan o'tkazish**		
Virus bi-lan zar-dobni qo'shish (kontakt)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi													
1% eritro-tsitlar	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Saqlab tu-rish (eks-pozitsiya)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi													
natija	-	-	-	-	-	++	+++	+++	-	-	+++	++	-	-

*oxirgi probirkadan 0,2 ml chiqarib tashlanadi

** oxirgi probirkadan 0,4 ml chiqarib tashlanadi

GATR ning sxemasi 8-jadvalda tasvirlangan. Keltirilgan misolda gemaglyutinatsiyani to'liq to'xtatuvchi zardobning yuqori titri 1:32 ga teng bo'lganligi sababli antiteloning titri $T = 1:32$ deb yoziladi.

Zardobdagi antiteloning titri hamma vaqt uning yuqori suyultirilgani gomologik antigen bilan o'zaro ta'siri tufayli ma'lum natija berib ifodalanishini esda qoldiramiz. Antiteloning titri uning zardobdagi konsentratsiyasini ifodalaydi.

GATR qanchalik past titrdagi virus olinsa, zardobdagi antitelolarning shunchalik kam konsentratsiyasini aniqlay olishini nazarda tutish kerak (binobarin ularning titri yuqori bo'ladi). Virusning 4 GAB titri ishonchli gemaglyutinatsiya keltirib chiqaruvchi eng past miqdori hisoblanadi, chunki uni barobar miqdordagi zardob bilan aralashtirilganda uning titri har qaysi probirkalarda 2 GAB gacha pasayadi.

Demak, har bir probirkaga virusning hajmiga va zardobning hajmiga teng eritrotsitlarning 1% suspenziyasidan qo'shilganda bu yerdagi virionlarning soni eritrotsitlarni 100% agglyutinatsiyaga uchratishga qodir (virusning 1 GAB 1% suspenziyadagi eritro-tsitlarni 50% agglyutinatsiyalashini esga olamiz). Agar virusni 4 GAB dan kam olsak, gemaglyutinatsiya hodisasi sodir bo'lmazligi virionlarning soni yoki bu texnik xato va kamchilik sabablariga ko'ra to'satdan kamayishi ko'zda tashlanadi va natijada eritrotsitlarni 50% agglyutinatsiyalash qobiliyati kamayishi mumkin. Demak, ikki krestga baholangan aniq agglyutinatsiya ham sodir bo'lmazligi mumkin).

Bu holni sodir bo'lmazligi uchun probirkaga 1% eritrotsitlar suspenziyasi virus qancha hajmda bo'lsa, shu hajmda teng quyiladi (yoki probirkadagi suyuqlik hajmining yarmiga teng) yoki virusning titrini 8 GAB ko'tariladi. Ikki holda ham bir probirkadagi virus miqdori minimumiga 4 marta oshadi va gemaglyutinatsiya usuli bilan aniqlanadi. Ammo antitelo titrining ko'rsatgichi 2 marta kam bo'ladi.

9-jadval. Eritrotsitlarning ikki marta kamaytirilgan miqdorining GATR dagi sxemasi

Reaksiya-ning komponentlari	Tajriba								Nazorat					
	Zardobni suyultirish								Zar-dob-lar	Erit-rotsitlar				
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			2	1	1/2	1/4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
Zardob, ml	0,2	0,2 ml dan ketma-ket o'tkazish							0,2	-	-	-	-	-
Virus 1:4 GAB, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	0,2	0,2 mldan o'tkazgich		
Virus bi-lan zar-dobni qo'shish (kontakt)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi													
1% eritro-tsitlar qo'shib tu-rish (ekspozitsiya)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Natija	Xona haroratida 30-40 daqiqa qoldiriladi													
	-	-	-	-	++	+++	+++	+++	-	-	+++	++	-	-

Ko'rsatilgan bu usul, ko'pincha, antiteloning aniq titrini aniqlash ahamiyatsiz bo'lgan paytlarda qo'llaniladi. GATR ning modifikatsiyasi 9-jadvalda ko'rsatilgan

Antiteloning titrini to'g'ri aniqlashda zardobning suyultirilgan darajasi ham ta'sir qiladi. Suyultirish darajasi qancha kichik bo'lsa, antiteloning titri shuncha to'g'riroq aniqlanadi, lekin juda kichik suyultirish darajalarini tayyorlash noqulay bo'lganligi sababli odatda ikki karrali suyultirilgani qo'llaniladi.

Zardobdagi antiteloning titrini juda to'g'ri aniqlash kerak bo'lgan paytda reaksiyada olingan virusning miqdori 4GAB titri nazoratda kam bo'lgan payti, antiteloning titrini o'zgartirishning iloji bor. Agar nazoratdagi 3-probirkada virusning titri 1/2 GAB 2-3 krestga teng gemagglyutinatsiya va 4 da esa manfiy natija bo'lsa, bu esa reaksiyaga 4 GAB o'miga 8 GAB virus olinganidan dalolat beradi. Shu sababli tekshiriladigan zardobdagi antiteloning haqiqiy titri olganinizdagidan ikki marotaba yuqori bo'ladi. Agar virusning titrini 4 GAB olinganda (8 GAB emas) uning gemagglyutinatsiyalovchi aktivligini neytrallash uchun 2 marta kam antitelo talab qilinar edi va zardobning gemagglyutinatsiyani to'xtatuvchi oxirgi suyultirilgani 2 marta ko'p bo'lar edi.

Aksincha, agar virusning 1 GAB nazoratida (2-probirkada) gemagglyutinatsiya sodir bo'lmasa, unda zardobdagi antiteloning titri 2 marta ko'pligidan dalolat beradi.

Hanuna vaqt GATR tekshiriladigan zardoblarni virusga qarshi termostabil spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan xalos qilishni nazarda tutish kerak, chunki ular ham virusning gemagglyutinatsiyalovchi qobiliyatini to'xtatish xususiyatiga ega.

Shu maqsadda zardoblarga quyidagi moddalarning biri bilan ishlov beriladi; karbonat anhidrid gazi (CO_2), kaliy periodat (KIO_4), rivanol, kaolin, aktivlashtirilgan ko'mir, xolera vibrionining ekstrakti va hokozolar. Virusning termostabil spetsifik bo'lmagan ingibitorlaridan zardobni ozod qilishning eng oddiy usuli CO_2 yordamida ishlov berish hisoblanadi. Buning uchun dastlab zardob distillangan suv bilan 1:10 suyultiriladi gaz pufak hosil bo'lib 3-5 daqiqa davomida zardob loyqalanguncha (ballon yoki Kipp apparatidan foydalanib) CO_2 gazi o'tkaziladi.

So'ngra zardob 10-20 daqiqa davomida 2000-2500 ayl/daqiqa davomida sentrifugalnadi, cho'kma usti suyuqligi olinadi (ingibitorlar cho'kмага tushadi).

Zardobning izotonikligini tiklash uchun 8,5% natriy xlor eritmasidan uning 0,1 hajmda suv bilan suyultirilganiga teng hajmda quyiladi. CO_2 bilan ishlov berilgan zardoblarni ishlatganimizda 1:11 darajagacha suyultirilganini yodda saqlash kerak.

Nazorat uchun savollar:

1. Antigenlar va antitelolar nima?
2. Serologik reaksiya deb nimaga aytiladi va u qaysi maqsadda ishlatiladi?
3. GATR qo'llashdagi asosiy tartib qoidalar nimalardan iborat?
4. GATRning modifikatsiyasini aytib bering?
5. GATRning natijasi qanday hisoblanadi?

Neytrallash reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi

Darsning maqsadi: Zardobdagi antiteloning titrini o'stirilgan hujayralarda NR qo'yish tufayli aniqlash.

Kerakli jihozlar va zardoblar:

Spirt bilan fiksatsiyalangan SPT va normal o'stirilgan hujayralar shunday olingan bo'lishi kerakki neytrallash reaksiyasi sodir bo'lsin; yoritgichli mikroskoplar va probirkalarni mikroskop ostida kuzatish uchun moslamalar.

Neytrallash reaksiyasining (NR) mohiyati shundan iboratki, bir xil hajmdagi zardob bilan virus suspenziyasi probirkada qo'shilib, ma'lum vaqtdan so'ng aralashmada aktiv virus qolgan yoki qolmaganligi aniqlanadi.

Bunu aniqlash uchun aralashma sezuvchan tirik sistemalarga yuqtirilib (test-ob'ektlarda biologik tajriba) amalga oshiriladi.

Virus test-ob'ektlarga ta'sir qilmasa (manfiy biologik tajriba), musbat nazoratda virusning biologik aktivligi zardobdagi antitelo tomonidan neytrallashidan dalolat beradi yoki antigen bilan zardobdagi antitelolar gomologikligi isbotlanadi.

Olingan virusga nisbatan zardobning tarkibida antitelo qancha ko'p bo'lsa, u shuncha yuqori suyultirilgan darajada ham virusning aniq (standart) miqdorini (odatda 100 NM50) neytrallashga qodir. Agar musbat biologik tajriba yuz bersa u holda zardobning tarkibida shu virusga qarshi antitelolar yo'qligidan dalolat beradi.

Test-ob'ektlarning turiga qarab, NR laboratoriya hayvonlarida, tovuq homilalarida yoki o'stirilgan hujayralarda tajriba o'tkazish mumkin.

Odatda antitelo o'zining gomologik antigeni bilan qat'iy ma'lum miqdor nisbatida bir-biri bilan o'zaro ta'sir qiladi, zardobdagi antiteloning miqdori esa hamma vaqt aniq emas, shuning uchun reaksiyani qo'yishda bitta emas balki qator probirkalar olinib undagi virusga, zardobning har-xil nisbatda suyultirilgan darajalari quyiladi. Buning uchun, probirkalardagi virusning bir-xil miqdoriga zardobning har-xil suyultirilgani yoki zardobning bir xil miqdoriga virusning har-xil suyultirilgan darajalari quyiladi: NR bu ikki tadbir texnik jihatidan bir xil bajarilmaydi.

Suyultirilgan zardob bilan neytrallash reaksiyasini qo'yish

1.Qator probirkalarda tekshiriladigan zardobning (SZ) bir xil hajmdagi ketma-ket 2 karrali suyultirilgani tayyorlanadi. Suyultirish darajalarining soni zardobdagi antitelo titrining yuqoriligiga qarab har xil bo'ladi.

2.Suyultirilgan barcha zardobga shu hajmga teng miqdorida gomologik virus (SA) ning titrlangan va har qaysi test-ob'ektga 100 NM50 dan tegadigan miqdorda qo'shiladi.

3.Virus bilan zardob aralashmalari ma'lum vaqtgacha ma'lum haroratda saqlab turiladi. Har xil viruslar uchun bu ko'rsatkichlar xilma xil bo'lishi mumkin.

4.Har qaysi aralashma bir xil hajmda sezuvchan hayvonlarning (test-ob'ektlar) teng guruhlariga yuqtiriladi.

5. Har qaysi guruhdagi test ob'ektlarga virusning ta'siri zardobning suyultirilganiga qarab hisoblanadi.

6. Virusning 100 NM50 ta'siridan test- ob'ektlarni 50% himoya qiladigan zardobning suyultirilgan darajalari Kerber yoki Rid va Mench usullari yordamida hisoblanadi.

7. Zardobning suyultirilganini hisoblash, undagi virusni neytrallovchi antitelolarning titr ko'rsatkichi, deb qabul qilingan.

Misol: N'yukasl kasalligi virusi bilan emlangan quyondan qon zardobi olingan. Undagi antiteloning titrini aniqlash kerak.

N'yukasl kasalligi virusi tovuq homilalarini o'ldirishini hisobga olgan holda, NR test-ob'ekt sifatida tovuq homilalarida qo'yish mumkin. Tovuq homilalariga yuqtirish uchun yuqumli materialning 0,1-0,2 ml miqdori allantois bo'shlig'iga yuboriladi, shunda har qaysi homilaga 0,2 ml dan virus va zardob aralashmasi yuboriladi. Har qaysi homilaga virusning 100 HO'M50 ni 0,1 ml hajmdagi miqdorini yuborish uchun virusning titri 1000 HO'M50/ml teng bo'lishi kerak.

NR qo'yish uchun sinalayotgan zardobning (SZ) bir xil hajmdagi 2 karra ketma-ket suyultirilgan qatorini tayyorlaymiz.

Sinalayotgan zardobning har qaysi suyultirilganiga, n'yukasl kasalligi virusini saqllovchi materialni (SA) 1000 HO'M 50/ml titradagi teng hajmi qo'shiladi.

10-jadval. Suyultirilgan zardob bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Reaksiyaning komponentlari	Maxsus suyultirilgan zardob SZ								SA virusining nazorati
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
SZ + SA	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	+	+	-	-	-	-	-	-	-
SZ-zardobni nazorati	+								
	+								
	+								
	+								

Aralashma xona haroratida 60 daqiqagacha saqlanadi (bunday sharoitni n'yukasl kasalligi virusi talab qiladi) so'ngra, har qaysi aralashma 0,2 ml to'rttadan tovuq homilasiga yuqtiriladi. Yuqtirishning natijasi homilalarning o'limiga qarab 48-72 soatdan so'ng hisoblanadi. NR musbat natijasi homilalarning tirik qolishi bilan va manfiy natijasi esa ularning o'lini bilan belgilanadi, (demak, aralashmadagi virusli zardob neytrallash qobiliyatiga ega emas). 10-jadvalda ko'rsatilgan natijalarni oldik, deb faraz qilaylik: zardobdagi antitelolarni titrini hisoblash uchun 11 jadvalni tuzamiz.

11-jadval. Suyultirilgan zardob bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Zardobni suyultirish	Tovuq homilalarining soni	Yuqtiruvchi miqdor, ml	Tirik (+)	O'lgan (-)
1:2 = $10^{-0,3}$	4	0,2	4	0
1:4 = $10^{-0,6}$	4	0,2	4	0
1:8 = $10^{-0,9}$	4	0,2	3	1
1:16 = $10^{-1,2}$	4	0,2	2	2
1:32 = $10^{-1,5}$	4	0,2	2	2
1:64 = $10^{-1,8}$	4	0,2	1	3
1:128 = $10^{-2,1}$	4	0,2	1	3
1:256 = $10^{-2,4}$	4	0,2	0	4

12-jadval. Suyultirilgan virus bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Reaksiyaning komponentlari	Virusning suyultirilishi							zardobning nazorati
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	
SA + SZ	+	+	+	-	-	-	-	-
	+	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
SA+NZ	+	+	+	+	+	+	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-
	+	+	+	-	-	-	-	-
Virusning nazorati	+							
	+							
	+							
	+							

Zardobning qaysi suyultirilgan darajasi tovuq homilalarini 50%ni n'yukasi kasalligi virusning 100 HO'M50 ta'siridan himoya qilishni hisoblash uchun Kerberning (bizning modifikatsiya) formulasidan foydalanamiz :

$$\lg NM_{50} = \lg D + \frac{\lg d}{2} - \lg d \sum \frac{r}{n}$$

bu yerda NM_{50} – zardobning izlanayotgan, suyultirilgan darajasi. Formulaga jadvaldagi ma'lumotlarni qo'yib quyidagini olamiz.

$$\begin{aligned} \lg NM &= \lg 10^{-0,6} + \frac{\lg 2}{2} - \lg 2 \left(\frac{0}{4} + \frac{1}{4} + \frac{1}{4} + \frac{2}{4} + \frac{2}{4} + \frac{3}{4} + \frac{4}{4} \right) = -0,6 + \\ &+ \frac{0,3}{2} - 0,3 \cdot \frac{13}{4} = -0,6 + 0,15 - 0,3 \cdot 3,25 = -0,45 - 0,975 = -1,425 \end{aligned}$$

Demak, zardob $10^{-1,425} = 1:10^{1,425}$ darajada suyultirilganda n'yukasl virusining 100 HO'M₅₀ ta'siridan 50% tovuq homilalarini himoya qila oladi. Olingan sonni antilogarifm jadvalidan topganimizda $1:10^{1,425} = 1:26,5$ ga teng. Shunday qilib zardobdagi antitelolarning titri T=1:26,5.

Neytrallash reaksiyasini suyultirilgan virus bilan qo'yish

1.Virusning ikki qator bir xil hajmdagi ikki karrali suyultirilgan darajalari tayyorlanadi (virusning suyultirish darajasining titriga bog'liq)

2.Birinchi qatordagi suyultirilganining barchasiga o'sha hajmda teng miqdorda tekshiriladigan zardob qo'shiladi (uncha katta bo'lmagan suyultirilgani)

3.Ikkinchi qatordagi barcha suyultirilgan darajalarga o'sha hajmda normal zardobdan (NZ) qo'shiladi.Normal zardob ham o'sha turdagi hayvondan olingan bo'lib xuddi shunday suyultirilgan darajasi olinadi va ingibitorlaridan bir xil usul bilan xalos qilingan hamda o'zining tarkibida olingan virusga qarshi antitelozi yo'q.

4.Virus bilan sinalayotgan zardob va normal zardob aralashmalari ma'lum haroratda belgilangan vaqtgacha ushlanadi: Bu ko'rsatkich har xil viruslar uchun xilma – xil bo'ladi.

5.Aralashmalarning har qaysisi bilan bir xil miqdorda olingan virusga sezgir test – ob'ektlarning teng guruhlariga (odatda o'stirilgan hujayralar, tovuq homilalari yoki oq sichqonlar) yuqtiriladi.

6.Yuqtirish natijalari har qaysi guruhlardagi test-ob'ektlar bo'yicha olib boriladi, musbat natija virus ta'sir qilganda, ta'sir qilmaganda manfiy natija kuzatiladi.

7.Virusning titri tekshiriladigan zardob bilan ta'sir qilganda (T_{SA+SZ}) va virusning titri normal zardob bilan ta'sir qilganda (T_{SA+NZ}) alohida hisoblanadi.

8.T_{SA+SZ}, T_{SA+NZ} dan qancha pastligi aniqlanadi.Olingan bu son esa **neytrallash indeksi (NI)** deyiladi. Tekshiriladigan zardobdagi antiteloning konsentratsiyasi qancha ko'p bo'lsa, NI ham shuncha baland bo'ladi.

Agar NI<10 - ishlatiladigan virusga qarshi tekshiriladigan zardobda antitelo yo'q deb hisoblanadi, agar NI>10- antiteloning borligidan dalolat beradi (NI 10 gacha shubhali natija).

Agar virusning titrini tekshiriladigan zardob va normal zardob ishtirokida hisoblasak, unda quyidagi sonlarni olamiz:

$$T_{SA+SZ} = 10^2 \text{ NM}_{50}/\text{ml} \text{ va } T_{SA+NZ} = 10^5 \text{ NM}_{50}/\text{ml}$$

$$\text{Bundan } NI = \frac{T_{SA+SZ}}{T_{SA+NZ}} = \frac{10^2}{10^5} = 10^{-3} = 1000$$

Shunday qilib NR zardobning har- xil suyultirilgani bilan qo'yanimizda tekshiriladigan zardobdagi antiteloning titrini aniqlaydi, uning ko'rsatkichi zardobning suyultirilgani 50% test- ob'ektlarni virusning 100 NM₅₀ ta'sir qiluvchi himoya qilishda ifodalanadi. Virusning suyultirilgani bilan qo'yilgan NR zardobning tarkibidagi antitela virusning yuqumli titrini necha marta neytrallash pasaytirishini aniqlab bera oladi. Neytrallash indeksi deb ataluvchi bu abstrakt son zardobdagi antitelo konsentratsiyasining ko'rsatkichi hisoblanadi. Ma'lum bo'lishicha zardobning

tarkibida antieloning konsentratsiyasi qancha baland bo'lsa, neytrallash indeksi ham shuncha baland bo'ladi.

Neytrallash reaksiyasi quyidagi masalalarni yechadi:

1)zardobdagi antiteloning virus neytrallovchi titrini, yoki neytrallash indeksi aniqlaydi;

2)avvaldan aniq zardoblar yordamida noma'lum virusni sinab farqlaydi;

3)viruslar orasidagi antigen o'xshashlikni aniqlaydi.

Antigenli o'xshashlik darajasini Archetti formulasi yordamida hisoblanadi.

$$R\% = 100\sqrt{r_1/r_2}, \text{ bu yerda } r_1=NI_1/NI_2; r_2=NI_3/NI_4,$$

NI – virus 1; virus 2 nisbatan zardobning neytrallash indeksi; NI₂- zardobning 1 virusni 1 virusga neytrallash indeksi; NI₃ – zardobning 1 virusni 2 virusga neytrallash indeksi; NI₄ – zardobning 2 virusni 2 virusga neytrallash indeksi.

NR afzalligi, uning universalligida va yuqori spetsifikligidadir. Uning kamchiligiga quyidagilar kiradi; katta xizmat talab qilib, materialning va asboblarning strelligiga qat'iy rioya qilish so'raladi. Tirik test-ob'ektlar juda qimmat, matematik hisoblash murakkab bo'lib biologik sinab ko'rish uzoq vaqtga cho'ziladi.

NR ishlatiladigan zardoblarni virusning termostabil ingibitorla-ridan ozod qilishni hamma vaqt esda tutish kerak (ular ikki barobar suyultirilgan holda) bu jarayon hayvonning turiga qarab 56⁰Cdan 63⁰C 30 daqiqa davomida olib boriladi.

Otlarning va dengiz cho'chqachasi zardoblarini 56⁰C, tovuqlarniki – 58⁰ C, kalamush va quyonlarning zardoblarini esa 60⁰ C da qizdirishni talab qiladi.

Nazorat uchun savollar:

- 1.Neytrallash reaksiyasining mohiyati nimada?
- 2.Neytrallash reaksiyasida test obekt sifatida nimalar ishlatiladi?
3. Neytrallash reaksiyasining qanday modifikatsiyalarini bilasiz?
4. Neytrallash reaksiyasi qaysi masalalarni echa olishini so'zlab bering.
5. Neytrallash reaksiyasining yutuq va kamchiliklari nimadan iborat?

Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi

Darsning maqsadi: Agar gelida diffuziyali presipitatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasini o'rganish va natijalarni tahlil qilish.

Kerakli jihozlar va zardoblar: Yog'sizlantirilgan buyum oynalari; 2 va 5 ml belgilangan pipetkalar; paster pipetkalari; 5,6 mm kalibrli patron gilzalari; 18- 24 sm kattalikdagi tagiga namlantirilgan filtr qog'ozi to'shalgan va qapqoqli kyuveta; namlantirilgan filtr qog'oz to'shalgan Petri likopchasi; pero o'rnatilgan ruchka; fiziologik eritmada tayyorlangan 1,2% agar; n'yukasl virusi bilan immunlangan quyonning qon zardobi; n'yukasl virusi bilan zararlantirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligi; quyonning normal qon zardobi; tovuq homilasining normal allantois suyuqligi.

Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi DPR (sinonimlari: gel-pretsipitatsiya reaksiyasi, gelda ikkilamchi diffuziyalanish reaksiyasi) antitelo va erigan antigenlarning gelda diffuziyalanish xususiyatiga asoslangan bo'lib, antigen-antitelo kompleksi bunday xususiyatga ega emas.

Antigen – antitelo kompleksi gomologik antigen va antitelolar bir biriga qarama – qarshi diffuziyalanib uchrashuvdan hosil bo'ladi. U gel qatlamiga cho'kib pretsipitatsiya chiziqlarini hosil qiladi.

Bir moddaning ikkinchi modda molekulariga muayyan haroratda kirishi diffuziya hodisasi deyiladi. Diffuziya gazlarda, suyuqliklarda, qattiq jismlarda va gel muhitlarda sodir bo'lishi mumkin.

Gel deb qattiq jismlar tarkibida bir tekis tarqalgan suyuq fazalar tizimiga aytiladi. Odatda gel yuqori molekularli birikmalar hosil qiladi, ular kolloidli eritmalarini beradi va sovutilganda qotadi.

Bunday birikmalarga kraxmal, agar-agar, jelatina va boshqalar kiradi. Laboratoriya amaliyotida ko'pincha agar-agar ishlatiladi.

Zardob antitelo si immunoglobulinlar molekularining yig'indisi hisoblanib, o'zining kattaligiga qaramasdan agar gelda bemaol diffuziyalanish xususiyatiga ega.

Virus antigeni – virus oqsillaridir. Ular virion tarkibida bo'ladi va antigenning korpuskulasini ifodalaydi, ularning kattalarini agar geli diffuziyalamaydi.

Virusning eruvchi antigenlari esa agar gelda bemaol diffuziyalanadi.

DPR gelda qo'yish usuli quyidagidan iborat, agar gelining qatlamida bir nechta chuqurchalar qilinadi va ularga antigenlar va zardoblar shunday qilib qo'yiladiki zardoblar va antigenlar bir biriga yaqin bo'lishi kerak. Chuqurchalardan antigen va zardoblar agar geli qalinligida diffuziyalanadi. Har qaysi chuqurchadan barcha tomonga qarab diffuziyalana boshlaydi.

Antigen va zardoblar to'ldirilgan chuqurchalar orasidagi yuzada bir-biriga qarama-qarshi diffuziyalanadi, (gelda ikkilamchi diffuziya). Agarda ular bir-biriga gomologik bo'lsa antigen- antitelo kompleksi hosil bo'ladi; u katta bo'lganligi uchun

boshqa diffuziyanmaydi, ammo cho'kib (pretsipitatsiyanadi) oqish pretsipitatsiya chizig'i hosil qiladi.

U gel yuzasining tiniq fonida yaxshi ma'lum bo'ladi (57-rasm).

Demak, diffuziyanayotgan antigen va zardob bir biriga gomologik bo'lmasa, pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'lmaydi. Bu nuqtai nazar amaliyotdagi qator masalalarni achiadi, ulardan eng muhimlari quyidagilar:

1) 58-rasmda ko'rsatilgan DPR exemasi yordamida qon zardobidagi (Z) antitelolarni unga gomologik SA antigenga (masalan virusga) nisbatan aniqlab topadi.

Agarda zardob Z o'zining tarkibida SA spetsifik antigenga qarshi antitelo saqlasa, Z va SA quyilgan chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'ladi. Aunday pretsipitatsiya chizig'i nazoratdagi normal zardob NZ va SA quyilgan chuqurchalar orasida paydo bo'lmaydi.

2) Aniq zardob SZ antitelosiga gomologik bo'lgan materialdagi noma'lum (SA) topish DPR ga o'xshash sxema yordamida bajariladi (59 rasm).

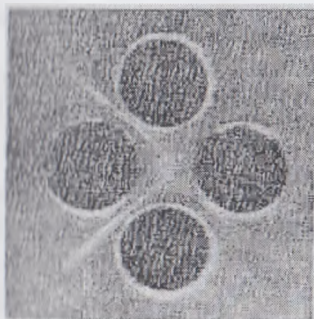
Tekshiriladigan materialda zardobdagi (SZ) antitelolarga gomologik antigen bo'lsa, A va SZ quyilgan chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'ladi biroq boshqa chuqurchalar orasida paydo bo'lmaydi;

3) Noma'lum virusni farqlash 60-rasmda tasvirlangan DPRning sxemasi yordamida amalga oshirilishi mumkin. Bu yerda SA noma'lum antigen; $SZ_1 \dots SZ_5$ noma'lum antigenlarga antitelo saqlovchi zardoblar.

Agar pretsipitatsiya chizig'i masalan SA va SZ_3 to'lg'azilgan chuqurchalar oralig'ida paydo bo'lsa, demak tekshiriladigan antigen SZ_3 zardobdagi antitelolarga gomologikligidan dalolat beradi.

4) Zardobdagi antiteloning titrini aniqlash mumkin.

Bu yerda zardob o'zining eng yuqori suyultirilgan darajasida gomologik antigen bilan pretsipitatsiya berishi chizig'ining hosil bo'lishi (bizning misolimizda 1:16) Zardobdagi (SZ) antitelo titrining ko'rsatgichini belgilaydi (61-rasm).



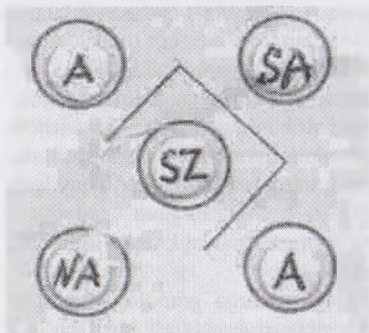
57-rasm. Agar geli yordamida buyum oynasida DPR-ni qo'yish



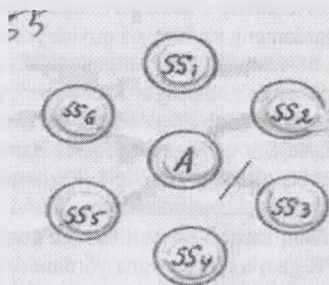
58-rasm. DPR yordamida antiteloni topish tasviri

DPR petri likopchasida, buyum oynasida va naychalarda qo'yish mumkin. DPR buyum oynalarida qo'yish keng qo'llaniladi. Uni amalga oshirish uchun quyidagilar kerak: yog'sizlantirilgan buyum oynalari; 2-5 ml belgilangan pipetkalar va paster

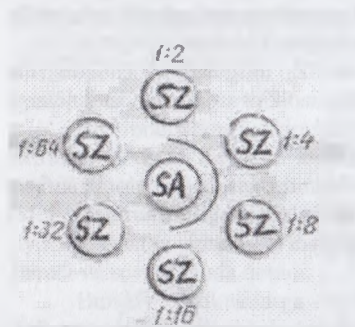
pipetkalari; o'tkir uchli 5 mm diametrli naycha yoki maxsus qolip; namlantirilgan kamera; chuqurchadagi agar gelini chiqarib oladigan o'quv perosi yoki maxsus moslama; fiziologik eritmada yoki pH 7,2-7,4 fosfat bufer eritmasida tayyorlangan 1,0-1,5% agar; antigenlar; zardoblar



59-rasm. DPR yordamida antigenni topish tasviri



60-rasm. DPR yordamida virusni farqlash tasviri



61-rasm. DPR yordamida antiteloni titrlash tasviri

Agarning tozaligi katta ahamiyatga ega, shuning uchun yaxshi tozalangan Difko agaridan foydalaniladi

Ish uchun yaqqol pretsipitatsiya chizig'i hosil qilaoladigan va antigen+antitelo kompleksi hosil qilishini ta'minlaydigan yuqori titrli sretsifik antigenlar va zardoblar olinadi.

DPR qo'yish

Reaksiyani qo'yish tartibi quyidagilardan iborat:

Yog'sizlantirilgan buyum oynachalari sovuq va tekis joyda (stolga) terib qo'yiladi. Pipetkaga 60°C qizdirilgan agardan 1,5 – 2 ml olinadi va zigzaksimon harakat bilan avval

oynachaning atroflariga quyiladi va so'ngra o'rtasi to'ldiriladi, quyish payti to'liqin va pufakchalar bo'lmasligi kerak. Oynachaga quyilgan agarning qalinligi 1,5 – 2 mm bo'lishi kerak, so'ngra agarni qotishini ta'minlash uchun 5-10 daqiqa qoldiriladi.

Qotgan agar qatlamida chuqurchalar tayyorlanadi. Chuqurchalarning soni DPR qaysi maqsadda qo'yilishiga bog'liq, chuqurchalarning diametri 5mm, chuqurchalar orasidagi masofa 3-4 mm bo'ladi. Ko'pincha chuqurchalarning ikki turdagi joylashishi qo'llaniladi.

Chuqurchalarni tayyorlash uchun uchi o'tkir naychalardan foydalaniladi. Agar tayyor qolip bo'lmasa doirasi to'g'ri keladigan har qanday naycha yoki kichik kalibrli miltiqning (5,6 kalibrli) patron gilzalaridan foydalaniladi. U holda dastlab qog'ozga chuqurchalarning o'zaro joylashish tasviri chizib olinadi va agar quyilgan petri

likopchasi yoki buyum oynachasi tagiga qo'yilib unga qarab chuqurchalar kesib tayyorlanadi. (62-rasm)

Chuqurchada qolgan agarni esa igna, paster pipetkasining uchi bilan, yoki o'quv perosi yordamida chiqarib tashlanadi. Chuqurchaga quyilgan suyuqliklar oqmasligini ta'minlash uchun, chuqurchani tubiga eritilgan suyuq agardan paster pipetkasi yordamida tomchi tomizilib so'ngra qaytadan tortib olinadi. Bu holatning tasviri 57 rasmda tasvirlanganidek ko'rinishda bajariladi. Biroq ayrim hollarda yaxshi yog'sizlantirilgan oynaga eritilgan agar yaxshi yopishgan bo'lsa, chuqurchaga qo'shimcha suyuq agar tomizilmasa ham unga quyilgan suyuqliklar oqib ketmaydi va pretsipitatsiya chizig'i normada hosil bo'ladi.

Tayyorlangan chuqurchalarga DPR komponentlari (antigenlar va zardoblar) quyiladi. Komponentlarni quyganda chuqurchalar to'lib bir biriga aralashib ketishini oldini olishi kerak. Buning uchun yaxshi cho'zilgan paster pipetkalari yordamida suyuqliklar tomiziladi.

DPR komponentlari tomizilgan buyum oynachalarida agar qurib qolmasligi uchun namlantirilgan kameralarga joylashtiriladi. Namlantirilgan kamera sifatida har qanday qopqoqli idishlardan (eksikator, petri likopchasi va boshqalardan) foydalanish mumkin, ularga suvga botirilgan paxta yoki filtr qog'ozi qo'yiladi.

Namlantirilgan kamera xona haroratida qizdiriladi yoki termostatga joylashtiriladi (termostatda) diffuziyaning kamroq bo'lsada tez bo'ladi.

DPR ning dastlabki natijasini hisoblash 8-10 soatdan, asosiyni 24 soatdan va oxirigisi esa 48 soatdan so'ng o'tkaziladi.

Petri likopchasida DPR qo'yish

Texnik jihatdan buyum oynalarida qo'yishdan farq qilmaydi, faqat bu erda agar qatlamining qalinligi 3mm, chuqurchalar doirasi va ular orasidagi masofa ham biroz kattaroq bo'ladi. Shuning uchun natijani hisoblash vaqti 5-7 kungacha uzayadi.

Kapilyarlarda DPR qo'yish usuli

Bu usul tajribada keng qo'llanilmaganligi sababli biz unga to'xtalmaymiz. Buyum oynalarida qo'yiladigan DPR preparatlarni 48-72 soatdan so'ng quritilib, qora amidli rang bilan bo'yash mumkin. Bu esa preparatlarni uzoq muddatga saqlashga va uni suratga olishga imkon beradi.

DPR ning yutuqlari quyidagilardan iborat:

Qo'yish texnikasi sodda; javob olish tez; komponentlarning tozaligi shart emas; steril sharoitda ishlashni talab qilmaydi; komponentlar nihoyat kam miqdorda talab qilinadi; har qanday eruvchi antigenlar bilan ishlash mumkin; natijalarni suratga olish mumkin.

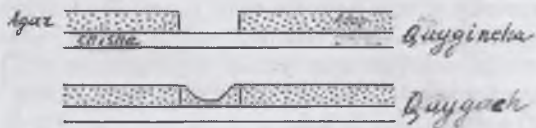
Ammo uning bu fazilatlarini, o'zining asosiy kamchiligi hisoblangan kam sezuvchanligi qoplaydi.

Shunga qaramasdan virus kasalliklarining laboratoriya diagnostikasida DPR keng qo'llaniladi.

Patmateriallarda quturish, yirik shoxli hayvonlarning rinotraxeit, cho'chqalarning afrika o'lati, itlarning o'lati va boshqa kasalliklarni viruslarini topish hamda otlarning yuqumli anemiya, adenoviruslarini, respirator - sinsitial kasalligi, yirik

shoxli hayvonlarning diareya kasalliklari viruslarini farqlashda va yirik shoxli hayvonlarning qon zardoblarida RS – virusga qarshi antitelolarni aniqlashda keng ishlatiladi.

DPR sezuvchanligini oshirish maqsadida musbat nazoratlar bilan qo'yiladi va natijasi pretsipitatsiya chiziqlarining bukilgan joyiga qarab hisoblanadi.



62-rasm.DPR qo'yish uchun chuqurcha yasash va qisman to'ldirish.

Nazorat uchun savollar

- 1.DPR mohiyati nimada?
- 2.DPR qaysi masalalarni echa oladi?
- 3.DPR xususiyati va kamchiliklari nimadan iborat ?
4. DPR qo'yish uchun qanday gel ishlatiladi?
5. Reaksiyani qo'yish texnikasi haqida gapiring.

15 - MAVZU

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.

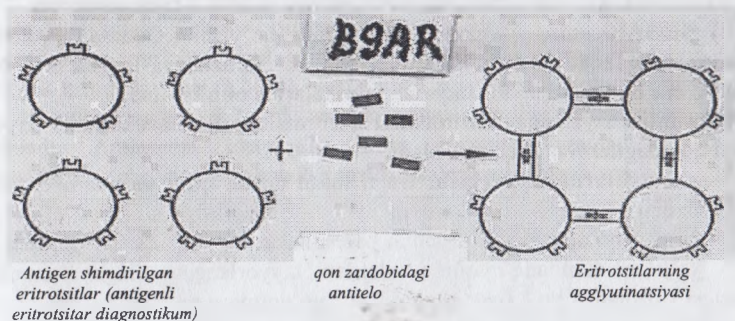
Darsning maqsadi: Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasini laboratoriya sharoitida qo'yish uslubi bilan tanishish va o'zlashtirish.

Kerakli jihozlar va zardoblar: Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus va yuqumli rinotraxeit kasalliklariga diagnoz qo'yish uchun antigenli eritrotsitar diagnostikum; yirik shoxli hayvonlarning tekshiriladigan zardoblari; BGAR suyultirgichi; 1ml pipetkalar; probirkalar; Takachi yoki Titertek apparatlari; zardoblar; NaCL izotonik eritmasi; distillangan suv; fil'tr qog'ozlari; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan idish. Agar Takachi yoki Titertek apparati bo'lmasa pleksiglas panellarning chuqurchalari ishlatiladi.

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (BGAR) virusologiya tekshiruvlarida keng qo'llanilmoqda.

Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki, eritrotsitlar yuzasiga oldindan shimdirilgan antigenlar o'ziga gomologik zardob (antitelo) bilan uchrashsa, agglyutinatsiyalanish qobiliyatiga ega bo'ladi.

Bu fenomen ushbu usulda antitelolarni topish va titrlashga asoslangan. Eritrotsitlar bu erda spetsifik determinantlarni tashuvchi vazifani o'taydi va ularning agglyutinatsiyasi antigen-antitelo reaksiyasi natijasida sodir bo'ladi va bu hol o'zining cho'kmasiga asosan ko'zga yaqqol ko'rinadi. Shu tufayli BGAR spetsifik bo'lgan serologik reaksiya hisoblanadi (63-rasm).

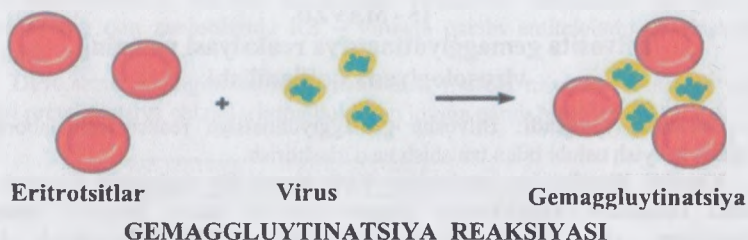


63-rasm. Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasining tasviri.

BGAR ni GAR dan farqlash kerak. GAR da eritrotsitlarni bir biriga yopishishi (agglyutinatsiyasi) uning retseptorlari virus retseptorlari bilan o'zaro ta'siri natijasida yuzaga keladi (64-rasm).

BGAR da esa, agglyutinatsiyani antigen+antitelo kompleksi yuzaga keltiradi.

40-yillarning oxirida bakterial kasalliklarni aniqlashda BGAR ni birinchi bor tavsiya qilishgan. Virus antigenlari bilan BGAR birinchi bo'lib Bernet va Andersen (1946) bayon qilishgan.



64-rasm.

Keyingi rivojlanishni Boyden (1951) ishlatiladigan eritrotsitlarga tanin bilan ishlov berish usulini joriy qilgandan so'ng davom etkazdi.

BGAR ning boshqa xili 1956 yilda tavsiya qilingan. Bunda eritrotsitlarning yuzasiga antitelolar shimdiriladi va ular o'zining gomologik antigenlari ta'sirida gemaggluytinatsiyaga uchrab o'ziga xos cho'kma hosil qiladi. Antitelo bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni qo'llash har xil materiallardagi antigenlarni tez topishga imkon yaratadi. Eritrotsitlar yuzasiga mustahkam yopishtirilgan antigenlarni eritrotsitar antigenli diagnostikmlar yoki eritrotsitga sensibilizatsiyalangan antitelolar deb ataladi.

Bu ikki muhim usulga asoslangan BGAR ning modifikatsiyalari virusologiyada juda keng qo'llaniladi.

U quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi:

a) sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni tayyorlash (eritrotsitlarni tayyorlash, ularni fiksatsiyalash, taninlash va sensibilizatsiyalash).

b) BGAR ning asosiy tajribasini qo'yish. Odatda, veterinariya laboratoriyasida faqat asosiy tajriba qo'yiladi, sensibilizatsiya-langan eritrotsitlarni tayyorlash esa biologik ishlab chiqarish fabrikalarida olib boriladi.

Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar (eritrotsitar diagnostikumlar) tayyorlash jarayoni quyidagilarni o'z ichigga oladi:

1-eritrotsitlarni tayyorlash. Bu maqsad uchun qo'y va odam eritrotsitlari keng qo'llaniladi.

Hozirgi vaqtda bu maqsad uchun parrandalarning eritrotsitlari (tovuq, kurka, o'rdak) ko'p qo'llaniladi, chunki ulardan tayyorlangan diagnostikumlar tez cho'kmaga tushadi bu esa sezgirlikni yo'qotmasdan tekshirish muddatini qisqartiradi.

Tegishli turdagi hayvondan umumiy usul bilan qon olinadi. Fibrinsizlantirilgan qon sentrifuga yordamida uch marta natriy xlarning izotonik eritmasi bilan yuviladi.

2-eritrotsitlarni fiksatsiyalash. Fiksatsiyalangan eritrotsitlarni xususiyati shundaki, ular uzoq vaqt suspenziyalarda gemolizga uchramasdan saqlanadi. Eritrotsitlarni fiksatsiyalash uchun ko'pincha formal'degid, glutarli yoki akrilli al'degidlar ko'p ishlatiladi.

