

Z. J. SHAPULATOVA

# MIKROBIOLOGIYA

TOSHKENT – 2013

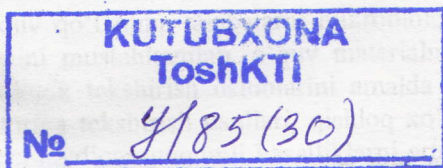
579 (075)  
Sh - 24

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIIY VA O'RTA MAXSUS  
TA'LIM VAZIRLIGI**

**Z. J. SHAPULATOVA**

# **MIKROBIOLOGIYA**

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



**TOSHKENT - 2013**

UO'K: 579.2 (075)

KBK 28.4

Sh-24

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

ISBN 978–9943–10–982–7

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

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

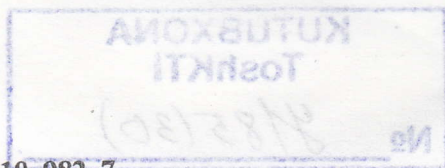
UO'K: 579.2 (075)

KBK 28.4

#### Taqrizchilar:

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

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



ISBN 978–9943–10–982–7

© Z.Shapulatova., 2013.

© «Fan va texnologiya» nashriyoti, 2013.

## KIRISH

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Talabalar ma'lum mavzuda amaliy mashg'ulotlarni bajarishlari uchun avval o'sha mavzu bo'yicha nazariy bilim va yaxshi tushunchaga ega bo'lishlari kerak. O'qituvchi talabalarni patologik material bilan aniq, toza va ehtiyotlik bilan ishlashga o'rgatadi. Laboratoriyaning muhiti, xonaning ideal tozaligi talabalarda mas'uliyat 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 buyumlar bormi, mikroskop ish holatidami tekshiradilar va kamchiliklarni darhol o'qituvchiga aytadilar; amaliy darslarda nihoyatda

tinchlik saqlanishi kerak, maqsadsiz bir joydan ikkinchisiga ko'chish mumkin emas; ruxsatsiz laboratoriyadan tashqariga 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 kulturasini to'kilsa, zararli material bilan ifloslangan buyumlar darhol dezinfeksiyaning 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 o'qituvchi talabalar bajargan ishni baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustahkamlab boradi. Xususiy mikrobiologiyani o'rganishda yuqumsiz kasallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olinganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa, yanada yaxshi bo'ladi.

## I BO'LIM. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

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

#### Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar.

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

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

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

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

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

Veterinariya laboratoriyasida patologik materialni qabul qilish, bakteriologiya, virusologiya, toksikologiya, serologiya, patanatomiya, veterinariya-sanitariya ekspertizasi, parazitologiya, radiologiya bo'limlari bo'ladi. Bundan tashqari, alohida sterilizatsiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, oziq muhit tayyorlash xonalari, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks, laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqalari, oq kalamush, quyon, donor qo'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, kanalizatsiya, 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.), lyuminessentli mikroskoplar, termostatlar, sterilizatsiya 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 gorelka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi eritmaları bor bankalar bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak.

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

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

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

3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblari, 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 metall yoki boshqa buyumlar bilan tegish mumkin emas.

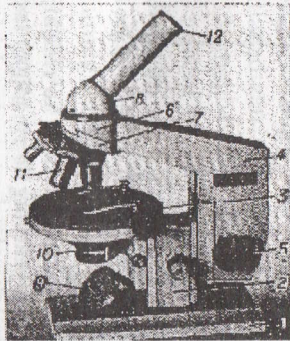
7. Talabalar o'qituvchi ruxsatisiz elektr asbob va apparaturalarni ishlatishi mumkin emas.

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

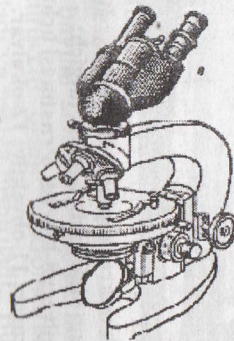
9. Ish tugagandan keyin har qaysi talaba o'z ish joyini yig'ishtirishi, keyin xalatini va qalpog'ini yechib, qo'lini yaxshilab yuvib, quritib, so'ngra laboratoriyadan chiqib ketishi kerak.

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

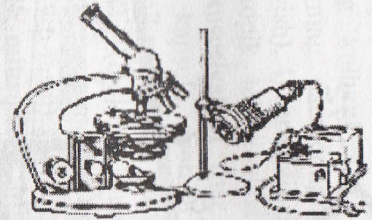
# Mikroskop turlari



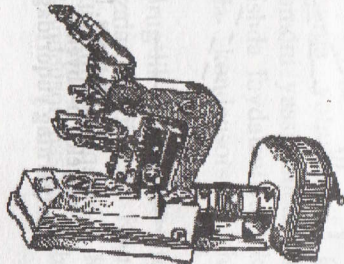
1-rasm. Biologik mikroskop  
«Biolam»



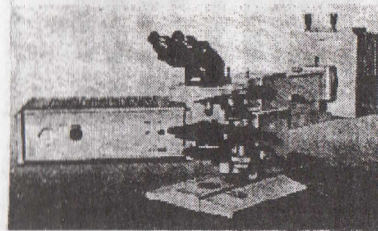
2-rasm. Binokulyar oʻrnatma  
AU-12.



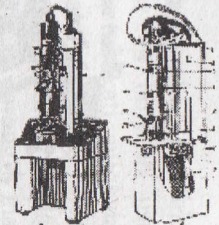
3-rasm. MBI-1 mikroskopi va  
yoritgich OI-7.



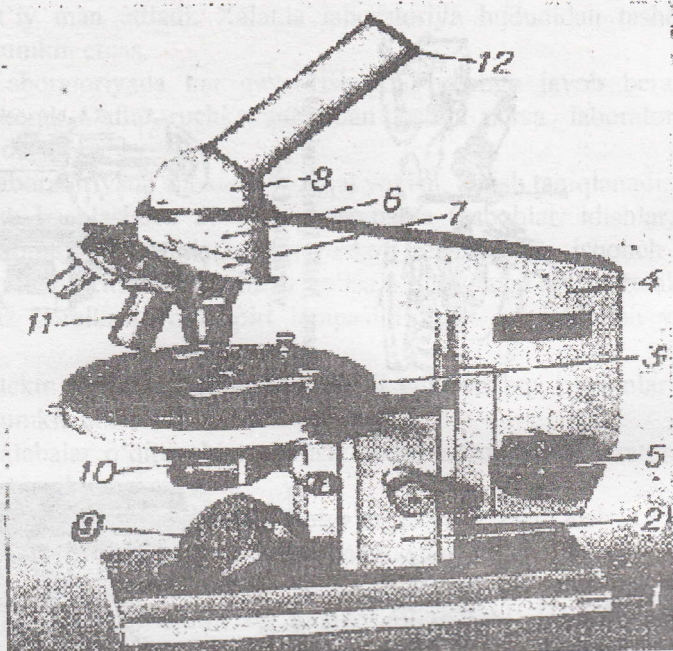
4-rasm. MI-2 lyuminesent  
mikroskopi.



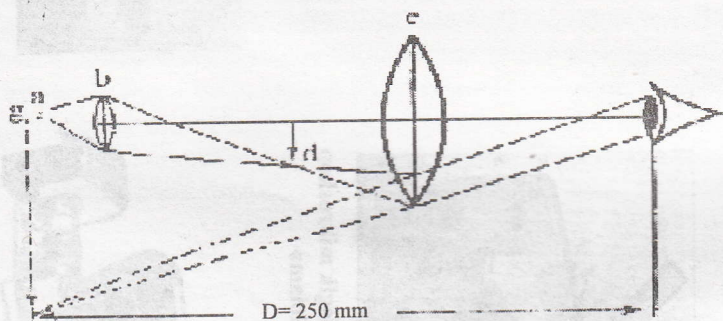
5-rasm. 1-2 tipli «Lyumam»  
lyuminesent mikroskopi.



6-rasm. Elektron mikroskop.



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



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

Mikrobiologik tekshirish usullariga quyidagilar kiradi: 1) mikroskopiya, 2) kasallik qo'zg'atuvchisining sof kulturasi 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, lyuminessent, elektron, proton) foydalaniladi va mikroskopiyaning maxsus usullari (fazokontrast, qorong'i maydonli) qo'llanadi (1 – 6-rasm).

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

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

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

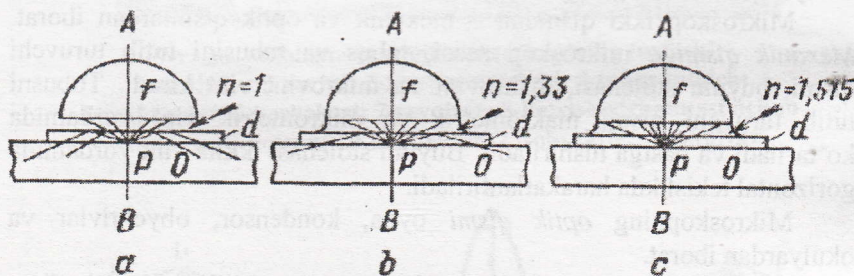
Mikroskopning *optik qismi* oyna, kondensor, obyektivlar va okulyardan iborat.

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.

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

Quruq va immersion (suvli, yog'li) obyektivlar bo'ladi. Quruq obyektivni ishlatganda obyektiv frontal linzasi bilan preparat orasida havo qatlami bo'ladi. Preparat oynasidan o'tayotgan yorug'lik nurlari havo qatlamiga tushadi, sinib qaytadi va obyektivga to'liq tushmaydi. Bunday obyektivlarning frontal linzalari 10, 20, 40 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Immersion obyektivlarning frontal linzalari 80, 90, 100 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Ularning fokus masofasi va diametri kichik bo'ladi. Kerakli yorug'likni hosil qilish uchun yorug'lik nurlarini tarqalishini oldini olish lozim, ya'ni preparatga immersiya 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 (9-rasm).



**9-rasm. Optik mikroskopning obyektivi:**

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

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

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

kattalashgan teskari tasvirini paydo qiladi. Keyin okulyarning yuqoridagi linzasi qo'shimcha kattalashtirgach obyektning mavhum tasviri hosil bo'lib, u kuzatuvchi ko'ziga kondensor va ko'zgu orasidagi tekislikda joylashgan haqiqiy tasvir bo'lib ko'rinadi.

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

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

### **Nazorat savollari:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ulardan foydalanish.
3. Biologik mikroskopning tuzilishi.
4. Biologik mikroskop bilan ishlash qoidalari. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?

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

## 2-m a v z u. Lyuminessent mikroskopiya

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni lyuminessent mikroskopiya, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli prinsipi va immunofluoressensiya reaksiyasini qo'yish texnikasi bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** Har xil modeldagi lyuminessent mikroskoplar, har xil yorug'lik filtrlari, fluoressensiyalanmaydigan immersiya moyi, bo'yalgan tayyor har xil mikroob preparatlari to'plami.

### Uslubiy ko'rsatmalar.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

DRT lampasining nurlari obyektiv va okulyar orasidagi yorug'lik bo'luvchi plastinkaga tushadi. Keraksiz uzun to'lqinli nurlar undan o'tib so'nadi. Qo'zg'atuvchi qisqa to'lqinli nurlarni esa plastinka tekshirilayotgan obyektga qaytaradi (aks ettiradi). Qo'zg'atuvchi nurlarning bir qismi obyektga lyuminessensiyaning uzun to'lqinli nurlariga transformatsiyalanadi, qaysiki obyektiv, yorug'lik bo'luvchi plastinka, yopuvchi filtrlardan o'tib, kuzatuvchi ko'ziga tushadi. Qo'zg'atuvchi nurlarning o'zgarishga uchramagan boshqa qismini yorug'lik bo'luvchi plastinka yorug'lik manbai tomonga qaytaradi. Yorug'lik bo'luvchi plastinkaning bunday farqlovchi xususiyati uning bir nechta dielektrik qatlamlardan iboratligi va unga tushadigan nurlarga nisbatan  $45^{\circ}$  burchakda joylashganligi bilan ifodalanadi.

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

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

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

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

### Nazorat savollari:

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

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

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

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

**Bakteriologik bo'yoqlar.** Mikroblar tirik yoki o'lgan holatida mikroskopda ko'riladi. Mikroorganizmlarning morfologiyasi va

tinktorial xususiyatlarini o'rganish uchun maxsus bo'yalgan preparatlar tayyorlanadi. Buning uchun har xil anilin bo'yoqlardan foydalaniladi.

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo'yoqlar ko'p ishlatiladi: asosli - fuksin, metil qizili, neytral qizili - eritmada qizil rangda bo'ladi; karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet, tayyor suyuq Gimza (azur - eozin) bo'yog'i - binafsha rangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashili. Quruq kukunsimon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi eritmaları tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmaları qorong'ida 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 fuksini qator hollarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan (1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pfeiffer fuksini) hosil bo'ladi.

Ishchi eritmalar 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 necha tomchi glitserin 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 qirg'iladi, qorong'i idishda saqlanadi.

Bo'yashda preparatga qirg'ilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir necha 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> spirda uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

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

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

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

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

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

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

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

Suyuq muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasidan preparat tayyorlash uchun chap qo'lga kulturali probirkani olib, o'ngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib 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 (11-rasm), ilmoq alangada qizdirib sterillanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa, dizenfiksiyalovchi eritma - fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

Quritilgan preparat oynachada qotiriladi (fiksatsiyalanadi). Buning uchun ko'pincha fizikaviy usul ishlatiladi: ya'ni surtma orqa tomonidan spirt lampa alangasi ustidan 3-4 marta o'tkaziladi. Fiksatsiyalovchi kimyoviy vositalardan – efir, etil yoki metil spirti, formalin, formalin-spirt va spirt-efir aralashmalari qo'llaniladi. Fiksatsiya uchun quritilgan preparat fiksatyialovchi 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 mikroblar kulturasini aralastiriladi 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 obyektivida tekshiriladi.

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

Kokklar bo'linganlaridan keyin bir-biriga nisbatan har xil joylashadi va bir necha guruhga bo'linadi: 1) mikrokokklar – bittadan tartibsiz; 2) diplokokklar – ikkitadan; 3) tetrakokklar – to'rtta-to'rtta

bo'lib; 4) 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 mikroblarning ko'ndalang yuzasidan katta bo'lsa, klostridiyalari deyiladi. Basillalarning sporalarini asosan mikroblarning hujayrasining markazida joylashadi. Spora klostridiyalari o'rtasida joylashsa markaziy spora, bir uchida bo'lsa – terminal spora, bir uchiga yaqin joylashsa – subterminal spora deyiladi.

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

**Rikketsiya, xlamidiya va mikoplazmalarining morfologiyasi.** Rikketsiya va xlamidiyalari hujayra ichidagi obligat parazitlar bo'lib, kuchli polimorfizm bilan ifodalangan mayda grammanfiy mikroorganizmlar: kokksimon, tayoqchasimon va ipsimon shakllarda bo'ladi. Rikketsiyalarning o'lchami 0,5 dan 3-4 mkm gacha, ipsimon shakllari 10-40 mkmga yetadi. Spora va kapsula hosil qilmaydi, Zdrodovskiy usulida qizil rangga bo'yaladi.

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

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

## Nazorat savollari:

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

### 4 - m a v z u. Preparatlarni Gram usulida bo'yash

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

Surtmalarnı 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 mikroorganizmning turining *tinktorial xususiyatlarini* aniqlashga imkon beradi.

Har xil mikroorganizmlarnı protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular aynan bir xil bo'yoq bilan turlicha bo'yaladi. Bir qancha hollarda mikroorganizm hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yovchi eritmalar tanlab ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yalishiga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2 - 3, uning tashqi qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday kislotali muhitda asosli bo'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 (13,14,17-rasm). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta’sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo‘shimcha bo‘yaganda, qizil rangga kiradi (15 – 16-rasm).

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 spirtda kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta’sir ettirilganda hujayra devori qalin, ko‘p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlamining g‘ovaklari yirikroq bo‘lib, spirtning o‘tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo‘lgan birikma parchalanib bo‘yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta’sirida hujayra rangsizlanadi.

### **Gram usulida bo‘yash**

1. Alangaga tutib fiksatsiyalangan 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 obyektivida 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.

### **Nazorat savollari:**

1. Mikroorganizmlarni murakkab bo‘yash usuli deb nimaga aytiladi?

2. Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yashning mohiyati nimadan iborat?

3. Mikroorganizmlarning grammanfiy yoki grammusbat bo'yashining sababi nima?

4. Gram usulida bo'yash texnikasini ayting.

5. Lyugol eritmasining tarkibini ayting.

## 5 - m a v z u. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari

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

**Material va jihozlar:** Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt 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 kulturasi: spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayoqchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Mikrob hujayrasining tuzilishida doimiy va doimiy bo'lmagan elementlari farqlanadi. Doimiyliklarga – sitoplazma, qobiq, o'zak moddasi; doimiy 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 kislota, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikroob 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 fiksatsiyalanadi. 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 fiksatsiyalangan 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.

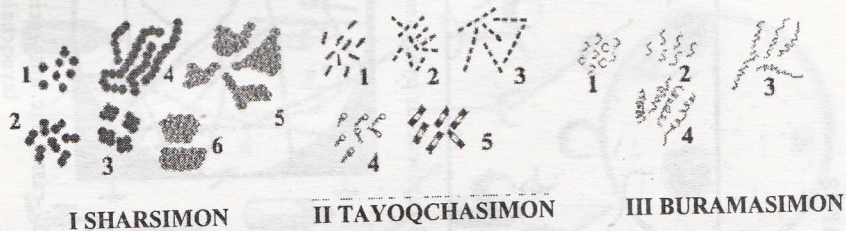
*Zlatogorov usuli.* Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksatsiyalashda sporalar qobig'ini bir oz yumshatish va ularni nobud qilish uchun spirt lampa yoki gaz gorelkasi alangasi ustida 10 marta u yoq-bu yoqqa o'tkaziladi. Surtma ustiga filtr qog'oz qo'yib, karbol fuksini quyiladi, so'ngra bug' hosil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

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

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.

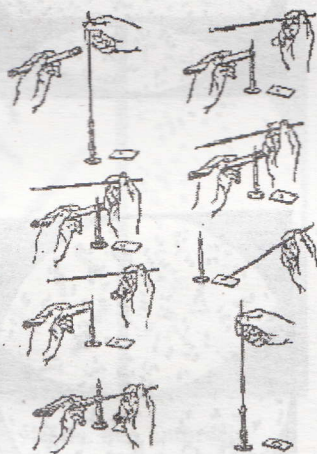
**Kapsulalarni bo'yash.** Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosilasidir. U mumsimon modda bo'lib yuqori molekularli polisaxariddan iborat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziq muhitlarda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

## Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari

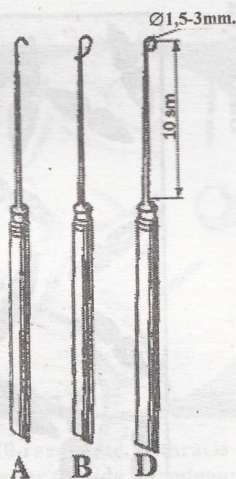


10-rasm. Bakteriyalarning asosiy shakllari.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. mikrokokklar</li> <li>2. diplokokklar</li> <li>3. tetrakokklar</li> <li>4. streptokokklar</li> <li>5. stafilokokklar</li> <li>6. sarsinalar</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. monobakteriyalar</li> <li>2. diplobakteriyalar</li> <li>3. streptobakteriyalar</li> <li>4. klostridiyalar</li> <li>5. basillalar</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. vibriyonlar</li> <li>2. leptospiralar</li> <li>3. spiroxetalar</li> <li>4. spirillalar</li> </ol> |
|--|---|---|

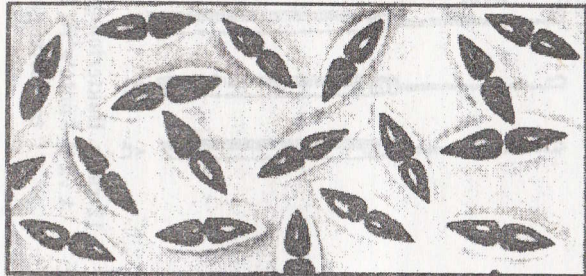


11-rasm. Surtma-preparat tayyorlash sxemasi.

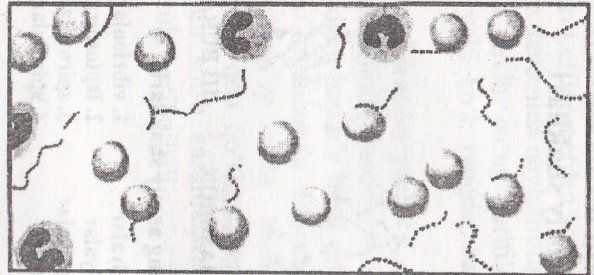


12-rasm. Bakteriologik ilmoqlar:  
A va B – noto'g'ri; D – to'g'ri tayyorlangan.

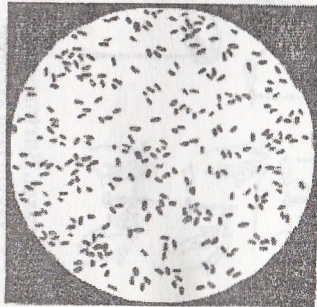
**Gram usulida bo'yalgan surtmalarda  
bakteriyalarning ko'rinishi**



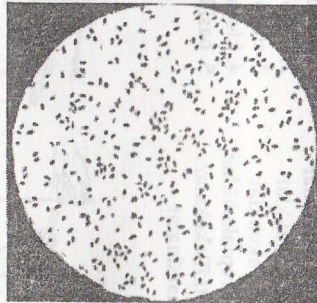
13-rasm. *Diplococcus pneumoniae*.



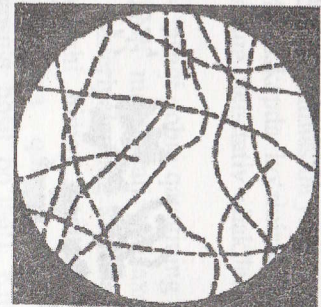
14-rasm. *Streptococcus pyogenes* qonda.



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

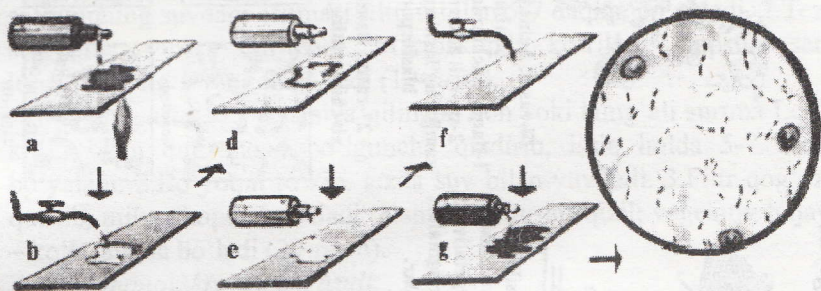


16-rasm. *Salmonella* – grammanfiy  
tayoqchalar.



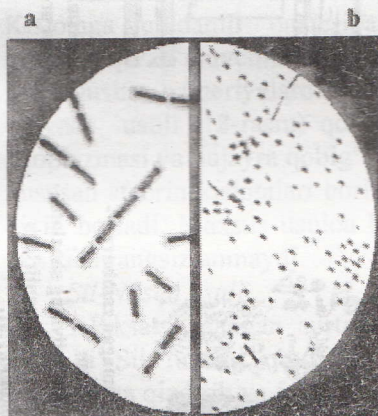
17-rasm. *Bac. anthracis* – grammusbat  
tayoqchalar.

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

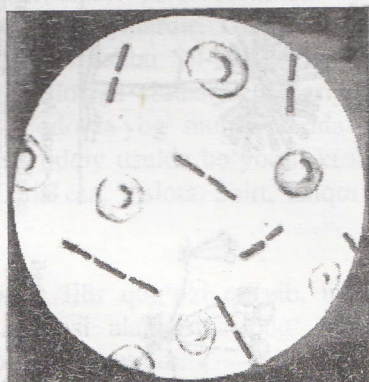


18-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

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. Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rahga bo'yaladi.

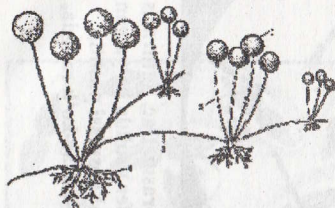


19-rasm. *Bac. anthracis* Olt usulida bo'yalgan:  
a-kapsulasi sariq,  
basillalar—qo'ng'ir rangda  
b-sporasi Sil-Nilsen  
usulida bo'yalgan.

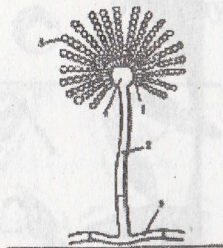


20-rasm. *Bac. anthracis* Leffer usulida bo'yalgan:  
kapsulasi pushti,  
basillalar—ko'k rangda.

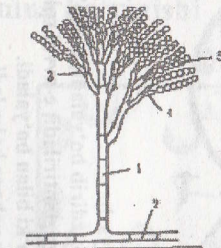
## Zamburug'larning morfologiyasi



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



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



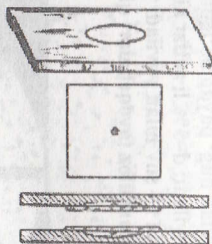
23-rasm. Penitsillum – zamburug'ining tuzilishi:  
1-konidiofor; 2-vegetativ gif;  
3-metullalar; 4-sterigmalar;  
5-konidiyalar.



24-rasm. Achatqi va achitqisimon zamburug'lar:  
1-haqiqiy achitqilar (saxaromisetlar);  
2-sporali asklar; 3-achitqisimon zamburug'larning psevdomitseliylari blastosporalari bilan.



25-rasm. Takomillashmagan zamburug'trixfiton:  
1-xlamidosporalar; 2-mitseliyning shoxlani-shi; 3-sochda mikrokonidiy zanjirlari;  
4-makrokonidiyalar.



26-rasm. Osilgan tomchi usulida preparat tayyorlash.

27-rasm. Bakteriyalarda xivchinlarning joylashishi.



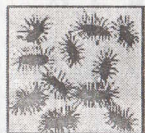
Monotrixlar



Lofotrixlar



--fitrixlar



Peritrixlar

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.Fiksatsiya 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 (19-rasm).

*Mixin usuli.* 1.Fiksatsiya qilingan qon yoki tamg'ali 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 (20-rasm).

#### *Romanovskiy-Gimza usuli.*

1.Fiksatsiya qilingan surtma, Petri kosachasida gugurt cho'plari ustiga surtmasi pastga qaratib joylashtiriladi. Uning ostiga Gimza bo'yog'ining 1:10 nisbatda distillangan suvdagi eritmasini quyilib 40-50 daqiqa bo'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: tuberkuloz, paratuberkuloz kabi kasallik qo'zg'atuvchilari, grammusbat bakteriyalardir. Ularni boshqa grammusbat bakteriyalardan farqlash uchun ushbu Sil-Nilsen maxsus bo'yash usuli (18-rasm) 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.Fiksatsiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'ozni qo'yib, ustiga karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdirib va 5-7 daqiqa ko'prikhada turadi.

2.Filtr qog'ozni olib tashlab, ustiga 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 (Диагностика инфекционных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. М., Колос, 1968, с.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug‘ paydo bo‘lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi (d). So‘ngra surtma avval spirt (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko‘ki bilan bo‘yaladi (e), (18-rasm).

**Qondan surtma tayyorlash va spiroxetalarni bo‘yash.** Toza, yog‘sizlantirilgan buyum oynachasining bir chetiga yaqin bir tomchi qon tomdiriladi. Ikkinchi buyum oynachasining silliqlangan tomoni tomchiga  $45^{\circ}$  burchakda qo‘yiladi va pastdagi oynachaning ikkinchi tomoniga yengilgina surtish harakati bilan siljtiladi. Natijada qon oynachada bir xilda yoyilib yupqa qatlam hosil bo‘ladi. Uni havoda quritib metil spirti yoki etil spirti va efir aralashmasida fiksatsiya qilish kerak. Preparat Romanovskiy Gimza usulida bo‘yoqning ishchi eritmasi (1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo‘yoq) bilan 10-20 daqiqa bo‘yaladi. Suv bilan yuvib havoda quritiladi.

Leptospiralarni pushti-binafsha, eritrotsitlar pushti, leykositlarning o‘zagi binafsha rangda bo‘ladi.

**Rikketsiyalarni Zdradovskiy usulida bo‘yash.** Surtma Sil fuksini suyultirmasi (10 ml distillangan suvga 10-15 tomchi) bilan 5 daqiqa davomida bo‘yaladi va suv bilan yuviladi. Surtmaga 0,5% li limon kislotasi eritmasi bilan ishlov beriladi. Keyin suv bilan yuviladi. Preparat metilen ko‘ki bilan 1 daqiqa davomida bo‘yaladi, suv bilan yuviladi va quritiladi.

Rikketsiyalar – qizil, ular parazitlik qilayotgan hujayra sitoplazmasi – moviy, o‘zagi – ko‘k rangda bo‘ladi.

### Nazorat savollari:

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

## 6 - m a v z u. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

1. Mukor, penitsillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zamburug'lar va achitqilarning kulturasidan preparatlar tayyorlab mikroskopda tekshirish. Natijasini 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 xlorofilli yo'q, zaxiradagi moddasi glikogen (kraxmal emas), hujayra devorida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug' hujayrasi ingichka ipchalardan iborat bo'lib bularga – giflar deyiladi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib zamburug' tanasini – mitseliysini hosil qiladi. Zamburug' mitseliysi oziq 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. Fikomitetlar (Phycomycetes) – tuban zamburug'larga kirib, ularning mitseliysi bo'g'inlarga bo'linmagan, ko'p o'zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomitsetlar

(Ascomycetes), bazidomitsetlar (basidiomycetes) va takomillashmagan zamburug'lar (Fungi imperfecti, Deuteromycetes) yuqori zamburug'larga kiradi (mikomitsetlar). Ularning mitseliysi 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 – mitseliy qismchalari, mitseliy parchalanganda hosil bo'lgan sporalar (xlamidaspora, oidiylar, artrosporalar, blastosporalar va h.k.), bilan amalga oshadi. Reproaktiv usulda zamburug'lar maxsus organlar yordamida ko'payadi. Jinssiz ko'payish maxsus endogen (sporangiasporalar, 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 (25-rasm). Takomillashgan zamburug'larning rivojlanish davrida jinssiz va jinsiy spora hosil qilish bosqichlari bo'ladi.

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

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

Mikomomitsetlarning vakili – penitsillium, aspergillus va h.k.lar mitseliysi ko'p hujayrali bo'g'inlarga bo'lingan, mitseliyalarning ichida konidiyalar, konidiyalarning chetida ekzosporalar joylashadi.

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

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

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

Mikroskopik tekshirish uchun bo'yalmagan «ezilgan tomchi» preparati tayyorlanadi. Bu maqsadda mikologik ilmoq bilan materialni olib, buyum oynasidagi bir tomchi suyuqlikka (fiziologik eritma, steril suv, albatta teng hajmda olingan suv, spirt va glitserindan iborat suyuqlik yanada yaxshi) solinadi. Mitseliy iplarini tarqatib, yopqich oyna bilan yopiladi. Mukordan tayyorlangan preparat mikroskopning x8 obyektivida, penitsillium, aspergilluslar x40 obyektivda ko'riladi.

