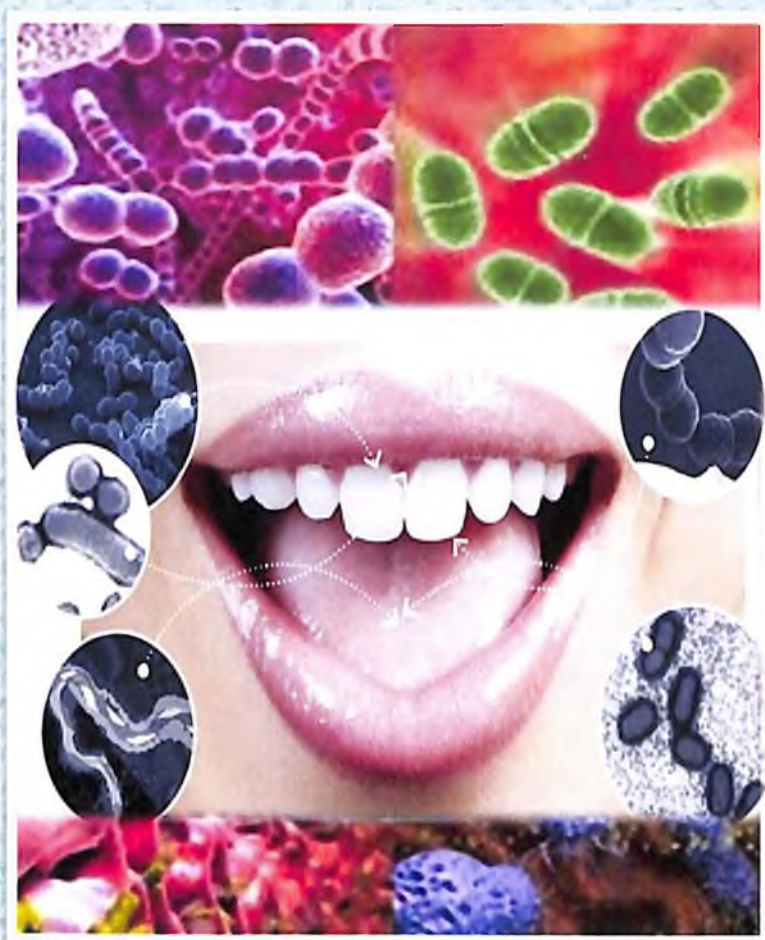


**J. A. Rizayev, H.Sh.Shayqulov, M.I.Yusupov,
G.M.Odilova, I.M. Mamarasulova**

**MIKROBIOLOGIYADAN LABORATORIYA
MASHG`ULOTLARIGA DOIR O`QUV
QO`LLANMA**

Stomatologiya fakulteti talabalari uchun



576.8
1490

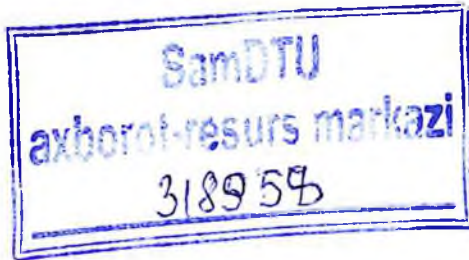
O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH
VAZIRLIGI

SAMARQAND DAVLAT TIBBIYOT UNIVERSITETI

J.A.Rizaev, H.Sh.Shayqulov, M.I.Yusupov,
G.M.Odilova, I.M.Mamarasulova

**MIKROBIOLOGIYADAN
LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARIGA DOIR
O'QUV QO'LLANMA**

Tibbiyot Oliy o'quv yurtlarining "Stomatologiya" –
60910100 ta'lim yo'nalishi uchun



Toshkent-2023

UO`K 579.63(075)

KBK 28.4ya72

R31

Rizaev J.A. va boshq.

Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg`ulotlariga doir o`quv qo`llanma.
J.A. Rizaev, H.Sh. Shayqulov, M.I. Yusupov, G.M. Odilova, I.M. Mamarasulova. – T.: “Lesson Press” nashriyoti, 2023-y. – 124 b.

Mualliflar:

J.A. Rizaev – Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti Jamoat salomatligi va sog`liqni saqlash menejmenti kafedrası professori, t.f.d.;

H.Sh. Shayqulov – Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası katta o`qituvchisi;

M.I. Yusupov – Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası mudiri;

G.M. Odilova – Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası assistenti;

N.I. Mamarasulova – Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası assistenti

Taqrizchilar:

I.M. Muhamedov – t.f.d., TDSTI farmakologiya va mikrobiologiya kafedrası professori, Rossiya tibbiyot-texnika fanlari akademiyasi akademigi.

O.K. Sa`dullayev – t. f. n., TTA Urganch filiali mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası mudiri.

Ushbu Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg`ulotlariga doir o`quv qo`llanma O`zbekiston Respublikasi sog`liqni saqlash tizimining stomatologiya sohasini isloh qilish dalat dasturida qayd qilingan tibbiyot oliy yurtlarini o`zbek tilidagi darsliklar bilan ta`minlash zaruriyatini inobatga olgan holda yozildi.

O`quv qo`llanmada stomatologiya amaliyotida so`ngi yillarda ko`proq uchraydigan og`iz bo`shlig`i yuqumli kasalliklarining bakteriologik, immunologik va serologik diagnostikasi yoritildi. Unda 150 dan ortiq rasm, jadval va sxemalar berildi.

O`quv qo`llanma Tibbiyot Oliy o`quv yurtlarining 60910100 - stomatologiya ta`lim yunalishi talabalari va amaliy ish olib borayotgan stomatolog mutaxassislar uchun mo`ljallangan.

ISBN 978-9910-730-94-8

© J.A. Rizaev, H.Sh. Shayqulov, M.I. Yusupov,
G.M. Odilova, I.M. Mamarasulova, 2023

© “Lesson Press” nashriyoti, 2023

MUNDARIJA

Kirish soʻzi	5
MIKROORGANIZMLARNING MORFOLOGIK XUSUSIYATLARI	6
MIKROBIOLOGIK LABORATORIYADA ISHLASHDA TALABALARGA QOʻYILGAN ASOSIY TALABLAR	10
SURTMA TAYYORLASH	13
SURTMANI FIKSATSIYA QILISH:	19
SURTMANI ODDIY USULDA BOʻYASH:.....	21
IMMERSION SISTEMALI MIKROSKOPDA ISHLASH TEXNIKASI.....	23
GRAM USULIDA BOʻYASH.....	25
NEYSSER USULIDA BOʻYASH.....	30
LEFFLER USULIDA BOʻYASH.....	33
GINS – BURRI USULIDA BOʻYASH.....	34
OLT USULIDA BOʻYASH:.....	36
SIL – NELSEN USULIDA BOʻYASH.....	38
OJESHKO USULIDA BOʻYASH.....	41
ZDRODOVSKIY USULIDA BOʻYASH.....	43
ROMANOVSKIY – GIMZA USULIDA BOʻYASH.....	44
MIKROORGANIZMLARNING FIZIOLOGIYASI.....	46
AEROB BAKTERIYALARNI OʻSTIRISH VA SOF KULTURALARNI AJRATIB Olish.....	47
BAKTERIYALARNI ANTIBIOTIKLARGA SEZGIRLIGINI ANIQLASH.....	72
Disk usuli boʻyicha bakteriyaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.....	72
Qator suyultirish usuli bilan antibiotiklarga boʻlgan bakteriyalar sezgirligini aniqlash.....	73
Bakteriyalarning antibiotikka boʻlgan sezgirligini qator suyultirish usuli bilan oziqlik agarda aniqlash.....	75
Ye - test orqali bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.....	75
Antibiotiklarni odam organizmidagi qon, siydik va boshqa suyuqliklarda aniqlash.....	76
Staphylococcus aureus bakteriyasining beta - laktamaza ishlab chiqarish xususiyatini aniqlash.....	77
Stafilokokk kulturasi stafilokokk bakteriofagiga boʻlgan sezgirligini aniqlash.....	78

Stafilokokk kulturasini tozaligini aniqlash.....	79
Stafilokokk kulturasini bakteriofagiga bo'lgan sezgiriligini aniqlash.....	79
Mak Farland standart loyqaligi.....	80
Oziq muhirlarga ekilgan stafilokokk va streptokokklarning patogenlik omillarini aniqlash (lesitinaza va gemolizin).	81
Stafilokokkning ajratib olingan kulturasidan plazmokoagulazani aniqlash.....	82

IMMUNITET. ORGANIZMNING NOMAXSUS

HIMOYASI. SO'LAKDAGI LIZOTSIM FERMENTINI VA QONDAGI NEYTROFILLARNING FAGOTSITAR

FAOLLIGINI ANIQLASH.....	83
NOMAXSUS HIMOYA OMILLARI:	84
Hujayraviy nomaxsus himoya omillari	84
Fagotsitoz.....	85
Gumoral nomaxsus himoya omillari:.....	87
To'qimaning nomaxsus omillari	88
Fuksional shakldagi himoya	89
So'lak tarkibidagi lizotsim fermentining bakteriotsid ta'sirini aniqlash:	89
So'lak tarkibidagi lizotsim fermentini tajribada seriyali suyultirish usulida aniqlash.	90
Odam periferik qonidagi neytrofillarning fagotsitar faolligini (NFA) aniqlash	91
Oq sichqonlarda fagotsitoz tajribasini o'tkazish.	92
SERALOGIK REAKSIYALAR.	94
Bakteriya hujayrasining antigen tuzilishi.	95
Serologik reaksiyalarni qo'yish.....	98
Buyum oynachasi yuzasida (sinama) agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.	99
Kengaytirilgan hajmli agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasi.....	100
Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi	101
Komplement bog'lash reaksiyasi	103

VIRUSL SAQLOVCHI MATERIALLARINI HUJAYRA KULTURASIGA VA TOVUQ EMBRIONIGA YUQTIRISH.....

Viruoslarni kupaytirish usullari:.....	111
Foydalanilgan adabiyotlar	119

KIRISH SOʻZI

Tibbiyot xodimlarini tayyorlashda mikrobiologiya fani alohida oʻrinni egallaydi. Bu fan talabalarga umumbiologik bilimlar berish bilan bir qatorda, klinik fanlarni, hamda yuqumli kasalliklar va immun patologik holatlar etiologiyasi, patogenezini, ularning laborator tashxisoti va profilaktikasini oʻrganishlariga ham asos boʻladi.

Keyingi yillarda mikrobiologiya fani jadal rivojlanib bormoqda, toʻplangan bilimlar hajmi esa keskin oshib bormoqda. Shunga mos ravishda oʻqitish rejasi ham oʻzgarmoqda. Hozirgi vaqtda oliy oʻquv yurtlaridagi yangi oʻquv rejaga binoan bu fan tibbiyot oliygohlarining barcha yoʻnalishlarida choʻqur oʻrganilmoqda. Shuni hisobga olgan holda qoʻllanmada fan dasturi asosida har bir amaliy mashgʻulot materiallarini alohida ajratib, ularni bajarish uchun uslubiy koʻrsatmalar berildi. Bular oʻqituvchi va talabalarning ishlash jarayonini yengillashtiradi, mashgʻulot maqsadini, undagi masalalarni aniq yoritish uchun imkoniyat yaratadi. Kitobda mavzu materiallarini oʻrganish uchun qisqacha nazariy bilimlar, mustaqil ishlash uchun uslubiy koʻrsatmalar va topshiriqlar berilgan.

Mazkur qoʻllanma mikrobiologiyadan faqat talabalar uchungina emas, balki mikrobiologiya fanidan dars berayotgan yosh oʻqituvchilar, bakteriologik laboratoriyada ishlayotgan mutaxassislar uchun ham foydali bilim manbai boʻla – oladi, deb umid qilamiz. Albatta, qoʻllanma kamchilik va noʻqsonlardan holi emas. Mualliflar qoʻllanmaga doir barcha tanqidiy fikr va mulohazalarni, talab va istaklarni minnatdorchilik bilan qabul qiladilar.

MIKROORGANIZMLARNING MORFOLOGIK XUSUSIYATLARI

Mikroorganizmlarni mikroskopik (bakterioskopik) identifikatsiyasi (turini aniqlash)da ularning morfologik belgilarini aniqlash muhimdir.

Mikroorganizmlarni tutgan preparatlirni bo'yashda turlicha bo'yash usullari keng qo'llaniladi. Ularning qo'llanilishi o'rganilayotgan mikroorganizmlarning quyidagi morfologik tuzilmalarini aniqlashga qaratiladi:

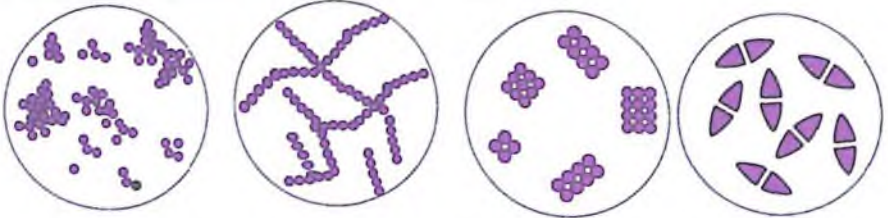
- **shakli** (sharsimon, tayoqchasimon, ovalsimon, egilgan – bukilgan tayoqchasimon, spiralsimon, ipsimon, va h.k.):



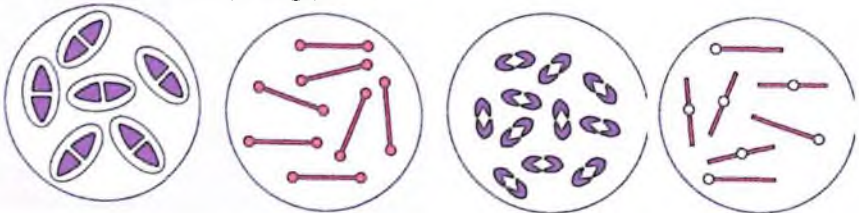
sharsimon, tayoqchasimon,

egilgan, spiralsimon

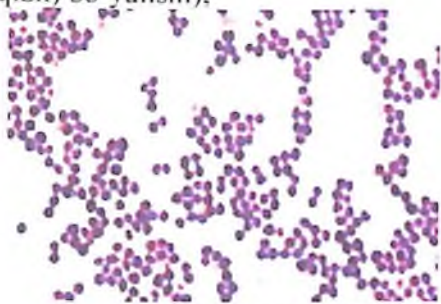
- **joylashishi** (yakka, juft, zanjirsimon, uzum shingili kabi tartibsiz, g'uj, sigareta pachkasidagi kabi va h.k.);



- **tuzilishi** (kapsulasi, sporasi, volyutin donachalari va boshqa tuzilmalarning mavjudligi);



- *tinktorial xususiyati* (Gram usulida musbat (siyoh rang) yoki manfiy (qizil) bo'yalishi);

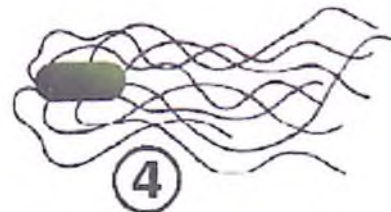
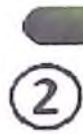
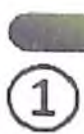


Gram musbat

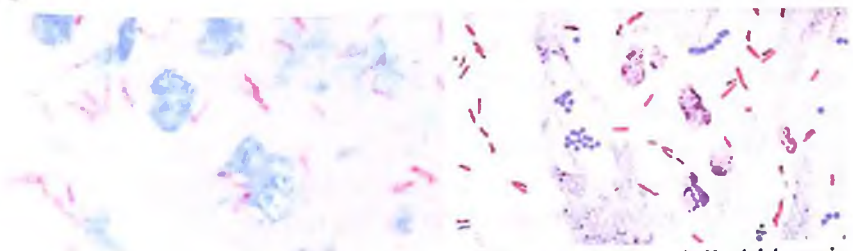


Gram manfiy

- *harakatchanligi* (monotrix (1), lofotrix (2), amfitrix (3), peritrix (4) yoki xivchinsiz);

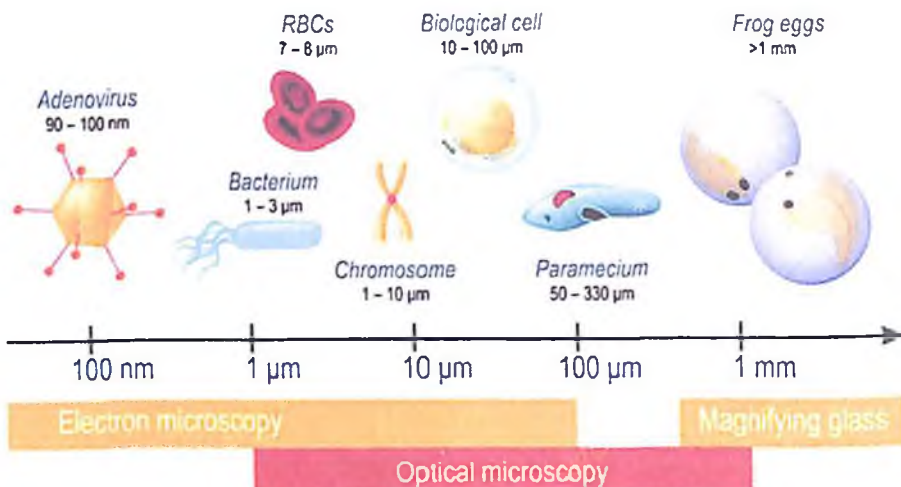


- *kislota, ishqor va spirtlarga munosabati;*



kislota, ishqor va spirtlarga chidamli bakteriyalar qizil chidamsiz bakteriyalar ko'k rangda

- *o'lchami* (kichik (1 mkm gacha), o'rtacha (1 – 4 mkm gacha), katta (4 mkm dan katta))



shu kabi differensial morfologik belgilarini aniqlash tashxisotda muhim o'rinni egallaydi.

Bakteriyalarni bo'yashda fiksatsiyalangan (o'ldirilgan) surtmalar yoki tirik bakteriyalar bo'lishi mumkin.

Barcha bo'yash usullari shartli ravshda oddiy va murakkab usullarga bo'linadi.

Oddiy bo'yashda asosli (ishqorli) anilin bo'yoqlari (ishqorli fuksin, metilen ko'ki va boshqalar) dan faqat bittasi qo'llaniladi. Bunda, o'rganilayotgan mikroorganizmning shakli, o'lchami, joylashishi (volyutin donachalari) kabi morfologik belgilarini aniqlash mumkin. Shu belgilar asosida differenziatsiya qilinuvchi bakteriyalar (xos joylashgan bug'ma qo'zg'atuvchilari, o'tkir so'zak bo'lganda - gonokokklar kabi mikroorganizmlar) bo'lsa boshqa bo'yash usullarisiz tashxis qo'yiladi. Boshqa morfologik belgilarni aniqlash ehtiyoji bo'lsa murakkab bo'yash usullaridan foydalaniladi.

Murakkab bo'yash usullarida ikki va undan ortiq bo'yoqlar ishlatiladi va surtmadagi mikroorganizmning morfologik muhim differensial belgilaridan birini anaqlash ko'zda tutiladi:

- **Gram usuli** – tinktorial xususiyati (bo'yoqqa munosabati);
- **Gins – Burri usuli** – bakteriyalarni kapsulasini aniqlash;
- **Neysser usuli** – bakteriyalarning volyutin donachalarini aniqlash;

-*Sil – Nelsen usuli* – bakteriyalarni kislota, ishqor yoki spirtga chidamliligini aniqlash;

-*Ojeshko usuli* – batsilla yoki klostridiyalarning sporasini aniqlash va h.k.

Surtmalarning bo'yalish sifati bir qator omillarga bog'liq: buyum oynachasi va yopqich oynachaning tozaligi, mikroblar kulturasining xususiyatlari, fiksatsiya qilish uslubi va fiksatsiya o'tkizilgan vaqt, buyoq va reaktivlarning sifati, ularda ushlab turilgan vaqtning optimalligi va h.k. lar. To'g'ri tayyorlangan surtmalar bir tekis, yupqa, unda mikroblar hujayralari bir qavat bo'lishi kerak.

Surtmalar fiksatsiya qilinganda mikroblar o'ldirilib uning xavfsizligi ta'minlanadi va buyum oynachasi yuziga mahkamlanadi. Shu bilan bir qatorda bo'yalish sifati ortadi. Surtmalarni fiksatsiya qilish alanga ustida yoki suyuq fiksator (Nikiforov aralashmasi yoki formalinning 5 % li eritmasi va h.k.) lar orqali amalga oshiriladi. Nikiforov aralashmasi 1:1 nisbatdagi etil spirti va narkoz uchun ishlatiluvchi efir aralashmasi. Fiksatsiya vaqti 10 – 15 daqiqa.

Shunday qilib, klinik materiallardan olingan ashyolar, surtma tayyorlash texnikasiga to'g'ri rioya qilinib tayyorlanganda va to'g'ri bo'yalganda kasallik etiologiyasidagi qo'zg'atuvchilarining dastlabki tashxisini qo'yish hamda bemorlarga davolash taktikasini erta tanlashga imkon beradi.

MIKROBIOLOGIK LABORATORIYADA ISHLASHDA TALABALARGA QO'YILGAN ASOSIY TALABLAR

-Laboratoriyaga maxsus kiyimda, ya'ni xalatda, maxsus bosh kiyimi va shippakda kiriladi.

-Talabalarni shaxsiy buyumlari ajratilgan maxsus joyda turadi.

-Laboratoriyada talabalarni ovqat iste'mol qilishi ta'qiqlanadi.

-O'z ish joyini toza saqlashi va mashg'ulot tugagandan so'ng tartibga keltirishi shart.

-Laboratoriya jihozlariga, inventarlarga, mikroskoplarga ehtiyotkorlik bilan muomila qilish.

-Ishlatib bo'lgan, pipetka, shpatellar, buyum oynalarini dizenfeksiyalovchi suyuqlik solingan bankalarga solish.

-Agar patologik material, sachrab yoki tukilib ketsa, darhol o'qituvchini ogohlantirish va dizenfeksiyalovchi moddalar bilan tozalash.

-Mashg'ulot tugagandan so'ng, qo'lni sovun bilan yaxshilab yuvish, agar kerak bo'lsa dizenfeksiyalovchi modda bilan ajratish.

-Yuqorida ko'rsatilgan punktlarni bajarish va nazorat qilib turish uchun talabalar safidan har mashg'ulotda navbatchi saylash.

-Mashg'ulotning ta'minlanishi:

-Amaliy mashg'ulot o'taytgan guruhlarda talabalar soniga mos ishchi stollar bilan ta'minlanadi.

-Har bir stolda 2 talaba laboratoriya ishini bajaradi.

Ishchi stolda qo'yidagi jihoz va reaktivlar bo'lishi kerak;

-Mikroskop,

-Shtativlar,

-Immersion yog'

-Moslangan ko'prikchalar,

-Spirt lampasi spirti bilan,

-Pipetkalar,

-Bakteriologik qovuzloq,

-Suv,

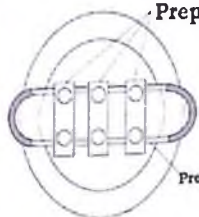
-Buyoqlar to'plami,

-Dizenfeksiyalovchi suyuqlik

-Filtr qog'ozlar,

solingan eksikator.

-Buyum oynasi,



Preparatlar

Preparatlarni qo'yish uchun moslama



-Bundan tashqari, har ikki talaba uchun bittadan probirkada amaliy mashg'ulotda bajarilishi kerak bo'lgan mikrob kulturasi.



SURTMA TAYYORLASH



Zich muhitda o'stirilgan koloniyalardan surtma tayyorlash.

1. Preparat tayyorlash uchun yog'sizlantirilgan buyum oynachasi olinadi
2. Uning markaziga bir tomchi suv yoki natriy xlorning izotonik eritmasi tomiziladi
3. Qovuzloq alanga ustida vertikal holatda cho'g'lantirilib sterilanadi.
4. Petri kosachasi qopqog'i qisman ochilib mikroblar o'stirilmagan oziq yuzasiga qovuzloq tekkizilib sovutiladi.
5. Mo'ljallangan bakteriya koloniyasiga qovuzloq ohista surtilib, ehtiyotlik bilan olinadi va Petri kosachasi qopqog'i yopib qo'yiladi.
6. Buyum oynachasiga tomizilgan suyuqlik bilan aralashtirilib, 1,0 – 1,5 sm diametrda yoyilgan surtma tayyorlaniladi.
7. Preparat tayyorlangandan so'ng qovuzloq albatta spirt lampasi alangasida cho'g'lantirilib sterilanadi.

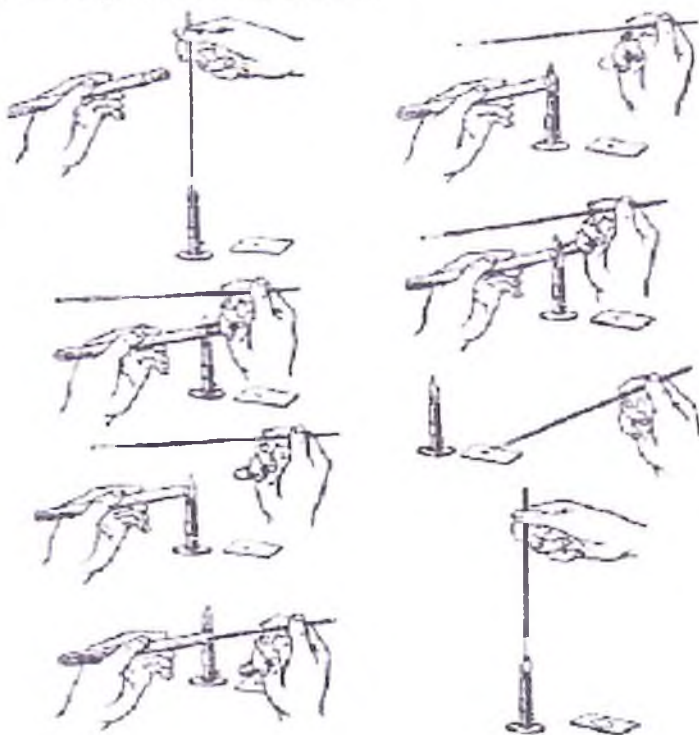


Suyuq muhitda o'stirilgan bakteriya kulturasidan surtma tayyorlash.

1. Preparat tayyorlash uchun yog'sizlantirilgan buyum oynachasi olinadi
2. Qovuzloq alanga ustida vertikal holatda cho'g'lantirilib sterilanadi.
3. Probirkani tiqini qovuzloq tutgan qo'lning IV, V bamoqlari bilan kaftga siqib burab, chiqarib olinadi.
4. Probirka og'zining chetlari alangada biroz qizdiriladi,
5. Qovuzloq asta - sekin probirka ichiga kiritiladi, ichki devorga tegizilib sovutiladi,
6. Sekin-asta harakat qilinib material (parda, cho'kma, devori yoki suyuqlikdan) olinadi.
7. Proibrka chetlari qizdirilib, tiqin (probka) bilan bekitiladi.

8. Buyum oynachasiga markazida 1,0 – 1,5 sm. diametrda yoyilgan surtma tayyorlaniladi.

9. Preparat tayyorlangandan so'ng qovuzloq albatta spirt lampasi alangasida cho'g'lantirilib sterillanadi.



Diqqat!

✓ Agar surtma qalinligi bir tekisda bo'lmasa, bakteriya hujayralarining surtmadagi o'zaro munosabatda joylashishidek muhim morfologik belgilari ko'rinmaydi.

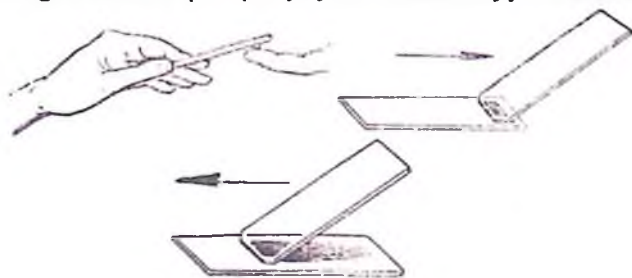
✓ Agar tekshirilayotgan material suyuq muhitda bo'lsa, u holda uni qovuzloq bilan to'g'ridan-to'g'ri buyum oynasiga tomizilib surtma tayyorlanadi.



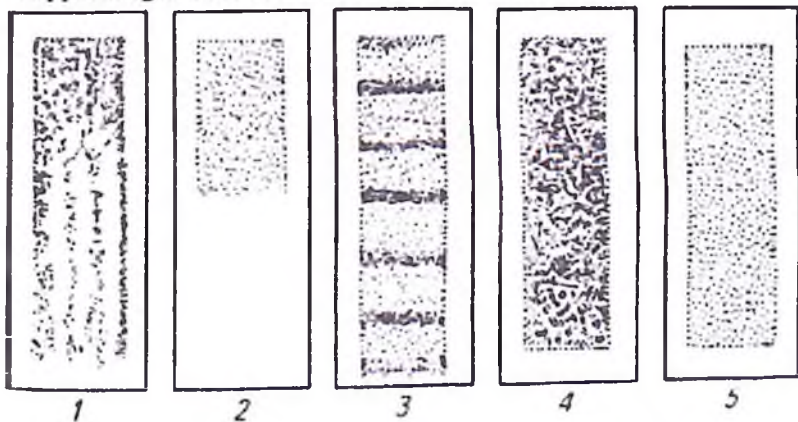
Qon tomchisidan yupqa surtma tayyorlash.

1. Preparat tayyorlash uchun yog'sizlantirilgan buyum oynachasi olinadi
2. Buyum oynachasining bir chetiga qon tomiziladi

3. Ikkinchi buyum oynachasi 45° qiyalik holatida qonga tekkizilib oldinga surish orqali qon yoyilib surtma tayyorlaniladi.



Tayyorlangan surtma bir tekis bo'lishi talab etiladi:



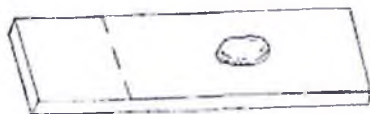
1-yog'sizlantirilishi yetarlicha bo'lmagan oynachadagi surtma; 2-qisqa – yetarlicha bo'lmagan surtma; 3-notekis surtma; 4-qalin tayyorlangan surtma; 5-to'g'ri tayyorlangan surtma



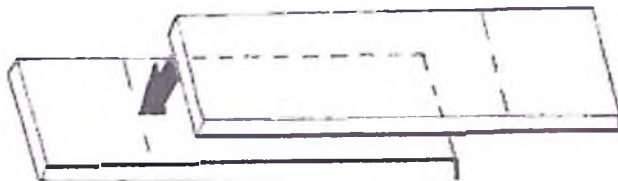
Yiring, balg'am ashyolaridan surtma tayyorlash.

1. Preparat tayyorlash uchun yog'sizlantirilgan buyum oynachasi olinadi

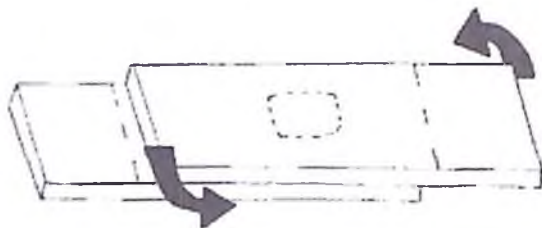
2. Buyum oynachasining 3/2 qismiga yiring (balg'am) ashyosi qo'yiladi.



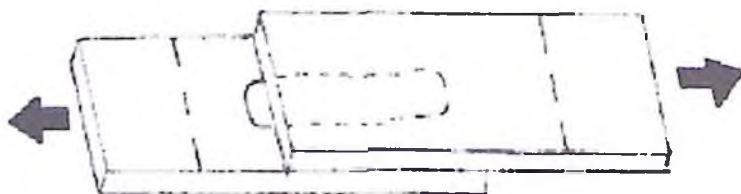
3. Ikkinchi buyum oynachasi 3/2 qismi bilan yopiladi.



