

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

Shapulatova Z. J.

VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI

FANIDAN

AMALIY VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

5111000 – Kasb ta'limi (5440100-Veterinariya) va

5440100 – Veterinariya ta'lim yo'nalishlarining talabalari uchun

O'QUV QO'LLANMA

TOSHKENT-2018

Taqrizchilar:

- X.S. Salimov SamQXI Hayvonlarning yuqumli va invazion
 kasalliklari kafedrasi professori, veterinariya fanlari doktori
- M.T. Isoqov Samarqand Viloyati hayvonlar kasalliklari tashxisi
 va oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi davlat
 markazining oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi,
 mikrobiologiya va vetsanekspertiza laboratoriyasi
 mudiri, veterinariya fanlari nomzodi

KIRISH

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

Ushbu fan O’zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015 yil 29 dekabr ”Veterinariya to’g’risida”gi qonuni, 2006 yil 23 martdagি PQ – 308 qarori, 2008 yil 21 apreldagi PQ – 842-sonli ”Shaxsiy yordamchi, dehqon va fermer xo‘jaliklarida chorva mollarini ko‘paytirishni rag’batlantirishni kuchaytirish hamda chorvachilik mahsulotlari ishlab chiqarishni kengaytirish borasidagi qo’shimcha chora-tadbirlari to’g’risida”gi, 2009 yil 26 yanvardagi ”Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab-chiqarishni kengaytirish va ichki bozorni to’ldirish yuzasidan qo’shimcha chora-tadbirlar to’g’risidagi” va 2015 yil 29 dekabrdagi PQ-24/60-son ”Qishloq xo‘jaligida islohatlarni yanada takomillashtirish va rivojlantirish chora-tadbirlari to’grisida”gi qarorlari, ”O’zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to’g’risida”gi 2017-2021 yillarda mamlakatni rivojlantirishga mo’ljallangan farmoni va boshqa me’yoriy huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga muayyan xizmat qiladi.

Oliy o‘quv yurtlarining asosiy vazifalaridan biri – chuqr fundamental bilimlarni va puxta amaliy tayyorgarlikni o’zida mujassamlantirgan keng ixtisosli mutaxassislarni shakllantirishdan iborat. Qo‘llanma oliy ta’lim muassasalarining veterinariya sohasida ta’lim olayotgan talabalar o‘zlarida ushbu kasbiy ko‘nikmalarini shakllantirish va rivojlantirish imkoniyatiga ega bo‘lishlari va tanlangan mutaxassislikni egallashlari uchun umumkasbiy fanlarini chuqr o‘rganishlari, yetarli bilim va ko‘nikmalarga ega bo‘lishlarini ta’minlaydi. *Veterinariya mikrobiologiyasi* fani tayanch biologik fan hisoblanadi. U

“Hayvonlar fiziologiyasi”, “Hayvonlarni oziqlantirish”, “Zoogigiyena”, “Veterinariya virusologiyasi”, “Veterinariya toksikologiyasi”, “Farmakologiya”, “Patologik anatomiya”, “Veterinariya sanitariya ekspertizasi”, “Epizootologiya”, “Veterinariya akusherligi”, “Operativ xirurgiya” va boshqa fanlar bilan o’zaro bog’liq.

Ushbu o‘quv qo‘llanma talabalarni veterinariya mikrobiologiyasi fanidan olgan nazariy bilimlarini mustahkamlab, o‘quv materialni mustaqil o‘zlashtirish, mikrobiologik tekshirish uslublarini amalda o‘rganishga imkon beradi. Laboratoriya tekshirish usullari, qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalarda uchraydigan yuqumli kasalliklarni va qo‘zg‘atuvchlarining xususiyatlarini aniqlash, ularni bir-biridan farqlash, oldini olish hamda qarshi kurashishda xo‘jaliklarga katta amaliy yordam beradi.

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

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

Amaliy va laboratoriya mashg‘ulotlari uchun uslubiy ko‘rsatma

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

O‘qituvchi talabalar bilan savol-javoblar o‘tkazib, mavzuga tushuncha beradi. Talabalarga aniq topshiriq va vazifalar berib, ularni bajarish uslublari bilan

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

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

Dars oxirida o'qituvchi talabalar bajargan ishni baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustahkamlab boradi. Xususiy mikrobiologiyani o'rganishda yuqumsiz kasallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olinganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa, yanada yaxshi bo'ladi.

I -MODUL. VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANINING

UMUMIY QISMI

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

Mashg‘ulotning maqsadi: Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyasi, uning asosiy jihozlari va unda ishslash qoidalari bilan tanishtrish. Mikroskopning tuzilishi va u bilan ishslash qoidalari o‘rganish.

Material va jihozlar: Har xil modeldag‘i biologik mikroskop; immersion moy, bo‘yalgan tayyor har xil mikrob preparatlari to‘plami, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko‘rsatmalar.

O‘qituvchi talabalarga bakteriologik laboratoriyyada o‘zini tutish va ishslash tartibini, texnika xavfsizligi va shaxsiy profilaktika qoidalariiga amal qilish kerakligini tushuntiradi, talaba :

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

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

Hayvonlar kasalliklari tashxisi va oziq – ovqat mahsulotlari xavfsizligi davlat markazi bu – davlat muassasasi hisoblanib, davlat veterinariya xizmati tizimiga kiradi, uning faoliyati chorvachilikni rivojlantirishga, hayvonlar infektion kasalliklarining oldini olish va ularni yo‘q qilishni ta’minlashga, shuningdek, xalqni hayvonlar va odamlar uchun umumiy bo‘lgan kasalliklardan himoya qilishga qaratilgan. Ish mashtabi bo‘yicha tashxis markazi tizimi quyidagicha: tuman (shahar), tumanlararo, (zonal), viloyat va respublika tashxis markazlari.

Tashxis markazi O‘zbekiston Respublikasi Davlat veterinariya qo’mitasiga va Respublika hayvonlar kasalliklari tashxisi va oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi davlat markaziga bo‘ysunadi va hisob beradi.

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

Tashxis markazida bakteriologiya, parazitologiya va mikologiya; serologiya va biokimyo; virusologiya; toksikologiya; IFA va PZR; oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi, mikrobiologiya va veterinariya-sanitariya ekspertizasi; radiologiya; asalari, baliq va quyon kasalliklari laboratoriyalari, ozuqaviy muhitlar tayyorlash bo‘limi bo‘ladi. Bundan tashqari, alohida sterilizatsiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks, laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho‘chqalari, oq kalamush, quyon, donor qo‘ylar va h.k.) uchun vivariya va alohida biosinov xonasi bo‘lishi kerak. Bundan tashqari ma’muriyat va mutaxassislar uchun xonalar ajratilgan bo‘lishi kerak. Laboratoriya ishchi xonalari yorug‘, keng, baland bo‘lib, poli linoleum yoki kafellangan, devoriga plastika yoki kafel urilgan, stol 80 sm balandlikda usti plastika, linoleum, oyna bilan qoplangan yoki maxsus oq bo‘yoq bilan bo‘yalgan hamda barcha kerakli jihoz, asbob- uskunalar, reaktiv va h.k.lar bilan ta’minlangan bo‘lishi kerak. Issiq, sovuq suv, kanalizatsiya,sovun, sochiq va dezinfeksiyalovchi eritmalar bo‘lishi zarur.

Mikrobiologiya laboratoriyasining jihozlari. Laboratoriya da ishslash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo‘sishma moslamalari bilan (yoritgich, fazli – kontrastli qurilma, qorong‘i maydonli kondensor va h.k.), lyuminessentli mikroskoplar, termostatlar, sterilizatsiya uchun apparatura (quritgich shkaf, avtoklav, Kox apparati), pH – metr, distillangan suv olish uchun apparat (distillyator), sentrifugalar, texnik va analistik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikroanaerostat, sovutgichlar, paxta – dokali tiqinlar tayyorlash uchun apparat, asboblar to‘plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri

kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'lchamli pipetkalar) va boshqalar.

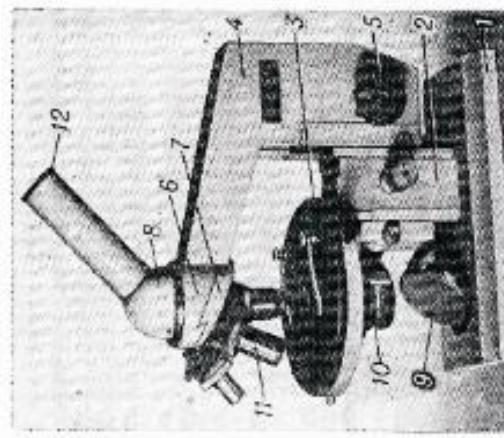
Laboratoriyada preparatlarni bo'yash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial bo'yoqlar, spirt, kislotalar eritmalari, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli gorelka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi eritmalari bor bankalar bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak¹.

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

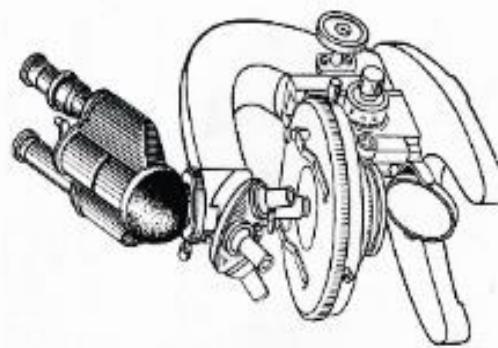
1. Laboratoriyada oq xalat va qalpoq kiyib ishlash kerak. Xalatsiz kirish qat'iy man etiladi. Xalatda laboratoriya hududidan tashqariga chiqish mumkin emas.
2. Laboratoriyada har qaysi ish joyi talabga javob beradigan bo'lishi kerak. Daftар, ruchka, qalamdan boshqa narsa laboratoriya kiritilmaydi.
3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeish, ichish taqiqlanadi.
4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblar, idishlar, gaz, (spirtli) lampa) shu jumladan mikroskop tayyorligiga ishonch hosil qilish zarur. Kamchilik, nosozliklar bo'lsa o'qituvchiga aytish kerak.
5. Gaz gorelkasi yoki spirt lampasini faqat gugurt bilan yoqish kerak.
6. Elektr tarmoqlari simlariga metall yoki boshqa buyumlar bilan tegish mumkin emas.
7. Talabalar o'qituvchi ruxsatisiz elektr asbob va apparaturalarni ishlatishi mumkin emas.
9. Ish tugagandan keyin har qaysi talaba o'z ish joyini yig'ishtirishi, keyin

¹ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. –M.: KolosS, 2005. c.4-9.

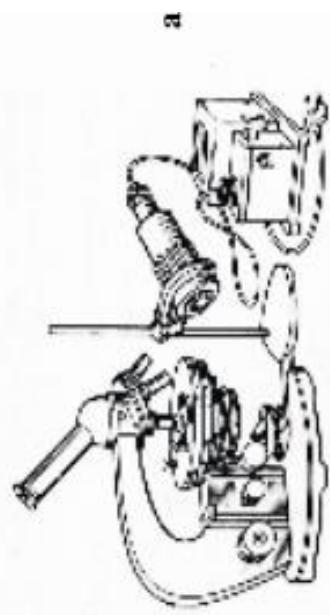
Mikroskop turlari



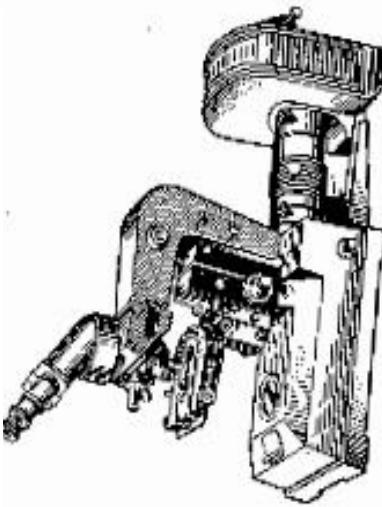
1-rasm. Biologik mikroskop
«Biolam»



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



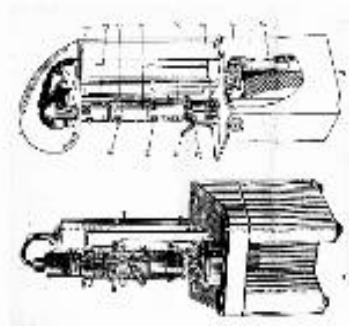
3-rasm. MBI-1 mikroskopi va
yoritgich OI-7.



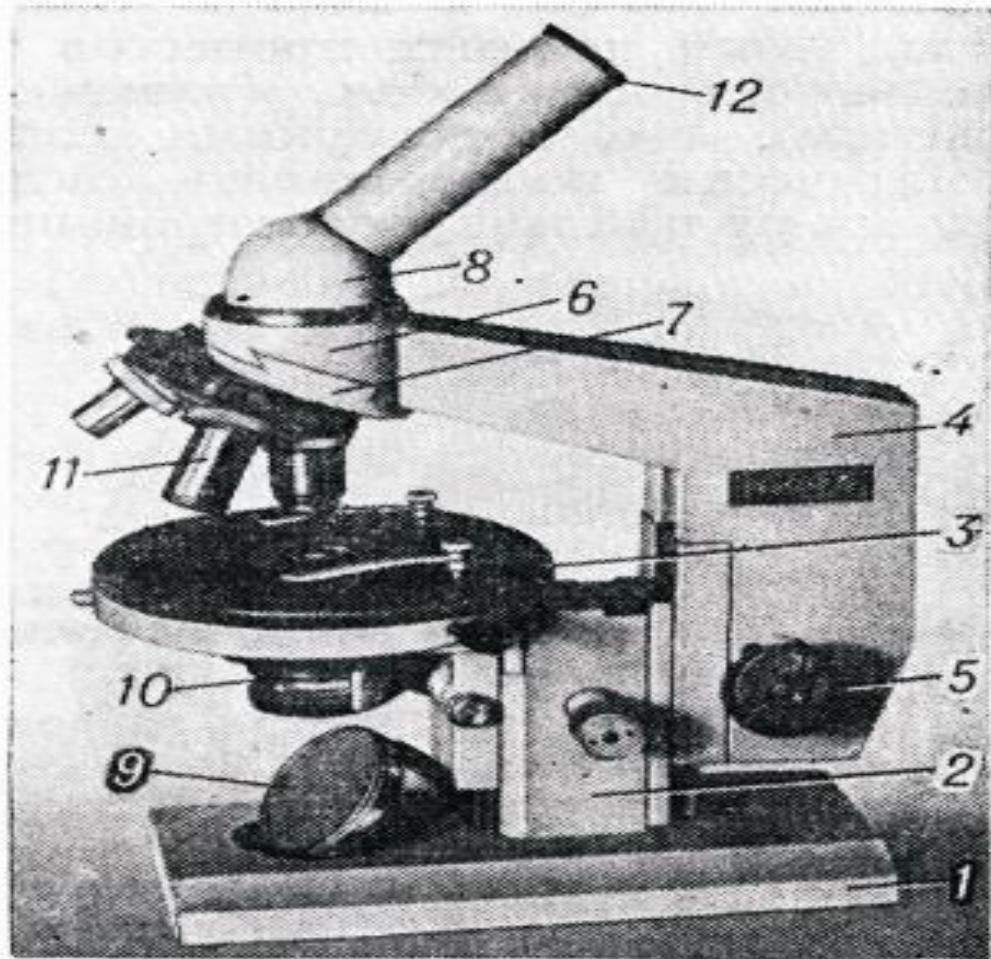
4-rasm. MI-2 lyuminessent
mikroskopi.



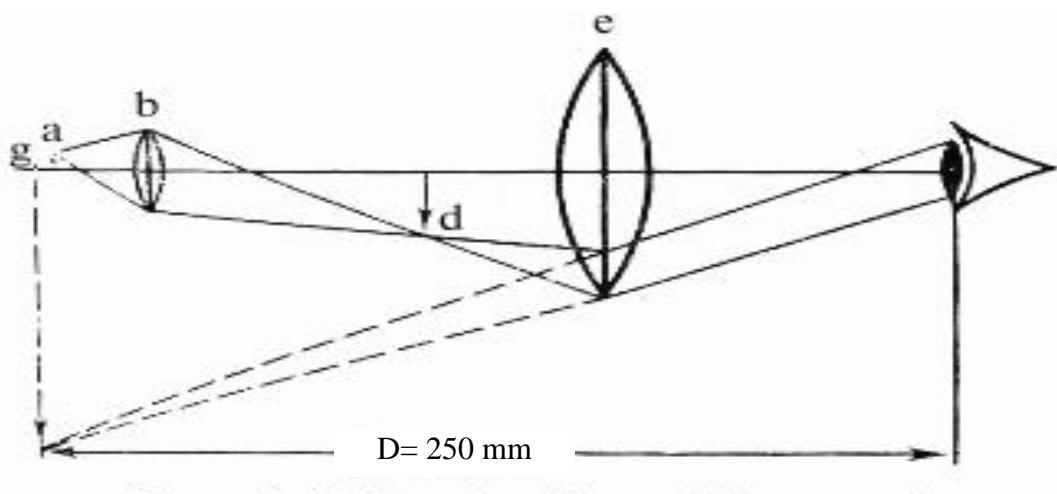
5-rasm. I-2 tipli «Lyumam»
lyuminessent mikroskopi.



6-rasm. Elektron mikroskop.



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



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

xalatini va qalpog‘ini yechib, qo‘lini yaxshilab yuvib, quritib, so‘ngra laboratoriyanadan chiqib ketishi kerak.

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

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

Mikroskopik tekshirishda mikroorganizmlarning morfologiyasi, tinktorial xususiyatlari (har xil bo‘yoqlar va bo‘yash usullariga munosabati), kapsula, sporalari bor yo‘qligi, harakati aniqlanadi. Bu maqsadda mikroskoplar ishlatiladi. Laboratoriya da bir necha xil mikroskoplardan (biologik, lyuminessent, elektron, proton) foydalilaniladi va mikroskopiyaning maxsus usullari (fazokontrast, qorong‘i maydonli) qo‘llanadi (1 – 6-rasm).

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

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

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

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

Mikroskopning *oynasi* unga tushayotgan yorug‘likni aks ettiradi va uni preparatni yoritish uchun kondensorga yo‘naltiradi. Oynasi harakatlanadigan qilib o‘rnatilgan, bir tomoni yassi, undan istalgan yorug‘lik manbasi va istalgan

kattalashtirishda foydalaniladi. Ikkinchi botiq tomoni kichik kattalashtirishlarda kondensorsiz ishslashga mo‘ljallangan.

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

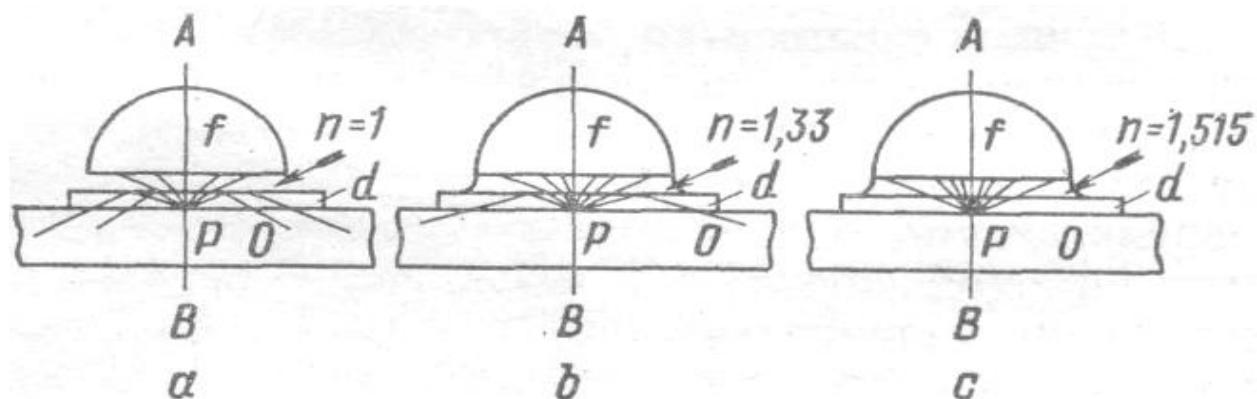
Obyektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U obyektni haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasvirni tuzuvchi linzalar sistemasidan iborat. Tashqi, asosiy yoki frontal linza preparatga yo‘naltirilgan. Bundan tashqari, yuqorisida yana bir nechta (3-4 tadan 10-12 tagacha) korreksion linzalari bor. Ular tasvirni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

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

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

Mikroskopda tasvir quyidagicha paydo bo‘ladi (8-rasm). Kondensor yordamida to‘plangan yorug‘lik nurlari obyektga tushadi unda aksini topadi, obyektiv linzasida sinib obyektning haqiqiy kattalashgan teskari tasvirini paydo qiladi. Keyin okulyarning yuqoridagi linzasi qo‘srimcha kattalashtirgach

obyektning mavhum tasviri hosil bo'lib, u kuzatuvchi ko'ziga kondensor va ko'zgu orasidagi tekislikda joylashgan haqiqiy tasvir bo'lib ko'rinadi.



9-rasm. Optik mikroskopning obyektivi:

f – frontal linza; d – buyum oynachasi; $n = 1$ – havoning; $n = 1,33$ – suvning;

$n = 1,515$ – immersion moyning sindirish ko'rsatkichlari.

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

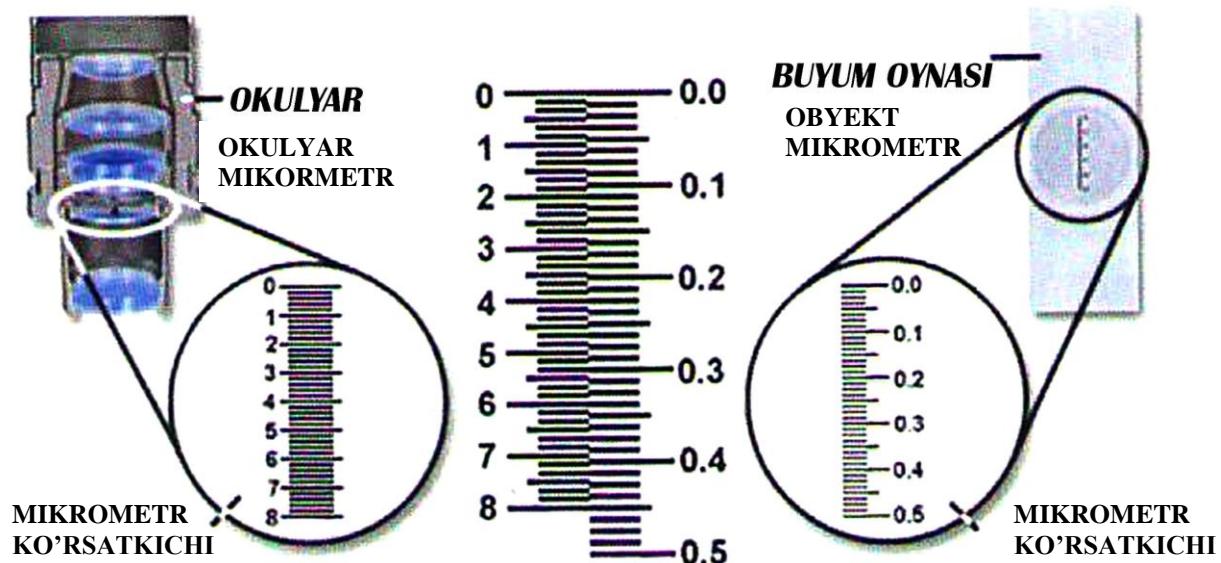
Bakteriyalarning o'lchamlarini tavsiflashda odatda hujayraning uzunligi va eni mikrometrarda (10^{-3}) ko'rsatiladi. O'lchov asbobi sifatida okulyar- va obyekt-mikrometrler ishlataladi (10-rasm).

Okulyar – mikrometr – 5 mmli chiziq-shkalasi 10 yoki 20 kesimdan iborat shisha plastinka (okulyarga o'rnatiladi).

Obyekt-mikrometr – uzunligi 0,5 yoki 1,0 mm bo'lgan, yuz qismiga ajratilgan chiziqli buyum oynachasi.

Obyekt-mikrometr buyum oynachasiga joylashtiriladi, okulyar-mikrometrli okulyarga qarab okulyar- va obyekt-mikrometrarni boshlang'ich chiziqlarini birlashtirib joylashtiriladi. Keyin okulyar-mikrometrning bo'linish bahosi okulyar va obyektivdagi berilgan ko'rsatkichlar bilan aniqlanadi.

OKULYAR MIKROMETR VA OBYEKT MIKORMETR SHKALASI



10-rasm. Obyekt-mikrometr va okulyar-mikrometr shkalasini taqqoslash.²

Misol. Obyekt - mikrometr shkalasi 1 mm ni tashkil etib, uning bir bo'lingan qismi 10^{-2} mm, ya'ni 10 mkm ga teng. Shkalalarni birlashtirib taqqoslaganda obyekt-mikrometrni uch bo'lingan qismi (ya'ni 30 mkm) okulyar-mikrometrning 14 bo'lingan qismiga mos keladi, demak okulyar-mikrometrning bir bilingan qismi $30:14= 2,14$ mkm ni tashkil etadi. Okulyar-mikrometrning bir bo'lingan qismi bahosi aniqlangandan keyin, obyekt-mikrometr o'rniغا tekshirilayotgan obyekti bor preparat joylashtiriladi. Masalan, tayoqchasimon mikrob uzunligi okulyar-mikrometrning - 3, eni – 0,5 bo'lingan qismiga mos keladi. Agar okulyar-mikrometrning bir bo'lingan qismi 2 mkm bo'lsa, unda bakteriya hujayrasining uzunligi $3 \times 2 = 6$ mkm, eni – $0,5 \times 2 = 1$ mkm bo'ladi.

Mikroskop bilan ishlash qoidalari. Mikroskop bilan ishlashga kirishganda kondensorning holati tekshiriladi: u buyum stolchasi sathigacha ko'tarilgan,

1. ² Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.10.

diafragma ochiq bo‘lishi kerak. Mikroskop tubusini ko‘tarib 8 yoki 10 chi obyektivlar o‘rnataladi. Okulyarga qarab, ko‘zgu yordamida ko‘rish maydoni to‘liq yoritiladi.

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

Preparatlarni immersion obyektivda ko‘rishda tayyor bo‘yagan surtmaga bir tomchi immersion moy tomizib, preparat buyum stolchasiga qo‘yiladi, so‘ngra revolverni burab, immersion obyektivni (90x) o‘rnatib, makrovint yordamida ehtiyyotlik bilan pastga tushirib, frontal linzasini moy tomchisiga tegizish kerak. Shundan keyin okulyarga qarab preparat ko‘ringunicha tubusni ko‘tarish kerak. Ko‘zni mikroskopdan olmay mikrovint vint yordamida tasvir tiniqlashti-riladi.

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

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishslash tartibi.
2. Mikrobiologik tekshirish usullariga qaysi usullar kiradi?
3. Mikrobiologiya laboratoriyasining qanday jihozlarini bilasiz?
4. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ulardan foydalanish.
5. Biologik mikroskopning tuzilishi.
6. Biologik mikroskop bilan ishslash qoidalarini aytинг.
7. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?
8. Bo‘yagan va bo‘yalmagan preparatlarni mikroskopda ko‘rish usuli.

Test savollari:

1. Hayvonlar kasalliklari tashxisi va oziq – ovqat mahsulotlari xavfsizligi markazi qanday muassasa?

- a) davlat veterinariya xizmat muassasasi
- b) xususiy veterinariya xizmati muassasasi

- c) xususiy ishlab chiqarish muassasasi
- d) veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlarni ishlab chiqarish muassasasi

2. Ish masshtabi bo'yicha tashxis markazi tizimi qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan.

- a) Respublika, zonal, viloyat va tuman tashxis markazi
- b) tuman, zonal, viloyat va Respublika tashxis markazi
- c) zonal, tuman, Respublika, viloyat tashxis markazi
- d) viloyat, Respublika, zonal va tuman tashxis markazi

3. Mikroskopning optik qismiga nimalar kiradi.

- a) ob'ektiv, oyna, buyum stolchasi, revolver
- b) kondensor, makro va mikrovintlar, tubus
- c) oyna, kondensor, ob'ektiv, okulyar
- d) okulyar, tubus tutqichi, tubus, ob'ektiv

4. Mikroskopning umumiy kattalashtirishi qanday aniqlanadi.

- a) ob'ektiv, okulyar va oynachalar oralig'i masofasini hisoblab
- b) ob'ektivning ko'rsatkichi bo'yicha
- c) okulyarning revolvergacha bo'lган masofasi hisoblanadi
- d) ob'ektiv va okulyar ko'rsatkichlarini ko'paytirib

5. Bo'yalgan preparatlar mikroskopning qaysi ob'ektivida ko'rildi.

- a) immersion ob'ektivda
- b) quruq ob'ektivda
- c) immersion va quruq ob'ektivda
- d) x8, x20, x40 obektivlarda

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

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

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

O‘qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

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

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

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo‘yoqlar ko‘p ishlatiladi: asosli - fuksin, metil qizili, neytral qizili – eritmada qizil rangda bo‘ladi; karbolli

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

Spirtli suvli eritmalar. *Karbolli fuksin* (*Sil fuksini*). Avval to‘yingan spirtli eritma tayyorlanadi: 100 ml 96⁰ spirtga 5 – 10 g asosli fuksin olinadi. Spirtli eritmalar yaxshi to‘yinishi uchun bo‘yoqlar batamom erib ketguncha termostatda saqlanadi (vaqt-vaqt bilan silkitib turiladi). Bir sutkadan keyin eritma tayyor bo‘ladi. Uni shisha idishlarda tiqini zich berkitilgan holda saqlash kerak. Shisha idish tagida ozgina bo‘yoq cho‘kmasi bo‘lishi eritmaning to‘yinganlik ko‘rsatkichi hisoblanadi. Toza spirtli eritma bo‘yash uchun yaroqsiz bo‘ladi, shuning uchun uning spirtli suvli eritmalar tayyorlanadi: 10 – 20 ml fuksinning to‘yingan spirtli eritmasiga 100 ml tarkibida 5% fenoli bor distillangan suv qo‘shiladi. Karbolli fuksinning tayyor suv-spirtli eritmasi qog‘oz filtr orqali filtrlanadi. Chunki eritmada cho‘kma bo‘lmasa, surtma bir tekis yaxshi bo‘yaladi. Sil fuksini qator hollarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan (1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pfeyffer fuksini) hosil bo‘ladi.

Ishchi eritmalar uchi rezinali pipetka o‘rnatalgan va bo‘yoqning nomini yozib yopishtirib qo‘yilgan shisha idishlariga quyib foydalaniadi.

Karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet. Kristallviolet, metilviolet bo‘yog‘i eritmalar tez cho‘kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko‘rganda ular xalaqit beradi. Ko‘pincha gensianviolet bo‘yog‘i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo‘yaladi. Uning spirtli suvli eritmasini tayyorlash uchun 1 g quruq

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Suyuq muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasidan preparat tayyorlash uchun chap qo'lga kulturali probirkani olib, o'ngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib sterillanadi, kichik o'ng barmoq bilan alangaga yaqin tutib probirkka ochiladi, ilmoqni suyuqlikka botirib, bir tomchi olinadi, probirkani yopib, shtativga qo'yiladi. Chap qo'lga buyum oynasini olib unga tomiziladi, yengil aylana harakatlar bilan oynachaga surtiladi, so'ng havoda quritiladi (12-rasm), ilmoq alangada qizdirib sterillanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa, dizenfiksiyalovchi eritma - fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

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

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

Mikroorganizmlarni bo'yash uchun oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi.

Oddiy bo'yash usuli va texnikasi. Oddiy bo'yash usulida bitta bo'yovchi eritma, ko'pincha Pfeyffer fuksini (1-2 daqiqa bo'yaladi) yoki metilen ko'ki (4-5 daqiqa bo'yaladi), karbolli gensianviolet (1-2 daqiqa bo'yaladi) ishlatiladi. Suv

bilan yuvib, preparat filtr qog'ozda quritiladi, unga immersiya moyi tomdirib mikroskopning 90x obyektivida tekshiriladi.

Bakteriyalarning asosiy shakllari. Bakteriyalar asosan uch xil shaklda: sharsimon (kokklar), tayoqchasimon, spiralsimon (burama) bo'ladi (11-rasm).

Kokklar bo'linganlaridan keyin bir-biriga nisbatan har xil joylashadi va bir necha guruhga bo'linadi: 1) mikrokokklar – bittadan tartibsiz; 2) diplokokklar – ikkitadan; 3) tetrakokklar – to'rtta-to'rtta bo'lib; 4) stafilokokklar – uzum shingiliga o'xshab; 5) streptokokklar – zanjirsimon; 6) sarsinalar – paket (kubik) shaklida joylashadi.³

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

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

Rikketsiya, xlamidiya va mikoplazmalarning morfologiysi. Rikketsiya va xlamidiyalar hujayra ichidagi obligat parazitlar bo'lib, kuchli polimorfizm bilan ifodalangan mayda grammanfiy mikroorganizmlar: kokksimon, tayoqchasimon va ipsimon shakllarda bo'ladi. Pikketsiyalarning o'lchami 0,5 dan 3-4 mkm gacha,

³ Vorobyev A.A. Medisinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g. C.33-34.

ipsimon shakllari 10-40 mkmga yetadi. Spora va kapsula hosil qilmaydi, Zdrodovskiy usulida qizil rangga bo‘yaladi.

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

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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Bakteriologik bo‘yoqlar qanday xolatda bo’ladi.

- a) suyuq, yarimsuyuq, gel
- b) quruq, kukunsimon, kristal
- c) quyuq, spirtli eritma
- d) suvli, spirtli eritma

2. Bakteriologik bo‘yoqlardan qanday eritmalar tayyorlanadi.

- a) har xil foizli murakkab eritmalar
- b) ishchi eritmalar, oddiy eritmalar
- c) to’yingan spirtli, spirt – suvli, suvli eritmalar.

d) bo'yoqlar aralashmasidan iborat eritmalar

3. Bakteriyali preparatlarni tayyorlash jarayoni qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan.

- a) fiksasiya, bo'yash, quritish, surtma tayyorlash
- b) quritish, bo'yash, fiksasiya, surtma tayyorlash
- c) bo'yash, fiksasiya, surtma tayyorlash, quritish
- d) surtma tayyorlash, quritish, fiksasiya, bo'yash

4. Oddiy bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlataladi

- a) bitta
- b) ikkita
- c) uchta
- d) bir nechta

5. Bakteriyalarning qanday asosiy shakllari bor.

- a) trapesiyasimon, rombsimon, amyobasimon
- b) sharsimon, tayoqchasimon, buramasimon
- c) kubsimon, spiralsimon, sharsimon
- d) tayoqchasimon, yulduzsimon, ko'p qirrali

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

Mashg'ulotning maqsadi: 1. Mikrobni bo'yashning murakkab usuli bilan tanishish. 2. Gram usulida preparatni bo'yashni o'rGANISH.

Material va jihozlar: Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, etil spirti 96⁰, fiziologik eritma, bo'yoqlar eritmasi (karbolli gensianviolet, sil fuksini), lyugol, probirka, bakteriya kulturası: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayoqchalari), videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

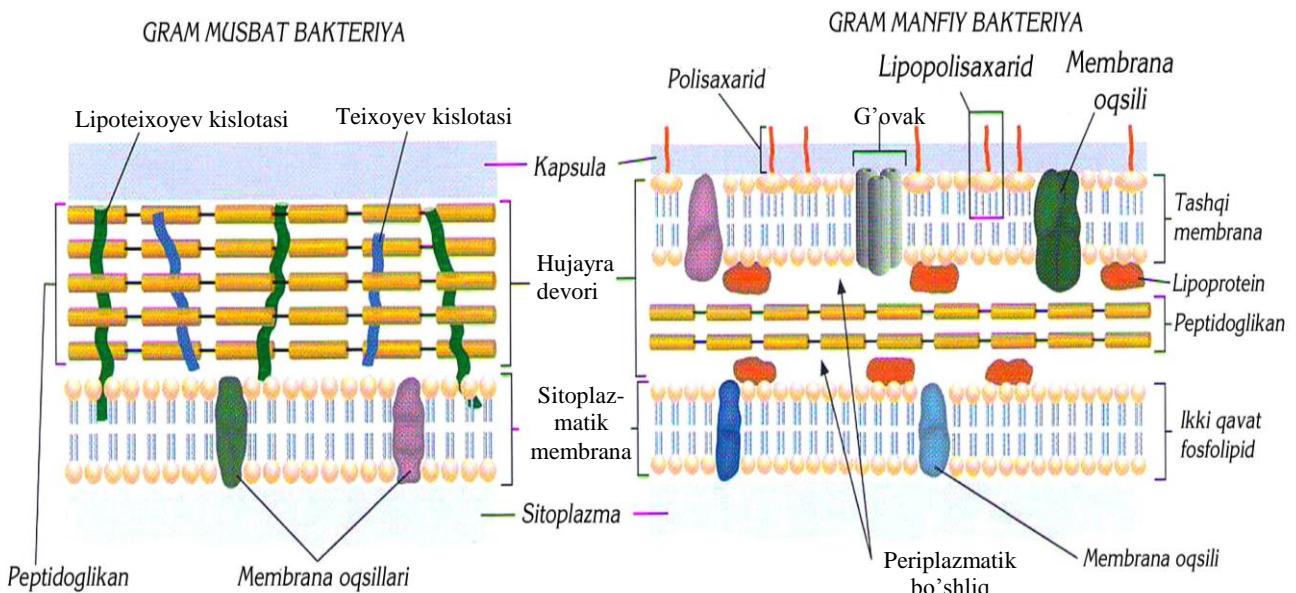
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1. Murak-kab bo'yashning Gram usulini daftarga yozib olish. 2. Mikroorganizmlar

aralashmasidan surtma tayyorlab, Gram usulida bo‘yash. 3. Mikroskopda ko‘rib, rasmini chizib olish.

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

Har xil mikroorganizmlarni protoplazmasining tarkibi bir xil bo‘limganligidan ular aynan bir xil bo‘yoq bilan turlicha bo‘yaladi. Bir qancha hollarda mikrob hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo‘yovchi eritmalar tanlab ta’sir etadi. Murakkab bo‘yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo‘yalishiga ko‘ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo‘linadi. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2 – 3, uning tashqi qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday kislotali muhitda asosli bo‘yoqlar yod bilan mustahkam birikma hosil qiladi. Grammanfiylarining pH 4 – 5, ularda bunday birikma hosil bo‘lmaydi. Shu tufayli grammusbat bakteriyalar birinchi bo‘yoq bilan bo‘yagandan keyin spirt ta’sirida rangsizlanmaydi va binafsha rangni saqlab qoladi (14,15, 18-rasm). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta’sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo‘sishimcha bo‘yaganda, qizil rangga kiradi (16 – 17-rasm).

Gensianviolet (yoki kristallviolet) va sitoplazmadagi nuklein kislotalar yod (Lyugol eritmasi: kristall holdagi yod – 1g, kaliy yod – 2g, distillangan suv – 300 ml) ishtirokida suvda erimaydigan hamda spirtda kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta’sir ettirilganda hujayra devori qalin, ko‘p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlaming g‘ovaklari yirikroq bo‘lib, spirtning o‘tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo‘lgan birikma parchalanib bo‘yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta’sirida hujayra rangsizlanadi (19-rasm).



19-rasm. Grammusbat va grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi⁴

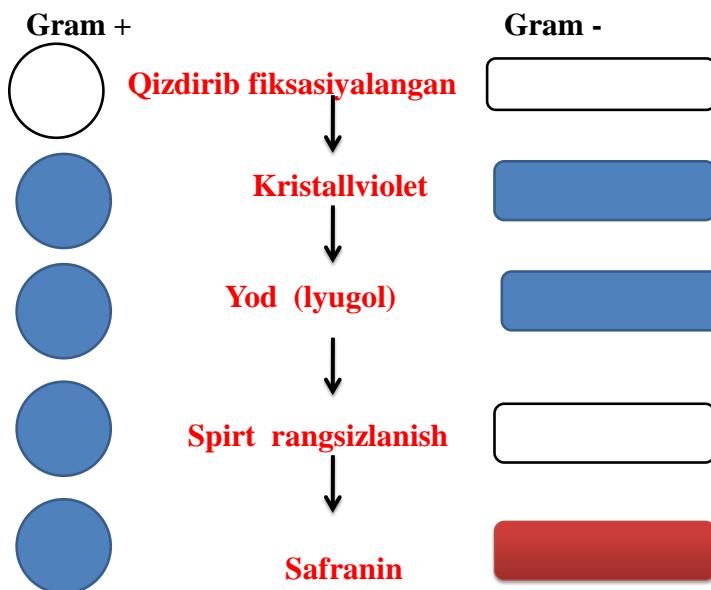
Gram usulida bo'yash

1. Alangaga tutib fiksatsiyalangan surtma filtr qog'oz orqali gensianviolet bo'yog'i bilan bo'yaladi - 2 daqiqa.
2. Filtr qog'ozni olib, bo'yoq to'kib tashlanadi va surtma ustiga Lyugol eritmasi quyiladi - 2 daqiqa .
3. Lyugol eritmasini to'kib, 96⁰ spirt quyiladi (30 soniya).
4. Suvda yaxshilab yuviladi.
5. Sil fuksini bilan 2 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yaladi (fuksinni ishlatishdan oldin distillangan suv bilan 1:10 nisbatda suyultirish kerak).
6. Suvda yuvib, filtr qog'ozga shimdirib quritiladi va mikroskopning 90x obyektivida tekshiriladi.

Suyuq gensianviolet (yoki kristallviolet) o'rniga preparatga mos o'lchamda qirqilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'ozni ishlatish

⁴ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

mumkin. Bunda preparatga qirqilgan bo‘yoqli filtr qog‘oz bo‘lagini qo‘yib ustidan bir nechta tomchi distillangan suv tomdiriladi. Bakteriologiya amaliyotida preparatlarni Gram usulida bo‘yash juda keng qo’llaniladi.Ba’zi adabiyotlarda bu usulda ikkinchi bo‘yoq sifatida Sil fuksini o’rniga safranin ishlatishni lozim **topishgan** (20-rasm).⁵



20-rasm. Gram usulida bo'yash jarayonlarining ifodasi

Nazorat savollari:

1. Mikroorganizmlarni murakkab bo'yash usuli deb nimaga aytildi?
 2. Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yashning mohiyati nimadan iborat?
 3. Mikroorganizmlarning grammanfiy yoki grammusbat bo'yalishining sababi nima?
 4. Gram usulida bo'yash texnikasini aytинг.
 5. Lyugol eritmasining tarkibini aytинг.
 6. Grammusbat bakteriyalar hujayra devori qanday tuzilgan?
 7. Grammanfiy bakteriyalar hujayra devori qanday tuzilgan?
 8. Gram bo'yash usulini kim va qachon taklif etган?

⁵ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians.

Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.202

Test savollari:

1. Murakkab bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlataladi.

- a) uchta
- b) bitta
- c) ikki va undan ortiq
- d) beshta

2. Gram usulida bo'yashda qaysi bo'yoqlar ishlataladi.

- a) gimza bo'yog'i, kristallviolet
- b) safranin, metilen ko'ki
- c) briliant yashili, leffler ko'ki
- d) gensianviolet, sil fuksini (1:10)

3. Bakteriyalarning doimiy bo'limgan elementlari.

- a) spora, kapsula, xivchin
- b) sitoplazma, vakuol, mitaxondriya
- c) qobiq, o'zak, protoplazma
- d) regid qatlam, membrana, sitoplazma

4. Bakteriyalarning doimiy elementlari

- a) spora, mitaxondriya, o'zak
- b) qobiq, sitoplazma, o'zak
- c) sitoplazma, xivchin, spora
- d) membrana, spora, kapsula

5. Lyugol eritmasining tarkibi.

- a) kaliy yod, kalsiy xlorid, distillangan suv
- b) 10 % li yod, gliserin, distillangan suv
- c) 1g yod kristall, 2 g kaliy yod, 300 ml – distillangan suv
- d) fenol, kaliy yod, gliserin, distillangan suv

4 - m a v z u. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo‘yash usullari

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

Material va jihozlar: Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog‘oz, spirt lampa, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko‘prikcha bilan, 96⁰ li spirt, 5% li sulfat kislotasi eritmasi, distillangan suv, shisha idishlarda bo‘yoqlar: Leffler metilen ko‘ki, 0,5 % li neytralrot, karbolli Fuksin, Gimza bo‘yog‘i, 2 % li safranin (suvdagagi eritmasi), fiziologik eritma, bakteriyalar kulturasi: spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayoqchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko‘rsatmalar

O‘qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

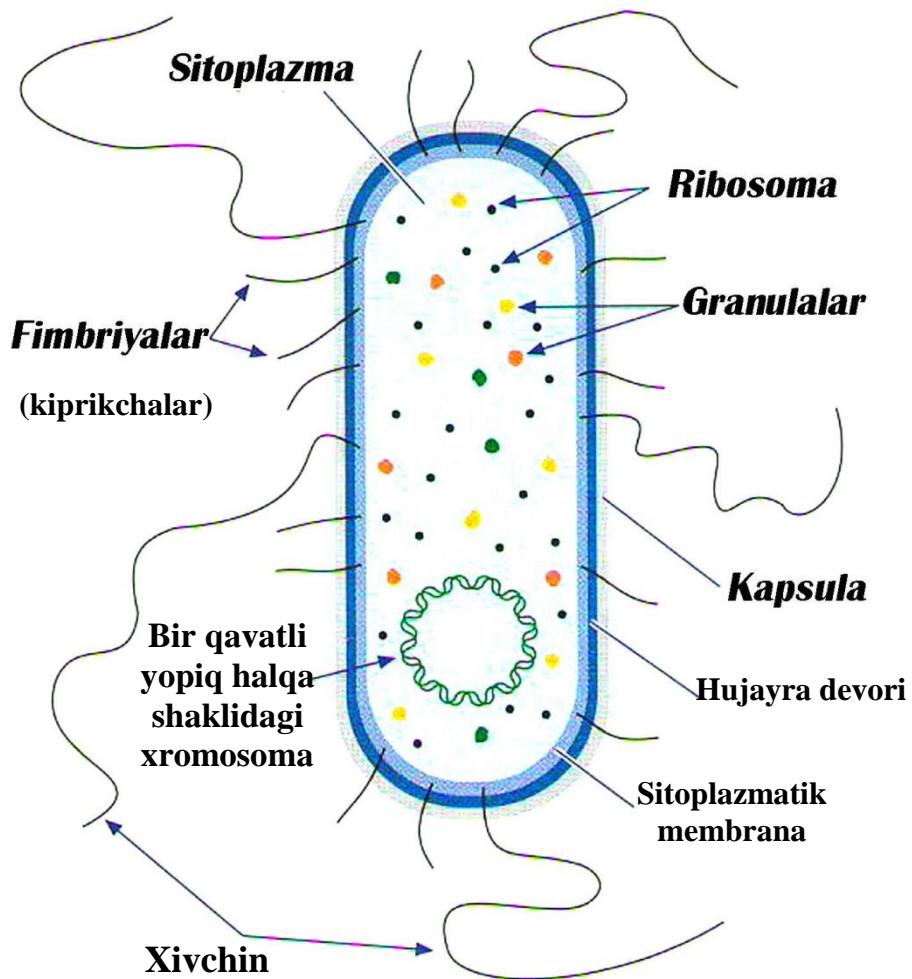
1.Sporalarni Auyski, Meller, Zlatogorov, Peshkov usullarida bo‘yash, kapsulalarni Mixin, Romanovskiy-Gimza, Olt usullarida, kislotaga chidamli bakteriyalarni Sil-Nilsen usulida bo‘yashni daftarga yozib olish.

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

Mikrob hujayrasining tuzilishida doimiy va doimiy bo‘lmagan elementlari farqlanadi (21-rasm). Doimiylariga – sitoplazma, qobiq, o‘zak moddasi; doimiy emaslariga esa ma’lum sharoitlarda faqat bakteriyalarning alohida turlarida shakllanib, turga oid belgi hisoblanadigan – spora, kapsula, xivchinlar kiradi.

Sporalarni bo‘yash. Tashqi muhitda spora hosil qiluvchi tayoqchasimon mikroblar basillalar deyiladi. Spora hosil bo‘lish jarayonida hujayra sitoplazmasi quyuqlashib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko‘p qavatli qobiqqa o‘raladi (22-rasm). Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko‘pchilik kislota, ishqor va bo‘yoqlar ta’siriga chidamli bo‘ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo‘lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz

bo‘ladi; jarayon tugallanmagan bo‘lsa spora mikrob turiga bog‘liq ravishda hujayraning markazida, bir uchida yoki bir uchiga yaqin joylashadi. Oddiy yoki



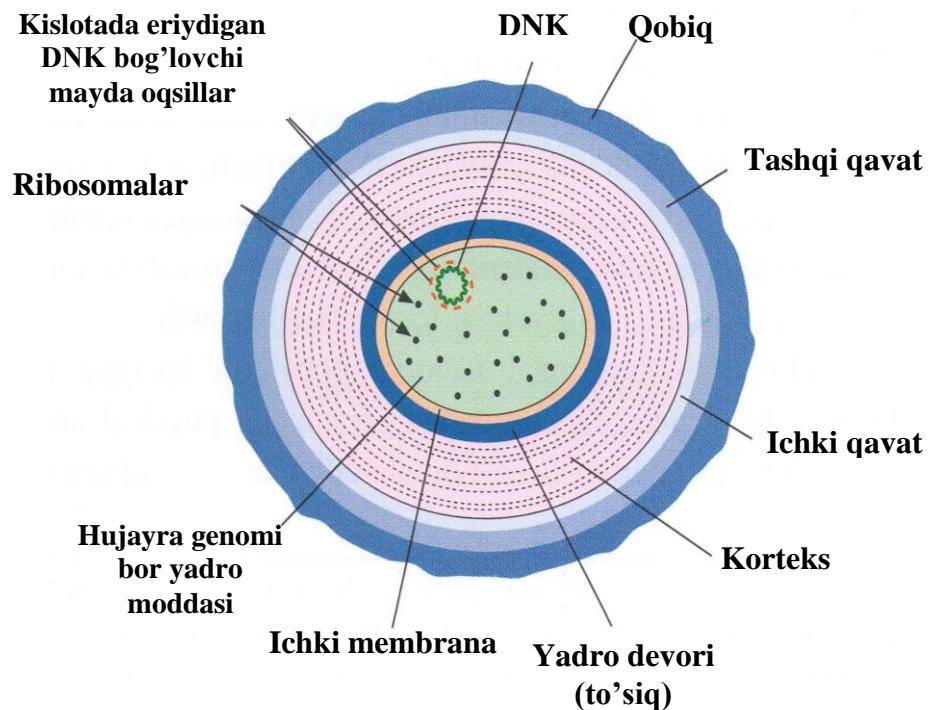
21-rasm. Bakteriyaning tuzilishi.⁶

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

Auyski usuli. 1.Havoda quritilgan preparatga 0,5% li sulfat kislota quyib 2-3 daqiqa qizdiriladi, sovutib, suv bilan yuviladi va alanga ustida fiksatsiyalanadi. 2. Preparatga filtr qog‘oz qo‘yib, ustidan karbolli Sil fuksini quyladi, bug‘ hosil

⁶ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.2

bo‘lguncha qizdirib 7-8 daqiqa bo‘yaladi. 3. Bo‘yoqni to‘kib tashlab 5 % sulfat kislota eritmasi bilan 5-7 soniya ishlov beriladi, keyin yaxshilab suv bilan yuviladi.



22-rasm. Bakteriyaning yetuk endosporasini tuzilishi.⁷

4. Qo‘sishimcha metilen ko‘ki bilan 4-5 daqiqa bo‘yaladi. Suv bilan yuvib, filtr qog‘ozda quritiladi.

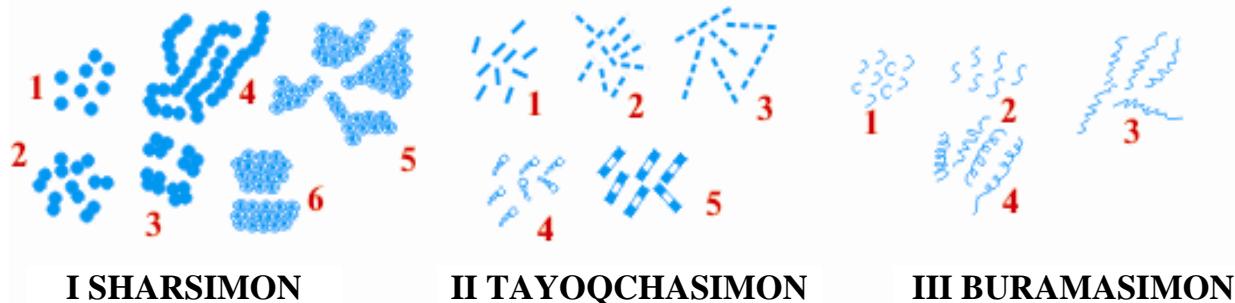
Mikroskopda ko‘rinishi: sporalar pushti-qizil, vegetativ hujayralar ko‘k rangda.

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

Zlatogorov usuli. Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksatsiyalashda sporalar qobig‘ini bir oz yumshatish va ularni nobud qilish uchun spirt lampa yoki

⁷ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.3

Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari



I SHARSIMON

II TAYOQCHASIMON

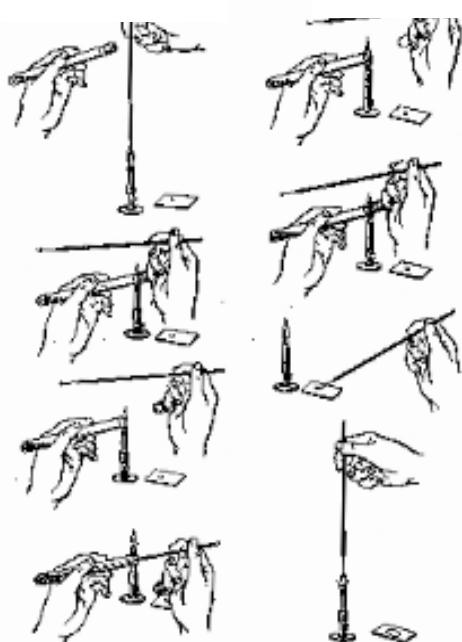
III BURAMASIMON

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

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

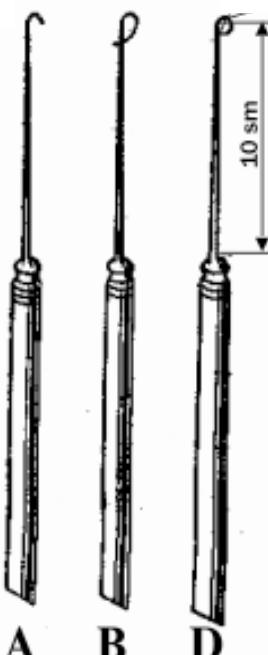
1. vibrionlar
2. leptospiralar
3. spiroxetalar
4. spirillalar

11-rasm.



12-rasm. Surtma-preparat tayyorlash sxemasi.

Ø1,5-3mm.