**Aktinomitsetlar (nursimon zamburug'lar).** Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomitsetlar mitseliysining giflari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarning qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Mitseliysi 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. Aktinomitsetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomitsetlar 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 mitseliysiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar (24-rasm). Achitqi hujayralarining qobig'i, sitoplazmasi, shakllangan o'zagi bor. Sitoplazmada vaqt o'tishi bilan vakuolalar paydo bo'ladi. Ularning diametri bakteriyalarnikidan katta 10 – 15 mkm gacha. Achitqi hujayrasining ichida 4 tadan 12 tagacha sporalar hosil bo'lib, ular xalta – askalarga aylanadi. Achitqilarning tinch holatdagi hujayralari vegetativ shakllaridan ikki qavatli qobig'i, ko'p miqdorda oziqa moddalar zaxirasi (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 obyektivda ham ko'rish mumkin.

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

Tirik mikroorganizmlarning ba'zilar harakatlanadi, ba'zilar esa yo'q.

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

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

2. Lofotrix – tanasining bir uchida bir tutam 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 (26-rasm). Preparat quruq obyektiv sistemasida, yengil qorong'ilashtirilgan ko'rish maydonida (diafragma va tushirilgan kondensordan foydalaniladi) tekshiriladi. Avval x8 obyektivda tomchining chetini topib keyin x40 - 60 ga o'tkaziladi.

*«Ezilgan tomchi» preparati.* Buyum oynasining o'rtasiga tekshiriladigan materialdan bir tomchi tomiziladi. Keyin yopqich oyna bilan usti yopiladi. Unda hayo 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 harakatlanishining turi nimaga bog'liq?
5. Bakteriyalarning harakatlanishi qanday usullarda o'rganiladi?

## 7 - m a v z u. Oziq muhitlarini tayyorlash

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

**Material va jihozlar:** Oziq muhitini tayyorlash uchun 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 plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

2. Go'sht-peptonli bulonning 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, oziq 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.

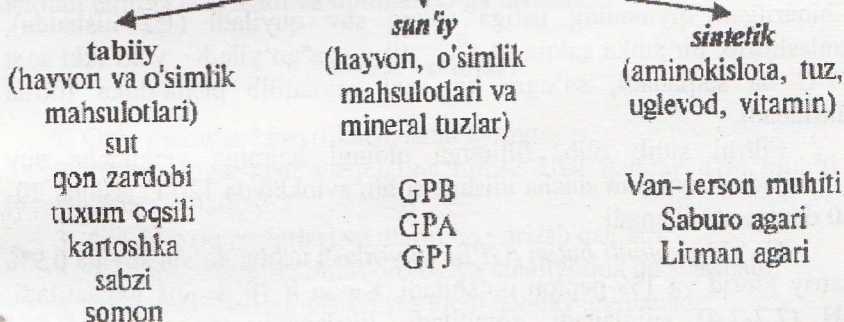
Oziq muhitlar kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi bo'yicha klassifikatsiyalanadi. Kelib chiqishi bo'yicha tabiiy, sun'iy va sintetik oziq muhitlar farqlanadi. Tabiiy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlaridan (go'sht, sut, tuxum, qon zardobi, sabzavotlar, kazein va boshqalardan) tayyorlanadi. 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 GPBga 2-3 %, yarim suyuq bo'lishi uchun 0,15-0,7 % agar-agar qo'shish lozim. GPJ tarkibida 20% jelatina bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda har xil miqdorda ishlatiladigan ko'pgina oziq 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, baktioagar J, quruq oziq agari va boshqalar).

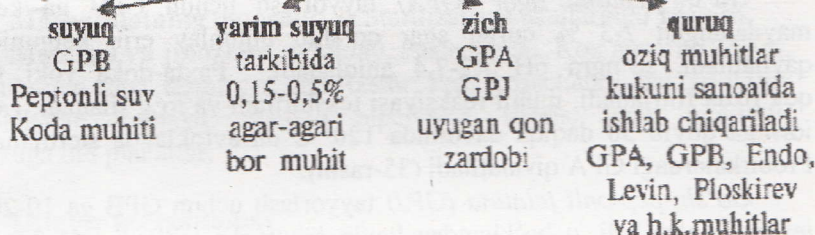
Ishlatilishiga ko'ra oziq muhitlar oddiy, maxsus va differensial -diagnostik turlariga bo'linadi. Oddiysiga go'sht-peptonli bulon (GPB), go'sht-peptonli agar (GPA) va go'sht-peptonli jelatina (GPJ) kiradi. Ular juda ko'p mikroorganizmlarni o'stirishda ishlatiladi. Maxsus oziq muhitlar oddiy oziq muhitlarda 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).

## Oziq muhitlarning klassifikatsiyasi

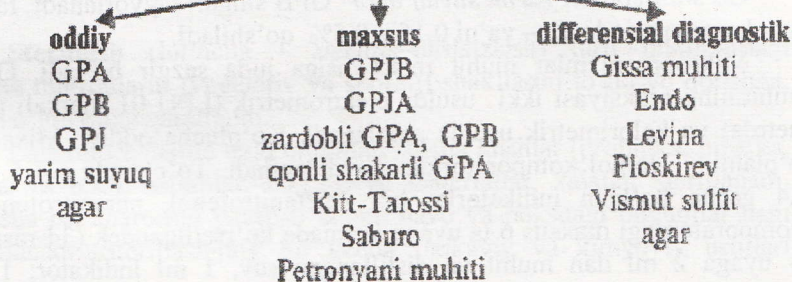
### Kelib chiqishiga ko'ra



### Konsistensiyasi bo'yicha



### Ishlatilishiga qarab



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

Mikrobiologiya amaliyotida asosan: go'sht-peptonli bulon, go'sht-peptonli agar va go'sht-peptonli jelatina ishlatiladi. Go'sht suvini tayyorlash uchun yangi so'yilgan mol yoki ot go'shti ishlatiladi. Buning uchun go'shtni pay, suyakdan ajratib, qiymalagichdan o'tkaziladi. Chiqarilgan qiymaning ustiga sovuq suv quyiladi (1:2 nisbatda), aralastirib, 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.

Filtni siqib olib, filtratga oldingi hajmiga yetguncha suv qo'shiladi. Keyin uni shisha idishga solib, avtoklavda  $120^{\circ}\text{C}$  issiqda 20-30 daqiqa sterilanadi.

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

*Go'sht-peptonli agar (GPA)* tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib ketguncha 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  $120^{\circ}\text{C}$  da avtoklavda sterilanadi. Probirkalardagi GPA qiyalatiladi (35-rasm).

*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 sterilanadi.

*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-metrd) 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 (34-rasm): 2- uyaga 2 ml dan muhit va distillangan suv, 1 ml indikator; 1, 3 uyalarga 2 ml muhit va 3 ml distillangan suv; 5- uyaga 5 ml distillangan

suv solingan 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 yetkaziladi 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? Ular qanday oziq muhiti tayyorlashda ishlatiladi?
3. Asosiy oziq muhitlari va ularni tayyorlash usullari.
4. Oziq muhitlarning mikrobiologiya amaliyotida qo'llanilishi.
5. Oziq muhitlarning pH ko'rsatkichi qanday aniqlanadi.

### 8 - m a v z u. Sterilizatsiya usullari

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

**Material va jihozlar:** avtoklav, Paster pechi, Kox apparati, Zeyts, Shamberlan filtri, termostat, sterilizator, Petri kosachalari, bakteriologik 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 sterilizatsiyaga tayyorlashni o'rganish.

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

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

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

1. Mikrobnı to'liq naslsizlantirish. 2. Sterillanayotgan materialni fiziko-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qolish.

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

*Quruq qizdirilgan havo bilan* sterillash maxsus ikki qavat devorli metall quritgich shkaf - yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (28-rasm). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterillanadi. Kolbalarnı paxta tiqin bilan yopib, ustidan qog'oz bilan o'raladi va bog'lanadi. Probirka, Petri kosachasi va probirkalarnı pergament qog'ozga o'rash lozim. Ularnı 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, oziq muhitlar, rezina narsalarnı quruq issiqda sterillash mumkin emas.

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

*Oqar bug' bilan* 100°C da, 100°C dan kam haroratda bo'lib-bo'lib sterillashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (29-rasm). 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 oziq muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterillanadi.

*Tindalizatsiya* – 100°C dan kam haroratda suv hammomida bo'lib-bo'lib sterillash. 70 – 80°Cda 3 kun, 60 – 65°Cda 5 kun, 56 – 58°Cda 6- 7 kun davomida: birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari esa bir soatdan

sterillanadi. 56 – 58<sup>0</sup>Cda kolloid eritmalar, qon zardoblari, ya'ni oqsil saqlovchi moddalar sterillanadi.

*Pasterizatsiya* usulida oziq-ovqat mahsulotlari – sut, go'sht, baliq, sabzavot konservalari 80<sup>0</sup>C da 30 daqiqa qizdiriladi va tezda 4 – 8<sup>0</sup>Cgacha sovutiladi. Bunda bakteriyalarning vegetativ shakllari o'ladi, sporalar saqlanib qoladi. Tezda sovutish va ularni past haroratda (4 – 5<sup>0</sup>C) saqlash sporalarning o'sishi va ko'payishiga to'sqinlik qiladi.

*Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash)* - 100<sup>0</sup> C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm.-110–112<sup>0</sup> C, 1 atm.-120–121<sup>0</sup> C, 1,5 atm.-124–126<sup>0</sup>C, 2 atm.-132–133<sup>0</sup>C. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (31,32-rasm). Avtoklavda 100<sup>0</sup> Cga chidamli oziq muhitlar (GPA, GPB, fiziologik eritma), qog'ozga o'ralgan shisha idishlar, metall 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 probipkalarning tiqini suyuqlik bilan birga otiladi.

*Filtrlash usulida* sterillanuvchi suyuqlik bakteriologik filtrlardan (33-rasm) 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 xomashyosini zararsizlantirishda ishlatiladi.

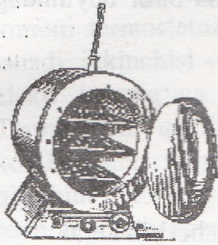
**Kimyoviy moddalar yordamida sterillash** laboratoriya amaliyotida chegaralangan. Bu usul asosan: vakcina, davolovchi va diagnostik zardoblarni bakterial zararlantirishdan saqlash uchun ishlatiladi – *konservatsiya* qilinadi. Vakcina va zardoblar – fenol (0,25 – 0,5% li), xloroform (0,5% li), formalin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

## Sterillash usullari

Fizikaviy			Kimyoviy
Quruq issiqlik	Nam issiqlik	Filtrlash va h.k. usullar	
<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 shakflarda sterillash vaqti: 160<sup>0</sup> da - 2 soat 170<sup>0</sup> da - 1,5 soat 180<sup>0</sup> da - 1 soat</p>	<p><b>1. Qaynatish – sterilizatorida 20-30 min</b> (shpris, igna, pinset, qaychi, skalpel va h.k.)</p> <p><b>2. Oquvchi bug‘ bilan bo‘lib-bo‘lib</b> (100<sup>0</sup>Cdan yuqori bo‘lmagan haroratda). Kox apparati 100<sup>0</sup>C 30-40 min. 3 kun.</p> <p>a) tindalizatsiya (suv hammomida 100<sup>0</sup>C dan past haroratda bo‘lib-bo‘lib sterillash) 70-80<sup>0</sup>C – 3 kun 60-65<sup>0</sup>C – 5 kun 56-58<sup>0</sup>C 6-7 kun (kolloid eritmalar, zardob va oqsil saqlovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi.</p> <p><b>3. yuqorigi bosim ostida (avtoklavda) sterillash</b> 0,5atm – 110-112<sup>0</sup>C 1 atm – 120-121<sup>0</sup>C 1,5 atm – 124-126<sup>0</sup>C 2 atm – 132-133<sup>0</sup>C</p> <p><b>4. Pasterizatsiya.</b> Maxsus pasterizatorlarda 80<sup>0</sup>C da 30 min qizdirib tezda (4-8<sup>0</sup>C cha) sovutiladi – sut, go’sht, baliq va sabzovot konservalari.</p>	<p>Suyuqliklar quyidagi filtdan o‘tkaziladi:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Shamberlyan</li> <li>2) Berkefeld</li> <li>3) Zeyts</li> <li>4) Membranali filtr (ultrafiltrlar)</li> </ol> <p><b>Ultrabinafsha nurlari</b> bilan bakterisid lampalar yordamida boks, operatsiya xonalari havosi sterillanadi.</p> <p><b>Ulratovush yordamida</b> (suv, sut, ba’zi teri xomashyosi mahsulotlari)</p>	<p><b>I Oziq muhit, vaksina davolovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish</b></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. glitserinlar bilan.</li> </ol> <p><b>II. Dezinfeksiya uchun:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1-3% li xloramin</li> <li>3-5% li fenol</li> <li>70% li spirt</li> <li>va hokazo</li> </ul>

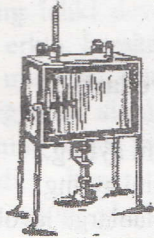
**Sterillash (lotincha naslsizlash) – turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporali shakllarini) to‘liq yo‘qotishga – o‘ldirishga qaratilgan.**

# Sterilizatsiya



1

28-rasm. Quritgich shkaflar  
1-elektorli yumloq; 2-paster pechkasi.



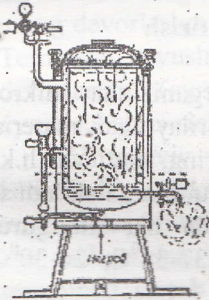
2



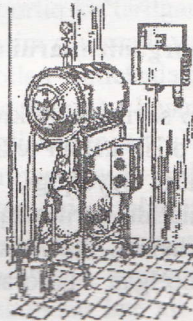
29-rasm. Oquvchi  
bug'li Kox apparati.



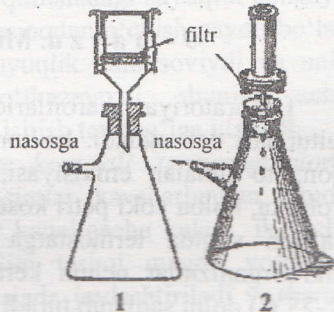
30-rasm. Sterilizator  
1-qopqog'i;  
2-korpusi;  
3-setkasi;  
4-setkani ilgich.



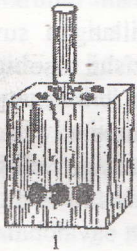
31-rasm. Vertikal  
avtoklav sxemasi.



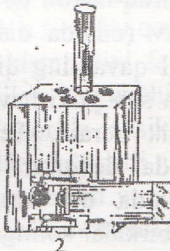
32-rasm. Gorizontial  
avtoklav.



33-rasm. Tayyor Zeys filtrlari:  
1-shisha va 2-metall ushlagichlari bilan



1

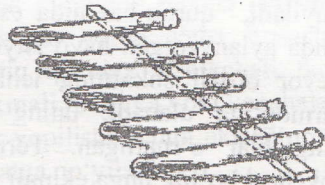


2



3

34-rasm. Uolpol komparatori:  
1-umumiy ko'rinishi; 2- orqa tomondan ko'rinishi;  
3-komparatorda probirkalarni joylashtirish sxemasi.



35-rasm. Agarni qiyalatish

Kimyoviy moddalar laboratoriyalarda *dezinfeksiya* uchun ham ishlatiladi: 1-3 % li xloramin, 3-5 % li fenol, 70 % spirt, 3-5-10 % li 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?

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

Laboratoriya sharoitlarida o'stirilgan mikroorganizmlar mikroorganizmlar deb ataladi. Kulturani olish uchun tekshirilayotgan material (qon, to'qimalar emulsiyasi, shish suyuqligi, yiring, sut va h.k.) probirka, kolba yoki petri kosachalarida steril oziq muhitlarga ekiladi va ma'lum vaqtda termostatga joylanadi. Termostatda har xil guruf mikroorganizmlar uchun kerak bo'lgan harorat ( $37-38^{\circ}\text{C}$ ;  $26-30^{\circ}\text{C}$ ;  $22-25^{\circ}\text{C}$ ) doim saqlanib turadi.

**Mikroorganizmlarni o'stirish uchun jihozlar.** T e r m o s t a t ikki devorli shkaf, tashqaridan issiqni izolatsiyalovchi material (plastika) bilan qoplangan. Termostatlar suvli yoki quruq-havoli bo'lishi mumkin. Suvli termostatda ikki devor orasiga suv (odatda distillangan suv) quyiladi, quruq-havolida esa ichki metall qavatning qizishi hisobiga unda aylanayotgan havo isiydi. Qizdirilgan suv yoki havo ichki metall devor orqali shkafning ichkarisiga issiqlik beradi. Termostat elektr tarmog'iga ulanadi, uning pastki qismida devorlar orasiga elektr isitgichlar o'rnatilgan. Termostatning ichida bir nechta to'rsimon tokchasi bo'lib, unga ekmali shtativlar, probirkalar solingan savatchalar, kolbalar, petri kosachalari, eksikatorlar, mikroanaerostatlar joylanadi.

Harorat termostatda termoregulator yordamida tutib turiladi. Harorat keragidan ortib ketsa, termoregulator isitgichni avtomatik tarzda

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

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

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

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

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

**E k s i k a t o r** bu qopqog'i zich yopishadigan shisha idish. Uning tubiga havo kislorodini faol bog'laydigan kimyoviy modda (masalan, pirogallol bilan o'yuvchi natriy) solingan ochiq Petri kosachasi qo'yiladi. Yuqorida eksikatorning bo'rtiq qismiga teshikchali farfor plastina (taglik) qo'yiladi, uning ustiga ekmali probirka yoki kocahalarni joylab, qopqog'i zich yopiladi. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chetlariga vazelin surtiladi, keyin termostatga qo'yiladi.

**A n a e r o s t a t** – germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$  va h.k.) berish uchun jo'mraklari va vakuum-monometrlari bor. Ekmalarni silindrning ichiga joylashtirib, qopqog'i yopiladi va nasos yordamida eksikator

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

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

Ekishdan avval maxsus moyqalam bilan probirkaga (kolba yoki Petri kosachasiga) ekspertiza raqami, mikroorganizm nomi va ekish sanasi yoziladi. Mikroorganizmlar zich oziq muhitda o'stirilgan bo'lsa, ekish yoki preparat tayyorlash uchun bakteriologik material bakteriologik ilmoq yoki igna bilan olinadi; suyuq oziq muhitdan hujayralarni olish uchun esa steril pipetkalar ishlatiladi. Bakteriologik ilmoq ingichka platinali simdan yasalgan bo'lib, u metall tutqichga mahkamlanadi. Bakteriologik ilmoqning diametri 1.5 – 3 mm. Bakteriologik ilmoq (igna) mikroorganizm hujayralarini olishdan oldin sterillanadi. Buning uchun sim tutgich bilan tutashgan joyigacha yonib turgan gaz yoki spirt lampasi alangasida qizargunicha qizdiriladi. Bunda bir tekis sterillanishi uchun ilmoq alangada vertikal holatda tutib turiladi, keyin tezda mikroorganizmlar bor idishga solinadi.

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

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

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

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

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

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

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

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

S u y u q o z i q m u h i t l a r g a (sut, GPB) ekkanda chap qo'lda probirka surtmali preparatlarni tayyorlagandagidek ushlanadi; o'ng qo'lga ekiladigan material bor ilmoq (yoki pipetka) va probirkalar tiqinlari olinadi. Gorelka alangasi yonida material tomchisi olingan ilmoq (yoki pipetka) probirkadagi steril muhitga yengilgina botirib olinadi. Probirkani tiqini bilan yopib, ilmoq olovda kuydiriladi, paster

pipetkasi esa dezinfeksiyalovchi eritma (karbol kislota, lizol, farmalin)ga solinadi. Ishlash jarayonida suyuqlik probirka tiqiniga tegmasligi va to'kilmassligi kerak. Tayyor ekilgan oziq muhitlar termostatga qo'yiladi.

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

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

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

ko'pchilik turlar uchun 25-30<sup>0</sup>C optimum hisoblanadi. Havo kislorodi va yorug'lik nurlari ham ma'lum darajada ta'sir etadi.

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

### Nazorat savollar:

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

### 10 - m a v z u. Sof kultura ajratib olish usullari (aerob va anaerob mikroorganizmlarni)

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi sof kulturani ajratishning turli xil usullarini tushuntiradi.

Talabalarga vazifa beradi: sof kulturani ajratishda qo'llaniladigan turli usullarda ekishni o'zlashtirish va mustaqil bajarish, daftarga yozish.

Laboratoriya amaliyotida ba'zi 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 kulturasi 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 usul sifatida boshqa usullarni bajarishda foydalaniladi.

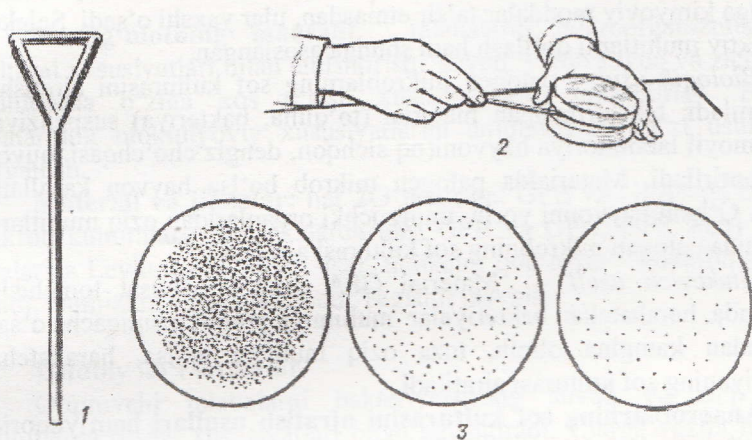
*Kox usuli* 5-6 probirkada eritilgan va 45-50°C gacha sovutilgan GPA 10-15 mldan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'ng'atilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. Oxirgi 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 (38-rasm). Suv, sut, tezak va h.k. materiallarni tekshirishda qo'llanadi.

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

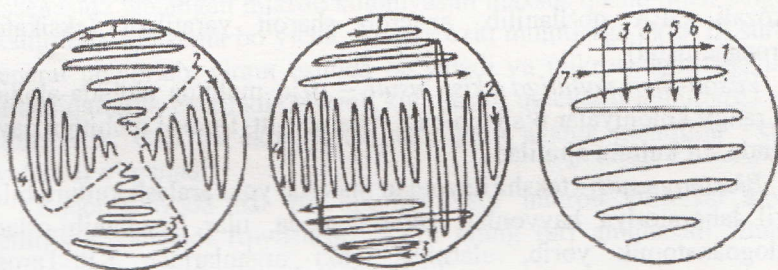
Shpateldagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilib muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi kosachaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar o'sib chiqadi, ulardan tanlab steril oziq muhitga qayta ekib sof kultura ajratiladi. Shpatel o'rniga bakterial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

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

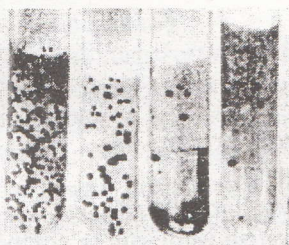
## Sof kultura ajratish usullari



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



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



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

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

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

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

**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 – glukozali GPA qo'llanilib, anaerob sharoit yaratiladi (eksikator, mikroanaerostat).

*Vilson-Bler muhitiga ekish usuli* – oziq 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 zararlenganda, ular kasallanib o'ladi. Patalogoanatomik yorib, ularning ichki organlaridan Kitt-Tarossi muhitiga, yarim suyuq agar yoki qonli – glukozali agarga ekib, yuqorida ko'rsatilgan sof kultura ajratish usullaridan birini qo'llagan holda patogen anaeroblarning sof kulturasini ajratiladi.

### Nazorat savollari:

1. Sof 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.

## 11 - m a v z u. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish

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

**Material va jihozlar:** har 2-3 talabaga: GPB va GPA –da o'sgan mikroorganizmlar. Probirkalarda toza GPB va GPA, GPJ, Petri kosachalarida Levin, Endo, qonli agar, indikator qog'ozlar – vodorod sulfid, indol, ammiakni aniqlash uchun. Tegishli javdallar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

Laboratoriyada har bir ajratilgan sof mikroorganizmlar albatta identifikatsiyalanadi (qiyoslash), ya'ni uning turi aniqlanadi. Buning uchun quyidagi xususiyatlari o'rganiladi:

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

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

3. Kultural xususiyatlari (oziq muhitlarda o'sishi)

4. Biokimyoviy xususiyatlari (saxarolitik, gemolitik, proteolitik)

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

6. Patogenligi (laboratoriya hayvonlarini zararlab).

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

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

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

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

*Suyuq oziq muhitda o'sgan mikroorganizmlarning xususiyatlari:*

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

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

*Zich oziq muhitida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari.* Koloniyalar alohida chegaralangan va qo'shib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanadi – ko'p, o'rtacha, kam. Keyin koloniyalar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. 1. *Shakli* – to'g'ri (oval, yumaloq), noto'g'ri (ildizsimon, yulduzsimon, amyobasimon, shoxlangan va h.k. (39-rasm) 2. *O'lchami* diametrdagi ifodalanadi: yirik koloniyalar - 4 mm dan ortiq, o'rtachasi 2 - 4 mm, maydasi 1 - 2 mm va yanada mayda shudringsimonlari – 1mm gaha bo'ladi. 3. *Chetlari* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'liqsimon, popukli, arratishli, jingalak (41-rasm). 4. *Tiniqligi va yaltirashi* (tushayotgan yorug'likda ko'riladi) - tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltiroq, fluoressensiyalovchi koloniya. 5. *Rangi* – kulrang-oq, rangsiz, oq, qora, sariq, qizil, ko'k, tillarang, yashil va boshqa rangli. Hosil qilgan pigmentning rangiga bog'liq.

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

### **Biokimyoviy xususiyatlar.**

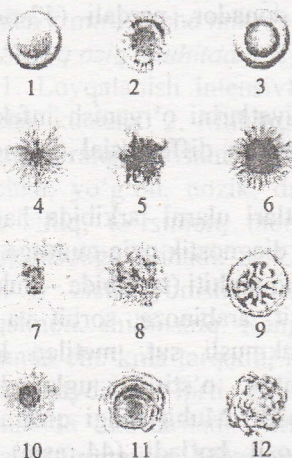
Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilarini aniqlashda muhim differensial diagnostik usul hisoblanadi.

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

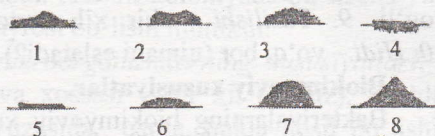
*Proteolitik* xususiyatlarni ko'pincha GPJ ga kulturani tik ekib o'rganiladi. Bakteriya fermentlari ta'sirida jelatina proteolizga uchrab, muhitda erish (suyulish) paydo bo'ladi. Har xil turdagi mikroblar jelatinani eritishi har xil bo'ladi. Ba'zisi voronka, ba'zisi xaltachadek, paypoqsimon va h.k. (43-rasm).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

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

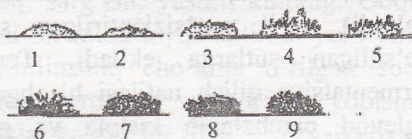
## Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish



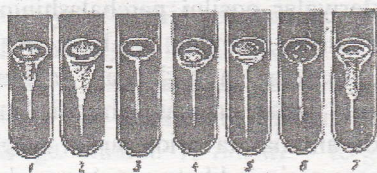
39-rasm. Koloniya shakllari:  
1-yumaloq; 2-yumaloq chetlari to'liqsimon; 3-yumaloq chetlari hoshiyali; 4,5-rizoidli; 6-chetlari rizoidli; 7-amyobasimon; 8-ipsimon; 9-qatlam-qatlam; 10-noto'g'ri shaklli; 11-konsentrik; 12-murakkab.



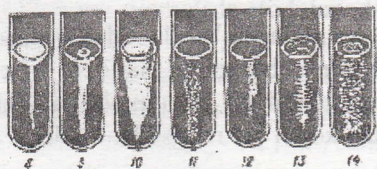
40-rasm. Koloniyaning yon tomonidan ko'rinishi (profile):  
1-egilgan; 2-kratersimon; 3-g'adirbudir; 4-substratga o'sib kirgan; 5-tekis; 6-bo'rtiq; 7-tomchisimon; 8-konusimon.



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



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



43-rasm. Jelatina erishining har xil shakllari.



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

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

*Gemolitik* xususiyatlar. Ba‘zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, eritrotsitlarni lizisga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar–gemotoksinlar hosil qiladi. U eritrotsit qobig‘ini parchalaydi. Bakteriylarning gemolitik xususiyatini aniqlash uchun kultura 5 % fibrinsizlangan qon aralashtirilgan go‘sh - peptonli agarga ekiladi (qonli agar). Agar gemolitik xususiyati bor bo‘lsa, eritrotsitlar lizisga uchrab koloniya atrofiga tiniq gemoliz paydo bo‘ladi.

### Nazorat savollari:

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

### 12 - m a v z u. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash

**Mashg‘ulotning maqsadi:** antibiotikning faolligini, bakteriylarning ularga sezgiriligini va chidamliligini aniqlash usullarini o‘rganish.

**Material va jihozlar:** har 2-3 talabaga GPA quyilgan ikkita Petri kosachasi, darajali 2 ml pipetka, mikroblar kulturesi (stafilokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimdirilgan qog‘oz diskli flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik disklarini bakteriyalarga ta‘siri, tegishli jadvallar:

## Uslubiy ko'rsatmalar

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

Antibiotiklar – bakteriyalardan (gramisidin, polimiksin, tirotrisin, subtilin va h.k.), aktinomitsitlar (streptomitsin, neomitsin, tetrasiklin, eritromitsin va h.k.), mog'or va lishayniklar (penitsillin, grizeofulvin va h.k.), hayvonlar (lizosim, eritrin, ekmolin va h.k.) va o'simliklardan (allisin, fitoaleksin, aloe, piyoz va sarimsoq fitonsidlari va h.k.) olinadi. Bu ularning hayot faoliyatida hosil bo'lgan mahsulotlar. Davolash amaliyotida antibiotiklar ta'sir etish spektoriga qarab farqlanadi: mikroorganizmlarning alohida bir guruhiga (masalan, grammusbat yoki grammanfiylariga) ta'sir etuvchi yoki har xil guruh mikroblarga ta'sir etuvchi. Antibiotiklar sanoat asosida kaliy, natriy, kalsiyli tuzlari ko'rinishida tayyorlanadi va maxsus upakovkalarda chiqariladi. Hamma vaqt preparatni chiqarishdan avval uning faolligi aniqlanadi

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

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

Antibiotikning ta'sir birligi (TB) deb ma'lum hajmdagi oziq muhitda unga sezgir standart test mikrobnini o'ldiradigan eng kam miqdoriga aytiladi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda o'ziga xos test mikroblari ishlatiladi: penitsillin uchun – tillarang stafilokokk 209-R, streptomitsin va tetrasiklin uchun – *Bac. Subtilis*, biomitsin, levomitsetin uchun – *E.coli*. Antibiotiklarning biologik faol ta'sir birligi bir xil emas: penitsillinning 1 TB - 0,6 mkg, streptomitsin – 1 mkg, neomitsin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birlik (XTB) deyiladi.