4. Ikkinchi oynacha yaxshilab siqilgan holda bir marta (360°) ga aylantiriladi.

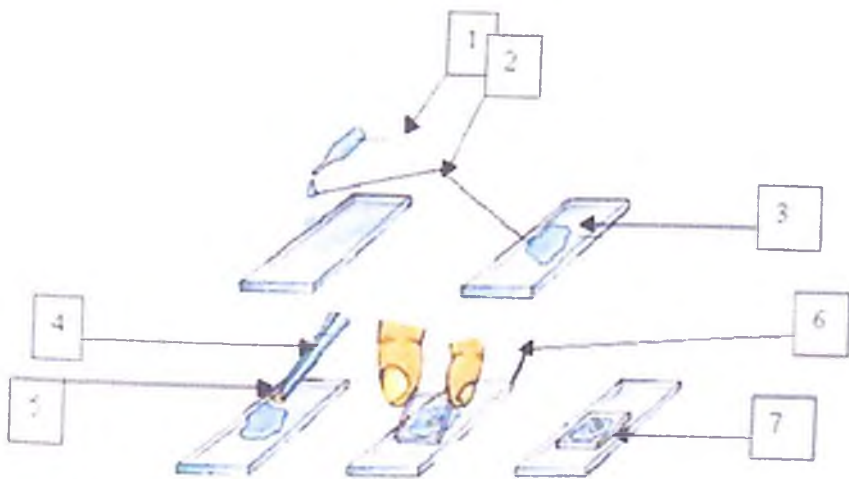


5. Ikkala oynachalar yaxshilab siqilgan holda ikki tomonga surilib ajratiladi.



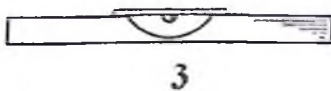
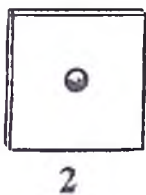
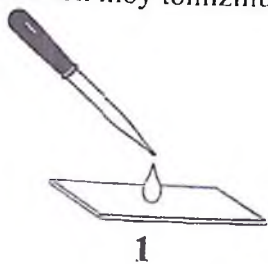
Ezilgan tomchi preparatini tayyorlash.

1. Preparat tayyorlash uchun yog'sizlantirilgan buyum oynachasi olinadi.
2. Buyum oynachasi (3) markaziga 1 tomchi tekshirilayotgan ashyo (1,2) tomiziladi.
3. Surtkich (4) yordamida vazelin moyi (5) surtiladi.
4. Yopqich oynacha (6) ehtiyotkorlik bilan yopiladi
5. Preparat tayyor holatga kelgach (7) immersion moy tomizilib mikroskop ostida ko'riladi



Osilgan tomchi preparatini tayyorlash.

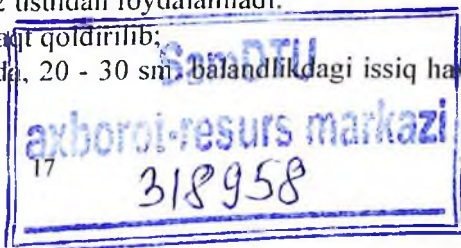
1. Preparat tayyorlash uchun yopqich oynacha markaziga bir tomchi mikrob tutuvchi suyuqlik tomiziladi
2. Maxsus chuqurchali buyum oynachasi olinib chuqurcha atrofiga vazelin moyi surtiladi.
3. Yopqich oynachadagi tomchi ustiga chuqurchali tomoni bilan ehtiyotkorlik bilan yopiladi.
4. Yopqich oynachali tomoni aylantirilib yuqoriga ag'dariladi va immersion moy tomizilib mikroskop ostida ko'riladi



Surtmani quritish:

Surtmalarni quritish uchun 2 usuldan foydalaniladi:

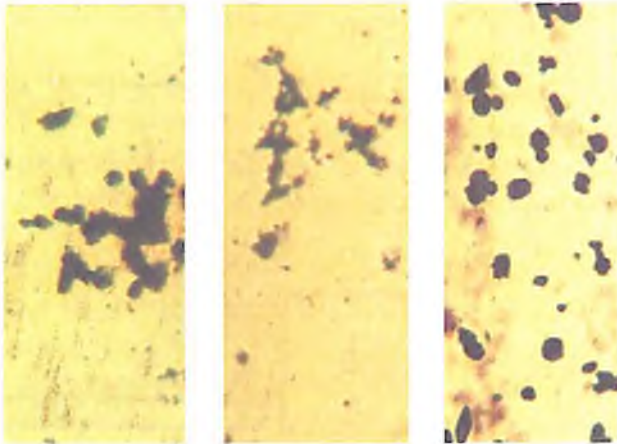
- Xona haroratida uzoqroq vaqt qoldirilib;
- Spirt lampasi alangasi ustida, 20 - 30 sm balandlikdagi issiq havo oqimida.





Diqqat!

Spirt lampasi alangasining yuqori haroratida (5 – 10 sm balandlikda) tez quritish bakteriya hujayrasini deformatsiyaga uchratib, bakteriya shaklini yoʻqolishiga va muhim morfologik belgilari oʻzgarib ketishiga sabab boʻladi:



SURTMANI FIKSATSIYA QILISH:

Surtmalarni fiksatsiya qilishdan maqsad:

- Bakteriyalarni o'ldirish;
- Bakteriyalarni buyum oynachasiga yopishtirish;
- Bakteriyalarning buyoq olishini yaxshilash.

Surtmalarni fiksatsiya qilish usullari:

1. Spirt lampasi alangasi ustida fiksatsiya qilish.
2. Maxsus fiksatsiyalovchi suyuqliklarda fiksatsiya qilish.

Spirt lampasi alangasi ustida fiksatsiya qilish.

Diqqat!

Spirt lampasi alangasi ustida fiksatsiya qilish Gramm musbat va hujayra devori nisbatdan mustahkam bo'lgan gram manfiy bakteriyalarni aniqlashda qo'llaniladi. Sodda hayvonlar, spiroxetalar, hujayra ichidagi mikroorganizmlarni o'rganishda va qon hujayralari bor surtmalarda *bunday usul mumkin emas!*



Spirt lampasi alangasi ustida fiksatsiya qilish texnikasi.

Surtma preparati bor oynacha (surtma yuqoriga qaratilgan holda) shoshilmasdan – asta - sekin spirt lampasi alangasiga tekkizilgan holda, gorizantal tebranma harakat qilinib 3 marotaba o'tkaziladi.

Ikkinchi qo'l musht qilinib uning yuzasiga tekkizilib nazorat qilinadi. Bu vaqt oynachaning harorati 80 C atrofida qizdirilgan bo'lishi kerak.



Maxsus fiksatsiyalovchi suyuqliklarda fiksatsiya qilish.

Sodda hayvonlar, spiroxetalar, hujayra ichidagi mikroorganizmlarni o'rganishda va qon hujayralari bor surtmalar maxsus fiksatsiya qiladigan suyuqliklarning birortasiga botirilib qo'yiladi:

- metil yoki etil spirtida - 5 – 15 daqiqa
- Nikiforov aralashmasi - 10 daqiqa
- suleymali spirt - 10 daqiqa



SURTMANI ODDIY USULDA BO'YASH:

-Faqat bitta buyoqdan foydalanilsa – oddiy usul hisoblanadi.
Bunda bakteriyalarning shakli, joylashishi nisbiy o'lchami (ayrim hollarda kiritmalari) o'rganiladi.



Odiy usulda bo'yash texnikasi.

1. Fiksatsiyalangan surtma ustiga biror bir anilin buyog'i (fuksin, safronin, metilviolet, gensian violet, metilin ko'ki) tomiziladi;
2. 1 - 3 daqiqa kutiladi
3. Suv bilan yuviladi.
4. Filtr qog'ozini bilan oynacha tagi surtilib, surtma bor tomoni-ustidan bostirib-shimdirilib quritiladi.

IMMERSION SISITEMALI OPTIK MIKROSKOPIDA ISHLASH

Immersion sistemali mikroskoplar kichik o'lchamli mikroorganizmlarni ($0,2 \times 0,2$ mkm dan katta bo'lgan ob'ektlarni) ko'rsata olish xususiyati bilan qadirlidir.

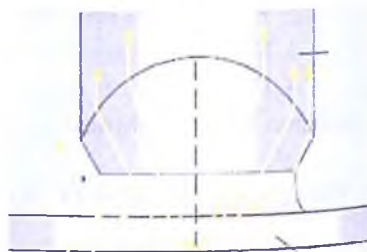
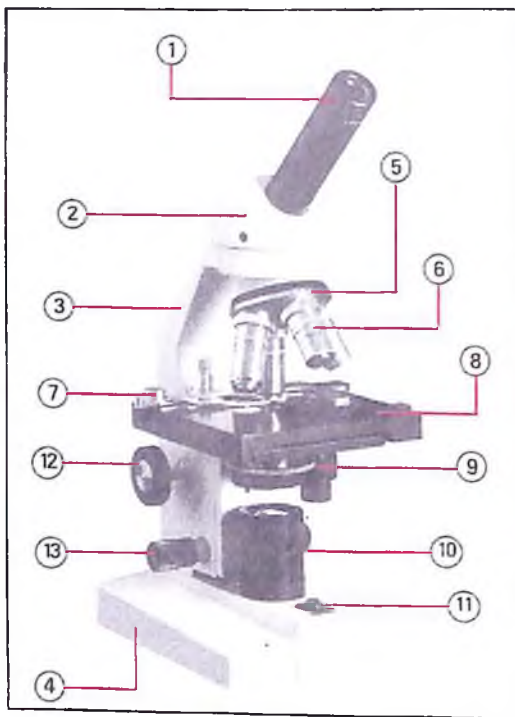
Immersion ob'ektivlarning quruq obek'tevlarga nisbatan konstruktiv farqi shundaki, bu ob'ektivlar frontal linzasining yuzasi kichikdir. Shuning uchun yorug'lik nuriga talab yuqori.

Yorug'lik nurining miqdorini oshirish uchun qo'shimcha kondensor moslamasi (1-rasm-chapda, 5-9 punkitlar) o'rnatilgan. Bu moslama yorug'lik nurini yig'ib bir nuqta (surtma preparati) ga tushirib berish uchun xizmat qiladi.

Shunga qaramasdan yorug'lik nuri buyum oynachasidan chiqish davrida sochilib ketishi yuz beradi va ob'ektivga tushuvchi nurning miqdori kamayadi. (1-rasm, o'ngda).

Buyum oynachasini kesib o'tuvchi nurlarning sochilmasdan ob'ektivgacha yetib kelishini ta'minlash uchun oynachaning nur sindirish ko'rsatgichi bilan teng bo'lgan immersion (kedr) moyi tomiziladi va ob'ektiv moyga botirilgan holda preparat o'rganiladi. Shuning uchun bunday mikroskoplar immersion sistemali mikroskoplar deyiladi.

Immersion obektivlar 90, 100 raqamlari, oil – so'zi yoki tekis qora chiziq bilan markerlangan bo'ladi.



Immersion sistemadagi nurlar yunalishi sxemasi.

Yorug'lik mikroskopining tuzilishi:

1 – okulyar; 2 –tubusni ushlab turadigan tutqich; 3 – shtativ; 4 – asos; 5 – ob'ektivlar revolveri; 6 – ob'ektivlar; 7 – kordinat stolchasi; 8 – buyum stolchasi; 9 – kondensor; 10 – yoritgich; 11– yoqish va o'chirish uskinasi; 12 – makrometr burama dastasi; 13 – mikrometr burama dastasi;

IMMERSION SISTEMALI MIKROSKOPDA ISHLASH TEXNIKASI

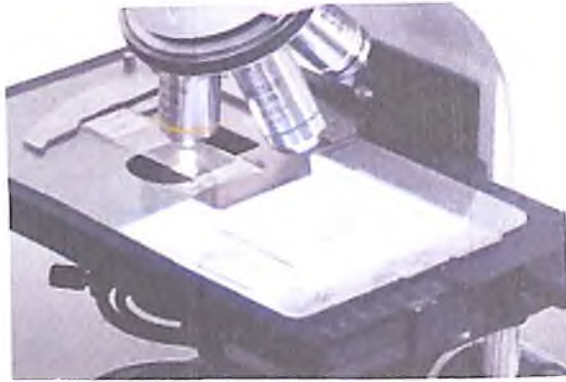
1. Yorug'lik mikroskopi ishchi va yorug'likka qulay joyga o'rnatiladi.
2. Kondensor dastagi buralib to'liq ko'tariladi (1-rasm, 9 - punkt)
3. Kondensor diafragmasi buralib to'liq ochiladi
4. Kondensorning yuqori linzasiga qaragan holda yorug'likni eng qulay holatga keltiriladi.
5. Mikroskop revolveri buralib 90 (yoki 100) obektiv o'rnatiladi.



6. Bo'yalgan va quritilgan surtma preparati ustiga bir tomchi immersion moy tomiziladi.



7. Surtma preparati mikroskop buyum stolchasiga o'rnatiladi (1-rasm, 2,3,4 - punkitlar).



8. Yondan qaragan holda makrovintni burab obektiv surtma preparati ustidagi moyga botguncha tushiriladi.



9. Yondan qaragan holda makrovintni burab obektiv surtma preparati ustidagi moydan uzmasdan bir oz ko'tariladi.

10. Mikrovint yordamida obekt topiladi va kondensor, undagi diafragma maksimal to'g'rilanadi.

11. Buyum stolchasini suruvchi maxsus dastaklar buralib surtmaning eng yaxshi joyi topiladi.

12. **Ishni tugatish.** Obektiv ko'tariladi, preparat olingach obektiv moyi tozalab artib qo'yiladi.

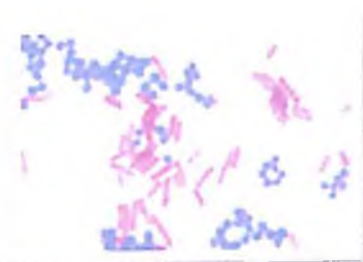
GRAM USULIDA BO'YASH

QO'LLANISH MAQSADI:

Fiksatsiya qilingan surtmada gram musbat va gram manfiy bakteriyalarni differenziatsiya qilish.

KERAKLI INGREDIENTLAR:

- Gensian binafsha (filtr qog'oziga shimdirilgan)
- Lyugol eritmasi
- 96% li etil spirti
- Fuksinning suvli eritmasi
- Vodaprovod suvi



GRAM USULIDA BO'YASH TEXNIKASI

1. Fiksatsiya qilingan surtmaga gensianviolet shimdirilgan filtr qog'ozini qo'yiladi va pipetkada bir-ikki tomchi suv tomizilib 1-2 daqiqa bo'yaladi.

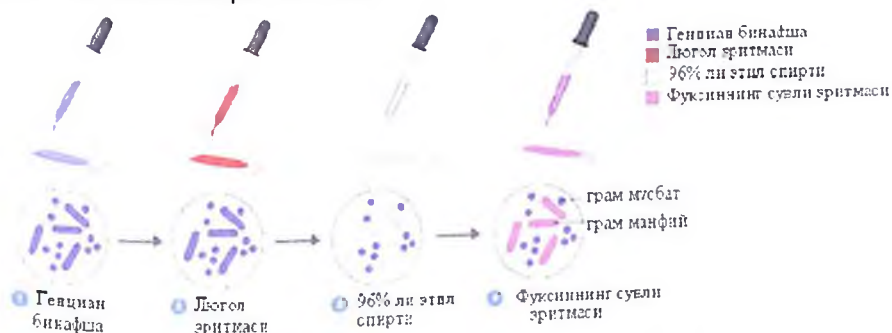
2. Filtr qog'ozini olib tashlanib surtma yuzasiga bir necha tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va 1-2 daqiqa ushlab turiladi.

3. Lyugol eritmasi tukib tashlanib surtma 96° etil spirti bilan rangsizlantiriladi (surtmadan bo'yoq chiqmay qolguncha) o'rtacha 30-40 soniya (sekund).

4. Surtma suv bilan yuvib tashlanadi.

5. Surtma qaytadan fuksinni suvli eritmasi bilan bo'yaladi (2-3 daqiqa).

6. Surtmadan fuksin tukib tashlanib yaxshilab suv bilan yuviladi va quritilib mikroskopda ko'riladi.



Diqqat! Gram usulda bo'yalganda xatoliklarga yo'l qo'ymang!

- surtmani keragidan ortiq vaqt etil spirtida ushlab turish gram musbat bakteriyalarga singdirilgan gensianvioletni yuvilib ketishi va rangsizlanishiga olib keladi. Natijada gram musbat bakteriyalar ham birinchi bo'yoqni yo'qotib, ikkinchi bo'yoq – fuksin bilan qizil ranga bo'yalishi mumkin.

- surtmani etil spirtida kam vaqt ushlab turish gram manfiy bakteriyalarning yetarlicha rangsizlanmay qolishi va oqibatda gram manfiy bakteriyalarning ham siyoh rangida qolib ketishiga olib keladi.

IZOH:

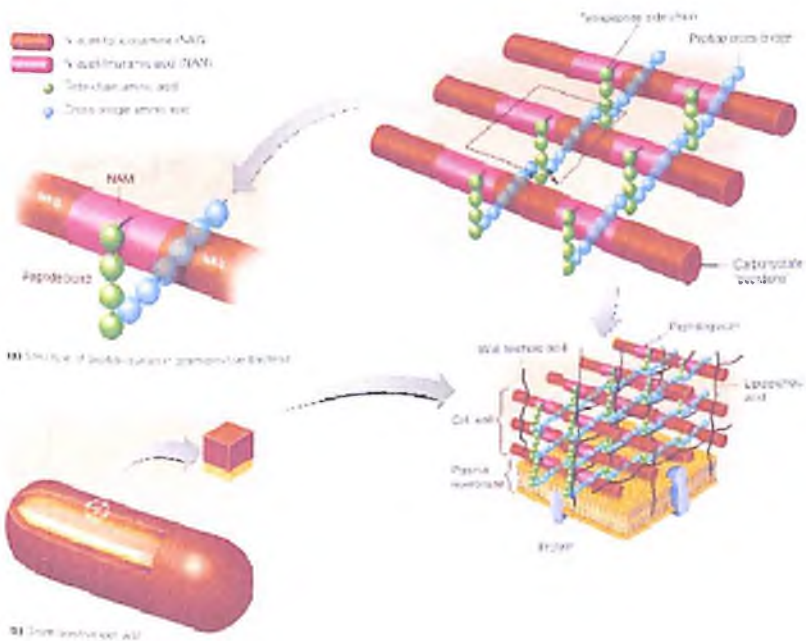
Hujayra devori turli bakteriyalarda turli tuzilishga ega bo'lib, o'ziga bo'yoqlarni qabul qilishiga qarab ikki guruhga bo'linadi: gram musbat (siyoh rang) va gram manfiy (qizil). Bakteriyalarning bu xususiyati *tinktorial* belgisi deb ataladi.

Hujayra devori asosini peptidoglikan (murien) tashkil qiladi. Peptidoglikan geteropolimer bo'lib ketma-ket keluvchi disaxarid guruhlaridan tarkib topgan. Peptidoglikan asosini N - atsetil glyukozamin va N - atsetil muram kislotalari tashkil qiladi, bundan tashqari peptidoglikan tarkibida teyxot kislotalari, Mg²⁺ ionlari va faqat prokariot hujayra devorida uchrovchi diaminopimelin kislotalari mavjud.

GRAM MUSBAT BAKTERIYALARNING HUJAYRA DEVORI

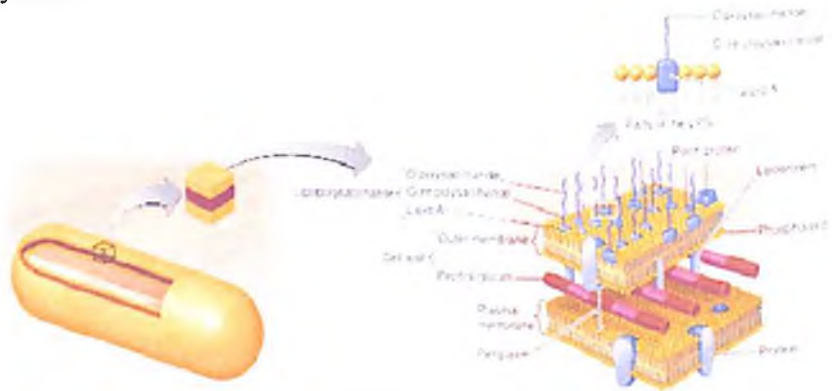
Gram musbat bakteriyalarning hujayra devori ko'p qavatli peptidoglikandan (90%) tarkib topgan bo'lib, tarkibida suvda eruvchi teyxot kislota polimeri uchraydi. Teyxot kislotasi (yunoncha τεῖχος - teichos- devor) hujayra devorini ba'zida 50% quruq massasini tashkil qiladi. Ikki xil shaklda uchraydi - ribitolteyxot va glitsirinteyxot kislotasi. Har bir tur bakteriyani hujayra devorida faqat bir tipdagi teyxot kislotasi uchraydi va gram (+) bakteriyalarni yuza antigenini hosil qiladi. Gram musbat (+) bakteriyalarini hujayra devori lipopolisaxaridlar tutmaydi, lekin turli oqsil strukturalari tutishi mumkin.

Gram usulida bo'yalganda gram (+) bakteriyalar gension violet teyxot kislota bilan Mg^{+} ionlari ishtirokida mustahkam, spirtida erimaydigan kompleks hosil qiladi va o'ziga fuksinni qabul qilmaydi, hujayra siyoh (binafsha) rangda bo'yaladi.



GRAM MANFIY BAKTERIYALARNING HUJAYRA DEVORI

Gram manfiy bakteriyalarning hujayra devori, gram (+) bakteriyalarga nisbatan yupqa bo'ladi, hujayra devorida peptidoglikan 20% dan oshmaydi, o'rtacha 10 - 12% bo'ladi, peptidoglikan tarkibida teyxot kislotasi uchramaydi, peptidoglikan gr (-) bakteriyalarda hujayra devoriga shakl beradi (taranglik). Asosan gr (-) bakteriyalarning hujayra devori 3 qavatdan iborat, sitoplazmatik mebranadan keyin peptidoglikan qavat, fosfolipidli oqsilli qavat va lipopolisaxaridli (LPS) tashqi qavat. Shuning uchun bu guruh bakteriyalar gram usulda bo'yalganda gension violet bilan kompleks hosil qilmaydi va spirtida gension violet yuvilib ketadi va rangsizlanadi, qayta fuksinni qabul qilib qizil rangga bo'yaladi.



MISOLLAR:

Gram musbat bakteriyalardan na'munalar:



Stafilokokklar:
(Staphylococcus aureus)

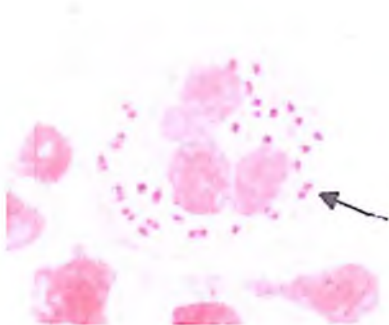


Streptokokklar:
(Streptococcus pyogenes)

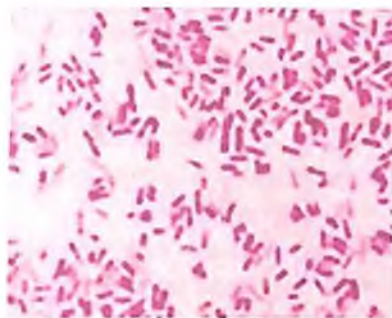


Pnevmonokokklar
(Streptococcus pneumoniae)

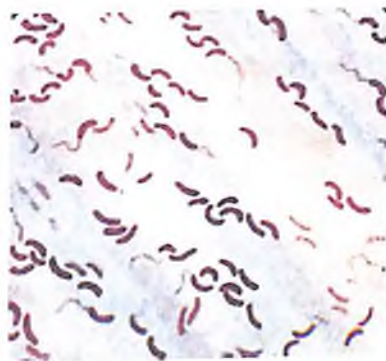
Gram manfiy bakteriyalardan na'munalar



Gonokokk va meningakokklar
(*Neisseria gonorrhoeae*)
(*Neisseria meningitidis*)



Ichak tayoqchasi
Escherichia coli (*E.coli*)



Vabo vibrioni
(*Vibrio cholerae*)

NEYSSER USULIDA BO'YASH

QO'LLANISH MAQSADI:

Bakteriya hujayrasidagi volyutin donachalarining mavjudligi va ularning joylashgan joyiga ko'ra bakteriyalarni differentsiatsiya qilish.

KERAKLI INGREDIENTLAR:

- Neysser ko'ki atsetati
- Lyugol eritmasi
- Vezuvin (yoki xrizoidin)ning suvlii eritmasi.
- Vodoprovod suvi

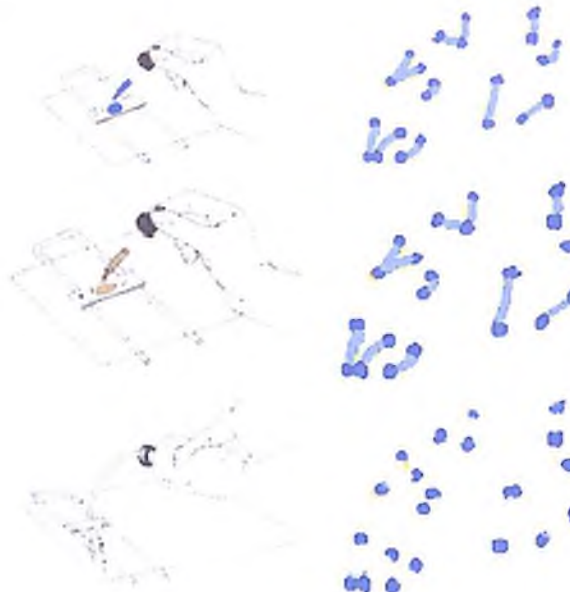
NEYSSER USULIDA BO'YASH TEXNIKASI

1. Fiksatsiyalangan surtmaga Neysser ko'ki atsetati tomizilgach 2-3 daqiqa ushlab turiladi.
2. Sinka atsetati ustidan lyugol eritmasi tomizilgach 10-30 sekun kutiladi.
3. Suv bilan yuvib tashlanadi.
4. Surtma vezuvinning suvdagi eritmasi yoki xrizoidin bilan 0,5 - 1 minut bo'yaladi.
5. Suv bilan yuvilib quritilib mikroskopda ko'riladi.

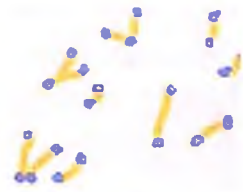
1. Neysser (sinkasi)
ko'ki asetati
2 - 3 daqiqa

2. Lyugol eritmasi
tomizish
10 - 30 sekun

3. Suv bilan yuvish



4. Vezuvin (xrizoidin) bilan bo'yash
0,5 - 1 minut



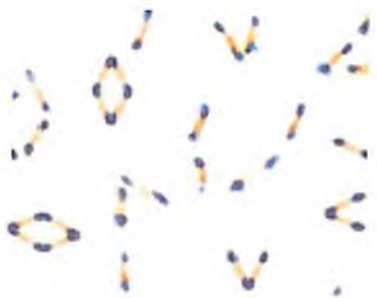
5. Suv bilan yuvish, filtr qog'ozida yordamida suv shimdirib olib quritish.



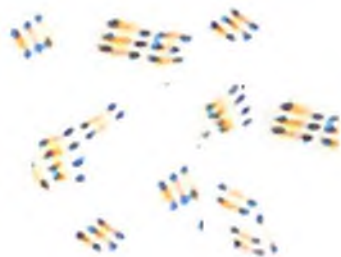
IZOH:

Volyutin – zahiradagi fosfor va azot birikmalarini tutuvchi polifosfatlardir. Volyutinining xarakterli xususiyati – asosli (ishqorli) taʼbati boʻlib, metaxromatik boʻyalishi, yaʼni, boʻyalganda hujayraning boshqacha ranga boʻyalishidir.

Neysser usulida boʻyalganda volyutin donachalari ishqoriy reaksiyaga ega boʻlganligi uchun Neysser koʻki (atsetati) boʻyogʻida toʻq koʻk rangga boʻyaladi. Hujayra sitoplazmasi, nordon muhitli boʻlganligi uchun ishqoriy boʻyoq vezuvinni qabul qilib sariq rangga boʻyaladi.



Bugʻma (difteriya)
qoʻzgʻatuvchisi
Corynebacterium
diphtheriae



Difteroidlar
Corynebacterium
pseudodiphtheriae

Bug'ma (difteriya) kasalligi



Bug'ma (difteriya) kasalligi



LEFFLER USULIDA BO'YASH

QO'LLANISH MAQSADI:

1. Bakteriya shaklini o'rganish.
2. Valyutin donachalarining mavjudligi va joylashgan joyiga ko'ra bakteriyalarni differensiatsiya qilish.

KERAKLI INGRIEDENTLAR:

- Leffler ko'ki bo'yog'i.

LEFFLER USULIDA BO'YASH TEXNIKASI

1. Fiksatsiyalangan surtmaga Leffler bo'yog'i tomizilgach 2 - 3 daqiqa ushlab turiladi.
2. Surtma suv bilan yuvib tashlanib, quritilib mikroskopda quriladi.

1. Leffler bo'yog'i
(ko'ki)
2 - 3 daqiqa



2. Suv bilan yuvish



GINS – BURRI USULIDA BO‘YASH.

QO‘LLANISH MAQSADI:

Bakteriyalarda kapsulaning mavjudligi va ularning kapsula bilan o‘ralish xarakteriga ko‘ra bakteriyalarni differensiatsiya qilish.

KERAKLI INGRIEDENTLAR:

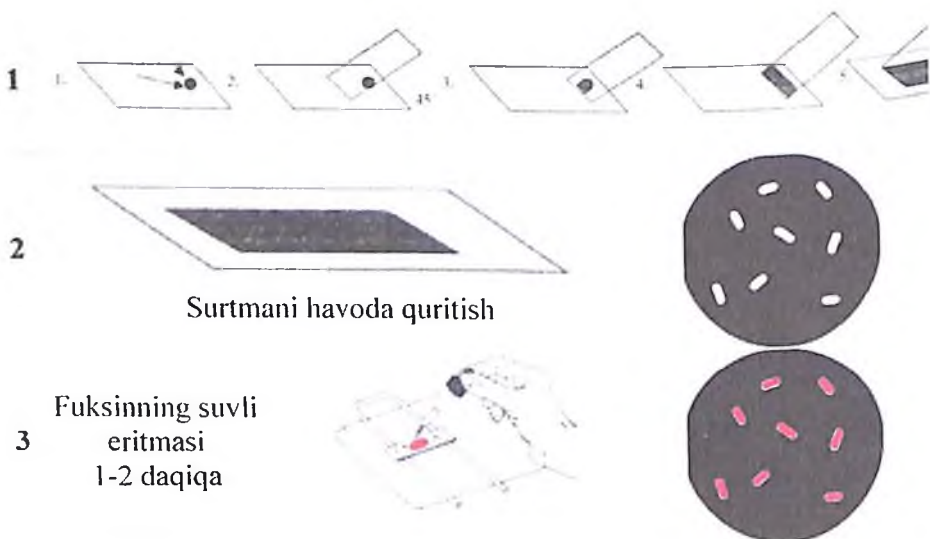
- Qora (xitoy) tush
- Fuksinning suvli eritmasi
- Vodoprovod suvi

GINS-BURRI USULIDA BO‘YASH TEXNIKASI

1. Bir tomchi mikrob, bir tomchi tush bilan aralashtiriladi, bir tomoni silliqlangan oynacha bilan qon surtmasiga o‘xshash surtma tayyorlanadi, so‘ngra u quritiladi va fiksatsiya qilinadi.