Fiksatsiyalash usuli xilma- xil. Ulardan birida; 50% yuvilgan eritrotsitlarning aralashmasi, bir xil hajmdagi 50% formalin bilan qo'shiladi va 37 ° C 2 soatlik kontaktda vaqti-vaqti bilan eritrotsitlar aralashtirilib 3 marta 0,15 M/NaCL (pH 7,2) eritmasida yuviladi.

3-eritrotsitlarni taninlash. Eritrotsitlarga taninning ta'sir mexanizmi kam o'rganilgan. Biroq bunda asosiy maqsadga erishiladi-taninlangan eritrotsitlar katta hajmdagi oqsillarni shimish qobiliyatiga ega bo'ladi.

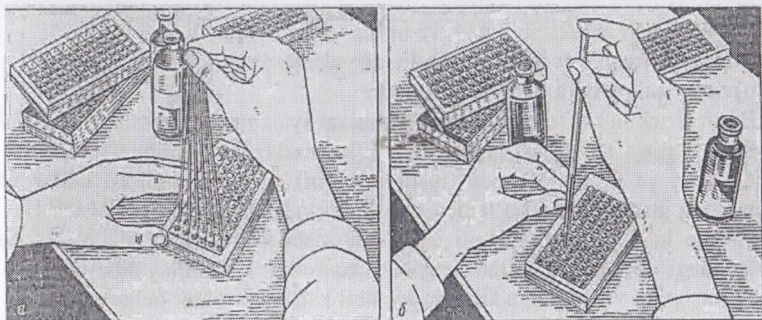
Formalinlangan eritrotsitlarni taninlash bir-xil hajmdagi 3% li eritrotsitlarni taninning (1:20000) eritmasiga qo'shish yo'li bilan 37°C haroratda 10-15 daqiqali kontaktdan so'ng sentrifugalanib, cho'kma uch karra (pH 7,2) fosfat buferi bilan yuviladi.

4-eritrotsitlarni sensibilizatsiyalash, eritrotsitlarning 0,15 M fosfat buferidagi (pH 6,4) 10% konsentratsiyadagisi teng hajmdagi virus saqlovchi suyuqlik bilan aralashtiriladi. Aralashma 37°C 60 daqiqa ushlanadi, vaqti vaqti bilan chayqatiladi, so'ng sentrifugalanadi va 2-3 marta yuviladi. Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar cho'kmasini 1%-li konsentratsiyagacha suyultirib quyonning 1% normal zardobini saqlovchi pH (7,2) bo'lgan fosfat bufer eritmasida stabilanadi.

Shu yo'l bilan sensibilizatsiyalanib olingan eritrotsitlar BGAR uchun ishlatiladi. Shuni aytish kerakki, har qaysi virus antigenlari bilan eritrotsitlarni sensibilizatsiyalash jarayoni har-xil bo'ladi; uning optimal variantlari sinov tajribalarida ma'lum bo'ladi.

BGAR ning asosiy tajribasi

Reaksiya probirkalarda yoki pleksiglas panellarning chuqurchalarida qo'yiladi. So'ngi paytlarda BGAR ning mikro usuli Takachi (65-rasm) yoki Titertek apparatlari yordamida qo'yiladi. Tekshiriladigan va nazorat zardoblar 56°C 30 daqiqa qizdiriladi. Tekshiriladigan zardob 0,2 ml hajmda quyonning 1% normal zardobini saqlovchi fiziologik eritmada (pH 7,2-7,4) ikki karrali suyultiriladi, so'ngra zardobning har-qaysi suyultirilganiga, 0,2 ml antigen bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar qo'shiladi. Aralashma chayqatilib xona haroratida saqlanadi. Nazoratdagi eritrotsitlarning cho'kishiga qarab 2-3 soatdan so'ng natija hisoblanadi.



65-rasm. Serologik reaksiyani mikrousulda qo'yish uchun ishlatiladigan Takachi asbobi:
a-komponentlarni qator chuqurchalar orqali o'tkazish;
b-maxsus pipetka yordamida komponentlarni quyish.

Tajriba quyidagi nazoratlar bilan olib boriladi:

1) eritrotsitar antigenni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+1% quyon zardobi qo'shilgan fiziologik eritma) kutilmaganda gemagglyutinatsiyaga uchrashini nazorat qilish;

2)sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+musbat zardob) aktivligini aniqlash uchun;

3)sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+normal zardob) spetsifikligini aniqlash bo'yicha;

4) zardoblarda spetsifik bo'lmagan gemagglyutininlarni yo'qligi (tekshiriluvchi zardob + sensibilizatsiyalanmagan eritrotsitlar) bo'yicha.

Reaksiyaning natijasi to'rt balli shkala bo'yicha baholanadi;

(+++)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar chetlari notekis "soyabon" hosil qiladi;

(++)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar atrofida, agglyutina-tsiyalanmagan eritrotsitlardan ingichka halqa hosil bo'ladi.

(+)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar atrofida agglyutinatsi-yanamagan eritrotsitlardan keng halqa hosil bo'ladi.

(-)-eritrotsitlar disksimon cho'kma hosil qiladi-natijasi manfiy.

Reaksiyaning musbat natijasida agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar probirka yoki chuqurcha tubiga tekis tarqalib soyabonsimon cho'kma hosil qiladi.

Agglyutinatsiya yuz bermaganda aniq natija olinadi: tekshiriluvchi zardob sensibilizatsiyalanmagan eritrotsitlar bilan, eritrotsitar diagnostikum avvaldan manfiy zardob bilan, musbat natija berganda, zardobdagi antitelolarning titri uning yuqori suyultirilgani sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni agglyutinatsi-yalay olishi qabul qilingan (13-jadvaldagi BGAR ning sxemasiga qarang).

Hozirgi vaqtda mamlakatimizning veterinariya biologik sanoati yuqumli rinotraxeit, oqsil va yirik shoxli hayvonlarning adenovirus kasalliklariga eritrotsitar diagnostikumlar to'plamini chiqarmoqda.

Har bir to'plam laboratoriya sharoitida ishlatish uchun qo'llanma bilan ta'minlangan.

Shunday qilib, BAGR quyidagi diagnostik masalalarni echa oladi:

a)zardobdagi antiteloni topadi va uning titrini aniqlaydi.

Buning uchun virus bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar ishlatiladi;

b)virus antigenini topadi va farqlaydi.

Buning uchun antitelolar bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar ishlatiladi.

BGAR ning xususiyati: juda sezgir (ko'rsatkichi bo'yicha DPR, KBR dan oldinda turadi va immunoferment usuliga yaqin) qo'yish texnikasi oddiy va 2-3 soatdan so'ng javobi tayyor bo'ladi.

Ammo kamchiliklardan holi emas. Bu stabil eritrotsitar diagnostikimlarni tayyorlashdagi qiyinchilik bilan bog'liq (komponentlar nihoyatda toza bo'lishi kerak va har qaysi virus uchun alohida sensibilizatsiya tartibini belgilash kerak.

Topshiriq

Buzoqning qon zardobidagi antitelolarning titrini yirik shoxli hayvonlarning adenovirusi misolida aniqlash kerak.

13-jadval. Zardobdagi antitelolarning titrini BGAR da aniqlash.

Komponentlar	Zardobni suyultirish								Komponentlar	Nazorat			
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280		1	2	3	4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar	0,2	0,2	0,2	
Tekshirilayotgan zardob, ml	0,2	0,2 ml dan o'tkazish							Fiziologik eritma	0,2			
Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Musbat zardob		0,2		
	Xona haroratida 2-3 soat ushlab								Manfiy zardob			0,2	
									Tekshirilayotgan zardob, ml				0,2
									Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar				0,2
Natijani hisoblash	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-		-	+++	-	-

Xulosa: zardobdagi antiteloning titri 1:160

Nazorat uchun savollar

1. Bilvosita gemagglutinatsiya - reaksiyasining, gemaggluti-natsiya reaksiyasidan farqi nimada?
2. BGAR ning mohiyatini so'zlab bering.
3. BGAR amaliyotda qanday qo'llaniladi?
4. BGARda ishlatiladigan komponentlar.
5. BGARning asosiy tajribasi qanday bajariladi?

16 - MAVZU

Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU) va uning virusologiyada qo'llanilishi.

Darsning maqsadi: Surtma, tamg'a, gistologik kesmalar va o'stirilgan hujayralardan foydalanib, biofabrikalarda chiqariladigan immun nurlanuvchi zardoblar tomonidan tomiziladi va lyuminessent mikroskop ostida qarab ko'riladi.

Kerakli jihozlar va preparatlar: lyuminessent mikroskop; nurlanmaydigan immersion moy; buyum va yopqich oynalar; atseton; fiziologik eritma; distillangan suv; petri likopchasi; fil'trovchi qog'ozlar; YuRT yoki PG-3 viruslari bilan zararlantirilgan o'stirilgan hujayra (yopqich oynada); shunga tegishli nurlanuvchi zardoblar; Paster pipetkalari; rezina tiqinli probirkalar; 1 va 5 ml pipetkalar; jarohatli pinsetlari; kyuvetalar; mavzuga oid slaydlar.

Nurlanuvchi antitelolar usuli asosida lyuminessensiya jarayoni yotadi. Uning mohiyati shundaki, har-xil moddalarning atomlari har xil turdagi quvvatlarni (yorug'lik, elektr va boshqa) yutib qo'zg'alish holatiga keladi va so'ngra avvalgi holiga qaytib yutgan energiyasini yorug'lik nuri sifatida tarqatadi.

Lyuminessensiya, fluoressensiya yoki fosforessensiya ko'rinishida yuzaga keladi.

Fluoressensiya - nur sochish, to'liqinli nur bilan nurlantirilganda sodir bo'lib (10^9 dan to 10^{17} C) nurlantirish to'xtagandan so'ng, nur sochish ham to'xtaydi.

Fosforessensiya - qo'zg'alish jarayoni to'xtagandan keyin ham nur sochish uzoq vaqt davom etadi. Tirik organizmning ko'pgina moddalari o'zining shaxsati fluoressensiyaga (aytoflyoressensiya) ega, biroq uning quvvati juda ham kam.

Fluoroxromlar (nur sochuvchi ranglar) nur sochmaydigan moddalarga nur sochish xususiyatini beruvchi moddalar hisoblanadi. Bunday fluoressensiyani ikkilamchi deyiladi. Fluoroxromlar lyuminessentli mikroskoplarda, biolagik ob'ektlarga ishlov berish uchun keng qo'llaniladi.

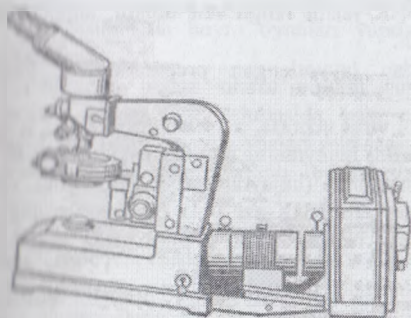
Lyuminessentli nur sochish Stoks qoidasiga amal qiladi, bu qoidaga binoan fluoressensiya nuri qo'zg'atuvchi nurga qaraganda nihoyat uzun to'lqinga ega. Agar qo'zg'atuvchi nur ko'p bo'lsa, fluoressensiya nuri esa-yashil bo'ladi. Bu esa nihoyat ravshan qo'zg'atuvchi nurdan kam quvvat fluoressensiyani filtrlab olishga imkon beradi.

Lyuminessensiya mikroskopda fluoressensiyani qo'zg'atish uchun yaqin ul'trabinafsha yoki ko'k binafsha spektr qismlari ishlatiladi.

Lyuminessentli mikroskop esa maxsus lyuminessent yordamida amalga oshiriladi. Hozirgi vaqtda laboratoriyalarda ML-1, ML-2, ML-3 va "Lyumini" nomli lyuminessent mikroskoplari ishlatiladi. (66-rasm).

Lyuminessent mikroskopida ko'k-binafsha qismli spektni ajratish uchun bir qancha yorug'lik filtrlar (FS-1, SS-4+SS-8) ishlatiladi; issiqlikdan optikalarni va preparatlarni rangsizlanib qolishidan himoya qiluvchi (SZS-14, SZS-7, BS-8, va solingan yoki achchiq tosh eritmasi quyilgan bochkaga) fil'trlar va mikroskopning okulyarida esa qo'zg'algan nurni to'suvchi hamda lyuminessensiya nurini o'tkazib beradigan (JS-18, JS-3) fil'trlar bilan ta'minlangan bo'ladi. Lyuminessent mikroskopi qo'zg'atuvchi

stolga joylashtirilgan stolga o'rnatiladi. Mikroskopni tebranmasligini ta'minlash zarur, chunki mikrosurat olganda halaqit beradi.



MI-2 lyuminescent mikroskopning umumiy ko'rinishi.

Xona yaxshi shamollatilgan bo'lishi kerak, chunki nur manbaidan tarqaluvchi gaz sog'liqqa zarar etkazishi mumkin. Agar tok kuchi 4-5A bo'lganda mikroskopdagi nur beruvchi chiroq o'zining nur berish quvvatiga 5-10 daqiqadan so'ng erishadi.

Ikkinchi marta chiroqni yoqish uchun, uni dastlab to'lasincha sovutish kerak. Ko'pincha tekshiruvchilar, preparatlarni lyuminescent mikroskopda tekshirishni yuqoridan tushadigan nur ostida olib boradi,

chunki u preparatni pastidan yoritib kuzatishda qator qulayliklarga ega, nur kam oqib ketadi, qo'zg'atuvchi nurning spektrlar tarkibi yaxshi, tekshiruvchining ko'ziga nur kam tushadi va ob'ektlarni yoritish kattalashadi.

Lyuminescent mikroskopida ishlatish uchun o'zidan nur sochmaydigan yuqori sifatli immersiyali moylar ishlatiladi. Ayrim paytlar uning o'rmini bosuvchi chiroq bilan almashtiriladi, biroq uni uzoq vaqt qo'llaganda ob'ektlarning sifati buziladi.

Virusologiya amaliyotida lyuminescent mikroskop asosan ikki usulda ishlatiladi: fluoroxromlar (nur beruvchi ranglar bilan bo'yash) va nurlanuvchi antitelolar usulida.

Fluoroxromlash-preparatlarni nur sochish quvvatini va kontrastligini oshirish maqsadida fluoroxromlar bilan ishlov berish. Hozirgi vaqtda mamlakatimiz sanoatida fluoroxrom to'plamlari chiqariladi. Eng ko'p qo'llaniladigan akridin guruhi (to'q sariq akridin, sariq akridin va boshqalar) va tiozil guruhi (primulin). Fluoroxromlarning past konsentratsiyadagi suvdagi eritmalari ko'p ishlatiladi (1:1000 dan to 1:1000000). Fluoroxromlash usulini ayrim viruslarni (chechak, Born kasalligi, adenovirus kasalliklarida) o'rganishda qo'llash mumkin.

Ularning orasida to'q sariq akridin katta ahamiyatga ega, u nuklein kislotalarning polixromatik fluoressensiyasini chaqiradi.

Masalan, bo'yalgan preparatlarda dezoksiribonuklein kislotasi ravshan sariq-rang bilan nur sochadi, ribonuklein kislotasi esa to'q sariq qizil nur sochadi.

Fluoroxromlash usuli uchun preparatlar ikki yo'l bilan tayyorlanadi:

a) yangi surtma-tamg'achalarga (organlardan, shilliq pardalardan) yoki o'zlashtirilgan hujayra suspenziyalarga 1-2 tomchi to'q sariq akridinning ishchi eritmasidan (1:10000) 1-2 tomchi tomzilib va yopqich oyna bilan yopiladi. Shu usulda tayyorlangan preparat lyuminescent mikroskopi ostida kuzatiladi;

b) olingan patmaterialdan tayyorlangan surtma tamg'alar, yoki zararlantirilgan o'zlashtirilgan hujayralar (yopqich oynachalarda) 96% etil spirti bilan 15-30 daqiqa davomida mustahkamlanadi, Xenks eritmasi bilan chayiladi, preparatga 1-2 tomchi

to'q-sariq akridin (1:10000) tomiziladi, 5-10 daqiqadan so'ng yopqich oyna bilan yopiladi va tekshiriladi.

Natijada, hujayra yadrosidagi DNK-yashil rangli nur beradi, sitoplazmadagi RNK esa qizil yoki to'q sariq nur sochadi.

DNK saqlovchi adenoviruslardan tayyorlangan preparatlarning yadrolari donador yashil nur sochadi.

Agar preparatlarda RNK saqlovchi virus uchrasa, masalan gripp virusi, u vaqtda virus materiali ravshan qizil donalar shaklida hujayraning sitoplazmasida topiladi.

DNK yoki RNK ning kelib chiqishini (hujayraga tegishlimi yoki virusga tegishlimi) farqiga bormoq uchun preparatlarni RNK-aza yoki DNK-azalarning 0,5% eritmali bilan 5-10 daqiqagacha ishlov beriladi yoki ul'trabinafsha nurlar bilan nurlantiriladi.

Natijada hujayra RNK yoki DNK ning nurlanishi darhol yo'qoladi, viruslarniki esa yana 20-30 daqiqa davomida nur sochadi. Bu esa virus nuklein kislotalarining spetsifikligini isbotlaydi.

Oddiy fluoroxromlash usuli murakkab emas, biroq u ko'p hollarda kasallik qo'zg'atuvchilarini to'lasincha farqlay olmaydi.

Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU), yoki immunofluoressensiya reaksiyasi (IFR)

Bu usulning mohiyati shundan iboratki, fluoroxrom bilan bo'yalgan yoki belgilangan antitelolar o'zining gomologik antigenlari bilan bog'lanish xususiyatini saqlab qoladi. Hosil bo'lgan antigen+antitelo kompleksi lyuminessent mikroskopi ostida o'zining xarakterli nur sochishiga qarab ko'rinadi va topiladi.

Shunday qilib, NAU yordamida serologik reaksiyaning dastlabki davrini nazorat qilishga imkon yaratiladi, shu sababli reaksiyaning maxsusligiga uning yuqori sezgirligi qo'shiladi.

Antitelolar olish uchun, yuqori faollikga ega bo'lgan, begona antitelolardan tozalangan virusga qarshi giperimmun zardoblar ishlatiladi.

Bu zardoblardan uning antitelosini saqlovchi gomogenli fraksiyasi ajratiladi va ular fluoroxromlar bilan belgilanadi. Fluoroxrom sifatida ko'pincha fluoressent izototsionat-FITS(yaxshil nur sochuvchi)va rodamin sul'foxlorid-RSX (qizil nur sochuvchi). Fluoroxromlar bilan belgilangan antitelolarni kon'yugat deb ataladi.

Kon'yugatlar ampulalarga quyilib-20°C yoki undan ham past haroratda saqlanadi. Undan tashqari kon'yugatlar 1:10000 tiomersal qo'shib 4°C haroratda saqlash mumkin. Nur sochuvchi zardoblar yoki ularning globulinli fraksiyalari liofillanib quritilgan holda uzoq vaqt o'zining aktivligini saqlaydi. Kon'yugatning har qaysi seriyasini ishlatganda, dastlab uning ishchi suyultirilganini tajriba yo'li bilan aniqlanadi, chunki u nafaqat nurlanuvchi zardobning sifatiga bog'liq balki preparatlarning lyuminessent mikroskopi ostida yoritilganligiga ham bog'liqdir.

Bu maqsad uchun kon'yugatning har xil suyultirilgani (yorliqda ko'rsatilgan ishchi suyultirilgan 1-2 suyultirish darajasi yuqori va past) bilan bo'yalgan preparatlar mikroskop ostida kuzatilib yaxshi nur sochadigan yuqori suyultirilgani tanlanib, bo'yash titri ikki marta oshiriladi.

Preparatlarni tayyorlash

Immunofluorescent usuli bilan tekshirish olib borilganda, surtma, tamg'a, gistologik kesmalar va o'stirilgan hujayralardan foydalaniladi.

Ishlatiladigan buym oynalari yupqa, toza yog'sizlantirilgan va tinalmagan bo'lishi kerak.

Shuning uchun ularni neytral suyuqliklarda yuviladi, distillangan suvda chayiladi va spirt aralashmasida yoki spirt bilan efir aralashmasida saqlanadi. Ishlatishdan oldin buyum oynalari spirt lampa alangasida toblanib so'ngra sovutiladi.

Avvaldan yopishtirilgan leykoplasterga kerakli yozuvlar oddiy qalam bilan yoziladi.

Boshqa xil qalamlar bilan yozilganda preparat fiksatsiyalaganda erib ketib, fluoressiyalovchi zardoblar bilan ishlov berishga halaqit beradi.

Surtmalar yuvindilardan va boshqa suyuqliklardan tayyorlanadi.

Surtma-tamg'achalar organizmning qaysi to'qimasida yoki organida virus ko'p to'plansa, o'sha materialdan tayyorlanadi. Quturish kasalligiga diagnoz qo'yish uchun miyadan; otlarning rinopnevmoniyasida va itlarning gepatit kasalligida-jigardan; gripp, yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, adenovirus kasalliklarida burun, tamoq yuvmalaridan surtmalar, tamg'alar esa burun bo'shlig'i, bronx va kekirdak shilliq pardalaridan tayyorlanadi; chechak kasalligida surtmalar vezikulalardan, papulalardan tayyorlanadi.

Gripp virusini aniqlash uchun va boshqa respirator kasalliklar qo'zg'atuvchilarini topish uchun, burun yo'llari shilliqlardan tozalanadi paxta tampon yordamida surtma olinib, buferlangan fiziologik eritma yoki oziqa muhitlari quyilgan probirkalarga joylashtiriladi. So'ngra, tampon chayiladi, siqiladi va olib tashlanadi, eritma sentrifugalaniib uning cho'kmasidan surtmalar tayyorlanadi. Ko'p qavatli yassi epiteliy bilan qoplangan masalan tamoq, ko'z shilliq pardasi, qin shilliq pardalarini tekshirish uchun, dastlab shilliq moddalardan tozalanadi va qirib (qirtishlab) olinadi. Odatda bu epiteliylardan tayyorlangan preparatlar tekshirishga yaramaydi, chunki ular autofluoressensiyaga ega. Shu sababli preparatlarni qirtishlab olingan joylardagi hujayralardan tayyorlanadi.

Organlardan tamg'alar tayyorlaganda buyum oynachalari organning sirtiga tegiziladi. Tamg'alar yupqa va tekis bo'lishi kerak. Surtma tamg'achalar havoda quritilgach, so'ngra fiksatsiyalanadi va ishlatilunga qadar muzlatgichlarda saqlanadi (4°C - 70°C). Nazorat uchun sog'-hayvonlarning organlaridan shu yo'l bilan preparatlar tayyorlanadi.

Agar viruslarni oldindan o'stirilgan hujayralarda to'plash kerak bo'lsa, unda o'stirilgan hujayralar probirkaga solingan yopqich oynachalar yuzasida o'stiriladi.

Bu plastinkalar zararlantirilgandan so'ng har-xil vaqtlarda chiqarib olinib, oziq muhitlardan tozlash uchun fiziologik eritma bilan yoki fosfat buferi eritmasi bilan sekin yuviladi.

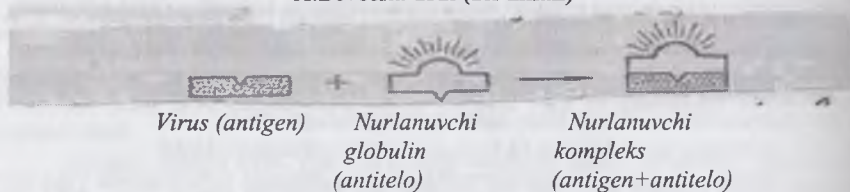
So'ngra xona haroratida yoki toza filtr qog'ozi yordamida quritiladi va fiksatsiyalanadi.

Virus antigenlari uchun eng yaxshi fiksator toza atseton hisoblanadi, uning minus 10 - 15°C sovutilgani yoki metil spirti ishlatiladi.

Preparatlar 10-20 daqiqa davomida fiksatsiyalanadi. Fiksatsiyalash vaqti va harorati virusning turiga bog'liq. O'ta xavfli viruslarni fiksatsiyalash vaqti cho'ziladi.

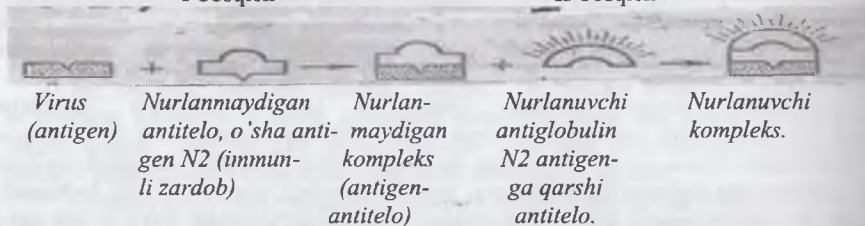
Masalan, quturish kasalligi bilan ishlaganda preparatlar kamida 4 soat fiksatsiyalanadi. Nurlanuvchi antitelolarning bevosita va bilvosita usullari ma'lum (67-rasm).

A.Bevosita usul (bir zinali)



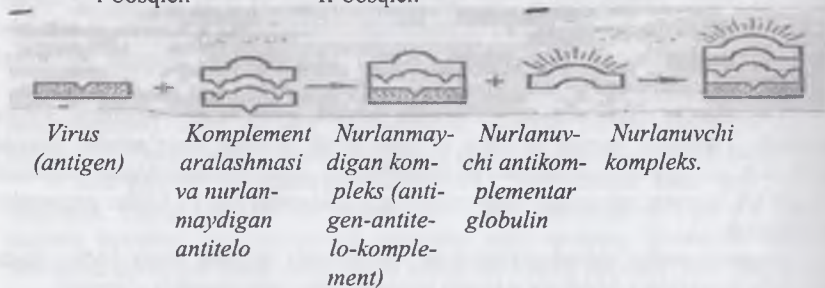
B.Bilvosita usul (ikki zinali)

1. Antigenni nurlanuvchi antiglobulin yordamida topish



2. Antigenni nurlanuvchi komplement yordamida topish.

I-bosqich II-bosqich



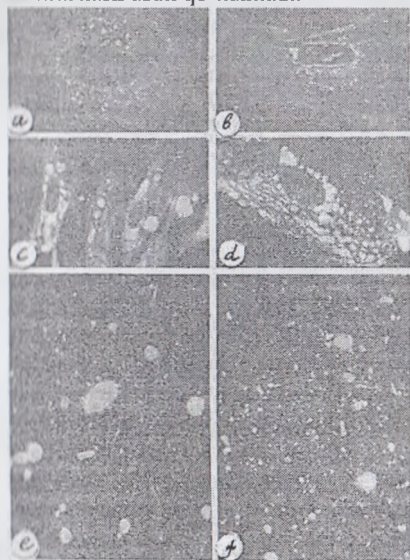
67-rasm. Preparatlarga fluoressensiyalanuvchi antitelolar usuli bo'yicha ishlov berish sxemasi.

- ++++ -och yashil ravshan nur sochganda;
- +++ -yashil ravshan nur sochganda;
- ++ -yashil sariq rangli past nur sochganda;
- +
- aniq bo'lmagan past nur sochganda;
- ob'ekt nur sochmaganda;

1. Bevosita yoki bir zinali usulni (Weller va Coons, 1954) har xil virus antigenlarini indikatsiyalash uchun qo'llaganda har qaysi antigen uchun nurlanuvchi antitelolar ishlatiladi. Preparatga to'g'ridan to'g'ri konyugat tomizilib 37°C namlantirilgan kamerada 20-60 daqiqa ishlanadi, ayrim tekshiruvchilar esa bu jarayonni 4°C da uzoqroq vaqt olib borgan.

Antigen bilan bog'lanmagan kon'yugatlaridan tozalash uchun preparatlar fiziologik critma (pH 7,2-7,5) bilan yuviladi. So'ngra ularni havoda quritiladi, nurlanmaydigan moy tomizilib mikroskop ostida kuzatiladi. Nurlanishni spetsifikligiga va ravshanligiga qarab uning natijasi hisoblanadi va tuzilishining o'ziga xosligiga qarab quyidagi shkalalarda belgilanadi.

Nazorat sifatida tarkibida tekshiriladigan virus yo'q preparatlar olinadi (normal o'stirilgan hujayralar, sog'lom hayvonlarning organlaridan tayyorlangan tamg'alar). Ularga bir vaqtda tajribadagi preparatlarga ishlov bergandek ishlov beriladi (68-rasm). Tekshiriladigan preparatlardagi spetsifik bo'lmagan nurlarni pasaytirish maqsadida kontrastlash usuli qo'llaniladi.



68-rasm. O'stirilgan hujayralarda (a, b, c, d) quturish virusining, va virus yuqtirilgan sichqonlarning miyasidan tayyorlangan.

(e, f) tamgadan FAU bevosita usulida antigenni ko'rsatish. E.V. Klyuevaning preparatlari.

Buning uchun tekshiriladigan surtmalarga ot yoki buqa zardobi al'buminining rodamin bilan belgilangan suyuqliklar bilan ishlov beriladi. Natijada mikroskop ostidagi preparatlardan spetsifik antigenlar yashil nur sochadi, preparatlarning tagi esa to'q sariq yoki qo'ng'ir rangli ko'rinishda bo'ladi.

Biofabrikalarda chiqariladigan quritilgan spetsifik nur sochuvchi immun zardoblar va al'buminlar, surtmalarni bo'yashdan oldin yorliqda ko'rsatilgan hajmda distillangan suv bilan eritiladi.

Yaxshi preparatlar odatda tez va cho'kmasiz eriydi. Ular eritilganda loyqalansa va cho'kina hosil qilsa 6000 ayl / daqiqa sentrifugalanib loyqadan va cho'kmadan tozalanadi. Eritilgan preparatlarni 4°C saqlanganini bir necha haftagacha ishlatish mumkin. Tekshiriladigan preparatlarga ishlov berishdan oldin spetsifik kon'yugat bilan nur sochuvchi al'buminning ishchi suyultirilgani tayyorlanadi. FITS bilan

belgilangan nurlanuvchi immunli globulin aralashmasi rodamin bilan belgilangan al'bumin aralashmalari orasidagi nisbat tajriba yo'li bilan aniqlanadi, chunki ularning seriyalarini aktivligi chiqarilgandan to ishlatilganicha o'zgarishi mumkin.

Bevosita usul antigenlarni topadi va farqlaydi. Buning uchun, har qaysi virusga o'zining nurlanuvchi zardobi bo'lishi kerak.

2. Bilvosita yoki ikki zinali usulda dastlab antigenga nurlanmaydigan antitelo bilan ishlov beriladi (1-zina). Natijada antigen+antitelo kompleksi hosil bo'ladi, ularni topish uchun esa nurlanuvchi turga qarshi zardob ishlatiladi. Turga qarshi zardobni virusga qarshi zardob olingan hayvon globulinlari bilan emlab olinadi.

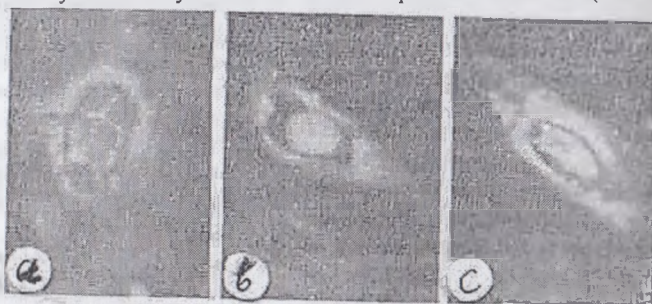
Ko'pincha quyon, ot va dengiz chochqachasi globulinlariga qarshi zardoblar ishlatiladi.

Bilvosita usulda, fiksatsiyalangan preparatlarga (yuqorida ko'rsatilgandek shubha qilinadigan virusga qarshi belgilanmagan zardob yoki gamma-globulinlar tomiziladi, so'ngra preparat 37°C da 30 daqiqa davomida ushlanadi.

Bog'lanmagan antitelolar yuvib tashlanadi. Preparatga tarkibida qaysi hayvondan virusga qarshi antitelo olingan bo'lsa, shu hayvonning gamma-globuliniga qarshi antitelo saqllovchi kon'yugat tomiziladi, agar tovuqlardan olingan antitelo ishlatilsa, unda faqat tovuqlarning gamma-globuliniga qarshi va fluoroxrom bilan belgilangan antitelolar ishlatiladi.

Bu kon'yugatlar bilan bo'yash vaqti xuddi bevosita usuldagiga o'xshash.

Preparatlar bog'lanmagan belgilangan antitelolardan yuvib tashlanadi, unga mur sochmaydigan moy tomizilib lyuminescent mikroskopi ostida kuzatiladi (69-rasm).



69-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlanib o'stirilgan hujayrada FAU bilvosita usulida yirik shovchi hayvonlarning adenovirus antigenini uchratish. L.N. Nosach, R.V. Belousova va boshqalarning preparatlari.

a) yadrodagi nur chiqarmayotgan yumaloq kiritma, kiritmadan tashqarida ham aloqa bo'lmaganligi tufayli nurlanmayapti;

b) yadro markazidagi kiritmaning nur chiqarishi;

c) yadro va sitoplazmaning nurlanib turishi.

Bilvosita usulning bir qancha afzalliklari mavjud, u nafaqat antigenlarni topishda ishlatiladi, shuningdek antitelolarni titrlashda ham qo'llaniladi. Bu usul bevosita usulga qaraganda bir necha marta sezgir, chunki antigenning har qaysi molekulasini odatda antitelonig bir qancha molekulasini bog'laydi.

Bu antitelolar esa o'rganiladigan antigen bilan bog'lanib o'z navbatida nurlanuvchi antiglobulinlarga antigen hisoblanadi va uni ko'proq bog'laydi. Undan tashqari, bu usulda ko'pgina har xil viruslarning antigenlarini yagona belgilangan zardob bilan topish mumkin.

Biofabrikalar chiqaradigan, quritilgan antiglobulinli lyuminescent zardoblar kon'yugatlarini ishga tayyorlash uchun uni dastlab changlantiriladi va 1 ml distillangan suv quyilib aralashtiriladi.

So'ngra fiziologik eritmada qo'shib, ampulaning yorlig'idagi ko'rsatilgan suyultirish darajasigacha suyultiriladi.

Yaxshi kon'yugatlar darhol eriydi va cho'kma hosil qilmaydi. Eritilgan kon'yugatlarni 2-4⁰ C haroratda 1-2 oygacha saqlash mumkin.

Kon'yugatlarni ishchi suyultirilganidan quyuproq konsentratsiyalarini ishlatganda spetsifik bo'lmagan nurlanishlarni kuzatamiz.

Bilvosita usulning bir qancha xillari ishlab chiqilgan. Shulardan komplementni qo'llash ko'proq e'tiborga loyiqdir. (Goldwasser va Shepard, 1958). Bu usulda preparatlarga aktivligi yo'qotilgan va fluoroxrom bilan bo'yalgan zardoblar va komplement tomiziladi, so'ngra antigen+antitelo+komplement kompleksini ko'rish maqsadida preparatga komplementga qarshi nurlanuvchi zardob tomiziladi.

Bu variant birinchisiga qaraganda sezgir hisoblanadi va universal hamdir, chunki har-xil virus antigenlarini topish uchun yagona nurlanuvchi komplementga qarshi zardob kerak bo'ladi.

Bilvosita usulning har ikki variantlari ham antigenlarni topish va farqlash uchun hamda spetsifik antitelolarni titrlash uchun ishlatiladi.

Avvaldan aniq virus saqlovchi materiallardan tayyorlangan surtmalarga tekshiriladigan zardobning har-xil suyultirilgani bilan ishlov berilgach ulardagi spetsifik antitelsoni topish va uning titrini aniqlash ham mumkin.

Bu usul virus kasalliklarining serologik diagnostikasini tezlashtiradi va soddalashtiradi. (Oqsil kasalligiga diagnoz qo'yish bo'limiga qarang antitelolarni aniqlash va titrlash usuli).

NAU biologiyaning har xil sohasida keng qo'llanilmoqda. Ayniqsa virusologiyada juda keng qo'llanilmoqda.

NAU usulining yuqori spetsifikligi, sezgirligi, oddiyligi va tez javoblighi tufayli virus antigenlarini topish va farqlash uchun ishlatiladi.

Bu usulning ayniqsa sitopatik ta'sir chaqirmaydigan, gemagglutinatsiyalash va gemadsorbsiyalash qobiliyatiga ega bo'lmagan viruslarni aniqlashda katta ahamiyatga ega.

Virusga qarshi antitelolarni hamda xususiy antitelolarni topish va titrlashda NAU antigenlari bilan hujayralar orasidagi o'zaro ta'sir jarayoni, morfologiyasini o'rganishni, hujayralarda virus antigenining to'planish dinamikasini, virus antigenlarining bog'liqligini, hamda virus kasalliklarining patogenezini o'rganishga imkon yaratadi.

Ayniqsa bu usulning aralash va surunkali kechuvchi virus kasalliklarini o'rganishdagi ahamiyati katta.

NAU diagnostikaning ekspress-usuliga tegishli, chunki qisqa vaqt ichida (bir necha soat) u virus antigenlarini oz miqdorda bo'lsa ham topadi.

Ammo, laboratoriya diagnostikasi jarayonida NAU ko'pincha qoniqarsiz natijalar beradi. Buning asosiy sababi reaksiya natijasining spetsifiklik darajasini baholashi mumkinligi, bu esa ko'pgina faktorlarga bog'liq.

Spetsifik bo'lmagan reaksiyaning tabiati to'lasincha o'rganilmagan.

Biroq ayrim sabablari aniqlangan, ular quydagilardan iborat;

- 1) Kon'yugatning tarkibida oqsillar bilan bog'lanmagan fluoroxromlar borligi;
- 2) Kon'yugatda begona antitelolarning borligi;

3)Spetsifik bo'lmagan holda preparatda belgilangan oqsillarning adsorbsiyalanishi.

Hozirgi vaqtda NAU hayvonlarning ko'pgina virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda keng qo'llaniladi.

Nazorat uchun savollar

1.NAU nimadan iborat va uning virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda ishlatilishi?

2.Virusologiyada NAU ning qanday xillari ishlatiladi?

3.NAU yordamida qanday masalalarni echish mumkin?

4.NAU yutuq va kamchiliklari nimadan iborat?

5.NAUni qo'yish tartibi to'g'risida so'zlab bering.

17 - MAVZU

Diagnostik masalalarni echish

Darsning maqsadi: talabalarning virus kasalliklariga diagnostik qo'yish usullari bo'yicha bilim saviyasini oshirish, diagnostik ishlarida dastlabki malaka hosil qilishni oshirish va viruslar bilan ishlashning umumiy usullarini tajribada qo'llash bo'yicha tushunchalar berish.

Kerakli jihozlar: mavzuga oid turli xil slaydlar, jadvallar.

Diagnostik qo'yish jarayonini diagnostika deb ataladi. Diagnostika esa kuzatishdan va kasal hayvonni tekshirishdan olingan patmateriallarni tekshirishdan, tekshirish natijalarini baholash va tahlil qilishdan iborat. Kasallikning chiqish sababini va kasallikning shaklini va kasal hayvon organizmining holati to'g'risida xulosa qilish.

Yuqumli kasalliklarni samarali davolash usullari ishlab chiqilmaguncha ular bilan kurashish diagnostik qo'yib unga qarshi profilaktik tadbirlar o'tkazish bilan chegaralaniladi xalos;

Shuning uchun virus keltirib chiqaradigan yuqumli kasalliklarga diagnostik qo'yish ularga qarshi kurashish tadbir choralar sistemasida hal qiluvchi o'rinni egallaydi.

Tez va to'g'ri qo'yilgan diagnostik virus kasalliklarining kelib chiqishini bartaraf etishni ta'minlaydi, bu esa epizootik holatni konkret aniqlashga imkon beradi va sog'lomlashtirish tadbir-choralarini maqsadga muvofiq o'tkazishga yordam beradi.

Noto'g'ri qo'yilgan diagnostik yoki kechiktirilgan diagnostik esa, kelib chiqqan kasallikning tarqalishiga imkon yaratadi, uni bartaraf qilish tadbir-choralarini o'tkazishni qiyinlashtiradi, ko'plab iqtisodiy zarar etkazadi, ayniqsa tez tarqaluvchi yuqumli virus kasalliklarida (oqsil yoki juda og'ir kechuvchi chochqalarning o'lati) misol bo'la oladi.

Shu sababli virus kasalliklariga diagnostik to'g'ri va tez qo'yilishi kerak. Afsuski bu ikki talab bir-biriga zid, diagnostik qancha shoshilinch ravishda qo'yilsa, natijasi ham uncha to'g'ri bo'lmaydi, shuningdek diagnostik qancha kech qo'yilsa natijasi aniqroq bo'ladi.

Ko'pchilik hollarda diagnostik qo'yish uchun, bir qancha tahlil va bir butun har xil ma'lumotlar majmuasini to'plash kerak.

Shuning uchun diagnostik uzoq va o'ylab qilingan mehnatning natijasidir. Odatda o'rganiladigan ma'lumotlar majmuasi quyidagilardan iborat: kasallikni kelib chiqishi haqidagi epizootologik ma'lumotlar; kasallikning belgilari; organizm a'zolaridagi va to'qimalardagi patologoanatomik o'zgarishlar; hayvonlardan olingan patologik materialni laboratoriyada tekshirish natijalari.

Virus kasalliklariga diagnostik qo'yish qoidaga asosan ikki bosqichni o'z ichiga oladi: klinik-epizootologik (laboratoriyagacha) diagnostik xo'jalikda amalga oshiriladi va kasallikka dastlabki diagnostik qo'yish imkonini beradi. Laboratoriya diagnostik ixtisoslashtirilgan laboratoriyalarda o'tkaziladi (yoki laboratoriya bo'limlarida) va oxirgi diagnostik qo'yishga imkon beradi.

Olingan ma'lumotlar diagnostikaning birinchi bosqichida ishlatiladi. Bularga esa kasallikning klinik belgilari, epizootologik ma'lumotlari va yorib ko'rish natijalari (patologoanatomik o'zgarishlar) jalb qilinadi.

Epizootologik ma'lumotlar hayvonlarni kasallanish sababi, xududlarga tarqalish tezligi, kasallangan hayvonlarning turlari, kasallikning kechishi va rivojlanish sur'ati haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga oladi.

Kasallikning alomatlari deb klinik tekshirish paytida kuzatilgan kasallikning belgilariga aytiladi.

Bu o'zgarishlar (normaga qaraganda) quyidagilardan iborat, tana harorati, nafas olishning soni va shakli, tomir urishining soni, ishtahaning buzilishi, xulq atvoring o'zgarishi, terining va shilliq pardalarning holati, ovqat hazm qilish va chiqarish organlarining faoliyati va boshqalardir.