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

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

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

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

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

Qatordagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisiga kolbadagi miqdori 0,5 mkg/ml bo'lgan antibiotikning ishchi eritmasidan 2 ml quyib, aralashtiriladi. Undan keyingi probirkaga 2ml dan ketma-ket o'tkazib birin-ketin suyultiriladi. Natijada birinchi probirkadagi oziq muhitda antibiotik miqdori 0,25 mkg, ikkinchisida – 0,12 mkg, keyingisida – 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 mkg bo'ladi. Zich oziq muhitda aniqlash uchun 6 ta probirkada antibiotik bir qator suyultiriladi: 400, 200, 100, 50, 25 va 12,5 mkg /ml. Har bir probirkadan 1 ml steril Petri kosachasiga quyib, ustidan 19 ml dan (55°C) eritilgan GPA qo'shiladi va sekin chayqatib aralashtiriladi. Natijada Petri kosachalarida antibiotikning miqdori 20 marta kamayadi: 20,10, 5, 2,5, 1,25 va 0,6 mkg. Muhit qotguncha stolda turadi. Antibiotik suyultirilgan oziq muhitli probirkalarga yoki Petri kosachalariga 16-18 soat o'stirilgan aniq konsentratsiyali (10000 mikrob/ml) mikrob kulturasi 0,2 ml dan ekiladi. So'ng probirkalarning 1 ml da 1000 ta mikrob bo'ladi. Termostatda 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdorini, yonidagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdoriga qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakterioostatik miqdorini ko'rsatadi.

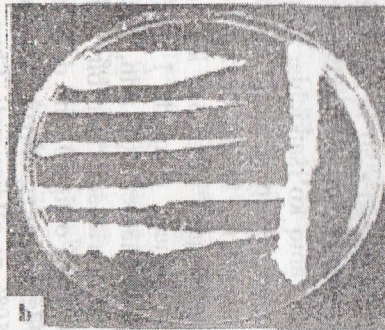
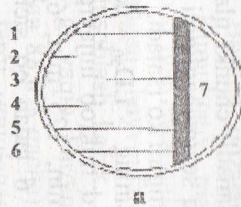
**2-usul** – laboratoriya amaliyotida ko'pincha agarga diffuzlash usuli qo'llaniladi. U perpendikular shtrixlar, agarli qoliplar, standart antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar usullarida bajariladi (45-46-rasm).

Antibiotikli standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalariga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so'ng, 1 ml 1 milliardli tekshiriladigan mikroob kulturasi muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. Ortiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalar  $37^{\circ}\text{C}$ da 15 - 40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskhlarni steril pinset bilan kosachalar chetidan va bir-biridan 2 sm masofada o'rnatib, ustidan sekin bosiladi. Kosachaning markaziga ham bir dona disk o'rnatiladi. Har bir diskni o'rnatgandan keyin pinsetni alangada sterillash lozim. Kosachalar uy haroratida 2-3 soat, keyin 16-18 soat termostatda saqlanib, natijasi diskka qo'shib aniqlanadi: uning atrofida mikroblar o'smagan hududning diametri lineyka bilan o'lchanib, mm larda ifodalanadi va quyidagicha baholanadi: o'smagan hududning diametri 15 mm gacha bo'lsa mikroob antibiotikka kam sezuvchan; 15-25 mm sezuvchan; o'smagan hudud bo'lmasa sezuvchan emas. O'smagan hudud diametri qancha katta bo'lsa, bakteriyaning ushbu antibiotikka sezuvchanligi shuncha yuqori bo'ladi.

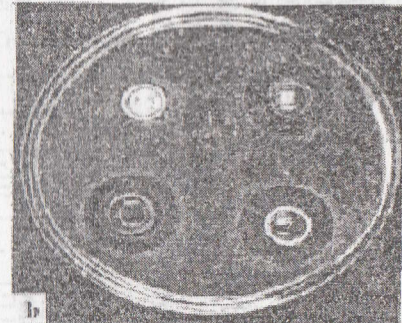
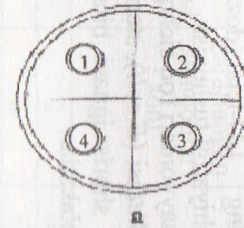
### Nazorat savollari:

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

## Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash



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



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

### 13 - m a v z u. 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, pinset, tegishli jadval va plakatlar.

#### 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 mikroob kulturasi patogenligini sinash, vaksinalarning, immun zardoblarning samaradorligini aniqlash.

Sof kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlashga «biosinov» deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararsizligi ham biosinovda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan mikroobning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroobning 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 mikroobga sezuvchanligini ko'rsatadi. Dcl esa chidamli mikroob turlarini sezuvchanligini ko'rsatadi.

Tekshirilayotgan mikroob kulturasi LD<sub>50</sub> ko'rsatkichi quyidagicha aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikroob hujayrasi bo'lgan suspenziyadan ketma-ket 500 mln, 250 mln, 125 mln, 62.5 mln li suyultirmalar tayyorlanadi. Har biri bilan 6 tadan oq sichqon qorin bo'shlig'i yoki terisi ostiga 0,5 ml dozada zararlantiriladi. 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 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

*Rid va Mench usulida LD<sub>50</sub> ni aniqlash.* 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. Masalan, minimal dozada 10<sup>-6</sup> zararlangan 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlangedan 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'paytiriladi (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,  $LD_{50} = 10^{-3,756}$ . 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  $10^9/ml$  bakteriya suspenziyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda,  $LD_{50} = 10^9 \times 0,5 : 5747 = 87000$  mikrob 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, yirik shoxli hayvonlar va cho'chqalarda o'tkaziladi.

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

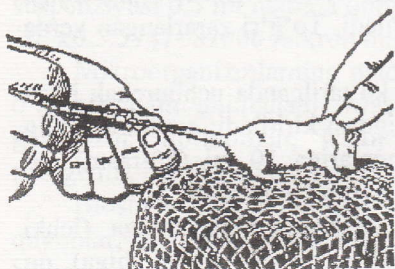
Biosinov o'tkazish uchun sog'lom, bir turda, yoshda va og'irlikda oq sichqonlar – 16 gr, dengiz cho'chqasi -250-300 gr, quyon -2, 3-5 kg tanlanadi. Ularning tana harorati o'lchanadi va belgilanadi: oq sichqon va kalamushlar anilin bo'yoqlar bilan, dengiz cho'chqasi va quyonlar temir sirg'a bilan belgilanadi.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

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

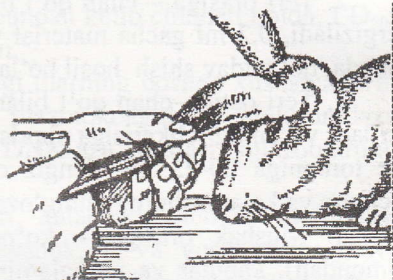
## Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari

1. Teri yuzasiga (skarifikatsiyalash) – skalpel bilan teri yuzasi tiraladi va u yerga tekshiriladigan material surtiladi.
2. Teri orasiga – chap qo‘l bilan teri tortiladi igna terining ichiga kirgiziladi, 0,2 ml gacha material yuboriladi. To‘g‘ri zararlangan yerda mayda, no‘xatday shish hosil bo‘ladi.
3. Teri ostiga–chap qo‘l bilan teri ko‘tarilganda uchburchak hosil bo‘ladi va uning ichkarisiga shprisning ignasi kiritiladi: quyon belining bir tomoniga 20-25 ml, dengiz cho‘chqalariga 10 ml (50-rasm), oq sichqon va kalamushning dumg‘ozasiga 1-10 ml yuboriladi.
4. Mushak orasiga – ko‘pchilik hayvonlarning, soniga (ichki tomondan), kabutar va tovuqlarning ko‘krak mushagiga (to‘shiga), oq sichqonga 0,5 ml, dengiz cho‘chqasi va kalamushga 3-5 ml, quyonga 5-8 ml yuboriladi.
5. Qorin bo‘shlig‘iga laboratoriya hayvonining boshini pastga qaratib fiksatsiyalanadi va tekshiriladigan material 0,1-0,2 ml, shprisning ignasi bilan, qorin bo‘shlig‘ining pastki 3 chi qismiga markaziy oq chiziqdan chetroq yuboriladi (49-rasm).
6. Qon tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (48-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (47-rasm), dengiz cho‘chqasining to‘g‘ridan-to‘g‘ri yuragiga zararlanaadi. 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 (52-rasm), sichqonga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (51-rasm).
8. Burunga – oldin hayvonning burniga efir bilan namlangan paxta tutib narkozlanadi, keyin pipetka bilan material burniga tomdiriladi.
9. Og‘iz orqali zararlash- patmaterial ovqat, suv bilan aralashtirib nonga shimdirib laboratoriya hayvonlariga yediriladi yoki kichik zond orqali yuboriladi.
10. Ko‘z konyunktivasiga zararlash faqat yirik hayvonlar: it, quyon, dengiz cho‘chqalarida o‘tkaziladi. Ko‘z qovoqlarini ushlab, material ko‘zning ichki burchagiga 1-2 tomchi tomdiriladi.

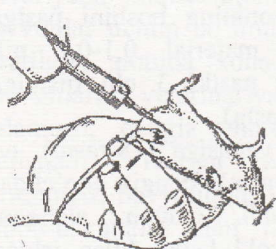
## Laboratoriya hayvonlarini zararlash



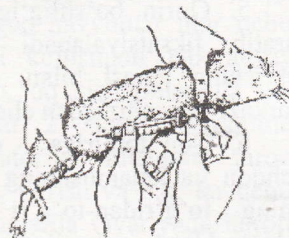
47-rasm. Sichqonning venasidan zararlanihi.



48-rasm. Quyoning quloq venasidan zararlash.



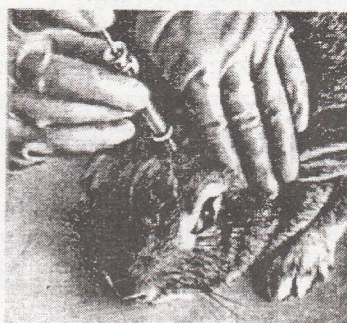
49-rasm. Qorin bo'shlig'iga zararlash. a-katta, b-yosh sichqonga.



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



51-rasm. Sichqonning miyasiga zararlash.



52-rasm. Quyoning miyasiga zararlash.

## Nazorat savollari:

1. Hayvonlarni 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 usullarini ayting.
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi.

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

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin, talabalar laboratoriyada hayvoni jasadini 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. Mikrobn atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblardan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (53-rasm), terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinset bilan qalqonsimon o'simta 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, GPB larga ekiladi, surtmalar tayyorlanadi. Ekmali 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. Parenximatov 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 sterilanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan qafas dezinfeksiyalanib, qolgan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadini ham xuddi shunday tekshiriladi.

**Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash.** Infektsion kasallikka gumon qilinganda vetvrach kerakli patologik materialni tekshirish uchun veterinariya laboratoriyasiga yo'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'qimalari, mushak, yurak (butunligicha), limfa tugunlar, qon (bakteriologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probirkalarda fibrinsizlangan qon; serologik tekshirish uchun ivigan qon), oshqozondagi massa, yiring, balg'am, sut, siydik, tashlangan homila, bosh miya, ichak qismchasi ikki tomoni boylangan holda, ilik suyagi, 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 emal idishga joylanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadni yog'och qirindisi solingan zich taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimib oladi). O'ta xavfli kasalliklarda (kuydirgi, manqa, tuberkuloz, brutselloz, qorason) shisha idishga olingan bo'lsa, maxsus konteynerlarga joylanadi (54-55-rasm). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

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

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

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

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat:

1. Tekshirilayotgan materialda qo'zg'atuvchini aniqlash: Immunologik bo'lmagan usullar – bo'yalgan preparatlarni mikroskopik tekshirish, genetik usullarda (gen zondlari, PZR) qo'zg'atuvchining nuklein kislotalarini aniqlash. Immunologik usullar – serologik (PR, DPR, FAU, IFA va h.k.) reaksiyalarda qo'zg'atuvchi antigenini aniqlash.
2. Biosinov qo'yish.
3. Materialni oziq 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.

### 15 - m a v z u. Agglutinatsiya reaksiyasi

**Mashg'ulotning maqsadi:** Agglutinatsiya reaksiyasining mohiyatini bilish; probirkali agglutinatsiya 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 (brutsellozli) zardobi, y.sh.h. normal zardobi; AR uchun brutselloz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, mavzuga oid plakatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Y.sh.h. zardobi 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatda suyultiriladi. Shtativga birinchi qatorga 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbati 1:25 tayyorlanadi: 0,1 ml zardob+2,4 ml fiziologik eritma. Qolgan to'rtta probirkalarga bir xilda 1 ml dan fiziologik eritma quyiladi. Keyin maxsus pipetkada ketma-ket suyultiriladi - asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan 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 (56-rasm).

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

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

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

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

Natijani hisobga olish (57-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

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

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

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

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

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

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

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

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

**Sut halqali reaksiya.** Y.sh.h. brutsellozga 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 aralastiriladi va 37°Cda 45-60 daqiqa saqlanadi. Sutda antitelo bo'lsa, antigen-antitelo kompleksi hosil bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko'tarilib ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi, halqa hosil bo'lmaydi (59-rasm).

#### **Nazorat savollari:**

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

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

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

### Komponentlar:

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

2. Standart pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobi.

3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.

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

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

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

#### **Nazorat reaksiyasi.**

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

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

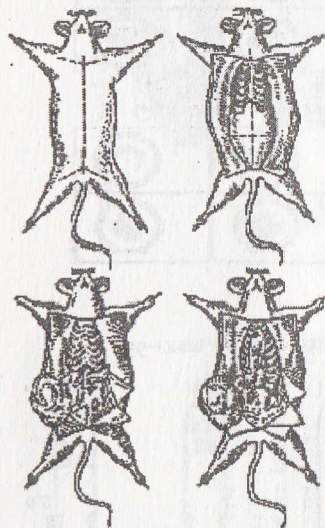
3. Standart antigen + normal zardob (natija manfiy 1 soatda).

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

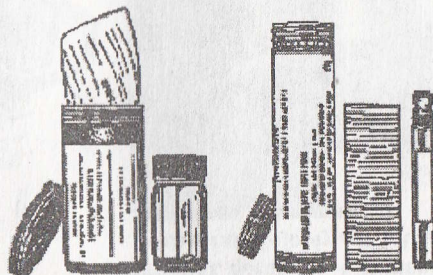
**Natijani baholash.** Ijobiy natija (+), gumonli natija (+-), manfiy natija (-).

**Diffuzli PR.** Buyum oynachasida yoki Petri kosachalaridagi 1 % agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yiqlar qilinadi (60,62-rasm). Markazdagi o'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 pretsipitat chiziqlari ko'rinadi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Pretsipitatsiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun plastinalar fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiy sulfat eritmasi quyiladi, bir necha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rinadi.

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



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

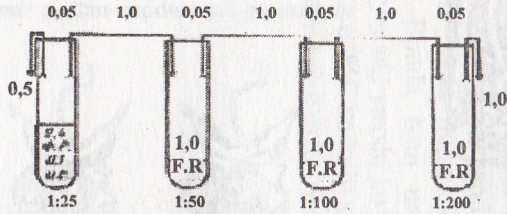


54-rasm. Patologik material namunalarini laboratoriyaga yo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).

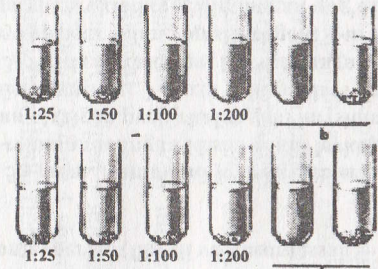


55-rasm. Namunani joylash elementlari:  
1-namuna solingan idish, -tiqini leykoplastir bilan o'ralgan probirkalar yoki kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiros qog'oz; 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtirilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-g'ijimlangan qog'oz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

## Agglutinatsiya reaksiyasi



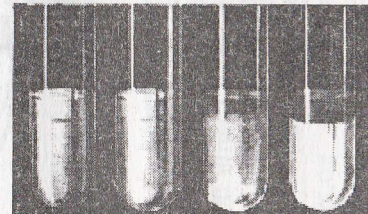
56-rasm. AR qo'yish sxemasi.



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

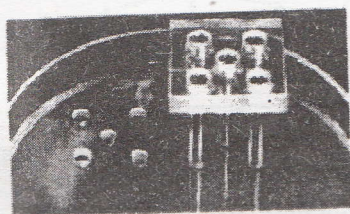
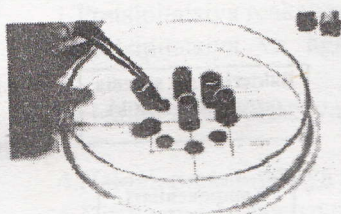


58-rasm. Plastinkali ARni baholash.

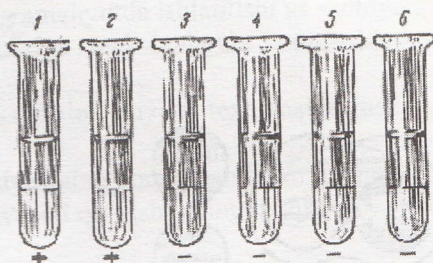


59-rasm. Sut halqali reaksiya: a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.

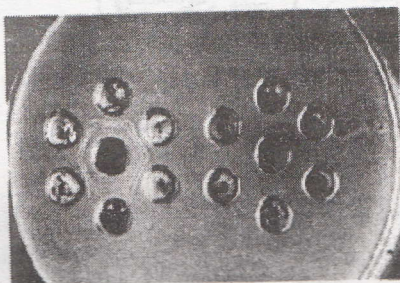
## Pretsipitatsiya reaksiyasi



60-rasm. DPR qo'yish usullari.

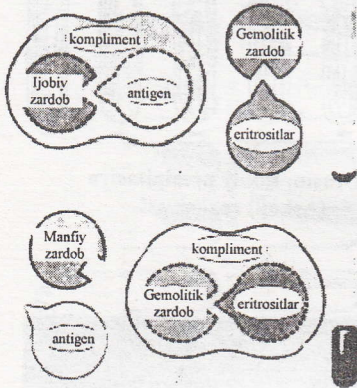


61-rasm. Ijobiy presipitatsiya (Askoil) reaksiyasi.

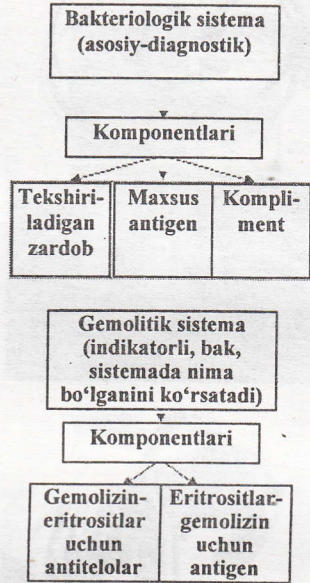


62-rasm. DPR. Chapda markazda pretsipitatsiyalovchi zardob, atrofidagi o'yiqlarda antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda markazda manfiy zardob, atrofiga o'sha antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari yo'q.

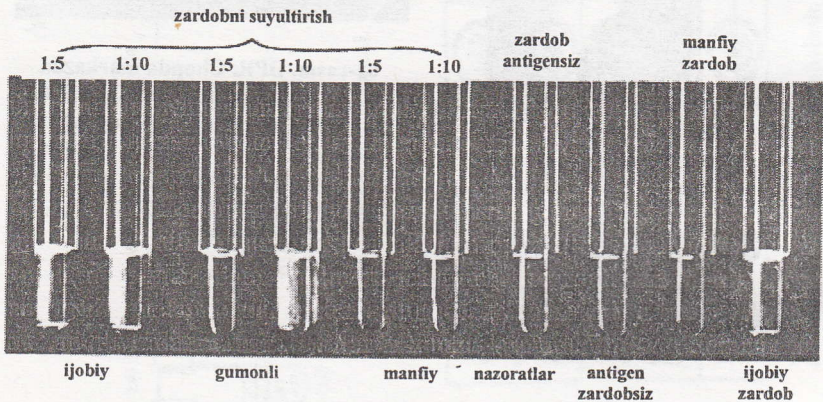
# KBR - kompliment bog'lash reaksiyasi



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



64-rasm. KBR sxemasi.



65-rasm. KBR natijasining ko'rinishi.

## Nazorat savollari:

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

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

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

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

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

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

2. Gemolitik-indikatorli sistema (gemolizin + eritrotsit) bakteriolitik sistemada kompliment bog'langan yoki erkin qolganini aniqlashga imkon beradi. Demak, gemolitik sistemadagi gemolizin-antitelo; eritrotsitlar esa ular uchun antigen. Kompliment erkin qolsa aynan ularga ta'sir qiladi.

Bakteriolitik sistemaga gemolitik sistema qo‘shiladi. Eritrotsitlar gemoliz bo‘lishiga yoki bo‘lmasligiga qarab, bakteriologik sistemada kompliment bog‘ bor, yo‘qligi bilinadi (63-64-rasm).

**Ijoby natijada** qon zardobidagi antitelolar bakteriolitik sistemada antigen bilan birikib, undagi komplimentni o‘ziga bog‘lab oladi. Natijada gemolitik sistema qo‘shilgandan keyin eritrotsitlar lizisga uchramaydi (eritrotsitlar cho‘kmaga tushadi).

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

Kompliment bog‘lash reaksiyasini qo‘yishdan maqsad: 1. Kasal hayvonning qon zardobidagi spetsifik antitelolarni aniqlash (brutselloz, peripnevmoniya, manqa, leptospiroz va boshqalarda). 2. Tekshirilayotgan patmaterialdagi spetsifik 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. Kompliment (oqsil tabiatli modda bo‘lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to‘qima syuyqliklarining 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, faolligi (titri) va qancha suyultirishi ko‘rsatilgan bo‘ladi.
6. Gemolizin – biofabrikada, qo‘y eritrotsitlari bilan quyovni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda glitserin qo‘shilgan bo‘ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
7. Qo‘y eritrotsitlari 1:40 (2,5%) fiziologik eritmada tayyorlanadi.
8. Fiziologik eritma (0,85% li NaCl).

#### **KBR ning asosiy tajribasini qo‘yish**

Komponentlar	Tekshirilayotgan zardobli probirkalar 1:10		Standart zardobli		Normal zardobli		Nazorat gemosistema
	№ 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
Kompliment	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
37 <sup>0</sup> C da 20 daqiqa suv hammomi							
Gem sistema	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
37 <sup>0</sup> C da 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 nisbatda suyultirib, 56<sup>0</sup>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 mldan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib, birinchi juftiga standart, ikkinchisiga–normal zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1- qatordagi probirkalarga 0,2 ml antigen, 2- qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi barcha probirkalarga 0,2 ml kompliment quyilib, probirkalar silkitib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37<sup>0</sup>C da 20-40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriolitik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 mldan gemsistema (ishchi titrdagi gemolizin bilan eritrotsitlarning teng miqdordagi aralashmasi) qo‘shiladi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi.

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

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

Sinovli, standart zardobli probirkalarning birinchi qatori, gem-sistema nazoratli probirkalarda gemoliz bo‘lmaydi (65-rasm) – natija musbat.

### **KBR natijasini baholash**

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

(+++)

– 25% eritrotsitlar gemolizga uchragan, suyuqlik och qizil rangda.

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

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

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

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

### Nazorat savollari:

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

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

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

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

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

Zich fazali immunofermentli usul komponentlari:

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

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

5. Peroksidaza fermenti (xrendan olinadi).

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

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

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

9. Immunologik planshet (shaffof polistiroidan tayyorlangan).

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

Reaksiyani qo'yishning bevosita va bilvosita usullari mavjud. Amaliyotda asosan bilvosita usul qo'llanadi.

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

Reaksiya bosqichlari:

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

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

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

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

kompleksini aniqlash uchun 3% li vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi. Planshetlarni yopib qorong'i joyda yu haroratida 15 – 30 daqiqa qoldiriladi.

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

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

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

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

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

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

### Nazorat savollari:

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

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

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

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

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

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

1. Tekshirilayotgan DNKni issiqda ( $95^{\circ}\text{C}$ da) denaturatsiyalash. Bunda juft asoslarni bog'lanishni hosil qilgan vodorod bog'lar parchalanib, DNK zanjirlari tarqalib ketadi, ya'ni bir zanjirli DNK hosil bo'lib praymeronlar DNK polimerazalar kirishi uchun yengillik paydo qiladi. Jarayonning davomiyligi 1 daqiqa.

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

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

3. Praymerni DNK – polimeraza ishtirokida peaksiya aralashmasiga qo'shilgan dezoksinukleozidtrifosfatlardan tuzilib bitish jarayoni (elongatsiya). Odatda termofil bakteriya *Thermus aquaticus* (*Taq* – polimeraza) ning termostabil DNK- polimerazasi qo'llanadi, u polimerizatsiyani optimal haroratlarda 70 – 75<sup>0</sup>C olib borishga imkon beradi. DNK sintezida praymerlar uning molekulasiga kiradi. Polimeraza yordamida DNK sintezi faqat praymerlar orasida kechadi. Bunda DNKning aynan o'sha qismini nusxalari soni ikki hissa ortadi. Bitta praymer yordamida sintezlangan DNK molekulasi boshqa praymer yordamida komplementar DNK sintezi uchun matrisa bo'lib xizmat qilishi mumkin. Bu bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiqa.

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

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

PZR – diagnostikani o'tkazish uchun quyidagi komponentlar kerak: to'rt xil tipdagi dezoksitriofatlarning suvdagi eritmaları (dATF, dTTF, Dstf, 10 mM, pH 7,0); birinchi praymer (5 mM); ikkinchi praymer (5 mM); *Taq* – polimeraza fermenti (5 TB/mkl);

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

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

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

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

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

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

## Nazorat savollari:

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

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

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

**Material va jihozlar:** Koloniya sanash uchun asbob, kolbalarda suv, tuproq, sut namunalari, go'sht va go'sht mahsulotlari namunalari; steril Petri kosachalari, Petri kosachalarida GPA, qonli GPA, 9 ml steril suvi bor probirkalar, 10, 2, 0,1 ml hajmli pipetkalar, probirkalarda 10-12 ml dan steril GPA, o'lchangan tuproq, kolbada steril suv (200 ml), probirkalarda Keyssler, Vilson - Bler muhitlari, buyum 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 obyektlarini sanitar - gigiyenik holati baholanadi va sanitar-bakteriologik tekshirishlar o'tkaziladi. Ularni to'g'ridan-to'g'ri aniqlash qiyin, chunki bu mikroorganizmlar miqdori suv, tuproqda kam bo'lib sekin ko'payadi. Shuning uchun sanitariya-mikrobiologiya amaliyotida ma'lum obyektning mikroob bilan zararlanishini aniqlash va unda sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalarni topish usuli qo'llaniladi.

Mikroob bilan zararlanish tekshirilayotgan obyektning ma'lum hajm va massa birligidagi (1 sm<sup>3</sup> suv, 1 g tuproq, 1 m<sup>3</sup> havo) mikroorganizmlarning umumiy miqdori, ya'ni mikrooblar soni bilan ifodalanadi.

Ulardagi sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalar titr va indekslarda baholanadi. Ushbu bakteriyalar topilgan minimal hajm yoki massa titr deb aytiladi. 1 litr suyuqlik, 1kg tuproq, 1 m<sup>3</sup> havodagi sanitariya ko'rsatkichli bakteriyalar soniga indeks deb ataladi.

Sanitariya ko'rsatkichi hisoblangan ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari enterobakteriya oilasining turli avlodlariga mansub.

#### **Suvni sanitariya 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 Na<sub>2</sub>HSO<sub>3</sub> bilan 1 litr suvga 10 ml hisobidan qo'shib neytrallash kerak.

Namuna olingandan bakteriologik tekshirishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan ko'p bo'lmasligi lozim (1-1,5<sup>0</sup>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 aralastiriladi 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 ml dan eritilib 45-50<sup>0</sup>C ga cha sovutilgan GPA quyib, aylanma harakat bilan yaxshi aralastiriladi. GPA qotgach Petri kosachalarini to'nkarib, ekmalarni 37<sup>0</sup>Cda 1-2 sutka o'stiriladi. Ochiq havzalardan olingan namunalar ikkitadan Petri kosachalariga ekiladi. Bir qatori 37<sup>0</sup>Cda bir sutka, qolganlari 20<sup>0</sup>Cda 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 xil hajmdagi suv namunalari glukozapeptonli muhitga (1% peptonli suv, 0,5 % li glukoza eritmasi, 0,5 % NaCl eritmasi, Andrade va bir tomoni kavsharlangan naycha) ekiladi. Katta hajmli (100 va 10 ml) suv namunalarini 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 namunalarini tekshirish uchun 3 ta 100 mldan, 3 ta 10 ml va 3 ta 1 ml hajmdan ekiladi. Ekmalar bir sutka  $37^{\circ}\text{C}$ da 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 oziq muhit yuzasidan olinadi va dimetil - n - fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga shtrixlar shaklida o'tkaziladi. Oksidaza testi manfiy bo'lsa qog'oz rangi o'zgarmaydi, musbat bo'lsa - u bir daqiqa ichida ko'k rangga bo'yaladi.

Oksidaza hosil qilmaydigan grammanfiy tayoqchalar, qayta bijg'ish testida tekshiriladi - 0,5 %li glukozali yarimsuyuq go'sht peptonli agarga ekiladi,  $37^{\circ}\text{C}$ da 1 sutka o'stiriladi. Natija musbat bo'lsa, koli - titri va koli - indeksi statistik jadval bo'yicha aniqlanadi (1-jadval).

Suv quvurlarining suvi uchun koli - titr 333dan, ochiq suv havzalari uchun 111 mldan kam bo'lmasligi 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.

## Suvda ichak tayoqchasi indeksini aniqlash

1-jadval

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 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> C da 1 sutka o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi.

2 – 3 ta qizil rangli koloniyalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi, oksidaza testi qo'yiladi. Buning uchun filtrdagi bakteriya koloniyalarini pinset bilan dimetil – n – fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga o'tkazish lozim. Oksidaza bor bo'lsa, indikator koloniyani ko'k rangga bo'yaydi. Rangi o'zgarmagan 2-3 ta koloniya 0,5% glukozali 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 tayoqchasi 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-titrta aylantirish uchun esa 1000 ni koli-indeks ko'rsatkichiga bo'lish lozim (1000:3=333).

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

*Sedimentatsion 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 baholanadi: 250 dan kam koloniya bo'lsa havo toza hisoblanadi; 250-500 o'rtacha ifloslangan; 500 koloniyadan ortiq ifloslangan.

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

Krotov apparati.(202-rasm) shunday tuzilganki, havo berilgan tezlikda agarli Petri kosachasi yuzini yopib turgan pleksiglas plastinaning tor tirqishidan o'tadi. Bunda tarkibida mikroorganizmlar bor aerazol qismlari oziq 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 violet qo'shilgan qonli agar ishlatiladi. Gumonli koloniyalarni tanlab qonli agarda qayta ekiladi.