2. Surtmaga 1 – 2 daqiqa davomida fuksinning suvli eritmasi tomiziladi,

3. Suv bilan yuviladi, havoda quritiladi va mikroskop ostida ko‘riladi. Bunda bakteriyalar qizil rangga bo‘yaladi, bo‘yalmagan kapsulalar esa qora-pushti rang ostida rangsiz holda ajralib turadi.



- Suv bilan yuvish, filtr qog'ozida yordamida suv shimdirib olib quritish.



Bunda qora fonda kapsula rangsiz holda bo'lib, bakteriya hujayralari fuksin bilan qizil bo'yaladi.

IZOH:

Bakteriyalarning kapsulasi tarkibida ko'p miqdorda suvning erkin molekulalari bo'lganligi sababli bo'yoqlarni ushlab qola olmaydi. Shuning uchun suvda yuvilishi qiyin bo'lgan qora tush buyog'i bilan maydon (fon) qora ranga, bakteriya hujayralari fuksin bo'yog'i bilan qizil rangga, kapsula esa, hujayra va qora fon oralig'ida rangsiz tiniq yorug'lik ko'rinishida aniqlanadi.

OLT USULIDA BO'YASH:

QO'LLANISH MAQSADI:

Bakteriyalarning kapsulasini aniqlash.

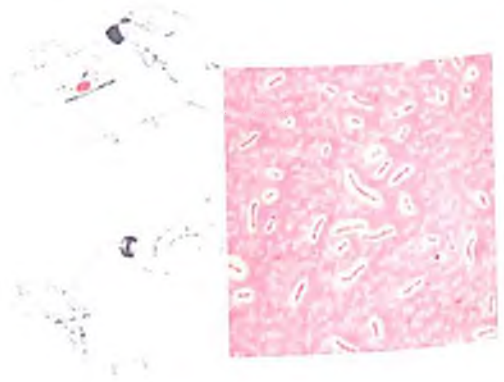
KERAKLI INGREDIENTLAR:

- Safraninning 2%-li eritmasi
- Vodoprovod suvi

OLT USULIDA BO'YASH TEXNIKASI

2. Fuksinning suvli eritmasi
(1-2 min)

3. Suv bilan yuvish, filtr
qog'ozi yordamida suv
shimdirib olib quritish.



1. Fiksatsiyalangan surtmaga qizdirilgan safraninning 2%-li eritmasi tomizilgach 5 - 7 daqiqa ushlab turiladi.
2. Suv bilan tezda yuvilib quritiladi.

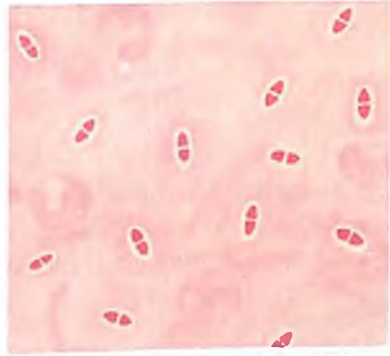
IZOH:

Bakteriyalarning hujayralari qizil rangda, kapsula esa, rangsiz yoki sarg'ish – pushti rang ko'rinishida aniqlanadi.

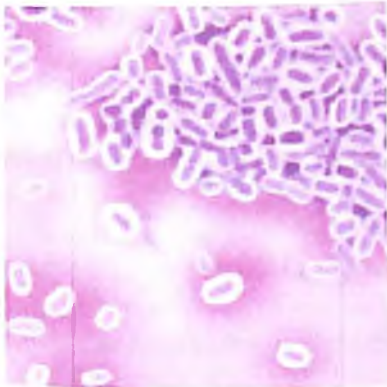
MISOL:



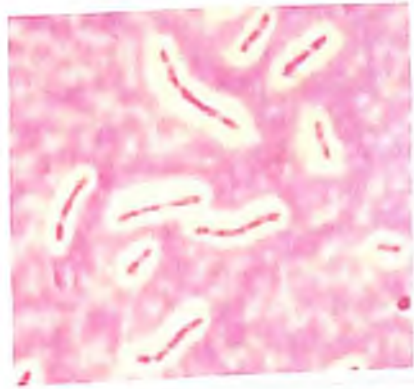
Klebsiellalar
(*Klebsiella pneumoniae*)



Pnevmonokokklar
(*Streptococcus pneumoniae*)



Gazli gangrena
qo'zg'atuvchisi
(*Clostridium perfringens*)



Kuydirgi (Sibir yarasi)
qo'zg'atuvchisi
(*Bacillus anthracis*)

SIL – NELSEN USULIDA BO‘YASH.

QO‘LLANISH MAQSADI:

Kislota, ishqor va spirtga chidamli bakteriyalarni aniqlash uchun qo‘llaniladi.

KERAKLI INGRIEDENTLAR:

- Fuksinning karbolli eritmasi
- Sulfat kislotaning 5%-li eritmasi (yoki NSI ning 3%-li eritmasi)
- Metil ko‘kining suvli eritmasi
- Vodoprovod suvi

SIL - NELSEN USULIDA BO‘YASH TEXNIKASI.

1. Fiksatsiyalangan surtma ustiga filtr qog‘ozi qo‘yilib fuksinning karbolli eritmasi tomiziladi
2. Bug‘ hosil bo‘lguncha alanga ustida qizdiriladi va sovutiladi, bu harakat uch martagacha takrorlanadi.
3. Filtr qog‘oz olib tashlanadi va surtma suv bilan yuviladi.
4. Surtmani rangsizlantirish uchun 5% li sulfat kislota (yoki 3% spirtli xlorid kislota) eritmasidan tomiziladi va 1 – 2 daqiqa ushlab turiladi.
5. Suv bilan yuviladi.
6. Surtma metil ko‘kining suvli eritmasi bilan 3 – 5 daqiqa davomida qo‘shimcha bo‘yaladi.
7. Suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskop ostida ko‘riladi

1. Fiksatsiyalangan surtma ustiga filtr qog‘ozi qo‘yilib fuksinning karbolli eritmasi tomiziladi

2. Bug‘ hosil bo‘lguncha alanga ustida qizdiriladi va sovutiladi, bu harakat uch martagacha takrorlanadi.



3. Filtr qog'oz olib tashlanadi va surtma suv bilan yuviladi.



4. Surtmani rangsizlantirish uchun 5% li sulfat kislota (yoki 3% spirtli xlorid kislota) eritmasidan tomi ziladi va 1 – 2 daqiqa ushlab turiladi.



5. Suv bilan yuvilgach metil ko'kning suvli eritmasida 3 - 5 daqiqa bo'yaladi.



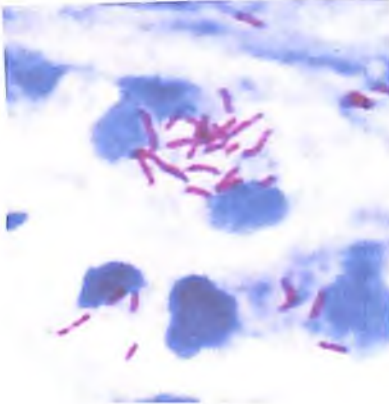
6. Suv bilan yuvish, filtr qog'ozni yordamida suv shimdirib olib quritilgach mikroskop ostida ko'riladi.



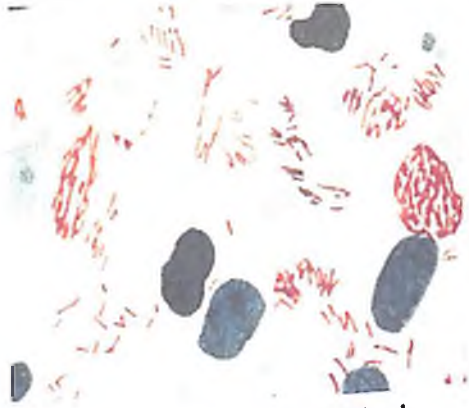
IZOH:

Kislota chidamli bakteriyalar hujayra devori va sitoplazmasida lipid (yog'lar va yog' kislotalari), mo'm va oksikislotalar, xususan mikol karbol kislotalari ko'p bo'ladi. Bu kislotalar hujayraning tinktorial xususiyatini oshiradi. Yuqori konsentratsiyali fuksin bo'yog'i qizdirish tufayli kislota chidamli bakteriyalar qizil rangga bo'yaladi. Sulfat kislota bilan ishlov berilganda kislota chidamsiz bakteriyalar rangsizlanadi. Metil ko'ki bilan qo'shimcha bo'yalganda rangsizlangan kislota chidamsiz bakteriyalar ko'k rangga bo'yaladi.

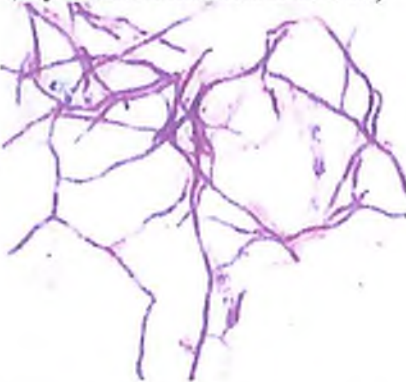
MISOLLAR:



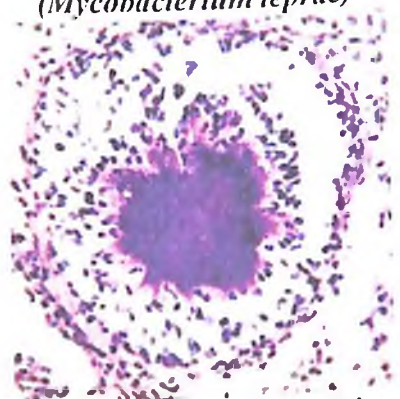
Sil qo'zg'atuvchilari
(*Mycobacterium tuberculosis*)



Moxov qo'zg'atuvchilari
(*Mycobacterium leprae*)



Aktinomikoz qo'zg'atuvchilari
(*Actinomyces*)



Aktinomitsit "Druza"si
(*Actinomyces*)

OJESHKO USULIDA BO'YASH.

QO'LLANISH MAQSADI:

Bakteriyalarning sporasini aniqlash uchun qo'llaniladi.

KERAKLI INGREDIENTLAR:

- Vodород xloridning 0,5%-li eritmasi
- Fuksinning karbolli eritmasi
- Sulfat kislotaning 5%-li eritmasi (yoki HCl ning 3%-li eritmasi)
- Metil ko'kinging suvli eritmasi
- Vodoprovod suvi

OJESHKO USULIDA BO'YASH TEXNIKASI.

1. Fiksatsiyalanmagan surtmaga vodorod xloridning 0,5 % li eritmasi tomiziladi va 2 - 3 daqiqa davomida gorelka alangasida qizdiriladi.



2. Kislota to'kiladi, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va gorelka alangasida fiksatsiya qilinadi.

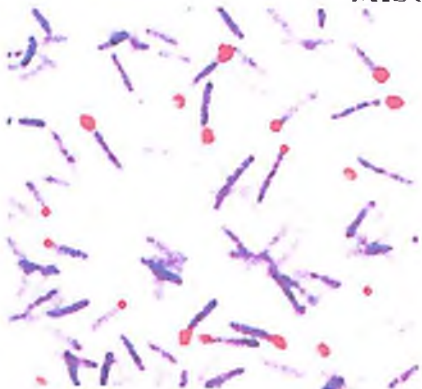


3. Preparat Sil-Nelsen usuli bilan bo'yaladi.

IZOH:

Bakteriya sporasining devorida mo'amsimon moddalar, ohak va boshqa mustahkamlovchi **minerallar ko'p bo'ladi.** Bu moddalar sporaning bo'yalishini murakkablashtiradi. Fiksatsiyalanmagan surtmaga 0,5% li vodorod xlorid kislotasi tomizilib alanga ustida qizdirilganda spora devori yumshaydi va bo'yalishi yaxshilanadi. Sporalar yumshatilgach preparat Sil-Nelsen usuli bilan bo'yaladi. Bunda, yuqori konsentratsiyali fuksin bo'yog'i qizdirish tufayli sporalar qizil rangga bo'yaladi. Sulfat kislota bilan ishlov berilganda bakteriyalarning vegetativ qismi rangsizlanadi. Metil ko'ki bilan qo'shimcha bo'yalganda rangsizlangan vegetativ qismi ko'k rangga bo'yaladi.

MISOLLAR:



Qoqshol klostridiyasi
(*Clostridium tetani*)



Gazli gangrena klostridiyasi:
(*Clostridium perfringens*)



Botulizm klostridiyasi
(*Clostridium botulinum*)



Kuydirgi (Sibir yarasi)
qo'zg'atuvchisi
(*Bacillus anthracis*)

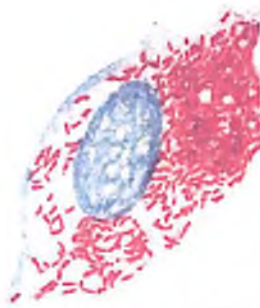
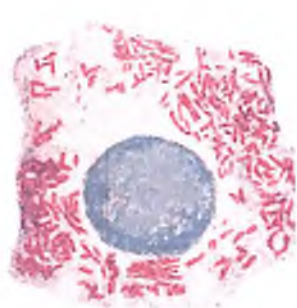
ZDRODOVSKIY USULIDA BO'YASH.

BO'YASH TEXNIKASI

1. Surtma suyultirilgan sil fuksini bilan (10 ml distillangan suvga karbolli fuksin 10 - 15 tomchi tomizilgan) 5 daqiqa davomida bo'yaladi.
2. Suv bilan yuviladi.
3. So'rtmaga 0.5% li limon kislota yoki 0.01% li vodorod xlorid kislota eritmasi tomiziladi.
4. Suv bilan yuviladi.
5. Metilen ko'ki bilan 1 daqiqa davomida bo'yaladi.
6. Preparat suv bilan yuviladi va quritiladi.

Rikketsiyalar Zdrodovskiy usuli bilan qizil rangga bo'yaladi, ichida rikketsiyalari bo'lgan hujayra sitoplazmasi havorang, yadro esa, ko'k rangga bo'yaladi.

MISOL:



Toshmali tif qo'zg'atuvchisi
Rickettsia

ROMANOVSKIY – GIMZA USULIDA BO'YASH.

QO'LLANISH MAQSADI:

Sodda hayvonlar, mikoplazma, xlamidiya, rikketsiya, spiroxeta va qon hujayralarini tutgan preparatlarni bo'yashda va undagi mikroorganizmlarni aniqlash uchun qo'llaniladi.

KERAKLI INGRIEDENTLAR:

- Romanovskiy – Gimza (azur, eozin va metilen ko'ki) buyog'i konsentrati.

ROMANOVSKIY – GIMZA USULIDA BO'YASH TEXNIKASI.

1. Surtma bo'yalishidan oldin Romanovskiy – Gimza buyog'i konsentratidan ishchi eritma tayyorlanadi: 1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo'yoq konsentrati qo'shiladi.

2. Surtmaga Romanovskiy – Gimza ishchi eritmasi tomizilib (yoki preparat ishchi eritmaga botirilib) 10 – 20 daqiqa davomida ushlab turiladi.

3. Preparat suv bilan yuviladi va havoda quritiladi.

Bunda:

- ✓ Treponema pallidum oq – pushti rangga,
- ✓ Qaytalama tif spiroxetalari binafsha rangga,
- ✓ Eritrotsitlar – pushti,
- ✓ Leykotsitlarning yadrosi – binafsha rangga bo'yaladi.
- ✓ Leptospiralar, pushti – siren rangga bo'yaladi.
- ✓ Sodda hayvonlarning yadrosi va xivchinlari to'q qizil rang, protoplazmasi och ko'k rangga bo'yaladi.

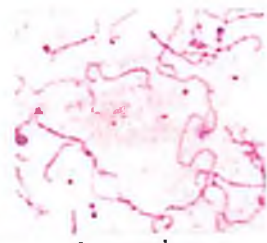
MISOL:



Zahm
qo'zg'atuvchisi
(*Treponema pallidum*)



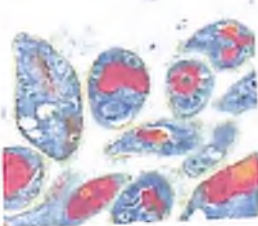
Qaytalama tif
qo'zg'atuvchisi
(*Borrelia recurrentis*)



Leptospiroz
qo'zg'atuvchisi
(*Leptospira interrogans*)



Lyamblioz
qo'zg'atuvchisi
Lamblia (L. intestinalis)



Toksoplazmoz
qo'zg'atuvchisi
(*Toxoplasma gondii*)



Trixomoniaz
qo'zg'atuvchisi
(*Trichomonas vaginalis*)



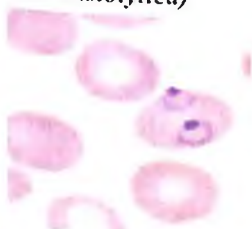
Ichburug' amyobasi
(*Entamoeba histolytica*)



Tripanosomoz
qo'zg'atuvchisi
(*Trypanosom*)



Leyshmanioz
qo'zg'atuvchisi
(*Leishmani*)



Bezgak qo'zg'atuvchisi
Plasmodium (P. Vivax)



Xlamidioz qo'zg'atuvchisi
(*Chlamydia trachomatis*)



Mikoplazmoz
qo'zg'atuvchisi
Plasmodium (P. Vivax)

MIKROORGANIZMLARNING FIZIOLOGIYASI

Bu bo'limda:

- bakteriyalarda moddalar almashinuvining tezligi, turli xil tiplari;
- tabiatdagi moddalar almashinuvida bakteriyalarning roli;
- konstruktiv metabolizm;
- bakteriyalarni oziqlanish tipi va mexanizmi buyicha tasnifi;
- autotroflar, geterotroflar, saprofitlar, absolyut va fakultativ parazitlar, prototroflar, auksotroflar;
 - oziq muhitlarga qo'yiladigan talablar;
 - oziq muhitlar tasnifi;
 - bakteriya hujayrasidagi oqsillar, nuklein kislotalar, uglevod, yog'lar biosintezining o'ziga xos xususiyatlari;
 - bakteriyalar fermentlari; fermentlar sinfi;
 - katabolitik metabolizm;
 - bakteriyalarning energiya o'zlashtirishi buyicha tasnifi;
 - kislorodli nafas olish, energiya o'zlashtirishni bir turi: chirish - oqsillarni oksidlanish yordamida parchalanishi;
 - chirishni tabiatdagi moddalar almashinuvidagi va tibbiyotdagi ahamiyati;
 - bijg'ish mahsulotlari;
 - nitratli nafas olish, anaerob nafas olish; bakteriyalarni o'sishi va ko'payishi;
 - mikroorganizmlarning hayot faoliyatida ishlab chiqargan mahsulotlari hisoblangan fermentlar, toksinlar, pigmentlari, energiya ajratishi, nur taratishini ahamiyati kabi nazariy bilimlar olinadi. Ushbu nazariy bilimlarga tayangan holda **amaliy mashg'ulotlarda** :
 - ✓ Aerob va anarob bakteriyalarning toza kulturalarini ajratib olish va identifikatsiya qilish;
 - ✓ Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini o'rganish;
 - ✓ Bakteriyalarning faglarga sezgirligini o'rganish;
 - ✓ Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini o'rganish;
 - ✓ Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini o'rganish kabi **laboratoriya ishlari** olib boriladi.

AEROB BAKTERIYALARNI O'STIRISH VA SOF KULTURALARNI AJRATIB OLISH

Mikroorganizmlar uchun ozuqa muhiti.

Mikrobiologiya fani rivojlangan sari mikroorganizmlarni o'stirish metodlari ham takomillashib bormoqda. Lui Paster davriga qadar mikroorganizmlar uchun ozuqa muhiti sifatida kaynatilgan oziqlardan foydalanib kelingan bo'lsa, Lui Paster va K.Negeli oqsilsiz ozuqa muhitini qo'llashni tavsiya etadi.

Robert Kox va F. Lyoffler qaynatma sho'rva (bulon), pepton va osh tuzidan foydalanishni tavsiya etadilar. Bunday oziq muhiti go'sht peptonli bulon (sho'rva) bo'lib, unga 1-2% quruq agar-agar qo'shiladi.

Agar-agar murakkab organik modda (agaroz va agaropektindan iborat polisaxarid) bo'lib, suv o'tlardan (agar-agar) olinadi. Tarkibida 70-75% Fe, 11-22% H₂O, 2-4% kul, 0,4-0,9% umumiy azot, 0,03-0,09% ammiakli azot uchraydi. Agar-agarining asosini kalsiy tuzlari, nordon efirlar, sulfat kislota va uglevod kompleksi - polisaxaridlar (arabinoza, glyukoza, galaktoza va boshqalar) tashkil etadi.

Agar-agar 80 - 86°C da eriydi, 26 - 40°C da qotadi. Shu xususiyati tufayli mikrobiologiyada keng foydalaniladi.



Ozuqa muhitlarini *ishlatilishiga ko'ra 3 guruhga* bo'lish mumkin:

- 1) **oddiy ozuqa muhiti:** go'sht-peptonli sho'rva, go'sht-peptonli agar va boshqalar;
- 2) **maxsus tayyorlangan ozuqa muhiti:** zardobli agar, zardobli sho'rva, ivib kolgan zardob, kartoshka, qonli agar, qonli sho'rva, asetik sho'rva va asetik agar va boshqalar misol bo'ladi;
- 3) **differensial diagnostik oziq muhiti:**

1) mikroorganizmlarning proteolitik xususiyatlarini aniqlash uchun go'sht-peptonli jelatin;

2) uglevodlarning fermentativ xususiyatlarini aniqlash uchun oziq muhiti (Giss ozig'i) misol bo'ladi;

3) gemolitik xususiyatlarni aniqlash uchun oziq muhiti (qonli agar);

4) mikroorganizmlarning qaytaruvchanlik xususiyatini aniqlash uchun oziq.

5) zarur moddalarni sintezlash xususiyati yo'q auksotrof mikroblar uchun oziq va boshqalar misol bo'ladi.



Endo muhiti



Endo muhitida
salmonella va ichak
tayoqchalari
o'stirilgan



Ploskirev muhitida
salmonella va ichak
tayoqchalari o'stirilgan

Hozirgi vaqtda ko'pgina oziq muhitlar, tarkibida mikroblarning o'sishi va ko'payishi uchun zarur bo'lgan barcha moddalarni tutuvchi quruq kukun holdagi tayyor yarim fabrikat muhitlar ko'rinishida ishlab chiqarilmoqda. Quruq kukunga suv qo'shish va qaynatish yo'li bilan muhitlar tayyorlanadi. Zarur bo'lganida ular sterillanadi.



Shunday oziqlar tarkibi murakkab bo'lib, ko'p komponentlardan tashkil topadi.

Prototroflar juda oz miqdorda uglevodlar va tuzlar bo'lgan muhitda ham o'sa oladi.

Auksotroflar esa o'z ozig'ida aminokislotalar va vitaminlar bo'lishini talab qiladi.

Ozuqa muhitlari *konsistensiyasiga ko'ra* zich (go'sht-peptonli agar, go'sht-peptonli jelatin, ivigan zardob, kartoshkali agar, tuxum oqi), yarim suyuq (0,5% go'sht-peptonli agar) va suyuq (pepton suvi, go'sht-peptonli bulon, shakarli bulon) bo'ladi.

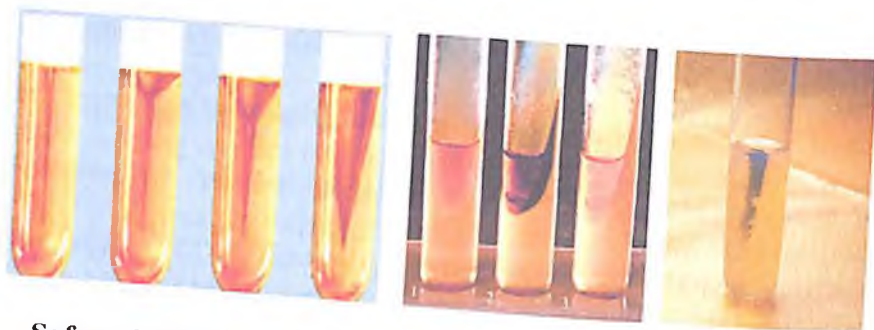
Laboratoriyada bakteriyalar probirkalarda, Petri kosachalarida va kichik shisha idishlarda o'stiriladi. Zich (qattiq) oziq muhitida bakteriyalar turli shakldagi koloniyalar hosil qiladi: qirralari tekis, tekis bo'lmagan, do'ng, ichiga botgan, yumaloq va hokazo.

Koloniyalarning diametri turlicha bo'lishi mumkin (4 – 5 mm bo'lsa katta, 2 – 4 mm bo'lsa o'rtacha, 1 – 2 mm bo'lsa kichik va 1 mm dan kichik bo'lsa mitti koloniya deyiladi). Koloniyalarning rangi ham turlicha bo'lishi mumkin, rangli, rangsiz, quruq va shilimshiq va h. k.

1. Kaloniyalar urganilayotganda:
2. *Shakli*
3. *O'lchami*
4. *Tiniqligi*
5. *Yuzasining silliqligi*
6. *Tarkibiy xislati*
7. *Rangi*
8. *Konsistensiyasi*
9. *Profili*
10. *Oziqaga botib turishi*
11. *Lyumenssentligi kabi belgilari inobatga olinadi*



Xuddi shunday jelatinani suyultirishi yoki boshqa oziq muhitlarida o'sishidagi xarakterli belgilarni ham urganish muhimdir.



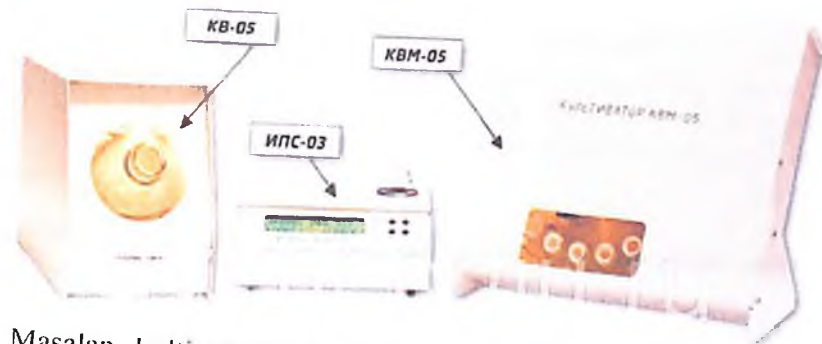
Sof va elektiv kulturalar.

Bakteriyalarning faqat bir turidagina iborat bo'lgan kultura *sof kultura* deyiladi. Sof holdagi kulturani ajratib olish ancha mashaqqatli ish, lekin shunga qaramasdan bunday kulturaning ahamiyati katta. Chunki sof holda ajratib olingan kulturada bakteriyalarning morfologiyasi, fiziologiyasini, biologik xususiyatlari va rivojlanishini aniq tekshirish imkoniyati yaratiladi. Sof kulturadan tashqari, elektiv kulturalar ham ma'lumdir. *Elektiv kultura* deb har xil turli mikroorganizmlar orasidan ayrim bir turning rivojlanishi uchun sharoit yaratishga aytiladi. **Masalan:** Bakteriyalarning elektiv kulturasini shunday yaratish mumkin:

1. Quruq pichandan 5-10 g. olinadi;
2. Ustiga 200 ml suv quyiladi va ozgina oq bo'r qo'shiladi;
3. 15-30 minut qaynatiladi.
4. Filtrlab, kichik kolbalarga oz-ozdan solinadi
5. Probirkalar og'zini paxta probka (tiqin) bilan berkitib, 25-30°C li termostatga qo'yiladi.

Mikroorganizmlarning oqib turuvchi kulturasini.

Bu usul laboratoriyada yoki ishlab chiqarish korxonalarida muhim ahamiyatga ega. Kulturali idishlarga doim yangi oziq eritmasi oqizib qo'yiladi. Ikkinchi tomondan ishlanib bo'lgan kultura chiqib turadi, ikkala tomonning oqim tezligi barobar bo'ladi.



Masalan, kultivatorlar tutashtirilgan 3 ta idishdan iborat bo'lsa, 1-idishda yosh bakteriyalar, 2-idishda yetilgan bakteriyalar va 3-idishda ko'payishdan to'xtagan bakteriyalar kulturasini bo'ladi. Bu usulda istagan vaqtda ishni to'xtatib, ma'lum yoshdagi bakteriyalar kulturasini olib, ularning xususiyatini urganish mumkin (rasmga karalsin).

Aerob bakteriyalarni o'stirish va sof kulturalarini ajratib olish usullari.

Aerob bakteriyalarni o'stirish uchun oziq muhitlarni tayyorlash, optimal harorat va kislorodli sharoitlarini yaratish kerak. Suyuq oziq muhitlarda bakteriyalarning o'sishi, odatda, termostatda 18-24 soat qo'yib qo'yilganidan keyin kuzatiladi. Muayan turdagi mikroblarning morfologik, kultural, biokimyoviy, va boshqa xossalarni o'rganish uchun uning sof kulturasini olish zarur.

Sof kultura bitta yoki bir nechta hujayradan sun'iy oziq muhitida ko'paytirish natijasida olingan bir turdagi mikroorganizmlar yig'indisi.

Mikrob assotsiyasiyalaridan sof kulturalarni ajratib olishning har xil usullari bor.

Mikroblar agar yuzasida (aeroblari) alohida-alohida koloniyalar shaklida o'sib chiqadi. Bakteriyalarning koloniyalari pigmentlar hosil qilish yoki qilmasligi hisobiga rangsiz yoki oq, tilla rang, qizil, limondek sariq tusga ega bo'lishi mumkin.

1 - KUN

Sof kulturalar olishining biologik metodi tarkibida mikrob assotsiyalari bo'lgan tekshiruvchi materiallarni sezuvchan tajriba hayvonlariga yuqtirishga asoslangan. Masalan, pnevmokokklarga sezgir

bo'ladigan oq sichqonga yuqtirish yo'li bilan pnevmokokklarni balg'amdan ajratib olish mumkin. Uning qonida 4 soatdan keyin sof pnevmokokklar kulturasini topiladi. chunki bu mikroblar boshqa mikroorganizmlardan ko'ra tezroq ko'payadi.

Mikroorganizmlarni mexanik ravishda ajratish prinsipiga asoslangan usullar.

Mikroorganizmlarning sof kulturalarini ajratib olish uchun Drigalskiy tomonidan taklif etilgan metod hammadan ko'ra ko'proq foydalaniladi.

Drigalskiy usuli bo'yicha shpatel bilan yoyish.

1. Uchta Petri kosachasini agarli ozuqa muhiti bilan to'ldiriladi.
2. Birinchi kosachaga ilmoq yoki tomizg'ich yordamida o'rganilayotgan materialdan tomiziladi
3. Shpatel bilan agar ozuqasining butun yuzasiga yoyiladi.
4. Keyin shpatelni ikkinchi kosachaga solib, shpatelda qolgan ekma yuqlarini ozuqa muhitining yuzasiga suritib chiqiladi.
5. So'ngra shpatel uchinchini kosachaga solinadi va yuqoridagi harakat yana bir bor qaytariladi.
6. 37°C 18 - 24 soat termostatda qoldiriladi (rasmga qaralsin).



Birinchi kosachada eng ko'p mikrob koloniyalari o'sib chiqadi, ikkinchisida kamroq, uchinchini idishda juda kam koloniyalar ko'zga tashlanadi.

