

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI

SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

# MIKROBIOLOGIYA

FANIDAN USLUBIY QO'LLANMA  
(laboratoriya mashg'ulotlari)



Samarqand-2017.

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

Z. J. Shapulatova

# **"MIKROBIOLOGIYA"**

FANIDAN  
USLUBIY QO'LLANMA  
(laboratoriya mashg'ulotlari)

SAMARQAND-2012

576.8  
SR-24

Ushbu uslubiy qo'llanma "Mikrobiologiya" fanidan (laboratoriya mashg'ulotlari) 5410600– Zootexniya , 55410600 – Qorako'lchilik, 5111015 – Kasb ta'limi (zootexniya) bakalavr yo'nalishlari uchun dastur va ishchi o'quv dasturi asosida hayvonlar kasalliklari va parazitologiya kafedrasining katta o'qituvchisi Z.J. Shapulatova tomonidan yozilgan.

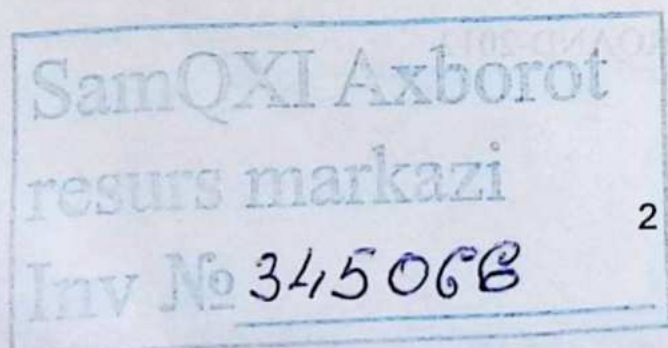
### Taqrizchilar:

M.N. Mamatova SamQXI Hayvonlar kasalliklari va parazitologiya kafedrasida dotsenti

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

5410600 – Zootexniya bakalavr yo'nalishi talabalari uchun  
55410600 – Qorako'lchilik bakalavr yo'nalishi talabalari uchun  
5111015 – Kasb ta'limi (zootexniya) bakalavr yo'nalishi talabalari uchun

"Mikrobiologiya" fanidan uslubiy qo'llanma (amaliy, laboratoriya mashg'ulotlari) institut Markaziy o'quv va uslubiy kengashining 21 fevral 2012 yil 4 sonli yig'ilishida tasdiqlangan va uslubiy qo'llanma sifatida chop etishga tavsiya etilgan.



## So'z boshi

Uslubiy qo'llanma umumiy va xususiy mikrobiologiya bo'limlaridan iborat. Umumiy mikrobiologiya bo'limida laboratoriyada ishlash qoidalari, jihozlari; mikroorganizmlar fiziologiyasi, ularning patogenligini aniqlash, serologik reaksiyalarni qo'yish usullari, atrof muhit ob'ektlarini mikrobiologik tekshirish, sanitariya holatini nazorat qilish; xususiy mikrobiologiya bo'limida mikroblarni qiyoslash usullari, laboratoriya diagnostikasi keltirilgan. Yem – xashak mikrobiologiyasi, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumni mikrobiologik tekshirish usullari yoritilgan. Mustaqil ish uchun ham mavzular berilgan.

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

Ushbu uslubiy qo'llanma talabalarni mikrobiologiya fanidan olgan nazariy bilimlarini mustahkamlab, o'quv materialni mustaqil o'zlashtirish, mikrobiologik tekshirish uslublarini amalda o'rganishga imkon beradi. Laboratoriya tekshirish usullari qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalarda uchraydigan yuqumli kasalliklarni erta aniqlash, ularning shakllarini farqlash, qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini aniqlash, ularning oldini olish va qarshi kurashishda xo'jaliklarga katta amaliy yordam beradi. Bundan tashqari oziqa bazasini mustahkamlash, yem-xashak, silos, senajlarning, sut va sut mahsulotlarini, go'sht va tuxumni to'g'ri saqlash, sifatini aniqlashga ko'maklashadilar.

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

Mashg'ulotlar mavzusi dastur asosida ketma ketlikka rioya qilingan holda berilgan. Uslubiy jihatdan har bir mashg'ulot quyidagicha ishlangan: mavzu nomi, mashg'ulotning maqsadi, material va jihozlar, uslubiy ko'rsatma, nazorat savollari. Mashg'ulotlar leksiya materiallari bilan uzviy bog'langanligi tufayli talabalar hayvonlarning yuqumli kasalliklariga mikrobiologik diagnoz qo'yish usullarini, atrof muhit ob'ektlarini, yem-xashak, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumni va h.k.larni sifatini tekshirish usullarini yengil o'zlashtiradilar.

## Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma

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

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

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

Dars oxirida oqituvchi talabalar bajargan ishni baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustahkamlab boradi. Xususiy mikrobiologiyani o'rganishda atrof muhit ob'ektlaridan namunalar, yuqumsiz kasallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material, sifatli va sifatsiz yem-xashak, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxum bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olinganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa yanada yaxshi bo'ladi.

## BO'LIM 1 UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

### 1. Laboratoriya mashg'uloti №1

**Mavzu: Mikrobiologiya laboratoriyasi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari.**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyasi, uning asosiy jihozlari va unda ishlash qoidalari bilan tanishtirish. Mikroskopning tuzilishi va u bilan ishlash qoidalarini o'rganish. Bakteriologik bo'yoqlar bilan tanishish. Bakteriyali preparat tayyorlashni o'rganish.

**Material va jihozlar:** Har xil modeldagi biologik mikroskop; immersion moy, bo'yalgan tayyor har xil mikroorganizmlar preparatlari to'plami. Shishalarda quruq bo'yoqlar: asosli fuksin, gentsianviolet, metilen ko'ki, safranin, brilliant yashili, bo'yoqlarning tayyor eritmasi to'plami, immersion moy, distillangan suv, bakteriologik ilmoq, spirt lampasi, buyum oynalari va filtr qog'oz, kyuvetalar, Petri kosachasi, pipetkasi va probirkalarda turli shakldagi bakteriyalarning sof kulturalari. ishlatilgan pipetkalar uchun maxsus idishda 3-5% li fenol eritmasi, moy qalam. mavzuga oid ko'rgazmali plakatlar.

#### **Uslubiy ko'rsatmalar.**

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

1. Biologik mikroskopning tuzilishi bilan tanishib, rasmini daftarga chizadi va asosiy qismlari nomini yozadi. Bakteriyali preparat tayyorlash usullarini o'rganadi.

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

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

Veterinariya laboratoriyasida qabul qilish, bakteriologiya, virusologiya, toksikologiya, serologiya, patanomiya, veterinariya-sanitariya ekspertizasi, parazitologiya, radiologiya bo'limlari bo'ladi. Bundan tashqari alohida sterilizasiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, oziqa muhit tayyorlash xonalari, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks, laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz chochqalari, oq kalamush, quyon, donor qo'ylar va h.k.) uchun vivariya, va alohida biosinov xonasi bo'lishi kerak. Bundan tashqari ma'muriyat va mutaxassislar uchun xonalar ajratilgan bo'lishi kerak. Laboratoriya ishchi xonalari yorug', keng, baland bo'lib, poli linoleum yoki kafellangan, devoriga plastika yoki kafel urilgan, stol 80 sm balandlikda usti plastika, linoleum, oyna bilan qoplangan yoki maxsus oq bo'yoq bilan bo'yalgan, hamda, barcha kerakli jihoz, asbob – uskunalar, reaktiv va h.k.lar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak. Issiq, sovuq suv, kanalizasiya, sovun, sochiq va dezinfeksiyalovchi eritmalar bo'lishi zarur.

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

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

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

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

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

3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

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

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

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

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

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

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

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

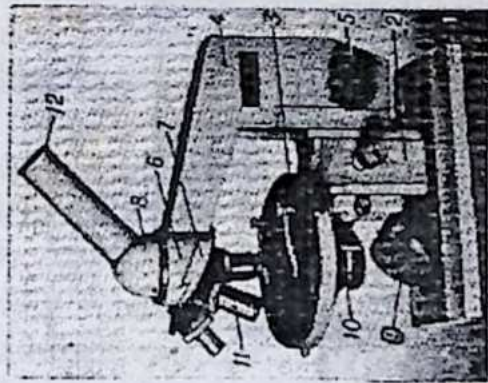
Mikrobiologik tekshirish usullariga quyidagilar kiradi: 1) mikroskopiya, 2) kasallik qo'zg'atuvchisining sof kulturasini ajratish hamda uning kultural va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish, 3) mikroblarning patogenligini aniqlash (laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yish), 4) serologik diagnostika.

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

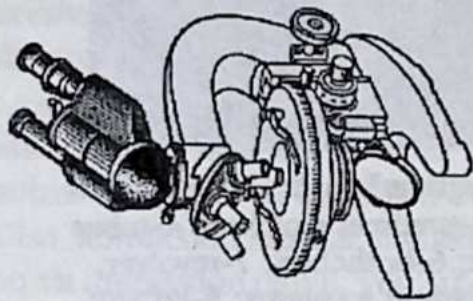
**Biologik mikroskop.** Mikrobiologiya amaliyotida MBR -1, MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, "Biolam" va hokazolardan ko'p foydalaniladi.

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

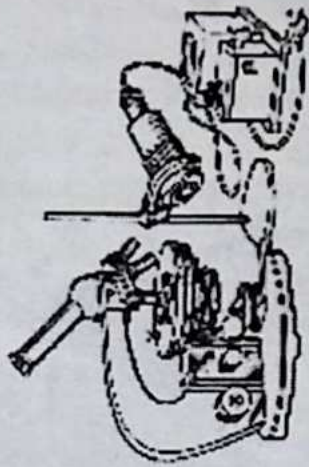
# Mikroskop turlari



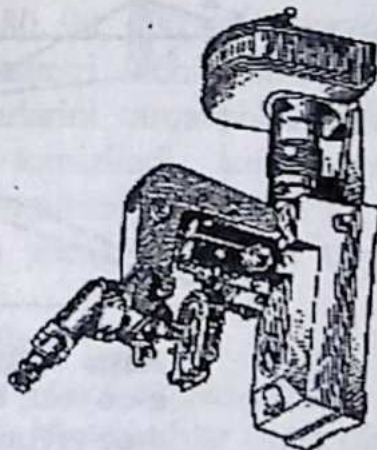
Rasm 1. Biologik mikroskop "Biolum"



Rasm2. Binokulyar o'rnatma AU-12



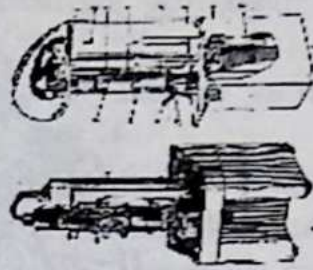
Rasm 3. MBI-1 mikroskopi va yoritgich OI-7



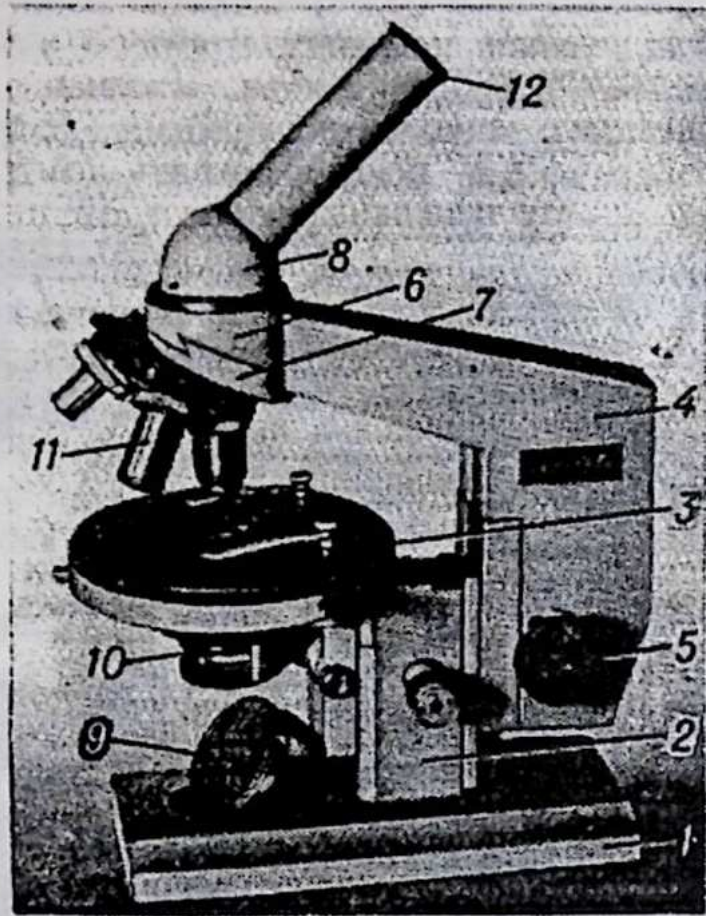
Rasm 4. ML-2 lyuminesent mikroskopi



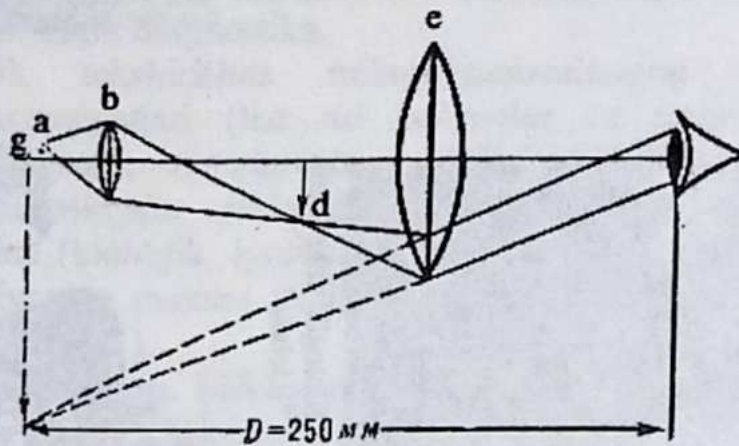
Rasm 5. 1-2 tipli "Lyumom" lyuminesent mikroskopi



Rasm 6. Elektron mikroskop



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



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

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

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

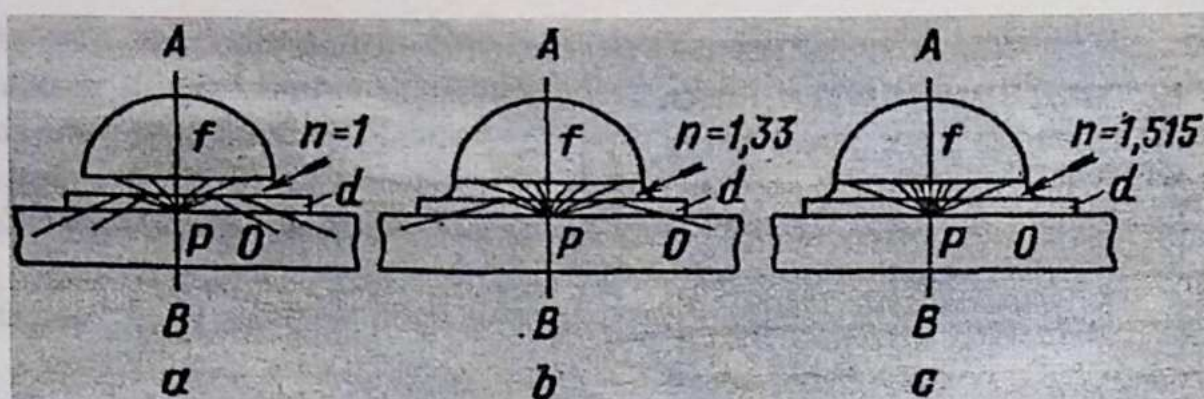
Mikroskopning *oynasi* unga tushayotgan yorug'likni aks ettiradi va uni preparatni yoritish uchun kondensorga yo'naltiradi. Oynasi harakatlanadigan qilib o'rnatilgan, bir tomoni yassi, undan istalgan yorug'lik manbasi va istalgan kattalashtirishda foydalaniladi. Ikkinchi botiq tomoni kichik kattalashtirishlarda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

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

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

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

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



**Rasm. 9. Optik mikroskopning ob'yektivi.**

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

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

Mikroskopning umumiy kattalashtirishi ob'yektivdagi yozilgan songa okulyardagi yozilgan sonni ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, immersion obyektivi 90x va okulyar 10x bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi:  $90 \times 10 = 900$  marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda, odatda ob'yekt 630-900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

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

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

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

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

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

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo'yoqlar ko'p ishlatiladi: asosli - fuksin, metil qizili, neytral qizili – eritmada qizil rangda bo'ladi; karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet, tayyor suyuq Gimza (azur - eozin) bo'yog'i – binafsha rangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashili. Quruq kukunsimon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi eritmaları tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmaları qorongida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Eritmalarning bo'yash xossasini oshirish uchun ularga har xil kimyoviy moddalar (fenol, o'yuvchi kaliy) qo'shiladi yoki bo'yashdan oldin preparatlarga ular ( xlorid, sulfat yoki xrom kislotalarining kuchsiz eritmaları) bilan ishlov beriladi. Shuningdek bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq eritmaları faqat ishlatishdan oldin 1 – 2 %li eritmalar ko'rinishida tayyorlanadi.

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

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

*Karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet.* Kristallviolet, metilviolet bo'yog'i eritmaları tez cho'kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko'rganda ular xalaqit beradi. Ko'pincha gensianviolet bo'yog'i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo'yaladi. Uning spirtli suvli eritmasini tayyorlash

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

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

*Metilen ko'ki eritmasi* (ishqorli Leffler ko'ki). Eritmani tayyorlash uchun 3 g bo'yoq 100 ml 96<sup>0</sup> spirtida uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

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

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

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

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

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

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

Suyuq muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasi preparat tayyorlash uchun chap qo'lga kulturali probirkani olib, o'ngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib sterillanadi, kichik o'ng barmoq bilan alangaga yaqin tutib probirka ochiladi, ilmoqni suyuqlikka botirib, bir tomchi olinadi, probirkani yopib, shtativga

qo'yiladi. Chap qo'lga buyum oynasini olib unga tomiziladi, yengil aylana harakatlar bilan oynachaga surtiladi, so'ng havoda quritiladi ( rasm 11), ilmoq alangada qizdirib sterillanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa dizenfiksiyalovchi eritma - fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

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

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

Mikroorganizmlarni bo'yash uchun oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi.

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

#### **Nazorat savollari:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ulardan foydalanish.
3. Biologik mikroskopning tuzilishi.
4. Biologik mikroskop bilan ishlash qoidalari. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?
5. Bo'yalgan va bo'yalmagan preparatlarni mikroskopda ko'rish usuli.
6. Mikrobiologiya amaliyotida ishlatiladigan bo'yoqlarni ayting?
7. Bakteriyali preparatlarni tayyorlash jarayonini tushuntiring.
8. Mikroorganizmlarni oddiy bo'yash usuli deb nimaga aytiladi?

## 2. Laboratoriya mashg'uloti №2

**Mavzu: Preparatlarni bo'yash usullari (Gram usulida), bakteriyalarning asoasiy shakllarini o'rganish.**

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

**Material va jihozlar:** Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, etil spirti 96<sup>0</sup>, fiziologik eritma, lyugol, probirka, shisha idishlarda bo'yoqlar: karbolli gensianviolet, sil fuksini, karbolli Fuksin, bakteriyalar kulturasi: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayoqchalari), Plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1. Murakkab bo'yash Gram usulini daftarga yozib olish. Surtmani Gram usulida bo'yash va mikroskopda ko'rib, rasmini chizib olish. 2. Sporalarni Auyski, Meller, Zlatogorov, Peshkov usullarda bo'yash, kapsulalarni Mixin, Romanovskiy Gimza, Olt usullarida, kislotaga chidamli bakteriyalarni Sil Nilsen usulida bo'yashni daftarga yozib olish. 3. Preparatlar tayyorlab spora, kapsulaga bo'yashning o'zingiz tanlagan bir usulda, kislotaga chidamli va chidamsiz bakteriyalarni Sil Nilsen usulida bo'yang. Mikroskopda ko'rib, rasmini chizib oling.

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

Har xil mikroorganizmlarni protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular aynan bir xil buyoq bilan turlicha bo'yaladi. Bir qancha hollarda mikrobn hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yovchi eritmalar tanlab ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884 yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yalishiga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruhga bo'linadi: grammusbat va grammanfiy. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2 – 3, uning tashqi qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday

kislotali muhitda asosli bo'yoqlar yod bilan mustahkam birikma hosil qiladi. Grammanfiylarining pH 4 – 5, ularda bunday, birikma hosil bo'lmaydi. Shu tufayli grammusbat bakteriyalar birinchi bo'yoq bilan bo'yagandan keyin spirt ta'sirida rangsizlanmaydi va binafsha rangni saqlab qoladi (rasm 13, 14, 17). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta'sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo'shimcha bo'yaganda, qizil rangga kiradi (rasm 15 – 16).

Gensianviolet (yoki kristallviolet) va sitoplazmadagi nuklein kislotalar yod (Lyugol eritmasi: kristall holdagi yod – 1g, kaliy yod – 2g, distillangan suv – 300 ml ) ishtirokida suvda erimaydigan hamda spirtida kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta'sir ettirilganda hujayra devori qalin, ko'p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlamining g'ovaklari yirikroq bo'lib, spirtning o'tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo'lgan birikma parchalanib bo'yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta'sirida hujayra rangsizlanadi.

#### **Gram usulida bo'yash texnikasi**

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

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

3. Lyugol eritmasini to'kib, 96<sup>0</sup> spirt quyiladi (30 soniya).

4. Suvda yaxshilab yuviladi.

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

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

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

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

**Kokklar** bo'linganlaridan keyin bir – biriga nisbatan har xil joylashadi va bir necha guruhga bo'linadi: 1) mikrokokklar – bittadan tartibsiz; 2)

diplokokklar- ikkitadan; 3) tetrakokklar - to'rtta - to'rtta bo'lib; 4) stafilokokklar- uzum shingiliga o'xshab; 5) streptokokklar - zanjirsimon; 6) sarsinalar- paket (kubik) shaklida joylashadi.

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

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

### Nazorat savollari

1. Mikroorganizmlarni murakkab bo'yash usuli deb nimaga aytiladi?
2. Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yashning mohiyati nimadan iborat?
3. Mikroorganizmlarning grammanfiy yoki grammusbat bo'yalishining sababi nima?
4. Gram usulida bo'yash texnikasini ayting.
5. Lyugol eritmasining tarkibini ayting.
6. Bakteriyalarning asosiy shakllarini ayting
7. Bakteriyalar bilan basillalar bir-biridan qanday farq qiladi?

### 3. Laboratoriya mashg'uloti №3

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

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

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

#### **Uslubiy ko'rsatmalar**

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

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

**Sporalarni bo'yash.** Tashqi muhitda spora hosil qiluvchi tayoqchasimon mikroblar basillalar deyiladi. Spora hosil bo'lish jarayonida hujayra sitoplazmasi quyushib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko'p qavatli qobiqqa o'raladi. Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko'pchilik kislotaga, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikroblar turiga bog'liq ravishda hujayraning markazida, bir uchida yoki bir uchiga yaqin joylashadi. Oddiy yoki Gram

usulida bo'yalgan preparatlarda mikroskopda hujayraning bo'yalgan vegetativ qismi va bo'yalmagan yorug'likni yaxshi sindiruvchi sporalar ko'rinadi. Demak sporalar murakkab, maxsus usullarda bo'yaladi.

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

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

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

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

*Peshkov usuli.* Tayyorlangan surtma spirt lampa alangasida fiksasiyalanadi.

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

**Kapsulalarni bo'yash.** Kapsula - qobiqni tashqi qavatining hosilasidir. U mumsimon modda bo'lib yuqori molekular polisaxariddan ibopat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat

zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziqa muhitlarda ularga qon zardobi yoki fibrinsizlangan qon qo'shgandagina kapsula hosil bo'ladi). Kuydirgi, yomon sifatli shish, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchilari kapsula hosil qiladi.