*Oziq muhit tarkibi.* Gensian violet qo'shilgan qonli agar: 2% oziq agari, 5-10% fibrinsizlantirilgan (ot, quyon yoki qo'y) qoni va gensian violet (1:50.000). Tuxum sarig'i-tuzli agar: 2% oziq 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-aerazolli bakteriologik namuna olgich, POV-1-havo olish uchun uskuna, unda ma'lum hajm havo suyuqlik yoki filtrdan o'tkazilib, keyin oziq muhitlariga o'lovli 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, koli-titr, perfringens-titr va termofil bakteriyalarning titri aniqlanadi. Zarur holatlarda nitrifikatsiyalovchi va ammoniy fikatsiyalovchi bakteriyalar, aktinomitsetlar, 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 koloniyalar 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 suyultirilmalarini (1 ml) probirkalarda steril yog'sizlantirilgan sut yoki extempore tayyorlangan temirsulfidli 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 koloniyalari hosil bo'lishi bilan hisobga olinadi. Koloniyalardan surtmalar tayyorlanib, Gram usulida bo'yaladi, mikroskopda ko'rib, perfringens-titri aniqlanadi.

Termofil bakteriyalarining titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyalarining suyultirilmalaridan (1ml) Petri kosachasiga quyib, ustiga eritib, sovutilgan go'sht peptonli agar quyiladi. Ekmalar  $60^{\circ}\text{C}$  da

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

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

*Oziq muhiti tarkibi. Keyssler muhiti:* 1% pepton, 5% o‘t suyuqligi, 0,25% laktoza, gensian violet grammusbat bakteriyalarini o‘stirishdan to‘xtatish uchun. *Temirsulfidli Vilson-Bler muhiti:* 3% go‘sh t peptonli agar, 1% glukoza, 2% natriy sulfid, 0,08% temir xlorid.

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

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

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

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

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

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

**Go‘sh t va go‘sh t mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.**

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

GOST talablari bo‘yicha kolbasa va go‘sh t mahsulotlarini bakteriologik tekshirish mikroblar sonini, shuningdek, ichak tayoqcha-

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

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

### Nazorat savollari:

1. Suvning koli-titri nima? Uni aniqlash usullarini ayting.
2. Bakteriologik tekshirish uchun suv namunalari 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.
8. Sut va sut mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.
9. Go'sht va go'sht mahsulotlarini sanitar-bakteriologik tekshirish.

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

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

mikroorganizmlardan, zararsizlantirilgan ekzotoksinlar, protektivli antigenlardan (kimyoviy vaksinalar) tayyorlanadi. Vaksinalarning har xil turlari bor. Vaksina tarkibidagi antigen miqdori bo'yicha ular mono-, di-, polivaksinalar va assosirlangan vaksinalar (ya'ni har xil antigenlari bor) bo'ladi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tayyor zardob sterillikka, zararsizligiga, maxsus faollikka tekshiriladi.

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

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

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

*Misol.* Cho‘chqalar saramasiga qarshi immun zardobning nazorati.

Sterillikka tekshirish: zardob GPA, GPB, GPJB, Saburo agarlariga ekiladi. Ekmalar 37 va 20<sup>0</sup>C da (Caburo) 10 sutka saqlanadi. Oziq muhitlar sterilligicha qolishi kerak.

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

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

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

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

**Diagnostik antitelolar (Antizardoblar)** odatda hayvonlarni giperimmunizatsiya qilish yo'li bilan olinadi. Diagnostik zardoblar yordamida mikroob antigenlari aniqlanadi va ajratilgan kultura identifikatsiyalanadi. Ishlatilish maqsadiga qarab: turga oid zardoblar (mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun), guruhga oid zardoblar (mikroorganizmlarni serologik guruh darajasida aniqlash uchun), serovariantga oid zardoblar (serovar darajasida aniqlash uchun) farqlanadi. Diagnostik zardoblar har xil serologik reaksiyalarda (AR, PR, DPR, KBR, NR) qo'llash uchun ishlab chiqariladi. Diagnostik zardoblar sterillik, faollik va maxsuslikka tekshirib nazorat qilinadi.

**Diagnostik antigenlar** hayvonlarning infeksiyon kasalliklarini tekshirish uchun ishlatiladi. Serologik reaksiyaning turiga qarab: korpuskular antigenlar (AR, KBR), antigenlar bilan sensibillashgan eritrotsitlar (eritrotsitli diagnostikum GadR uchun), eruvchi antigenlar (PR, DPR) farqlanadi. Ba'zan bo'yalgan antigenlar tayyorlanadi (suthalqali reaksiya). Antigenlarni tayyorlash texnologiyasi har xil, lekin har qanday antigen uchun mikroorganizmlar kulturasi asos bo'ladi.

Diagnostik antigenlarni nazorat qilish:

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

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

**Allergenlar** (brutsellin, tuberkulin, mallein)– bakteriyalar gidrolizati bo'lib, tirik hayvonlarda brutselloz, tuberkuloz, manqaga diagnoz qo'yishda ishlatiladi. Ular rangsiz yoki bo'yalgan suyuqlik bo'lib ampulalarda chiqariladi. U sterillik, zararsizligi, maxsuslik, faollikka nazorat qilinadi. *Sterillik* nazorati vaksina kabi bajariladi. *Zararsizlik* nazorati: brutsellin 18 – 25 grli oq sichqonlar bel qismiga 0,5 ml dozada yuboriladi. 10 kun davomida sichqonlar tirik qolishi, inyeksiya joyida yallig'lanish reaksiyasi bo'lmasligi kerak. *Maxsuslik* nazorati: oq dengiz cho'chqalarining juni olingan yon tomoniga terisi orasiga 0,1 ml brutsellin yuboriladi va etalon preparat bilan taqqoslanadi. 24, 48 soatdan keyin inyeksiya joyida allergik reaksiya

bo'lasligi kerak. Allergen antigenlik xususiyatlarga ham tekshiriladi (AR, KBR). *Faolligi* nazorati: 10 – 15 ta dengiz cho'chqalari terisi ostiga  $(0,25 - 1)10^9$  *B. Melitensis* Rev 1 shtammi hujayralari yuboriladi. 4 haftadan keyin 0,1 ml brutsellin va etalon allergen yuboriladi. 24 soatdan keyin reaksiya hisobga olinadi. Sinovdagi va etalon allergenlarga reaksiya bir xilda bo'lishi kerak.

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

### Nazorat savollari:

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

---

## II BO'LIM. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA

### 22-m a v z u. Stafilocokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi

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

**Material va jihozlar:** Patmaterial, yiringli ekssudat yoki mastit bilan kasallangan sigir suti namunasi, oziq muhitlar GPB, GPA, selektiv muhit tuz-qonli GPA (stafilocokklarni ajratish uchun), glukoza—zardobli GPB, Paster pipetkalari, pinset, antibiotik diskleri, jadvallari.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

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

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

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

*Stafilokokklarning DNK-aza faolligini aniqlash.* Eritib, bir oz sovutilgan GPAGA (pH 8,4 – 8,6) 1 – 1,5 mg/ml DNKning natriyli tuzi qo'shiladi va 30 – 40 daqiqa suv hammomida qaynatiladi. 50 – 60°C gacha sovugach unga 0,8 mg/ml kalsiy xlorid aralashtiriladi va Petri kosalalariga 10 – 15 ml dan quyib chiqiladi. Qotgandan so'ng 8 – 10 ta stafilokokk kulturasi belgilangan joylarga ilmoqni tegdirib ekiladi, 18 – 20 soat 37°C da o'stiriladi. Keyin kosachaga 4 – 5 ml xlorid kislotasining 1 n eritmasini quyib, 2 – 3 daqiqa o'tgach to'kib tashlanadi. Koloniya atrofida tiniq hududning paydo bo'lishi DNK-aza borligini ko'rsatadi. Patogen stafilokokklar DNK-aza faollikka ega bo'ladi (70-rasm).

Patogen va patogen emas stafilokokklarni farqlash uchun maxsus selektiv muhit-kristallviolet qo'shilgan GPA ga ekiladi (1 litr 3,5% li

GPaga 3,3 ml 0,1%li kristallviolet qo'shiladi). Kristallvioletning bakteriostatik ta'siridan patogen emas stafilokokklar o'smaydi. Patogenlari esa binafsha yoki to'q sariq rangli koloniyalar hosil qiladi.

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

Stafilokokklar ekzotoksin ajratadi. 1) gemotoksin (stafilolizin) eritrotsitlarni lizis qiladi. 2) leykosidin-leykositlarni parchalaydi.

*Letal toksinni aniqlash* – quyon qon tomiriga 0,75 ml/kg bulon kulturasi filtrati yuboriladi. *Nekrotoksinni aniqlash* – quyon terisining ma'lum qismi junidan tozalanib, dezinfiksiyalanadi, teri orasiga bulon kulturasi filtratidan 0,2 ml yuboriladi (1 ml da 2 mlrd mikroob hujayrasi) 24 soatdan keyin nekroz reaksiyasi (nekroz zonasi 1 – 2 kun davomida rivojlanadi) paydo bo'ladi.

Zaharlanishda stafilokokk *enterotoksiniga* tekshiriladi. 10 – 15 ml 3 – 4 sutkali stafilokokk kulturasini iliq sut bilan teng miqdorda aralashirib, 4 – 8 haftali mushuk bolasiga yediriladi. Ijobiy natijada – ich ketish, qusish kuzatilib, mushukcha o'ladi.

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

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

### Nazorat savollari:

1. Stafilokokkli infeksiyalarda laboratoriyaga qanday patmaterial yuboriladi?

2. Stafilokokklarning morfologiyasi, kultural xususiyatlarini tushuntiring?

3. Stafilokokklarning patogen va patogen emas shakllari oziq muhitida qanday farqlanadi?

4. Stafilokokklarning patogenligini biosinov qo'yish usulida aniqlash.

5. Patogen stafilokokklarning xarakterli xususiyatlarini ayting.

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

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

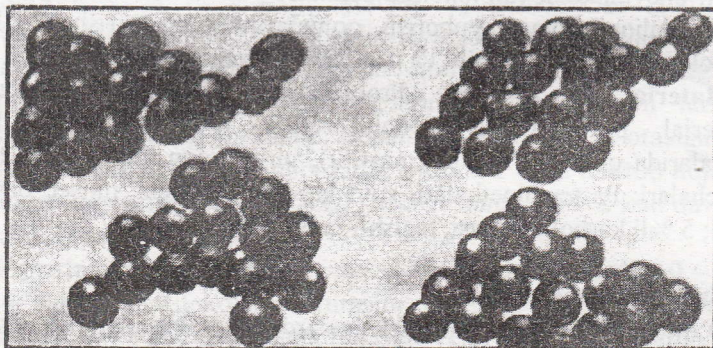
O'qituvchi streptokokkli infeksiyalarda patologik material olish va laboratoriyaga yo'llashni tushuntiradi. Bakteriologik tekshirish tartibi va usullari bilan tanishtiradi. Talabalar: 1) mikroba kulturasi, patmaterialdan surtma tayyorlab – Gram usulida bo'yaydilar va mikroskopda ko'rib, daftariga yozadilar,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

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

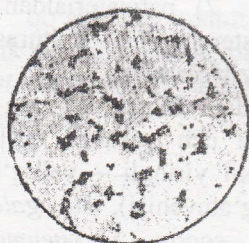
**Yuqumli mastit qo'zg'atuvchisi.** Yuqumli mastitni 80 dan ortiq mikroba turlari chaqiradi, ammo asosiy, juda ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi – *Str. agalactiae* (*Str. mastitidis*) va patogen stafilokokklar.

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

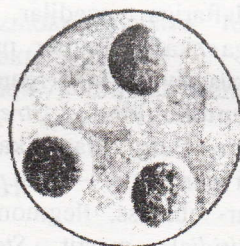
## Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



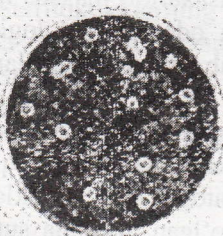
66-rasm. *Stafylococcus aureus* toza kulturada.  
Gram usulida bo'yalgan.



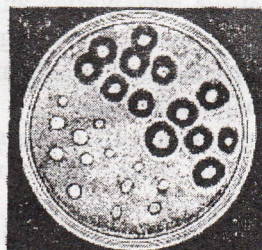
67-rasm. Stafilokokklarning  
toza kulturasi.



68-rasm. GPda  
stafilokokk koloniyasi.

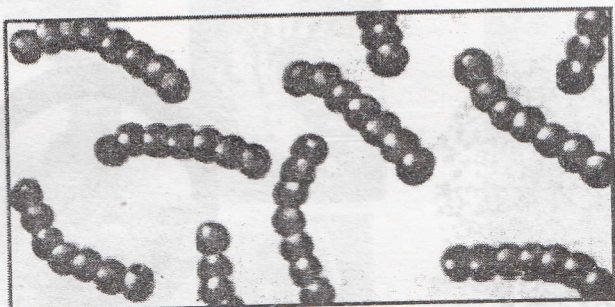


69-rasm. *Stafylococcus aureus* qonli  
agarda gemoliz hosil qilgan.

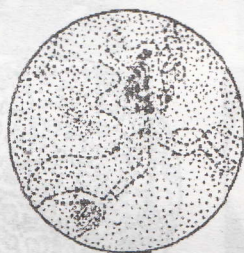


70-rasm. Stafilokokkning  
DNK-azali faolligi.

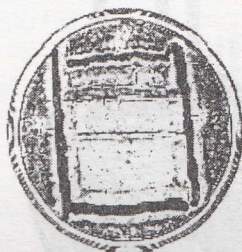
## Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



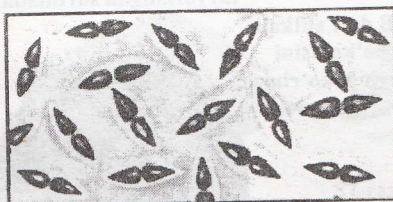
71-rasm. Streptococcus GPB dan tayyorlangan surtmada. Gram usulida bo'yalgan.



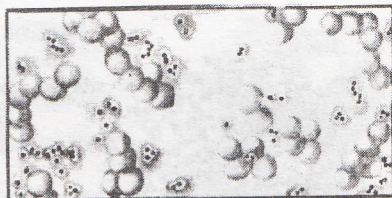
72-rasm. *S. agalactiae* petmaterialdan tayyorlangan surtmada.



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

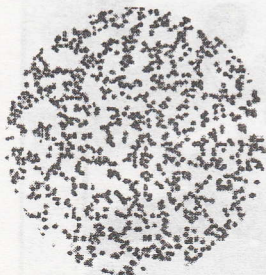


74-rasm. *Diplococcus pneumoniae* toxa kulturada. Gram usulida bo'yalgan.

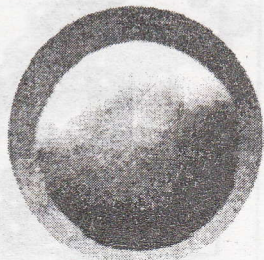


75-rasm. *Diplococcus pneumoniae* balg'amda. Metilen ko'ki bilan bo'yalgan.

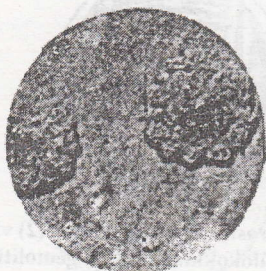
## Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi



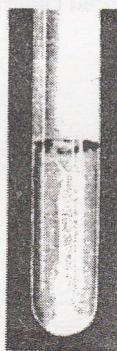
76-rasm. Pasterella GPB kulturasiida tayyorlangan surtma.



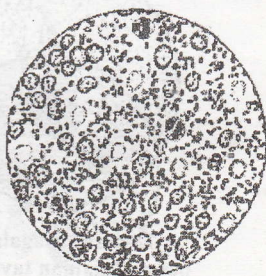
77-rasm. Pasterellaning S-shaklli koloniyasi-agarda.



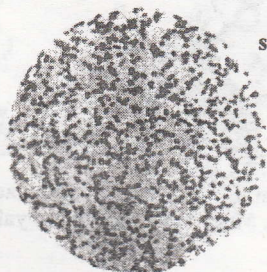
78-rasm. Pasterellaning R-shaklli koloniyasi-agarda.



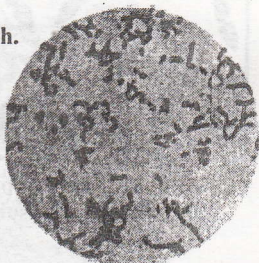
80-rasm. GPB da 2 sutkali pasterella cho'kmasini silkitgandan keyingi ko'rinish.



79-rasm. Pasterellalar. Patologik materialdan tayyorlangan surtmada.

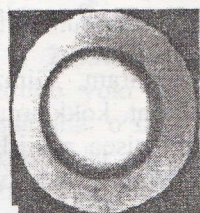


81-rasm. S-shaklli pastrella surtmasi.



82-rasm. R-shaklli pastrella surtmasi.

## Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi



a



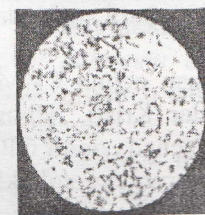
a



b



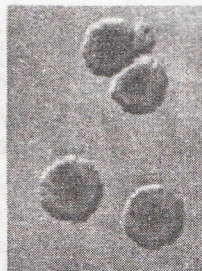
b



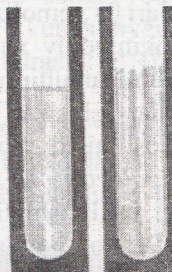
83-rasm. Mikrobbing S-shaklli koloniyasi (a,b); undan tayyorlangan surtmada ko'rinishi.



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



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



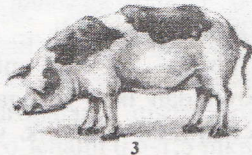
a

b

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



1

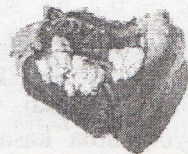


3



2

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



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

olinadi. Subklinik mastitda avval sut alohida idishga sog'ib tashlanadi, keyin, yelinni yuvib 70<sup>0</sup> spirt bilan dezinfeksiyalanadi va steril har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga sutning oxirgi porsiyalaridan (parenximali sut) sog'ib olinadi va og'zi yopiladi. Namunani 2 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak.

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

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

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

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

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

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

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

**1. Mikroskopiya.** Yiringdan tayyorlangan surtmalarda *Str. equi* kokklardan iborat uzun zanjir shaklida joylashadi. Bulon kulturasidan

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

**2. Bakteriologiya.** Qo'zg'atuvchi oddiy oziq muhitlarda o'smaydi, zardob yoki fibrinsizlangan qon, qo'shilgan muhit, Kitt – Tarossi muhitida o'sadi. Suyuq muhitda probirka devorida, tubida mayda donachalar shaklida o'sadi. Zardobli glukozali agarda shudringsimon yurug'lik o'tkazuvchi, mayda shilimshiq koloniyalar shaklida o'sadi. Qonli agarda  $\beta$  - gemoliz zonasi hosil bo'ladi.

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

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

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

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

**Mikroskopiya.** Gram, Romanovskiy-Gimza usullarida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi juft, kapsulalarga o'ralgan kokklar shaklida joylashadi. U grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi. Kulturalarda kapsulalar hosil bo'lmaydi. Organlardan tayyorlangan surtmada ikkala kokkni o'rab olgan kapsula yaxshi ko'rinadi. Kulturalardan tayyorlangan surtmalarda qisqa zanjir shaklida joylashadi (74, 75- rasm). Kokklarning o'lchami 0,5-1,5 mkm.

**Bakteriologiya.** *Str.pneumoniaye* 37<sup>0</sup>C da aerob va anaerob sharoitlarda o'sadi. Zardobli GPBda bir xilda loyqalanish, kamroq cho'kma hosil bo'ladi. Zardobli GPAda mayda shudringsimon koloniyalar, qonli agarda gemoliz zonasi bor koloniyalar hosil qiladi.

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

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

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

Assotsiatsiyalangan (polivalent) vaktsina cho'chqa bolalari paratif, pasterelloz va diplokokkli septitsemiyasiga qarshi *P.multocida*, *S.cholerasuis*, *Str.pneumoniaye* kulturalarini o'z ichiga olgan.

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

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

### Nazorat savollari:

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

### 24-m a v z u. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

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

## Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

**2. Bakteriologiya.** *P. multocida* – aerob sharoitda, 37- 38<sup>0</sup>C da, pH 7,2- 7,4 bo'lgan GPA va GPB larda o'sadi. Lekin qonli GPA, zardobli GPA yoki GPB larda yaxshiroq o'sadi. Patmaterialdan ekilgan ekmalar 24-48 soat termostatda o'stiriladi. Agar o'sish bo'lmasa, ekmalar 4 – 5 sutkagacha termostatda saqlanadi.

GPA da- pasterellalar mayda, silliq, bo'rtgan, tiniq, yumaloq, chetlari tekis (S –shakl) kuirang oq koloniyalar (77-rasm), ba'zan yirik, shilimshiq ( M- shakl) yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar ( R-

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

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

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

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

#### **Natija ijobiy hisoblanadi:**

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

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

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

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

Qo'ylar pasterelloziga qarshi gidrookisaluminli formol vaksina yaratilgan. Ushbu biopreparatlar xo'jaliklarda keng qo'llanib, samarali natijalarga erishilmoqda.

### Nazorat savollari:

1. *P. multocidani* morfologik, tinktorial xususiyatlari.
2. *P. multocidani* kultural, fermentativ xususiyatlari.
3. Pasterellozga qachon ijobiy natija – diagnoz qo'yiladi deb hisoblanadi.
4. Pasterellozga diagnoz qo'yishda biosinovning ahamiyati.
5. Laboratoriyaga yo'llanadigan patmateriallar va tekshirish usullari.

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

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

Tuyalar va odamlar o'lati – tabiiy o'choqli kasallik. Tabiiy sharoitlarda kemiruvchilar qo'zg'atuvchi rezervuari hisoblanadi. Sog'lom hayvonlarni o'tkazuvchilar, birinchi navbatda burgalar zararlaydi. Qishloq xo'jalik hayvonlaridan tuyalar kasallikka ko'proq moyil. Kasallik og'ir intoksikatsiya, o'pka, limfa tizimining zararlanishi, septitsemiya bilan ifodalanadi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Biopreparatlar.** EV shtammdan tayyorlangan tirik, quruq o'lat vaksinasi.

Kimyoviy o'lat vaksinasi.

O'lat bakteriofagi.

### Nazorat savollari:

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

### 26-m a v z u. Pseudotuberkulozning laboratoriya diagnostikasi

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

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

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun parenximatoy organlar, limfa tugunlar, kemiruvchi va parrandalarning jasadlari yo‘llanadi.

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

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

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

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

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

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

## Nazorat savollari:

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

## 27-m a v z u. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun hayvonning jasadi yoki parenximatоз organlardan bo'lakchalar (yurak, jigar o't xaltasi bilan, taloq, buyrak) ilik suyagi, yuboriladi. Kasallikning surunkali shakli gumon qilinganda yurakdan qon va endokard, artritda

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

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

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

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

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

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

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

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

**3. Biosinov.** Kabutar va oq sichqonlarda qo'yiladi. Kabutarlar to'shiga 0,2 – 0,3 ml dozada, 16-18g li oq sichqonlar terisi ostiga 0,1 – 0,2 ml dozada patmaterial suspenziyasi yoki GPA da o'stirilgan 1-2 sutkali kultura suspenziyasi yuboriladi. Ijobiy natijada zararlantirilgan

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

### **Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:**

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

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

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

*Biopreparatlar.* Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi konsentrlangan gidrookisaluminli formolvaksina.

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

Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi quruq liofilangan tirik vaksina .VR - 2 vaksina shtammi kulturasidan tayyorlangan.

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

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

### **Nazorat savollari:**

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

2. Saramas qo'zg'atuvchisining morfologik, kultural, biokimyoviy xususiyatlari.

3. Saramas qo'zg'atuvchisini serologik farqlash usullari.

4. Saramasda biosinov qo'yish usulini ayting.

5. Qachon cho'chqalar saramasiga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

## 28 - m a v z u. Listeriozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

**1. Mikroskopiya.** Patologik materialdan tamg'ali preparatlar tayyorlab Gram va fluoressensiyalovchi antitelolar usulida bo'yaladi. *Listeria monocytogenes* –harakatchan bakteriya, Mikrobnig beshtagacha xivchini bo'lib, ular faol harakat qiladi (89b-rasm). Ba'zi shtammlari tez xivchinlarini yo'qotib, harakatsiz bo'lib qoladilar. Gramusbat (eski kulturada grammanfiylari ham uchraydi), o'lchami 0,3 - 0,5 x 0,8 – 2,0 mkm, polimorf, uchlari qayrilgan tayoqchalar, ba'zi oziq muhitda o'sganlari – yengil egilgan bo'ladi. U bittadan, rim raqami,

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

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

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

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

*Serologik tekshirish.* AR, KBR, pretsipitatsiya, bilvosita gemag-glutinatsiya reaksiyalari qo‘llanadi.

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

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

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

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

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

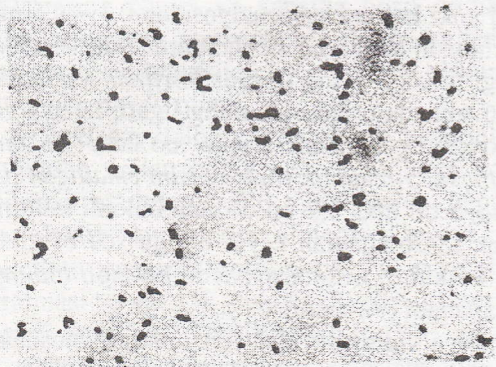
Listeriozdan o'lgan laboratoriya hayvonlarining jigari, talog'i va buyraklarida juda ko'p kulrang oqish nekroz tugunchalari paydo bo'ladi (95b-rasm).

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

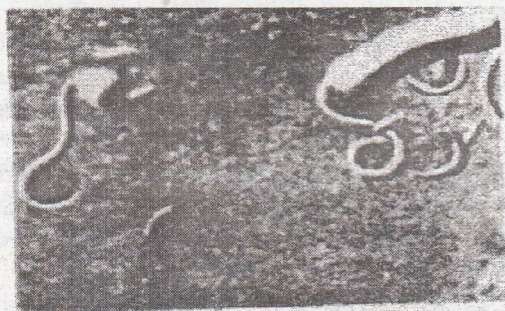
Biosinovdagi hayvonlar 14 sutka kuzatiladi.

#### **Natija ijobiy hisoblanadi:**

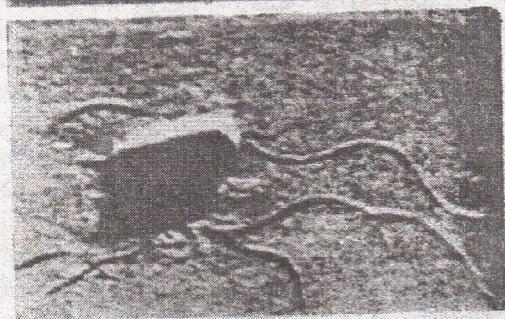
Patologik materialdan katalaza hosil qiluvchi, maltoza, pannoza, salisinlarni gazzsiz kislota hosil qilib parchalaydigan grammusbat,



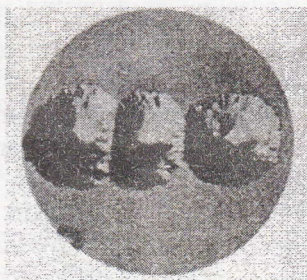
a



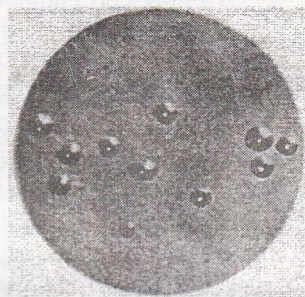
b



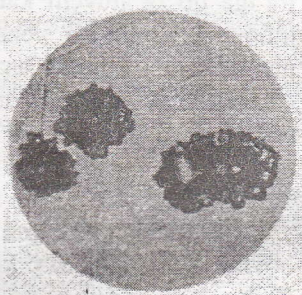
89-rasm. Listeriyalar - a) sutkali GPA kulturasidan tayyorlangan surtmada, b) elektronogrammda xivchinlari bilan ko'rinishi.



a

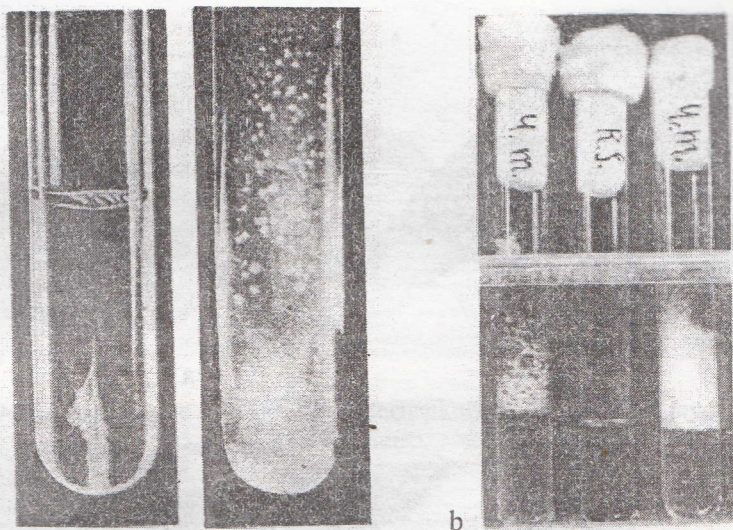


b



d

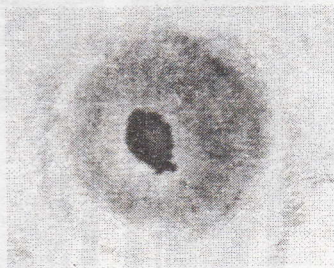
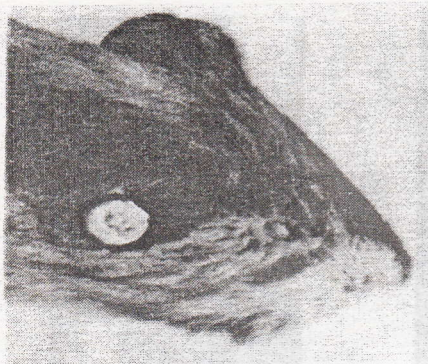
90-rasm. Koloniyaning a) - O (SR), b) -S, d) - R- shakllari.



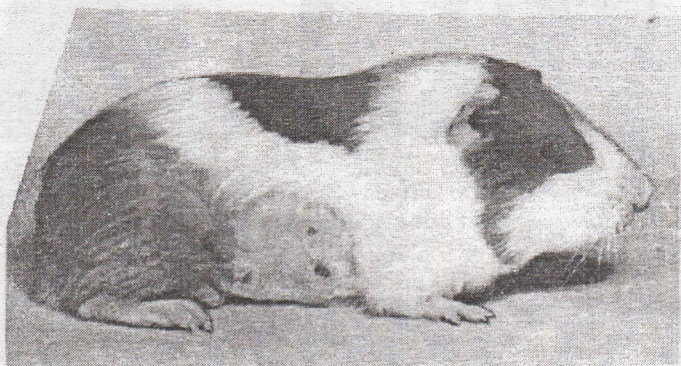
91-rasm. listeriyalar a) GPB da - cho'kma soch o'rimi singari ko'tarilishi, b) GPBda o'sishi, d) katalaza namunasi.