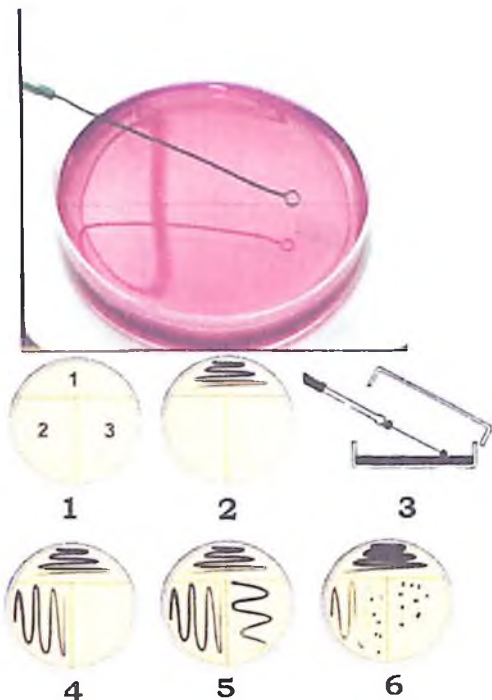


O'rganilayotgan material tarkibidagi mikroob hujayralarning miqdoriga bog'liq holda kosachalardan birida mikroorganizmlarning sof ekmasini ajratib olishga yaroqli bo'lgan bir turga oid hujayralar koloniyasi o'sib chiqadi.

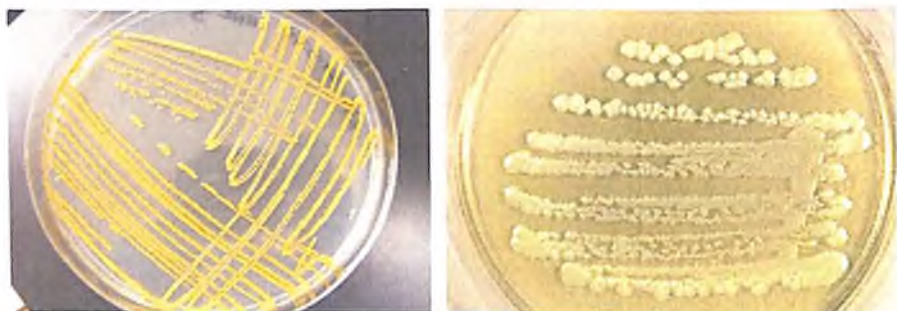
Ilmoq bilan yoyish. (shtrixlar bilan ekish).

Bu usul ham ko'rib o'tilgan metoddan keskin farq qilmasada, biroq anchagina tejamlilik bilan ajralib turadi.

1. Petri kosachasiga agarli ozuqasi solinadi,
2. Ushbu oziq muhiti to'rtlikcha (3, 4 yoki ko'proq) sektorlarga bo'lib, har bir sektor oralig'ini chegaralab ajratib turadigan chiziqlar chiziladi (-rasm 1).
3. O'rganilayotgan materialni ilmoq bilan birinchi sektorga tushirib, sektorning butun yuzasi bo'ylab har birining orasi 5 mm bo'lgan parallel chiziqlar chizib chiqiladi (-rasm 2,3).
4. Xuddi shu ilmoq sterillanmasdan unda qolgan material yuqi kosachaning ikkinchi sektoriga ham huddi shunday harakat - sektorning butun yuzasi bo'ylab har birining orasi 5 mm bo'lgan parallel chiziqlar chizib chiqish amalga oshirildi (-rasm 4,5,6).
5. Ilmoqda qolgan material yuqi kosachaning qolgan sektoriga ham surtilib - ekib chiqiladi
6. 37°C 24 soat termostatda qoldiriladi (-rasm).

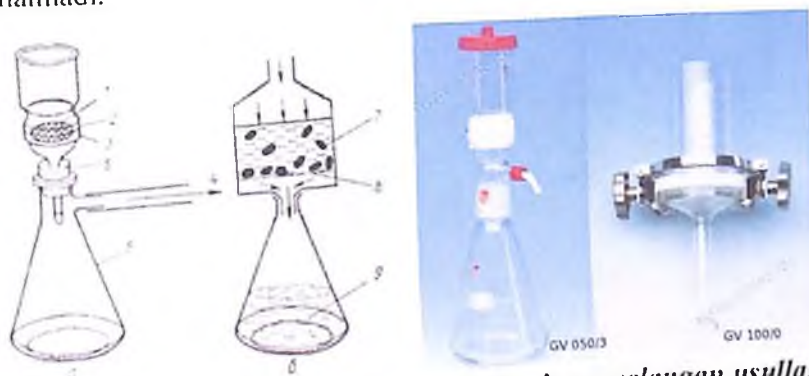


Agarning ko'p miqdordagi mikroob hujayralari tushgan joy (birinchi, ikkinchi sektor) da o'sib chiqqan mikroorganizmlarning tutash chiziqlar ko'rinishida bo'lsa, oz miqdordagi hujayralar tushgan sektorlarda esa alohida - alohida (izolyatsiyalangan) yakka -yakka koloniyalar paydo bo'ladi.



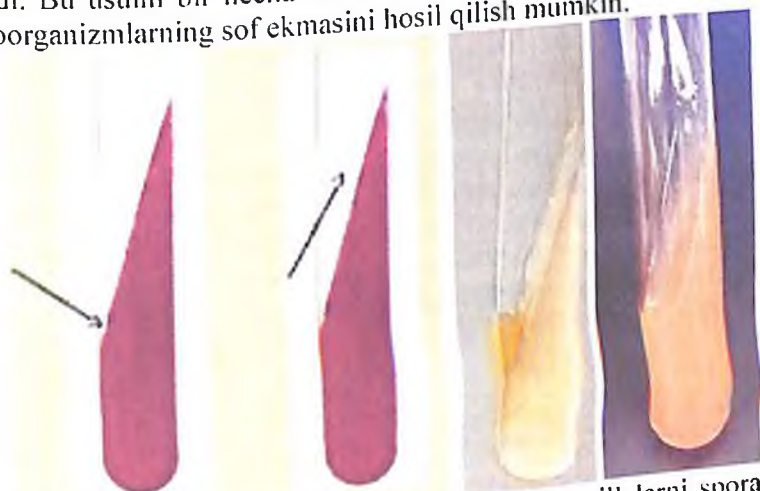
Filtrlash usuli. Bu usul o'rganilayotgan materialni muayyan diametrli maxsus filtdan o'tkazish va uning tarkibidagi mikroorganizmlarni ularning hajmiga ko'ra bir necha tiplarga ajratishga

asoslangan. Mazkur usul, odatda, viruslarni bakteriyalardan tozalashda qo'llaniladi.



Mikroorganizmlarning biologik xususiyatlariga asoslangan usullar - Shukevich usuli.

Agar atrofdagi kondensatsion suvga o'rganilayotgan material ekiladi. Ko'payish paytida kondensatsion suvdagi mikroblarning harakatchan formalari go'yo tepaga — o'rmalab chiqqanday, agar yuzasida to'plana boshlaydi. Agarning ustida hosil bo'lgan ekma ajratib olinadi. Bu usulni bir necha marta takrorlash natijasida o'rganiladigan mikroorganizmlarning sof ekmasini hosil qilish mumkin.



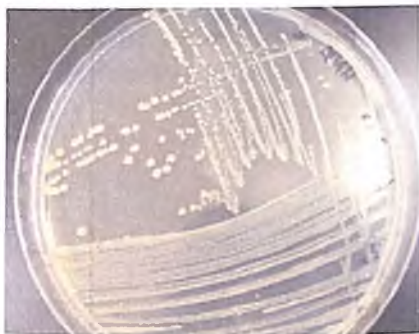
Isitish usuli. Bu usul spora hosil qiluvchi batsillalarni spora hosil qilmaydigan mikroorganizmlardan ajratishda qo'llanadi. O'rganilayotgan material 80°C haroratdagi suvli hammomda 10-15 daqiqa davomida isitiladi. Bunda vegetativ shakldagi mikroorganizmlar nobud bo'ladi, sporalilar esa saqlanib qoladi. Muayyan ozuqa muhitida ulardan sifatli ekmalari olish mumkin.



Bakteriostatik usul. (Ingibirlash usuli). Bu usul ayrim kimyoviy moddalar va antibiotiklarning mikroorganizmlarga turlicha ta'sir o'tkazish xususiyatiga asoslangan. Muayyan moddalar ayrim mikroorganizmlarni o'sishdan to'xtatgan holda, boshqalariga salbiy ta'sir ko'rsatmaydi. Masalan, o'zgina penitsillin konsentrati grammusbat mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatadi, ayni paytda grammanfiy hujayralarning ekmasiga mutlaqo ziyon yetkazmaydi. Penitsillin bilan streptomitsin aralashmasi esa ipsimon zamburug'lar va achitqilarni bakterial floralardan tozalash xususiyatiga ega. Sulfat kislotasi (5% li eritma holda) ko'pgina mikroorganizmlarni darhol o'ldiradi, sil tayoqchalari esa bu sharoitda yashab qoladi.



S. aureus uchun tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli muhit



Ishqorli agar



**Salmonella uchun selektiv
xroma-agar**



Sil mikrobi uchun Levenshteyn-Yensen muhiti

Boyitish usuli. O'rganilayotgan material muayyan tipdagi mikroorganizmlarning o'sishi uchun mo'ljallangan elektiv ozuqa muhitiga ekiladi.

LABAROTORIYADA JONIVORLARGA YUQTIRISH USULI

Mikrobiologiya laboratoriyalarida ko'pincha oq sichqonlar, dengiz cho'chqachalari va quyonlar tajriba – eksperiment hayvonlari sifatida foydalaniladi:



Tajribalar davrida tekshirilayotgan moddalar bu hayvonlar organizmiga quyidagi yo'llar orqali yuboriladi:

1. Og'iz orqali;
2. Teri ostiga;
3. Teri ichiga;
4. Teri ustiga;
5. Qorin

pardaga;

6. Vena ichiga;
7. Yurak ichiga;
8. Burni orqali;
9. Miya ichiga;
10. Ko'zning oldingi kamerasiga va h.k.



ANAEROB MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH VA UNDA SOF EKMA OLIISH USULLARI

Anaerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun muhitning oksidlanish - qaytarilish potensialini hisobga olib, anaerobioz sharoitini yaratish, ya'ni ozuqa manbai va uni o'rab to'rgan muhitdagi erkin kislorod miqdorini kamaytirish zarur. Buning uchun fizikaviy, kimyoviy va biologik usullarni qo'llash mumkin.

Fizikaviy usul

Mikroorganizmlarni kislorodsiz sharoitda o'stirishga asoslangan bu usulning qo'yidagi ko'rinishlari bor:

1) tarkibida tez oksidlangan va redutsent moddalar mavjud bo'lgan muhitga ekish;

2) mikroorganizmlarni qattiq ozuqa muhitining tubiga ekish;

3) anaerob mikroorganizmlar o'stiriladigan idishdagi havoni mexanik usulda so'rib olish;

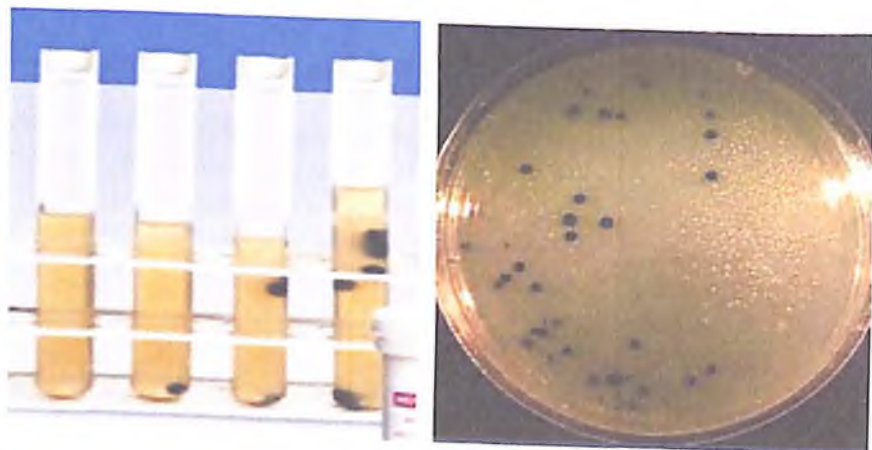
4) mikrob o'sadigan idishni indifferent gaz bilan to'ldirib idishda kislorodsiz muhit hosil qilish.

Odatda redutsent modda sifatida o'simlik yoki hayvon to'qimasining biror qismi (jigar, miya mag'zi, buyraklar, taloq, qon, kartoshka, paxta) qo'llaniladi (0,5 gr miqdorda). Bunday to'qimalar suyuq ozuqa muhiti tarkibidagi kislorodlarni biriktiradi va o'ziga shimib oladi. Ozuqa muhiti tarkibidagi kislorod miqdorini kamaytirish uchun unga redutsent modda qo'shishdan avval 10-15 daqiqa davomida qaynatiladi, keyin darhol sovutib, ustiga ozgina tozalangan vazelin yog'dan quyiladi. Probirkaga quyilgan moy ozuqa muhiti yuzasidan 1 sm ko'tarilib to'rgan bo'lishi kerak.

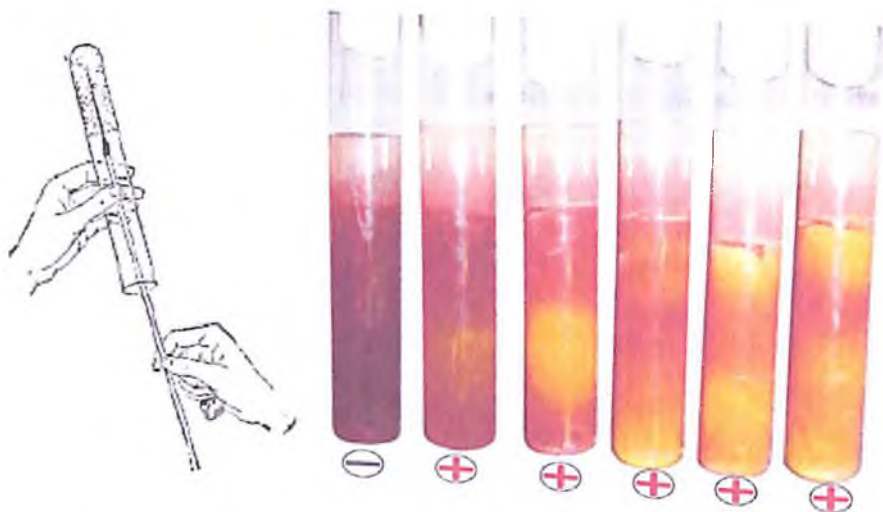
Tez oksidlanuvchi modda sifatida esa glyukoza, laktoza, chumoli kislotasining natriyli tuzidan foydalaniladi.

Vilsona Bler - qattiq ozuqa muhitiga ekish.

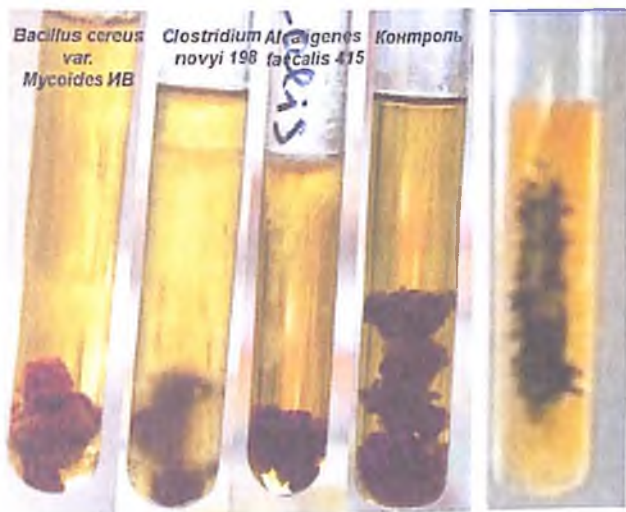
Anaeroblarni ajratish uchun mo'ljallangan temirsulfitli agar (ishqorli 3% GPA, 20% natriy sulfit eritmasi, 8% temir xloridi eritmasi).



Mikroorganizmlarni qattiq ozuqa muhitining tubiga ekish.



Kitta – Tarotsi muhitida o‘stirish. Kitta – Tarotsi muhiti o‘z tarkibi redutsent moddalarga boy bo‘lgan eng yaxshi suyuq ozuqa manbai hisoblanadi.



Bu muhit o'rganilayotgan mikroorganizmlarni dastlabki ekishdan keyin oq hosil bo'lgan o'smalaridan anaeroblarni yig'ib olish va ajratilgan toza ekmaning beshikast rivojlanishini ta'minlashda muvaffaqiyat bilan qo'llanilmoqda.

Eksikator yoki boshqa germetik yopiluvchi idishlardan foydalanib anaeroblarni o'stirish. Eksikator tubiga sham qo'yib yoqish yoki erkin kislorodni so'rib oluvchi kimyoviy moddalar-piragallolning ishqorli eritmasini quyiladi. Anaerob mikroblar ekilgan petri kosachalari yoki probirkalar eksikatorga joylashtirilib qopqog'i mahkamlanadi.

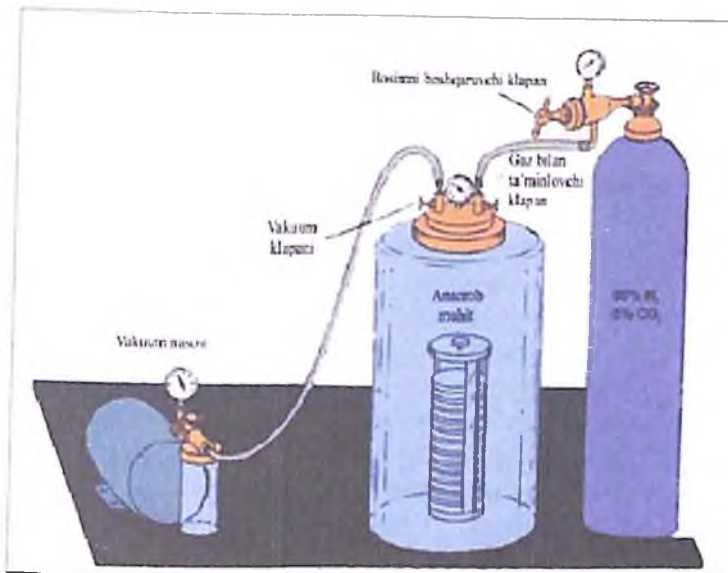


Anaerostatlarda o‘stirish. Anaerob ekmasi rivojlanadigan kosacha yoki probirkalar joylashtirilgan idish – anaerostat ichidagi kislorod maxsus asbob – uskunalar yordamida ham so‘rib olinish mumkin. Qo‘shimcha anaerostat suvni boshqa tomonga oqizadigan kran va vakkummetr bilan ta‘minlangan, og‘zida burab mahkamlanadigan qopqoq bo‘lgan qalin temir silindrdan iboratdir. Anaerostatga mikroorganizmlar ekmasi o‘stirilayotgan kosacha yoki probirkalar joylashtirilgandan so‘ng uning ichidagi havo vakum nasosi yordamida so‘rib chiqariladi.

Havoni indefferent gaz bilan almashtirishda ham anaerostatdan foydalaniladi.



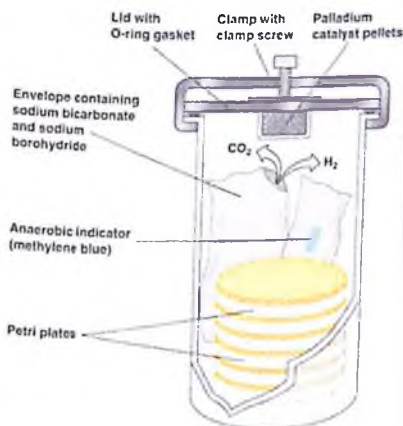
Indifferent gaz bilan to‘ldirilgan idishlarda o‘stirish. Bunda germetik idishdagi havo indefferent gaz (azot, vodorod, argon, karbonat angidrid gazi) bilan almashtiriladi (rasm).



Anaerob mikroorganizmlar o'stirilayotgan idishlarni anaerostatga joylashtirilgandan keyin uning ichiga ballonchalardagi gaz yuboriladi, gaz esa anaerostat ichidagi kislorodni siqib chiqaradi.

Kimyoviy usullar.

Bu usullar germetik idish (anaerostat, eksikator) dagi kislorodni o'ziga tortib olish xususiyatiga ega bo'lgan pirogallol yoki natriy-gidrosulfat kabi moddalardan foydalanishga asoqlangan.



Biologik usullar.

Biologik usulardan biri talabchan aeroblarni anaerob mikroorganizmlar bilan birgalikda oʻstirishga asoslangan. Bu usulda mikroorganizmlarni oʻstirish uchun Petri kosachasiga ozgina suyuq agar quyiladi, u qotgandan keyin sterillangan skalpel bilan qoq oʻrtasidan kesib ikkiga ajratiladi. Soʻngra kosachadagi ozuqaning bir tomoniga aerob mikrobdan, masalan, *S aureus* yoki *Serratia marcescens* ekiladi. Ikkinchi qismiga esa anaerob mikroorganizmlari bor deb gumon qilingan material ekiladi. Kosachaning ichiga havo kirmasligi uchun chetlari plastilin yoki parafin bilan berkitiladi va termostatga qoʻyiladi. Kosachadagi mikroorganizmlar birdaniga oʻsmaydi. Avval ozuqa muhitining bir tomoniga ekilgan aerob mikroblar oʻsa boshlaydi. Ular ancha – muncha rivojlanib, kosachaning ichidagi barcha kislorodni sarf qilib boʻlgandan keyin anaeroblarning oʻsishi uchun mos sharoit yuzaga keladi. Demak, aeroblardan 3-4 sutka keyin anaerob mikroblar rivojlana boshlaydi. Kosachadagi havo qatlamini imkoni boricha qisqartirish maqsadida unga koʻproq ozuqa muhitini qoʻyish kerak, muhit qancha qalin boʻlsa kosachadagi kislorod miqdori shuncha oz boʻladi.



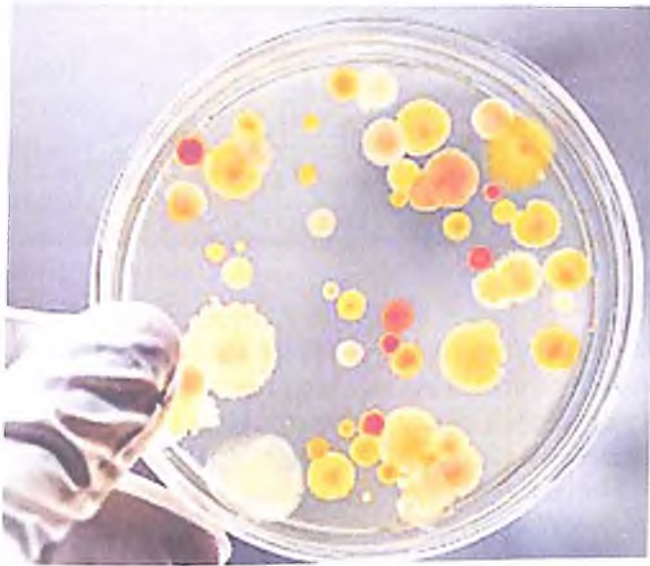
Qoʻshma usullar.

Anaerobioz olishning fizik, kimyoviy va biologik usullarini oʻzida mujassamlashtirgan usuldur.

Drigalskiy usulida ekilgan muhitdagi koloniyalarni oʻrganish.

Bir sutka mobaynida termostatda turgan Petri kosachalari olinib, ulardagi oʻsib chiqqan mikroblar oʻrganiladi. Koloniyalarni oʻrganish uchun shunday bir qismi olinadiki, unda koloniyalar siyrak joylashgan boʻlishi kerak. Oldin kosachalarni qurollanmagan koʻz – lupa yoki mikroskoplarsis tekshirib, kosachalar ochilmasdan tag tomonidan

tushayotgan tik quyosh nurlari ostida ko'z bilan 20-30 sm. masofada ko'rish kerak. O'sib chiqqan koloniyalar har xil bo'lishi mumkin.



Koloniyalarni:

a) katta-kichikligi: yirik (4-5 mm diametri), o'rta (2-4 mm), mayda (1×1 mm), nuqtasimon bo'lishi mumkin.

b) shakli: to'g'ri, yumaloq, noto'g'ri, yapaloq, muhit ustida ko'tarilgan bo'lishi mumkin.

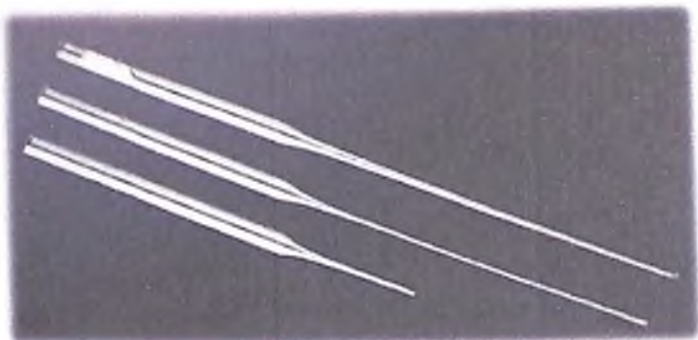
d) rangi – rangli, rangsiz bo'lishi mumkin. Rang bakteriyaning pigment hosil qilish xususiyatiga bog'liq.

e) yuzasi: silliq, yaltiroq, quruq, nam, shilliq, xira bo'lishi mumkin.

Har bir mikrobgga, ma'lum bir qiyofadagi mikroblar koloniyalari xos bo'ladi. Koloniyalarning qiyofasi kasallik qo'zg'atuvchisini aniqlashda katta ahamiyatga ega.

Vinyal Veyon usulida anaerob mikroorganizmlarni ajratib olish.

Vinyal – Veyon usuli. Mikroorganizmlarni qattiq muhitning tubiga naychalar bilan ekishda anaerob mikroblar ekmasini kisloroddan yaxshi himoya qila oladigan Vinyal – Veyon usulidan foydalaniladi. Buning uchun uzunligi 30 sm, diametri 3-6 mm bo'lgan shisha naycha olinadi.



Naychanning bir uchini biroz choʻzib, paster tomizgichi shaklidagi ingichka yoki qilsimon naycha holatiga keltiriladi. Ikkinchi nisbatan yoʻgʻonroq boʻlgan uchiga esa toza paxta qoʻyiladi.

Avval qaynatib, harorati 50°C gacha tushirilgandan keyin probirkalarga solingan ozuqa muhitiga oʻrganilayotgan material namunasi kiritiladi. Mikroorganizmlar agar aralashmasi Vinyal – Veyonning sterillangan shisha naychasi bilan soʻrib olinadi. Eng talabchan anaeroblarning oʻsishi uchun qulay boʻlgan sharoit shu yoʻsinda yaratiladi. Muayyan turga mansub boʻlgan mikroorganizmlar turkumini naychanning ichidan olish uchun nayga koloniyalar jips boʻlib joylashgan yeridan aseptika qoidalariga rioya qilgan holda egovlanib sindiriladi. Ana shu joydan naycha sindiriladi, uning uchidagi ekmalar esa sof holda oʻsishini davom ettirish uchun sterillangan ilmoq yordamida probirkalardagi ozuqa muhitiga olib qoʻyiladi.

Bakteriya koloniyalarining morfologiyasi

№	Koloniyalar						Morfo- logiyasi Gr. + yoki -	Bakte- riya turi
	Oʻlchami	Shakli	Tuzilishi	Rangi	Cheti	Yuzasi		
1								
2								
3								

Materiallar: tuproq namunasi, Vinyal – Veyon naychasi, qandli GPA.

Ishning borishi:

1. O'rganilayotgan tuproq namunasidan asosiy ishchi eritma tayyorlash uchun sig'imi 250 ml dan kam bo'lmagan idish-kolba olinadi va 100 ml distillangan suv solinadi.

2. Uning ichiga 1 gram tekshirilayotgan tuproq namuna-si qo'shiladi (1/100 nisbatdagi ishchi eritmasi tayyorlanadi).

3. 15 minut davomida chayqatib namuna suvga yaxshilab aralashtiriladi.

4. Yirik zarrachalarni kolba tubiga cho'ktirish uchun 5 min. davomida tindiriladi.

5. 1/10, 1/100 va 1/1000 marta suyultiriladi.

6. Osh tuzining izatonik eritmasidan 4 ml solingan probirkaga 1 ml tortma qo'shiladi.

7. Qizdirib eritilgan va temperaturasi 50°C ga tushirilgan 10 ml GPA solingan probirkalarga 1:10, 1:10, 1:15 nisbatgacha suyultirilgan tortmadan 0.1 ml dan qo'shiladi.

8. Tez-tez chayqatib aralashtiriladi va Vinyal Veyonning sterillangan naychasi yordamida so'rib olinadi.

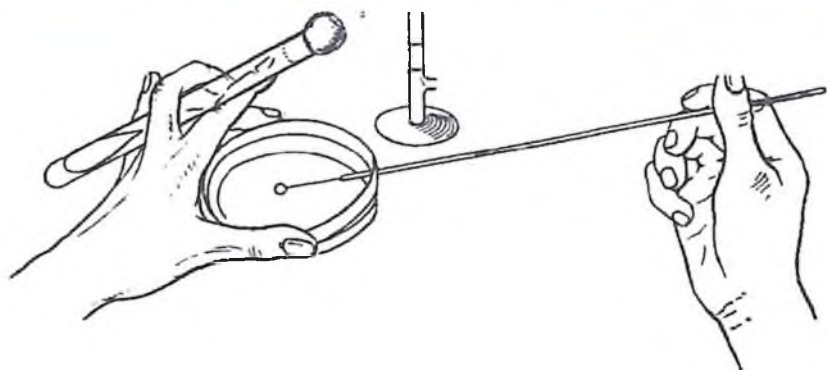
9. 37°C dagi termostatda 24 soat parvarishlanadi.

10. Tayyor bo'lgan o'smalar lupa yoki mikroskop ostida tekshirilib ko'riladi va tavsiflanadi.

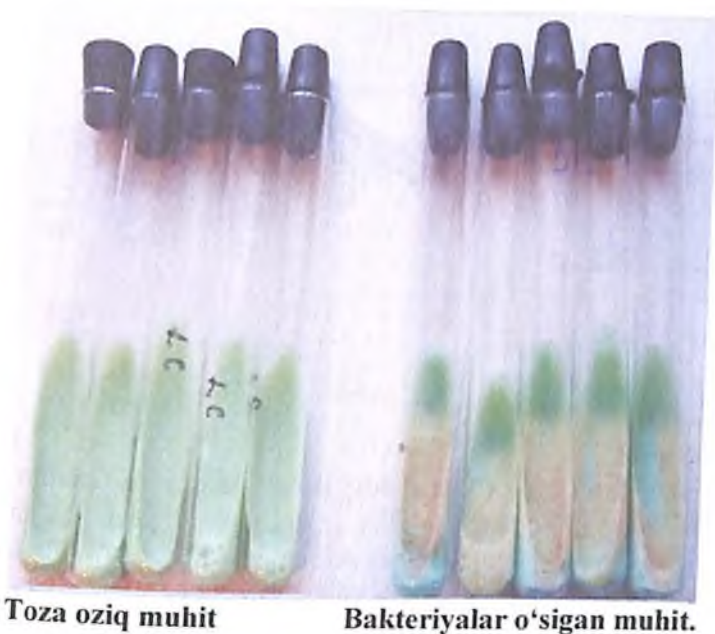
Shubhali hisoblangan alohida o'sgan koloniyalar Kitta – Tarossi muhitiga ko'chirib o'tkazilib, 37°C da o'stirish davom ettiriladi. So'ngra — ezilgan tomchi preparatini tayyorlab, mikroorganizmlarning harakatlanish xususiyatlari o'rganiladi. Gram bo'yicha va sil – Nilsen usuliga ko'ra bo'yalgan surtmalardagi hujayralarning o'ziga xos xususiyatlari o'rganiladi.

Toza kulturani ajratib olish uchun koloniyalarni zich agarga qayta ekish.

Toza kulturani ajratib olish uchun tanlangan koloniyaning bir qismini qiyg'och (qiya) agarga ekiladi.