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

#### *Olt usuli.*

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

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

#### *Romanovskiy Gimza usuli.*

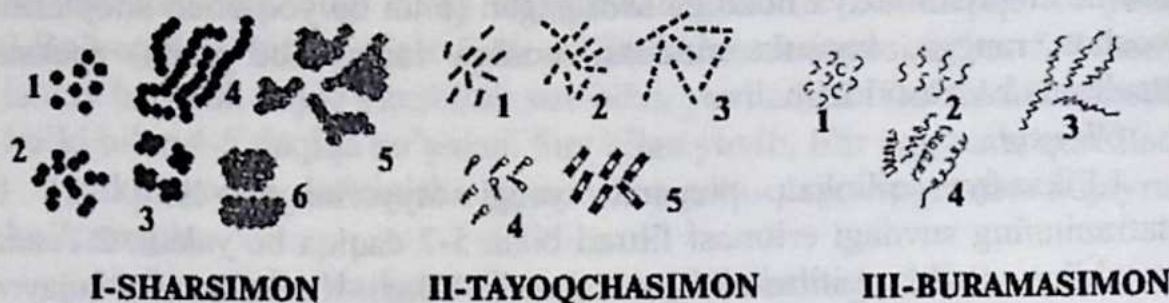
1.Fiksasiya qilingan surtma, Petri kosachasida gugurt cho'plari ustiga, surtmasi pastga qaratib joylashtiriladi. Uning ostiga Gimza bo'yog'ining 1:10 nisbatda distillangan suvdagi eritmasini quyilib 40-50 daqiqa bo'yaladi. 2.Suv bilan yuvib, quritiladi, mikroskopda ko'riladi. Kapsula – pushti, hujayra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

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

#### *Sil –Nilsen usuli*

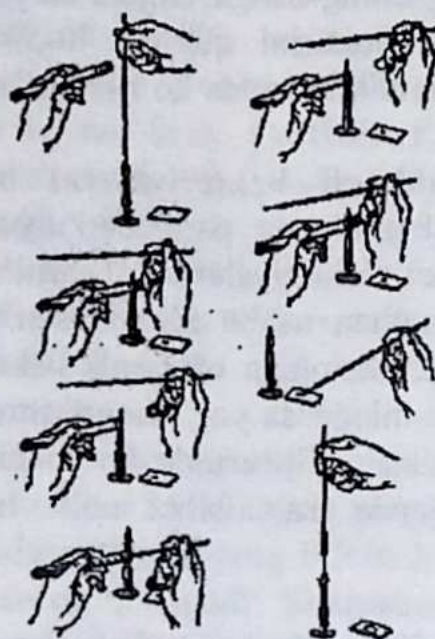
1.Fiksasiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'ozi qo'yib, ustiga karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdirib va 5-7 daqiqa ko'prikchada turadi.

# Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari

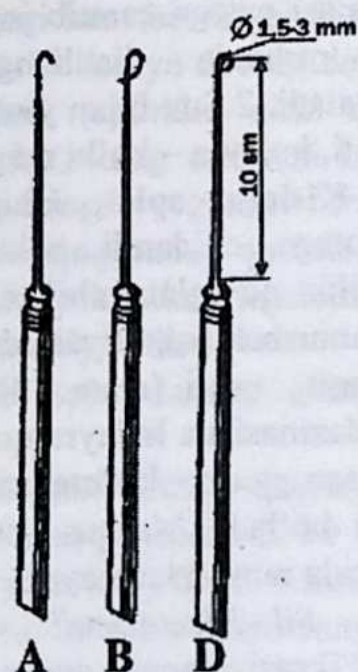


Rasm 10. Bakteriyalarning asosiy shakllari

- |                   |                        |                    |
|-------------------|------------------------|--------------------|
| 1. mikrokokklar   | 1. monobakteriyalar    | 1. vibriolar       |
| 2. diplokokklar   | 2. diplobakteriyalar   | 2. leptospiralalar |
| 3. tetrakokklar   | 3. streptobakteriyalar | 3. spiroxetalar    |
| 4. streptokokklar | 4. klostridiyalalar    | 4. spirillalar     |
| 5. stafilokokklar | 5. basillalar          |                    |
| 6. sarsinalar     |                        |                    |

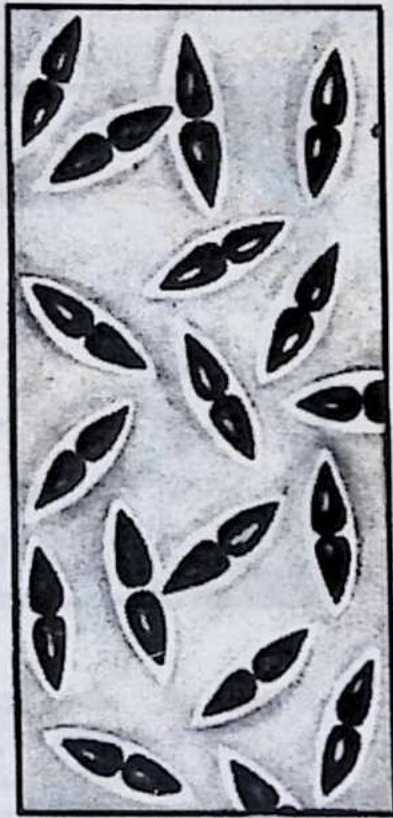


Rasm 11. Surtma-preparat tayyorlash sxemasi

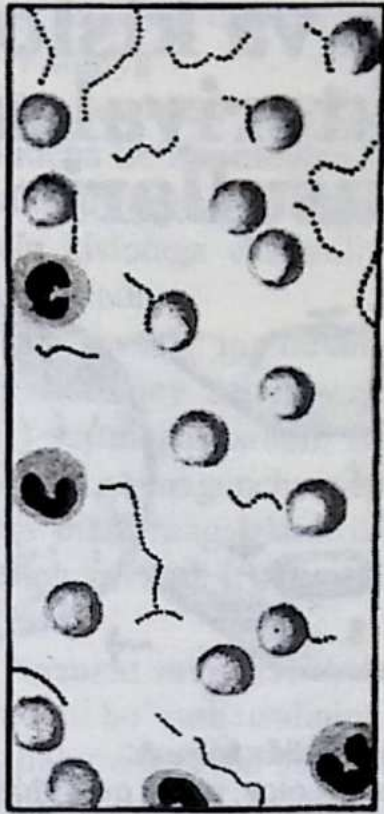


Rasm 12. Bakteriologik ilmoqlar:  
A va B - noto'g'ri; D - to'g'ri tayyorlangan

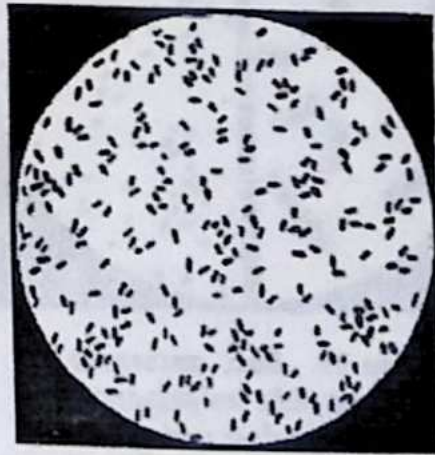
# Gram usulida bo'yalgan surtmalarda bakteriyalarning ko'rinishi



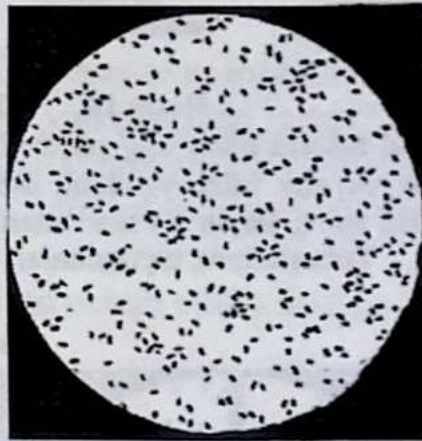
Rasm 13. *Diplococcus pneumoniae*



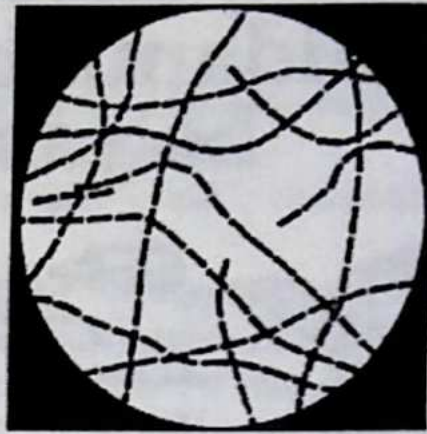
Rasm 14. *Streptococcus pyogenes* qonda



Rasm 15. *E. coli* - grammanfiy tayoqchalar

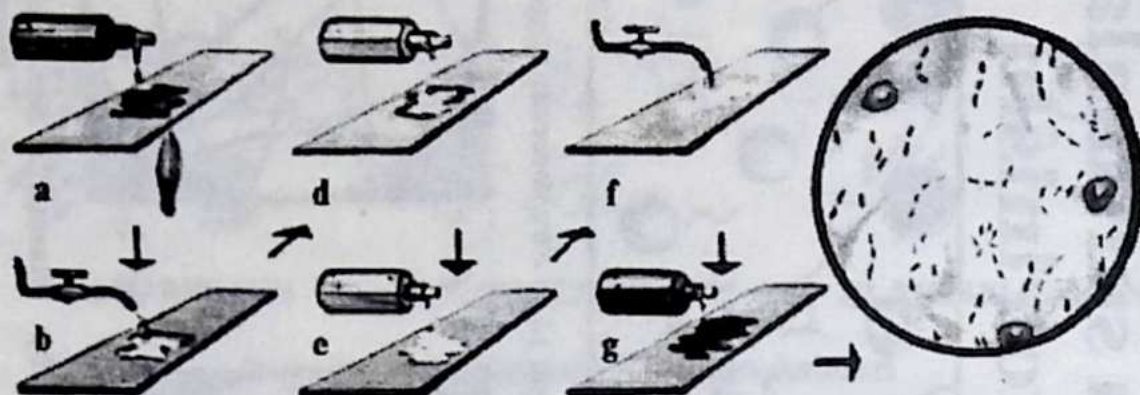


Rasm 16. *Salmonella* - grammanfiy tayoqchalar



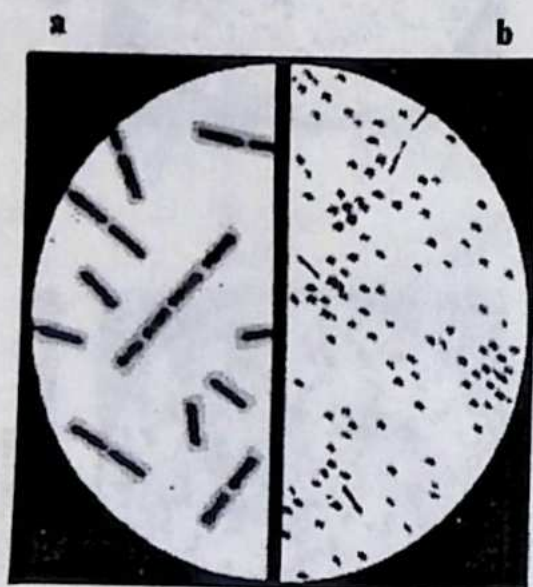
Rasm 17. *Bac. anthracis* - grammusbat tayoqchalar

# Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari

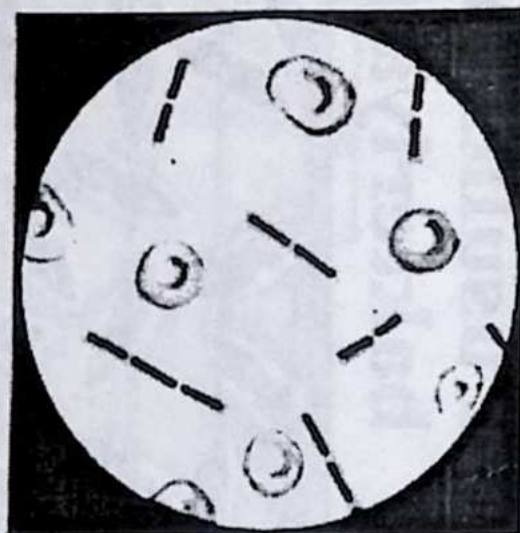


Rasm 18. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

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



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



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

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

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

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

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (diagnostika infeksiionix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. M., Kolos, 1968, s.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug' paydo bo'lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislotaga bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirt (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (rasm 18).

### Nazorat savollari

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

#### 4. Laboratoriya mashg'uloti №4

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

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

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

##### **Uslubiy ko'rsatmalar.**

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

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

kiradi (mikomisetlar). Ularning miseliysi giflari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat.

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

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

#### **Zamburug'larning suslo agarda o'sishi.**

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

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

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

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

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

solinadi. Miseliy iplarini tarqatib, yopqich oyna bilan yopiladi. Mukordan tayyorlangan preparat mikroskopning x8 ob'ektivida, penisillium, aspergilluslar x40 ob'ektivda ko'riladi.

**Aktinomisetlar (nursimon zamburug'lar).** Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomisetlar miseliysining giflari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarining qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Miseliysi avval substratli keyin havoli bo'lib, koloniyalar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zich konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi.. Aktinomisetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomisetlar aerob, kraxmal – ammiakli agarda 30 – 35<sup>0</sup>Cda o'sadi.

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

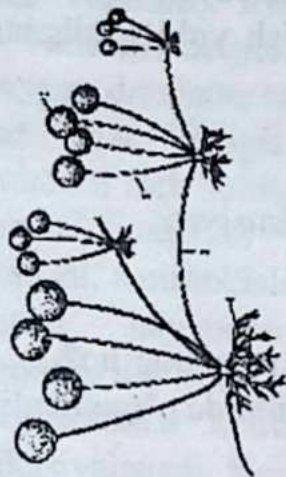
**Achitqilar (drojji)** – xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular miseliyasiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar (rasm 24). Achitqi hujayralarining qobig'i, sitoplazmasi, shakllangan o'zagi bor. Sitoplazmada vaqt o'tishi bilan vakuolalar paydo bo'ladi. Ularning diametri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

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

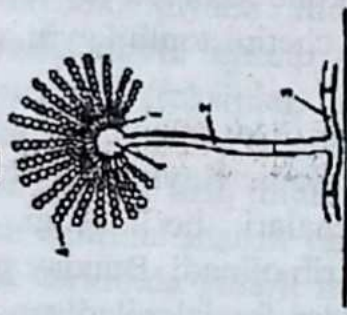
### **Bakteriyalarning harakatini o'rganish.**

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

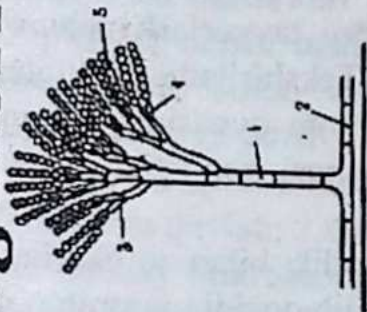
# Zamburug'larning morfologiyasi



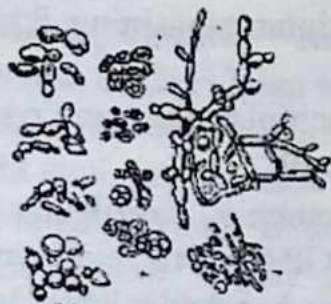
Rasm 21. *Mucor* - boshchali moq'orning tuzilishi  
1-sporangiy; 2-sporangiofor;  
3-stolon; 4-rizoidlar.



Rasm 22. *Aspergillus* - zamburug'ning tuzilishi  
1-sterigmalar; 2-konidiofor;  
3-vegetativ gif; 4-shakli kengayish; 5-konidiyalar.



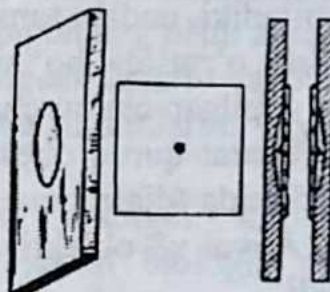
Rasm 23. *Penicillium* - zamburug'ning tuzilishi  
1-konidiofor; 2-vegetativ gif;  
3-metularlar; 4-sterigmalar;  
5-konidiyalar.



Rasm 24. Achitqi va achitqisimon zamburug'lar:  
1-haqiqiy achitqilar (saxaromisetlar);  
2-sporali asklar; 3-achitqisimon zamburug'larning psevdomibeliylari blastosporalari bilan.



Rasm 25. Takomillashtirgan zamburug'-trixofiton:  
1-xlamidosporalar; 2-miseliyning shoxlanishi;  
3-sochda mikrokonidiy zanjirlari;  
4-makrokonidiylar.



Rasm 26. Osilgan tomchi usulda preparat tayyorlash



Monotrixlar



Leptotrixlar



Amfitrixlar



Peritrixlar

Rasm 27. Bakteriyalarda xivchilarning joylashishi

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

2. Lofotrix - tanasining bir uchida bir tutam xivchinlar joylashgan.

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

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

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

«Osilgan» tomchi preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun o'rtasi chuqur maxsus buyum oynasi ishlatiladi. Tekshiriladigan materialdan qoplagich oynaga bir tomchi tomiziladi. Buyum oynasidagi chuqurning chetlariga vazelin surtiladi. Keyin buyum oynasi qoplagich oyna ustiga shunday yopiladiki, undagi tomchi

chuqurchaning o'rtasida bo'lsin. Oyna ehtiyotlik bilan to'nkariladi, ana shunda zich yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (rasm 26). Preparat quruq obektiv sistemasida, yengil qorongilashtirilgan ko'rish maydonida (diafragma va tushirilgan kondensordan foydalaniladi) tekshiriladi. Avval x8 ob'ektivda tomchining chetini topib keyin x40 -60 ga o'tkaziladi.

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

#### **Nazorat savollari:**

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

## 5. Laboratoriya mashg'uloti №5

### Mavzu: Oziqa muhitlari.

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

1.Quruq oziq bulonidan va agardan oziq muhitini tayyorlash, uni probirkalarga quyish; 2.Go'sht-peptonli bulonning pHni aniqlash.

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

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

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

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

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

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

Oziq muhitlar kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi bo'yicha klassifikasiyalanadi. Kelib chiqishi bo'yicha tabiiy, sun'iy va sintetik oziq

muhitlar farqlanadi. Tabiiy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlaridan (go'sht, sut, tuxum, qon zardobi, sabzavotlar, kazein va boshqalardan) tayyorlanadi. Sun'iy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlari, mineral tuzlardan tayyorlanadi (GPB, GPA, GPJ). Sintetik oziq muhitlar tarkibi aniq nisbatlarda olingan kimyoviy toza moddalar-aminokislotalar, uglevodlar, vitaminlar, mineral tuzlardan tayyorlanadi (Saburo, Chapek muhitlari).

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

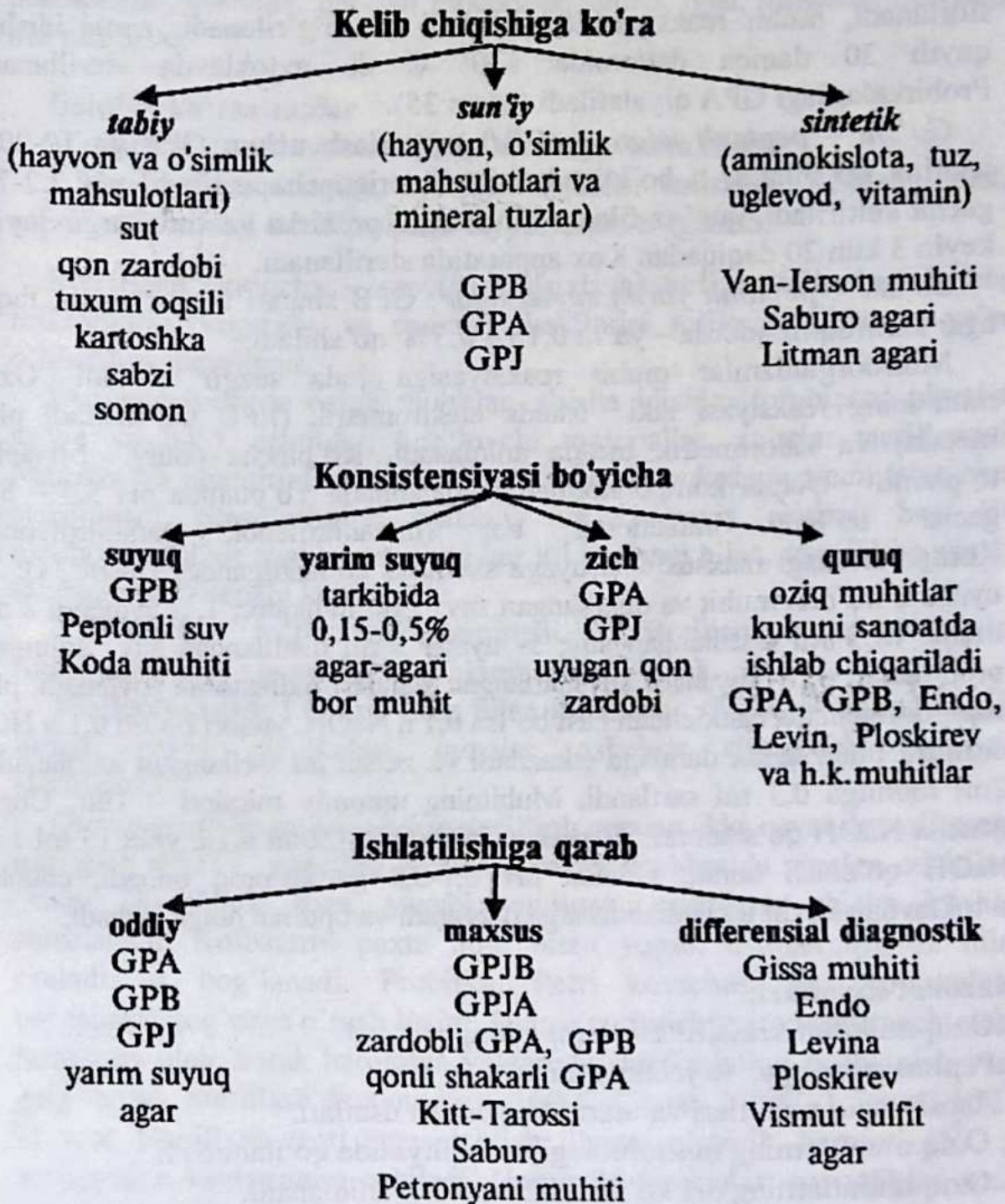
Ishlatilishiga ko'ra oziq muhitlar oddiy, maxsus va differensial - diagnostik turlariga bo'linadi. Oddiysiga go'sht-peptonli bulon (GPB), go'sht peptonli agar (GPA) va go'sht peptonli jelatina (GPJ) kiradi. Ular juda ko'p mikroorganizmlarni o'stirishda ishlatiladi. Maxsus oziq muhitlar oddiy oziq muhitlarda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

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

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

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

## Oziqa muhitlarning klassifikatsiyasi



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

*Go'sht – peptonli agar (GPA)* tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib ketgunicha qaynatiladi, so'ngra pH 7,2-7,4 aniqlanadi. Paxta-doka yoki filtr qog'ozda filtrlanadi, muhit reaksiyasi tekshiriladi va to'g'rilanadi, zarur idishga quyib 30 daqiqa davomida 120<sup>0</sup> C da avtoklavda sterillanadi. Probirkalardagi GPA qiyalatiladi (pasm 35).