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

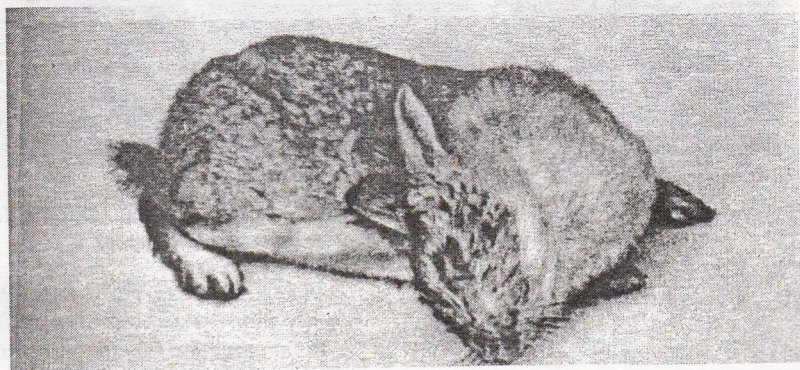


a



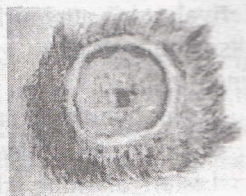
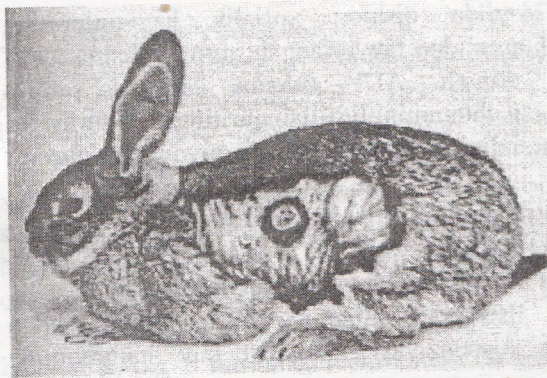
b

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



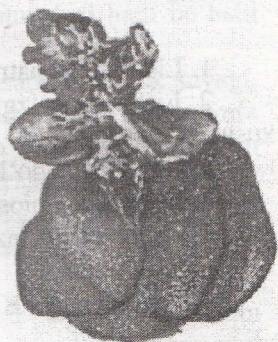
a

94-rasm. a) venasiga zararlangan quyonda listerioz.



b

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



a

b

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

polimorf, harakatchan tayoqchalar ajratilsa; dengiz cho'chqasi va quyonda kon'yunktiva va teri orasiga yuborganda ijobiy natija bersa; listeriodan zardoblari bilan AR ijobiy bo'lsa; laboratoriya hayvonlari uchun patogen va lyuminissent mikroskopiyada ijobiy natija bersa.

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

Listeriozning diagnostik agglutinatsiyalovchi zardoblari.

Fluorensensiyalovchi listerioz zardoblari.

Listeriyalarning ikkita serotipidan tayyorlangan vaksinalar.

AR uchun ikkita listerioz antigeni; ikkita seroguruhdan tayyorlangan. Listeriyalar suspenziyasi 1,5 soat suv hammomida qaynatib inaktivlangan.

KBR uchun listerioz antigenlari.

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

### Nazorat savollari:

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

### 29 - m a v z u. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi

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

**Material va jihozlar:** GPA, GPB, Endo muhitlarida *E. coli* kulturalari, probirkalarda steril oziq muhitlar – GPA, GPB, GPJ a, vismut – sulfitli agar, Paster pipetkalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, agglutinatsiyalovchi zardoblar, ko'rsatish uchun jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

## Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan GPA, GPB, Endo muhitlariga ekiladi. Probirkali muhitlarga Paster pipetkalari bilan, Petri kosachalaridagiga shpatel bilan yoki organlardan tamg'a usulida ekiladi. Ekmalar 37–38°C da termostatda bir sutka o'stiriladi. *E. coli* aerob va fakultativ anaerob. Endo muhitida xarakterli koloniya bo'lsa, undan GPB, GPA, qonli agarga ekiladi.

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

kulrang koloniyalar hosil qiladi (97-rasm). Qonli GPA da koloniya atrofida gemoliz zonasi hosil bo'ladi (101-rasm).

Biokimyoviy xususiyatlari – endo muhitida (99-rasm) uch xil: qizil qoramtir tovlanadigan, malina rangli pushti tovlanadigan va pushti koloniyalar hosil qiladi (laktozaning parchalanishi hisobiga). Indol hosil qiladi, vodorod sulfid ( $H_2S$ ) hosil bo'lmaydi, sutni ivitadi, metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy reaksiya beradi. Gissa rangli qatorda (100-rasm) glukoza, laktozani kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sitrat tuzlarini o'zlashtirmaydi.

Ajratilgan kultura ARda tipospesifik agglutinatsiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizatsiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik «O», qobiqli «K», xivchinli «H» antigenlar farqlanadi. Biofabrikada faqat «O» antigenga diagnostik zardoblar ishlab chiqilgan. Shu bilan *E. coli* ning seroguruhi va serotiplari buyum oynasida tomchili usulda AR da aniqlanadi. AR ko'rsatma asosida qo'yiladi. Avval 4 ta polivalent zardob bilan, keyin monovalent zardoblar bilan qo'yiladi. Har bir polivalent zardobga – 8 – 10 tadan monovalent zardoblar kiradi.

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

*E. colining* ba'zi shtammlari antibiotik tabiatli modda – kolisinlar ishlab chiqaradi. Kolisinlar alohida ichak tayoqchalari shtammini o'sishga yo'l qo'ymaydi, ammo boshqa tur bakteriyalarga ta'sir etmaydi.

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

*Biopreparatlar.* Cho'chqa bolalari, buzoq va qo'zilar kolibakterioziga qarshi polivalent gidroksidaluminli formolmiersal vaksina.

Mo'ynali hayvonlar salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent vaksina.

VIEV koliprotektani.

Qishloq xo'jalik hayvonlari kolibakterioziga qarshi polivalent zardob.

Agglutinatsiyalovchi O – koli zardoblar.

Antiadzeziv koli: zardoblar – K 88, K 99, 987 R, A20, F41.

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy shtammlardan qo'zilar, cho'chqa bolalari va buzoqlar kolibakterioziga qarshi konsentrlangan gidrooksidaluminli vaksina.

Buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalarining kolibakterioz va salmonelloz kasalliklariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina.

Qishloq xo'jalik hayvonlarining pasterelloz, salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent radiovaksina. Immunitet 6 – 12 oy davom etadi.

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

### Nazorat savollari:

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

### 30 - m a v z u. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi: patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasini tushuntiradi. Tekshirish usullarini aytib o'tadi. Qo'zg'atuvchining

morfologik, kultural xususiyatlarini tushuntiradi. Ishlatiladigan biopreparatlar bilan tanishtiradi.

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

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

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

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

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

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

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

**Serologik tipizatsiya** uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasi avval polivalent salmonellozli agglutinatsiyalovchi «O» -- zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (106-rasm). Ijobiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga kiruvchi alohida monoreseptorli «O» – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin aynan o'sha kulturalar monoreseptorli «H» zardob bilan (I va II fazalari raqam va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tashqari immunofluoresent diaqnoz qo'yish usulini qo'llash mumkin.

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

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

**Biopreparatlar.** Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrlangan formolachchiqtoshli vaksina.

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

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

Buzoqlar salmonelloziga qarshi vaksina *S. dublin* №6 shtammdan tayyorlangan.

Qoʻylar salmonelloziga qarshi polivalentli formoltiomersalli vaksina.

Suvda suzuvchi parrandalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaksina.

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

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

Oʻzbekiston veterinariya ilmiy tadqiqot institutida mahalliy shtammlardan buzoq, qoʻzi va choʻchqa bolalarining kolibakterioz va salmonellozlariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina va immun zardob yaratilgan.

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

Pullorozli eritrositar antigen.

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

Fluorensiyalovchi salmonellozli O- zardoblar.

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

#### Nazorat savollari:

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

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

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovskiy Gimza usullarida bo'yaladi. Maxsus eritma 180 ml 96<sup>0</sup> etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiraladi. Qo'zg'atuvchi harakatsiz, grammusbat tayoqchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (108, 109-rasm). Tayoqchani bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan bo'ladi. Ko'pincha cho'chqalardan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchining shakli o'zgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yo'g'on, egilgan yoki donachali bo'lib, o'rtasi yoki ikki cheti shishgan bo'ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturadan tayyorlangan surtmalarda *B.anthraxis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (115-rasm). O'lchamlari 1-1,3 x 3.0-10,0 mkm. Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani ta'kidlanadi.

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

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

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

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

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

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

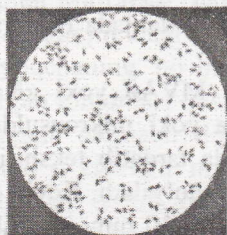
3. **Biosinov** patmaterial keltirilgan kuni qo'yilishi shart. Laboratoriya hayvonlaridan oq sichqon, dengiz cho'chqasi va quyonlarda qo'yiladi. 2 ta oq sichqon dum asosiga 0,1-0,2 ml, yoki dengiz cho'chqalari qorin qismi terisi ostiga 0,5-1 ml, quyonlarga 6,3 ml dozada patmaterial suspenziyasi yuboriladi.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

### **Serologik tekshirish (PR)**

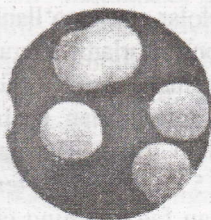
Quloq qonsizlantirib olingan bo'lsa, qo'shimcha PR ham qo'yiladi. Patmaterial aynigan bo'lib, bakteriologik tekshirishga yaramasa, faqatgina PRni qo'yish bilan chegaralanadi.

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

## Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



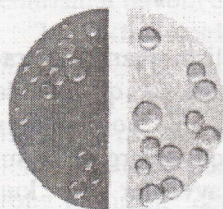
96-rasm. *E. coli* kulturasi – grammanfiy kalta tayoqchalar.



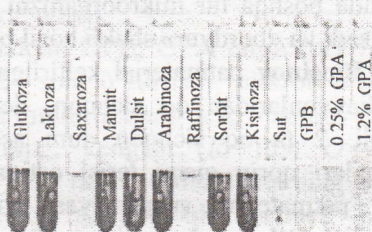
97-rasm. *E. coli* kulturasi GPA da.



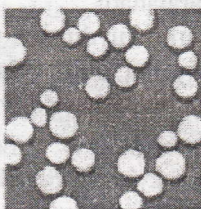
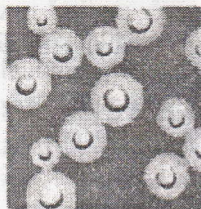
98-rasm. *E. coli*-uzilgan xivchinlari bilan. Elektronogramma.



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



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

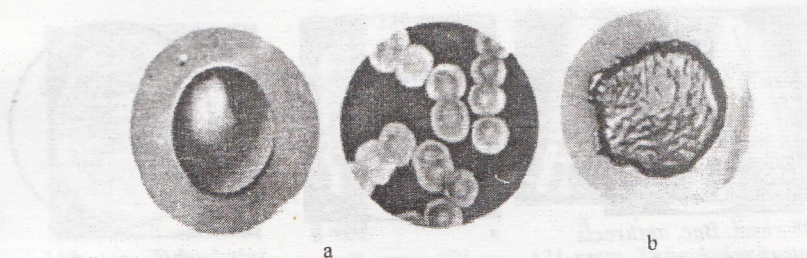


101-rasm. *E. coli* koloniyalari qonli agarda: chapda-gemolitik xususiyatli, o'ngda-gemolitik xususiyati yo'q.



102-rasm. Shvartsman fenomeni.

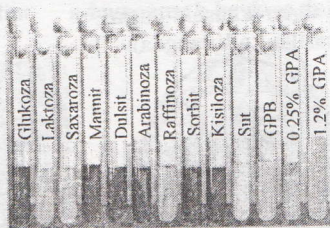
## Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



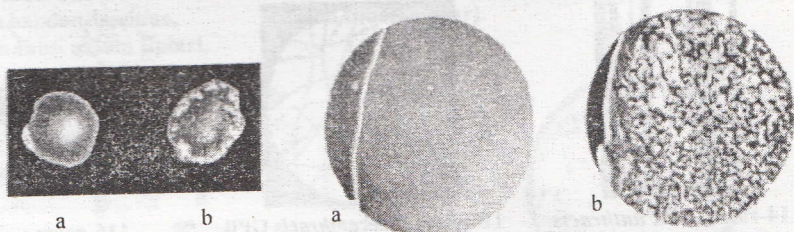
103-rasm. *Salmonella* koloniyalari. A) S-shaklda; b) R-shaklda.



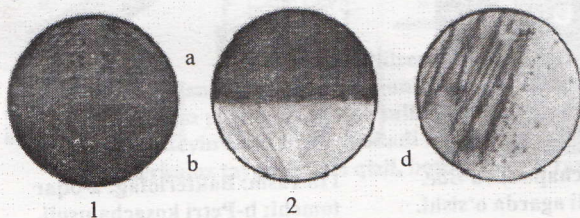
104-rasm. *Salmonella* kulturasi yarim suyuq GPA da o'sishi.



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

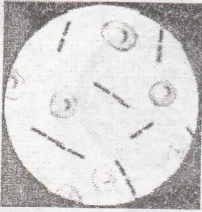


106-rasm. AR-plastinkada: a-manfiy; b-ijobiy.

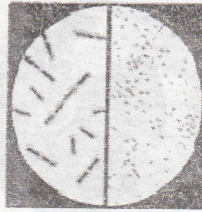


107-rasm. *E. coli* (a) va *S. typhi* (b) 1-lakmus-laktozali agarda; 2-Endoda; *S. typhi* koloniyalari vismut sulfid (d) agarda.

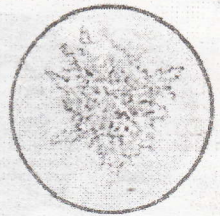
## Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi



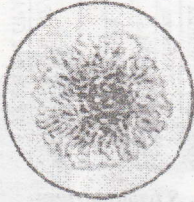
108-rasm. *Bac. anthracis* qondan tayyorlangan surtmada. Lyoffler usulida bo'yalgan (kapsula-pushti, basilla-ko'k rangda).



109-rasm. *Bac. anthracis* a-kapsulali mikroblar, b-sporangiyalar.



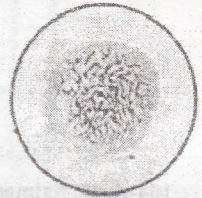
110-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



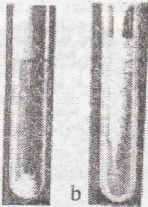
111-rasm. *Bac. anthracis* RO-shakl koloniyasi.



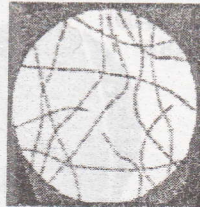
112-rasm. *Bac. anthracis* O-shakl koloniyasi.



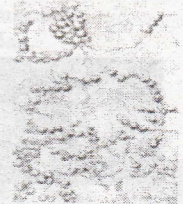
113-rasm. *Bac. anthracis* S-shakl koloniyasi.



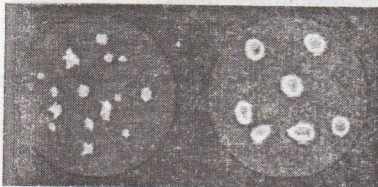
114-rasm. *Bac. anthracis* a-GPB, b-GPJ da o'sishi.



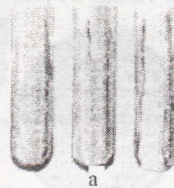
115-rasm. *Bac. anthracis* GPB dan tayyorlangan surtmada.



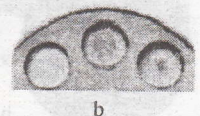
116-rasm. «Marjón» testi.



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



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



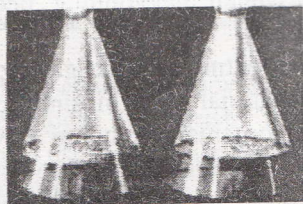
## Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi



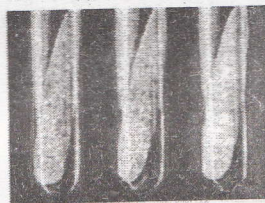
119-rasm. Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi (Sil-Nilsen usulida bo'yalgan).



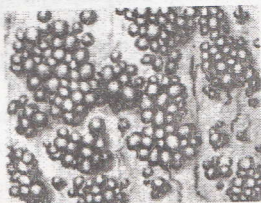
120-rasm. Tuberkuloz kulturasi glikserinli kartofelda o'sishi.



121-rasm. Tuberkuloz kulturasi glikserinli GPB da o'sishi: a-humanus; b-bovinus tipi.



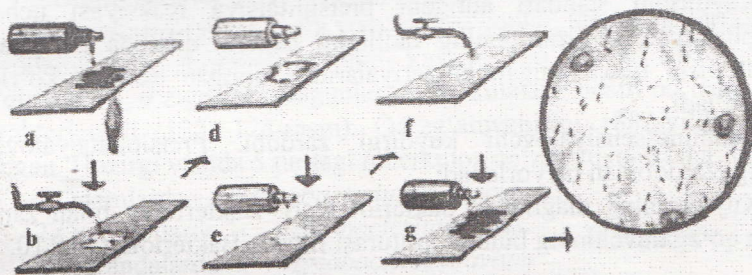
122-rasm. Tuberkuloz kulturasi Petriyani muhitida o'sishi: chapdan-bovinus, humanus, avium tiplari.



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



124-rasm. Ohaklashgan lobulyar kazeoz.



125-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

a-sil fuksini bilan bug' paydo bo'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 - metilin ko'ki bilan bo'yaladi. Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.

## Yakuniy diagnoz qo'yiladi

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

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

– lyuminissent mikroskopiya musbat natija bersa va patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda kapsulali basillalar topilsa;

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

*Biopreparatlar.* STI tirik vaksina - etalon shtammdan tayyorlangan. Agarda o'stirilgan kulturaning sporalaridan (95 – 100%) iborat. Steril 30% li glitserin eritmasidagi suspenziya ko'rinishida bo'lib, 1 ml da  $(2,5-3,5)10^7$  tirik sporelar mavjud.

GNKI vaktsinasi – GNKI etalon shtammdan tayyorlangan quruq, tirik vaksina. 1 ml da  $5 \times 10^7$  tirik sporelari bor. Shtamm 55dan tayyorlangan kuydirgiga qarshi vaksina.

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

Davolovchi - profilaktik zardoblar. Inaktivlangan kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi kulturasi bilan otlarni giperimmunlab olinadi.

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

Kuydirgini standart antigeni pretsipitatsiya reaksiyasi uchun. Pretsipitatsiyalovchi zardobning faolligini nazorat qilishda ishlatiladi. *B.anthraxisni* inaktivlangan bakteriyalaridan olingan ekstrakt ko'rinishida bo'ladi.

Lyuminessensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

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

### Nazorat savollari:

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

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

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

### 32 - m a v z u. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi

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

**Material va jihozlar:** Probirkada o'ldirilgan mikobakteriya bilan birorta kislotaga chidamsiz bakteriyaning aralashmasi, steril glitserinli GPB, Petranyani muhiti, Sil-Nilsen usulida bo'yalgan tayyor mikobakteriya surtmalari, oziq muhitda o'stirilgan tayyor mikobakteriya kulturasi, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

3. Biopreparatlar bilan tanishish.

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

1. Odamlarda – *Mycobacterium tuberculosis*

2. Qoramollarda – *Mycobacterium bovis*

3. Parrandalarda – *Mycobacterium avium*

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

5. Sovuqqonli hayvonlarda – *Mycobacterium poykilothermorum*.

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

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.

**Patologik material:** *Kasal hayvonlardan* – burundan oqqan ajratma, balg'am, traxeya shilimshig'i, tezagi, siydik namunalari olinadi. O'lganidan–zararlangan organ bo'lakchalari, bronxial, tomoq, yelin usti, kurak oldi limfa tugunlari olinadi. O'lgan parrandaning jasadida yuboriladi. Patmaterial olishda aseptika, shaxsiy profilaktika, texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilish shart. Patmaterial olingan zahoti laboratoriyaga yuboriladi. Buning imkoni bo'lmasa 30–40% glitserinda kanservatsiya yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

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

1. Fiksatsiyalangan surtmaga maxsus filtr qog'oz, ustidan karbolli Sil fuksini quyiladi. Spirt lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdiriladi va 5-7 daqiqa ko'prikchada turadi.

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

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

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

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

Gram usulida bo'yalgan surtmada grammusbat, tayoqcha shakldagi, uzunligi 1,5-5-6 mkm, diametri 0,3-0,6 mkm bakteriyalar ko'rinadi. *M. tuberculosis* –ingichka, yengil egilgan, *M.bovis* –kalta, yo'g'on, *M. avium*–boshqalariga nisbatan mayda, polimorf tayoqcha. Surtmada bittadan, to'p-to'p bo'lib joylashadi. Harakatsiz, spora va

kapsula hosil qilmaydi. Kulturadan tayyorlangan surtmada ipsimon uzun shakli ham uchraydi.

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

Gon usuli: Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan aralashtiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqiqasiga 3000 aylanma tezlikda 10-15daqqa sentrifuga qilinadi. Ekspozitsiya (kislotaning ta'siri) 20-30 daqiqadan oshmasligi kerak. Cho'kmadan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi. Biosinov uchun cho'kma 1-2 marta steril fiziologik eritma bilan uyuladi.

Alikayev usuli: Ko'pincha patmaterial yangi, kam ifloslangan bo'lganda qo'llaniladi. Patmaterial steril havonchada 0,5sm<sup>3</sup> kattalikda maydalanib, ustiga 10-8-6%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10-20 daqiqa turadi. Kislotaning ekspozitsiya vaqti va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10-20 daqiqadan keyin kislota to'kib tashlanib, o'rniga fiziologik eritma quyiladi va 8 daqiqa turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial havonchada yaxshilab eziladi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5-6 probirka oziq muhitga ekiladi.

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

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

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

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

Biosinovga olingan hayvonlar oldindan tuberkulozga tuberkulin bilan allergik usulda tekshirilishi kerak. Manfiy natija berganlarigina biosinov uchun ishlatiladi. Oʻlgan hayvonni yorib, xarakterli tuberkulalardan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi.

### **Qoʻzgʻatuvchilarni farqlash (tipizatsiya).**

*M.bovis* – kulturasi dengiz choʻchqalari va quyonda umumlashgan tuberkuloz jarayonini keltirib chiqaradi.

*M.tuberculosis* – dengiz choʻchqalarida umumlashgan, quyonlarda esa oʻpkasida mahalliy jarayonni paydo qiladi.

*M.avium*–quyonlarda septik jarayon paydo boʻlgach, u oʻladi. Baʼzida mahalliy jarayon hosil qiladi. Dengiz choʻchqalarida faqat mahalliy jarayon (kultura yuborilgan joyda absess) ni keltirib chiqaradi.

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3ta test oʻtkaziladi: 1.katalazali aktivlik-50% pergidrol eritmasi bilan gaz pufakchalari hosil boʻlishi mm da oʻlchanib aniqlanadi. Saprofitlarda bu xususiyat yuqoriroq boʻladi. 2.Formamidaza aktivligi-formamid eritmasi va bir nechta kimyoviy moddalar bilan ishlov berilgan kulturali probirkada koʻk halqa paydo boʻladi. Bu hol faqat saprofitlardagina namoyon boʻladi. 3.Dorilarga sezgirligi-tuberkulostat preparatlar (streptomitsin, flivazid, PASK va h.k.) qoʻshilgan oziq muhitda oʻrganiladi.

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

*Biopreparatlar.* BSG vaksinasi – *M. Bovis* vaksina shtammini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sutemizuvchilar uchun.

Alttuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

### **Nazorat savollari:**

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

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

### 33 - m a v z u. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

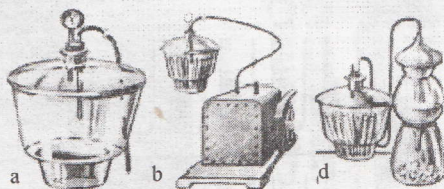
Zich oziq muhitda - mayda, tiniq, bo'rtgan, yumaloq, yaltiroq, yuzasi silliq (*S*-shakl) va ko'kimtir tovlanadigan (*R*-shakli ham uchraydi) koloniyalar hosil qiladi. Uzoq o'stirilganda koloniyalar xiralashib, pigment hosil bo'lishi bilan - qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

## Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi

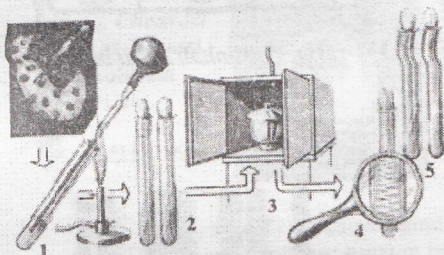
(dshulalasi iligolovoz)



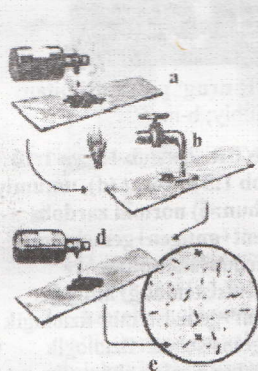
126-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



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

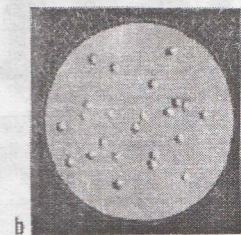
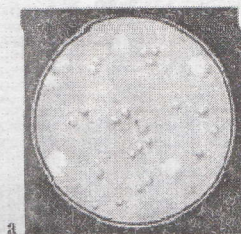


128-rasm. Ekish, o'stirish va brusella kulturasi ko'rish sxemasi



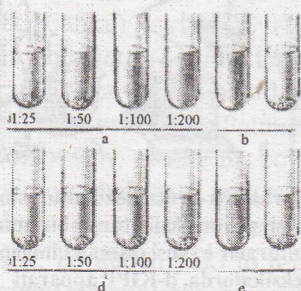
130-rasm. Brusellalarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtma 2% li safraninining suvdagi eritmasi bilan bug' hosil bo'lgunicha qizdirib bo'yaladi (a), bo'yoq suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li metilin ko'ki yoki malaxit yashili bilan bo'yaladi (d). Brusellalar qizil, boshqa mikroblar

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

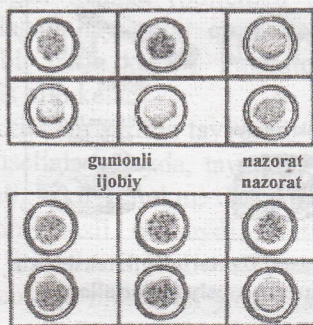


129-rasm. Brusella koloniyasi: a-jigarli agarda; b-kristall violet buyog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (begona mikroflora o'smagan).

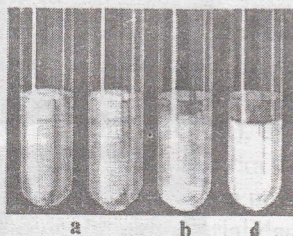
## Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



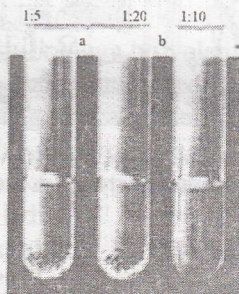
131-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol).  
a-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; e-nazorat.



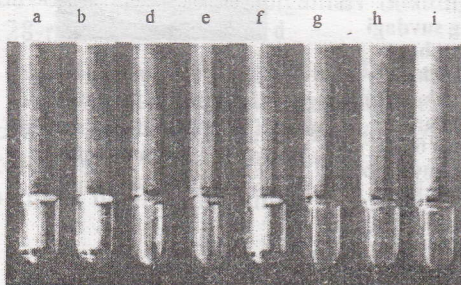
132-rasm. Plastinkali ARni baholash.



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

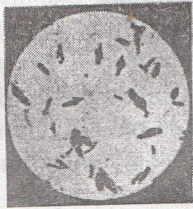


134-rasm. AR urug<sup>o</sup> plazmasi bilan:  
a-ijobiy; b-manfiy.

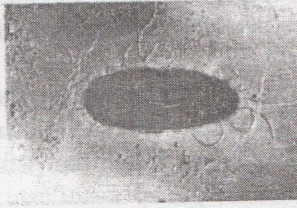


135-rasm. KBR. Zardob 1:5 va 1:10 (a,b), zardob 1:5 nazorat (d), umumiy nazorat uchun: e) normal zardob+ +kompliment+antigen+gemsistema; f) ijobiy zardob+kompliment+ +antigen+gemsistema; g) antigen+ +kompliment+gemsistema+fiziologik eritma; h) gemsistema+fiziologik eritma; i) ijobiy zardob+kompliment+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

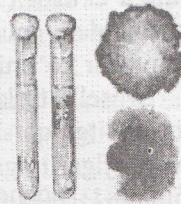
## Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi



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



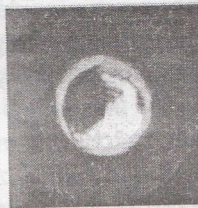
137-rasm. *Cl. Chauvoei* xifchinli tayoqcha. Elektronogramma x20000.



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



139-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi muhitida o'sishi.



a



b



d

140-rasm. *Cl. Chauvoei* qandli qonli agarda: a-silliq yumaloq koloniya gemolizi bilan; b-uzum bargi shaklida; d-hoshiyali koloniyalar.



a



b



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

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

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

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

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

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

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho'chqalari sonining ichki tarafiga terisi ostiga yuboriladi. 15, 25, 40 - kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brutsellozga tekshiriladi. 1:10 va undan yuqori nisbatlarda musbat natija olinsa, keltirilgan patmaterialdan kultura ajratilmasa ham, tekshirish natijasi ijobiy hisoblanadi. Biosinov ikki oy kuzatiladi. Ajratilgan barcha kulturalar ish yakunida avtoklavda 1,5 AT 1soat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

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

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

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

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

**Biopreparatlar.** Brutsellozga qarshi shtamm 82 kulturasidan tayyorlangan tirik, quruq vakcina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vakcina.

Shtamm 19 vakcina shtammidan tayyorlangan AR, KBR, UKBR lar uchun yagona brutselloz antigeni.

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

Fluoressensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardobidan tayyorlangan.

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

### Nazorat savollari:

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

### 34 - m a v z u. Tulyaremiya kasalligining laboratoriya diagnostikasi

**Tulyaremiya** qo'zg'atuvchisi – *Francisella tularensis*. Mak-Koye va Chepinlar (1912) tomonidan Tulyare tumanida (Kaliforniya) ochilgan. Frensis (1921) to'liq o'rganib, ifodalagan va uning sharafiga qo'zg'atuvchi avlodiga nomi berilgan. Qo'zg'atuvchi *Brusellaceae* oilasi, *Francisella avlodiga* mansub. *Francisella tularensis* hayvonlar va odamlarda o'tkir infeksiyon kasallik chaqiradi. Tulyaremiya septik

kechadi, limfa tugunlarining zararlanishi (shish, tvorogsimon o'zgarish), isitma bilan xarakterlanadi.