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

Gram usulida bo'yalgan surtmə bakteriyalarning ko'rinishi

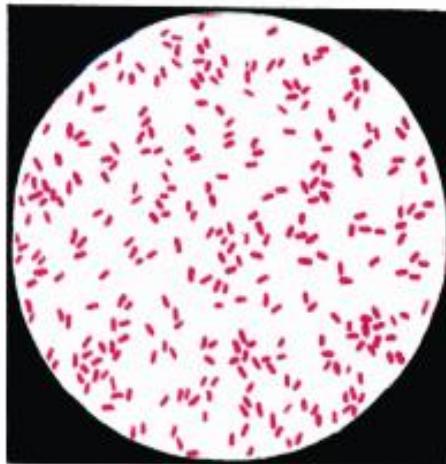
Gram usulida
bo'yalgan
surtmalarida



14-rasm. *Diplococcus pneumoniae*.



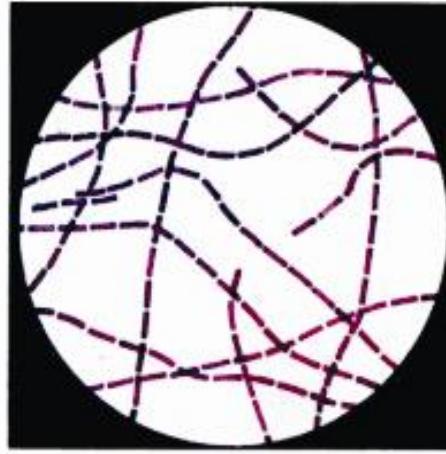
15-rasm. *Streptococcus pyogenes* qonda.



33



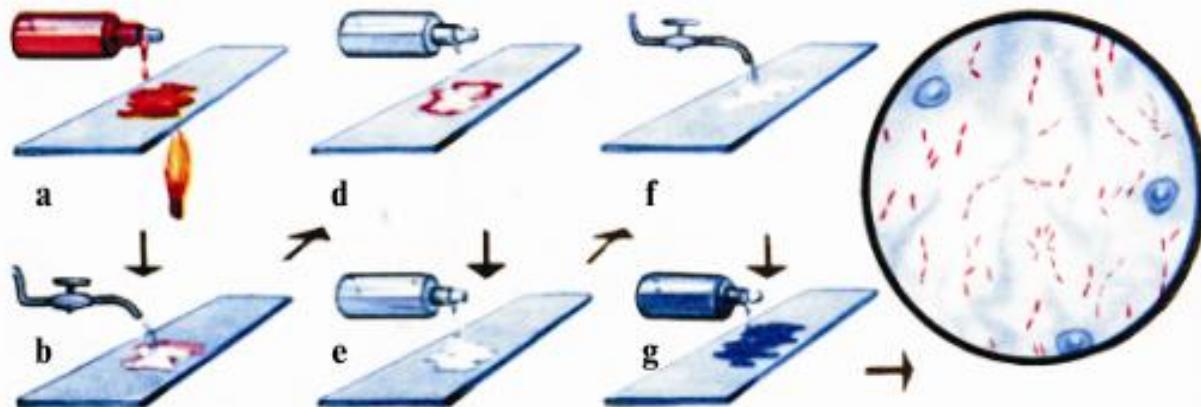
16-rasm. *E.coli* – grammansif
tayoqchalar.



17-rasm. *Salmonella* – grammansif
tayoqchalar.

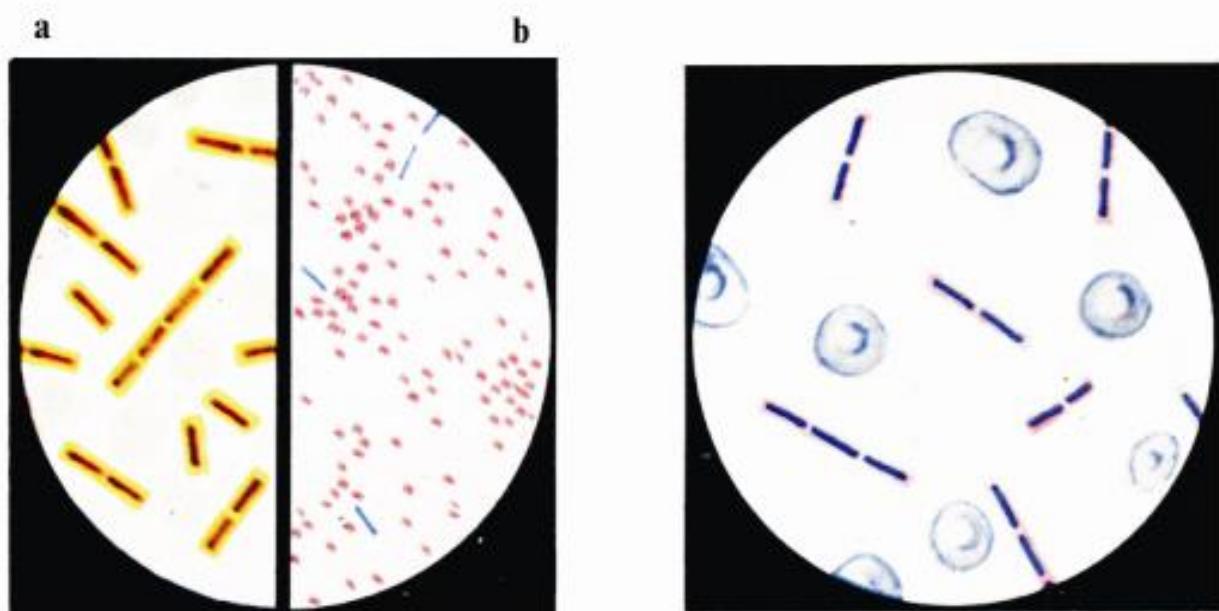
18-rasm. *Bac. anthracis* – grammusbat
tayoqchalar.

Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari



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

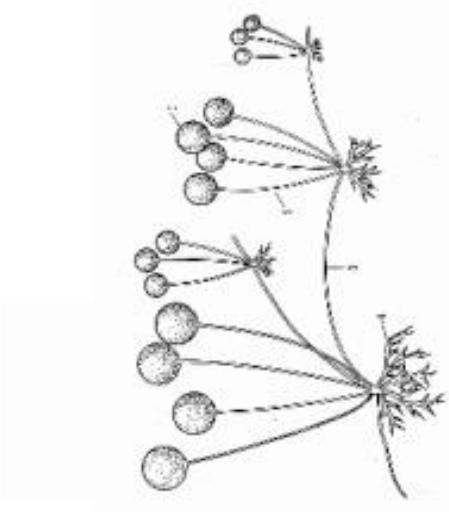
a—sil fuksini bilan bug' paydo bo'lgunicha olov ustida qizdirib bo'yaladi; b –bo'yoq suv bilan yuviladi; d–5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e–avval spirit, keyin f – suv bilan yuviladi va g – metilen ko'ki bilan bo'yaladi.
Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rahgga bo'yaladi.



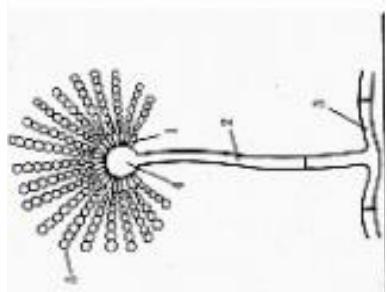
24-rasm. *Bac. anthracis*
Olt usulida bo'yagan:
a-kapsulasi sariq,
basillalar-qo'ng'ir rangda
b-sporasi Sil-Nilsen
usulida bo'yagan.

25-rasm. *Bac. anthracis*
Leffer usulida bo'yagan:
kapsulasi pushti,
basillalar-ko'k rangda.

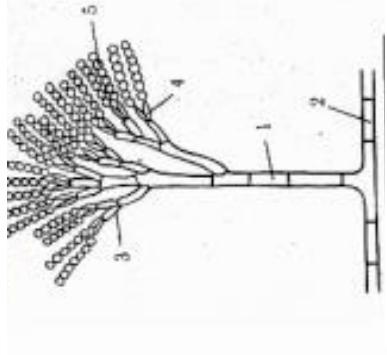
Zamburug'larning morfologiysi



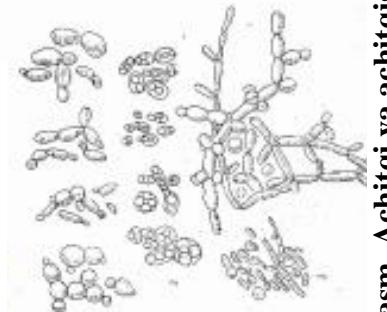
26-rasm. Mukor – boshchali mog'orning tuzilishi:
1-sporangiy; 2-sporangiofor;
3-stolon; 4-rizoidlar



27-rasm. Aspergillus –
zamburug'ining tuzilishi:
1-sterigmalar; 2-konidio-
for; 3-vegetativ gif; 4-shakli-
li kengayish; 5-konidiyalar.

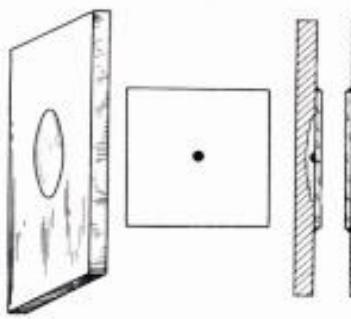


28-rasm. Penitillium –
zamburug'ining tuzilishi:
1-konidiofor; 2-vegetativ gif;
3-metulalar; 4-sterigmalar;
5-konidiyalar.



29-rasm. Achitqi va achitqisimon
zamburug'lari:
1-haqiqiy achitqilar (saxaromisetlar);
2-sporali asklar;
3-achitqisimon zamburug'larning psevdomitselfiliyari
blastosporalari bilan.

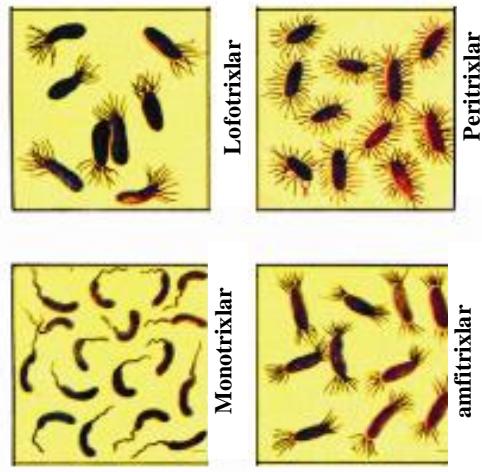
32-rasm. Bakteriyalarda
xivchinlarning joylashishi.



31-rasm. Osilgan tomchi
usulida preparat tayyorlash.



30-rasm. Takomillashmagan zamburug'-
trixiton:
1-xlamidosporalar; 2-mitseliyning shoxlanishi;
3-sochda mikrokonidiy zanjirlari;
4-makrokonidiyalar.



Peritrixlar

gaz gorelkasi alangasi ustida 10 marta u yoq-bu yoqqa o'tkaziladi. Surtma ustiga filtr qog'oz qo'yib, karbol fuksini quyiladi, so'ngra bug' hosil bo'lguncha 8-10 daqiqa qizdiriladi (natijada bakteriyalarning sporasi ham, vegetativ shakllari ham bir xil qizil rangga bo'yayladi). Keyin filtr qog'ozni olib tashlab, 6-10 soniya davomida sulfat kislotaning 5% li eritmasida rangsizlantiriladi (sporalar qizil rangda qoladi) va suv bilan yuviladi. Endi metilen ko'kining eritmasi bilan 1 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yayladi (rangsizlangan vegetativ formalari bo'yayladi). So'ngra suv bilan yuvib filtr qog'ozda quritiladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda immersion obyektivdan foydalaniladi. Vegetativ hujayralar ko'k, sporalar qizil rangga bo'yayladi.

Peshkov usuli. Tayyorlangan surtma spirt lampa alangasida fiksatsiyalanadi.

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

Kapsulalarni bo'yash. Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosila-sidir. Umumsimon modda bo'lib yuqori molekulali polisaxariddan iborat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziq muhitlarda ularga qon zardobi yoki fibrinsizlangan qon qo'shgandagina kapsula hosil bo'ladi). Kuydirgi, yomon sifatlari shish kasalliklari, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuv-chilari kapsula hosil qiladi.

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

Olt usuli.

1.Fiksatsiya qilingan preparat, yangi tayyorlangan issiq 2% li safraninning suvdagi eritmasi filtrati bilan 5-7 daqiqa bo'yayladi. 2.Tezda suv bilan yuvib,

quritiladi. Mikroskopda ko‘riladi. Kapsula sariq, hujayra qo‘ng‘ir rangda bo‘ladi (24-rasm).

Mixin usuli. 1.Fiksatsiya qilingan qon yoki tamg‘ali surtma Leffler ko‘ki bilan bug‘ hosil bo‘lguncha qizdirib, issiq holda 5-7 daqiqa bo‘yaladi. 2.Bo‘yoqni to‘kib, tezda suv bilan yuviladi. 3.Filtr qog‘ozda quritib, mikroskopda ko‘riladi: Kapsula – pushti-qizil; vegetativ hujayra – ko‘k rangda bo‘ladi (25-rasm).

Romanovskiy-Gimza usuli.

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

Kislota, spirt, ishqorlarga chidamli bakteriyalarni bo‘yash. Kislotaga chidamli bakteriyalar: tuberkuloz, paratuberkuloz kabi kasallik qo‘zg‘atuvchilari, grammusbat bakteriyalardir. Ularni boshqa grammusbat bakteriyalardan farqlash uchun ushbu Sil-Nilsen maxsus bo‘yash usuli (23-rasm) qo‘llaniladi. Kislotaga chidamli bakteriyalar sitoplazmasi va hujayra qobig‘ida ko‘p miqdorda yog‘ mumli moddalari, xususan steorin kislotalari borligi uchun, oddiy usulda bo‘yoqni kirishi qiyin bo‘ladi. Maxsus usulda bo‘ylganda esa, kislota, spirt, ishqorlar ta’sirida rangsizlanmaydi.

Sil-Nilsen usuli

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

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

3.Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

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

V. V. Pavlovskiy ma’lumoti bo‘yicha (Диагностика инфекционных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. М., Колос, 1968, с.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug‘ paydo bo‘lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislota bilan rangsizlantiriladi (d). So‘ngra surtma avval spirt (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko‘ki bilan bo‘yaladi (e), (23-rasm).

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

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

Rikketsiyalar Zdradovskiy usulida bo‘yash.⁸ Surtma Sil fuksini suyultirmasi (10 ml distillangan suvgaga 10-15 tomchi) bilan 5 daqiqa davomida bo‘yaladi va suv bilan yuviladi. Surtmaga 0,5% li limon kislota eritmasi bilan ishlov beriladi. Keyin suv bilan yuviladi. Preparat metilen ko‘ki bilan 1 daqiqa davomida bo‘yaladi, suv bilan yuviladi va quritiladi.

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

⁸ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.c.34.

Nazorat savollari:

1. Sporalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
2. Kapsulalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
3. Oddiy bo'yashda sporalar va kapsulalar nimaga bo'yalmaydi?
4. Mikroblarning spora va kapsulasini aniqlashning qanday usullari bor?
5. Kislotaga chidamli bakteriyalar nima uchun oddiy usulda bo'yalmaydi?
6. Kapsulalarni bo'yashning qanday usullari bor?
7. Sporalarni bo'yash usullarini ayting.
8. Sil-Nilsen usulida bo'yash texnikasini ayting
9. Zdradovskiy usulida rikketsiyalar qanday rangga bo'yaladi?
10. Qondan surtma qanday tayyorlanadi?

Test savollari:

1. Murakkab bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlataladi.

- a) uchta
- b) bitta
- c) ikki va undan ortiq
- d) beshta

2. Gram usulida bo'yashda qaysi bo'yoqlar ishlataladi.

- a) gimza bo'yog'i, kristallviolet
- b) safranin, metilen ko'ki
- c) brilliant yashili, leffler ko'ki
- d) gensianviolet, sil fuksini (1:10)

3. Bakteriyalarning doimiy bo'limgan elementlari.

- a) spora, kapsula, xivchin
- b) sitoplazma, vakuol, mitaxondriya
- c) qobiq, o'zak, protoplazma
- d) regid qatlam, membrana, sitoplazma

4. Bakteriyalarning doimiy elementlari

- a) spora, mitaxondriya, o'zak
- b) qobiq, sitoplazma, o'zak

- c) sitoplazma, xivchin, spora
- d) membrana, spora, kapsula

5. Lyugol eritmasining tarkibi.

- a) kaliy yod, kalsiy xlorid, distillangan suv
- b) 10 % li yod, gliserin, distillangan suv
- c) 1g yod kristall, 2 g kaliy yod, 300 ml – distillangan suv
- d) fenol, kaliy yod, gliserin, distillangan suv

5 - m a v z u. Zamburug‘larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o‘rganish

Mashg‘ulotning maqsadi: Mog‘or zamburug‘larini va achitqi-larning morfologik xususiyatlarini o‘zlashtirish. Bakteriyalarning hara-katini o‘rganish.

Material va jihozlar: Petri kosachasidagi zich oziq muhitlarda o‘stirilgan mukor, penitsillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zambu-rug‘lar kulturasи. Suyuq oziq muhitda o‘stirilgan achitqi kulturasи. Buyum va yopqich oynachalar, bakteriologik ilmoq, probirkada spirt, glitserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayoqchasi, pichan tayoqchasi kulturasи, mavzuga oid plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko‘rsatmalar.

O‘qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Zamburug‘lar (fungi) – xlorofilsiz eukariot (o‘zagi membranaga o‘ralgan) mikroorganizmlar. Zamburug‘ hujayrasining qobig‘i, protoplazmasi, o‘zagi va kiritmalari bor. Qobig‘i xitin, oqsil, glyukan, yog‘lardan iborat. Tashqi ko‘rinishi, oziqani o‘zlashtirishi bo‘yicha osimlikka o‘xshaydi. Lekin farqi -

zamburug‘larning xlorofili yo‘q, zaxiradagi moddasi glikogen (kraxmal emas), hujayra devorida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug‘ hujayrasi ingichka ipchalardan iborat bo‘lib bularga – giflar deyiladi. Giflar o‘sib, shoxlanadi va o‘ralib zumburug‘ tanasini – mitseliysi hosil qiladi. Zamburug‘ mitseliysi oziq muhitda substratlari (koloniya oziq muhitga mustahkam kiradi) va havoli (oziq muhit ustida) bo‘ladi. Mitseliysining tuzilishi bo‘yicha barcha zamburug‘lar *tuban* va *yuqori* zamburug‘larga bo‘linib to‘rt sinfga kiritilgan. Fikomitsetlar (*Phycomycetes*) – tuban zamburug‘larga kirib, ularning mitseliysi bo‘g‘inlarga bo‘linmagan, ko‘p o‘zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomitsetlar (*Ascomycetes*), bazidomitsetlar (*basidiomycetes*) va takomillashmagan zamburug‘lar (*Fungi imperfecti*, *Deuteromycetes*) yuqori zamburug‘larga kiradi (mikomitsetlar). Ularning mitseliysi giflari bo‘g‘inlarga bo‘lingan bir yoki ko‘p o‘zakli hujayralardan **iborat**.⁹

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

Jinsiy ko‘payish xususiyatiga ega zamburug‘lar – *takomillashgan*, jinsiy sikli yo‘qlari – *takomillashmagan* (*Deuteromycetes*) deb ataladi (30-rasm). Takomillashgan zamburug‘larning rivojlanish davrida jinssiz va jinsiy spora hosil qilish bosqichlari bo‘ladi.

⁹ Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunobiologiya. Chast 1. Obshaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2006 g. c.25-26.

Zamburug‘larning suslo agarda o‘sishi.

Boshchali – mukor mog‘ori fikomitsetlar vakili. Suslo agarda birinchi sutkada yumshoq kulrang pardek qatlam hosil qilib o‘sadi. Bu zamburug‘ning tanasi bo‘g‘inlarga bo‘linmagan bo‘lib boshchasi - sporangiyasi ichida 2-4 dona endosporalar paydo bo‘ladi, yetilgandan so‘ng sporangiya parchalanib sporalar tashqi muhitga tarqaladi (26-rasm).

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

Aspergilla– takomillashmagan zamburug‘ bo‘lib, mukorga nisbatan sekinroq o‘sadi. Ikkinci sutkada o‘sish paydo bo‘ladi. Konidiyalari qora (Aspergillus niger) va yashil-sariq (Aspergillus oryzae) rangda bo‘lib, konidiyalarni tashuvchi uchlari to‘g‘nog‘ich boshiga o‘xshab, undan tarqalgan nurdek har tomonga zanjirsimon joylashgan ekzosporalar o‘sib chiqadi (27-rasm).

Penitsilla ham takomillashmagan zamburug‘. Suslo agarda ikkinchi-uchunchi sutkalarda momiq pardek kulrang – yashil yoki yashil cheti oq hoshiyali nozik qatlam hosil qilib o‘sadi. Zamburug‘ning mitseliysi bo‘g‘inlarga bo‘lingan va shahobchasimon tarmoqlangan ko‘payuvchi gifii bor. Uning uchida shingil shaklli konidiyalar (ekzosporalar) hosil bo‘lib, zanjirsimon joylashadi (28-rasm).

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

Aktinomitsetlar (nursimon zamburug‘lar). Bir hujayrali mikroorganizmlar bo‘lib bakteriya va tuban zamburug‘larga o‘xshaydi. Aktinomitsetlar mitseliysining giflari substrat bo‘yicha nursimon tarqalib o‘sishi

ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarining qaliligi bakteriyalaridan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'rildi. Mitseliysi avval substratli keyin havoli bo'lib, koloniylar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zinch konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi.. Aktinomitsetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomitsetlar aerob, kraxmal – ammiakli agarda 30 – 35°Cda o'sadi.

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

Achitqilar (drojji) – xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular mitseliysiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar (29-rasm). Achitqi hujayralarining qobig'i, sitoplazmasi, shakllangan o'zagi bor. Sitoplazmada vaqt o'tishi bilan vakuolalar paydo bo'ladi. Ularning diametri bakteriyalaridan katta 10 – 15 mkm gacha. Achitqi hujayrasining ichida 4 tadan 12 tagacha sporalar hosil bo'lib, ular xalta – askalarga aylanadi. Achitqilarning tinch holatdagi hujayralari vegetativ shakllaridan ikki qavatli qobig'i, ko'p miqdorda oziqa moddalar zaxirasi (glikogen, yog') bor bo'lib, vakuoli yo'qligi bilan farq qiladi. Achitqilar kurtaklanish, spora hosil qilish, oddiy bo'linish va jinsiy yo'l bilan ko'payadi.

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

Bakteriyalarning harakatini o'rganish.

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

Bu ularning turlarini bir-biridan farq qilishdagi asosiy belgilardan biri. Mikroblar xivchinlar yordamida harakatlanadi, ular mikrob tanasining turli

qismlarida **joylashadi**.¹⁰ Shunga qarab, harakatlanishi ham turlicha bo‘ladi (32-rasm).

1. Monotrix – xivchini bitta bo‘lib, tanasining bir uchida joylash-gan. Monotrix bakteriyalar xivchinsiz tomoniga qarab harakatlanadi.
2. Lofotrix – tanasining bir uchida bir tutam xivchinlar joylashgan.
3. Amfitrix – bu guruh bakteriyalarda xivchinlar tanasining ikki uchida to‘p-to‘p bo‘lib joylashgan.
4. Peritrix – bu guruh bakteriyalarda xivchinlar hujayraning hamma tomonidan o‘sib chiqqan. Tartibsiz harakatlanadi.

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

«Osilgan» tomchi preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun o‘rtasi chuqr maxsus buyum oynasi ishlatiladi. Tekshiriladigan materialdan qoplagich oynaga bir tomchi tomiziladi. Buyum oynasidagi chuqurning chetlariga vazelin surtiladi. Keyin buyum oynasi qoplagich oyna ustiga shunday yopiladiki, undagi tomchi chuqurchaning o‘rtasida bo‘lsin. Oyna ehtiyyotlik bilan to‘nkariladi, ana shunda zinch yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (31-rasm). Preparat quruq obyektiv sistemasida, yengil qorong‘ilashtirilgan ko‘rish maydonida (diafragma va tushirilgan kondensordan foydalaniladi) tekshiriladi. Avval x8 obyektivda tomchining chetini topib keyin x40 -60 ga o‘tkaziladi.

«Ezilgan tomchi» preparati. Buyum oynasining o‘rtasiga tekshiriladigan materialdan bir tomchi tomiziladi. Keyin yopqich oyna bilan ubti yopiladi. Unda havo pufakchalari bo‘lmasligi kerak. Suyuqlikning ortiqchasi filtr qog‘oziga

¹⁰ Vorobyev A.A. Medisinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g. C.40.

shimdirib olinadi. Bunday preparat tez qurib qolishi mumkin. Undan uzoq muddat foydalaniladigan bo'lsa, qoplagich oyna chetlariga vazelin surtib qo'yish yoki «osilgan» tomchi preparatini tayyorlash kerak.

Nazorat savollari:

1. Mog'or zamburug'larining morfologik xususiyati.
2. zamburug'lar qanday usullarda ko'payadi?
3. Achitqilarning morfologik xususiyatlari.
4. Bakteriyalarning xivchinining joylashishi.
5. Bakteriyalarning harakatlanishining turi nimaga bog'liq?
6. Bakteriyalarning harakatlanishi qanday usullarda o'r ganiladi?
7. «Osilgan» tomchi preparati qanday tayyorlanadi?
8. «Ezilgan tomchi» preparati qanday tayyorlanadi?

Test savollari:

1. Zamburug'larning o'simliklardan farqi.

- a) oziqlanishi, nafas olishi bilan
- b) xlorafilsiz, zaxira moddasi glikogen, qobig'ida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina
- c) ko'payishi, sporalari, tuzilishi bilan
- d) miseliysi, giflari, o'sishi bilan

2. Zamburug'larni mikroskopik tekshirishda qanday preparat tayyorlanadi.

- a) «osilgan tomchi» usulida bo'yalmagan preparat
- b) Gram usulida bo'yangan preparat
- c) ezilgan tomchi usulida bo'yalmagan preparat
- d) oddiy usulda bo'yangan preparat

3. Bakteriyalarning harakati qanday o'r ganiladi.

- a) maxsus murakkab usulda bo'yangan preparatda
- b) preparatni bo'yab, ezilgan tomchi usulida
- c) differensial diagnostik muhitlarda
- d) ezilgan tomchi, osilgan tomchi, yarimsuyuq agarga tik ekib, GPA kondensatiga ekib

4. Bakteriya xivchinlari joylashishi bo'yicha qancha guruhi farqlanadi.

- a) 4 ta
- b) 8 ta
- c) 6 ta
- d) 3 ta

5. Aktinomisetlar qanday mikroorganizmlar

- a) ko'p hujayrali, nursimon
- b) bir hujayrali, bakteriya va zamburug'larga o'xshaydi
- c) bir va ko'p hujayrali, bakteriyalarga o'xshaydi
- d) bir hujayrali, zamburug'larga o'xshamaydi.

6 - m a v z u. Oziq muhitlarini tayyorlash

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

2. Go'sht-peptonli bulonning pHni aniqlash.

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

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

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

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

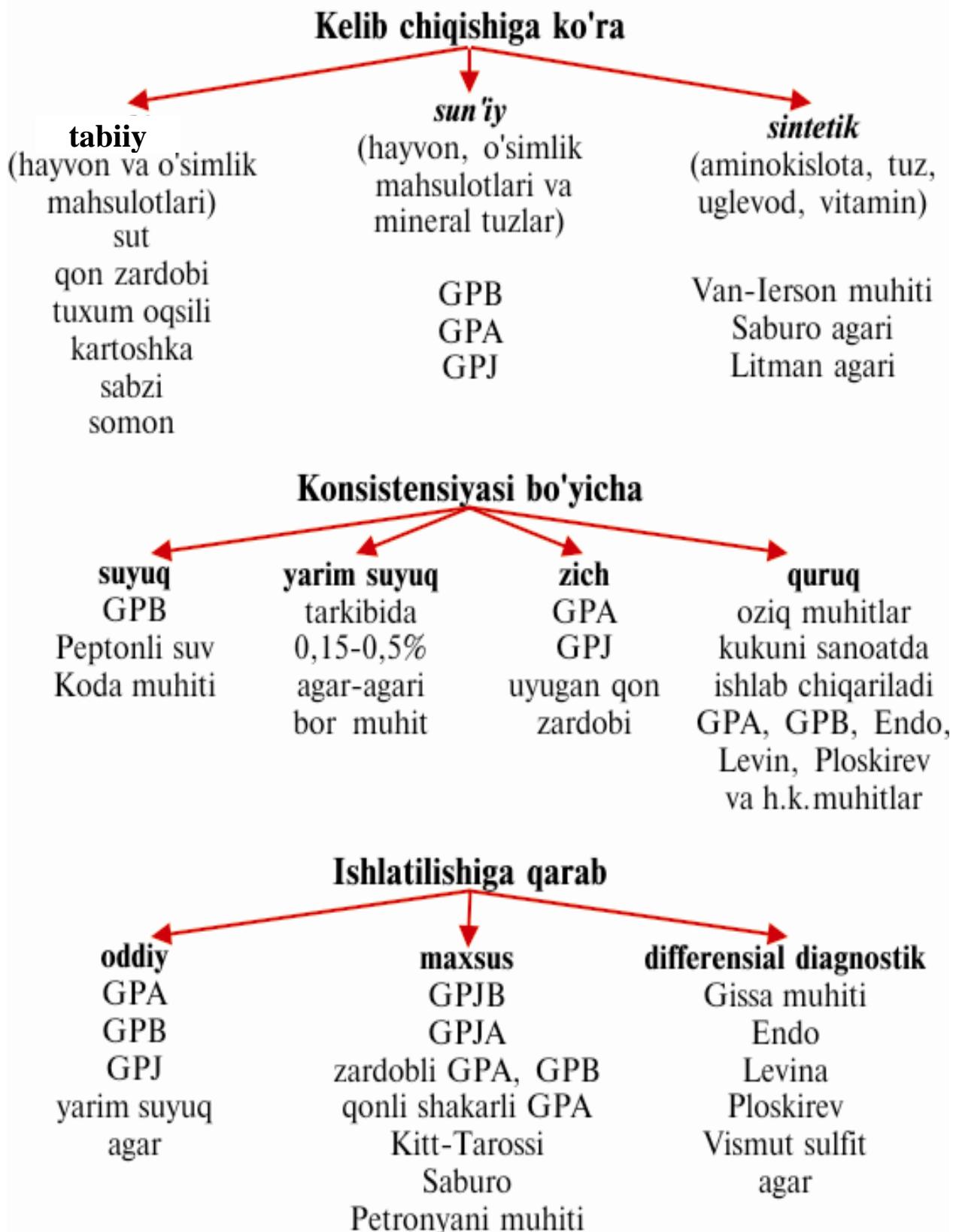
Pepton – oqsillar parchalanishidagi oraliq mahsulot, shirdondan tayyorланади. Aminokislota, peptidlarga boy.

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

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

Konsistensiyasi bo'yicha oziq muhiti suyuq, zich, yarim suyuq va quruq bo'lishi mumkin. Suyuq muhitlarga GPB, Peptonli suv, sut va h.k.lar kiradi. Oziq muhiti zich bo'lishi uchun GPBga 2-3 %, yarim suyuq bo'lishi uchun 0,15-0,7 % agar-agar qo'shish lozim. GPJ tarkibida 20% jelatina bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda har xil miqdorda ishlatiladigan ko'pgina oziq muhutlar quruq holda ishlab chiqiladi. Quruq oziq muhit qopqog'i zich berkitiladigan shisha idishlarda sotiladi

Oziq muhitlarning klassifikatsiyasi



(uglevodlar va ko‘p atomli spirtlar bo‘lgan Gissa muhiti, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar J, quruq oziq agari va boshqalar).

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

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

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

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

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

Go'sht-peptonli agar (GPA) tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib ketgunicha qaynatiladi, so'ngra pH 7,2-7,4 aniqlanadi. Paxta-doka yoki filtr qog'ozda filtrlanadi, muhit reaksiyasi tekshiriladi va to'g'rilanadi, zarur idishga quyib 30 daqiqa davomida 120⁰ C da avtoklavda sterillanadi. Probirkalardagi GPA qiyalatiladi (40-rasm).

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

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

Mikroorganizmlar muhit reaksiyasiga juda sezgir bo'ladi. Oziq muhitining reaksiyasi ikki usulda elektrometrik (LPU 01 markali pH- metrda) va kalorimetrik usulda aniqlanadi. Ko'pincha oddiy Mixaelis to'plami, Uolpol komporatoridan foydalaniladi. To'plamda pH 5,4 – 8,4 gacha bo'lgan indikatorlar bor (metanitrofenol, paranitrofenol). Komporatordagi maxsus 6 ta uyaga sxemada ko'rsatilgandek (39-rasm): 2- uyaga 2 ml dan muhit va distillangan suv, 1 ml indikator; 1, 3 uyalarga 2 ml muhit va 3 ml distillangan suv; 5- uyaga 5 ml distillangan suv solingan probirkalar; 4, 6- uyalarga kavsharlangan standart indikatorlar joyланади. pH talab qilingan ko'rsatkichdan past bo'lsa 0,1 n NaOH, yuqori bo'lsa 0,1 n HCl eritmasi bilan kerak darajaga yetkaziladi va necha ml sarflangani aniqlanadi. 2ml muhitga 0,3 ml sarflandi. Muhitning umumiy miqdori – 1litr. Unga qancha NaOH qo'shamiz? Demak, $0,3 \times 1000 : 2 = 150$ ml 0,1n. yoki 15 ml 1 n NaOH qo'shish kerak. Odatda pH 0,1-0,2 ga ko'proq olinadi, chunki avtoklavdan keyin u kislotali tarafga o'zgaradi va optimal holga tushadi.

Nazorat savollari:

1. Oziq muhitlar klassifikatsiyasini ayting.
2. Pepton, agar-agar va jelatina nima? Ular qanday oziq muhiti tayyorlashda ishlatiladi?
3. Asosiy oziq muhitlari va ularni tayyorlash usullari.

4. Oziq muhitlarning mikrobiologiya amaliyotida qo‘llanilishi.
5. Oziq muhitlarning pH ko‘rsatkichi qanday aniqlanadi.
6. Differensial diagnostik oziq muhitlarga tushuncha bering.
7. Oziq muhitining reaksiyasi qanday usullarda aniqlanadi?
8. Oziq muhit qanday talablarga javob berishi kerak?

Test savollari:

1. Oziq muhitlar qaysi xususiyatlar bo‘yicha klassifikasiyalanadi.

- a) tayyorlanishi, sterilligi, PH ko‘rsatkichi bo‘yicha
- b) tarkibi, manbasi, ishlatilishi
- c) kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi
- d) mahsulot turi, mikroorganizmni o’sishi bo‘yicha

2. Oddiy oziq muhitlar qaysi bandda to’g’ri ko‘rsatilgan.

- a) yarimsuyuq agar, Ploskirev, Gissa muhiti
- b) GPB, endo, Vis’mut sul’fit agar
- c) GPJ, Levin, qonli agar
- d) GPA, GPB, GPJ, yarim suyuq agar

3. Konsistensiyasi bo‘yicha qanday oziq muhitlar farqlanadi.

- a) suyuq, yarimsuyuq, zich, quruq
- b) suyuq va zich
- c) kukunsimon, maxsus, tabiiy
- d) zich, oddiy, murakkab, quruq

4. GPA tarkibida agar necha foiz bo’ladi.

- a) 4-5 %
- b) 2-3 %
- c) 1 %
- d) 0.5 %

5. Agar – agar nima.

- a) o’simlik kukuni va hayvonlar mahsuloti aralashmasi
- b) maxsus tayyorlangan sun’iy preparat
- c) dengiz suv o’tlaridan olinadigan azotsiz organik modda

d) hayvonlar oqsili, sut kukuni aralashmasi

7 - m a v z u. Sterilizatsiya usullari

Mashg‘ulotning maqsadi: 1. Sterilizatsiya usullarini o‘rganish.

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

O‘qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Laboratoriyalarda oziq muhitlar, shisha idishlar (probipka, pipetka, kolba va h.k.), asboblar, bog‘lovchi materiallar, xalatlar sterillanadi. Maxsus ish sharoitini yaratish uchun havo va boksdagi buyumlar ham sterillanadi. Sterillashning bir necha fizikaviy va kimyoviy usullari mavjud. Bu usullarning ta’sir etish mexanizmi har xil bo‘lgani bilan, ular ikkita asosiy talabga javob berishi kerak.

1.Mikrobni to‘liq naslsizlantirish. 2. Sterillanayotgan materialni fiziko-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qolish.

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

Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash maxsus ikki qavat devorli metall quritgich shkaf - yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (33-rasm). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterillanadi. Kolbalarni paxta tiqin bilan yopib, ustidan qog‘oz bilan o‘raladi va bog‘lanadi. Probirka, Petri kosachasi va probirkalarni pergament qog‘ozga o‘rash lozim. Ularni quritgichga joylashtirgach elektr tarmoqqa ulab, kerak haroratga yetganida

sterillashning boshlanish vaqtি belgilanadi. Sterillash davomiyligi: 160⁰C -2 soat; 170⁰C -1,5 soat, 180⁰C -1 soat. Yuklash hajmiga bog'liq holda 171⁰C -1 soat, 121⁰C da 10-16 soat davomida va undan ham uzoqroq vaqt **sterillanadi.**¹¹ Sterillash vaqtি tugashi bilan jihozni o'chirib, harorati 45⁰C ga tushgandan keyingina u ochiladi. Yonuvchi moddalar, suyuqliklar, oziq muhitlar, rezina narsalarни quruq issiqda sterillash mumkin emas.

2.Nam issiq bilan sterillash. *Qaynatish* – onson, oddiy sterillash usuli bo'lib, maxsus sterilizator (35-rasm) yoki toza idishlardan foydalaniladi. Bu usulda ignalar, shpris, pinsetlar, qaychi, skalpellar, rezinali va shisha narsalar sterilizator setkasidagi 2 – 3 qavatli doka ustiga qo'yib sterillanadi. Shprislarni qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblar – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rab sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopgunicha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20 – 30 daqiqa qaynatinadi. Keyin suvini to'kib,sovugandan so'ng asboblar ishlatiladi.

Oqar bug' bilan 100⁰C da, 100⁰C dan kam haroratda bo'lib-bo'lib sterillashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (34-rasm). 100⁰C da 30- 40 daqiqa ketma-ket 3 kun sterillanadi. Avtoklavda ham 100⁰C da bo'lib-bo'lib sterillash mumkin. Bu usulda 100⁰C dan ortiq haroratga chidamsiz – uglevodli oziq muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterillanadi.

Tindalizatsiya – 100⁰C dan kam haroratda suv hammomida bo'lib-bo'lib sterillash. 70 – 80⁰Cda 3 kun, 60 – 65⁰Cda 5 kun, 56 – 58⁰Cda 6- 7 kun davomida: birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari esa bir soatdan sterillanadi. 56 – 58⁰Cda kolloid eritmalar, qon zardoblari, ya'ni oqsil saqlovchi moddalar sterillanadi.

Pasterizatsiya usulida oziq-ovqat mahsulotlari – sut, go'sht, baliq, sabzavot konservalari 80⁰C da 30 daqiqa qizdiriladi va tezda 4 – 8⁰Cgacha sovutiladi. Bunda bakteriyalarning vegetativ shakllari o'ladi, sporalar saqlanib qoladi. Tezda

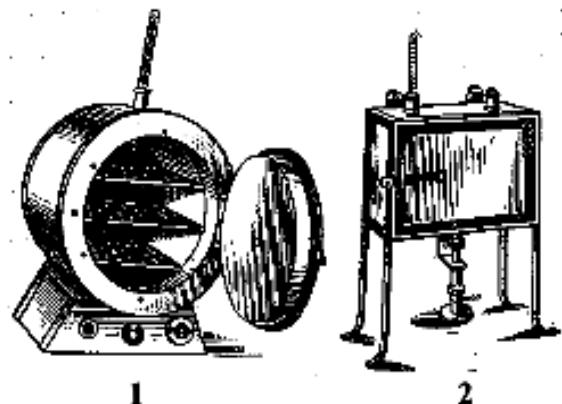
¹¹ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.24.

sovutish va ularni past haroratda ($4 - 5^{\circ}\text{C}$) saqlash sporalarning o'sishi va ko'payishiga to'sqinlik qiladi.

Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash) - 100°C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm.- $110-112^{\circ}\text{C}$, 1 atm.- $120-121^{\circ}\text{C}$, 1,5 atm.- $124-126^{\circ}\text{C}$, 2 atm.- $132-133^{\circ}\text{C}$. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (36,37-rasm). Avtoklavdagi bug'ning bosimi va harorat monometr ko'rsatkichiga mos kelsa sterillash to'g'ri bajarilgan bo'ladi. Buni nazorat qilish uchun maxsus indikatorlardan foydalaniladi. Avtoklav indikatori sariq yoki oq tasmali ko'rsatkichdan iborat. Sterilizatsiya bajarilganda indikator tasmasining rangi sariq yoki oq rangdan to'q qo'ng'ir yoki qoraga rangga o'tadi. Rangning o'zgarishi 121°C haroratda 15-20 daqiqada amalga oshadi. Ba'zan yuqori haroratda bir necha daqiqada indikatorni rangi o'zgaradi, demak bu uslubga to'liq ishonib bo'lmaydi. Sterillikni to'liq amlga oshganini aniqlashning boshqa usuli – biologik indikatorlar (yuqori haroratga chidamli – *Geobacillus stearothermophilus* endosporalari) dan foydalanish mumkin. Bu usuldan avtoklavni to'gri ishlayotganini tekshirish uchun har hafta uni yuklangan avtoklavning markaziga qo'yib avtoklavlash kerak. Agar avtoklavlashdan keyin kultura o'lsa flakonda to'q qizil rang, o'lmasa sariq rangga aylanadi va avtoklavning qay darajada to'g'ri ishlayotganini ko'rsatadi. Shunday qilib testda - flakonda to'q qizil rang bo'lsa sterillash to'g'ri bajarilib, nihoyasiga etadi.¹² Avtoklavda 100°C ga chidamli oziq muhitar (GPA, GPB, fiziologik eritma), qog'ozga o'ralgan shisha idishlar, metall biksga solingan bog'lovchi materiallar, xalatlar sterillanadi. Bundan tashqari ishlatilgan bakteriya kulturalari, idishlar zararsizlantiriladi. Sterillash vaqtı tugashi bilan avtoklav o'chiriladi. Sovuganidan keyin monometr nolni ko'rsatganida bug' chiqaradigan kran ochiladi. Bug' to'liq chiqib ketmagunicha avtoklavning

¹² Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.24.

Sterilizatsiya



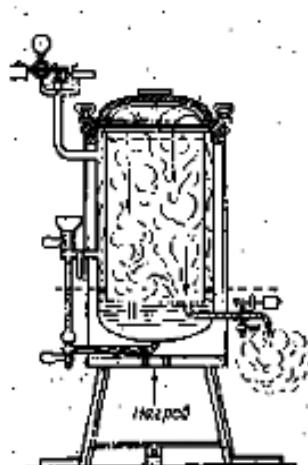
33-rasm. Quritgich shkaflar
1-elektorli yumoloq; 2-paster pechkasi.



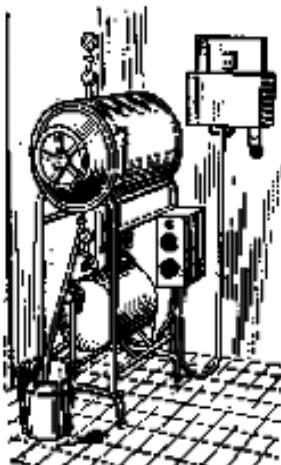
34-rasm. Oquvchi
bug'li Kox apparati.



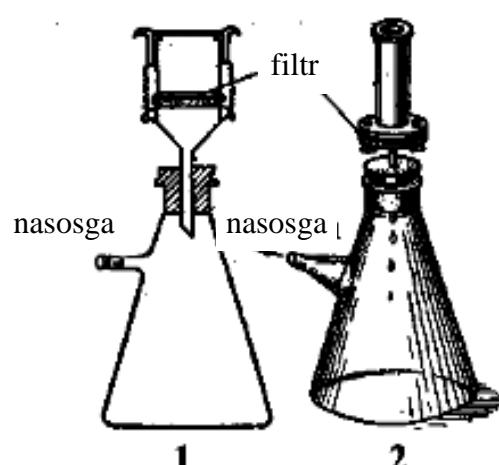
35-rasm. Sterilizator
1-qopqog'i;
2-korpusi;
3-setkasi;
4-setkani ilgich.



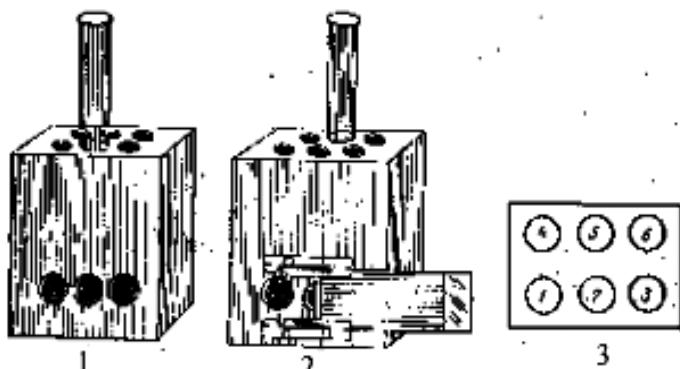
36-rasm. Vertikal
avtoklav sxemasi.



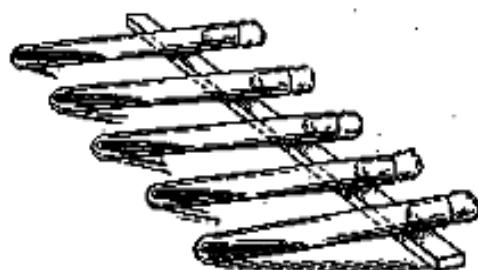
37-rasm. Gorizontal
avtoklav.



38-rasm. Tayyor Zeyts filtrlari:
1-shisha va 2-metall ushlagichlari bilan



39-rasm. Uolpol komporatori:
1-umumiyo ko'rinishi; 2- orqa tomondan ko'rinishi;
3-komporatoria probirkalarni joylashtirish sxemasi.



40-rasm. Agarni qiyalatish

Sterillash usullari

Quruq issiqlik	Nam issiqlik	Fizikaviy	Kimyoiyiv
		Filtrlash va h.k. usullar	
<p>1. Olov yordamida sterillash Flombirlash (bakteriologik ilmoq, pinset va h.k. metall predmetlar)</p> <p>2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar). Quritgich shakflarda sterillash vaqt:</p> <ul style="list-style-type: none"> 160° da - 2 soat 170° da – 1,5 soat 180° da – 1 soat 	<p>1. Qaynatish – sterilizatorda 20-30 min (shpris, igna, pinset, qaychi, skalpel va h.k.)</p> <p>2. Oquvchi bug' bilan bo'lib-bo'lib (100°Cdan yuqori bo'lmagan haroratda). Kox apparati 100°C 30-40 min. 3 kun.</p> <p>a) tindalizatsiya (suv hammonida 100°C dan past haroratda bo'lib-bo'lib sterillash)</p> <p>70-80°C – 3 kun 60-65°C – 5 kun 56-58°C 6-7 kun (kolloid eritmalar, zardob va oqsil saqlovichimoddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kumlari 1 soat sterillanadi.</p> <p>3. Yuqorigi bosim ostida (avtoklavda) sterillash</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,5 atm – 110-112°C 1 atm – 120-121°C 1,5 atm – 124-126°C 2 atm – 132-133°C <p>4. Pasterizatsiya. Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min qizdirib tezda (4-8°C cha) sovutiladi – sut, go'sht, baliq va sabzovot konservalari.</p>	<p>Suyuqliklar quyidagi filtrdan o'tkaziladi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeysts 4) Membranal filtr (ultrafiltrllar) <p>Ultrabinafscha nurlari bilan bakterisid lampalar</p> <p>II. Dezinfeksiya uchun:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1-3% li xloramini 3-5% li fenol 70% li spirit va hokazo <p>Ulrtatovush yordamida (suv, sut, ba'zi teri xomashyosi mahsulotlari)</p>	

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

qopqog‘ini ochish mumkin emas. Chunki bosim tez tushganida avtoklavdagi suyuq muhitlar qaynab ketadi, natijada probipkalarning tiqini suyuqlik bilan birga otiladi.

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

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

Ultratovush bilan sterillash usuli suv, sut, ba’zi mahsulotlar, teri xomashyosini zararsizlantirishda ishlatiladi.

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

Kimyoviy moddalar laboratoriyalarda *dezinfeksiya* uchun ham ishlatiladi: 1-3 % li xloramin, 3-5 % li fenol, 70 % spirt, 3-5-10 % li o‘yuvchi ishqorlar.

Dezinfeksiya sterillashdan farq qilib, unda faqat patogen mikroorganizmlar o‘ldiriladi, sterillashda esa biror buyumdagи barcha mikroblar butunlay o‘ldiriladi.

Antiseptika – kimyoviy dezinfektorlar bilan yara va boshqa ob’yektlardagi mikroblarni o‘ldirishdan iborat. Antiseptiklar (yod, vodorod peroksiidi, kaliy permanganat, brilliant yashili va h.k.).

Aseptika-mikroblarning yaralarga tushushiga qarshi qaratiladi Aseptika yaralar bilan aloqada bo‘ladigan narsalar (asbob, bog’lovchi va tikuvchi materiallar, xirurglarning qo’llari va h.k.) dagi mikroblarni to’liq yo’q qilish bilan amalga oshiriladi.

Aseptika va antiseptika, dezinfeksiya va sterillashda kimyoviy vositalar sifatida kislota, ishqor, oksidlovchilar, xlorli preparatlar, organik birikmalar, og'ir metal tuzlari, gazlar, galogenlar, bo'yoqlar, sirtki faol moddalar, spirtlar hamda boshqa kimyoviy moddalar va ularning aralashmalari ishlatiladi.

Antiseptiklar (grekchadan *anti-* qarshi, *septicos* - chirigan) – odamlar amaliy faoliyatida ishlatiladigan bakterisidlar. Veterinariyada antiseptiklar yaralarga ishlov berish uchun, oziq-ovqat sanoatida – mahsulotlarni buzilishdan saqlash uchun, yog'och inshoatlarni chirishini oldini olish uchun **qo'llaniladi.¹³**

Nazorat savollari:

1. Sterillashning fizikaviy usullarini ayting.
2. Sterillashning kimyoviy usullarini ayting.
3. Sterilizatsiya usullari qanday talablarga javob berishi kerak.
4. Sterilizatsiya qilish usullari va ularga qo'yilgan umumiy talablarni ayting?
5. «Sterillizatsiya», «Dezinfeksiya» tushunchalarining mohiyati va amalda ishlatilishi?
6. Vaksina, davolovchi va diagnostik zardoblar qaysi usulda sterillanadi?
7. Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash) mohiyatini tushuntiring?
8. Filtrlash usulida, Ultrabinafsha nurlari, Ultratovush bilan bilan sterillashning mohiyatini tushuntiring.

Test savollari:

1. Sterillash nima.

- a) oziq muhitlarni buzilishdan saqlash
- b) mikroblarni vegetativ shakllarini yo'q qilish
- c) mikroblarni o'sishdan to'xtatish
- d) mikroblarni vegetativ va sporali shakllarini to'liq yo'q qilish

2. Sterillash qanday talablarga javob berishi kerak.

1. ¹³ Carter. G. R darla J. Wise Essentials of Veterinary Bakteriology And Mycology Sixth Edition 2004 y. p.87.

- a) mikrobni to'liq naslsizlantirish, materialni fizik kimyoviy xususiyatlari saqlanishi kerak
- b) mikrobni ma'lum vaqt o'sishdan to'xtatish, material rangini o'zgartirmasligi kerak
- c) sterillash jarayonida pH o'zgarmasligi, faqat vegetativ shakldagi mikroblar yo'q qilinishi kerak
- d) oziq muhitni ma'lum vaqt buzilmay saqlanishini ta'minlashi kerak

3. Yonuvchi moddalar, suyuqliklar, oziq muhitlar, rezina narsalarini quruq issiqda sterillash mumkinmi.

- a) mumkin
- b) mumkin emas
- c) farqi yo'q
- d) juda kam vaqtida

4. Sterillashning qanday usullari bor.

- a) ultrabinafsha nurlari, yuqori bosim bilan
- b) quruq, nam issiqlik bilan
- c) fizikaviy, kimyoviy
- d) qaynatish, filtrlash, konservasiya qilish

5. Pasterizasiya usulida mahsulot.

- a) 90^0C da 20 daqiqa qizdiriladi
- b) 65^0C da 45 daqiqa
- c) 70^0C da 40 daqiqa
- d) 80^0C da 30 daqiqa

6. Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash uchun jihoz.

- a) avtoklav
- b) quritkich shkaf
- c) Kox apparati
- d) sterilizator

7. Quruq issiqlikda sterillash uchun nimalardan foydalilanildi.

- a) Kox apparati

- b) olov, qurutgich shkaf
- c) avtoklav
- d) fil'trlar

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi sof kulturani ajratishning turli xil usullarini tushuntiradi.

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

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

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

Paster usulida 8-10 probirkaga 9 ml dan GPB olinib, birinchisiga tekshiriladigan namunadan pipetka bilan bir tomchi qo'shib, aralashtiriladi va

undan 0,1 ml ikkinchi va keyingi probirkalarga ketma - ket o'tkazilib aralashtiriladi, oxirgi probirkagacha suyultiriladi. Suyultirish darajasi ortishi bilan mikroblar soni kamayib boradi. Paster oxirgi probirkada bir tur mikrob qoladi deb o'yagan. Lekin ushbu usulda sof kultura ajratish ehtimoli kam. Hozirgi vaqtida Pasterning suyultirish usulidan yordamchi usul sifatida boshqa uslublarni bajarishda foydalaniladi.

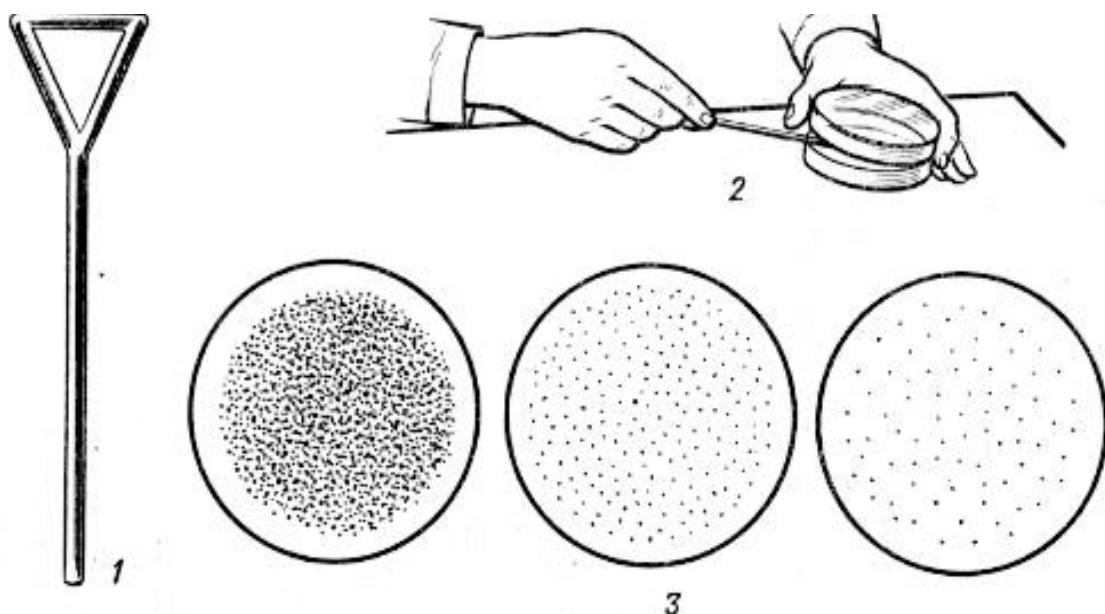
Kox usuli 5-6 probirkada eritilgan va 45-50°C gacha sovutilgan GPA 10-15 mldan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'ncarilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniylar shaklida bizni qiziqtirgan sof kultura o'sib chiqadi. Alohida koloniyadan steril GPB, GPA larga ekiladi. Kox Paster usulidan foydalanib, faqat suyuq muhit o'rniga zich oziq muhitini ishlatgan (42-rasm). Suv, sut, tezak va h.k. materiallarni tekshirishda qo'llanadi.