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

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

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

#### **Nazorat savollari:**

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

## 6. Laboratoriya mashg'uloti №6

### Mavzu: Sterilizasiya usullari.

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

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

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

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

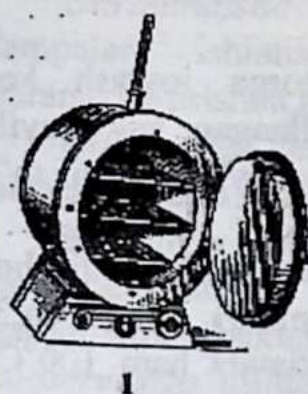
*Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash* maxsus ikki qavat devorli metal quritgich shkaf - yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (rasm 28). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterillanadi. Kolbalarni paxta tiqin bilan yopib, ustidan qog'oz bilan oraladi va bog'lanadi.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

# Sterillash usullari

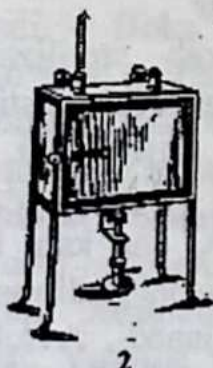
fizikaviy				kimyoviy
quruq issiqlik	nam issiqlik	filtrlash va h.k.usullar		
<p><b>1. Olov yordamida sterillash</b> flombirlash (bakteriologik ilmoq, pinset va h.k. metall predmetlar)</p> <p><b>2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar).</b> Quritgich shkalalarda sterillash vaqti: 160° da - 2 soat 170° da - 1,5 soat 180° da - 1 soat</p>	<p><b>1. Qaynatish</b> - sterilizatorida 20-30 min (shpris, igna, pinset, qaychi, skalpel va h.k.)</p> <p><b>2. Oquvchi bug' bilan bo'lib-bo'lib (100°C dan yuqori bo'lmagan haroratda).</b> Kox aparati 100°C 30-40 min. 3 kun. a) tindalizatsiya (suv hammomida 100°C dan past haroratda bo'lib-bo'lib sterillash) 70-80°C-3 kun 60-65°C-5 kun 56-58°C-6-7 kun (kolloid eritmalar, zardob va oqsil saqlovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi.</p> <p><b>3. Yuqori bosim ostida (avtoklavda) sterillash</b> 0,5 atm - 110-112°C 1 atm - 120-121°C 1,5 atm - 124-126°C 2 atm - 132-133°C</p> <p><b>4. Pasterizatsiya.</b> Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min qizdirib tezda (4-8°C cha) sovutiladi - sut, go'sht, baliq va sabzavot konservalari.</p>	<p>Suyuqliklar quyidagi filtrlardan o'tkaziladi: 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeyts 4) Membranali filtr (ultrafiltrlar)</p> <p><b>Ultrabinafsha nurlari</b> bilan bakterioid lampalar yordamida boks, operatsiya xonakari havosi sterillanadi.</p> <p><b>Ultratovush yordamida</b> (suv, sut, ba'zi teri xom ashyosi mahsulotlan)</p>	<p>I. Oziq muhit, vaktsinadavolovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. xloroform</li> <li>2. toluol</li> <li>3. efir</li> <li>4. fenol</li> <li>5. formalin</li> <li>6. mertiolat</li> <li>7. bor kislotasi</li> <li>8. gliserinlar bilan.</li> </ol> <p>II. <b>Dezinfektsiya</b> uchun: 1-3% li xloramin 3-5% li fenol 70% li spirt va hokazo.</p>	

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

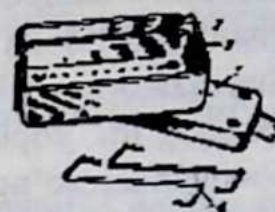
# Sterilizasiya



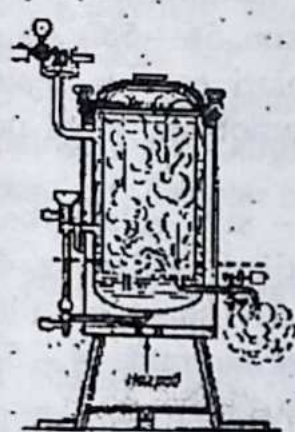
Rasm 28. Quritgich shkaflar  
1-elektorli yumoloq; 2-Paster pechkasi.



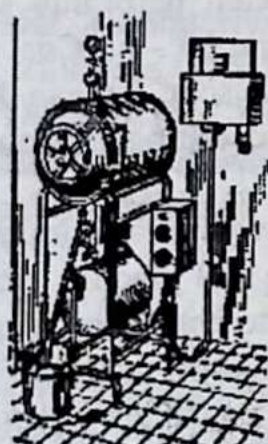
Rasm 29. Oquvchi  
bug'li Kox apparati



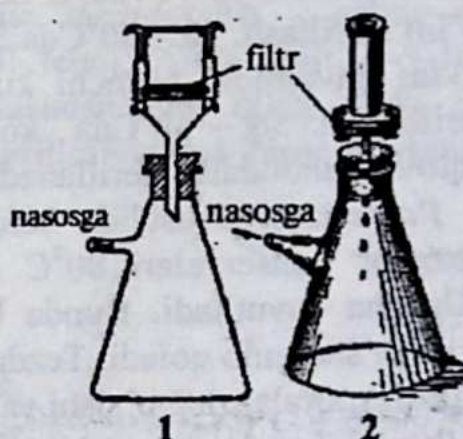
Rasm 30. Sterilizator  
1-qopqog'i;  
2-korpusi;  
3-setkasi;  
4-setkani ilgich



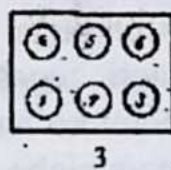
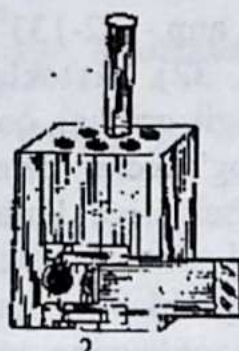
Rasm 31. Vertikal  
avtoklav sxemasi



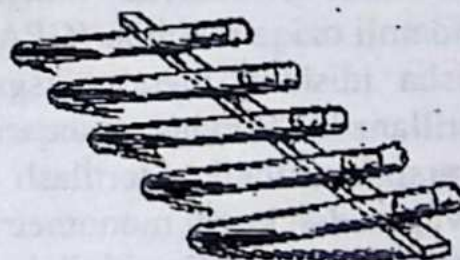
Rasm 32. Gorizontaal  
avtoklav



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



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



Rasm 35. Agarni qiyalatish

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

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

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

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

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

*Filtrlash usulida* sterillanuvchi suyuqlik bakteriologik filtrlardan (rasm 33) o'tkaziladi. Qattiq – keramikali (silindr shaklli Shamberlan, Berkefeld), asbestli (plastina ko'rinishida Zeyts, F<sub>2</sub> va SF) va membranali (g'ovakli ultrafiltrlar, kollodiyli membranalar) filtrlar bo'ladi.

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

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

**Kimyoviy moddalar yordamida sterillash** laboratoriya amaliyotida chegaralangan. Bu usul asosan: vaktsina, davolovchi va diagnostik zardoblarni bakterial zararlanishdan saqlash uchun ishlatiladi - *konservatsiya* qilinadi. Vaktsina va zardoblar – fenol (0,25 – 0,5% li), xloroform (0,5% li), formalin (0,05% li), mertiolat (1:500 - 1:10 000) bilan; agglyutinasiyalanuvchi zardoblar bor kislotasi, toluol, gliserin bilan.

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

#### **Nazorat savollari:**

1. Sterillashning fizikaviy usullarini ayting.
2. Sterillashning kimyoviy usullarini ayting.
3. Sterilizatsiya usullari qanday talablarga javob berishi kerak.
4. Sterilizatsiya qilish usullari va ularga qo'yilgan umumiy talablarni ayting?
5. «Sterilizatsiya», «Dezinfeksiya» tushunchalarining mohiyati va amalda ishlatilishi?

## 7. Laboratoriya mashg'uloti №7

### **Mavzu: Mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratish. Mikroorganizmlarni sanash usullari.**

**Mashg'ulotning maqsadi:** sof kulturani ajratish usullarini o'zlashtirish. Tuproq, suv va havodagi mikroorganizmlarni ketma-ket suyultirish va zich oziq muhitlarga ekib miqdorini aniqlash.

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

#### **Uslubiy ko'rsatmalar**

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

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

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

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

*Kox usuli* 5-6 probirkada eritilgan va 45-50<sup>0</sup>C gacha sovutilgan GPA 10-15 ml-dan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har-bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'ng'irilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar shaklida bizni qiziqtirgan sof kultura o'sib chiqadi. Alohida koloniyadan steril GPB, GPA larga ekiladi. Kox Paster usulidan foydalanib, faqat suyuq muhit o'rniga zich oziq muhitini ishlatgan (rasm 38). Suv, sut, tezak va h.k. materillarni tekshirishda qo'llanadi.

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

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

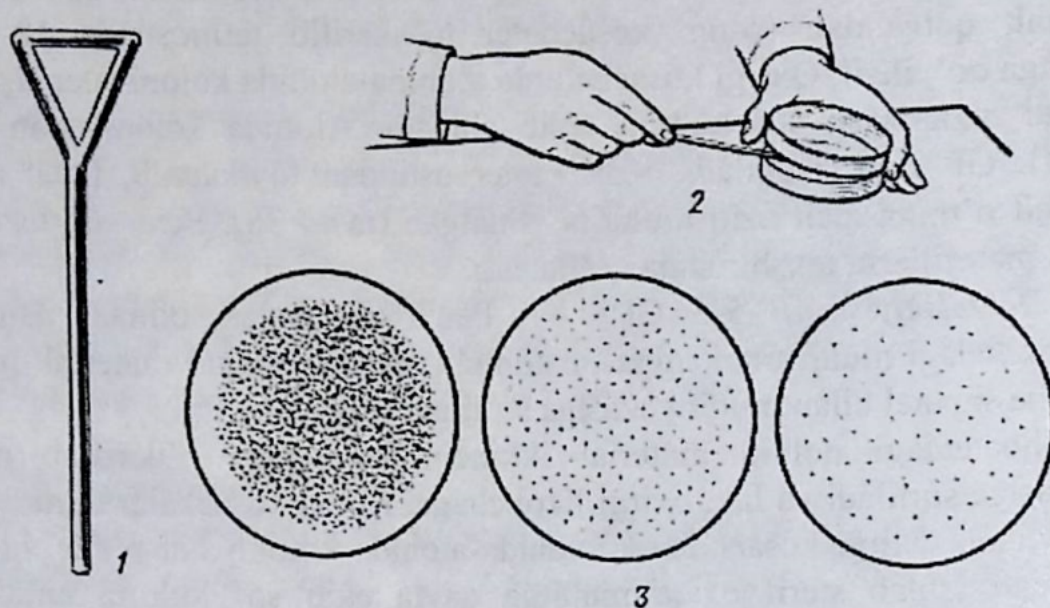
*Fizikaviy usul* - ko'pincha bakteriyalarning sporalari shakllarini, sporasizlaridan ajratishi uchun qo'llaniladi. Tekshirilayotgan material suspenziyasi 80<sup>0</sup> C da 30-40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o'ladi, sporalari qoladi. Tekshirish Drigalskiy yoki Kox usullarda davom ettiriladi.

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

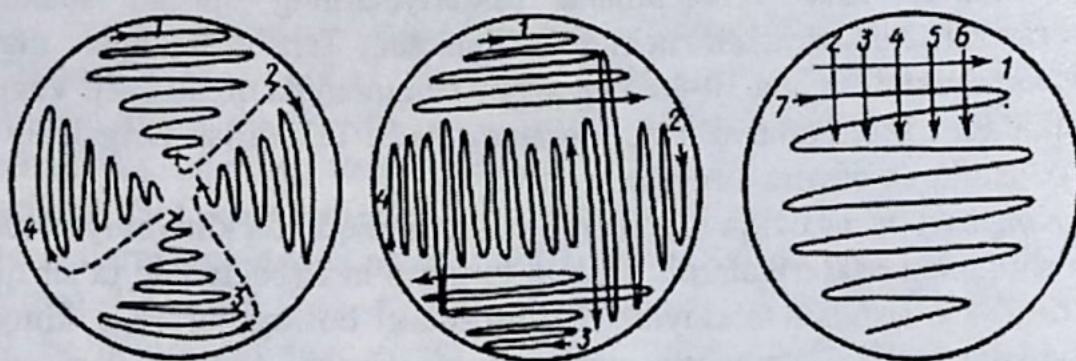
*Biologik usul* – patogen mikroblarning sof kulturasini ajratishda qo'llaniladi: tekshiriladigan material (to'qima, bakteriya) suspenziyasi bilan moyil laboratoriya hayvoni(oq sichqon, dengiz cho'chqasi, quyon) zararlantiriladi. Materialda patogen mikrobo'lsa hayvon kasallanib o'ladi. O'lgan hayvonni yorib, uning ichki organlaridan oziqa muhitlarga ekilganda patogen mikrobningsof kulturasini ajraladi.

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

# Sof kultura ajratish usullari



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



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



Rasm 38. Suyultirish usulida olingan anaerob bakteriyalarning chegaralangan koloniyalari

31.-

**Anaeroblarning sof kulturasini ajratish usullari** ham yuqorida ko'rsatilgan prinsiplarga asoslanadi. Lekin maxsus anaerob mikroblar o'sadigan muhitlardan foydalaniladi.

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

*Vilson-Bler muhitiga ekish usuli* - oziqa muhitda alohida-alohida qora rangli koloniyalar o'sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekkanda sof kultura ajratiladi.

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

**Nazorat savollari:**

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

## 8. Laboratoriya mashg'uloti №8

### Mavzu: Atrof muhit ob'yektlarini mikrobiologik tekshirish usullari

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni atrof muhit ob'yektlari holatini sanitar - mikrobiologik baholashning asosiy usullari va ko'rsatkichlari bilan tanishtirish.

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar.

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

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

Mikrob bilan zararlanish tekshirilayotgan ob'ektning ma'lum hajm va massa birligidagi ( $1 \text{ sm}^3$  suv,  $1 \text{ g}$  tuproq,  $1 \text{ m}^3$  havo) mikroorganizmlarning umumiy miqdori – ya'ni mikroblar soni bilan ifodalanadi. Ulardagi sanitary ko'rsatkichli bakteriyalar titr va indekslarda baholanadi. Ushbu bakteriyalar topilgan minimal hajm yoki massa titr deb aytiladi. 1 litr suyuqlik, 1kg tuproq,  $1 \text{ m}^3$  havodagi sanitary ko'rsatkichli bakteriyalar soniga indeks deb ataladi.

Sanitar ko'rsatkich hisoblangan ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari enterobakteriya oilasining turli avlodlariga mansub.

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

Xlorlangan suvni tekshirishdan avval  $\text{Na}_2\text{HSO}_3$  bilan 1 litr suvga 10 ml hisobidan qo'shib neytrajash kerak.

Namuna olingandan bakteriologik tekshirishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan ko'p bo'lmasligi lozim ( $1-1,5^{\circ}\text{C}$  haroratda 6 soatgacha saqlash mumkin).

Suvda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash. Suv quvuridan olingan suv namunasi 1 ml hajmda, ochiq suv havzalardan olinganlari esa – 1,0; 0,1; 0,01 ml hajmlarda olinadi. 0,1 va 0,01 ml suvni ekish uchun tekshirilayotgan suv suyultiriladi. Buning uchun probirkadagi 9 ml steril suvga 1 ml suv namunasi pipetkani suv sathidan 3 mm pastga tushirib qo'shiladi. Boshqa steril pipetka bilan puflab aralashtiriladi va undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,1 ml suv namunasi olingan bo'ladi). Birinchi probirkadan 1 ml olib, ikkinchi probirkadagi 9 ml steril suvga qo'shiladi. Undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,01 ml suv namunasi olingan bo'ladi). Petri kosachalaridagi barcha namunalar ustiga 10-12 mldan eritilib  $45-50^{\circ}\text{C}$  cha sovutilgan GPA quyib, aylanma harakat bilan yaxshi aralashtiriladi. GPA qotgach Petri kosachalarini to'nkarib, ekmalarni  $37^{\circ}\text{C}$ da 1-2 sutka o'stiriladi. Ochiq havzalardan olingan namunalar ikkitadan Petri kosachalariga ekiladi. Bir qatori  $37^{\circ}\text{C}$ da bir sutka, qolganlari  $20^{\circ}\text{C}$ da 2 sutka o'stiriladi. Keyin ularning yuzasida va ichkarida o'sgan koloniyalar sanaladi hamda suvdagi mikroblarning umumiy soni – ya'ni 1 ml suvdagi mikroorganizmlar soni hisoblanadi.

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

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

*Titrlash usuli.* Har hil hajmdagi suv namunalari glyukozapeptonli muhitga (1% peptonli suv, 0,5 % li glyukoza eritmasi, 0,5 % NaCl eritmasi, Andrade va bir tomoni kavsharlangan naycha) ekiladi. Katta hajmli (100 va 10 ml) suv namunalari ekish uchun komponentlar 10 marta orttirilgan konsentrlangan holda ishlatiladi. 10 ml konsentrlangan muhitga 100 ml tekshirilayotgan suv, 1 ml konsentrlangan muhitga 10 ml suv namunasi ekiladi.

Ochiq suv havzalari namunalaridan 100, 10, 1 va 0,1 ml hajmda tekshiriladi. Suv quvuridan olingan suv namunalari tekshirish uchun 3 ta 100 mldan, 3 ta 10 ml va 3 ta 1 ml hajmdan ekiladi. Ekmalar bir sutka 37<sup>0</sup>Cda o'stiriladi. Naychada gaz pufakchalarining borligi bijg'ishdan dalolat beradi. Bijg'igan yoki loyqalangan namunalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi va oksidaza testi qo'yiladi. Oksidaza testi Esherichia, Citrobacter va Enterobacter avlodlariga mansub bakteriyalarni suvda uchraydigan Pseudomonadaceae oilasiga mansub grammanfiy bakteriyalardan hamda boshqa oksidaza hosil qiluvchi bakteriyalardan farqlashga imkon beradi. Buning uchun shisha tayoqcha bilan 2-3ta koloniya oziqa muhit yuzasidan olinadi va dimetil - n - fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga shtrixlar shaklida o'tkaziladi. Oksidaza testi manfiy bo'lsa qog'oz rangi o'zgarmaydi, musbat bo'lsa - u bir daqiqa ichida ko'k ranga bo'yaladi.

Oksidaza hosil qilmaydigan grammanfiy tayoqchalar, qayta bijg'ish testida tekshiriladi - 0,5 %li glyukozali yarimsuyuq go'sht peptonli agarga ekiladi, 37<sup>0</sup>Cda 1 sutka o'stiriladi. Natija musbat bo'lsa koli - titri va koli - indeksi statistik jadval bo'yicha aniqlanadi (jadval 1).

Jadval 1

Suvda ichak tayoqchasi indeksini aniqlash

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

Suv quvurlarining suvi uchun koli – titr 333dan, ochiq suv havzalari uchun 111 mldan kam bo'lmashligi kerak.

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

Suv quvurlari va artezion suv namunalari 333 ml hajmda filtrlanadi. Ochiq suv havzasidan olingan toza suv namunasi 100, 10, 1,0 va 0,1 ml hajmda filtrlanadi. Nisbatan iflosroq suv namunasini filtrlashdan avval steril suv bilan suyiltirish kerak. Keyin filtrni Petri kosachasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi va 37<sup>0</sup> Cda 1 sutka o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi.

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

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

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

**Havo mikroflorasi.** Hayvonning miqdoriy mikrobiologik tekshirish usullari cho'ktirish (sedimentasiya), aspirasiya yoki filtrasiya prinsiplariga asoslangan.

*Sedimentasion usul.* Go'sht peptonli agar solingan ikkita Petri kosachani ochib xonada 5-10 daqiqa davomida qoldiriladi, keyin ekmalar termostatda 37<sup>0</sup>Cda o'stiriladi. Ikkala kosachada o'sib chiqqan koloniyalarning soni yig'indisi bo'yicha natija baholanadi: 250dan kam koloniya bo'lsa-havo toza hisoblanadi; 250-500-o'rtacha ifloslangan; 500 koloniyadan ortiq-ifloslangan.

Aspirasion usul. Havodagi mikroblar sonini aniqlashning eng ishonchli usuli havoni ekish uskunalar yordamida bajariladi.

Krotov apparati.(rasm 39) shunday tuzilgan-ki, havo berilgan tezlikda agarli Petri kosachasi yuzini yopib turgan pleksiglas plastinaning tor tirqishidan o'tadi. Bunda tarkibida mikroorganizmlar bor aerosol qismlari oziqa muhit yuzasiga bir xilda tushadi, chunki kosacha tirqish ostida bir xilda aylanib harakatda bo'ladi.

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

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

A-kosachada o'sgan koloniyalar soni;

V-uskunadan o'tgan havo hajmi, dm<sup>3</sup>;

1000-izlanayotgan havo hajmi, dm<sup>3</sup>.

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

Oziqa muhit tarkibi. Gensian binafshali qonli agar: 2% oziqa agari, 5-10% fibrinsizlantirilgan (ot, quyon yoki qo'y) qoni va gensian binafsha (1:50.000). Tuxum sarig'i-tuzli agar: 2% oziqa agari, 10% natriy xlorid, 20% (hajmi bo'yicha) tuxum sarig'i (1 ta tuxum sarig'i 200 ml natriy xloridning izotonik eritmasi).

Havoni tekshirish uchun boshqa uskunalar (Dyakov, Rechmen, Kiktenko, PAB-1-aerozoli bakteriological namuna olgich, POV-1-havo olish uchun uskuna, unda ma'lum hajm havo suyuqlik yoki filtrdan o'tkazilib, keyin oziqa muhitlariga o'lchovli ekishlar qilinadi). Bu uskunalarda katta hajmli havolarni tekshirish hamda patogen bakteriya va viruslarni aniqlash mumkin. Mikrobiologik bokslar, jarrohlik, akusher-ginekologik va boshqa xonalar havosi unda patogen, shartli-patogen bakteriyalar-infeksiya qo'zg'atuvchilarini (stafilokokklar, ko'k yiring tayoqchalar va boshqa grammanfiy bakteriyalar) aniqlash maqsadida tekshiriladi.

**Tuproq mikroflorasi.** Tuproqning sanitar-mikrobiologik tahlilida undagi mikroblar soni, kolititr, perfringens-titr va termofil bakteriyalarning titri aniqlanadi. Zarur holatlarda nitrifikasiyalovchi va

ammoniy-fikasiyalovchi bakteriyalar, aktinomisetlar, zamburug'lar, sellulozali va boshqa mikroorganizmlar tarkibi tekshiriladi.

Tuproqni tekshirish uchun steril pichoq bilan 10-15 sm chuqurlikdan olib (tekshirilayotgan hududning har xil joyidan 10 ta namunadan kam bo'lmasligi kerak), steril bankaga solinadi. Namunalardan 30g o'lchab, kolbadagi suvga (270 ml) solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. Ushbu suspenziyadan  $10^1$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  suyultirmalar tayyorlanadi. Oxirgi ikkitasidan 0,1 ml olib 40ml 0,7%li eritilgan va  $45^{\circ}\text{C}$  gacha sovutilgan go'sht peptonli agar bilan aralashtiriladi. Keyin Petri kosachadagi 2%li GPA ustiga quyiladi. Ekmalar  $37^{\circ}\text{C}$ da o'stiriladi.

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

### **Tuproqning koli-titri, perfringens titri va termofil bakteriyalarning titrini aniqlash.**

Tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini probirkalardagi Keyssler muhitiga ekiladi va  $43^{\circ}\text{C}$  da 48 soat davomida o'stiriladi. Keyin tahlil suvning koli-titrini aniqlaganda qo'llangan sxema bo'yicha davom ettiriladi.

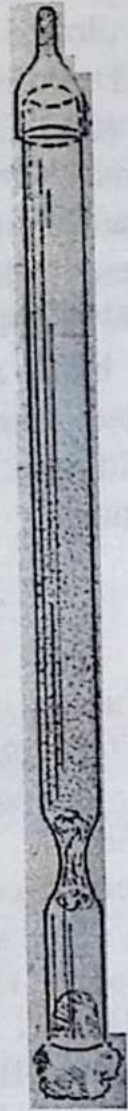
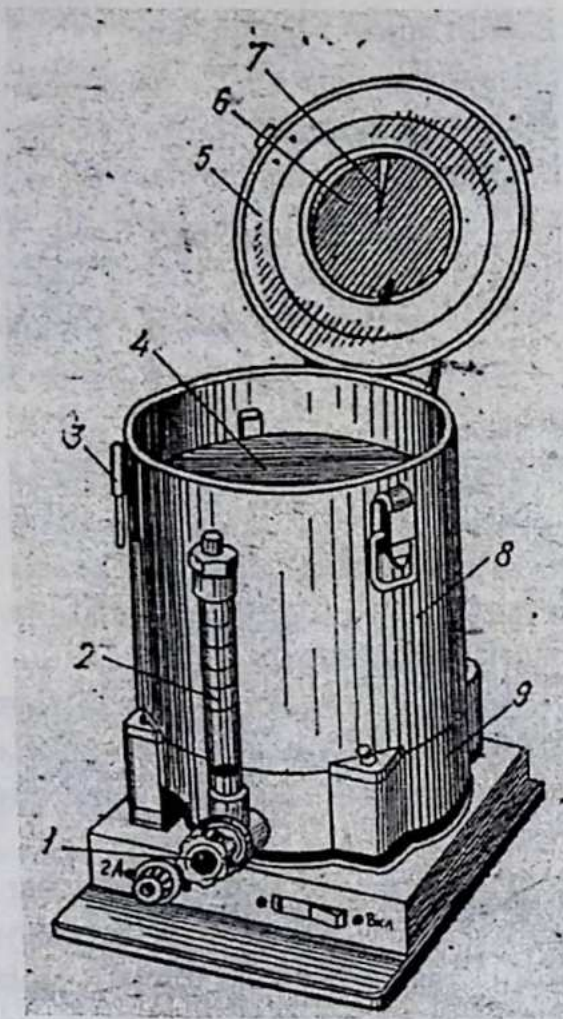
Perfringens-titrining aniqlash uchun tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini (1 ml) probirkalarda steril yog'sizlantirilgan sut yoki extempore tayyorlangan temirsulfitli Vilson-Bler muhitiga ekiladi. Ekmalar  $43^{\circ}\text{C}$  da 24-48 soat davomida o'stiriladi va natijasi sutning ivishi yoki Vilson-Bler muhitiga Clostridium perfringens ning qora kaloniyalari hosil bo'lishi bilan hisobga olinadi. Kaloniyalardan surtmalar tayyorlanib, Gramm usulida bo'yaladi, mikroskopda ko'rib, perfringens titri aniqlanadi.