Sterillangan ilmoq bilan ajratilgan koloniyaning bir qismini olib, soʻng oʻng qoʻlda qiyshiq qotirilgan agarli probirkaning ochib, probirkani yopqichini jimjiloq barmoq yordamida kaft ichki tomoniga mahkamlab, probirkani eng tagidan boshlab, ingichka toʻlqinsimon chiziq qilib ekiladi. Probirkaning chekkalari va oʻzini gaz gorelkasi alangasida qizdirib, yopqichi berkitiladi. Ilmoq qizdiriladi. Ekilgan probirka termostatga 24 soatga qoʻyiladi.



Toza oziq muhit

Bakteriyalar o'sigan muhit.

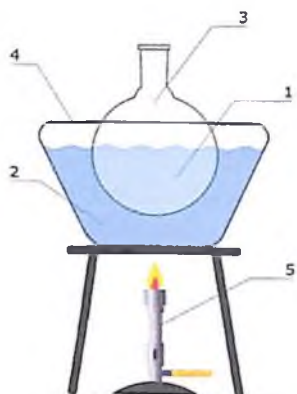
Bakteriyalarning o'sish hususiyatini bulonda kuzatish

Streptokokklar suyuq oziq muhitlarida idishning tubida yoki devorlarida ipir-ipir ko'rinishida o'sadi va bulonni tiniq qoldiradi. Streptokokklar go'sht pepton bulonida cho'kma hosil qilib bir tekis loyqalanish beradi. Vabo vibrioni 1% pepton qo'shilgan suvda nozik ko'kimtir kulrang parda ko'rinishida o'sadi, muhitning qolgan qismi bir tekis holatda qolib biroz loyqalanadi. Ba'zi bir mikroorganizmlar probirkaning devorida o'sadi va bulon tiniq qoladi.

Anaeroblarni o'stirish bosqichlari.

Birinchi kun: Bakteriyalardan toza kultura olish uchun tekshirilayotgan namunani qizdirish orqali spora hosil qiluvchi batsillalarni, sporasizlardan ajratib olinadi.

Material Kitta-Tarotsi muhitli probirkaga ekiladi. Muhit ekishdan oldin suv hammomida 10 - 20 min davomida (havoni kislorod aralashmasida ajratish uchun qizdiriladi, so'ng termostatda 37°C da o'stiriladi).

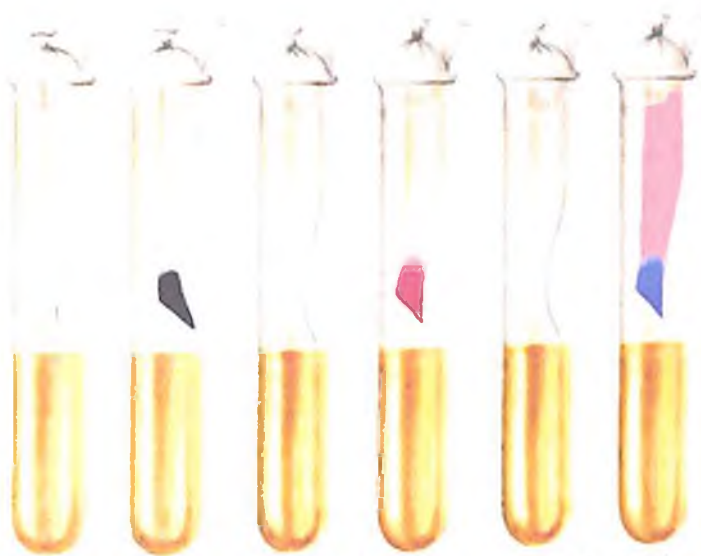


Ikkinchi kun: Ekma kuzatiladi, surtma tayyorlab Gramm usulida bo‘yaladi. Musbat bo‘lsa, muhitda loyqalanish, gaz pufakchalari va surtmada yirik sporalari Grammusbat tayoqchalar kuzatiladi. Toza kultura ajratish uchun Kitta-Tarotsi muhitidan material olib, ilmoqchada birinchi Petri kosachasiga – qonli agarga ekiladi va muhitning yuqori qismida shpatel bilan surtilib taqsimlanadi. Huddi shu shpatel bilan material muhitga ikkinchi va uchunchi kosachaga alohida kolloniya hosil qilish uchun surtiladi.

Uchunchi kun: Kosachada o‘stirilgan koloniya lupa yordamida o‘rganiladi va hosil bo‘lgan koloniyani probirkadagi qiyalantirilgan muhitga ekilgach, termostatga 24 soat saqlanadi.



Tekshirilayotgan bakterialarning morfologik, kultural va biokimyoviy xususiyatlari o‘rganiladi.



Serovodorod

Indol

Ammiak

BAKTERIYALARNI ANTIBIOTIKLARGA SEZGIRLIGINI ANIQLASH

Disk usuli bo'yicha bakteriyaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.

Ajratib olingan sof bakteriya (stafilokokk) larning antibiotiklarga sezgirligini disk-diffuz usulida aniqlash algoritmi:

1. Suyuq oziq muhitida o'stirilgan stafilokokk kulturasining tozaligini aniqlash uchun surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi.

2. Pipetka yordamida 1 - 2 ml stafilokokk kulturasidan olinadi (tekshirilayotgan kultura zich muhitda o'stirilgan bo'lsa, fiziologik eritma yordamida yuvib olinadi) va zich oziqli agar solingan Petri kosachasiga quyiladi.

3. Petri kosachasidagi zich oziq muhit yuzasiga «gazon» usulida bir tekis yoyilib (Petri kosachasini har tomonga qiyalatish orqali yoki tampon yordamida yoyilib) ekiladi.

4. Ortiqcha suyuqlik dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishga to'kiladi.

5. Bir oz qurishi uchun 36 - 37°C haroratli termostatga qo'yiladi.

6. Petri kosachasi 10 - 20 daqiqadan so'ng qayta olinib muhit yuzasiga pensit yordamida antibiotiklar shimdirilgan qog'ozli disklar qo'yiladi.

7. 36 - 37°C haroratli termostatga qo'yilib 1 sutka (24 soat)ga qoldiriladi.

Natijani baholash:

Disk atrofidagi stafilokokk kulturasining o'sishi to'xtagan zona diametriga ko'ra, uning ayni antibiotikga bo'lgan sezgirliги belgilanadi.





✓ Agar o'sishni to'xtatish zonasining diametri 10 mm gacha bo'lsa, kultura kam sezgir,

✓ 10 mm dan ko'p bo'lsa yuqori darajada sezgir hisoblanadi.

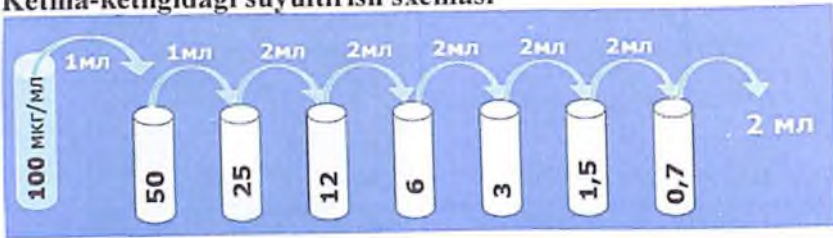
Disklar bir antibiotikning har xil konsentratsiyasi bilan shimdirilgan bo'lsa, u holda tekshirilayotgan bakteriya kulturasi, preparatning eng kichkina dozasiga bo'lgan sezgirligi aniqlanadi.

Qator suyultirish usuli bilan antibiotiklarga bo'lgan bakteriyalar sezgirligini aniqlash.

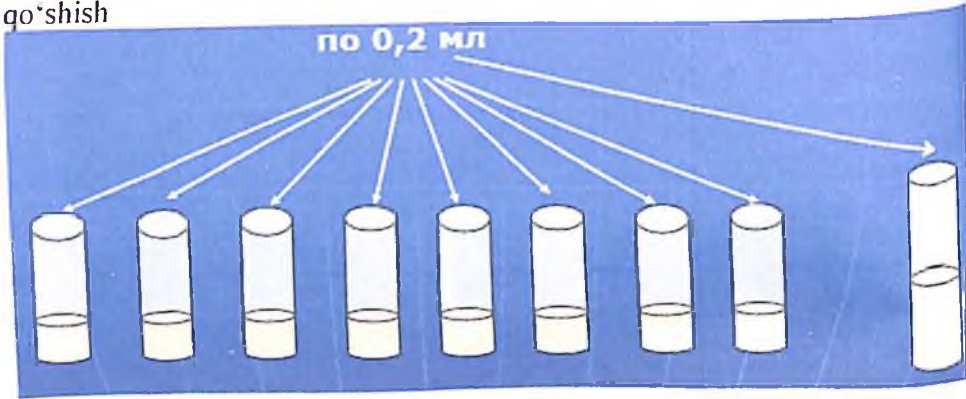
Bu usulda tekshirilayotgan bakteriya kulturasi antibiotikning eng kam konsentratsiyadagi o'sishini to'xtashi aniqlanadi.

1. Maxsus erituvchi yoki bufer eritmalarida antibiotikning aniq konsentratsiyasidagi (mkg/ml yoki TB/ml) ishchi aralashmasi tayyorlanadi.
2. Undan (2 ml hajmdagi) bulonlarda 2 hissa kamayib borish ketma - ketligidagi suyultirish orqali keyingi eritmalar ham tayyorlanadi.
3. Har bir suyultirilgan probirkaga (0,2 ml dan) tarkibida 1 ml da $10^6 - 10^7$ bakteriya hujayrasi bo'lgan bakteriyadan qo'shiladi.
4. Oxirgi (nazorat) probirkaga 1 ml bulon va 0,1 ml bakteriya suspenziyasi solinadi.
5. Probirkalar 37°C da 24 soat termostatda saqlanadi.

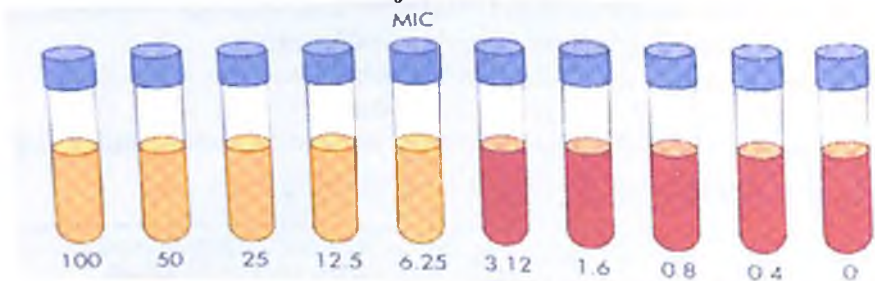
Ketma-ketligidagi suyultirish sxemasi



✓ 1 ml da $10^6 - 10^7$ bakteriya hujayrasi bo'lgan aralashmadan qo'shish



Natijani baholash



Quyqalanib o'sgan oziqli muhit nazorat probirkasidagi kultura bilan solishtiriladi va tajriba natijasi aniqlanadi. Oziqli muhit tiniqligicha qolgan probirkalarnig (eng past konsentratsiyali antibiotik tutuvchi) eng oxirgisi bo'yicha tekshirilayotgan bakteriya kulturasinging qo'llanilayotgan antibiotikning o'sishdan to'xtatuvchi eng kam miqdorini ko'rsatadi.

Bakteriyalarning antibiotikka bo'lgan sezgirligini qator suyultirish usuli bilan oziqli agarda aniqlash

Bu usul orqali bakteriya kulturasi o'sishni to'xtata oladigan antibiotikning juda past konsentratsiyasini oldingi usulga nisbatan aniqlash ayniqsa qulay.

1. 45°C gacha qizdirib sovutilgan oziqli agarning 1 qismi (1 ml) ga aralashtirilib ikki hissali qayta suyultirish orqali antibiotikning konsentratsiyasi kamaytiriladi.

So'ngra har bir eritmaning qolgan 9 qismi qo'shiladi.

2. Ular yaxshilab probirkada aralashtiriladi

3. Petri kosachasiga quyiladi.

4. Har birining ichida ma'lum konsentratsiyada antibiotik bo'ladigan qilib shu tariqa tayyorlangan kosachalar, xuddi stafilokokklar fagotipini aniqlashdagidek, 20 ta bo'linga (sektorga) bo'linadi.

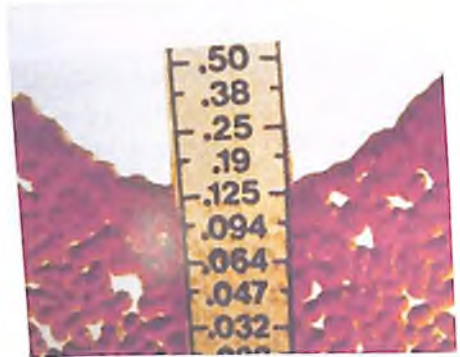
5. Har bir sektordagi agar yuzasiga qovuzloq bilan tekshirilayotgan bir kecha-kunduzlik bakteriya kulturasi ekiladi.

6. Antibiotiksiz ekmalar kontrol kosachalarda qulay sharoitda to'osib chiqquniga qadar inkubatsiyalanadi.

Agar sektorda bakteriya kontrol kosachadagiga nisbatan ko'zga ko'rinarli darajada o'smagan bo'lsa, u holda antibiotikning bakteriya o'sishini to'xtata oladigan eng past konsentratsiyasi ana shu hisoblanadi.

Ye - test orqali bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash

Usulning mohiyati shundan iboratki, tasmali maxsus qog'ozga antibiotiklarning kamayib (128, 64, 32, 16, 8, 4 mkg/ml) boruvchi dozasi shimdiriladi. Bu usulda ham antibiotik shimdirilgan tasmali qog'ozlar standart agarga "gazon" usulida ekilgan tekshirilayotga kultura yuzasiga qo'yiladi. Inkubatsiya qilinganidan keyin antibiotik shimdirilgan tasmali qog'oz atrofida ellipissimon o'sishi to'xtagan zona hosil bo'ladi, ya'ni uning o'lchami antibiotikni kam dozasi tomonga qarab torayib boradi va o'sish zonasi boshlangan joydan oldingi ko'rsatkich, preparatni MIK hisoblanadi.



Antibiotiklarni odam organizmidagi qon, siydik va boshqa suyuqliklarda aniqlash.

- Shtativga ikki qator probirkalar o'rnatiladi.
- Birinchi qatorda etalon antibiotiklar suyultiriladi,
- Ikkinchi qatorda tekshirilayotgan suyuqlik.
- Har bir probirkaga Giss muhitida glyukoza bilan tayyorlangan test-bakteriya tomiziladi.
 - Tekshirilayotgan suyuqlikda penitsillin, tetrasiklin, eritromitsin aniqlanayotgan bo'lsa, test - bakteriya sifatida *Staphylococcus aureus* ning standart shtammi, agar streptomitsin aniqlansa, u holda - *Escherichia coli* (*E. Coli*) qo'llaniladi.
 - Ekilgan probirkalar 37°C da 18 - 20 soat davomida termostatga qo'yiladi.

- Keyin muhitning quyqalashganligi, hamda test - bakteriyalar glyukozani parchalashi natijasida indikator ta'siri ostida muhit rangining o'zgarishiga ko'ra, tajribadan xulosa chiqarish mumkin.

Antibiotik konsentratsiyasi test - bakteriyalar o'sishini to'xtatadigan, tekshiriladigan suyuqlikning eng yuqori konsentratsiyasini xuddi o'sha test - bakteriyalar o'sishini to'xtatadigan etalon antibiotikning minimal konsentratsiyasiga ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, tekshirilayotgan suyuqlikning test - bakteriya-lar o'sishini to'xtata oladigan maksimal konsentratsiyasi 1:1024 ga teng bo'lib, etalon antibiotikning test - bakteriyalar o'sishini to'xtata oladigan minimal konsentratsiyasi esa 0,313 mkg/ml ga teng bo'lsa, u holda 1 ml tekshirilayotgan suyuqlikdagi antibiotik koyasentratsiyasi $1024 \cdot 0,313 = 320$ mkg/ml ni tashkil etadi.

Staphylococcus aureus bakteriyasining beta - laktamaza ishlab chiqarish xususiyatini aniqlash

1. Bulonda bir kecha – kunduz o'stirilgan, standart, penitsillinga sezgir stafilokokk shtammi kulturasidan kolbaga 0,5 ml quyiladi;

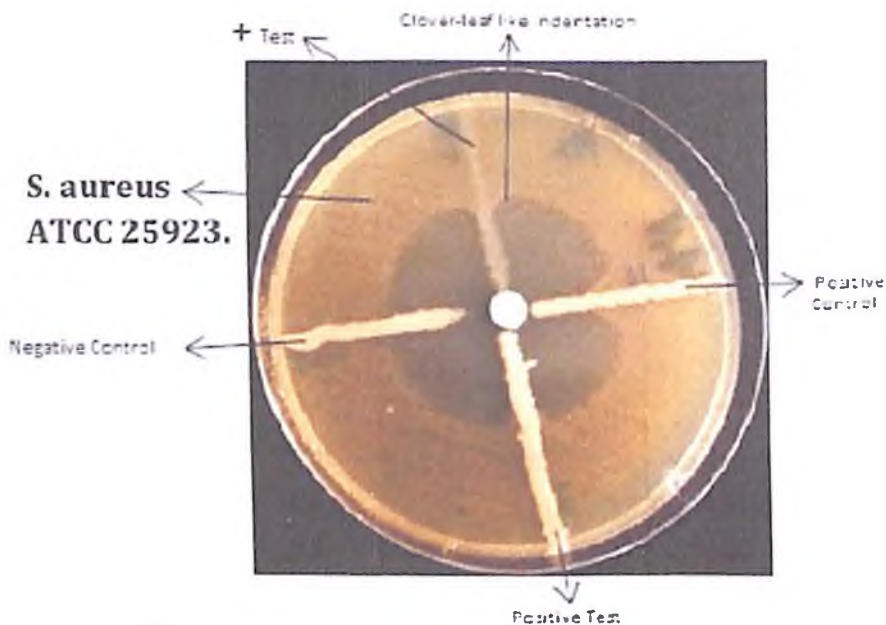
2. Ustiga 20 ml eritilgan, 45°C gacha sovutilgan oziqli agar qo'shilib aralashtiriladi;

3. Petri kosachasiga quyiladi.

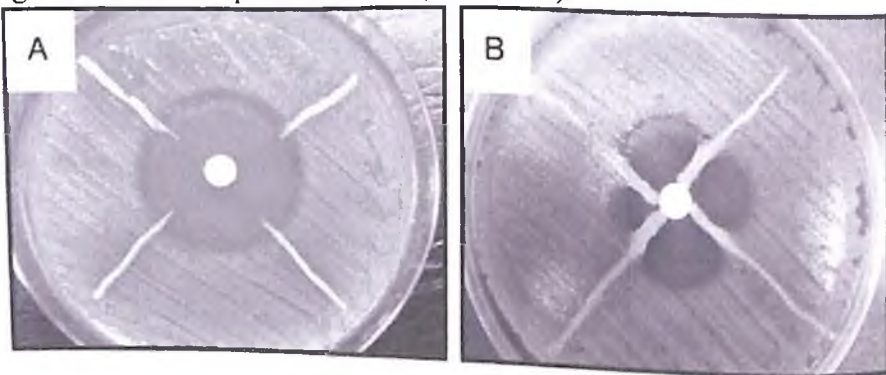
4. Quyilgan agar qotganidan so'ng kosachaning markaziga, muhitning yuzasiga penitsillin shimdirilgan disk quyiladi.

5. Disk radiusi bo'yicha qovuzloq bilan tekshiriladigan kul'turalar ekiladi.

6. Ular 37°C da bir kun davomida termostatda saqlangach (inkubatsiya qilingach), tajribaning natijasi aniqlanadi.



Tekshirilayotgan kulturalar diskka (qadar o'sib borsa, u holda tekshirilayotgan bakteriyalar beta-laktamazani hosil qilish xususiyatiga ega deb xulosa chiqarish mumkin (B -rasmda).

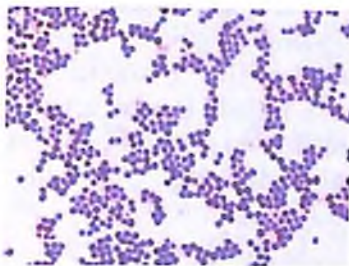


Stafilokokk kulturasi stafilokokk bakteriofagiga bo'lgan sezgirlikni aniqlash.

Kerakli ingredientlar: Stafilokokk toza kulturasi, bakteriofagi ishchi titrda, Stafilokokkni agarli kulturasi, Go'sht-peptonli bulonli neytral agar, spirt lampasi, pipetka, rezinali so'rgich, buyum oynasi, mikroskop, bo'yoqlar.

Stafilokokk kulturasini tozaligini aniqlash.

Buning uchun kulturadan surtma tayyorlanib Gram usulida bo'yalib mikroskopda ko'riladi. Kultura toza bo'lsa bir turga mansub grammusbat kokklar ko'rinadi.



Stafilokokk kulturasini bakteriofagiga bo'lgan sezgirligini aniqlash

1. Kulturadan 1 millonli suspenziya tayyorlaniladi, buning uchun steril fiziologik eritma olinib probirkadagi mikroob kulturasini ustiga 2 - 3 ml quyiladi.

2. Ikki kaft orasiga olib suspenziya aylanma harak qilinib aralastiriladi. 1 mln ga teng (Mak Farland standart loyqaligi bo'yicha) standartga solishtirilib ishchi kultura tayyorlaniladi.

3. Tayyorlanilgan kultura Petri kosasidagi oziqli muhit ustiga gazon uslubida ekiladi,

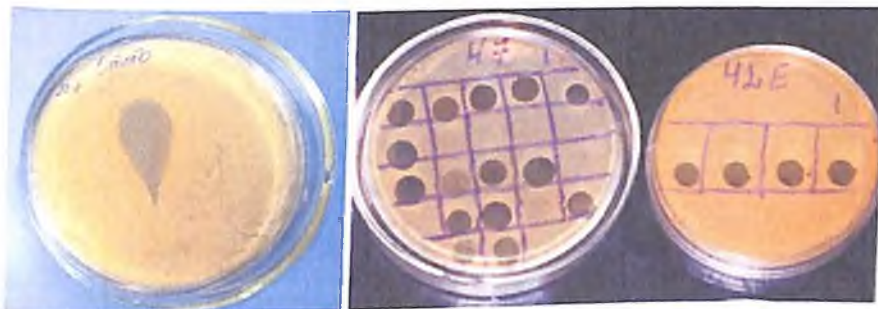
4. Ortiqcha kultura dezinfeksiyalovchi eritmaga silkitib to'kib tashlanadi.

5. 5 -10 daqiqa xona haroratida saqlanadi.

6. Ekilgan kultura ustiga stafilocokk bakteriofagi tomiziladi

7. Kultura termosmatga qo'yiladi.

8. Tajriba asosida protakol yoziladi.



Petri kosasidagi oziqli muhit yuzasida bir tekis o'sgan stafilocokk kulturasida steril hudud kuzatilsa – faglar tomonidan bakteriyalar lizis bo'lgan deb baholanadi.

Mak Farland standart loyqaligi.

Turli xil bakteriologik tadqiqotlar o'tkazishda ko'pincha ma'lum miqdordagi mikrob hujayralarni (aniqrog'i, koloniya hosil qiluvchi birliklar, (KHB) o'z ichiga olgan aralashma (suspenziya) tayyorlash kerak bo'ladi. Buning uchun dastlabki suspenziya ketma-ket suyultirilish orqali kerakli miqdor tayyorlanadi. Undagi hujayralar konsentratsiyasi (miqdori) uning loyqaligini nazorat standarti bilan solishtirish orqali baholanadi.

Loyqalik standarti (sin.: xalqaro loyqalik standarti, shishali loyqalik standarti), Jahon sog'liqni saqlash tashkiloti tomonidan tasdiqlangan bakterial suspenziyalarni optik standartlashtirish uchun ilk bora tayyorlangan Bordet-Jangu bakteriyasi suspenziyasining loyqaligiga mos keluvchi, yani 1 ml suyuqlikda 10^{10} hujayrani o'z ichiga olgan, ya'ni 10 loyqalik birligiga teng - pyrex shisha zarralarining suspenziyasi hisoblanadi.

McFarland shkalasi $1,0 \times 10^8$ KHB/ml dan $3,0 \times 10^9$ KHB/ml (0,5 - 10 birlik) oralig'ini qamrab oladi.



1. McFarland Standard 0.5
2. McFarland Standard 1.0
3. McFarland Standard 2.0
4. McFarland Standard 3.0
5. McFarland Standard 4.0

McFarland Standard loyqaligi bo'yicha:

0.5 - $1,0 \times 10^8$; 1.0 - $3,0 \times 10^8$; 2.0 - $6,0 \times 10^8$;

3.0 - $9,0 \times 10^8$; 4.0 - $1,2 \times 10^9$ ga yani 1 ml suspenziyada mos

tarzda bakteriyalar borligini bildiradi.

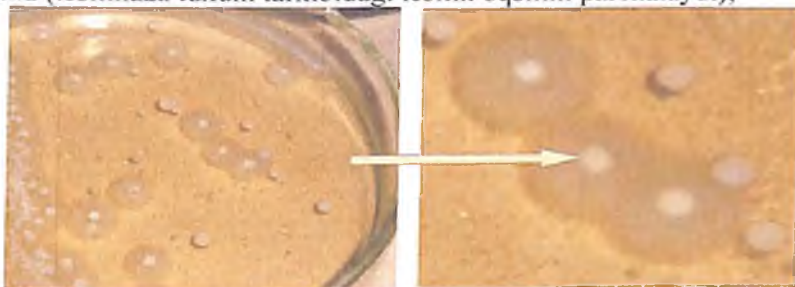
Oziq muhitlarga ekilgan stafilokokk va streptokokklarning patogenlik omillarini aniqlash (lesitinaza va gemolizin).

Talabalarga namoyish uchun tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agarga stafilokokk va qonli agarga streptokokk kulturalari ekib beriladi.

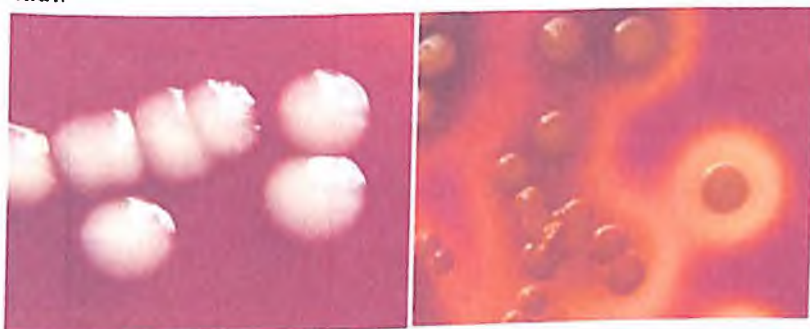
1. Oziq muhitlarda o'sgan mikroorganizmning kultural xususiyati o'rganiladi.

2. Koloniyalarning tuzilishi, rangi, formasi daftarga batafsil yoziladi.

3. Lesitinaza ishlab chiqilgan bo'lsa, koloniyalar atrofida bulutsimon hudud (lesitinaza tuxum tarkibidagi lesitin oqsilini parchalaydi);



4. Gemolizin toksini ishlab chiqilgan bo'lsa, gemoliz zonasi kuzatiladi, (gemolizin qon tarkibidagi eritrotsitlarni parchalaydi), shuni hisobiga koloniya atrofida rangsiz yoki ko'kimsiz – yashil hudud hosil bo'ladi.



5. Bularning barchasini talabalar daftarlariga bayonnoma (protocol) tarzida yozishadi.

Stafilokokkning ajratib olingan kulturasi dan plazmokoagulazani aniqlash.

Tajribani qo'yish. Talabalarga beriladi:

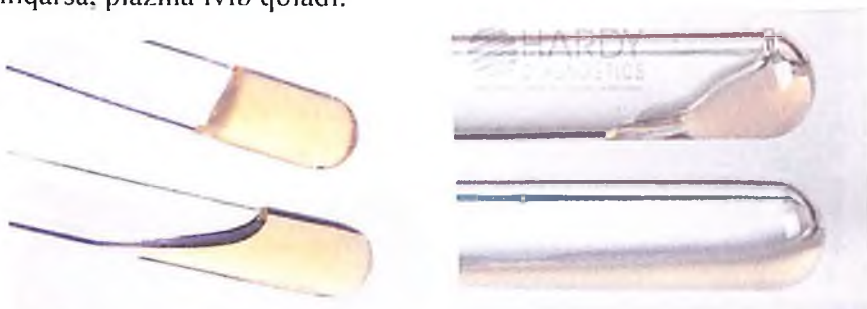
- ✓ Quy on plazmasidan 0,5 ml solingan probirka;
- ✓ Stafilokokkning agarli kulturasi.

Ishning borishi.

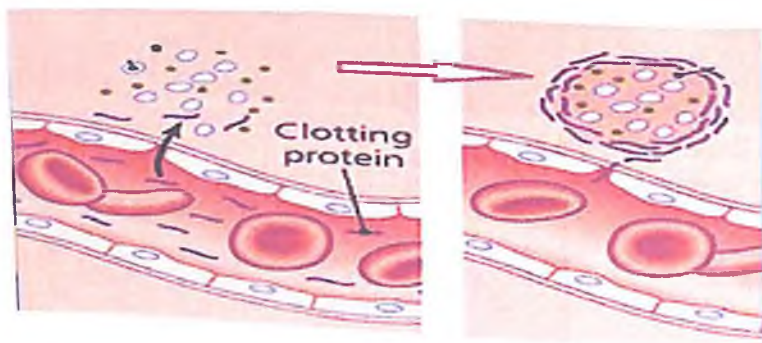
1. Stafilokokklar plazmokoagulaza fermentini ajratishini tekshirish uchun olingan kulturadan qovuzloq yordamida biroz olib, plazmaga aralashtriladi.

2. 37°C, 1 sutkaga termostatda qoldiriladi.

3. Natija baholanadi: agar kultura plazmokoagulaza ajratib chiqarsa, plazma ivib qoladi.



Koagulaz stafilokokklar tomonidan proenzim sifatida ishlab chiqariladi, u qon plazmasi bilan aloqa qilgandan keyin faollashadi. Qon plazmasi faollashtiruvchisi bilan koagulaza kompleksi stafilotrombin deb ataladi. Tana oqsillarining bu majmuasi mikro b hujayrasi atrofida fibrin psevdokapsulasini hosil qiladi, bu mikro b hujayrasini fagotsitozdan va qon zardobining bakteritsid ta'siridan himoya qiladi. Mikro b hujayrasining bu himoya mexanizmi stafilokokklar infekcijasining davom etishida muhim rol o'ynaydi.



IMMUNITET. ORGANIZMNING NOMAXSUS HIMOYASI. SO'LAKDAGI LIZOTSIM FERMENTINI VA QONDAGI NEYTROFILLARNING FAGOTSITAR FAOLLIGINI ANIQLASH

Immunologiya fani immunitet haqida fan bo'lib, immun javob reaksiyalariga sabab bo'luvchi har xil kimyoviy moddalar va birikmalarga, ya'ni antigenlarga organizm reaksiyasini, molekular va hujayraviy javob mexanizmlarini o'rganadi. Bunday antigenlarga yuqumli agentlarning (viruslar, mikroorganizmlar, ularning hayot faoliyati mahsulotlari) yoki noinfeksion biologik moddalar: oqsillar, lipopolisoxaridlari, nukleoproteidlari va boshqa kompleks biopolimerlar misol bo'la oladi. Ana shunday moddalarga qarshi organizmda yuz beruvchi reaksiyalarda ishtrok etuvchi to'qima, organ va hujayralar tizimiga organizmning immun tizimi deyiladi.