Drigalskiy usuli 5-6 GPA –li Petri kosachalari olinadi. Birinchi kosachadagi muhit markaziga bir tomchi tekshiriladigan material tomdirib shisha shpatel bilan muhit yuzasiga surtiladi (40-rasm).

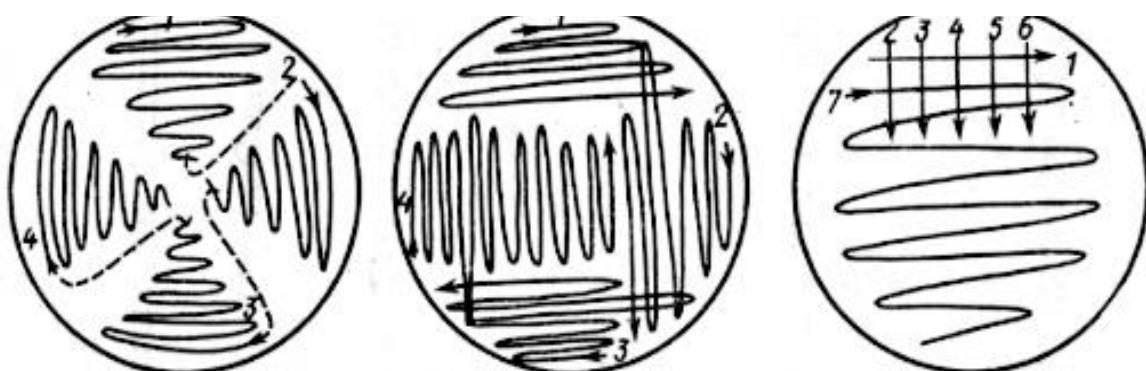
Shpateldagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilib muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi kosachaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniylar o'sib chiqadi, ulardan tanlab steril oziq muhitga qayta ekib sof kultura ajratiladi. Shpatel o'miga bakterial ilmoq ishlatish ham mumkin (41-rasm). Bu holda material zigzag yoki shtrix chiziqlar ko'rinishida ekiladi.

Sof kultura ajratishning boshqa bir usulida bundan farqli ravishda material na'munasi Petri kosachasi yuzasiga maydonning bir joyidan boshlab ilmoq bilan 4 bosqichda zigzag va shtrix chiziqlar ko'rinishida ekiladi. Har bir bosqichda va oxirida ilmoq olovda sterillanadi. Chunki zigzag va shtrix chiziqlar kesishmasida

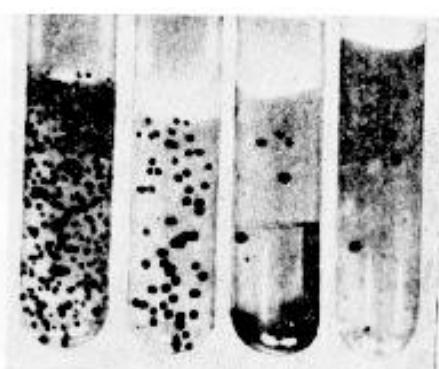
Sof kultura ajratish usullari



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

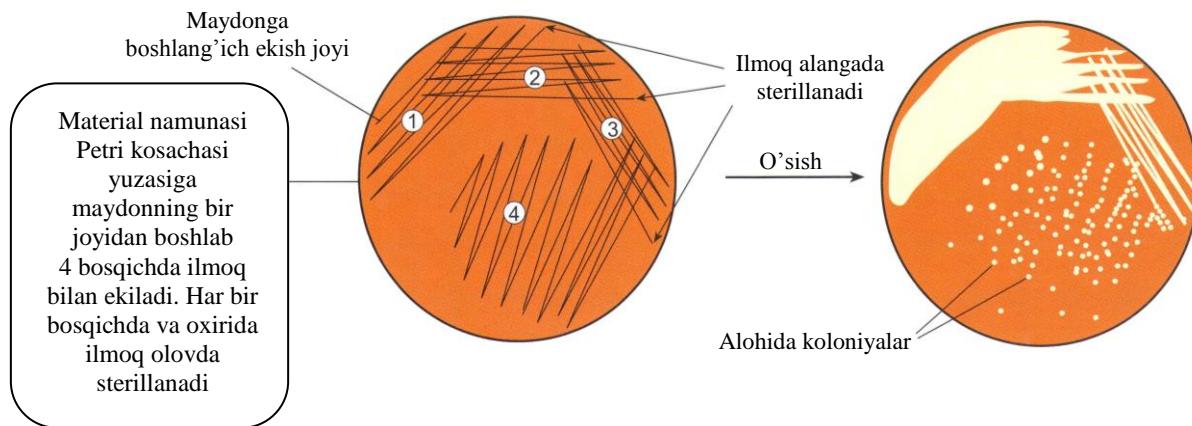


41-rasm. Mikroorganizmlar kulturasini zich oziq muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish:



42-rasm. Suyultirish usulida
olingo anaerob bakteriyalarning
chegaralangan koloniyalari.

har bir bosqichda material miqdori kamayadi hamda steril ilmoqga ilinadi. Natijada oxirgi bosqichda ekmalarda alohida koloniylar osib chiqadi (43-rasm).¹⁴



43-rasm. Petri kosachasida agarga ekib alohida koloniylar ajratish texnikasi.

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

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

Biologik usul – patogen mikroblarning sof kulturasini ajratishda qo‘llaniladi: tekshiriladigan material (to‘qima, bakteriya) suspenziysi bilan moyil laboratoriya hayvonni(oq sichqon, dengiz cho‘chqasi, quyon) zararlantiriladi. Materialda patogen

¹⁴ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.13.

mikrob bo‘lsa hayvon kasallanib o‘ladi. O‘lgan hayvonni yorib, uning ichki organlaridan oziq muhitlarga ekilganda patogen mikrobning sof kulturasini ajraladi.

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

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

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

Vilson-Bler muhitiga ekish usuli – oziq muhitda alohida-alohida qora rangli koloniylar o‘sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekkanda sof kultura ajratiladi.

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

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

Mikroorganizmlarni o‘stirish uchun jihozlar. Termosztatik devorli shkaf, tashqaridan issiqni izolatsiyalovchi material (plastika) bilan qoplangan. Termostatlar suvli yoki quruq-havoli bo‘lishi mumkin. Termostatning ichida bir nechta to‘rsimon tokchasi bo‘lib, unga ekmali shtativlar, probirkalar solingan savatchalar, kolbalar, petri kosachalari, eksikatorlar, mikroanaerostatlar joylanadi.

Harorat termostatda termoregulator yordamida tutib turiladi. Harorat keragidan ortib ketsa, termoregulator isitgichni avtomatik tarzda o‘chiradi, pasayib

ketsa – uni qo’shadi. Termoregulatorlar bimetalli, «yostiqchali» va kontaktli (simobli) bo’lishi mumkin. Zamonaviy termostatlarda odatda *kontaktli termoregulatorlar* ishlataladi – ikki tomoniga platinali simlar kavsharlangan simobli termometr. Anaerob va mikroaerofil bakteriyalarni o’stirish uchun eksikatorlar va anaerostatlar ishlataladi.



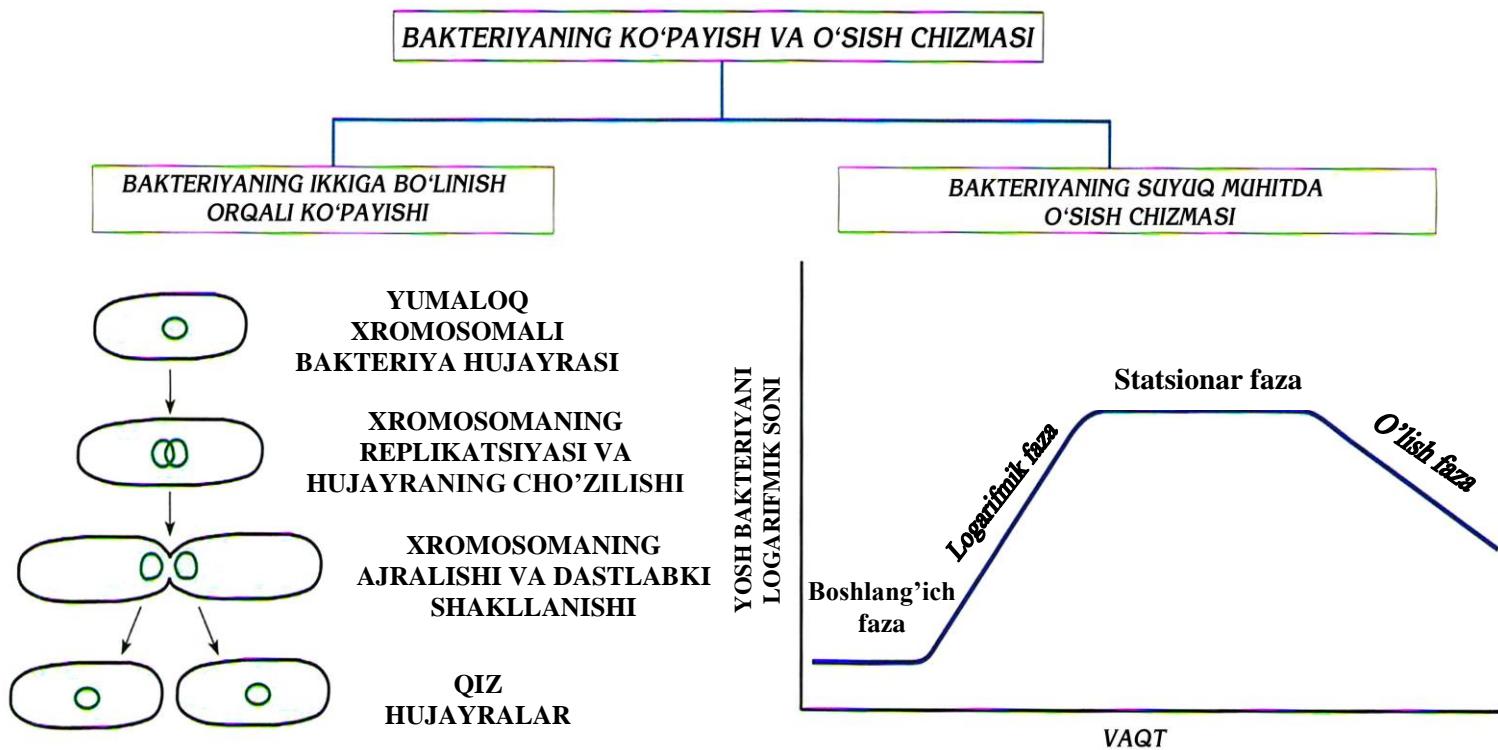
44-rasm. Anaerostatlarda kimyoviy usulda anaerob sharoit yaratish.

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

Anaerostat – germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni (CO_2 , N_2 , O_2 va h.k.) berish uchun jo‘mraklari va vakuum-monometrlari bor. Ekmalarni silindrning ichiga joylashtirib, qopqog‘i yopiladi va nasos yordamida eksikator ichidagi havo chiqariladi. Undagi holatni vakuum-monometr millimetrlar Simob ustunida (0 dan 760 gacha) ko‘rsatadi. Anaerostat ekmalar bilan termostatga qo‘yiladi (41-rasm).¹⁵

¹⁵ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.193.

Bakteriyanng o'sishi va ko'payishi. Prokariot hujayralarning o'sishi deganda ular tarkib topgan barcha kimyoviy komponentlari miqdorining mos ravishda ortishi tushuniladi. Bunda hujayraning massasi va o'lchamlari kattlashadi.



45-rasm. Oziq muhitlarda bakteriya kulturasining o'sish fazalari.¹⁶

Ammo, hujayraning o'sishi cheksiz emas. O'lchami ma'lum kattalikka yetganda hujayra bo'linib boshlaydi. Aksariyat prokariotlar uchun teng binar ko'ndalang bo'linish natijasida ikkita bir xil qiz hujayralarning hosil bo'lishi xarakterli. Bunday bo'linish usulida uzunasiga va ko'ndalang o'qqa nisbatan simmetriya kuzatiladi. Binar bo'linishning boshqa varianti kurtaklanish hisoblanadi. Bakteriyalarning juda ko'p bo'linish yo'li bilan ko'payishi ham ifoda etilgan. U xromasomaning oldindan replikasiyalanishi va vegetativ hujayra o'lchamlarining kattalashishi bilan boshlanadi, keyin ona hujayra devorining qo'shimcha fibrillyar qavati ichida qatorasiga tezda ketma-ket binar bo'linadi. Oziq muhitda kulturaning o'sishi bir nechta fazalarda kechadi (45-rasm).

¹⁶ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

Mikroblarni ekish texnikasi. Sut, yog‘, somon, silos, suv, yiring, o‘lgan hayvonlar to‘qimalaridan bakteriyali kulturalarini olish uchun steril oziq muhitlarga ekiladi. Albatta ekish vaqtida tashqaridan bakteriya tushishiga yo‘l qo‘ymaslik uchun bu jarayon yonib turgan gaz yoki spirt lampasi alangasi yaqinida bajariladi. Ekish ilmoq yoki paster pipetkalari bilan olib boriladi.

Ekishdan avval maxsus moyqalam bilan probirkaga (kolba yoki Petri kosachasiga) ekspertiza raqami, mikroorganizm nomi va ekish sanasi yoziladi. Mikroorganizmlar zich oziq muhitda o‘stirilgan bo‘lsa, ekish yoki preparat tayyorlash uchun bakteriologik material bakteriologik ilmoq yoki igna bilan olinadi; suyuq oziq muhitdan hujayralarni olish uchun esa steril pipetkalar ishlatiladi. Bakteriologik ilmoq ingichka platinali simdan yasalgan, diametri 1,5 – 3 mm bo‘lib, metall tutqichga mahkamlanadi. Bakteriologik ilmoq (igna) mikroorganizm hujayralarini olishdan oldin sterillanadi. Buning uchun sim tutgich bilan tutashgan joyigacha yonib turgan gaz yoki spirt lampasi alangasida qizargunicha qizdiriladi. Bunda bir tekis sterillanishi uchun ilmoq alangada vertikal holatda tutib turiladi, keyin tezda mikroorganizmlar bor idishga solinadi. Mikroorganizmlar hujayrasini shikastlamaslik uchun, ilmoq (igna) idishning ichki yuzasiga yoki oziq muhitning mikrob o‘smagan joyiga tegdirib sovutiladi va shundan keyingina kamroq miqdorda mikrob massasi **olinadi**.¹⁷

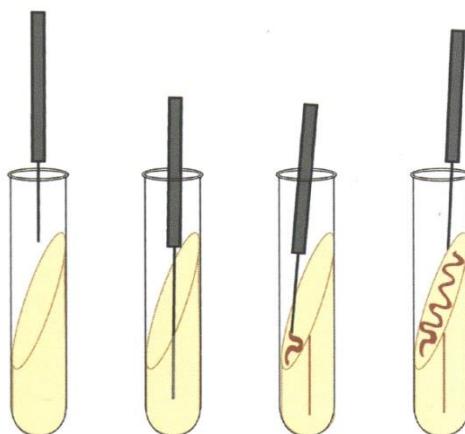
Probirkada zich oziq muhitda o‘stirilgan mikroorganizmlar hujayralari quyidagicha olinadi: kulturali probirka chap qo‘lda ushlanadi, oziq muhitning mikroorganizmlar o‘sgan yuzasi yuqoriga qaragan bo‘lishi va yaxshi ko‘rinishi kerak. Probirka gorizontal yoki sal qiya ushlanadi. O‘ng qo‘lda ilmoq qalamdek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

¹⁷ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.c.56-57.

olinadi va ilmoq probirkadan chiqariladi. Probirkaning chetlari yana gorelka alangasida qizdiriladi, keyin paxta-dokali tiqinning ichkariga kirdigan tomoni ham alangadan o'tkazib olinadi va probirka yopilib shtativga qo'yiladi.

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

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



46-rasm. Zich oziq muhitga ekish usuli.¹⁸

Mikroorganizm hujayralarini bir muhitdan ikkinchisiga ekish, qayta ekish uchun chap qo'lga ikkita probirka – birida oziq muhit bor (o'zingizdan uzoqda),

1. ¹⁸ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y.

ikkinchisida – mikroorganizmlar kulturasi bor (o‘zingizga yaqin), o‘ng qo‘lga bakteriologik ilmoq olinadi. Ilmoq gorelka alangasida sterillanadi, keyin ikkala probirka tiqinlarini o‘ng qo‘lning kichik va nomsiz barmoqlari bilan kaftga bosib, probirkalar ochiladi. Bakteriologik ilmoq bilan mikroorganizmlar hujayralari ilib olinadi va ilmoq qiyalatilgan steril oziq muhitga deyarli probirka tubigacha olib boriladi; ilmoq yuqoriga zigzag yoki to‘g‘ri (shtrix) chiziqli harakatlar bilan yurgizib olinadi. Igna bilan ekish ham xuddi shunday olib boriladi, faqat igna oziq muhitga tik yuboriladi (46-rasm).

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

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

S u y u q o z i q m u h i t l a r g a (sut, GPB) ekkanda chap qo‘lda probirka surtmali preparatlarni tayyorlagandagidek ushlanadi; o‘ng qo‘lga ekiladigan materiali bor ilmoq (yoki pipetka) va probirkalar tiqinlari olinadi. Gorelka alangasi yonida material tomchisi olingan ilmoq (yoki pipetka) probirkadagi steril muhitga yengilgina botirib olinadi. Probirkani tiqini bilan yopib, ilmoq olovda kuydiriladi, paster pipetkasi esa dezinfeksiyalovchi eritma (karbol kislota, lizol, farmalin)ga solinadi. Ishlash jarayonida suyuqlik probirka tiqiniga tegmasligi va to‘kilmasligi kerak. Tayyor ekilgan oziq muhitlar termostatga qo‘yiladi.

Z i c h o z i q m u h i t g a ekkanda qayta ekiladigan kulturali va steril oziq muhitli (GPA) probirkalar chap qo‘lda (agarning qiya yuzasi yuqorida) tiqinlari gorelka alangasi tomonga qaratib qiya ushlanadi. Gorelka alangasi yonida ochilgan kulturali yoki boshqa materialli probirkaga ehtiyyotlik bilan ilmoq kiritiladi va yengilgina tekshirilayotgan materialga tegdirib, kamroq miqdorda (bir tomchi) olinadi hamda steril oziq muhitli probirkaga o‘tkaziladi. Ilmoqni probirka

tubiga yetkazib, kondensat suyuqligiga botiriladi va zigzag harakatlar bilan qiya agarning yuzasidan yuqorigacha surtib boriladi. Zich muhitga tik ekkanda probirka gorizontal ushlanadi. Ekmalar (probirkalar) termostatga o'stirishga qo'yiladi. 16-18, 24-48 soatdan keyin natija hisobga olinadi va bakteriyalarning kultural xususiyatlari o'rganiladi.

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

Zich oziq muhitlarda kultural xususiyatlar o'sayotgan koloniya xarakteriga qarab aniqlanadi. Muhit yuziga ko'p miqdorda bakteriya hujayralari ekilsa, mikrob yoyilib o'sadi. Oziq muhitning keng yuzasiga kamroq hujayra ekilsa, har bir bakteriya hujayrasi bo'linib ko'payishi hisobiga alohida koloniya shakllanadi. Kolonianing diametriga bog'liq ravishda ular katta, kichik, shudringsimon bo'lishi mumkin. Ko'pchilik bakteriyalar, aktinomitsetlar, mog'or zamburug'lari turlarining koloniyalari har xil oziq muhitlarda o'sganda har xil rangga bo'yalishi mumkin. Bu ularning bo'yovchi moddalar – pigment hosil qilishi bilan ifodalanadi. Agar pigment eruvchan bo'lsa, muhit to'liq bo'yaladi, erimaydigan bo'lsa, faqat koloniya bo'yaladi. Har xil mikroorganizmlar turlari uchun aniq rangli – tilla rang, ko'k-yashil, oq, sariq, qizil va h.k.pigment hosil qilishi xarakterlidir. Pigment hosil bo'lish zich oziq muhitlarda yaxshi namoyon bo'ladi. Bunda harorat ham ahamiyatga ega; ko'pchilik turlar uchun 25-30°C optimum hisoblanadi. Havo kislorodi va yorug'lik nurlari ham ma'lum darajada ta'sir etadi.

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

Nazorat savollari:

- 1.Sof kulturaga tushuncha bering.
2. Sof kultura ajratishning qanday usullari bor.
- 3.Kox, Drigalskiy usullarining farqi.
- 4.Kimyoviy, fizikaviy va biologik usullarini ta'riflang.
- 5.Anaeroblarning sof kulturasini ajratish usullarini ta'riflang.
6. Sof kultura ajatishda Paster va Kox usullarining farqini ayting.
7. Harakatchan bakteriyalarning sof kulturasi qaysi usulda ajratiladi?
8. Biologik usul qanday mikroblarning sof kulturasini ajratishda ishlatiladi?

Test savollari:

1. Sof kultura ajratishni Paster va Kox usullarining farqi.

- a) suyultirish darajasida
- b) haroratida
- c) oziq muhitida
- d) kultura miqdorida

2. Sof kultura nima.

- a) bir xil patmaterialdan ajratilgan kulturalar
- b) kultural xususiyatlari o'xshash mikroblar
- c) morfologik o'xshash mikroblar
- d) mikroblar aralashmasidan ajratib olingan bir turga mansub mikrob

3. Sof kultura ajratish usullari qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan.

- a) Paster, Kox, Drigalskiy, kimyoviy, biologik, Shukevich usuli
- b) Paster, Olt, Drigalskiy, Saburo, Kox
- c) Rebiger, Kox, Muromsev, fizikaviy, biologik
- d) Kimyoviy, Drigalskiy, Auyski, Kozlovskiy

4. Anaeroblarni sof kulturasini ajratish usulini aeroblardan farqi.

- a) farq qilmaydi
- b) maxsus sharoit va oziq muhitlar ishlatiladi
- c) aniq haroratda ishlov beriladi
- d) muhit rangi o'zgaradi

5. Sof kultura ajratishning fizikaviy usulida material suspenziyasini qizdirish ko'rsatkichi qaysi bandda to'g'ri berilgan.

- a) 65^0C da 1 soat
- b) 90^0 C da 20 daqiqa
- c) 80^0 C da 30-40 daqiqa
- d) 56^0 C da 20 daqiqa

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

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

Material va jihozlar: har 2-3 talabaga: GPB va GPA –da o'sgan mikrob kulturalari. Probirkalarda toza GPB va GPA, GPJ, Petri kosa-chalarida Levin, Endo, qonli agar, indikator qog'ozlar – vodorod sulfid, indol, ammiakni aniqlash uchun. Tegishli jadvallar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

3.Kultural xususiyatlari (oziq muhitlarda o‘sishi)

4.Biokimyoviy xususiyatlari (saxarolitik, gemolitik, proteolitik)

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

6.Patogenligi (laboratoriya hayvonlarini zararlab).

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

Olingan ma’lumotlar maxsus qo‘llanma Bergining (1984-yil) «Bakteriyalarni aniqlagich»idan foydalaniib mikrob turi aniqlanadi. Mikroorganizmlarni identifikatsiyalashda faqat yosh (16 – 18 – 24 – 48 soat) bakteriya kulturalari ishlatiladi, chunki yoshi o‘tishi bilan ularning xususiyatlari o‘zgarishi mumkin. Zich oziq muhit yuzasida bakteriyalar o‘ziga xos koloniylar hosil qiladi.

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

Suyuq oziq muhitda o‘sgan mikroorganizmlarning xususiyatlari:

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

Mikroblar probirka devoriga yopishib rivojlanishi mumkin.

Mikroorganizmlar ba’zan bir nechta xususiyatlarni namoyon qiladi.

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

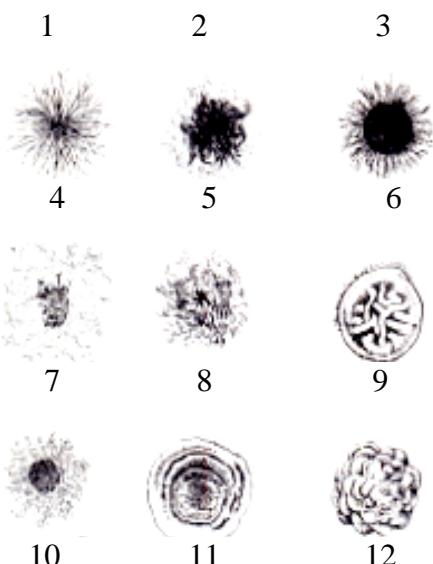
Zich oziq muhitida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari. Koloniylar alohida chegaralangan va qo'shilib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanadi – ko'p, o'rtacha, kam. Keyin koloniylar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. 1. *Shakli* – to'g'ri (oval, yumaloq), noto'g'ri (ildiz-simon, yulduzsimon, amyobasimon, shoxlangan va h.k. (47-rasm) .2. *O'lchami* diametrda ifodalanadi: yirik koloniylar - 4 mm dan ortiq, o'rtachasi 2 - 4 mm, maydasi 1 – 2 mm va yanada mayda shudringsimonlari – 1mm gaha bo'ladi. 3. *Chetlari* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'lqinsimon, popukli, arratishli, jingalak (49-rasm). 4. *Tiniqligi* va *yaltirashi* (tushayotgan yorug'likda ko'rilibadi) - tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltiroq, fluoressensiyalovchi koloniya. 5. *Rangi* – kulrang-oq, rangsiz, oq, qora, sariq, qizil, ko'k, tillarang, yashil va boshqa rangli. Hosil qilgan pigmentining rangiga bog'liq. 6. *Yonidan ko'rinishi* o'stirilgan) kulturalar ishlataladi, chunki eskilarining kultural xususiyatlari (*relefi*) – bo'rtiq, yassi, konussimon, tekis, markazi botiq va h.k. (48-rasm). 7. *Yuzasi* – silliq, g'adir-budir, unsimon, ajinsimon, qavat-qavat. 8. *Konsistensiyasi* – zich, ushoq-simon, quruq, yarim suyuq, xamirsimon, shilimshiq, kukunsimon, yog'li. 9. *Tuzilishi* – bir xil, sertola, donador, pardali (50-rasm). 10. *Hidi* – yo'q, bor (nimani eslatadi?).

Biokimoviy xususiyatlar.

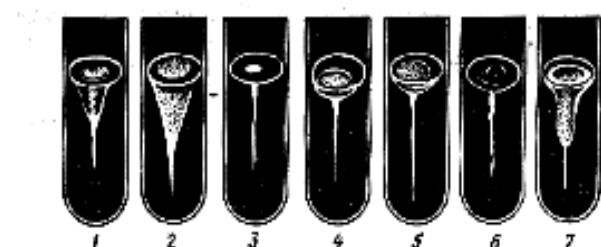
Bakteriyalarning biokimoviy xususiyatlarini o'rganish infektion kasallik qo'zg'atuvchilarini aniqlashda muhim differensial diagnostik usul hisoblanadi.

Bakterianing saxarolitik xususiyatlari ularni tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlari bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning

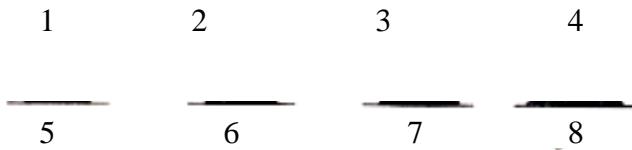
Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o‘rganish



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

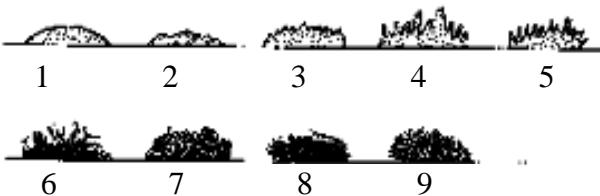


**51-rasm. Jelatina erishining
 har xil shakllari.**



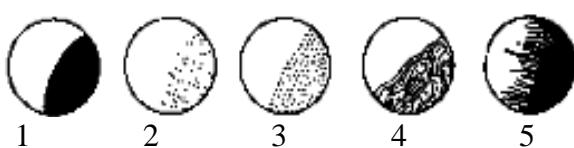
**48-rasm. Koloniyaning yon tomonidan
 ko‘rinishi (profile):**

1-egilgan; 2-kratersimon; 3-g‘adir-
 budir; 4-substratga o‘sib kirgan; 5-te-
 kis; 6-bo‘rtiq; 7-tomchisimon; 8-konus-
 simon.

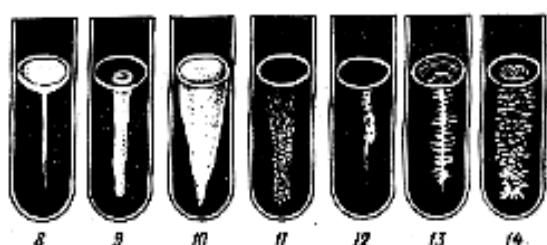


49-rasm. Koloniyaning chetlari:

1-silliq; 2-to‘lqinsimon; 3-tishchali;
 4-parrakli; 5-notekis; 6-kipriksimon;
 7-ipsimon; 8-tukchali; 9-shoxlangan.



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



**52-rasm. Naychada
 gaz to‘planishi:**
 1-gaz hosil bo‘lgan;
 2-gaz hosil bo‘lmagan.



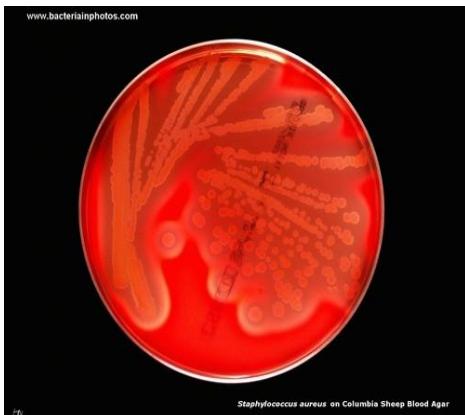
uchun kultura Gissa oziq muhit (tarkibida –glukoza, laktoza, maltoza, saxaroza, mannit, dulsit, arabinoza, sorbit va h.k. bo‘ladi) steril yog‘sizlantirilgan sut, lakkusli sut, metilen ko‘ki qo‘shilgan sutlarga ekiladi. Termostatda o‘stirib, uglevodlarni fermentatsiya qilish natijasi hisobga olinadi. Muhit rangi qizaradi – uglevod parchalanib kislota va gaz hosil bo‘ladi (52-rasm). Bu maqsadda uglevod va indikatorlar qo‘shilgan yarim suyultirilgan agar, shuningdek, Endo, Levin, Ploskirev zinch oziq muhitlari ishlatiladi.

Proteolitik xususiyatlarni ko‘pincha GPJ ga kulturani tik ekib o‘rganiladi. Bakteriya fermentlari ta’sirida jelatina proteolizga uchrab, muhitda erish (suyulish) paydo bo‘ladi. Har xil turdagи mikrob jelatinani eritishi har xil bo‘ladi. Ba’zisi voronka, ba’zisi xaltachadek, paypoqsimon va h.k. (51-rasm). Bakteriyalar oqsilni parchalashining oxirgi mahsulotlari (indol, vodorod sulfid, ammiak va h.k.) hosil bo‘lishiga qarab aniqlanadi. Bunda maxsus tayyorlangan lakkus qog‘ozlardan foydalilaniladi. Qo‘rg‘oshin asetat eritmasi shimdirligian qogoz vodorod sulfid ta’sirida qorayadi, ammiak ta’sirida pushti rangli lakkus qog‘oz zangori, indol ta’sirida esa sariq indikator qog‘oz pushti rangga kiradi.

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

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

S. aureus β-emolitico



53-rasm. Eritrotsitlar lizisiga uchrab *S. aureus* koloniya atrofida tiniq gemoliz paydo bo‘lgan

Gemolitik xususiyatlar. Ba’zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, eritrotsitlarni lizisiga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar – gemotoksinlar hosil qiladi. U eritrotsit qobig‘ini parchalaydi. Bakteriyalarning gemolitik xususiyatini aniqlash uchun kultura 5 % fibrinsizlangan qon aralashtirilgan go‘sht - peptonli agarga ekiladi (qonli agar). Agar gemolitik xususiyati bor bo‘lsa, eritrotsitlar lizisiga uchrab koloniya atrofida tiniq gemoliz paydo bo‘ladi (53-rasm).

Nazorat savollari:

1. Mikroblarning kultural xususiyatlari?
2. Identifikatsiyalashda mikroorganizmlarni qanday xususiyatlari o‘rganiladi.
3. Bakteriyalarning saxarolitik xususiyatlari qanday aniqlanadi?
4. Proteolitik xususiyatlarning mohiyati nimadan iborat?
5. Gemolitik xususiyatlar qanday o‘rganiladi?
6. Katalazani aniqlash usullarini tushuntiring.
7. Mikrobning proteolitik xususiyatlari qanday o‘rganiladi?
8. Koloniya nima?

Test savollari:

1. Kultura nima

- a) o’simliklar bargidan ajratilgan mikrob
- b) bakteriyalar aralashmasi
- c) hayvonlar organizmida uchraydigan bakteriyalar to’plami

d) hayvon, o'simlik, tashqi muhit substratlaridan oziqa muhitlarda o'stirilgan mikroorganizmlar

2. Koloniya nima

a) bir tur bakteriya hujayrasi ko'payishidan hosil bo'lган mikroblar to'plami

b) mikroblar aralashmasi

c) o'sishdan to'xtagan mikroblar to'plami

d) bir necha xil patmaterialdan ajratilgan mikroblar

3. Mikroorganizmlarni identifikasiyalashda qanday kulturalar ishlataladi.

a) 4-5 kunlik

b) yosh (16-48 soatlik)

c) 4-5 soatlik

d) qari (8-10 kunlik)

4. Bakteriyalarning saxarolitik xususiyatlari qanday o'r ganiladi.

a) oddiy oziq muhit tarkibidagi uglevodlar miqdoriga qarab

b) oddiy oziq muhitlarda o'sishiga qarab

c) tarkibida har xil ugtvodlar, indekatorlar bor differensial diagnostik muhitlarga ekib

d) suyuq va zich oziq muhitlarda o'sish muddatini uzaytirib

5. Katalazani aniqlashda qaysi reaktiv ishlataladi.

a) har xil foizdagi sul'fat kislota eritmasi

b) har xil foizdagi yod eritmasi

c) har xil foizdagi xlorid kislota eritmasi

d) har xil foizdagi vodorod peroksid eritmasi

6. Bakteriyaning proteolitik xususiyatlari qanday o'r ganiladi.

a) GPJ ga kulturani tik ekib

b) suyuq oziq muhitga ekib

c) vodorod peroksid qo'shib

d) eritrositlarni kulturaga aralashtirib

7. Gemolitik xususiyatli kultura

a) gemokulturani o'ldiradi

- b) gemotoksinlar hosil qilib, eritrositlarni lizisga uchratadi
- c) eritrosit qobig'ini parchalamaydi bujmaytiradi
- d) qonning barcha shaklli elementlarini parchalaydi

10 - m a v z u. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash

Mashg'ulotning maqsadi: antibiotikning faolligini, bakteriyalarning ularga sezgirligini va chidamlilagini aniqlash usullarini o'rGANISH.

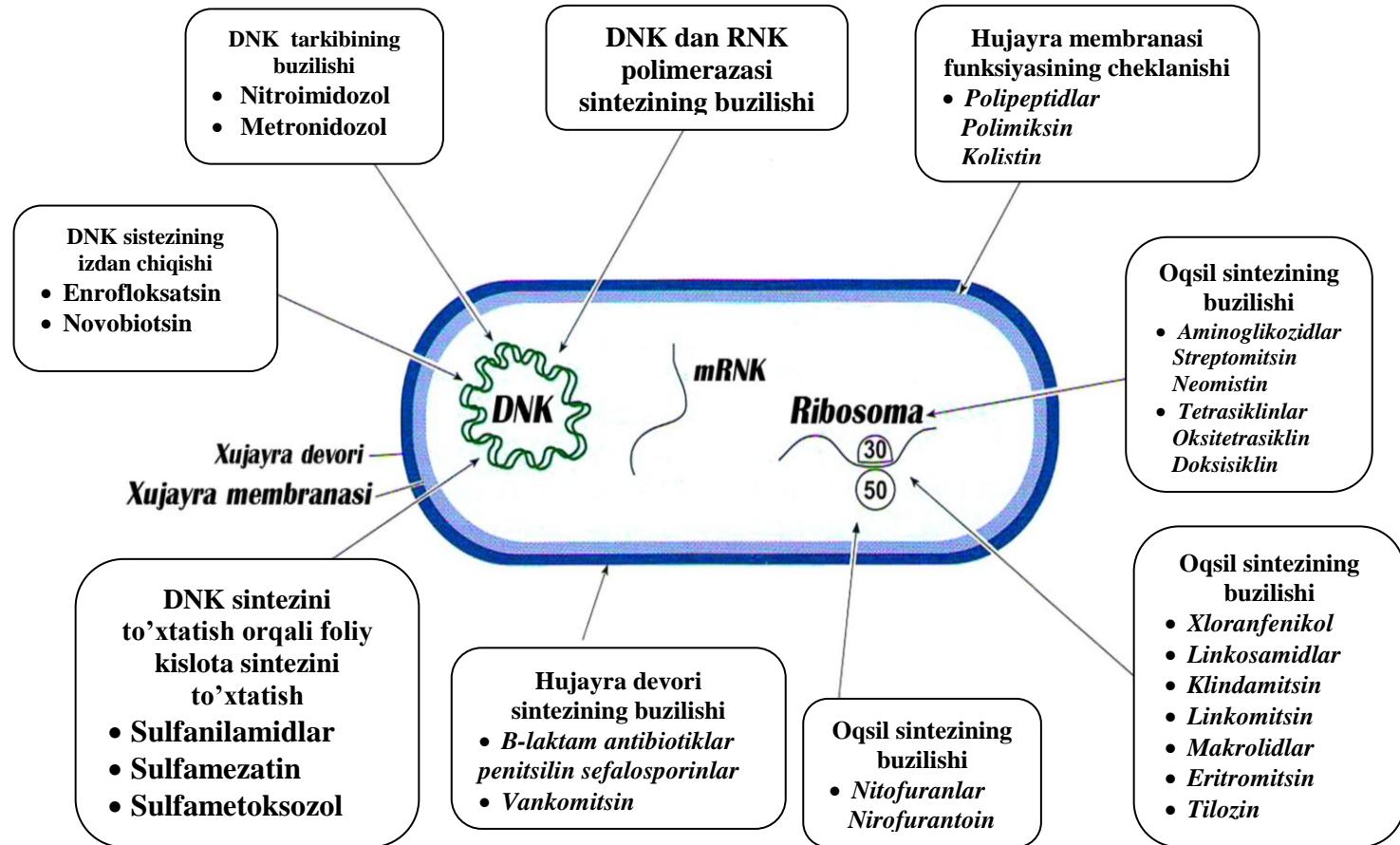
Material va jihozlar: har 2-3 talabaga GPA quyilgan ikkita Petri kosachasi, darajali 2 ml pipetka, mikrob kulturasi (stafilokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimidirilgan qog'oz diskli flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik disklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli jadvallar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Antibiotiklar – bakteriyalardan (gramisidin, polimiksin, tirotrisin, subtilin va h.k.), aktinomitsetlar (streptomitsin, neomitsin, tetrasiklin, eritromitsin va h.k.), mog'or va lishayniklar (penitsillin, grizeofulvin va h.k.), hayvonlar (lizosim, eritrin, ekmolin va h.k.) va o'simliklardan (allisin, fitoaleksin, aloe, piyoz va sarimsoq fitonsidlari va h.k.) olinadi. Bu ularning hayot faoliyatida hosil bo'lgan mahsulotlar. Davolash amaliyotida antibiotiklar ta'sir etish spektoriga qarab farqlanadi: mikroorganizmlarning alohida bir guruhi (masalan, grammusbat yoki grammanfiylariga) ta'sir etuvchi yoki har xil guruh mikroblarga ta'sir etuvchi.

Antibakterial preparatlar hugayraning tarkibiy qismlariga tanlab ta'sir etadi va bakteriyaga turlicha shikast yetkazadi. Ba'zilari hujayra DNK, RNK siga, ribosoma, hujayra devoriga ta'sir etsa, boshqalari oqsil sintezi va h.k larga salbiy ta'sir etadi (54-rasm).



54- rasm. Antibakterial preparatlarning hugayraga ta'siri.¹⁹

Antibiotiklar sanoat asosida kaliy, natriy, kalsiyli tuzlari ko‘rinishida tayyorlanadi va maxsus upakovkalarda chiqariladi. Hamma vaqt preparatni chiqarishdan avval uning faolligi aniqlanadi

Antibiotiklar ma’lum mikroblar guruhiba antimikroblı ta’sir etib, ularni rivojlanishdan to’xtatadi yoki o’ldiradi.

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

Antibiotikning ta’sir birligi (TB) deb ma’lum hajmdagi oziq muhitda unga sezgir standart test mikrobni o’ldiradigan eng kam miqdoriga aytildi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda o’ziga xos test mikrob ishlatalidi: penitsillin uchun – tillarang stafilokokk 209-R, streptomitsin va tetrasiklin uchun – *Bac.*

¹⁹ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.18.

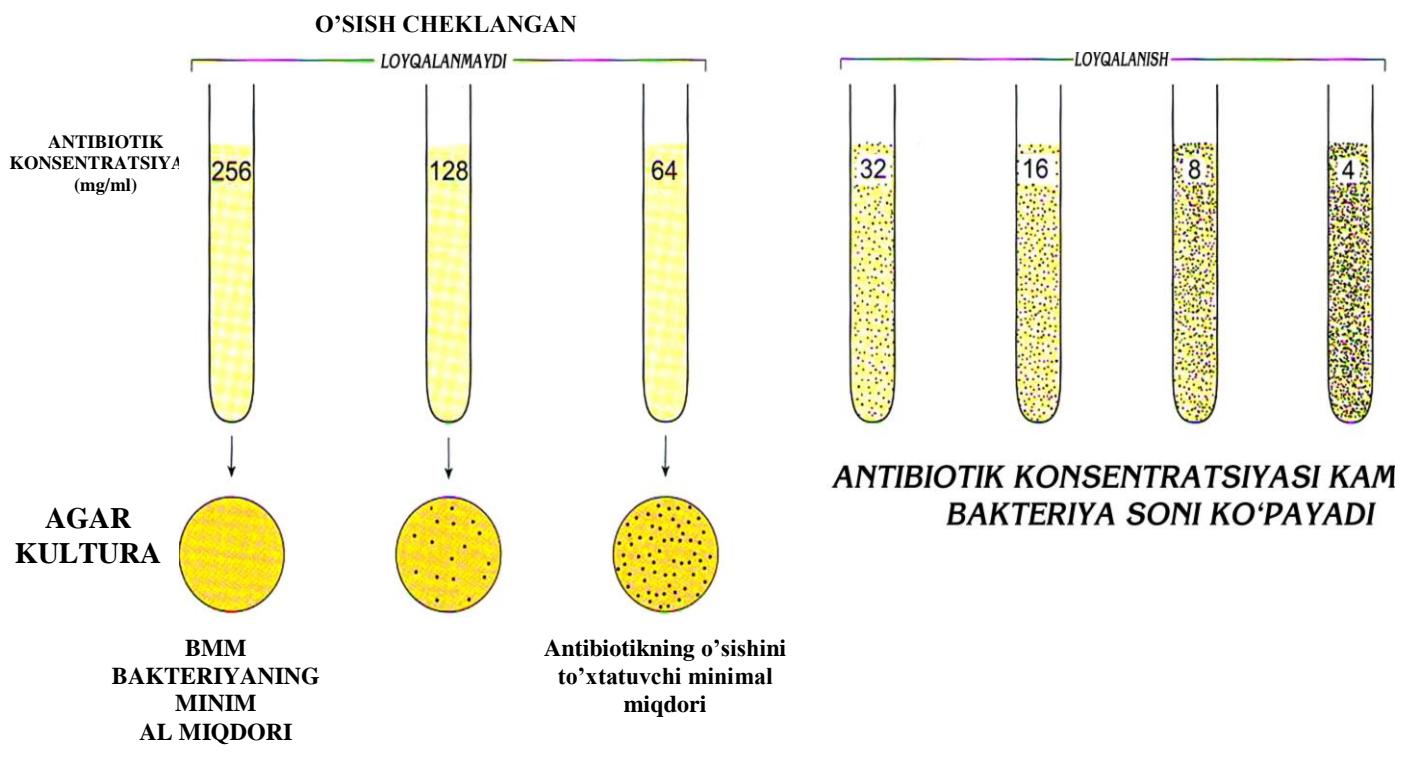
Subtilis, biomitsin, levomitsetin uchun – *E.coli*. Antibiotiklarning biologik faol ta'sir birligi bir xil emas: penitsillining 1 TB - 0,6 mkg, streptomitsin – 1 mkg, neomitsin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birlik (XTB) deyiladi.

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

1. Suyuq yoki zich oziq muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish.
2. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirligida qog'oz disklar) usuli.

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

Asosiy eritma 1ml distillangan suvgaga 1000 mkg (TB) antibiotik hisobidan tayyorlanadi. Undan esa tajriba oldidan GPBda suyultirib ishchi eritmalar tayyorlanadi. Albatta mikroorganizmlarning taxminiy sezgirligi inobatga olinadi. Agar u 0,01 – 0,1 mkg/ml bo'lsa, antibiotikning kerakli miqdorini olish uchun probirkaga va kolbada faolligi 0,5 mkg/ml bo'lgan steril ishchi eritma tayyorlanadi. Qatordagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisiga kolbadagi miqdori 0,5 mkg/ml bo'lgan antibiotikning ishchi eritmasidan 2 ml quyib, aralashtiriladi. Undan keyingi probirkaga 2ml dan ketma-ket o'tkazib birin-ketin suyultiriladi. Natijada birinchi probirkadagi oziq muhitda antibiotik miqdori 0,25 mkg, ikkinchisida – 0,12 mkg, keyingsida – 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 mkg bo'ladi. Zich oziq muhitda aniqlash uchun 6 ta probirkada antibiotik bir qator suyultiriladi: 400, 200, 100, 50, 25 va 12,5 mkg /ml. Har bir probirkadan 1 ml steril Petri kosachasiga



55-rasm. Suyuq oziq muhitda antibiotikni bir qator suyultirish usulida

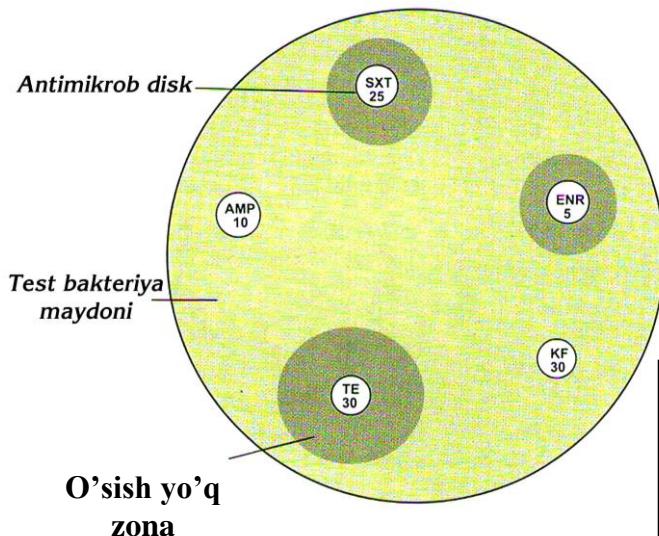
bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdorini aniqlash.²⁰

quyib, ustidan 19 ml dan (55°C) eritilgan GPA qo'shiladi va sekin chayqatib aralashtiriladi. Natijada Petri kosachalarida antibiotikning miqdori 20 marta kamayadi: 20,10, 5, 2,5, 1,25 va 0,6 mkg. Muhit qotguncha stolda turadi. Antibiotik suyultirilgan oziq muhitli probirkalarga yoki Petri kosachalariga 16-18 soat o'stirilgan aniq konsentratsiyali (10000 mikrob/ml) mikrob kulturasi 0,2 ml dan ekiladi. So'ng probirkalarning 1 ml da 1000 ta mikrob bo'ladi. Termostatda 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdorini, yonidagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdoriga qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakteriostatik miqdorini ko'rsatadi. Demak, antibiotikni suyultirish usulida bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdori aniqlanadi (55-rasm).

²⁰ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.20.

2- usul – laboratoriya amaliyotida ko‘pincha agarga diffuzlash usuli qo‘llaniladi. U perpendikular shtrixlar, agarli qoliplar, standart antibiotiklar



Ajratilgan bakteriyalar agar yuzasida bir xil tarqaldi, antimikrob disklarni qo‘ygach 37°C da 18 soat qoldiriladi.
O’sish yo’q zonalarning diametri o’lchanadi va bakteriya sezuvchanligini aniqlash uchun o’lchamlar taqqoslanib baholanadi

Disc code: ARM, ampicillin; SXT, trimethoprim-sulphamethoxazole; ENR, enrofloxacin; KF, cephalothin; TE, tetracycline
Diskdagi raqamlar diskdagi dori miqdorini (mg) ko’rsatadi

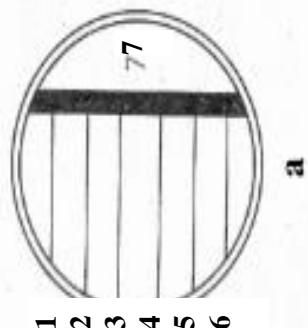
56-rasm. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qog‘oz disklar) usulida kulturaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.²¹

shimdirilgan qog‘oz disklar usullarida bajariladi (56-57-58-rasm). Antibiotikli standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalariga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so‘ng, 1 ml 1 milliardli tekshiriladigan mikrob kulturasi muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. Ortiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalar 37°C da 15 - 40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog‘oz disklarni steril pinset bilan kosachalar chetidan va bir-biridan 2 sm masofada o‘rnatib, ustidan sekin bosiladi. Kosachaning markaziga ham bir dona disk o‘rnatiladi. Har bir diskni o‘rnatgandan keyin pinsetni alangada sterillash lozim. Kosachalar uy haroratida 2-3 soat, keyin 16-18 soat termostatda saqlanib, natijasi diskka qo‘sib aniqlanadi: uning atrofida mikroblar o‘smagan hududning diametri lineyka bilan o’lchanib, mm larda ifodalanadi (59-rasm).

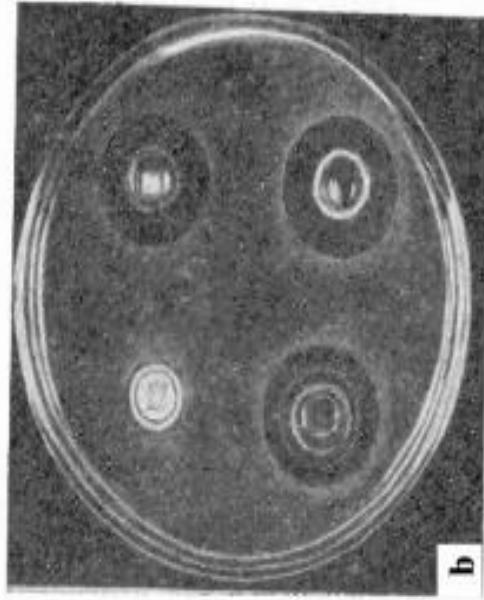
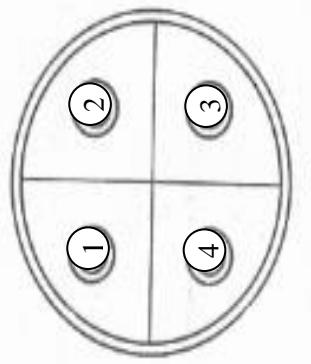
²¹ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.20.

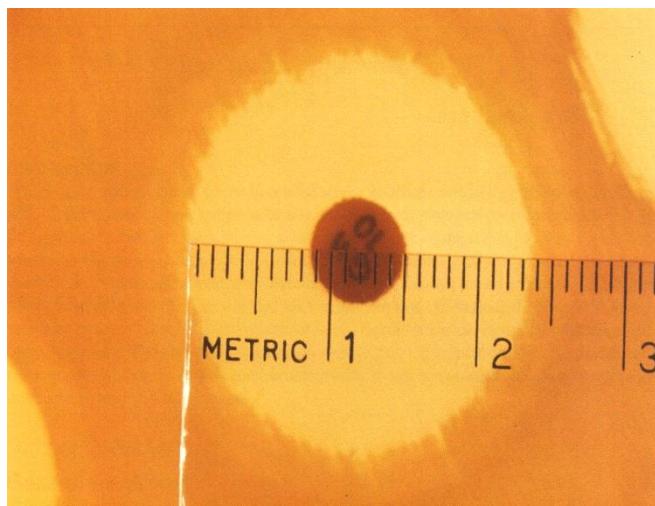
Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash



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



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



59-rasm. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash natijasini baholash.²²

Natija quyidagicha baholanadi: o'smagan hududning diametri 15 mm gacha bo'lsa mikrob antibiotikka kam sezuvchan; 15-25 mm sezuvchan; o'smagan hudud bo'lmasa sezuvchan emas. O'smagan hudud diametri qancha katta bo'lsa, bakterianing ushbu antibiotikka sezuvchanligi shuncha yuqori bo'ladi.

Nazorat savollari:

1. Antibiotiklar nima?
2. Antibiotiklar bakteriyalarga qanday ta'sir qiladi?
3. Antibiotiklarning ta'sir birligi deb nimaga aytildi?
4. Agarga diffuzlash usulini ta'riflang.
5. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlashning usullarini aytинг.
6. Suyuq yoki zich oziq muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish usuli.
7. Suyuq yoki zich oziq muhitlarda antibiotiklarni bir qator suyultirish usuli qanday bajariladi?
8. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash natijasi qanday baholanadi?

²²Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.201.