Patologoanatomik o'zgarishlar o'lgan va majburiy o'ldirilgan hayvonlarni yorib ko'rish natijasida aniqlanadi. Ular mikroskopik o'zgarishlar ya'ni hujayralarda, to'qimalarda yuz beradi va gistologik usullar bilan aniqlanadi, hamda sog'lom hayvon organizmi a'zolarida uchramaydigan o'zgarishlarga (shakli, kattaligi, rangi konsistensiyasi, holati, tugunchalar paydo bo'lishi, qon quyulishlar) bo'linadi.

Kasallikning yuqumli yoki yuqumsizligini aniqlash uchun olingan ma'lumotlar etarli bo'ladi. Yuqumli kasallikda, to'plangan ma'lumotlarni diqqat bilan tahlil qilish va ularni taqqoslash tufayli qaysi kasallik mavjud ekanligini aytib berish mumkin.

Shuningdek ularning har qaysi (virus va boshqa qo'zg'atuvchilar chaqiruvchi) o'ziga xos ajralib turadigan klinik belgilar kompleksi epizootologik holat va patologoanatomik o'zgarishlar bilan kechadi. Bunday holatda qo'yilgan klinikoepizootologik diagnoz ishonchli hisoblanadi. Ammo ko'p hollarda u dastlabki va taxminiy diagnoz hisoblanadi; ayniqsa viruslar chaqiruvchi bir qator yuqumli kasalliklarda epizootologik ma'lumotlar, klinik belgilar va ulardagi patologoanatomik o'zgarishlar bir-biriga juda o'xshash bo'lganligi tufayli kasallikni to'lasincha ishonch bilan aniqlashning imkoni bo'lmaydi. Undan tashqari kasallik bir yoki bir nechta etiologik faktorlarga (masalan, ikki xil virus bilan yoki bir vaqtda virus va bakteriyalar bilan kasallik chaqirganda) diagnoz qo'yish jarayoni yanada murakkablashadi.

Ayrim vaqtlar kasallikning klinik belgilarini kuzatib epizootologik va patologoanatomik ma'lumotlarni o'rganib ishonchli diagnoz qo'yish mumkin.

Masalan, kasallik yirik shoxli hayvonlarni va cho'chqalarni bir vaqtda zararlantirib juda o'tkir kechishi va nihoyatda tez tarqalib qisqa vaqt ichida sruv-sruv hayvonlarni kasallantirsa, otlar esa bu kasallikka chalinmasa, kasallangan hayvonlarning og'zidan aftalar hosil bo'lib ko'p so'lak ajralib tursa va tuyoqlarining orasida ham jarohatlar kuzatilsa u holda bemalol oqsil kasalligi deb diagnoz qo'yish mumkin. Bunday paydo oqsil kasalligi qo'zg'atuvchisining turini va variantini aniqlash kerak bo'ladi.

Dastlabki diagnostning taxminiy xarakteri juda ham katta ahamiyatga ega, chunki diagnoz juda qisqa vaqt ichida qo'yiladi va veterinar vrachlar birdaniga ko'p kasallikka shubha qiladi.

Virus kasalliklarining oxirgi diagnozi ko'p hollarda laboratoriyada tekshirishlarining natijalari asosida qo'yiladi. Odatda laboratoriyada tekshirishlarni o'tkazish uchun kasal hayvonlardan olingan patologik materiallar talab qilinadi.

Tekshirishning vazifasi patologik materialda virus antigenlarini topish va ularning turini aniqlashdan iborat.

Virusning aktiv shakllarini unga sezgir laboratoriya hayvonlarida biologik sinab ko'rishni o'tkazish yo'li bilan topiladi yoki kam hollarda—gemagglutinatsiya reaksiyasi yordamida topiladi.

Hayvon organizmida viruslarning borligini qon zardobida virusga qarshi antitelalarning borligidan va ulardan olingan patmaterialda esa virus antigenlari mavjudligini bilamiz. Ularni topish va farqlash serologik reaksiyalar yordamida bajariladi. Shu bilan bir qatorda organizmda virusning borligini patmateriallarda virusning kiritma-tanachalarini topish yo'li bilan ham aniqlanadi.

Bularning barchasi mikroskopik usullar bilan topiladi. Virus kasalliklarining laboratoriya diagnostikasini uch guruhga bo'lish mumkin.

Ekspress usullar. Patmaterialda virusni uchratishga asoslangan. Bu usullar virusni borligini tez aniqlaydi, ammo olingan ma'lumotlarni to'lasincha to'g'riligi shubhaliroq.

Virusologik usullar. Bu usul patologik material tarkibidagi noma'lum virusni ajratib ularni serologik reaksiyalar yordamida farqlashga asoslangan. Ushbu usul o'zining ko'p mehnat talab qiladigan, uzoq vaqtga cho'ziladigan tekshirishlari bilan farq qilib, qo'zg'atuvchi haqida to'g'ri javob beradi, ammo javobi retrospektivdir.

Diagnostikaning serologik usullari

Kasal hayvonlardan olingan juft zardobdagi antitelalarning titrini aniqlashga qaratilgan. Juda ishonchli bo'lib to'g'ri javob beradi, lekin bu ham retrospektiv hisoblanadi.

Kasal hayvonlardan shunday patologik material, olinadiki, unda virusning katta bo'lmagan konsentratsiyasi borligi faraz qilinadi.

O'lgan yoki majburiy o'ldirilgan hayvonlardan olingan patologik material hayvonning klinik o'limidan yoki o'ldirilgandan so'ng 1-2 soatdan kechiktirmasdan (kechikma materiallar bakteriyalar bilan ifloslanishi tufayli material olishning iloji bo'lmaydi) olish kerak.

Patologik material sifatida ko'pincha jarohatlangan organlardan (bir necha kub santimetr kattalikda) bo'lakchalar olinadi:

a) sog' organlardan farq qiluvchi (shakli, kattaligi, rangi, yumshoq yoki qattiqligi va bar xil o'zgarishlar paydo bo'lishi bilan);

b) jarohatlanishi mumkin bo'lgan va o'zida virus saqlovchi, buni o'lim oldi klinik belgilariga qarab mulohaza qilinadi.

c) ko'pincha virus-jigar, taloq, o'pka, bosh miya, limfa tugunlari va buyrakda saqlanadi.

Laboratoriyada keltirilgan patologik material konservantlardan tozalanadi, qonida tortilib o'lchanadi va 2-3 qismga bo'linadi.

So'ngra jo'natish xatining mazmuniga, materialning miqdoriga, uning sifatiga va ko'rinishiga qarab tekshirish rejasi tuziladi.

Rejaga asosan patologik materialni kamida 2 usul bilan o'rganish ko'zda tutiladi va iloji boricha tez natija olish va ularni esa qo'ldan kelguncha ishonchli usullar

yordamida isbotlash kerak bo'ladi. Shuning uchun material qismlarga bo'linadi (bir qismi esa ehtiyotdan qoldiriladi).

Tekshirish usullarining xiliga qarab patologik materialdan kesmalar, tamg'alar, surtmalar yoki suspenziyalar tayyorlanadi.

Ekspress usullar. Bu usullar yordamida patologik materialda virus antigenlarini (virus oqsillari) kiritma-tanachalarini va virionlarini tez topish mumkin. Ularni tez topish usullari ekspress-usullar guruhiga birlashtirilgan va ular yordamida qo'yilgan diagnozga ekspress diagnoz deyiladi.

Virus antigenlarini topish. Patmaterialdagi virus antigenlarini topish uchun istalgan serologik reaksiyadan foydalanish mumkin, antigen sifatida esa patologik material (to'g'ridan - to'g'ri yoki tegishli ishlov berilgandan so'ng), antitelo sifatida - avvaldan ma'lum antiteloni, giperimmun zardoblar oldindan tayyorlanadi).

Buning uchun qulay immunofluoressensiya (IFR), komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) yoki diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi (DPR), hamda immunferment aniqlash usullaridan foydalaniladi.

IFR usuli 2-4 soat ichida patologik materialning tarkibida birorta virus antigeni bor yoki yo'qligiga javob bera oladi.

Reaksiyaning qulayligi shundan iboratki, hozirjavob qo'yish texnikasi oddiy komponentlarni kam talab qiladi, tekshiriladigan materialning tozaligini talab qilmaydi, yuqori sezgir va universaldir. Bu reaksiyaning kamchiligi, unda spetsifik bo'lmagan nur sochish hollari kuzatiladi. Patmaterialdagi virus antigenlarini KBR yordamida ham aniqlash mumkin.

Biroq bu reaksiya IFR qaraganda sezgirliги kam hisoblanadi. Uni qo'yish uchun virus antigenining etarli konsentratsiyasini saqlovchi patmaterialning ma'lum miqdori kerak.

Undan tashqari patologik materialdan suspenziya tayyorlash zarur, uni tinitish va antikomplementar moddalardan tozalash kerak (ishlov berish usulini tanlash patologik materialning holatiga va laboratoriyaning imkoniyatiga bog'liq). KBR-mehnatni ko'proq talab qiladigan reaksiyalardan hisoblanib, qo'llaniladigan komponentlarni aniq titrlanishi zarur.

Shunga qaramasdan, bu reaksiya veterinariya amaliyotida keng qo'llaniladi, komplementni bog'lash reaksiyasiga qaraganda ham DPR sezgirliги kam hisoblanadi. Yuqorida aytilgan serologik reaksiyalar patologik materialdagi virus antigenini juda qisqa vaqt ichida (2-3 kunda) topadi va uni qaysi turga oidligini aniqlaydi. Ularning ichida eng yaxshisi IFR hisoblanadi.

Kiritma-tanachalarni topish. Ayrim viruslarning organizmda borligini patologik materialda kiritma-tanachalarini topish yo'li bilan aniqlanadi. Kiritma tanachalar, viruslarning hujayrada ko'payishi jarayonida va uning ta'sirida hujayralarda to'plangan voyaga etgan virionlar (koloniyalar) va hujayraning jarohatlangan materiallaridan hosil bo'ladi.

Kiritma-tanachalar ko'pincha, hujayra materiallari yoki virionlar kombinatsiyalaridan tashkil topadi.

Har xil viruslar hosil qilgan kiritma-tanachalar bir-biridan farq qilishi tufayli ularni topganda ma'lum bir kasallikka oid virus borligidan dalolat beradi.

Hujauralarda ko'payish jarayonida 100 ga yaqin viruslar kiritma-tanachalar hosil qilishi ma'lum, ammo amaliyotda ulardan bir nechtasi muhim ahamiyatga egadir.

Sut emizuvchi hayvonlar nerv hujayralarining sitoplazmasida quturish kasalligi virusi hosil qilgan Babesh-Negri kiritma-tanachalarining diagnostik ahamiyati nihoyatda katta.

Kiritma-tanachalarni qo'ylarning chechak virusi (Borrel tanachasi), parrandalarning chechagi (Bollinger tanachasi) itlarning o'lat kasalligida (lentsa tanachasi), tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida (Zeyfred tanachasi) hosil bo'ladi.

Lekin ularning bor yo'qligini aniqlashning maxsus usullari yo'qligi sababli (umumiy bo'yab korish usullaridan foydalaniladi). Kiritma tanachalar diagnoz qo'yishda (Babesh-Negri tanachasidan boshqalari) yordamchi ahamiyatga ega.

Virionlarni topish (viruslarning elementar tanachasi)

Patologik materiallardagi virionlarni elektron mikroskop yordamida topish mumkin. Faqat sut emizuvchi va parrandalardagi chechak virionlarining kattaligi 250 nm bo'lganligi uchun yorug'lik mikroskopi yordamida aniqlash mumkin.

Virusoskopiya deb nomlangan bu usulda kasal hayvonlarning papulalari yoki vezikulalari kesib olinib, buyum oynalarida surtma yoki tamg'achalar tayyorlanadi.

Quritilgan surtma va tamg'alar ammiakli kumush bilan Morozov usulida bo'yaladi va mikroskop ostida immersiya moyi tomizish yordamida tekshiriladi. Chechak kasalligining virusoskopiya usuli juda oddiy, ammo elementar tanachalarni aniqlash uchun etarli tajribaga ega bo'lish kerak.

Virusoskopiyaning musbat natijasi bilan musbat biologik sinab ko'rish natijalari chechak kasalligiga diagnoz qo'yish uchun etarli hisoblanadi.

Biologik sinab ko'rish va immunologik namuna.

Ekspress-diagnostika usullariga biologik sinab ko'rish ham qo'shiladi, ammo ekspress usullarga (immunologik namuna ham) shartli ravishda qo'shiladi.

Biologik sinab ko'rish-laboratoriya hayvonlarini va tabiiy moyil hayvonlarni kasal hayvonlardan olingan material bilan tajriba uchun yuqtirish (barcha tirik ob'ektlarga yuqtirish ko'zga tutiladi).

Kasallikning o'ziga xos klinik belgilarini va unga o'xshash patologoanatomik o'zgarishlar chaqirish maqsadida biologik sinab ko'rish o'tkaziladi.

Bunday kasalliklar juda kam, jumladan Aueski kasalligiga gumonsiralgan quyonlarda biologik sinab ko'riladi, quturish kasalligida- sichqonlarda ayrim hollarda quyonda, oqsil kasalligida- dengiz cho'chqachalarida, yirik shoxli hayvonlarning o'latida-buzoqlarda, vezikulyar stomatit kasalligida-dengiz cho'chqachalarida va oq sichqonlarda, qo'ylarning kontagiozli ektimasida va chechak kasalligida-qo'zichoqlarda; yuqumli laringotraxeit va bronxit kasalliklarida jo'jalarda biologik sinab ko'riladi.

Immunli va immunsiz hayvonlarda immunologik namuna, ya'ni biologik sinab ko'rishni o'tkazish kasallikni aniqlashga va uni farqlashga imkon beradi.

Yirik shoxli hayvonlarning o'lat kasalligida immunologik namuna buzoqlarda, cho'chqalarning Afrika o'latida-cho'chqa bolalarida qo'yiladi.

Biologik sinab ko'rish va ayniqsa immunologik namunani tabiiy moiil hayvonlarda o'tkazish nihoyat qimmat va bajarilishi qiyinligi tufayli kam ishlatiladi.

Biologik sinab ko'rish esa laboratoriya hayvonlarida o'tkazish ko'p ishlatiladi, biroq javobi doimo aniq bo'lavermaydi.

Ekspress-diagnostika usullarini umum baholaganda quyidagini aytish mumkin; ular qisqa vaqtda kasal hayvon organizmidan olingan patologik materialdagi virusning turi va uning bor yo'qligi haqidagi savolga javob beradi. Ularning asosiy xususiyati ham shunda. Biroq olingan javobning to'g'rilik darajasi qoidaga binoan unchalik yuqori emas, shuning uchun ekspress-diagnoz natijalarini boshqa usullar bilan isbotlash talab qilinadi.

Shu sababli tekshirish uchun keltirilgan patologik materialning faqat bir qismigina tekshirish uchun ishlatilsa, qolgan qismlari esa boshqa virusologik tekshiruvlarga sarflanadi.

Odatda, bu ikki taraflama tekshirish usullari bir vaqtda boshlanadi, ammo ekspress-usullarning javobi birinchi bo'lib, keyinchalik esa boshqa usullarniki olinadi, ular ekspress diagnostik to'g'riligini isbotlaydi.

Virusologik usullar. Bularga patologik materialdagi virusning aktiv shaklini indikatsiyalovchi va keyinchalik farqlovchi usullar kiradi. Viruslarning indikatsiyalash odatda sezgir, tirik laboratoriya ob'ektlarida biologik sinab ko'rish yo'li bilan va ularni farqlash esa serologik reaksiyalar yordamida amalga oshiriladi.

Bu usullarni virusologik deb shartli ravishda atash mumkin(to'g'risi virusologik masala) chunki boshqa laboratoriya usullarining vazifasi ham viruslarni topish va ularni aktiv bo'lmagan shaklini yoki organizmdagi ularning izini farqlashdan iborat.

Virusologik usullar bilan ayrim patologik materialni tekshirganda material steril sharoitda olinishi kerak va undagi virus esa yaxshi konservatsiyalangan bo'lishi zarur. Laboratoriyalarda ulardan aralashma (suspensiya) tayyorlanadi, uni tartib bilan materialning qismlaridan va bo'lakchalaridan (sentrifugalab) va bakteriyalardan va zamburuug'lardan (antibiotiklar bilan yoki fil'trlab) tozalanadi.

Viruslarni topish. Tayyorlangan suspensiya bilan (tarkibida virusning borligi taxmin qilingan) sezgir laboratoriya ob'ektlariga yuqtiriladi shu maqsadda ko'pincha laboratoriya hayvonlari, tovuq homilalari va o'stirilgan hujayralar qo'llaniladi. Yuqtirish usullari va yo'llari virusning tropizmiga qarab aniqlanadi.

Ob'ektlarni tanlash esa patologik materialning kelib chiqishiga va ob'ektlarni tanlaganda ularni viruslarga sezgirliги hisobga olinadi.

Viruslarni indikatsiyalash uchun laboratoriya ob'ektlari tanlanganda, kasallikning klinik-epizootologik ma'lumotlariga, patologik material olingan hayvonning turiga va patologik materialning xiliga qaraladi.

Ko'pincha bu ma'lumotlar kerakli laboratoriya sistemalarini va ularga yuqtirish usullarini tanlashga imkon beradi. Shuning uchun kasal parrandalardan olingan patologik materialdagi virusni izlash uchun tovuq homilalariga yuqtirish usullari qo'llaniladi. Bu erda, katta yoshdagi tovuqlar organizmida rivojlangan virus tovuq homilasida bimalol rivojlanishi mumkinligi ko'zda tutiladi.

Agar patologik material sut emizuvchi hayvonlardan olingan bo'lsa unda patologik materialdagi virusni topish uchun o'stirilgan hujayralarga yuqtirish maqsadga muvofiq.

Bu yerda patologik materialdagi virus ma'lum hayvonlar hujayralariga moslashgani va tez SPT chaqirishiga asoslangan.

Patologik materialdagi virusni indikatsiyalash uchun laboratoriya hayvonlarini tanlash nihoyat murakkabdir. Faqat dastlabki diagnoz natijasiga qarab chamlanadi, u qo'zg'atuvchini laboratoriya hayvonlarining turiga, sezgirligiga qarab tanlash xususiyatiga asoslanadi.

Laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun yuqtirilganda virus patologik materialda qaysi hujayra tarkibida bo'lsa, yuqtirilgandan so'ng ham o'sha hujayralarga tushishga (miyadan tayyorlangan suspenziya bilan aynan miyaga yuqtirish, jigar suspenziyasi bilan qorin bo'shlig'iga, o'pka suspenziyasi yoki yuqori nafas olish yo'llarining yuvindisi bilan burunga yuqtirish kerak va hokazo) virusning tropizmini ham hisobga olish zarur.

Yuqorida aytilganlarga qaramasdan patologik materialdagi virusni aniqlash uchun o'tkazilgan birinchi passajda laboratoriya sistemalari virusga nisbatan sezilarli reaksiya bermaydi. Bu hol ko'pincha, laboratoriya hayvonlariga virus moslashmaganligi sababli yoki uning miqdori spetsifik reaksiya chaqirishga etarli bo'lmagan paytlar sodir bo'ladi. Bu holda, birinchi passaj "ko'r passaj" hisoblanadi, shundan so'ng laboratoriya hayvonlariga ikkinchi passaj qilinadi. Agar ikkinchi passaj ham virusga reaksiya chaqirmasa u ham "ko'r passaj" hisoblanadi va uchinchi passaj o'tkaziladi.

Ayrim paytlar virus 10 marta passaj o'tkazilganda spetsifik ta'sir ko'rsatishi mumkin, chunki bu orada virus laboratoriya sistemalari organizmiga etarlicha moslashadi va spetsifik bo'lgan reaksiya chaqirish uchun etarli miqdorda to'planadi. Odatda 3-4 "ko'r" passaj o'tkaziladi.

Virusni farqlash. Shunday qilib u yoki bu usullar bilan patologik materialdagi aktiv virus topiladi.

Navbatdagi vazifa bu qaysi virusligini aniqlab uni farqlashdan iborat.

Ayrim hollarda virusni aniqlash jarayonida qaysi virus ekanligini farqlash mumkin.

Buni farqlashda patologik material olingan hayvonning turi, sezgir laboratoriya sistemalarining turi va laboratoriya ob'ektlariga virusning ta'sir qilish xususiyati to'g'risidagi ma'lumotlar hisobga olingani yordam beradi.

Undan tashqari virusni turini ishonchli aniqlashga gemagglutinatsiya va gemadsorbsiya chaqirishini, hamda uning efirga sezgirligini o'rganish natijasida ham erishish mumkin. Lekin topilgan virusni uzil kesil farqlash birorta mos keladigan serologik reaksiya yordamida bajariladi. O'rganiladigan virus bu holda virus antigeni vazifasini bajaradi, spetsifik zardoblar sifatida esa avvaldan tayyorlanganlari ishlatiladi. Tez uchrab turadigan viruslarga qarshi zardoblar (konservatsiyalangan holda) qo'llaniladi.

Ajratilgan virusning xususiyatini o'rganish va antigen sifatida foydalanish uchun kerakli hajmdagi suspenziyasini olish kerak.

Shuning uchun ajratilgan virusni identifikatsiyalashdan oldin, qaysi hayvondan ajratilgan bo'lsa, shu xil laboratoriya sistemalariga yuqtirish yo'li bilan ko'paytiriladi.

Viruslarni uzil-kesil identifikatsiyalash uchun serologik reaksiyalarni tanlash virusning xususiyatiga binoan va u yoki bu serologik reaksiyalarni qo'yish imkoniyatiga qarab aniqlanadi.

Agar virus gemagglutinatsiyalovchi xususiyatini namoyon qilsa, gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida ishonchli identifikatsiyalanadi.

Virus o'stirilgan hujayralardan ajratilgan bo'lsa va gemadsorbsiyalanish qobiliyatini namoyon qilsa uni gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida identifikatsiyalash maqsadga muvofiqdir.

Yuqorida aytilgan xususiyatlar ajratilgan virusda bo'lmagan taqdirda uni o'sha laboratoriya ob'ektlarida neytrallash reaksiyasi yordamida identifikatsiyalanadi.

Biroq neytrallash reaksiyasining ko'p mehnat talab qilishi, uzoqqa cho'zilishi va nihoyat qimmat turishi inobatga olinadi. Shuning uchun gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiysidan foydalanish mumkin.

Bu reaksiyani qo'yish tartibi oddiy va oson, tez natija beradi, kam ingredientlar sarflanadi, lekin sezuvchanligini kamligi bilan ajralib turadi va shu sababli unda qo'llaniladigan antigenlar va zardoblarning titri yetarli yuqori bo'lgan paytda (bunday zardoblar hamma vaqt ham olinavermaydi) foydalanish mumkin. Shuningdek, KBR dan foydalanish mumkin.

Biroq u ko'p mehnat talab qilib, komponentlarga ehtiyoj katta, unga faqat eruvchan antigenlar yaraydi va antikomplementar xususiyatlardan ozod (yoki ozod qilingan) antigenlar ishlatiladi. Shuning uchun KBR barcha viruslarga yaroqli hisoblanadi.

Virusning etiologik rolini isbotlash

Agar serologik reaksiya tanlanib, ajratilgan virus identifikatsiyalangach ham yana hayvonlarning kasallanishida uning etiologik rolini isbotlash kerak.

Patologik material olingan hayvonlardan olingan juft zardobdagi antiteloning titri ajratilgan virusga nisbatan yuqori bo'lsa bunda kasallik isbotlangan bo'ladi. Bu esa qo'shimcha tekshirishlarni talab qiladi. Ayrim hollarda ajratilgan virusning hayvonlarning kasallanishidagi etiologik rolini isbotlash uchun shu turdagi sog'lom hayvonlarga (odatda yosh hayvonlarga) yuqtirib, ularda shu kasallikni chaqirish yo'li bilan bajariladi. Ammo bu usul o'zining qimmatligidan tashqari, kasallikni hamma vaqt takrorlashga qodir emas.

Virusologik tekshiruv natijalariga asoslanib qo'yilgan diagnozni ishonchli deb hisoblash mumkin. Lekin u uzundan-uzoq mehnat talab tekshirishlar bilan bog'liq.

Serologik diagnostika usullari

Kasal hayvonlarning zardoblari serologik usullar bilan tekshiriladi. Odatda juft zardoblar ishlatiladi, ularni olish uchun har qaysi kasal hayvonlardan 2-3 hafta oralig'ida ikki marta qon olinadi.

Juft zardoblar kasallikning boshida va oxirida olinishi kerak, amaliyotda bu vaqtni aniqlash kamdan-kam amalga oshiriladi.

Zardoblar steril bo'lishligi uchun, qonni olish va uning zardobini ajratish aseptik sharoitda bajariladi.

Ular tekshirilguncha tiqinli probirkalarga quyilib muzlatgichga yoki muzlatilgan (minus 25°C va undan ham past) xolatda saqlanadi.

Eng muhim masala kasal hayvonlarning taxminiy, qo'zgatuvchisi hisoblangan virusga nisbatan juft zardoblardagi antiteloning titrini aniqlash.

Virusga qarshi antitelo axtarishga asos bolib epizootologik ma'lumotlarni kuzatish, klinik belgilar va patologoanatomik ozgarishlarni organib qoyilgan dastlabki diagnoz xizmat qiladi.

Zardobdagi antiteloni borligini va uni titrini taxmin qilnadigan virus antitelolarini (bular laboratoriyada bolishi kerak, ular oldindan tayyorlanadi) qo'llab serologik reaksiyalarda aniqlanadi.

Shu virus bilan ishlash uchun yaraydigan hamda laboratoriya imkoniyatini va xodimlarning malakasini inobatga olinib serologik reaksiyalar tanlanadi.

Shu bilan bir qatorda tez javob olish va kop mehnat talab qilishi ham hisobga olinadi. Agar malum virus gemagglyutinatsiyalovchi qobiliyatga ega bolca, masala oson echiladi. Bu holda antiteloni topish va uning titrini aniqlash uchun bajarilishi oddiy bo'lgan va tez javob beruvchi gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasidan foydalanish maqsadga muvofiq.

Diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi ham bajarilishi oddiy, oson va tezkorligi bilan ajralib turadi va zardoblarni titri baland bo'lishini talab qiladi, aksincha pretsipitatsiya chiziqlari, aniq bilinmaydi yoki umuman paydo bo'lmaydi. Undan tashqari bu reaksiyada antiteloni ishonchli titrlash juda mushkul. Shu sababli DPR agglyutinatsiyalanmaydigan virusga nisbatan antitelo borligi haqida tez javob olish hamda taxminiy dastlabki javob kerak bo'lgan paytlarda qoyib ko'riladi.

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi, nihoyat sezgir va universal reaksiya hisoblanib har xil viruslarga nisbatan qon zardobidagi antiteloning titrini aniqlash uchun ishlatiladi.

U tez javobni beradi. Ammo uni qo'yish uchun viruslar bilan sensibilizatsiyalangan va konservatsiyalangan eritrotsitlar zahirasi kerak, qaysiki bu ko'pgina laboratoriyalar uchun muammo hisoblanadi. Shuning bilan bir qatorda bu reaksiya ishlatiladigan komponentlarni tozaligini talab qiladi va o'zining "nozikligi" bilan ajralib turadi. Shu sababli uning amaliyotda ishlatilishi cheklangan.

Komplementni bog'lash reaksiyasini bog'lash bosqichini uzoq vaqt sovuq sharoitda olib borilsa ko'pgina viruslarga nisbatan antitelolarning titrini aniqlash uchun ishlatish mumkin.

Biroq, KBR avvaldan mos antigenlarni o'zlarining ko'p mehnat qilishni va aniq miqdorda talabchanligi bilan ajralib turuvchi komponentlarni talab qiladi. Shunday bo'lsada, amaliyotda ishlovchi mutaxislar KBR ni qo'yish tartibini bilishadi va diagnostik ishlarda keng foydalaniladi.

Ko'pgina viruslarga nisbatan (quturish va chochqalarning o'lat kasalligidan tashqari) antitelolarni titrlash bo'yicha ishonchli natijani neytrallash reaksiyasi beradi, shuningdek, u organizmni virusdan himoya qiluvchi virus neytrallovchi antitelolarni ham topadi.

Agar unda indikator sifatida hayvonlar ishlatilsa, bu reaksiyani qo'yish uchun bir muncha vaqt talab qilinadi.

Reaksiyani qo'yish uchun vaqt 1-2 haftaga qisqartiriladi, indikator sifatida tovuq homilalari yoki o'stirilgan hujayralar ishlatilgan taqdirda esa vaqt yana ham qisqaradi.

Lekin, bu so'ngi holatda ham reaksiyani qo'yish uchun ko'p mehnat talab qilinadi.

Neytrallash reaksiyasi o'zining yaxshi xususiyati tufayli zardobdagi antiteloning titrini aniqlash uchun juda ham zarur.

Juft zardobdagi antiteloning titrini aniqlagandan so'ng, uning titrini o'sishiga qarab natijasi izohlanadi. Birinchi zardob titriga qaraganda ikkinchi marta olingan, zardobdagi antiteloning titri 4 marta oshsa, hayvondan birinchi marta qon olingan payt yuqumli jarayonning aktiv kechishidan dalolat beradi.

Shuningdek, kasallik aynan zardobdagi antitelsoni ko'tarilishiga sababchi bo'lgan virus bilan chaqirilgani ham aniq bo'ladi. Serologik diagnostikaning kamchiligi uning retrospektivligida, chunki diagnoz aniqlangan payt juft zardob olingan hayvon sog'ayib ketgan yoki o'lgan bo'ladi.

Lekin serologik usullar bilan qo'yilgan diagnoz kasallik haqida ishonchli tasavvur beradi va virus kasalliklarini bartaraf qiluvchi tadbirlarni aniqlashda va epizootik holatni o'rganishda ham katta ahamiyati bor.

(Ammo juft zardob olingan hayvonga nisbatan diagnozning ahamiyati yo'q.)

Barcha virus kasalliklariga diagnoz qo'yish usullari va sxemasini quyidagicha ko'rsatish mumkin (14-jadval).

a) olingan patologik materialdan surtma va tamg'alar tayyorlab gumon qilinadigan viruslarga NK, PG, YuLT, TyuB qarshi spetsifik nurlanuvchi zardoblar yordamida IFR tekshirish (bevosita yoki bilvosita usullari);

b) patologik materialdan taxminiy ehtimol qilingan virus suspenziyasini tayyorlab bir guruh tovuq homilalarining xorionallantois po'stlog'iga, ikkinchi guruhini esa allantois bo'shlig'iga yuqtirish;

c) birinchi guruhdagi tovuq homilalarini yorib ularning xorionallantois qatlamini tekshirish. Qatlamda hosil bo'lgan oq tugunchalar patologik materialda YuLT virusi borligidan dalolat beradi;

d) ikkinchi guruhdagi homilalarni o'lgan yoki o'lmaganligi tekshiriladi. Homilaning o'lishi patologik materialda NK yoki PG viruslari borligidan dalolat beradi.

e) Ikkinchi guruhdagi tovuq homilalarini yorib homilani va allantois suyuqligini tekshirish. Bujmayish o'smasdan qolish, mumlanish, buralib qolish TYUB virusi borligidan dalolat beradi.

Allantois suyuqligini GAR tovuq eritrotsitlari yordamida sinab ko'rish. Musbat GAR, NK yoki GP viruslarini borligini ko'rsatadi.

Tripsin yordamida ishlov berilgan allantois suyuqligi bilan qo'yilgan GAR ning musbat natijasi esa TYUB virusi borligidan dalolat beradi;

f) GAR da musbat natija bergan allantois suyuqligini (tripsinlamasdan) NK va GP viruslariga qarshi zardoblar bilan GATR qo'yilsa bu viruslardan qaysi biri patologik materialda borligini aniqlash mumkin.

14-jadval. Virus kasalliklariga diagnoz qo'yishning umumiy jadvali

Klinik-epizootologik diagnoz		Laboratoriya diagnozi	
Xo'jalikdagi hayvon- larni tekshirish	Patologik materialni ekspress usullar bilan tekshirish	Patologik materialni virusologik usullar bilan tekshirish	Serologik usullar bilan qondagi juft zardoblarni tekshirish
Aniqlash: 1)epizootologik ma'lumotlarni 2)klinik belgilarini 3)patologoanatomik o'z-garishlarini kasal hayvonlardan va ularning murdalaridan patologik material olinadi, konservatsiyalangach transport orqali laboratoriyaga yuboriladi, shu-ningdek juft zardoblar ham olinadi.	1.Virus antigenlarini IFR, KBR yoki DPR yordamida topish. 2.Viruslarning elementar tanachalarini virusoskopiya yoki elektron mikroskop yordamida topish. 3.Yorug'lik mikroskopi yordamida viruslarning kiritmatanachalarini to-pish. 4.Immonologik namuna yoki spetsifikligini namoyon qilmoq uchun biologik sinab ko'rish.	Ketma-ket: 1-bosqich - aktiv virusni sezgir o'stirilgan hayjalarda, tovuq homialarida, laboratoriya hayvonlaridan yoki tabiiy moil hayvonlardan ajratish. 2-bosqich - ajratilgan virusni serologik reaksiyalardan: NR, GATR, GADTR, KBR yoki DPR yordamida farq-lash (identifikatsiya). 3-bosqich - juft zardoblardagi antitelo titrini ajratilgan virusga nisbatan o'sishiga qarab yoki kasallikni tabiiy xo'jayinida qayta tajriba yo'li bilan paydo qilish va ajratilgan virusni etiologik ahamiyatini isbotlash.	Juft zardobdagi antitelo titr dinamikasini etalon viruslarga nisbatan o'sishini serologik reaksiyalardan NR, GATR, BGAR, KBR, yoki DPR yordamida aniqlash.
Afzalligi			
Joylarda yo'nalishni aniqlash	Tezligi	Aniqligi	
Kamchiligi			
Dastlabki diagnozni qo'yish mumkin	Natijalarni boshqa usullar bilan isbotlash kerak	Ko'p mehnat va uzoq vaqt talab qiladi.	

Patologik materialni tekshirishning taxminiyl rejasi:

Masala. Tovuqchilik xo'jaligida jo'jalar kasallangan.

Klinik belgilari: qiynalib nafas oladi, xirillaydi, yo'taladi, burnidan shilliq suyuvlik oqadi.

O'lgan parrandalarni yorib ko'rganda, kekirdak bronx va tamoq shilliq qatlamida shish va qizarishlar kuzatiladi. O'lim 20% ga etgan. Ushbu kasallikka dastlabki diagnoz qo'yish kerak, qaysi patologik materialni olish zarurligini va laboratoriyaga olib borish yo'lini echish va patologik materialni tekshirishning taxminiy rejasini tuzish kerak.

Masalani yechish. Dastlabki diagnoz n'yukasl kasalligi (NK), yoki parrandalarning gripp kasalligi (PG), yoki yuqumli laringotraxeit (YULT), yoki tovuqlarning yuqumli bronxiti (TYUB).

Patologik material: tomoq, kekirdak yuvindisi, murdalardan tomoq, bronx va kekirdak shilliq pardalari.

Nazorat uchun savollar

1. Virus kasalliklariga qanday qilib dastlabki diagnoz qo'yiladi?
2. Patologik materialni olishda nimaga amal qilish kerak?
3. Patologik materialni laboratoriyada tekshirish usullari va uning maqsadi nimadan iborat?
4. Express usullarga qaysi usullar misol bo'ladi?
5. Qaysi usuldan foydalangan holda virusni ajratib olish mumkin?

XUSUSIY VIRUSOLOGIYA

1-MAVZU

Quturish kasalligiga laboratoriyada diagnostika qo'yish

Oilasi: Rhabdoviridae, Avlodi: Lussavirus.

Kriptogrammasi: R/1:4/2:U/E:V,I/0,Di,Ac.

Darsning maqsadi: 1. Quturish kasalligini epizootologiyasini hamda laboratoriyada quturish kasalligiga diagnostika qo'yish usullarini o'rganish.

2. Quturish kasalligida IFR qo'yishni o'rganish: a) oq sichqonlarning bosh miyasidan tang'a tayyorlash; b) immunofluoressensiya reaksiyasining bevosita usuli bo'yicha preparatga ishlov berish; c) lyuminessent mikroskopi yordamida avvaldan moddat bo'lgan preparatni ko'rish.

Material bilan ta'minlash: lyuminessent mikroskop; termostat; fluoressensiyalanuvchi immersion moy; kyuvetalar; buyum oynalari; fiziologik eritma va distillangan suv uchun idishlar; Petri likopchasi; filtr qogoz; oynaga yozish uchun qalam; pinsetlar; oq sichqonning kalla suyagini ochish va bosh miyasini olish uchun asab uskunalari to'plami; efir; quturish kasalligiga musbat preparatlar (IFR, DPR, Habsch-Negri tanachalari); oq sichqonlar.

Quturish - o'tkir kechadigan yuqumli kasallik bo'lib, nerv sistemasining kuchli zararlanishi bilan ta'riflanadi va o'lim bilan tugaydi. Kasallikka odamlar va barcha sut emizuvchi hayvonlar moyil.

Quturish kasalligi barcha joyda tarqalgan. Kasallikning yuqumli qo'zgatuvchisini itlar, mushuklar, yovvoyi kemiruvchi va yirtqichlar, hamda qon so'ruvchi ko'rshapalaklar (vampiralar) tarqatadi.

Yashirin davrning muddati tishlagan joyga va tishlash kuchiga, tushgan virusning miqdori va virulentligiga, tishlangan hayvonning rezistentligiga bog'liq.

Yashirin davr 1-3 haftadan bir yilgacha, hatto undan ham ortiq bo'lishi mumkin.

Kasallik o'tkir kechadi. Klinik belgilari barcha hayvonlarda deyarli bir xil. Ularda quturish kasalligi o'ziga xos, ya'ni tajovuzkorlik va tinch (falaglanish) bilan kechadi.

Quturish kasalligi yirik shoxli hayvonlarda (ishtahaning yo'qolishi, katta qisqining atoniyasi, so'lak oqishi o'ziga xos bo'lmagan holda kechadi. Qo'zgalish boqichi bo'lmazligi ham mumkin. Patalogoanatomik o'zgarishlar o'ziga xos emas. Qo'zgalish bo'lgan hayvonlar (asosan, itlar) oshqozonida eb bo'lmaydigan narsalarni uchratish mumkin.

Quturish virusi ko'zga tashlanarli neyroprobaziya xususiyatiga ega. Tishlangan joyga periferiyadan tushib, nerv tolasi orqali markaziy nerv sistemasiga markazga o'tuvchi, organizmda periferik nervlar orqali tarqalib har-xil organlarga, shu jumladan, so'lak bezlariga ham tushadi.

Virus Rhabdoviridae oilasiga, Lussavirus avlodiga mansub. Virionlari bo'yopchasiimon shaklga ega bo'lib, ikkinchi qismi kesib tashlangandek.

Virusning virioni RNK saqlab spiralsimon simmetriyaga ega, lipoproteid qobig'i

Past haroratda virus buzilmasdan saqlanadi. 60°C harorat virusni 5-10 daqiqada, quyosh nuri 5-7 kunda o'ldiradi. Virusning aktivligini formalin, fenol, 5%-xlorid kislotasi 5-10 daqiqada yo'qatadi. Quturish virusining virioni glikoproteidli (tashqi) va nukleokapsidli (ichki) antigenlarni saqlaydi. Glikoproteidli antigen virus neytrallovchi antitela hosil qilsa, nukleokapsidli-komplementni bog'lovchi va pretsipitatsiyalovchi antitela hosil qiladi.

Quturish virusining epizootik shtamlari immunobiologik xususiyati bo'yicha o'xshash, ammo, virulentligi bo'yicha bir biridan farq qiladi.

Organizmida virus, asosan, markaziy nerv sistemasida, so'lak bezi va so'lakda saqlanib turadi. Virusni sichqonlarda, quyonlarda, dengiz chochqachalarida va boshqa hayvonlarda hamda birlamchi o'stirilgan hujayralarda (siriya xomyagining buyragidan, qo'yning homilasi, buzoqlar va boshqa) o'sayotgan hujayralarda (VNK-21, KEM-1 va boshq) o'stiriladi. O'stirilgan hujayralarda virusning ko'payishi hamisha CPT ko'rsatmaydi.

Quturish virusiga oldindan adaptatsiyalangan tovuq homilalari sezgir. Virus sitoplazmatik kiritma-tanachalar hosil qilishga qodir.

Bularni ko'pincha ammon shoxi hujayralarida, miyachada, bosh miya po'stlog'ida uchratish mumkin.

Kasallik manbai kasal hayvon hisoblanadi. Ular virusni tishlash tufayli uzatadi. Go'shtxo'r hayvonlar quturish kasalligi bilan kasallanib, o'lgan hayvonning bosh va orqa miyasini eganda yuqadi.

Quturish kasalligi ko'rshapalaklar bor joyda aerogen yo'l bilan yuqushi mumkin ekanligi isbotlangan.

Quturish kasalligini tarqatishda asosiy manba itlar va mushuklar, tulkilar, bo'rilar va boshqa turdagi yovvoyi hayvonlardir.

Quturish kasalligiga diagnoz epizootologik, klinik ma'lumotlarga va laboratoriya tekshiruvlariga asoslanib qo'yiladi.

Kasal hayvonlar va yuqumli materiallar bilan ishlashda qat'iy shaxsiy xavfsizlik choralarini ko'rish kerak: Rezina qo'lqoplar, xalatlarning yangi ustidan kiyiladigan rezina yoki polietilen fartuk, rezina etik, himoya qiluvchi ko'zoynak, yuzni himoya qiluvchi niqob kiyish zarur.

Dala sharoitida quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvonlarning murdasini yorish qat'iyan taqiqlanadi.

Patmaterial olish

Quturish kasaligi bo'yicha tekshirish uchun laboratoriyaga yangi murdani, kichkina hayvonlarni butunlay, katta va o'rtacha kattalikdagi hayvonlarning boshi ikkinchi va birinchi bo'yin umurtqalari bilan birgalikda yuboriladi.

Mayda hayvonlarning murdasiga tekshirishga yuborishdan oldin insektsidlar bilan ishlov beriladi.