Immunologiyada immunologik reaktivlik va nomaxsus himoya omillari tushunchalari mavjud bo'lib, ularni bir - biri bilan adashtirmaslik kerak. **Immun reaktivlik** organizmning har xil antigenlarga nisbatan maxsus reaksiyasidir. Xozirgi vaqtda immunologik reaktivlik 6 ta maxsus reaksiyalar shaklida tafovutlanadi:

1. Immunologik tolerantlik.
2. Immunologik xotira.
3. Antiteloning ishlab chiqarilishi.
4. Darhol yuzaga chiqadigan yuqori sezuvchanlikning tipi.
5. Asta-sekin yuzaga chiqadigan yuqori sezuvchanglikning tipi.
6. Idioplastar-antiidiotipik o'zaro ta'sir.

NOMAXSUS HIMOYA OMILLARI:

1. Hujayraviy.
2. Gumoral.
3. To'qimali
4. Funksional.

Hujayraviy nomaxsus himoya omillari

Hujayraviy nomaxsus himoya omillaridan muhim biri – fagotsitoz jarayonidir. Fagotsitoz jarayoni deyarli barcha hujayralarda yuz beradi ammo immun javob reaksiyalarida ishtrok etishiga ko'ra quyidagi hujayralarda kechuvchi fagotsitoz ahamiyatlidir;

1. Qonda sirkulyatsiyalanuvchi granulotsitlardagi fagotsitoz.
2. To'qima makrofaglaridagi fagotsitoz.

Fagotsitoz

Fagotsitoz (yunon tilidan. **phagos** "yutmoq" + **kytos** "hujayra") - bu har xil begona, tashqaridan tushgan yot bo'lakchalarni (mikroblarni), organizmning maxsus hujayralari (neytrofillar, monotsitlar, makrofaglar, dendritik hujayralar va semiz hujayralari) tomonidan qamrab olinishidir.



Neytrofillar



Monotsitlar



Makrofaglar



Dendritik hujayralar



Semiz hujayra

Bu fagositlar yuzasida begona - yot birikmalarni, bakteriyalarni aniqlaydigan maxsus retseptor - molekulari mavjuddir.

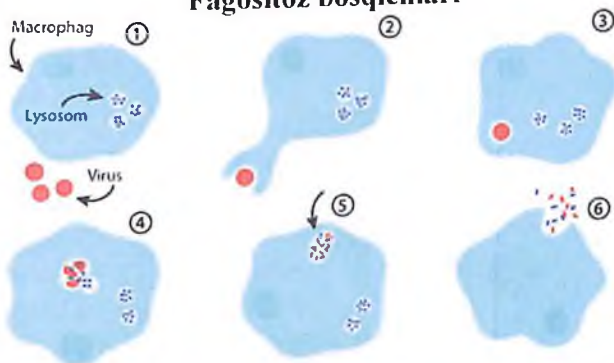
Organizmدا infeksiya jarayoni yuz berganda kimyoviy signallar infeksiya kirgan joyga fagotsitlarni jalb qiladi. Bu signallar bakteriyalardan yoki u yerda mavjud bo'lgan boshqa fagositlardan kelib chiqishi mumkin. Fagositlar *xemotaksis* orqali harakatlanadi. Fagositlovchi hujayralar bakteriyalarga yaqinlashganda, uning yuzasidagi retseptorlar unga bog'lanadi, bu esa bakteriyaning fagositlar tomonidan yutilishi (so'rilishi)ga olib keladi.



Yutilgan ob'ekt (bakteriyalar)ning turidan kelib chiqib fagositoz turlicha bo'lishi mumkin: tugallangan, tugallanmagan va chiqarib yuboruvchi fagositoz

1. **Tugallangan fagositoz** – fagotsit hujayralari tomonidan yutilgan mikroorganizmlarning to'liq parchalanishi va yo'qotilishi.

Fagositoz bosqichlari



1-xemotaksis-yaqinlashishi; 2 –adgeziya bo'lishi va botib kirishi (yutilishi); 3 – fagasoma hosil bo'lishi; 4 – Killing va parchalab yo'qotilishi; 5 – qoldiq maxsulotlarni chiqarishga tayyorlash; 6 – qoldiq maxsulotlarni chiqarib tashlanilishi.

1. Xemotaksis - fagositning mikrobgga yaqinlashishi.

2. Fagotsitlarning yopishishi. adgeziya jarayoni-fagositlar retseptorlar yordamida mikrobgga yopishadi. Fagotsitlar membranasi tarkibida komplementning S_2 fraksiyasi uchun va immunoglobulinlarning Fc - fragmenti uchun retseptorlar bo'lib, immun va normal qon zardoblari adgeziya jarayonini va mikroblarning fagotsitoz jarayonini kuchaytirar ekan.

3. Endotsitoz - fagosomalari hosil bo'lib, mikroblarni o'rab olishi. Bu bosqich energiya sarflanishi bilan boradi.

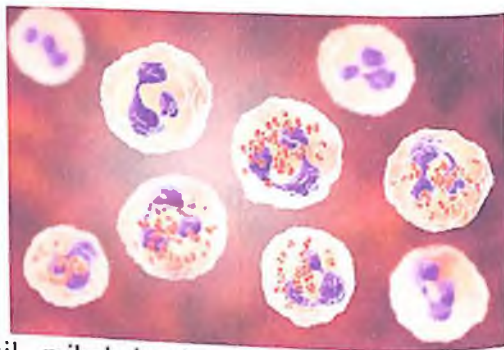
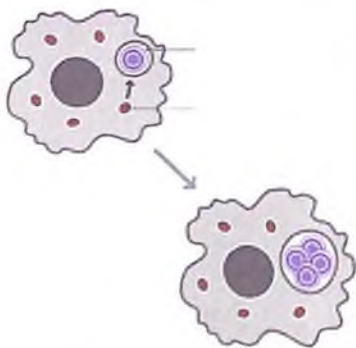
4. Mikroblarning hujayra ichida inaktivatsiya bo'lib, fermentlar yordamida parchalanishi. Bu bosqich fagolizosoma hosil bo'lib, fagosoma bilan lizosomaning qo'shilishidan hosil bo'ladi.

Lizosomalari sitoplazma ichida hosil bo'lib, o'zida 80 ga yaqin ferment tutadi. Bu fermentlar mikroblarga bakteriotsid ta'sir qiladi. Fagosoma va lizosomalari qo'shilganda mana shu fermentlar va bakteriotsid oqsillar (protaminlar, gistonlar) ta'sir qilishadi.

Fagotsitoz protsessi mikroblarning o'limi bilan tugasa, tugallangan fagotsitoz deyiladi.

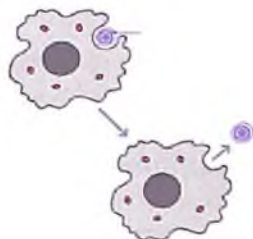
Ba'zi vaqtda (kapsulali yoki kislota, ishqor, spirtlarga chidamli) bakteriyalar fagotsitoz bo'lgandada mikroblar o'lmay, tirik qoladi va bu holat tugallanmagan fagotsitoz deyiladi.

2. **Tugallanmagan fagotsitoz** – yutilgan mikroorganizmlarning ayrimlari uchun fagotsit hujayralari ichidagi muhit qulay bo'lib bu mikroorganizmlar omon qolishi va ko'payishi yuz beradi.



Masalan: gonokokklar, sil mikobakteriyasi, brusellalarni olish mumkin. Bu mikroblar yashash xususiyatini nafaqat saqlab qoladi, balki leykotsitlar ichida faol ravishda ko'payadi. Bu jarayonda fagotsitlarning faoliyati buziladi, ularning o'limiga sabab bo'ladi.

3. *Chiqarib yuboruvchi fagositoz* - fagotsit hujayralari tomonidan yutilgan mikroorganizmlar hech qanday o'zgarishsiz hujayradan tashqariga chiqarib yuboriladi.



Gumoral nomaxsus himoya omillari:

- | | |
|---------------------|--------------------------------------|
| -normal antitelolar | -beta-lizin |
| -komplement | -leykin |
| -lizotsim | -interferon |
| -properdin | -virus ingibitorlari
va boshqalar |

Bular har doim qon zarobida, shilliq qavat sekretlarida, organizm to'qimalarida uchraydi.

Normal antielolar - sog'lom odam qon zardobida kam miqdorda uchraydi. Bular ma'lum bir maxsus antigenlar uchun paydo bo'lmagan, tabiati ham oxirigacha o'rganilgan emas. Ba'zi bir immun tanqislik kasalliklarida va organizmning patologik holatlarida qon zardobi tarkibida antitela birdan kamayib ketadi, ba'zida uchramasligi ham mumkin.

Komplement - qon zardobida bo'lib, Ag va At kompleksi bilan bog'lanib, ularni faollashtiradi. Komplement zardobning bakteriotsid xususiyatini oshiradi, hujayra ichidagi yot unsurlarni yo'qotishda qatnashadi. Komplementga tanqis bo'lgan organizm infeksiyaga beriluvchan, autoimmun kasalliklarga moyil bo'lishi mumkin. Komplement mikroblarni va boshqa hujayralarni lizis qilib yuboradi. Komplement organizmning boshqa suyuqliklarida ham uchraydi. Faqat ko'zning oldingi kamerasi suyuqligida va orqa miya suyuqligida bo'lmaydi. Dengiz cho'chqasi qon zardobida eng ko'p komplement bo'ladi.

Komplementning 9 ta komponenti ma'lum: S₁-S₉.

Lizotsim - (asetilmuromidaza) bakteriyaning hujayra devori tarkibidagi peptidoglikan polisaxaridlarni buzadi, haroratga chidamli. Lizotsim ko'z yoshida, burun suyuqligida, so'lakda, qon zardobida uchraydi. Lizotsim Gr⁺ bakteriyalarga faol ta'sir qiladi. Gr⁻

bakteriyalarga taʼsiri kamroq. Lizotsim bakteriyalarga bakteritsid taʼsir qiladi.

Properdin - yuqori molekulyar oqsil boʻlib, qon zardobida uchraydi. Mikroorganizmlaridagi polisaxaridlar bilan birikib, properdin-polisaxarid kompleksini hosil qiladi va komplektning 3-komponenti (S_z) bilan birikadi. Properdin boshqa gumoralomillar bilan va Mg^{+} ioni bilan birgalikda qon zardobining bakteritsid, gemolitik, virusni neytrallashtiruvchi xususiyatlarini keltirib chiqaradi. Baʼzi bir patologik holatlarda properdinning miqdori kamayadi va organizmning rezistentligi susayadi.

Beta-lizozimlar bakteritsid omilga ega boʻlib, haroratga chidamli. Asosan spora hosil qiluvchi anaerob mikroblarga faolligi kuchli. Bular ham zardobda uchraydi.

Leykotsitlar - leykotsitlar parchalanganda ajralib chiqadi, haroratga chidamli. Bular Gr^{+} bakteriyalarni inaktivatsiya qiladi.

Interferonlar - yuqori molekulyar oqsillar boʻlib, leykotsitlar va baʼzi hujayralar sintez qilishadi. Leykotsitlar interferon virusli kasalliklarda davolash va profilaktika maqsadida ishlatiladi.

Toʻqimaning nomaxsus omillari

Bunday nomaxsus himoya omillariga teri va shilliq qavatning toʻsqin (barer)lik funksiyasi kiradi. Sogʻlom, shikastlanmagan teri kuchli bakteritsid xususiyatiga ega. Bu xususiyatni undagi mikroflora, terining kislotali reaksiyasi, teri harorati, namligi bajaradi. Terining kislotali reaksiyasi undagi sut kislotalari, yogʻ kislotalariga, amino kislotalarga, ter suyuqligi va ter yogʻlariga bogʻliqdir. Shuning uchun baʼzi bir mikroblar terida uzoq vaqt yashay olmaydi.

Oshqozon, ichak, koʻz, burun, ogʻiz boʻshligʻi va boshqa organlar shilliq qavatlari ham nomaxsus omillarga kiradi. Shilliq qavat hujayralari oʻzida lizotsim, sekretor IgA tutadi. Bular ichak va respirator organlarning mikroblarga chidamliligini oshiradi. Oshqozondagi suyuqlikning kislotali reaksiyasi, toʻqima va organlardagi gialuron kislotalar mikroorganizmlarning koʻpayishiga toʻsqinlik qiladi. Immun sistemada periferik organ hisoblangan limfa tugunlari ham mikroorganizmlarni ushlab va zararsizlantirish xususiyatiga ega. Lizotsim termostabil oqsildan iborat.

Funksional shakldagi himoya

Funksional shakliga organizmning suyuqlik ishlab chiqaruvchi sistemasi va shilliq qavat sekresiyalarining oshishi funksional himoya omillarni keltirib chiqaradi. Bu omillar natijasida patogen mikroblar organizmdan fiziologik va patologik ajralib chiqayotgan suyuqliklar (masalan: yo'talish, aksirish, qusish, terlash) yordamida chiqarib yuboriladi.

Nomaxsus himoya omillariga tana haroratining ba'zi bir kasalliklarda oshishi ma'lum bir optimal haroratda o'sadigan mikroblar uchun noqulay sharoit bo'lib, mikroblarga ta'sir qiladi. Shuning uchun ba'zi bir yuqumli kasalliklarda harorat yuqori bo'lmasdan, kasallik cho'zilib ketadi. Ko'pgina kasalliklar organizmning nomaxsus himoya omillari sustlashgan vaqtida yuzaga keladi. Ba'zi bir dori vositalari organizmning nomaxsus himoya omillariga ta'sir qilishi mumkin.

AMALIY ISHLAR

1. Tayyor preparatda fagositlangan leykotsitlarni aniqlash.
2. Tayyor preparatda fagositoz ko'rsatkichini aniqlash (fagositoz, fagositar son, fagositar indeks)
3. Lizotsim aktivligini so'lakda aniqlash; (qog'ozli disk usulida).

So'lak tarkibidagi lizotsim fermentining bakteriotsid ta'sirini aniqlash:

- 1) Suyuq oziq muhitida o'stirilgan mikrokokk kulturasining tozaligini aniqlash uchun surtma tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi (*2-laborator ishiga qaralsin*).
- 2) Pipetka yordamida 1-2 ml mikrokokk kulturasidan olinadi (tekshirilayotgan kultura zich muhitda o'stirilgan bo'lsa fiziologik eritma yordamida yuvib olinadi) va zich oziqli agar solingan Petri kosachasiga qo'yiladi.
- 3) Petri kosachasidagi zich oziq muhit yuzasiga «gazon» usulida bir tekis yoyilib (Petri kosachasini har tomonga qiyalatish orqali yoki tampon yordamida) ekiladi.
- 4) Ortiqcha suqlik dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishga to'kiladi.
- 5) Bir oz qurishi uchun 36 - 37° C haroratli termostatga qo'yiladi.
- 6) Petri kosachasi 10 – 20 daqiqadan so'ng qayta olinib muhit yuzasiga pensit yordamida so'lak shimdirilgan qog'ozli disklar qo'yiladi.

7) 36 - 37° C haroratli termostatga qo'yilib 1 sutka (24 soat) ga qoldiriladi.



So'lak tarkibidagi lizotsim fermentini tajribada seriyali suyultirish usulida aniqlash.

Komponentlar	Probirkalar			
	1:100	1:1000	1:10000	Nazora
Fiziologik eritma	3,6	2,0	2,0	2,0
So'lak 1:10	0,4	2,0	2,0	
M.Lisodeiticus (1 mlrd/ml kulturasi)	1,0	1,0	1,0	1,0

Ahamiyati shundan iboratki, *in vitro* da 30 daqiqa ichida neytrofillar mikroblarni qamrab fagositoz qilishi mumkin.

Tajribani qo'yish

1. Geparin qo'shib olingan qondan 0,2 ml steril probirkaga quyiladi.
2. So'ngra unga, 1 ml/1mlrd *S. aureus* ning bir kecha kunduzli kulturasidan tayyorlangan va suv hammomida 80°C da bir soat davomida o'ldirilgan bakteriya suspenziyasidan 0,1 ml qo'shiladi.
3. Tayyor aralashma 5 daqiqa 800, 1 daqiqa aylanish tezligida sentrifuga qilinadi
4. 30 daqiqa termostatda saqlanadi.
5. 30 daqiqa inkubatsiyadan keyin probirkaning ustki qismidagi suyuqlik ehtiyotlik bilan paster pipetkasi yordamida olib tashlanadi
6. Cho'kma asta- sekin aralashtiriladi.
7. Surtma tayyorlanadi, quritilib, metil spirti yoki Nikiforov eritmasida (5-10 daqiqa) fiksatsiya qilinadi
8. Romanovskiy - Gimza usulida 15-30 daqiqa bo'yaladi.

9. Surtma immersion sistemada mikroskopda ko'riladi va 100-200 neytrofililar sanaladi.

10. Sanalgan neytrofililar ichida fagosit qilganlari NFA % ifodalaniladi.

Har bir neytrofildagi fagosit qilingan mikroblarning o'rtacha miqdori (fagositar indeks) hisoblab topiladi. Normada o'рта yashar odamlarda NFA 50-65%, fagositar indeks esa 5-9 bo'lishi mumkin.

Odam periferik qonidagi neytrofilarning fagositar faolligini (NFA) aniqlash

Bu usul qon tarkibidagi neytrofilarni begona mikroblar va boshqa yot agentlarini qamrab, fagosit qilib olishiga asoslangan.

Materiallar va jihozlar. Tekshiriladigan qon, termostat, probirkalar, slaydlar va qoplamalar, karmin yoki tush suspenziyasi, bakteriyalar suspenziyasi, Romanovskiy bo'yog'i, Ringer eritmasi, 2% natriy sitrat eritmasi, etil spirti, paxta, doka, mikroskop.

Ishning borishi. Laboratoriya sharoitida fagositar faollikni aniqlash N.V. Puchkov usuli bo'yicha amalga oshirilishi mumkin:

1. Probirkaga 0,1 ml natriy sitrat eritmasi solinadi;
 2. Hozir olingan qon 0,4 ml miqdorda qo'shiladi;
 3. Karmin donalari (tush) suspenziyasi yoki mikroblar tanachalarini tutuvchi suspenziyadan 0,1 ml qo'shiladi;
 4. Probirkadagi aralashma 5 minut chayqatiladi;
 5. 37°C haroratli termostatda 30 minut saqlanadi;
- (Bu vaqt davomida ikki marotaba bir daqiqadan, probirkaning tarkibidagi suyuqliklar aralastiriladi).*
6. Aralashmadan yupqa qon surtmalari kabi surtma tayyorlanadi;
 7. Metil spirti yordamida 5 minut davomida fiksatsiyalanadi;
 8. Gimza - Romanovskiy usuli bo'yicha bo'yaladi.

Bo'yalgan preparatda fagositning faolligini tahlil qilish

1. Preparatning chetiga bir tomchi immersion moy tomiziladi
2. Unga mikroskopning ($\times 90$) ob'ektiv botiriladi va tasvir topiladi;
3. Ko'rish sohasi yaxshi yoritilgach 100 ta leykotsit sanaladi;

4. Ularda fagositozning faolligi tahlil qilinadi. Buning uchun begona zarralarni - bo'yoq donalari yoki mikroblar hujayralarini yutgan leykotsitlar sanaladi;

5. 100 ta tanlangan leykotsitlardan fagositoz yuz bergan hujayralar ajratilib *foizi (%)* aniqlanadi:

6. *Fagositar indeks*, ya'ni bitta leykotsit tomonidan yutilgan begona zarralarning o'rtacha soni aniqlanadi.

Hisoblashga misol. 100 ta leykotsitdan 87 tasida mikroblar topildi; Bunda fagositozning ulushi 87% bo'ladi. Ushbu 87 ta leykotsit ichida 610 ta begona zarrachalar topildi, u holda fagositar indeks $610:87=7.01$ ga teng bo'ladi.

Oq sichqonlarda fagositoz tajribasini o'tkazish.

1. 24 soat oldin oq sichqonlar qorin pardasiga 2-3 ml steril, 1 % li kraxmal eritmasi yuboriladi.

Bu qorin bo'shlig'ida fagositoz qiluvchi hujayralarning to'planishiga olib keladi. Bu holat kraxmalga bo'lgan septik yallig'lanish va fagositlar xemotaksisi natijasida sodir bo'ladi.

2. So'ngra sichqonlarning qorin pardasiga 1 ml dan iborat ikki milliardli stafilokokk kulturasi yuboriladi.

3. 30 daqiqa o'tgandan so'ng oq sichqonlarning qorin devoriga paster pipetkasi kapillyarining ingichka tomoni bilan sanchiladi;

4. Bir necha tomchi eksudat olinadi;

5. Buyum oynachasiga surtilib surtma tayyorlanadi;

6. Havoda quritiladi;

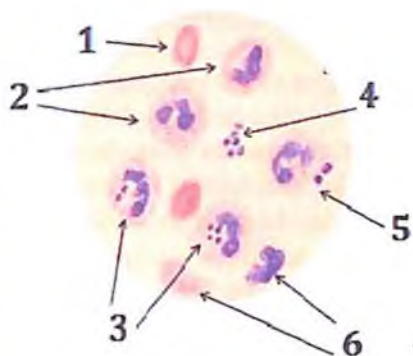
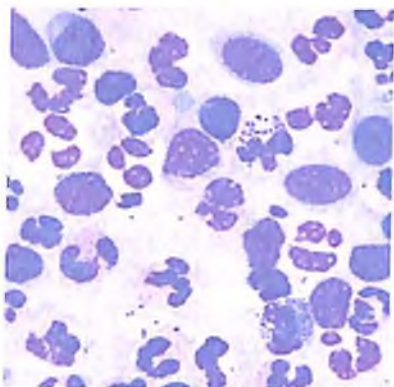
7. Metil spirti yordamida 5 minut davomida fiksatsiyalanadi;

8. Metilen ko'ki eritmasi bilan 3-4 daqiqa davomida bo'yaladi;

9. Preparatga bir tomchi immersion moy tomiziladi;

10. Unga mikroskopning ($\times 90$) ob'ektiv botiriladi va tasvir topiladi;

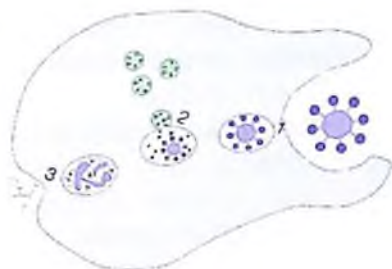
Surtmalar mikroskop ostida ko'rilganda stafilokokklarni qamrab olgan mikrofloralar (polimorfyadro hujayralari) va makrofaglar (mononuklearlar) och-havo rangli fagositlar sitoplazmasi fonida to'q ko'k rangga bo'yalgan holda ko'rinadi.



Sxematik tahlili:

1-eritrotsitlar, 2-neytrofillar, 3-fagositoz yuz bergan neytrofillar, 4-yutilmagan stafilokokklar, 5-Neytrofil yuzasiga adgeziya bo'lgan stafilokokklar, autolizga uchragan neytrofillar.

Preparatda fagositozning ayrim bosqichlari yopishish, qamrab olish, qisman hazm qilishni ko'rish mumkin.



Sxematik shakli

4. Ularda fagositozning faolligi tahlil qilinadi. Buning uchun begona zarralarni - bo'yoq donalari yoki mikroblar hujayralarini yutgan leykotsitlar sanaladi;

5. 100 ta tanlangan leykotsitlardan fagositoz yuz bergan hujayralar ajratilib foizi (%) aniqlanadi:

6. *Fagositar ineks*, ya'ni bitta leykotsit tomonidan yutilgan begona zarralarning o'rtacha soni aniqlanadi.

Hisoblashga misol. 100 ta leykotsitdan 87 tasida mikroblar topildi; Bunda fagositozning ulushi 87% bo'ladi. Ushbu 87 ta leykotsit ichida 610 ta begona zarrachalar topildi, u holda fagositar indeks $610:87=7.01$ ga teng bo'ladi.

Oq sichqonlarda fagositoz tajribasini o'tkazish.

1. 24 soat oldin oq sichqonlar qorin pardasiga 2-3 ml steril, 1% li kraxmal eritmasi yuboriladi.

Bu qorin bo'shlig'ida fagositoz qiluvchi hujayralarning to'planishiga olib keladi. Bu holat kraxmalga bo'lgan septik yallig'lanish va fagositlar xemotaksisi natijasida sodir bo'ladi.

2. So'ngra sichqonlarning qorin pardasiga 1 ml dan iborat ikki milliardli stafilokokk kulturasi yuboriladi.

3. 30 daqiqa o'tgandan so'ng oq sichqonlarning qorin devoriga paster pipetkasi kapillyarining ingichka tomoni bilan sanchiladi;

4. Bir necha tomchi ekssudat olinadi;

5. Buyum oynachasiga surtilib surtma tayyorlanadi;

6. Havoda quritiladi;

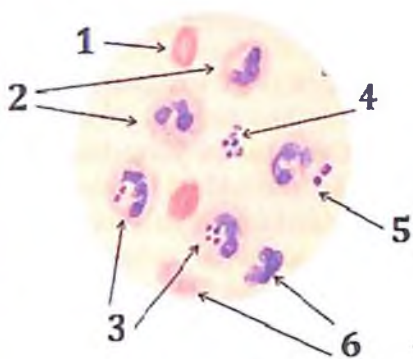
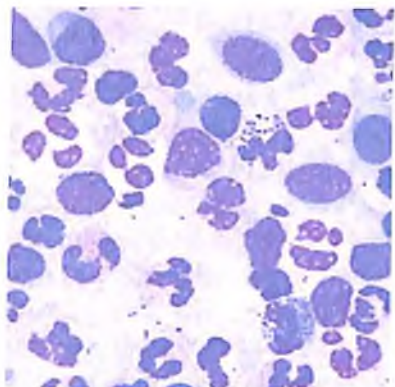
7. Metil spirti yordamida 5 minut davomida fiksatsiyalanadi;

8. Metilen ko'ki eritmasi bilan 3-4 daqiqa davomida bo'yaladi;

9. Preparatga bir tomchi immersion moy tomiziladi;

10. Unga mikroskopning ($\times 90$) ob'ektiv botiriladi va tasvir topiladi;

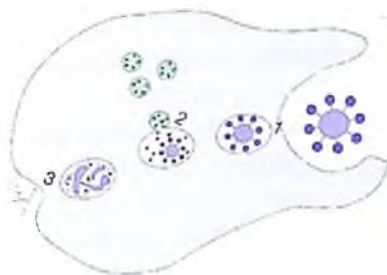
Surtmalar mikroskop ostida ko'rilganda stafilokokklarni qamrab olgan mikrofaqarlar (polimorf yadro hujayralari) va makrofaqarlar (mononuklearlar) och-havo rangli fagositlar sitoplazmasi fonida to'q ko'k rangga bo'yalgan holda ko'rinadi.



Sxematik tahlili:

1-eritrotsitlar, 2-neytrofillar, 3-fagositoz yuz bergan neytrofillar, 4-yutilmagan stafilokokklar, 5-Neytrofil yuzasiga adgeziya bo'lgan stafilokokklar, autolizga uchragan neytrofillar.

Preparatda fagositozning ayrim bosqichlari yopishish, qamrab olish, qisman hazm qilishni ko'rish mumkin.



Sxematik shakli

SERALOGIK REAKSIYALAR

Nazariy asoslari

Antigen (ingl. *antigen* *bu* – *anti* – *body* – *generating* – «antitela hosil bo'lishiga undovchilar» degan so'zlardan olingan bo'lib) – irsiy axborotlar asosida sintezlangan, yuqori molekulyar massaga ega, kolloid ko'rinishidagi barcha biopolimerlardir.

Bunday biopolimerlarning har birida o'zgacha molekulyar tuzilish, o'zigacha tartib va tarkib o'larning tabiatda takrorlanmas - noyob bo'lishiga sababchidir. Shuning uchun *antigen bu har qanday biopolimerlar molekular tuzilishining o'ziga xosligidir* deb ta'riflash mumkin. Biopolimerlar (oqsil, lipopolisaxarid, glikolipid va h.k.) molekulasidagi har xil radikallarning o'zgarishi yangi – o'zgacha antigenlarning hosil bo'lishiga olib keladi.

Glikolipoprotien, lipopolisaxarid va glikolipidlar uglevod va lipidlarga parchalanganda ularning antigenlik xususiyati yo'qoladi va chala antigenlar – *gaptenlarga* aylanadilar.

Antigenlar makroorganizmlarda immun biologik reaksiyalarga sabab bo'lib, molekulyar va hujayraviy javob mexanizmlarni shakillanishga undaydi. Yuqumli agentlarning (viruslar, mikroorganizmlar, ularning hayot faoliyati mahsulotlari) yoki noinfekcion biologik moddalar: oqsillar, lipopolisaxaridlari, nukleoproteidlari va shunday boshqa kompleksdagi *biopolimerlar immunologiyada antigenlar* deb yuritiladi.

Antigenlar quyidagi xususiyatlarga egadirlar:

- maxsuslik (o'ziga xoslik);
- getrogenlik;
- kolloid (yunonchadan *kolla* - yelim + *eidosis* - ko'rinish; «*yelimsimon*»);
- organizm suyuqliklarda eruvchanglik.

Bunday moddalar organizmga *parenteral* kiritilganda (teri ostiga, teri ichiga, qorin ichiga, vena ichiga) immun javob reaksiyalari yuz berishi - antitelolar hosil bo'lishi va ular bilan maxsus birikishi kuzatiladi.

O'simlik zaharlari antigen xususiyatiga ega: ritsin, abrin, kortin va boshqalar.

Hayvon zaharlari: ilon, o'rgimchak, chayon, qoraqurt, ari zaharlari, fermentlar, begona oqsillar har xil hujayra, to'qima elementlari, bakteriyalar va ularning toksinlari, rikketsin va viruslar antigen bo'lib ta'sir etadi. Antigen to'liq va noto'liq antigen (*gaptenlar* va

yarimgapten) larga bo'linadi. To'liq antigenlar - organizmda antitelo hosil qiladi va ular bilan *in vivo* va *in vitro* hollarida ta'sirlanadi (begona oqsil, zardob, viruslar, hujayra elementlari). Noto'liq antigenlar - bu gaptenlar bo'lib organizmda antitelo hosil qilmaydi, lekin ular bilan ta'sirlanadi. Gaptenlarga yog'lar, murakkab uglevodlar va boshqa moddalar kiradi. Ozigina oqsilni gaptenlarga qo'shish ularga to'liq antigenlik xosasini beradi. Bu holatda oqsil o'tkazuvchi vazifasini bajaradi. Noto'liq gaptenlar (yod, brom, kolloid temir, bo'yoqlar va boshqa kimyoviy guruhlar) o'z holicha antigen bo'la olmaydi, lekin organizmning biror bir oqsili bilan birikkanda, antigen xosasiga ega bo'ladi.

Bakteriya, rikketsiya, virus antigenlari ularning tur va xil (tip) maxsusligi bilan xarakterlanadi. Bundan tashqari guruhga xos antigenlar bir-biriga yaqin bo'lgan turlarda aniqlangan.

Autoantigen – oragnizmnining o'zida mavjud bo'lgan biror bir oqsil, lipopolisaxarid yoki boshqa biopolimerlarni immun tizimi tomonidan antigen deb qabul qilinishi oqibatida **autoantitelolarning** ishlab chiqarilishidir.

Bunday moddalarga ko'zning gavhari, spermatazoid, urug' bezining, terining va boshqa to'qimalar gamogenlari kiradi. Bu to'qimalar shikastlanganda – ezilganda, parchalanganda so'rilib autoantigenlar ko'rinishida immun tizimga ta'sir etadi va autoantitelo hosil qilish mumkin.