Test savollari:

1. Antibiotik nima.

- a) hayvonlar organizmidagi mikroblarni o'ldiruvchi vosita
- b) makro – mikroelementlar to'plami
- c) bakteriya, aktinomiset, mog'or, lishaynik, hayvonlar va o'simliklar hayot faoliyati mahsuloti
- d) bakteriya, zamburug'lardan olinadigan vitamin, fermentlar

2. Antibiotiklar mikroblarga qanday ta'sir qiladi.

- a) mikrobning shaklini o'zgartiradi
- b) bakteriostatik, bakterisid ta'sir etadi
- c) anabiozga uchratadi
- d) bakteriyalarni rivojlanishdan to'xtatadi, o'ldiradi

3. Antibiotiklarning biologik faolligi nima bilan belgilanadi.

- a) ta'sir birlik
- b) eritma konsentrasiyasi
- c) eritmaning miqdori
- d) eritma tarkibi va hajmi bilan

4. Penisillining faolligini aniqlashda qaysi testmikrob ishlataladi.

- a) Bac. subtilis
- b) tilla rang stafilokokk 209-R
- c) E. coli
- d) salmonella

5. Agarga diffuzlash usulida antibiotikning bakteriyalarga ta'siri qanday aniqlanadi.

- a) antibiotik miqdori bilan o'lchanadi
- b) diffuzlanish darjasini aniqlanadi
- c) o'sish yo'q hudud diametri o'lchanadi
- d) antibiotikning agarga nisbati bilan o'lchanadi

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

Mashg‘ulotning maqsadi: Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullarini o‘rganish. Mikroorganizmlarning LD-letal dozasi, zarar-lantiruvchi dozasini – ZD aniqlashning mohiyatini tushunish.

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

Laboratoriya hayvonlarini zararlash – biologik sinov o‘tkazishdan maqsad: tekshiriladigan patmaterialdan qo‘zg‘atuvchining sof kultu-rasini ajratish, tekshiriladigan mikrob kulturasining patogenligini sinash, vaksinalarning, immun zardoblarning samaradorligini aniqlash.

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

Tekshirilayotgan mikrob kulturasining LD_{50} ko‘rsatkichi quyidagicha aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikrob hujayrasi bo‘lgan suspenziyadan ketma-ket 500 mln, 250 mln, 125 mln, 62.5 mln li suyultirmalar tayyorlanadi. Har biri bilan 6 tadan oq sichqon qorin bo‘shlig‘i yoki terisi ostiga 0,5 ml dozada zararlanadi. 10

kun davomida kuzatiladi. Odatda qo‘zg‘atuvchining hech qaysi dozasi zararlangan hayvonlarni 50% ni o‘ldirmaydi. Shuning uchun LD₅₀ statistik usulda aniqlanadi.

Rid va Mench usulida LD₅₀ ni aniqlash. Jadvalda ko‘rsatilgan tajriba natijasining haqiqiy raqamlari 3-4, kumulyativ ma’lumotlar esa 5-6 ustunlarda berilgan. 10⁻² qatordagi 14 raqami shu dozada kichik doza bilan (10⁻³, 10⁻⁴ va boshqalar) zararlangan barcha sichqonlar ham o‘lishi mumkin edi degan ehtimoldan kelib chiqadi: 6+5+2+1=14 ta sichqon. Xuddi shunday 5 ustundagi har bir dozaga qarshi, 6 ustundagi (tirik) barcha dozalar uchun kumulyativ ma’lumot

Rid va Mench usulida LD₅₀ ni hisoblash

1-jadval

Bakteriya suspenziyasi miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma’lumot-lar		Kumulyativ ma’lumotlar				O‘lganlarini Zararlangan-lariga nisbati o‘lim %
		o‘ldi	tirik	o‘ldi	tirik			
1	2	3	4	5	6	7	8	
10 ⁻²	6	6	0	14	0	14:14	100	
10 ⁻³	6	5	1	8	1	8:9	88,8	
10 ⁻⁴	6	2	4	3	5	3:8	37,5	
10 ⁻⁵	6	1	5	1	10	1:11	9	
10 ⁻⁶	6	0	6	0	16	0:16	0	

aniqlanadi. Masalan, minimal dozada 10⁻⁶ zararlangan 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlangandan keyin tirik qolgan barcha sichqonlar ham o‘lmasligi mumkin edi. Demak, 10⁻⁶ dozada kumulyativ ko‘rsatkich: 6+5+4+1=16 ta sichqon. Boshqa dozalar uchun ham ko‘rsatkichlar shu tarzda aniqlanadi. Kumulyativ ma’lumotlarga asoslanib, har bir dozada zararlaganda o‘lgan sichqonlar foizi hisoblanadi. Tajribada hech qaysi doza zararlangan hayvonlarni 50% ni o‘ldirmagan, uni topish uchun matematik hisoblash kerak. Misolimizda LD₅₀ 10⁻²

va 10^{-4} o‘rtasida, ko‘proq 10^{-4} ga yaqin. Farqini (37,5 dan 50% gacha) kattasiga nisbatan olib (37,5 dan 88,8% gacha) proporsionallik faktori, ya’ni 10^{-4} dozani LD₅₀ dan farqi aniqlanadi. Bu faktor suyultirish lagorifmiga ko‘paytiriladi (faktor=10, lg=1). U 1 ga teng. Uni 10^{-4} dan ayirsak LD₅₀ kelib chiqadi.

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

Demak, LD₅₀= $10^{-3,756}$. Shu ko‘rsatkichga to‘g‘ri keladigan bakteriya suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun lagorifmik jadvaldan foydalilaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun 10⁹/ml bakteriya suspenziyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda, LD₅₀= $10^{-9} \times 0,5 : 5747 = 87000$ mikrob hujayrasi.

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

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

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

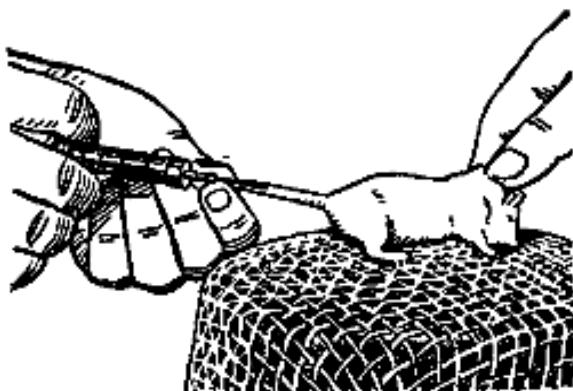
Biosinov o'tkazish uchun sog'lom, bir turda, yoshda va og'irlikda oq sichqonlar – 16 gr, dengiz cho'chqasi -250-300 gr, quyon -2, 3-5 kg tanlanadi. Ularning tana harorati o'lchanadi va belgilanadi: oq sichqon va kalamushlar anilin bo'yoqlar bilan, dengiz cho'chqasi va quyonlar temir sirg'a bilan belgilanadi.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

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

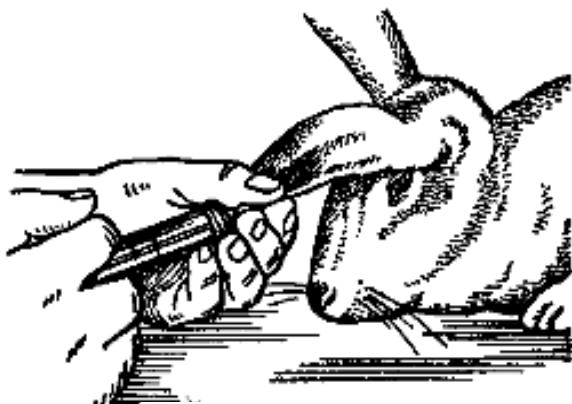
Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari

1. Teri yuzasiga (skarifikatsiyalash) – skalpel bilan teri yuzasi tiraladi va u yerga tekshiriladigan material surtiladi.
2. Teri orasiga – chap qo'l bilan teri tortiladi igna terining ichiga kirgiziladi, 0,2 ml gacha material yuboriladi. To'g'ri zararlangan yerda mayda, no'xatday shish hosil bo'ladi.
3. Teri ostiga–chap qo'l bilan teri ko'tarilganda uchburchak hosil bo'ladi va uning ichkarisiga shprisning ignasi kiritiladi: quyon belining bir tomoniga 20-25 ml, dengiz cho'chqalariga 10 ml (63-rasm), oq sichqon va kalamushning dumg'ozasiga 1-10 ml yuboriladi.
4. Mushak orasiga – ko'pchilik hayvonlarning soniga (ichki tomondan), kabutar va tovuqlarning ko'krak mushagiga (to'shiga), oq sichqonga 0,5 ml, dengiz cho'chqasi va kalamushga 3-5 ml, quyonga 5-8 ml yuboriladi.
5. Qorin bo'shlig'iga laboratoriya hayvonining boshini pastga qaratib fiksatsiyalanadi va tekshiriladigan material 0,1-0,2 ml, shprisning ignasi bilan, qorin bo'shlig'inинг pastki 3 chi qismiga markaziy oq chiziqdan chetroq yuboriladi (62-rasm).

Laboratoriya hayvonlarini zararlash



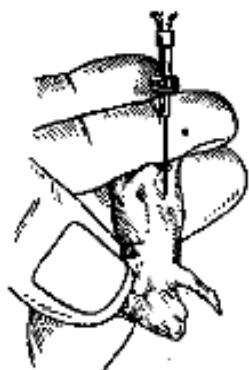
60-rasm. Sichqonning
venasidan zararlanishi.



61-rasm. Quyonning qulq
venasidan zararlash.



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



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



64-rasm. Sichqonning
miyasiga zararlash.



65-rasm. Quyonning
miyasiga zararlash.

6. Qon tomiriga – quyonlarning qulqoq venasiga (61-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (60-rasm), dengiz cho‘chqa-sining to‘g‘ridan-to‘g‘ri yuragiga zararlanadi. Quyon, sichqon, kalamushlarni yuboriladigan yeri issiq suv yoki ksilol bilan ishlov beriladi. Shunda venalar qonga to‘lib yaxshi ko‘rinadi.

7. Bosh miyaga – quyonlarning ko‘z ustidagi suyagi bitmagan joyiga (65-rasm), sichqonga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (64-rasm).

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

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

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

Ba’zan ajratilgan kulturaning patogenligini, virulentligini o’rganishda zararlashning ikkita usuli birgalikda qo’llaniladi. Masalan pasterella kulturasi suspenziyasini oq sichqonlarning qorin bo’shlig’iga yoki terisi ostiga va qorin bo’shlig’iga yuborish usulida zararlash tavsiya **etilgan**.²³

Nazorat savollari:

- 1.Hayvonlarni zararlab, biosinov qo‘yishdan maqsad nima?
- 2.Mikroorganizmlarning virulentligi qanday shartli belgilanadi?
- 3.Rid va Mench usulida LD₅₀ ni aniqlash.
4. Laboratoriya hayvonlarning turlari va ullarni zararlash usullarini aytинг.
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi.
6. Zararlashning ikki usulini bir vaqtida qo’llash mumkinmi?
7. Hayvonlarning zararlanadigan joyi qanday tayyorlanadi?

²³ Ruzikulova U.X. “Kavshovchi hayvonlarda pasterellyoz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish” mavzusidagi Magistr akademik darajasini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. Samarqand. 2014y.

8. Biosinov qo'yish uchun qanday hayvonlar tanlanadi va ular qanday belgilanadi?

Test savollari:

1. Laboratoriya hayvonlarini zararlashdan maqsad nima.

- a) kasallikni klinik belgilarini kuzatish, qarshi kurash chora tadbirlarini ishlab chiqish
- b) kulturaning patogenligini, hayvonni mikrobgaga chidamliligini aniqlash
- c) biosinov qo'yish, biopreparatlar sifatini aniqlash
- d) patmateriyaldan qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratish, kulturaning patogenligini sinash, vaksina, immun zardoblar samaradorligini aniqlash

2. Mikrobynning virulentlik xususiyatlari qanday birlikda o'lchanadi.

- a) D cl – 100 %, LD 50, ZD 50
- b) D cl – dosis certae letalis
- c) LD 50, TB
- d) ZD 50, TB

3. Teri orasiga zararlashda necha ml material yuboriladi.

- a) 0.5 ml
- b) 0.2 ml
- c) 0.25-0.5 ml
- d) 0.5-1 ml

4. Qorin bo'shlig'iiga zararlashda hayvon qanday fiksasiyalanadi.

- a) belini yengil orqaga qayirib
- b) gorizontal holda
- c) boshini pastga qaratib
- d) qulog'i va belini ushlab gorizental qo'yiladi.

5. Burunga zararlash usuli qanday bajariladi.

- a) avval burnini tozalab, material tomdiriladi va paxta bilan engil yopiladi
- b) pipetka bilan material tomdirib, burni qisib turiladi
- c) pipetka bilan material tomdirib, 5 soniya qimirlatmay ushlab turiladi
- d) avval narkoz berib, keyin pipetka bilan material tomdiriladi

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Diagnostik tekshirishda mikrobning sof kulturasini ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rGANILADI, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'rildi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobnii atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblar bilan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (66-rasm), terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinset bilan qalqonsimon o'simta ushlanib, mushak, ikkala tomon qovurg'alarini yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'krak qafasi ochiladi. Oq sichqonning jigar va talog'i alohida steril Petri kosachasiga olinadi. Undagi o'zgarishlar e'tiborga olinadi jigar, taloq va yurak, o'pka, buyrak sirtini qizigan shpatelda kuydirib, probirkali GPA, GPB larga ekiladi, surtmalar tayyorlanadi. Ekmali probirkalarga, surtmalarga ekspertiza, organ raqamlari, sanasi yoziladi. Yurakdan steril paster pipetka bilan avval GPB, keyin GPAga ekiladi.

Xuddi shunday qorin bo'shlig'ini yaxshi ochish uchun qorin devorining chekkalari qaytarilib igna bilan mahkamlanadi. Qorin bo'shlig'i organlaridagi o'zgarishlar ham e'tiborga olinadi. Paren-ximatoz organlar, limfa tugunlardan, ilikdan oziq muhitlarga ekib, surtmalar tayyorlanadi. Ekilgan oziq muhitlar termostatga qo'yiladi, preparatlarni bo'yab, mikroskopda ko'rildi.

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

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

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

Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalarga rioya qilish kerak:

1. Materialni yangi o'lgan hayvon jasadidan olish lozim (hayvon o'lgandan keyin 2-3 soatdan kechiktirmay). Ba'zi hollarda kasal hayvonlar guruhidan bir ikkitasini majburiy so'yish maqsadga muvofiq bo'ladi.
2. Patologik materialni olishda qo'zg'atuvchini tarqalishiga, u bilan hayvon va odamlarning zararlanishiga yo'l qo'ymaslik kerak.

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

4. Patologik material germetik yopiladigan alyumin yoki emal idishga joylanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadi yog‘och qirindisi solingan zinch taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimb oladi). O‘ta xavfli kasallikkarda (kuydirgi, manqa, tuberkuloz, brutselloz, qorason) shisha idishga olingan bo‘lsa, maxsus konteynerlarga joylanadi (67-68-rasm). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

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

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

Laboratoriyada konservatsiya qilinmagan materialni 4°C da 1-2 sutka, 50% li glitserinda konservatsiyalanganini bir necha hafta saqlash mumkin. Uzoq saqlash uchun material $-15\text{-}20^{\circ}\text{C}$ da muzlatiladi.

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat:

1.Tekshirilayotgan materialda qo‘zg‘atuvchini aniqlash: Immunologik bo‘limgan usullar – bo‘yagan preparatlarni mikroskopik tekshirish, genetik usullarda (gen zondlari, PZR) qo‘zg‘atuvchining nuklein kislotalarini aniqlash. Immunologik usullar – serologik (PR, DPR, FAU, IFA va h.k.) reaksiyalarda qo‘zg‘atuvchi antigenini aniqlash. 2. Biosiniv qo‘yish. 3. Materialni oziq muhitga ekib, qo‘zg‘atuvchi kulturasini ajratish. 4. Serologik (retrospektiv) usul – AR, KBR.

Nazorat savollari:

- 1.Jasadni bakteriologik tekshirish usulini, maqsadini tushuntiring.
- 2.Patmaterial olish va laboratoriyaga yo‘llash qoidalarini ayting.

- 3.Yo'llanmada qanday ma'lumotlar bo'lishi kerak.
4. Bakteriologik tekshirish uchun qanday patologik materiallar olinadi.
5. Laboratoriya hayvonlarining jasadini yorish qoidasini ayting.
6. Materialni mikrobiologik tekshirish qanday bosqichlardan iborat?
7. Patologik materialni olishda nimalarga e'tibor beriladi?
8. Nima sababdan jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'r ganiladi, bakteriologik tekshiriladi?

Test savollari:

1. Diagnostik tekshirishda o'lgan hayvon jasadi:

- a) yoriladi, patanatomik o'zgarishlari o'r ganiladi, bakteriologik tekshiriladi
- b) yoriladi va parenximatoz organlari olinadi
- c) yoriladi va patanatomik tekshiriladi
- d) yoriladi, tashqi va ichki o'zgarishlari o'r ganiladi, dalolatnomal tuziladi.

2. Jasadni yorishda nimalarga rioya qilinadi.

- a) shaxsiy gigiena, mehnat muhofazasiga
- b) shaxsiy profilaktika aseptika qoidalariga, atrofda tarqalishini oldi olinadi
- c) aseptika, antiseptika qoidalariga
- d) tashqaridan mikrob tushmaslik va tarqalmaslik qoidalariga

3. Bakteriologik tekshirish qanday bajariladi.

- a) qayta biosinov o'tkazib, bakteriyalogik nazorat qilinadi
- b) kuzatilgan patanatomik o'zgarishlar yozib boriladi va material termostatga qo'yiladi
- c) olingan materialdan oziq muhitlarga ekiladi, surtmalar tayyorlab, bo'yaladi, mikroskopda ko'rildi
- d) bakteriyalogiya, biosinov, mikroskopiya usullari bajariladi

4. Patmateriyalni laboratoriyaga yo'llashda qanday hujjat rasmiylashtiriladi.

- a) yo'riqnomal
- b) ko'rsatma
- c) dalolatnomal
- d) yo'llanma

5. Patalogik material olishda nimalar inobatga olinadi.

- a) mikrobynning tropizmi va joylashishi
- b) patmaterialdagi o'zgarishlar
- c) materialning ifloslanish darajasi
- d) materialning yangi yoki eskirganligi

13 - mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Barcha serologik tekshirishlar asosida antigen va antitelolarning o'zaro maxsus reaksiyalari yotadi.²⁴

Antigenlar – genetik begona moddalar, hayvon organizmiga parenteral yo'l bilan yuborilganda sensibilizatsiya, tolerantlik va antitelolar ishlab chiqarish kabi javob reaksiyasini paydo qilib, antitelolar bilan *in vivo* va *in vitro* maxsus o'zaro ta'sirlashadi. Korpuskular, hujayrali (bakteriyalar, eritrotsitlar) va eruvchi (molekular-dispersli) antigenlar farqlanadi. Antigenlarni polivalentli – antitelolar bilan bog' hosil qiluvchi bir qancha determinantli retseptorlari bor. To'liq qiymatli

²⁴ Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 2. Immunologiya. –M.: KolosS, 2006 g.

antigenlardan tashqari gaptenlar, ya’ni oqsilsiz polisaxaridlar, mikrob hujayrasi somatik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.

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

Diagnostik maqsadda qo‘llanadigan serologik reaksiyalarda komponentlarning bittasi ma’lum bo‘lishi kerak, u orqali maxsusligi tufayli boshqa komponentning borligi aniqlanadi. Serologik reaksiyalar fiziologik eritmada qo‘yiladi, chunki antigen va antitelo kuchsiz elektrolit muhitda bog‘lanadi.

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

AR bir nechta usullarda qo‘yiladi: probirkali (klassik) usul, tomchili, qon-tomchili, plastinkali Roz-bengal, sut-halqali, mikroagglutinatsiya usullari.²⁵

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

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

Y.sh.h. zardobi 1:50,1:100, 1:200, 1:400 nisbatda suyultiriladi. Shtativga birinchi qatorga 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbati 1:25 tayyorlanadi: 0,1 ml zardob+2,4 ml fiziologik eritma. Qolgan to‘rtta

²⁵ . Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.c.110-114.

probirkalarga bir xilda 1 ml dan fiziologik eritma quyiladi. Keyin maxsus pipetkada ketma-ket suyultiriladi - asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfiksiyalovchi eritmali idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0,05 ml dan antigen quyiladi (1 ml da 10 mld mikrob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo‘ladi (69-rasm).

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

1. Ijobiy brutselloz zardobi + standart brutselloz antigeni natija -
(++) ijobiy.
 2. Normal zardob + standart brutselloz antigeni natija (-) manfiy.
 3. Standart brutselloz antigeni + fiziologik eritma natija (-) manfiy.
- Natijani hisobga olish (70-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.
1. Cho‘kma soyabon shaklida, suyuqlik tiniq - 100% agglutinatiya (+++).
 2. Cho‘kma soyabon shaklida, suyuqlik salgina loyqa - 75 % agglutinatiya (++).
 3. Suyuqlik loyqa, soyabon yaxshi hosil bo‘lmagan – 50 % agglutinatiya (++) .
 4. Cho‘kma tugma shaklida, suyuqlik loyqa – 25 % agglutinatiya (+).
 5. Suyuqlik loyqa, soyabon hosil bo‘lmagan – agglutinatiya yo‘q (-).

1:100 nisbatda agglutinatiya (++) dan kam bo‘lmasa natija ijobiy; 1:50 da gumonli hisoblanadi.

Tomchili AR usuli. Mikrob turini aniqlash va uni farqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun buyum oynachasiga aniq maxsus zardob va fiziologik eritmadan (nazorat uchun) alohida tomchilar olinadi. Har bir tomchiga tekshirilayotgan mikrob bakterial ilmoqda olib qo‘shiladi, aralashtiriladi. 5-10 daqiqada natija aniq bo‘ladi. Ijobiy natijada suyuqlik tiniq, cho‘kma donador bo‘ladi. Bu usulda

ko‘proq kolibakterioz, salmonelloz qo‘zg‘atuvchilari tipizatsiya qilinadi (71-rasm).

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

Sut halqali reaksiya. Y.sh.h. brutsellozga tekshirishda ishlatiladi. Probirkalarga 2-3 mldan sut olib, 0,2 mldan (2 tomchi) gemotoksilin bilan bo‘yagan antigen qo‘shiladi. Sut bir xil bo‘yalguncha aralash-tiriladi va 37°Cda 45-60 daqiqa saqlanadi. Sutda antitelo bo‘lsa, antigen-antitelo kompleksi hosil bo‘lib yog‘ tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko‘tarilib ko‘k halqa paydo bo‘ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko‘k rangda qoladi, halqa hosil bo‘lmaydi (72-rasm).

Nazorat savollari:

1. Serologik reaksiyalarning mohiyatini ayting.
2. Antigen, antitelo nima? Tushuncha bering.
3. Probirkali AR ning komponentlari, qo‘yish texnikasi va hisobga olish.
4. Tomchili AR ning mohiyati, uni qo‘yish texnikasini tushuntiring.
5. Sut halqali reaksiyani qo‘yish texnikasini tushuntiring.
6. AR da mikrob hujayrasining antigen tuzilishining qanday ahamiyati bor?
7. Nazorat reaksiyasi deganda nimani tushunasiz?
8. AR larining natijasi qanday baholanadi?

Test savollari:

1. AR ning mohiyati qaysi bandda to‘g’ri berilgan.

- a) qon zardobidagi antitelo va maxsus antigen eritrosit bilan reaksiyaga kirishib cho‘kma hosil qiladi
- b) qon zardobidagi agglyutinin maxsus agglyutinogen bilan yopishib agglyutinat hosil qiladi.
- c) antigen – antitelo kompleksi ko‘zga ko‘rinmaydigan cho‘kma hosil qiladi

d) har xil antigenlar, antitelo bilan gemolitik sistema orqali reaksiyaga kirishib cho'kma paydo bo'ladi

2. Qanday antigenlar farqlanadi.

- a) oqsilli, polisaxaridli, molekulyar dispersli
- b) yopishqoq, kompleks, polivalent
- c) korpuskulyar, hujayrali, eruvchi
- d) kimyoviy, genetik begona, turga oid

3. Antigen va antitelolarning in vitro o'zaro ta'siri bo'yicha qanday antitelalar farqlanadi.

- a) elektrolitli, kislotali, ishqorli
- b) korpuskulyar, gemagglyutinasiyalovchi
- c) tomchili, halqali, cho'kmali
- d) cho'kmali, erituvchi, neytrallovchi

4. AR ning komponentlari qaysi bandda to'g'ri berilgan.

- a) normal, sinovdagi, standart ijobiy zardob, standart antigen, fiziologik eritma
- b) sinovdagi zardob, gipertonik eritma, gemolizin
- c) fiziologik eritma, standart zardob va antigen
- d) komplement, eritrosit, zardob, gemsistema

5. Sut halqali reaksiya qaysi kasallikni tekshirishda ishlatalildi.

- a) salmonellyoz
- b) brusellyoz
- c) listerioz
- d) tuberkulyoz

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

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

Material va jihozlar: Probirkalarda ekstraksiya qilingan antigen, maxsus antigen, pretcipitatsiyalovchi zardob, normal zardob, Ulengut probirkalari, ularga shtativ, Paster pipetkalari, rezina grushalar, Petri kosachalarida agar geli, eksikator,

plakatlar, shtamp – o‘yiqlar hosil qilish uchun, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

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

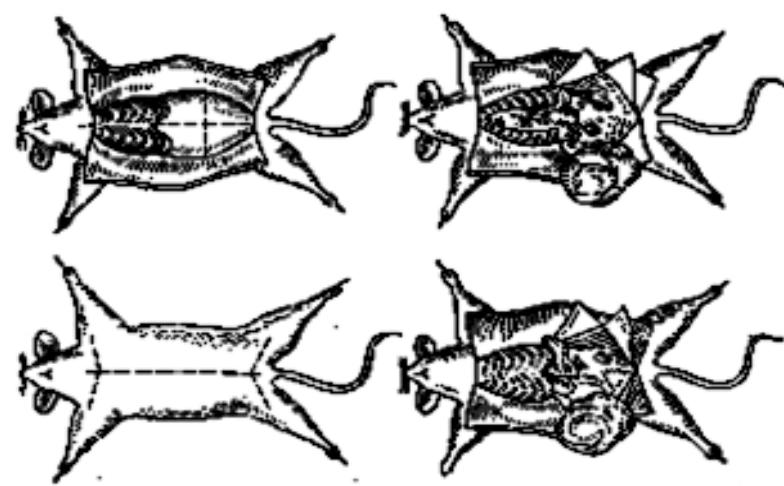
Komponentlar:

1. Ekstrakt – tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patologik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqiqa yoki 1 atmida. 1 soat sterillanadi. Sovugach uni maydalab ekstraksiyalanadi. Ekstraksiya-lashning ikki usuli bor: a) issiq usul – maydalangan 1-2 g patmaterial probirkaga solinib, 1:10 nisbat fiziologik eritma quyiladi va suv hammomida 30-40 daqiqa qaynatiladi; b) sovuq usul – 1-2 g patmaterialdan 1:10 nisbatda 0,3 % fenolli fiziologik eritma quyiladi va suspenziya tayyorlab 16-24 soat uy haroratida qoldiriladi. Ekstraktlar asbestos bilan filtrланади.
2. Standart pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobi.
3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.
4. Nazorat uchun: standrat kuydirgi antigeni, sog‘lom hayvondan olingan material ekstrakti, normal zardob.

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

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

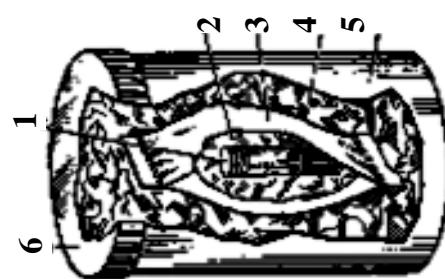
Jasadni bakteriologik tekshirish usuli.
 Patologik materialni olish va laboratoriya ga jo'natish usullari



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

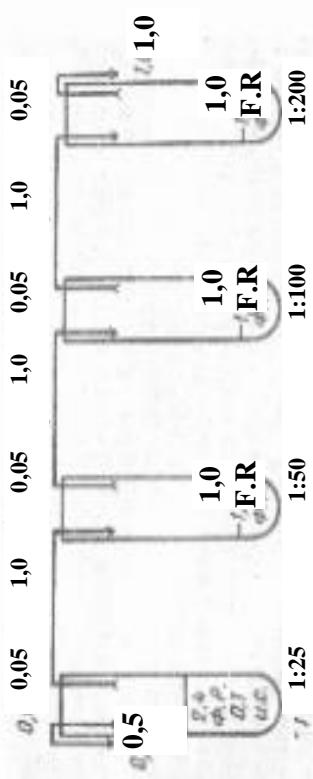


67-rasm. Patologik material mammularini laboratoriya ga yo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassal).

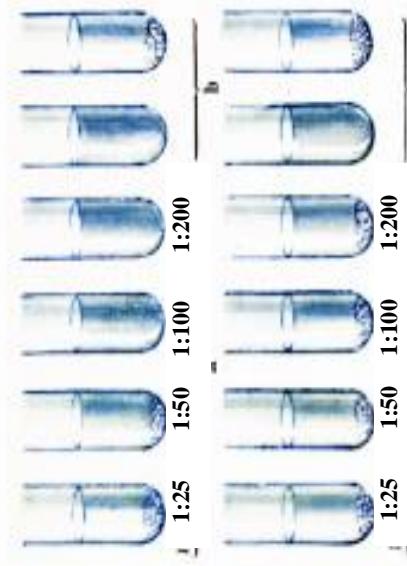


68-rasm. Namuna joylash elementlari:
 1-namuna solingan idish, -tinqini leykoplastir bilan o'ralgan probirkalar yoki kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiro qog'oz'i;
 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtilrilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-g'ijimlangan qog'oz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

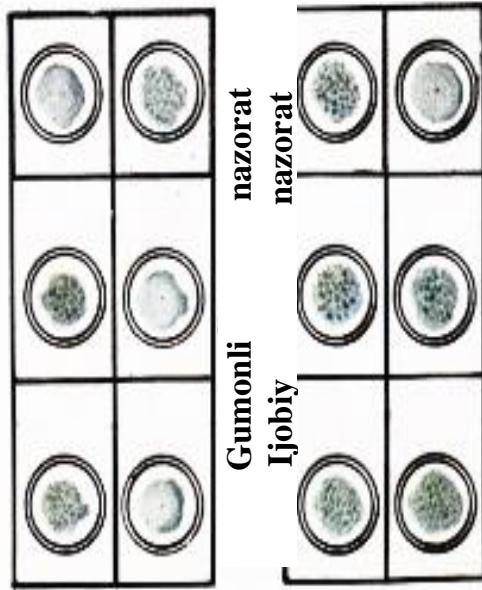
Agglutinatsiya reaksiyasi



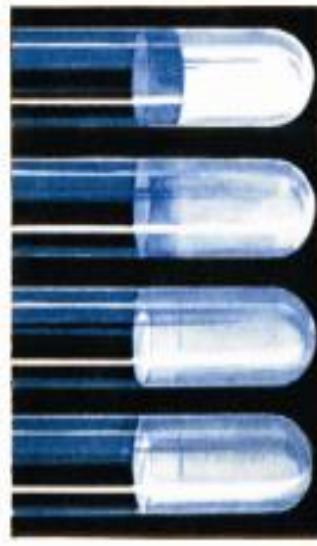
69-rasm. AR qo‘yish sxemasi.



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

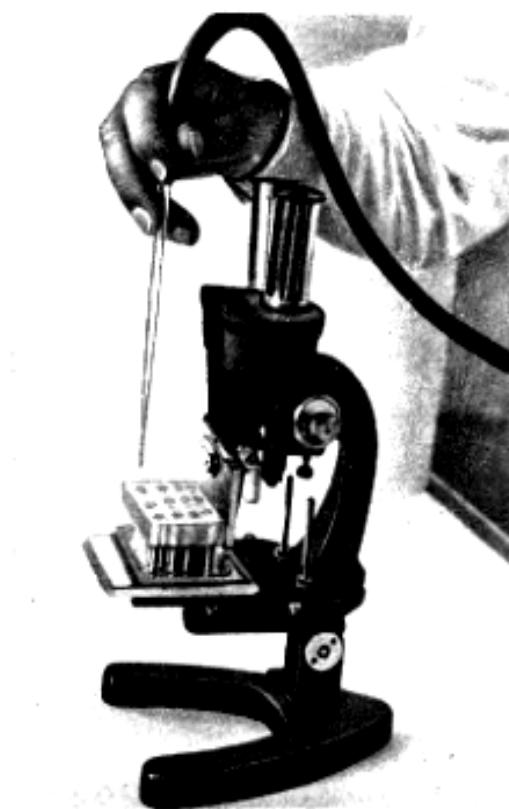
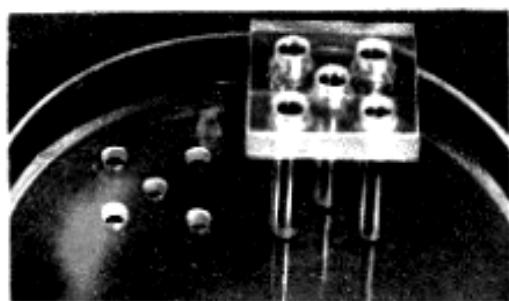


71-rasm. Plastinkali ARni baholash.

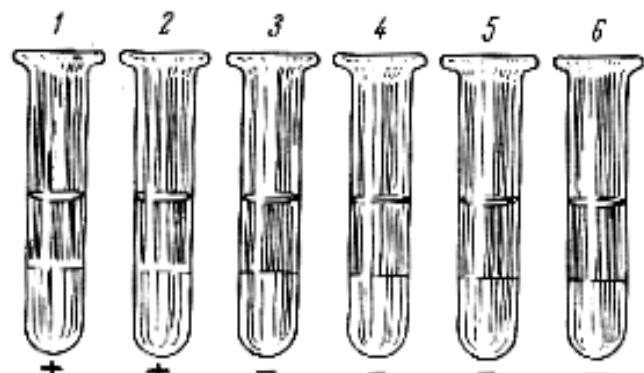


72-rasm. Sut halqali reaksiya: a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.

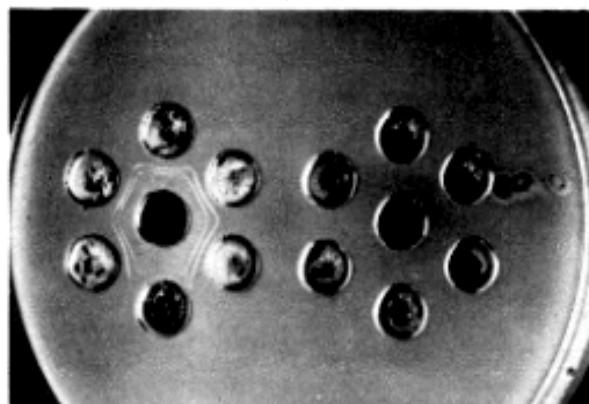
Pretsipitatsiya reaksiyasi



73-rasm. DPR qo'yish usullari.

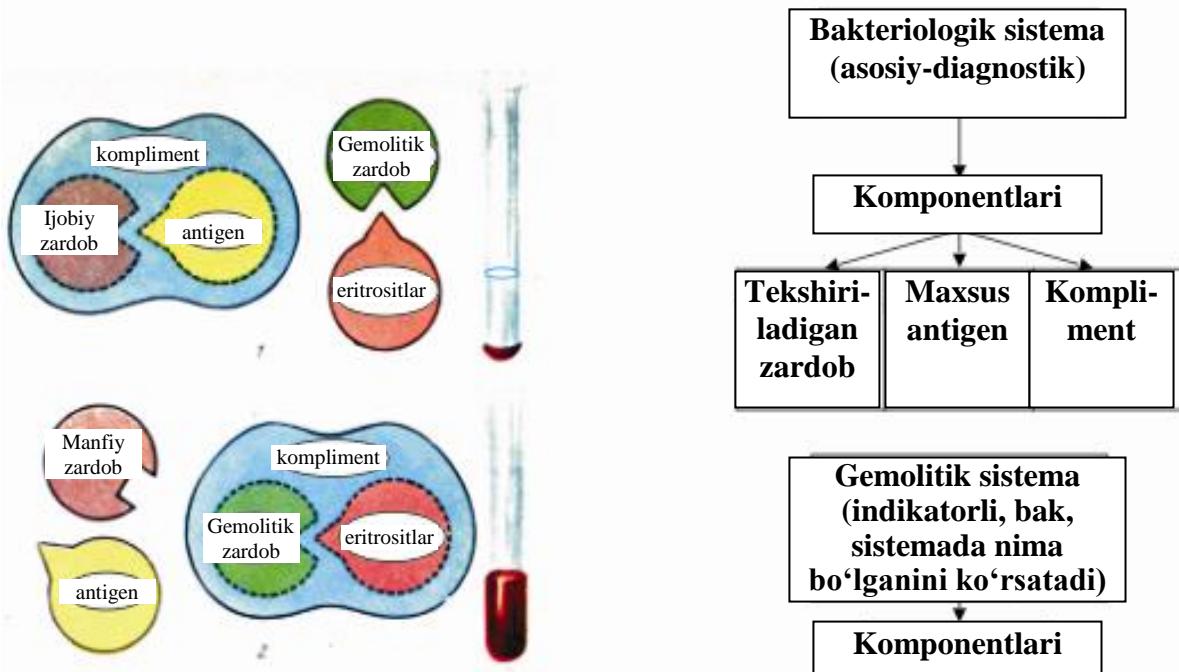


74-rasm. Ijobiy presipitasiya
(Askoil) reaksiyasi.



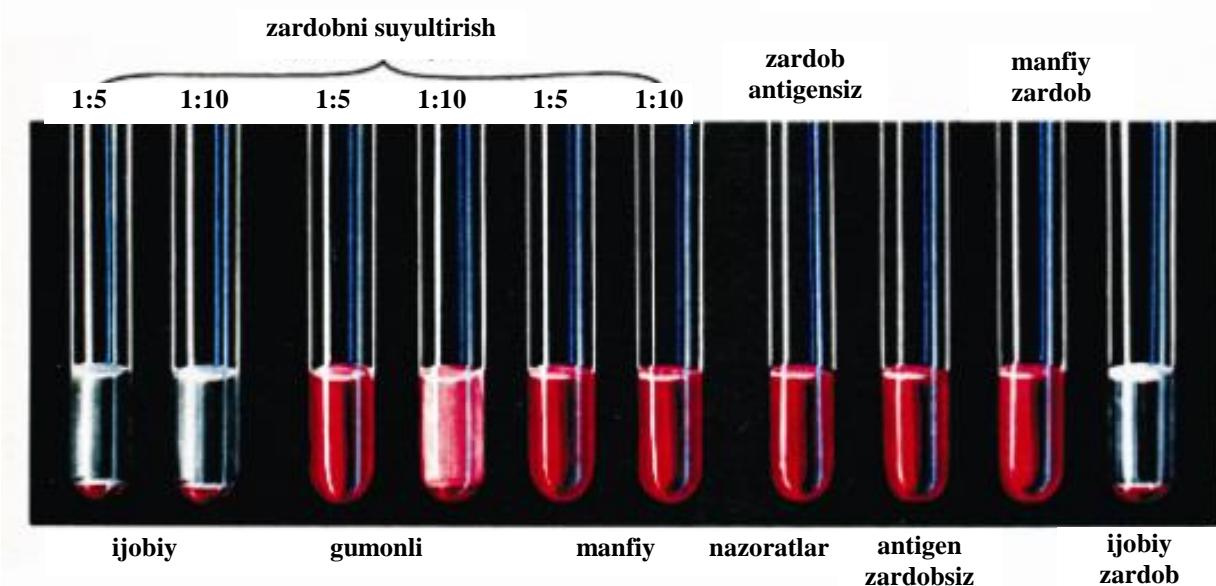
75-rasm. DPR. Chapda markazda
pretsipitatsiyalovchi zardob, atrofidagi
o'yqlarda antigenlar- pretsipitatsiya
chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda
markazda manfiy zardob, atrofida o'sha
antigenlar-pretsipitatsiya chiziqlari
yo'q.

KBR - kompliment bog'lash reaksiyasi



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

77-rasm. KBR sxemasi.



78-rasm. KBR natijasining ko'rinishi.

2. *Antigen ostiga zardob quyish.* Ikkinci usulda probirkaga avval 0,2-0,3 ml ekstrakt quyib, uning ostiga teng miqdorda Paster pipetkasi bilan kuydirgi zardobi quyiladi. Ikkala usulda ham natija ijobiy bo'lsa, ikkala komponentlar o'rtasida 1-2 daqiqada yaxshi ko'rindigan tutunsimon rangda halqali pretsipitat hosil bo'ladi (74-rasm).

Nazorat reaksiyasi.

1. Standart kuydirgi antigeni + kuydirgi zardobi (natija ijobiy 1-2 daqiqada).
2. Sog'lom hayvon materiali ekstrakti + standart zardob (natija manfiy 1 soatda).
3. Standart antigen + normal zardob (natija manfiy 1 soatda).
4. Fiziologik eritma + standart zardob (natija manfiy 1 soatda).

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

Diffuzli PR. Buyum oynachasida yoki Petri kosachalaridagi 1 % agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yinlar qilinadi (73,75-rasm). Markazdagi o'yiqqa standart zardob, atrofidagilarga esa antigen namunalari Paster pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatorda bir sutka termostatda turgandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq pretsipitat chiziqlari ko'rindi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Pretsipitatsiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun plastinalar fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiy sulfat eritmasi quyiladi, bir necha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rindi.

Nazorat savollari:

- 1.Pretsipitatsiya reaksiyasining amaliyotda ishlatilishi va mohiyati.
- 2.Pretsipitatsiya va agglutinatsiya reaksiyalarida antigenlarning farqi.
- 3.Halqali pretsipitatsiya reaksiyasini qoyish texnikasini tushuntiring.
- 4.Halqali pretsipitatsiya reaksiyasining komponentlarini ayting.
- 5.Diffuz pretsipitatsiya reaksiyasini qo'yish, uning mohiyati.
6. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasida nazorat reaksiyasi qanday qoyiladi?
7. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasi natijasi qanday hisobga olinadi?
8. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasini qo'yishning qanday usullari bor?

Test savollari:

1. PR si AR dan qanday farq qiladi.

- a) antitelolar antigenlar bilan faqat komplement orqali birikadi
- b) antigenlari yuqori harorat, chirishga chidamli
- c) eruvchi antigenlar ishlataladi, qo'yish texnikasi o'zgacha
- d) agar gelida chiziqlar hosil qiladi

2. PR ning komponentlari qaysi bandda to'liq berilgan.

- a) antigen, gemolizin, ekstrakt, fiziologik eritma
- b) sog'lom hayvondan olingan material ekstrakti, standart zardob, fiziologik eritma
- c) antigen, ekstrakt, qon, fiziologik eritma,
- d) ekstrakt, standart zardob va antigen, normal zardob, fiziologik eritma

3. Probirkali PR qo'yishni necha xil usullari bor.

- a) 2
- b) 4
- c) 5
- d) 3

4. PR usullarining qaysinisida zardob probirka pastida bo'ladi.

- a) zardobni ekstrakt ostiga quyganda
- b) barcha usullarida
- c) antigenni zardob ustiga quyganda
- d) zardob umuman probirka pastida bo'lmaydi

5. PR da ekstrakt tayyorlash ketma – ketligi qaysi bandda to'g'ri berilgan.

- a) filtrlash, maydalash, sterillash, ekstraksiyalash
- b) maydalash, filtrlash, ekstraksiyalash, sterillash
- c) sterillash, maydalash, ekstraksiyalash, filtrlash
- d) ekstraksiyalash, filtrlash, maydalash, sterillash

15-m a v z u. Kompliment bog‘lash reaksiyasi – KBR

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

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

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

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

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

Bakteriolitik sistemaga gemolitik sistema qo‘shiladi. Eritrotsitlar gemoliz bo‘lishiga yoki bo‘lmasligiga qarab, bakteriologik sistemada kompliment bog‘ bor, yo‘qligi bilinadi (76-77-rasm).

Ijobiy natijada qon zardobidagi antitelolar bakteriolitik sistemada antigen bilan birikib, undagi komplimentni o‘ziga bog‘lab oladi. Natijada gemolitik

sistema qo'shilgandan keyin eritrotsitlar lizisga uchramaydi (eritrotsitlar cho'kmaga tushadi).

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

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

KBR komponentlari:

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

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish. Zardoblarni (tekshiriladigan, standart, normal) avval 1:10 nisbatda suyultirib, 56°C da 30 daqiqa inaktivланади. Shtativga tekshiriladigan qon zardoblarining soniga ko'ra (har bir zardob uchun 2- tadan) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan bittadan) tekshiriladigan qon zardobidan 0,2 mldan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib,

birinchi juftiga standart, ikkinchisiga–normal zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1-qatordagi probirkalarga 0,2 ml antigen, 2- qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi barcha probirkalarga 0,2 ml kompliment quyilib, probirkalar silkitib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37°C da 20-40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriolitik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 mldan gemsistema (ishchi titrdagi gemolizin bilan eritrotsitlarning teng miqdordagi aralashmasi) qo‘shiladi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi.

KBR ning asosiy tajribasini qo‘yish

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

GY – gemoliz yo‘q, G - gemoliz.

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

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

Sinovli, standart zardobli probirkalarning birinchi qatori, gemsistema nazoratli probirkalarda gemoliz bo‘lmaydi (78-rasm) – natija musbat.

KBR natijasini baholash

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

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

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

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

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

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

Serologik tekshirishning immunoferment usuli (ELISA). Immunoferment usul mikroorganizmlar va antitelolarni aniqlash hamda qiyoslash uchun qo‘llanadi. Immunoferment usulining ikki turi farqlanadi: gomogen va geterogen. Geterogen usul (immunosorbentli ELISA test) va suvda erimaydigan polimerazali materiallar yuzasida adsorbirlangan enzimi nishonlangan antitelolar (yoki antigenlar) reaksiyasi (ENAR). *Gomogen immunoferment usulida* qattiq (zich) faza ishlatilmaydi; asosan kichik molekulali antigenlarni (gormonlar, dorivor preparatlarni) aniqlash uchun ishlatiladi.

Zich fazali immunofermentli usul komponentlari:

1. Maxsus immunoglobulinlar (immun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho‘ktirib, keyin tozalab olinadi).
2. Turga qarshi globulinlar (giperimmun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho‘ktirib, keyin tozalab olinadi).
3. Oqsil A (tillarang stafilokokdan olinadi) yoki ho‘kiz zardobi albumini.
4. Antigen (zararlangan hayvonlar organlaridan tayyorlanadi). Oldindan ma’lum bo‘lgan musbat va manfiy antigenlar.
5. Peroksidaza fermenti (xrendan olinadi).
6. Kon’yugatlar (periodatli oksidlanish usulida antitelo yoki antigen bilan bog‘langan peroksidaza).
7. Substratlari aralashma (5- aminosalitsil kislotasi va vodorod peroksidi yoki ortofenilendiamin va vodorod perioksidi).

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

9. Immunologik planshet (shaffof polistioldan tayyorlangan).

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

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

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

Reaksiya bosqichlari:

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

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

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

4. Substratli aralashmani quyish. Reaksiya namoyon bo‘lishi uchun planshet o‘yiqchalariga substrat eritmasi (peroksidaza indikatori) – ortofenilendiamin quyiladi. Eritmaga antigen + antitelo – kon‘yugat kompleksini aniqlash uchun 3%

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

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

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

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

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

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

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

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

Oldindan tekshirilayotgan bakteriyalarning «genlar banki» yaratiladi. Bu maqsadda bakteriya DNKn endonukleazalar bilan eritib, elektroforez yordamida DNK fragmentlari ajratiladi, transformatsiya usulida ularning genetik xususiyatlari aniqlanadi, DNKnинг kerakli fragmenti ajratib olinadi va ligazalar yordamida vektor bo'lib xizmat qiladigan plazmidaga kiritiladi. Aniq gen bilan yaxlit holga

keltirilgan plazmidni biror bir yetarlicha oson va yengil o'sadigan bakteriya shtammiga kiritiladi. Ko'p miqdorda DNK – zond saqlovchi biomassa olinadi. Plazmidli DNKnii ajratib, radioaktiv izotop bilan belgilanadi, keyin bu belgilangan DNK tekshirilayotgan bakterianing DNKsi bilan gibridlanadi. Autoradiografiya usulida markerning tekshirilayotgan DNK bilan gibridizatsiyasini nisbiy chastotasini aniqlab, shu ko'rsatkich orqali aniq bakteriya – DNK donori va tekshirilayotgan bakterianing genetik yaqinligi **fikrlanadi**.²⁶

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

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

1.Tekshirilayotgan DNKnii issiqda (95⁰Cda) denaturatsiyalash. Bunda juft asoslarni bog'lanishni hosil qilgan vodorod bog'lar parcha-lanib, DNK zanjirlari tarqalib ketadi, ya'ni bir zanjirli DNK hosil bo'lib praymeronlar DNK polimerazalar kirishi uchun yengillik paydo qiladi. Jarayonning davomiyligi 1 daqiqa.

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

²⁶ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.c.90.

Vorobyev A.A. Medisinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g. C.114.

avval o‘zining komplementar qismlarini egallashiga imkon beradi. Bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiqa.

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

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

PZRni amaliyatda ishlatish uchun DNK matrisani nusxasini takrorlovchi zanjirning uchta uchlariga komplementar va nusxasi olinadigan DNK fragmentlarini chegaralovchi praymerlarni sintezlash kerak. Ular qo‘zg‘atuvchi genomini nukleotidlар ketma - ketligi rasshifrovka qilingan va genetik o‘zgarishlarga chidamli qismlari asosida tanlanadi. Masalan, *C. psittaci* qiyoslash uchun tashqi membrana oqsilini kodlashtiruvchi genlar asosida yoki 16s rRNK kodlashtiruvchi genlar asosida tanlangan praymerlar taklif etilgan. Brusellalarni

qiyo slash uchun praymer 31 KDa tashqi membranasi oqsilini kodlashtiruvchi gen asosida tanlangan va h.k.

PZR – diagnostikani o‘tkazish uchun quyidagi komponentlar kerak: to‘rt xil tipdagi dezoksinukleozid trifosfatlarning suvdagi eritmalari (dTTF, dATF, Dstf, 10 mM, pH 7,0); birinchi praymer (5 mM); ikkinchi praymer (5 mM); *Taq* – polimeraza fermenti (5 TB/mkl); amplifisirlanadigan DNK (- 1 mkg), Mg^{2+} ionlari (25 mM) polimerazaning ishini ta’minalash uchun; buferli eritma (10 karrali konsentrat), masalan, qoramol albumini va ionsiz detergentlar qo’shilgan tris-xlorid kislotasi (pH 6,8 – 7,7).

Ko‘rsatilgan komponentlar, masalan quyidagi miqdoriy nisbatlarda probirkalarga solinadi: dezoksinukleozid trifosfatlar – 8 mkl, buffer – 10 mkl, amplifisirlanadigan DNK – 1 mkg, praymerlar – 1 – 5 mkl dan, polimeraza – 0,5 mkl, distillangan suv – 100 mkl gacha. Bug‘lanishning oldini olish uchun probirkadagi suyuqlik ustiga mineral yog‘ quyiladi. PZRni o‘tkazishning birinchi bosqichida DNK denaturatsiyalanadi, keyin dezoksinukleozid trifosfati bor reaksiya aralashmasiga polimeraza quyib, amplifikatorga yoki termosikler (loyihalovchi termostat) ga solinadi. Amplifikatsiya termosiklerda berilgan programmada o‘tkazila-di, masalan: 90⁰C – 1 daqiqa, 60⁰C – 1 daqiqa, 72⁰C – 1 daqiqa (5 sikl), 93⁰C – 1 daqiqa, 57⁰C – 1 daqiqa, 92⁰C – 1 daqiqa (5 sikl), 93⁰C – 1 daqiqa, 55⁰C – 1 daqiqa, 72⁰C – 3 daqiqa (25 sikl).

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

PZRda qo‘zg‘atuvchi kulturasi, qo‘zg‘atuvchisi bor to‘qimalar tekshirish obyekti bo‘lishi mumkin. Materialdan biror bir usuida DNK ajratib olinadi.

Materialning xarakteriga bog‘liq ravishda unga ishlov berish usullari har xil bo‘ladi.

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

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

Nazorat savollari:

1. Kompliment bog‘lash reaksiyasining AR, PR laridan farqi?
2. Kompliment bog‘lash reaksiyasining komponentlarini aiting?
3. Kompliment bog‘lash reaksiyasining asosiy tajribasi qanday qo‘yiladi.
4. Kompliment bog‘lash reaksiyasi natijasini hisobga olishni tushuntiring.
5. Kompliment bog‘lash reaksiyasining sistemalarini mohiyatini tushuntiring.
6. Kompliment bog‘lash reaksiyasi mohiyatini tushuntiring.
7. Immunoferment usul qanday maqsadda qo‘llaniladi va uning turlarini aiting.
8. Kompliment bog‘lash reaksiyasining natijasi qanday baholanadi?

Test savollari:

1. KBR nechta sistemada o’tadi.

- a) 4
- b) 1
- c) 3
- d) 2

2. KBR da qanday holat namoyon bo’ladi.

- a) bakteriolizis, gemoliz
- b) agglyutinasiya, lizis
- c) presipitasiya, toksigenlik

d) bakteriya komplement bog' hosil qilishi.

3. KBR boshqa AR, PR laridan qanday farq qiladi.

- a) antigen – antitelo kompleksi ko'zga ko'rilmaydi
- b) komponentlari, gamsistema ishtiroki
- c) komplement gemolizin eritrositlarni lizisga uchratadi
- d) eritrositlar ishlataladi

4. KBR natijasi musbat bo'lganda eritrositlar.

- a) komplement bilan bog'lanadi
- b) lizisga uchraydi
- c) lizisga uchramaydi
- d) gamsistemada – komplement bilan bog'lanadi

5. KBR komponentlari qaysi bandda to'g'ri berilgan.

- a) sinovdagi zardob, fiziologik eritma, eritrosit, komplement
- b) komplement, standart zardob, gemolizin, fiziologik eritma, antigen
- c) fiziologik eritma, normal zardob, antigen komplement
- d) sinovdagi, standart, normal zardoblar, komplement, antigen, gemolizin, eritrositlar (2.5 %), fiziologik eritma

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarga veterinariyada qo'llaniladigan biopreparat turlari, ularning qanday tayyorlanishi, qo'llashdan maqsad, ularning veterinariya

amaliyotidagi o‘rnini tushuntiradi. Talabalar ularning sifatini aniqlash usullari bilan tanishadilar.

Veterinariyada qo‘llaniladigan biopreparatlarga diagnostikumlar, antazardoblar, vaksinalar va davolovchi zardoblar kiradi.

Vaksinalar –yuqumli kasalliklarni maxsus oldini olishda ishlatiladi. Ular organizmda sun’iy aktiv immunitet hosil qilishga mo‘ljallangan. Vaksinalar tirik kuchsizlantirilgan, inaktivatsiya qilingan mikroorganizmlardan, zararsizlantirilgan ekzotoksinlar, protektivli antigenlardan (kimyoviy vaksinalar) tayyorlanadi. Vaksinalarning har xil turlari bor. Vaksina tarkibidagi antigen miqdori bo‘yicha ular mono-, di-, polivaksinalar va assosirlangan vaksinalar (ya’ni har xil antigenlari bor) bo‘ladi.

Texnologiyasi. Standart mikrob suspenziyasi kimyoviy yoki fizikaviy usullarda inaktivланади yoki protektiv antigeni va ekzotoksin-lari ajratilib ular formaldegid yoki boshqa modda bilan antigen tarkibi buzilmaydigan qilib, zararsizlantiriladi.