Patologik material plastmassa yashikka joylanadi. So'ngra, mustahkam yopiladigan quti ichiga namlikni o'ziga shimib oluvchi dezinfektant bilan ishlov berilgan qistirma to'shaladi. Material va yo'llanma xatida yuboruvchi va uning manzilgohi, hayvonning turi, quturish kasalligiga gumonsirashni isbotlovchi anamnez

ma'lumotlari, veterinariya xodimining imzosi va sana ko'rsatilib, maxsus kishi orqali yuboriladi.

Laboratoriya diagnostikasi.

IFR va DPR yordamida antigenni uchratish, Babesh-Negri tanachalarini ko'rish va sichqonlarda biologik namuna qo'yishdan iborat.

IFR bu reaksiya uchun biosanoatimiz fluoressensiyalanuvchi antirabik gammaglobulin ishlab chiqargan.

IFR qo'yish usuli. Yog'sizlantirilgan, buyum oinasida yupqa tang'a yoki bosh miyaning har-xil bo'laklaridan chap va o'ng tomonlaridan (ammon shoxi, yarim shar po'stlog'i miyacha va uzunchoq miya) surtinalar tayyorlanadi.

Miyaning har qaysi bo'limidan eng kamida ikkitadan preparat tayyorlanadi.

Shuningdek orqa miya, jag' osti so'lak bezlarini ham tekshirish mumkin. Nazorat qilish uchun sog'lom hayvonning miyasidan (oq sichqonning) preparatlar tayyorlanadi.

Preparatlar havoda quritiladi va sovutilgan (minus 15-20°C atsetonda 4 soatdan to 12 soatgacha fiksatsiyalanadi, havoda quritiladi, so'ngra fluoressensiyalanuvchi gamma-globulin tomiziladi va nam kameraga 37°C 25-30 daqiqa qo'yiladi, so'ngra fiziologik eritma bilan yoki pH 7,4 bo'lgan fosfat bufer eritmasi bilan yuviladi, havoda quritiladi, fluoressensiyalanuvchi immersion moy tomiziladi va lyuminescent mikroskop ostida qaraladi. Quturish virusi antigeni bor preparatdagi granulalarda, ko'pchilik holda hujayradan tashqarida har xil kattalikdagi va shakldagi sariq-yashil fluoressensiyalanuvchi rangni uchratish mumkin.

Nazoratdagida shunday nur sochish bo'lmasdan deyarli nerv hujayrasi kulrang xira yoki yashil rang sochib turadi. Nur sochishning tezligi krestlar bilan baholanadi. Spetsifik fluoressensiyalanuvchi nur sochishning bo'lmasligi natijaning manfiy ekanligini bildiradi.

Quturish kasalligiga qarshi emlangan hayvonlardan olingan patologik materialni uch oy davomida IFR bo'yicha tekshirish mumkin emas, chunki vaksina virusning antigeni fluoressensiyalanishi ham mumkin. Glitserin, formalin, spirt va boshqalar bilan konservatsiyalangan hamda biroz chirish belgilari bor bo'lgan to'qimalarni IFR bo'yicha tekshirish mumkin emas.

Agar gelidagi DPR.

Bu usul antigen va antitelolarning xususiyatiga asoslangan bo'lib antigen va antitelo agar gelida shimilib aralashgandan so'ng (antigen kompleksi+antitelo) uchrashib ko'zga ko'rinarli pretsipitatsiya chizig'i hosil qiladi. Quturish kasalligining ko'cha virusi tufayli o'lgan yoki tajribadagi infeksiyadan (biologik namuna) o'lgan hayvonning miyasidan antigenni topish uchun qo'llaniladi.

Reaksiyani bajarishda buyum oynadan foydalaniladi va uning ustiga 1,5% eritilgan agardan 2,5-3ml quyiladi. Buyum oynasining ustida agar qotgach, 4-5mm diamerda trafaret bo'yicha chuqurchalar yasaladi. Agar ustunchalari o'quv perosi yordamida chiqarib olinadi. Agardagi chuqurchalar sxema bo'yicha tuzilgan komponentlar bilan to'ldiriladi (70-rasm).



70-rasm. Quturish kasalligiga diagnoz qo'yishdagi DPR- ning tasviri.

A-bosh miya qobig'i (chap yarimshar); B-bosh miya qobig'i (o'ng yarimshar); C ammon shoxi (chap); D ammon shoxi (o'ng); E miyacha; G uzunchoq miya; 1,2,3,4-globulinning suyultirilgani, 1:2,1:4,1:8,1:16.

O'ngda -1:4,1:8,1:16-PR suyultirilgan globulinning musbat ko'rinishi.

Yirik hayvonlar bosh miyasining barcha bo'limlari (chap va o'ng tamonlari) tekshiriladi, o'rta kattalikdagi (kalamush, xomyak va boshqa) miyaning har qanday uch bo'limi, sichqonlarda esa miyaning barcha qismi tekshirilib ko'riladi.

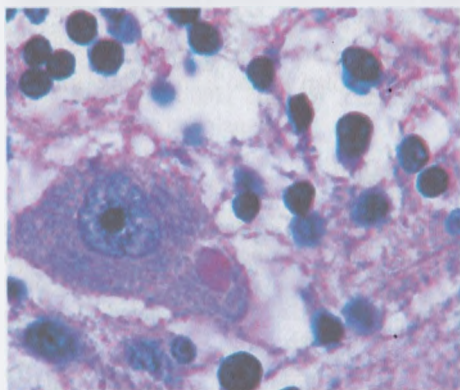
Pinset yordamida miyadan pastasimon massa tayyorlangach, tegishli chuqurchalarga quyib chiqiladi. Manfiy va musbat antigenlar bilan nazorat oynadagi o'sha trafaret bo'yicha alohida alohida qo'yiladi.

Agar geli: agar Difko agari-15g, natriy xlor-8,5g, 1% metil to'q sariqning 50%-etil spirtidagi eritmasi-10ml, mertiolat-0,01g, distillangan suv-1000ml.

Chuqurchalar komponentlar bilan to'ldirilgach, preparatlar nam kameraga joylashtiriladi, yoki 37°C 6 soat davomida termostatga so'ngra xona haroratida 18 soat qo'yiladi. Natijalarni hisoblash 48 soatdan so'ng o'tkaziladi. Miya suspenziyasi va antirabik gammaglobulin oralig'idagi chuqurchalar atrofida 2-3 pretsipitatsiya chiziqlarining hosil bo'lishi reaksiyaning musbat ekanligidan dalolat beradi.

Miyaning bakterial steril emasligi yoki chirishi DPR qo'yish uchun to'siq bo'la olmaydi. Glitserin, formalin yoki boshqa vositalar bilan konservatsiyalangan materiallar DPR uchun yaroqsiz hisoblanadi.

Babesh-Negri tanachalarini topish.



Quturish virusi hosil qilgan kiritma tanachasi

71-rasm.

Bosh miyaning kamida har bir bo'limidan ikkitadan buyum oynasida yupqa surtma yoki tamg'alar (IFR kabi) tayorlanib, Sellers, Muromsev, Mann, Lens va boshqa usullar bo'yicha bo'yaladi.

Misol uchun Sellers bo'yicha bo'yash: yangi hali qotib ulgurmagan preparat, bo'yoq bilan qoplangach 10 - 30s tutib turiladi va fosfat-bufer (pH 7,0-7,5) eritmasi bilan yuviladi qorong'ilashtirilgan joyda, xona haroratida vertikal holatda quritiladi, so'ngra immersiya moyi yordamida mikroskop ostida qarab ko'riladi.

Aniq chizilgan oval yoki uzunchoq granulyatsiyalangan och - qizil rangda va hujayraning

sitoplazmasida yoki undan tashqarida joylashgan, Babesh-Negri tanachalarining ko'rinishi natijani musbat ekanligidan dalolat beradi. Bu usulda turga oid o'ziga xos kiritmatanachalarni aniqlashning diagnostik ahamiyati bor.(71-rasm)

Biologik namuna.

Yuqorida aytib o'tilgan barcha usullarga qaraganda samarali.

Bu usul bulan yuqoridagi usullarda manfiy natija olinganda va gumonsiralganda tekshirib ko'riladi. Biologik namuna uchun og'irligi 16-20g bo'lgan oq sichqonlar tanlab olinadi. Bosh miya nerv to'qimalarining barcha qismidan olinib steril qum solingan havonchada maydalab eziladi, so'ngra 10%-aralashma hosil qilish uchun fiziologik eritma qo'shiladi. 30-40 daqiqa tindirilgach, cho'kma ustidagi suyuqlik olinib, sichqonlarga yuqtiriladi.

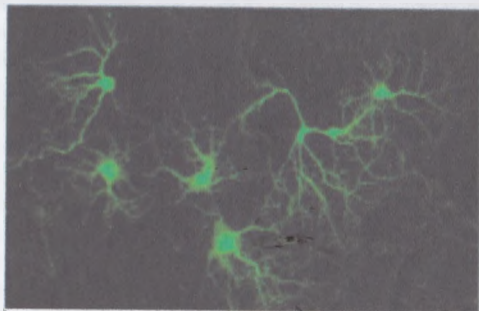
Bakterial infeksiya bilan ifloslangan deb gumonsiralsa, 1ml suspenziyaga 500 birlikda penitsillin yoki streptomitsin qo'shilib, xona haroratida 30-40 daqiqa tutib turiladi. Biologik namuna uchun 10-12 bosh sichqonga yuqtiriladi: yarmiga 0,03ml intraserebral, qolgan yarmiga esa burun qismi terisining ostiga yoki yuqoringi labiga 0,1-0,2ml yuqtiriladi.

Virus yuqtirilgan sichqonlarni shisha bankalarga (yaxshisi akvariumga) joylashtiriladi va 30 kun davomida ular kuzatilib, sodir bo'lgan o'zgarishlar yozib boriladi.

Sichqonlarning 48 soat uchida o'lishi kasallikka xos hisoblanmaydi va natijani baholashda inobatga olinmaydi.

Patologik materialda quturish virusi bo'lsa, sichqonlarga yuqtirilgandan so'ng 7-10 kun ichida quydagi alomatlar paydo bo'ladi: junining hurpayib ketishi, yelkasining o'ziga xos bukchayishi harakat koordinatsiyasining buzilishi, keyingi oyoqlarda, so'ngra oldingi oyoqlarda falajlik, keyinchalik o'lim kuzatiladi.

O'lgan sichqonlarning miyasi Babesh-Negri, tanachalarini uchratish uchun IFR va DPR qo'yib tekshiriladi.(72- rasm).



**Quturish virusi IFR da Babesh-Negri
tanachalarining ko'rinishi**

. 72-rasm

Virus yuqtirilgan sichqonlarning miyasidan tayyorlangan preparatlarda Babesh-Negri tanachalarini uchratish tufayli yoki IFR, DPR usuli yordamida antigeni topilsa

biologik sinab ko'rish musbat diagnoz hisoblanadi. 30 kun davomida sichqonlarda o'lim kuzatilmasa, manfiy diagnoz hisoblanadi.

Biologik sinab ko'rish uchun ertangi diagnoz usuli (bu esa tekshirilayotgan hayvon tekshiruvchini tishlaganda) qo'llanilgan yuqtirish uchun 10-12 sichqon emas, balki 20-30 sichqon ishlatilib, har kuni 1-2 sichqonning bosh miyasi IFR yordamida tekshirilib turiladi. Bu esa (musbat holatda) tekshirish muddatini bir necha kunga qisqaitiradi.

Laboratoriya amaliyotida o'ziga xos biologik sinov usuli qo'yib ko'riladi.

Uning mohiyati shundan iboratki, quturish kasalligiga uchragan hayvonning miya to'qimasidan tayyorlangan suspenziya sichqonlarga yuqtirilsa kasallanadi. Agar miya to'qimasiga oldindan antirabik zardob bilan 37°C -10 daqiqa ishlav berilsa u holda sichqonlar kasallanmaydi.

Ayrim tekshiruvchilar quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvon tirik paytida, ko'zining muguz pardasidan tamg'a tayyorlab immunofluoressensiya usulida tekshirib diagnoz qo'yishni taklif etganlar.

Lekin bu usulning samaradorligi yuqori emas.

Deyarli laboratoriyalarda tekshirish navbatma-navbat quyidagicha olib boriladi:

IFR uchun bosh miyadan surtma-tamg'a tayyorlanadi, DPR qo'yiladi, manfiy natija olgan holda biologik namuna qo'yib ko'riladi.

IFR yuqori malakali bajarilganda biologik sinab ko'rishga 99-100% mos keladigan natija olinadi. Quturish kasalligida Babesh-Negri tanachalarini 65-85%, DPR yordamida 45 dan 70% gacha aniqlash mumkin.

Nazorat uchun savollar.

1. Quturish virusining asosiy xususiyatlarini so'zlab bering.
2. Quturish virusi chaqirgan kasallikning epizootologik xususiyati va simptomlari to'grisida gapiring.
3. Quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvonlardan qanday material olinadi va ishlashdagi qoidalar nimalardan iborat?
4. Quturish kasalligiga gumonsiralganda shaxsiy xavfsizlik choralari haqida so'zlab bering.
5. Laboratoriyada quturish kasalligiga qaysi usullarda diagnoz qo'yiladi?

2 - MAVZU

Chechak kasalligiga laboratoriyada diagnostika qo'yish

Oilasi:Poxviridae, **Avlodi:**Orthopoxvirus.

Kriptogrammasi. D/2:160-200/5-7:X/*:V/0,Di,Ac,Si.

Darsning maqsadi: Chechak kasalligining epizootologiyasi, patologik material olish, surtma tayyorlash, Morozov usulida bo'yash, mikroskop ostida kuzatish.

Material bilan ta'minlash: Chechak virusi va sezgir tirik ob'ektlar (xo'roz, kabutar, quyon); sterilizatsiyalangan tish cho'tkasi; steril paxta tamponi; yog'sizlantirilgan buyum oynasi; o'tkir tig'; pinsetlar; 1,2,3 reaktivlar; immersion moy; yoritgichli mikroskoplar; spirt lampasi; distillangan suv.

Chechak kasalligi bilan sut emizuvchilarning 23 turi, parrandalarning 5 turi va hashoratlarning 16 turi kasallanadi. Chechak virusining ayrim turlari ma'lum turdagi hayvonlarda kasallik chaqirsa, boshqalari esa bir necha turdagi hayvonlarda kasallik chaqiradi.

Ayrim hayvonlarda chechak kasalligi bir qo'zg'atuvchi tomonidan chaqirilsa, boshqalarida esa o'zini o'zidan tashqari (genuinli), yana ikki-uch turdagi viruslar tomonidan chaqiriladi.

Hayvonlarda chechak kasalligining klinikasi bir xil ko'rinishda o'tmasa ham, ammo bir-biriga juda o'xshash.

Zararlanish shilliq pardalarda va terida, tananing ko'proq junsiz, patsiz joylarida generalizatsiya jarayoni bilan birgalikda uchratish mumkin.

Teri va shilliq pardalarda ma'lum turga xos bo'lgan rozeolalarning paydo bo'lishi (qizarish), so'ngra papulaga o'tishi va vezikular (pufakchalar) hosil bo'lishidan iborat. So'ngra pustulaga aylanib, ularning yorilishi natijasida suyuqlik oqishi kuzatilib, yaralar ustida qotgan po'stloq (strup) hosil bo'ladi.

Yaralar tuzalgandan so'ng po'stloq tushib ketib, chandiqlar qoladi. Chechak kasalligida generalizatsiya jarayonining kechishi tufayli haroratning ko'tarilishi, so'lg'inlik, ishtahaning yo'qolishi, teri osti klitchatkasining shishishi, parrandalarda esa nafas yo'llarida difteroidli qatlam paydo bo'lishi kuzatiladi. Chechak viruslari virionlar hosil qiladi, kattaligi 260x390 NM. Ular boshqa viruslar virionlarining orasida eng kattasi hisoblanadi.

Ular nafaqat elektron mikroskopi ostida ko'ribgina qolmay, balki yorug'lik mikroskopi ostida ham ko'rish mumkin. Chechak kasalligi kasal hayvonlardan sog'lom hayvonlarga oson uzatiladi va tajribadagi hayvonlarga yuqtirish oson.

Chechak kasalligining ayrim viruslari tovuq homilasining xorionallantois pardasida ko'payib, chechakchalar paydo qiladi (ularning shakli har-xil viruslarda bir xilda emas). Chechak viruslari o'zining turiga xos hayvonning birlamchi o'stirilgan hujayralarida ko'payib, SPT ko'rsatadi.

Boshqa viruslarga o'xshagan holda har-xil materiallardagi chechak virusning antigenlarini FAU va DPR yordamida uchratish mumkin.

Klinik-epizootologik ma'lumotlarni hisobga olgan holda diagnostika qo'yish qiyin emas. Ammo klinik epizootologik diagnostika laboratoriya tekshiruv ma'lumotlariga asoslanib tasdiqlash tavsiya etiladi.

Laboratoriya usullaridan virusoskopiya universal hisoblanib-kasal hayvondan olingan materialda chechak virusining virionini yorug'lik mikroskopi yordamida uchratish mumkin. Buning uchun terining bir bo'lagi yoki chechak bilan zararlangan shilimshiq pardadan (yaxshisi papula yoki vezikula bosqichida) buyum oynasida surtmalar tayyorlanadi. Surtmalar har-xil usullar bilan bo'yaladi, shulardan eng yaxshisi M.A.Morozovning kumushlash usuli hisoblanadi. M.A.Morozov bo'yicha bo'yalganda 3 reaktiv tayyorlanadi.

N1 Reaktiv (Ruge suyuqligi): 1ml muzli uksus kislotasi, 2ml 40%-li formaldegid eritmasi (sotuvdagi formalin) va 100 ml distillangan suv bilan bir idishga quyiladi.

N2 Reaktiv (kimyoviy modda): 5g taninni 100 ml distillangan suvda eritgach, 1ml suyuq karbol kislotasi (fenol) qo'shiladi. Kristall holdagi karbol kislotani suyuq holatga keltirish uchun 56°S suv hammomida eritiladi. Taninning yaxshi navdagisini ishlatish kerak. 1 g taninning tozaligini bilish uchun 5ml suvda eritilib, unga 10ml 96°li spirt dan qo'shiladi. Bir soat davomida loyqalanish paydo bo'lmasligi kerak (dekstrin, kamel). So'ngra 5ml efir qo'shish tufayli (shakar, tuz) loyqalanish bo'lmasligi zarur.

3.Reaktiv (ammiakli kumush eritmasi): 5g kristal kumush nitrat 1 ml distillangan suvda eritiladi. Umumiy eritmadan boshqa idishga kam miqdorda (o'ndan biri) quyiladi. Qolgan kumush nitrat eritmasiga tomchilatib (25%-li) ammiak eritmasi qo'shiladi. Boshlanishda zich qo'ng'ir rangdagi cho'kma hosil bo'ladi, so'ngra ammiakni qo'shish tufayli erib ketadi. Maqsad cho'kmani to'lasincha erib ketmasligidan iborat bo'lib, bir-oz loyqalangan eritma olishga qaratilgan.

Agar eritma to'lasincha yaltiroq holda bo'lsa, asosiy eritmani loyqalanishidan oldin quyib, olingan kumush nitrat eritmasidan tomchilatib qo'shiladi.

Tomchilatib ammiakning asosiy eritmasidan so'ngra kumush nitrat eritmasidan biroz loyqa hosil bo'lguncha qo'shiladi. Hosil bo'lgan loyqa eritmani distillangan suvda 1:10 suyultiriladi va preparatlarni bo'yash uchun ishlatiladi. Eritma juda turoqli bo'lib, qorong'i xonada mahkam yopiladigan tiqinli, shisha idishda saqlanishi kerak.

M.A.Morozov usuli bo'yicha bo'yash.

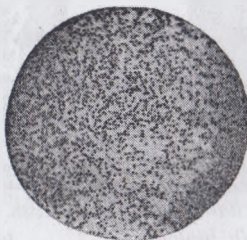
Preparatga 1-reaktiv bilan 3-5 daqiqa ishlov beriladi, so'ngra distillangan suv bilan yuviladi;

2-reaktivga solinadi so'ngra bug' hosil bo'lguncha 1-2 daqiqa qizdiriladi; 3-reaktiv bilan 1-2 daqiqa qora-jigarrang paydo bo'lguncha qizdirilib ishlov beriladi, so'ngra distillangan suvda yaxshilab yuviladi; havoda quritiladi va mikroskopning immersion sistemasida qarab ko'riladi. Natija: sariq fonda mayda qora-jigarrang, yumaloq oval shakldagi, to'planib turuvchi, qator yoki diffuzli massani yoki yakka holatda bo'lmagan tanachalarni uchratish mumkin. Shu tanachalar chechak virusining virionlari hisoblanadi. (73-rasm)

Bo'yash uchun (18x24) emallangan kyuveta qulay bo'lib, uning chetlariga "ko'priksimon" 2ta 1-2 ml pipetka joylashtirilib, chetki qismiga rezina kiygiziladi.

Har qaysi reaktiv uchun alohida pipetka bo'lishi kerak. Virusoskopiya usulining yutuqlari javobni tez olish, oddiy va bajarilishi osonligidir. Bu usulning kamchiliklari shundan iboratki, vezikulyar suyuqlikni tekshirganda aniq natija berib, pustulalarni va qotgan po'stloqlarni tekshirganda reaksiyaning natijasi sezilarli darajada pasayadi;

chechak guruhidagi har xil viruslarni farqlashning iloji bo'lmaydi; hujayra elementlaridan virionlarni aniq farqlashning iloji yo'q (har- xolda tekshiruvchining saviyasi ancha yuqori bo'lishi kerak).



*73-rasm. Virusoskopiya. Morozov usulida
bo'yalgan chechak virusining virionlari
(S.S.Marennikova bo'yicha).*

Biologik namuna. Chechak kasalligiga diagnoz qo'yishda keng qo'llaniladigan ikkinchi usuldir. Chechak kasalligida biologik namuna tabiiy moil hayvonlarda, shu hayvondan tayyorlangan birlamchi o'stirilgan hujayralarda hamisha amalga oshaveradi.

Quyonglar ospavaksina virusiga, sigirlar, o'tlar chechak virusiga sezgir, tovuq homilalari esa parrandalarning chechak virusiga sezgir bo'libgina qolmay balki ospavaksinaga, qora mollarning chechagi, kabutarlarning chechagiga ham sezgir. Barcha chechak viruslari dermatrop bo'lib tajriba uchun yuqtirish teri ichiga, timalgan teriga, tovuq homilasining XAP yuqtirish tufayli amalga oshiriladi (hayvonlarga hamda tovuq homilasiga yuqtirish usuli tegishli mavzularda yozib o'tilgan (74-rasm).

Xo'rozning timalgan terisiga yuqtirish usuli oson bo'lib u igna yoki singan paster pipetkasi yordamida bajariladi, toji esa uncha chuqur bo'lmagan holda timaladi (qon chiqmasligi kerak. Shu joyga virus suspenziyasi paxta tamponi yoki tish cho'tkasi yordamida surkaladi.

Xo'rozning pat follikulariga chechak virusini osongina yuqtirish mumkin. Buni uchun xo'rozning son qusmidagi pati yulib olinadi va darhol ochiq follikulalarga virus suspenziyasini tampon yoki cho'tka yordamida surtiladi.

Tekshirilyotgan materialda chechak kasalligining virusi bo'lsa virus yuqtirilgandan so'ng 5-7 kun o'tgach, tojda o'ziga xos chechakchalar (75-rasm), sonida esa chechakka xos follikulit paydo bo'ladi (76-rasm).

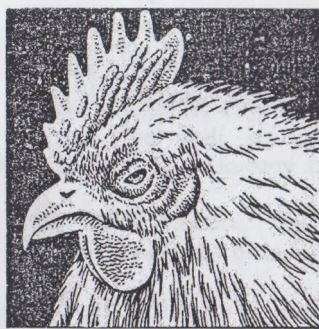
Chechak yarasida yoki follikulalarda virusoskopiya usulida surtmalarda virionlarni uchratish qiyin emas.

Quyonglarga yuqtirishda, teri jundan tozalangach timalgan joyga virus surkaladi, demak xo'rozning timalgan, joyiga virusni yuqtirishdan farq qilmaydi. Xo'rozlarga yuqtirish uchun (timalgan tojga yoki pat follikulariga) NR-1 tovuqlardagi chechak virusining vaksina shtammidan foydalaniladi.

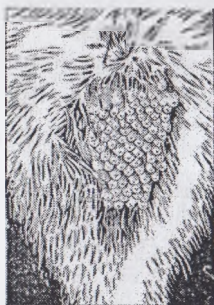
Oson topiladigani tovuqlarning chechak. kasalligiga qarshi vaksina sifatida ishlatiladigan kabutardagi chechak virusining N 'yu-Djersi shtammi hisoblanadi.



74-rasm. Qo'ylarning chechak virusini dumosti qatlamiga yuqtirib, biologik sinab ko'rish.



75-rasm. Chechak kasalligida xo'roz tojining zararlanishi.



76-rasm. Xo'rozdagi chechak follikuliti.

Ushbu viruslar bilan samarali biologik namunani kabutarlarda qo'yish mumkin.

Yaqin kunlarga odamlarni emlash uchun ishlatilgan ospovaksina virusini quyonlarning terisini ichiga yuqtirish yaxshi natijalar ko'rsatar edi.

Chechak kasalligida iloji bo'lmagan paytda biologik namuna uchun ko'plab topiladigan tovuq homilalari ishlatiladi. Yuqorida so'z yuritilgan viruslar bilan tovuq homilasining xorionallantois pardasiga yuqtirish tufayli shish avj olib, o'ziga xos tugunchalar (chechakchalar) paydo bo'ladi.

Morozov usuli bo'yicha surtmalami bo'yash uchun reaktivlar tayyorlash ko'p qiyinchiliklar tug'dirmaydi. Bo'yash uchun to'plamlarni tayyorlash maqsadga muvofiq, bular 1,2 va 3 reaktivlardan, immersion moy, benzin, penitsillin flakonlar, ko'z uchun ishlatiladigan pipetkalardan iborat. Bir to'plamdagi barcha flakonlarni Petri likopchasining qopqog'iga joylashtirib ikki kishiga bir to'plamdan bersa bo'ladi. Chechak kasalligida FAU va DPR usullari deyarli boshqa mavzularda yozilganlarga o'xshash.

Nazorat uchun savollar.

1. Chechak viruslarini ta'riflab bering.
2. Chechak kasalligining har-xil turdagi hayvonlarda epizootologik, klinik xususiyati qanday?
3. Chechak kasalligiga diagnostika qo'yishning qaysi usullarini bilasiz?
4. Chechak kasalligida hosil bo'lgan kiritmalar qanday nomlanadi?
5. Chechak kasalligida patologik material olishning asosiy qoidalari haqida gapirib bering.

3 - MAVZU

GATR yordamida parrandalardagi gripp virusini, N'yukasl kasalligi virusidan differensiatsiyalash

Oilasi: Myxoviridae. **Avlodi:** Orthomyxovirus va Paramyxovirus.

Kriptogrammasi: R/I:Σ5/1:S/E:V/O va R/I:6-8/I:S/E.V/O.

Darsning maqsadi: GATR yordamida noma'lum gemagglutinatiyalovchi N'yukasl va gripp viruslarini bir-biridan farqlash.

Material bilan ta'minlash: N'yukasl kasalligining virusi; shu virus uchun maxsus zardob; fiziologik eritma; 1-2 ml pipetkalar; pleksiglas panellar; 1% - tovuq eritrotsitlari; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan; rezina nokcha; oynaga yozish uchun qalam.

N'yukasl kasalligi-parrandalarning keng tarqalgan kasalligi bo'lib, katta iqtisodiy zarar yetkazadi. So'nggi paytlarda shu kasallikka o'xshash bo'lgan parrandalarning gripp kasalligi uchrab turmoqda. Ushbu kasalliklarga qarshi kurashish va spetsifik profilaktika ishlarini o'tkazish uchun bir-biridan farqlashimiz zarur.

N'yukasl kasalligi-tovuq va kurkalarning yuqori kontagiozli kasalligi hisoblanadi. Kasallik epizootik shtammning virulentligiga, immunologik holatga, tovuqlarning yoshiga va qo'shimcha infeksiyaga qarab o'tkir, klinik belgisiz va yashirin o'tishi mumkin. N'yukasl kasalligining alomatlari har-xil kechadi. Kamquvvatlik belgilari bilan birgalikda nafas olish traktining zararlanishi, burun bo'shlig'idan, suyuqlik oqishi, yo'tal, bo'g'ish kuzatiladi.

Ko'kimtir rangdagi xuddi suvdai suyuqlikning qon aralash ajralib turishi ovqat hazm qilish traktining yallig'lanishidan dalolat beradi.

Ayrim hollarda markaziy nerv sistemasining zararlanishi tufayli oyoqlarning, qanotlarning falajlanishi kuzatiladi. Kasallik belgisiz kechganda germinal traktida o'zgarishlar bo'lib, tuxum berish 3 haftagacha bo'lmasligi mumkin. Kasallik o'tkir kechganda jo'jalar orasida o'lim 90% gacha etadi.



77-rasm. N'yukasl kasalligi virusining virioni va viriondan tashqarida ribonukleoproteid ipining fragmentlari (Yu.V.Pantelev bo'yicha).

O'lgan tovuqlar yorib ko'rilganda kataral yallig'lanish, nafas olish sistemasida, qizil o'ngachda, oshqozonda, ichakda giperemiya va qon quyilishi kuzatiladi. Bosh miya qizargan va shishgan bo'ladi.

N'yukasl kasalligini chaqiruvchi virus Paramyxoviridae oilasiga mansub (77-rasm). Virus antigenining bir xilligi laboratoriyada tekshirib diagnoz qo'yish ishlarini ancha yengillashtiradi.

Virus tovuq, dengiz cho'chqachasi, sichqon va odam eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. Virusning ayrim shtamlari qo'y va ot eritrotsitlarini ham agglyutinatsiyalaydi.

Parrandalarning gripp kasalligi uy va yovvoyi parrandalarning o'tkir kechuvchi yuqori kontagiozli kasalligidir. Gripp kasalligiga tovuqlar, o'rdaklar, kurkalar, g'ozlar sezgirdir.

Parrandalarning gripp kasalligida madorsizlik, ishtahaning yo'qolishi, nafas olishning qiyinlashuvi og'iz va burun bo'shlig'idan suyuqlik oqishi, harakat koordinatsiyasining buzilishi oyoqlarda falajlik va sholliklar, tojning ko'karishi, ayrim hollarda chechaksimon unb chiqishlar kuzatiladi.

Boshning, bo'yinning shishi, diareya, nerv sistemasi zararlanishi mumkin.

Tovuqlardagi gripp kasalligining A1 serologik variantida 70-80% kasal tovuqlar o'ladi. Ammo virus shtammining virulentligiga, tovuqning yoshiga, saqlanish sharoitiga va qo'shimcha infeksiyaning aralashuviga ham bog'liq. Gripp kasalligi bilan o'lgan tovuqlarni yorib ko'rganimizda kataral kon'yunktivit, rinit, sinusit, traxeit, kataral gemorragik yalliglanish, oshqozon shilliq pardalarida, ichakda qon quyulishni ko'rishimiz mumkin. Ayrim hollarda tuxum yo'li va tuxumdonning yallig'lanishi kuzatiladi.

Parrandalarning gripp virusi Orthomyxoviridae oilasiga mansub 13 ta serologik varianti bo'lib turlicha patogenlik darajasiga ega va kasallikni har xil turdagi parrandalarda o'ziga xos klinik belgilari bo'ladi. Shuning uchun parrandalarning gripp virusi oldin boshqacha nomlanib ya'ni parrandalarning o'lat virusi deyilar edi. Gripp virusining barcha avlodga mansub bo'lgan A,S-antigeni bo'lib, KBR qo'yib va V-antigenni (gemagglyutinin va neyraminidaza) GATR va NR yordamida aniqlashimiz mumkin. Parrandalarning gripp virusi tovuqlar, dengiz chochqachalari, quyonlar, otlar, qo'ylar va boshqa hayvonlarning eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. Yuqorida aytilganlarga qaraganimizda N'yukasl kasalligining klinik alomatlari, patologoanatomik o'zgarishlari parrandalarning gripp kasalligiga juda o'xshash bo'lib, ularni faqat laboratoriya usullari bilan farqlashimiz mumkin.

Bu ishlarni bajarish uchun laboratoriyaga bosh miya, o'pka va taloq yuboriladi.

O'lgan parrandalardan virusni kasallik eng avjiga chiqqan paytida ajratib olish lozim.

Shuning uchun patmaterial kasallik boshlangandan so'ng 3-5 kun ichida olinishi kerak.

Tekshirilayotgan virusga qarshi antiteloni uchratish uchun bir tovuqxonadagi 25 ta tovuqdan qon zardobi olinib, namuna uchun yuboriladi. 2-3 hafta o'tgach, shu raqamdagi 25 tovuqdan tekshirish uchun qon zardobi yuboriladi.

Tovuqdan qon olinayotgan vaqtda aseptika qoidalariga amal qilib, zardobni olgach, unga 1:20000 mertiolat nisbatda qo'shib konservatsiya qilinadi.

Parrandalardagi gripp va N'yukasl kasalligining virusini laboratoriyada farqlab diagnoz qo'yish.

Bajarish quyidagi reja asosida bo'ladi:

virusni tovuq homilasida ajratib olish; GATR yordamida gripp virusini n'yukasl kasalini chaqiruvchi virusdan farqlash. Parrandalarning gripp va N'yukasl kasalligiga gumonsiralganda virusni uchratish uchun tomchi usulida gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yib ko'ramiz.

Buning uchun patologik materialdan tayyorlangan bir tomchi suspenziyaga, bir tomchi 5% tovuq eritrotsitlari qo'shiladi. Reaksiyaning musbat bo'lishi patmaterial tarkibida gemagglyutinatsiyalovchi virus borligini bildiradi.

Virusni ajratish. Biologik namuna usulida virusni uchratish va ajratib olish uchun patmaterialdan tayyorlangan suspenziyani 9-11 kunlik tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga yuboriladi.

N'yukasl va gripp viruslarining ko'payishi natijasida 20-76 soat ichida virusning shtammi virulentli bo'lsa, tovuq homilasi o'ladi. O'lgan tovuq homilasini ochib ko'rsak, homilaning ensasida, oyog'ida, tanasida ko'plab qon quyilganligini ko'ramiz. O'lgan tovuq homilasining allantois suyuqligi olinib, tomchi reaksiyasi yordamida virusning borligi aniqlanadi, ushbu virusni navbatdagi tekshirishda material sifatida, ya'ni ajratilgan virus o'rni ishlatamiz.

Birinci zararlashda virusni ajratib ololmasak, u holda 3 marta "ko'r" passaj qilib ko'riladi.

Yuqtirish uchun homilaning oldingi tekshirishda musbat reaksiya bergan allantois suyuqligi ishlatiladi.

Tekshirishlar asosida ajratib olingan virus N'yukasl virusi bo'lgan unda uning vaksinali yoki epizootikligini aniqlashimiz zarur.

Dala shtammining patogenlik darajasini aniqlash uchun vaksina bilan emlangan yoshi 30 kunlik jo'jalardan foydalanamiz.

Jo'jalarga 0,2 ml allantois suyuqligining (1:100) nisbatdagi yoki o'lgan tovuqlardan olingan suspenziya yuqtiriladi. Dala shtammi bor bo'lsa, 4-6 kun ichida jo'jalar o'ladi.

GATR yordamida gripp virusini N'yukasl virusidan farqlash.

Tovuq homilasida virusni uchratish va ajratib olishning, virusni differensiatsiyalashga aloqasi yo'q. Ikkala virus tovuq homilasida rivojlanishi tufayli bir xil patologoanatomik o'zgarishlar chaqiradi.

Viruslarning maxsus ta'siri serologik reaksiyalar natijasida ko'zga tashlanadi.

GATR viruslarni differensiatsiyalash uchun, tovuq eritrotsitlarining ishlatilishi juda qulay.

Ushbu reaksiyani tanlashdan maqsad, ikki virus ham eritrotsitlarni gemagglyutinatsiyalash qobiliyatiga ega, lekin maxsus zardoblar bilan qo'shilishi natijasida ularni bir-biridan farqlashimiz mumkin.

Reaksiya tez va oson bajarilib, unchalik sterillik talab qilmaydi, hamda tez javob olishimiz mumkin. Spetsifik ma'lum antitelolarni saqllovchi zardoblar biofabrikalarda tayyorlanib, ular laboratoriyalarga diagnostikum sifatida yuboriladi.

N'yukasl va gripp virusiga laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun mamlakatimizda 2 ta shunday to'plam (nabor) ishlab chiqilgan.

N'yukasl kasalligini gripp kasalligidan farqlash uchun GATR qo'yilib, ikki maxsus zardobdan foydalaniladi.

Birinchisida N'yukasl virusiga qarshi antitelo, ikkinchisida gripp virusiga antitelo saqlanadi.

Gripp virusining serologik variantini aniqlashdan maqsad, bir variant bilan kasallangan parrandalar ikkinchi variantdagi virusga qarshi antitelo ishlab chiqarmaydi.

15-jadval. GATR yordamida zardobni suyultirish, yo'li bilan N'yukasl va gripp virusini differensiatsiyalash sxemasi.

Reaksiyaning tarkibiy qismi	Zardobni suyultirish								
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
VirusX+N'yukasl virusi uchun zardob	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VirusX+Gripp virusi uchun zardob	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++

16-jadval. GATR yordamida virusni suyultirib, N'yukasl kasalligini gripp kasalligidan differensiatsiyalash sxemasi.

Qatorlar№	Reaksiyaning tarkibi, ml	Virusni suyultirish							
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
1	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	N'yukasl virusi uchun zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	Gripp virusi uchun zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
3	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Reaksiyani qo'yish uchun ajratib olingan virus titrlanadi va 4 GAB titrdagi ishchi suyultirilgan darajasi hosil qilinadi.

So'ngra biofabrikada tayyorlangan ikki xil zardob olinib, antitelolarning zardobdagi titri ajratib olingan virus ishtirokida aniqlanadi.

Quyidagi misolda noma'lum bo'lgan virusning gemagglyutinatsiyalash aktivligi maxsus zardob tarkibidagi antitelo yordamida to'xtatilgan.

Antigen+antitelo kompleksining hosil bo'lishi (ajratib olingan virus+maxsus zardobning antitelosi). Shu o'rinda virusga tarkibida N'yukasl virusiga qarshi antitelosi bor zardobning qo'shilishi.

17-jadval. GATR yordamida virusni suyultirib parrandalarning N'yukasl va gripp-1 virusining serovariantini farqlash natijalari.

Reaksiyaning tarkibi	Virusni suyultirish								
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Virus X+N'yukasl virusi uchun zardob	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
Virus X+gripp virusi uchun zardob	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
Virus X+fiziologik eritma	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-

Shunday qilib, N'yukasl va gripp kasalligining virusi tovuq homilalarida bir xil o'zgarishlar chaqiradi.

GATR qo'yib virusni farqlash mumkin, agarda reaksiyaga shubha paydo bo'lsa neytrallash reaksiyasini qo'yib ko'riladi.

Farqlanadigan virus o'rnida n'yukasl kasalligi virusning H yoki LA-Sota shtammlarining 64 GAB titrdagisidan foydalanish qulay hisoblanadi.

NK va GP viruslariga spetsifik zardob sifatida shu maqsadda ishlatiladigan diagnostik to'plamlar yoki laboratoriya hayvonlaridan, quyonlarni giperimmunlash yo'li bilan olingan zardoblardan foydalaniladi.

Giperimmunlash uchun tegishli vaksinalar yoki shu vaksinalar bilan zararlantirilgan tovuq homilalarini allantois suyuqligi ishlatiladi.

Qo'llanilayotgan gomologik virusga birorta spetsifik zardob bor bo'lsa, ikkinchi zardobni imitatsiya qilish ham mumkin.

Nazorat uchun savollar

1.N'yukasl va gripp viruslari chaqiradigan kasalliklarning o'xshashlik tomonlari nimadan iborat?

2.Kasal va o'lgan tovuqlardan virusni ajratish va ko'rishning qaysi usullarini bilasiz?

3.N'yukasl kasalligining virusini, gripp virusidan qanday farqlash mumkin?

4.GATR virusni suyultirish bilan birgalikda ikki virusni bir biridan farqlashni ayting.

5. GATR natijalarini tushuntiring.

4 - MAVZU

KBR yordamida oqsil kasalligining turini aniqlash

Oilasi: Picornaviridae . **Avlodi:** Aphtovirus.

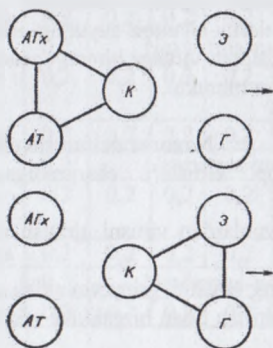
Kriptogrammasi: R/1:2,3-2,8/30:S/S:V/O.

Darsning maqsadi: Oqsil kasalligining epizootologiyasi, kasallikka laboratoriyada diadnoz qo'yish usullari, diadnoz natijalarini baholashni o'rganish.

Material bilan ta'minlash: Tekshirilayotgan patologik material (50% glitserin eritmasi solingan flakonda terining gultoj qismidan bir bo'lak); standart turga oid antigenlar (A, O, C turlari); standart (A, O, C turlarga) oid zardoblar; gemolizin; komplement; qo'chqor eritrotsitlarining 2% aralashmasi; izotonik eritma - 0,85% li NaCl eritmasi; shtativlar; probirkalar; 1,2 va 5 ml pipetkalar; suv hammomi; mavzuga oid jadvallar; dezinfeksiyalovchi eritma solingan idish (2% - NaOH eritmasi); forfordan yasalgan steril havoncha; maydalangan steril shisha; kyuvetalar; Petri kosachasi; 10x10 filtrlovchi qog'oz; pinsetlar; qaychilar.

Komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) ko'plab virus kasalliklariga diadnoz qo'yishda qo'llaniladigan an'anaviy serologik reaksiyalardan biri hisoblanadi. Reaksiyaning nomi alohida ikki bosqichdan iborat bo'lib bajariladigan ishning mohiyatini malum darajada ko'rsatadi. Birinchi bosqichda antigen va antitelo qatnashadi (oldindan shulardan biri malum bo'ladi), hamda oldindan titrlangan malum miqdorda komplement kerak bo'ladi. Antigen va antitelo kompleksining mos kelishi tufayli komplementni biriktirib oladi, buni esa, ikkinchi bosqichda indikator vazifasini o'tovchi (qo'chqor eritrotsitlarining aralashmasi va ularga antizardob-gemolizin) namoyon qiladi.