Termofil bakteriyalarining titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyalarining suyultirmalaridan (1ml) Petri kosachasiga quyib, ustiga eritib, sovutilgan go'sht peptonli agar quyiladi. Ekmalar  $60^{\circ}\text{C}$  da sutka davomida o'stiriladi va kaloniyalar sonini sanab, 1 g tuproqdagi miqdori hisoblanadi.

Tuproq kompleks ko'rsatkichlar, bo'yicha sanitar-mikrobiologik baholanadi. Ular ichida najas bilan zararlanish darajasi nihoyatda muhim hisoblanadi.

*Oziqa muhiti tarkibi. Keyssler muhiti:* 1% pepton, 5% o't suyuqligi, 0,25% laktoza, gensian binafsha grammusbat bakteriyalarini o'stirishdan to'xtatish uchun. *Temirsulfitli Vilson-Bler muhiti:* 3% go'sht peptonli agar, 1% glyukoza, 2% natriy sulfit, 0,08% temir xlorid.

## HAVO MIKROFLORASINI TEKSHIRISH



Rasm 39 . KROTOV APPARATINING TUZILISHI

- 1 – ROTOMETRNING JO'MRAGI,
- 2 – ROTOMETR,
- 3 – ILMOQLI QULF,
- 4 – AYLANADIGAN DISK,
- 5 – QOPQOQ, 6 – DISK,
- 7 – PONA, 8 – KORPUS, 9 – OSTI.

MIKEL  
NAYCHASI

### Nazorat savollari:

1. Suvning koli-titri nima? Uni aniqlash usullarini ayting.
2. Bakteriologik tekshirish uchun suv namunalarini olish qoidasini ayting.
3. Suvning umumiy mikroblar soni qanday aniqlanadi.
4. Suvning koli-indeksi qanday usullarda aniqlanadi.
5. Suvning sanitariya holati qaysi ko'rsatkichlar bilan baholanadi.
6. Havo mikroflorasi qanday usullarda tekshiriladi.
7. Tuproq mikroflorasi qanday usullarda tekshiriladi.

## 9. Laboratoriya mashg'uloti №9

### Mavzu: Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.

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

**Material va jihozlar:** Laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqasi, quyon), GPA da bakteriya kulturasi (*E.coli*), steril bakterial probirka, steril fiziologik eritma, steril shpris ignasi bilan, paxtali tamponlar, spirt, pinsent, tegishli jadval va plakatlari.

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

Jadval 2

### Rid va Mench usulida LD<sub>50</sub> ni hisoblash

Bakteriya suspenziyasi miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma'lumotlar		Kumulyativ ma'lumotlar			
		o'ldi	tirik	o'ldi	tirik	O'lganlarini Zararlanganlariga nisbati	o'lim %
1	2	3	4	5	6	7	8
10 <sup>-2</sup>	6	6	0	14	0	14:14	100
10 <sup>-3</sup>	6	5	1	8	1	8:9	88,8
10 <sup>-4</sup>	6	2	4	3	5	3:8	37,5
10 <sup>-5</sup>	6	1	5	1	10	1:11	9
10 <sup>-6</sup>	6	0	6	0	16	0:16	0

Sof kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlashga «biosinov» deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararsizligi ham biosinovda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan mikroorganizmning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroorganizmning virulentlik (toksigenlik) xususiyatlari maxsus shartli birliklarda o'lchanadi: absolyut letal doza (Dcl – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %-li letal doza

(LD<sub>50</sub>) - 50 % zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %-li zararlovchi doza (ZD<sub>50</sub>) - zararlangan hayvonlarni 50 % kasallanadi. LD<sub>50</sub> va ZD<sub>50</sub> – aniq ko'rsatkichlar hisoblanadi, chunki ular tajribaga olingan hayvonlarni ko'p qismini mikrobgga sezuvchanligini ko'rsatadi. Dcl esa chidamli mikrobturlarini sezuvchanligini ko'rsatadi.

Tekshirilayotgan mikrobturlarining LD<sub>50</sub> ko'rsatkichi quyidagicha aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikrobturlar bo'lgan suspenziyadan ketma – ket 500 mln, 250 mln, 125 mln, 62.5 mln li suyultirmalar tayyorlanadi. Har biri bilan 6 tadan oq sichqon qorin bo'shlig'i yoki terisi ostiga 0,5 ml dozada zararlanadi. 10 kun davomida kuzatiladi. Odatda qo'zg'atuvchining hech qaysi dozasi zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmaydi. Shuning uchun LD<sub>50</sub> statistik usulda aniqlanadi.

*Rid va Mench usulida LD<sub>50</sub> ni aniqlash.* 2 - jadvalda ko'rsatilgan tajriba natijasining haqiqiy raqamlari 3-4, kumulyativ ma'lumotlar esa 5-6 ustunlarda berilgan. 10<sup>-2</sup> qatordagi 14 raqami shu dozada kichik doza bilan (10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> va boshqalar) zararlangan barcha sichqonlar ham o'lishi mumkin edi degan ehtimoldan kelib chiqadi: 6+5+1=14 ta sichqon. Xuddi shunday 5 ustundagi har bir dozaga qarshi, 6 ustundagi (tirik) barcha dozalar uchun kumulyativ ma'lumot aniqlanadi. Maslan, minimal dozada 10<sup>-6</sup> zararlangan 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlangandan keyin tirik qolgan barcha sichqonlar ham o'lmasligi mumkin edi. Demak, 10<sup>-6</sup> dozada kumulyativ ko'rsatkich: 6+5+4+1=16 ta sichqon. Boshqa dozalar uchun ham ko'rsatkichlar shu tarzda aniqlanadi. Kumulyativ ma'lumotlarga asoslanib har bir dozada zararlaganda o'lgan sichqonlar foizi hisoblanadi. Tajribada hech qaysi doza zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmagan, uni topish uchun matematik hisoblash kerak. Misolimizda LD<sub>50</sub> 10<sup>-2</sup> va 10<sup>-4</sup> o'rtasida, ko'proq 10<sup>-4</sup> ga yaqin. Farqini (37,5 dan 50% gacha) kattasiga nisbatan olib (37,5 dan 88,8% gacha) proporsionallik faktori, ya'ni 10<sup>-4</sup> dozani LD<sub>50</sub> dan farqi aniqlanadi. Bu faktor suyultirish lagorifmiga ko'pautiriladi (faktor=10, lg=1). U 1 ga teng. Uni 10<sup>-4</sup> dan ayirsak LD<sub>50</sub> kelib chiqadi.

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

Demak, LD<sub>50</sub> = 10<sup>-3,756</sup>. Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakteriya suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun lagorifmik jadvaldan foydalaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun 10<sup>9</sup>/ml bakteriya suspenziyasi 0,5 ml

hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda,  $LD_{50} = 10^{-9} \times 0,5:5747 = 87000$  mirrob hujayrasi.

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

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

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

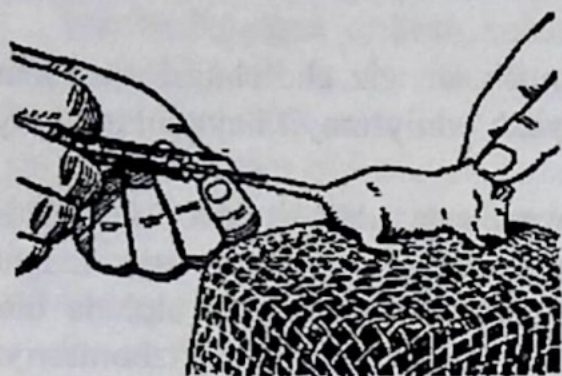
Biosinov o'tkazish uchun sog'lom, bir turda, yoshda va og'irlikda oq sichqonlar – 16 gr, dengiz cho'chqasi -250-300 gr, quyon -2, 3-5 kg tanlanadi. Ularning tana harorati o'lchanadi va belgilanadi: oq sichqon va kalamushlar anilin bo'yoqlar bilan, dengiz cho'chqasi va quyonlar temir sirg'a bilan belgilanadi.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

Hayvonlarning zararlanadigan joyi oq sichqondan tashqari junidan tozalanadi: spirt, 5% yod eritmasi, 2% karbol eritmasi bilan dezinfektsiyalanadi. Laboratoriya hayvonlarini zararlash uchun mikroblar kulturasini, uning toksini yoki patmaterial suspenziyasi qo'llanadi. Suspenziya patmaterialdan steril hovonchada yaxshilab ezib, fiziologik eritma bilan 1:5, 1:10 nisbatda tayyorlanadi.

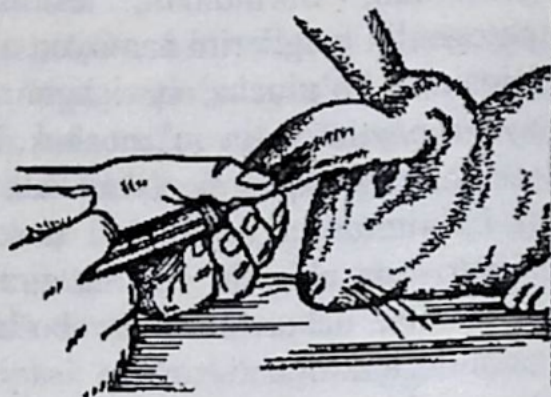
### **Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.**

1. Teri yuzasiga (skarifikasiyalash) – skalpel bilan teri yuzasi tirmaladi va u yerga tekshiriladigan material surtiladi.

# Laboratoriya hayvonlarini zararlash



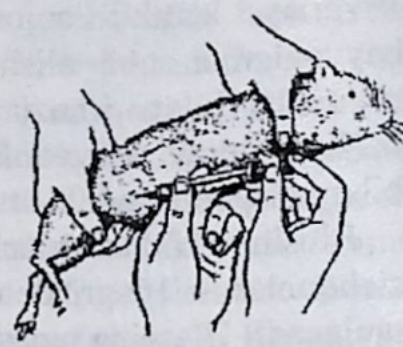
Rasm 40. Sichqonning venasidan zararlash.



Rasm 41. Quyoning quloq venasidan zararlash.



Rasm 42. Qorin bo'shlig'iga zararlash.  
a-katta, b-yosh sichqonga.



Rasm 43. Dengiz cho'chqasini terisi ostiga zararlash.



Rasm 44. Sichqonning miyasiga zararlash.



Rasm 45. Quyoning miyasiga zararlash.

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

3.Teri ostiga–chap qo'l bilan teri ko'tarilganda uch burchak hosil bo'ladi va uning ichkarisiga shprisning ignasi kiritiladi: quyon belining bir tomoniga 20-25 ml, dengiz cho'chqalariga 10 ml (rasm 43), oq sichqon va kalamushning dumg'ozasiga 1-10 ml yuboriladi.

4.Mushak orasiga- ko'pchilik hayvonlarning soniga (ichki tomondan), kabutar va tovuqlarning ko'krak mushagiga (to'shiga), oq sichqonga 0,5 ml, dengiz cho'chqasi va kalamushga 3-5 ml, quyonga 5-8 ml yuboriladi

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

6.Qon tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (rasm 41), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (rasm 40), dengiz cho'chqasining to'g'ridan-to'g'ri yuragiga zararlanadi. Quyon, sichqon, kalamushlarni yuboriladigan yeri issiq suv yoki ksilol bilan ishlov beriladi. Shunda venalar qonga to'lib yaxshi ko'rinadi.

7.Bosh miyaga – quyonlarning ko'z ustidagi suyagi bitmagan joyiga (rasm 41), sichqonga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (rasm 44).

8.Buringa – oldin hayvonning burniga efir bilan namlangan paxta tutib narkozlanadi, keyin pipetka bilan material burniga tomiziladi.

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

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

#### **Nazorat savollari:**

- 1.Hayvonlarni zararlab, biosinov qo'yishdan maqsad nima?
- 2.Mikroorganizmlarning virulentligi qanday shartli belgilanadi?
- 3.Rid va Mench usulida LD<sub>50</sub> ni aniqlash.
4. Laboratoriya hayvonlarning turlari va ularni zararlash usularini ayting.
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi.

## 10. Laboratoriya mashg'uloti №10

### Mavzu: Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari.

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

Diagnostik tekshirishda mikrobnig sof kulturasini ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobnig atrof muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksasiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblardan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (rasm 46), terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinsent bilan qalqonsimon o'simta ushlanib, mushak, ikkala tomon qovurg'alarini yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'krak qafasi ochiladi. Oq sichqonning jigar va talog'i alohida steril Petri kosachasiga olinadi. Undagi o'zgarishlar e'tiborga olinadi jigar, taloq va yurak, o'pka, buyrak sirtini qizigan shpatelda kuydirib, probirkali GPA, GPBlarga ekiladi, surtmalar tayyorlanadi. Ekimali probirkalarga, surtmalarga ekspertiza, organ raqamlari, sanasi yoziladi. Yurakdan steril paster pipetka bilan avval GPB, keyin GPAGa ekiladi.

Xuddi shunday qorin bo'shlig'ini yaxshi ochish uchun qorin devorining chekkalari qaytarilib igna bilan mahkamlanadi. Qorin bo'shlig'i organlaridagi o'zgarishlar ham e'tiborga olinadi. Parenximatuz organlar, limfa tugunlardan, ilikdan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi.

Ekilgan oziq muhitlar termostatga qo'yiladi, preparatlarni bo'yab, mikroskopda ko'riladi.

Jasad qoldig'i avtoklavlanadi yoki maxsus pechlarda kuydiriladi. Kyuveta, taxtachaga 5%li fenol eritmasi quyib 10-12 soat qoldiriladi, ish stoli dezinfeksiyalanadi, asboblari sterillanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan qafas dezinfeksiyalanib, qolgan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

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

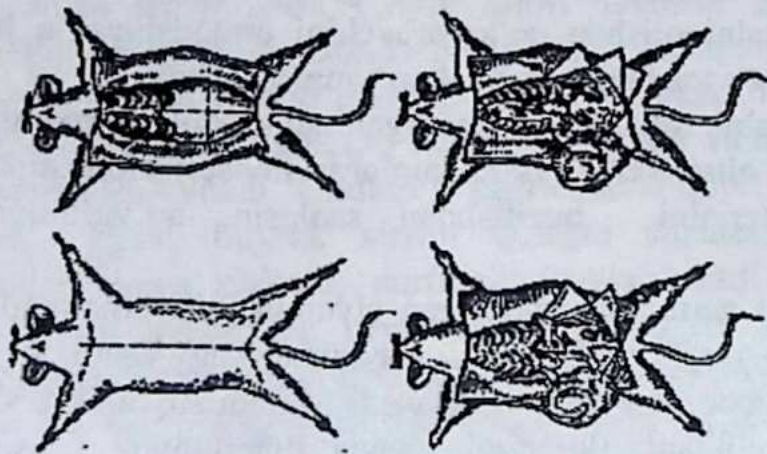
*Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalarga rioya qilish kerak:*

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

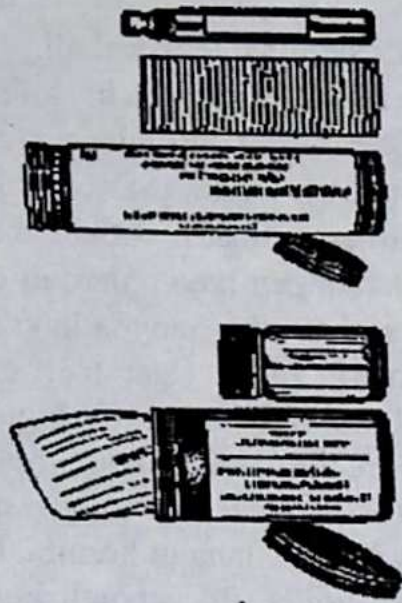
2. Patologik materialni olishda qo'zg'atuvchini tarqalishiga, u bilan hayvon va odamlarning zararlanishiga yo'l qo'ymaslik kerak.

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

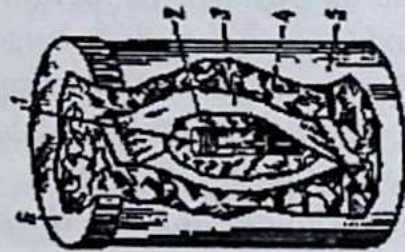
4. Patologik material germetik yopiladigan alyumin yoki emalli idishga joylanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadi yog'och qirindisi solingan zich taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimib oladi). O'ta havfli kasalliklarda (kuydirgi, manqa, tuberkulyoz, brusellyoz, qorason) shisha idishga olingan bo'lsa maxsus konteynerlarga joylanadi (rasm 47-48). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.



Rasm 46. O'lgan sichqonning ko'krak va qorin bo'shligini yorish tartibi.



Rasm 47. Patologik material namunalarini laboratoriyaga yo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).



Rasm 48. Namunani joylash elementlari:  
 1-namuna solingan idish, -uqini leykoplastir bilan o'ralgan probirkalar, yoki, kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiros qog'oz; 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtirilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-g'ijimlangan qog'oz yoki paxta; 5-mustahkam, suv o'tkazmaydigan tashqi konteyner, 6-zich yopiladigan qopqoq.

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

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

Laboratoriyada konservasiya qilinmagan materialni 4<sup>0</sup>Cda 1-2 sutka, 50% li gliserinda konservasiyalangani bir nechta hafta saqlash mumkin. Uzoq saqlash uchun material -15-20<sup>0</sup>C muzlatiladi.

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat: 1. Tekshirilayotgan materialda qo'zg'atuvchini aniqlash: Immunologik bo'lmagan usullar – bo'yalgan preparatlarni mikroskopik tekshirish, genetik usullarda (gen zohdlari, PSR) qo'zg'atuvchinig nuklein kislotalarini aniqlash. Immunologik usullar – serologik (PR, DPR, FAU, IFA va h.k.) reaksiyalarda qo'zg'atuvchi antigenini aniqlash. 2. Biosiniv qo'yish. 3. Materialni oziqa muhitga ekib, qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish. 4. Serologik (retrospektiv) usul – AR, KBR.

#### **Nazorat savollari:**

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

## SEROLOQIK REAKSIYALAR

### 11. Laboratoriya mashg'uloti №11

#### Mavzu: Agglyutinasiya reaksiyasi (AR)

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

**Material va jihozlar:** Probirkalar, 1 va 5 ml. li pipetkalar, Paster pipetkalari, shtativlar, y.sh.h. ijobiy (brusellyozli) zardobi, y.sh.h. normal zardobi; AR uchun brusellyoz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, mavzuga oid plakatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

*Antitela* – q on zardobi globulinli fraksiyasining yuqori molekulyar maxsus oqsillari (immunoglobulinlar). Antigen va antitelalarning *in vitro* o'zaro ta'siri bo'yicha - cho'kmali (agglyutinin, presipitin), erituvchi (bakteriolizin, gemolizin) va neytrallovchi (toksinlarni zararsizlantiradi) reaksiyalar, antitelalar farqlanadi.

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

fiziologik eritmada qo'yiladi, chunki antigen va antitela kuchsiz elektrolit muhitda bog'lanadi.

Agglyutinasiya reaksiyasining mohiyati - qon zardobi tarkibidagi antitela (agglyutinin) maxsus antigen (agglyutinogen) bilan yopishib, cho'kma (agglyutinat) paydo qiladi va probirka tubida xarakterli shaklda joylashadi. Mikroob hujayrasining antigen tuzilishiga bog'liq ravishda - O - somatik antigenlar mayda donador, xivchinli H-antigenlar yirik donador cho'kma paydo qiladi. Veterinariya amaliyotida AR brusellyoz, listerioz, leptospiroz, kampilobakterioz, salmonellyoz, kolibakterioz va h.k. kasalliklariga tashxis qo'yishda ishlatiladi.

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

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

Ishlatiladigan komponentlar: tekshirilayotgan zardob, standart brusellyoz antigeni, elektrolit muhit - fiziologik eritma (0,85% li NaCl). Y.sh.h. zardobi 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatda suyultiriladi. Shtativga qator 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbati tayyorlanadi: 1:25 - 0,1 ml zardob+2,4 ml fiziologik eritma. Qolgan to'rtta probirkalarga bir xilda 1 ml dan fiziologik eritma quyiladi. Keyin maxsus pipetkada ketma-ket suyultiriladi - asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfiksiyalovchi eritmali idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0,05 ml dan antigen quyiladi (1 ml da 10 mlrd mikroob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo'ladi (rasm 49).

Har bir komponent uchun alohida pipetka ishlatiladi. Probirkalar yaxshilab silkitib aralashtiriladi va 37<sup>0</sup>C da 4-6 soat termostatda keyin 14-16 soat uy haroratida turadi. Bir vaqtda nazorat reaksiyasi quyilishi shart:

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

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

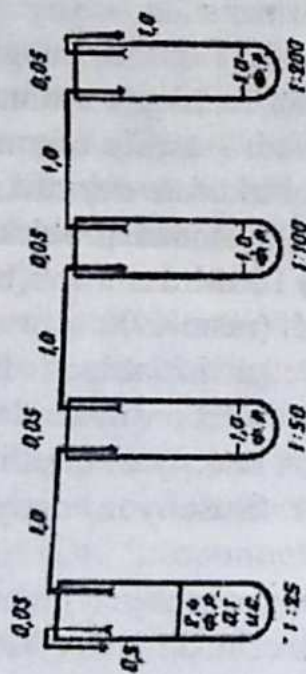
3. Standart brusellyoz antigeni + fiziologik eritma natija (-) manfiy.

Natijani hisobga olish (rasm 51) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

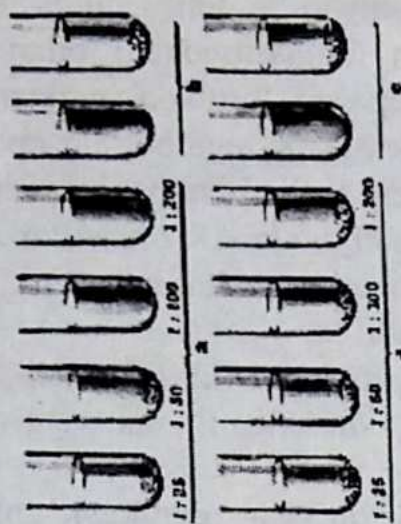
1. Cho'kma soyabon shaklida, suyuqlik tiniq - 100% agglyutinasiya (++++).

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

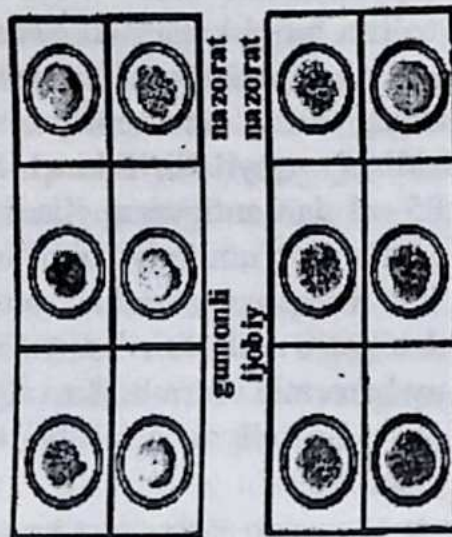
# Agglyutinasiya reaksiyasi



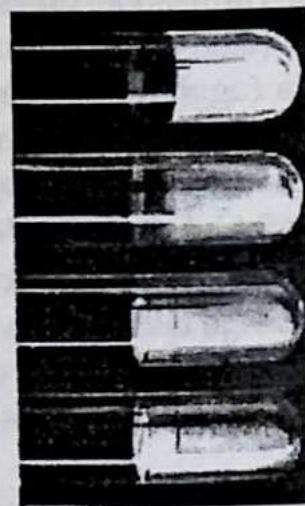
Rasm 49. AR qo'yish sxemasi.



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

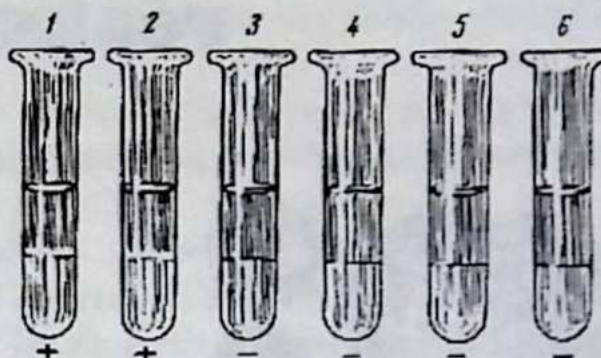
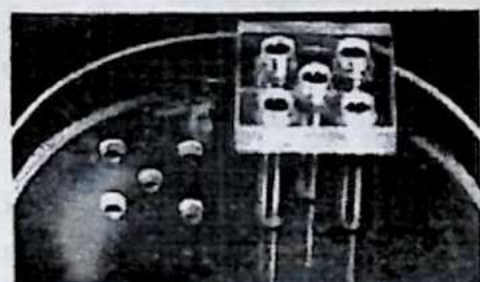
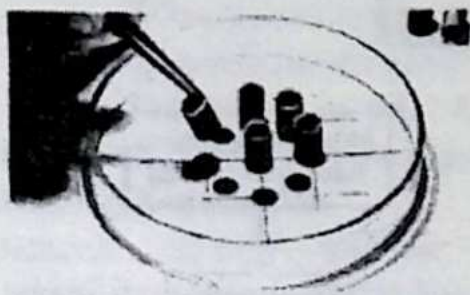


Rasm 51. Plastinkali ARni baholash.