**Patologik material.** Laboratoriyaga kasal hayvonlardan kattalashgan (yumshoq) limfa tugunlardan punktat, tashlangan homila (yoki homilaning organlari), siydigi, tezagi yo'llanadi; o'lgan hayvonlarning – jigari, buyragi, talog'i, yirik hayvonlardan shishgan limfa tugunlar; kemiruvchi va boshqa mayda hayvonlarning jasadlari yo'llanadi. Tekshirilayotgan material kuchli zararlangandagina tamg'ali preparatlarda tulyaremiya qo'zg'atuvchisini topish mumkinligini e'tiborga olish lozim.

**Mikroskopiya.** *Francisella tularensis* – kulturadan tayyorlangan surtmalarda mayda, kokklarga o'xshaydigan bakteriya, organlardan tayyorlangan preparatlarda ingichka tayoqcha shaklida ko'rinadi. O'lchami 0,3 mkm. Spora hosil qilmaydi, harakatsiz. Makroorganizmda nozik kapsula hosil qiladi. Gramanfiy Romanovskiy-Gimza usulida pushti-havorang, ko'pincha bipolyar bo'yaladi.

**Bakteriologiya.** *Francisella tularensis* aerob. O'sish harorati 37°C, pH 6,7-7,4. Qon qo'shilgan oziq muhitda 1-2 sutkadan keyin havo rangga moyil oq rangli mayda, yumaloq, bo'rtiq, chetlari tekis, silliq, yaltiroq koloniyalar paydo bo'ladi. Suyuq oziq muhitlarda yomon o'sadi. Qo'zg'atuvchini o'stirishda koloniyalar uchun Vi- va O- antigeni bor, virulentli hamda immunogen silliq S - shakl xos ekanligini e'tiborga olish kerak. *Francisella tularensis*ning R-shaklida faqat O- antigen bo'lib, virulentli emas. Serologik diagnostikada bakteriya hujayrasining brussellalar bilan umumiy bo'lgan antigenlari hisobga olinadi. *Francisella tularensis*ni o'stirish uchun maxsus oziq muhitlar qo'llanadi: Mak-Koy muhiti, Frensis shokoladli agari, Yemelyanovning qonli muhiti va h.k.

*Mak-Koy muhiti:* 60 qism tuxum sarig'iga 40 qism steril fiziologik eritma (pH 7,0-7,2) qo'shiladi. Quyulishi uchun muhit 80°C da 1 soat qizdiriladi. Muhitga tamg'a usulida ekiladi: organ bo'lakchasi olovga tutib olinadi, steril qaychi bilan kesilgan tomoni muhit yuziga yengilgina bosib olinadi. 18-24 soatdan keyin o'sish kuzatiladi va 2-3 sutkadan keyin maksimal o'sadi. Material kam ekilganda 3-6 sutkalarda siyrak joylashgan koloniyalarni ko'rish mumkin.

*Frensis muhiti:* tarkibida 1% pepton va 0,5% NaCl (pH 7,3) bo'lgan GPAga 0,1% sistein hamda 1% glukoza qo'shiladi. Bir necha daqqa qaynatib, 50°C gacha sovutiladi va 10% fibrinsizlangan, steril olingan quyon qoni qo'shiladi.

*Yemelyanov muhiti:* baliq-achitqili agarga 0,1% sistein va 1% glukoza qo'shiladi. Keyin agarni eritib, 45°C gacha sovutiladi, 10%

fibrinsizlangan qon qo'shiladi va Petro kosachalari yoki probirkalarga quyiladi. Bu muhit ko'proq sezuvchan, tulyaremiya qo'zg'atuvchisining alohida koloniyalarini olish uchun qulay.

**B i o k i m y o v i y x u s u s i y a t l a r i.** Oqsil miqdori kam bo'lgan maxsus oziq muhitlarda *Francisella tularensis* glukoza, maltoza, mannoza, glitserin, dekstrinlarni gazsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Proteolitik xususiyatga ega oqsillarni parchalab, vodorod sulfid hosil qiladi. Indol hosil qilmaydi.

**Biosinov.** Oq sichqon, dengiz cho'chqalarini terisi ostiga, qorin bo'shlig'iga patologik material suspenziyasini 0,5 ml dozada yuborish yoki terisiga surkash yo'li bilan zararlantiriladi. Natija ijobiy bo'lsa oq sichqonlar 3-4 sutkalarda (ba'zian 8-12 chi sutkalarda), dengiz cho'chqalari – 4-5 sutkadan keyin o'ladi. Agar material kam zararlangan bo'lsa, 8-15 sutkalarda o'lishi mumkin. O'lgan laboratoriya hayvonlarini yorib ko'rganda o'pkasi, talog'i, jigar, limfa tugunlarida nekroz o'choqlari bo'ladi; ular bakteriologik tekshiriladi.

Ajratilgan kultura probirkali AR usulida tekshiriladi. Antigen sifatida Mak-Koy muhitida ikki sutka o'stirilgan kultura ishlatiladi. Mikrob massasi ilmoq bilan olib (yuvish mumkin emas), fiziologik eritmada suspenziyalanadi. Tulyaremiya mikrobi standarti bo'yicha uning 1 ml da 5 mlrd mikrob hujayrasi bo'lishi kerak. Mikrob suspenziyasi 0,5 ml dan maxsus zardobning har xil suyultirmalariga (1:2000 dan kam emas) quyib chiqiladi. Silkitib aralashtiriladi, 2 soatga termostatga qo'yiladi, keyin uy haroratida 20-22 soat qoldiriladi. Agglutinatsiya yaqqol namoyon bo'lsa (cho'kma ustidagi suyuqlik to'liq shaffof), natija musbat hisoblanadi.

**Serologik diagnostika.** Nihoyatda sezgir reaksiya sifatida KBR, kemiruvchi va mo'ynali hayvonlarda kasallikni tez aniqlash uchun PR qo'llaniladi. Antigen sifatida patologik material ekstrakti ishlatiladi.

### Nazorat savollari:

1. Tulyaremiyaga tekshirish uchun laboratoriyaga qanday patologik materiallar yo'llanadi.
2. Tulyaremiyaga laboratoriyada qaysi usullarda tekshiriladi.
3. *Francisella tularensis* ni o'stirish uchun qanday oziq muhitlar qo'llanadi.
4. Biosinov qaysi tur laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi.
5. Tulyaremiyada serologik tekshirish usullarini ayting.

## 35 - m a v z u. Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

**Material va jihozlar:** Kitt-Tarossi oziq muhitida o'stirilgan *Cl.chauvoei* kulturasi, patmaterial, steril muhitlar probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali- qonli agar, steril Paster pipetkallari, oldindan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar, bo'yoqlar komplekti, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga ekiladi. Buning uchun mushak, jigar, taloq bo'lakchalarini olovdan

o'tkazib, keyin oziq muhitli probirkaga solinadi. Qon, eksudatlar Paster pipetkasida ekiladi. Bir vaqtda Petri kosachalarida glukoza – qonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo'lsa, undan fiziologik eritmada birga to'rt nisbatda suspenziya tayyorlab, 15-20 daqiqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmalar 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitida 24-48 soat turishi kerak.

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

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

Sutni ivitadi. Glukoza, saxaroza, laktoza va maltozalarni intensiv kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi.

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

### **Quyidagi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:**

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

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

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

*Biopreparatlar.* Yirik shoxli hayvonlar va qo'ylar qorason kasalligiga qarshi gidrooksialuminli inaktivlangan vaksina. Immunitet 6 oy davom etadi.

Konsentrlangan gidrooksialuminli tirik vaksina. Immunitet 6 oy davom etadi. Ikkala vaksinalarning dozasi 2 ml, mushaklar orasiga yuboriladi.

### Nazorat savollari:

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

### 36 - m a v z u. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

**Patmaterial.** Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima eksudati, parenximatoz organlar jo'natiladi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

*Cl. perforingens* – dengiz cho'chqalari 36-48 soatda o'ladi. «A» va «D» tiplarida – inyeksiya joyida teri mushaklaridan xaltacha singari ajralib turadi, mushaklar qaynatilgan go'shtdek bo'ladi. Ichaklar shishgan, qon tomirlar bo'rtgan bo'ladi.

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

*Cl. histolyticum* – dengiz cho'chqalari 18-48 soatda o'ladi. Teri ostiga yuborganda ular ko'pincha sog'ayib ketadi. Son mushagiga zararlanganda teri qizil siyohrang, taranglashgan bo'lib, ba'zan yoriladi (166-rasm). Mushaklar strukturasi yo'qotib, bo'tqasimon massaga aylanadi. Yumshoq to'qimalar suyak va tomirlardan ajralib qoladi. Gaz bo'lmaydi. O'lgan biosinovdagi hayvonlar bakteriologik tekshiriladi.

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

### Nazorat savollari:

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

## 37 - m a v z u. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

### Toksinni ajratish.

Patmaterialdan birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanib, ikkiga bo'linadi. Biri qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

Ikkinchisi toksinni ekstraksiya qilish uchun uy haroratida bir soat qoldiriladi, keyin filtrlanadi.

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

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

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

## Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



143-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



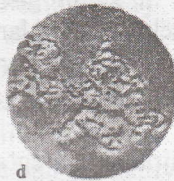
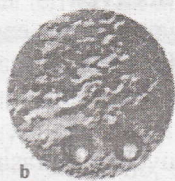
144-rasm. *Cl. Septicum*-tayoqcha xifchinlari bilan.



145-rasm. *Cl. Septicum*-dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



146-rasm. *Cl. Septicum*: a-Kitt-Tarossi da o'sishi (o'ngda nazorat); b-qandli agarda Veynberg bo'yicha koloniyalar.

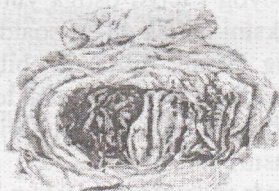


147-rasm. *Cl. Septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a-nozik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasi bilan.



149-rasm. Yomon sifatli gazli shish cho'chqada: a-mushaklari; b-oshqozon.

148-rasm. Biosinovdan o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. Septicum*): a-teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari och qizil rangda gaz pufakchalari bilan; b-ichki organlari ichaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.



150-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozonda gemorragik shish va qon quyilishlar.

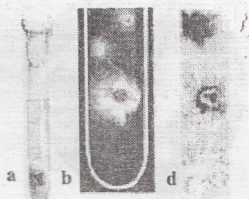
## Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



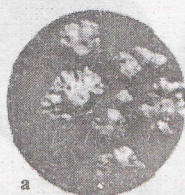
151-rasm. *Cl. oedematiens*  
Kitt-Tarossi dan  
tayyorlangan surtmada.



152-rasm. *Cl. oedematiens*  
xifchinli tayoqcha.



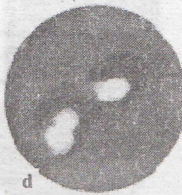
153-rasm. *Cl. oedematiens*  
kulturasi: a-Kitt-Tarossi da;  
b-qandli agarda; d-jelatinada.



a



b

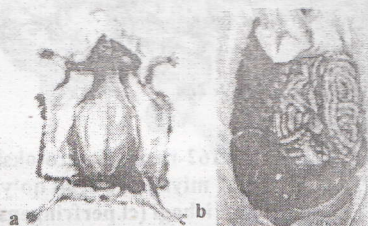


d



e

154-rasm. *Cl. oedematiens* qandli-qonli agarda: a-kengish; b-markazi  
chuqurlashgan; d-silliq; e-kengish, markazi chuqurlashgan koloniyalar.



155-rasm. Biosinovda o'lgan  
dengiz cho'chqasi (36 soatda):  
a-teri osti kletchatkasida dirilloq  
shish; b-uning ichki organlari.

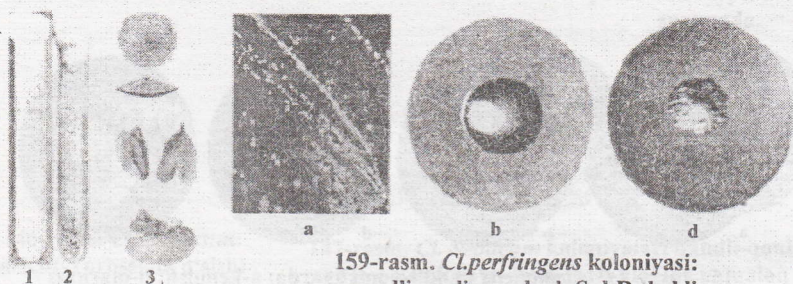


156-rasm. Biosinovda  
o'lgan qo'ying jigari.

## Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



157-rasm. *Cl. Perfringens*: 1-kapsulali tayoqchalar dengiz cho'chqasi jigaridan tayyorlangan surtmada; 2-sporali tayoqchalar (kulturada); 3-xifchinsiz tayoqcha.



159-rasm. *Cl.perfringens* koloniyasi: a-qandli-qonli agarda; b-S;d-R shakli.

158-rasm.

*Cl.perfringens*  
kulturasi: 1-sutda;  
2-kitt-Tarossida;  
3-qandli o'sishi.



160-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi mushaklar bo'shshagan, teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, gaz pufakchalari.

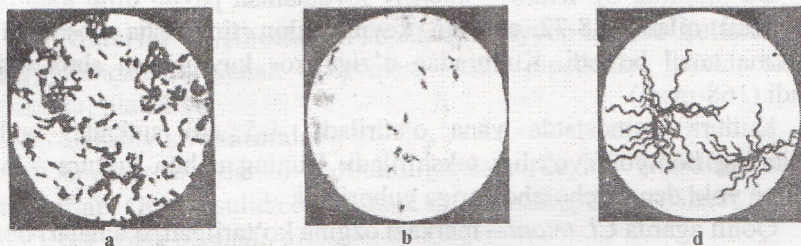


161-rasm. Nekrotit enteritdan o'lgan cho'chqaning ichaklari: ingichka ichak gemorragik yallig'langan.

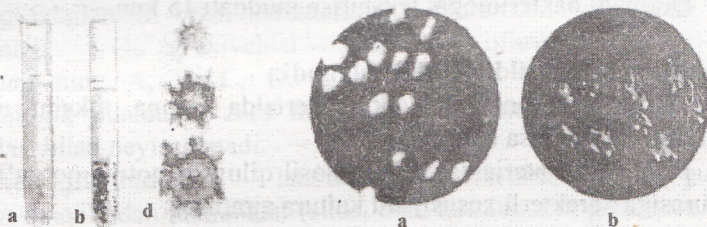


162-rasm. Enterotoksi-miyadan o'lgan qo'y ichagi (*cl.perfringens* D tipi) xarakterli qon quyilishlar.

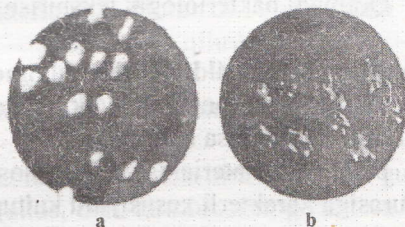
## Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



163-rasm. *Cl. histolyticum*: a-Kitt-Tarossidan; b-qandli qonli agar kulturasidan tayyorlangan surtmada; d-xifchinli tayoqcha.



164-rasm. *Cl. histolyticum* kulturasida: a-Kitt-Tarossida; b-miyali muhitda (qoraygan); d-chuqur ekilgan agardagi koloniyalar.



165-rasm. *Cl. histolyticum* koloniyasi qandli-qonli agarda: a-S; b-R shakl.



166-rasm. *Cl. histolyticum* kulturasida bilan mushak orasiga zararlangan dengiz cho'chqasi: inyeksiya joyda yumshoq to'qimalar erigan.

### **Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish.**

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

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

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

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

Qotmani bakteriologik tekshirish muddati 15 kun.

### **Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:**

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

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

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

### **Nazorat savollari:**

1. Qotmada patmaterial olish qoidalari.
2. *Cl. tetani* ning morfologik, kultural, biologik xususiyatlari.
3. Qotmada toksinni ajratish usulini ayting.
4. Qotma qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
5. Qotmada ishlatiladigan biopreparatlar.

## 38 - m a v z u. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yashadi va mikroskopda ko'rishadi. Natijani daftarga yozib olishadi.

**Botulizm** – barcha hayvonlarga oid toksikoinfeksion kasallik. Botulinum zaharini saqlovchi oziqlarni yeyish natijasida paydo bo'lib, markaziy asab tizimining og'ir zararlanishi, hiqildoq, til va pastki jag'ning falajlanishi bilan xarakterlanadi. Botulizm bilan odam ham kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi – spora hosil qiluvchi anaerob – *Cl. botulinum* ning A, B, C, D, E, F tiplaridir. Bu tiplar faqatgina immunologik jihatdan o'zaro farq qiladi: har biri o'zining o'xshash zardoblari bilan neytrallanadi.

**Patologik material** – laboratoriyaga tekshirish uchun gumon qilingan oziqalardan namunalar (silos, don, kombikorm, go'sht va baliq chiqindilari), shuningdek, o'lgan hayvonlarning oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni yuboriladi.

Patmaterial hayvon o'lganidan keyin ikki soatdan kechiktirmasdan olinadi.

Patmaterialdan birga bir yoki birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Ekstraksiya bo'lish uchun ikki soat uy haroratida turadi. Bir qismi – toksinni ajratish uchun, ikkinchisi – qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

**1. Mikroskopiya.** *Cl. botulinum* – uchlari aylanasimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayoqcha. Sporalari oval shaklida bo'lib hujayra uchloriga yaqin joylashgani uchun **tennis raketkasi** shaklida bo'ladi. Grammusbat, harakatchan. O'lchami 4-6 mkm (172, 173-rasm). Toksini 15-20 daqiqadan ikki soatgacha qaynatilganda parchalanadi. Sporalari juda chidamli, 5-6 soat qaynatilganda o'ladi.

## Botulizm toksinini ajratish

Patmaterial va oziq namunalaridan tayyorlangan suspenziya filtrlanadi. Ikkiga bo'linib bir qismi qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Bittasiga qaynatilgan va ikkinchisiga qaynatilmagan filtratlar ikkitadan oq sichqon qorin bo'shlig'iga 0,5-0,8 ml dozada yoki dengiz cho'chqalari (300-350 g vaznli) terisi ostiga 3-5 ml dozada yuboriladi (176-rasm).

Agar botulizm toksini bo'lsa qaynatilmagan filtrat yuborilgan laboratoriya hayvonlari, ikkinchi beshinchi sutkada botulizmga xos klinik belgilari bilan (muvozanatni yo'qotish, nafasning tezlashishi, skelet mushaklarining bo'shishi, qorin devorining tushishi «ari belidek») o'ladi. Qaynatilgan filtrat yuborilgan hayvonlar esa sog' qoladi.

Ajratilgan toksin maxsus har xil tiplardagi botulizm zardobi bilan neytralizatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Buning uchun filtrat polivalent antitoksik botulizm zardobi bilan aralastirilib, bir ikki soat termostatga qo'yiladi. Keyin aralashma laboratoriya hayvonlariga yuboriladi. Toksin zardob bilan neytrallanib, hayvonlar tirik qoladi. HP natijasi to'rt kun davomida hisobga olinadi.

### Qo'zg'atuvchini ajratish.

2. **Bakteriologiya.** Patmaterial Kitt-Tarossi, Xottinger buloni, qonli Seyssler agariga ekiladi. Ekmalar 30-35 °C da termostatga qo'yiladi. Petri kosachalaridagi ekmalarni anaerostatga joylashtirib, anaerob sharoit yaratish kerak. Qo'zg'atuvchi ikki-to'rt sutka o'sadi.

Kitt-Tarossida qo'zg'atuvchining o'sishi muhit asta-sekin loyqalanib (2-3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan achigan moyning hidi keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5-7 sutkada aniqlanadi (174-rasm).

Seyssler agarida – *Cl. botulinum* koloniyalari yumaloq, ildizsimon o'smalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasi bo'ladi (175-rasm).

**Biopreparat.** Odatda, norkalar botulizmga qarshi farmol kvassli anatoksin vaksina bilan emlanadi. Immunitet bir yilgacha saqlanadi. Davolash uchun botulizmga qarshi antitoksik zardob taklif etilgan. Neytralizatsiya reaksiyasi uchun maxsus butulizm tiplari zardobi ishlab chiqilgan.

### Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

– tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturasi ajratilmasa ham);

– patologik materialdan botulizm qo‘zg‘atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharliligi aniqlansa.

### Nazorat savollari:

1. Botulizmga tekshirish uchun qanday patmaterial laboratoriyaga yuboriladi.
2. *Cl. botulinum* ning morfologik, kultural, biologik xususiyatlarini ayting.
3. Botulizmda toksinni ajratish usulini ayting.
4. Botulizm qo‘zg‘atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
5. Botulizmda ishlatiladigan biopreparatlar.

### 39 - m a v z u. Bradzotni laboratoriya diagnostikasi

**Mashg‘ulotning maqsadi:** Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini, bakteriologik tekshirish usullarini o‘rganish.

**Material va jihozlar:** Probirkalarda *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens* kulturalari, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhitlari, steril Paster pipetkalari, bo‘yoqlar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

#### Uslubiy ko‘rsatmalar

O‘qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmateriallardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash, Gram usulida bo‘yab, mikroskopda ko‘rinishini daftarga chizib, yozib olish.

**Bradzot** – qo‘ylarda tez va o‘tkir o‘tadigan toksikoinfeksiya bo‘lib, hayvonning umumiy zaharlanishi, shirdon, 12 barmoq ichak shilimshiq pardalarining gemorragik yallig‘lanishi, hazm traktida gazlarning to‘planishi, deyarli hamma kasallangan qo‘ylarning o‘lishi va o‘likning juda tez chirishi kabi xususiyatlarga ega.

Qo‘zg‘atuvchilari anaerob mikroorganizmlar – *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*.

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun parenximatoz organlar (jigarning nekroz o‘choqlari bo‘lgan qismi), shirdonning o‘zgargan devoridan, shishgan to‘qima, ilik suyagi, ikkala tomonidan boylangan 12 barmoq ichak qismchasi, ko‘krak va qorin bo‘shliqlari eksudatlari, teri osti kletchatkasi infiltrati yuboriladi. Material yangi o‘lgan hayvondangina olinadi.

**1. Mikroskopiya.** Patmateriallardan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. *Cl. septicum*— ingichka, uchlari qayrilgan, polimorf, uzunligi 2-10, eni 0,8-1 mkm li tayoqcha, bittadan joylashgan grammusbat tayoqchalar. Seroz qavatlardan tayyorlangan surtmalarda esa — uzun iplar shaklida ko'rinadi. Sporalari oval markazda yoki uchlarida joylashgan. Harakatchan, kapsula hosil qilmaydi. (177, 178, 179- rasm).

*Cl. oedematiens* — yirik, polimorf, uchlari qayrilgan, bittadan ba'zan kalta zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 5-10 mkm, eni 0,8-1,5 mkm.

Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi. Sporalari oval markazda yoki uchlarida joylashadi. Harakatchan (151,152- rasm).

**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kitt-Tarossi, Seyssler muhitlariga ekiladi. Ekmalar 37-38 °C da 24-48 soat termostatda o'stiriladi. Kosachadagi ekmalar anaerob sharoitda (mikroanaerostatda) bo'lishi kerak.

*Cl. septicum* — Kitt-Tarossi oziq muhitining intensiv ravishda bir xilda loyqalanib, ko'p gaz hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi. Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir ro'molsimon chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan (180,181- rasm).

*Cl. oedematiens* —Kitt-Tarossi oziq muhitida probirka pastida intensiv loyqalanadi, 18-24 soatdan keyin bulon tiniqlashib, cho'kma paydo bo'ladi. Kam gaz hosil bo'ladi (153-rasm). Seyssler agarida kengish, ildizsimon, qatlamli, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'ilashgan koloniya paydo bo'lib, kuchli gemoliz hosil qiladi (154-rasm).

**3. Biosinov.** Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya 350-450 g vazndagi ikkita dengiz cho'chqasining qorin qismi terisining ostiga 0,5-1 ml dozada yuboriladi. 8 sutka davomida kuzatiladi.

Materialda qo'zg'atuvchi bo'lsa, ular 16-48 soatdan keyin o'ladi. Ularda quyidagi patanatomi o'zgarishlar namoyon bo'ladi: materialda

*Cl. septicum* bo'lsa — dengiz cho'chqalarining terisi mushaklaridan oson ajraladi. Material yuborilgan joyida mushaklar ho'l, och qizil rangda, teri osti kletchatkasida e'tiborga olarli miqdorda gaz pufakchalari, ichaklar shishgan, ko'krak bo'shlig'i va yurak kuylakchasida ko'p miqdorda transsudat bo'ladi (182, 183-rasm).

*Cl. oedematiens* bo'lsa — dengiz cho'chqalarining material yuborilgan joyida dirilloq shish, biriktiruvchi to'qima mushaklarining shishi kuzatiladi. Shish sariqroqdan och pushti ranggacha, mushaklar qonsiz, parenximatov organlari o'zgarishsiz bo'ladi (155, 156-rasm).

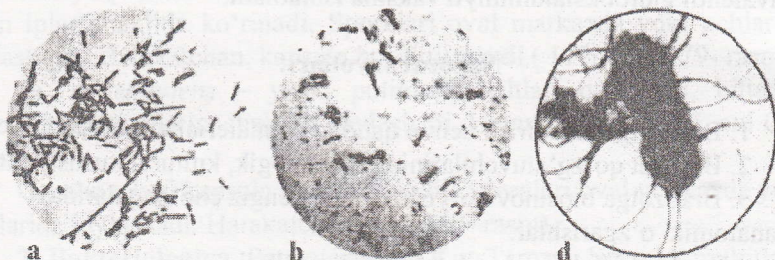
O'lgan dengiz cho'chqasining patmaterial yuborilgan joyidan, yurakdagi qon va jigaridan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi.

**Biopreparatlar.** Emlash uchun bradzotga qarshi konsentrlangan polivalentli gidrooksialuminiyli vaksina ishlatiladi.

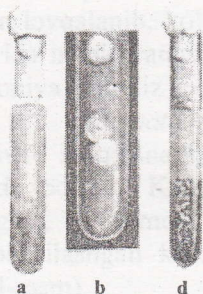
### Nazorat savollari:

1. Bradzotga tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?
2. Bradzot qo'zg'atuvchilarining morfologik, kultural xususiyatlari.
3. Bradzotga biosinov qo'yish, o'lgan dengiz cho'chqalaridagi patanatomik o'zgarishlar.
4. Bradzotni bakteriologik tekshirish usullari.
5. Bradzotda ishlatiladigan biopreparatlar.

## Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi



167-rasm. *Cl. tetani*: a-kulturadan; b-bulyondan tayyorlangan surtmada; d-xifchinli tayoqcha.



168-rasm. *Cl. tetani* kulturasi: a-Kitt-Tarossi muhitida; b-chuqur ekilgan qandli agarda; d-miyali muhitda (qoraygan).



169-rasm. *Cl. tetani* qandli-qonli agarda: a-yumaloq koloniya-S shakl; b-R-shakl; d-harir ro'molsimon koloniya-R-shakl.

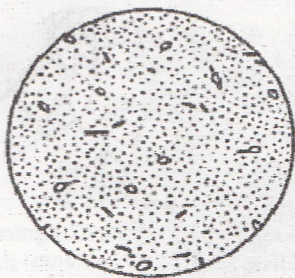


171-rasm. *Cl. tetani* kulturada. Sporali tayoqchalar.

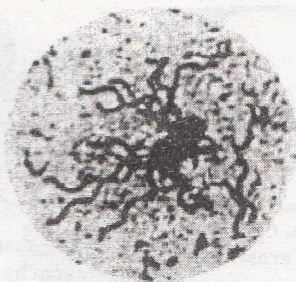


170-rasm. dengiz cho'chqasida qotmaning klinik ko'rinishi.

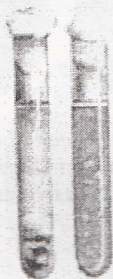
## Botulizmni laboratoriya diagnostikasi



172-rasm. *Cl. botulinum*  
kulturadan tayyorlangan  
surtmada.



173-rasm. *Cl. botulinum*  
tayoqcha xivchinlari bilan.



174-rasm. *Cl. botulinum*  
chapda-jigarli bulyonda,  
o'ngda-qandli agarda o'sishi.

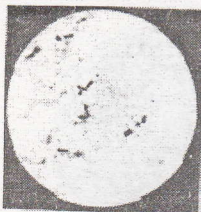


175-rasm. *Cl. botulinum*  
koloniyalari qonli agarda.



176-rasm. *Cl. botulinum* bilan  
zararlangan dengiz cho'chqasi.

## Bradzotni laboratoriya diagnostikasi



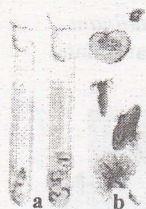
177-rasm. *Cl. septicum*  
Kitt-Tarossi dan  
tayyorlangan surtmada.



178-rasm. *Cl. septicum*-  
tayyoqcha xifchinlari bilan.



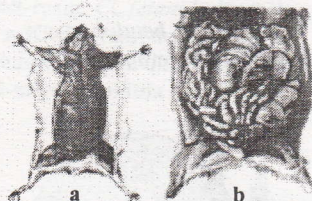
179-rasm. *Cl. septicum*-  
dengiz cho'chqasi jigari  
yuzasidan tayyorlangan  
surtmada.



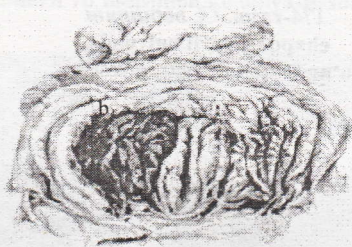
180-rasm. *Cl. septicum*: a-  
Kitt-Tarossi da o'sishi  
(o'ngda nazorat);  
b-qandli agarda Veyn-  
berg bo'yicha koloniyalar.



181-rasm. *Cl. septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda:  
a-nozik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali;  
d- o'simtali gemoliz zonasi bilan.

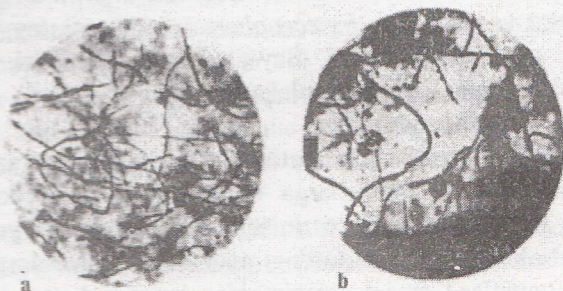


182-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz  
cho'chqasi (*Cl. septicum*):  
a-teri ostki kletchatkasida serozli  
gemorragik shish, mushaklari och  
qizil rangda gaz pufakchalari bilan;  
b-ichki organlari-ichaklari shishgan,  
tomirlari bo'rtgan.

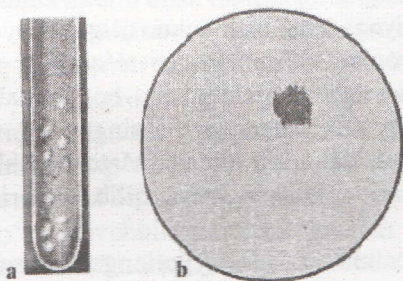


183-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozanida  
gemorragik shish va qon quyilishlar.

## Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



184-rasm. *Bact. Necrophorum*: a-Kitt-Tarossi da o'sgan kulturadan; b-patologik materialdan tayyorlangan surtmada.



185-rasm. *Bact. Necrophorum*: a-zardobda; b-qandli zardobli agarda o'sishi.