Agarda antigen va antitelo birikishi tufayli komplement bog'lansa, u holda eritrotsitlar lizisga uchramaydi (musbat KBR). Manfiy KBR da esa boglanmagan komplement eritrotsitlarni gemolizlanishida ishtirok etadi. (78-rasm).



78-rasm. KBR ning tasviri.

AG- tekshirilayotgan antigen; AT - spetsifik antitelo;
K- komplement; E- qo'chqorning eritrotsiti; G- gemolizin.

Gemolizning to'xtashi musbat - KBR (+)
manfiy KBR - gemoliz (-)

KBR dan amaliyotda ko'pincha diagnoz qo'yishda, virusni topish va identifikatsiyalashda, qon zardobi tarkibidagi antitelolarni topishda va titrlashda foydalaniladi.

KBR ning asosiy komponenti bo'lib antigenlar (ma'lum va izlanayotgan), antitela (ma'lum antizardoblar yoki tekshirilayotgan zardob), komplement, gemolitik zardob va qo'chqorning eritrotsitlari hisoblanadi; suyuqlirgich o'rnida pH 7,2-7,4 bolgan natriy xloridning izotonik eritmasi yoki har-xil buferli eritmalardan foydalaniladi.

Antigenlar va zardoblar antikomplementar xususiyatda, shuningdek, komplementni adsorbsiyalash, ya'ni gemolizni to'xtatishi va reaksiya natijasini noto'g'ri ko'rsatishi mumkin. Antikomplementarlikdan xalos qilish uchun antigenlar, har-xil usullar bilan ya'ni: atseton, freon, efir, xloroform va shunga o'xshash antigen va virus o'rnida ishlatiladigan to'qimaning turiga bog'liq holda tozalanadi. Zardoblar esa antikomplementarlikdan qizdirish va komplementga boshqa usullar bilan ishlov berish yo'li bilan tozalanadi.

KBR uchun antigenlar kasallik bilan zararlangan hayvonlarning organlaridan virus yuqtirilgan tovuq homilasining allantois yoki amnion suyuqligidan, hamda virus yuqqan hujayra kulturalarining suyuq muhitidan tayyorlanadi. Virus infeksiyalarida KBR uchun antigen tayyorlash bakterial infeksiyalarnikiga qaraganda ko'p jihatdan farq qiladi. Bu esa virusning bir qator spetsifik xususiyatlari bilan bog'liq.

Birinchidan, hujayra ichidan virus antigenini ajratish uchun ko'pchilik holda yuqumli materialni buzish va antigenni ajratayotganda qo'shimcha ishlov berishga to'g'ri keladi.

Ikkinchidan, bakteriyalarga nisbatan virus antigenlarining katta termolabiligi hisoblanadi. Ko'pchilik viruslarda komplementni fiksatsiyalovchi antigen yuqumli bo'lakchalar bilan bog'langan bo'lib, ularning buzilishi yuqumlilikni yo'qolishi bilan parallel kechadi. Shuningdek antigen olish uchun materialni hayvon o'lgach bir-ikki soat ichida, iloji bo'lsa tirik paytida olish kerak.

Virus saqllovchi materialni har-xil dezinfeksiyalovchi moddalar bilan konservatsiyalash ko'pchilik holda musbat natijalar bermasdan, ko'pchiligi virus antigenini buzishga olib keladi.

Uchinchidan, antigen+antitelo konsentratsiyasini har xil nisbatda bo'lishi tufayli komplementni fiksatsiyalanishi bir tekis bo'lmaydi. Antigen+antitelo kompleksi qachonki ular faqat son jihatidan bir-biriga teng bo'lgandagina hosil bo'ladi; antiteloning soni ortiq bo'lganda komplementni fiksatsiyalash birdaniga pasayadi, antigen+antiteloning aktiv kompleksi antitelo bilan bog'liq, chunki komplementning aktiv yuzasi juda ham kam. Antigenlarning soni ortiq bo'lganda ham shunday holat kuzatiladi. Chunki komplementning fiksatsiyalanishining pasayishi juda ham tez kechadi. Komplementning optimal bog'lanishi uchun antigen va antiteloni oldindan titrlash kerak bo'ladi.

To'rtinchidan, kam hajmdagi antigen+antitelo kompleksiga kiradigan virus bo'lakchasi juda kichkina kattalikka ega shuning uchun komplementni

fiksatsiyalash maydoni kam. Komplementni fiksatsiyalash davrini uzaytirish yo'li bilan antigen+antitelo kompleksining hajmini ko'paytirish natijasida (4°Cda 18 soat) reaksiyaning sezgirligi oshadi ammo uning spetsifekligi kamayadi; shuningdek uzoq vaqt fiksatsiyalash tufayli spetsifik bo'lmagan antigenlarni fiksatsiyalashi ko'payadi.

Beshinchidan, virus antigenining yuqori prokomplementar aktivligi. Spetsifik bo'lmagan komplementni fiksatsiyalashni oldini olish uchun virus antigenini to'qima fermentlaridan to'lasincha tozalash zarur. Odamlar va hayvonlarning virus kasalliklariga KBR dan foydalanib diagnoz qo'yishda katta to'siq bo'lib kasallikning har-xil davrida virus antigeninig notekis to'planishidir. Oqsil virusining tipi, variantlarini aniqlashda oqsil virusining ishlab chiqarish, shtammini tekshirishda,ilmiy tekshirish ishlarida KBR dan foydalaniladi. Oqsil-juft tuyoqli hayvonlarning yuqori, kontagiozli, o'tkir kechuvchi kasalligi bo'lib, haroratning ko'tarilishi, og'iz bo'shlig'ini shilliq pardalari, tuyoqning teriga qo'shilgan joyi (venchik)ning va yelinning vezikulyar yallig'lanishi, yosh hayvonlarda miokardning va skelet muskullarining jarohatlanishi bilan kechadi.

Oqsil kasalligi dunyoning ko'pchilik mamlakatlarida ro'yxatga olingan. Yashirin davri 1-3 kun, ayrim hollarda 7-10 kungacha cho'ziladi. Ushbu kasallikning ko'zga tashlanarli belgilari bo'lib og'iz shilliq pardasining, teri gultojining vezikulali yallig'lanishi hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlar va cho'chqalarda oqsil kasalligi o'tkir kechib, katta yoshdagi hayvonlarda esa zararsiz (davolab bo'ladigan) kechadi. Avvalo ishtahaning pasayishi, so'lak ajralishining kuchayishi (79 rasm), tana haroratining (40,5-41,5 °C) ko'tarilishi kuzatiladi. 2-3 kun o'tgach labning ichki yuzasida, tilda, aftalar paydo bo'ladi. (80 rasm). Ayrim hayvonlarning tuyoqlari oralig'ida,elinda aftalar hosil bo'ladi.(81,82-rasm) Oyoqlarda aftalarning paydo bo'lishi hayvonning oqsoqlanib yurishiga sabab bo'ladi. Bir sutka o'tgach aftalar yorilib o'rnida eroziya paydo bo'ladi. (83-rasm). 2-3 hafta o'tgach eroziyalar bitadi va hayvonlar tuzaladi. Cho'chqalarda,qo'y va echkilarda zaralanish ko'p holda oyoqlarda ayrim hollarda og'izning shilliq pardasida kuzatiladi. (84-rasm). Ko'pchilik hollarda yelin jarohatlanadi. Yosh hayvonlarda oqsil kasalligi yomon kechadi (o'lim 80% va yuqori), aftalar bo'lmasdan,ichakning gemorragik yallig'lanishi va yurak muskullarida degenerativ o'zgarisblar (yo'lbarga o'xshash yurak) va shunga o'hshash o'zgarishlar skelet muskullarida ham topiladi.

Virus Picornaviridae oilasiga va aphtovirus avlodiga mansub, RNK saqlaydi, superkapsid qobig'i bo'ladi.Virionlari ikosaedr shaklidagi mayda bo'lakchalardan iborat. Oqsil virusi tashqi muhit faktorlariga nisbatan chidamli. Afta devorlarida virulentlik xususiyati 67 kun, suyuq najasda-39 va oqar suvda 103 kungacha saqlaydi. Eng yaxshi dezinfeksiyalovchi vosita bo'lib 2 yoki 3% gidrokarbonat natriyning issiq eritmasi va 1% formaldegid hisoblanadi.

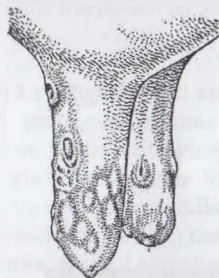


79-rasm. Oqsil kasalligida sigirning og'zidan so'lak oqishi.



80-rasm. Oqsil kasalligida sigirning tilidagi eroziyalar (S.J.Voynov va M.B.Karpovich bo'yicha)

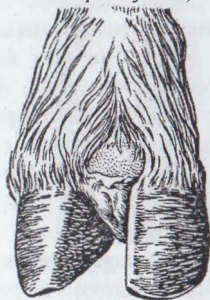
Tuzalgan yirik shoxli hayvonlarning 50% virusni 8 oy davomida, ayrimlari hatto 2 yilgacha ajratib yuradi.



81-rasm. Oqsil kasalligida sigir yelinidagi yaralar. (Marek, Mochi va boshq bo'yicha)



82-rasm. Oqsil kasalligida cho'chqaning tuyuq gultohg'idagi zararlanish (S.N.Voynov va M.B. Karpovich bo'yicha)



83-rasm. Oqsil kasalligida sigirning tuyuq oralig'ini zararlanishi. (Skomoroxov bo'yicha)



84-rasm. Oqsil kasalligida cho'chqaning tumshug'idagi yarachalar va eroziyalar (Skomoroxov bo'yicha)

Tabiiy sharoitda oqsil virusiga juft tuyoqli hayvonlar sezgir. Kasal hayvonlarda kasallikni yashirin davrida (sutdan, urug'dan, so'lakdan) virusni ajratib olish mumkin. Virusning yuqori miqdori epiteliy va vezikula suyuqligida saqlanadi. Kasal hayvolarning ekskret va sekretlari 10 kundan ko'proq vaqtgacha yuqumli bo'ladi. Kasal bo'lib tuzalgach uzoq muddatgacha virus tashuvchilik kuzatiladi

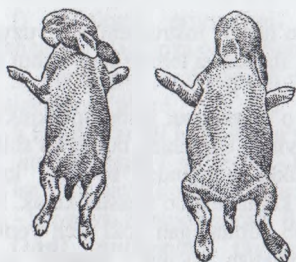
Virus tabiiy moil va laboratoriya hayvonlaridan: yangi tug'ilgan sichqonlar va quyonlarda, dengiz cho'chqachalarida 60 kunlik xomyaklarda o'stiriladi (85-88 rasmlar).



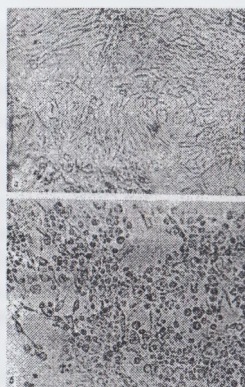
85-rasm Oqsil kasalligi yuqtirilgan dengiz cho'chqachasining oyoq terisidagi ochiq yara. (S.J.Voynov va M.B. Karpovich bo'yicha)



86-rasm. Oqsil virusi yuqtirilgan sichqonlarning oyoqlaridagi falajlik va shollik (M.B.Karpovich bo'yicha)



87-rasm. Oqsil virusi yuqtirilgan quyonlarning oyoqlaridagi falajik va shollik (M.B.Karpovich bo'yicha)



88-rasm. Quyon bolalarining buyragidan tayyorlangan o'stirilgan hujayra (M.B.Karpovich bo'yicha) a-yuqtirilmagan b-oqsil virusu yuqtirilgan:

Oqsil kasalligini turini aniqlash laboratoriyada bajariladi.

Oqsil kasalligiga diagnoz epizootologik ma'lumotlarga faqat juft tuyoqlilarni zararlanishi va yuqori kontagiozligi, klinik belgilariga (og'izning shilliq pardalarida, oyoqning terisida va yelinda vezikulyar jarohatlar), patologoanatomik o'zgarishlar (ichakning va yurak muskullarining jarohatlanishi, yosh hayvonlarning o'lishi) laboratoriya tekshiruvlarining natijalariga asosanib qo'yiladi.

Namuna olish: Laboratoriya tekshiruvlari uchun 2-3 kasal hayvon aftasining devori va tarkibidan, tilning shilliq pardasidan (yirik shoxli hayvondan, cho'chqaning tumshuq gardishidan, teri gultojidan va tuyoq oralaridan, Y.sh.h, m.sh.h, cho'chqa va tuyaning) kamida 5 g olinadi.

Afta bo'lmagan holda hayvonning harorati ko'tarilgan paytda qon, barcha turdagi mayda hayvonlar murdasidan - boshning limfa tugunlari, oshqozon osti bezi yoki yurak muskuli olinadi. Virus tashuvchilikka tekshirish uchun maxsus zond yordamida qizilo'ngach-tamoq shilimshig'i olinadi. Nosog'lom xo'jalikdan olingan materialdagi virusning tashqi muhitga tarqalib ketmasligi va yuqumli material bilan ishlovchi xodimlarni himoyalash zarur.

Buning uchun: a) xo'jalikdagi veterinariya xodimi kasal hayvondan material olish bo'yicha yetarlicha mahoratga ega bo'lishi kerak; b) materialni olish uchun - pinsetlar, qaychilar, salfetkalar, qalin devorli flakonlar, leykoplaster, rezina tiqin, izotonik natriy xlor eritmasidagi 50% glitserinning steril aralashmasi, sovutuvchi aralashmasi bor termos, 2% - NaOH yoki 1% uksus yoki sut kislotasining eritmasi, maxsus kiyimlardan - xalatlar, kombinizonlar, kosinka yoki chepchik, rezina etik, qo'lqoplar va boshqalar bo'lishi kerak.

Barcha zarur bo'lgan narsalar konteynerga joylanib nosog'lom xo'jalikga borilgach, kasal hayvonlar turgan xonaga kirish oldidan kiyiladi;

c) kasal hayvondan materialni olib bo'lgach instrumentlar, yuzyopqich, qo'lqoplar dezinfeksiyalovchi eritmaga botiriladi, flakon va termosning tashqi qismiga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlav beriladi.

Odam va narsalarni sanitariya ko'rigidan o'tkazadigan (sanpropuschnik) joyda, barcha kiyimlar yechilib, dushga tushiladi. Oqsil virusi odamning burun bo'shlig'ida 7 kungacha yashaydi. Demak, nosog'lom xo'jalikka borgandan so'ng 7 kungacha sog'lom juft tuyoqli hayvonlar bilan iloji boricha kontaktda bo'lmaslik kerak. Buzilish belgisi bo'lmagan material namunasi tiqini burab yopiladigan yoki zich yopiladigan flakonlarga joylashtirilgach muzlatiladi, muzlatish uchun sharoit bo'lmasa konservatsiyalovchi eritma quyiladi (NaCl izotonik eritmasidagi 50% steril glitserin eritmasi). Flakonga yorliq yopishtirilib unda hayvonning turi, materialning nomi, uning miqdori, olingan vaqti va yuboruvchining manzilgohi ko'rsatiladi. Flakonlar metallan yasalgan va hech narsani o'tkazmaydigan konteynerga joylanib, muhrlanadi va muzi bor termosga joylanadi va yana muhrlanadi. Materialga yo'llanma xati ilova qilinib unda quyidagilar ko'rsatiladi: materialni olgan vaqt, oqsil kasalligi bo'yicha xo'jalikdagi epizootik holat yuzasidan xabar berib, veterinariya xodimi imzo qo'yadi. Material maxsus veterinariya xodimi orqali berib yuboriladi. Laboratoriyada oqsil virusi bilan ishlash uchun alohida xona (boks va boks oldi xonasi bilan) ajratiladi, u yerda diagnoz qo'yish ishlarini bajarish uchun (materialni tayyorlash, KBR qo'yish, biologik tajriba va h.k) zarur bo'lgan asbob uskunalar bo'lishi shart. Boksda ishlayotganda maxsus kiyim va oyoq kiyimi to'lasincha almashtiriladi, rezina qo'lqop va yuzyopqich kiyiladi. Idish va asboblari qaynatiladi, maxsus kiyim konteynerga joylanib avtoklavlanadi, stollarga, polga, devorga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlav beriladi, so'ngra UBN bilan nurlantiriladi.

Laboratoriyaga olib kelingan material va uning sarf qilinganligi 0,1 mg gacha aniqlikda hisobga olinadi. Laboratoriyaga keltirilgan material tekshirilganga qadar va ishlatish davrida ham kalit bilan yopiladigan muhrlangan sovtgichda saqlanadi. Ish tugagandan so'ng tekshirishdan ortib qolgan material yoki biologik tajriba o'tkazilgan hayvonlar yo'q qilib tashlanganligi haqida dalolatnoma tuziladi.

Laboratoriyada oqsil kasalligiga tekshirish quyidagilarni o'z ichiga oladi: oqsil virusining antigenini topish va identifikatsiyalash (uning qaysi turga va variantga mansubligini aniqlash);

oqsil bilan kasallanib tuzalgan hayvonlar (rekonvalessentlar) qonida virusga qarshi antitelolarni radial immunodiffuziya reaksiyasi (RIDR va bilvosita immunofluoressensiya reaksiyasi (BIFR) yordamida topish va titrlash.

Oqsil virusining antigenini KBR yordamida topish va identifikatsiyalash.

Reaksiyaning komponentlari: a) kasallangan hayvondan olingan, sinalayotgan virus antigenining epizootik shtammi;

b) oqsil virusining variantga va turga oid shtammdagi virusi bilan giperimmunlangan dengiz cho'chqachasining zardobi (biofabrikada ishlab chiqariladi);

c) nazoratdagi antigenlar oqsil virusining turga va variantga xos shtammi (biofabrikada ishlab chiqariladi);

d) komplement - dengiz cho'chqachasining quritilgan yangi normal zardobi;

e) biofabrikada ishlab chiqilgan gemolizin;

f) fiziologik eritmadagi qo'chqorning 2% eritrotsitlari aralashmasining distillangan suvdagi toza osh tuzining 0,85% eritmasi;

g) vezikulyar jarohatlanish chaqiradigan boshqa viruslarga, spetsifik zardoblar va antigenlar.to'plami.

KBR ni har xil hajmda qo'yish mumkin:

umumiy hajm 1 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,2 ml hajmda olinadi; 0,5 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,1 ml yoki mikro usulda - umumiy hajm 0,125 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,025 ml hajmda olinadi.

Oqsil antigenini tayyorlash.Kasal hayvondan olingan afta devori konservatsiyalovchi suyuqlikdan pH 7,4-7,6 bo'lgan fiziologik eritma yordamida tozalanadi, filtr qog'ozi bilan quritiladi, tarozida o'lchanadi, maydalangach mayda steril shisha qo'shilgan chinni havonchada bir xildagi massa hosil bo'lguncha yaxshilab aralashtiriladi. Aftaning massasiga nisbatan ikki barobar 1 g aftaga pH 7,4-7,6 2 ml fiziologik eritma qo'shiladi. Hosil bo'lgan 33% suspenziya xona haroratida 2 soat davomida qoldiriladi (ekstraksiyalanadi), -10,-20⁰S da 5-18 soat davomida muzlatiladi. Eritilgach 3-5 ming ail/daq. 30-15 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik 58⁰ S da 40 daqiqa davomida aktivligi yo'qotiladi, agarda suyuqlik pag'a-pag'a holda bo'lsa uni qaytadan 10-15 daq. 3 ming ail/daq. 30-15 daqiqa sentrifugalanadi, so'ngra KBR uchun antigen sifatida ishlatiladi.

Gemolizinni tayyorlash. Gemolizinni yangi seriyasi olinganda titrlanadi. Titrlash umum qo'llaniladigan usul bo'yicha o'tkaziladi. Biofabrikalar tomonidan ishlab chiqarilgan gemolizin ayrim hollarda glitserin bilan 1:1 konservatsiyalangan bo'ladi, shuning uchun gemolizinning asosiy (1:1000) suyultirilganini tayyorlashda 0,2 ml gemolizin va 9,8 ml fiziologik eritma (1:100), so'ngra shu suyultirilgandan 1:1000 suyultirib tayyorlanadi: 1 ml (1:10) gemolizinga 9 ml fiziologik eritma qo'shiladi. Asosiy (1:1000) eritmada ko'rsatilgan sxema asosida navbatdagilari tayyorlanadi (18-jadval). Gemolizinning kerakli suyultirilgani olingach titrlash N19 sxemadagi jadval asosida o'tkaziladi. Gemolizinni titrlash uchun kerak: 1) eritrotsitlarning o'z-o'zidan gemolizlanishini mustasno qilish uchun nazorat qilish (0,5 ml 2% - eritrotsitlar suspenziyasi+2 ml fiziologik eritma); 2) eritrotsitlarning komplementsiz gemolizlanishini mustasno qilish uchun gemolizinni nazorat qilish (0,5 ml 1:1000 suyultirilgan gemolizin + 0,5 ml eritrotsitlarning 2%-suspenziyasi + 1,5 ml fiziologik eritma); 3) gemolizin ishtirokisiz, eritrotsitlarning gemolizlanishini mustasno qilish uchun komplementni nazorat qilish (0,5 ml 1:20 suyultirilgan komplement+0,5ml 2%-eritrotsitlar suspenziyasi+1,5ml fiziologik eritma); 4) gemolitik sistemani nazorat qilish (0,5 ml 1:1000 suyultirilgan gemolizin+0,5 ml 2% - eritrotsitlar suspenziyasi+0,5 ml 1:20 suyultirilgan komplement+ 1,0 ml fiziologik eritma). Titrlash natijasida gemolizinning eng so'nggi titri aniqlanadi. Demak komplement ishtirokida, eritrotsitlarda minimal gemoliz chaqirish qobiliyati.

Keltirilgan sxemada gemolizinning suyultirish soni 1:3000 olingan.

18-iadval. Suyultirilgan gemolizin tayyorlash sxemasi

Komponent-lar, ml	Gemolizinni suyultirish							
	1:1500	1:2000	1:3000	1:4000	1:5000	1:6000	1:7000	1:8000
Gemolizin 1:1000	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fiziologik eritma	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0

19-jadval. Gemolizinni titrlash sxemasi.

Komponent-lar, ml	Gemolizinni suyultirish							
	1:1000	1:1500	1:2000	1:3000	1:4000	1:5000	1:6000	1:7000
Gemolizin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fiziologik eritma (antigen o'rniga zardobolar)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1:20 suyultirilgan komplement	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2% eritrotsitlar suspenziyasi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
37° C	10 daqiqa suv hammomida saqlanadi							
Titrlanish natijashi		-	-	-	++	+++	++++	++++

Birinchi uch nazoratda gemoliz to'lasincha to'xtashi kerak, to'rtinchi nazoratda esa to'lasincha gemoliz. Asosiy tajriba uchun gemolizinning 4-karrali konsentratsiyasidan eng so'nggi titri olinadi (ishchi suyultirish);

Misol, gemolizinning eng so'nggi titri 1:3000, uning ishchi suyultirilgani 1:750.

Agarda u glitserin bilan (1:1) konservatsiyalangan bo'lsa, unda ishchi suyultirilishni tayyorlash uchun 2:750 olinadi yoki 0,2 ml yaxlit gemolizin va 74,8 ml fiziologik eritma olinadi.

Gemolitik sistemani tayyorlash (gemosistema).

Gemolizinning ishchi suyultirilgani teng miqdorda 2% li qo'chqor eritrotsitlari bilan aralashtiriladi. Gemosistemani ishlatishdan oldin eritrotsitlarni sensibilizatsiyalanishi uchun termostatda 30 daqiqa tutib turiladi.

Qo'chqor eritrotsitlarining 2% suspenziyasini tayyorlash.

2 ml yuvilgan eritrotsitlarning cho'kmasiga 98 ml fiziologik eritma qo'shiladi.

Komplementni titrlash

Asosiy tajribani qo'yadigan kun gemolitik sistemada komplement ko'rsatilgan sxema bo'yicha titrlanadi(20-jadval).

Eng kam sondagi komplementning eritrotsitlarda to'lasincha gemoliz chaqirish komplementning titri hisoblanadi. Oqsil kasalligini turini aniqlashda 2,5% dan past bo'lmagan titrdagi komplementlardan foydalaniladi.

20-jadval. Komplementni titrlash sxemasi

Komponentlar, ml	Yaxshi komplementni saqlashi, %								
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
1:20 suyultirilgan komplement	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45
0,5 ml gacha yetishmaydigan fiziologik eritma	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05
Gemolitik sistema	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fiziologik eritma (antigen va zardob o'rnida)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
37-38°C	suv hammomida 15 daqiqa saqlanadi								
Titrlanish natijasi	++++	+++	++	+	-	-	-		

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish uchun 1% ortiqcha komplement, yoki uning gemosistemadagi titridan 2 shartli birlik olinadi.

Misol, gemosistemada komplementning titri 2%, asosiy tajriba uchun 3% olinadi, ishchi miqdor tayyorlash uchun 3 ml yaxlit komplementga 97 ml fiziologik eritma qo'shiladi.

Suyultirilgan komplementni tayyorlash, uning aktivligini aniqlash va ishchi miqdorini hisoblash KBRga tayyorgarlik ko'rganda katta e'tiborni talab qiladi.

To'g'ri tanlangan komplementning ishchi miqdori reaksiyani normal kechish shartlaridan sanalib, natijaning aniqligini ta'minlaydi.

Komplementni ortiq bo'lishi spetsifik antigenni yoki antiteloni qisman topilishiga yoki to'lasincha yo'qolishiga sabab bo'ladi. Komplement yetishmagan holda spetsifik antigen va antitelo yo'qligi tufayli ham reaksiyaning gemolizlanishi to'xtaydi.

Zardobar. Oqsil virusining turini aniqlaganda pozitiv turga spetsifik oqsil zardobining ishchi titrdagisi ishlatiladi. Demak, zardobning eng so'ngi titri yorliqda 1:40 ga teng deb ko'rsatilgan bo'lsa, ishchi titri esa 1:20 ga teng.

Antigenlar. Turga oid oqsil antigenlarini (biofabrikalardagi spetsifik zardob chiqarganga o'xshash) ikkilangan titrdagisidan foydalaniladi.

Yorliqda 1:6 titr ko'rsatilgan bo'lsa, uning ikkilamchi titri 1:3 ga teng.

Sinalayotgan antigen sifatida (oqsil bilan kasallangan hayvonlar aftasining tarkibi va devori biologik tajriba qoygach, o'lgan sichqon va quyonchalarning gavdasi, patologik material); virus saqlovchi kultural suyuqlik ishlatiladi. (Antigen tayyorlash usuli: — betga qarang).

Sinalayotgan antigen reaksiyalarda yaxlit (33% aralashma) 1:2, 1:4, 1:8 suyultirilgan holda ishlatiladi.

Mamlakatimizning chegaradosh zonalarida boshqa tipga oid oqsil kasalligining kirish xavfi bo'lsa (Sat-1, Sat-2, Sat-3 va Osiyo-1) asosiy tajribada tipini aniqlash va nazorat uchun oqsil virusining boshqa mamlakatda uchrovchi zardob va antigenlari qo'shiladi.

Oqsil kasalligini tipini aniqlash uchun asosiy tajribani qo'yish

Asosiy tajriba bilan birgalikda, spetsifik oqsil antigenlari va zardoblariga sxema bo'yicha nazorat qo'yiladi. Komponentlar quyidagi tartibda qo'yiladi (asosiy tajriba sxemasiga qaralsin 21-jadval):

1) har qaysi zardob uchun 0,2 ml dan ishchi titrdagi spetsifik zardob - vertikal bo'yicha bir qator probirkalar;

2) 0,2 ml dan ishchi titrdagi spetsifik antigenlar, gorizontaal bo'yicha yetti qator, har qaysi antigenga bir qator;

3) har qaysi suyultirilganiga 0,2 ml sinalayotgan antigen, bir qator probirkalar, gorizontaal bo'yicha;

4) 0,2 ml dan fiziologik eritma, oxirgi gorizontaal qator bo'yicha (zardobni nazorati) antigen o'rnida va vertikal bo'yicha so'ngi qator (antigenlarni nazorati) zardob o'rnida;

5) 0,2 ml dan ishchi suyultirilgan komplement - asosiy tajribaning barcha probirkalariga.

Probirkalar sekingina chayqatiladi va 20 daqiqaga 37-38°C suv hammomiga joylashtiriladi;

6) barcha probirkalarga 0,4 ml gemolitik sistemadan quyib chiqiladi. Probirkalar yana chayqatilgach, 37-38°C suv hammomiga 30 daqiqa joylashtiriladi.

Suv hammomida 5-10 daqiqa o'tgach reaksiya natijalari hisoblanadi va 10-12 soat o'tgach eng so'ngi natija olinadi.

Gemolizni to'xtatish darajasi krestlar bilan baholanadi:

(++++)- 100% gemolizni to'xtashi; (++++) - 75% gemolizni to'xtashi; (++) - 50% gemolizni to'xtashi; (+) - 25% gemolizni to'xtashi; (-) - to'lasincha gemoliz.

Agar sinalayotgan antigen spetsifik antiteloga gomologik bo'lsa u holda gemolizlanish to'xtaydi va reaksiya musbat sanaladi; agarda gomologik antigen bo'lmasa to'lasincha gemoliz kuzatilib reaksiya manfiy hisoblanadi

21-jadval. Oqsil virusining tipini aniqlashda asosiy tajribaning sxemasi

Antigenlar	Antigen-larning ishchi titri	Zardoblar							Antigenlarni nazorat qilish
		A titr 1:30	0 Titr 1:40	C Titr 1:20	Osiyo- 1 Titr 1:30	Sat-1 Titr 1:30	Sat-2 Titr 1:20	Sat-3 Titr 1:30	
		Zardoblarning ishchi titri							
		1:15	1:20	1:10	1:15	1:15	1:10	1:15	
A, titr 1:4	1:2	++++	-	-	-	-	-	-	-
0, titr 1:6	1:3	-	++++	-	-	-	-	-	-
C, titr 1:8	1:4	-	-	++++	-	-	-	-	-
Osiyo-1, titr 1:8	1:4	-	-	-	++++	-	-	-	-
Sat-1, titr 1:8	1:4	-	-	-	-	++++	-	-	-
Sat-2, titr 1:6	1:3	-	-	-	-	-	++++-	-	-
Sat-3, titr 1:4	1:2	-	-	-	-	-	-	++++	-
	S	++++	-	-	-	-	-	-	-
Sinalayot- gan antigen	1:2	+++	-	-	-	-	-	-	-
	1:4	++	-	-	-	-	-	-	-
	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
Zardoblar- ni nazorat qilish		-	-	-	-	-	-	-	-

Eslatma: Natijalarga qaraganda barcha antigen va zardoblar aktiv va tipga spetsifik. Sinalayotgan antigen A-tipga mansub. Zarurat yuzasidan ishlab chiqarishda oqsil virusini qaysi tipga mansubligi aniqlangach, so ngra varianti aniqlanadi. Buning uchun xuddi shunday usulda KBR qo'yilib, tegishli aniqlangan variantdagi zardob va antigenlardan foydalaniladi.

Lekin variant zardoblarining eng so'ngi titrdagisi, antigenni ikkilangan titrdagisi ishlatiladi.

Tekshirilayotgan antigen yuqori suyultirilganda ham zardob bilan musbat reaksiya bersa, o'sha variantga tegishli ekanligini bildiradi (22-jadval).

22-jadval. KBR da oqsil virusining epizootik shtammi qaysi variantga mansubligini aniqlashning taxminiy natijasi.

Variatdagi antigenlar	Antigen-larni suyulti-rish	Variantga oid eng so'nggi titrdagi zardoblar				Antigen-larni nazorat qilish
		A_{ST}	A_7	A_{20}	A_{22}	
A_{ST} , titr 1:4	1:2	++++	-	-	-	-
A_7 , titr 1:8	1:4	-	++++	-	-	-
A_{20} , titr 1:6	1:3	-	-	++++	-	-
A_{22} , titr 1:8	1:4	-	-	-	++++	-
Sinalayotgan antigen (epizootik)	S	++++	++++	++++	++++	—
	1:2	++++	++++	++++	++++	—
	1:4	+++	++++	++++	++++	—
	1:8	++	+	+	++++	—
	1:16	+	+	+	+++++	—
	1:32	-	-	-	+++	—
Zardobni nazorat qilish		-	-	-	-	—

Xulosa. Sinalayotgan shtamm A_{22} variantga mansub.

Xo'jalikdan yuborilgan virus materialining miqdori KBR uchun yetarli bo'lmasa u holda o'stirilgan hujayralarda yoki 3-6 kunlik sut emuvchi sichqonlarda yoki k'atta yoshdagi dengiz cho'chqachalarida ko'paytiriladi. Tekshirilayotgan suspenziya sichqonlar terisining ostiga, yelka qismiga 0,1-0,2 ml, dengiz cho'chqachalarining terisining ichiga va keyingi ikki oyoqlarining yostiqlariga 0,2-0,5 ml miqdorda yuboriladi. Hayvonlar 5-7 kun davomida kuzatiladi.

Sichqonlar o'lgach, uning tanasidan KBR uchun antigen tayyorlanadi. Dengiz cho'chqachalarining oyoqlarida musbat natijada aftalar paydo bo'ladi; o'sha afta devorlari va uning tarkibi KBR uchun ishlatiladi. Zarurat paydo bo'lganda 2-3 "ko'r" passaj o'tkaziladi.

Uchinchi passajda hujayralarda degeneratsiya bo'lmasdan yoki sichqonlar o'lmasa, ulardan olingan suspenziyalarda oqsil virusining antigeni KBR da topilmaydi va tekshirilayotgan suspenziya namunasi manfiy hisoblanadi.

Oqsil kasalligining retrospektiv diagnozi

Oqsil virusiga tegishli antiteloni topishda tekshiriladigan material bo'lib oqsil kasalligi bilan kasallangan yoki boshqa vezikulyar kasalliklarga gumonsirilgan hayvonlardan olingan qon zardobi kerak bo'ladi. Hayvonlarda vezikulyar kasallikning belgilari paydo bo'lgach 7-kundan so'ng qon zardobi olinadi. Har qaysi guruhdagi katta yoshli hayvonlardan 5-10 namuna tekshirish uchun yuboriladi. Birinchi tekshirishda noaniq natijalar olingan holda, xuddi shu hayvonlardan 7-10 kun o'tgach qaytadan qon olinadi. Zardob umumiy usul bilan konservatsiyalanadi (penitsillin va streptomitsin 500 birlik/ml) yoki -20°C da muzlatiladi. Har bir hayvondan tekshirish uchun kamida 5 ml zardob olinib, muz solingan termosda yuboriladi.

Laboratoriyalarda zardobni radial immunodiffuziya reaksiyasi (RIDR) va bilvosita immunofluoressensiya (BIFR) reaksiyalari yordamida tekshiriladi.

RIDR. Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki agar gelining tarkibida virus antigenlari, antitelolar bilan qo'shilishi natijasida spetsifik pretsipitatsiya chizig'ini hosil qiladi. RIDR - turga spetsifik hisoblanadi.

Reaksiyani bajarish uchun (2% li) eritilgan agarga 1:5, 1:10, 1:20 sh.k.to 1:320 suyultirilib (50-55°C gacha) qizdirilgan teng hajmda sinalayotgan zardob aralashtiriladi va 4 ml dan buyum oynasiga quyiladi.

Qotgan agarda diametri 4-7,7 mm bo'lgan chuqurcha o'yiladi, chuqurchalar turga oid etalon antigenlar bilan to'ldiriladi. So'ngra buyum oynasi harorati 37°C bo'lgan nam kameraga joylashtiriladi. Reaksiya natijalarini 6-7 soat va 18 soat o'tgach hisobga olinadi.

Musbat reaksiyada antigen quyilgan chuqurcha atrofida kasallik chaqiruvchi gomologik qo'zg'atuvchiga nisbatan opalessensiyalanuvchi pretsipitatsiya halqasi hosil bo'ladi.

Hayvonlar kasallanib tuzalgach antiteloning titri 1:160 dan ortiqcha bo'ladi.

BIFR. Bu reaksiya kasallanib tuzalgan hayvonlarning qon zardobida bo'lgan antitelo spetsifik nur sochishiga (antigen+antitelo kompleksi) asoslangan bo'lib vaksinatsiya qilingan hayvonlarning qon zardobi kompleksida nur sochish kuzatilmaydi.

Reaksiyani qo'yish tartibi quyidagicha.

Oqsil virusining har qanday turi bilan zararlantirilgan VNK-21, SHB, ChHB o'stirilgan hujayraga 1:10 va 1:20 suyultirilgan sinalayotgan zardob quyiladi, 30 daqiqa 37°C nam kamerada inkubatsiyalanadi, bog'lanmagan antitelo yuviladi, havoda quritiladi rodamin bilan belgilangan fluoressensiyalanuvchi turga qarshi zardobning ishchi suyultirilgan aralashmasi bilan bo'yaladi. So'ngra 37°C 30 daqiqa nam kamerada inkubatsiyalanadi, quritiladi, lyuminescent mikroskopi ostida kuzatiladi (ob'ektiv x 40, okulyar x 4 yoki 5).

Musbat reaksiyada hujayra sitoplazmasi yashil yoki och yashil nur sochadi. Reaksiya tegishli nazorat bilan kuzatiladi. Xo'jalikdan yuborilgan 5-10 zardobda hatto bir dona spetsifik nur sochish topilsa, diagnoz natijasi musbat hisoblanadi. Shunday qilib sinalayotgan zardob tarkibida topilgan antiteloning darajasini aniqlash uchun titrlanadi. Buning uchun sinalayotgan zardob 1:40 dan 1:1280 gacha suyultiriladi. Yuqorida ko'rsatilganidek oldindan infeksiya yuqtirilgan preparatga suyultirilganning har qaysisi bilan ishlov berildi.

Infeksiyadan keyin hosil bo'lgan antiteloni titrini aniqlash uchun BIPR da musbat natija bergan so'ngi suyultirishga qaraladi.

1:10, 1:20, 1:40 suyultirilgan zardoblar bilan ishlov berilgan preparatlarning mu-sochishi, oqsil kasalligi o'tkir kechayotgan paytda olinganligidan ya'ni kasallikdan 7 kun o'tgach, 1:80 suyultirilgani va undan yuqorisi esa rekonvalessent hayvondan olingan zardob ekanligini bildiradi.

Oqsil kasalligida tekshiruv natijalari bo'yicha protokol rasmiylashtiriladi va unda tekshirish o'tkazilgan kun, xo'jalikning nomi, materialning turi, qisqacha epizootologik ma'lumot va tekshirishda foydalanilgan komponentlarning nomi, nazorat qilish yo'li ta'riflanadi.

Nazorat uchun savollar.

1. Oqsil virusining qanday asosiy xususiyatlarini bilasiz?
2. Oqsil virusini saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini so'zlab bering.
3. Oqsil virusi chaqirgan kasallikni epizootologik xususiyati, simptomi qanday?
4. Laboratoriyada oqsil kasalligiga diagnoz qo'yishning qanday usullarini bilasiz?
5. KBR natijalari qanday baholanadi?

5 - MAVZU

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yish

Oilasi. Myxoviridae. **Avlodi.** Paramyxovirus.

Kriptogrammasi. R/1:6-8/1:S/E:V/O.

Darsning maqsadi: Yirik shoxli hayvonlar paragripp kasalligining epizootologiyasi, patologik material olish, materialdan virusni ajratish, diagnoz qo'yish usullarini o'rganish, o'stirilgan hujayralarda pg-3 virusini indikatsiyalash va gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida farqlash.

Material bilan ta'minlash: mikroskoplari; yoritgichlar; mikroskopda probirkani kuzatish uchun moslama; fiziologik eritma; pg-3 virusiga mos spetsifik zardob; pipetkalar; dezinfektsiyalovchi suyuqlik solingan stakan; probirkalarda pg-3 virusi bilan zararlantirilgan sigir homilasining buyragidan (SHB) tayyorlangan o'stirilgan hujayra (nazorat uchun); dengiz cho'chqachasi eritrotsitining 0,5% aralashmasi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligi - asosan buzoqlarning o'tkir kechuvchi yuqumli virus kasalligi bo'lib, nafas olish a'zolarining jarohatlanishi bilan ta'riflanadi. Kasallikning qo'zg'atuvchisi RNK - saqlovchi Paramyxoviridae oilasiga mansub virus.

Paragripp viruslarining antigenli tarkibi har xil. Ular inson va hayvonlarga yuquvchi to'rt serologik turga bo'linadi. Yirik shoxli hayvonlarda kasallik chaqiruvchi virus uchunchi serotipga mansub, shuning uchun yirik shoxli hayvonlarning paragripp - 3 (Pg-3) virusi deb nomlanadi.

Tekshirilgan yirik shoxli hayvonlarning qonida 95% Pg-3 virusiga qarshi antiteloning topilishi kasallikning keng tarqalganligini isbotlaydi.

Pg-3 kasalligining klinikasi odatda organizmga stress-faktorlarning ta'siri natijasida yuzaga keladi, ularga esa transportda hayvonlarni tashish, yaxshi shamollatilmagan xonalarda hayvonlarni ko'plab saqlash va boshqalar kiradi.

Paragripp kasalligining buzoqlardagi o'ziga xos klinik belgilari: tana haroratining 40-41,5°C ko'tarilishi, keskin quruq yo'tal, nafas olishning tezlashishi, tanjilik, ishtahasining pasayishi, burundan dastlab shilliq, so'ngra shilimshiq - yiringli suyuqlik oqishi, o'pka va bronxlarda yallig'lanish belgilari paydo bo'ladi. Kasallik 7-12 kun davom etadi.

Kasallikning kechishiga ko'pgina faktorlar ta'sir ko'rsatadi. Stress ta'sirlar, shartli patogen mikroorganizmlar kasallikni kechishini og'irlashtiradi.

Katta yoshdagi hayvonlar va buzoqlarda onasidan olgan antitelolarga qaraganda kasallikning alomatsiz kechishi ustun keladi.

O'lgan hayvonlar yorib ko'rilganda, nafas olish yo'llarida va o'pkaning bosh qismida kataral yallig'lanish belgilari kuzatiladi. Shuning bilan bir qatorda o'pkaning qo'shimcha bo'laklarining cho'qqisida, yurak va qo'shimcha bo'limlarida kulrang - qizil rangli qotgan o'choqlar ko'rinadi. Tamoq orti, bo'yin va limfa tugunlari kattalashgan va nekrozga uchragan qismlari bo'ladi.