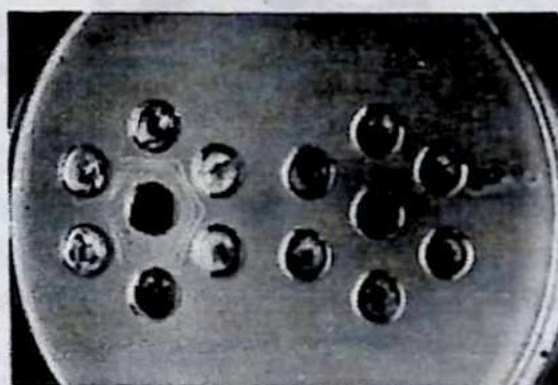
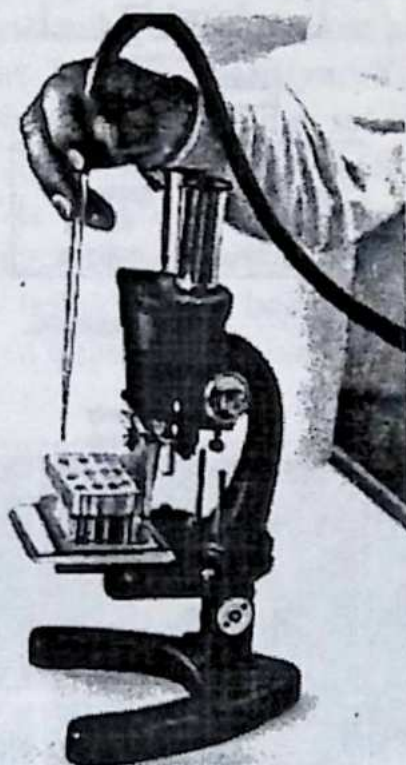


Rasm 52. Sut halqali reaksiya:  
a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.

# Presipitasiya reaksiyasi



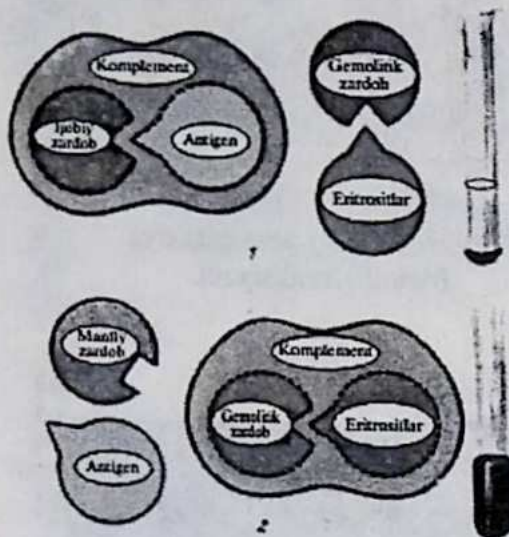
Rasm 54. Ijobiy presipitasiya (Askoli) reaksiyasi.



Rasm 55. DPR. Chapda markazda presipitasiyalovchi zardob, atrofidagi o'yoqlarda antigenlar-presipitasiya chiziq-lari aniq ko'ringan. O'ngda markazda manfiy zardob, atrofida o'sha antigenlar-presipitasiya chiziq-lari yo'q.

Rasm 53. DPR qo'yish usullari.

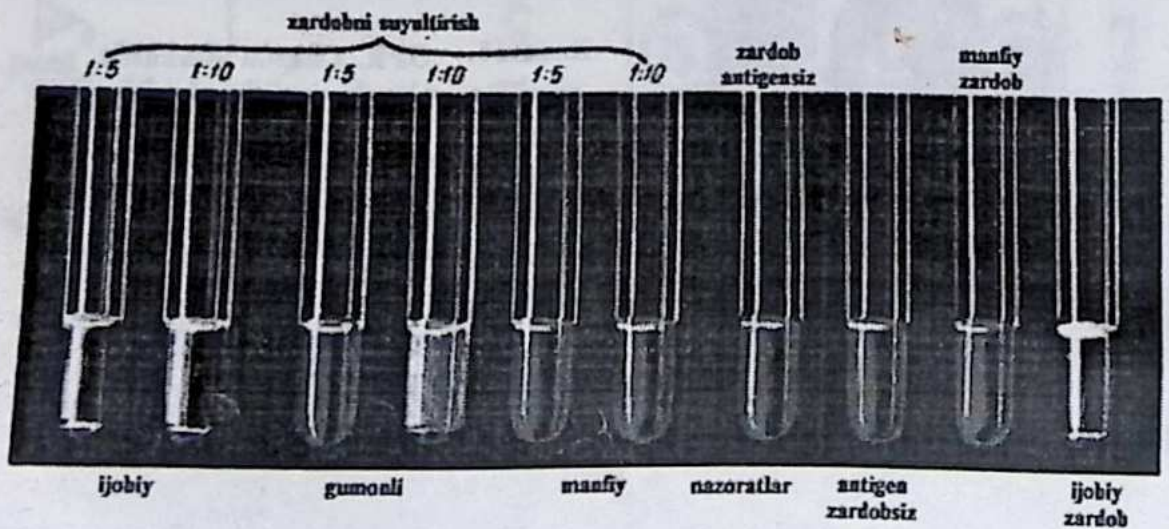
# KBR - komplement bog'lash reaksiyasi



Rasm 56. KBR sxemasi: 1-ijobiy; 2-manfiy.



Rasm 57. KBR sxemasi.



Rasm 58. KBR natijasining ko'rinishi.

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

4. Cho'kma tugma shaklida, suyuqlik loyqa – 25 % agglyutinasiya (+).

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

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

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

nazorat uchun) alohida tomchilar olinadi. Har bir tomchiga tekshirilayotgan (mikrob bakterial ilmoqda olib qo'shiladi, aralashtiriladi. 5-10 daqiqada natija aniq bo'ladi. Ijobiy natijada suyuqlik tiniq, cho'kma donador bo'ladi. Bu usulda ko'proq kolibakterioz, salmonellyoz qo'zg'atuvchilari tipizasiya qilinadi (rasm 51).

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

**Sut halqali reaksiya.** Y.sh.h. brusellyozga tekshirishda ishlatiladi. Probirkalarga 2-3 mldan sut olib, 0,2 mldan (2 tomchi) gemotoksilin bilan bo'yalgan antigen qo'shiladi. Sut bir xil bo'yalguncha aralashtiriladi va 37°Cda 45-60 daqiqa saqlanadi. Sutda antitela bo'lsa antigen-antitela kompleksi hosil bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko'tarilib ko'k halqa paydo bo'ladi; sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi, halqa hosil bo'lmaydi (rasm 52).

### **Nazorat savollari:**

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

## 12. Laboratoriya mashg'uloti №12

### Mavzu: Presipitasiya reaksiyasi (PR).

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

#### Komponentlar:

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

2. Standart presipitasiyalovchi kuydirgi zardobi.

3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.

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

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

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

2. Ikkinchi usulda probirkaga avval 0,2-0,3 ml ekstrakt quyib, uning ostiga teng miqdorda Paster pipetkasi bilan kuydirgi zardobi quyiladi. Ikkala usulda ham natija ijobiy bo'lsa, ikkala komponent o'rtasida 1-2 daqiqada yaxshi ko'rinadigan tutunsimon rangda halqali presipitat hosil bo'ladi (rasm 54).

#### **Nazorat reaksiyasi.**

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

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

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

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

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

**Diffuzli PR.** Predmet oynachasiga yoki Petri kosachalaridagi 1 % agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yiqlar qilinadi (rasm 53, 55). Markazdagi o'yiqqa standart zardob, atrofida gilarga esa antigen namunalari Paster

pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatora bir sutka termostatda turgandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq presipitat chiziqlari ko'rinadi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Presipitasiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun plastinalar fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiy sulfat eritmasi quyiladi, bir nisha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rinadi.

#### **Nazorat savollari:**

- 1.Presipitasiya reaksiyasining amaliyotda ishlatilishi va mohiyati.
- 2.Presipitasiya va agglyutinasiya reaksiyalarida antigenlarning farqi.
- 3.Halqali presipitasiya reaksiyasini qoyish texnikasini tushuntiring.
- 4.Halqali presipitasiya reaksiyasining komponentlarini ayting.
- 5.Diffuz presipitasiya reaksiyasini qo'yish, uning mohiyati.

### 13. Laboratoriya mashg'uloti №13

#### Mavzu: Komplement bog'lash reaksiyasi (KBR)

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

**Material va jihozlar:** Shtativda toza probirkalar, darajalangan pipetkalar, flakonda fiziologik eritma, suv hammomi, aniq titrli gemolizin, antigen, komplement; sinovli zardoblar 1:10 ( $56^{\circ}\text{C}$  da 30 daqiqa inaktivlangan), ijobiy, normal zardoblar, qo'y eritrositlari 1:40, tegishli jadvallar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

**Komplement bog'lash reaksiyasi (KBR)** juda sezgir va spetsifik reaksiya. Uning asosida – bakteriolizis va gemoliz holatlari yotadi. Reaksiyaning namoyon bo'lishi AR va PR dan farq qilib, antigen va antitelolar faqat komplement ishtirokidagina reaksiyaga kirishadi. Shuning uchun reaksiya ikki bosqichda o'tadi:

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

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

Bakterial sistemaga gemolitik sistema qo'shiladi. Eritrositlar gemoliz bo'lishiga yoki bo'lmasligiga qarab, bakteriologik sistemada komplement bog'bor, yo'qligi bilinadi (rasm 57-58).

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

**Manfiy natijada** antigen – antitelo kompleksi hosil bo'lmaydi, komplement erkin qoladi, u gemolitik sistemadagi eritrositlar bilan gemolizinning o'zaro ta'sirida qatnashib eritrositlarni lizisga uchratadi.

Probirkada suyuqlik, tiniq, qizil rangda bo'ladi, cho'kma bo'lmaydi (rasm 56).

Komplement bog'lash reaksiyasini qo'yishdan maqsad: 1. Kasal hayvonning qon zardobidagi spesifik antitelolarni aniqlash (brusellyoz, peripnevmoniya, manqa, leptospiroz va boshqalarda). 2. Tekshirilayotgan patmaterialdagi spesifik antigenni maxsus immun zardob ishtirokida aniqlash.

#### KBR komponentlari:

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

Jadval 3

#### KBR ning asosiy tajribasini qo'yish

Komponentlar	Tekshirilayotgan zardobli probirkalar 1:10		Standart zardobli		Normal zardobli		Nazorat gemsistema
	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	
Zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Antigen	0,2		0,2		0,2		
Fiz. eritma		0,2		0,2		0,2	0,6
komplement	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
37° C 20 daqiqa suv hammomi							
Gem sistema	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
37° C 20 daqiqa suv hammomi							
	GY	G	GY	G	G	G	GY

GY – gemoliz yo'q, G – gemoliz.

*KBR ning asosiy tajribasini qo'yish.* Zardoblarni (tekshiriladigan, standart, normal) avval 1:10 suyultirib, 56°C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Shtativga tekshiriladigan qon zardoblarining soniga ko'ra (har bir zardob uchun 2- tadan) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan

bittadan) tekshiriladigan qon zardobidan 0,2 ml–dan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib, birinchi juftiga standart, ikkinchisiga–normal zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1-chi qatordagi probirkalarga 0,2 ml antigen, 2-chi qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi barcha probirkalarga 0,2 ml komplement quyilib, probirkalar silkitib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37<sup>0</sup>C da 20-40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriologik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 mldan gemsistema (ishchi titrdagi gemolizin bilan eritrositlarning teng miqdordagi aralashmasi) qo'shiladi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi (jadval 3).

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

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

Sinovli, standart zardobli probirkalarning birinchi qatori, gemsistema nazoratli probirkalarda gemoliz bo'lmaydi – natija musbat.

### **KBR natijasini baholash**

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

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

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

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

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

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

### **Nazorat savollari:**

1. Komplement bog'lash reaksiyasining AR, PR laridan farqi?
2. Komplement bog'lash reaksiyasining komponentlarini ayting?
3. Komplement bog'lash reaksiyasining bosqichlarini ayting?
4. Komplement bog'lash reaksiyasining natijasi qanday hisobga olinadi.
5. Komplement bog'lash reaksiyasining mohiyatini tushuntiring.

## QISHLOQ XO'JALIK MIKROBIOLOGIYASI

### Hayvonlarning ba'zi yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilari xususiyatlari

#### 14. Laboratoriya mashg'uloti №14

**Mavzu: Bakterial kasallik - tuberkulyoz, brusellyoz, cho'chqalar saramasi, pasterellyoz, kolibakterioz, salmonellyoz qo'zg'atuvchilari.**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Tuberkulyoz, brusellyoz, cho'chqalar saramasi, pasterellyoz, kolibakterioz, salmonellyoz o'zg'atuvchilarining xususiyatlarini o'rganish.

**Material va jihozlar:** Mikroskop, surtmalar, preparatlar, immersiya yog'i, preparatlar, mavzuga oid plakatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni tuberkulyoz, brusellyoz, cho'chqalar saramasi, pasterellyoz, kolibakterioz, salmonellyoz qo'zg'atuvchilari bilan tanishtiradi. Talabalar tayyor bo'yalgan preparatlarni mikroskopda ko'rib, plakatlardan foydalanib qo'zg'atuvchining morfologik, kultural xususiyatlarini daftarlariga yozib, rasmlarini chizib olishadi.

**Tuberkeulyoz qo'zg'atuvchisi** (*Mycobacterium tuberculosis*). Tuberkulyoz uy va yovvoyi hayvonlar jumladan, parrandalar va odamlarning surunkali yuqumli kasalligi bo'lib, har xil organ va to'qimalarda maxsus tugunlar (tuberkullar) hosil bo'lishi bilan namoyon bo'ladi (rasm 61).

**Morfologiyasi.** Tuberkulyoz qo'zg'atuvchisi kislota, ishqor, spirtga chidamli mikroorganizmlarga kiradi. Ular to'g'ri yoki salgina egilgan uzunligi 1,5-4 mkm, eni 0,3-0,5mkm, ba'zan uchlari ozgina shishgan tayoqchalardir (rasm 59).

Harkatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi. Grammusbat. Elektron mikroskop yordamida mikrobakteriyalar murakkab tuzilishga ega ekanligi aniqlangan. Ular mikrokapsula, uch qavatli hujayra devori, sitoplazmatik membrana, sitoplazma, mezosoma, ribosoma va ipsimon to'qimadan tarkib topgan. Sil'-Nilsen usulida bo'yaladi. Tuberkulyoz bakteriyasining filtrlanuvchi shakli ham aniqlangan. Ularni dengiz cho'chqasiga yuqtirib, ajratib olganda, qo'zg'atuvchi ko'rinadigan shaklga o'tadi.

**Kultural hususiyatlari.** Tuberkulyoz mikobakteriyalari aerob bo'lib, 30-42<sup>0</sup> C haroratda, maxsus oziq muhitlarda – gliserinli, kartoshkali,

tuxumli va boshqalarda o'sadi. Mikrob koloniyalari 2-3 haftada paydo bo'ladi. Organizmdan ajratilganlari 3-4 haftada o'sadi. Kelib chiqishi, patogenligiga qarab tuberkulyoz qo'zg'atuvchisining 5 turi ma'lum.

1. Odamlarda- *M. tuberculosis*, ingichka, uzun yoki sal egilgan tayoqchalar.

2. Yirik shohli hayvonlarda *M. bovis*-u odamlarda ham kasallik qo'zg'atadi.

3. Parrandalarda- *M. avium*, u cho'chqa va qoramollarda ham uchraydi

4. Sichqonlarda- *M. murium*

5. Sovuq qonlilarda- *M. poykilothermorum*-qurbaqa, baliq, toshbaqa, ilonlarda uchraydi.

Gliserinli bul'onda uzoq vaqt davomida (6-8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulyozni aniqlashda foydalaniladi. Suyuq muhitda qo'zg'atuvchi 10-30 kundan keyin o'sib parda hosil qiladi.

*M. tuberculosis*-qalin parda, *M. bovis*- to'rsimon o'simtali parda, *M. avium*-esa 7-10 chi kuni yupqa, nozik, oqishroq 21 chi kuni kuchli ajinlashgan avval quruq, keyin shilimshiq parda hosil qiladi. Zich oziqa muhitlarida boshida zo'rg'a ko'rinadigan mikrokoloniyalar paydo bo'ladi, keyin ular kattalashib boradi. Oziqa muhit yuzasidan mayda yoki katta, yaltiroq yoki xiraroq, silliq yoki kengish 1-2 koloniyalar, yoki koloniyalar birlashib ketib, yuzasi bilan bitta oqish qatlam hosil qiladi (rasm 60). Bakteriologik tekshirish muddati- 2 oy. Ekmalarni har 4-5 kunda ko'rib natija yozib boriladi.

**Labarotoriya diagnozi** surtmalarni mikroskopda ko'rish, toza kulturani ajratish va laboratoriya hayvonlarini zararlashdan iborat.

**Brusellez qo'zg'atuvchisi** (*Brucella*). Brusellez odam va chorva mollarga xos surunkali o'tuvchi infeksiya kasallik bo'lib, brusella avlodiga mansub bakteriyalar qo'zg'atadi. Kasallik g'unajinlarning homila tashlashi, yo'ldoshining tezda ajralmasligi bilan namoyon bo'ladi. Ammo ko'pgina hayvonlarda brusellez klinik belgisiz o'tadi.

**Morfologiyasi.** Brusellar mayda, koksimon bakteriya bo'lib, uzunligi 0,6-1,5 mkm, eni 0,5-0,7 mkm. Mayda shohli hayvonlar brusellasi yumaloq shaklda, yirik shohli hayvon va cho'chqalarniki qisqa tayoqcha shaklida bo'ladi. Ular harakatsiz, grammanfiy. Spora va kapsula hosil qilmaydi. Kozlovskiy va boshqa usullarda bo'ladi. Bunda brusellalar qizil, boshqa mikroorganizmlar yashil rangda bo'ladi.

**Kul'tural xususiyatlari.** *Brucellalar* aeroblar va fakultativ anaeroblar bo'lib, tarkibida karbonat angidridi bor muhitda (ayniqsa yirik shohli hayvon qo'zg'atuvchisi) o'sadi. Buning uchun eritrit agar, go'shtpeptonli jigarli agar (GPJA), go'shtpeptonli jigarli bul'onlar (GPJB) ishlatiladi. Zich oziq muhitda – mayda, tiniq, bo'rtgan, yumaloq, yaltiroq, yuzasi silliq (*S*-shakl) va ko'kish tovlanadigan (*R*-shakli ham uchraydi) koloniyalar hosil qiladi. Uzoq o'stirilganda koloniyalar xiralashib, pigment hosil bo'lishi bilan – qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

Suyuq oziq muhitda bir xil loyqalanish, ko'kish tovlanadigan halqa hosil qiladi, keyin kamroq cho'kma tushadi.

**Brusellaning turlari.** Hozirgi vaqtda *Brucella* avlodiga mansub mollarda *Br. abortus*, cho'chqalarda *Br. suis*, qo'chqorlarda, *Br. ovis*, itlarda-*Br. canis*, kalamush va sichqonlarda *Br. neotomae* qo'zg'aydi.

**Laboratoriya diagnozi** mikroskopiya, brusella kulturasini ajratish, biosinov qo'yishdan iborat. Tekshirish uchun laboratoriyaga tashlangan homila yoki uning bog'langan oshqozoni, o'lgan hayvonlardan limfa tugunlari va parinxematoz organlari yuboriladi. Serologik tekshirish uchun qon zardobi yuboriladi.

**Cho'chqalar saramasi** (erizipelotriks), qo'zg'atuvchisi *Erysipelotrix insidiosa*. Cho'chqalar saramasi – septik yuqumli kasallik bo'lib, hayvon terisida bosib ko'rganda yo'qolmaydigan qizil dog'larning paydo bo'lishi bilan harakterlanadi.

**Morfologiyasi.** Bakteriya ingichka, to'g'ri yoki ozgina egilgan, uzunligi 0,8 – 1,5 mkm, eni 0,1 – 0,4 mkm tayoqcha. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi. Grammusbat bo'yaladi. Surtmada tartibsiz, to'p – to'p, ba'zida iplar ko'rinishida joylashadi (rasm 62).

**Kultural xususiyatlari.** Qo'zg'atuvchi mikroaerofil, 36-38<sup>0</sup>C haroratda o'sadi. Go'sht peptonli agarda mayda shudring tomchisiga o'xshash koloniya hosil qiladi (rasm 62). Go'sht peptonli bulonda bir xil loyqalanish, probirka tubida cho'kma paydo bo'ladi.

**Laboratoriya diagnozi** mikroskopiya, qo'zg'atuvchining kulturasini ajratish va biosinov qo'yishdan iborat. Laboratoriyaga tekshirish uchun parenximatoz organlar, ilik suyagi yuboriladi.

**Pasterellyoz qo'zg'atuvchisi** (*Pasteurella multocida*). Hayvon va parrandalarning yuqumli kasalligi bo'lib, septisemiya va gemorragik yallig'lanish jarayoni bilan harakterlanadi. 1879 yilda L.Paster qo'zg'atuvchini tovuqdan ajratgan. Shuning uchun qo'zg'atuvchi pasterellyoz deb nomlanadi.

**Morfologiyasi.** Pasterellalar bipolyar, grammanfiy, harakatsiz tayoqchalardir. Ular ko'proq ovoid shaklda bo'ladi (rasm 64). Qon va organlardan tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchilarning bipolyarligi yaxshi namoyon bo'ladi. Sun'iy oziq muhitlarda tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchi odatda bipolyar bo'lmaydi.

**Kultural xususiyatlari.** Pasterellalar fakultativ aeroblardir. Go'sht peptonli agarda mayda koloniyalar hosil qiladi (rasm 63). Go'sht peptonli bulonda bir xilda loyqalanish paydo bo'ladi. Probirka tubida cho'kma hosil bo'lib, qoqib ko'rganda soch o'rimi ko'rinishida yuqoriga ko'tariladi.

**Laboratoriya diagnozi.** Mikroskopiya, toza kultura ajratish va biosinovdan iborat.

**Kolibakterioz qo'zg'atuvchisi (*Escherichia coli*).** U barcha turdagi qishloq xo'jalik yosh hayvonlariga xos o'tkir o'tuvchi yuqumli kasallik bo'lib, ichak tayoqchalarining patogenli shtammlari qo'zg'aydi. Kasallik oshqozon-ichak yo'llarining yallig'lanishi, kuchli ich ketishi, septisemiya, enterotoksemiya, kolienteritning rivojlanishi bilan namoyon bo'ladi.

**Morfologiyasi.** Esherixiyalar to'g'ri, kalta, uchlari qayrilgan polimorf tayoqcha (rasm 65). Uzunligi 2-3 mkm, eni 0,4-0,7 mkm. Spora hosil qilmaydi. Ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi. Grammanfiy. Harakatchan (peritrixlar) va harakatsiz shtammlari bor.

**Kultural xususiyatlari.** Esherixiya fakultativ aerob 10-46<sup>0</sup> C haroratda o'sadi. Go'sht peptonli agarda salgina bo'rtgan, yarim tiniq, kulrang koloniyalar: gushtpeptonli bul'onda bir xil loyqalanish, cho'kma hosil qiladi. Sutni ivitadi. Endo muhitida koloniyalar qizil rangda, qora metall singari tovlanadi (rasm 66). O'zbekiston sharoitida kolibakterioz bilan buzoqlar 3-5 kunligida, ba'zan bir muncha keyinroq, cho'chqa bolalari hayotining birinchi kunlarida, 2-3 haftaligida, shuningdek onadan ajratilgan 2-3 oyliklari kasallanadi. Qo'zilar ham hayotining birinchi kunlari va birinchi oylaridan 5-6 oylikkacha, jo'jalar bir yillik bo'lgunicha, it va mo'ynali hayvon bolalari birinchi o'n kunligida kasallanadi.

Esherixiyaning ba'zi shtammlari termostabil endotoksin yoki termolabil ekzotoksin hosil qilib, kasallik patogenezida yetakchi rol o'ynaydi.

**Laboratoriya diagnozi.** Laboratoriyaga tekshirish uchun ilik suyagi, zararlangan limfa tugunlari, parenximatoz organlari, oshqozon va ingichka ichak massasi bilan yuboriladi. Oddiy muhitlar va endo muhitiga eqiladi.