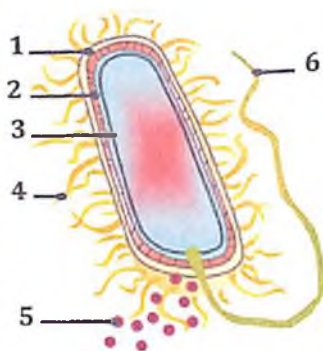
Autoantigenlar sovuqqotish, nurlanish, medikamentoz preparatlar (piramizon, sulfanilamidlar, oltin preparatlari va boshqalar) virus infeksiyasi (virusli zotiljam, mononukliod), bakteriya oqsillari va streptokokk, stafilokokk, sil mikobakteriyasi toksinlari, paraproteinlar, aseptik autoliz va boshqa omillar ta'sirida ham vujudga kelishi mumkin.

Bakteriya hujayrasining antigen tuzilishi.

Bakteriyalar murakkab antigenlar kompleksi hisoblanadi. Ularning tarkibida oqsil tabiatli yuqori molekular birikmalar va biologik aktiv maxsus lipopolisaxaridlar bor.

Barcha bakteriyalarning hujayra devoridagi lipopolisaxaridlar (LPS) O - (samotik) antigenlar deb nomlanadi (2). O - antigenlar yuqori haroratga chidamli, 80-100°C gacha qizdirganda ham saqlanadi. Harakatchan bakteriyalarda H-antigenlar (xivchinlarda) bo'ladi (6). Bu antigenlar oqsil tabiatli bo'lgani uchun yuqori haroratga chidamsiz, 56-80°C da parchalanib ketadi. Qorin tifini virulintli salmonella

shtamlaridan nisbatan termolabil antigenlar ajratib olinib, u Vi (virulentlik) - antigen deb ataladi (1). O va Vi -antigenlar hujayrani ustida yoki qutblarida joylashgan deb taxmin qilinadi: Vi- antigen yuzaroq qismda joylashgan, O-antigen chuqurroq joylashgan bo'lib, Vi-antigen bor mikroblar O - zardobi bilan agglyutinatsiya bermaydi.

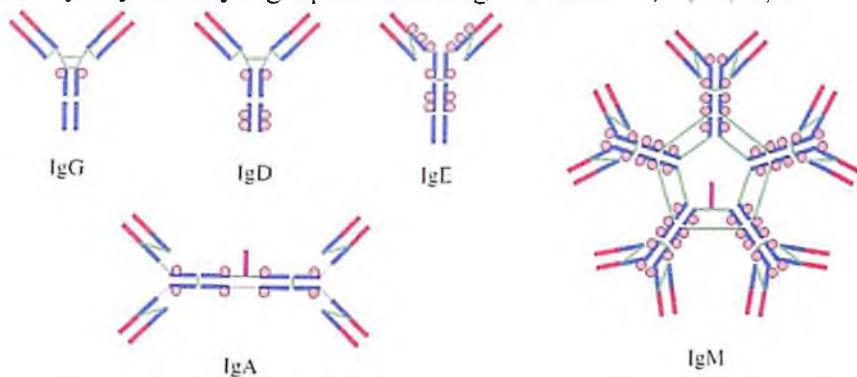


Kapsulali bakteriyalarda K - kapsula antigenlari mavjud bo'lib u murakkab polisaxaridlardan tuzilgan, mikroorganizmlarga tip maxsusligini beradi. Qobiqdagi K - antigenlar ham mavjud. Ular O - antigenlar hisobiga hosil bo'ladi va hujayrani tashqi yuzasida joylashadi. S - shakldagi bakteriyalarni butun somatik antigen polisaxaridli gapten saqlaydi. U tur maxsusligini ifodalaydi. Himoya antigenlar aniqlangan (protektiv antigen). Ular organizm to'qimalarida bakteriyalar ko'payishida hosil bo'ladi. Himoyalovchi antigenlar ancha katta himoyalash xususiyatiga ega va amaliyotda immunizatsiya maqsadida ayrim yuqumli kasalliklarga qarshi qo'llash mumkin. Mikroblarning toksini (5) ham antigenlik xususiyatiga ega. Ekzotoksinlar hujayradan tashqaridagi antigen sifatida ko'riladi. Formalin yoki turli haroratlarda zararsizlantirilgan ekzotoksinlar o'zining antigenligini saqlagan holda zaharlilik xususiyatini yo'qotadi. Ular *anatoksinlar* deb nomlanadi va amaliyotda odamlarni va hayvonlarni emlashda qo'llaniladigan vaksinaning bir turi bo'lib hisoblanadi.

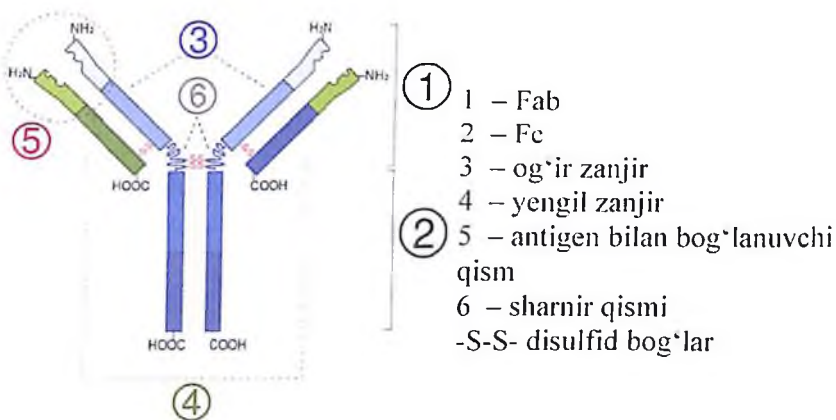
Antitelo (immunoglobulin). Ular oqsil bo'lib, umurtqalilar organizmida antigen kiritilganda hosil bo'ladi va u bilan maxsus bog'lanish hosil qilish qobiliyatiga ega. Antitelo hosil bo'lishi faqat infeksiya bilan kasallanganda hosil bo'lib qolmay, tirik, o'lik bakteriyalar, rikketsiyalar, viruslar, toksinlar, anatoksinlar va boshqa antigen moddalar bilan immunizatsiya qilinganda ham hosil bo'ladi. Aktiv immunizatsiya ta'sirida hosil bo'lgan antitelo – immun antitelo deyiladi. Normal antiteladan farqli ularoq yukumli kasallik bilan kasallanmagan va immunizatsiya qilinmagan odam va hayvonlar qon zardobida uchramasligidir.

Antiteloning faol markazi 3-4 ta aminokislotalar qoldig'idan iborat bo'lgan peptiddir. Ulchami va formasiga ko'ra gomologik antigen determenantiga mos keladi. Antitelolar immunoglobulinlarga kiradi.

Ular oqsillarining geterogen guruhidir. Immunoglobulinlar o'zining fizik - kimyoviy xususiyatiga qarab 5 ta sinfga bo'linadi: A, G, M, D, E.



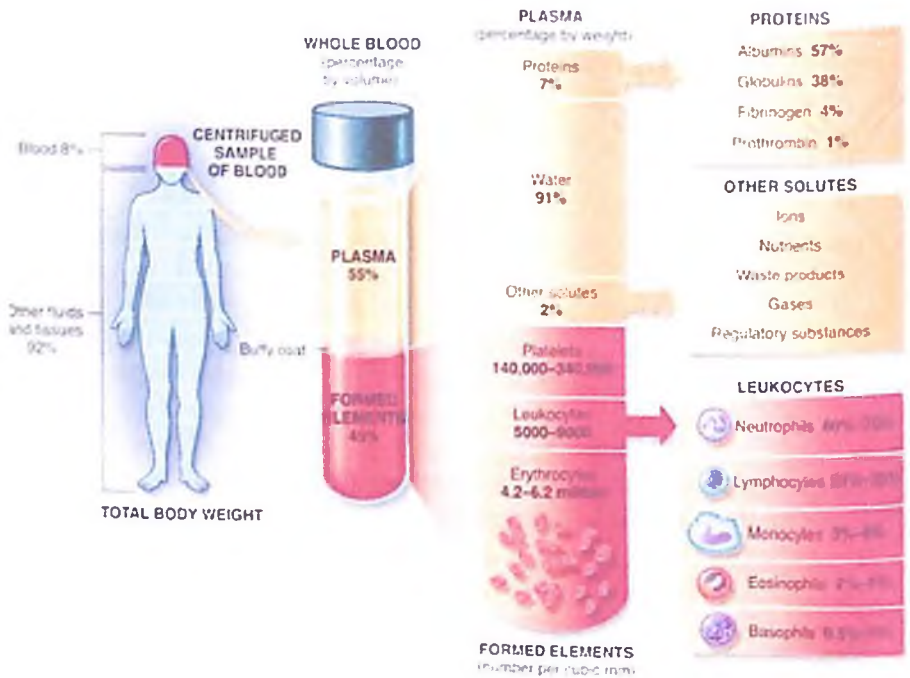
Ularning katta qismini tashkil etgan immunoglobulinlar 4 polipeptid zanjirdan tuzilgan bo'ladi; (2 yengil va 2ta og'ir).



- ① 1 – Fab
- 2 – Fc
- 3 – og'ir zanjir
- 4 – yengil zanjir
- ② 5 – antigen bilan bog'lanuvchi qism
- 6 – sharnir qismi
- S-S- disulfid bog'lar

Antitelolar faqat uni hosil bo'lishiga sabab bo'lgan antigen bilan bog'lanishi uning maxsusligini ta'minlaydi. Mana shu xossasi sababli diagnostik ahamiyatga ega.

Antitelolar qon zardobida (lotin. serum – zardob) uchraganligi va qon zardobi ishtrokida sodir bo'luvchi reaksiyalar serologik reaksiyalar deb ataladi.



Serologik reaksiyalar to'g'ridan – to'g'ri bevosita (ikki komponentli) – agglyutinatsiya, passiv gemagglyutinatsiya, presipitatsiya va boshq., va bilvosita (uchkomponentli) – neytrallash reaksiyasi, gemagglyutinatsiyani tormozlash reaksiyasi kabi turlarga bo'linadi.

Bakteriyali yoki virusli infeksiyalarning diagnostikasida mana shunday serologik reaksiyalardan in vivo, yoki in vitro sharoitlarda qo'llanilib shubhalanilgan kasallikka xos antieloni (yoki antigenni) bor – yo'qligi, uning titrini aniqlash orqali tashxis qo'yiladi. Shuningdek ajratib olingan mikroblarning identifikatsiyasida ham serologik reaksiyalardan foydalaniladi.

Serologik reaksiyalarni qo'yish

Barcha serologik reaksiyalar asosida antigen va antiteloning o'zaro maxsus bog'lanishi yotadi. Barcha serologik reaksiyalar shartli ravshda 2 ta guruhga bo'linadi:

- ✓ *Oddiy serologik reaksiyalar.*
- ✓ *Murakkab serologik reaksiyalar.*

Oddiy serologik reaksiyalar ham o'z navbatida ikkiga bo'linadi:

- 1) 2 komponentli (antigen va antitelo qatnashuvchi);
- 2) 3 komponentli (antigen, antitelo va kompliment).

Murakkab serologik reaksiyalar 2 yoki 3 ta oddiy serologik reaksiyalardan iborat bo'ladi.

Buyum oynachasi yuzasida (sinama) agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish

1. Yaxshilab tozalangan buyum oynachasi ustiga 2 tomchi **fiziologik eritma** tomiziladi.

2. Birinchi tomchi ustiga 1 tomchi **agglyutinatsiyalovchi zardob** tomiziladi.

3. Bakteriologik qovuzloq (petlya) yoki shisha naycha yordamida **bakteriya kulturasidan** olinadi va birinchi tomchi bilan aralashtiriladi.

4. Oldingidek bakteriya kulturasidan olinadi va ikkinchi tomchi bilan aralashtiriladi (qiyoslash uchun nazorat aralashmasi).

5. 2 - 3 minut kutiladi.

6. Natija baholanadi.



Agarda bu vaqt davomida mikroob kulturasini bilan zardob tomchisi aralashmasi (1) da agglyutinatsiya donachalari (ipir-ipir zarrachalar) hosil bo'lsa va ikkinchi nazorat tomchi (2) da bir tekis loyqa hosil bo'lsa reaksiya musbat hisoblanadi. Agar har ikkala tomchilarda bir xil loyqa hosil bo'lsa, reaksiya manfiydir.

Kengaytirilgan hajmli agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasi

1. Bemor qon zardobi fiziologik eritma bilan 1:50 nisbatda suyultiriladi.

2. Reaksiyani qo'yish uchun 7 ta probirka olinadi (5 ta tajriba va 2 ta kontrol probirkalar).

3. Barcha tajriba probirkalarga 1 ml. dan fiziologik eritma solinadi.

4. **Birinchi** probirkaga 1 ml 1:50 nisbatda suyultirilgan zardobdan solinadi,

5. Birinchi probirkadan ikkinchi probirkaga, ikkinchisidan uchinchisiga va h. k. ketma-ket suyul-tiriladi. Natijada 1:100-1:1600 martagacha zardob suyultirmalari hosil bo'ladi.

6. Ular ustiga 1-2 tomchi diagnostikumdan (mikrob antigenlaridan) tomizib aralashiriladi.

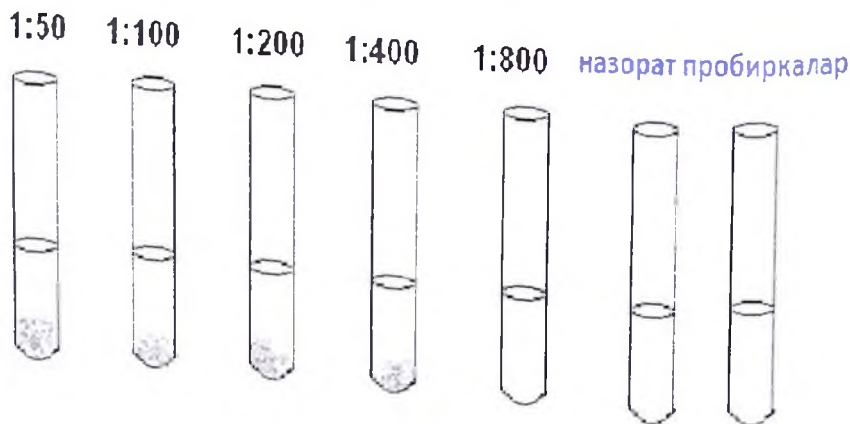
7. Kontrol 1 probirkasiga 1 ml fiziologik eritma ustiga 1-2 tomchi antigen (diagnostikum),

8. Ikkinchi kontrol probirkaga 1 ml 1:50 zardob ustiga 1-2 tomchi fiziologik eritma tomiziladi.

9. Probirkalar qo'yilgan shtativni 2 soatga 37°C li termostatga, so'ngra 16-18 soatga xona haroratiga qo'yiladi.

10. Reaksiya natijalari baholanadi: nazorat zardobi tiniqligicha qoladi, nazorat antigeni esa tekis loyqalanadi. Tajriba probirkalarda agar reaksiya musbat bo'lsa probirka tubida ipir-ipir agglyutinatsiya sodir bo'ladi (soyabon shakliga o'xshab cho'kma hosil qiladi), uning ustidagi suyuqlik esa bir tekis tiniq bo'ladi. Manfiy natijada esa cho'kma bo'lmaydi, suyuqlik antigen nazorat probirkasiga o'xshab bir tekis loyqalangan bo'ladi.

Zardobning diagnostik titri qaysi tajriba probirkada agglyutinatsiya sodir bo'lgan bo'lsa, o'sha uning titri bo'ladi.



Masalan: agar faqat birinchi tajriba probirkasida agglyutinatsiya bo'lgan bo'lsa titri 1:100, ikkinchisida bo'lsa 1:200 bo'ladi. Bolalarda zardobning diagnostik titri 1:100, kattalarda 1:200 hisoblanadi. Kasallik davom etgan sari zardobda antitelolar miqdori (titri) ortib boradi.

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasida antitelo oldindan biron - bir hujayralarga, birikmalarga adsorbsiyalangan antigen bilan reaksiyaga kirishadi. Bunday antigenlar bir - birlari bilan birikib, yopishishi xususiyatiga ega. Adsorbent sifatiga ko'pincha har xil hayvonlar eritrotsitlaridan, sellyuloza yoki lateks bo'laklaridan foydalaniladi. Ba'zi vaqtlarda buning aksidan foydalaniladi, ya'ni eritrotsitlar yoki bo'lakchalarga antigenlar emas, balki antitelolar adsorbsiyalangan bo'ladi. Bilvosita GAR juda sezgir va maxsus reaksiya bo'lganligi uchun yuqumli kasalliklarga tashxis qo'yishda mikroorganizmlar identifikatsiyasida juda keng qo'llaniladi.

Reaksiyani qo'yish uchun quyidagilar kerak bo'ladi:

- 1) eritilgan holdagi antigen.
- 2) eritrotsitlar.
- 3) tekshiriladigan yoki standart immun zardob.
- 4) natriy xloridning izotonik eritmasi (Osh tuziningi kimyoviy toza 0,85 li eritmasi, rN 7,2 - 7,4).
- 5) Paster pipetkalari yoki o'lchamli pipetkalar.
- 6) organik shishadan tayyorlangan chuqurchali plastinkalar yoki agglyutinatsiya probirkalari.

Reaksiyada hayvonlar (qo'y, maymun, dengiz cho'chqasi), qo'shlar (g'oz, xuroz) va odamning I (0) guruh qon eritrotsitlari ishlatiladi.

Qon steril bankaga olinadi, (shishali banka ichiga solinadi) va fibrinsizlantirish uchun 10-15 minut davomida silkitiladi. Eritrotsitlar tanin bilan qayta ishlangandan so'ng, uni yirik molekuli antigenlarni o'z yuzasiga adsorbsiya qilish xususiyati kuchayadi.

Bilvosita GAR 2 xil variantda o'tkaziladi:

- 1) ma'lum antigen bilan noma'lum antitelo izlanash (Boyden bo'yicha);
- 2) ma'lum antitelo zardob bilan noma'lum antigenni izlash (Ritsay bo'yicha).

Mikroblarning tozalangan antigenlari va bakterial aralashma ekstraktlari Bil GAR da antigen bo'lib xizmat qilishi mumkin. Reaksiya

qo'yilishidan oldin antigen titrlanadi. Titrlashdan maqsad shuki, biz bunda immun zardobning ishechi eritmasi ishtirokida eng chegaraviy, ya'ni eritrotsitlar bir birlari bilan yopishib qolishi mumkin bo'lgan chegaraviy titr aniqlanadi. Antigen fosfatli - bufer fiziologik eritma (rN 6,4) bilan suyultiriladi.

2 hajm antigen eritmasi 1 hajm eritrotsitlar aralashmasi bilan aralastirilib, 15 min uy haroratiga quyib qo'yiladi. So'ngra sentrifugalanadi. Antigenning eritrotsitlar yuzasiga adsorbsiyalanishi rN-6,4 da olib borilishini nazorat qilib turish kerak. Eritrotsitlar cho'kmasi (antigen bilan sensibillangan) 2-3 marta fiziologik eritma bilan yoki fiziologik eritmadagi normal quyon zardobining 1:250 suyultirilish eritmasi bilan yuviladi. So'ngra bu cho'kmaga fiziologik eritma yoki quyonning 1:250 dagi normal zardobi qo'shib, avvalgi hajmini tiklaymiz.

Reaksiyani qo'yilishi.

Barcha tekshiriladigan zardoblar 56°C da 30 min. qizdiriladi.

Reaksiya uchun erituvchi sifatida normal quyon zardobining 1:100 eritmasi olinadi.

Har bir probirkaga yoki plastinka chuqurchasiga 0,5 ml suyultirilgan tekshiriladigan zardob solinadi

1-2 tomchi 1% li eritrotsitlar aralashmasi tomiziladi.

Har bir tajribada reaksiya ingredientlarining nazorati uchun (+) va (-) natija beradigan zardoblar bilan nazorat probirkalar ham qo'yiladi.

Tajriba xona haroratida, bir necha soat qoldiriladi, so'ngra natijasi o'qiladi.

Ko'pincha tajribani natijasi 2 -kun ertalab ham tekshiriladi. Tajriba natijasi eritrotsitlar cho'kmasiga qarab belgilanadi. (-) natija bo'lganda eritrotsitlar tugmacha ko'rinishida cho'kadi (+) natijada eritrotsitlar probirka tubining deyarli hammasini egallaydi, tugmacha ko'rinishini olmaydi. (+) belgisi aniq musbat natija bo'lganda qo'yiladi.

(-) belgisi aniq manfiy natija bo'lganda qo'yiladi.

Shubhali bo'lgan hollarda (\pm) belgi bilan belgilanadi.

Agar tajriba tagiga maxsus (kuzgu) oyna joylashtirilgan shtativlarda qo'yilsa, kuzatuvchi uchun tajriba natijasini o'qish osonlashadi, ya'ni probirkalar tubining aksi oynada ko'rinib turadi.

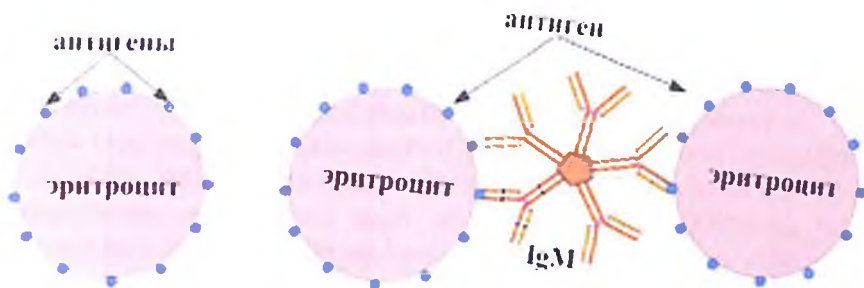
Tajriba quyidagi hollarda hisobga olinib, o'qiladi, agar:

- 1) Kontrol probirkalarda agglyutinatsiya bo'lmasa;
- 2) (-) natija beruvchi zardoblar eritrotsitlarni bir - biriga yopishtirmaganda;

3) (+)natija beruvchi zardoblar bor probirkalarda (+) natija bo'lganda.

4) eritrotsitda gemoliz sezilmaganda;

Bil GAR ni sxematik ravishda quyidagicha tasvirlash mumkin:



Er – eritrotsitlar

AG –antigenlar

AT - antitelalar.

Komplement bog'lash reaksiyasi.

Komplement bog'lash reaksiyasini birinchi marta 1901 yili Borde va Jangu degan olimlar ta'riflab berishdi. Raksiya asosida 2 ta fenomen yotadi:

1. bakterioliz.
2. gemoliz.

Bakterioliz fenomenini 1894 y Poritfer va Isaevlar ishlab chiqdilar. Laboratoriya sharoitida dengiz cho'chqalari vabo vibriyonlarning kuchsizlantirilgan kulturasi bilan immunizatsiya qilinadi. Bu hayvonlar qon zardobida maxsus antitelolar paydo bo'ladi - bu antitelolar bakteriolizindir. Bu immunizatsiya qilib olingan immun zardoblarga in vitro sharoitida tirik vabo vibriyonlari komplement ishtirokida qo'shilganda, vibriyonlar lizisga uchraydi. Gemoliz fenomeni - (Borde, 1898 y)- quyoning zardobiga qo'y eritrotsitlari takroran yuborilganda maxsus antitelo - gemolizlar hosil bo'ladi. Bu gemolizin qo'y eritrotsitlarini faqat komplement ishtirokidagina lizis uchratadi. Gemolizda ham, bakteriolizda ham ikkita komponent ishtirok etadi:

-birinchisi, maxsus antitelolardir. (bular immunizatsiya jarayonida oshib boradi). Bakteriolizlar, gemolizlar bularga misol bo'la oladi, ular termostabilligi bilan ajarlib turadi.

-ikkinchisi, nomaxsus, bunga komplement kiradi. termolabil hisoblanadi. Borde va Jangu, yuqoridagi ikkala fenominni birlashtirib, bu ikki fenomen orasiga minimal miqdordagi komplementni qo'shib, komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) ni kashf etishdi. Reaksiyaning asosini, antigen va atitelolar o'zaro ta'sirlashib, kompleks hosil qilishi va bu kompleks o'ziga komplementni adsorbsiya qilish jarayoni tashkil etadi. Agar antigen va antitelolar o'xshashligi to'g'ri kelmay kompleks hosil bo'lmasa, komplementning adsorbsiyasi ham yuz bermaydi. Komplement adsorbsiyasi I fazada bo'lgan yoki bo'lmaganligini bilish uchun reaksiyaga ikkinchi sistema-eritrotsitlar va gemolitik zardobdan iborat gemolitik sistema qo'shiladi. Agar komplement adsorbsiyasi kuzatilmay, erkin holda bo'lsa, komplement gemolitik sistemadagi eritrotsitlarni lizisga uchraydi.

Shunday qilib, reaksiya quyidagicha kechadi:

I - faza:

1) tekshiriladigan zardobni antigen bilan aralashtirish. (2-3 min. vaqt davomida).

2) komplementni qo'shish va termostatda (38°C da) bir soat ushlab kerak. (optimal sharoit 38°C da 18-20 soat).

II - faza: gemolitik sistema qo'shish va natijasini qayd qilish vaqtigacha termostatda saqlash. Gemolitik sistema qo'y eritrotsitlari va inaktivlangan gemolitik zardobdan iborat. Antigen va antitelo birlashishi uchun komplementning bo'lishi shart emas. Lekin AG va AT kompleksi hosil bo'lishi bir qancha sharoitlarga bog'liq. Tekshirilgan zardobdagi antitelo miqdori, shuningdek, antigen - antitelo kompleksi kattaligi katta ahamiyatga ega. Chunki, katta kompleks ko'p miqdordagi komplementni o'ziga biriktirib oladi.

Ma'lumki, komplementni maksimal darajada biriktirish qobiliyati darhol yuzaga kelmaydi, u asta sekinlik bilan ya'ni kompleks optimal o'lchamga yetganda sodir bo'ladi.

Agar tekshiriladigan zardobda antitelo bo'lsa, I-fazada antigen - antitelo kompleksi hosil bo'lib, qo'shilgan komplement kompleksga birikadi. Kompleksning adsorbsiyasini aniqlash uchun qo'shilgan eritrotsitlar gemolizga uchramaydi (chunki komplement erkin holda bo'lmaydi) bunda KBR musbat bo'ladi. Agar I-fazada AG va AT kompleksi hosil bo'lmasa, komplement erkin holda qoladi va gemosistema qo'shilganda, eritrotsitlarni parchalaydi, gemoliz sodir bo'ladi. Bunda KBR manfiy (-) bo'ladi.

Komplement bog'lash reaksiyasini qo'yish texnikasi.

KBRni qo'yish uchun kerakli ingredientlar va idishlar:

- Tekshirilayotgan qon zardobi
- Antigen (diagnostikum)
- Komplement
- Gemolitik zardob
- Qo'y eritrotsitlari
- Natriy xloridning izotonik eritmasi
- Serologik probirkalar, pipetka va shtativlar



Reaksiyada antigen sifatda bakteriyalar aralashmasidan foydalaniladi.

1. Bemordan tekshirish uchun olingan qon zardobi 30 min. davomida 56°C da suv hammomida qizdirilib tarkibidagi tabiiy komplement inaktivlanadi.

2. kamida 3 ta probirka olinadi va shtativga joylashtiriladi (1-probirka tajriba; 2-probirka antigen nazorati; 3-probirka zardob nazorati.).

(Komplement nazorati uchun ham qo'shimcha probirkalar qo'shish mumkin).

KBRning komponentlari quyidagi jadvalda aks ettirilgan.

Ingredientlar		Tajriba probir. (ml)	1 – nazorat probir. (ml)	2 – nazorat probir. (ml)
1-qism (Maxsus)				
1.	Tekshiriladigan zardob	0,5	-	0,5
2.	Antigen	0,5	0,5	-
3.	Komplement	0,5	0,5	0,5
4.	Fiziologik eritma	-	0,5	0,5
Chayqatilgach termostatga 37°C ga 1 soatga qo'yiladi →				
2 - qism (Gemolitik yoki indikator sistema)				

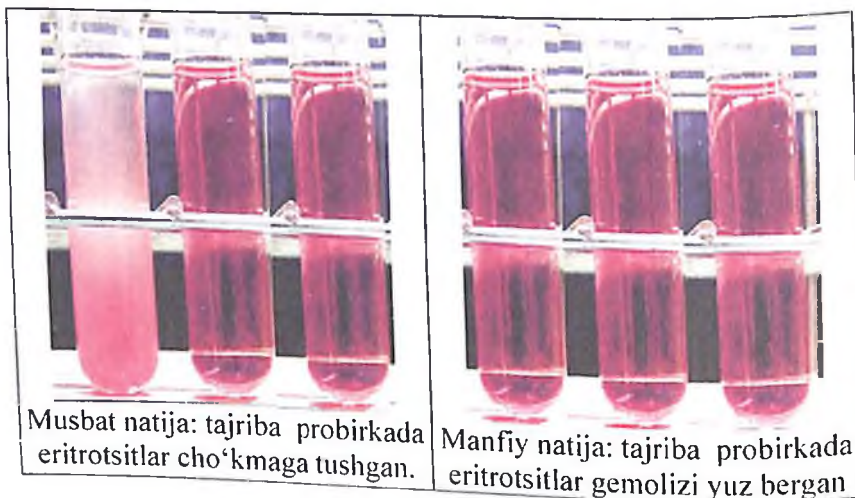
5.	Qo'y eritrotsitlarining 3% suspenziyasi	li 0,5	0,5	0,5
6.	Gemolitik zardob	0,5	0,5	0,5
Chayqatish, termostatga 37°C ga 30 minut - 1 soatga qo'yiladi →				

Natija gemoliz bor-yo'qligiga qarab baholanadi.

Musbat natija: tajriba probirkada eritrotsitlar cho'kmaga tushgan (AG va AT mos kelgan).



Manfiy natija: tajriba probirkada eritrotsitlar gemolizi yuz bergan (AG va AT mos kelmagan, komplement erkin qolib ikkinchi-indikator (Erit+Gemol.zard.) tizimidagi qatnashgan).



Musbat natija: tajriba probirkada eritrotsitlar cho'kmaga tushgan.

Manfiy natija: tajriba probirkada eritrotsitlar gemolizi yuz bergan

VIRUS SAQLOVCHI MATERIALLARINI HUYAYRA KULTURASIGA VA TOVUQ EMBRIONIGA YUQTIRISH

Mashg'ulotdan maqsad:

Talabalarni viruslar va bakteriofaglarni tuzilishini, ximiyaviy tarkibi, ko'payishi, laboratoriyada ajratib olinishi, indekatsiya, identifikatsiya qilish usullari bilan tanishtirish.

Mashg'ulotni vazifasi:

-Talabalarni viruslar klassifikatsiyasi nomenklaturalari bilan tanishtirish.

-Viruslarni, bakteriofaglarni morfologiyasi, strukturasi simmetriya tiplari ximiyaviy tarkibi, reproduksiyasi bilan talabalarni tanishtirish.

-Viruslarni laboratoriya sharoitida ajratib olish hujayra kulturalari, indekatsiya, identifikatsiya qilish usullari o'rgatish.

-Viruslar keltirib chiqarayotgan yuqumli kasalliklarga laboratoriya diaqnozini ko'yish usullarini talabalar tomonidan uzlashtirilishi.

Kutilayotgan natijalar:

Mashg'ulot o'tilgandan keyin talabalar bilishi kerak.

-DNK va RNK tutuvchi viruslar bakteriofaglar haqida, (ularni strukturasi, simetriya tiplari, kimyoviy tarkibi) to'liq ma'lumotga ega bo'lishlari.

-Virusologik laboratoriyada qo'llaniladigan, hujayra kulturalarini va ularni olish prinsiplarini.

-Viruslarni hujayraga ta'siri va ularni aniqlash usullarini.

-Virusli yuqumli kasalliklarga tashxis qo'yish usullarini.

Quyidagi amaliy ko'nikmalarni talabalar qila bilishlari kerak.

Virus saqlovchi patologik materialni hujayra kulturalariga yuqtirishi.

Kasalning burun halqumidan olingan yuvindini tovuq embrionini amnion bo'shlig'iga va allantoist suyuqligiga yuqtirishini.