186-rasm. *Bact. necrophorum* kulturasi bilan zararlangan oq sichqon: dum asosida inyeksiya joyida nekroz.



186-rasm. *Bact. necrophorum* kulturasi bilan zararlangan qayon: quloq suprasining zararlanishi.

## 40 - m a v z u. Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi

**Mashg'ulotning maqsadi:** Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini; bakteriologik tekshirish usullarini o'rganish.

**Material va jihozlar:** *F.necrophorum* kulturasi, tayyor surtmalar, patmaterial, steril Kitt-Tarossi, Seyssler oziq muhitlari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar, jadvallar, plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: patmateriallardan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlash; Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rinishini daftarga chizib, yozib olish.

**Nekrobakterioz** barcha turdagi mahsuldor hayvonlarga xos teri va shilimshiq qavatlar, ayrim to'qimalar, ba'zan hatto parenximatoz organlarning nekrozi bilan xarakterlanadigan infeksiyon kasallik. Qo'zg'atuvchisi *Fusobacterium necrophorum*.

*Bacteroidaceae* oilasi, *Fusabakterium* avlodiga mansub. Mikrobn birinchi bo'lib, 1881-yilda P.Kox ajratgan.

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun o'lgan mayda hayvonlarning jasadini, yirik hayvonlardan zararlangan to'qimalar va nekroz o'choqlari bor parenximatoz organlardan bo'lakchalar yuboriladi. Tirik hayvonlardan esa zararlangan joylarning sog' va nekrozga uchragan to'qimalar chegarasidan qirib olinadi. Materialni shu holda yoki 30% li glitserin eritmasida konservatsiya qilib yuborish mumkin.

Nekrobakteriozga tekshirish patmaterialdan tayyorlangan surtmalarni mikroskopiya qilish, oziq muhitlariga ekish va laboratoriya hayvonlarini zararlantirishdan iborat.

**1. Mikroskopiya.** Nekrozga uchragan to'qimalardan surtmalar tayyorlab Muromsev, Ramanovskiy Gimza yoki Leffler ko'ki, shuningdek, Gram usullarida bo'yaladi. Sog' va nekrozga uchragan to'qima chegarasidan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmada, qo'zg'atuvchi grammanfiy, maxsus usullar bilan bo'yalganda esa – har xil uzunlikdagi iplar, eski o'choqlardan esa – qisqa tayoqchalar va hatto kokklar shaklida ko'rinadi. O'lchamlari 2-5 mkm.

**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga, GPB va GPA larga ekiladi. Bundan tashqari zardobli – glukozali agarni ishlatish mumkin. Umumiy qabul qilingan usullarni birortasi bilan anaerob sharoit yaratib ekmali kosachalar termostatga qo'yiladi. Kitt-Tarossi oziq muhitini ekish oldidan regeneratsiya qilinadi – qaynoq suv

hammomida 20 – 30 daqiqa qizdirib, tezda 45 - 50°C gacha sovutiladi. Ekmalar 37 – 38 °C da 5 sutka o‘stiriladi, bunda ular har kuni ko‘rib boriladi.

Kitt-Tarossi oziq muhitida *F. necrophorum* 13 – 24 soatdan keyin, avval oziq muhitning pastki qismida, keyinroq ustki qismida intensiv loyqlanish paydo qiladi. 5 – 8 chi sutkalarda bulyon tiniqlasha boshlaydi va probirka tubiga ushoqsimon cho‘kma tushadi. Kulturanan tayyorlangan surtmalarda tayoqchalar uzun, donachali, bir - biri bilan chalkashib ketgan iplar, ba’zi birlari esa, kolbasimon kengaygan bo‘ladi (184-rasm).

Kosachalardagi zardobli - glukozali agarda anaerob sharoitida 48 – 72 soatdan keyin mayda shudring tomchisimon koloniyalar hosil qiladi (185-rasm), keyinroq, koloniyalar o‘lchami kattalashadi va yaqqolroq ko‘rinadigan yumaloq, uzunchoqroq shakilda bo‘lib gemoliz, zonasini hosil qiladi. *F. necrophorum* ning toza kulturasini birlamchi materialdan zich oziq muhitiga ekib ajratib olish qiyin bo‘lgani uchun, uni biologik usulda ajratib olish maqsadga muvofiq.

3. Biosinov. Nekrobakterioz qo‘zg‘atuvchisiga ko‘proq quyon va oq sichqonlar moyildir. Patmaterialdan toza kulturani ajratish uchun quyon ko‘proq to‘g‘ri keladi. Patmateriallardan 1: 10 nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Suspenziya 0,5-1 ml dozada quyon qulog‘ining tashqi yuzasi terisi ostiga yuboriladi, oq sichqonlarga esa dum asosi terisi ostiga 0,2-0,4 ml dozada yuboriladi. Zararlash uchun qo‘zg‘atuvchining sutkalik bulyon kulturasini, shu dozalarda ishlatish mumkin. Zararlantirilgan hayvonlar 10 sutka davomida kuzatiladi.

2. Tekshirilayotgan patmaterial yoki kulturada *F. necrophorum* bo‘lsa, quyonning qulog‘ida inyeksiya qilingan joyida 3-4 kundan keyin nekroz rivojlanadi (187-rasm).

Zararlantirilgan oq sichqonlar esa 6-10 kundan keyin o‘ladi. Material yuborilgan joyi atrofida nekroz jarayonlarini paydo qilib, chuqur zararlanishiga olib keladi (186-rasm).

Bobiliyeva (1940) yaxshi anaerobioz sharoitlarini yaratish uchun oq sichqonlarni inyeksiya qiladigan joyini oldindan skarifikatsiya qilish yoki dumini yengilgina kuydirish yo‘li bilan ekstravazatlar hosil qilgandan keyingina material yuborib zararlantirishni taklif qiladi.

Nekroz o‘choqlaridan tayyorlangan bo‘yalgan surtmalarda, nekrobakterioz qo‘zg‘atuvchisiga xarakterli donachali bo‘yalgan iplar ko‘rinsa, biosinov musbat (ya’ni nekrobakterioz bor) deb hisoblanadi.

**Quyidagi hollarda nekrobakteriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:**

– patmaterialdan nekrobakterioz qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa va quyon yoki oq sichqonlarning material yoki kultura yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilsa;

– zararlantirilgan oq sichqon yoki quyonning material yuborilgan joyida nekroz o'chog'i paydo bo'lib, undan tayyorlangan surtmalarda tipik mikroorganizmlar topilsa, hatto birlamchi patmaterialdan ekilgan oziq muhitlarda qo'zg'atuvchi o'sib chiqmasa ham.

Tekshirish muddati – 10 kungacha.

*Biopreparatlar:* Maxsus oldini olish usullari ishlab chiqilmagan.

### **Nazorat savollari:**

1. Nekrobakteriozga tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?

2. Nekrobakteriozga mikroskopik tekshirish usullarini ayting.

3. Nekrobakteriozga biosinov qo'yish.

4. Nekrobakteriozga bakteriologik tekshirish usullari.

5. Qaysi hollarda nekrobakteriozga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.

### **41 - m a v z u. Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni dermatomikozlarda (trixofitiya, mikrosporiya), kandidamikoz va mog'or mikozlarda patmaterial olish qoidalari, mikologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** Saburo muhitida o'stirilgan zamburug' kulturalari, trixofitiya va mikrosporiya bilan kasallangan hayvonlardan olingan patmaterial, mikologik ilmoq, buyum va yopqich oynalar, plakatlar, biopreparatlar.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

U'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar trixofitiya va mikrosporiyaning morfologiyasi bilan tanishadilar. Patmaterial va

zamburug' kulturasidan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlaydilar. Qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini o'rganadilar.

Mikozlar-patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi. Ularga dermatomikoz, mog'ormikoz, kandi-damikoz qo'zgatuvchilari kiradi (188-rasm).

**Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari.** Dermatomikozlarga teri va uning hosilalarini zararlash bilan kechadigan mikozlar kiradi. Qo'zg'atuvchi keratini bor to'qimalarda parazitlik qiladi. Barcha qishloq xo'jalik hayvonlari (ko'pincha yoshlari), mo'ynali va yirtqich hayvonlar, shuningdek, odamlar ham kasallanadi. Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari takomillashmagan mog'or zamburug'lariga kiradi (*Deuteromycetes* sinfi). Trihofiton, mikrosporon va achorion avlodlarini o'z ichiga oladi (189-rasm).

**Trixofitiya** – surunkali kasallik bo'lib, teri va junning keskin chegaralangan tamg'a shaklida zararlanishi bilan ajralib turadi. Qo'zg'atuvchisi: buzoq va qo'zilarida – *Tr. verrucosum*, otlarda – *Tr. equinum*, kemiruvchilarda – *Tr. gypseum*, parrandalarda *Tr. gallinae*.

**Morfologik va kultural xususiyatlari.** Mikroskopda zamburug'larning tanasi (mitseliysi) mayda shoxlangan ipchalardan tuzilganligi va unda rangsiz yumaloq sporalarning joylashganligini ko'rish mumkin. Zararlangan jun mikroskopda ko'rilsa, zamburug' va uning sporalari jun ichida yoki atrofida tartibli zanjirsimon joylashganligi ma'lum bo'ladi.

Trixofitiya qo'zg'atuvchisi – aerob, maxsus oziq muhitlarda yaxshi o'sadi. Saburo agarida 26-28 °C da termostatda 10-20 sutka o'tgandan keyin silliq, terisimon, qatlam-qatlam, ba'zida unsimon qatlamli koloniyalar hosil bo'ladi. Koloniyalardan oziq muhitga kuchli, chuqur shoxlanish paydo bo'ladi.

Parranda trixofitiyasi (*favus*, parsha) – teri, patlari va ichki organlarning zararlanishi bilan xarakterlanadi. Tojida, sirg'asi, tumshug'iga yaqin joylarida kulrang-oqish qatlamlari – skutulalar paydo qiladi. Qo'zg'atuvchisi *Tr. gallinae*.

**Mikrosporiya** – it, mushuk, yirtqich va boshqa hayvonlarda teri epidermisining yallig'lanishi, junning sinishi bilan o'tadigan yuqumli kasallik bo'lib, uni mikrosporon avlodiga mansub zamburug'lar qo'zg'aydi. Odamlar ham kasallanadi.

**Qo'zg'atuvchilari:** itlarda *Microsporum canis (lanosum)*, otlarda *M. equinum*, *M. gypseum* va boshqalar.

**Morfologik va kultural xususiyatlari.** Patmaterialda zamburug' shoxlangan mitseliy shaklida ko'rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofida sporalar tartibsiz joylashib chexol ko'rinishini eslatadi. Trixofitiyadan farqi glukozali Saburo agarida 26-28 °C da *M. equinum* 6-7chi kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish mitseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporum avlodi zamburug'lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi.

**Lyuminiscentli analiz** – patmaterialni Petri kosachasiga qo'yib, qorong'i xonada simob-kvarsli lampaning (PRK-2, PRK-4) ultrabinafsha nurlari ostida 20 sm masofada qaraganda mikrosporiya bilan jarohatlangan jun tolalari yashil nurlanish beradi. Bu usulda mikrosporiyaning yashirin shaklini aniqlash mumkin.

Laboratoriyaga tekshirish uchun jarohatlangan zararlangan epidermis va jun tolalari qirindisi sog'lom to'qima bilan chegara joyidan olinib paketga solib yuboriladi.

*Trixofitiya, mikrosporiyaga laboratoriyada diagnoz mikroskopiya usulida qo'yiladi.* Patmaterial 10 % li ishqorda 20-30 daqiqa turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qozg'oq bo'lakchasi buyum oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20 % li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirt lampasi alangasi ustida). So'ngra ustiga bir tomchi 50 % li glitserin eritmasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yopiladi. Avval x8 obyektiv, keyin x40 obyektivda yoki immersion sistemada ko'riladi.

Zamburug' mitseliysi va sporalar borligi diagnoz qo'yishga asos bo'ladi. Trixofiton va mikrosporumlar sporalarining zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo'lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, iyuminiscentli analiz va biosinov qo'yiladi.

Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glukozali GPA, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

**Biosinov** – dengiz cho'chqasi yoki quyonning terisi timalib, patmaterial surtiladi.

*Biopreparatlar.* Aktiv profilaktika maqsadida:

Qoramollar uchun TF – 130 va LTF – 130 quruq vaksina *Trichophyton verrucosum (faviforme)*ning attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Otlar uchun SP- 1 vaksinasi *Trichophyton equinum* shtammidan tayyorlangan.

Qo'ylar uchun Trixovis quruq vaksinasi *Trichophyton verrucosum* (avtotrofikum) shtammidan tayyorlangan.

Mo'ynali hayvonlar va quyonlar uchun MENTAVAK vaksinasi *Trichophyton mentagrophytes* kulturasidan tayyorlangan.

Tuyalar uchun Kamelvak – TC vaksinasi *Trichophyton sarkisovi* zamburug'ining attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Go'shtxo'r hayvonlar, nutriya va quyonlar uchun MIKOLAM vaksinasi.

Itlar dermatomikozlariga qarshi Polivak - TM inaktivlangan vaksina *Trichophyton* va *Microsporum* avlodlari zamburug'larining 8 turidan iborat.

Dermatomikozlarga qarshi VAKDERM vaksinasi: it, mushuk, mo'ynali hayvonlar va quyonlar mikrosporiyasi hamda trixofitiasiga qarshi kurashish uchun mo'ljallangan. *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* va *Trichophyton*.

*Mentagrophytes* larning yuqori immunogenli shtammlaridan tayyorlanadi.

Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mog'or mikozlari qo'zg'atuvchilari – *Aspergillus*, *penicillium*, *Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug'lar kiradi (190-rasm).

Aspergilloz – uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba'zan yirik shoxli hayvonlar, mayday shoxli hayvonlar, ot, cho'chqa, arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan o'pkaning granulematoz zararlanishi bilan xarakterlanadi.

**Patologik material.** Yangi o'lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum. Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo'xori agari, GPA lardan foydalaniladi.

25-37°C da 3-5 chi sutkada zich oziq muhitlarda aspergilla koloniyalari o'sadi. *A. fumigatus* Chapeka muhitida tekis yoki kengish koloniya hosil qiladi. Rivojlangan mitseliysi avval oq, keyinchalik yashil rangda kigizsimon shakl beradi. Yetilgan kulturalar spora hosil qilish bosqichida qora rangda bo'ladi.

**Mukormikoz qo'zg'atuvchilari** – mukor avlodiga mansub, ko'proq *M.M. racemosus* uchraydi. Mukormikoz limfa bezlari, o'pka, boshqa organ va to'qimalarda granulematoz jarayonlarining rivojlanishi bilan xarakterlanadigan surunkali kasallik.

**Patologik material.** Yiring, nekrozga uchragan to‘qima, eksudat, granulematozli to‘qima.

**Mikroskopiya.** Surtmada bo‘g‘inlarga bo‘linmagan mitseliy, sporalar ko‘rinadi.

Chapeka muhitida (Petri kosachasida) 25-30 °C da o‘stiriladi. Uchinchi sutkada zamburug‘ kulturalari kigiz tutami shaklida kulrang-oq koloniyalar hosil qiladi. Keyinroq qo‘ng‘ir ranggacha o‘zgaradi.

**Kandidamikoz qo‘zg‘atuvchisi** – *Candida albicans*. *Kandida* avlodiga mansub achitqisimon zamburug‘. U fakultativ parazit bo‘lib hayvonlarning shilimshiq qavatlarida doimiy yashab, kandidamikoz (molochnitsa) kasalligini qo‘zg‘aydi. Hazm trakti shilimshiq qavati, har xil organ va to‘qimalarni zararlashi bilan xarakterlanadi. Asosan parrandalar zararlanadi. Buzoq, qo‘zi va boshqa yosh mollar kamroq kasallanadi.

**Patologik material.** Og‘iz, qizilo‘ngach, zob, qatlamlardan qirindi olinadi.

**Mikroskopiya.** Bo‘yalgan (Gram, Sil-Nilsen), bo‘yalmagan preparatlar ko‘riladi. Bo‘yalmagan surtmada ko‘pgina oval achitqisimon hujayralar ko‘rinadi.

Saburo agari, suslo-agar, glukozali GPA larda o‘sadi. Ekmalar 25-30 °C da o‘stiriladi. Birinchi koloniyalar 2-3 chi kuni o‘sadi. Suyuq muhitlarda *C.albicans* halqa va cho‘kma hosil qiladi. Kulturaning patogenligi quyon, dengiz cho‘chqasi, oq sichqonlarda biosinov qo‘yib aniqlanadi. Kultura suspenziyasi tomirga yuboriladi. Musbat natijada barcha ichki organlarida zamburug‘ rivojlanadi.

### Nazorat savollari:

1. Trixofitiya va mikrosporiya qo‘zg‘atuvchilarining bir-biridan farqlovchi belgilari.
2. Dermatomikozlarga tekshirish uchun patmaterial olish.
3. Kandidamikoz, aspergilloz qo‘zg‘atuvchilari, ularni o‘stirish.
4. *Kandida* avlodiga kiruvchi zamburug‘larning patogen xususiyatlari.
5. Zamburug‘lar qaysi oziq muhitlarda o‘sadi.

## 42 - m a v z u. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** Probirkada leptospira kulturasi, buyum, yopqich oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglutinatsiyalovchi leptospiroz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglutinatsiya reaksiyasini qo'yish, ARni buyum oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

**Leptospiroz** – qishloq xo'jalik hayvonlari, kemiruvchi va barcha go'shtxo'r hayvonlarga xos yuqumli kasallik bo'lib, isitma, sarg'ayish, gemoturiya, anemiya va shilimshiq parda hamda terida to'qimalarning nekrozi bilan namoyon bo'ladi. Odamlar ham kasallanadi.

Leptospiralalar *Spirochetaceae* sinfi, *Leptospira* avlodiga mansub. Ularning ikki guruhi farqlanadi – *L.interrogans* – hayvon va odamlar uchun patogen va *L.biflexa* – patogen emas.

Asosiy leptospiroz qo'zg'atuvchilariga: *bataviye*, *gebdomadis*, *grippotifoza*, *ikterogemorragiye*, *kanikola*, *pomona*, *tarassovi* lar kiradi.

**Patologik material.** Kasal hayvondan 5-10 ml qon, siydik, tashlangan homila yuboriladi. O'lgan mayda hayvonlarning jasadida, yirik hayvonlardan yurak, parenximatoz organlardan bo'lakchalar, buyrak, siydik xaltasi boylangan holda, orqa miya suyuqligi yuboriladi. Siydik ertalab yem-xashak berishdan oldin olinadi.

Patmaterialni laboratoriyada 6 soatdan (sovutgichda saqlansa 10-12 soatdan) kechiktirmay tekshirish kerak.

Diagnoz bakteriologik va serologik usullarda qo'yiladi.

**1. Mikroskopiya.** Leptospiralalar bo'yoqni yomon qabul qiladi. Ular ezilgan tomchi usulida, qorong'ilashtirilgan kondensorda tekshiriladi. Leptospiralalar spiral shakldagi, to'g'ri yoki S holdagi ingichka, harakatchan ipsimon organizm. Uzunligi 5-20 mkm, diametri 0,1-0,2 mkm, uchlari ilmoq shaklida egilgan. Leptospiralalar fibrillalar yordamida harakatlanadi (191, 192, 193, 194- rasm). Grammanfiy, Romanovskiy Gimza usulida 48 soat bo'yaganda pushti-binafsha rangda bo'ladi.

Lyuminissent mikroskopiyada leptospirozning maxsus fluoresensiyali globulini ishlatiladi.

Mikroskopik tekshirishda leptospiralar aniqlansa, diagnoz qo'yishda shu bilan chegaralanish mumkin.

2. **Bakteriologiya.** Patmaterial (siydik 10-15 ming aylanma tezlikda 30 daqiqa sentrifugalanib, cho'kmasi va ustidagi suyuqligi, qonning plazmasi, organlardan suspenziya tayyorlab tekshiriladi) maxsus Lyubashenko, Ulengut oziq muhitlariga ekiladi. Har bir namunadan 3-5 tomchidan 5-6 ta probirka yarimsuyuq yoki suyuq oziq muhitga ekiladi. Leptospiralar – fakultativ aerob, 28-30 °C da 3 oy o'sadi. 3,5,7,10 kundan keyin, so'ngra har 5 kundan keyin hamma probirkalardan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab ko'riladi.

Patmaterialdan oziq muhitlarda leptospiralar hamma vaqt ham ajratilavermaydi.

3. **Biosinov.** Ikkita 20-30 kunlik tillarang og'maxon yoki 10-20 kunlik quyon bolalarida qo'yiladi. Tekshirilayotgan material og'maxonlarga 0,3-0,5 dan 1 ml gacha, quyon bolalariga -2-3 ml dozada terisi ostiga yoki qorin bo'shlig'iga yuboriladi 4-5 kuni bittasi o'ldiriladi, ikkinchisi o'lmasa 14-16 kundan keyin o'ldiriladi. Jasadni yorib, qoni MAR da 13 ta seroguruh antigen (leptospiralar) bilan 1:10 nisbatda suyultirib tekshiriladi. Musbat natija, materialda leptospiralar borligini ko'rsatadi.

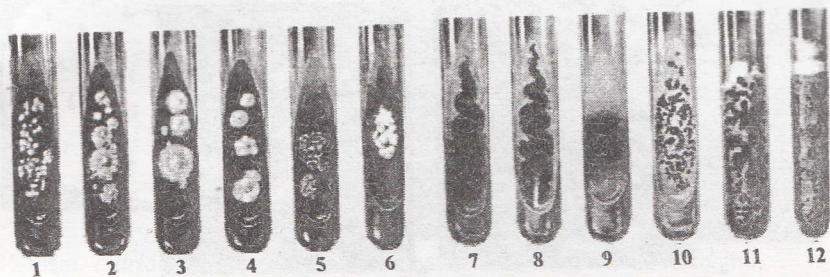
Ajratilgan 5-7 kunlik kultura patogenligi uni 0,1 ml dozada og'maxon qorin bo'shlig'iga yuborib aniqlanadi. Ular 5-12 kunda o'lsa leptospiralar yuqori virulentli hisoblanadi.

Serologik tekshirish usullaridan MAR, (mikroagglutinatsiya reaksiyasi), AR, KBR, FAU lari qo'llaniladi.

Kasal hayvondan qon zardobi ikki marta 5-7 chi, 7-10 kunlari olinadi. Yangi olingan, filtr qog'ozida quritilgan yoki konservatsiya qilingan (fenol bilan) zardoblar ishlatiladi. Antigen sifatida tirik leptospira kulturalari ishlatiladi.

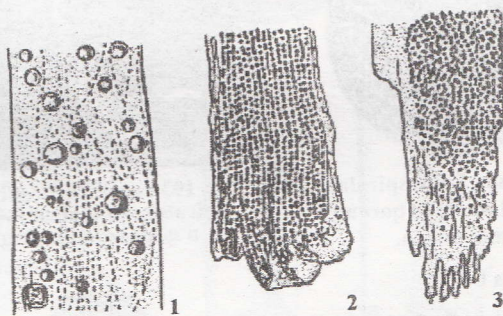
**MAR.** Zardoblar 1:50, 1:250, 1:1250 nisbatda suyultiriladi. Reaksiya o'yiqchali plastinkalarda qo'yiladi. Har bir suyultirilgan zardobdan, alohida 6 ta qator 3 tadan o'yiqqa (antigen soniga qarab) 0,1 mldan quyiladi. 6 ta leptospira kulturasi har biridan 0,1 ml dan 3 ta o'yiqqa zardob ustiga quyib, aralastiriladi, bunda zardoblar 1:100, 1:500, 1:2500 nisbatda suyultirilgan bo'ladi. Plastinani sekin chayqatib, termostatga 30 °C 1 soatga qo'yiladi. Bir vaqtda nazorat qo'yiladi: 0,1 ml kultura +0,1 ml fiziologik eritma.

## Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi



188-rasm. Patogen va zaharli zamburug'larning kulturasi. Patogen zamburug'lar: 1-*Trichophyton verrucosum*; 2-*Trichophyton gypseum*; 3-*Microsporum lanosum*; 4-*Candida albicans* (suslo agarda); 5-*Histoplasma farciminosum*; 6-*Actinomyces bovis*, aerob shakl glukozali GPA da); 7-*Aspergillus fumigatus* (Chapeka agarida).

Zaharli zamburug'lar: 8-*Aspergillus flavus*; 9-*Stachybotrys alternans*; 10-*Dendrodochium toxicum* (Chapeka agarida); 11-*Fusarium sporotrichioides*; 12-*Fusarium graminearum* (guruch donida).

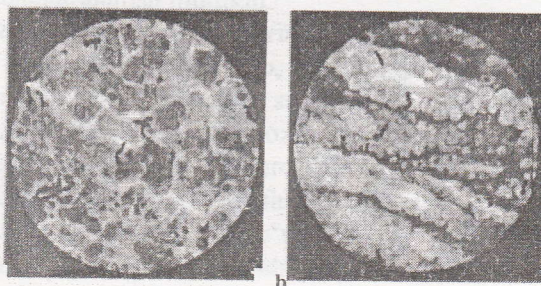


189-rasm. Dermatometlar zararlangan sochda. Pathogen zamburug'lar: 1-*Trichophyton schoenleini*; 2-*Trichophyton violaceum*; 3-*Microsporum canis*.

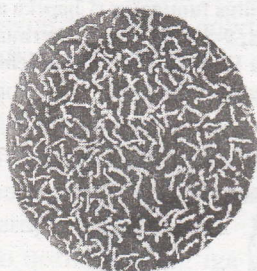


190-rasm. 1Mukor zamburug'i sporangiyalari; 2-*Aspergillus fumigatus* kulturada.

## Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi



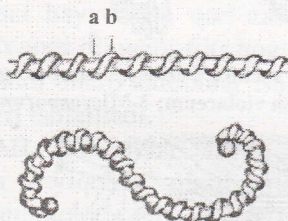
191-rasm. Leptospiralalar: a-buzoq jigari to'qimasida; b-buyragi kanalchalarida.



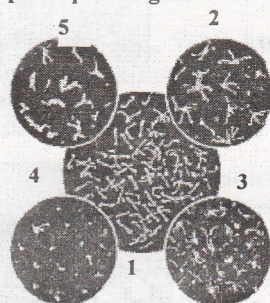
192-rasm. Leptospiralalar ezilgan tomchida qorong'i maydonda.



193-rasm. Leptospira. Spiralsimon tuzilishi va tana o'q ipi aniq ko'ringan.



194-rasm. Leptospiraning tuzilish sxemasi: tinch holatida (yuqorida) va harakatda (pastda). Elastik oq ip (a), periplast (b) bilan bir xil qalinlikda. Birinchi o'ramlari zich, mayda, ikkinchilari leptospiralarga S-shaklini beradi.



195 -rasm. Mikroagglutinatsiya va lizis reaksiyasi: 1-manfiy (leptospiralalar harakati va shaklini saqlab qolgan); 2-5-ijobiy (leptospiralalar har xil darajada agglutinatsiya va lizisga uchragan).

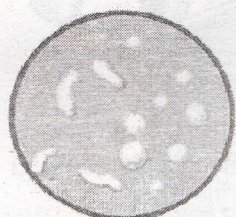
## Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi



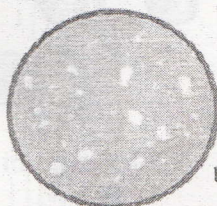
196-rasm. *Vibrio fetus venerealis*.



197-rasm. Elektronogramma. Xivchinli.



a



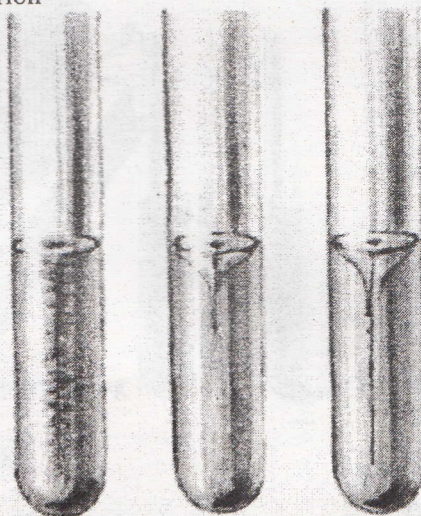
b



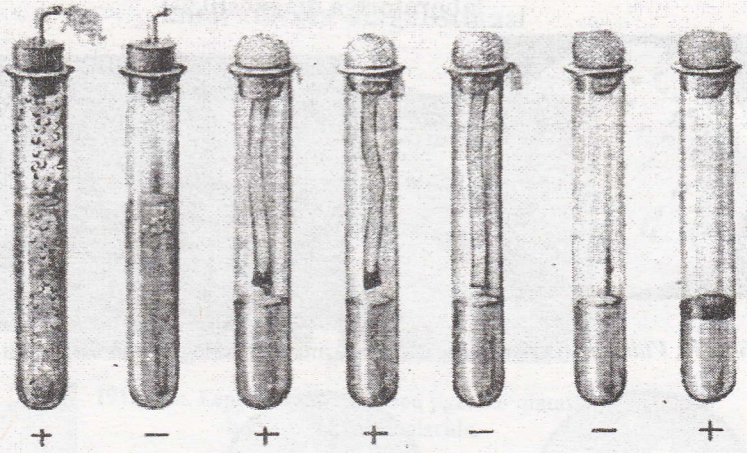
d

2 sutkalik kultura surtmasida vibriyon

198-rasm. Qonli agarda vibriyon koloniyalarining shakllari:  
a – b – koloniyaning S- va R-  
shakllari; d- mayda shudringsimon  
qoplama shakli.



199-rasm. Vibriyonlarning yarim  
suyuq agarda tik ekkanda o'sishi.

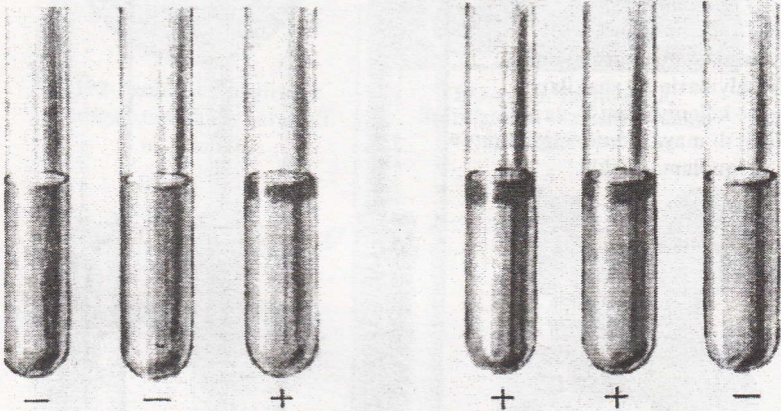


a  
Katalaza aktivligi

b  
H<sub>2</sub>S hosil qilishi

d  
Glitsinga chidamliligi

200-rasm. Vibriionlarning biokimyoviy xususiyatlarini tekshirish.