Xarakterli koloniyalarning morfologiyasi, biokimyoviy, serologik va biologik xususiyatlari o'rganiladi. Virulentligini tekshirish uchun kul'turani oq sichqonlar qorin bo'shlig'iga yuboriladi. Musbat natijada sichqonlar o'ladi.

**Salmonellyoz qo'zg'atuvchilari.** Salmonellyoz bakteriyalarining 50 ta seroguruhi va 1889 ta serovari bor. Salmonellez turli xil yosh hayvonlarda ko'pincha o'tkir sepsis shaklda kechadi. Buzoqlar 3-4 haftaligidan 4 oyligigacha kasallanib, ularda isitma va diareya kuzatiladi. Cho'chqa bolalari 4 oyligigacha kasallanadi. Qo'ylar barcha yoshida kasallanib, ularda salmonellezli homila tashlash ham kuzatiladi. Toylar asosan ona qornida zararlanadi, natijada biyalar homila tashlaydi. Parrandalar bir kunligidan bir haftaligigacha kasallanib, qo'plab halokatga uchraydi. Tovuq homilasi va katta yoshdagi parranda ham kasallanishi mumkin. Ular ko'pincha bakteriya tashuvchi va tarqatuvchilardir. Turli xil hayvonlarda kasallikni ko'pincha quyidagi salmonella turlari qo'zg'atadi. Buzoqlarda *S.enteritidis* va *S.typhimurium*, cho'chqa bolasida-*S.cholerae suis*,

*S. Typhimurium*, yilqilarda *S. abortus equi*, qo'ylarda *S. abortus ovis*, parrandalarda *S. pullorum-gallinarum*.

**Kultural xususiyatlari.** Salmonellalar fakultativ aeroblar. Oddiy oziq muhitlarda, 37<sup>0</sup> haroratda o'sadi. Go'sht peptonli agarda yarim tiniq koloniyalar hosil qiladi, go'sht peptonli bulonda intensiv loyqalanish, probirka tubida ko'p cho'kma hosil qiladi.

**Laboratoriya diagnozi.** Tekshirish uchun laboratoriyaga parenximatoz organlar, mezenterial limfa tugunlari, ilik suyagi yuboriladi. Salmonella kulturasini ajratish kasallikni tasdiqlaydi. Kasallangandan 10 kun keyin qon zardobi agglyutinasiya reaksiyasida tekshiriladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tuberkeulyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
2. Brusellyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
3. Cho'chqalar saramasi, pasterellyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
4. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
5. Salmonellyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.

## 15. Laboratoriya mashg'uloti №15

**Mavzu: Basillali infeksiya - kuydirgi, qorason, qotma kasalliklari, botulizm qo'zg'atuvchilari**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Kuydirgi, qorason, qotma kasalliklari, botulizm qo'zg'atuvchilarining xususiyatlarini o'rganish.

**Material va jihozlar:** Mikroskop, surtmalar, preparatlar, immersiya yog'i, preparatlar, mavzuga oid plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni kuydirgi, qorason, qotma kasalliklari, botulizm qo'zg'atuvchilari bilan tanishtiradi. Talabalar tayyor bo'yalgan preparatlarni mikroskopda ko'rib, plakatlardan foydalanib qo'zg'atuvchining morfologik, kultural xususiyatlarini daftarlariga yozib, rasmlarini chizib olishadi.

**Kuydirgi qo'zg'atuvchisi** (*Bac. Anthracis*). Kuydirgi o'tkir infeksiyon kasallik bo'lib, organizmning og'ir intoksikatsiyasi, isitma, septisemiya, karbunkullar paydo bo'lishi, ichak, ko'proq o'pkaning zararlanishi bilan namoyon bo'ladi. Kuydirgi bilan barcha turdagi qishloq xo'jalik hamda ko'pgina yovvoyi hayvonlar, shuningdek odamlar ham kasallanadi.

**Morfologiyasi.** Kuydirgi qo'zg'atuvchisi yirik, harakatsiz, grammusbat tayoqcha. Uzunligi 6-8 mkm, eni 1-1,5 mkm. Surtmalarda 1 tadan, ko'proq zanjir shaklida joylashadi (rasm 67, 70). Tayoqchalarning bir biriga uchlari to'g'ri qirqilgandek bo'ladi. Qo'zg'atuvchi organizmda kapsula, tashqi muhitda spora hosil qiladi. Bakteriya qon va zardob qo'shilgan oziq muhitlarda ham kapsula hosil qiladi. Kapsulasiz shtammlari virulentli bo'lmaydi.

**Kultural xususiyatlari.** Kuydirgi qo'zg'atuvchisi aerob, 12-45<sup>0</sup> C haroratda o'sadi. O'sish uchun optimal harorat 35-37<sup>0</sup>. Oddiy oziq muhitlarda yaxshi o'sadi. Go'sht peptonli bo'londa paxtasimon cho'kma hosil qiladi, muhit tiniqligicha qoladi. Go'sht peptonli agarda kulrang-oqish koloniyalar hosil qiladi. Koloniyalar sher yoliga o'xshaydi. Go'shtpeptonli jelatinada 2-5 kunda to'nkarilgan archa shaklida o'sadi (rasm 68, 69).

**Patogenligi.** Laboratoriya hayvonlaridan oq sichqon, dengiz cho'chqasi, qo'yonlar kasallikka moyildir. Biosinovda oq sichqonlar 1-2 kundan, dengiz chuchqasi, quyonlar 2-3 kundan keyin o'ladi.



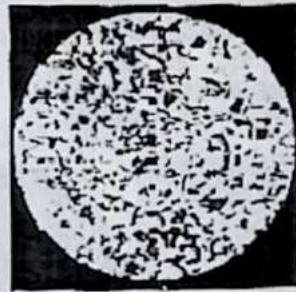
Rasm 59. Tuberkulyoz  
qo'zg'atuvchisi  
(Sil-Nilsen usulida bo'yalgan).



Rasm 60. Tuberkulyoz  
kulturasini Petriyani  
muhitida o'sishi:  
chapdan-*bovinus*, *humanus*,  
*avium* tiplari.



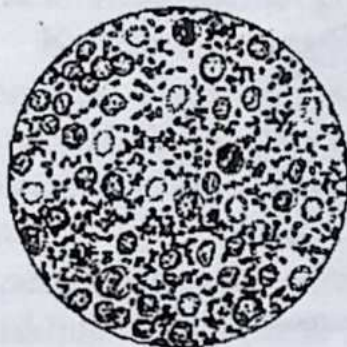
Rasm 61. Ohaklashgan  
lobulyar kazeoz.



Rasm 62. Mikrobbing  
S-shaklli koloniyasi  
undan tayyorlangan  
surtmada ko'rinishi.



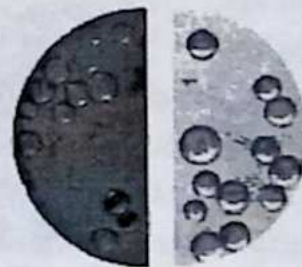
Rasm 63. Pasterellaning S-shaklli  
koloniyasi-agarda.



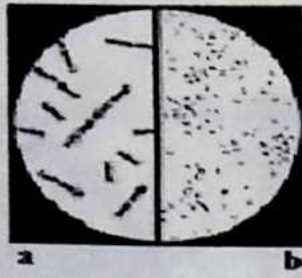
Rasm 64. Pasterellalar.  
Patologik materialdan  
tayyorlangan surtmada.



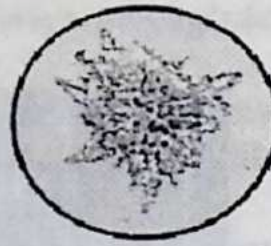
Rasm 65. *E. coli*  
kulturasini - grammanfiy  
kalta tayyoqchalar.



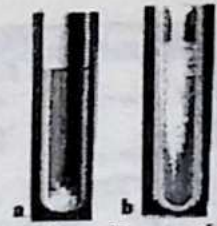
Rasm 66. *E. coli* kulturasini  
(chapda) va *salmonella*  
(o'ngda) Endo muhitida.



Rasm 67. *Bac. anthracis*  
a-kapsulali mikrob,  
b-sporalari.



Rasm 68. *Bac. anthracis*  
R-shakl koloniyasi.



Rasm 69. *Bac. anthracis*  
a-GPB, b-GPJ da o'sishi.



Rasm 70. *Bac. anthracis*  
GPB dan tayyorlangan surtmada.



Rasm 71. *Cl. chauvoei*  
Kitt-Tarossi muhitidan  
tayyorlangan surtmada.



Rasm 72.  
*Cl. chauvoei*  
Kitt-Tarossi  
muhitida  
o'sishi.



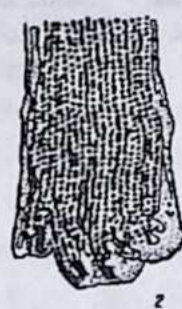
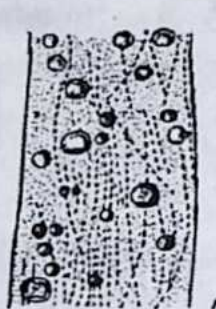
Rasm 73. *Cl. chauvoei* qandli qonli agarda: a-silliq yumaloq koloniya gemolizi bilan; b-uzum bargi shaklida; d-xoshiyali koloniyalar.



Rasm 74. *Cl. tetani* kulturada.  
Sporali tayoqchalar.



Rasm 75. *Cl. botulinum*  
kulturadan  
tayyorlangan surtmada.



Rasm 76. Dermatometlar zararlangan sochda. Patogen zamburug'lar:  
1-*Trichophyton schoenleinii*; 2-*Trichophyton violaceum*; 3-*Microsporum canis*.

**Laboratoriya diagnozi** surtmalarni mikroskopda ko'rish, kultural hususiyatlarini o'rganish va biosinov qo'yishdan iborat laboratoriyaga qondan tayyorlangan qalin surtmalar, kerak hollarda hayvonning yotgan tomonidagi qulog'i, cho'chqalardan tomoq limfa tugunlari, zararlangan to'qimalar yuboriladi. Quloq asosi ikki joyidan bog'lanib, o'rtasidan kesiladi va shu joyi kuydiriladi. Uni dezinfeksiyalovchi eritma bilan namlangan dokaga yoki pergament qog'ozga o'rab shisha idishga va mustahkam yashikka solinadi. Materialni laboratoriyaga mutaxassis yetkazadi. Kuydirgiga gumon qilinganda jasadni yorish man qilinadi. Chunki kislorod ta'sirida sporalar hosil bo'lib, moyil hayvonlar uchun xavfli hisoblanadi.

**Qorason qo'zg'atuvchisi (*Clostridium chauvoei*).** Qorason (emkar) shohli hayvonlarga hos, o'tkir o'tuvchi yuqumli kasallik bo'lib, tananing muskullarga boy qismlarida qirsildoq tovush paydo qiluvchi, tez kattalashadigan gazli shishning paydo bo'lishi, isitmaning ko'tarilishi bilan namoyon bo'ladi. Yirik shohli hayvonlar 3 oydan 4 oygacha kasallanadi.

**Morfologiyasi.** Qo'zg'atuvchi tayoqcha shaklida, uchlari qayrilgan, uzunligi 4-8mkm, eni 0,6-0,9 mkm, peritrix. Kulturada ham, patmaterialda ham, spora hosil qiladi. Sporalar joylashishiga qarab qo'zg'atuvchiga urchiqsimon, noksimon yoki limon shaklini beradi. Yosh kul'turalar grammusbat. qarilari grammanfiy bo'ladi (rasm 71).

**Kultural xususiyatlari.** Qo'zg'atuvchi jiddiy anaerob, 36-38°C haroratda o'sadi. Kultura go'shtpeptonli jigarli bul'onda, Kitt-Tarossi oziq muhitida o'sadi. Avval loyqalanish paydo bo'lib, sporalar probirka tubiga tushgandan keyin (cho'kma) bulon tiniqlashib boradi. Gaz pufakchalari hosil bo'ladi (rasm 72). Undan achigan yog' hidi keladi. Glyukozali qonli agarda koloniyalar gemoliz zonasini hosil qiladi. Markazi ko'tarilib tugma shaklida bo'ladi (rasm 73).

**Laboratoriya diagnozi.** Mikroskopiya, qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish, biosinov qo'yishdan iborat. Tekshirish uchun zararlangan mushaklar yuboriladi. Undan surtmalar tayyorlanadi, Kitt-Tarossi muhitiga eqiladi. Suspenziya tayyorlab dengiz cho'chqalari zararlantiriladi.

**Qotma qo'zg'atuvchisi (*Clostridium tetani*).** Qotma hayvon va odamlarning yuqumli jarohatli kasalligi bo'lib, mikroba ajratayotgan toksini ta'sirida kuchli qo'zg'alish, skelet muskullarining reflektor tortilishi bilan namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchini 1884 yilda

A.Nikolayerai topgan, toza kulturasini 1889 yilda Sh.Kitazato ajratgan. Hayvon va odamlar shikastlangan jarohatlariga tuproqdan qo'zg'atuvchi tushib zararlanadi. Mikroob kuchli zahar ajratadi.

**Morfologiyasi.** Qotma qo'zg'atuvchisi ingichka, harakatchan (peritrix) tayoqcha, uzunligi 4-8 mkm, eni 0,4-0,6 mkm. Yumaloq sporalar hosil qiladi. Sporalar tayoqchani ichida baraban tayoqchasi shaklida joylashadi (rasm 74).

**Kultural xususiyatlari.** Qo'zg'atuvchi jiddiy anaerobdir. Kitt-Tarossi muhitida qo'zg'atuvchi sekin o'sadi, gaz hosil qiladi. Undan kuydirilgan shoh hidi keladi. Mikroob hujayralari probirka tubiga cho'kkanda muhit tiniqlashadi. Agar yoki jelatinaga tik ekilganda archa shaklida o'sadi. Ular uchun optimal harorat 35-37<sup>0</sup> C

**Laboratoriya diagnozi.** Kasallik belgilar juda harakterli bo'lganligi tufayli hamma vaqt ham laboratoriya tekshirishi o'tkazilmaydi. Zarur hollarda jarohatlardan surtma tayyorlanadi. Kitta-Tarossi oziq muhitiga eqiladi, shuningdek oq sichqon zararlanadi, 2-3 kunda sichqonda kasallik belgilari namoyon bo'ladi.

**Botulizm qo'zg'atuvchisi (*Clostridium botulinum*).** Botulizm barcha hayvonlarga hos, qo'zg'atuvchining zaharini saqlovchi oziqalarni yeyish natijasida paydo bo'ladigan o'tkir va og'ir o'tuvchi kasallik bo'lib, hiqildoq, til va pastki jag'ning falajlanishi bilan namoyon bo'ladi. Botulizm bilan odam ham kasallanadi. Quzg'atuvchi 1896 yilda Gollandiyada E. van Ermengem tomonidan topilgan. Qo'zg'atuvchining 7ta serovari ma'lum—A, B, C, D, E, F, G.

**Morfologiyasi.** Botulizm qo'zg'atuvchisi yirik, polimorf, uchlari qayrilgan tayoqchalar: uzunligi 4-9 mkm, eni 0,6 – 0,8 mkm. Oval shaklida sporalar hosil qiladi, u vegetativ hujayra bilan tennis raketkasiga o'xshaydi. Grammusbat, harakatchan (peritrix) (rasm 75).

**Kultural xususiyatlari.** Botulizm qo'zg'atuvchisi jiddiy anaerob. Kitt-Tarossi oziq muhitida avval loyqalanib, keyin cho'kma paydo bo'ladi va bulon tiniqlasha boshlaydi. Botulizm klostridialari jelatinani eritadi. Botulinus qo'zg'atuvchisidan o'sish vaqtida achigan yog' hidi keladi. Botulizm klostridialari oziqa va oziqa mahsulotlarida zahar hosil qiladi.

Botulizm toksiniga barcha turdagi hayvonlar sezgir.

**Laboratoriya diagnozi.** Oziqa, mahsulot qoldiqlari yoki o'lgan hayvon organlaridan toksinini ajratishdan iborat. Biosinov qo'yiladi.

### Nazorat savollari:

1. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnozini ayting.
2. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnozini ayting.
3. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnozini ayting.
4. Botulizm qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnozini ayting.
5. Kuydirgi va qorason kasalliklari qo'zg'atuvchilarining farqini ayting.

### Mavzu: Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari.

Dermatomikoz soch, teri va hayvon tanasining boshqa qismlari kasalligidir. Qo'zg'atuvchilar deyeromisetlar, takomillashmagan zamburug'larga kirib uchta avlodga birlashtirilgan-trixofiton, mikrosporon va aharon. **Trixfitiya** qo'zg'atuvchisining *Trichofiton faviforme*, *Tr.gypseum*, *Tr. Crateriforme* va boshqa turlari mavjud. Trixfitiya terida kulrang qatlam bilan qoplangan, sochsiz joylarining paydo bo'lishi bilan karakterlanadi. Kasallik yirik shohli hayvonlar, ot, it mo'ynali hayvonlar, sichqon kalamush, parranda va boshqa hayvonlarda, shuningdek odamlarda ham uchraydigan kasallik. Ko'proq yosh hayvonlar kasallanadi.

**Morfologiyasi.** Patmaterialda (sochda) zamburug' elementlari har xil joylashadi. Soch zamburug' bilan uch xil zararlanadi: ektotriks, endotriks va neoendotriks. Ektotriksda zamburug' sporlari soch ustida qoplama shaklida joylashadi; u yirik sporali va mayda sporali bo'lishi mumkin. Endotriks - sporalar sochning ichida uning uzunligi bo'yicha zanjir shaklida joylashishi bilan karakterlanadi. Neoendotriksda sporalar soch tolasi ichida zanjir shaklida, hamda ustida qoplama ko'rinishida joylashadi (rasm 76).

**Patogenligi.** Laboratoriya hayvonlaridan dengiz cho'chqasi kasallikka moyildir, uy hayvonlaridan ko'proq buzoqlar kasallanadi.

**Laboratoriya diagnozi.** Zararlangan soch va qirindini mikroskopiya qilish, qo'zg'atuvchi kulturasini ajratib, o'rganish kiradi.

**Mikrosporiya qo'zg'atuvchilari.** Mikrosporiya (mikrosporoz, temiratki) teri va uning hosilalarining yuqumli kasalligi bo'lib, o'ta

yuqumliligi bilan xarakterlanadi, klinik 3 xil shaklda namoyon bo'ladi: yuzaki, chuqur yoki follikulali, atipik.

It, mushuk, cho'chqa, ot va h.k. hamda odamlar ham kasallanadi, ayniqsa yosh bolalar. Hayvonlarda kasallik keltirib chiqaradigan asosiy qo'zg'atuvchilar:

1) *Microsporum equinum*- otlarda; 2) *M. lanosum*- mushuk, it, mo'ynali va yirtqich hayvonlarda, dengiz cho'chqasi, maymunlarda; 3) *M. lanosum Bodin*- mushuk, it, ot, buzoq, dengiz cho'chqasi, kalamush, sichqonlarda kasallik paydo qiladi.

**Morfologiyasi.** Mikrosporum avlodi zamburug'lari patmaterialda shoxlangan, bo'g'inlarga bo'lingan miseliy ko'rinishida bo'ladi. U parchalanib, yumaloq bir hujayrali sporalar hosil qiladi. Zararlangan soch atrofida zamburug' sporolari qoplama hosil qiladi. Sporalar tartibsiz, mozaika shaklida joylashadi. Sporang o'lchami 3-6 mkm.

**Kultural xususiyatlari.** zamburug' glyukozali Saburo agarida, 26-28°C da o'sadi. *M. equinum* terisimon, qatlamli, muhitga zich joylashgan, kulrang-oq miseley bilan qoplangan koloniyalar hosil qiladi. Yetilgan koloniyalar sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi. Miseliysi bo'g'inlarga bo'lingan, mikrokonidiylar noksimon, makrokonidiylar ko'p hujayrali (15-20x12-17 mkm) bo'ladi.

*M. lanosum* suslo - agarda yumaloq konsentrik aylanali kulrang oqish, markazi unsimon koloniyalar hosil qiladi. Miseliysi bo'g'inlarga bo'lingan, yosh kulturalarda shoxlangan bo'ladi. Makrokonidiylari ko'p kamerali, ikki uchiga qarab toraygan, uzunligi 40-80 mkm.

*M. gypseum* suslo-agarda tekis, unsimon koloniyalar hosil qiladi, miseliysi raketasimon, makrokonidiylari ko'p hujayrali, 8-12x30-50 mkm.

Dermatomisetlarning fermentativ xususiyatlari umuman har xil va asosan doimiy emas, shuning uchun ham zamburug' turlarini farqlashda qo'llanilmaydi.

**Patogenligi.** *M. equi* zamburugi bilan otlarda, laboratoriya hayvonlaridan dengiz cho'chqalarida kasallik chaqirish mumkin: Buning uchun zamburug' kulturasi yoki patmaterial hayvon terisini tirnab, unga surtiladi.

**Diagnozi.** Mikrosporiyaga gumon qilinganda klinik diagnozni tasdiqlash uchun zararlangan o'choqlardan olingan qirindilar mikroskopik tekshiriladi. zarur hollarda qo'zg'atuvchining toza kulturasi ajratiladi. Bundan tashqari, trixofitiyani mikrosporiyadan farqlash kerak. Buning uchun Iyuminissentli analizdan foydalaniladi. Mikrosporiya qo'zg'atuvchilari bo'lsa, ultrabinafsha nurlar ta'sirida xarakterli yashil

nurlanish (yorug'lik) paydo bo'ladi. Trixofitiya qo'zg'atuvchisi nurlanmaydi.

### **Mavzu: Virusli infeksiya qo'zg'atuvchilari.**

**Quturish** – Odam va barcha issiq qonli hayvonlar asab tizimining og'ir shikastlanishi bilan kechadigan o'tkir infeksiyon kasallik. Odatda o'lim bilan tugaydi. Quturish hamma joyda tarqalgan. Inkubasion davrning davomiyligi tishlangan joy va uning darajasiga, jarohatga tushgan virusning miqdori va virulentligiga, tishlangan hayvonning rezistentligiga bog'liq ravishda 1 – 3 haftadan bir yil va undan ham ko'p vaqtgacha bo'lishi mumkin.

Virus Lyssavirus avlodi, Rhabdoviridae oilasiga mansub. Virionlari uchi qirqilgan sterjn shakliga ega. Virus virioni RNK si simmetriya tipida bo'lib, lipoproteid qobig'i bor. Past harorat virusni konservasiya qiladi.

Organizmda virus asosan markaziy nerv tizimida, so'lak bezlari va so'lakda bo'ladi. Oq sichqon, quyon, dengiz cho'chqasi va boshqa hayvonlarda, shuningdek birlamchi hujayra kulturalarida ( og'maxon, qo'y homilasi, buzoq va boshqalar buyragidan tayyorlangan) hamda qayta o'stirilgan hujayralarda o'sadi. Virus hujayra sitoplazmasida kiritma tanachalar hosil qiladi. Ular asosan ammon shoxi, miyacha, bosh miya qobig'i hujayralarida ko'p uchraydi.

Quturishning laboratoriya diagnostikasi bosh miyani mikroskopik (Babesh – Negri tanachalarni topish uchun), serologik (maxsus virus antigenini FAU va DPR da aniqlash) tekshirishlar, shuningdek oq sichqon yoki quyonlarda biosinov qo'yishdan iborat.

**1. Mikroskopik tekshirish.** Buning uchun bosh miyaning har xil joyidan ikkitadan tamg'a va surtmalar tayyorlanadi.

Tamg'a va surtmalar quyidagi usullarning bittasi bilan bo'yaladi:

*Muromsev, Sellers, Mixin usuli.* Mixin usulida Nerv hujayralari ko'kish, yadrosi to'q qora rangda, Babesh – Negri tanachalari esa pushti qizil, undagi kiritmalar to'q ko'k rangda ko'rinadi.

Lyuminissent mikroskopiyada bo'yalgan preparatda miya to'qimasi xira kulrang – sariq nurlanadi. Quturish virusi antigeni har xil shakl va kattalikdagi (zo'rg'a ko'rinadigandan 15 – 20 mkm gacha) ochiq sarg'ish – yashil yoki yam – yashil nurlanuvchi donachalar ko'rinadi (rasm 77).

Nazoratli preparatda intensiv sariq – yashil nurlanishlar bo'lmaydi.

**3. Biosinov.** Quturishga biosinov quyidagi hollarda qo'yiladi: mikroskopik tekshirganda (Babesh – Ngeri tanachalari topilmasa),

serologik tekshirishlar (maxsus quturish virusi antigeni topilmasa) manfiy natija bersa, shuningdek atipik kiritmalar aniqlansa. Biosinov oq sichqon yoki quyonlarda qo'yiladi.