Bakteriya bakteriofaglarga bo'lgan sezgirligini aniqlashni.

Viruslarni hujayraga sitopatik ta'sirini (kiritmalar, hujayrani destruksiyasi, gemodsorbsiya, simblast hosil qilishi). Mikroskopda ko'rib aniqlash.

Gemagglutinatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasini.

Amaliy mashg'ulotni tarkibi.

Mavzuda ko'rib chiqiladigan savollar.

-Viruslarni hozirgi zamon klassifikatsiyasi, nomenklaturalari.

- Viruslarni tuzilishi, simmetriya tiplari ximiyaviy tarkibi.
- Viruslarni reproduksiyasi, ko'payishdagi o'ziga xos xususiyatlari.
- Viruslarni o'stirish usullari va o'stirishda qo'llaniladigan hujayra kulturalari.
- Viruslarni indeksiya va identifikatsiya qilish usullari.
- Viruslar keltirib chiqaruvchi yuqumli kasalliklarga tashxis qo'yish usullari.
- Bakteriofaglar morfologiyasi, tuzilishi, ximiyaviy tarkiblari.
- Bakteriofaglarni reproduksiyalari viruslardan farqlari.
- Bakteriofaglarni praktik ahamiyati amaliyotda qo'llanilishi.

Amaliy ishlar.

1. Virus tutuvchi patologik materialni birlamchi hujayra kulturasiga yuqtirish.
2. Tovuq embrionini amnion va allantois bo'shlig'iga virus saqlovchi patologik materialni yuqtirish.
3. Rinotsitokapiya usulida burundan bosma surtma tayyorlash. Romanovskiy-Gimza usulida bo'yash mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini chizni.
4. Namoiish surtmalarini mikroskopda ko'rish tasvirini daftarga chizish.
5. Viruslarni strukturasi, morfologiyasi, ajratib olinishiga tegishli bo'lgan slayd va jadvallarni ko'rish.
6. Situatsion masalalar, ishonchli o'yinlar o'tkazish.
7. Mashg'ulotni yakunlash va ish joylarini tartibga solish.

O'qituvchini mavzuni asoslashi.

Viruslar hayotni alohida formasiga ega bo'lgan mikroorganizmlar bo'lib, hujayra ichi obligat parazitlaridir, ularni parazitligi genetik darajada amalga oshadi.

Viruslarni birinchi bo'lib kashf qilgan olim rus D.I. Ivanovskiy (1892 y.) hisoblanadi. Viruslar 2 xil ko'rinishda uchraydi, hujayradan tashqaridagi formasi-virion hujayra ichidagi formasi - virus deb ataladi.

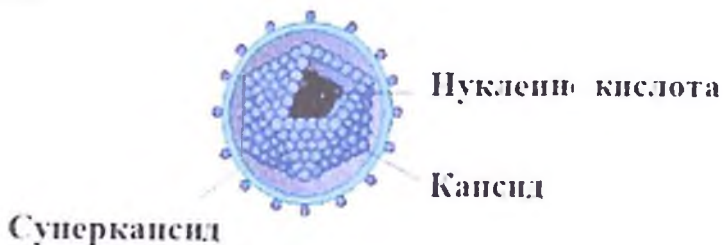
Morfologiyasi: - tayoqsimon (Ebol istmasi virusi) o'qsimon (qutirish virusi), sferik (gerpes viruslari), ovalsimon (chin chechak virusi) spermazoidsimon (bakteriofag).

O'lchami: kichik o'lchamli- 25-30 nm (pikorno viruslar), o'rta o'lchamli- 40-120 nm (gripp, gepatit B viruslari), katta o'lchamni 300-

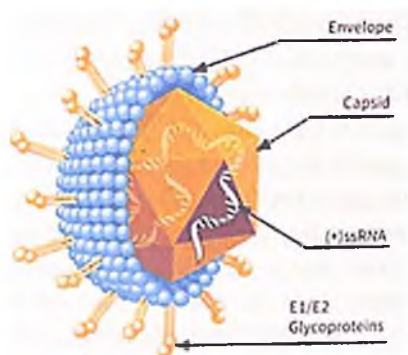
350 nm (chin chechak virusi). Strukturasi. Tuzilishi jihatdan oddiy va murakkab bo'lishi mumkin.

Oddiy viruslar nuklein kislotasi, uni o'rab turuvchi oqsil, qobiqdan iborat, bu kapsid deb ataladi (Capsa - yashik).

Kapsid bir xil tuzilishiga ega bo'lgan sub'editsalardan kopsomerlardan tarkib topgan. Kopsomerlarni soni virus turiga va tiplariga bog'liq. Kapsidlar nuklein kislotalarni atrofida turli simmetriya tiplari ko'rinishida joylanadi. Simmetriya tiplari viruslarda 3 xil bo'lishi mumkin.



Murakkab tuzilishga ega bo'lgan viruslarda kapsid ustidan yana bitta qobiq o'rab turadi, bu superkapsid deb ataladi.



Superkapsid: Tarkibida oqsildan tashqari yog'lar, uglevodlar va fermentlar uchraydi. Kelib chiqish va tarkibi bo'yicha sezgir hujayralarni sitoplazmatik membranasini tarkibiga o'xshash bo'ladi.

Viruслarni kimyoviy tarkibi.

Oddiy tuzilishiga ega bo'lgan viruslarda nuklein kislotasi va oqsil uchraydi, ularning nisbati viruslar turlariga bog'liq.

Murakkab tuzilishiga ega bo'lgan viruslarda esa oqsillardan tashqari uglevodlar, yog'lar va fermentlar uchraydi.

Uglevodlar 10-13% (quruq vazniga nisbatan bo'lishi mumkin). Uglevodlar oqsillar bilan birikgan holda uchrashishi mumkin. (glikoprotein) yoki yog'lar bilan (glikolipidlar)

Yog'lar: Viruslarda yog'lar ham murakkab ko'rinishda oqsil va uglevodlar bilan birikib keladi (glikolipid, mepokrotoin ko'rinishida) asosan superkapsid taribida uchraydi, miqdori viruslar tipi va turlariga bog'liq, 1,5-57% bo'lishi mumkin.

Fermentlar. Viruslar strukturasi fermentlar ham uchraydi, asosan superkapsid tarkibida, bularga: gemag-glyutinin, neytrominidaza, protiaza, simplast hosil qiluvchi, lizotsim kiradi.

Viruslarni hozirgi zamon klassifikatsiyasi.

Viruslarni klassifikatsiya qilishda ularni quyidagi xususiyatlari asos qilib olingan: nuklein kislotalarni tipi, simmetrik tip formasi, virion o'lchami, kapsomerlar soni, superkapsidni borligi, efirga sezgirligi, ko'payish joyi, biofizik xususiyatlari. xo'jayin hujayralar doirasi.

Viruslarni ko'payishi (reproduksiya).

Ko'payishi 3 ta etappa bo'linadi: kirishi, ko'payishi, chiqishi. Ko'payishi: o'z navbatida 2 bo'linadi, adsorbsiya va kirishi. Viruslarni adsorbsiyasi har bir virus uchun maxsus bo'ladi. Viruslarni yuza strukturalariga nisbatan sezgir hujayralarda retseptorlar mavjud, shu retseptorlarga viruslar, yopishib oladi. Adsorbsiyalangan viruslar hujayraga retseptorli endotsitoz yo'li bilan yoki hujayra membranasiga birikib ketish yo'li bilan kirishi mumkin.

Viruslarni hujayra ichida ko'payishi. Quyidagi etaplarda bo'ladi. Virusni yechinishi, transkripsiya, translyatsiya, virus DNK yoki RNK replikatsiyasi va viruslarni yetilishi. Viruslar hujayrani sitoplazmasida ko'paysa sitoplazmatik, yadrosida ko'paysa yadro viruslari deb ataladi.

Viruslarni yetilishi. Ba'zi bir viruslar sitoplazmatik membranada yetilsa ba'zilar endoplazmatik to'ra, ba'zilar esa yadro membranasida yetilishi mumkin. Viruslarni oqsillari ribosomalarda sintezlanib viruslar yetilishi kerak bo'lgan joylarga tashib keltiriladi, shu yerga replikatsiyaga uchragan virus nuklein kislotalari ham tashib keltiriladi. Yetilish asosida virus nuklein kislotasi oqsilni tanishi yoki oqsil oqsilni tanishi prinsipi yotadi. Yuqoridagilardan ko'rinib turibdiki viruslarni reproduksiyasi o'ziga xos formada o'tadi, ya'ni ularni struktura elementlari alohida-alohida joylarda sintezlanib, bir joyda yeg'iladi. Viruslarni bunday formadagi reproduksiyasini diz'yunktiv usul deb ataladi.

Viruslarni hujayradan chiqishi. Ikki usulda amalga oshadi. Birinchi usulda viruslap hujayradan kurtak hosil qilib chiqishi mumkin, (gepatit B, C) yoki portlash usuli hujayrani parchalab tashlab chiqishi kuzatiladi. (gepatit A).

Virusni hujayra bilan o'ziga xos aloqasi.

Hozirgi kunda bir necha xil o'zaro aloqa vositasi mavjud: produktiv tipi, buning natijasida qiz populyatsiyalar hosil bo'lishi kuzatiladi, integrativ aloqada (virogeniya) virus genomi hujayra genomiga kirib olib uning asosiy qismiga o'xshab oladi, bu holatda hujayra diyarli zarar ko'rmaydi (M: lezogeniya bakteriya).

Oborotiv ko'rinish (qaytar) bu holatda qiz populyatsiyalari hosil bo'lmaydi, bunga sabab virus xo'jayin hujayrasini tinch holati vaqtida kirgan bo'lishi mumkin, bunda hujayra virusga javob bermaydi, inert holida bo'ladi, yoki hujayraga difektlil virus kirganda kuzatiladi.

Virusni interferensiyasi aloqaning bu tipida ikkita virus bitta hujayraga kirganda kuzatiladi. Ikki xil bo'lishi mumkin gamologik interferensiya qarindosh viruslar kirishi kuzatiladi. Getorologik bir biriga qarindosh bo'lmagan viruslar bo'lishi mumkin. (M: qizamik va poliomelit viruslari).

Viruslarni ko'paytirish usullari:

1. *Hayvon organizmida* (sichqon, kalamush, quyon, shimpanze). Sichqonlarga internazal – burun orqali (gerpes virusi), 1-2 kunlik sichqon bolalarini miyasiga (kokksoki V), buzoqlarni terisiga (chin chechak virusi), Shimpanze maymunlariga (poliomeylit, gepatit B).

2. *Tovuq embrioniga* 10-12 kunlik amnion bo'shlig'i (gripp), allantoist suyuqligi (gripp), xorion allantoist qobig'i (chin chechak).

3. *Hujayra kulturasi*da (ko'pchilik viurslar) ko'paytiriladi.

Hujayra kulturalari:

a. birlamchi tripsinlangan kultura.

b. undiriladigan

v. yarim undirilgan

Birlamchi tripsinlangan kultura.

Bir marotaba undiriladigan hujayra kulturalarini tayyorlash bir necha bosqichdan iborat.

1. Embriondan olingan to'qimani maydalash, qonsizlantirish.

2. To'qimaga tripsin ta'sir ettirib hujayralarni bir biridan ajratish.

3. Senterifugada tripsinni ketkazish uchun yuvish.

4. Hujayrani o'sishini ta'minlab beruvchi muhitga (masalan - 199 muhit) hujayrani sanab o'tkazish.

Bu hujayralardan faqat bir marotaba foydalanish mumkin.

Undirilgan hujayra kulturasi.

Bir qavatli hujayra kulturalari havfli o'sma hujayralari yoki normal hujayra kulturalaridan tayyorlaniladi. Ma'lum sharoitda (in vitro) uzoq vaqt ko'payish mumkin. Hela (bachadon bo'yni karsinoma hujayrasidan) Hep - 3 (limfoid karsinomadan) tayyorlanishi mumkin. Bundan tashqari odam amnionining normal hujayralaridan, maymun embrioni buyragi va boshqalardan tayyorlash mumkin.

Yarim undiriladigan hujayra kulturasi.

Bularga odamning diploid hujayralari kiradi. Ular hujayra sistemasidan iborat bo'lib, bir yilgacha undirilganda ham ulardan foydalanish mumkin.

Rikketsiyalar yuqtirilgan hujayrada 3 - 8 kundan so'ng sitoplazmani yoki yadroni butunlay to'ldiruvchi rikketsiyalar avlodlari yig'iladi, hujayralar esa keyinchalik o'ladi. Xlamidiyalar ko'paygan hujayralarni Romanovskiy - Gimza usuli bilan bo'yalganda hujayrada ko'payayotgan mikroorganizmlarni ko'rish mumkin. Viruslarning hujayra kulturasi ko'payayotganligini (reproduksiya-sini) ularning hujayraga patogen ta'siri (HPT) mikroskop ostida ko'rish orqali aniqlanadi va morfologik o'zgartirishga qarab baholanadi. Bunda ularning bir qismi halok bo'lib, probirka devoridan ko'chadi.

Ayrim hujayralarning yemirilishi oqibatida ajralib chiqqan viruslar boshqa hujayralarga yuqadi. Ma'lum vaqtdan so'ng bu hujayralar ham o'ladi. Natijada bir qavatli yaxlit hujayra o'rnida alohida-alohida hujayra orolchalari hosil bo'ladi. Turli viruslar hosil qilgan HPT larning xarakteri bir xil emas. M: Paramiksoviruslar, herpes viruslar ko'payishida hujayralar qo'shilib ketib, sinsitiyalar (ko'p yadroli hujayra) hosil bo'ladi. Enteroviruslar, reoviruslar esa hujayralarni burishtiradi, parchalaydi va hujayralarning tuzilishini keskin o'zgartiradi. Adenoviruslar esa hujayralarni agrigatsiyasini hosil qiladi. Viruslarning hujayralarga sitopatik ta'siriga qarab kuchli sitopatik ta'sirga ega bo'lgan viruslar va o'rtacha ta'sirga ega bo'lgan viruslarga bo'linadi.

Ba'zi viruslar hujayrada ko'payganda uni morfologik jihatdan o'zgartirib yuborishi bu esa kasallikni klinik kechishida o'ziga xos simptomlarni keltirib chiqaradi va kasallikka tez diagnoz qo'yishga sharoit yaratib beradi. M: qizamiq, tepki (parotit), suv chechak bu

viruslar hujayrada ko'payganda hujayralar bir biri bilan birikib ko'p yadroli gigant hujayralar hosil bo'lishiga olib keladi.

Virusologik amaliyotida diagnostik maqsadda qo'llaniladigan sitopatik ta'sirlar

Kiritmalar (vkllyuchenie).

Kiritmalar sitoplazmada uchrashi mumkin (Gvarnieri tanachasi - chin chechakda) yoki yadroda adenoviruslarda, yadro atrofida eozinofilli Babesh-Negri tanachasi - qutirish virusida.

Pilakchalar (Blyashka) hosil bo'lishi.

Pilakcha (Blyashka) deb negativ koloniyaga aytiladi. Agar qatlami bilan yopilgan monoqavatli hujayra kulturasi virus parchalash oqibatida o'z ko'rinishini yo'qotgan zonalariga aytiladi.

Gemadsorbsiya fenomeni.

Ko'pchilik virus bilan zararlangan hujayralar o'zini yuzasiga eritrotsitlarni adsorbsiya qilib olish xususiyatiga ega. Gemadsorbsiya fenomeni gemagglutinatsiya mexanizmiga o'xshashdir.

Rangli reaksiya (svetnaya reaksiya).

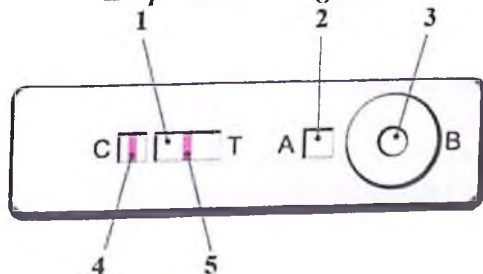
Virus ko'payotgan hujayra kulturalariga indikator qo'shiladi. Virus ko'payganda hujayrada metabolitlar hosil bo'lishiga olib keladi, bu esa muhitni rN ni nordon yoki ishqoriy tomonga suradi. Indikatorni esa rangi o'zgaradi.

Ekspress diagnostika.

Virusli yuqumli kasalliklarga tez tashxis qo'yish uchun ko'pchilik hollarda ekspress usul qo'llaniladi. Ekspress usullarini ko'pchiligi virus antigenini aniqlashga asoslangan.

OITS infeksiyasida, virusli hepatitlarda keng qo'llaniladi. IFA, RIA, IB kabi boshqa reaksiya turlari mavjud.

Ekspress IFA diagnostik



- 1 - Natijani qayd etish chuqurchasi
- 2 - Na'munani qo'yish chuqurchasi
- 3 - Bufer uchun chuqurcha
- 4 - Nazorat chizig'i
- 5 - Natijani qayd etish chizig'i



NATIJA
Manfiy (“-“)



NATIJA
Musbat (“+“)



NATIJA
Haqiqiy emas

Amaliy ishlarni bajarish tartibi.

1. Virus saqlovchi patologik materialni birlamchi hujayra kulturasiga yuqtirish.

Ish tartibi.

1. Virus saqlovchi patologik material bu yuqori nafas yoo'llaridan olingan yuvindi bo'lishi mumkin. Olingan patologik materialdagi bakterial florani o'ldirish uchun oziqli muhitlarga (1 ml oziqli muhitga) 500 birlik penitsillin va 250 birlik streptomitsin qo'shiladi.

2. Virus saqlovchi material steril pipetka yordamida 0,1 ml olinib, spirtovka alangasi ustida hujayra kulturasiga yuqtiriladi,

3. Patologik materialdan yuqtirilgan hujayra kulturali probirka 36°C da termostatga qiyalantirilib qo'yiladi.

4. Yuqtirilgan kulturada virusni ko'payayotganligini bilish uchun har kuni mikroskopning kichik ob'ektivi yordamida ko'rib turiladi.

3. Tovuq embrioni amnion bo'shlig'iga va xorion allontois bo'shlig'iga virus saqlovchi patologik materialni yuqtirish.

Kerakli ingredientlar: 10-12 kunlik tovuq embrioni, ovoskop, steril pipetkalar, 2 ta 1,0 ml. shpris, paxta, spirt, spirtovka, virus saqlovchi material.

Ish tartibi.

Tovuq embrionining tajribada yaroqliligini aniqlash uchun tuxum ovoskopga qo'yilib, embrionni harakatlanishi va xorion-allontois qobig'ida qon tomirlarini ko'rishiga qarab baholaniladi.

Xorion-allontois qobig'ini zararlash. Ishni boshlashdan oldin tovuq embrioni ikki marta spirtga namlangan paxta bilan artilib, so'ng tumtoq qismini po'stlog'i ostidagi parda olinadi va shunda xorion-allontois parda ko'rinadi.

O'rganilayotgan patologik material (suyuqlik) steril shpris yoki pipetka yordamida 0,1 - 0,2 ml olib xorion-allontois qobig'iga yuqtiriladi. So'ng tuxum po'stlog'i yana yopilib parafin eritilib ustiga quyiladi. Tuxumni boshqa but joyiga qachon va qanday material yuqtirilganligi qalam bilan yoziladi.

Amnion bo'shlig'ini zararlash.

Tuxum ovoskopga qo'yilib uning yon tomonidan qon tomirlariga qarab xorion - allantois qavati qalam bilan belgilab olinadi. Tuxum gorizontol holatda zarasizlantiriladi. Maxsus steril nayza bilan uning po'stidan 2-3 mm chuqurlikda teshiladi va shu teshik orqali steril shpris yordamida zararli material amnion bo'shlig'iga yuboriladi.

Yuborilayotgan suyuqlik toshib ketmasligi uchun tuxumni havo qopi tomonidan teshib qo'yish lozim. Zararli material yuborilgandan so'ng har ikkala teshik parafin bilan berkitiladi.

Tajriba o'tkazilgandan so'ng xulosa yoziladi.

Rinotsitokopiya usulida burundan bosma surtma tayyorlash.

Romanovskiy-Gimza usulida bo'yash mikroskopda ko'rish daftarga tasvirini chizish. Kerakli ingredientlar: Har ikkita talabaga I tadan steril tampon, buyum oynasi, Romanovskiy-Gimza bo'yog'i, mikroskop, spertovka.

Ish tartibi.

Talaba steril tampon yordamida ikkinchi talabani burun shillik qavatidan bosma usulda shilliq olib buyum oynasiga preparat tayyorlaydi, surtma quritilib, qotiriladi va Romanovskiy-Gimza usulida bo'yaladi.

Tayyor preparat mikroskopda ko'riladi, normal epiteliya hujayralari topiladi. Tasviri daftarga tushiradi, yuqori nafas yo'llarida viruslar kasallik keltirib chiqarganda hujayraning morfologiyasi o'zgaradi. Tajriba asosida xulosa yoziladi.

Virusologik amaliyotda tovuq embrioni hujayra kulturasi va tajriba qilinayotgan hayvonlarga nisbatan bakteriyalar bilan ifloslanish darajasi kam va qo'shimcha mikroorganizmlar bilan kamdan-kam hollardagina zararlangan bo'ladi. Bundan tashqari, turli ta'sirotlarga ham juda chidamlidir. Rikkesiya, xlamidiya va bir qator viruslarning diagnostik maqsadlarda, sof kulturasini olish va turli preparatlar (vaksina, diagnostikumlar) tayyorlash uchun 8 - 12 kunlik tovuq embrionlaridan foydalaniladi

Virusning ko'payganligi embrion qobiqlarining ochilganidan so'ng pardalarida hosil bo'lgan morfologik o'zgarishlar orqali o'rganiladi.

Masalan, chin chechak yuqtirilgan embrion tanasida, qobig'ida qon qo'yilishlar kuzatiladi, embrion nobud bo'ladi. Bundan tashqari, virus ko'payishi natijasida allantois, amnion suyuqligida viruslar yig'ilib qoladi va gemagglutinin fermenti bor viruslar GAR orqali indikatsiya qilish mumkin.

Rivojlanayotgan tovuq embrionida viruslarni ko'paytirish keng qo'llaniladi, ammo ko'pchilik viruslar tovuq embrionida ko'paymaydi, bundan tashqari tekshirilayotgan viruslarning embrionini ochmay turib aniqlab bo'lmaydi, shuningdek unda ko'p miqdordagi oqsil va boshqa yot birikmalarning borligi, tayyorlangan preparatlarning allergik xususiyatini oshiradi, ularning tozalanishini qiyinlashtiradi.

Rivojlanayotgan tovuq embrioniga yuqtirish. Tekshiriladigan material tovuq embrionining allantois va amniotik bo'shlig'iga, xorionallantois qobig'iga yoki sariqlik xaltachasiga yuboriladi (rasm).

1. Materialni yuqtirishdan oldin tuxumning havoli kamera ustidagi po'stlog'i 70% li spirt bilan tozalanadi, alangada qizdiriladi,

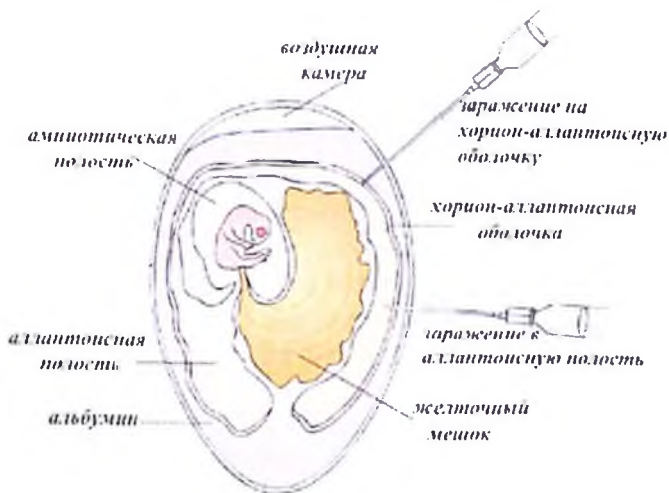
2. 2% li yod eritmasi surtiladi,

3. Ikkinchi marta spirt bilan artiladi va qizdiriladi.

4. Allantois bo'shlig'iga yuqtirish uchun havoli kamera (ovoskopda tuxumga yorug'lik tushirilganda uning chegarasi oldindan qalam bilan chizib qo'yiladi) ustidagi tuxum po'chog'i qaychi, skalpel yoki maxsus asbob yordamida ehtiyotlik bilan teshiladi.

5. Shpris bilan 0,1-0,2 ml virusli material (antibiotik qo'shilib ishlov berilgan) havo kamerasi chegarasidan 2-3 mm chuquriikka yuboriladi.

6. Tuxum po'chog'idagi teshikka eritilgan parafin quyiladi.



1. Zararlangan embrion virus juda ko'paygan vaqtda, ya'ni 48– 72 soat 37 °C da termostatda saqlangandan so'ng ochiladi.

2. Tuxum spirt bilan artiladi va unga 2% li yod eritmasi surtiladi.

3. So'ngra qaychi bilan havo kamera atrofi bo'ylab chizilgan belgidan biroz yuqoriroqdan tuxum po'chog'i kesiladi. Bunda tuxum po'chog'i bo'shliqqa tushmasligi uchun qiyshaytirilgan holda ushlanadi.

4. Po'choq olinib, asta-sekin uning pardasi ham olinadi va xorion-allantois pardasining virus yuqtirilgan joyida gemorragik, oqimtir shikastlanish o'choqlarining bor-yo'qligi qayd qilinadi.

5. So'ngra paster pipetkasi bilan xorion-allantois pardasining qon tomiri kam bo'lgan joyidan teshiladi

6. Pipetka yordamida allantois suyuqligi so'rib olinadi.

7. Keyin xorion-allantois pardasi ajratib olinib, ikki marta natriy xloridning izotonik eritmasi bilan yuviladi.

8. Petri kosachasiga o'rnatiladi va qora fonda, maxsus (spesifik) zararlanish borligi aniqlanadi.

Xulosa: Mavzuni asosiy muammolari yechimini qisqa aniq tarzda aks ettirish kerak.

Talabalarga tarqatiladigan material.

-amaliy mashg'ulotni o'tkazish usullari yoritilgan metodik qo'llanma, tekshirish savollari.

-situatsion masallalar chop etilgan uslubiy qo'llanma.

Amaliy mashg'ulot ishlarini ta'minlanishi.

mikroskoplar, slaydaskoplar, virusologiyani umumiy bo'limini aks eritilgan slaydlar, jadvallar, rasmlar.

Mashg'ulotni o'zlashtirish, talabalarni bilimini baholash mezonlari:

-talabalarni nazariy bilimini baholash – og'zaki javob - 30%.

-talabalarni amaliy ko'nikmalarni bajarish jarayonini kuzatish, ular tayyorlagan preparatni kuzatish- 40%.

-situatsion masalalarni yechishni tekshirish va baholash - 15%.

-talabalarni amaliy mashg'ulot uchun daftarlarini ko'rish tasvirlarni to'g'ri chizgani va xulosalar yozgani uchun baholash- 15%

Talabalarni mustaqil ishlari.

Har talaba viruslarni patologik materiallardan, hujayra kulturalaridan, zararlangan tovuq embrionidan indikatsiya qilish usullarini tartibi bilan daftarga yoziladi.

Mavzu bo'yicha nazorat savollari:

Birlamchi bilim darajasini tekshirish uchun savollar.

-Virionni struktura edemenlarini sanab o'ting

-Viruslarni simmetriya tiplarini ayting.

-Bakteriyafaglarini morfologik tiplarini aytib o'ting.

Amaliy ko'nikmalarni o'zlashtirish darajasini aniqlash uchun savollar

-Birlamchi kultura to'qimalarini tayyorlash usullarini mohiyati va etaplarini sanab uting.

-Tovuq embrioniga virus saqlovchi materialni yuqtirish etaplarini aytib bering

-Viruslarni sitopatik ta'sirini sanab o'ting.

-Viruslarni indekatsiya va indentifikatsiya qilish usullarini sanab o'ting.

Mantiqiy o'ylash uchun savollar

Nima uchun viruslar zararlangan hujayralarda katta ko'p yadroli simblaet hujayralarini hosil qiladi?

Mutadil faglarini amaliy ahamiyati nimadan iborat, ular bakteriyalarda ro'y beruvchi qaysi jarayonlarda qatnashadi?

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

Asosiy adabiyotlar:

1. Мухамедов И.М., Алиев Ш.Р., Ризаев.Ж. Хаджаева Ш. "Микробиология, вирусология ва иммунология". Дарслик. – Тошкент. Янги аср авлоди. 2019.

2. Алиев Ш.Р., Мухамедов И.М., Нурузова З.А. "Микробиологиядан лаборатория машгулотларига доир кўлланма". Ўқув кўлланма. – Тошкент. Янги аср авлоди. 2013 й.

3. Muhamedov I., Eshboyev E., Zokirov N., Zokirov M. «Mikrobiologiya, immunologiya, virusologiya». Darslik. Toshkent. Yangiasravlodi. 2006 y.

4. Мухамедов И.М.и соавт. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Учебник.–Т..Янги асравлоди. 2011 г.

Qo'shimcha adabiyotlar:

1. Мухамедов И.М ва бошк. "Клиник микробиология" Ўқув кўлланма. Тошкент. Янги асравлоди. 2016 й.

2. Алиев Ш.Р., Хомидова С., Сулеймонов С.Ф. "Микробиология, вирусология, иммунология фанидан лаборатория машгулотлари" Ўқув кўлланма. Бухоро. Чашмаи Зилол. 2018 й.

3. Мухамедов И.М. и соавт. «Учебное пособие по общей микробиологии» Ташкент. Типографии ТМА МЗ РУз. 2008 г.

4. Поздеева О.К. и соавт. « Медицинская микробиология». Учебное пособие. Москва. ГЭОТАР-Медия.2010 й.

5. Зверова В.В., Бойченко М.Н. "Медицинская микробиология, вирусология и иммунология». в 2-х томах. Учебник. Москва. ГЭОТАР-Медия. 2010 г.

6. Хайитов Р.М. Иммунология. Учебник. Москва. ГЭОТАР-Медия. 2011 г.

7. Воробьев А. А. и др. Медицинская микробиология. вирусология и иммунология. Учебник. Москва. Московское информационное агентство. 2004г.

8. Воробьев А.А., Быков А.С. «Атлас медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии». Учебное пособие. Москва. Московское информационное агентство. 2003 г.

9. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Ширококов В.П. "Медицинская и санитарная микробиология". Учебное пособие. Москва. АСAДЕМО. 2002 г.

10. J.K. Actor, Semyon A. Risin. Immunoprophylaxis: Vaccines and Immunotherapy. Textbook. New York. 2014 y.

11. Kaplan medical USMLE step 1 lecture notes . Microbiology and immunology. New York. 2018 y.

J.A. Rizaev, H.Sh. Shayqulov, M.I. Yusupov,
G.M. Odilova, I.M. Mamarasulova

MIKROBIOLOGIYADAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARIGA DOIR O'QUV QO'LLANMA

Muharrir: M.Talipova
Musahhah: I.Tursunova
Kompyuterda tayyorlovchi: G.Ibragimova

Bosishga ruxsat etildi 15.09.2022.
Qog'oz bichimi 60x84¹/₁₆. TIMES garniturasida
Shartli bosma tabog'i 7,0. Nashr tabog'i 6,8
Adadi 100. Buyurtma № 15-12.

«LESSON PRESS» MCHJ nashriyoti
Toshkent, Komolon ko'chasi, Erkin tor ko'chasi, 13
Tel.: 99865-24-11

«IMPRESS MEDIA» MCHJ bosmaxonasida chop etildi.
Manzil: Toshkent sh. Qushbegi ko'chasi, 6-uy.

ISBN 978-9910-730-94-8



9 789910 730948