A

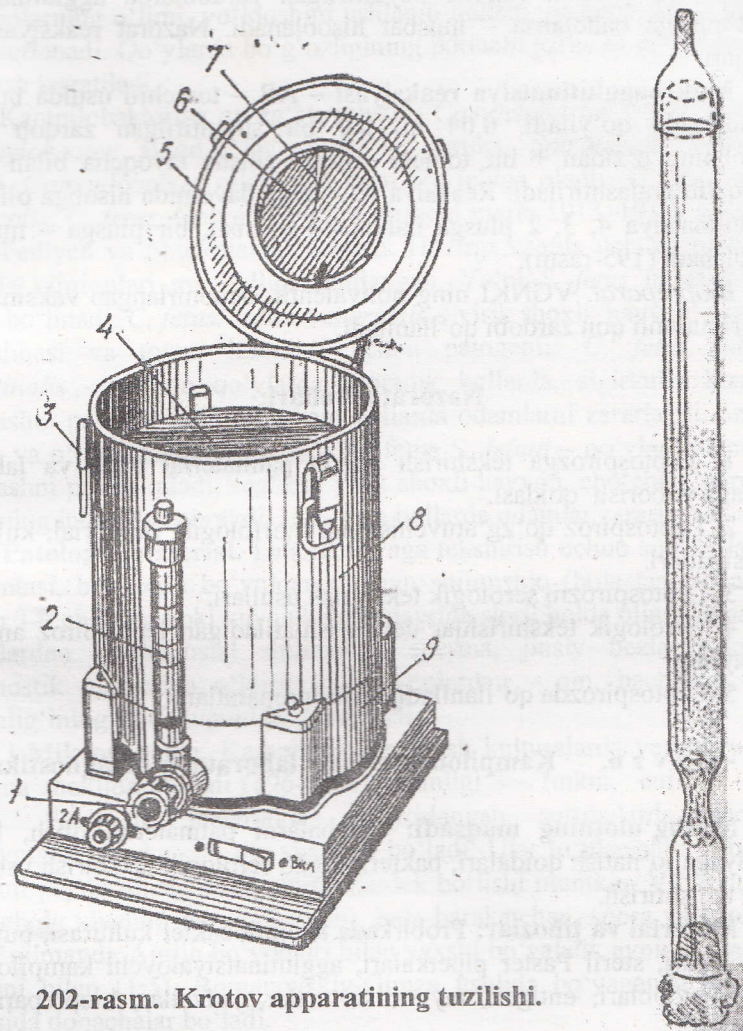
B

201-rasm. Vibriionlarning o'sishi:

A - 3,5% li NaCl li muhitda.

B - 4% li o't suyuqligi qo'shilgan muhitda.

## HAVO MIKROFLORASINI TEKSHIRISH



202-rasm. Krotov apparatining tuzilishi.

- 1 – rotometrning jo‘mrangi,
- 2 – rotometr,
- 3 – ilmoqli qulf, mikel
- 4 – aylanadigan disk, naychasi
- 5 – qopqoq, 6 – disk,
- 7 – pona, 8 – korpus, 9 – osti.

Natija ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, mikroskopda tekshirib aniqlanadi. Barcha suyultirilgan zardoblarda agglutinatsiya 4,3,2 plusga baholansa – musbat hisoblanadi. Nazorat reaksiyasidan tashqari.

**Makroagglutinatsiya reaksiyasi** – AR – tomchili usulda buyum oynachasida qo‘yiladi. 0,04 ml har bir suyultirilgan zardob yoki zardobning o‘zidan + bir tomchi antigen shisha tayoqcha bilan yoki chayqatib aralashtiriladi. Reaksiya 10 daqiqa davomida hisobga olinadi. Agglutinatsiya 4, 3, 2 plusga baholansa musbat, bir plusga – manfiy hisoblanadi (195-rasm).

*Biopreparat.* VGNKI ning polivalentli, deponirlangan vaksinalari. Giperimmunli qon zardobi qo‘llaniladi.

### **Nazorat savollari:**

1. Leptospirozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasi.
2. Leptospiroz qo‘zg‘atuvchisining morfologik, tinktorial, kultural xususiyatlari.
3. Leptospirozni serologik tekshirish usullari.
4. Serologik tekshirishlar uchun ishlatiladigan leptospiroz antigenini ayting.
5. Leptospirozda qo‘llaniladigan biopreparatlar.

### **43 - m a v z u. Kampilobakteriozni laboratoriya diagnostikasi**

**Mashg‘ulotning maqsadi:** Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo‘natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** Probirkada kampilobakter kulturasi, buyum, oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglutinatsiyalovchi kampilobakterioz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar.

### **Uslubiy ko‘rsatmalar**

O‘qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko‘rib, daftarga yozish, mikroagglutinatsiya reaksiyasini qo‘yish, AR buyum oynachasida qo‘yish va natijasini hisobga olish.

**Kampilobakterioz** (vibrioz) – sigir, g'unajin, qo'ylarning surunkali kasalligi bo'lib, homila tashlash, bepushtlik, yosh hayvonlarning o'limi, yo'ldoshini ushlanib qolishi, metrit, vaginit bilan xarakterlanadi. Qo'ylarda bo'g'ozligining ikkinchi yarmida yalpi homila tashlash kuzatiladi.

Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisi – *Campylobacter fetus* (*foetes*), *Campylobacter* avlodi, *Spirochaetales* qatori, *Spirillaceae* oilasiga kiradi. *Campylobacter* oilasi uch turni o'z ichiga oladi: *C. sputorum*, *C. fecalis*, *C. fetus*. Qo'zg'atuvchini birinchi marta 1913–1918- yillarda Mak-Fediyen va Shtokmanlar ochgan. Hozirgi vaqtda uch xil patogen homila vibriionlari mavjudligi aniqlangan. Ya'ni *S. fetus* uchta kenja turga bo'linadi: *C. fetus. subsr. venerealis* – yirik shoxli hayvon, dengiz cho'chqasi va tovuq homilasi uchun patogenli; *C. fetus subsp. intestinalis* – asosan qo'ylarda sporadik hollarda, sigirlarda homila tashlashni paydo qiladi, juda kam hollarda odamlarni zararlaydi, uning ichak va o't xaltasida rivojlanadi. *C. fetus S. Jejuni* – qo'ylarda homila tashlashni paydo qiladi, sog'lom yirik shoxli hayvon, cho'chqa, parrandalarning ichagida uchraydi. Juda kam hollarda odamlar zararlanadi.

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun sigirlardan – plasentasi, bachadon bo'ynidan olingan shilimshiq (bola tashlagandan keyin 3-4 chi kuni yoki kuyga kelgan davrida steril holda olinadi); naslli buqalardan – prepusial shilimshiq, sperma, jinsiy bezlar sekreti; diagnostik maqsadda o'ldirilgan hayvonlardan – qin, bachadon, toz bo'shlig'ining limfa tugunlari yuboriladi.

**1. Mikroskopiya.** Kampilobakter yosh kulturalarda vergul, ya'ni burama shaklida bo'ladi (196-rasm), uzunligi 3 - 7mkm, eni 0,2 - 0,5 mkm. Patologik materialdan tayyorlangan surtmalarda vergul, uchayotgan chayka, spirilla shaklida bo'ladi. Ular to'planishib, vibriion iplarini paydo qilish, xuddi spirillalardek bo'lishi mumkin. Vibriionning bir uchida xivchini bor (197-rasm), juda harakatchan, spora va kapsula hosil qilmaydi. Anilin bo'yoqlari bilan yaxshi bo'yaladi, ayniqsa, karbol fuksini bilan (1:5), Romanovski-Gimza usulida bo'yaganda hujayra tanasida donachalar bo'ladi.

**2. Bakteriologiya.** *C. fetus* mikroaerofildir, kulturada 10% CO<sub>2</sub> bo'lgan sharoitda o'sadi. Optimal harorati 37,5<sup>0</sup>C. Birlamchi kulturani ajratish uchun qon yoki zardob qo'shilgan yarim suyuq, zich oziq muhitlar ishlatiladi. Yarim suyuq jigarli 0,2% li agarda 2 – 7 kunda muhit yuzasiga yaqin joyida kulrang oqish halqa shaklida o'sadi (199-rasm). 2% li go'sht – jigar peptonli agarda 3 - 4 kuni mayda koloniya

yoki yoyilib o'sgan shakli namoyon bo'ladi. Qonli yoki zardobli bulonda, nozik bulutcha shaklida o'sadi. Qonli agarda 2-4-6-8 sutkalarda mayda shudringsimon qoplama shakli, S-silliq va R-kengish shaklli koloniyalar paydo bo'ladi (198 a,b,d - rasm). Yarim suyuq peptonli agarda kultura 10 - 20 kundan ortiq saqlanmaydi. Uzoq muddat saqlab qolish uchun uni yarimsuyuq yoki Kitt - Tarossi muhitida qayta ekiladi va sovutgichda saqlanadi.

Patmaterialdan qo'zg'atuvchini ajratish uchun, shuningdek, safranin - temir - novobiosinli muhit taklif qilingan.

*Biokimyoviy xususiyatlari.* *C. fetus* uglevodlarni parchalamaydi, lakmusli sutni o'zgartirmaydi, katalaza ajratadi, 3,5% li NaCl li GPB da o'smaydi. Qo'ylardan ajratilgan vibriionlar, kuchsiz vodorod sulfid ajratadi, 4% li o't suyuqligi qo'shilgan muhitda o'sadi, 1% glitsinga chidamli. *C. fetus subsp. intestinalis* chidamli emas (200, 201- rasm). Zahar hosil qilishi aniqlanmagan.

**Biosinov** - patmaterialda vibriionni topish, kulturani tozalash, vibriion kulturasiining virulentlik darajasini aniqlash uchun qo'yiladi. Buning uchun patmaterial yoki kultura 0,5 ml dozada bo'g'oz dengiz cho'chqalari qorin bo'shlig'iga yoki qiniga zararlanadi, tashlagan homilasi bakteriologik tekshiriladi. Agar 10-12 kun davomida homila tashlamasa, dengiz cho'chqasini o'ldirib, homilasi va bachadonidan oziq muhitlarga ekiladi. Naslli buqalarning vibriion bilan zaralanganligini aniqlash uchun biosinov yetilgan g'unajinlarda qo'yiladi.

*Serologik tekshirish* uchun AR, KBR, UKBR, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llanadi. Sigir, g'unajinlardan olingan qin shilimshig'i bilan agglutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Shilimshiq hayvonlar kuyga kelmagan, tinch holatida doka tamponlarda olinadi va ekstrakt tayyorlanadi. Filtrlangan ekstrakt 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatlarda ishlatiladi. Probirkalardagi barcha nisbatdagi 0,5 ml zardoblarga 0,5 ml dan fiziologik eritma bilan 1:9 nisbatda suyultirilgan kampilobakterioz antigenining I serologik tipi qo'shiladi. Probirkalar 24 soat termostatda 37°C da va uy haroratida 3-6 soat turadi. Qo'ylar kompilabakteriozi diagnozi AR da kasal hayvonlar qon zardobida maxsus antitelolarni aniqlashdan iborat. Buning uchun homila tashlagan (birinchi 1 - 20 kunlikda) ona qo'ylardan olingan qon zardobi va vibriozning II serologik tipi antigeni kerak. P.A. Trilenko ma'lumoti bo'yicha qoramol vibrioziga davomli komplement bog'lash reaksiyasi (DKBR) va komplement bog'lash reaksiyalari bilan ham diagnoz qo'yish mumkin.

Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisini farqlash uchun kampilobakterioz lyuminissent zardoblari ham qo'llaniladi.

*Biopreparatlar.* Adabiyotlarda qo'ylar vibriozini vakcina bilan oldini olish mumkinligi to'g'risida ma'lumotlar bor.

Qo'ylar kampilobakterioziga qarshi inaktivlangan emulgirlangan vakcina.

Kampilobakteriozni agglutinatsiyalovchi zardoblari.

Kampilobakterioz antigeni 0,3%li formalin eritmasida inaktivlangan kampilobakteriyalar suspenziyasi.

### Nazorat savollari:

1. Kampilobakteriozga tekshirish uchun patmaterial olish qoidasi.
2. Kampilobakterioz qo'zg'atuvchisining morfologik, kultural xususiyatlari.
3. Kampilobakteriozni serologik tekshirish usullari.
4. Serologik tekshirishlar uchun ishlatiladigan antigenni ayting.
5. Kampilobakteriozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

### 44 - m a v z u. Patogen rikketsiyalar

**Maqsad:** Talabalarni qo'zg'atuvchining xususiyatlari, rikketsiozlarning laboratoriya diagnostikasi, biopreparatlar bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** tovuq homilalarida rikketsiya kulturalari, tayyor qotirilgan rikketsiya preparatlari (vakcina shtammi), Stemp usulida bo'yash uchun bo'yoqlar, biopreparatlar.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni tayyorlash, bo'yash va mikroskopda ko'rib, daftarga yozish.

Rikketsiyalar *Rickettsiales* qatori *Rickettsiaceae* oilasiga kiradi. Ilk bor Rikkets (1909–1910) tomonidan ifodalangan va uning sharafiga mikroorganizmlar shunday nomlangan. *Rickettsiaceae* oilasi odam, issiq qonli hayvonlar, parranda va bo'g'imoyoqlilarni zararlovchi, obligat hujayra ichidagi, grammanfiy mikroorganizmlar guruhini o'z ichiga oladi. Ko'pchilik rikketsiozlarda qo'zg'atuvchilar bo'g'imoyoqli qon so'ruvchilar—kana, bit, burgalardan o'tadi.

Rikketsiyalar – polimorf mikroorganizmlar, morfologik jihatdan bakteriyalarga o'xshaydi (oval, kokk, tayoqchasimon shakllari).

Tayoqchasimon shakllarining uzunligi 0,3-1,2 mkm, diametri 0,2-0,3 mkm. Rikketsiyalarning bo'yalishi qiyin, ular bipolyar, grammanfiy. Romanovskiy-Gimza usulida boshqa mikroorganizmlardan farqli ravishda pushti rangga bo'yaladi (metoxromaziya).

**Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisi (*Coxiella burneti*).** Kasallik Avstraliyada Derrik (1937) tomonidan ifodalangan. Qo'zg'atuvchi Kvislend provinsiyasining bosh harfi bilan nomlangan. Zoonoz rikketsiozni chaqiradi (yirik shoxli hayvon, qo'y va odamlar kasallanadi). O'tkazuvchilari-kanalar. Odamlar asosan qaynatilmagan sutni iste'mol qilishdan zararlanadilar. Qo'zg'atuvchi ko'pincha kokksimon shaklda bo'lib, tayoqchasimon, ipsimon shakllari kamroq uchraydi.

Tovuq homilasining sariq xaltasida o'stirish mumkin. O'stirilgan rikketsiyalar bilan dengiz cho'chqalari, yumronqoziq yoki og'maxonlarni istalgan usulda zararlab biosinov qo'yish mumkin. Kasallik isitma bilan namoyon bo'ladi. Oq sichqon, oq kalamush, quyonlar qo'zg'atuvchiga chidamli. Ularni qon tomiriga yoki ko'zining oldingi kamerasiga (anesteziyadan keyin) zararlaganda rikketsioz simptomsiz o'tadi. Zararlangan hayvonlarni o'ldirganda qo'zg'atuvchi buyraklar, taloqda topiladi.

**Diagnostikasi.** Biosinovga asoslanadi: Kasal hayvonning isitma davrida olingan qoni dengiz cho'chqalari qorin bo'shlig'iga yoki testikulasiga zararlanadi.

Tana harorati juda yuqori bo'lgan vaqtida dengiz cho'chqasini o'ldirib, jigar to'qimalari yoki taloqdan tayyorlangan surtmalarda rikketsiyalar topiladi.

Rikketsiozlarda, shuningdek, serologik (AR, PR, GAR, KBR) va allergik diagnostika usullari ham qo'llaniladi. ARsi uchun antigen-konservatsiya qilingan rikketsiyalar suspenziyasi, KBR va PRLari uchun esa zararlangan tovuq homilasi sariq xaltasi suspenziyasidir. Shuningdek, fluoressensiyalovchi antitelolar usuli ham ishlatiladi.

**Gidroperikardit qo'zg'atuvchisi (*Cowdriya ruminantium*).** Kovdri tomonidan 1925-yilda ochilgan. Kokksimon shaklda, tomir devorining endoteliyalarida rivojlanadi. Yirik shoxli hayvon, qo'y, echkilar kasallanadi. O'tkazuvchisi – kanalar. Kasallik yuqori harorat (41-42°C), umumiy holsizlik, tomir toptilishi bilan xarakterlanadi. Homila tashlash ham kuzatilishi mumkin. O'tkir kechadi.

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun kasal hayvonning qoni, RES hujayralari (ilik suyagi, taloq) yo'llanadi.

Qo'zg'atuvchi isitma vaqtida (kasal hayvonda) qondan va bo'yinturuq venasi qirindisidan (o'lgan hayvondan) tayyorlangan surtmalarda topiladi.

**Biosinov.** Qo'y yoki quyonlar, dengiz cho'chqalari va oq kalamushlarda qo'yiladi. Intraserebral yoki qorin bo'shlig'i zararlanadi. Patologik materialni gistologik tekshirganda rikketsiyalar miya va buyrak tomirlari endoteliylarida topiladi.

### **Nazorat savollari:**

1. Rikketsiyalar qanday mikroorganizmlar.
2. Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisining diagnostikasi.
3. Qu-isitmasi qo'zg'atuvchisini serologik tekshirish usullari.
4. Hidroperikardit qo'zg'atuvchisi diagnostikasi.
5. Hidroperikarditda qanday patologik materiallar laboratoriyaga yo'llanadi.

### **45 - m a v z u. Patogen xlamidiyalar**

**Mashg'ulotlarning maqsadi:** Talabalarni qo'zg'atuvchining xususiyatlari, xlamidiozlarning laboratoriya diagnostikasi, biopreparatlar bilan tanishtirish.

**Material va jihozlar:** tayyor qotirilgan xlamidiya preparatlari (vaksina shtammi), Stemp usulida bo'yash uchun bo'yoqlar, biopreparatlar.

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

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni bo'yash va mikroskopda ko'rib, daftarga yozish.

**Xlamidiyalar** – antigenligi bo'yicha yaqin, tinktorial va morfologik xususiyatlari o'xshash mikroorganizmlarning o'ziga xos taksonomik guruhi. Ular hayvonlarda o'tkir va yashirin kechadigan patogenezini va klinik belgilari har xil bo'lgan infeksiyon kasalliklarni chaqiradi. Bu qo'zg'atuvchilarning o'ziga xosligi, aynan ularda uchraydigan g'aroyib rivojlanish sikli, shuningdek, bakteriya va viruslar uchun xarakterli alohida xususiyatlari bilan ifodalanadi.

Xlamidiyalar qo'zg'atadigan kasalliklar–xlamidiozlar deyarli barcha organ va to'qimalarni zararlaydi. Boshqa taksonomik guruh

infeksion (viruslar, bakteriya, sodda hayvonlar) kasalliklari bilan birgalikda ular qator kasalliklarning kechishi va oqibatini og'irlashtiradi.

Xlamidiya—grekchadan *Chlamyda*—mantiya so'zidan olingan, chunki ular zararlangan hujayralarda mantiyaga o'xshash qobiqqa o'ralgan kiritmalar hosil qiladi.

Xlamidiaz qo'zg'atuvchilari *Chlamydeales* qatori, *Chlamydiaceae* oilasiga kiradi. Bitta avlod *Chlamydia* va ikkita turdan iborat: *C. trachomatis* hamda *C. psittaci*. Ular grammanfiy harakatsiz polimorfizmi yaqqol ko'rinadigan ko'proq kokksimon shaklli obligat parazitlar, spora hosil qilmaydi, xivchin va kapsulasi yo'q. *C. trachomatis* odam va sichqonlar uchun patogen. *C. psittaci* hayvonlar va parrandalarda qator infeksiyon kasalliklar chaqiradi. Patologik jarayonning rivojlanishi qo'zg'atuvchining joylashgan joyiga bog'liq. Xlamidiyalar ko'proq parranda, qo'zi, buzoq, cho'chqa bolalarining respirator organlari va ichak traktini zararlaydi; yirik va mayda shoxli hayvonlarning genitaliysini; buzoq, cho'chqa bolalari, qo'zi, toylarning sinovial to'qimalarini; yirik shoxli hayvonlar, cho'chqa, qo'y, mushuk va h.k.lar ko'z shilliq pardalarini zararlaydi. Xlamidiazlarning klinik namoyon bo'lishi ham har xil: diareya, pnevmoniya, konyunktivit, poliartrit, perikardit, ensefalit, homila tashlash, o'lik tug'ilish, bepushtlik, vaginit, endometrit va boshqa belgilar. *C. psittaci* ga yovvoyi va uy parrandalari (130 turdan ortiq) moyil. Uy parrandalaridan ko'proq o'rdak, kurka, g'oz, kamroq tovuq, kabutarlar (ornitoz) moyil.

**Bakteriologik tekshirish.** Birlamchi materialda yorug'lik va lyuminissent mikroskopiya usullarida qo'zg'atuvchini aniqlash, biosinov usulida sof kulturasini ajratish hamda morfologik xususiyatlari bo'yicha qo'zg'atuvchini farqlashdan iborat.

O'lgan yoki majburiy so'yilgan hayvonlardan laboratoriyaga parenximatoz organlardan bo'lakchalar; homila tashlaganda-homila yoki uning parenximatoz organlari va oshqozoni; kasallaridan-eyakulyat namunalari yoki muzlatilgan spermasi, serologik tekshirish uchun qon yo'llanadi. Material hayvon o'lgandan yoki homila tashlagandan keyin 2 soat ichida olinadi va muz solingan termosga joylanadi.

**Mikroskopiya.** Yorug'lik mikroskopida ko'rish uchun patologik materialdan tayyorlangan surtmalar Romanovski-Gimza (xlamidiyalar rivojlanish bosqichiga bog'liq ravishda qizil yoki ko'k-binafsha rangda bo'ladi), Stemp usullarida bo'yaladi. Stemp usulida bo'yash uchun preparatlar qizdirib qotiriladi. Sil fuksinining (pH 7,4) distillangan suvda tayyorlangan 1:5 nisbatdagi eritmasi bilan 15 daqiqqa bo'yaladi. Keyin

0,05%li sulfat kislota eritmasi bilan 1 daqiqa ishlov beriladi, qayta distillangan suv bilan yuviladi va malaxit yashilining 1%li suvli eritmasi bilan 30 soniya qo'shimcha bo'yaladi. So'ngra suv bilan yuviladi va mikroskopda ko'riladi: xlamidiyalar-hujayralarning yashilroq fonida och qizil rangda. Immunofluoressent usulida materialda xlamidiyalarni aniqlash uchun bevosita va bilvosita variantlari qo'llaniladi; morfogenez bosqichlariga bog'liq ravishda xlamidiyalarning o'lchami 0,2-0,4dan 0,6-1,5 mkm gacha bo'ladi.

#### **Kultural-biokimyoviy xususiyatlari.**

Xlamidiyalarni ajratish uchun 6-7 sutkalik tovuq homilalari yoki laboratoriya hayvonlaridan foydalaniladi. Materialdan fiziologik eritmada (1:10) suspenziya tayyorlanadi, sentrifugalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik antibiotiklar (100 TB/ml penitsillin, 500 TB/ml streptomitsin) bilan 4<sup>0</sup>Cda 24 soat davomida ishlov beriladi va bir vaqtning o'zida sterillikka nazorat qilinadi. Keyin tekshirilayotgan material 0,2 ml hajmda homilaning sariq xaltasiga yuboriladi. Homilalar termostatda 37<sup>0</sup>C da 75 nisbiy namlikda o'stiriladi. 4-12chi sutkalarda o'lgan homilalarni yorib, allantois suyuqligi bakterial kontaminatsiyaga nazorat qilinadi. Sariq xaltadan tamg'a-surtmalar tayyorlanadi va mikroskopiya usulida xlamidiyalarga tekshiriladi. O'lmagan homilalar 12 chi sutkada yoriladi va undan ikkinchi, lozim bo'lganda uchinchi marta qayta tovuq homilalariga yuborib tekshiriladi.

**Biosinov.** Xlamidiyalarni ajratish uchun 5ta oq sichqon yoki ikki-uchta dengiz cho'chqasi zararlantiriladi. Yuqorida ko'rsatilgandek tayyorlangan material sichqonlarga 0,3 ml, dengiz cho'chqalariga-0,5ml dozada qorin bo'shlig'i yoki ko'krak bo'shlig'iga yuboriladi. 3 sutka davomida kuzatiladi. Ijobiy natijada hayvonlar 7-10 chi sutkalarda o'ladi. Ularni yorib ko'rganda seroz-fibrinozli eksudat, o'choqli pnevmoniya, o'pka plevrasi ostida qon quyilishlar ko'rinadi. Hayvonlar o'lmasa, ulardan qayta zararlashlar o'tkaziladi. Xlamidiyalarni aniqlash va farqlash yuqorida ko'rsatilgandek o'tkaziladi.

**Serologik tekshirish.** KBR yoki DKBR larini qo'yishga asoslangan. Zardoblar 1:5 va 1:10 nisbatda ++ - ++++ nishonlarga gemoliz bo'lmasa natija ijobiy; 1:10 nisbatda + va 1:5 nisbatda + - ++++ larga gemoliz bo'lmasa natija gumonli hisoblanadi.

**Biopreparatlar.** Qo'ylarning xlamidiozli homila tashlashiga qarshi inaktivlangan, emulgirlangan vaksina.

Qishloq xo'jalik hayvonlari xlamidiozlarini serologik tekshirish uchun antigen va zardoblar to'plami.

## Nazorat savollari:

1. Xlamidiyalar qanday mikroorganizmlar.
2. Xlamidiozga tekshirish uchun patmaterial olish qoidasi.
3. Xlamidiyalarning morfologik, kultural xususiyatlari.
4. Xlamidiozga serologik tekshirish usullari, biosinov.
5. Xlamidiozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Kislenco V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. –M.: KolosS, 2005.
2. Kislenco V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 1. Obshaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2006 g.
3. Kislenco V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 2. Immunologiya. –M.: KolosS, 2006 g.
4. Kislenco V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g.
5. Vorobyev A.A. Medisinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g.
6. Kostenko T.S. i dr. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. –M., 1989.
7. Smirnova N.I. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po veterinarnoy mikrobiologii. –M., 1977.
8. Antonov B.I. i dr. Laboratorniye issledovaniya v veterinarii. Bakteriialniye infektsii. Spravochnik. –M.: Agropromizdat, 1986.
9. V.V.Pavlovskiy i dr. Diagnostika infektsionnix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. –M.: Kolos, 1968.
10. Kolichev N.I., Gosmanov R.G. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. –M.: «Kolos», 2003 g.
11. Zooveterinariya jurnallari, –Toshkent.
12. Internet ma'lumotlari  
www. Ziyo.net.uz.  
email: zooveterinariya @.ru  
email: sea @ mail.net21.ru  
email: veteriniy @.actavis.ru  
email: fvat@.academy. uzsci.net

## MUNDARIJA

Kirish.....	3
Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma .....	4

### I BO'LIM. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

1-mavzu. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tizilishi va ishlash qoidalari.....	6
2-mavzu. Lyuminessent mikroskopiya.....	14
3-mavzu. Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari.....	17
4-mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash.....	22
5-mavzu. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari.....	24
6-mavzu. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish.....	33
7-mavzu. Oziq muhitlarini tayyorlash. ....	37
8-mavzu. Sterilizatsiya usullari.....	41
9-mavzu. Mikroorganizmlarni o'stirish.....	46
10-mavzu. Sof kultura ajratib olish usullari.....	51
11-mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.....	55
12-mavzu. Mikroorganizmlarni antibiotikka sezuvchanligini aniqlash.....	59

13-mavzu. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari.....	64
14-mavzu. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari.....	69
15-mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi.....	72
16-mavzu. Pretsipitatsiya reaksiyasi.....	75
17-mavzu. Komplement bog'lash reaksiyasi.....	81
18-mavzu. Serologik tekshirishning immunoferment usuli (ELISA test).....	84
19-mavzu. Bakteriyalarning genetikasini o'rganish. ....	87
20-mavzu. Atrof-muhit obyektlarini mikrobiologik tekshirish usullari..	90
21-mavzu. Veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar .....	97

## II BO'LIM. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA

22-mavzu. Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi.....	102
23-mavzu. Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi.....	105
24-mavzu. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi.....	112
25-mavzu. Tuyalar va odamlar o'lat kasalligining laboratoriya diagnostikasi.....	115
26-mavzu. Psevdotuberkulozning laboratoriya diagnostikasi.....	116
27-mavzu. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	118
28-mavzu. Listeriozni laboratoriya diagnostikasi.....	121
29-mavzu. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi.....	128
30-mavzu. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi.....	131
31-mavzu. Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	135

32-mavzu. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi.....	143
33-mavzu. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi.....	147
34-mavzu. Tulyaremiya kasalligining laboratoriya diagnostikasi .....	153
35-mavzu. Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	156
36-mavzu. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi.....	158
37-mavzu. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	161
38-mavzu. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi.....	167
39-mavzu. Bradzotni laboratoriya diagnostikasi.....	169
40-mavzu. Nekrobakteriozni laboratoriya diagnostikasi.....	176
41-mavzu. Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi.....	178
42-mavzu. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi.....	183
43-mavzu. Kampilobakteriozning laboratoriya diagnostikasi.....	190
44-mavzu. Patogen rikketsiyalar.....	193
45-mavzu. Patogen xlamidiyalar .....	195
Foydalanilgan adabiyotlar .....	199

Z. J. SHAPULATOVA

# MIKROBIOLOGIYA

Toshkent – «Fan va texnologiya» – 2013

Muharrir:	M.Hayitova
Tex. muharrir:	M.Xolmuhamedov
Musavvir:	B.Nasritdinov
Musahhih:	F.Ismoilova
Kompyuter sahifalovchi:	N. Hasanova

E-mail: [tipografiyaent@mail.ru](mailto:tipografiyaent@mail.ru) Tel: 245-57-63, 245-61-61.

Nashr.lits. AIN $\text{\#}$ 149, 14.08.09. Bosishga ruxsat etildi 31.10.2013.

Bichimi 60x84  $\frac{1}{16}$ . «Timez Uz» garniturasi. Ofset bosma usulida bosildi.

Shartli bosma tabog'i 12,5. Nashriyot bosma tabog'i 12,75.

Tiraji 500. Buyurtma  $\text{\#}$ 151.

32-mavzu. Tuberkuloz laboratoriya diagnostikasi	161
33-mavzu. Brutseloz laboratoriya diagnostikasi	162
34-mavzu. Tularemia laboratoriya diagnostikasi	163
35-mavzu. Qoraxoq laboratoriya diagnostikasi	164
36-mavzu. ...	165
37-mavzu. ...	166
38-mavzu. ...	167
39-mavzu. ...	168
40-mavzu. ...	169
41-mavzu. ...	170
42-mavzu. ...	171
43-mavzu. ...	172
44-mavzu. ...	173
45-mavzu. ...	174

# MIKROBIOLOGIYA

E-mail: [fan@fan.uz](mailto:fan@fan.uz), Tel: 345-57-63, 345-61-61  
 Noshirlik: ALMILIK, 14.08.00. Bosmaq turant etildi 31.10.2013.  
 Boshqiruvchi: «Fan va texnologiyalar Markazining boshmaxonasi» da chop etildi.  
**100066, Toshkent sh., Olmazor ko'chasi, 171-uy.**

**FAN VA**  
**TEKNOLOGIYALAR**



ISBN 978-9943-10-982-7



9 789943 109827