Paragripp kasalligiga taxminiy diagnostika, stress faktorlarga, epizootologik holatga, kasallikning klinik alomatlariga va patologoanatomik o'zgarishlarga asoslanib qo'yiladi.

Laboratoriya tekshiruvlarining natijasi esa taxminiy qo'yilgan diagnozni tasdiqlaydi.

Paragripp kasalligining laboratoriya diagnozi:

a) immunofluoessent reaksiyasi yordamida patologoanatomik material tarkibidagi spetsifik antigenni indikatsiyalash;

b) viruslarni ajratib ularni gemadsorbsiyani to'xtatish yoki gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyalari yordamida farqlash;

c) retrospektiv diagnostika yordamida Pg-3 virusining spetsifik antigeniga nisbatan olingan juft zardoblardagi antitelolar titrining o'sishini aniqlash yo'li bilan.

Patologik material olish va tekshirish uchun tayyorlash.

Laboratoriyaga tekshirish uchun patologik material, kasal hayvonlardan kasallikning belgilari maksimal darajaga ko'tarilgan payti (ko'pincha kasallikning 1-7 kunlari) o'lganlardan esa 1-2 soatdan kechiktirmasdan olinib yuboriladi. Virusning burun shilliq suyuqligi orqali chiqarilishini nazarda tutib, surtma va tang'uchalar burun shilliq pardasidan yoki to'g'ridan-to'g'ri (paralon tamponga shunitilgan) suyuqligidan tayyorlanadi. Bu material IFR yordamida virusni topish uchun ishlatiladi. Bulardan tashqari, kasal hayvonlardan juft zardoblar olish maqsadida qon ham olinadi.

O'lgan yoki majburiy o'ldirilgan hayvonlardan burun to'siqlari, kekirdak, o'pka, buyrak va regional limfa tugunlaridan bo'lakchalar va ich ketish hollari kuzatilgan ingichka ichak bo'limlaridan bo'lakchalar olinadi.

Patologik material solingan flakonlar muzi bor termosga joylashtirilib laboratoriyaga yuboriladi.

Laboratoriyada tamponi bor flakonlar 2-3 daqiqa chayqaladi, tampon siqilgach esa olib tashlanadi, flakondagi suyuqlik 2000 ayl/daqiqada 10 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma usti suyuqligi steril probirkaga olinadi, unga 500 birlik / ml penitsillin va 500 mkg / ml streptomitsin eritmaları quyiladi, 4°C da 2-4 soat ushlanadi va o'stirilgan hujayralar zararsizlantirilib virusni ajratish uchun ishlatiladi.

Shilliq qatlam tarkibida hujayralarni saqlovchi cho'kmalardan esa immunofluoessent usulida tekshirish uchun surtmalar tayyorlanadi.

O'lgan hayvonlarning hafas olish yo'llaridan shilliq pardalaridan qirib olingan materialdan avval surtma tayyorlanadi, so'ngra termolizis (muzlatish va eritish) yo'li bilan hujayradagi virusni fiziologik eritmaga chiqishi ta'minlanadi.

Olingan aralashma tamponlar uchun qo'llanadigan usul bilan ishlov berilib virusni ajratish uchun ishlatiladi. O'pkadan va limfa tugunlaridan tang'alar tayyorlanadi. Shuningdek organlarning bo'lakchalaridan 10-20% suspensiya tayyorlanib ulardan qo'zg'atuvchini ajratish uchun foydalanamiz.

Patologik materialdagi paragrippozli antigenni immunofluoessent usuli bilan indikatsiyalash

Paragrippoz virusi hujayraning tashqi qismida yetishadi va undan juda tezlik bilan ajraladi, shuning uchun yallig'lanish jarayonidagi uzilgan epiteliy hujayralarida

burun yo'llarida va kasal hayvonlarning og'iz, burun-tomoq yo'llarida spetsifik virus antigeni va yetilgan virus virionlari topiladi.

Yuqori nafas olish yo'llaridagi uzilgan epitelial hujayradagi virusni ulardan tayyorlangan surtma-tamg'alarda immunofluoressent usuli bilan topiladi.

Tayyorlangan pereparatlar havoda quritiladi, 5 daqiqa atsetonda fiksatsiyalanadi va biologik sanoat tomonidan chiqarilgan diagnostik to'plamlardagi nurlanuvchi zardoblar bilan bo'yaladi.

Har qaysi zardob bilan har-xil organdan tayyorlangan 4 tadan preparat bo'yaladi. Nurlanuvchi zardob tomilizishidan oldin virusga muvofiq zardob tomizillb undagi nurlanish bostirilgan preparatlardan nazorat sifatida foydalaniladi. Preparatda paragripp virus antigeni bo'lsa har-xil kattalikdagi ravshan yashil-sariq donalardek hujayra sitoplazmasida nur sochadi.

Mikroskopda ko'rinadigan 3 maydonda 3-5 tagacha nur sochuvchi hujayralar kuzatilsa virus topilgan deb xulosa qilinadi.

Odatda bir hayvondan tayyorlangan preparatlarni yarmini paragrippozli zardoblar bilan, yarmini esa paragripp virusidek, yirik shoxli hayvonlarda ichak-respirator belgilarini chaqiruvchi viruslarga qarshi fluoro'xromlar bilan belgilangan zardoblar yordamida bo'yaladi.

Paragripp virusini ajratish

Virusni ajratish uchun material bo'lib, shilliq qatlamlar yuvindisi va hayvonlarning a'zolaridan tayyorlangan suspenziyalar hisoblanadi.

Namuna uchun olingan to'qimadan suspenziya tayyorlashdan oldin bir marta muzlatilib so'ngra eritish natijasida virusning ajralish samaradorligi oshadi.

Materialni uzoq saqlaganda va ko'plab muzlatib, eritish jarayonlarida uning chidamsiz bo'lganligi sababli virusni ajratish keskin pasayadi.

Paragripp virusini tovuq homilalarining allantois bo'shlig'iga yuqtirish yo'li bilan ajratish mumkin.

Ko'paygan virus gemagglutinatsiya reaksiyasi yordamida va yuqtirilgan tovuq homilalarining ekstraembrional suyuqliklari bilan sezuvchan o'stirilgan hujayralarga yuqtirgan vaqtda topiladi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 virusini ajratishda sigir homilasi buyragidan va yangi tug'ilgan buzoq buyragidan tayyorlangan birlamchi-tripsinlanib o'stirilgan hujayralar ayniqsa kerak bo'ladi.

Yuqtirishdan oldin o'stirilgan hujayra qavati 3 marta Xenks eritmasi bilan chuyilib zardoblardan tozalanadi.

So'ngra yuqtiruvchi materialni 0,2 ml har bir probirkadagi o'stirilgan hujayralarga yuqtiriladi va 37° C da termostatda 60-90 daqiqa ushlanadi. Hujayralar yuzasiga virus adsorbsiyalangandan so'ng, virus saqlovchi suspenziya to'kiladi va zararlangan hujayralarga zardobsiz 199 virusiga qarshi antitelosi yoki buzoq qon zardobi qo'shilgan 0,5% gidrolizatlatkal'bumin eritmasi quyiladi.

(O'stirilgan hujayralarga yuqtirilgach 37°C 7-14 kun inkubatsiyalanadi. Virusning sitopatik ta'sirini aniqlash maqsadida probirkalar har kuni mikroskop ostida kuzatiladi va gemadsorbsiya reaksiyasi qo'yiladi.

Paragripp-3 virusining hamma shtanunlari hujayralarning o'chqach dumoloqlanishini, yuqtirilgan hujayralarning donali buzilishi kuzatiladi.

Simplastlar bir qancha hujayra sitoplazmalarining bir-biriga qo'shilib ketishi natijasida hosil bo'ladi.

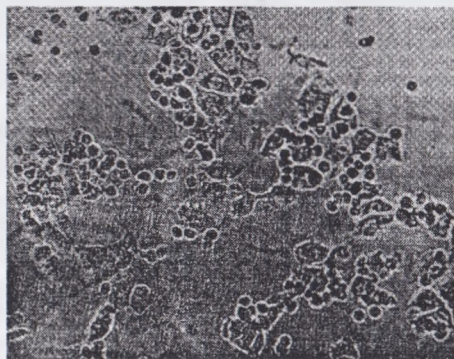
Yuqtirgach 24-72 soatdan so'ng sitologik tekshiruvlar olib borilib, hujayra sitoplazmasida eozinofilli kiritma-tanachalarni ko'rish mumkin.

Birinci passajda virusning SPT kuzatilsa, uchta ketma-ket passaj o'tkaziladi. Har qaysi passajdan so'ng dengiz cho'chqachasi eritrotsitlari yordamida gemadsorbsiya reaksiyasida tekshirilib turiladi. Paragripp virusining o'stirilgan hujayralarda to'planishini aks ettirish ulami tekshiriladigan 1-7 kunlardan so'ng ya'ni sitopatik ta'sirlar ko'rinishidan avval gemadsorbsiya testi yordamida bajariladi. SPT yuz bermagan virusning birinci passajida, virusni o'stirilgan hujayralarda indikatsiyalashning asosiy usuli gemadsorbsiya hisoblanadi.

Gemadsorbsiya reaksiyasi o'stirilgan hujayralari bor probirkalarda ularni tekshiriladigan material bilan yuqtirilgandan 3-7 kundan so'ng qo'yish mumkin.

Probirkalarga dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 0,5% aralashmasi 0,2 ml toniziladi. Probirkalar hujayra qavatini pastga qaratilgan gorizontol holatda xona haroratida 10-15 daqiqa ushlanadi, hujayralarga adsorbsiyalanmagan eritrotsitlarni ajratish maqsadida sekin chayqaladi, so'ngra eritrotsitlar aralashmasi quyib olinadi va mikroskop ostida kuzatiladi.

Materialda paragripp virusi bo'lsa gemadsorbsiya natijasi musbat: ya'ni virus bilan zararlangan hujayralar yuzasiga qalin yopishgan harakatsiz eritrotsitlarni ko'ramiz (89-rasm).



89-rasm. Yirik shoxli hayvonlarning pg-3 virus yuqtirilgan MDVK, chirmashib o'suvchi hujayradagi gemadsorbsiya.

Paragrippozli virus uchun gemadsorbsiya reaksiyasining diffuzli turi xarakterli.

Virus yuqtirilmagan hujayralarni kuzatganda eritrotsitlar kuzatuv maydonida sekin suzadi yoki umuman ko'rinmaydi. O'stirilgan hujayralardagi yuqtirilgan virusni topish uchun gemadsorbsiya reaksiyasi ishlatilganda sterillangan eritmalar va steri

olingan eritrotsitlar qo'llanilsa va manfiy natija olinsa, yuqtirilgan hujayralarga oziqa muhiti qo'shilib o'stirishni yana davom etkazish mumkin.

Gemadsorbsiya yuz bermagan taqdirda va sitopatik ta' sir kuzatilmasa, birinchi passaj "ko'r" passaj hisoblanib, kelgusidagi passajlar davom etkaziladi. Buning uchun ikkinchi passajni o'tkazishda birinchi passajning o'stiruvchi suyuqligi yuqtiruvchi material hisoblanadi va undagi hujayra detritlarining muzlatilgani va qayta eritilgani ishlatiladi.

Beshinchi passajdagi o'stirilgan hujayralarda ham manfiy gemadsorbsiya natijasi qayd qilinsa tekshirish natijasi ham manfiy hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp virusini identifikatsiyalash.

SPT ga yoki gemadsorbsiya natijasiga qarab topilgan virus paragrippoz virusi ekanligiga to'la ishonch hosil qilish uchun biofabrikada chiqariladigan diagnostik to'plamdagi pg-3 virusiga qarshi spetsifik zardob bilan gemadsorbsiyani to'xtatish yoki gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyalari qo'yiladi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 kasalligiga diagnoz qo'yish uchun quritilgan diagnostikum to'plamlari ampulalarga solingan va liofilizatsiya yo'li bilan quritilgan:

- a) GATR uchun pg-3 antigen;
- b) GATR va GADTR uchun pg-3 virusiga qarshi spetsifik zardoblar;
- c) immunofluoressensiya reaksiyasi uchun nurlanuvchi zardoblar;
- d) GATR va GADTR uchun (manfiy) nazorat zardoblari.

Ishlatishdan oldin barcha ampulalar ochilib, qo'llash uchun tavsiyanomada ko'rsatilgandagidek zardoblar suyultiriladi.

Gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi.

GADTR - yirik shoxli hayvonlarning paragripp virusini farqlash quyidagicha bajariladi. Oxirgi passajda musbat gemadsorbsiya natijasini beruvchi virus saqllovchi materialning 0,2 ml miqdori bilan 15 ta probirkadagi o'stirilgan hujayra zararlantiriladi.

Reaksiya natijasini tez olish maqsadida o'sha birinchi bor gemadsorbsiya bergan passaj bilan zararlantirilgan probirkadagi o'stirilgan hujayralarda reaksiya qo'yiladi.

37°C da 1 soat mobaynida yuborilgan virus adsorbsiyalanganidan so'ng 1 ml 199 quvvatlovchi muhit qo'shiladi va 37° C termostatda inkubatsiyalanadi. 3-7 kundan so'ng probirkalardan oziqa muhirlari to'kiladi, hujayralar Xenks eritmasi bilan yuviladi va probirkalarga pg-3 virusiga spetsifik giperimmun zardoblardan (1:10 suyultirilganidan) 0,5 ml quyiladi.

Nazoratdagi 3 ta probirkaga 0,8 ml Xenks eritmasi quyiladi. Hujayra va antitelolarni qo'shilishi uchun probirkalar gorizontal holatda 30 daqiqa xona haroratida qoldiriladi. So'ngra barcha probirkalarga 0,2 ml 0,5% dengiz cho'chqachasining eritrotsit suspenziyasi quyiladi. 22°C 30 daqiqali ekspozitsiyasidan so'ng gemadsorbsiya reaksiyasining natijasi o'qiladi. Spetsifik zardob tomonidan neytrallangan virus qo'shilgan probirkalarda gemadsorbsiya yuz bermaydi.

Gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi.

Paragripp virusini farqlash pleksiglas paneli chuqurchalarida bajariladi. Dastlab virus, 1% dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining suspenziyasi bilan xona haroratida bajarilgan GAR yordamida titrlanadi.

Titrlash natijasi 60-90 daqiqadan so'ng nazorat probirkalaridagi eritrotsitlar to'lasincha cho'kgandan so'ng o'qiladi. Paragrippozli virus odatda past gemagglyutinatsiyalovchi titrga ega (1:8-1:64). Titrlangan virusdan uning ishchi suyultirilgani 4GAB tayyorlanadi va GAR nazorat qilinadi.

Reaksiyaning asosiy tajribasini qo'yish uchun bir qatorda 0,2 ml hajmda spetsifik zardobning ampula yorlig'ida ko'rsatilgan titrning oxirgi suyultirilgan darajasidan ikki karali suyultirilgan darajalari, ikkinchi qatorda esa shu hajmda manfiy zardob suyultiriladi. Ikkala qatordagi har qaysi chuqurchalarga 0,2 ml virusning ishchi suyultirilganidan quyiladi. Bir vaqtda eritrotsitlarga nazorat qo'yiladi (0,2 ml eritrotsitlar va 0,4 ml fiziologik eritma). Panellar chayqatilib 60-90 daqiqali zardob va virus kontaktidan so'ng, barcha chuqurchalarga 0,2 ml 1% eritrotsitlar aralashmasi qo'shiladi.

Reaksiyaning natijasi 60-90 daqiqadan so'ng hisoblanadi. Agar spetsifik zardob virusning gemagglyutinatsiyalovchi aktivligini to'xtata olsa virusni farqlash jarayoni yakunlangan hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlarda paragripp kasalligining retrospektiv diagnostikasi.

Bu kasallikni serologik diagnostikasidan kasallikdan tuzalgan hayvonlardan va kasallikning boshlanishida 4-5 kundan kechiktirmasdan olingan juft zardoblarni tekshirib, antitelo titrining o'sishi aniqlanadi.

Birinchi olingan zardob bilan ikkinchi olingan zardob orasidagi oralik 2-3 hafta bo'lishi kerak.

Birinchi olingan zardob muzlatilib qo'yiladi va uni ikkinchi zardob bilan bir vaqtda 3 kun ichida tekshiriladi. Spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan tozalash uchun zardoblar 56°C 30 daqiqa davomida qizdiriladi.

Zardoblar gemagglyutinatsiyani to'xtatish yoki neytrallash reaksiyalari yordamida tekshiriladi. Reaksiyalarda diagnostik to'plamlardan olingan antigenlar ishlatiladi, ular virulentli bo'lmagan va 256 GAB titrga ega bo'lgan paragripp-3 kasalligining o'stirilgan viruslaridan iborat. Virusni identifikatsiyalashda qo'yilgan kabi gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi bajariladi.

Virusning gemagglyutinatsiyalash qobiliyatini to'liq to'xtata oladigan zardobning eng yuqori suyultirilgan darajasi, antiteloning titri hisoblanadi.

Birinchi zardobga qaraganda ikkinchi zardobda antitelo titrining to'rt karra o'sishi organizmda yuqumli jarayonning aktivligidan dalolat beradi va o'sha jarayonni chaqirgan paragripp virusiga qarshi organizmda antitelo ishlab chiqiladi.

O'stirilgan hujayralarni gemotoksilin - eozin bilan bo'yash usuli-

Bir qavat hujayra o'stirilgan yopqich oyna (agar SPT bo'lsa, 50% buzilgan hujayrali) probirkadan chiqarib olinadi, Xenks eritmasi bilan muhitdan yuvib tozalanadi, so'ngra 10-15 daqiqa davomida Buen eritmasida fiksatsiyalanadi va 70° cel spirtiga 10 daqiqagacha joylashtiriladi (bundan uzoqroq vaqtgacha mumkin).

Preparatlarni bo'yash bosqichlari:

- 1) distillangan suvda yuviladi;
- 2) gemotoksilin bilan 2-20 daqiqagacha bo'yash;
- 3) suv bilan bo'yoqni yuvish;
- 4) preparatlarni (10 ml suvga 3-4 tomchi) nashatir spirit qo'shilgan vodoprovod suvi bilan to'binafsha rangdan ko'k rangga aylanguncha yuviladi;
- Bo'sh vaqti, hujayra yadrosining bo'yoqni qabul qilishi nazorat qilinadi;
- 5) distillangan suvda yuvish;
- 6) eozin bilan bo'yash (bir necha soniyadan 2-3 daqiqagacha);
- 7) distillangan suv bilan yuvish (bir necha soniya).
- Hujayra sitoplazmasi rangni qabul qilguncha bo'yash vaqti nazorat qilinadi;
- 8) preparatni suvsizlantirish;
- a) 70°, 90°, 100° - etil spirtidan o'tkazish yo'li bilan - 15 daqqa;
- b) buyum oynasidagi preparatni bal'zam bilan qoplash (hujayra qatlamini oynaga qaratib).

Preparatlarni bo'yash uchun ishlatiladigan reaktivlar:

Buen eritmasi - 15 qism pikrin kislotasining suvdagi to'yingan eritmasi, 5 qism neytral formalin, 1 qism muz uksus kislotasi;

Mayer gemotoksilini - 1 l distillangan suvga 2 g gemotoksilin, 0,2 g NaJ, 50 g kaliyli achchiq tosh, 50 g xlorgidrat. Olovda qizdirilgan holda ketma-ket eritiladi. Bu reaktiv ishlatishdan kamida 1 oy oldin tayyorlanadi; Eozin - 100 ml distillangan suvga 1 g;

Karbol-kislot: - kislotaning 4-5 qismiga 1 qism kristall karbol kislotasi qo'shiladi.

Nazorat uchun savollar.

1. Yirik shoxli hayvonlarda paragripp kasalligining asosiy klinik belgilarini va patologoanatomik o'zgarishlarni so'zlab bering.
2. Kasal va o'lgan hayvonlardan patologik material qanday olinadi?
3. Patmaterialdagi virusni topish uchun qaysi usullar ishlatiladi?
4. Pg-3 virusini ajratishning qanday usullarini bilasiz?
5. Retrospektiv diagnostikada qaysi materiallar ishlatiladi, paragrippga diagnoz qo'yishda qaysi usullar bilan tekshiriladi va natijasi qanday izohlanadi?

6 - MAVZU

Biofabrikalarda ishlab chiqilgan diagnostik to'plamlar yordamida buzoqlarning pnevmoenterit kasalligini differensiallash

Darsning maqsadi: hayvonlarning virus kasalliklariga talabalar tomonidan amaliy diagnoz qo'yish yo'larini o'rgatish. Buning uchun quyidagi vazifa qo'yiladi: patologik materialda buzoqlarda pnevmoenterit kasalligini chaqiruvchi virusni uchratish va farqlash.

Material bilan ta'minlash: Biofabrikada tayyorlangan yirik shoxli hayvonlarning YuRT, pg-3, DV, RS va adenovirus infeksiyasiga diagnoz qo'yish uchun ishlatiladigan diagnostik to'plamlar; kasal buzoqlardan olingan traxeya va bronxlarning shilimshiq qobig'i; lyuminessent mikroskoplar; termostat; kyuvetalar; pipetkalar; atseton; fiziologik eritma.

Qo'zg'atuvchisining o'zaro hech qardoshlik tomoni bo'lmagan virus etiologiyasiga ega bir guruh o'xshash kasalliklar sun'iy ravishda pnevmoenteritlar deb nomlangan. Bu guruhga yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit (YURT), virusli diareya (VD), paragrippning 3 turi (pg-3), adenovirusli va respirator-sinsitial (RS) infeksiyalari kiradi.

Yuqorida qayd etilgan infeksiyalarning o'xshashlik tomonlari ko'p:

1) epizootologiyasi - asosan kuz-qish fasllarida 5-6 oylik yosh buzoqlar kasallanadi. Kasallik ko'pincha enzootiya holatida o'lim kam, virus tashuvchilik uzoq davom etadi;

2) simptomlari - isitma, rinit, yo'tal, burundan suyuqlik oqishi, ich ketish;

3) patologoanatomik o'zgarishlari - nafas olish yo'llarining shilliq pardalari qizargan, shishgan, bronx va umurtqa bilan ko'krak qafasi oralig'i, limfa tugunlari qizargan;

4) Laboratoriyaga patologik material sifatida burun va kekirdakdan shilimshiq, burunning shilliq pardalari, traxeya, bronx, fekalidan yuboriladi;

5) Pnevmoenterit kasalligining virusi buyrakdan yoki yirik shoxli hayvonlar homilasining testikulalaridan tayyorlangan o'stirilgan hujayralarda SPT ko'rsatib ko'payadi. Ularni antigenlarini DPR va IFR yordamida uchratish mumkin;

6) pg-3 virusi dengiz cho'chqasi eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. O'quv vazifasi sifatida xuddi shu infeksiyani tanlanishi quyidagicha mulohaza qilishga asoslanadi: 1) pnevmoenteritlar guruhiga qarashli infeksiya keng tarqalgan bo'lib, chorvachilikka katta iqtisodiy zarar yetkazadi. Ammo bu infeksiyaga diagnoz qo'yish kamdan-kam hollarda bajariladi, chunki kasallik yuqori darajada o'limga olib kelishligi, sekinlik bilan kechganligi tufayli e'tibor berilmaydi. Bu kasalliklar ko'pincha boshqa diagnoz bilan nomlanib hatto kasallikni kechishini sezmasdan qolish ham mumkin.

Oldimizga qo'yilgan vazifani hal qilish bo'lajak veterinariya mutaxassislariга pnevmoenteritlar muammosini yechishga imkon beradi;

2) biologik sanoat tomonidan maxsus diagnostik to'plamlar ishlab chiqilib pnevmoenteritlarni faqat laboratoriya sharoitida differentsiatsiya qilibgina qolmasdan,

balki xo'jalikning o'zida ham murakkab bo'lmagan apparat (lyuminessent mikroskop) yordamida malakali veterinariya xodimi tomonidan bajarilishi mumkin.

Ushbu to'plamlar bilan tanishish va ularning amaliyotda ishlatish, shu mavzuning birdan-bir vazifalaridan hisoblanadi.

Diagnostik to'plamlar bilan tanishishning muhimligi shundaki, nafaqat pnevmoenteritlar balki boshqa infeksiyalarga diagnostik qo'yish uchun ham bunday to'plamlar ishlab chiqilmoqda;

3) Buzoqlarning pnevmoenterit kasalliklarini differensiatsiyalashda biologik sanoat tomonidan ishlab chiqilgan va keng qo'llanilayotgan preparatlar har bir alohida guruhdagi infeksiyadan profilaktika qilishda muhim ahamiyat kashf etmoqda.

4) pnevmoenteritlar infeksiyasining o'xshashligi sababli ularni chaqiradigan viruslarni differensiatsiyalash qulay. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligiga diagnostik qo'yish uchun Privolj biofabrikasida ishlab chiqarilgan, diagnostik to'plamlarning tarkibini keltiramiz.

1. Yirik shoxli hayvonlarning YURT kasalligiga diagnostik qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamning tarkibi:

- a) NR va DPR uchun otning spetsifik zardobi;
- b) NR va DPR uchun otning (manfiy) nazoratlovchi zardobi;
- c) otning belgilangan spetsifik zardobi;
- d) otning belgilangan (manfiy) nazoratlovchi globulini.

2. Yirik shoxli hayvonlarning VD kasalligiga diagnostik qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a) NR uchun diareya kasalligining vaksina virusi;
- b) KBR va DPR uchun diareya virusining spetsifik antigeni;
- c) nazoratlovchi (manfiy) antigen;
- d) KBR va DPR uchun diareya virusiga spetsifik bo'lgan zardob;
- e) NR uchun diareya virusiga spetsifik zardob;
- f) nazoratlovchi (manfiy) zardob;
- g) diareya virusiga fluoressensiyalanuvchi zardob.

3. Yirik shoxli hayvonlarning pg-3 kasalligiga diagnostik qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a) agglyutinatsiyalovchi antigen;
- b) spetsifik zardob;
- c) manfiy zardob;
- d) fluoressensiyalovchi zardob.

4. Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus infeksiyasiga diagnostik qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a) 1-kichik guruhning spetsifik antigeni;
- b) DPR uchun 1-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- c) KBR uchun 1-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- d) 1-kichik guruh uchun fluoressensiyalanuvchi zardob;
- e) 2-kichik guruh uchun spetsifik antigeni;
- f) DPR uchun 2-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- g) KBR uchun 2-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- h) 2-kichik guruh uchun fluoressensiyalanuvchi zardobi;
- i) manfiy antigen;
- f) DPR uchun manfiy zardob;
- k) KBR uchun manfiy zardob.

5. Yirik shoxli hayvonlarning RS-infeksiyasiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi: a) RS-virusining spetsifik antigeni; b) nazoratlovchi (manfiy) antigen; c) KBR va DPR uchun spetsifik zardob; d) nazoratlovchi (manfiy) zardob; e) fluoressensiyalanuvchi spetsifik zardobi.

Nazorat uchun savollar

1. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligida qanday klinik va patologoanatomik belglari bo'ladi?
2. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligida laboratoriya diagnozi qanday qo'yilishi va differentsiyanishini so'zlab bering.
3. Pnevmoenterit kasalligida IFR qo'yish nimadan iborat?
4. Pnevmoenteritlarda qo'llanadigan diagnostik to'plam tarkibi nimalardan iborat?
5. Pnevmoenterit kasalligini qaysi kasalliklardan farqlash kerak?

ILOVA

Virus kasalliklarini o'rganish uchun o'tkaziladigan mashg'ulotga uslubiy tavsiyanoma. Hayvonlarning viruslar qo'zg'atadigan kasalliklarini modellashtirilgan holda diagnostik tekshirish. Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlari

Bu guruhdagi kasalliklarga yuqumli rinotraxeit, paragripp-3, virusli diareya, adenovirusli, respirator-sinsitial, rota-va yirik shoxli hayvonlarning korona-infeksiyasi kiradi.

Ma'ruza kursi: epizootologiya, etiologiya, patogenez, kasallikning klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

1. "Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlarini differensial diagnostikasi" mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

1.Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejası. (12 soat, 3 hafta ichida, mashg'ulotlar oralig'idagi interval bir hafta).

1-MASHG'ULOT

Buzoqlardagi virusli pnevmoenterit kasalligining epizootologik ma'lumotlari va klinik-patologoanatomik belgilari.

Laboratoriyada tekshirish uchun patmaterial olish.

1-soat: 1) mavzu bo'yicha talabalardan yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, paragripp-3, respirator-sinsitial, adeno-va rotavirus infeksiyalari bo'yicha so'rash;

2)yo'qituvchining tushuntirishi-buzoqlarning virusli pnevmoenteritlariga laboratoriyada differensial diagnoz qo'yish.

2-soat:1) virusli pnevmoenteritni buzogga tajriba uchun yuqtirgandan so'ng klinik belgilarini o'rganish (vivariy binosida).

2) kasal hayvondan laboratoriyada tekshirish uchun material olish (burun va kon'yunktivadan yuvindi, qon, fekalii);

3) material namunasini konservatsiyalab, flakonlarga yorliq yopishtirish va transportda yuborish;

4)yo'llanma varaqasini to'ldirish.

3-soat: materialni tekshirish uchun tayyorlash (surtmalar tayyorlab, homogenizatsiyalash, sentrifugalash, antibiotiklar qo'shish, bakteriologik nazorat qilish)

4-soat: Sigir homilasining buyragidan (SHB) yoki buqaning testikularidan (BT), tayyorlanib o'stirilgan hujayralardan foydalanib patologik material namunalaridan virusni ajratish;

mikroskopda qarab probirkada o'stirilgan hujayrani tanlash; o'stirilgan hujayrani zararlantirish (tekshirilayotgan material yuqtiriladi, o'stirilgan hujayraga virus adsorbsiyalanadi so'ngra quvvatlab turuvchi muhitdan qo'shiladi).

Probirkalarning bir qismi buyum oynasi ustida o'stirilgan hujayralarni saqlashi kerak, talabalar o'qituvchining ishtirokida o'stirilgan hujayraga virusni yuqtiradi;

Guruhning navbatchi talabasi virus yuqtirilgan hujayralarni nazorat qilib, xabar olib turadi;

Probirkada o'stirilgan hujayralarga (shu jumladan yopqich oynasi bilan ham) o'qituvchi talabalarsiz-pnevmoenterit kasalligining qo'zg'atuvchisini bir xilni yuqtiradi. Talabalar tomonidan virusni ajrata olmagan taqdirda, ikkinchi mashg'ulotda o'qituvchi tomonidan oldindan yuqtirilib, tayyorlab qo'yganidan foydalaniladi;

Shilliq pardalardan yuvindi olish uchun ishlatiladigan probirkalarga Xenks eritmasi quyilib - oldindan pnevmoenterit kasalligining qo'zg'atuvchisidan qo'shib qo'yiladi;

Shunday yo'l bilan olingan patologik material namunasini, hujayralarga virus adsorbsiyalanishi uchun 22°S 1 soat davomida (yoki 37°S) inkubatsiyalanadi.

O'qituvchining tavsiyanomasi bilan bajarilgan usul deyarli virusni uchratish va ajratib olish samaradorligini oshiradi.

2-MASHG'ULOT

Kasal buzoqdan olingan patmaterialda virusni uchratish va identifikatsiyalash.

1-soat: 1-mashg'ulotda virus yuqtirilgan hujayralarni mikroskopda ko'rish. SPT natijasini hisoblash, paragripp-3 virusini GADR (gemadsorbsiya reaksiyasi) indikatsiyalash, GADTR (gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi) yordamida paragripp-3 virusini identifikatsiyalash.

2-3-soatlar: patologik materialdan tayyorlangan preparatlarni va patmaterial yuqtirilgan hujayralarni virusga spetsifik yuqumli rinotraxeit, diareya virusi, respirator-sinsitial va yirik shoxli hayvonlarning adenovirusini belgilangan zardoblar bilan bo'yash.

4-soat: preparatlarni YuRT, DV, RS, adenoviruslarining antigeni borligini immunofluoressensiya reaksiyasi yordamida tekshirish.

3-MASHG'ULOT

Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlariga retrospektiv serologik diagnoz qo'yish.

1-soat: 1-mashg'ulotda foydalanilgan kasal buzoqdan laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun qon olish, so'ngra qonning zardobini ajratish.

2-3-soatlar: 1) buzoqning juft zardobida virus qo'zg'atuvchisiga qarshi antiteloni uchratish va titrlash (1 va 3-mashg'ulotlarda olingan);

Eslatma. Tajriba uchun virus yuqtirilgan buzoqdan YuRT virusi topilsa BGAR, adenovirus topilsa BGAR, respirator-sinsitial virusi topilsa BGAR, paragripp virusi topilsa - GATR qo'yiladi.

Reaksiyani biologik sanoat tomonidan ishlab chiqilgan diagnostik preparatlardan foydalanib qo'yiladi.

2) Aniqlangan kasallikdan profilaktika qilish va yo'qotish rejasi tuziladi.

4-sout: laboratoriyadagi tekshiruv natijalarini va talabalarning nazariy bilim saviyasini inobatga olgan holda mavzu yuzasidan sinov o'tkaziladi.

II. "Buzoqlardagi virusli pnevmoenterit kasalligining differensial diagnozi" bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

1-mashg'ulot: Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: tajriba yo'li bilan alohida yoki bir yo'la bir necha pnevmoenterit kasalliklarining virusi yuqtirilgan buzoq;

Yuqtirilgan hayvondan steril patologik materialni olish va virusni ajratish uchun instrumentlar to'plami (steril paxta - doka tanponlari, sterilizatorga joylashtirilgan pinset, 3-4 ml Xenks eritmasi quyilib antibiotiklardan penitsillin va streptomitsin qo'shilgan flakonlar, fekalini to'plash uchun banka, qon olish uchun ignalar, yorliq yozish uchun leykoplastir, muz solingan termos, yo'llama xat yoziladigan qog'oz, sentrifuga, antibiotiklar (penitsillin va streptomitsin), bakteriologik nazorat uchun oziq muhitlardan GPA, GPSH, SHB yoki BT hujayralari o'stirilgan probirkalar, yoritgichli mikroskop, 1 va 2 ml pipetkalar, Xenks eritmasidagi 0,5% gidrolizat laktal'bumin, o'atiruvchi oziq muhitni quyib olish uchun banka, gaz yoki spirt lampa, buyum oynalari.

2-mashg'ulot: Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: probirkalardagi o'stirilgan hujayraga yuqtirilgan virus, shu jumladan shishachalari bilan; organ va yuvindilardan tayyorlangan tamg'a va surtmalar; yoritgichli mikroskoplar; lyuminescent mikroskoplar; GATR uchun yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 virusiga spetsifik bo'lgan zardob; yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, diareya virusi, respirator-sinsitial va adenovirus infeksiyasiga spetsifik zardobning FITS-kon'yugatlari (biofabrikalarda tayyorlangan diagnostik to'plamlar ichidan). GADR uchun dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 0,4% aralashmasi; GADR uchun Xenks eritmasi yoki fiziologik eritma; IFR reaksiyasida surtmalarni yuvish uchun pH 7,2-7,4 bo'lgan fosfat-bufer eritmasi; 1 va 2 ml pipetkalar; Petri kosachalari (surtmalar uchun namli kamera); buyum oynalari; surtmalarni fiksatsiyalash uchun vertikal kyuvetalar; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan; atseton; termostat.

3-mashg'ulot Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: qon olish uchun steril ignalar; bakteriologik steril probirkalar; 1 va 2 ml steril pipetkalar, shishaga yopishgan qonni ajratish uchun metallardan yasalgan sim; takachi mikrotitrotori; yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, adenovirus, respirator-sinsitial virusiga antitelo hosil bo'ganligini BGAR, paragripp virusiga hosil bo'lgan antitelsoni GATR da aniqlash uchun biofabrikalarda tayyorlangan diagnostik to'plamlar; dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 1% li aralashmasi; GATR uchun fiziologik eritma; BGAR uchun suyultiruvchi eritma; dezinfeksiyalovchi suyuqlik quyilgan stakan; distillangan suv; spirt lampa; rezina noklar; termostat; muzlatgich.

III A. Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning patogen 4016 shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirilgan hujayralarda o'stirish
Sezgir ob'ekt	Yirik shoxli hayvon	Birlamchi: SHB, BT va ularni subkulturalari. Chirmashib o'sadigan MDBK, BB-80. TR, SHKB 3-4 sutkalik
Yoshi	2-4 oylik	-
Yuqtirish usuli	Burun ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	2x10 ⁶ TST 50/ml	-
Yashirin davr	2-4 kun	2-4 kun
Kasallikning belgilari:		
klinik	Haroratning 41 ⁰ C ko'tarilishi, rinit, konyunktivit yotal. holsizlik	Yumoloqlashgan hujayralar
patologoanatomik	Yuqori nafas yo'llarining kataral yallig'lanishi, o'pkaning yqori qismida. Burun shilliq pardalarida yaralar.	
Kasallikning davom etish muddati	7-12 kun	-
O'lim	Yo'q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan so'ng 3-7 kun o'tgach	5-7 kun
Virus saqlovchi materialning turi	Burun va kon'yunktivadan olingan sekretlar, jinsiy organlardan ajralgan shilimshiq, fibrinsizlantrilgan qon	
Virusni ajratish uchun model	-	Birlamchi: SHB, BT va ularning subkul'turalari. Chirmashib o'suvchi: MDVK, BB-80, TR, SHKB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) minus 30°C	Virusni buzoqlarda 2-3 marta passaj qilish
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 1 oyda bir marta b) 2-3 oyda bir marta	

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

III B. Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning "Belorussiya" epizootik shtamni tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirilgan hujayralarda o'stirish
Sezgir ob'ekt	Yirik shoxli hayvon	4-5 kunlik SHB
Yoshi	1-6 oylik	-
Yuqtirish usuli	Traxeyaning ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	10 ⁶ TST 50/ml	0,2 TST 50/ml
Yashirin davr	36-48 soat	48-60 soat
Kasallikning belgilari:		
klinik	Haroratning ko'tarilishi, rinit, xirillash yo'tal	Sinsitiy-SPT, sitoplazmaning donadorligi, GADR
patologoanatomik	O'pkaning yuqori bo'lakchalarini kulrang qattiqlashuvi va nekrozga uchragan joylar	-
Kasallikning davom etish muddati	-	-
O'lim	Yo'q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	2-6-kunlar	48-60 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Burun sekreti	Muzlatib, eritgach kultural suyuqlik
Virusni ajratish uchun model	-	SHB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) -20°C b) -70°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 3-6 oyda bir marta b) 6-12 oyda bir marta	Virus buzoqlarda 2-3 yilda bir marta passaj qilinadi

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

III C. Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini qaytadan tiklash uchun virusni "Bovine-10" etalon shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirilgan hujayralarda o'stirish
Sezgir ob'ekt	Yirik shoxli hayvon	Birlamchi: SHB, BT
Yoshi	1-2 oy	-
Yuqtirish usuli	Burun uchiga, traxeya ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	2×10^6 TST 50/ml	-
Yashirin davr	5-6 kun	5-10 kun
Kasallikning belgilari:		
klinik	Rinit, kon'yunktivit	Hujayralarning yumoloqlashuvi, avvaliga har-har joyda, so'gra barcha bir qavatli o'sgan hujayralarda
patologoanatomik	Burun shilliq pardalari va ko'zning giperimiyasi, o'pkada qattiqlashgan o'choqchalar, limfa tugunlari kattalashgan	-
Kasallikning davom etish muddati	7-10 kun	-
O'lim	Kamdan-kam	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan 4-kundan boshlab to 10-kungacha	8-10 kunda
Virus saqlovchi materialning turi	Burun shilliq pardasidan, ko'z, fekalii, qondan	Muzlatib, eritilgach kultural suyuqlik, BT
Virusni ajratish uchun model	-	SHB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) -20°C b) -70°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	BT, SHB, 1 yilda 1 marta 2-3 yilda buzoqlarda 1 marta	

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

Parrandalarning virusli respirator kasalliklari.

Bu guruhdagi kasalliklarga N'yukasl kasalligi (NK), parrandalarning gripp (PG), parrandalarning yuqumli laringotraxeit (YuLT), parrandalarning yuqumli bronxit (PyuB), parrandalarning chechak (PCh) kasalligi kiradi.

Mu'ruza kursi: epizootologiya, etiologiya, patogenez, kasallikning klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, parrandalarning virusli respirator kasalligiga qarshi kurash choralari.

Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotining mavzusi "Parrandalardagi virusli respirator kasalliklarining differensial diagnozi".

1 Laboratoriya amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi. (12 soat 3 hafta ichida, mashg'ulotlar oralig'idagi interval bir hafta).

1-MASHG'ULOT.

Parrandalarning virusli respirator kasalligida epizootologik, klinik va patologoanatomik ma'lumotlar. Laboratoriyada tekshirish uchun patologik material olish.

Virusoskopiya va biologik sinab ko'rish natijasida patologik materialda virusni ochirish.

1-soat: 1) parrandalarda keng tarqalgan virusli respirator kasalligining epizootologik, klinik va patologoanatomik belgilari, shu kasalliklarga diagnoz qo'yish usullarini talabalardan so'rash;

2) ushbu infeksiyalardan birining qo'zg'atuvchisi yuqtirilgan parrandani namoyish qilish.

2-soat: 1) Laboratoriyada tekshirish uchun (qon olish, yorib ko'rish, patologoanatomik o'zgarishlarni tahlil qilish, miya, toloq, o'pka, traxeya, tamoqning shilliq pardasi, vezikulyar suyuqliklardan) patmaterial olinadi; 2) transport vositasi orqali yuborish uchun material joylashtiriladi; 3)ilova xati tuziladi.

3-soat: 1) qondan zardobni ajratish; 2)virus saqlovchi suspenziyani tayyorlash; 3) Morozov usulida bo'yash uchun preparat tayyorlash; 4)Morozov usulida preparatni bo'yash; 5) preparatni mikroskopda ko'rish va chechak virusining elementar tanachalarini chizib olish.

4-soat: Biologik tajriba qo'yish - 1) jo'jalarda (YuLT virusini 45 kunlik jo'jalarning traxeyasini ichiga yuqtirish, PYUB - virusini 10-25 kunlik jo'jalar traxeyasining ichiga yuqtirish, PCh-virusini 2 oylik jo'jalarning pat follikulalariga yuqtirish);

2) Tovuq homilalarida (8-9 kunlik tovuq homilalarining xorionallantois bo'shlig'iga yuqtirish).

Eslatma: Guruhning navbatchi talabalari so'ngi kunlarda biologik tajribani nazorat qilib, natijalarini maxsus daftarga yozib boradi.