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

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

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

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

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

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

Ta’sir yo‘nalishi bo‘yicha bakteriyalarga qarshi, toksinlarga qarshi, viruslarga qarshi immun zardoblar farqlanadi. Antitelolar miqdori kerak-li darajaga yetganidan keyin hayvon organizmining, 1% hajmida qonni olinadi yoki to‘liq (total)qonsizlantiriladi. Olingan qon separatlanib, zardobi ajratib olinadi, filtrlab sterillanadi va 0,25 – 0,5 % li fenol, 0,01 – 0,03% li tiomersal yoki boshqa moddalar bilan konservatsiyalanadi.

Tayyor zardob sterillikka, zararsizligiga, maxsus faollikka tekshiriladi.

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

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

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

Misol. Cho‘chqalar saramasiga qarshi immun zardobning nazorati.

Sterilikka tekshirish: zardob GPA, GPB, GPJB, Saburo agarlariga ekiladi. Ekmalar 37 va 20°C da (Caburo) 10 sutka saqlanadi. Oziq muhitlar sterilligicha qolishi kerak.

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

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

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

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

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

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

Diagnostik antigenlarni nazorat qilish:

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

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

Allergenlar (brutsellin, tuberkulin, mallein) – bakteriyalar gidrolizati bo‘lib, tirik hayvonlarda brutselloz, tuberkuloz, manqaga diagnoz qo‘yishda ishlatiladi. Ular rangsiz yoki bo‘yalgan suyuqlik bo‘lib ampulalarda chiqariladi. U sterillik, zararsizligi, maxsuslik, faollikka nazorat qilinadi. *Sterillik* nazorati vaksina kabi bajariladi. *Zararsizlik* nazorati: brutsellin 18 – 25 grli oq sichqonlar bel qismiga 0,5 ml dozada yuboriladi. 10 kun davomida sichqonlar tirik qolishi, inyeksiya joyida yallig‘lanish reaksiyasi bo‘lmasligi kerak. *Maxsuslik* nazorati: oq dengiz cho‘chqalarining juni olingan yon tomoniga terisi orasiga 0,1 ml brutsellin yuboriladi va etalon preparat bilan taqqoslanadi. 24, 48 soatdan keyin inyeksiya joyida allergik reaksiya bo‘lmasligi kerak. Allergen antigenlik xususiyatlarga ham tekshiriladi (AR, KBR). *Faolligi* nazorati: 10 – 15 ta dengiz cho‘chqalari terisi ostiga ($0,25 - 1) \cdot 10^9$ *B. Melitensis Rev 1* shtammi hujayralari yuboriladi. 4 haftadan keyin 0,1 ml brutsellin va etalon allergen yuboriladi. 24 soatdan keyin reaksiya hisobga olinadi. Sinovdagi va etalon allergenlarga reaksiya bir xilda bo‘lishi kerak.

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

Nazorat savollari:

1. Veterinariyada qo‘llanadigan biopreparatlarga nimalar kiradi?
2. Biopreparatlar qanday maqsadlarda ishlatiladi?

3. Diagnostikum, vaksina va davolovchi zardoblarning farqini aytin?
4. Biopreparatlarni veterinariya amaliyotida qo'llanilishini tushuntiring.
5. Biopreparatlarning sifati qaysi ko'rsatkichlarga tekshiriladi?
6. Vaksinalarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi.
7. Immun zardoblarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi.
8. Allergenlarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi

Test savollari:

1. Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan.

- a) diagnostikumlar, antazardoblar, vaksinalar, davolavchi zardoblar
- b) diagnostikumlar, antibiotiklar, faglar, vaksinalar
- c) antibiotiklar, giperimmin zardob, allergen, antigen
- d) faglar, antigen, allergen, vaksinalar, antibiotiklar

2. Vaksinalarning sifati qaysi ko'rsatkichlar bo'yicha nazorat qilinadi.

- a) sterillik, maxsuslik, pishiqlik
- b) sterillik, zararsizlik, faollik
- c) sterillik, zaharlilik, maxsuslik
- d) zararsizlik, immunagenlik, ferment hosil qilishi

3. Vaksina sterillikka qanday tekshiriladi.

- a) serologik reaksiyada
- b) laboratoriya hayvonini zararlab
- c) oziq muhitga ekib
- d) mikroskopiya usullarida

4. Vaksina va zardoblarni faolligini aniqlashdagi farqini ko'rsating.

- a) ikkala holatda ham avval hayvonni zararlab, keyin preparat yuboriladi
- b) vaksinani yuborishdan oldin, zardobni yuborishdan keyin hayvon gomologik mikrob bilan zararlanadi
- c) farqi yo'q
- d) moyil hayvon emlangandan 15-20 kundan keyin, zardob esa 20-24 soatdan keyin gomologik mikrob bilan letal dozada zararlanadi

5. Diagnastikumlarga nimalar kiradi.

- a) antazardoblar, antigenlar, allargenlar, faglar,
- b) giperimmun zardoblar, suspenziya, eritrositlar, tuberkulin
- c) diagnostik to'plamlar, bo'yalgan antigenlar, normal zardob
- d) barcha biologik preparatlar

II - MODUL. VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANINING XUSUSIY QISMI

17-mavzu. Stafilokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Stafilokokklar – sharsimon shakldagi mikroorganizmlar bo'lib, *Staphylococcus* avlodiga mansub. Ularning 20 dan ortiq turlari bor. Hozirgi zamон klassifikatsiyasida patogenligi bo'yicha uch turga bo'linadi: *S.aureus* (80-rasm) – patogen; *S.epidermidis* – shartli patogen, teri va shilimshiq qavatlarda doimo uchraydi; *S. saprophyticus* – patogen emas stafilokokklar. Bu avlodning barcha turlari ichida hayvon va odamlarda har xil yiringli jarayonlarni – furunkul, karbunkul, flegmona, jarohatlarning yiringli yallig'lanishi, abscess, sepsis,

septikopiyemiya, stafilokokkli mastitni chaqiradigan shtammlari mavjud. Stafilokokklarning patogen shtammlari odamlarning oshqozon ichak tizimiga tushib, oziqa toksikoinfeksiyasini chaqiradi. Chiritish xususiyatiga ega saprofit stafilokokklar xomashyo va oziq mahsulotlarini buzilishiga olib keladi. Amaliyotda patogen (gemolitik) kokklar muhim ahamiyatga ega.

Patologik material. 1. Steril olingan jarohat ekssudati, yiring. 2. Mastitda 10-20 ml parenximali sut. 3. Sepsisda 5-10 ml fibrinsizlangan qon. 4. Zaharlanishda yem-xashak, qusgandagi modda. 5. O'lgan hay-vondan- parenximatoz organlardan bo'lakchalar.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda grammusbatt, spora, kapsula hosil qilmaydigan harakatsiz-kokklar (diametri 0,7-1,0 mkm, saprofiliali -2-4 mkm) ko'rindi. Ular to'p-to'p uzum shingili shaklida joylashadi (80-rasm).

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

Patmaterial – selektiv muhit tuz-qonli GPA (8-10% NaCl va 5% fibrinsizlangan qon qo'shilgan), GPB, GPA larga ekiladi. Ekmalar 37°C da termostatda 12-24 soat o'stiriladi. GPB-loyqalanib, ko'p cho'kma tushadi. Halqa yoki parda hosil bo'lishi mumkin. GPA da yumaloq, uncha tiniq bo'limgan, diametri 2-6 mmli koloniylar paydo bo'ladi (82-rasm). Ularning rangi pigment hosil qilayotgan stafilokokk turiga bog'liq ravishda oqish, sarg'ish, tillarang bo'lishi mumkin. Qonli agarda koloniya atrofida gemoliz zonasini hosil qiladi (82-rasm). Eritrotsitlarning lizisi bakteriya gemotoksini tiplariga bog'liq – a, b, c, d va h.k. Bu ekzotoksinlar antigenlik va immunogenlik xususiyatlarga, shuningdek, letal, nekrotik ta'sirga ega.

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

Stafilokokklarning DNK-aza faolligini aniqlash. Eritib, bir oz sovu-tilgan GPAga (pH 8,4 – 8,6) 1 – 1,5 mg/ml DNKning natriyli tuzi qo'-shiladi va 30 – 40 daqiqa suv hammomida qaynatiladi. 50 – 60°C gacha sovugach unga 0,8 mg/ml kalsiy xlorid aralashtiriladi va Petri kosa-chalariga 10 – 15 mldan quyib chiqiladi. Qotgandan so'ng 8 – 10 ta stafilokokk kulturasi belgilangan joylarga ilmoqni tegdirib ekiladi, 18 – 20 soat 37°C da o'stiriladi. Keyin kosachaga 4 – 5 ml xlorid kislotasi-ning 1 n eritmasini quyib, 2 – 3 daqiqa o'tgach to'kib tashlanadi. Koloniya atrofida tiniq hududninig paydo bo'lishi DNK-aza borligini ko'r-satadi. Patogen stafilokokklar DNK-aza faollikka ega bo'ladi (83-rasm).

Patogen va patogen emas stafilokokklarni farqlash uchun maxsus selektiv muhit-kristallviolet qo'shilgan GPA ga ekiladi (1 litr 3,5%li GPAga 3,3 ml 0,1%li kristallviolet qo'shiladi). Kristallvioletning bakteriostatik ta'siridan patogen emas stafilokokklar o'smaydi. Patogenlari esa binafsha yoki to'q sariq rangli koloniylar hosil qiladi.

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

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

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

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

Shularga asoslanib, yakuniy diagnoz qo‘yiladi. Patogen stafilo-kokklar uchun: gemoliz, mannitni parchalash, DNK-aza faollik, kristal-lviolet qo‘shilgan muhitda o‘sih, plazmokoagulatsiya reaksiysi, nekrotik xususiyati, letal toksini borligi xarakterli.

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

Nazorat savollari:

1. Stafilokokklarga tushuncha bering. Uning qanday turlarini bilasiz?
2. Stafilokokkli infeksiyalarda laboratoriyaga qanday patmaterial yuboriladi?
3. Stafilokokklarning morfologiyasini ayting.
4. Stafilokokklarning kultural xususiyatlarini tushuntiring?
5. Stafilokokklarning patogen va patogen emas shakllari oziq muhitida qanday farqlanadi?
6. Stafilokokklarning DNK-aza faolligi qanday aniqlanadi?
7. Stafilokokklarning patogenligini biosinov qo‘yish usulida aniqlash.
8. Patogen stafilokokklarning xarakterli xususiyatlarini ayting.

Test savollari:

1. Gram usulida bo‘yalgan preparatda stafilokokklarning ko’rinishi.

- a) gr - ,uzun zanjirlar ko’rinishida joylashgan kokklar
- b) gr +, to’p – to’p uzum shingili ko’rinishida joylashgan, harakatsiz kokklar
- c) gr +, ikki tomoni botiq, 2-4 tadan joylashgan harakatsiz kokklar
- d) gr +, spora, kapsula hosil qilmaydigan, bittadan, ikkitadan joylashgan sharsimon bakteriyalar

2. Stafilokokklar patogenligi bo‘yicha necha turga bo’linadi.

- a) 2
- b) 4
- c) 3
- d) 6

3. Stafilokokkli infeksiyalarda patmateriyal qaysi mikrobiologik usullarda tekshiriladi.

- a) barchasi to'g'ri
- b) mikroskopiya, serologiya, DNK aza faolligini aniqlash
- c) serologiya, biokimyoviy, mikroskopiya
- d) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov qo'yish

4. Patogen va patogen emas mikroblarni farqlash uchun ishlataladigan oziqa muhit qaysi.

- a) kristallviolet qo'shilgan GPA
- b) kriatallviolet qo'shilgan GPB
- c) glyukozali qonli agar
- d) GPJ, GPA, GPB

5. Stafilokokklar ajratadigan toksinlar qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan.

- a) gemolizin, neytrotoksin, zaharli ta'sir etadi
- b) gistotoksin, nekrotoksin, gemotoksin, leykosidin; enterotoksin, letal, nekrotik ta'sir etadi
- c) enterotoksin, neytrotoksin, spazmalizin

6. Stafilokokkli infeksiyalarda biosinov qaysi hayvonlarda qo'yiladi.

- a) dengiz cho'chqasi, oq sichqon
- b) oq sichqon, og'maxon
- c) quyon, mushuk bolasi
- d) barcha laboratoriya hayvonlarida

18-mavzu. Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Probirkalarda streptokokk kulturasi, patmaterial, probirkalarda zardobli GPB, glukozali GPA, Petri kosachalarida qonli GPA; sut (mastitli), yiring, qon yoki o'pka, taloq bo'lakchalari; Paster pipetkalari, spir

lampasi, kyuveta, pinset, qaychi, skalpel; 5 %li karbol eritmasi, tegishli jadvallar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko‘rsatmalar

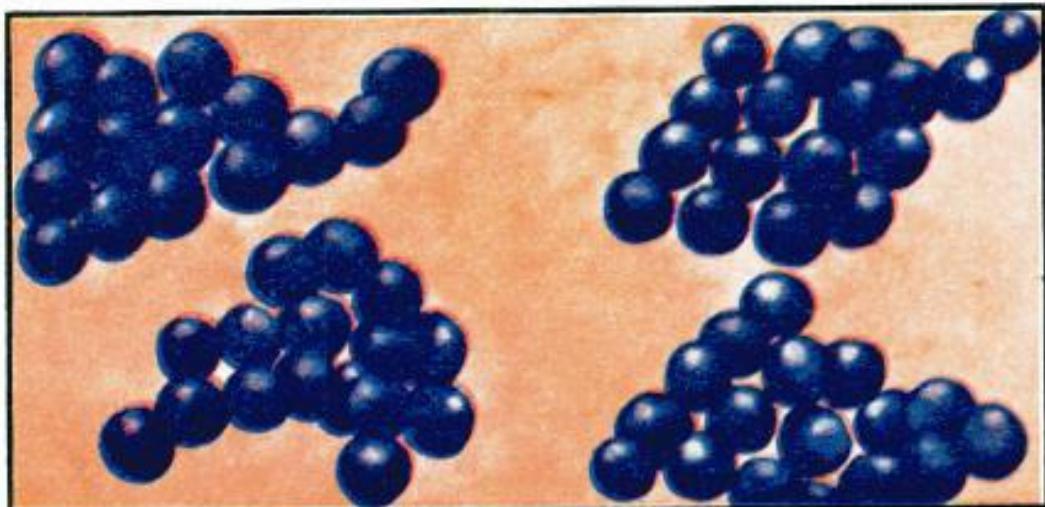
O‘qituvchi streptokokkli infeksiyalarda patologik material olish va laboratoriyyaga yo‘llashni tushuntiradi. Bakteriologik tekshirish tartibi va usullari bilan tanishtiradi. Talabalar: 1) mikrob kulturasi, patma-terialdan surtma tayyorlab – Gram usulida bo‘yaydilar va mikroskopda ko‘rib, daftariga yozadilar,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

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

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

Patologik material. Klinik namoyon bo‘lgan mastitda sut yelin-ning har bir zararlangan so‘rg‘ichidan alohida steril holda probirkalarga olinadi. Subklinik mastitda avval sut alohida idishga sog‘ib tashlanadi, keyin, yelinni yuvib 70° spirt bilan dezinfeksiyalanadi va steril har bir so‘rg‘ichdan alohida steril probirkalarga sutning oxirgi porsiyalaridan (parenximali sut) sog‘ib olinadi va og‘zi yopiladi. Namunani 2 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak.

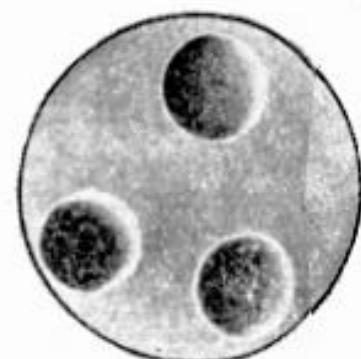
Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



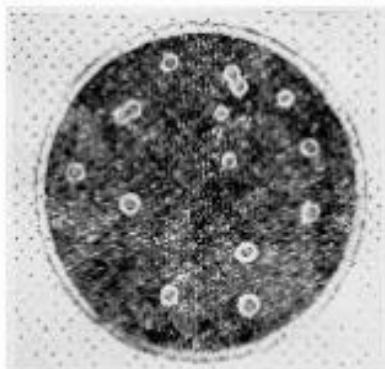
79-rasm. *Stafylococcus aureus* toza kulturada.\
Gram usulida bo'yagan.



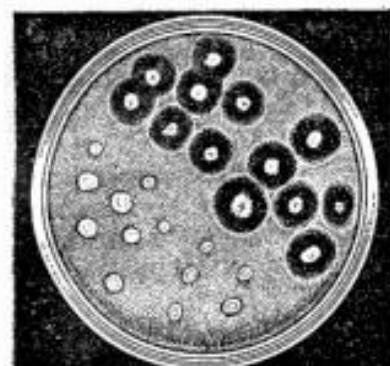
80-rasm. Stafilokokklarning
toza kulturasi.



81-rasm. GPAda
stafilokokk koloniyası.

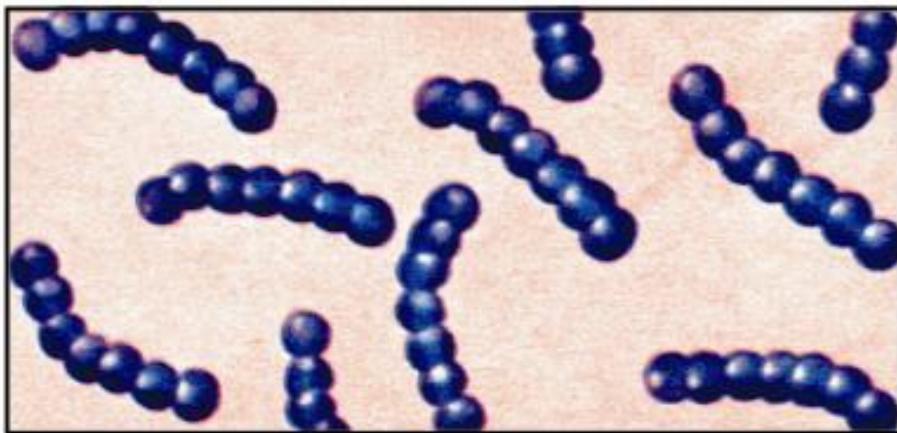


82-rasm. *Stafilococcus aureus* qonli
agarda gemoliz hosil qilgan.

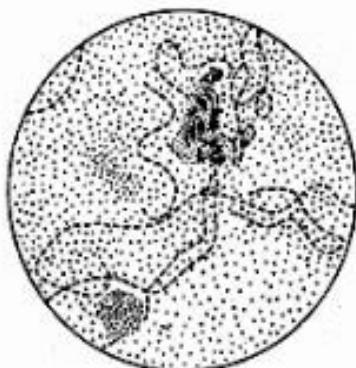


83-rasm. Stafilokokkning
DNK-azali faolligi.

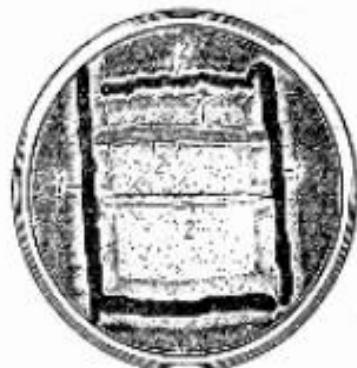
Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



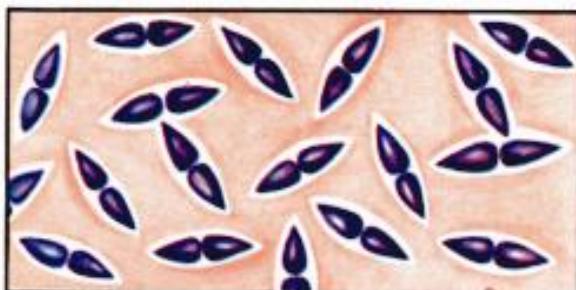
84-rasm. *Strepococcus* GPB dan tayyorlangan surtmada. Gram usulida bo'yalgan.



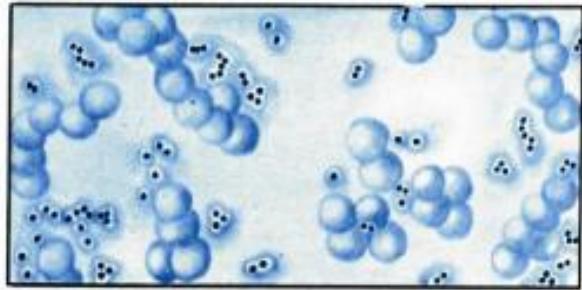
85-rasm. *S.agalactiace* petmaterialdan tayyorlangan surtmada.



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



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



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

Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi



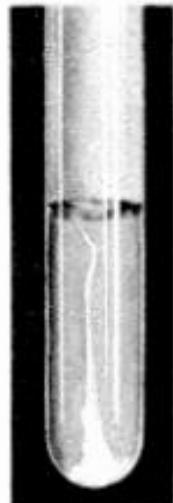
89-rasm. Pasterella GPB kulturasida tayyorlangan surtma.



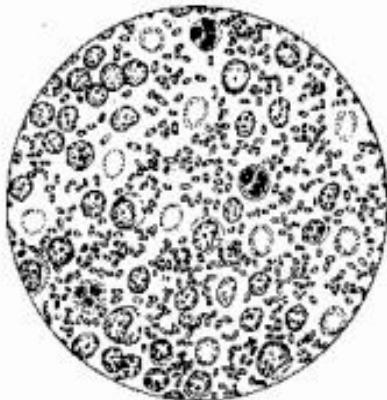
90-rasm. Pasterellaning S-shaklli koloniyasi-agarda.



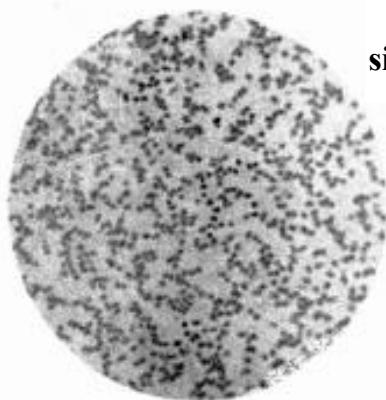
91-rasm. Pasterellaning R-shaklli koloniyasi-agarda.



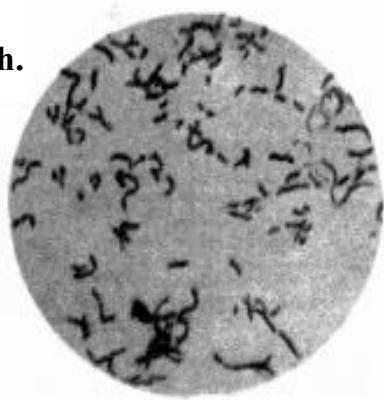
93-rasm. GPB da 2 sutkali pasterella cho'kmashini silkitgandan keyingi ko'rinish.



92-rasm. Pasterellalar. Patologik materialdan tayyorlangan surtmada.

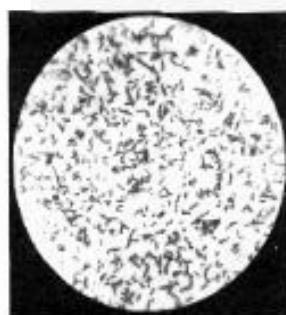
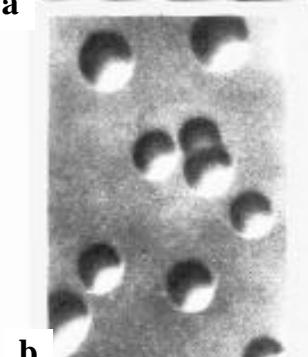
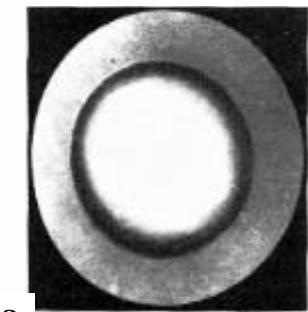


94-rasm. S-shaklli pastrella surtmasi.



95-rasm. R-shaklli pastrella surtmasi.

Cho‘chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi

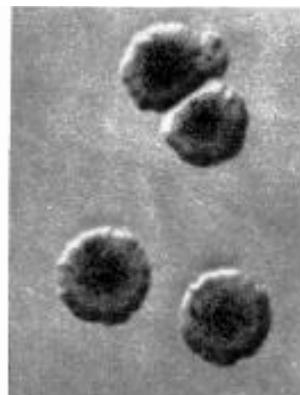


96-rasm. Mikrobynning S-shaklli koloniysi (a,b); kengish R-shaklli koloniysi undan tayyorlangan surtmada ko‘rinishi.

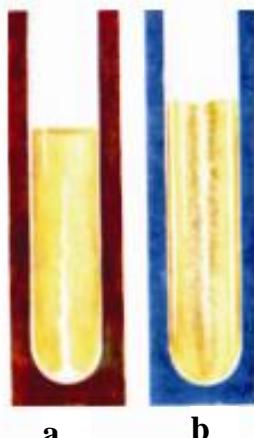
97-rasm. Mikrobynning R-shaklli koloniysi (a,b); undan tayyorlangan surtmada ko‘rinishi.



100-rasm. Saramas bilan kasallangan cho‘chqalar:
1-kasallilik o‘tkir kechganda o‘lgan; 2-yarim o‘tkir kechganda o‘lgan; 3-surunkali kechganda cho‘chqa terisining nekrozga uchrashi.



98-rasm. Oraliq O(SR)-shaklli mikrobynning eski koloniyalari pigmentli dog‘lari bor.



99-rasm. A-GPB da kulturani qoqib ko‘rganda «soch o‘rimi» singari ko‘tarilishi, b-mikrobynning GPJ da o‘sishi.



101-rasm. Yurakning uch tabaqali klapanida hosil bo‘lgan fibrinli to‘plamlar.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram, Gimza usulida bo‘yalgan surtmalarda *Str. agalactiae* grammusbat, kokklardan iborat uzun zanjirlar, agarli kulturadan tayyorlanganlari qisqa zanjirlar shaklida joylashadi. Kokklar diametri 0,5 – 1 mkm. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi (84, 85-rasm).

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

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

S.agalactiae ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun CAMP (KAMP) usuli ishlatiladi. Atama avstraliyalik olimlar Kristi, Atkins, Munx - Peterson nomlaridan olingan, Bu usul bitta kosachada qonli GPA gemolitik xususiyatlari yo‘qolgan yoki pasaygan B- guruh streptokokk-lari bilan gemolitik stafilokokklar yonma-yon ekilsa, ularning gemolitik xususiyati tiklanishiga asoslangan. Ekmalar 3 – 4 sutka 37°C da termostatda turadi (86-rasm).

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

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

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

1. Mikroskopiya. Yiringdan tayyorlangan surtmalarda *Str.equi* kokklardan iborat uzun zanjir shaklida joylashadi. Bulon kulturasidan tayyorlangan surtmada zanjirlar qisqa bo‘ladi, zich oziq muhitidan tayyorlanganlarida esa zanjirlar qisqa, hatto diplokokk ko‘rinishida joylashadi. Gram, Romanovskiy usulida bo‘yaladi. Qo‘zgatuvchi grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi o‘lchami 0,4-1 mkm.

2.Bakteriologiya. Qo‘zgatuvchi oddiy oziq muhitlarda o‘smanydi, zardob yoki fibrinsizlangan qon, qo‘shilgan muhit, Kitt – Tarossi muhitida o‘sadi. Suyuq muhitda probirka devorida, tubida mayda donachalar shaklida o‘sadi. Zardobli glukozali agarda shudringsimon yorug‘lik o‘tkazuvchi, mayda shilimshiq koloniylar shaklida o‘sadi. Qonli agarda β - gemoliz zonasini hosil bo‘ladi (102-rasm).

Biokimiyoviy xususiyati: sutni ivitmaydi, metilenli sutni rangsiz-lamaydi laktoza, sorbit, mannitni parchalamaydi. Soqov antivirusi qo‘shilgan muhitda o‘smanydi.



102-rasm. Qonli agarda streptokokklarning α , β , γ gemoliz hosil qilish xususiyatlari²⁷

1. ²⁷ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.56.

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

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

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

Mikroskopiya. Gram, Romonovskiy-Gimza usullarida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi juft, kapsulalarga o'rالgan kokklar shaklida joylashadi. U grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi. Kulturalarda kapsulalar hosil bo'lmaydi. Organlardan tayyorlangan surtmada ikkala kokkni o'rab olgan kapsula yaxshi ko'rinadi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda qisqa zanjir shaklida joylashadi (87, 88- rasm). Kokklarning o'lchami 0,5-1,5 mkm.

Bakteriologiya. *Str.pneumoniaye* 37°C da aerob va anaerob sharoitlarda o'sadi. Zardobli GPBda bir xilda loyqalanish, kamroq cho'kma hosil bo'ladi. Zardobli GPAda mayda shudringsimon koloniylar, qonli agarda gemoliz zonasini bor koloniylar hosil qiladi.

Patogen pnevmokokklar o't suyuqligida eriydi. Inulinni par-chalaydi (boshqa streptokokklardan farqi).

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

Biopreparatlar. Diplokokkli septicemiyaga qarshi vaksina buzoq, qo'zi, cho'chqa bolalaridan ajratilgan *Str.pneumoniaye* shtammidan tayyorlanadi. Kulturani yarim suyuq agarda o'stirib, 0,4%li formalin eritmasida inaktivlanadi, sterillik, zararsizlik (dengiz cho'chqalarida), faolligi (oq sichqonlarda) tekshiriladi. Assotsiatsiyalangan (polivalent) vaksina cho'chqa bolalari paratif, pasterelloz va diplokokkli septicemiyasiga qarshi *P.multocida*, *S.cholerasuis*, *Str.pneumoniaye* kulturalarini o'z ichiga olgan.

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

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

Nazorat savollari:

1. Streptokokklarga tushuncha bering.
2. Mastitda sut namunasini olish qoidasi.
3. CAMP usulini qo‘llashdan maqsad.
4. Mastit qo‘zg‘atuvchisining xususiyatlari.
5. Soqov qo‘zg‘atuvchisining yiring va kulturalardan tayyorlangan surtmalarda joylashish farqi.
6. Pnevmodokk septitsemyasi qo‘zg‘atuvchisining xususiyatlari, boshqa streptokokklardan farqi.
7. Hayvon va odamlar patologiyasida streptokokklarning rolini ayting?
8. Streptokokkli infeksiyalarda qanday biopreparatlar qo‘llanadi?

Test savollari:

1. Bergi klassifikasiyasi bo‘yicha streptokokklar qanday guruahlarga bo‘linadi.

- a) yuqori haroratga chidamli, psixrofil,
- b) mastit, soqov, diplokokkli septisemya qo‘zg‘atuvchilari
- c) yiringli, saprofit, abscess, flegmona paydo qiluvchi
- d) yiringli gemolitik, ko‘kartiruvchi, sut kislotali mezofil.

2. Yuqumli mastit qo‘zg‘atuvchisi qaysi

- a) Str.agalactiae
- b) Str.viridans
- c) Str.salivaris
- d) Str.lactis

3. *Str.agalactiae* ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun qanday usul qo'llanadi.

- a) mikroskopiya
- b) KAMP
- c) bakteriologiya
- d) serologiya

4. Soqov qo'zg'atuvchisini ajratish uchun qanday patmaterial ishlataladi.

- a) qirindi, teri namunasi
- b) parenximatoz organlardan namunalar
- c) abssessdan yiring, yiringli burun oqmasi
- d) ichak bo'lakchasi, taloq, ilik suyagi

5. Pnevkokkli septisemiya qo'zg'atuvchisining morfologiyasi qaysi bandda to'g'ri berilgan.

- a) grammusbat, spora hosil qiladi, kapsula hosil qilmaydi, harakatsiz kokklar.
- b) grammusbat, spora va kapsula hosil qiladi, harakatsiz kokklar.
- c) grammanfiy, spora va kapsula hosil qilmaydi, harakatchan kokklar.
- d) juft kokklar, kapsulali, grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi.

19-mavzu. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar GPA, GPB, qonli GPA da *P. multocida* ning kultural xususiyatlarini o'rGANIB, daftarga yozadi. Ushbu

kulturalardan surtmalar tayyorlab Gram, Leffler ko'ki bilan bo'yaladi, mikroskopda ko'rinishini – qo'zg'atuvchi rasmini chizib, daftarga yozadi. Patmaterialdan oziq muhitlarga ekadi. Tamg'ali surtmalar tayyorlab, Gram usulida bo'yaydilar. Mikroskopda ko'rinishini daftarlariga chizib oladilar. Glukozali, laktozali, saxarozali, sorbit, dulsitli Gissa muhitida qo'zg'atuvchining fermentativ xususiyatlarini natijasini o'rganadi.

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

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

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yagan surtmalarda qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, mayda, qisqa tayoqcha shaklida (0,25 -0,5 x 2 mkm), grammanfiy bakteriyadir. Leffler ko'ki yoki Gimza usulida bo'yagan surtmalarda pasterellalar bipolyar (bakteriyalarning uchlari intensiv bo'yagan) holda ko'rindi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikkitadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayoqchasimon bakteriyalar ko'rindi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shtammlari kapsula hosil qildi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rindi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (89, 90, 91, 92- rasm).

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

GPA da- pasterellalar mayda, silliq, bo'rtgan, tiniq, yumaloq, chetlari tekis (*S* –shakl) kulrang oq koloniylar (90-rasm), ba'zan yirik, shilimshiq (*M*- shakl)

yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (*R*- shakl) shaklida o'sadi (91-rasm). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

GPB da muhit bir xilda loyqalanib, shilimshiq cho'kma hosil qiladi (93-rasm). Qoqib ko'rganda cho'kma «o'rilgan soch» shaklida ko'tariladi (*S*- shakl), mukoid shtammlari intensiv o'sib, ko'p shilimshiq cho'kma hosil qiladi (*M*-shakl), *R*- shaklli shtammlarida muhit loyqalanmaydi, mayda donachali cho'kma hosil bo'ladi. GPJda avval alohida koloniyalar, keyin o'simtasiz oq sterjen kabi o'sadi

P. multocida glukoza, saxaroza, sorbit va mannitni gadsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Laktoza, dulsitni parchalamaydi, sutni ivitmaydi, indol hosil qilmaydi. Somatik va kapsulali antigenlari borligi aniq-langan.

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

Natija ijobjiy hisoblanadi:

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

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

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

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

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

Nazorat savollari:

1. Pasterellyoz qanday kasallik?
2. *P. multocidan*ing morfologik, tinktorial xususiyatlari.
3. *P. multocidan*ing kultural, fermentativ xususiyatlari.
4. Pasterellozga qachon ijobiy natija – diagnoz qo‘yiladi deb hisoblanadi.
5. Pasterellozga diagnoz qo‘yishda biosinovning ahamiyati.
6. Laboratoriyaga qanday patmateriallar yo‘llanadi?
7. Laboratoriyada patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
8. Quyonlar pasterella tashuvchanlikka qanday tekshiriladi?
9. Pasterellyozda qanday biopreparatlar qo‘llaniladi?

Test savollari:

- 1. *Pasteurella multocida* qaysi oziq muhitlarda yaxshi o’sadi.**
 - a) zardobli GPA, GPB, qonli GPA
 - b) GPA, GPB, Saburo agari
 - c) GPA, GPJ, Kitt-Tarossii
 - d) GPB, Saburo agari, Endo muhit
- 2. Pasterellyozda patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi.**
 - a) mikroskopiya, bakteriologiya, serologiya
 - b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov
 - c) serologik, biosinov, mikroskopiya
 - d) biosinov, Gissa muhitiga ekib, serologik

3. Pasterellyozda qaysi laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yiladi

- a) dengiz cho'chqasi, oq sichqon, kalamush
- b) quyon, oq sichqon, xo'roz
- c) quyon, oq sichqon, tovuq, o'rdak
- d) og'maxon, oq sichqon, o'rdak

4. Quyonlar pasterellatashuvchanligi qanday tekshiriladi

- a) qonini bakteriologik va serologik tekshirib
- b) uch kun terisiga 0,5% li brilliant yashili bilan ishlov berib
- c) terisi ostiga 0,2 ml 0,5% li brilliant yashilini suvdagi eritmasini yuborib.
- d) uch kun burniga 2 tomchidan 0,5% li brilliant yashilini suvdagi eritmasini burniga tomdirib

5. Pasterellyozga tekshirganda qaysi holda natija ijobiy hisoblanadi

- a) grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatsiz, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa
- b) grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatchan, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa
- c) qo'zg'atuvchini sof kulturasi ajratilsa, biokimyoviy xususiyatlari aniqlansa
- d) grammusbat, kapsula hosil qiladigan, harakatchan, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa

20-mavzu. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

Cho‘chqalar saramas kasalligi qo‘zg‘atuvchisi – *Erysipelothrix rhusiopathiae*. O‘tkir kechganda septit semiya, eritemali yallig‘lanish, surunkali kechganda endokardit, artrit, bilan namoyon bo‘ladigan yuqumli zooantropoz kasallik (100, 101-rasm). Uch oylikdan bir yoshgacha bo‘lgan cho‘chqalar, uch - to‘rt haftadan katta qo‘zilar kasallanadi. Boshqa tur hayvonlarda kasallik kam uchraydi. Odamlar ham kasallanadi.

Patologik material . Laboratoriya tekshirish uchun hayvonning jasadi yoki parenximatoz organlardan bo‘lakchalar (yurak, jigar o‘t xaltasi bilan, taloq, buyrak) ilik suyagi, yuboriladi. Kasallikning surunkali shakli gumon qilinganda yurakdan qon va endokard, artritda bo‘g‘in suyuqligi yo‘llanadi. Lozim bo‘lganda organ bo‘laklari 30% li glitserin yoki osh tuzining to‘yingan eritmasida konservatsiyalanadi. Ilik suyagini yumshoq to‘qimalardan ajratib, 2 – 3% li fenol eritmasi shimdirligda dokaga o‘raladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tamg‘ali surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo‘yaladi. Saramas qo‘zg‘atuvchisi spora, kapsula hosil qilmaydi, harakatsiz, grammusbat, bitta, ikkita yoki to‘p-to‘p bo‘lib joylashgan tayoqchasimon bakteriyalardir. O‘lchami 0,2-0,3 x 0,5-1,5 mkm. Ba’zi adabiyotlarda berilgan ma’lumotlarda uzunligi 2-2,5 mkm gacha. Zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada uzun iplar shaklida joylashadi (96,97-rasm). Fluorescentli zardoblar bilan ham bo‘yash mumkin. Lyuminissentli

mikroskopiyyada saramas qo‘zg‘a-tuvchisi intensivligi uch nishondan (+++) kam bo‘lmasa maxsus nur-lanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan GPB, GPA, GPJ larga ekiladi. Ekmalar 37°C da 18-24 soat termostatda o‘siriladi, o’sish bo‘lmasa, yana 24 soatga qoldiriladi. *E.rhusopathiae* aerob, mikroaerofil (5-10% CO₂ da yaxshi o‘sadi).

GPB da – muhit yengilgina loyqalanadi. 48-72 soatdan keyin tinib, probirka tubida cho‘kma hosil bo‘ladi (99 a-rasm). Qoqib ko‘rganda nozik bulut shaklida ko‘tariladi.

GPA da saramas qo‘zg‘atuvchisi mayda, shaffof, shudringsimon koloniylar hosil qiladi (*S-* shakli). *R-* shaklda – yirik, yuzasi notekis, chetlari o‘simgiali koloniylar –(kasallik surunkali o‘tganda) paydo bo‘ladi. Ba’zan oraliq koloniylar ham hosil bo‘ladi (96,97,98-rasm).

GPJ ga tik ekilganda uni suyultirmaydi, bir necha kundan keyin «yumaloq sim cho‘tka» shaklida o‘sadi (99 b-rasm).

Biokimiyoviy xususiyatlari – saramas qo‘zg‘atuvchisi vodorod sul-fid ajratadi, katalaza hosil qilmaydi. Glukoza, laktoza, galaktozalarni parchalab kislota, gaz hosil qiladi, saxaroza, mannit, salisinni parcha-lamaydi.

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

3. Biosinov. Kabutar va oq sichqonlarda qo‘yiladi. Kabutarlar to‘shiga 0,2 – 0,3 ml dozada, 16-18g li oq sichqonlar terisi ostiga 0,1 – 0,2 ml dozada patmaterial suspenziyasi yoki GPA da o‘sirilgan 1-2 sutkali kultura suspenziyasi yuboriladi. Ijobiy natijada zararlantirilgan kabutarlar 3 - 6 sutka, oq sichqonlar 2-4 sutkadan keyin o‘ladi. Biosinov 7 kun kuzatiladi.

Diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi:

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

2. Patmaterialdan qo‘zg‘atuvchiga xos xarakterli xususiyatlari kultura ajratilsa;

3. Biosinovdagi hayvonlar o‘lsa va organlaridan saramas qo‘zg‘a-tuvchisi kulturasi ajratilsa (hatto birlamchi qo‘zg‘atuvchi ajratilmasa ham).

Biopreparatlar. Cho‘chqalar saramas kasalligiga qarshi konsentrangan gidrookisaluminli formolvaksina.

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

Cho‘chqalar saramas kasalligiga qarshi quruq liofillangan tirik vaksina .VR – 2 vaksina shtammi kulturasidan tayyorlangan.

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

Saramasning lyuminessensiyalovchi quruq zardobi bevosita immunofluoressensiya usuli uchun ishlab chiqilgan. Kultura va material-dan tayyorlangan surtmalarda qo‘zg‘atuvchini serologik qiyoslashga mo‘ljallangan.

Nazorat savollari:

1. Cho‘chqalar saramasi qanday kasallik?
2. Saramasga tekshirish uchun patmaterial olib, laboratoriyaga yo‘llash qoidasi.
3. Saramas qo‘zg‘atuvchisining morfologik xususiyatlari.
4. Saramas qo‘zg‘atuvchisining kultural xususiyatlari.
5. Saramas qo‘zg‘atuvchisining biokimyoviy xususiyatlari.
6. Saramas qo‘zg‘atuvchisini serologik farqlash usullari.
7. Saramasda biosinov qo‘yish usulini ayting.
8. Qachon cho‘chqalar saramasiga diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi.
9. Cho‘chqalar saramas kasalligida qo‘llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Saramas qo'zg'atuvchisi *Eryzipelothrix rhusiopathiae* zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada qanday ko'rinishda bo'ladi

- a) tayoqchalardan iborat kichik zanjirlar ko'rinishida
- b) uzun iplar shaklida
- c) bitta, ikkita, to'p-to'p joylashgan holda
- d) alohida joylashgan tayoqchalar ko'rinisida

2. Saramasda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi.

- a) quyon, oq sichqon
- b) dengiz cho'chqasi, kabutar
- c) oq sichqon, kabutar
- d) kabutar, quyon

3. *Eryzipelothrix rhusiopathiae* qaysi oziq muhitlarda o'sadi

- a) tuzli GPA, GPB
- b) GPB, Endo, Levin
- c) GPA, Ploskirev, Gelberg
- d) GPB, GPA, GPJ

4. *Eryzipelothrix rhusiopathiae* ni o'stirish uchun optimal harorat qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan

- a) aerob, mikroaerofil, 37°C da 18-24 soat o'stiriladi
- b) aerob, 41°C da 18 soat o'stiriladi
- c) anaerob, 35°C da 48 soat o'stiriladi
- d) anaerob, $37\text{-}38^{\circ}\text{C}$ da 16-18 soat o'stiriladi

5. Saramasga qachon diagnoz qo'yidi deb hisoblanadi

- a) patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasи ajratilsa, surtmalarda xarakterli morfologik xususiyatlari bo'lsa
- b) lyuminissent mikroskopiyada qo'zg'atuvchi topilsa, sof kultura ajratilsa, biosinov natijasi ijobiy bo'lsa
- c) lyuminissent mikroskopiyada qo'zg'atuvchi topilmasa ham, patmaterialdan sof kultura ajratilsa
- d) mikroskopik va serologik tekshirish natijalari ijobiy bo'lsa

30 - m a v z u. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

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

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

Patologik metarial. Yangi o‘lgan hayvon jasadi yoki ilik suyagi, jigar bo‘lakchasi o‘t xaltasi bilan, taloq, buyrak, yurak, ichak limfa tugunlari, ingichka ichak bo‘lagi ikki tomondan boylangan holda (u boshqalaridan bo‘lak idishga joylanadi). Materialni 4 soat ichida laboratoriya yuborish kerak. Masofa uzoq

bo'lsa 30 % glitserin, 10 %li osh tuzida konservatsiyalash mumkin. Kasal hayvonning to'g'ri ichagidan tezagi olinadi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaldi. Qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, grammanfiy (pushti – qizil rang) tayoqchasimon bakteriyalar; spora hosil qilmaydi; uzunligi 1 – 3 mkm, eni – 0,8 mkm (102-rasm). Bittadan joylashadi. Faqat 08, 09, 0101 shtammlari kapsula hosil qiladi. Harakatchan va harakatsiz turlari bor (104-rasm).

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

GPB – bir xilda loyqalanish, tez tarqovchi cho'kma hosil bo'ladi. GPA da 16–20 soatda namli, yumaloq chetlari tekis, yuzasi silliq, kulrang koloniylar hosil qiladi (103-rasm). Qonli GPA da koloniya atrofida gemoliz zonasini hosil bo'ladi (107-rasm).

Biokimiyoviy xususiyatlari – endo muhitida (105-rasm) uch xil: qizil qoramfir tovlanadigan, malina rangli pushti tovlanadigan va pushti koloniylar hosil qiladi (laktozaning parchalanishi hisobiga). Indol hosil qiladi, vodorod sulfid (H_2S) hosil bo'lmaydi, sutni ivitadi, metilrot bilan musbat, Foges – Proskauer bilan manfiy reaksiya beradi. Gissa rangli qatorda (106-rasm) glukoza, laktozani kislota va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sitrat tuzlarini o'zlashtirmaydi.

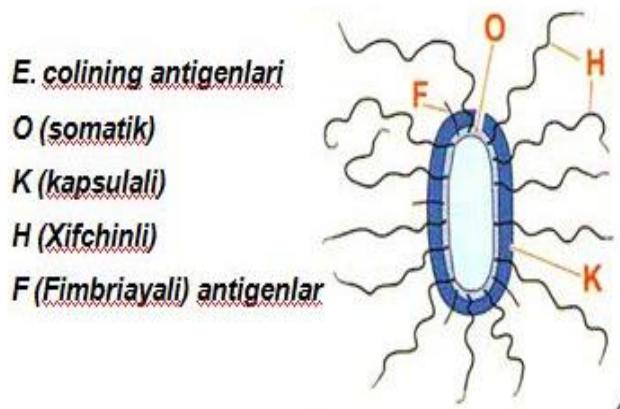
Ajratilgan kultura ARda tipospesifik agglutinatsiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizatsiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik «O», qobiqli «K», xivchinli «H» antigenlar farqlanadi (119-rasm). Biofabrikada faqat «O» antigenga diagnostik zardoblar ishlab chiqilgan. Shu bilan *E.coli* ning seroguruhi va serotiplari buyum oynasida tomchili usulda AR da aniqlanadi. AR ko'rsatma asosida qo'yiladi. Avval 4 ta polivalent zardob bilan, keyin monovalent zardoblar

bilan qo‘yiladi. Har bir polivalent zardobga – 8 – 10 tadan monovalent zardoblar kiradi.

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

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

3. Biosinov. Uchta oq sichqonning qorin bo‘shlig‘iga sutkalik *E. coli* kulturasi suspenziyasi 500 mln/ml konsentratsiyada yuboriladi. 5 sutka



109-rasm E.coli antigenlari²⁸

kuzatiladi. Shu vaqt ichida oq sichqonlarning bittasi o‘lsa ham natija ijobiy hisoblanadi. Zaharlilik xususiyatiga ega kultura Shvarsman fenomenida quyonlar terisi orasiga yuborganda nekroz o‘chog‘i paydo bo‘ladi (108-rasm).

Biopreparatlar. Cho‘chqa bolalari, buzoq va qo‘zilar kolibakte-rioziga qarshi polivalent gidrooksidaluminli formoltiomersal vaksina.

Mo‘ynali hayvonlar salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent vaksina.

VIEV koliprotektani.

Qishloq xo‘jalik hayvonlari kolibakterioziga qarshi polivalent zardob.

1. ²⁸ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

Agglutinatsiyalovchi O – koli zardoblar.

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

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

Buzoq, qo‘zi va cho‘chqa bolalarining kolibakterioz va salmonel-loz kasalliklariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina.

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

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

Nazorat savollari:

1. Kolibakterioz qanday kasallik?
2. Kolibakteriozga tekshirish uchun patmaterial olish va yuborish qoidasi.
3. Kolibakterioz qo‘zg‘atuvchisining morfologik xususiyatlarini ayting.
4. Kolibakterioz qo‘zg‘atuvchisining kultural xususiyatlarini ayting.
5. Kolibakterioz qo‘zg‘atuvchisining biokimyoviy xususiyatlarini ayting.
6. Serologik tipizatsiya o‘tkazishdan maqsad.
7. Differensial – diagnostik oziq muhitlarda *E.coli* ning o‘sish xarakterini ayting.
8. Kolibakteriozda ishlatiladigan biopreparatlarni ayting.

Test savollari:

1. Kolibakterioz qanday shakllarda namoyon bo’ladi

- a) teri, mushaklar zararlanishi, zaharlanish
- b) intoksikasiya, o’pkaning yallig’lanishi, shish
- c) septik, enterotoksemik, enterit
- d) septisemiya, o’pkaning yallig’lanishi

2. Kolibakteriozda kasal hayvondan olinadigan patmaterial

- a) ichagidan qirindi
- b) siydigi, qon, oqmalar

- c) sut, burun oqmasi
- d) to'g'ri ichagidan tezagi

3. E.coli ning morfologiyasi qaysi bandda to'g'ri berilgan

- a) grammanfiy, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora hosil qilmaydi
- b) grammusbat, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora hosil qilmaydi
- c) grammanfiy, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatsiz, spora hosil qiladi
- d) grammusbat, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora, kapsula hosil qilmaydi

4. E.coli ning qanday antigenlari farqlanadi

- a) O, H
- b) O, K, H
- c) K, O
- d) K, H

5. E.coli qanday oziq muhitlarda o'sadi

- a) Seyssler agari, Ploskirev muhiti
- b) Vismut sulfit agar, Kitt-Tarossii
- c) GPB, GPA, Endo
- d) qonli tuzli GPA, GPB

22 - m a v z u. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Probirkada GPA dan fiziologik eritma bilan yuvib olingan salmonella kulturasining suspenziyasi; steril oziq muhitlar – GPA, GPB,

Endo, Ploskirev agar, vismut-sulfit agar, diagnostik agglutinatsiyalovchi zardoblar. Har xil oziq muhitlarda o'stirilgan salmonella kulturalari, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar to'plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi: patmaterial olish va laboratoriya yuborish qoidasini tushuntiradi. Tekshirish usullarini aytib o'tadi. Qo'zg'atuvchining morfologik, kultural xususiyatlarini tushuntiradi. Ishlatiladigan biopre-paratlar bilan tanishtiradi.

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

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

Patologik material. Yangi o‘lgan hayvon jasadi yoki ilik suyagi, jigar bo‘lakchasi o‘t xaltasi bilan, buyrak, taloq, yurak, charvi limfa tugunlari; kasal hayvondan – tezagi; homila tashlagan hayvonlardan – tashlangan homila yoki oshqozoni va parenximatoz organlari, plasentasi ajratmalari olinadi.

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

2. Bakteriologiya. Patmateriallardan GPA, GPB va elektiv muhitlardan birortasiga – Endo, Ploskirev, Levin, vismut-sulfit agarga ekiladi. Muhitning pH 7,2 – 7,4. Ekmalar 37-38°C da bir sutka davomida termostatda o‘stiriladi. GPBda qo‘zg‘atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq , rangsiz, tiniq yoki kulrang-ko‘kimdir, chetlari tekis (*S* shakl), ba’zan kengish (*R* shakl) koloniyalar paydo bo‘ladi (110-rasm). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko‘kimdir koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (114-rasm). Harakatchanligi yarimsuyuq 0,2 – 0,3%li GPAga kulturani ekib aniqlanadi. *S.pullorum* (*S.gallinarum*) tik ekish yo‘lida sterjen kabi o‘sib, muhit yuzida parda hosil qiladi (111-rasm, o‘rtadagi probirka). Harakatchan kultura esa muhitning butun qalinligi bo‘yicha o‘sadi va u ham muhit yuzida parda hosil qiladi.

Fermentativ xususiyatlari. Salmonellalar glukoza, mannitni par-chalaydi, *laktoza, saxarozani parchalamaydi*, jelatinani eritmaydi, sutnu ivitmaydi, metilen ko‘kili sutni rangsizlamaydi, indol hosil qilmaydi, ko‘pchiligi vodorod sulfid (H_2S) hosil qiladi (112-rasm) *S.typhimurium* kulturasining rangli qatorda o‘sishi). Metilrot bilan musbat, Foges – Proskauer bilan manfiy natija beradi.

Serologik tipizatsiya uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasini avval polivalent salmonellozli agglutinatsiyalovchi «O» – zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (116-rasm). Ijobiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga

kiruvchi alohida monoreseptorli «O» – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin aynan o’sha kulturalar monoreseptorli «H» zardob bilan (I va II fazalari raqam va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tashqari immunofluorescent diagnoz qo‘yish usulini qo‘llash mumkin.

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

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

Biopreparatlar. Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrangan formolachchiqtoshli vaksina.

Cho‘chqa bolalari salmonelloziga qarshi vaksina – 50% *S.chole-raesuis*, 25% *S.typhimurium*, 25% *S.dublin* shtammlaridan tayyor-langan.

Cho‘chqalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaksina *S.chole-raesuis* ning TS-177 Shtammidan tayyorlangan.

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

Qo‘ylar salmonelloziga qarshi polivalentli formoltiomersalli vaksina.

Suvda suzuvchi parrandalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaksina.

Buzoq, cho‘chqa bolalari, qo‘zi va parrandalarning salmonelloziga qarshi polivalent antitoksinli zardob. *S. Dublin*, *S.typhimurium*, *S. abortus ovis* *S. choleraesuis* shtammlaridan iborat antigen bilan immunlangan hayvonlarning qonidan olinadi.

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

O‘zbekiston veterinariya ilmiy tadqiqot institutida mahalliy shtammlardan buzoq, qo‘zi va cho‘chqa bolalarining kolibakterioz va salmonellozlariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina va immun zardob yaratilgan.

Serologik tekshirish uchun salmonelloz antigeni – inaktivlangan salmonellalardan iborat gomogen suspenziya (miqdori $10^9/\text{ml}$), probir-kali AR uchun.

Pullorozli eritrositar antigen.

Parranda pullorozini tekshirish uchun rangli antigen. Formalin bilan o‘ldirib, kristallviolet bilan bo‘yalgan salmonellalarning gomogen suspenziyasi. Qon tomchili agglutinatsiya reaksiyasida parrandalar tirik vaqtida salmonellozga tekshirish uchun ishlatiladi.

Fluoresensiyalovchi salmonellozli O- zardoblar.

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

Nazorat savollari:

1. Salmonelloz qanday kasallik?
2. Salmonellozda patmaterial olish va laboratoriyaga yo‘llash.
3. Salmonellalarning morfologik xususiyatlari.
4. Salmonellalarning kultural xususiyatlari.
5. Salmonellalarning differensial – diagnostik muhitlarda o‘sishi.
6. Salmonellalarning serologik tipizatsiyasi.
7. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini ayting.
8. Salmonellyozda qanday biopreparatlar ishlatiladi?