*Rasm 77. Quturishning daydi virusi bilan zararlantirilgan kuchukchani ammon shoxidan tayyorlangan preparatda Babesh – Negri tanachalari.*



**Yirik shoxli hayvonlar paragrippi** – asosan buzoqlarning o'tkir o'tuvchi kontagioz virus kasalligi bo'lib, nafas olish organlarining zararlanishi bilan xarakterlanadi.

Kasallik qo'zg'atuvchisi – *Paramyxoviridae* oilasiga mansub RNK saqlovchi virus. Paragripp viruslari antigen tuzilishi bo'yicha bir xil emas. Ular odam va hayvonlarni zararlaydigan to'rtta serologik guruhga bo'linadi. Yirik shoxli hayvonlarni zararlaydigan virus uchinchi seroguruhga kiradi, shu sababli uni paragripp – 3 (PG – 3) deb nomlashgan.

Paragrippning laboratoriya diagnozi quyidagilarga asoslanadi: a) immunofluoressensiya reaksiyasida patologik materialdan maxsus antigeni topish, b) virusni ajratish va uni GATR yoki gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasida identifikatsiyalash, v) retrospektiv diagnoz - juft zardoblarda PG-3 virusini maxsus antigeniga antitelolarning ortishi aniqlash.

Gemadsorbsiya testi hujayra kulturasida to'plangan paragripp virusini aniqlash uchun tekshirilayotgan material bilan kulturani zararlagandan 1 – 7 kun keyin, ya'ni ko'rinadigan sitopatik o'zgarishlar paydo bo'lgunicha qo'yiladi. Virusning birinchi ekmalarida, SPT hali namoyon bo'lmaganda, gemadsorbsiya uni hujayra kulturasidan topadigan asosiy usul hisoblanadi.

Materialda paragripp virusi bo'lsa gemadsorbsiya reaksiyasi ijobiy – zararlangan hujayralarning yuzasi mustahkam yopishgan harakatsiz eritrositlar bilan qoplangan (rasm.78) bo'ladi. Paragripp viruslari uchun diffuz tipdagi gemadsorbsiya reaksiyasi xarakterlidir. Zararlanmagan

kulturalarda eritrositlar ko'rish maydonida yengilgina suzadi yoki umuman topilmaydi.



*Rasm 78. Yirik shoxli hayvonlar paragripp-3 virusi bilan zararlan tirilgan hujayra kulturasida gemadsorbsiya.*

#### **Nazorat savollari:**

1. Bakterial infeksiya qo'zg'atuvchilarining xususiyatlarini , laboratoriya diaqnozini ayting.
2. Basillali infeksiya qo'zg'atuvchilarining xususiyatlari, laboratoriya diaqnozini ayting.
3. Dermatomikozlarning laboratoriya diaqnozini ayting.
4. Laboratoriyada qanday tekshirish usullari qo'llaniladi va yakuniy diaqnoz nimaga asoslanib qo'yiladi.
5. Laboratoriyada quturishga diaqnoz qo'yishning qaysi usullarini bilasiz.
6. Qaysi usullarda patmateriallarda paragripp-3 virusi aniqlanadi.

## 16. Laboratoriya mashg'uloti №16

### Mavzu: Yem - xashak mikrobiologiyasi

**Mashg'ulotning maqsadi:** Oziqa o'simliklari va boshqilarning epifit mikrofloralarini tekshirish. Senaj, silosni mikrobiologik tekshirish (mikroskopiya, oziqa muhitlariga ekib, sut kislotali bakteriyalarni o'stirish). Oziqalarni achitqi zamburug'lari bilan achitish. Mikroskopda achitqi zamburug'larini achitishning boshi va oxirida bevosita sanash yo'li bilan aniqlash.

**Material va jihozlar:** Steril farfor havoncha to'qmoqchasi bilan, buyum oynachalari, eritrozin, mikroskop, immersiya yog'i, silos namunalari, kolbalarda steril suv, pipetkalar 10 ml hajmli, oziqa muhitlar. Achitib tayyorlangan oziqa namunalari, paster pipetkalari, yopqich oynalar, fiziologik eritma, fil'tr qog'oz, bakteriologik ilmoq, spirt.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: silos namunalarining mikroflorasini aniqlash, surtmalar tayyorlab mikroskopda ko'rish. Silosni mikrobiologik tekshirish, sifatini aniqlash. 1. Laboratoriya sharoitida achitilgan oziqalardan namuna olib, «Ezilgan tomchi» usulida preparat tayyorlash. 2. Zamburug'larni achitishning boshida va oxirida mikroskopda sanash usuli bilan tekshirib ko'rish.

O'rilgan o'tlarni quritish, pichan, senaj tayyorlash va siloslash yo'li bilan saqlash mumkin. Siloslash asosan haroratga, namlik va o'simliklar turiga bog'liq. O'sib turgan o'simliklar tanasida ularga ziyon yetkazmaydigan epifit mikroorganizmlar ko'p, chunki o'simlik hujayralari shu mikroorganizmlarga qarshilik qilish qobiliyatiga ega. Siloslangan paytida esa o'simliklarning mikroorganizmlarga qarshi himoyasi susayadi va yo'qoladi. Natijada ayniqsa chirituvchi mikroorganizmlar rivojlanadi. Noto'g'ri siloslangan oziqlarda mog'or zamburug'lari, chirituvchi, moy kislotali bakteriyalar va hakoza uchraydi. Buzilgan silosni yegan hayvonlarda zaharlanish alomatlari paydo bo'ladi. Uning oldini olish uchun silos laboratoriyada tekshiriladi. Siloslangan oziqada shakar, sut kislota sirka kislotasiga nisbatan 2-3 baravar ko'p boladi.

**Silosdagi mikroflorani aniqlash.** Namuna olish. Silosdagi mikroorganizmlar soni va sifatini aniqlash uchun uch marta namuna olinadi: 1) silosni tayyorlash paytida epifit mikroorganizmlarni aniqlash uchun; 2) silos tayyorlangandan so'ng 10 -15 kun o'tgach yetilgan

silosning mikroflorasini aniqlash uchun; 3) silosni ochgandan keyin. Silosning umumiy massasida mikrobiologik jarayonlar bir xilda kechmaydi. Shuning uchun minora ustidan va pastidan 1 m uzoqlikda №1, №2, va ular oralig'idan №3 namunalari olinadi. Transheyadan uzunligiga qarab 2-3 ta namuna ustidan 1 m chuqurlikda olinadi.

### **Silosni mikroskopik tekshirish**

Bir parcha silosni farfor havonchada kamroq distilangan suv bilan aralashtirib eziladi. To'qmoqcha bilan undan buyum oynachasida surtma tayorlab, qotiriladi, ertirozin bilan bo'yaladi. Surtmani mikroskopda ko'rib, chizib olinadi. Sifatli silosda bir - ikkita toyoqcha, kokklar ko'rinadi, yomon silosda ular ko'p miqdorda uchraydi.

**Silosni mikrobiologik tekshirish** mikroorganizmlarning turli xil fiziologik guruhlari: sut kislotali, moy kislotali, chirituvchi, gaz hosil qiluvchi, achitqi, mog'or zamburug'larini aniqlash uchun o'tkaziladi.

Avval 1:10 nisbat suyultirma tayyorlanadi – steril sharoitda texnik tarozida 40g silos o'lchab toza bankaga solinadi, ustiga 360ml steril suv quyib 10 daqiqa davomida silkitib aralashtiriladi. Keyin har birida 90 mldan steril suvi bor, raqamlangan II, III, IV, V, VI, VII 6 ta kolbada 1:10 nisbatdan 10 ml olib ketma ket suyultiriladi.

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

GPA –chirituvchi mikroflorani aniqlash uchun . I, II, III, IV, V aralashmadan

Suslo agar – mog'or va achitqilarni aniqlash uchun. I, II, III, IV aralashmadan

Suslo agar mel bilan - sut kislotali bakteriyalarni aniqlash uchun. II, III, IV, V, VI, VII aralashmadan

Sut - sut kislotasi hosil qiluvchi. II, III, IV, V, VI, VII aralashmadan

Laktoza – gaz hosil qiluvchi (ichak ) bakteriyalarini. I, II, III, IV, V aralashmadan

Kartofelli Rushan muhiti – moy kislotali bakteriyalarni aniqlash uchun. I, II, III, IV, V aralashmadan.

Ekmlar 30-35<sup>0</sup>C haroratda termostatda 3 sutka o'stiriladi. 4 chi sutkada ularda mikroorganizmlarining fiziologik guruhlari aniqlanadi.

#### **Silosning sifatini baholash.**

*Organoleptik baholash.* Rangi silos tayyorlangan o'simlik rangiga yaqin bo'lishi kerak. Sifatli silos rangi - sariq, sarg'imtir – yashil, qo'ngir-

yashil, ochiq-qo'ng'ir bo'ladi. Sifatsiz silosning rangi qo'ng'ir, to'q qo'ng'ir bo'ladi.

Sifatli silosning hidi yoqimli meva, non kvasi, ho'l olma hidini eslatadi. Buzilgan silosdan sirka hidi paydo bo'ladi. Sifatsiz silosdan turup, achigan moy, chirigan baliq hidi, ba'zan yoqimsiz go'ng hidi keladi.

Sifatli silosning ta'mi kuchsiz kislotali, yoqimli bo'ladi. Buzilgan silosning ta'mi achchiq, kislotali.

Sifatli silosning konsistensiyasi o'simliklarniklarni maydalab silos qilgan vaqtdagidek bo'ladi. Sifatsiz yoki buzilgan silosda o'simlik massasi yopishqoq, surtiluvchi bo'lib, barglari bir-biridan ajralmaydi.

#### **Silosning pH-ni aniqlash**

Silos pH-ni aniqlash uchun sifatli va sifatsiz silosdan alohida suvli so'rimlari tayyorlanadi. 100 g mayday qirqilgan silosni 1 litrli idishga solib  $\frac{3}{4}$  hajmgacha distillangan suv quyiladi. Yaxshi aralashtirib 1 lga yetgunicha suv qo'shiladi. 4-5 soat davomida vaqt vaqtida aralashtirib turiladi. Filtrlanadi. Farfor havonchaga 1 ml silosning suvli so'rimini solib, unga 1 tomchi universal indikator tomiziladi va aralashtiriladi. Aralashmaning rangi o'zgaradi. Standart indikator qog'oz rangi bilan taqqoslab pH aniqlanadi.

A.N.Mixin usuli bilan pH aniqlanganda bromtimol va metilrot aralashmalari indikator sifatida ishlatiladi. Havonchaga 2 ml silosning suvli so'rimini solib, unga 2-3 tomchi indikator aralashmasi tomiziladi va rangning o'zgarishini hisobga olib 4- jadval yordamida silosning sifati aniqlanadi.

Amaliyotda silos pHi kolorimetrik, elektrometrik va boshqa usullar bilan aniqlanadi.

3 ball va undan past baholangan silos sifati o'ta sifatsiz, hayvonlarni oziqlantirish uchun yaroqsiz hisoblanadi.

#### **Silosda mikrobiologik jarayonlarning rivojlanishi.**

*Birinci faza.* Asosan enterobakteriya guruhi bakteriyalari, ammonifikatorlar, moq'or zamburug'lari va achitqilar ko'p bo'ladi. Siloslash to'g'ri olib orilsa bu mikroflora 1-2 sutkadan keyin sut kislotali bakteriyalar hayot faoliyati mahsulotlari ta'sirida kamayib ketadi.

*Ikkinchi faza.* Sut kislotali mikroorganizmlar ko'payib, avval sut kislotali streptokokklar, keyin sut kislotali tayoqchalar rivojlanadi.

*Uchinchi faza.* Sut kislotali tayoqchalar miqdori ortib, sut kislotaning yuqori konsentrasiyasiga chidamsiz bo'lgani uchun kokksimon

bakteriyalar kamayib ketadi. Bu fazada pH 4,0-4,2 ga yetadi, sut kislota miqdori 1,5-2% oziqaga nisbatan

Jadval 4

**Silosning sifatini ballarda baholash ( A.N. Mixin bo'yicha)**

Silos suvli so'rimini indikator qo'shgandan keyingi rangi	pH ko'rsatkichi	Ball
--	-----------------	------

*Silos pHi*

Qizil	4,2 va past	5
Qizil- to'q sariq	4,2 – 4,6	4
To'q sariq	4,6 – 5,1	3
Sariq	5,1 – 6,1	2
Sarg'imtir-yashil	6,1-6,4	1
Yashil	6,4 – 7,2	0
Yashik-ko'k	7,2 – 7,6	0

*Hidi*

Xushbo'y, meva, bir oz achigan non hidli	4
Kuchsiz xushbo'y, sirka kislotali, bodring hidli	2
O'tkir sirka kislotali, yog' kislota – hidli	2-1
Chirigan, sassiq, go'ng, o'tkir yog' kislota hidli	0

*Rangi*

Yashil	3
Qo'ng'ir yoki sariq-yashil	2
Qora-yashil	1
Qora	0

**Silosning ko'rsatkich ballari bo'yicha umumiy yoki sifat bahosi**

Juda yaxshi	11-12
Yaxshi	9-10
O'rta sifatli	7-8
Yomon	4-6

**Achitish** - oziqani oziqlantirish uchun tayyorlashning mikrobiologik usuli. Achitqilar oziqani faqat oqsil bilan emas, vitamin, fermentlar bilan ham boyitadi.

Madaniy achitqilarga pivo, non, vino, oziqa achitqilari kiradi. Ular bir biridan achitish aktivligi, spirt hosil qilishi, kraxmalni qandga aylantirish qobiliyati bilan farq qiladi. Oziqani achitish uchun shu

achitqilarning xoxlagan birortasini ishlatish mumkin, lekin eng yaxshisi non achitqisidir.

Achitqilarning to'yimlilik qiymati yuqori bo'ladi. Ular tarkibida: 48-52 % oqsil, 13-16 % uglevod, 2-3 % yog, 22-40 % biologik aktiv moddalar, 6-10 % kul bor. Achitqilar tarkibiga ko'pgina hayot uchun zarur bo'lgan aminokislotalar- arginin, gistidin, lizin, leysin, tirozin, treonin, fenilalanin, metionin, Valin, triptofan kiradi. Qishlok xo'jalik hayvonlarining o'sishi uchun zarur bo'lgan lizin oziqa achitqilari tarkibida ko'pligi bilan asosiy o'simlik oziqalaridan ustun turadi va hayvonlardan olinadigan oziqaga yaqin bo'ladi. Achitqilar kuli tarkibida fosfor, kaliy, kalsiy, natriy, magniy, mis, sink, marganes, kobaltlar bor. Achitqilarda «B»guruhi vitaminlari ko'p (tiamin, riboflavin, pantoten kislota, xolin, piridoksin, biotin, inozit, foliy kislota), vitamin «D<sub>2</sub>»ning provitamini( ergosterin), shuningdek «Ye», «C» va boshqa vitaminlar bor.

#### **Achitqilarning rivojlanishi uchun kerakli sharoitlar.**

Achitishning bosh maqsadi - muhitda achitqi hujayralarini ko'p miqdorda hosil qilish. Achitqilarning boshqa mikroorganizmlar singari o'sishi va rivojlanishi uchun oziqa moddalar, havo kislorodi, optimal harorat kerak. Achitqilar oziq moddalarni achitiladigan massadan, kislorodni havodan, haroratni 25-30 ° C darajada isitish yo'li bilan oladi. Achitish jarayoni 9-12 soat davom etadi. Achitishda chirituvchi, moy kislotali va boshqa zararli mikroorganizmlar rivojlanib ketmasligiga e'tibor qilish kerak.

**Oziqalarni tanlash va tayyorlash.** Achitqilar o'simliklardan olingan har xil oziqalarda rivojlanishi mumkin. Lekin hamma oziqani ham achitish mumkin emas. Buning uchun uglevodlarga boy va proteini kam oziqalar-kartoshka, lavlagi, oshqovoq, don va un ishlab chiqarish chiqindilari, pichanlarni ishlatgan yaxshi. Oziqa aralashmalarini shunday tanlash kerakki, ular achitqini rivojlanib ko'payishi uchun yaxshi muhit bo'lsin. Ularda yetarli darajada uglevodlar, azotli moddalar va fosfor bo'lsin. Oziqalar aralashmasining har xil turlari bor. U birinchi bo'lib xo'jalikning oziqa resurslariga bog'liq. Hayvonlardan olinadigan oziqalarni (go'sht, qon, go'sht-suyak uni), oshxona chiqindilarini achitish kerak emas. Bunday muhitlarda chirituvchi mikroorganizmlar tez ko'payadi. kombikorm, jmix, dukkaklilarni toza o'zini achitish kerak emas.

Achitishdan oldin oziqalarni yaxshilab tayyorlash kerak. Pichan maydalanadi, don chiqindilari tugiladi, kartoshka, lavlagi yuvilib maydalanadi. Oziqani achitish qo'shimcha mablag' sarf etishni talab qiladi, lekin hayvon mahsuldorligini oshirishi bilan o'zini oqlaydi.

Achitishni quruq, yorug' va keng xonalarda o'tkazgan yaxshi. Zaxonalarda har xil mog'or zamburug'lari rivojlanadi. Ular sporalari bilan rivojlanib, o'simliklarda ham uchrab achitilgan oziqaga tushishi mumkin. Mog'or zamburug'lari ichida zaharli mahsulotlar hosil qilib, hayvonlarni zaharlanishga olib keladiganlari ham bor. Yorug'lik yaxshi bo'lsa oziqani yaxshilab tekshirib, buzilganlarini ajratish mumkin bo'ladi. Xonada kerakli jihozlar: yog'och qopkoqli yashiklar, achitqi tayyorlash uchun yog'och bochkalar, oziqani aralashtirish uchun yog'och kuraklar, suv isitish uchun qozon, kompressor va h.k. bo'lishi kerak.

Tarkibida eruvchi qand yetarli miqdorda bo'lgan oziqalarni achitish ko'proq samaralidir. Ko'pgina konsentrlangan oziqalarda (suli, arpa, makka, kombikorm) suvda eruvchi qand miqdori 2 % dan oshmaydi. Uni ko'paytirish uchun oziqani solodlash ya'ni solod (undirib yanchilgan bug'doy, arpa va sh.k.) qo'shish yo'li bilan yem - xashak sifatini yaxshilash. Bunda fermentlar faoliyati aktivlashib, bir qism kraxmalni qandga aylantiradi. Uning miqdori 8-12 % ga yetadi. Oziqani solodlash 55-60°C haroratda issiq xonada 3-4 soat davomida olib boriladi. Nisbatan pastroq haroratlarda oziqa achib ketadi. Achish jarayonida oziqa oqsil, vitaminlar bilan to'yinib, uning ta'mi, sifati yaxshilanib, uni yegan hayvonning maxsuldorligi ortadi. Oziqani achitishning 3 xil usuli bor: ko'pchitib, ko'pchitmay va ivitib achitish.

**Ko'pchitish usulida** avval hamirturush ko'pchitilib tayyorlanadi, keyin oziqa achitiladi. Ko'pchigan xamirturushni tayyorlash uchun, presslangan achitqi suyultirilib oziqa bilan aralashtiriladi (1 % achitqi va achitqining 5dan bir qismi) va 6 soat davomida har 20-30 daqiqada aralashtirib turiladi. Keyin oziqaning qolgan qismi 2 barobar suv qo'shib yana qayta aralashtiriladi.

Aralashma yana 3 soat turadi. Shu vaqt davomida vaqti vaqti bilan aralashtirilib tursa, achish jarayoni kechadi.

**Ko'pchitmay achitish usuli** oziqaning hammasini birdan achitishdan iborat. Buning uchun 1 % zichlangan hamirturush iliq suvda suyultiriladi, oziqa va ikki miqdor suv bilan aralashtiriladi. Aralashma 8-10 soat davomida har 30 minut davomida aralashtirib turiladi. Shu vaqt ichida achitish jarayoni tugab, hayvonlarga berish mumkin bo'ladi.

Hamirturush (achitqi) kam bo'lgan xollarda **ivitib achitish usuli** qo'llaniladi. Avval ivitqi tayyorlanadi, oziqa solodlanadi va u achitiladi. Ivitqi tayyorlashni bir necha usullari bor, hammasi bir narsaga asoslanadi- 0,5 kg zichlangan hamirturush, kamroq miqdordagi yaxshi achiydigan uglevodli oziqalarda (kepak, sulii, arpa) 30-35°C dan past bo'lmagan

haroratda 5 soat. Keyin oziqaga qaynoq suv quyib  $60^{\circ}\text{C}$  dan past bo'lmagan haroratda 5-6 soat davomida saqlanadi. Solodlangan oziqaga shuncha miqdorda suv va ivitqini yarmi qo'shiladi. Yaxshilab aralashtirib, yopiladi va 6 soatga iliq joyga qo'yiladi. Ivitqining ikkinchi qismi yangi solodlangan oziqaga qo'shiladi. Hayvonlarni achitilgan oziqalarga asta sekin o'rgatiladi.

**Achitqilarning o'sishi va ko'payishini nazorat qilish.** Achitish jarayonida oziqa oziq moddalari bilan boyitiladi. 1 gr yangi navvoychilik xamirturushida 10 mlrd dan ko'p achitqi hujayralari bor. Bunday quyuklikda achitqilarda 45-60 % oqsil bo'lib, hayvon organizmi uni yengil o'zlashtiradi. Achitqi hujayralarning rivojlanishi uchun aniq harorat ( $25-30^{\circ}\text{C}$ ), havo, pH 3,8-4,2 gacha bo'lishi kerak. Agar havo yetishmasa oziqada 4-6 soatda spirt hosil bo'lishi kuchayadi va achish jarayonini pasaytirib, oziqada proteinning to'planishini to'xtatadi.

Laboratoriya sharoitida achitilgan oziqalardan achitishning boshida va oxirida namuna olinadi. Undan «Ezilgan tomchi» usulida preparat tayyorlab mikroskopda achitqi zamburug'lari tekshiriladi, sanaladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Silosdagi mikroflorani aniqlash uchun namuna olish qoidasini ayting.
2. Silosni mikrobiologik tekshirish usulini ayting.
3. Silosning sifati organoleptik usulda qanday baholanadi.
4. Silosning pHni aniqlash usullarini ayting.
5. Silosda mikrobiologik jarayonlarning rivojlanish fazalariga tushuncha bering.
6. Achitqi zamburug'lari bilan oziqani achitishning mohiyatini tushuntiring.
7. Oziqalarni achitishda qanday achitqi zamburug'lari ishlatiladi.
8. Achitqilarning rivojlanishi uchun qanday sharoitlar kerak
9. Oziqani achitishning qanday usullari bor
10. Laboratoriyada achitilgan oziqalar qanday tekshiriladi.

## 17. Laboratoriya mashg'uloti №17

### Mavzu: Sut va sut mahsulotlarini mikrobiologik tekshirish

**Mashg'ulotning maqsadi:** Sutdagi mikroorganizmlar sonini hisoblash, koli-titrini aniqlash, reduktaza namunasini qo'yish. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish.

**Material va jihozlar:** Petri kosachalari, 6 ta probipkada 9 ml dan steril suv, 1-2-10 ml li darajali pipetkalar. 3 xil sut namunasi, GPA. Suslo agar, mel qo'shilgan Suslo agar, Kessler muhiti probirkalarda steril sut, glyukoza, katta 20ml sut uchun probirkalar, metilen ko'ki, suv hammomi, termometr.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Sut namunasidan ketma ket suyultirmalar tayyorlab oziqa muhitlarga ekish.
2. Reduktaza namunasini qo'yish.

**Sut** – sut emizuvchilar sut bezining sekreti. Mikroblar rivojlanishi uchun yaxshi oziqa muhit.

**Sutdagi mikroorganizmlar miqdori va guruhini ekish yo'li bilan aniqlash.** Namuna olish. Sutni yaxshilab aralashtirgandan keim steril kolbaga 500 ml sut olinadi. Namuna sovuq joyda  $+6^{\circ}\text{C}$  haroratda saqlanadi. Namuna olgan zahoti yoki 4 soatdan kechiktirmay oziqa muhitlarga ekiladi.

Sutdan suyultirmalar tayyorlashdan avval unda taxminan qancha mikroblar borligini bilish kerak: alohida bir sigirdan olingan yangi sutning 1 ml da 10 000, yig'ilgan sutda 100 000, sut zavodida yig'ilgan sutda 100 000 dan 1000000 mikroblar bo'ladi. Sut tarkibidagi mikroblar miqdori qancha ko'p bo'lsa, suyultirish darajasi shuncha yuqori bo'lishi kerak. Lekin oxirgi suyultirmada 1-10 ta tirik mikrob hujayralari qolishi kerak.