2-MASHG'ULOT

Virusni topish va identifikatsiyalash

1-soat: 1) Tovuq homilasini ochib ko'rish; 2)patologik o'zgarishlarni tahlil qilish, virus saqlovchi materialni allantois po'stloqdan, allantois suyuqligidan olish; 3)allantois suyuqligi va tovuq eritrotsitlaridan foydalanib tomchi usulida GAR qo'yib ko'rish.

2-4-soatlar: Ajratilgan virusni identifikatsiyalash. Gemagglyutinatsiyalovchi virusni ajratib olgan holda, n'yukasl va gripp kasalligi virusiga spetsifik zardoblar (diagnostik to'plamdagi zardobdan) bilan GATR qo'yib ko'riladi. Tovuq homilasida parrandalarning yuqumli bronxit kasalligiga xos (o'smasdan mumlanib qolish) belgilari kuzatilib o'lsa, u holda umumqo'llaniladigan usul bilan DPR qo'yiladi, (tovuq homilasiga virus yuqtirilib 48 soat o'tgach, antigen o'rmda - XAP suspenziyasi ishlatiladi, virusga spetsifik zardobni esa diagnostik to'plamdan olinadi);

Eslatma.Guruhdagi navbatchi talaba DPR natijalarini 24, 48, 72 soatdan so'ng hisobga olib boradi.

Agarda XAP-da nekroz o'choqlari topilsa u holda tayyorlash kerak:

a) tovuqlardagi chechak virusining virionlarini topish uchun zararlangan xorionallantois qobiqdan surtma-tamg'a tayyorlanib Morozov usuli bo'yicha bo'yaladi. Preparatlarni talabalar bo'yab, mikroskop ostida o'rganadi;

b) XAP suspenziyasida yuqumli laringotraxeit virusining antigenini topish uchun DPR qo'yiladi.

DPRni talabalar, kafedra xodimlari tomonidan tayyorlangan spetsifik zardobdan foydalangan holda qo'yadi.

3-MASHG'ULOT

Parrandalarning virusli rcspirator kasalliklarini retrospektiv serologik differensial diagnostikasi.

1-soat: Kasal bo'lib tuzalgan parrandalardan qon olish. Qondan zardobni ajratish.

2-3-soatlar: 1-3-mashg'ulotda kasal va kasallanib tuzalgan parrandalardan olingan juft zardoblardagi antiteloni topish.

Oldingi mashg'ulotlarda topib, indentifikatsiyalangan virusni turiga mos keladigan antigen va serologik reaksiya tanlanadi, ya'ni: a) tovuqlarning chechak kasalligida retrospektiv diagnostika o'tkazilmaydi; b) hamma qabul qilgan DPR usuli asosida, parrandalarning yuqumli laringotraxeit va parrandalarning yuqumli bronxit virusiga antitelo topiladi. Ushbu infeksiyalarga diagnos qo'yishda kasalliklarni 14-28-kunlari olingan juft zardoblar yaxshi natija beradi.

Shu bo'lim bo'yicha qisqa vaqt ichida mashg'ulotni o'tkazish uchun juft zardoblar o'rmda virus yuqtirilgan jo'jalaridan olingan zardob, parrandachilik fabrikasida kasallanib tuzalgan parrandalarning zardobi yoki giperimmun zardobdan foydalanadi.

Hulardan tashqari tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligiga serologik diagnoz qo'yish uchun diagnostik to'plamdagi spetsifik zardobdan ham foydalanilsa bo'ladi. c) N'yukasl kasalligi yoki parrandalarning gripp virusiga antitelo topilgach GATR da iftlanadi. Sinalayotgan zardoblarga oldindan is gazi bilan ishlov berilib spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan tozalanadi.

4-soat: 1) patologik materialda virusni topish va virusni indentifikatsiyalash hamda retrospektiv serologik diagnostika ma'lumotlariga asoslanib tekshirish natijalari kompleks tahlil qilinadi; 2)aniqlangan kasallikni profilaktika qilish, yo'qotish qadrlarini o'tkazish rejasi tuziladi; 3)o'tilgan mavzu yuzasidan talabalarning nazariy va laboratoriya tekshiruv natijalarini hisobga olgan holda sinov o'tkazilib daftarga yozib qo'yiladi .

Uslatma. Agar 3-mashg'ulotda shu mavzu bo'yicha DPR qo'yilgan bo'lsa, guruhlardan vakillar reaksiya natijalarini 48 soat o'tgach hisoblab boradi. 4-soatga ajratilgan mashg'ulot, kelasi mashg'ulotda o'tkazilishi kerak.

"Parrandalardagi virusli respirator kasalligining differensial diagnostikasi" mavzusi bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

1-mashg'ulot. A. Ushbu mashg'ulotni o'tkazish uchun biologik modellar zarur. a)PG, NK, YULT, TYUB, chechak viruslaridan biri yuqtirilgan eksperimental jo'ja; b)TYUB ga biologik sinab ko'rish uchun 20-25 kunlik, YULT va chechakga sinab ko'rish uchun 45-60 kunlik immunlanmagan sog'lom jo'jalar; c) 9-11 kunlik tovuq homilalari.

II. Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash uchun kerak: H shtammdagi n'yukasl kasalligining virusi;

Gripp virusining 3 yoki 6 serotiplari, parrandalarning yuqumli laringotraxeit virusini 24 A shtammi;

Tovuqlardagi yuqumli bronxit virusining AM shtammi;

Kabutarlardagi chechak virusining N'yu-Djersi shtammi;

Instrumentlardan steril (14 sm qaychi va ko'z qaychilari, skalpel, 14 sm xirurgik pinset, 14 sm anatomik pinset, 1 va 2 ml shprislar, 0,6x25 in'eksion ignalar, teshgichlar sterilizatorlar (guruh soniga qarab);

Asboblardan (-4°C va -10°C -25°C, muzlatgichlar, 37°C termostat sentrifuga avoskoplar); steril idishlar (antibiotiklar solinadigan rezina tiqimli flakonlar, rezina tiqimli bakterilogik probirkalar, forfor havoncha, 2 va 5 ml graduirlangan pipetkalar); mahit va eritmalar - oziq muhitlaridan (GPSH, GPA), natriy xlorning steril izotonik eritmasi, 2% yodning spirtidagi eritmasi; antibiotiklar (penitsillin, steptomitsin); muz solingan termos; paxta va steril paxtachalar (pergament qog'ozga o'ralgan paxtachalar dezinfeksiyalovchi eritma solingan idish, natriy gidroksidining 3% eritmasi (o'yuvchi natriy ishlatilgan probirkalar uchun); buyum oynalari; tovuq homilasi va probirkalar uchun shtativ; 24x36 emallangan kyuveta; 4 qavatli doka salfetka (tovuq homilasi bilan ishlaganda dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilib kyuvetaga qo'yiladi); parafin tayoqchalari; leykoplaster; grafit qalamlar; doka yuzyopqichlar; kesgich;

Morozov usulida bo'yash uchun reaktivlar to'plami; yoritgichli mikroskoplar; immersion moy; benzin va doka salfetka (mikroskopni linzasini tozalash uchun); Maydalangan shishaning sterilangan siniqlari.

2-Mashg'ulot. A. Tovuq homilalarini ochish, virus saqlovchi materialni olish va GAR qo'yish uchun kerak: 1-mashg'ulotda patmaterial yuqtirilgan tovuq homilasi, emallangan kyuvetalar; dezinfeksiyalovchi eritma shindirilgan doka salftokalar; probirka va tovuq homilasi uchun shtativlar; 2% li yodning spirtidagi eritmasi; steril instrumentlar (ko'z uchun ishlatiladigan qaychilar, pinsetlar, anatomik pinsetlar); steril bakteriologik probirkalar; spirtlampa; rezina nok; tovuq eritrotsitlarining 5% aralashmasi; GAR ni tomchi usulda qo'yish uchun oq keramik plastinkalar; 1, 2 va 3 ml steril pipetkalar; fiziologik eritma; 10x10 sm qora qog'oz; farfor havoncha; maydalangan shisha dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan.

B. GATR yordamida gripp va n'yukasl kasalligi viruslarini indentifikatsiyalash uchun kerak:

Parrandalardagi gripp virusini (1 va 6 serotiplari) va n'yukasl kasalligining viruslariga diagnostik to'plamdan olingan spetsifik zardoblar; 1-mashg'ulotda yuqtirilgan tovuq homilasining virus saqlovchi ekstraembrional suyuqligi; tovuq eritrotsitlarining 1%-li aralashmasi; fiziologik eritma; Takachi asbobi yoki 1 ml li pipetka va chuqurchasi bor pleksiglas moslama; dezinfeksiyalovchi suyuqlik quyilgan stakan; rezina nokcha.

C. DPR yordamida parrandalarni yuqumli larigotraxeit virusini va tovuqlarning yuqumli bronxit virusini indentifikatsiyalash uchun kerak: diagnostik to'plamdan TYUB kasalligining virusiga spetsifik zardob; TYUB kasalligining virusiga spetsifik antigen; 1-mashg'ulotda sinalayotgan antigen yuqtirilgan tovuq homilasining XAP'dan tayyorlangan suspenziyasi; YULT-virusiga spetsifik antigen-YULT virusi, VNIIBP yoki SNIIPP, klon NT vaksina shtammi yuqtirilgan tovuq homilasining XAP dan tayyorlangan suspenziya;

YuLT virusiga parrandachilik fabrikasida tovuqlarni aerosol vaksinatsiyalash yoki xo'rozlarni giperimmunlash yo'li bilan olingan spetsifik zardob (giperimmunlash uchun tovuq homilasining XAP-ga 1:10 nisbatda, YULT virusining VNIIBP yoki SNIIPP, NT-klon vaksina shtammlarining biridan tayyorlangan material venaga 1-2 ml hajmda yuboriladi)

Katta yoshdagi xo'rozlarning venasini ichiga 1-2 ml hajmdagi virus saqlovchi material yuborib giperimmunlash sxemasi:

a) bir kun oralig'ida 4 inyeksiya; b) 7 kun tanaffus; c) bir kun oralig'ida 1 inyeksiya; d) 6 kun tanaffus; e) sinash uchun qon olish. Xo'rozlar qonining zardobida antitelolarning titri past bo'lgan holda qo'shimcha; f) bir kun oralig'ida 3 inyeksiya; g) 6 kundan so'ng qonsizlantirish; flakonlarda veronal buferidagi 1,5% agar pH 7,2; suv hammomi flakondagi agarlar uchun; yog'sizlantirilgan buyum oynasi; filtrlangan qog'oz to'shalgan emallangan kyuvetalar (oynadagi agar uchun namli kameralari); kyuvetalarni germetik yopib taxlash uchun polietilen paketlar; 2-5 ml graduirlangan pipetkalar; paster pipetkalari; 0,5 sm diametrli metal naychalar, agar qatlamida chuqurchalar kesish uchun (mayda kalibrli miltiq patronini ishlatib ham bo' ladi). o'quv perosi (chuqurcha ichidagi agar tiqinlarini chiqarib olish uchun).

3-mashg'ulot. A. Jo'jalaridan qon olish va zardobni ajratish uchun in'ektсион ignalar kerak: Florinskiy probirkasi; shishada qotgan qonni ajratish uchun sim; paster pipetkalari; sentrifuga.

B. Juft zardoblardagi YULT va TYUB viruslariga antitelolarni va titrini DPR usuli aniqlash uchun kerak: parrandachilik fabrikasidan yoki eksperimental yo'l bilan virus yuqtirilgan kasal va kasal bo'lib tuzalgan tovuqlardan olingan (sinalayotgan) juft zardob; TYUB virusiga diagnostik to'plamdan olingan spetsifik zardob; YULT virusiga spetsifik antigen (YULT virusining SNIIPP yoki VNIIBP klon NT shtammini tovuq homilasini XAP yuqtirish natijasida olingan suspenziya) YULT virusiga spetsifik zardob (tayyorlash usuli 2-B mashg'ulotini idish va material bilan ta'minlash qismida ko'rsatilgan).

C. Tovuqlarning n'yukasl va gripp kasalligi viruslariga juft zardoblardagi antitelolarni GATR yordamida topish va titrini aniqlash uchun kerak:

Kasal va kasal bo'lib tuzalgan yoki tajriba yo'li bilan yuqtirib olingan yoki parrandachilik fabrikasidagi tovuqdan olingan (sinalayotgan) juft zardoblar; n'yukasl virusining diagnostik to'plamdan olingan spetsifik antigeni; gripp virusining 1 va 6 serotiplarini spetsifik antigeni; tovuq eritrotsitlarining 1% li aralashmasi; fiziologik suyuqlik.

Takuchi asbobi yoki 1 ml pipetka, chuqurchasi bor pleksiglas; rezina noklar.

III A. N'yukasl kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

N'yukasl kasalligini qaytadan tiklash uchun patogenligi past H vaksina shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan jo'jalar	TH	TH fibroblastlari
Yoshi	20 kunlik	9-11 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Muskul ichiga	Allantois bo'shligiga	-
Yuqtirilgan miqdori	-	10 ⁴ HO'M 50	-
Yashirin davr	3-4 kun	48-72 soat	24-60 soat
Kasallikning belgilari:			
klinik	Horg'inlik, burundan Suyuqlik oqishi, falajlik, shollik	-	-
patologoanatomik	Ovqat hazm qilish traktining shilliq pardalari kataral-gemorragik yallig'lanish. Bezli oshqozondan muskulli oshqozonga o'tish joyida qon quyilish.	O'lim, terining qizarishi oksipital gematomalar GAR-musbat	SPT (detrit, simplast), GADR
Kasallikning davom etish muddati	6 kungacha	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	15-30%	100%	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	O'lim arafasidagi holatda	48-72 soat	48 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Miya, o'pka, taloq	Tovuq homilasining allantois, amnion suyuqligi	Kultural suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) - 25°C	-	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta b) bir yilda 1 marta		

*Laboratoriya hayvonlari sezgir emas.

III B. Parrandalarda gripp kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Parrandalarda kasallikni tiklash uchun gripp virusining 6-jo'ja serotipi 315/70 tashlab chiqarish epizootik shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada tovuq homilasida o'stirish
Sezgir ob'ekt	Jo'jalar	TH
Yoshi	20 kunlik	9-10 kunlik
Yuqtirish usuli	Burun va traxeya ichiga. Parrandani 1-2 soatdan so'ng 8-10 marta sovutish.	Allantois yoki amnion bo'shlig'iga
Yuqtirilgan miqdori	2×10^6 HIM 50/ml	-
Yashirin davr	48-72 c	48-60 c
Kasallikning belgilari:		
klinik	Ko'pincha simptomsiz, burundan suyuqlik oqishi, falajlik, shollik.	O'lim
patologoanatomik	Ovqat hazm qilish traktining shilliq pardalarini kataral gemorragik yallig'lanishi	GARmusbat
Kasallikning davom etish muddati	10 kungacha	48-60 c
Oqibati o'lim bilan tugaydi	0,2-100%	100%
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan so'ng 2-3 sutkada	72 c
Virus saqlovchi materialning turi	Taloq, bosh miya	Allantois suyuqligi
Virusni ajratish uchun model		TH
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) - 20°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta (nativ) b) bir yilda bir marta (nativ)*	2 yilda bir marta liofil quritish

*Laboratoriya hayvonlari va o'stirilgan hujayralar sezgir emas.

III. C Tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligini tajribada qaytadan tiklash Virusni ajratish va saqlash.

Tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligini qaytadan tiklash uchun Massachusetts virusining MVA-6 shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	jo'jalar	TH	THB o'stirilgan hujayra, TH fibroblastlari
Yoshi	1 oylik	8-10 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Traxeyaning ichiga	Allantois bo'shlig'iga	-
Yuqtirilgan miqdori	10^3 IM 50	10^4 - 10^2 HIM ₅₀	-
Yashirin davr	1-3 kun	24-72 soat	24-72 soat
Kasallikning belgilari:			
klinik	Xirillash, aksa urish	-	-
pataloanatomik	Rinit, traxeit, bronxit, pnevmoniya	Homilaning o'smasdan 7-8 kunlari mumlanib qolishi	SPT sensitivity
Kasallikning davom etish muddati	5-10 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	10% gacha	3-5-kunlar o'lim 50% gacha yetadi	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Klinik belgilari ravshan bo'lganda	72 soat	72 soat
Virus saqlovchi materialning turi	o'pka, traxeya	allantois suyuqligi	-
Virusni ajratish uchun model		TH da 3 marta passaj	-
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) -25°C	-	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta (nativ) b) 1 yilda 1 marta (nativ) Tovuq homilasida 10 marta passaj qilingandan so'ng jo'jalarda yangilab olish	2 yilda 1 marta (lifofil quritish)	

*Laboratoriya hayvonlari sezgir emas.

III D. Parrandalarning yuqumli laringotraxeit kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Parrandalarning yuqumli laringotraxeit kasalligini tiklash uchun virusning 24A patogen shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	jo'jalar	TH	O'stirilgan hujayra, TH buyrak va fibroblastlari
Yoshi	20 kunlik va undan katta	9-12 kunlik	-
Yuqtirish usuli	traxeyaning ichiga	XAP, Allantois bo'shlig'iga	
Yuqtirilgan miqdori	-	-	-
Yashirin davr	6-12 kun	4-5 kun	12-24 soat
Kasallikning belgilari:			
klinik	Mayuslik, yo'tal, xryllash, bo'g'ilish	-	SPT-
patologoanatomik	Fibrinozli-gemorragik laringotraxeit	XAP da tugunchalar	Gigant hujayralar, detrit
Kasallikning davom etish muddati	10-15 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	25-50%	-	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	1-7 kunlar	5-kun	12-24 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Traxeyadan qirib olish	XAP	O'stiruvchi suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	- 20°C	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	yiliga 1 marta		

*Laboratoriya hayvonlarida virus o'stirilmaydi.

III E. Tovuqlarning chechak kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Kasallikni paydo qilish uchun kabutarlar chechak virusining N'yu-Djersi vaksina shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	tovuqlar	TH	TH ning hujayralari
Yoshi	2-4 oylik	10-12 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Panting follikulalariga	XAP	-
Yuqtirilgan miqdori	-	-	-
Yashirin davr	4-5 kun	3-4 kun	2-3 kun
Kasallikning belgilari:			
klinik	follikulit	XAP da oq rangli nekrozga uchragan spetsifik o'choqlar	SPT yumoloqlashish, vakuolizatsiya, gigant hujayralar
patologoanatomik	-	-	-
Kasallikning davom etish muddati	10-12 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	Yo'q	Bo'lishi mumkin	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	5-6-kun	5-kun	3-kun
Virus saqlovchi materialning turi	Vezikulyar suyuqlik	XAP	O'stiruvchi suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	minus 25°C	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	yiliga 1 marta (nativ)	4-5 yilda 1 marta (liofilizatsiyalan-gan)	

*Laboratoriya hayvonlari: ajratish uchun model immunlanmagan 3-4 oylik jo'jalar.

AUESKI KASALLIGI

Ma'ruza kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, patogenez, har-xil turdagi qishloq xo'jalik hayvonlarida kasallikni klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

"Aueski kasalligiga diagnoz qo'yish" mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

I. Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi (2soat) 1-soat: 1) mashg'ulotning mavzusi bo'yicha so'rash: har xil turdagi hayvonlarda Aueski kasalligining epizootologik, klinik va patologoanatomik belgilari; 2) o'qituvchining tashlantiirishi yosh cho'chqalarda Aueski kasalligining xususiyati, olgan qo'zichoqdan material olish, Aueski kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yish bosqichlari.

2-soat: 1) tajriba uchun virus yuqtirilgan qo' zichoqni namoyish qilish; 2) kasal quyanni namoyish qilish (bioproba); 3) Aueski kasalligini yo'qotish va profilaktika qilish uchun tadbir rejasini tuzish.

II. "Aueski kasalligiga diagnoz qo'yish" mavzusidagi mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

Tajriba uchun Aueski kasalligining "ARSKIY" shtammi yuqtirilgan 6 oylik qo'zichoq yoki immunlanmagan har qanday yoshdagi qo'y (vivariy sharoitida);

Tajriba uchun Aueski kasalligining "Arskiy" shtammi yuqtirilgan (og'irligi 2 kg) quyon.

III. Aueski kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Aueski kasalligini qaytadan tiklash uchun virulent "Arskiy" shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish		
		Laboratoriya hayvonlari	Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan qo'y	quyon	Tovuq homilalari	Tovuq homilasining buyragi va qalqon-simon bezidan tayyorlangan birlamchi fibroblastlar
Yoshi	6 oylikgacha	2 kg	9 kunlik 4-5 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Teri ostiga, muskul ichiga	Teri ostiga, muskul ichiga	XAP, allantois bo'shlig'iga	BT, SHB
Yuqtirilgan miqdori	10^2-10^3 O'M 50	1 ml 10% eritrotsitlar suspenziyasi	-	-
Yashirin davr	1-3 kun	3-7 kun	3-4 kun	48-72 soat
Kasallikning belgilari:	-	-	-	-
Klinik	Qichish, timash, qiynalib o'midan turadi	Bezovtalik, qichish, timash	-	-
Patalogoanatomik	-	-	XAP nekrozli o'choqlar, terisi va bosh qismida qon quyilish, XAP tomirlari qonga to'lgan	Simplastlarga - SPT, tovuq fibroblastlari yumoloqlashgan sitoplazmasi donador
Kasallikning davom etish muddati	2-4 kun	2-24 soat	5 kun	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	100%	100%	50% gacha	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Agonal davrda	O'lgach	5 kun	48 soat

Virus saqlovchi materialning turi	miyacha, o'pka, uzunchoq miya	O'pka, jigar, bosh miya	XAP, allantois suyuqligi	
Virusni ajratish uchun model	-	quyon	-	Birinchi passajdagi subkultura
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) minus 10°C	-	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 6 oyda 1 marta b) 1-2 yilda 1 marta			

Qo'ylarning chechak kasalligi

Leksiya kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, patogenez, klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

"Qo'ylarning chechak kasalligiga diagnoz qo'yish" mavzusi bo'yicha-amaliy mashg'ulot.

I.Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi (4 soat)

1-soat: 1)Mavzu bo'yicha talabalardan so'rash-qo'ylarda chechak kasalligining epizootologiyasi, klinik belgilari, laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun kasal qo'ydan patologik material olish texnikasi, qo'ylarning chechak kasalligida laboratoriya diagnostik bosqichlari.

2-soat: 1) chechak virusining "Qozoqiston" shtammi yuqtirilgan tajribadagi kasal qo'yni ko'rsatish; 2)laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun (vezikulyar suyuqlikdan) patologik material olish; 3) chechak virusining virionini ko'rish uchun vezikulyar suyuqlikdan surtma tayyorlash; 4) materialni transportda yuborish uchun tayyorlash; 5)sog'lom qo'yga virusni yuqtirish usulini ko'rsatish.

3-soat: 1) yo'llanma xatni tuzish; 2) kasal qo'ydan olingan vezikulyar suyuqlikdan tayyorlangan surtmani Morozov usulida bo'yash; 3) virusoskopiya, elementar tanachalarni chizish.

4-soat: chechak kasalligini yo'qotish va profilaktika qilish uchun tadbirli reja tuzish.

II. “Qo’ylarning chechak kasalligiga diagnoz qo’yish” mavzusidagi mashg’ulotni material bilan ta’minlash.

Chechak virusining “Qozoqiston” shtammi yuqtirilgan qo’y; Virus yuqtirilmagan qo’y; muz solingan termos; steril flakonlar (antibiotiklardan bo’ shagan); steril instrumentlar solingan sterilizator (anatomik pinset, ko’z pinseti, 1 ml shpris inyeksiya uchun ignalar,keskich); spirt; paxta; steril fiziologik eritma; steril paxtachalar; Preparatlarni Morozov usuli bo’yicha bo’yash uchun: yog’ sizlantirilgan buyumi oynalar; spirtovka; emallangan kyuveta (buyum oynalarni tutub turish uchun shisha tayoqchadan ko’prik); yoritgichli mikroskoplar; distillangan suv; reaktivlar to’plami (Ruge suyuqligi, tannin eritmasi, ammiakli kumush eritmasi, immersion moy, benzin); har bir reaktiv uchun alohida ko’z pipetkasi; filtrlovchi qog’oz.

III.Qo’ylarda chechak kasalligini qaytadan tiklash.

Virusi ajratish va saqlash.

Kasallikni tiklash uchun chechak virusining “Qozog’iston” ishlab chiqarish shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriya hayvonlarida o’stirish
Sezgir ob’ekt	Immunlanmagan qo’ylar	Qo’ylar
Yoshi	Har qanday	-
Yuqtirish usuli	Lab terisining ichiga,dum osti qatlamiga	Borrel usuli bo’yicha
Yuqtirilgan miqdori	0,1-0,15 ml dan bir necha nuqtaga	-
Yashirin davr	2-3 kun	2-3 kun
Kasallikning belgilari:	-	-
klinik	Haroratning ko’tarilishi, mahalliy chechak jarayoni, shish	-
patologoanatomik	-	-
Kasallikning davom etish muddati	14-20 kun	-
Oqibati o’lim bilan tugaydi	Yo’q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Vezikula bosqichida	-
Virus saqlovchi materialning turi	Vezikulyar suyuqlik	-
Virusni ajratish uchun model	-	-
Virusni saqlash uchun sharoit	minus 20°C (liofilizatsiyalangan virus)	-
Tutib turuvchi passajlar soni	2 yilda 1 marta	-

*Tovuq homilalari va o’stirilgan hujayra sezgir emas.

Marek kasalligi

Ma'ruza kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, kasallikni klinik belgisi, patologoanatomik o'zgarishlari, spetsifik profilaktika, kurash choralari.

"Marek kasalligiga diagnoz qo'yish" mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

I. Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejası (4 soat)

1-soat: 1) mashg'ulotning mavzusi bo'yicha so'rash; 2) Marek kasalligining o'ziga xos patologoanatomik xususiyatini namoyish qilish (parrandachilik fabrikasidan oldindan olib kelinib past haroratda saqlanayotgan murdani yorish); 3) DPR-yordamida Marek kasalligi virusining antigenini topish uchun qanotidan, dumidan patni yulish paytida follikulalardagi to'qimani buzmagani holda laboratoriya tekshiruvlari uchun material olinadi.

Serologik tekshirish uchun kasal parrandadan (parrandachilik fabrikasida) kamida 1-1,5ml qon zardobi olinadi; zardoblar steril probirkalarga olingach konservatsiyalanadi (1ml zardobga 100 birlikda streptomitsin va penitsillin yoki 0,01% mertiolat qo' shiladi), shishli jarohatlangan organlardan (jigar, buyrak, bezli oshqozon, tuxumdon, yurak, o'pka va plevsus brachialis, Truncus ishiadicus nervlaridan gistologik tekshirish uchun namunalar olinadi.

Kattaligi 1x2x2sm namunalar 10% formaldegid eritmasida fiksatsiyalanadi;

4) materialni transportda laboratoriyaga yuborish uchun joylash;

5) ilova xatini tuzish.

2-soat: 1) pat follikulalari ekstraktida Marek kasalligi virusining antigenini topish uchun patning uchidan tayyorlangan suspenziyadan DPR qo'yish uchun antigen tayyorlash, DPR buyum oynasida yoki Petri kosachasida qo'yish markazdagi chuqurchaga spetsifik, atrofidagilarga tekshirilayotgan ekstrakt quyiladi; 2) tekshirilayotgan zardoblarda Marek kasalligi virusiga qarshi antiteloni topish. Markazdagi chuqurchaga spetsifik antigen, atrofidagilarga esa tekshirilayotgan zardob quyilib DPR qo'yiladi.

Petri kosachasi yoki oyna 37° C nam kamerada 24 soat qoldirilib so'ngra xona haroratidagi sharoitga o'tkaziladi.

3) Parrandalarning Marek va leykoz kasalliklariga differensial diagnoz qo'yish uchun sinalayotgan zardoblar spetsifik leykoz-sarkoma guruhi viruslarining antigeni mavjudligiga, parrandalarning leykoz kasalligiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan preparatdan foydalanib buyum oynasida bilvosita gemagglutinatsiya reaksiyasi qo'yib tekshiriladi.

Zardoblarni sinashda 5-oylik va undan katta yoshdagi tovuqlardan foydalaniladi. (Parrandalarni leykoz kasalligiga diagnoz qo'yish yo'l-yo'riqlariga qaralsin).

3-soat: Marek kasalligini profilaktika qilish va yo'qotish tadbirlari uchun reja tuziladi.

4-soat: Oldingi mashg'ulotda o'tkazilgan tekshiruv natijalari hisob-kitob qilinadi.

"Marek kasalligiga diagnoz qo'yish" mavzusi bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: Marek kasalligiga xos patologoanatomik o'zgarishlari bor tovuq murdasi, DPR uchun spetsifik zardob. Zardob xo'rozlarni 12-

15 oylik yoshida maxsus sxema bo'yicha giperimmunlash yo'li bilan olinadi: 1-kun 0,5 ml hajmda virus (virus yoki kasal parrandaning parenximatoz organlari, qoni) bargaklarga yuboriladi; 7-kun - 0,5 ml son qismining terisini ostiga yuboriladi; 14-kun - 1ml muskul ichiga yuboriladi. 45-kun - xo'rozlar qonsizlantiriladi.

Marek kasalligi virusining spetsifik antigeni (DPR uchun) quyidagi usulda olinadi:

Marek kasalligining ZK shtammi yuqtirilgan (yaxshisi 90 kunlik) kasal parrandaning qon va parenximatoz organlaridan suspenziya tayyorlanadi, suspenziya paxta-doka filtr orqali filtrlanadi, suspenziyaning hajmiga qarab 0,2% kristall holdagi fenol qo'shish tufayli virusni aktivligi yo'qoladi va 4°C 16-17 soat davomida ekstraksiyalanadi. Olingan antigen yuqumli emas (A.B.Kononenko, 1987). Yaroqlilik muddati 1 oydan ortiq; Marek kasalligining belgilari bor tovuqning sinalayotgan qon zardobi; kasal tovuq patining uchidan tayyorlangan antigen, DPR ni qo'yish uchun quyidagi usulda olinadi: patning uch qismi uch marta muzlatilib eritiladi, qirqib havonchada maydalangan patga (3-4 patning uchiga 1 ml) fiziologik eritma qo'shiladi, gomogenlangan pat uchlari Florinskiy probirkasiga o'tkazilib 4°C 17 soat davomida ekstraksiyalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik DPR uchun antigen sifatida ishlatiladi. O'quv vaqtini qisqartirish maqsadida antigen tayyorlashdagi muzlatish-eritish jarayonlarini mashg'ulot boshlanguncha bajariladi, natijada ekstraksiyalash vaqti ham qisqaradi.

Agar gel-tozalangan agar aralashmasi 10 g, yaxshisi Difko agari, 910 ml suvda 80 g natriy xlorid qo'shib suv hammomida tayyorlanadi, ikki qavatli dokadan o'tkazilib filtrlanadi va 1 M natriy gidrooksi yordamida pH 7,2-7,4 gacha yetkaziladi; murdaning organlaridan olingan namuna uchun idishlar (flakonlar, Petri kosachalari, Paster pipetkalari, 2 va 50 ml graduirlangan pipetkalar, bakteriologik probirkalar);

Instrumentlari bor sterilizator (14 sm 2 dona qaychi, ko'z qaychisi 2 dona, anatomik pinset); kasal tovuqning patini to'plash uchun polietilen xalta; natriy xlorning (steril) izotonik eritmasi; ustida agar qatlami bor buyum oynasi, nam kamera.

III. Marek kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Marek kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning epizootik ZK shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan tovuq(go'sht zotlisi)	TH	TH buyrak, jo'ja fibroblastlari
Yoshi	1 kun	a)4 kunlik b)10-12 kunlik	24 soatlik o'stirilgan hujayra kulturasi
Yuqtirish uchun material	Qon, organlardan suspenziya	a) organlar suspenziyasi + qon	pat uchidan olingan

		b) pat uchidan olingan ekstrakt	ekstrakt
Yuqtirish usuli	Qorin pardasining ichiga, teri ostiga, muskul ichiga	a) sariq xaltaga b) XAP ga	-
Yuqtirilgan miqdori	10^3 BHB / jo'ja	-	
Yashirin davr	120-150 kun	-	48-96 soat
Kasallikning belgilari:		-	
Klinik	Falajlik, shollik, kulrangko'z (chag'irko'z)	-	-
patologoanatomik	Ichki organlarda o'smalar, periferiyadagi nervlar shishgan	XAP blyashkalar, spleno megaliya, jigarni jarohatlanishi	SPT blyashkalar, sinsitiy
Kasallikning davom etish muddati	30-90 kunlar	a)13-14 kunlar b)7-8 kunlar	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	0,2-80%	-	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Virusni ajratish uchun 2- hafta, antigeni topish uchun 3-8-haftalar	a) sariq xaltaga yuqtirilganda 4-5-kun b) XAP yuqtirilganda 72 soat	-
Virus saqlovchi materialning turi	O'sma, qon, pat	Jigar, buyraklarda XAP da o'choqlar	
Virusni ajratish uchun model	-	Virus passaj qilingandan jo'jalar uchun patogenligini yo'qotadi	O'stirilgan hujayra
Virusni saqlash uchun sharoit	a) qon, organlar 170° - 196°C suyuq azot solingan idishlarda. b) teri va pat follikulalari- ning epiteliysi minus -20°C da c) liofilizatsiyalangan virus minus 20°C da	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yiliga 2 marta b) oyiga 1 marta c) yiliga 1 marta	-	-

**Hayvonlarning virus kasalliklarini o'rganish uchun zarur
diagnostikumlar ro'yxati:**

1. Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
2. Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus infeksiyasi diagnostikumlarining quritilgan to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
3. Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
4. Yirik shoxli hayvonlarning virusli diareya diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
5. Yirik shoxli hayvonlarning respirator-sinsitial infeksiya diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
6. Parrandalarning N'yukasl va gripp kasalligi viruslarini identifikatsiyalash uchun to'plam (Pokrov biozavodi ishlab chiqaradi).
7. Tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligiga diagnoz qo'yish uchun antigen va zardoblar to'plami (Vitebsk biofabrikasi ishlab chiqaradi).
8. Parrandalarning leykoz kasalligiga diagnoz qo'yish uchun preparat (Vitebsk biofabrikasi ishlab chiqaradi).

IZOHLI LUG'AT

Abortiv	- (lot.abortivus-kasallikka xos belgilarisiz)- kasallikning qisqa davom etib, yengil shaklda kechishi. Masalan, kasallikning klinik begilari aniq yuzaga chiqmasdan o'tsa (antibiotiklar, bakteriofaglar, vaksinalar yoki immun zardoblar ta'sirida), bunga kasallik abortiv o'tdi, deyiladi.
Absorbentlar	- (lot. absorbentia-yutuvchi) - absorbsiyalovchi, yutuvchi, so'rib oluvchi, shimuvchi moddalar. Masalan, aktivlangan ko'mir, eritrotsitlar.
Absorbsiya	- (lot. absorbere- shimib olish) - fizikaviy jarayon bo'lib gaz, nur yoki suyuq muhitdagi biror moddaning yutuvchi jism (absorbent)ning butun hajmiga yutilishi.
Adaptatsiya	- evolyutsion takomillashtirish davrida tirik organizmning tashqi muhitning doimo o'zgarib turadigan sharoitlariga moslashishi.
Aftalar	- (yarachalar) shilliq pardalar epiteliyning o'lgan (nekrozga ushragan) kichikroq joylari. Asosan og'iz bo'shlig'ining shilliq pardalarida paydo bo'ladi.
Agar	- dengiz suv o'tlaridan olinadigan mahsulot, suvdagi eritmasi ilvira hosil qiladi. Mikrobiologiyada mikroorganizmlarning yashashi va ko'payishi uchun qattiq, yarim suyuq ozuqa muhitlari tayyorlashda va emlash vositalari (vaksinalar) samaradorligini oshiruvchi modda sifatida ishlatiladi.
Agglyutinatsiya	- (lot. agglutinatio - yopishmoq) - korpuskulyar zarrachalar-viruslar, bakteriyalar, eritrotsitlar, leykotsitlar, trombositlar, to'qima hujayralari, korpuskulyar kimyoviy faol zarrachalarning ularga qarshi hosil bo'lgan antitelolar - agglyutininlar ta'sirida bir-biriga yopishib qolib, cho'kmaga tushishi.
Agglyutinatsiya (bevosita)	- bevosita yopishish, qon zardobidagi immun tanachalarning mikroblar bilan o'zaro birikish jarayoni
Agglyutinatsiya (bilvosita)	- bilvosita yopishish.Immun tanachlar qizil qon tanachalari vositasida antigenlar bilan yopishadi. Bunda immun tanachalariga (eritrotsitlarga) birikadi, so'ngra antigenlar bilan yopishadi.
Agressivlik	- tajovuzkorlik, masalan psixopatik holatlarda yuz beradi.
Allantois	- embrion qovug'i (siydik pufagi)
Amnion	- qog'onoqni o'rab turadigan ichki parda.
Anaeroblar	- kislorodsiz muhitdagina yashaydigan mikroorganizmlar (bakteriyalar).

Anafilaksiya	- organizmga parenteral yo'l bilan allergen yuborilgan zahoti kelib chiqadigan allergik reaksiyaning turi.
Anatoksinlar	- maxsus ishlov berilgandan so'ng o'z zaharli xususiyatlarini yo'qotib, antigen va immunogen xossalarni saqlab qolgan bakterial toksinlar.
Antibiotiklar	- mikroblar, hayvonlar va o'simliklar chiqaradigan moddalar; ayrim bakteriyalarning rivojlanishiga yo'l qo'ymaydi yoki ularni qirib yuboradi.
Antigenlar	- organizmga tushib, immunologik javob reaksiyasi paydo qiladigan har qanday moddalar o'ziga xos maxsus antitelolar hosil qilish bilan ifodalanadi.
Antikoagulyantlar	- qonning ivish sistemasi aktivligini susaytiradigan moddalar.
Antitelolar	- organizmda antigenlar tushganda qon va to'qimalarda paydo bo'ladigan oqsil immun moddalar.
Aseptika	- xirurgik operatsiyalar, yaralarni bog'lash, endoskopiya va davolash hamda diagnostika maqsadlarida qilinadigan boshqa ishlarda bemorning (yaradoming) yarasi, to'qimasi, organlari, bo'shliqlariga mikro organizmlar tushurmaslikka qaratilgan tadbirlar sistemasi.
Auto..., Avto	- ma'nosiga ko'ra "o'ziniki", "asli" so'zlariga yoki "o'z-o'zidan" negizga mos keladigan murakkab so'zlarning tarkibiy qismi.
Autogemoterapiya	- hayvonni o'z qoni bilan davolash.
Autointoksikatsiya	- normal hayot faoliyatida, shuningdek turli kasalliklarda organizmda ishlanib chiqadigan zaharli moddalardan zaharlanish.
Autoreproduksiya	- organizm yoki bo'laklarining takror ishlab chiqarish qobiliyatiga egaligi, shuningdek viruslarning ma'lum muhitda dastlabkiga o'xshash tuzilmalar sintez qila olishi.
Avtoklav	- bosim ostida to'yingan suv bug'i bilan sterilizatsiya qilish uchun apparat.
Bakteriofag	- bakterial hujayraga o'tib yashab, talay nasl qiladigan va shu jarayonni eritib yuborib, bakteriyalar yashaydigan muhitga fag zarralar chiqarish qobiliyatiga ega bo'lgan virus.
Bunya viruslar	- bunyaviridae - oilasiga mansub 200 dan ortiq viruslarni birlashtiruvchi qon so'ruvchi hasharotlar orqali hayvon va odamlarga o'tadigan kasalliklarni qo'zgatadi. Masalan, Rift istimasi, Nayrobi kasalligi va boshqalar.
Buyum shishasi	- qalinligi 2-3 mm, eni 2,5 sm va bo'yi 5 sm bo'lgan shisha bo'lib, mikroskopik tekshirishlar o'tkazishda,

	virusologik, bakteriologik, gemotologik, gelmintologik va gistologik preparatlarni tayyorlashda ishlatiladi.
Detrit	- 1) yemirilib ketgan to'qimalarning qoldig'i; - 2) chinchchak vaktsinasi (chinchchak detriti).
Dezinseksiya	- bo'g'im oyoqlilarga qarshi kurash chora- tadbirlari.
Dezinfeksiya	- (yuqumsizlantirish) - yuqumli kasalliklarni qo'zgatuvchi viruslarni fizikaviy va kimyoviy ta'sir etish yo'li bilan yo'qotish.
Dezoksiribonuklein kislotalari (DNK)	- dezoksiriboz turidagi nuklein kislotalari, har bir hujayrada, DNK saqovchi viruslarda, mikro-organizmlarda bo'ladi.
Ekologiya	- biologiyaning organizmlarning tashqi muhit bilan o'zaro munosabatlarini organadigan bo'limi.
Epikriz	- kasallanish tugagandan so'ng kasallik hodisasini muhokama qilish; shu kasallik hodisasining sabablari, uni davolash va hima bilan tugaganligini tushuntiradigan oxirgi xulosa.
Epizootiya	- birorta infeksiyon kasallikning anchagina tarqalishi.
Epizootologiya	- epizootiyaning paydo bo'lish va rivojlanish qonunlarini, ularni o'ldini olishni va kurashish bo'yicha tadbirlarni o'rganadigan fan.
Eritrotsitlar	- qizil qon tanachalari.
Etiologiya	- kasalliklarning sabablari va kelib chiqish sharoitlari to'g'risidagi ta'limot.
Fenotip	- organizmning individual rivojlanish davrida shakllangan hamma sifatari va belgilari yig'indisi.
Filtrat	- filtdan o'tgan suyuqlik.
Gastroenterit	- me'da va ingichka ichakning yallig'lanish kasalligi.
Gemagglutinatsiya	- qizil qon tanachalarining yopishish va so'ng cho'kmaga cho'kish jara'oni, buni gemagglutyuti-ninlar (eritrotsitlarni yopishishga olib keluvchi antitelolar) bakteriya va viruslar, eritrotsitlar yuzasiga so'rilib qolish xususiyatiga ega bo'lgan moddalar keltirib chiqaradi. Gemagglutinatsiya reaksiyasi qon quyish va qon guruhini aniqlash qonuniyatlariga asoslangan.
Gematogen	- (lot. haematogenesis - qon orqali) - kasallik qo'zgatuvchisining qon orqali tarqalishi.
Gemoliz	- (gr. haima-qon, lysis-erish) - qondagi eritrotsit-larning parchalanib, ichidagi gemoglobinning tashqi muhitga chiqishi. Masalan, leptospiroz kasalligida uchraydi.
Gemolizirlar	- (gr. haemolysis - qizil qon tanachalaridan (eritrotsitlardan) gemoglobinning ozod bo'lishi-ga olib keladigan, ya'ni genoliz keltirib chiqaradigan moddalar (antitela).