Test savollari:

1. Salmonellyozda kasal hayvondan olinadigan patmateriallar qaysi bandda to’g’ri berilgan

- a) barcha ekskret va sekretlar, parenximatoz organlari
- b) tezak, siydik, qon, sut namunalari, parenximatoz organlari
- c) qon, sut, teri, ichak qirindisi, parenximatoz organlari
- d) tezak, plasenta, ajratmalar, tashlangan homila yoki uning oshqozoni, parenximatoz organlari

2. Salmonellalar qaysi oziq muhitlarda o'sadi

- a) GPB, GPA, elektiv muhitlarda
- b) GPJB, GPJA, eritrit agar
- c) Seyssler agari, Gissa muhiti, GPJ
- d) Gelberg, Petranyani, Vilson Bleyer muhitlari

3. Salmonellalar spora va kapsula hosil qiladimi?

- a) ha
- b) yo'q
- c) ikkalasi ham to'g'ri
- d) ba'zida

4. Salmonellalarning qaysi turi harakatsiz

- a) S. enteritidis
- b) S. typhimurium
- c) S. pullorum (gallinarum)
- d) S. choleraesuis

5. Salmonellalar laktzoza va saxarozani

- a) parchalab gaz hosil qiladi
- b) parchalaydi
- c) parchalab kislota hosil qiladi
- d) parchalamaydi

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

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

Material va jihozlar: kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisining vaksinali shtammi bilan zararlantirilgan oq sichqon jasadi, yorish uchun-steril asboblar; qo'zg'tuvchining GPA, GPB, GPJ da o'sgan kulturalari; steril Paster pipetkalari, probirkalarda steril GPA, GPB, GPJ, Ulengut probirkalari shtativi bilan,

presepitatsiyalovchi kuydirgi zardobi, normal zardob, bo‘yoqlar to‘plami, mikroskop, moyqalam, kyuveta, standart kuydirgi antigeni, fiziologik eritma, voronka, asbestli paxta, biopreparatlar, mavzuga oid jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

Kuydirgi kasalligi – qo‘zg‘atuvchisi *Bacillus anthracis* (*Basillus* avlodiga mansub). 1857-yilda Brauel ajratgan va o‘rgangan. U ko‘pchilik qishloq xo‘jalik, yovvoyi hayvonlar, shuningdek, odamlarda intoksikatsiya, isitma, septitsemiya, karbunkulalar paydo bo‘lishi bilan namoyon bo‘ladigan, o‘tkir yuqumli kasallik. Cho‘chqalarda tamoq limfa tugunlari zararlanadi – angionoz shakli. Kuydirgi kasalligiga gumon qilinganda jasadni yorish man etiladi.²⁹

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

²⁹ Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g. c.41.

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovskiy Gimza usullarida bo‘yaladi. Maxsus eritma 180 ml 96° etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiraladi. Qo‘zg‘atuvchi harakatsiz, grammusbat tayoqchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (115, 116-rasm). Tayoqchaning bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan bo‘ladi. Ko‘pincha cho‘chqalardan olingen patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qo‘zg‘atuvchining shakli o‘zgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yo‘g‘on, egilgan yoki donachali bo‘lib, o‘rtasi yoki ikki cheti shishgan bo‘ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturadan tayyorlangan surtmalarda *B.anthracis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (122-rasm). O‘lchamlari 1-1,3 x 3.0-10,0 mkm. Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani ta’kidlanadi.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan GPB, GPA larga (pH 7,2-7,6) ekib, 37 °C da termostatda 18-24 soat o‘siriladi, mikrob o‘smagan bo‘lsa, yana ikki sutka termostatda turadi. *B.anthracis* - aerob. GPA da silliq (120-rasm), sal xira, kulrang, kengish (*R*, *RO*, *O*-shakl) koloniylar hosil qiladi (117, 118, 119- rasm). Koloniyalarning markazi qorong‘ilashgan, chetlari bo‘yra-bo‘yra, jingalak sochdek bo‘ladi. Koloniylar mikroskopda ko‘rganda «meduza kallasi» yoki «sher yoli» shaklida ko‘rinadi.

GPB tiniq (shaffof) holda qolib, tubida yumshoq paxtasimon cho‘kma hosil bo‘ladi (121 a-rasm). Probirkani silkitib ko‘rganda cho‘kma mayda bo‘lakchalarga bo‘linadi yoki bulut kabi ko‘tariladi. Ba’zan kultura diffuz holda o‘sib (yengil loyqalanish), silkitganimizda muar to‘lqinlarini paydo qiladi.

Gumonli hollarda kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuvchisini saprofit basillalardan farqlash maqsadida uning harakatchanligi, gemolitik xususiyatlari aniqlanadi, lyuminissentli mikroskopiya, fagotiplash, «Marjon» testi o‘tkazilib, laboratoriya hayvonlari zararlantiriladi. Kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuvchisi – harakatsiz. GPJ da yuzaga yaqin joyda kislород yetarli bo‘lib, yoniga shoxlanib ko‘proq o‘sadi.

Chuqurlashgani sayin o'sish kamayib, shoxlanish qisqaradi, to'ncarilgan archa shaklida bo'ladi (121 b-rasm). 3-5 kun o'tib, jelatina eriydi va voronkasimon shakl paydo bo'ladi), qonli agarda gemoliz hosil qilmaydi (124-rasm), organizmda kapsula hosil qiladi, penitsillinga sezuvchan – «Marjon» testi ijobiy (123-rasm). 1 ml muhit tarkibida 0,5; 0,05 TB penitsillin bor GPA ga kultura ekiladi, 37-38 °C da 3 soat termostatda o'stiriladi, qo'zg'atuvchi hujayrasi marjon shakliga kiradi. Lyuminissentli mikroskopiya «OKVC» fluoressent kuydirgi zardobi yordamida o'tkaziladi. Bevosita yoki bilvosita fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llaniladi. Ijobiy natijada hujayra konturi to'rt yoki uch nishonga nurlanish beradi.

Fagotiplash: oqar tomchi usuli («Gamma - MVA» yoki «K» VIEV) kuydirgi bakteriofaglari bilan probirkalarda yoki mikrousulda bajariladi. 6 ta probirkadagi qiya GPA ga bir xilda tarqatib tekshiri-layotgan kultura ekiladi. 15 daqiqa 37 °C termostatga qo'yiladi. Keyin 4 ta probirkaga bir tomchidan fag agarning chetlaridan 8-10 mm qoldirib tomdirilib, shtativga qo'yiladi. 37 °C da 6-8 soatdan keyin fagolizis paydo bo'ladi, 12-18 soatdan keyin yanada ko'proq namoyon bo'ladi, ya'ni tomchining oqish yo'llarida kultura o'smaydi, uning atrofida kultura odatdagidek o'sib, «bordyur» shaklini beradi (135-rasm).

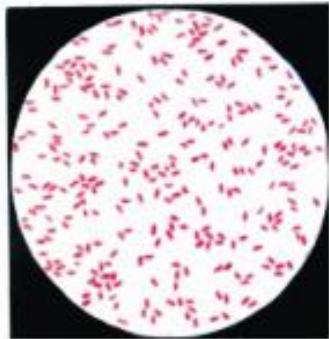
Unda boshqa tur mikroorganizm bo'lsa, kultura muhit sirtida bir xilda o'sadi va «bordyur» shakli hosil bo'lmaydi.

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

Serologik tekshirish (PR)

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

Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



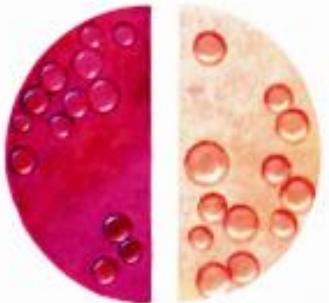
102-rasm. *E. coli* kulturasi – grammansiy kalta tayoqchalar.



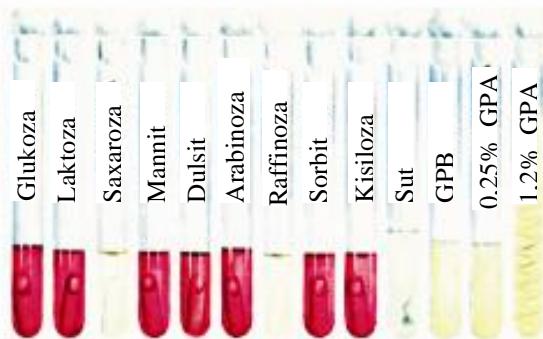
103-rasm. *E. coli* kulturasi GPA da.



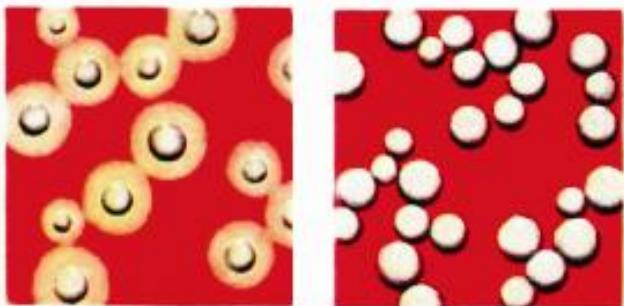
104-rasm. *E. coli*-uzilgan xivchinlari bilan. Elektronogramma.



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



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



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



108-rasm. Shvarsman fenomeni.

Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



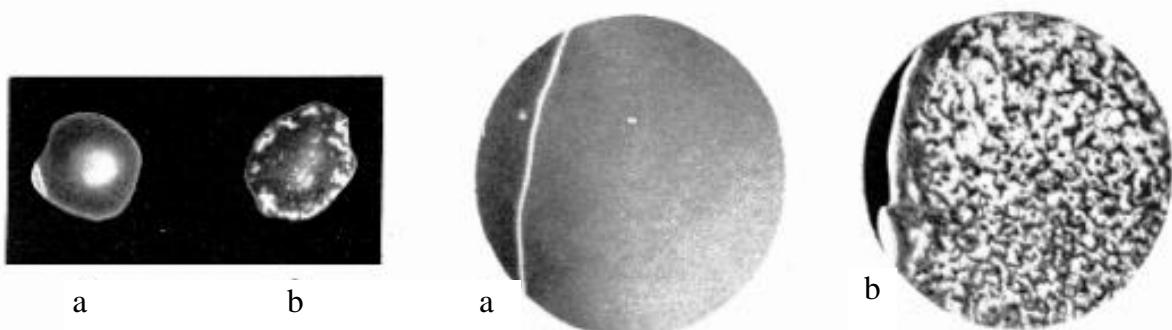
110-rasm. Salmonella koloniyalari. A) S-shaklda; b) R-shaklda.



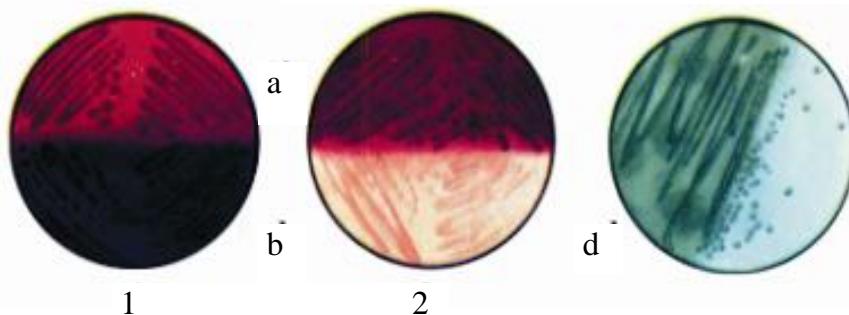
**111-rasm. Salmonella kulturasini
yarim suyuq GPA da o'sishi.**



**112-rasm. *S.typhimurium*
kulturasining «Rangli qatorda» o'sishi.**

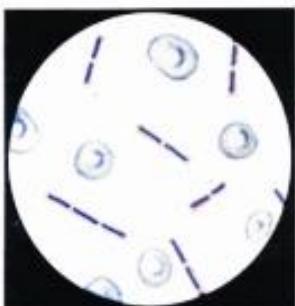


113-rasm. AR-plastinkada: a-manfiy; b-ijobiy.

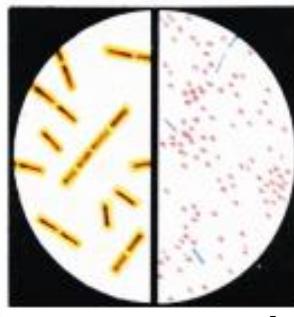


**114-rasm. *E. coli* (a) va
S. typhi (b) 1-lakmus-
laktozali agarda;
2-Endoda; *S. typi*
koloniyalari vismut
sulfit (d) agarda.**

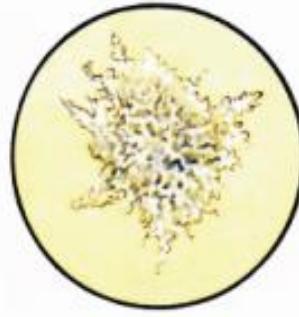
Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi



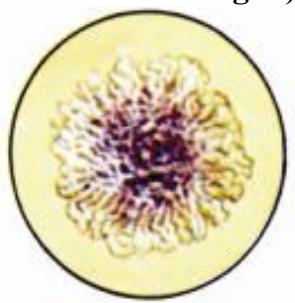
115-rasm. *Bac. anthracis* qondan tayyorlangan surtmada. Lyoffler usulida bo'yalgan (kapsula-pushti, basilla-ko'k rangda).



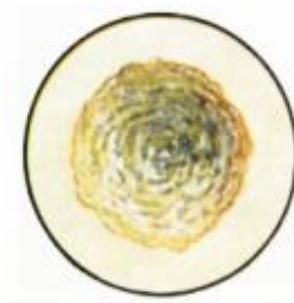
116-rasm. *Bac. anthracis* a-kapsulali mikrob, b-sporalari.



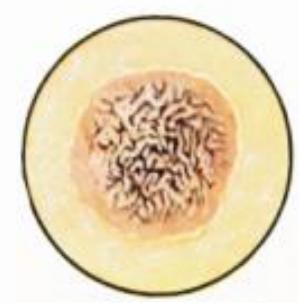
117-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



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



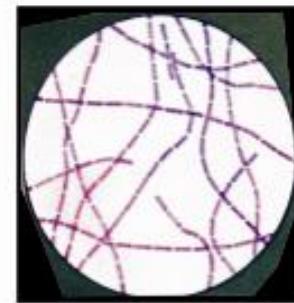
119-rasm. *Bac. anthracis* O-shakl koloniyasi.



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



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



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



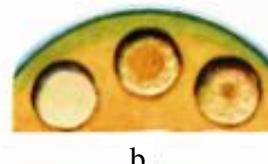
123-rasm. «Marjon» testi.



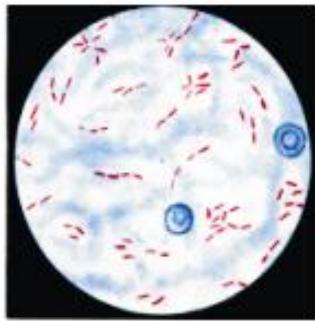
124-rasm. *Bac. anthracis* (chapda) va *Bac. anthracoides* (o'ngda) qonli agarda o'sishi.



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



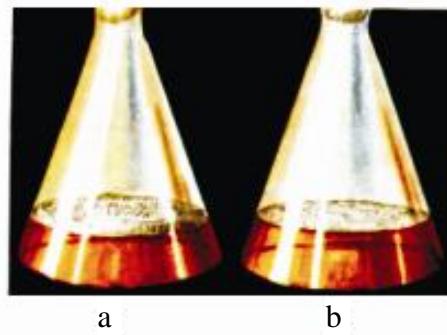
Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi



126-rasm. Tuberkuloz qo‘zg‘atuvchisi (Sil-Nilsen usulida bo‘yalgan).



127-rasm. Tuberkuloz kulturasini glitserinli kartofelda o‘sishi.



128-rasm. Tuberkuloz kulturasini glitserinli GPB da o‘sishi:
a-humanus; b-bovinus tipi.



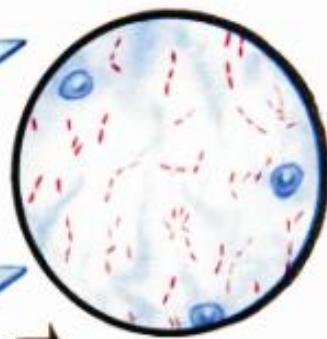
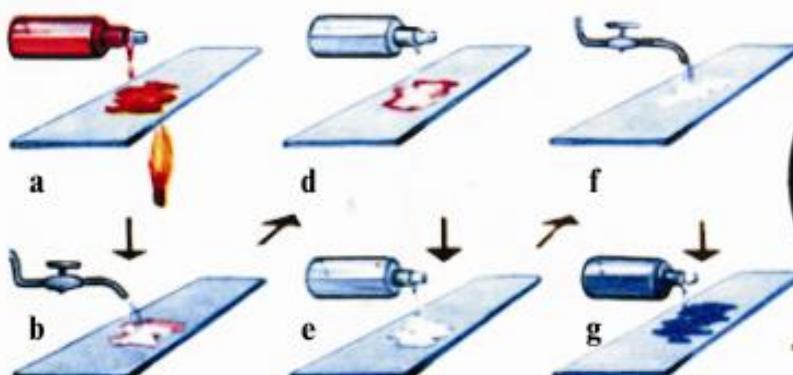
129-rasm. Tuberkuloz kulturasini Petranyani muhitida o‘sishi: chapdan-bovinus, humanus, avium tiplari.



130-rasm. Marjon (plevra tuberkulozida hosil bo‘lgan tuberkulalar).



131-rasm. Ohaklashgan lobulyar kazeoz.



132-rasm. Sil-Nilsen usulida bo‘yash.

a-sil fuksini bilan bug‘ paydo bo‘lgunicha olov ustida qizdirib bo‘yaladi; b-bo‘yoq suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e-avval spirt, keyin f-suv bilan yuviladi va g – metilin ko‘ki bilan bo‘yaladi.

Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko‘k rangga bo‘yaladi.

Teri – mo‘ynali xomashyolarni kuydirgiga tekshirishda pretsipi-tatsiya reaksiyasi muhim ahamiyatga ega. Materialdan namunalar germetik yopiq idishda tekshirish uchun laboratoriya yo‘llanadi.

Yakuniy diagnoz qo‘yiladi

- patmaterialdan kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuvchisi ajratilsa, zararlangan hayvonning hech bo‘lmasa bittasi o‘lib, undan kultura ajratilsa;
- patmaterial ekilgan oziq muhitlarda kultura o‘sib chiqmasa, lekin shu material bilan biosinov qo‘yilgan hayvonlarning hatto bittasi o‘lib, uning organlaridan qo‘zg‘atuvchi kulturasi ajratilsa;
- lyuminissent mikroskopiya musbat natija bersa va patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda kapsulali basillalar topilsa;
- aynigan (eski) materialdan, PR natijasi ijobiy bo‘lganda .

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

GNKI vaksinasi – GNKI etalon shtammidan tayyorlangan quruq, tirik vaksina. 1 mlda 5×10^7 tirik sporalari bor. Shtamm 55dan tayyor-langan kuydirgiga qarshi vaksina.

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

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

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

Kuydirgini standart antigeni pretsipitatsiya reaksiyasi uchun. Pretpitatsiyalovchi zardobning faolligini nazorat qilishda ishlatiladi. *B.anthracisni* inaktivlangan bakteriyalaridan olingan ekstrakt ko‘rini-shida bo‘ladi.

Lyuminessensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretpitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

Kuydirgining diagnostik bakteriofaglari. Bakteriofag bilan zarar-langan qo‘zgatuvchining bulonli kulturasi filtrati. Bakteriofag titri 10.

Nazorat savollari:

1. Kuydirgi qanday kasallik?
2. Kuydirgi kasalligida patmaterial olish qoidalarini tushuntiring.
3. Kuydirgi kasalligini laboratoriyada tekshirish usullari.
4. *B.anthracis* ning xususiyatlarini aytинг.
5. Kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuchisini «Marjon» testi yordamida qiyoslash.
6. Kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuchisini bakteriofag yordamida fagotiplash.
7. Kuydirgi kasalligiga yakuniy diagnoz nimaga asoslanib qo‘yiladi.
8. Kuydirgi kasalligida qo’llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Kuydirgi kasalligi gumon qilinganda jasadni yorish

- a) qat’iy man etiladi
- b) ruxsat etiladi
- c) qisman amalga oshiriladi
- d) ixtiyoriy

2. Kuydirgi kasalligida olinadigan patmateriallar

- a) parenximatoz organlardan bo’lakchalar, qon, ilik suyagi, limfa tugunlar
- b) quloq, qon, taloq, tomoq limfa tugunlari, biriktiruvchi to’qima bo’lagi
- c) zararlangan ichak bo’lakchasi, jigar o’t xaltasi bilan, buyrak, qon
- d) ajratmalar, balg’am, limfa tugunlar, qon, ilik suyagi, ichak bo’lakchasi

3. Kuydirgi kasalligida surtmalar qaysi usulda qotiriladi

- a) etil spirtida 20 daqiqa
- b) alanga ustida
- c) maxsus spirt - pergidrolli eritmada 30 daqiqa
- d) spirt – efirda 20 daqiqa

4. Kuydirgi kasalligi diagnostikasida “Marjon” testi uchun qaysi antibiotik ishlataladi

- a) eritromisin

- b) streptomisin
- c) tetrasiklin
- d) penicillin

5. Laboratoriya tekshiruvlarida kuydirgiga yakuniy diagnoz nimaga asoslanib qo'yiladi

- a) lyuminissent mikroskopiya, PR, biosinov natijasiga
- b) mikroskopiya, bakteriologik tekshirish natijasiga
- c) bakteriologiya, PR, mikroskopiya natijasiga
- d) "marjon" testi, "fagotiplash", mikroskopiya natijasiga

24 - m a v z u. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni patmaterialni tekshirish tartibi bilan tanish-tiradi, vazifa beradi.

- 1.Kulturalar aralashmasidan ikkitadan surtma tayyorlab bittasini Gram, ikkinchisini Sil-Nilsen usulida bo'yash.
- 2.Tayyor bo'lган surtmalarni mikroskopda ko'rib, natijasini daftarga yozish.
- 3.Biopreparatlar bilan tanishish.

Tuberkuloz (sil) – uy va yovvoyi hayvonlar, jumladan parrandalar va odamlarning surunkali yuqumli kasalligi bo'lib, har xil organ va to'qimalarda

o‘ziga xos tugunlar (tuberkulalar) hosil bo‘lishi bilan xarakterlanadi (130, 131-rasm). Qo‘zg‘atuvchisini 1882-yilda R.Kox ochgan. Hozirgi vaqtida 5 turdag'i tuberkuloz qo‘zg‘atuvchisi ma'lum.

- 1.Odamlarda – *Mycobacterium tuberculosis*
- 2.Qoramollarda – *Mycobacterium bovis*
- 3.Parrandalarda – *Mycobacterium avium*
- 4.Sichqonlarda – *Mycobacterium. microt (murium)*
- 5.Sovuqqonli hayvonlarda – *Mycobacterium poykiloothermorum* .

Qishloq xo‘jalik hayvonlari va odamlar patologiyasida *M.tuber-culosis*, *M. bovis*, *M. avium* turlari muhum ahamiyatga ega. Tuberkuloz asosan yashirin kechadi.

Kasal hayvонни vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.

Patologik material: *Kasal hayvonlardan* – burundan oqqan ajratma, balg‘am, traxeya shilimshig‘i, tezagi, siydk namunalari olinadi. *O‘lganidan-zararlangan* organ bo‘lakchalari, bronxial, tomoq, yelin usti, kurak oldi limfa tugunlari olinadi. O‘lgan parrandaning jasadi yubori-ladi. Patmaterial olishda aseptika, shaxsiy profilaktika, texnika xavf-sizligi qoidalariga rioya qilish shart. Patmaterial olingan zahoti labaratoriya yuboriladi. Buning imkonni bo‘lmasa 30–40% glitserinda kanservatsi-yalab yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

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

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

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

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

Mikroskopda kislotaga chidamli bakteriyalar – qizil (126-rasm); chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (diagnostika infeksiyonix i protozoynix bolezney selskoxozyastvennix jivotnix. Albom. M., Kolos, 1968, s.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug' paydo bo'lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislota bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirt (e), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (132-rasm).

Gram usulida bo'yagan surtmada grammusbat, tayoqcha shakldagi, uzunligi 1,5-5-6 mkm, diametri 0,3-0,6 mkm bakteriyalar ko'rindi. *M. tuberculosis* – ingichka, yengil egilgan, *M. bovis* – kalta, yo'g'on, *M. avium* – boshqalariga nisbatan mayda, polimorf tayoqcha. Surtmada bittadan, to'p-to'p bo'lib joylashadi. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi. Kulturadan tayyorlangan surtmada ipsimon uzun shakli ham uchraydi.

2. Bakteriologiya: Avval Gon yoki Alikayev usullaridan birida patmaterialga ishlov beriladi.

Gon usuli: Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan aralashtiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqiqasiga 3000 aylanma tezlikda 10-15 daqiqa sentrifuga qilinadi. Ekspozitsiya (kislotaning ta'siri) 20-30 daqiqadan oshmasligi kerak. Cho'kmadan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi. Biosinov uchun cho'kma 1-2 marta steril fiziologik eritma bilan yuviladi.

Alikayev usuli: Ko'pincha patmaterial yangi, kam ifloslangan bo'lganda qo'llaniladi. Patmaterial steril hovonchada $0,5\text{sm}^3$ kattalikda maydalanib, ustiga 10-8-6%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10-20 daqiqa turadi. Kislotaning ekspozitsiya vaqtiga va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10-20 daqiqadan keyin kislota to'kib tashlanib, o'rniga

fiziologik eritma quyiladi va 8 daqqa turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial hovonchada yaxshilab eziladi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5-6 probirka oziq muhitga ekiladi.

Ishlov berilgan patmaterial - elektiv: tuxum-kraxmalli, kartoshkali-glitselin-bulonli (127-rasm) – begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhitlarga ekiladi. Ko'pincha Petranyani (139-rasm), Levenshteyn-Iyensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Glitselinli GPB va GPA lari ham ishlatiladi (128-rasm).

Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi – aerob, sekin o'sadi (2-4 hafta va undan ko'proq). Glitselinli bulonda uzoq vaqt davomida (6-8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulozni aniqlashda foydalaniladi. Suyuq muhitda qo'zg'atuvchi 10-30 kundan keyin o'sib parda hosil qiladi.

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

3. Biosinov. Dengiz cho'chqasi chotining terisi ostiga 1ml, quyon-lar qulog venasiga 2ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1-2ml suspenziya yuboriladi. Kuzatish muddati 3 oy.

Biosinovga olingan hayvonlar oldindan tuberkulozga tuberkulin bilan allergik usulda tekshirilishi kerak. Manfiy natija bergenlarigina biosinov uchun ishlatiladi. O'lgan hayvonni yorib, xarakterli tuberkulalardan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi.

Qo'zg'atuvchilarini farqlash (tipizatsiya).

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

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

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

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3ta test o‘tkaziladi: 1.katalazali aktivlik-50% pergidrol eritmasi bilan gaz pufakchalari hosil bo‘lishi mm da o‘lchanib aniqlanadi. Saprofitlarda bu xususiyat yuqoriroq bo‘ladi. 2.Formamidaza aktivligi-formamid eritmasi va bir nechta kimyoviy moddalar bilan ishlov berilgan kulturali probirkada ko‘k halqa paydo bo‘ladi. Bu hol faqat saprofitlardagina namoyon bo‘ladi. 3.Dorilarga sezgirligi-tuber-kulostat preparatlar (streptomitsin, ftivazid, PASK va h.k.) qo‘shilgan oziq muhitda o‘rganiladi.

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

Biopreparatlar. BSG vaksinasi – *M. Bovis* vaksina shtammini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sutevizuvchilar uchun.

Alttuberkulin, sutevizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

Nazorat savollari:

1. Tuberkuloz qanday kasallik?
2. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterial olish?
3. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterialga qanday usullarda ishlov beriladi?
4. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
5. Mikobakteriyalarining morfologik-tinktorial xususiyatlari?
6. Mikobakteriyalar qanday oziq muhitlarda o‘sadi?
7. Mikobakteriyalarni farqlash (tipzatsiya) ni aytib bering?
8. Tuberkulozda qanday biopreparatlar qo’llanadi?

Test savollari:

1. Tuberkulyoz qo'zg'atuvchisining nechta turi bor?

- a) 4
- b) 5
- c) 3
- d) 2

2. Tuberkulyoz qo'zg'atuvchisi nega oddiy usulda bo'yalmaydi ?

- a) spirtga chidamli, sitoplazmasi zich, yadrovi shakllangan, donador
- b) kislota chidamli, qobig'i qalin, sitoplazmasi zich
- c) kislota, spirt, ishqorga chidamli, qobig'ida steorin kislotalari, mumsimon moddalar bor
- d) ishqorga chidamli, sitoplazma va yadrovi o'zgargan, donador

3. Kislotaga chidamli bakteriyalar qaysi usulda bo'yaladi

- a) Mixin
- b) Gram
- c) Kozlovskiy
- d) Sil-Nilsen

4. Tuberkulyozda patmaterialga ishlov berish - Gon va Alikayev usullarining farqi

- a) Gon usulida patmaterialdan suspenziya 10-12% li H_2SO_4 eritmasida tayyorlanib sentrafugalanadi. Alikayev usulida patmaterial $0,5sm^3$ o'lchamda maydalaniib 10-8-6% li H_2SO_4 eritmasida 10-20 daqiqa turadi
- b) Gon usulida patmaterialga H_2SO_4 eritmasining ta'sir ekspozisiyasi 30 daqiqa, Alirayev usulid 10 daqiqa
- c) Har xil foizli H_2SO_4 eritmasi ishlatiladi
- d) Suspenziya uchun olingan patmaterialning miqdori bilan farq qiladi

5. Tuberkulyoz qo'g'atuvchisi qaysi oziq muhitlarda o'sadi.

- a) Tuxum-kraxmalli, Lyuboshenko, Ulengut, Kitt-Tarossi
- b) Tuxum-kraxmalli, Petranyani, Levenshteyn Iyensen, Gelberg, gliserinli GPB, GPA

- c) Qonli glyukozali agar, glyukoza zardobli agar, GPB, GPA, Endo
- d) Zardobli agar, bulon, Levin, Ploskirev, Kessler.

25 - m a v z u. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Kozlovskiy, Gram usullarida ishlataladigan bo‘yoqlar, Rozbengal-namuna uchun-brutselloz antigeni, sut halqali AR-uchun brutselloz antigeni, probirkalarda qoramol qon zardobi ijobiy, normal, sinovli. Yangi sog‘ilgan sut (probirkada), pipetkalar 1, 0,1ml hajmli, reaksiya (RBN) uchun plastinalar, probirkalarda-brutsella kulturasi suspenziyasi, aralash kulturalar: jadvallar, biopreparatlar, tayyor Gram, Kozlovskiy usullarida bo‘yalgan surtmalar, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

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

Qo‘zg‘atuvchisi – *Brusella* avlodiga mansub.³⁰ 6 ta turdan iborat: *melitensis* (qo‘y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (cho‘chqalarda), *ovis*

³⁰ Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g. c.113.

(qo‘chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotoma* (kalamushlarda). Brusella ovis – qo‘chqorlarda infeksion epidedimit kasalini **chaqiradi**.

Patologik material. *Kasal hayvondan* tashlangan homila, homila pardasi bilan yoki ikki tomoni bog‘langan homila oshqozoni, jigar va taloq bo‘lakchalari (133-rasm); gigroma moddasi, sut - (yelinni yuvib, 70° spirtda dezinfeksiyalab, keyin har bir so‘rg‘ichdan alohida steril probirkalarga oxirgi porsiyalardan 10-15ml olinadi). Qo‘y va echkidan esa, sut yelindan shpris ignasi bilan steril holda olinadi. Sut, namuna olingan kuni tekshirilishi kerak. Imkonи bo‘lmasa, borat kislotasi bilan 10ml sutga 0,1gr miqdorda konservatsiyalanadi.

Qo‘chqorlardan (so‘yilganda) urug‘don xaltasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial bo‘lak selofan, pergament qog‘oz-larga alohida o‘ralib, suv o‘tkazmaydigan idishga (polietilen paket, yashik, banka) joylanadi. Homila tashlagan hayvonlar qonini albatta tekshirish shart (homila tashlagandan bir hafta keyin). Patmaterialni laboratoriyaga yo‘llanma bilan mutaxassis olib keladi

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usullarida bo‘yaladi. Brusellalar–mayda, tayoqcha yoki kokksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6-1,5mkm, diametri 0,3-0,5mkm, grammanfiy, harakatsiz, spora hosil qilmaydi, surtmada bittadan, ikkitadan yoki to‘p-to‘p bo‘lib joylashadi. Kozlovskiy usulida bo‘yalgan surtmalarda-brusellalar qizil, boshqa mikroblar yashil rangda bo‘ladi (137-rasm).

Ye.V.Kozlovskiy bo‘yash usuli (1936): fiksatsiya qilingan surtma-ga 2 % li safranining suvdagi eritmasini quyib, pufakcha hosil bo‘l-guncha qizdiriladi, keyin suv bilan yuvib, qo‘srimcha 0,75% - 1 % li malaxit ko‘ki bilan 30 sekund bo‘yaladi. Brusellalar qizil rangda, boshqa bakteriyalar va to‘qima hujayralari yashil rangga bo‘yaladi.

2.Bakteriologiya. Brusellalar maxsus oziq muhitlarda o‘sadi: go‘sht-peptonli jigarli bulon (GPJB), jigar-glukoza-glitserinli agar (JGGA) va bulon (JGGB), eritrit-agar, zardobli-dekstrozali agar va h.k. Patmaterialdan bir probirka

bulon, ikki probirka agarga, oshqozondan ikki probirka bulon, beshta probirka agarga ekiladi.

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

Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari esa yarmi 10-15% karbonat angidridli, qolganlari odatdagi atmosferada o‘stiriladi (134, 135-rasm).

Ekmalar 30 kun termostatda 37–38°C o‘stiriladi.

Zich oziq muhitda – mayda, tiniq, bo‘rtgan, yumaloq, yaltiroq, yu-zasi silliq (*S*-shakl) va ko‘kimir tovlanadigan (*R*-shakli ham uchraydi) koloniylar hosil qiladi. Uzoq o‘stirilganda koloniylar xiralashib, pigment hosil bo‘lishi bilan – qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

Suyuq oziq muhitda bir xil loyqalanish, ko‘kimir tovlanadigan halqa hosil qiladi, keyin kamroq cho‘kma tushadi. Ko‘proq ifloslangan materialni ekish uchun 1:800000 kristallviolet yoki antibiotik qo‘shilgan muhitga ekiladi (136 a, b-rasm). Ularda begona mikroflora o‘smaydi, kristallvioletli muhitda brusellalar ko‘kimir, yaltiroq, silliq, yumaloq koloniylar ko‘rinishida o‘sadi.

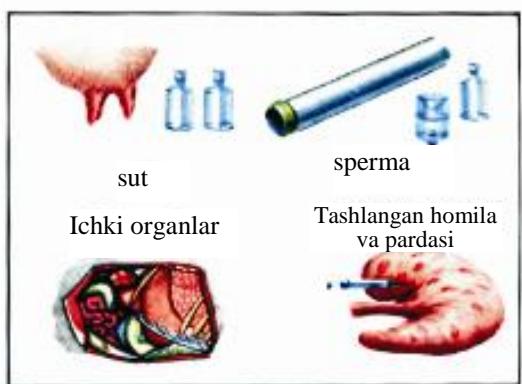
Brusella turlarini farqlashning bakteriostatik usuli. Brusellalarning oziq muhitga qo‘shilgan bo‘yoqqa munosabati inobatga olinadi. Go‘sht peptonli jigarli agarga alohida probirkalarda – fuksin (1:25000), tionin (1:50000-1:100000) aralashtiriladi.

Ularga brusellalarning sof kulturasi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhitda, *B.abortus* tioninli muhitda o‘smaydi. *B.melitensis* ikkala bo‘yoqlar qo‘shilgan muhitda o‘sadi.

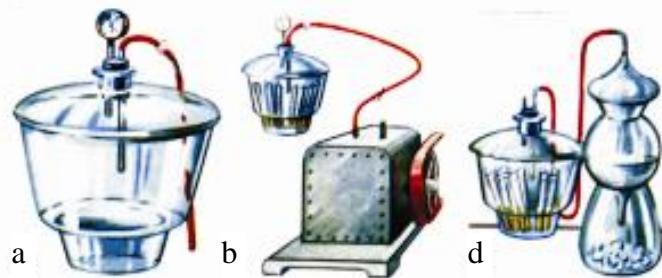
3. Biosinov. Avval 350-400 grammlı dengiz cho‘chqalari yuragidan qon olib, zardobi AR usulida brutsellozga tekshiriladi. 1:5 nisbatda manfiy natija olinsagina ularda biosinov qo‘yish mumkin.

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho‘chqalari sonining ichki tarafiga terisi ostiga yuboriladi. 15, 25, 40 - kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brutsellozga tekshiriladi. 1:10 va undan yuqori nisbatlarda musbat natija olinsa, keltirilgan

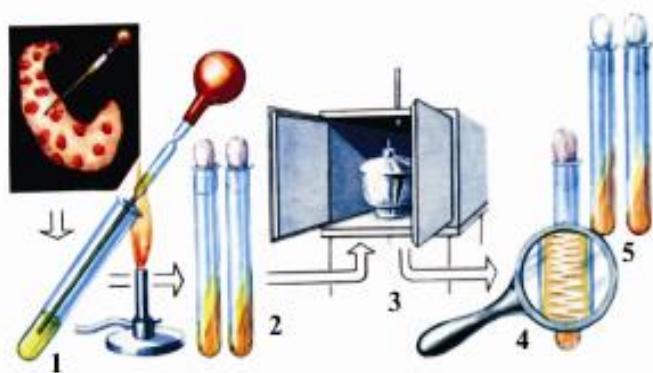
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi



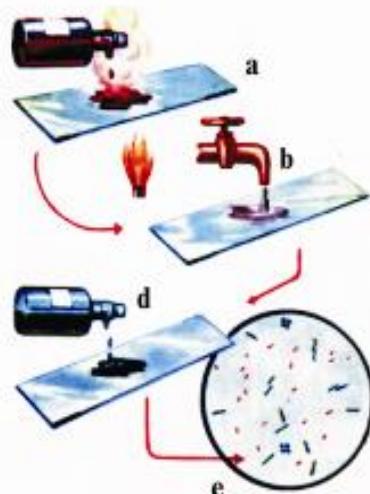
133-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



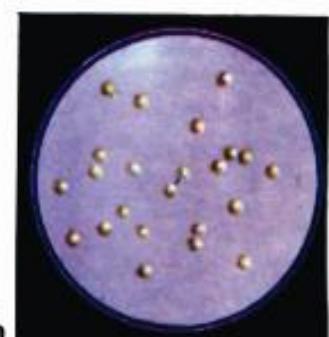
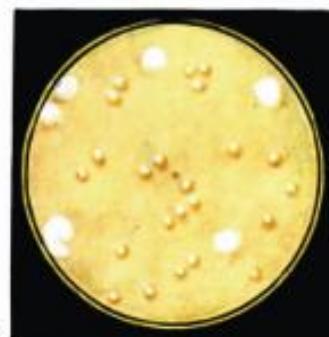
134-rasm. a-brutselloz kulturasini o'stirish uchun eksikator, b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikatorda, d-KIPP apparati yordamida uglekislota hosil qilish.



135-rasm. Ekish, o'stirish va brusella kulturasini ko'rish sxemasi

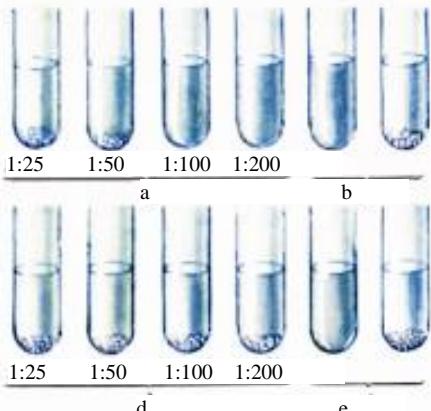


137-rasm.
Brusellalarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtma 2% li safranining suvdagi eritmasi bilan bug' hosil bo'lguncha qizdirib bo'yaladi (a), bo'yoq suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li metilin ko'ki yoki malaxit yashili bilan bo'yaladi (d). Brusellalar qizil, boshqa mikroblar ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (e).

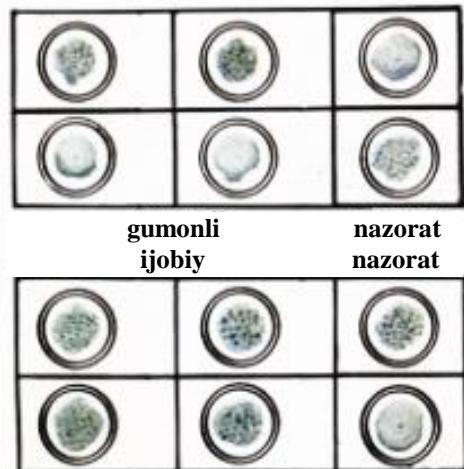


136-rasm. Brusella koloniysi:
a-jigarli agarda; b-kristall violet buyog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (begona mikroflora o'smagani).

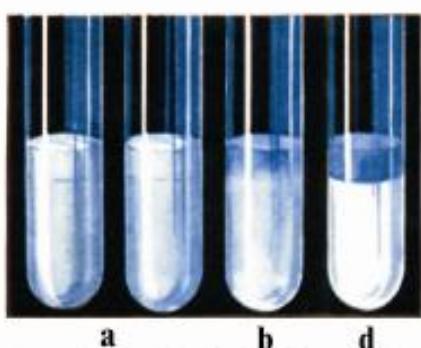
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



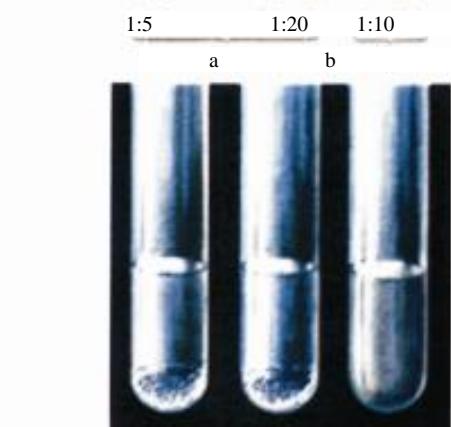
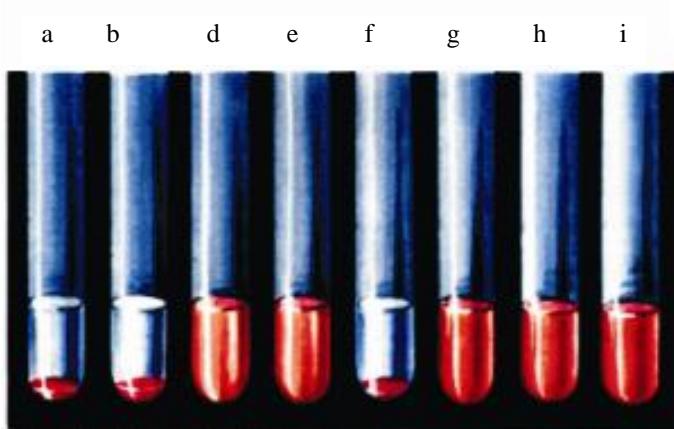
138-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol).
a-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; e-nazorat.



139-rasm. Plastinkali ARni baholash.



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



141-rasm. AR urug‘ plazmasi bilan:
a-ijobiy; b-manfiy.

142-rasm. KBR. Zardob 1:5 va 1:10
(a,b), zardob 1:5 nazorat (d), umumi nazorat uchun: e) normal zardob+ kompliment+antigen+gemsistema;
f) ijobjiy zardob+kompliment+ antigen+gemsistema; g) antigen+ kompliment+gemsistema+fiziologik eritma; h) gemsistema+fiziologik eritma; i) ijobjiy zardob+kompliment+ fiziologik eritma.

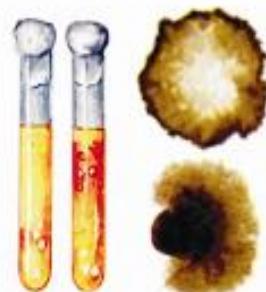
Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi



143-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi muhitidan tayyorlangan surtmada.



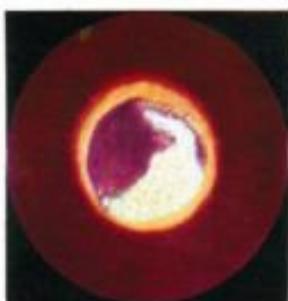
144-rasm. *Cl. Chauvoei* xifchinli tayoqcha. Elektronogramma x20000.



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



146-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi muhitida o'sishi.



147-rasm. *Cl. Chauvoei* qandli qonli agarda: a-silliq yumaloq koloniya gemolizi bilan; b-uzum bargi shaklida; d-hoshiyali koloniylar.



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

149-rasm. Biosinov buzoqda. *Cl. Chauvoei* kulturasi mushakka yuborib zararlangan.

patmaterialdan kultura ajratilmasa ham, tekshirish natijasi ijobiy hisoblanadi. Biosinov ikki oy kuzatiladi. Ajratilgan barcha kulturalar ish yakunida avtoklavda 1,5 AT 1soat avtoklavlab, yo‘q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan (138, 139, 140, 141, 142-rasm) AR, KBR, UKBR, RBN, sut halqali AR qo‘yiladi. AR 1 ml hajmda 4 ta nisbatda qo‘yiladi. Qo‘y, echki, ohu, itlar qon zardobi 1:25 dan 1:200 gacha (ijobiy natija ikki nishonga 1:50 va undan yuqori titr). Y.sh.m, ot, tuyalarda 1:50 dan 1:400 gacha (ikki nishonga 1:100 va yuqori titr ijobiy). Dengiz cho‘chqasi va mo‘ynali hayvonlarda 1:10 dan 1:80 gacha (ikki nishonga 1:10 va yuqori titr ijobiy).

RBN. 0,3 ml zardob maxsus emalli plastinkalar o‘yiqchalariga quyiladi. Ustiga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo‘yalgan brutselloz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, aralashtiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar, fiziologik eritma bilan reaksiya qo‘yiladi. Ijobiy natijada pushti rangda agglutinat paydo bo‘ladi. Ijobiy natija bergen zardoblar namunasi AR, KBR da qayta tekshiriladi.

Sut halqali reaksiya. Probirkaga 2-3 ml yangi sog‘ilgan sut quyib, unga gemotoksilin bilan bo‘yalgan antigendan 0,2 ml (2 tomchi) ustiga qo‘shiladi. Probirkalarni silkitib, yaxshilab aralashtiriladi, 37°C da 45-60 daqiqa suv hammomi yoki termostatda turadi. Ijobiy natijada – ko‘k halqa paydo bo‘ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko‘k rangda qoladi (140-rasm).

Allergik tekshirish. Xo‘jalikda allergenlar qo‘llanadi – brusellizat, brusellogidrolizat, brusellin. Hayvon terisi orasiga 0,2 ml dozada yuboriladi va 24-48 soatdan keyin natija hisobga olinadi.

Biopreparatlar. Brutsellozga qarshi shtamm 82 kulturasidan tay-yorlangan tirik, quruq vaksina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vaksina.

Shtamm 19 vaksina shtammidan tayyorlangan AR, KBR, UKBR lar uchun yagona brutselloz antigeni.

Sut halqali reaksiya uchun gemotoksilin bilan bo‘yagan rangli antigen.

B.abortus (shtamm 19) kulturasidan tayyorlangan.

Fluoresensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardo-bidan tayyorlangan.

Ijobiy brutselloz zardobi, hayvonlarni giperimmunlab olinadi. Serologik reksiyalarda nazorat uchun ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Brutselloz qanday kasallik?
2. Brutselloz qo’zg’atuvchilarini ayting?
3. Brutsellozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini ayting?
4. Brutsellozga laboratoriyada diagnoz qo‘yish prinsiplari?
5. Brusellalarning kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari?
6. Brutsellozga qanday serologik usullarda tekshiriladi.
7. Brutsellozga biosinov qo‘yish?
8. Brutsellozni serologik tekshirish usullari.
9. Brutsellozni allergic tekshirish usuli.
10. Brutsellozda qo’llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Brusellalarning nechta turi bor

- a) 4
- b) 5
- c) 6
- d) 3

2.Qo‘y-echkilarda brusellalarning qaysi turi uchraydi

- a) Br. Neotomae
- b) Br. Abortus
- c) Br. ovis
- d) Br. melitensis

3. Homila tashlagan hayvonlardan brusellyozga tekshirish uchun qoni qachon olinadi

- a) bir haftadan keyin
- b) shu kuni
- c) ikki kun o'tib
- d) bir oydan keyin

4. Brusellyozga tekshirganda patmaterialdan tayyorlangan surtmalar qaysi usullarda bo'yaladi

- a) Gram, Sil-Nilsen
- b) Gram, Kozlovskiy
- c) Kozlovskiy, Romanovskiy Gimza
- d) Gram, Mixin, Peshkov

5. Qo'chqorlardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi

- a) yarmi 10-15% CO₂li atmosferada
- b) odatdag'i atmosferada
- c) hammasi 10-15% CO₂ li atmosferada
- d) anaerob sharoitda

6. Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi

- a) anaerob sharoitda
- b) odatdag'i atmosferada
- c) hammasi 10-15% CO₂ li atmosferada
- d) yarmi 10-15%li atmosferada, qolganlari odatdag'i atmosferada

7. Brusellyozda biosinov qaysi laboratoriya hayvonida qo'yiladi

- a) dengiz cho'chqasi
- b) guyon
- c) oq sichqon
- d) jo'ja

8. Brusellyozda qoramollar qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1:25dan 1:200 gacha
- b) 1:50dan 1:400 gacha
- c) 1:10dan 1:80 gacha
- d) 1:2dan 1:64 gacha

9. Brusellyozda qo'ylar qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1:50dan 1:400 gacha
- b) 1:10dan 1:80 gacha
- c) 1:25dan 1:200 gacha
- d) 1:2dan 1:64 gacha

10. Brusellyozda dengiz cho'chqalari qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1: 50dan 1:64 gacha
- b) 1:25dan 1:200 gacha
- c) 1:2dan 1:64 gacha
- d) 1:10dan 1:80 gacha

26 - m a v z u. Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va uni laboratoriyaga yo'llash qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'z-lashtirish.

Material va jihozlar: Kitt-Tarossi oziq muhitida o'stirilgan *Cl.chauvoei* kulturasi, patmaterial, steril muhitlar probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali-qonli agar, steril Paster pipet-kalari, oldindan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar, bo'yoqlar kompleksi, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patma-terialdan oziq muhitlarga ekish, ulardan surtmalar tayyorlab Gram va sporalarni maxsus usullarning birida (Peshkov) bo'yash. Mikroskopda ko'rib, daftarga chizib olish.

Qorason shoxli hayvonlarga oid o'tkir o'tuvchi infektion kasallik bo'lib, tananining mushaklarga boy qismlarida o'ziga xos tovush krepitat-siya paydo

qiluvchi tez kattalashadigan gazli shish hosil bo‘lishi, isitmaning ko‘tarilishi bilan namoyon bo‘ladi. Qoramol 3 oylikdan 4 yoshgacha kasallanadi. Qo‘y, echkilarda kasallik kam uchraydi. Hayvonlar asosan alimentar yo‘l bilan zararlanadi.

Qo‘zg‘atuvchisi – *Clostridium chauvoei*, anaerob.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo‘lakchalari (steril asboblar bilan chuqurroq kesib, mushakning o‘rtaligida qismidan 3x3x3 sm o‘lchamda zararlangan to‘qima bo‘lakchasi kesib olinadi), krepitatsiya qiladigan shishning ekssudati yuboriladi. Jasad yorilgan bo‘lsa jigar, taloqdan bo‘lakchalar, yurakdan qon olinadi. Patmaterial hayvon o‘lgandan keyin 4 soatdan kechiktirmay olinadi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram, Peshkov usulida bo‘yaladi. Mikroskopda bo‘lak-bo‘lak yoki ikkitadan joylashgan polimorf (urchuqsimon, sharsimon, noksimon) donachali grammusbat tayoqchalar ko‘rinadi. Peshkov usulida bo‘yalgan surtmada sporalar ko‘k rangda ko‘rinadi. U tayoqchaning o‘rtasida, chetlarida joylashishi, erkin holda bo‘lishi ham mumkin. Kapsula hosil qilmaydi, harakatchan, uzunligi 2-8 mkm, eni 0,5-0,7 mkm, anaerob (133, 144- rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga ekiladi. Buning uchun mushak, jigar, taloq bo‘lakchalarini olovdan o‘tkazib, keyin oziq muhitli probirkaga solinadi. Qon, ekssudatlar Paster pipetkasida ekiladi. Bir vaqtida Petri kosachalarida glukoza – qonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo‘lsa, undan fiziologik eritmada birga to‘rt nisbatda suspenziya tayyorlab, 15-20 daqiqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmalar 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitida 24-48 soat turishi kerak.

Kitt-Tarossi muhitida *Cl.chauvoei* – bulon bo‘yicha bir xilda loyqalanish paydo bo‘ladi. 36-48 soatda tinib, cho‘kma hosil bo‘ladi. Gaz kam hosil qiladi (146-rasm).

Seyssler agarida koloniylar yaltiroq tugma yoki uzum bargi singari chetlari qirqilgandek o‘sadi, koloniya atrofida uncha katta bo‘lmagan gemoliz zonasini

paydo bo‘ladi (147-rasm). Glukozali tik agarda yasmiqsimon koloniylar hosil qiladi (145-rasm).

Sutni ivitadi. Glukoza, saxaroza, lakoza va maltozalarni intensiv kislota va gaz hosil qilib parchalaydi.

3. **Biosinov.** Patmaterialdan 1:10 nisbatda suspenziya tayyorlanadi. Suspenziya 0,5-1 ml dozada 350-450 g og‘irlikdagi ikkita dengiz cho‘chqasining qorin qismi terisi ostiga yuboriladi. Hayvonlar 8 sutka kuzatiladi. Material ijobjiy bo‘lsa, zararlangan hayvonlar 24-96 soat davomida o‘ladi. Jasadni yorib, bakteriologik tekshirish kerak. Terisida serozli – nekrozli ajratma, qon quyilishlar bo‘ladi. Teri zararlangan mushakdan qiyin ajraladi. Ko‘krak, qorin, orqa oyoq mushaklari qoram-tir qizil rangda bo‘ladi. Chot va qo‘ltiq osti qisimlarida kamgina gaz pufakchalari yig‘iladi (148, 149-rasm).

Quyidagi hollarda qorasonga diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi:

1. Patmaterialdan qo‘zg‘atuvchi kulturasi ajratilsa hamda hech bo‘lmasa bitta biosinovdagi hayvon tipik belgilar bilan o‘lib, undan qo‘zg‘atuvchi kulturasi ajratib olinsa;

2. Keltirilgan patmaterialdan qo‘zg‘atuvchi kulturasi ajratilmasa ham, ikkita biosinovdagi hayvonning hatto bittasi tipik belgilar bilan o‘lib, undan qo‘zg‘atuvchi kulturasi ajratib olinsa.

Emlash uchun konsentrangan gidrooksifarmol vaksina ishlataladi. Immunitet 6 oy davom etadi. 3 oylikdan 4 yoshgacha bo‘lgan qoramol, 6 oylikdan katta bo‘lgan qo‘ylar emlanadi.