Suyultirma tayyorlash uchun 9 ml dan steril suvi bor 7 ta probirka raqamlanadi. birinchisiga steril pipetka bilan 1 ml sut namunasini quyib aralashtiriladi 1:10 nisbat hosil bo'ladi. Shu tarzda 1:1000000 gacha ketma-ket suyultirmalar tayyorlanadi.

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

GPA Petri kosachasida– chirituvchi mikroflorani aniqlash uchun II,III,IV aralashmadan

Suslo agar Petri kosachasida – mog`or va achitqilarni aniqlash uchun I,II,III aralashmadan

Steril sut probirkalarda - sut kislotasi hosil qiluvchi. III,IV,V,VI,VII aralashmadan

Laktoza – gaz hosil qiluvchi (ichak ) bakteriyalarini. I,II,III,IV, V, VI aralashmadan

Ekmalar Petri kosachasidagi GPA termostatda 37<sup>0</sup>C, Suslo agar 25-28<sup>0</sup>C haroratda 2- 3 sutka o`stiriladi. Sut va laktozali probirkadagi ekmalar termostatda 30-40<sup>0</sup>C haroratda o`stiriladi.

### **Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash uchun reduktaza namunasini qo`yish.**

1. *Metilen ko`ki bilan sinash.* Reduktaza bu mikroorganizmlar ajratadigan ferment bo`lib, metilen ko`kini rangsizlantirish xususiyatiga ega. Tekshirilayotgan sutda mikroorganizmlar qancha ko`p bo`lsa, ferment miqdori shuncha ortadi. Sutning mikroblar bilan oz yoki kop ifloslanganligini aniqlash aynan shunga asoslangan.

Metilen ko`kinging ishchi eritmasini tayyorlash. Avval bo`yoqning to`yingan spirtli eritmasi tayyorlanadi: 10 g metilen ko`ki 100 ml 96<sup>0</sup> etil spirti bilan aralashtiriladi. Eritma 1 sutka termostatda 37<sup>0</sup> Cda saqlanadi, filtrlanadi. Ushbu to`yingan eritmaning 5 ml ga 195 ml distillangan suv aralashtirib metilen ko`kinging ishchi eritmasi tayyorlanadi.

*Reaksiyani qo`yish.* Bakteriologik probirkaga 1 ml metilen kokining ishchi eritmasi va 20ml sut namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashtirib 38-40<sup>0</sup>C li suv hammomiga qo`yiladi. Sutning rangsizlanishi 20 daqiqa, 2soat va 5,5 soatdan keyin hisobga olinadi. Rangsizlanish vaqtiga bog`liq ravishda sut 4 sinfga bo`linadi (jadval 5).

Jadval 5

### **Sutning rangsizlanishi va bo`yalishi bo`yicha sifatini baholash**

Sinf	Sutning sifat bahosi	Sutning rangsizlanish davomiyligi	1 ml sutdagi mikroblar miqdori
I	Yaxshi	5,5 soatdan keyin	500000dan kam
II	Qoniqarli	2 soatdan 5,5 soatgacha	500000 dan 4mln. gacha
III	Yomon	20daq.dan 2 soatgacha	4mln.dan 20mln.gacha
IV	Juda yomon	20 daqiqagacha	20 mln va undan ortiq

*Metilen ko`ki bilan sutni tekshirishni tezlashtirilgan usuli.* Steril probirkalarga 1 ml metilen kokining ishchi eritmasi va 10ml sut

namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashtirib 38-40<sup>0</sup>C li suv hammomiga qo'yiladi. Sutning rangsizlanishi 5,10,15 daqiqadan keyin hisobga olinadi. Bu vaqtda sutning rangsizlanishi, uning 1 ml da 10 millionlab mikroorganizmlar borligini ko'rsatadi.

### **Mikroblarni bevosita mikroskopda sanash.**

Drayer – Korolev usuli. Bu usul standart suspenziyadagi hujayralar bilan tekshirilayotgan sutdagi mikroblar sonini taqqoslashga asoslangan. Standart bu biror mikrobnig (masalan, achitqi) fiksasiya qilingan. o'ldirilgan aralashmasi bo'lib, uning 1 ml da 10 mln hujayra bor. Yaxshilab silkitib 1 ml dan standart va sut namunasini olib aralashtiriladi. Yog'sizlantirilgan buyum oynachasiga bir tomchi aralashma yoyib surtiladi. Qotirib, bo'yagandan keyin mikroskopning 10 – 20 ta ko'rish maydonida standart hujayra va boshqa mikroflora alohida sanaladi. Keyin mikrob hujayrasining o'rtacha soni standart mikrobnig o'rtacha soniga taqqoslab aniqlanadi.

*Masalan: 20 ta ko'rish maydonida 60 ta standart hujayra va 80 ta mikrob hujayrasi aniqlandi. 1 ml standartda 10 mln hujayra bo'lsa, 1 ml tekshirilayotgan sut namunasida taxminan 13 mln hujayra bo'ladi.*

$$X = 80 \times 10^7 : 60 = 13.10^6.$$

### **Sutda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash.**

Har bir mikrob hujayrasi zich oziq muhitda koloniya hosil qiladi. Tekshirilayotgan sutdagi mikroblar miqdorini Petri kosachalaridagi zich oziq muhitda o'sib chiqqan koloniyalarni sanash bilan hisoblanadi.

Agar ko'p koloniyalar o'sgan bo'lsa sanash qulay bo'lishi uchun kosacha bir nechta sektorlarga bo'linadi. Sutning har xil suyultirish darajasidagi ekmlaridan koloniyalar sanaladi. Sanash natijalarini taqqoslab, koloniyalarning o'rtacha soni aniqlanadi. 1 ml sutdagi mikroblar soni umumiy koloniyalar miqdorini sutning suyultirish darajasiga ko'paytmasiga teng.

1 ml sutda qncha mikrob borligi uni steril yogi olinmagan yoki olingan sutga ekkanda uni ivishiga qarab hisoblanadi.

*Masalan: agar birinchi beshita probirkalarda ivisa, 1 mlda 100 ming mikrob hujayra bor, birinchi oltita probirkalarda ivisa, 1 mlda 1 mln. mikrob hujayra bor.*

### **Sutning koli-titrini aniqlash.**

Sutning koli-titri Kessler muhitida aniqlanadi. Uning tarkibida sut kislotali va boshqa grammusbat mikroblarni o'sishdan to'xtatuvchi moddalar bor – o't suyuqligi, gensian violet bo'yog'i.

Sut yoki sut mahsulotlari avval 1:10, 1:100 va h.k. nisbatlarda suyultiriladi. Keyin Kessler muhiti bor oltita probirkadan uchtaga 1 mldan, qolganlariga – 0,1 ml har bir suyultirmadan solib ekiladi. Ekmalar 43<sup>0</sup>C haroratda termostatga ikki sutka qo'yiladi. Oltita probirkaning hammasida gaz hosil bo'lmasa mahsulotning tozaligidan dalolat beradi, va uning koli-titri 3 mldan yuqori hisoblanadi; 1 ml ekilgan probirkaning bittasida gaz hosil bo'lsa, koli-titr 3 mlga teng; ,irdan optiq 0,1 ml ekilgan probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 ml; olti yoki beshta probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 mldan kam hisoblanadi. Bunday sut iste'molga yaroqsiz bo'ladi.

Ichak tayoqchasi Endo muhitida idyentifikasiya qilinadi (qiyoslanadi). Gaz hosil bo'lgan probirkalardan unga ekib, bir sutka 37<sup>0</sup>Cda termostatda o'stiriladi. Endo muhitida qizil rangli qoramtir tovlanadigan xarakterli koloniyalarning paydo bo'lishi ichak tayoqchasi borligini bildiradi. Koloniyalardan surtmalar tayyorlab, Gram usulida bo'yaladi, mikroskopda ko'riladi va kulturadan laktozali Gissa muhitiga ekiladi.

Tarkibidagi mikroblar miqdori va ichak tayoqchasi titri bo'yicha pasterizasiyalangan sut ikki guruhga bo'linadi: A va B (jadval 6).

Jadval 6

**Sigir sutining mikrobiologik tasnifi**

Sut pasterisasiyalangan	1 ml sutda umumiy mikroblar soni	Ichak tayoqchasining titri, ml
Butilka va paketlarda:		
Guruh A	75 000	3
Guruh B	150 000	0,3
Flyaga va sisternalarda	300 000	0,3

**Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish.** Sut kislotali bolgar tayoqchalarini ajratish uchun prostokvashadan ilmoqda olib steril sutga ekiladi. 40-45<sup>0</sup>Cda termostatda o'stiriladi. Ikki sutkadan keyin sutivigan probirkalardan surtmalar tayyorlab, mikroskopda ko'riladi.

**Nazorat savollari:**

1. Sutdagi mikroorganizmlar miqdori va guruhini aniqlash usulini ayting.
2. Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini reduktaza namunasida aniqlash.
3. Sutda mikroblarning umumiy miqdori qanday aniqlanadi.
4. Mikroblarni bevosita mikroskopda sanash usulini ayting.
5. Sutning koli-titrini aniqlash usulini ayting.

## 18. Laboratoriya mashg'uloti №18

### Mavzu: Go'sht, tuxumni mikrobiologik tekshirish

**Mashg'ulotning maqsadi:** Yangi va buzilgan go'shtni yuza va chuqur qatlamlaridan surtma tayyorlab mikroskopda tekshirish. Go'shtni oziq muhitlarga ekib mikroblarning umumiy sonini aniqlash. Go'shtning pH ni, Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash. Sifati buzilgan tuxumni mikroflorasi bilan tanishish. Ovoskopda tekshirish va tuxumni suvga solish namunasini qo'yish.

**Material va jihozlar:** Sifati yaxshi (№1) va buzilgan (№2) go'sht namunalari, qaychi, pinset, scalpel, gensianviolet, lyugol, etil spirti 96<sup>0</sup>, sil fuksini, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, yangi va eskirgan tuxum namunalari, ovoskop, stakanda suv, GPB, GPA, Saburo, mavzuga oid plakatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Goshtdan surtma tayyorlab Gram usulida boyash va mikroskopda ko'rib natijasini daftarga yozish.
2. Go'sht namunalariidan suspenziya, ekstraktlar tayyorlab GPA ga ekish, go'shtning pH ni aniqlash.
3. Ovozkopda tuxumni tekshirish. 4. Tuxumni suvga solish namunasini qo'yish. 5. Sifati buzilgan tuxumdan surtma tayyorlab Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

Go'shtning mikroblar bilan ifloslanganligini, unda har xil mikroblar – kasallik qo'zg'atuvchilarini, go'sht iste'molga yaroqliligini aniqlash uchun mikrobiologik tekshiriladi. Go'sht avval organoleptik tekshiriladi, keyin uning yangiligiga bog'liq ravishda undan surtmalar tayyorlab mikroskopik tekshiriladi va GPB, GPAlarga ekiladi.

**Mikroskopiya.** №1, №2 go'sht namunalarining: 1) yuza qismidan tamg'ali surtmalar tayyorlanadi. Buning uchun steril qaychi bilan bir bo'lak go'shtni kesib, shu tomoni tayyor steril buyum oynasiga yengilgina bosib olinadi. 2) go'shtning ichki chuqur qatlamidan surtma tayyorlanadi. Avval qizdirilgan shpatel go'shtning ustiga bosib olinadi, keyin chuqurroq joyidan bo'lakchani kesib, steril buyum oynasiga

yengilgina bosib olinadi. Preparatlar havoda quritiladi, spirt lampasi alangasida qotiriladi, sovugach Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi. Kamida beshta ko'rish maydonida sharsimon va tayoqchasimon bakteriyalar sanaladi. Sanalgan barcha mikroblar sonini qo'shib, ko'rilgan maydon soniga bo'linsa, mikroblarning o'rtacha miqdori aniqlanadi.

#### *Natijani hisobga olish.*

Nihoyatda yangi, sovutilgan go'sht – oynada to'qimq tang'alari deyarli yo'q, surtma bo'yalgani bilinmaydi. Go'sht yuzasidan tayyorlangan syrtmada bir, ikkita tayoqchalar ko'rinadi. Chuqur qatlamidan tayyorlanganida mikroblar bo'lmaydi.

Shartli yaroqli go'sht – surtmalar yaxshi bo'yalgan, chunki to'qimq suvida ko'p zich moddalar bor (to'qima buzilishining boshlanishi). Ko'rish maydonida kokklar va uncha ko'p bo'lmagan tayoqchalar bor.

Eskirgan go'sht – surtma kuchli bo'yalgan, chunki unda ko'p miqdorda buzilgan to'qimalar bor. Ko'rish maydonida kokklar va tayoqchalar juda ko'p. Kuchli chirishda kokklar deyarli bo'lmaydi, tayoqchasimon bakteriyalar uchraydi,

#### **Goshtda mikroblarning umumiy sonini aniqlash.**

Har bir go'sht namunasi steril qaychi bilan 1-2g kesib, steril byuksga solinadi va o'lchanadi. Steril hovoncada to'qmoqcha bilan ezib 10 ml steril suvda suspenziya tayyorlanadi. Steril Petri kosachalariga 1 ml suspenziya va 10-12 ml eritib 45<sup>0</sup>C gacha sovutilgan GPA quyiladi. Uni aylanma harakatlar bilan aralashtirib, zichlashgunicha qoldiriladi. Kosachalarni teskari to'nkarib termostatga 37<sup>0</sup>Cga bir sutka qo'yiladi. 1 g go'shtdagi mikroblar sonini aniqlash uchun unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga ko'paytiriladi.

#### **Bodorod ionlari miqdorini aniqlash (pH).**

Ekstrakt filtrati tayyorlanadi – pay va yog'siz toza go'shtdan 10 g o'lchab olinadi. Mayda keciladi va 100 ml distillangan suv quyib, silkitib aralashtiriladi. 15 daqiqadan so'ng qog'oz filtrda filtrlanadi. Ekstrakt filtrat kalorimetrik usulda paranitrofenol bilan tekshiriladi.

*Natija* – yangi go'shtda pH 5,9-6,4; gumonlida – 6,6; yaroqsizida – 6,7 va undan yuqori.

### Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul).

Ikkita probirka olib bittasiga 1 ml gosht ekstrakti filtrati, ikkinchisiga 1 ml distillangan suv quyiladi. Probirkalarga Nessler reaktivi tomchi bilan qo'shiladi. Har bir tomchini qo'shgandan so'ng rangining o'zgarishi va cho'kmaning hosil bo'lishi hisobga olinib, + lar bilan belgilanadi (jadval 7).

*Nessler reaktivini tayyorlash.* 5g kaliy yodid 5 ml issiq distillangan suvda eritiladi. 15g KOH 40 ml distillangan suvda eritiladi. Eritmalarni aralashtirib unga 1-2 ml to'yingan sulema eritmasi qo'shiladi. Sovuganidan keyin distillangan suv qo'shib hajmi 100 mlga yetkaziladi.

Jadval 7

### Nessler reaktivi orqali ammiakni aniqlash ( V.Yu. Volfers bo'yicha)

Reaktiv tomhilari soni	Rangi o'zgarishi, Cho'kma hosil bo'lishi	Ammiak mg/ml hisobida (taxminan)	Reaksiya bahosi	Go'shtning sifati
10	Rangi o'zgarmagan, loyqalanib, cho'kma yo'q	16 gacha	-	Yangi
10	Rangi sariq, bir oz loyqa, cho'kma yo'q	16 - 20	+ -	Buzila boshlagan, go'shtni saqlash mumkin emas
10	Rangi sariq, bir oz loyqa, kamroq cho'kma bor	21 - 30		
6 - 9	sariq, yoki sabzi rang, qizilroq, cho'kma	31 - 45	++	Shartli yaroqli, go'shtni tozalab, tezda ishlatish kerak
1 - 5	Rangi sariq, yoki qizilroq, cho'kma	45 dan ortiq	+++	Iste'molgayaroqsiz, texnik Utilizasiya qilinadi

**Benzidin sinov reaksiyasida** gosht ekstrakti filtratidan probirkaga 2 ml olib unga 5 tomchi benzidinning 0.2%li spirtli eritmasi va 2 tomchi 1%li vodorod peroksidi qo'shiladi, silkitib aralashtiriladi. Natijani hisobga olish:

1. Sifatli go'sht – aralashma 0.5-1.5 minutda ko'k-yashil rangga kiradi.
2. Sifati gumonli, shartli yaroqli go'sht - aralashma ko'k-yashil rangdan asta sekin to'q qo'ng'ir rangga o'zgaradi.
3. Sifatsiz g'o'sht – aralashma bo'yalmaydi.

**Tuxum mikroflorasi.** Tuxumga mikroblar faqat uning shakllanish vaqtida emas, saqlash vaqtida ham tushadi. Tuxum po'stloq bilan himoyalangan bo'lib, unda diametri 4-10 mkml teshiklari bor. Po'stloqning 1 sm<sup>2</sup> da ularning miqdori: tuxum yo'nalishida 147, go'sht yo'nalishida – 132 ta. Mikroblar shu teshiklardan tuxumning ichiga kiradi. Harorat va namlikning ortishi bunga ko'proq imkon beradi. Sifati buzilgan tuxumda vulgar protei, ichak tayoqchasi, zamburug', achitqi va h.k. mikroorganizmlar topiladi. Tuxum oqsili mikroorganizmlarning rivojlanishi uchun juda yaxshi oziqa muhit. Ko'pincha eski, uzoq saqlash natijasida himoya kuchi kamayib, lizosimi neytrallangan tuxumlar zararlanadi. Yangi tuxumda tabiiy immunitet bo'ladi. Lizosim miqdori tovuq tuxumining oqsilida ko'p (5,71 mg/ml), suvda suzuvchilarda kamroq: o'rdak (1,80 mg/ml), g'oz (0,38 mg/ml). Tovuq oqsilida mikroblarning rivojlanishi mahsulotlarning buzilishiga olib keladi. Bunday tuxumlarni ovoskopda tekshirganda qora doq', nuqta shaklida koloniya ko'rinadi.

Ayniqsa suvda suzuvchi parrandalar (ordak, g'oz) tuxumlari xavfli, ko'pincha salmonella, mikobakteriya va boshqa infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilari bilan zararlangan bo'ladi. Shuning uchun ularni faqat qandolat mahsulotlarini ishlab chiqarishda 13 -14 daqiqa qaynatib pishirgandan keyingina qo'llashga ruxsat etiladi.

#### **Mikroorganizmlar ta'sirida tuxumning buzilishlari.**

Mog'orlash – mog'or zamburug'lari havo kamerasi yaqinida koloniyalar hosil qilib yorug'lik o'tkazmaydi. Giflar zich to'r hosil qiladi, oqsil eriydi. Ko'pincha *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* avlodi vakillari uchraydi.

Tuxumning chirishi – ammonifikatorlar ta'sirida oqsil chirib parchalanadi, natijada ammiak, vodopod sulfid va boshqa gazlar hosil

qiladi. Bunday gazlar po'stloqni yorilishiga olib keladi, tuxum oqib atrofidagi boshqa tuxumlarni mikroblar bilan zararlaydi. Zararlangan tuxum oqsili suyuq - yashil, qora ba'zan sariq rangda. Ulardan *Pseudomonas*, *Proteus*, shuningdek *Escherichia*, *Salmonella*, *Pichan* tayoqchasi, sarsina va h.k.lar ajratiladi.

#### Tuxumning yangiligini aniqlash:

*Ovoskopiya* – o'tuvchi yorug'likda ovoskop yordamida tuxumni ko'rish. Ovoskop bu ustida tuxumlarni jo'ylashtirish uchun teshiklarigi bor yashik. Ichida yorug'lik manbai - elektr lampochkasi o'rnatilgan moslama. Qorong'i xonada bajarish samarali natija beradi. Yorug'lik manbai kuchli bo'lsa tabiiy yorug'likda ham ishlash mumkin.

Yangi tuxumning havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i markazida joylashgan bo'ladi.

*Tuxumni suvga solish namunasini qo'yish.* Tuxumni o'tmas tomonidan ehtiyotlik bilan stakandagi suvga solinadi. Bunda eski, sifati buzilgan tuxum turib qoladi yoki qalqib chiqadi. Yangi tuxum – stakan tubida yotadi.

Eski, sifati buzilgan tuxum ichidagi massadan surtma tayyorlab Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rib mikroblarning tarkibi va miqdori bo'yicha tuxumda kechayotgan jarayonlar haqida mulohaza qilinadi. GPB, GPA, Saburo muhitlariga ekiladi.

#### Nazorat savollari:

1. Go'stni mikrobiologik tekshirish usullarini ayting.
2. Go'shta mikroblarning umumiy soni qanday aniqlanadi.
3. Goshtning pH ni aniqlash usulini ayting.
4. Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul).
5. Benzidin sinov reaksiyasida go'shtning sifatini aniqlash.
6. Tuxumning mikroflorasi haqida tushuncha bering.
7. Tuxumni mikroblar bilan ifloslanishi qanday buzilishlar paydo qiladi.
8. Tuxumning yangiligi qaysi usullarda aniqlanadi.
9. Suvda suzuvchi parrandalar (o'rdak, g'oz) tuxumlari nega xavfli hisoblanadi.
10. Tuxumni mikrobiologik tekshirish.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Asonov N.R. Mikrobiologiya M.agropromizdat.1989g.
2. Asonov N.R. Praktikum po mikrobiologii, M. Promizdat, 1989g.
3. Gariyev I.G. Mikrobiologiya. Toshkent 1990 y.
4. Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. M.2005 g.
5. Shapulatova Z.J. Mikrobiologiya fanidan leksiylar kursi. Samarqand, 2008 y.
6. Tepper YE.Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii.M.2005 g.
7. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 1, Obshaya mikrobiologiya. M.2006 g.
8. Kislenko V.N., Kolichev N.M. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 2, Immunologiya. M.2006 g.
9. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3, M.2007 g.
10. Antonov B.I. Laboratorniye issludovaniya v veterinarii. Bakterialniye infektsii. Spravochnik. M. Agropromizdat 1986 y.
11. Zooveterinariya jurnallari, Toshkent.
12. Internet ma'lumotlari  
www. Ziyo.net.uz.  
email: zooveterinariya @.ru  
email: sea @ mail.net21.ru  
email: veterinariy @.actavis.ru  
email: fvat@.academy. uzsci.net

## MUNDARIJA

Soʻz boshi.....	3
Amaliy va laboratoriya mashgʻulotlari uchun uslubiy koʻrsatma.....	4

### BOʻLIM 1 UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

Mavzu 1. Mikrobiologiya laboratoriyasi. Biologik mikroskop. uning tuzilishi va ishlash qoidalari.....	6
Mavzu 2. Preparatlarni boʻyash usullari, bakteriyalarning asosiy shakllarini oʻrganish.....	16
Mavzu 3. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni boʻyash usullari.....	19
Mavzu 4. Zamburugʻlarning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini oʻrganish.....	26
Mavzu 5. Oziqa muhitlari.....	31
Mavzu 6. Sterilizasiya usullari.....	35
Mavzu 7. Mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratish. Mikroorganizmlarni sanash usullari.....	40
Mavzu 8. Atrof muhit obʻyektlarini mikrobiologik tekshirish usullari.....	44
Mavzu 9. Laboratoriya hayvonlarini zararlash.....	51
Mavzu 10. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga joʻnatish usullari.....	56
<i>Serologik reaksiyalar</i>	
Mavzu 11. Agglyutinasiya reaksiyasi.....	60
Mavzu 12. Presipitasiya reaksiyasi.....	66
Mavzu 13. Komplement bogʻlash reaksiyasi.....	68

### QISHLOQ XOʻJALIK MIKROBIOLOGIYASI

<i>Hayvonlarning baʼzi yuqumli kasallik qoʻzgʻatuvchilari xususiyatlari.....</i>	71
Mavzu 14. Bakterial kasallik - tuberkulyoz, brusellyoz, choʻchqalar saramasi, pasterellyoz, kolibakterioz, salmonellyoz qoʻzgʻatuvchilari.....	71
Mavzu 15. Basillali unfeksiya - kuydirgi, qorason, qotma kasalliklari, botulizm qoʻzgʻatuvchilari qoʻzgʻatuvchilari.....	76
Mavzu 16. Yem-xashak mikrobiologiyasi.....	86
Mavzu 17. Sut va sut mahsulotlarini mikrobiologik tekshirish.....	93
Mavzu 18. Goʻsht, tuxumni mikrobiologik tekshi.....	97
Foydalanilgan adabiyotlar.....	102

Z. J. Shapulatova

## “MIKROBIOLOGIYA”

FANIDAN  
USLUBIY QO'LLANMA  
(laboratoriya mashg'ulotlari)

Бичими 60x84 1/16. Таймс гарнитураси. Офсет босма.

Шартли босма табағи 6.5

Адади 100 нусха. Буюртма № 10/01.

«Н.Доба» ХТ томонидан чоп этилди  
Фарход кўчаси, 4 уй