Gemorragik diatez	- zaharlanish natijasida to'qimalarda ko'plab qon quyilishlar sodir bo'lishi. Bu holat ko'pincha virusemiya va bakteriemiya bilan kechadigan infeksiyon kasalliklarda (cho'chqalar o'lati, otlarning YUAN kasalligi va h.k.) uchraydi.
Gen	- (gr. genos- avlod, kelib chiqish)- ajdodlarning irsiy axboroti mujassamlashgan DNK yoki RNK molekularining bir bo'lagi, irsiyatning eng oddiy birligi. Gen xromosomalarning uzunligi bo'yicha farq qiladigan maxsus qismlar (lokuslari)dan iborat bo'ladi. Hujayralar va umuman organizmning rivojlanishidagi har qanday belgining yuzaga chiqishi ana shu genlarga bog'liq.
Generalizatsiya	- kasallik jarayonining dastlab chegaralangan o'choq'idan butun organizm yoki a'zolariga tarqalishi.
Genetika	- irsiyat va organizm o'zgaruvchanligi haqidagi fan
Genotip	- (gr. genis-obraz, tip)- organizmning hamma irsiy omillari, ya'ni genlarning majmuasi- avloddan-avlodga beriladigan irsiy axborot, organizmning irsiy asosi.
Gen injeneriyasi	- DNKning rekombinant molekularini yaratish qonuniyatlarini va uning hujayraga ta'sirini o'rganadigan fan. Gen injeneriyasining maqsadi yangi rekombinant molekulari irsiy ajdodni yaratish, ya'ni hujayra irsiy molekulasi virus DNKsining zarur irsiy qismini ulab, hujayrani tegishli moddani ishlab chiqarishga majbur qilish.
Gerpes	- virusli teri kasalliklari; morfologik jihatdan terida to'da-to'da pufakchalar toshishi bilan ta'riflanadi.
Gerpes viruslar	- (herpes virus)- ko'pchiligi yashirin kasallikka sabab bo'ladigan DNKli, hujayra yadrosida ko'payadigan viruslar oilasi.
Gidrofobiya	- (gr. hydor-suv, phobos-qo'rqish, suvdan qo'rqish)- suvdan qo'rqish, odam va hayvonlarda uchraydigan quturish kasalligida shunday belgi kuzatiladi.
Giperimmunizatsiya	- bakteriyalarga yoki toksinlarga qarshi maxsus zardob olish maqsadida hayvonlarni vaksinalar, toksinlar yoki tirik mikroblar bilan ma'lum tizim bo'yicha bir necha bor emlash.
Hujayra	- ikki asosiy qism – sitoplazma va yadro (mag'iz)dan tashkil topgan va barcha hayvon va osimlik organizmining tuzilishi, taraqqiyoti va faoliyatining asosi bo'lgan eng oddiy jonli sistema.
Immunitet	- organizmning infeksiyani yoki biror bir infeksiyon moddani o'ziga yuqtirmasligi

Immunizatsiya	- odam va hayvonlar orasida yuqumli kasalliklarning oldini olish choralari sifatida ularda immunitet hosil qilish usuli.
Immun zardoblar	- virus va virussiz antigen bilan immunlangan hayvonlar qonidan olinadigan va ichida tegishli spetsifik antitelolari bo'lgan zardoblar.
Immunologiya	- immunitet haqidagi ta'limot.
Immunoterapiya	- yuqumli kasalliklarni biologik preparatlar (vaksinalar, immun zardoblar yoki gamma globulinlar) bilan davolash usuli
Inyeksiya	- davolash yoki kasalni aniqlash maqsadida eritmalarni organizmga yuborish (teri ichiga, teri ostiga, mushaklar ichiga, qon tomiriga, bo'shliqlarga yoki chiqarish yo'llariga).
Ingredient	- biror murakkab birikma yoki qorishmaning tarkibiy qismi, komponent.
Infeksiya	- (infectio - yuqish, yuqtirish)- kasallik qo'zg'atuvchi virus va mikroblarning organizmga kirishi. Bu hol ma'lum klinik belgilari bilan o'tadigan yuqumli kasallikni keltirib chiqaradi. Belgisiz infeksiyalar ham mavjud. Kasallik qo'zg'atadigan virus va mikroblarning o'zi ham ba'zan infeksiya deyiladi.
Infeksion kasallik	- hayvon organizmida parazitlik qilishga evolutsion moslashgan virus va mikroorganizmlar qo'zg'atuvchi yuqumli kasallik. Odatda, bu kasallik bir hayvondan boshqasiga o'tishi, bosqichli rivojlanishi, makroorganizmning virus va mikroblarga qarshi maxsus reaksiyalari (allergiya va antitelalar) va kasallikdan tuzalgandan so'ng immunitet hosil qilishi bilan xarakterlanadi.
Infeksiya (alimentar infeksiya)	- (lot. alimentarius - oziq-ovqat)- kasallik qo'zg'atuvchisining og'iz orqali organizmga kirishi.
Infeksiya (aralash infeksiya)	- organizmga ikki va undan ortiq kasallik qo'zg'atuvchilari tushgan paytda yuzaga keladigan kasallik (har xil virus va bakteriyalar).
Infeksiya (assosialangan infeksiya)	- (associatio - birlashgan)- hayvon organizmiga kirgan har xil virus va mikroorganizmlarning birgalashib qo'zg'atadigan infeksiyasi. Bu holda sinergizm, ya'ni bir turdagi mikroblar kasallik qo'zg'atish xususiyatining ikkinchi turdagi mikroblar evaziga kuchayishi kuzatilishi mumkin. Masalan, qotma kasali mikrobin kasallik qo'zg'atish qobiliyatini stafilakokklar oshirib yuboradi. Ammo ayrim hollarda bu hodisaga qarama-qarshi hodisa mikroblar antagonizmi ham kuzatilishi mumkin. interkurent

	kasalligiga qarang.
Infeksiya (aerogen infeksiya)	- (gr. aer - havo, genes - hosil bo'lish)- kasallik qo'zg'atuvchilarining havo orqali organizmiga tushishi evaziga hosil bo'lgan infeksiya.
Infeksiya (bakterial infeksiya)	- bakteriyalar qo'zg'atadigan infeksiya.
Infeksiya (belgisiz infeksiya)	- ko'rinmaydigan, yashirin, klinik belgilar namoyon qilmaydigan yuqumli kasallik. Uni immunobiologik reaksiyalar, mikrobiologik, virusologik usullar yordamida aniqlanadi.
Infeksiya (ekzogen infeksiya)	- (lot. exo - tashqari, genes - tug'ilish, hosil bo'lish) - hayvon organizmiga tashqi muhitdan tushgan patogen virus va mikroblar paydo qilgan kasallik.
Infeksiya (jarohat infeksiyasi)	- yaralarga, ayniqsa, chuqur yaralarga ayrim kasallik qo'zg'atuvchi mikroblar kirishi natijasida yuqtirilgan infeksiya. Bu holat ko'proq qotma kasalligi misolida namoyon bo'ladi.
Infeksiya zamburug'li infeksiya)	- pathogen zamburug'lar paydo qiladigan infeksiya.
Infeksiya (yiringli infeksiya)	- yiring hosil qiluvchi mikroorganizmlar infeksiyasi.
Infeksiya (oddiy infeksiya, monoinfeksiya)	- virus yoki mikroorganizmning bir turi paydo qilgan infeksiya.
Infeksiyalangan	- hayvon organizmida kasallik qo'zg'atuvchi mikroblar va viruslarning mavjudligi.
Infekcion ekzantema	- (gr. exanthema-toshma) - terining o'choqli yallig'lanib shikastlanishi bo'lib, ayrim yuqumli kasalliklar natijasida paydo bo'ladi. Masalan, hayvonlarning chechak kasalligida shunday holat kuzatildi.
Inkubatsion davr	- organizmga infeksiya tushgan vaqtdan kasallikning klinik alomatlarini yuzaga chiqquncha o'tgan davr.
Inkubatsiya	- ma'lum bir belgilangan haroratda parranda tuxumidan jo'ja chiqishi. Virusologik tekshirishlarda 8-12 kunlik tovuq embrioni va viruslarni me'yorida o'stirish uchun ularni tegishli haroratda hamda ma'lum muddatlarda saqlash.
Interferon	- (lot. inter- o'zaro, ferio-zarba, zararlash)- virusli kasalliklarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladigan, virus bilan zararlangan hujayrada bo'ladigan oqsil, past molekulyar glikoproteid. Uning molekulyar o'g'irligi 20-40 ming dal'ton, virusni o'ldirmaydi, hujayralar uchun zaharsiz. Umumiy chidamlilik shakllanishida interferon muhim ahamiyatga ega. Bir

- virusga hosil bo'lgan interferon ikkinchi boshqa viruslarning ko'payishiga ham to'sqinlik qiladi.
- Intoksikatsiya** - (lot. in-da gr. toksikon- zahar)- organizmga tashqaridan kirgan (ekzogen) yoki organizmning o'zida hosil bo'lgan (endogen) moddalarning umumiy ta'siri natijasida vujudga kelgan zaharlanish holati.
- Iridoviruslar** - iridoviridae oilasiga mansud DNKli virus. Masalan, cho'chqalarda Afrika o'lati kasalligi qo'zg'atuvchisi.
- Kalitsiviruslar** - (lot. calyx-tovon)-caliciviridae oilasiga mansub RNKli virus. Shakli qavariq, diametri 35-39 nm, sirtida 32 kosachasimon o'ymasi ikosaedr tartibida joylashgan. Cho'chqalarda vezikulyar ekzantema kasalligini qo'zg'atadi.
- Kasallanish** - biror bir kasallik bilan og'rigan hayvonlar sonini xarakterlovchi ko'rsatkich, kasalga uchragan hayvonlarning shu kasalga moyil u yoki bu guruhdagi hamma hayvonlarga nisbatii. Bu ko'rsatkich 100, 1000, 10000, hayvonga nisbat qilib olinadi. Masalan, shu kasallikka moyil 1000 boshdan 15 tasi kasal bo'lsa, 1,5 foizni tashkil etadi.
- Kasallik qo'zg'atuvchisining yuqish mexanizmi** - evolutsiya taraqqiyot davrida biologik moslashgan kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlardan har bir turning tegishli manbadan shu mikrobgga moyil sog'lom hayvonlarga o'tishining ma'lum yo'llari kasallik qo'zg'atuvchisining yuqish mexanizmi uning hayvon organizmidan chiqishi, tashqi muhitda turishi va yangi organizmga kirib, kasallik paydo qilish jarayonlarini o'z ichiga oladi.
- Kaprinlashganlik** - (lot. caprinus-echki)- echki organizmida viruslarni o'stirish va saqlash natijasida ularning shu orgaizmga moslashishi.
- Kapsid** - (lot. capsula-quti) - virionning tarkibiy qismi, qobig'i, uning nuklein kislotasini tashqi muhitdan himoya qiladi, kapsomerlar birikmasidan tashkil topgan.
- Kapsomerlar** - (lot. capsat, meros- qism) - virion kapsidini hosil qiluvchi shakily birlik, virion tarkibining assimmetrik guruhlari, bir va bir necha assimmetrik oqsil molekulasidan tuzilgan.
- Karantin** - (itl. quarantia giorni - qirq kun) - vaqtinchalik tadbirlar tizimi bo'lib yuqumli kasalliklarning tarqalishini cheklash, kasallikni aynan paydo bo'lgan o'choqda saqlab uni butunlay tugatishga imkon yaratish.
- Karantinli kasalliklar** - Davlat veterinariya Bosh Boshqarmasi tomonidan ro'yxat qilingan yuqumli kasalliklar bo'lib ular paydo bo'lganda, albatta karantin qo'yiladi. Bunday

Kiritma tanachalari	- kasalliklarga oqsil, kuydirgi, o'lat, qorason, otlar manqasi, cho'chqalar saramasi va boshqalar kiradi.
Klon	- virus bilan zararlangan hujayralardagi xarakterli morfologik o'zgarishlar. Bularning shakllari va o'lchamlari har xil bo'ladi. K.t. hujayralar yadrosi yoki sitoplazmasida joylashishi mumkin. Ayrim virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda juda katta ahamiyatga ega. Masalan, quturish kasalligida – Babesh - Negri K.t., odamlarning chechagida - Gvarneri, tovuqlar chechagida – Bollinger, itlar o'latida Lentsa, tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida Zeyfred, qo'ylarning chechak kasalligida Borrel, K.t. va h.k. Virus bilan zararlangan hujayralar maxsus usullar bilan bo'yaladi va bu K.t. oddiy mikroskopda ko'riladi.
Kontaminatsiya-	- (gr. klon – nasl, urug') - bir bakteriya, hujayra yoki virusning nasli, shuningdek, virus yoki bir hujayrali (ko'p hujayrali) organizmning vegetativ yo'l (jinssiz ko'payish yo'li) bilan hosil qilingan, irsiy jihatdan bir xil xususiyatga (belgiga) ega bo'lgan ajdodi.
Kontagiozlik	- (lot. contaminatio, aralashma) - em - xashak, suv, tuproq, ish qurollari va hayvon tanasining tashqi qismlari va boshqa ob'ektlarni patogen mikroorganizmlar, viruslar bilan ifloslanishi, infeksiya moddalarning yuqishi;
Konservalash	- (lot. conservare-saqlash)- fizikaviy va kimyoviy ta'sir etib, ayrim narsalarni (mikroorganizmlar, viruslar, qon, organ yoki to'qima va h.k.larni) uzoq vaqt ichida o'z xususiyatlarini o'zgartirmay turgun holda saqlash usuli.
Laboratoriya hayvonlari	- oq sichqon, kalamush, dengiz cho'chqachasi, quyon singari mayda hayvonlar ilmiy, amaliy maqsadlar uchun foydalaniladi.
Lapinlashgan shtammlar	- (fr. lapin - quyon) quyon organizmiga moslashgan, uning organizmida ko'paygan mikroorganizmlar yoki viruslar.
Lateks	- (lot. latex - nam, suyuqlik) - sutsimon suyuqlik, kauchukli va boshqa daraxtlarda bo'ladi. Antigenlar ushbu manbadan tayyorlangan tanachalarga biriktiriladi va adsorbent sifatida serologik

	reaksiyalarda foydalaniladi.
Lateks test	- agglutinatsiya usuli, bunda antigen yoki antitelolarni shimdirish uchun neytral moddalardan foydalaniladi, bu esa reaksiya sezgirligini keskin oshiradi.
Latent davr	- (lot. latentis - yashirin) - kasallikning yashirin davri, kasallik qo'zg'atuvchisi organizmga kirgandan keyin kasallikning biror klinik yoki morfologik belgisi paydo bo'lgunicha oradan o'tadigan davr.
Letal doza	- (LD-50) (lot. letalis - o'lim)- virus va mikro-organizmlarning tajribadagi hayvonlarning 50 foizini o'ldiradigan miqdori.
Letallik	- kasallikning nechog'lik og'ir o'tayotganini ifodalaydigan intensiv ko'rsatkich bo'lib, kasallikdan o'lgan hayvonlar bosh sonining kasallangan hayvonlar umumiy soniga bo'lgan nisbatidir.
Leykoviruslar	- parranda, mushuk, sichqon, yirik shoxli hayvonlarda leykoz kasalligini qo'zg'atadigan RNKli viruslar, Retroviridaye oilasi, onkornaviruslar birinchi guruhli S turiga mansub.
Leykoz	- (gr. leukosis - leykemiya - turg'un leykotsitoz) - o'sma tabiatli yuqumli virus kasallik, oq qon tanachalari hosil qiladigan to'qimalarning ortiqcha faoliyati natijasida qonda to'la shakllanmagan leykotsitlarning haddan tashqari ko'payib ketishi bilan ta'riflanadi. RNKli onkovirus qoramol, qo'y va parrandalarda leykoz kasalligini qo'zg'atadi.
Leykemiya	- (oq qonlik) - sistema kasalligi bo'lib, oq qon tanachalari hosil qiladigan to'qimalarning o'sib ko'payib ketishi bilan ta'riflanadi.
Monovaksinalar	- (gr. monos - bir) - bir turdagi kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlangan vaksina. Masalan, kuydirgiga, o'latga, saramasga qarshi vaksinalar.
Mutagen faktorlar	- mutatsiyalar paydo bo'lishiga olib boradigan tashqi muhit omillari (ionlashtiruvchi nurlanish, ultra binafsha nurlar, qator kinyoviy birikmalar va b.)
Mutatsiya	- (lot. mutatio - o'zgarish) - gen va gen turkumlarining irsiy xususiyatlari boshqacha bo'lib qolgan o'zgarishlar, ya'ni organizmda vujudga keladigan har qanday irsiy o'zgarishlar. M. nuklein kislotalarning tarkibidagi o'zgarishdir. M. hamma tirik mavjudotlarga - viruslardan odamlargacha xosdir.
Neyraminidaza	- ortomiksoviruslar tarkibiga kiruvchi ferment- enzim katalizator bo'lib, uning ishtirokida eritrotsitlardagi virus retseptorlari yemiriladi va viruslarning hujayradan chiqib, erkin tarqalishiga imkon tug'iladi.

Neyrogen	- (gr. nueron - asab, nerv - genes) - asab to'qimalarining zararlanishi natijasida kasallikning vujudga kelishi. Asab tolalari orqali virusning yo'nalishi. Masalan, quturish kasalligi virusi N. virusdir.
Neyrotrop	- (gr. neuron + tropos - yo'llanish) - zaharli moddalar, mikroblar va viruslarning asab to'qimalariga tanlab ta'sir etish xususiyati. Masalan, quturish, skrepi, ensefalomielit, aueski viruslari.
Nomukammal viruslar	- nuklein kislotasi bo'lmagan, lekin antigen xususiyatini saqlab qolgan virionlar. Bunday virionlar birinchi marta ortomiksoviruslarda qayd qilingan.
Nukleoid	- (lot. nucleus - yadro, gr. eidos - tur) - virusning nuklein kislotali markaziy qismi, bakteriyalarning o'zagi - yadrosi. N. mukammallashmagan mikroorganizmlarda (prokariotlarda) ham mavjud. Prokariotlarning yadrosi katta xromosomadan tashkil topgan, ya'ni protoplazmadan membrana bilan chegaralanmagan bo'ladi.
Oqsil	- odatda kasal hayvonlardan o'tadigan, viruslar qo'zg'atadigan o'tkir infeksiyon kasallik. Isitma, og'iz, burun, til shilliq pardasida, tuyoqlar orasida yarachalar hosil bo'lishi bilan o'tadi.
Organizm reaktivligi	- (lot. re-yana, aktivus-ta'sirli, faol) - Organizmning tashqi muhitning yot ta'sirlariga o'z faoliyatini o'zgartirish bilan javob berish xusu-siyati. Reaktivlik tashqi muhitning yot sharoitiga organizm moslashuvini ta'minlaydi. Reaktivlik patologik ta'sirlar ostida organizm faoliyatida kuzatiladigan o'zgarishlardir.
Organizmga qo'zg'atuvchining kirish yo'llari	- hayvon organizmiga kasallik qo'zg'atuvchisining kirish yo'llari turli-tumandir. Terining jarohatlangan yuzasi va shilliq pardalar infeksiya darvozasi hisoblanadi. Aksariyat kasallik qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga kirish yo'llarida evolyutsion tarzda moslashib olgan.
Organizmdan kasallik qo'zg'atuvchisining chiqarilishi	- kasallik qo'zg'atuvchilari tashqi muhitga hayvon organizmdan turli mahsulot va chiqindilar (sut, so'lak, siydik, najas hamda ko'z, burun, shuningdek, jinsiy a'zolardan oqib chiqayotgan va h. k.) orqali ajralib chiqadi. Bundan tashqari, yo'tal paytida, shuningdek, teri yaralaridan va qon orqali ham kasallik qo'zg'atuvchisi ajralib chiqadi.
Pandemiya	- (gr. pan - hamma, pandemos-umumiyy, umumxalq) - bir necha mamlakatlarni qamrab olgan, halq orasida keng tarqalgan epidemik kasalliklar. Masalan gripp,

OITS va boshqalar.

- Panzootiya - (gr. pan + zoon - hayvon) - epizootik jarayonning eng shiddatli yuqori darajasi bir necha mamlakat va qit'alarni qamrab oladigan hayvonlar kasalliklari epizootiyasi. Masalan, oqsil, qoramollar o'lati.
- Papula- - teri sathidan ko'tarilib turadigan zich tuguncha; teriga toshadigan toshma elementi.
- Papovaviruslar - Papovaviridae oilasiga mansub DNKli viruslar, ikki avlodni o'z ichiga oladi: papilomavirus va poliomavirus. Hayvonlarning ko'p turlarida 20 xildan ziyod so'gal o'sma paydo qiladi.
- Papullalar - (lot. papula - tuguncha) - yuqumli ekzantema ko'rinishlaridan biri bo'lib, terida uncha katta bo'lmagan qattiq tugunchalarning paydo bo'lishi. Masalan, chechak kasalligida bo'ladi.
- Paraagglyutinatsiya - (gr. para - yaqinida) kasallangan va kasallikdan sog'aygan hayvonlarning qon zardobi bilan shu kasallik qo'zg'atuvchisi bo'lmagan mikroblarning agglyutinatsiyalanishi.
- Paraallergiya - (gr. para + lot. alleus - boshqa ta'sir) -sensibillangan hayvon organizmi sezuvchanligining maxsus bo'lmagan allergenlar ta'siri ostida o'zgargan holati.
- Paraimmunitet - (gr. para) - asosiy qo'zg'atuvchi: virus va mikrobgga nisbatan immunitet hosil bo'lishi bilan bir qatorda asosiy bo'lmagan, ya'ni unga yaqin hamroh virus va mikroblarga ham immunitet hosil bo'lishi.
- Parainfeksiya - (gr. para + lot. infekcio - yuqish) - ayrim mikroblar to'dasi ta'siri ostida boshqa bir mikroorganizmlarning xususiyatini o'zgarishi tufayli vujudga kelgan infeksiya
- Parenteral - (gr. para + enteron - ichak) - hamma dorivor narsalarni ichak oshqozon yo'lidan emas, boshqa yo'l bilan organizmga yuborish. Masalan, teri ichiga, teri orasiga, mushak orasiga, qon tomiriga va h. k.
- Passaj - (fr. passaje - o'tish) - mikroorganizm va viruslar bilan ularga moyil bo'lgan hayvonlarni, tovuqlar embrioni va o'stirilgan hujayralarni kasal qo'zg'atuvchilari bilan ketma-ket yuqtirish.
- P. viruslarni sof holda saqlash, ajratib olish, sonini ko'paytirish va faolligini doimo bir me'yorda saqlash uchun imkoniyat yaratadi.
- Pasterizatsiya - pasterlash, maxsus idishlarda sutni ma'lum bir issiqlik (65° - 70° C) ta'sirida zararsizlantirish P. bir necha daqiqa davom etadi va sut tezlik bilan $10-11^{\circ}$ C gacha sovutiladi. Bu rejimda mikroblarning vegetativ

	shakllari faolsizlanadi.
Patogenez	- (gr. pathos – dard, kasallik va genos) kasallikning avj olib borishi, rivojlanish yo'li.
Patogenlik	- mikroorganizmlar va viruslarning kasallik qo'zg'atish qobiliyati. Patogenlik mikroor-ganizm va viruslarning o'simliklar, hayvonlar, odamlar, umuman tirik mavjudotlar organiz-mida tekinox'rlikka moslashish jarayonida vujudga kelgan murakkab kasallik qo'zgata olish xususiyatlari majmuasi. P. ma'lum bir tur mikrobnig o'ziga xos belgisidir, ya'ni har bir mikroob faqat ma'lum bir yuqumli kasallikni qo'zg'atadi, xolos. Ammo aynan shu tur mikrobnig har xil shtammlari shu patogenlik-ka ega bo'lishi mumkin. P. mikroorganizm va viruslarning virulentligini belgilaydi.
Peplos	- (gr. peplos - palto) - peplomerlardan tashkil topgan ayrim tur viruslarning tashqi qobig'i.
Peplomerlar	- lipidlardan tashkil topib, virionning lipoproteid qobig'ida bo'rtma hosil qiluvchi shakliy birlik.
Permissiv harorat	- (ing. permissive - imkoniyat yaratish) – viruslarni maxsus muhitlarda ko'payishi uchun 37°C permissiv harorat hisoblanadi. P. H. viruslardan mutant olish uchun imkoniyat yaratadi.
Pikornaviruslar	- (gr. piccolo- kichik)- picornoviridae oilasiga mansub RNKli kichik o'lchamli viruslar, to'rt avlodni o'z ichiga oladi (enteroviruslar, kardioviruslar, rinoviruslar, aftoviruslar). Bu viruslarning kapsidi ikosaedrik shaklda, diametri 25-40 nm, lipoproteid qobig'i yo'q. Virionlar sun'iy sharoitda bir xil shaklda o'sadi, hujayralarda yaxshi ko'payadi.
Pretsipitinlar	- pretsipitatsiya reaksiyasida qatnashadigan antitelolar. Pretsipitatsiyada hosil bo'lgan cho'kma.
Prionlar	- (proteinli infeksiyon zarrachalar) - sekin rivojlanuvchi yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari. P. oqsil bo'lib, ular tirik hujayralarda ko'payadi, lekin ularda RNK va DNK borligi aniqlanmagan, qoramollarda yuqumli ensefalopatiya, qo'ylarda skrepi va odamlarda Kreysfeld -Yakoba, kuru kasalliklarini qo'zg'atadi. P. Tashqi muhit omillariga juda chidamli. Masalan, 30 daqiqa qaynatish uning faolligini pasaytirmaydi. P. Formalin, fermentlarga: DNKaza, RNKaza pepsin, tripsinga chidamli. P.ning kattaligi 17-27 nm, San-Fransiskodagi Kaliforniya universitetining tibbiyot maktabida 1984 yilda S.P.Prusner birinchi marta aniqlagan.

Provirus	- to'la yetilmagan virus zarrachasi, har xil omillarning (ultrabinafsha nurlari, har xil moddalar) hujayralarga ta'siri natijasida virus genomi bilan birikkan xromosomalardan ajralgan DNKdan hosil bo'lgan. U odatdagidek reproduksiya bosqichlarini o'tib, virus avlodlarini paydo qiladi. Proviruslarda yangi virus vujudga kelishi uchun kerak bo'lgan barcha axborotlar mavjud.
Produtsent	- (lot. producentis - ishlab chiqaruvchi) - bu atama veterinariya fanida keng ishlatiladi. Masalan, ayrim zaharli mikroskopik zamburug'lar rivojlanib ko'payishi davrida mikotoksinlarni ishlab chiqaradi, ular produtsent hisoblanadi.
Prolongatsiya	- (gr.prolongation - uzaytiruvchi) - ta'sir muddatini uzaytirish. Aksariyat hollarda dori-darmonlarning organizmga ta'sirini uzaytirishni ifodalaydigan ibora. Buning uchun har xil ad'yuvantlardan, polimerlardan foydalaniladi.
Properdin	- (pro-uchun, perdere-o'ldirmoq, halok qilmoq, buzmoq) - o'zida komplementning ayrim komponentlarini va magniy ionlarini saqlovchi, normal qon zardobining oqsili bo'lib, mikrobg qarshi omildir. P. termolabil immunoglobulin deb faraz qilinadi, lekin ular antitelolardan farq qilib, maxsus ta'sir qilmaydi. Ko'pchilik mikroorganizmlarga va viruslarga halokatli ta'sir etadi. Qonning bakteritsidlik xususiyati properdinga bog'liq.
Profilaktik tadbirlar	- (gr. prophylaktikos - oldini olish) - yuqumli kasalliklar paydo bo'lishi va tarqalishining oldini olishga qaratilgan tadbirlar majmuasi.
Poliomielit-	- markaziy nerv sistemasining viruslar keltirib chiqaradigan o'tkir kasalligi.
Poliribosomalar- (polisomalar)	xabar beradigan RNK molekulasini yordamida - kompleks bo'lib birikkan bir nechta (5-70) ribosomalar. Poliribosomalar yirik oqsil molekularining sintezlanish jarayonida hosil bo'ladi.
Proliferatsiya-	- hujayralarning bo'linib ko'payish yo'li bilan yangitdan hosil bo'lishi.
Profilaktika-	- kasalliklarning paydo bo'lishi va tarqalishining oldini olish, aholi va hayvon sog'lig'i va jismoniy taraqqiyotini muhofaza qilish va mustahkamlashga qaratilgan tadbirlar majmuasi.
Psevdoagglyuti-natsiya	- (gr. pseudos - soxta, lot. agglutinatio, onis - yopishtirish, to'plash) - muhitdagi kislotaga, ishqor, tuz konsentratsiyasi, harorat va boshqa omillar

	muvozanatining o'zgarishi natijasida bakteriyalar, eritrotsitlar, leykotsitlar, trombotsitlarning yopishishi va cho'kmaga tushishi.
Psevdovirionlar	- hujayra DNK sining parchasidan hosil bo'lgan, virus qobig'iga o'ralgan virus zarrachasi. P. biosferada irsiy axborot tashuvchisi bo'lishi mumkin.
Pustula	- ba'zi dermatozlar va yuqumli kasalliklarning elementi - sifatida terida paydo bo'ladigan moddacha, yiringli pufakcha.
Rabdoviruslar	- RNKli silindrsimon viruslar bir uchi qayrilgan bo'lib uzunligi 170 nm, diametri 70 nm keladi, Rhabdoviridae oilasiga kiradi. Lipoproteidli qobig'i bo'rtib chiqqan peplomerlar bilan qoplangan, g'ilofi o'qsimon. Bu oilaga hayvonlarda kasallik qo'zg'atadigan viruslardan (lyssavirus, Vesiculovirus) tashqari hashorotlar va o'simliklarning ayrim viruslari ham kiradi.
Radioimmunologiya usuli (RIU)	- viruslar qo'zg'atadigan kasalliklarni aniqlashda qo'llaniladigan immunologik usul bo'lib, uning yordami bilan patologik materialda virus antigeni aniqlanadi. Shu usulda hayvonning virusga chidamliligi, toq va juft qon zardoblarda immunoglobulin (antitelolar) miqdorining oshishi tekshiriladi.
Rekonvalessensiya	- kasallikdan tuzalib kelayotgan davr, bunda kasallikning klinik belgilari bo'lmasada, lekin organizmning dastlabki holati to'liq tiklanmagan bo'ladi.
Remissiya	- kasallikning yengillashishi
Retseptorlar	- sezuvchan (afferent) nerv tolalarining oxirgi qabul qiluvchi qismlari hisoblangan maxsus tuzilmalar.
Rezistentlik	- (chidamlilik) - qarshilik: 1) organizmning patogen omillar ta'siriga chidamliligi; 2) mikroblarning antibiotiklar, sulfanilamidlar va boshqa kimyoviy moddalarga chidamliligi
Ribonuklein kislota-	- (RNK) polimer modda bo'lib katta molekulasi polinukleotid spiralsimon zanjirlardan iborat. RNK hujayra sitoplazmasi va yadrocha tarkibiga kiradi.
Ribosomalar-	- sitoplazmada erkin joylashgan, tarkibida ribosoma RNKsi bo'ladigan va sitoplazmada oqsillar sintezlanadigan markaz hisoblanadigan sferik elektron - tig'iz donalar.
Rikketsiozlar-	- odam va hayvonlarning rikketsiyalar qo'zg'atadigan yuqumli kasalliklari guruhi.
Sensibilizatsiya	- organizmning biror allergenga sezuvchanligini

	orttirish jarayoni.
Sepsis	- odatda organizmda mahalliy infeksiyon jarayon borligi tufayli kelib chiqadigan umumiy infeksiyon kasallik.
Serologiya	- immun zardoblar bilan bog'langan diagnostik va eksperimental usullar haqidagi fan.
Seroprolaktika	- immun zardoblar yordamida odam va hayvonlar yuqumli kasalliklarining oldini olish usuli.
Seroterapiya	- kasalliklar (asosan yuqumli kasalliklar)ni immun zardoblar yordamida davolash usuli
Simptomlar	- vrach kasal hayvonni tekshirganda topiladigan va kasallikni aniqlashda hamda uning oqibatini bilishda foydalaniladigan belgilar.
Simptomatik davolash	- kasallikning sababi va rivojlanish mexanizmlariga maqsadga muvofiq ta'sir qilmasdan turib simptomlar (belgilari)ni davolash.
Stress	- tashqi yoki ichki muhitning turli noqulay omillari ta'siriga javoban paydo bo'ladigan ruhan zo'rliqish holati.
Tolerantlik	- umumun barqarorlik, ma'lum antigenlarga nisbatan spetsifik reaktivlikning bo'lmasligi.
Toun (o'lat)	- antropozoonozlar guruhiga kiradigan o'tkir yuqumli kasallik.
Transduksiya	- irsiy ma'lumotni bir hujayradan ikkinchi hujayraga o'tish mexanizmi.
Transplantatsiya	- odam va hayvonlar organizmi qismlarini (organ va to'qimalarini) ko'chirib o'tqazish
Transformatsiya	- o'zgarish, o'zgartirish, shakl yoki tuzilishning o'zgarishi
Tripsin	- proteinazalar guruhiga kiradigan ferment. Me'da osti bezi ishlab chiqaradigan shiradagi proferment tripsinogenga enterokinaza ta'sir qilganda ichakda hosil bo'ladi.
Vaksina	- (lot. vaccinum) - maxsus biologik preparat bo'lib, kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlanadi. Asosan kasallikning oldini olish uchun ishlatiladi.
Vaksina (alimantar vaksina)	- ozuqa, suvga qo'shib hayvonga beriladigan yoki g'ilof, zond bilan ovqat hazm qilish yo'li orqali yuboriladigan vaksina.
Vaksina (deponent vaksina)	- tarkibiga sekin so'riluvchi moddalar (achchiqtosh, yog' eritmalari) qo'shilgan vaksina
Vaksina (monovalent vaksina)	- bitta yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi antigenidan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (polivalent vaksina)	- bir nechta yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi antigenidan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (tirik vaksina)	- kuchsizlantirish yoki zaiflatish tufayli kasallik paydo

	qilish xususiyatini yo'qotgan, ammo immunogenlik xususiyatini saqlagan kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (fa'olsizlantirilgan vaksina)	- mikroorganizmlar va viruslarning antigenlik xususiyatlarini yo'qotgan holda ularning infeksiyon faoliyatini kimyoviy yoki fizikaviy ishlov berish yo'li bilan butunlay yo'qotib tayyorlangan vaksina.
Vaksinapofilaktika	- yuqumli kasalliklarning oldini olish maqsadida vaksina bilan emlash.
Vaksinoterapiya	- vaksina bilan davolash.
Vakuola hosil qiluvchi virus	- papovaviridae oilasiga mansub, hujayralarning morfologik xususiyatini o'zgartiruvchi virus. Ular hujayrada bo'shliq hosil qiladi.
Vezikula	- (lot. vesicula, at, f - toshma - pufakcha) - teri toshmalarining dastlabki morfologik elementlaridan biri; teri tashqi qavati (epidermis)da ekssudat (suyuqlik) to'planishidan hosil bo'lgan pufakcha.
Virulentlik	- muayyan infeksiyon agentning (mikrob stammi yoki virusning) kasallik chaqirish (patogenlik) darajasi.
Virusologiya	- viruslar va virusli kasalliklar haqidagi ta'limot.
Viruslar	- turli xil yuqumli kasalliklarni keltirib chiqaruvchi hujayralar ichida bo'ladigan kichik mikroparazitlar.
Vital bo'yoq	- tirik hujayra va to'qimalarni amalda ziyonsiz va bir qator bo'yoqlar (qizil neytral, tripan ko'ki va b.) bilan bo'yash; bo'yoq moddasi organizmga yuboriladi.
Xromosomalar	- hujayra yadrosining ipsimon, o'z-o'zidan paydo bo'ladigan murakkab ixtisoslashgan, irsiyat faktorlari (genlar)ni chiziqli tartibda tutgan struktur elementlar.
Yo'riqnoma	- biologik preparatlarni, kimyoviy terapevtik dori-darmonlarni ishlatish to'g'risida Davlat veterinariya Bosh Boshqarmasi tomonidan qabul qilinib tasdiqlangan hujjat, yo'riqnoma.
Zardob	- 1) suyuqlikning (mas., qon, limfa, sut va h.k) suvli tarkibiy qismi; 2) seroz pardalar yuzasini namlab turadigan tiniq suyuqlik .

MUNDARIJA

UMUMIY VIROSOLOGIYA

1 - mavzu. Viruslarning asosiy xususiyatlari, virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalari va xavfsizlik texnikasi.....	3
2 - mavzu. Patologik materialni olish va ishlov berish.....	11
3 - mavzu. Patologik materialda virionlarni va kiritma tanachalarni uchratish yo'li bilan viruslarni indikatsiyalash.....	20
4 - mavzu. Laboratoriya hayvonlarining virusologiyada qo'llanishi, ularni saqlash va parvarish qilish.....	24
5 - mavzu. Tajribadagi laboratoriya hayvonlarini belgilash, virus yuqtirish va yorib ko'rish.....	29
6 - mavzu. Tovuq homilalarining virusologiyada qo'llanilishi.....	37
7 - mavzu. Tovuq homilasiga virus yuqtirish usullari, virusning ko'payish belgilari, virus saqlovchi materialni olish.....	40
8 - mavzu. Hujayralarni o'stirishda ishlatiladigan oziq muhitlar va eritmalar.....	48
9 - mavzu. O'stirilgan hujayralar va ularni virusologiyada qo'llanilishi.....	51
10 - mavzu. O'stirilgan hujayralarga virusni yuqtirish va indikatsiyalash.....	57
11 - mavzu. Viruslarni titrlash.....	71
12 - mavzu. Viruslar uchun gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi (GATR) yordamida antitelolarni titrlash.....	83
13 - mavzu. Neytrallash reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....	87
14 - mavzu. Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....	92
15 - mavzu. Bilvosita gemagglutinatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....	97
16 - mavzu. Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU) va uning virusologiyada qo'llanilishi.....	102
17 - mavzu. Diagnostik masalalarni echish.....	111

XUSUSIY VIROSOLOGIYA

1 - mavzu. Quturish kasalligiga laboratoriyada diagnostik qo'yish.....	123
2 - mavzu. Chechak kasalligiga laboratoriyada diagnostik qo'yish.....	129
3 - mavzu. GATR-yordamida parrandalardagi gripp virusini, N'yukasl kasalligi virusidan differentsiatsiyalash.....	133
4 - mavzu. KBR yordamida oqsil kasalligining turini aniqlash.....	138
5 - mavzu. Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligiga laboratoriyada diagnostik qo'yish.....	151
6 - mavzu. Biofabrikalarda ishlab chiqilgan diagnostik to'plamlar yordamida buzoqlarning pnevmoenterit kasalligini differentsiatsiyalash.....	160
ILOVA.....	163
IZOHLI LUG'AT.....	187
MUNDARIJA.....	203

BAZAROV X.K., ABDULAKIMOVA A.B.

**VETERINARIYA VIRUSOLOGİYASIDAN
O'QUV QO'LLANMA**

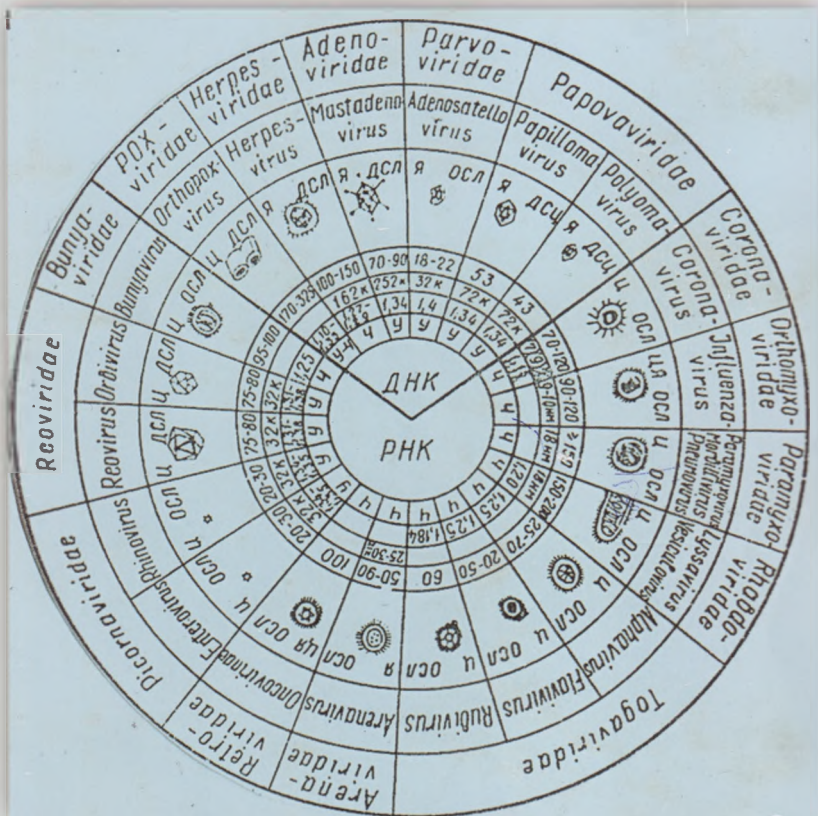
Қоғоз бичими 60x84 1/16. Шартли босма табағи 12,7.

Буюртма № 01/1. 200 нусха.

«Ф.Насимов» ХК ускуналарида чоп этилди

Самарқанд ш. Зиёкорлар қ,4

VIRUSLARNING ASOSIY XUSUSIYATLARINI SXEMALI KO'RINISHI



0	0 - OILASI
1	1 - AVLODI
2-3	2 - REPRODUKSIYALANISH JOYI (Q-SITOPLAZMA)
4	3 - NUKLEIN KISLOTANING STURUKTURASI
5	4 - VIRIONNING DIAMETRI NM;
6	5 - KAPSOMERLAR SONI YOKI NUKLOKAPSID SPIRALINING DIAMETRI NM;
7	6 - SUZUVCHI ZINCHLIK CsCl, g/sm ³
	7 - 4-EFIRGA SEZGIR YOKI Y-EFIRGA CHIDAMLI