Biopreparatlar. Yirik shoxli hayvonlar va qo‘ylar qorason kasalligiga qarshi gidrooksialuminli inaktivlangan vaksina. Immunitet 6 oy davom etadi.

Konsentrangan gidrooksialuminli tirik vaksina. Immunitet 6 oy da-vom etadi. Ikkala vaksinalarning dozasi 2 ml, mushaklar orasiga yuboriladi.

Nazorat savollari:

1. Qorason qanday kasallik?
2. Qorasonga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriya yuborish qoidalari.

3. Patologik material qaysi usullarda tekshiriladi?
4. *Cl.chauvoei* ning morfologik, tinktorial xususiyatlari.
5. *Cl.chauvoei* ning kultural xususiyatlari.
6. Qorasonga biosinov qo'yish, undagi patanatomik o'zgarishlar.
7. Qaysi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi.
8. Qorason kasalligida qo'llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1.Qorason kasalligida laboratoriyaga tekshirish uchun qanday patmaterial yo'llanadi.

- a) zararlangan mushak bo'lakchalari, gazli shish ekssudati, jigar, taloq, yurak
- b) parenximatoz organlardan bo'lakchalar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi
- c) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfa tugunlari
- d) ekskret va sekretlar, parenximatoz organlardan namunalar

2. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan

- a) Cl. septicum
- b) Cl. chauvoei
- c) Cl. oedematiens
- d) Cl. perfringens

3. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi spora hosil qiladi

- a) oziq muhitda
- b) tashqi muhitda
- c) organizmda, tashqi muhitda
- d) tuproqda

4. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi:

- a) gr+, sporali, harakatsiz, kokksimon
- b) polimorf, gr-, spora va kapsulali, harakatsiz tayoqcha
- c) gr-, kapsulali, harakatchan tayoqcha
- d) polimorf, gr+, sporali, harakatchan tayoqcha. bakteriya

5. Qorason qo'zg'atuvchisi qanday oziqa muhitlarda va sharoitda o'sadi

- a) Kitt-Tarossi, glyukoza-qonli Seyssler agari, 37-38°C da, anaerob sharoitda

- b) GPB, GPA, GPJlarda, 40-42°C da, aerob sharoitda
- c) Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida, 37°C da, anaerob sharoitda
- d) Gissa muhiti, Gelberg, Lyuboshenko muhitlarida, 37°C da, anaerob sharoitda

6. Laboratoriya qorason kasalligiga qaysi usullarda tekshiriladi

- a) mikroskopiya, serologik, bakteriologiya
- b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov
- c) serologik, mikroskopiya, patanatomik
- d) biologik, patanatomik, klinik

27 - mavzu. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriya yuborish qoidalarini o'rGANISH. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Probirkalarda Kitt-Tarossi muhitida o'sti-rilgan *Cl. septicum*, *Cl. perfringens* kulturalari, patmaterial, steril oziq muhit - probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali-qonli Seyssler agari, steril Paster pipetkalari, bo'yoyqlar to'plami, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patmaterialdan oziq muhitlarga ekish, surtma tayyorlash. Gram va Peshkov usullarida bo'yab, mikroskopda ko'rish, natijani daftarga yozish.

Gazli gangrena – barcha turdag'i hayvonlarga oid, tez tarqaluvchi, jarohatlanish yoki shikastlanish natijasida yallig'lanib, shishning rivojlanishi, to'qima nekrozi, organizm intoksikatsiyasi bilan namoyon bo'ladi. Gazli gangrena polimikrob etiologiyaga ega.³¹ Qo'zg'atuvchilar *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*,

³¹ Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g. c.181.

Cl. perfringens, *Cl. sordelii*, *Cl. histolyticum*, *Cl. chauvoei* har qaysisi alohida kasallik chaqirishi mumkin, lekin ko‘pincha birgalikda uchraydi.

Patmaterial. Laboratoriya tekshirish uchun zararlangan mushak bo‘lakchalari, to‘qima ekssudati, parenximatoz organlar jo‘natiladi.

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo‘yalgan surtmalarda:

Cl. septicum – ingichka, uchlari qayrilgan, polimorf, uzunligi 2-10 mkm, eni 0,8-1 mkm tayoqcha, seroz qavatlardan tayyorlangan surtmada ipsimon shaklda bo‘ladi. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari, uchlari yoki markazda joylashadi, harakatchan (150, 151, 152- rasm).

Cl. oedematiens – yirik, polimorf, uchlari qayrilgan, alohida, ba’zan 2-3-4 tadan iborat zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 5-15 mkm, eni 0,8-1,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi. Sporalari markazda yoki uchlarida joylashadi. Harakatchan (158, 159- rasm).

Cl. perfringens – yo‘g‘on, uchlari yengilgina egilgan, tayoqchalar, bittadan alohida joylashgan, uzunligi 4-8 mkm, eni 1-1,5 mkm. Ba’zan kokksimon bo‘lishi mumkin. Grammusbat, *kapsula hosil qiladi* (hayvon organizmida), sporalari markazida yoki uchlarida joylashgan. Harakatsiz (164-rasm).

Cl. histolyticum – ingichka uchlari qayrilgan tayoqchalar. Bittadan, ikkitadan, ba’zan zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 2-5 mkm, eni 0,2-0,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari mayda, markazda yoki uchlarida joylashgan. Harakatchan (170-rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, qonli glukozali Seyssler agarlariga ekiladi. 24-48 soat 37-38 °C da termostatda anaerob sharoitda o‘stiriladi.

Cl. septicum – Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish, ko‘p gaz hosil qiladi, Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir ro‘molsimon, chetlari qirqilganday o‘sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o‘ralgan (153, 154- rasm).

Cl. oedematiens – Probirka pastida intensiv o‘sadi, 18-24 soatdan keyin bulon tiniqlashib, cho‘kma paydo bo‘ladi. Kam gaz hosil qiladi. Seyssler agarida

kengish, ildizsimon, qatlamlı, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'ilashgan, kuchli gemoliz hosil qiladi (170, 171- rasm).

Cl. perfringens – Kitt-Tarossi muhiti ertaroq loyqalanadi, ko‘p intensiv gaz hosil qiladi. Seyssler agarida yumaloq, silliq, bo‘rtgan kulrang-yashil koloniylar hosil qiladi, kuchli gemoliz (165, 166- rasm) namoyon bo‘ladi.

Cl. histolyticum – Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish kuzatiladi, gaz hosil qilmaydi. Seyssler agarida mayda, yumaloq, silliq, chetlari tekis koloniylar o‘sadi, gemoliz bo‘lmaydi (171, 172-rasm) namoyon bo‘ladi.

3. Biosinov. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikkita 350-400 g vazndagi dengiz cho‘chqasining qorin qismi terisi ostiga 0,5-1 ml dozada yuboriladi. 8 kun kuzatiladi.

Cl. septicum – dengiz cho‘chqalari 14-28 soatda o‘ladi. Teri mushaklaridan yengil ajraladi. Mushak, teri osti kletchatkasi och qizil rangda, ko‘p miqdorda gaz pufakchalari bor. Ichaklar shishgan, gazli suyuq massa bilan to‘lgan (165, 166, 167- rasm).

Cl. oedematiens – dengiz cho‘chqasi 12-36 soatda o‘ladi. Inyeksiya joyida jelatina sifatli, dirillagan shish sarg‘ish-pushti rangda paydo bo‘ladi. Mushaklar oqimtir (162, 163- rasm).

Cl. perfringens – dengiz cho‘chqalari 36-48 soatda o‘ladi. «A» va «D» tiplarida – inyeksiya joyida teri mushaklaridan xaltacha singari ajralib turadi, mushaklar qaynatilgan go‘shtdek bo‘ladi. Ichaklar shishgan, qon tomirlar bo‘rtgan bo‘ladi.

«B» va «C» tiplarida – inyeksiya joyida teri yengil ajraladi, lekin ajralib tushmaydi. Mushaklar, quruq, qizil rangda. Ichaklar shishgan, ge-morragik yallig‘langan, ba’zan yaralar paydo bo‘ladi (167, 168,169- rasm).

Cl. histolyticum – dengiz cho‘chqalari 18-48 soatda o‘ladi. Teri ostiga yuborganda ular ko‘pincha sog‘ayib ketadi. Son mushagiga zararlanganda teri qizil siyohrang, taranglashgan bo‘lib, ba’zan yoriladi (173-rasm). Mushaklar strukturasini yo‘qotib, bo‘tqasimon massaga aylanadi. Yumshoq to‘qimalar suyak

va tomirlardan ajralib qoladi. Gaz bo‘lmaydi. O‘lgan biosinovdagi hayvonlar bakteriologik tekshiriladi.

Biopreparat. Immunitet hosil qilish uchun bradzot, infektion enterotoksemiya, qo‘ylarning yomon sifatlari shishi va qo‘zilarning dizenteriyasiga qarshi tayyorlangan polivalentli gidrooksialuminli vaksina ishlataladi. Immunitet 4-5 oy davom etadi.

Nazorat savollari:

1. Gazli gangrena kasalligiga ifoda bering.
2. Gazli gangrenada tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi.
3. Patologik material qaysi usullarda tekshiriladi?
4. Qo‘zg‘atuvchilarning morfologik xususiyatlari.
5. Qo‘zg‘atuvchilarning kultural xususiyatlari.
6. Gazli gangrenaga biosinov qo‘yish.
7. Qo‘zg‘atuvchilarning biologik xususiyatlari (biosinovdagi patanatomik o‘zgarishlari).
8. *Cl. perfringens* gazli gangrenaning boshqa qo‘zg‘atuvchilaridan qanday farq qiladi.

Test savollari:

1. Gazli gangrena kasalligida laboratoriya qanday patmateriallar yo’llanadi

- a) limfa tugunlar, ichak bo’lakchasi, parenximatoz organlar
- b) balg’am, ekskret va sekretlar, ilik suyagi, ichak bo’lakchasi
- c) zararlangan mushak bo’lakchalari, to’qima ekssudati, parenximatoz organlar
- d) to’qima ekssudati, ko’krak va qorin bo’shlig’i suyuqligi, ingichka ichak, ilik suyagi

2. Gazli gangrenada *Cl.perfringensning* boshqa qo‘zg‘atuvchilardan farqi.

- a) bo’yalishi, o’lchami, harakatchanligi
- b) sporalarning joylashishi, o’lchamlari kichkina
- c) shakli va o’lchami bilan

d) kapsula hosil qiladi, harakatsiz

3. Gazli gangrena qo'zg'atuvchilari qanday sharoitda o'sadi

a) 24-48 soat $37-38^{\circ}\text{C}$ da anaerob sharoitda

b) 24-48 soat $37-38^{\circ}\text{C}$ da aerob sharoitda

c) 18 soat 37°C da tarkibida 10-15% CO_2 bo'lgan atmosferada

d) 18 soat 37°C da aerob sharoitda

4. Gazli gangrenada biosinov qaysi laboratoriya hayvonida qo'yiladi

a) oq sichqon

b) dengiz cho'chqasi

c) quyon

d) jo'ja

5. Gazli gangrenada patmaterial qaysi oziq muhitga ekiladi

a) Ulengut, Lyuboshenko, Ploskirev, Gelberg

b) Differensial diagnostik oziq muhitlariga

c) Kitt-Tarossi, qonli glyukozali Seysler agari

d) Levenshteyn Iyensen, Petranyani, Eritrit agar

28 - m a v z u. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriya yubo-rish qoidalarini o'rGANISH. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

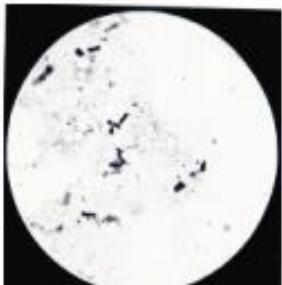
Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikrob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari, jadval, biopreparatlar, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar patmaterialdan surtma tayyorlaydilar, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rishiadi. Natijani daftarga yozishadi.

Qotma – hayvon va odamlarning yuqumli, jarohatli kasalligi bo'lib, mikrobynning toksini ta'sirida kuchli qo'zg'alish, skelet mushaklarining reflektor tortilishi bilan namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisi *Cl. tetani*.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



150-rasm. *Cl. Chauvoei*: Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



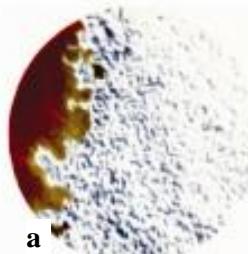
151-rasm. *Cl. Septicum*-tayoqcha xifchinlari bilan.



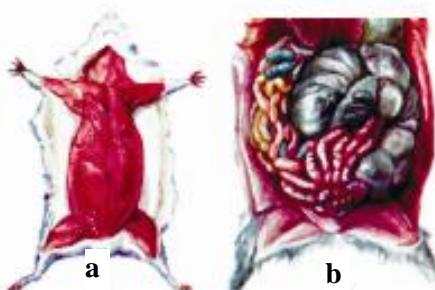
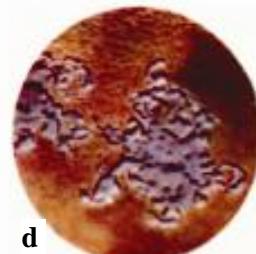
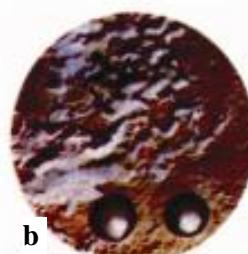
152-rasm. *Cl. Septicum*-dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



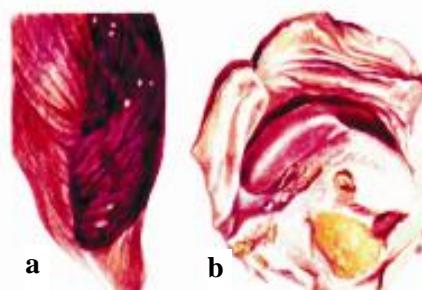
153-rasm. *Cl. Septicum*:
a-Kitt-Tarossi da o'sishi
(o'ngda nazorat);
b-qandli agarda Veynberg
bo'yicha koloniylar.



154-rasm. *Cl. Septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a-nozik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasasi bilan.



155-rasm. Biosinovdan o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. Septicum*): a-teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari och qizil rangda gaz pufakchalari bilan; b-ichki organlari ichaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.



166-rasm. Yomon sifatli gazli shish cho'chqada:
a-mushaklari;
b-oshqozon.



157-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozonda gemorragik shish va qon quyilishlar.

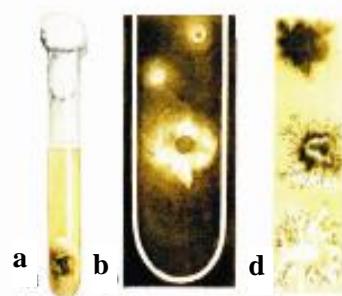
Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



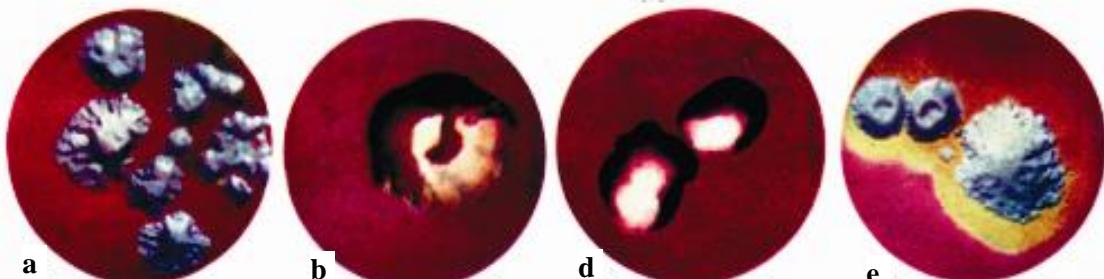
158-rasm. *Cl oedematiens* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



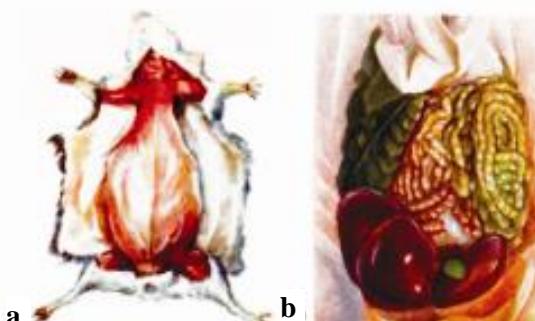
159-rasm. *Cl oedematiens* xifchinli tayoqcha.



160-rasm. *Cl oedematiens* kulturasi: a-Kitt-Tarossi da; b-qandli agarda; d-jelatinada.



161-rasm. *Cl oedematiens* qandli-qonli agarda: a-kengish; b-markazi chuqurlashgan; d-silliq; e-kengish, markazi chuqurlashgan koloniylar.

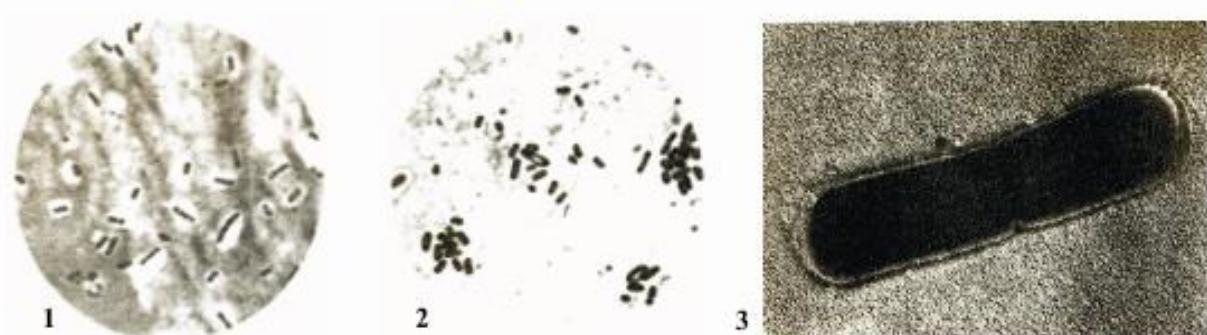


162-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi (36 soatda): a-teri osti kletchatkasida dirilloq shish; b-uning ichki organlari.

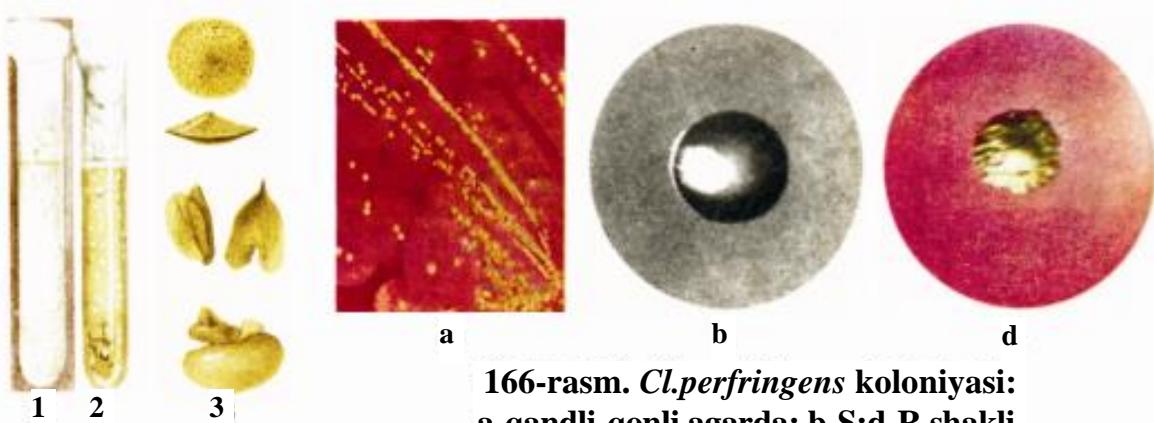


163-rasm. Biosinovda o'lgan qo'yning jigari.

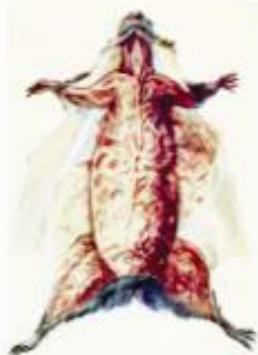
Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



164-rasm. *Cl. Perfringens*: 1-kapsulali tayoqchalar dengiz cho‘chqasi jigaridan tayyorlangan surtmada; 2-sporali tayoqchalar (kulturada); 3-xifchinsiz tayoqcha.



165-rasm.
Cl.perfringens
kulturası: 1-sutda;
2-kitt-Tarossida;
3-qandli o’sishi.



167-rasm. Biosinovda o’lgan dengiz cho‘chqasi mushaklar bo‘shashgan, teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, gaz pufakchaları.



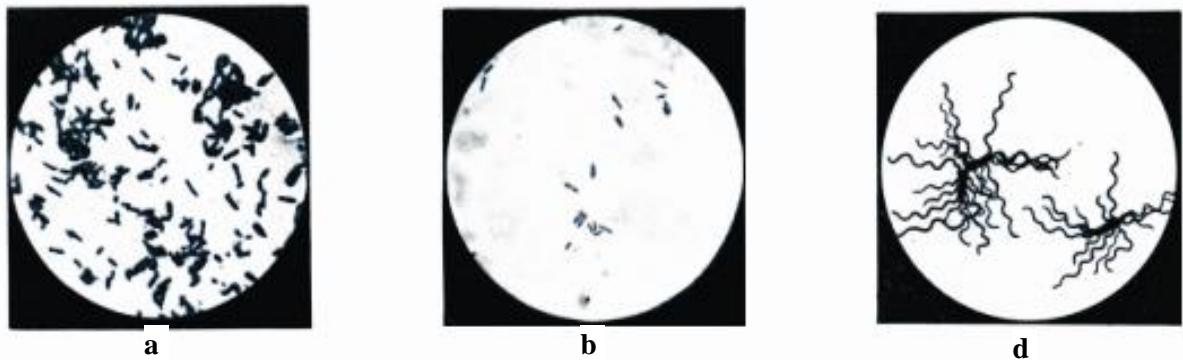
168-rasm. Nekrotit enteritdan o’lgan cho‘chqaning ichaklari:

ingichka ichak
gemorragik
yallig‘langan.

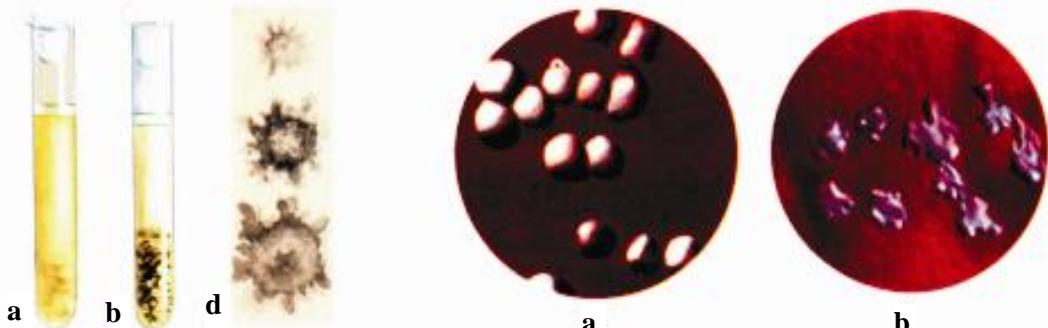


169-rasm. Enterotoksi-miyadan o’lgan qo‘y ichagi (*cl.perfringens D tipi*) xarakterli qon quyilishlar.

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



170-rasm. *Cl. histolyticum*: a-Kitt-Tarossidan; b-qandli qonli agar kulturasidan tayyorlangan surtmada; d-xifchinli tayoqcha.



171-rasm. *Cl. histolyticum* kulturası:
a-Kitt-Tarossida; b-miyali muhitda
(qoraygan); d-chuqur ekilgan agardagi
koloniylar.

172-rasm. *Cl. histolyticum*
koloniysi qandli-qonli
agarda: a-S; b-R shakl.



173-rasm. *Cl. histolyticum*
kulturası bilan mushak
orasiga zararlangan dengiz
cho‘chqasi: inyeksiya joyda
yumshoq to‘qimalar erigan.

Patologik material – laboratoriya tekshirish uchun jarohat sekreti, zararlangan joyning eng chuqur qatlamlaridan olingan to‘qima bo‘lakchalari yuboriladi. O‘lgan hayvonlardan bundan tashqari (5-10 ml) qon, jigar va taloq bo‘lakchasi olinadi.

Laboratoriya tekshirishlari ikki yo‘nalishda olib boriladi: tokstinni ajratish, qo‘zg‘atuvchi kulturasini ajratib, uning zaharlilagini aniqlash.

1. Mikroskopiya. *Cl. tetani*– ingichka, 4-0,6 mkm o‘lchamli, bir uchida yumaloq sporasi bor (baraban tayoqchasi shaklida) tayoqcha. Grammusbat, harakatchan (174, 177-rasm).

Toksinni ajratish.

Patmaterialdan birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanib, ikkiga bo‘linadi. Biri qo‘zg‘atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

Ikkinchisi toksinni ekstraksiya qilish uchun uy haroratida bir soat qoldiriladi, keyin filtrланади.

2. Filtrat bilan 16-18 g vazndagi 2-3 ta oq sichqonga 0,5-1 ml dozada yoki ikkita 300-350 g vazndagi dengiz cho‘chqasiga 3-5 ml dozada orqa oyog‘i terisi ostiga yuborib zararlantiriladi. Patmaterialda qotmaning toksini bo‘lsa 48-96 soatdan keyin biosinovdagi hayvonlarda mushaklarning tetanik qisqarishi bilan xarakterlanadigan kasallik belgilari rivojlanadi. Hayvonlar xarakterli holatda – oyoqlari cho‘zilgan, umurtqa pog‘onasi material yuborilgan tomoniga qiyshaygan holda o‘ladi (178-rasm).

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

Tekshirilayotgan materialda va qotma toksini ajratilsa, kulturani ajratish uchun tekshirish o‘tkazilmaydi.

Qo‘zg‘atuvchi kulturasini ajratish.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikki probirka Kitt-Tarossi muhitiga ekiladi. Bittasi 80 °C da bir soat qizdiriladi. Ekmalar termostatda 37-38 °C da o‘stiriladi.

Bu muhitda *Cl. tetani* – intensiv loyqalanish paydo qilib kamroq gaz hosil qiladi. 48-72 soatdan keyin bulon tiniqlasha boshlaydi, cho‘kma hosil bo‘ladi. Kulturadan o‘ziga xos kuydirilgan shox hidi keladi (175-rasm).

Kultura termostatda yana o‘stiriladi, 4-5 chi sutkada, unda toksinning bor yoki yo‘qligi tekshiriladi. Buning uchun kultura – oq sichqon yoki dengiz cho‘chqalariga yuboriladi.

Qonli agarda *Cl. tetani* – markazi ozgina ko‘tarilgan, o‘smalari bor, nozik koloniylar, ba’zan mayda yumaloq koloniylar hosil qiladi. Gemoliz zonasi bilan o‘ralgan alohida koloniylar ham uchrab turadi (176-rasm).

Qotmani bakteriologik tekshirish muddati 15 kun.

Diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi:

tekshirilayotgan patologik materialda qotma toksini aniqlansa (kulturasiga ajratilmasa ham);

patologik materialdan toksin hosil qiluvchi qotma qo‘zg‘atuvchisi kulturasiga xarakterli xususiyatlari kultura ajratilsa.

Biopreparat. Aktiv immunizatsiya uchun konsentrangan, bir foiz achchiq toshli anatoksin ishlatiladi. Immunitet 30 kundan keyin hosil bo‘lib, bir yildan ko‘p saqlanadi, otlarda esa besh yilgacha. Profilaktika, davolash maqsadida qotmaga qarshi zardob ishlatiladi.

Nazorat savollari:

1. Qotma qanday kasallik?
2. Qotma kasalligida patmaterial olish qoidalari.
3. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
4. *Cl. tetani* ning morfologik xususiyatlari.
5. *Cl. tetani* ning kultural xususiyatlari.
6. Qotma kasalligida toksinni ajratish usulini ayting.
7. Qotma kasalligi qo‘zg‘atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
8. Qotma kasalligida ishlatiladigan biopreparatlar.
9. Qotma kasalligiga qachon diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi?

Test savollari:

1. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi

- a) Cl. oedematiens
- b) Cl. chauvoei
- c) Cl. septicum
- d) Cl. tetani

2. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi:

- a) bir uchida yumaloq sporasi bor, baroban tayoqchasi shaklida
- b) sporasi markazida joylashgan, urchuqsimon shaklida
- c) sporasi bir uchiga yaqin joylashgan, noksimon shaklida
- d) sporasi oval, limonsimon shaklida

3. Qotma kasalligida laboratoriyaga qanday patmateriallar yo'llanadi

- a) zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima ekssudati, parenximatoz organlar
- b) jarohat sekreti, to'qima bo'lakchalari, qon, jigar, taloq
- c) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfa tugunlari
- d) parenximatoz organlar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi

4. Laboratoriya tekshiruvlari nechta yo'nalishda olib boriladi

- a) 4
- b) 3
- c) 2
- d) 5

5. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi kulturasining qanday o'ziga xos hidi bo'ladi

- a) buzilgan tuxum hidi
- b) achigan moy hidi
- c) achigan baliq hidi
- d) kuydirilgan shox hidi

29 - m a v z u. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashg‘ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriya yuborish qoidalarini o‘rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o‘z-lashtirish.

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikrob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo‘yoqlar, Paster pipetkalari jadval, biopre-paratlar, plakatlar.

Uslubiy ko‘rsatmalar

O‘qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtma tayyorlab, Gram usulida bo‘yashadi va mikroskopda ko‘rishadi. Natijani daftarga yozib olishadi.

Botulizm – barcha hayvonlarga oid toksikoinfektion kasallik. Botulinum zaharini saqllovchi oziqlarni yeish natijasida paydo bo‘lib, markaziy asab tizimining og‘ir zararlanishi, hiqildoq, til va pastki jag‘ning falajlanishi bilan xarakterlanadi. Botulizm bilan odam ham kasallanadi. Qo‘zg‘atuvchisi – spora hosil qiluvchi anaerob – *Cl. botulinum* ning A, B, C, D, E, F tiplaridir. Bu tiplar faqatgina immunologik jihatdan o‘zaro farq qiladi: har biri o‘zining o‘xshash zardoblari bilan neytrallanadi.

Patologik material – laboratoriya tekshirish uchun gumon qilingan oziqalardan namunalar (silos, don, kombikorm, go‘sht va baliq chiqindilari), shuningdek, o‘lgan hayvonlarning oshqozonidagi massa, jigar bo‘lakchasi va kasal hayvonlarning qoni yuboriladi.

Patmaterial hayvon o‘lganidan keyin ikki soatdan kechiktirmasdan olinadi.

Patmaterialdan birga bir yoki birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Ekstraksiya bo‘lish uchun ikki soat uy haroratida turadi. Bir qismi – toksinni ajratish uchun, ikkinchisi – qo‘zg‘atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

1.Mikroskopiya. *Cl. botulinum* – uchlari aylanasimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayoqcha. Sporalari oval shaklida bo‘lib hujayra uchlariga yaqin joylashgani uchun **tennis racketkasi** shaklida bo‘ladi. Grammusbat, harakatchan. O‘lchami 4-6 mkm (179, 180-rasm). Toksini 15-20 daqiqadan ikki soatgacha qaynatilganda parchalanadi. Sporalari juda chidamli, 5-6 soat qaynatilganda o‘ladi.

Botulizm toksinini ajratish

Patmaterial va oziq namunalaridan tayyorlangan suspenziya filtrlanadi. Ikkiga bo‘linib bir qismi qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Bittasiga qaynatilgan va ikkinchisiga qaynatilmagan filtratlar ikkitadan oq sichqon qorin bo‘shlig‘iga 0,5-0,8 ml dozada yoki dengiz cho‘chqalari (300-350 g vaznli) terisi ostiga 3-5 ml dozada yuboriladi (183- rasm).

Agar botulizm toksini bo‘lsa qaynatilmagan filtrat yuborilgan laboratoriya hayvonlari, ikkinchi beshinchi sutkada botulizmga xos klinik belgilari bilan (muvozanatni yo‘qotish, nafasning tezlashishi, skelet mushaklarining bo‘shashi, qorin devorining tushishi «ari belidek») o‘ladi. Qaynatilgan filtrat yuborilgan hayvonlar esa sog‘ qoladi.

Ajratilgan toksin maxsus har xil tiplardagi botulizm zardobi bilan neytralizatsiya reaksiyasi qo‘yiladi. Buning uchun filtrat polivalent antitoksik botulizm zardobi bilan aralashtirilib, bir ikki soat termostatga qo‘yiladi. Keyin aralashma laboratoriya hayvonlariga yuboriladi. Toksin zardob bilan neytrallanib, hayvonlar tirik qoladi. HP natijasi to‘rt kun davomida hisobga olinadi.

Qo‘zg‘atuvchini ajratish.

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, Xottinger buloni, qonli Seyssler agariga ekiladi. Ekmalar 30-35 °C da termostatga qo‘yiladi. Petri kosachalaridagi ekmalarni anaerostatga joylashtirib, anaerob sharoit yaratish kerak. Qo‘zg‘atuvchi ikki-to‘rt sutka o‘sadi.

Kitt-Tarossida qo‘zg‘atuvchining o‘sishi muhit asta-sekin loyqa-lanib (2-3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan achigan moyning hidi keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5-7 sutkada aniqlanadi (181-rasm).

Seyssler agarida – *Cl. botulinum* koloniyalari yumaloq, ildizsimon o‘smalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasini bo‘ladi (182-rasm).

Biopreparat. Odatda, norkalar botulizmga qarshi farmol kvassli anatoksin vaksina bilan emланади. Immunitet bir yilgacha saqlanadi. Davolash uchun botulizmga qarshi antitoksik zardob taklif etilgan. Neytralizatsiya reaksiyasi uchun maxsus butulizm tiplari zardobi ishlab chiqilgan.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

- tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturasi ajratilmasa ham);
- patologik materialdan botulism qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatlari kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharliligi aniqlansa.

Nazorat savollari:

1. Botulizm qanday kasallik?
2. Botulizmda patmaterial olish qoidalari
3. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
4. *Cl. botulinum* ning morfologik xususiyatlarini ayting.
5. *Cl. botulinum* ning kultural, biologik xususiyatlarini ayting.
6. Botulizmda toksinni ajratish usulini ayting.
7. Botulizm qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
8. Botulizmda ishlatiladigan biopreparatlar.
9. Botulizmga qachon diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi?

Test savollari:

1. Botulizm qo'zg'atuvchisining qanday tiplari bor

- a) A,B,C,D,E,F
- b) C,D,E,F,Z,S
- c) A,B,S,Y,U,V
- d) W,S,C,V,E,R

2. Botulizm qo'zg'atuvchisining tiplari qaysi jihatdan o'zaro farq qiladi

- a) bakteriologik
- b) immunologik
- c) fermentativ
- d) morfologik

3. Botulizmda laboratoriya yo'llanadigan patmaterial

- a) ilik suyagi, ingichka ichak bo'lakchasi, shirdon
- b) parenximatoz organlardan namunalar, ilik suyagi

- c) gumon qilingan oziqadan namunalar, o'lgan hayvon oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni
- d) ekskret va sekretlar, ilik suyagi, parenximatoz organlar

4. Botulizm toksinini ajratish:

- a) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, oziq muhitga ekiladi, biosinov qo'yiladi.
- b) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, suv hammomida 30 daqiqa qizdiriladi, biosinov qo'yiladi
- c) patmaterial suspenziyasi ekstraksiya qilinadi, filtrlanadi, biosinov qo'yiladi
- d) 1:2 suspenziya tayyorlab 2 soat uy haroratida qoldiriladi, filtrlanadi, 2ga bo'lib qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Filtratlar bilan biosinov qo'yiladi

5. Cl. botulinum:

- a) sporasi oval, hujayra tennis raketkasi shaklida
- b) sporasi yumaloq, hujayra baroban tayoqchasi shaklida
- c) sporasi oval, hujayra urchuq shaklida
- d) sporasi oval, yumaloq, hujayra nok, limon shaklida

30 - mavzu. Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi

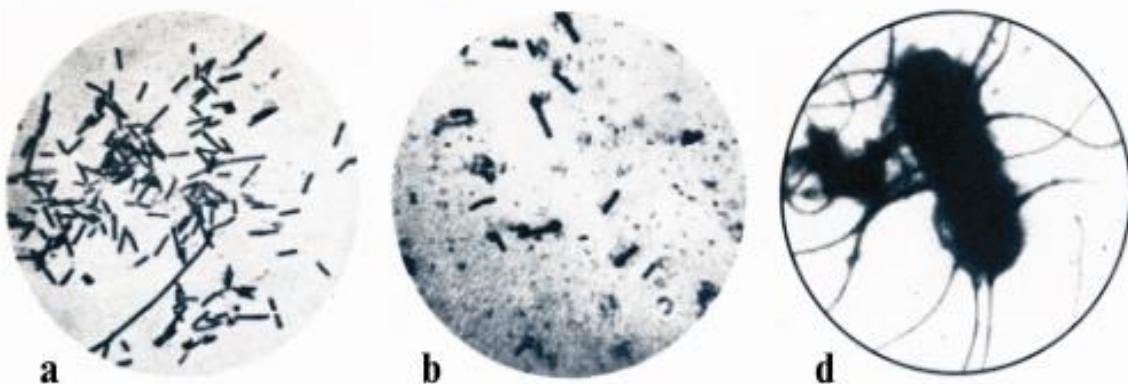
Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni dermatomikozlarda (trixofitiya, krosporiya), kandidamikoz va mog'or mikozlarda patmaterial olish qoidalari, mikologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Saburo muhitida o'stirilgan zamburug' kulturalari, trixofitiya va mikrosporiya bilan kasallangan hayvonlardan olingan patmaterial, mikologik ilmoq, buyum va yopqich oynalar, plakatlar, biopreparatlar, videoproektor, kompyuter.

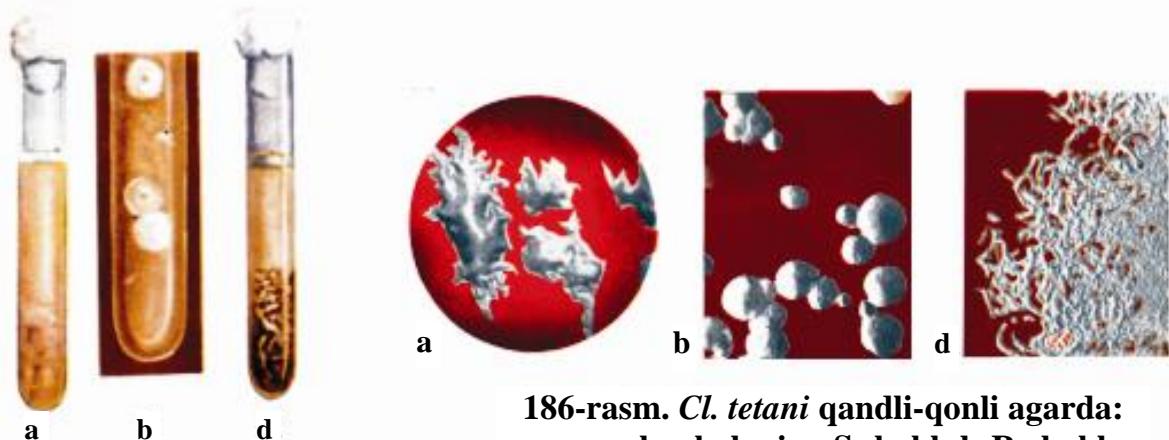
Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar trixofitiya va mikrosoriyaning morfologiyasi bilan tanishadilar. Patmaterial va zamburug' kulturasidan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlaydilar. Qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini

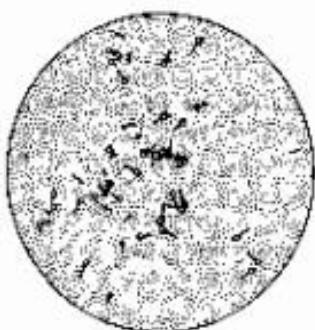
Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi



184-rasm. *Cl. tetani*: a-kulturadan; b-bulyondan tayyorlangan surtmada; d-xifchinli tayoqcha.



185-rasm. *Cl. tetani* kulturası:
a-Kitt-Tarossi muhitida; b-
chuqur ekilgan qandli agarda;
d-miyali muhitda (qoraygan).

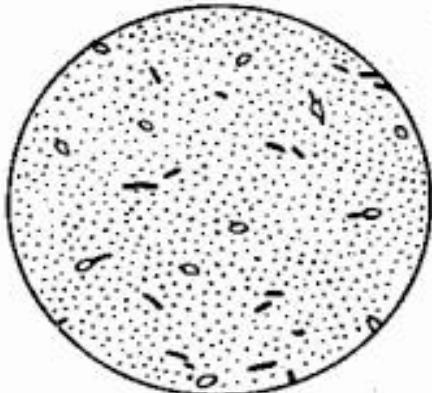


188-rasm. *Cl. tetani* kulturada.
Sporali tayoqchalar.

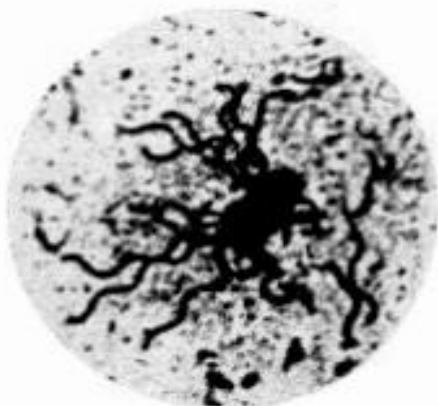


187-rasm. dengiz cho'chqasida qotmaning klinik ko'rinishi.

Botulizmni laboratoriya diagnostikasi



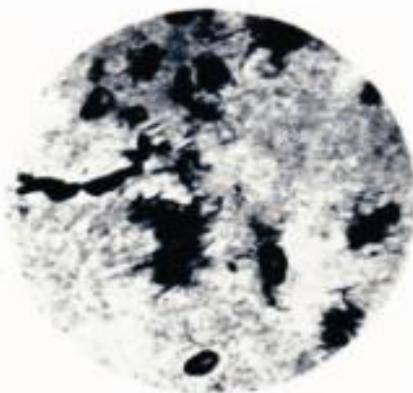
189-rasm. *Cl. botulinum*
kulturadan tayyorlangan
surtmada.



190-rasm. *Cl. botulinum*
tayoqcha xivchinlari bilan.



191-rasm. *Cl. botulinum*
chapda-jigarli bulyonda,
o'ngda-qandli agarda o'sishi.



192-rasm. *Cl. botulinum*
koloniyalari qonli agarda.



193-rasm. *Cl. botulinum* bilan
zararlangan dengiz cho'chqasi.

o‘rganadilar.

Mikozlar-patogen mikroskopik zamburug‘lar qo‘zg‘aydigan maxsus kasalliklar guruhi. Ularga dermatomikoz, mog‘ormikoz, kandidamikoz qo‘zgatuvchilari kiradi³² (186-rasm).

Dermatomikoz qo‘zg‘atuvchilari. Dermatomikozlarga teri va uning hosilalarini zararlash bilan kechadigan mikozlar kiradi. Qo‘zg‘atuvchi keratini borto‘qimalarda parazitlik qiladi. Barcha qishloq xo‘jalik hayvonlari (ko‘pincha yoshlari), mo‘ynali va yirtqich hayvonlar, shuningdek, odamlar ham kasallanadi. Dermatomikoz qo‘zg‘atuvchilari takomillashmagan mog‘or zamburug‘lariga kiradi (Deuteromycetes sinfi). Trihofiton, mikrosporon va achorion avlodlarini o‘z ichiga oladi (207-rasm).

Trixofitiya – surunkali kasallik bo‘lib, teri va junning keskin chegaralangan tamg‘a shaklida zararlanishi bilan ajralib turadi. Qo‘zg‘atuvchisi: buzoq va qo‘zilarda – *Tr.verrucosum*, otlarda – *Tr.equinum*, kemiruvchilarda – *Tr.gypseum*, parrandalarda *Tr.gallinae*.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Mikroskopda zamburug‘larning tanasi (mitseliysi) mayda shoxlangan ipchalardan tuzilganligi va unda rangsiz yumaloq sporalarning joylashganligini ko‘rish mumkin. Zararlangan jun mikroskopda ko‘rilsa, zamburug‘ va uning sporalari jun ichida yoki atrofida tartibli zanjirsimon joylashganligi ma’lum bo‘ladi.

Trixofitiya qo‘zg‘atuvchisi – aerob, maxsus oziq muhitlarda yaxshi o‘sadi. Saburo agarida 26-28 °C da termostatda 10-20 sutka o‘tgandan keyin silliq, terisimon, qatlam-qatlam, ba’zida unsimon qatlamli koloniylar hosil bo‘ladi. Koloniyalardan oziq muhitga kuchli, chuqur shoxlanish paydo bo‘ladi. Parranda trixofitiyasi (favus, parsha) – teri, patlari va ichki organlarning zararlanishi bilan

³² Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunobiologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g.C.194.

xarakterlanadi. Tojida, sirg‘asi, tumshug‘iga yaqin joylarida kulrang-oqish qatlamlari – skutulalar paydo qiladi. Qo‘zg‘atuvchisi *Tr.gallinae*.

Mikrosporiya – it, mushuk, yirtqich va boshqa hayvonlarda teri epidermisining yallig‘lanishi, junning sinishi bilan o‘tadigan yuqumli kasallik bo‘lib, uni mikrosporon avlodiga mansub zambrug‘lar qo‘zg‘aydi. Odamlar ham kasallanadi.

Qo‘zg‘atuvchilari: itlarda *Microsporum canis (lanosum)*, otlarda *M.eqvuinum*, *M. gypseum* va boshqalar.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Patmaterialda zamburug‘ shoxlangan mitseliy shaklida ko‘rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofida sporalar tartibsiz joylashib chexol ko‘rinishini eslatadi (187-rasm). Trixofitiyadan farqi glukozali Saburo agarida 26-28 °C da *M. equinum* 6-7chi kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish mitseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporum avlodi zamburug‘lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo‘ng‘ir rangda bo‘ladi.

Lyuminissentli analiz – patmaterialni Petri kosachasiga qo‘yib, qorong‘i xonada simob-kvarsli lampaning (PRK-2, PRK-4) ultra- binafsha nurlari ostida 20 sm masofada qaraganda mikrosporiya bilan jarohatlangan jun tolalari yashil nurlanish beradi. Bu usulda mikrosporiyaning yashirin shaklini aniqlash mumkin (184-rasm).

Laboratoriyaga tekshirish uchun jarohatlangan zararlangan epidermis va jun tolalari qirindisi sog‘lom to‘qima bilan chegara joyidan olinib paketga solib yuboriladi.

Trixofitiya, mikrosporiyaga laboratoriyada diagnoz mikroskopiya usulida qo‘yiladi. Patmaterial 10 % li ishqorda 20-30 daqiqa turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida



184-rasm. Lyuminissentli analiz.

qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qozg‘oq bo‘lakchasi buyum oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20 % li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirt lampasi alangasi ustida). So‘ngra ustiga bir tomchi 50 % li glitserin eritmasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yopiladi. Avval x8 obyektiv, keyin x40 obyektivda yoki immersion sistemada ko‘riladi.

Zamburug‘ mitseliysi va sporalar borligi diagnoz qo‘yishga asos bo‘ladi. Trixofiton va mikrosporumlar sporalarining zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo‘lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, lyuminisentli analiz va biosinov qo‘yiladi.

Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glukozali GPA, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

Biosinov – dengiz cho‘chqasi yoki quyonning terisi tiralib, patmaterial surtiladi.

Biopreparatlar. Aktiv profilaktika maqsadida:

Qoramollar uchun TF – 130 va LTF – 130 quruq vaksina *Trichophyton verrucosum (faviforme)*ning attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Otlar uchun SP– 1 vaksinasi *Trichophyton equinum* shtammidan tayyorlangan.

Qo‘ylar uchun Trixovis quruq vaksinasi *Trichophyton verrucosum* (avtotrofikum) shtammidan tayyorlangan.

Mo‘ynali hayvonlar va quyonlar uchun MENTAVAK vaksinasi *Trichophyton mentagrophytes* kulturasidan tayyorlangan.

Tuyalar uchun Kamelvak – TC vaksinasi *Trichophyton sarkisovi* zamburug‘ining attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Go‘shtxo‘r hayvonlar, nutriya va quyonlar uchun MIKOLAM vaksinasi.

Itlar dermatomikozlariga qarshi Polivak - TM inaktivlangan vaksina *Trichophyton* va *Microsporum* avlodlari zamburug‘larining 8 turidan iborat.

Dermatomikozlarga qarshi VAKDERM vaksinasi: it, mushuk, mo‘ynali hayvonlar va quyonlar mikrosporiyasi hamda trixofitiyasiga qarshi kurashish uchun mo‘ljallangan. *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* va *Trichophyton*.

Mentagrophytes larning yuqori immunogenli shtammlaridan tayyorlanadi.

Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mog‘or mikozlari qo‘zg‘atuvchilari – *Aspergillus*, *penicillium*, *Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug‘lar kiradi (188-rasm).

Aspergilloz – uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba’zan yirik shoxli hayvonlar, mayday shoxli hayvonlar, ot, cho‘chqa, arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan o‘pkaning granu-lematoz zararlanishi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Yangi o‘lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum. Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo‘xori agari, GPA lardan foydalaniladi.

25-37°C da 3-5 chi sutkada zich oziq muhitlarda aspergilla koloniyalari o‘sadi. *A. fumigatus* Chapeka muhitida tekis yoki kengish koloniya hosil qiladi. Rivojlangan mitseliysi avval oq, keyinchalik yashil rangda kigizzimon shakl beradi. Yetilgan kulturalar spora hosil qilish bosqichida qora rangda bo‘ladi.

Mukormikoz qo‘zg‘atuvchilari – mukor avlodiga mansub, ko‘proq *M.M. racemosus* uchraydi. Mukormikoz limfa bezlari, o‘pka, boshqa organ va to‘qimalarda granulematoz jarayonlarining rivojlanishi bilan xarakterlanadigan surunkali kasallik.

Patologik material. Yiring, nekrozga uchragan to‘qima, ekssudat, granulematozli to‘qima.

Mikroskopiya. Surtmada bo‘g‘inlarga bo‘linmagan mitseliy, sporalar ko‘rinadi.

Chapeka muhitida (Petri kosachasida) 25-30 °C da o‘stiriladi. Uchinchi sutkada zamburug‘ kulturalari kigiz tutami shaklida kulrang-oq koloniylar hosil qiladi. Keyinroq qo‘ng‘ir ranggacha o‘zgaradi.

Kandidamikoz qo‘zg‘atuvchisi – *Candida albicans*. *Kandida* avlodiga mansub achitqisimon zamburug‘. U fakultativ parazit bo‘lib hayvonlarning shilimshiq qavatlarida doimiy yashab, kandidamikoz (molochnitsa) kasalligini qo‘zg‘aydi. Hazm trakti shilimshiq qavati, har xil organ va to‘qimalarni zararlashi bilan xarakterlanadi. Asosan parrandalar zararlanadi. Buzoq, qo‘zi va boshqa yosh mollar kamroq kasallanadi.

Patologik material. Og‘iz, qizilo‘ngach, zob, qatlamlardan qirindi olinadi.

Mikroskopiya. Bo‘yalgan (Gram, Sil-Nilsen), bo‘yalmagan preparatlar ko‘riladi. Bo‘yalmagan surtmada ko‘pgina oval achitqisimon hujayralar ko‘rinadi.

Saburo agari, suslo agar, glukozali GPA larda o‘sadi. Ekmalar 25-30 °C da o‘stiriladi. Birinchi koloniylar 2-3 chi kuni o‘sadi. Suyuq muhitlarda *C.albicans* halqa va cho‘kma hosil qiladi. Kulturaning patogenligi quyon, dengiz cho‘chqasi, oq sichqonlarda biosinov qo‘yib aniqlanadi. Kultura suspenziyasi tomirga yuboriladi. Musbat natijada barcha ichki organlarida zamburug‘ rivojlanadi.

Nazorat savollari:

1. Dermatomikozlarga qaysi mikozlar kiradi?
2. Trixofitiya qanday kasallik?
3. Mikrosporiya qanday kasallik?

4. Trixofitiya va mikrosporiya qo'zg'atuvchilarining bir-biridan farqlovchi belgilari.

5. Dermatomikozlarga tekshirish uchun patmaterial olish.

6. Patologik materialni tekshirish usullari?

7. Kandidamikoz, aspergiloz qo'zg'atuvchilari, ularni o'stirish.

8. Kandida avlodiga kiruvchi zamburug'larning patogen xususiyatlari.

9. Zamburug'lar qaysi oziq muhitlarda o'sadi.

Test savollari:

1. Mikozlarga qaysi izoh to'g'ri berilgan:

a) mikoplazmalar chaqiradigan kasalliklar

b) mog'or zamburug'lari chaqiradigan kasalliklar

c) patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan kasalliklar guruhi

d) faqat terini zararlanishi bilan kechadigan kasalliklar

2. Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari qayerda parazitlik qiladi

a) parenximatoz organlarda

b) glikogeni bor to'qimalarda

c) mushakning chuqur qatlamlarida

d) keratini bor to'qimalarda

3. Trixoftiya va mikrosporiya qo'zg'atuvchilari qanday farqlanadi

a) lyuminissentli analiz, sporalarining joylashishi bo'yicha

b) sporalarining shakli, o'lchami bilan

c) kislородга munosabati bilan

d) oziq muhitda o'sishi, koloniya rangi bilan

4. Qaysi avlod dermatomikoz qo'zg'atuvchilari yashil nurlanish beradi

a) trixofiton

b) mikrosporon

c) axarion

5. Trixofitiya va mikrosporiyada olinadigan patmaterial

a) qon va ajratmalar

b) zararlangan to'qima, jun tolalari bilan

- c) zararlangan va sog'lom to'qima chegarasidan olingan qiridi
- d) zararlangan teri bo'lakchasi, ajratma

31 - m a v z u. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, labora-toriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada leptospira kulturasi, buyum, yopqich oynachalari, steril Paster pipetkalar, agglutinatsiyalovchi lep-tospiroz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglutinatsiya reaksiyasini qo'yish, ARni buyum oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Leptospiroz – qishloq xo'jalik hayvonlari, kemiruvchi va barcha go'shtxo'r hayvonlarga xos yuqumli kasallik bo'lib, isitma, sarg'ayish, gemoturiya, anemiya va shilimshiq parda hamda terida to'qimalarning nekrozi bilan namoyon bo'ladi. Odamlar ham kasallanadi.

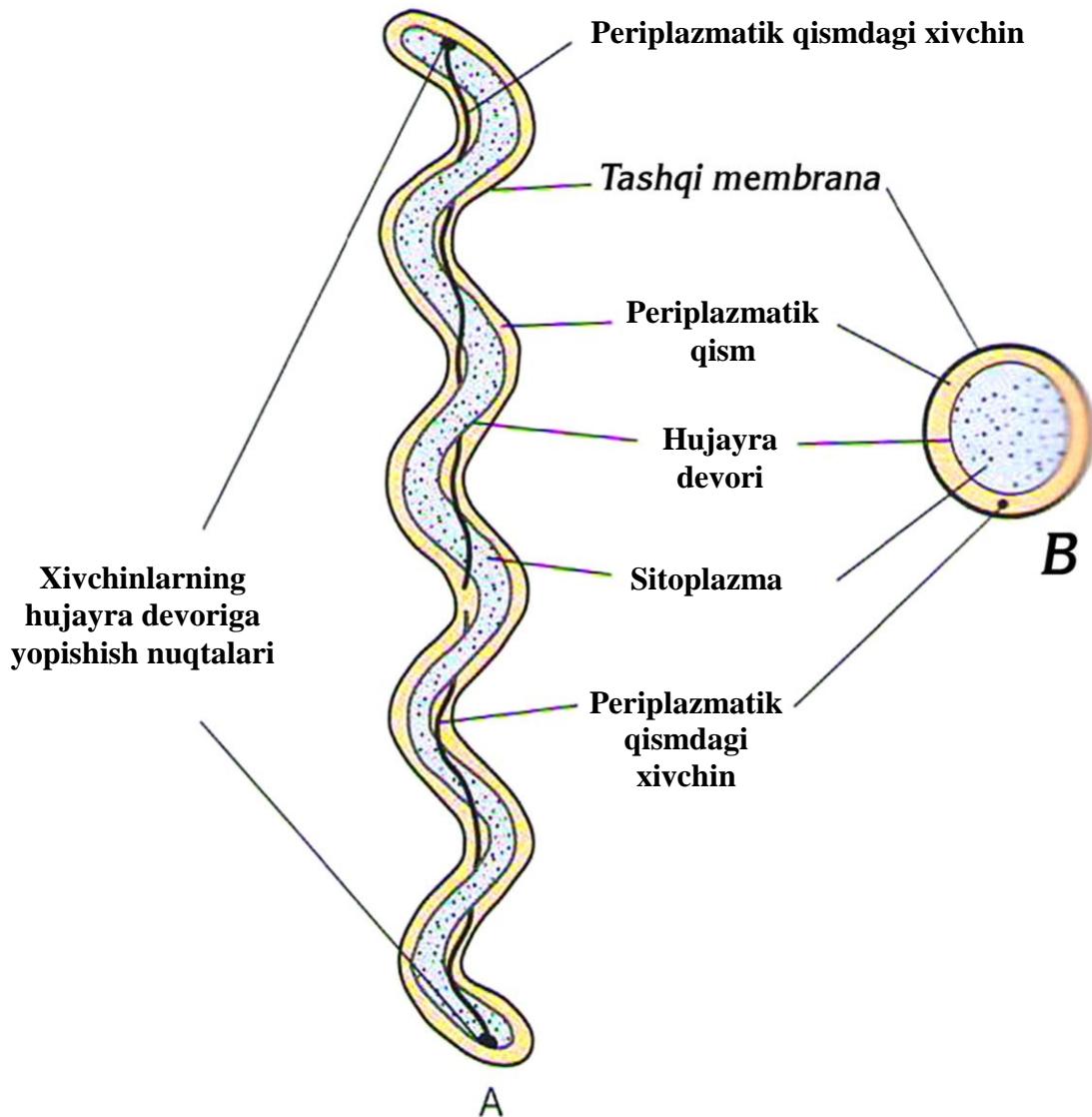
Leptospiralalar *Spirochetaceae* sinfi, *Leptospira* avlodiga mansub. Ularning ikki guruhi farqlanadi – *L.interrogans* – hayvon va odamlar uchun patogen va *L.biflexa* – patogen emas. Asosiy leptospiroz qo'zg'atuvchilariga: *bataviye*, *gebdomadis*, *grippotifoza*, *ikterogemorragiye*, *kanikola*, *pomona*, *tarassovi* lar kiradi.

Patologik material. Kasal hayvondan 5-10 ml qon, siydik, tashlangan homila yuboriladi. O'lgan mayda hayvonlarning jasadi, yirik hayvonlardan yurak, parenximatoz organlardan bo'lakchalar, buyrak, siydik xaltasi boylangan holda, orqa miya suyuqligi yuboriladi. Siydik ertalab yem-xashak berishdan oldin olinadi.

Patmaterialni laboratoriyada 6 soatdan (sovutgichda saqlansa 10-12 soatdan) kechiktirmay tekshirish kerak.

Diagnoz bakteriologik va serologik usullarda qo'yiladi.

1. Mikroskopiya. Leptospiralar bo‘yoqni yomon qabul qiladi. Ular ezilgan tomchi usulida, qorong‘ilashtirilgan kondensorda tekshiriladi. Leptospiralar spiral shakldagi, to‘g‘ri yoki *S* holdagi ingichka, harakatchan ipsimon organizm. Uzunligi 5-20 mkm, diametri 0,1-0,2 mkm, uchlari ilmoq shaklida egilgan. Leptospiralar fibrillalar yordamida harakatlanadi (185, 190, 191, 192, 193- rasm). Grammanfiy, Romanovskiy Gimza usulida 48 soat bo‘yaganda pushti-binafsha rangda bo‘ladi. Lyuminissent mikroskopiyyada leptospirozning maxsus fluoresensiyalı globulini ishlataladi.



185-rasm spirochetaning tuzilishi³³

1. ³³ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.
This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.82.

Mikroskopik tekshirishda leptospiralar aniqlansa, diagnoz qo'yishda shu bilan chegaralanish mumkin.

2. Bakteriologiya. Patmaterial (siydik 10-15 ming aylanma tezlikda 30 daqiqa sentrifugalananib, cho'kmasi va ustidagi suyuqligi, qonning plazmasi, organlardan suspenziya tayyorlab tekshiriladi) maxsus Lyubashenko, Ulengut oziq muhitlariga ekiladi. Har bir namunadan 3-5 tomchidan 5-6 ta probirka yarimsuyuq yoki suyuq oziq muhitga ekiladi. Leptospiralar – fakultativ aerob, 28-30 °C da 3 oy o'sadi. 3,5,7,10 kundan keyin, so'ngra har 5 kundan keyin hamma probirkalardan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab ko'riladi.

Patmaterialdan oziq muhitlarda leptospiralar hamma vaqt ham ajratilavermaydi.

3. Biosinov. Ikkita 20-30 kunlik tillarang og'maxon yoki 10-20 kunlik quyon bolalarida qo'yiladi. Tekshirilayotgan material og'maxon-larga 0,3-0,5 dan 1 ml gacha, quyon bolalariga -2-3 ml dozada terisi osti-ga yoki qorin bo'shlig'iga yuboriladi 4-5 kuni bittasi o'ldiriladi, ikkinchisi o'lmasa 14-16 kundan keyin o'ldiriladi. Jasadni yorib, qoni MAR da 13 ta seroguruh antigen (leptospiralar) bilan 1:10 nisbatda suyultirib tekshiriladi. Musbat natija, materialda leptospiralar borligini ko'rsatadi.

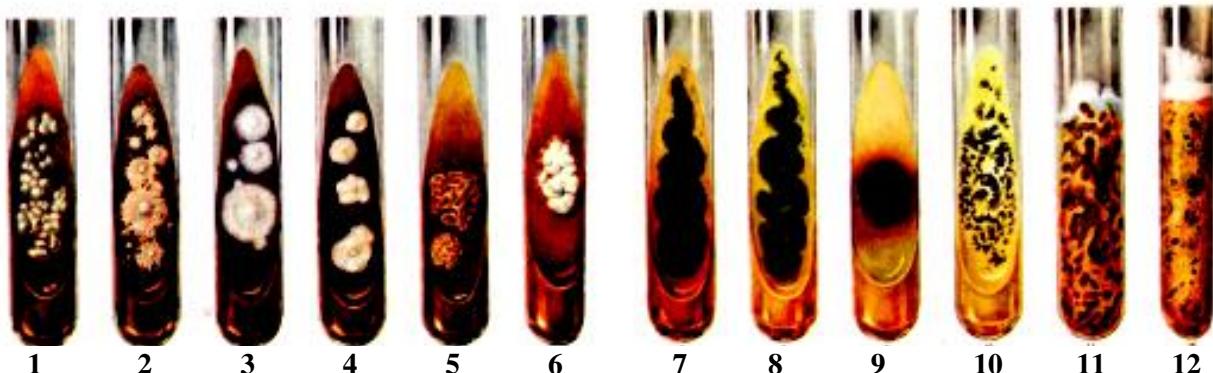
Ajratilgan 5-7 kunlik kultura patogenligi uni 0,1 ml dozada og'maxon qorin bo'shlig'iga yuborib aniqlanadi. Ular 5-12 kunda o'lsa leptospiralar yuqori virulentli hisoblanadi.

Serologik tekshirish usullaridan MAR, (mikroagglutinatiya reak-siyasi), AR, KBR, FAU lari qo'llaniladi.

Kasal hayvondan qon zardobi ikki marta 5-7 chi, 7-10 kunlari olinadi. Yangi olingan, filtr qog'ozida quritilgan yoki konservatsiya qil-ingan (fenol bilan) zardoblar ishlatiladi. Antigen sifatida tirik leptospira kulturalari ishlatiladi.

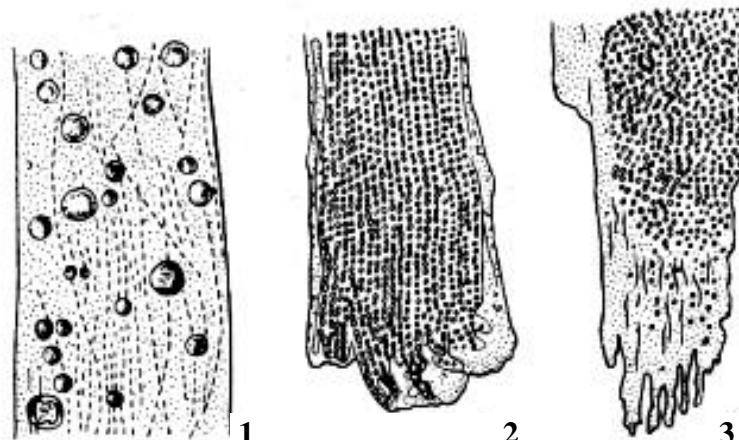
MAR. Zardoblar 1:50, 1:250, 1:1250 nisbatda suyultiriladi. Reaksiya o'yiqchali plastinkalarda qo'yiladi. Har bir suyultirilgan zardobdan, alohida 6 ta qator 3 tadan o'yiqqa (antigen soniga qarab) 0,1 mldan quyladi. 6 ta leptospira

Patogen zamburug‘larni laboratoriya diagnostikasi

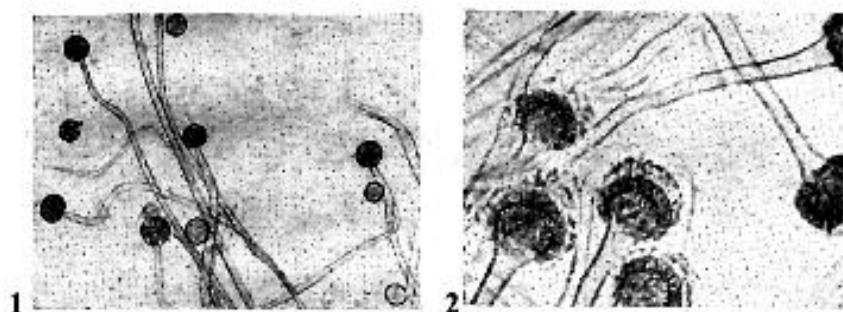


186-rasm. Patogen va zaharli zamburug‘larning kulturasи. Patogen zamburug‘lar:
1-Trichophyton verrucosum; 2-Trichophyton gypseum; 3-Microsporum lanosum;
4-Candida albicans (suslo agarda); 5- Histoplasma farciminosum; 6-Actinomyces
bovis, aerob shakl glukozali GPA da); 7-Aspergillus fumigatus (Chapeka agarida).

Zaharli zamburug‘lar: **8-Aspergillus flavus; 9-Stachybotrys alternans;**
10-Dendrodochium toxicum (Chapeka agarida); 11-Fusarium sporotrichioides;
12-Fusarium graminearum (guruch donida).

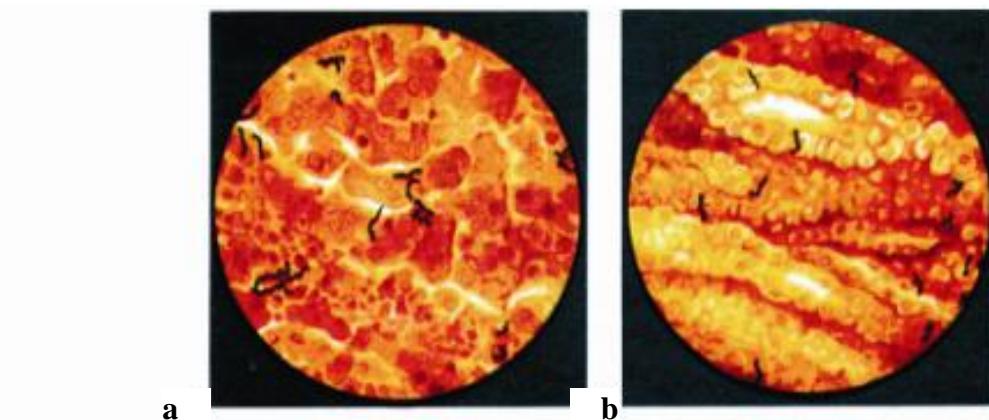


187-rasm. Dermatomisetlar zararlangan sochda. Pathogen zamburug‘lar:
1-Trichophyton schoenleini; 2-Trichophyton violaceum; 3-Microsporum canis.

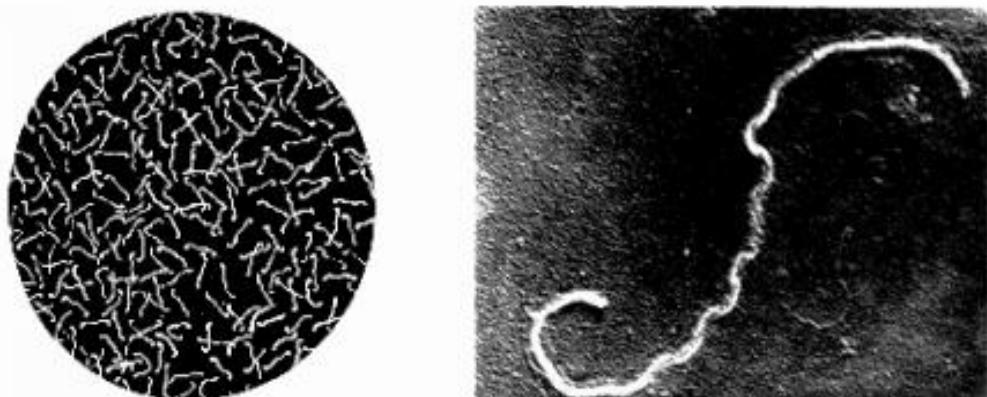


188-rasm. 1Mukor zamburug‘i sporangiyalari;
2-Aspergillus fumigatus kulturada.

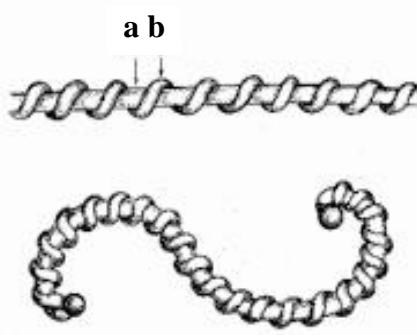
Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi



189-rasm. Leptospiralar: a-buzoq jigari to‘qimasida;
b-buyragi kanalchalarida.

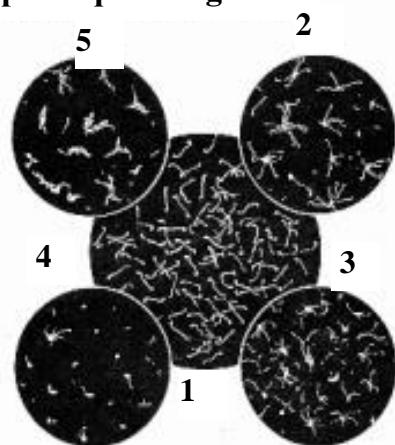


190-rasm. Leptospiralar
ezilgan tomchida qorong‘i
maydonda.



192-rasm. Leptospiraning tuzilish sxemasi:
tinch holatida (yuqorida) va harakatda
(pastda). Elastik oq ip (a), periplast (b) bilan
bir xil qalinlikda. Birinchi o‘ramlari zich,
mayda, ikkinchilari leptospiralarga S-
shaklini beradi.

191-rasm. Leptospira.
Spiralsimon tuzilishi va tana
o‘q ipi aniq ko‘ringan.



193 -rasm. Mikroagglutinatsiya va
lizis reaksiyasi: 1-manfiy (leptospiralar
harakati va shaklini saqlab qolgan); 2-
5-ijobiy (leptospiralar har xil darajada
agglutinatsiya va lizisga uchragan).

kulturasining har biridan 0,1 ml dan 3 ta o‘yiqqa zardob ustiga quyib, aralashtiriladi, bunda zardoblar 1:100, 1:500, 1:2500 nisbatda suyultirilgan bo‘ladi. Plastinani sekin chayqatib, termostatga 30 °C 1 soatga qo‘yiladi. Bir vaqtda nazorat qo‘yiladi: 0,1 ml kultura +0,1 ml fiziologik eritma.

Natija ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, mikroskopda tekshirib aniqlanadi. Barcha suyultirilgan zardoblarda agglutinatsiya 4,3,2 plusga baholansa – musbat hisoblanadi. Nazorat reaksiyasidan tashqari.

Makroagglutinatsiya reaksiyasi – AR – tomchili usulda buyum oynachasida qo‘yiladi. 0,04 ml har bir suyultirilgan zardob yoki zardobning o‘zidan + bir tomchi antigen shisha tayoqcha bilan yoki chayqatib aralashtiriladi.

Reaksiya 10 daqiqa davomida hisobga olinadi. Agglutinatsiya 4, 3, 2 plusga baholansa musbat, bir plusga – manfiy hisoblanadi (193-rasm).

Biopreparat. VGNKI ning polivalentli, deponirlangan vaksinalari. Giperimmunli qon zardobi qo‘llaniladi.

Nazorat savollari:

1. Leptospiroz qanday kasallik?
2. Leptospirozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriya yuborish qoidasi.
3. Leptospiroz qo‘zg‘atuvchisining morfologik, tinktorial xususiyatlari.
4. Leptospiroz qo‘zg‘atuvchisining kultural xususiyatlari.
5. Leptospirozda biosinov qanday qo‘yiladi?
6. Leptospirozni serologik tekshirish usullari.
7. Serologik tekshirishlar uchun ishlataladigan leptospiroz antigenini ayting.
8. Leptospirozda qo‘llaniladigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Leptospirozda kasal hayvonlardan olingan patmaterial qaysi bandlarda to’g’ri berilgan

- a) traxeya shilimshig’i, burun ajratmalar, qon
- b) siydik, tezak, so’lak
- c) tashlangan homila, ajratmalar, balg’am

d) qon, siyidik, tashlangan homila

2. Leptospiralar:

- a) harakatchan, spiral shaklli, ingichka, ipsimon organizm
- b) harakatchan, kokksimon bakteriya
- c) harakatsiz, spiral shaklli, ingichka, ipsimon organizm
- d) harakatsiz, vergul shaklli, buramasimon organism

**3. Leptospiralarni mikroskopik tekshirish uchun asosan qaysi usulda
preparat tayyorlanadi**

- a) osilgan tomchi usulida
- b) ezilgan tomchi usulida
- c) Shukevich usulida
- d) surtma, tamg'a usulida

4. Leptospirozda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi

- a) kalamush, kabutar, tovuq
- b) dengiz cho'chqasi, oq sichqon
- c) og'maxon, quyon
- d) jo'ja, quyon, baqa

**5. Leptospirozga serologik usullarda tekshirganda qanday antigen
ishlatiladi**

- a) o'ldirilgan kulturadan tayyorlangan maxsus antigen
- b) kimyoviy usulda inaktivlangan kultura suspenziysi
- c) fizikaviy usulda inaktivlangan kultura suspenziysi
- d) leptospira kulturalari

GLOSSARIY

O'zbek tili	Ingliz tili	Rus tili	Ma'nosi
Achitqilar (drojji)	Yeasts (drojji)	Дрожжи	Xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular miseliyasiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar.
Aktinomisetlar	Aktinomisety	Актиномицеты	(grekcha – <i>actis</i> - nur, <i>mykes</i> - zamburug') – nursimon zamburug'lar. Bir hujayrali grammusbat mikroorganizmlar. Bu guruhning 8 ta oilasi <i>Actinomycetales</i> qatoriga kiradi.
Autotrof	Autotrophs	Аутотроф	(<i>autos</i> -o'zim, <i>trophe</i> -oziqlanish) fotosintez yoki xemosintez jarayonida noorganik moddalardan organik birikmalarini hosil qiluvchi mikroorganizmlar.
Agar – agar	Agar-agar	Агар-агар	Dengiz suv o'tlaridan olinadigan azotsiz organik modda, oziq muhitni zich holatga keltiradi.
Aerob mikroblar	Aerobic microorganisms	Аэробные микроорганизмы	(grek.- <i>aer</i> -havo, <i>bios</i> -hayot) - atmosferadagi erkin kislородни o'zlashtirib

			organik va anorganik moddalarni biologik oksidlab yashab rivojlanadigan organizmlar.
Anaerob mikroblar	Anaerobic microorganisms	Анаэробные микроорганизмы	(an-inkor, aer-havo, bias-hayot) erkin kislород bo'lmagan muhitda yashaydigan mikroorganizmlar.
Antagonist bakteriyalar	Antagonistic bacteria	Антагонистически е бактерии	tabiatda, tuproqda bo'ladigan jarayonlarda, ayniqsa kasallik qo'zg'atuvchi mikroblarga qarshi kurashishda muhim ahamiyatga ega.
Aktivator mikroblar	Microbial activators	Микроны активаторы	Yashash davrida hosil qilgan mahsulotlari bilan o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini tezlatadi.
Autovaksina	Autovaccine	Аутовакцина	Organizmning o'zidan ajratilgan mikroorganizmlar kulturasidan 30 daqiqa 75°C qizdirilib tayyorlangan vaksina.
Anafilaksiya	Anafilaksiya	анафилаксия	(grekcha "ana" - qarshi, "filaksiya" himoya demakdir). Begona oqsilni (zardob, antibiotiklar) takror parenteral yuborish

			natijasida organizmda unga nisbatan haddan tashqari sezuvchanlikning ortishi.
Antitoksinli zardob	Antitoxinous serum	Антитоксическая сыворотка	toksinga qarshi immun zardoblar.
Allergiya	Allergy	Аллергия	(Grek. <i>Allos</i> -begona, <i>ergon</i> -ta'sir) organizmga yot bo'lgan antigenlar (mikrob oqsili, toksini, dorilar va h.k.) ta'sirida organizm sezuvchanligining ortishidir.
Allergenlar	Allergens	аллергены	(gr. <i>allos</i> -boshqa, <i>ergon</i> -ta'sir)– bakteriyalar gidrolizati bo'lib (brusellin, tuberkulin, mallein), tirik hayvonlarda brusellyoz, tuberkulyoz, manqaga diagnoz qo'yishda ishlataladi.
Antigen va antitelolarning o'zaro munosabatlari.	Interaction of antigens and antibodies	Взаимодействие антигенов и антител	Antigen va antitelolarning o'zaro ta'siri.
Antitela	Antibody	Антитела	Bu maxsus oqsillar – immunoglobulinlar bo'lib, hayvon organizmida antigenlar ta'sirida paydo

			bo'ladi.
Antigenlar	Antigens	Антигены	(grekcha <i>anti</i> -qarshi, <i>genes-tur</i>). Organizmga parenteral yo'l bilan yuborilganda o'ziga qarshi immun modda hosil qiluvchi yot oqsillar.
Agglyutinasiya reaksiysi	Agglutination Reactions	Реакция агглютинации	qon zardobi tarkibidagi antitela (agglyutinin) maxsus antigen (agglyutinogen) bilan yopishib, cho'kma (agglyutinat) hosil qilishi.
Agglyutinasiya	Agglutination	агглютинация	(lot. <i>agglutinatio</i> - yopishish) suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriya, eritrosit va boshqa hujayra elementlari) ning bir biriga yiopishishi.
Aktiv immunitet	Active immunity	Активный иммунитет	Yuqumli kasallik yoki emlash natijasida paydo bo'lib, bunda organizm aktiv ishtirok etadi.
Antropozoonoz is	Anthropozoonos is	Антропозооноз	hayvon va odamlarni zararlab o'zaro bir-birini zararlash qobiliyatiga ega kasalliklar.
Anaerob bakteriyalar	Anaerobic bacteria	Анаэробные бактерии	Kislородсиз muhitdagina yashaydigan

			mikroorganizmlar, bakteriyalar,bular klostridiyalar, enterobakteriyalar
Antropoz	Anthroponosis	Антропоноз	Faqatgina odamlarga xos kasalliklar.
Aralash infeksiya	mixed infection	смешанная инфекция	Ikki yoki undan ortiq tur qo'zg'atuvchilar kirishidan paydo bo'ladigan kasallik. Aralash infeksiyalar og'ir o'tadi.
Anaerostat	Anaerostat	анаэростат	germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni (CO ₂ , N ₂ , O ₂ va hokazo) berish uchun jo'mraklari va vakuum-monometrlari bor. Ekmalarni silindrning ichiga joylashtirib, qopqog'i yopiladi va nasos yordamida eksikator ichidagi havo chiqariladi.
Antiseptika	Antiseptika	Антисептика	Kimyoviy dezinfektorlar bilan yara va boshqa ob'yektlardagi mikroblarni o'ldirishdan iborat.
Aseptika	Aseptika	Асептика	Mikroblarning yaralarga tushushiga qarshi qaratiladi

			Aseptika yaralar bilan aloqada bo'ladigan narsalardagi (asbob, bog'lovchi va tikuvchi materiallar xirurglarning qo'llari va h.k.) mikroblarni to'liq yo'q qilish bilan amalga oshiriladi.
Antibiotiklar	Antibiotics	Антибиотики	(<i>anti-qarshi, bios-hayot</i>) bakteriyalar, aktinomisetlar, mog'or va lishayniklar, hayvonlar va o'simliklarning hayot faoliyatida hosil bo'lgan mahsulotlar.
Antibiotiklarning biologik faolligi	Biological activity of antibiotics	Биологическая активность антибиотиков	ta'sir birligi TB bilan belgilanib, 1 ml eritma (TB/ ml) va 1 mg preparatdagi miqdori (TB / mg) bilan ifodalanadi.
Antibiotikning ta'sir birligi (TB)	Antibiotic Effectiveness (TB)	Эффективность антибиотиков (ТБ)	ma'lum hajmdagi oziq muhitda unga sezgir standart test mikrobnii o'ldiradigan antibiotikning eng oz miqdori.
Antizardob	Antiserum	Антисыворотка	Tarkibida aniq kasallikka qarshi maxsus antitelolar bo'lgan immun qon zardobi

Absolyut letal doza	Absolute lethal dose	Абсолютная смертельная доза	(Dcl – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni o'ldiradi.
Antagonizm	antagonism	Антогонизм	Bir tur mikrob rivojlangan muhitda ikkinchi bir tur mikrob rivojlanan olmaydi. Masalan: chirituvchi mikroblar, ko'k yiring tayoqchasi kuydirgi tayoqchasining o'sishiga to'sqinlik qiladi.
Bakteriyemiya	Bacterymia	Бактериемия	Mikrobynning qonda juda qisqa muddat bo'lib, ko'paymasdan, qon orqali hamma organlarga tarqalishi.
Biosinov	bioassay	биопроба	kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlash.
Bakteriologiya	Bacteriology	Бактериология	bakteriyalarning hayot faoliyati, ular chaqiradigan infektion kasalliklarga bakteriologik diagnoz qo'yish, kasallikning oldini olish bilan shug'ullanadi.
Bakterioliz	Bacteriolis	Бактериолиз	(grek. <i>bakterion</i> -bakteriya, <i>lysis</i> -erish) bakteriyalar qobig'ining yemirilishi

			natijasida sitoplazmasining tashqi muhitga chiqishi. Bakteriofag, bakteriolizinlar, lizosim fermentlari shu xususiyatga ega.
Bakteriologik bo'yoqlar.	Bacteriological paints	Бактериологическ ий краски	Mikroorganizmlarning morfologiyasi va tinktorial xususiyatlarini o'rganish uchun ishlatiladigan maxsus (anilin) bo'yoqlar.
Bakteriyali preparatlar	Bacterial preparations	Бактериальный препараты	Mikroblarning shaklini, ularning tuzilishi va biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash maqsadida mikroskopik tekshirish uchun buyum oynasida tayyorlanadi. Bu jarayon buyum oynalarida surtma tayyorlash, quritish, fiksasiya qilish va bo'yashdan iborat.
Bakteriya	Bacterium	Бактерия	Shakli, o'lchami va ba'zi biologik xususiyatlari bilan farq qiladigan bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib, sharsimon (kokklar), tayoqchasimon (bakteriya, basilla va klostridiylar),

			burama (vibrion, spirillalar, spirochetlar) shaklli bo'ladi. Bakteriya hujayrasи qobiq, sitoplazma va o'zak apparatidan iborat.
Bakteriyaning hujayra devori	The cell wall of bacteria	Клеточная стенка бактерий	Uch qatlamdan – tashqi lipoproteid, o'rta- lipopolisaxarid va ichki mukopolimerlardan tuzilgan regid qatlamlardan iborat.
bakterisid ta'sir	bactericidal effect	бактерицидная действия	bakteriyalarni o'ldiradi.
bakteriostatik ta'sir	bacteriostatic effect	бактериостатичес- кая действия	bakteriyalarni o'sishdan to'xtatadi
Bakteriyalarning gemolitik xususiyati	Bakteriyalarning gemolitik xususiyati	Гемолитические свойства бактерий	Qonli agarda eritositlar lizisga uchrab koloniya atrofida tiniq gemoliz paydo qiladi.
Bakteriyalarni kultural xususiyatlari	Cultural properties of bacteria	Культуральные свойства бактерий	oziqa muhitlarda o'sgan bakteriyalarning o'ziga xos ifodasi
Bakteriologik ilmoq	Bacteriological implant	Бактериологическ- ая петля	Ingichka platinali simdan yasalgan bo'lib, u metall tutqichga mahkamlanadi.
Bursit	Bursitis	Бурсит	Sinovial bo'shliqning

			yallig'lanishi
Bakteriofaglar	Bacteriophage	Бактериофаги	Fag ta'sirida bakteriyalarning erib ketishi bakteriofagiya deyiladi. Bakteriofaglar mikroorganizmlarning turini aniqlab, kasalliklarga diagoz qo'yishda hamda yuqumli kasalliklarni davolashda qo'llanadi.
Basilla	Bacillus	Бацилла	Spora hosil qiluvchi tayoqchasimon bakteriyalar. Spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta emas.
Bipolyar bakteriyalar	Bipolar bacteria	Биполярные бактерии	Uchlari intensiv bo'yalgan bakteriyalar (pasterellala).
Dezaminlovchilar	Dezaminidazi	Дезаминизаторы	Aminokislotalarni parchalaydi
Dermatomikozlar	Dermatomycose s	Дерматомикозы	teri va uning hosilalarini zararlash bilan kechadigan mikozlar kiradi. Qo'zg'atuvchi keratini bor to'qimalarda parazitlik qiladi.
Denitrifikasiya	Denitrification	Денитрификация	Nitrifikasiyaga qarama-qarshi jarayondir. Bunda

			denitrifikasiyalovchi mikroorganizmlar ta'sirida nitrat kislota tuzlari molekulyar azotgacha qaytarilib havoga uchib ketadi, natijada tuproqning unumдорлиgi pasayadi.
Davolovchi profilaktik zardoblar	Therapeutic preventive serums	Лечебно профилактические сыворотки	kasal hayvonlarni davolash, kasallikning oldini olishda ishlatiladigan biologik preparatlar.
Diagnostik antitelolar (Antizardoblar)	Diagnostic Antibodys (Antiseriums)	Диагностические антитела	hayvonlarni giperimmunizasiya qilish yo'li bilan olinadi. Diagnostik zardoblar yordamida mikrob antigenlari aniqlanadi va ajratilgan kultura identifikasiyalanadi.
Diagnostik antigenlar	Diagnostic antigens	Диагностические антигены	hayvonlarning infektion kasalliklarini tekshirish uchun ishlatiladi, mikroorganizmlar kulturasidan tayyorlanadi.
Diagnostikumlar	Diagnostics	диагностикумы	dignostik maqsadda ihlatiladigan standart biologik preparatlar.
Diagnostik immun zardoblar	Diagnostic immun	Диагностические иммунные	Infektion kasalliklarga serologik usulda diagnoz

	serum	сыворотки	qo'yish uchun qollaniladigan immun zardoblar.
Dezinfeksiya.	Dezinfektsiya	Дезинфекция	Mexanik, fizikaviy, kimyoviy hamda biologik usullarda bajariladi. Dezinfeksiya sterillashdan farq qilib dezinfeksiyada faqat patogen mikroblar o'ldiriladi, sterillashda biror buyumdagি barcha mikroblar butunlay o'ldiriladi.
Endokardit	Endocarditis	Эндокардит	Yurakning endokard qavatining yallig'lanishi
Eukariot	Eukaryotes	Эукариот	O'zakli organizmlar: sodda hayvonlar, zamburug'lar, o'simlik va hayvon hujayraralari kiradi. Yadro membranasidir.
Epidedimit	Epididymite	Эпидедимит	Urug'don ortig'ini yallig'lanishi
Enterit	Enteritis	Энтерит	Ingichka ichak shilliq pardasining yallig'lanishi
Elektiv oziq muhiti	Elective food medium	Элективные питательные среды	faqat ma'lum turdagи mikroblarni o'stirishda ishlatiladi, boshqalari yo'qotiladi (anaeroblar, sut kislota hosil qiluvchi

			<p>bakteriyalar, ichak tayoqchasi, gemolitik stafilakokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).</p> <p>Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalariiga qarab aniqlashga imkon beradi.</p>
Endometrit	Endometritis	Эндометрит	Bachardon shilliq pardasining yallig'lanishi
Eksikator	Defective	Эксикатор	bu qopqog'i zich yopishadigan shisha idish. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chetlariga vazelin surtiladi, keyin termostatga qo'yiladi.
Ekzogen infeksiya	Heteroinfection	Экзогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga tashqi muhitudan kiradi.
Endogen infeksiya	Endogenous infection	Эндогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari odatda organizmning o'zida bo'lib, organizmning ahvoli yomonlashgandagina

			kasallikni rivojlantiradi. Bunga shartli patogen mikroblar, latent viruslar va h.k.lar kiradi.
Ekzotoksinlar	Exotoxins	Экзотоксины	(oqsil moddalar) Mikrob tirik vaqtida yoki o'lganidan keyin uning tanasidan sirtga ajrab chiqadi.
Endotolksinlar	Endotoxins	Эндотоксины	Bakteriya hujayrasiga ayniqsa devoriga mahkam bog'langan bo'ladi. Shu sababdan mikrob o'lganidan keyingina ajraladi.
Fagositoz	Phagocytosis	Фагоцитоз	Immunitet haqidagi ta'limotda fagositozning muhim o'rni bor. Birinchi bo'lib I.I. Mechnikov fagositoz va uning ahamiyati haqida to'liq ma'lumot bergen.
Fluoressensiyalovchi antitelolar usuli (FAU)	Fluorescence Antitellar Method (FAM)	Метод флуоресцирующих антител (МФА)	o'ta maxsus immunli lyuminessensiyalovchi zardoblar ishtirokida bajariladigan, ekspress diagnostika usuli. Bunda antigen va antitelo orasida immunologik reaksiyalar

			buyum oynachasida amalgam shiriladi.
Fimbriyalar va pili	Fimbriae and drinking	Фимбрии и пили	Ya'ni tukchalar (vorsinka). Bakteriya hujayralarda xivchinlardan tashqari uzun, ingichka, to'g'ri, iplari – fimbriyalar ham bo'ladi
Fikomisetlar (Phycomycetes)	Phukomycetes (Phycomycetes)	Фикомицеты	tuban zamburug'lar, ularning miseliysi bo'g'lnlarga bo'linmagan, ko'p o'zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat.
Fakultativ anaerob	Facultative anaerobic	Факультативные анаэробы	Nafas olish aralash turda boradi.
Fitonsidlar.	Fitonsidy	Фитонциды	O'simliklarda antibiotiklarga o'xshash moddalar borligini birinchi bo'lib olim V.P.Tokin 1928-1930 yillarda isbotlab, ularni fitonsidlar deb atagan. Fitonsidlar o'simlik bargi, guli, ildizi, mevasida bo'ladi. Fitonsidlar asosan yiringli jarayonlarni mahalliy davolashda qo'llaniladi.
Giflar	Gifs	Гифы	ingichka ipchalardan iborat Zamburug' hujayrasi.

Gram usuli	Gram method	Метод Грама	1884 yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yاليشiga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi hujayrasi devoridagi peptidoglikanga bog'liq holda ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi.
Galozoy	Galoza	Галозой	Oziqlanish usuli hayvonlarga (yuqori va sodda) xosdir. Bunda hayvon oziqani yutadi va oziqa hazm traktida hazm bo'ladi.
Golofit	Golofit	Голофит	Oziqlanish usuli o'simlik va mikroorganizmlarga xosdir. Ular oziq moddalarning suvdagi eritmasini uncha katta bo'lмаган molekulalar ko'rinishida butun tanasi bilan qobig'i orqali ikki tomonlama osmotik xodisa va diffuziya xisobiga iste'mol qiladi.
Gemoliz	Hemolysis	Гемолиз	(gr. <i>haema</i> – qon, <i>lysis</i> -erish) qondagi

			eritrositlarning parchalanib, ichidagi gemoglobinning tashqi muhitga chiqishi.
Gemolizin	Hemolytic	Гемолизин	biofabrikada, qo'y eritrositlari bilan quyonni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda gliserin qo'shilgan bo'ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlataladi.
Gigroma	Gigroma	Гигрома	Bo'g'imlararo shilliq pardoning shishishi
Gomologik	Homological	Гомологический	(gr. <i>homogenes</i> – bir xil)-o'xshash, bir xil.
Giperimmunlash	Hyperimmunization	Гипериммунизация	Bakteriya, virus yoki toksinlarga qarshi maxsus zardob olish maqsadida hayvonlarni vaksina, toksin yoki mikroblar, viruslar bilan ma'lum tizim bo'yicha bir necha bor emlash.
gemoturiya	hematuria	Гематурия	Siydikning qon aralash chiqishi
Gaptenlar	Gaptenlar	гаптены	oqsilsiz polisaxaridlar, mikrob hujayrasi somatik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik

			xususiyatiga ega.
Gemotoksin	Gemotoxin	Гемотоксин	bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida hosil bo'ladigan, eritrositlarni lizisga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar. U eritrosit qobig'ini parchalaydi. qiladi
Gematogen yo'l	Gemotogenny path	Гемотогенный путь	Patogen mikroblarning organizm bo'ylab qon orqali tarqalishi.
Galofil stafilokokklar	Galophilic staphylococci	Галофильные стафилококки	8 - 10% NaCl bor muhitda o'sadi.
gemotoksin (stafilolizin)	gemotoxin (staphylolizine)	гемотоксин	eritrositlarni lizis qiladi. Stafilokokklar ekzotoksini.
Infeksiya	Infection	Инфекция	(lotinchadan <i>infectio</i>) yuqtiraman degan ma'noni anglatadi. Infeksiya deganda tashqi muhit sharoitida hayvon organizmi va patogenli mikrob-kasallik qo'zg'atuvchi orasida vujudga keladigan murakkab biologik jarayon, o'zaro kurash ta'siri tushiniladi.
Infekcion kasallik	Infectious	Инфекционное	Organizm va mikroblar

	disease	заболевание	o'zaro ta'sirining eng ifodalangan shakli. Bu organizmning shunday holati-ki, bunda qo'zg'atuvchi ta'siriga javoban ma'lum patologik jarayonlar rivojlanadi.
Intoksikasiya	Intoxication	Интоксикация	Toksin bilan organizmning zaharlanishi.
Inkubasion davr	Inkubasionny stage	Инкубационный период	Ya'ni yashirin davr, organizmda infektion jarayon rivojlanishining birinchi bosqichi. U organizmga mikrobening kirgan vaqtidan kasallikning birinchi klinik belgilari poydo bo'lgan vaqtini o'z ichiga oladi, klinik belgilarsiz o'tadi.
Infeksiya darvozasi	Infection gates	Ворота инфекции	Mikrobening organizmga kirish yo'llari. Tabiiy sharoitda ko'p hollarda qo'zg'atuvchi organizmga alimentar- hazm yo'llari (yem- xashak, suv bilan), aerogen -nafas olish organlari orqali, kontaktda- bir-biriga tegishi bilan, hasharotlar chaqqanida,

			nosteril igna bilan inyeksiya orqali o'tadi.
Infekzion immunitet	Infectious immunity	Инфекционный иммунитет	Infekzion kasalliklarga chidamlilikning paydo bo'lishi.
Invazivlik	Invasiveness	Инвазивность	Virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri bo'lib, Mikroorganizmlarning makroorganizm to'qimalariga kirishi, tarqalish va ko'payishi qobiliyatidir. Ba'zi mikroorganizmlar ajratgan moddalar ta'siri – makro organizmning himoya kuchlarini, asosan fagositozni pasaytiradi.
intoksikasiya	intoxication	интоксикация	(lot. in-da, grek toxikon-zahar) organizmga tashqaridan kirgan (ekzogen) yoki organizmning o'zida hosil bo'lgan (endogen) moddalarning umumiy ta'siri natijasida vujudga kelgan zaharlanish holati.
Immunitet	Immunity	Иммунитет	(lotincha <i>immuniitas</i> –ozod bo'lish, qutilish)

			Organizmning patogen mikrob yoki zaharli moddasiga chidamliligi.
Immun zardoblar	Immune serums	Иммунные сыворотки	maxsus antigenlarni sxema asosida yirik hayvonlarga bir necha marta yuborib, giperimmunlash yo'li bilan olinadi.
Idiosinkraziy	Idiotsinkraziya	Идиосинкразия	Oqsilli yoki oqsilsiz harakterdagи har xil zararsiz moddalarga gul yoki unsimon chang, kimyoviy preparatlarning zaharsiz dozalarga (margimush, simob, ximin), hayvon va o'simliklardan tayyorlangan oziq-ovqat mahsulotlari va boshqalarga nisbatan organizm sezuvchanligining ortishidir.
Jelatina	Gelatine	Желатина	hayvonlar oqsili. Tog'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot. Selektiv oziq muhiti - tekshirilayotgan materialdan (har xil bakteriyalar aralashmasi) faqat ma'lum

			turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi.
Karbunkul	Carbuncle	Карбункул	(lot. <i>carbo</i> – ko'mir) yog' bezlari, jun ildizlari, teri, teri osti to'qimalaarining o'tkir yiringli yallig'lanishi.
Kultura	Artistic	Культура	Hayvon, odam, o'simlik yoki tashqi muhit substratlaridan oziq muhitlarda o'stirilgan mikroorganizmlar.
Klon	Clone	Клон	(grek. <i>klon</i> -nasl, urug') Bir hujayradan ajratilgan mikroorganizmlar kulturası.
Koli-titr	Koli – titer	Коли – титр	Eng kam miqdordagi suvda (ml) ichak tayoqchasining miqdori.
Koli-indeks	Koli - index	Коли – индекс	1 l suvdagi ichak tayoqchasi miqdoridir.
Klassifikasiya	Classification	Классификация	Sistematiq guruhlarlarni xarakterlash va aniqlash jarayoni
Komplement	Complement	комплемент	(lot. <i>Complementum</i> -qo'shimcha vosita) oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to'qima syuyqliklarining tarkibiy

			qismi. biofabrikada dengiz cho'chqasining qon zardobidan tayyorlanadi.
Komplement bog'lash reaksiyasi	Complement Binding Reaction	Реакция связывания комплемента	antigen va antitelolar faqat komplement ishtirokidagina reaksiyaga kirishadigan, bakterioliz va gemoliz holatlariga asoslangan serologic reaksiya.
KAMP (CAMP) usuli	CAMP (CAMP) method	Метод CAMP (CAMP)	<i>S.agalactiae</i> ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun ishlatiladi. Atama Avstraliyalik olimlar Kristi, Atkins, Munx – Petrsion nomlaridan olingan.
Koloniya	Colony	колония	bitta mikrob hujayrasining ko'payib, rivojlanishidan hosil bo'lgan mikrob to'plami
Kapsula hosil qilish	Capsule education	Капсула обозование	Virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri, u mikroblarning aggressiv bo'lishiga olib keladi.
Lyuminessent mikroskopiya	Lyuminessent microscopy	Люминисцентная микроскопия	qator muhim hujayra strukturalarini, organizmning har xil funksional holatlarida ularning o'zgarishini

			o'rganish, o'lgan va tirik hujayralarni farqlashga imkon beradi, mikroorganizmlar miqdorini sanashni yengillashtiradi.
Lyuminessensiya	Lyuminessence	Люминисценция	(<i>lumen</i> – yorug'lik, <i>eskent</i> – kuchsiz ta'sir) bu yutilgan yorug'lik energiyasining qo'zg'alishidan ob'ektning nurlanishidir.
Lipidlar.	Lipids	Липиды	Ularning miqdori 3,8 dan 40 % cha bo'ladi. Lipidlar sitoplazmaning ma'lum tuzilishini qo'llab turadi va sitoplazmatik membrana tarkibiga kiradi. Lipidlar mikrob hujayrasida bir xilda taqsimlanmagan.
leykositdin	leucoside	лейкоцидин	(gr. <i>leukos</i> – oq + lot. <i>caedere</i> – o'ldirish) leykositlarni parchalaydi. Stafilokokklar ekzotoksini.
Letal toksinni aniqlash	Determination of Lethal Toxin	Определение летального токсина	quyon qon tomiriga 0,75 ml\kg bulon kulturasi filtrati yuboriladi.
Leptospira	Leptospirae	Лептоспира	(<i>lepto</i> -nozik, <i>spira</i> - spiral) spiralsimon, buramali

			bakteriya. Leptospirozni chaqiradi.
mikomisetlar	microcomysets	Микомицеты	yuqori zamburug'lar. Ularning miseliysi giflari bo'g'irlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat. konidiyalar – zamburug' ekzosporalari.
Mikrobiologiya	Microbiology	Микробиология	Juda mayda organizmlar – mikroblarning – morfologi yasi, fiziologiyasi, genetikasi, ekologiyasini, ularning hayvon, o'simlik va odamlar hayotidagi roli va ahamiyatini o'rGANADIGAN fan. Bu fanning nomini E. Dyuklo taklif etgan bo'lib, grekchadan mikros- mayda, bios- hayot, logos - fan demakdir.
Mikrob	Microbes	Микроб	Mikroorganizmlarni barchasini birlashtirgan yagona atama. Fransuz olimi Seddilo 19 asjniing oxirida kiritgan
Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазмы	Polimorf mikroorganizmlar

			bo'lib, 100-150 nm o'lchamdagи filtrlardan o'tadi, spora, kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy harakatsiz mikroorganizmlar.
Metatroflar	Metatrofy	Метатрофы	(saprofitlar) hayvon va o'simliklarning o'lgan tuqimalari bilan oziqlanadi (chirituvchi bakteriya lar, achitqilar).
Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазмы	Polimorf mikroorganizmlar bo'lib, 100- 150 nm o'lchamdagи filtrlardan o'tadi, spora, kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy harakatsiz.
Mitseliy	Mycelium	Мицелий	zamburug' tanasi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib mitseliy hosil qiladi.
Mikroaerofillar	Mikroaerofily	Микроаэрофилы	(grek. <i>mikros</i> -kichik, <i>aer</i> -havo, <i>philla</i> -moyillik)- ko'payishining birinchi bosqichida molekulyar kislородни (1% cha) kam miqdorda talab qiladi (qoramol brutsellozi, leptospiroz qo'zg'atuvchisi).
Mikroorganizmlar	Enzymes and	Ферменты	Mikrob hujayralari

ning fermentlari	microorganisms	микроорганизмов	tomonidan sintezlanib, murakkab tuzilishga ega. endo va ekzofermentlar farqlanadi.
Mikozlar-	Mycoses	Микозы	Patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi.
Mikroblarining antigenlari.	Microbial antigens	Микробные Антигены	Mikrob hujayrasidagi kapsulali, xivchinli va somatik antigenlar.
Monoklonal antitelolar.	Monoclonal antibodies	Моноклональные антитела	Normal immun sistema millionlab har xil antitelolar ishlab chiqaradi.
Mastit	Mastitis	Мастит	Yelinning yallig'lanishi.
Nekrotoksinni aniqlash	Detection of necrotoxin	Определение некротоксина	Quyonning terisi orasiga bul'on kulturasi filtratidan 0,2 ml yuboriladi (1 ml da 2 mlrd mikrob hujayrasi) 24 soatdan keyin nekroz reaksiyasi paydo bo'ladi.
Orxit	Orchitis	Орхит	Urug'donni yallig'lanishi
Oqsil	Protein	Белок	hujayraning eng muhim hayotiy Organik moddasi hisoblanadi. Patogen mikroblar tanasida quruq moddalarning yarmidan ko'pini, boshqalarida esa 80

			% gacha miqdorini tashkil qiladi.
Presipitasiya reaksiyasi	Precipitation reactions	Реакция преципитации	(lotinchadan <i>praecipitatus</i> – cho’kma) reaksiyasi antitelo (presipitinlar) va antigen (presipitinogenlar) o’zaro birikib cho’kma (presipitat) hosil qilishi.
Pepton	Peptone	Пептон	Oqsillar parchalanishidagi oraliq mahsulot, shirdondan tayyorlanadi. Aminokislota, peptidlarga boy.
Patogen mikroblar	Pathogens	Патогенные микробы	Kasallik chaqiradigan mikroblar
Patologik material	Pathological material	Патологический материал	kasal, kasallikka gumon qilingan yoki o’lgan hayvondan tekshirih uchun olingan material namunalari (qon, sut, parenximatoz organlardan bo’lakchalar va h.k.).
Patogenlik	Pathogenicity	Патогенность	Mikrobning ma’lum sharoitda o’ziga xos infektion kasallikni qo’zg’atish xususiyati. U mikrob turiga xos, o’zgaruvchan belgidir.
Parenximali sut	Parenchymal milk	Паренхимное МОЛОКО	Sutning oxirgi porsiyalari.

Rikketsiyalar	Rickettsia	Риккетсии	Bakteriyalar bilan viruslar oralig'ida joylashgan, bir hujayrali, harakatsiz, polimorf, grammanfiy organizmlar.
Peptidoglikan	Peptidoglycan	Пептидогликан	(murein, mukopeptid) hisoblanib, bakteriyalar hujayra devorining asosiy komponenti.
Shtamm	Strain	Штамм	Bir turga mansub, lekin har xil hayvon va substratlardan ajratilgan va o'zaro xususiyatlarining kamroq o'zgarishi bilan farq qiladigan kultura.
Spiroxetlar	Spirochetes	Спирохеты	Harakatchan mikroorganizmlar bo'lib, ingichka va spiral shaklda juda ko'p mayda burmalarini bo'lgan organizmlardir.
Sistematika	Taxonomy	Систематика	Tirik organzmlarni umumiy o'xshashliklari bo'yicha guruhlash bilan shug'llanadigan biologiya fanining maxsus tarmog'i.
Sterillash	Sterilization	Стерилизация	(lotincha – <i>sterillis-</i> naslsizlash) turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va

			sporali) shakllarini to'liq yo'qotishga, ya'ni o'ldirishga qaratilgan.
Serologik diagnostika	Serological diagnostics	Серологическая диагностика	(lot. <i>serum</i> -qon zardobi) yuqumi kasalliklarni serologic reaksiyalar yordamida diagnostika qilish.
Serologik reaksiya	Serologic reactions	Серологическая реаакция	Antigen va antitelolarning o'zaro ta'siriga asoslangan o'ta maxsus reaksiya.
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	Mikrobynning qonda ko'payib, qon orqali butin organizmga tarqalishi. U juda tez kechib, odatda o'lim bilan tugaydi.
Stafilokokklar.	Staphylococci.	Стафилококки.	sharsimon shakldagi mikroorganizmlar
Subklinik mastit	Subclinical mastitis	Субклинический мастит	klinik belgilari namoyon bo'limgan mastit.
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	(grek. <i>septicos</i> , <i>haima</i> - qon) kasallik qo'zg'tuvchisining qonda ko'payishi va butun organizmga tarqalishi natijasida organizmda chuqur o'zgarishlar paydo bo'lishi.

Tur	Species	Вид	Kelib chiqishi umumiy va xususiyatlari yaqin bo'lgan mikroorganizmlar avlodining to'plami.
Tropizm	Tropism	Тропизм	mikroorganizmlarning organizmda joylashishi.
Toksinlar	Toxins	Токсины	Mikroorganizmlar hosil qiladigan zararli moddalardir, virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri.
Toksigenlik	Toxigenicity	Токсигенность	Mikrobning toksin hosil qila olish xususiyati.
Toksemiya	Toxemia	Токсемия	Mikroblar shikastlangan joyning o'zida (to'qima) ko'payadi, hosil bo'lgan toksini qon oqimiga o'tib, butun organizmni zaharlaydi.
Vaksinalar	Vaccines	Вакцины	(lot. <i>vaccinum</i>) maxsus biologik preparat, kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlanadi. Kasallikning oldini olish uchun ishlatiladi.
Virulentlik	Virulence	Вирулентность	Mikrobning patogenlik darajasi, ya'ni virulentlik mikrobning individual belgisi bo'lib, har xil

			sharoitlarda o'zgarib turadi.
Viruslar	Viruses	Вирусы	Hujayrasiz mikroorganizmlar bo'lib, barcha turdag'i organizmlar-hayvon, odam, o'simlik, hashorat, bakteriya, zamburug', sodda hayvonlar hujayrasi ichida parazitlik qiladi.
Xlamidiyalar	Chlamydia	Хламидии	Antigenligi bo'yicha yaqin, qardosh, tinktorial va morfologik xususiyatlari o'xshash mikroorganizmlarning o'ziga xos taksonomik guruhi.
Zonooz	Zoonoses	Зонооз	Faqatgina hayvonlarga xos kasalliklar.
Zooatropoz	Zooatropeses	Зооатропоноз	Hayvonlarni zararlab odamlarga o'tadigan kasalliklar.
Zamburug'lar	Mushrooms	Грибы	(<i>Fungi</i>) – o'simlik dunyosiga kiradigan xlorofillsiz organizmlar bo'lib, eukariotlarga kiradi. Har xil substratlar yuzasida yashaydilar.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.

2. Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y.

3. Carter. G. R darla J. Wise Essentials of Veterinary Bakteriology And Mycology Sixth Edition 2004 y.

4. Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.

5. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 1. Obshaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2006 g.

6. Kislenko V.N., Kolichev N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 2. Immunologiya. –M.: KolosS, 2006 g.

7. Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g.

8. Vorobyev A.A. Medisinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya. –M., 2008 g.

9. Ruzikulova U.X. “Kavshovchi hayvonlarda pasterellyoz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish” mavzusidagi Magistr akademik darajasini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. Samarqand. 2014y.

10. Zooveterinariya jurnallari, –Toshkent.

11. Internet ma'lumotlari: www.Ziyo.net.uz.

email: zooveterinariya @.ru

email: sea @ mail.net21.ru

email: veterinariy @.actavis.ru

email: fvat@.academy.uzsci.net