

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

Shapulatova Z. J.

MIKROBIOLOGIYA

FANIDAN

AMALIY VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

**5410600 - Zootsiyeneriya (turlari bo'yicha) ta'lim yo'nalishining talabalari
uchun**

O'QUV QO'LLANMA

TOSHKENT-2019

Taqrizchilar:

M.N.Mamatova SamVMI Epizootologiya, mikrobiologiya va virusologiya
kafedrasi dotsenti, veterinariya fanlari doktori

B.A. Elmuradov Veterinariya ilmiy tadqiqot instituti mikrobiologiya
laboratoriyasi mudiri, veterinariya fanlari doktori

KIRISH

Ushbu o'quv qo'llanma mikroorganizmlarning umumiy xususiyatlari, morfologiyasi, fiziologiyasi, genetikasi va ekologiyasini, ularning tabiatda moddalar aylanishi, sanoat va qishloq xo'jaligining har xil ishlab chiqarish tarmoqlaridagi roli, infeksiyon jarayonlarni, immunitet, uning turlarini, asosiy infeksiyon kasalliklarning qo'zg'atuvchilari, ularga diagnoz qo'yish, maxsus oldini olish usullarini, yem – xashak mikrobiologiyasi, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumni mikrobiologik tekshirish usullarini o'rgatadi hamda respublikamizdagi ijtimoiy-iqtisodiy islohotlar natijalari va hududiy muammolarning chorvachilik sohasida zootinjeneriyaning istiqboliga ta'siri masalalarini qamraydi.

Chorvachilik xo'jaliklarida zootinjelerlar xizmatini tashkil etishda, inson va hayvonlarni yuqumli kasalliklardan himoya qilishda, insonlarni sifatli oziq-ovqat mahsulotlari bilan ta'minlash, hayvonlarning mahsuldorligini oshirishda fanning o'rne juda nam katta. Oziq-ovqat, yengil sanoatda, go'sht va go'sht mahsulotlari, sut va sut mahsulotlari, tuxum yetishtirishda, vino, pivo tayyorlashda, non yopishda, qandolat mahsulotlarini tayyorlashda ishtirok etadi. Mikroorganizmlar yordamida sanoatda har xil kislotalar, spirt, vitaminlar, fermentlar, aminokislotalar va antibiotiklar olinadi, shu tufayli respublikamizdagi ijtimoiy-iqtisodiy islohatlar natijalariga, chorvachilikning rivojlanishiga ta'siri katta.

Ushbu fan O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015 yil 29 dekabr "Veterinariya to'g'risida"gi qonuni, 2006 yil 23 martdagi 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 dekabrda PQ-24/60-son "Qishloq xo'jaligida islohatlarni yanada takomillashtirish va rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida"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 – chuqur fundamental bilimlarni va puxta amaliy tayyorgarlikni o'zida mujassamlantirgan keng ixtisosli mutaxassislarni shakllantirishdan iborat. Qo'llanma oliy ta'lim muassasalarining zootexniya 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 chuqur o'rganishlari, yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlarini ta'minlaydi. *Mikrobiologiya* fani tayanch biologik fan hisoblanadi. U "Hayvonlar fiziologiyasi", "Hayvonlarni oziqlantirish", "Zoogigiyena", "Veterinariya asoslari" va boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liq.

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

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, atrof muhit obektlarini, yem-xashak, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumni va h.k.larni sifatini tekshirish usullarini, infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilari, ular chaqiradigan kasallikka diagnoz qo'yish, oldini olish bo'yicha maxsus zamonaviy samarador usullari, bunda qo'llaniladigan biopreparatlar bo'yicha yo'nalish profiliga mos bilim, ko'nikma va malakalarini shakllantirish va rivojlantirishdan iborat.

Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma

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

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

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

Dars oxirida 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. MIKROBIOLOGIYA FANINING UMUMIY QISMI

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

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

Material va jihozlar: Har xil modeldagi biologik mikroskop; immersion moy, bo'yalgan tayyor har xil mikrob preparatlari to'plami, plakatlari, videoproektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar.

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

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

2. Preparatni mikroskopda ko'rish usullarini o'rganib, mustaqil ravishda immersion obyektivda bo'yalgan tayyor biologik 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 infeksiyon kasalliklarining oldini olish va ularni yo'q qilishni ta'minlashga, shuningdek, xalqni hayvonlar va odamlar uchun umumiy bo'lgan kasalliklardan himoya qilishga qaratilgan. Ish masshtabi bo'yicha 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. Laboratoriyada ishlash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo‘shimcha 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 analitik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikroanaerostat, sovutgichlar, paxta – dokali tiqinlar tayyorlash uchun apparat, asboblari to‘plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri

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

Laboratoriyada preparatlarni bo'yash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial bo'yoqlar, spirt, kislotalar eritmalari, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli gorelka yoki spirt lampasi, dezinfektsiyalovchi 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 rioya qilish zarur. Xususan mikrobiologiya laboratoriyasida ish boshlashdan oldin talabalarni u yerdagi tartib-qoida bilan batafsil tanishtirish kerak.

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

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

3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

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

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

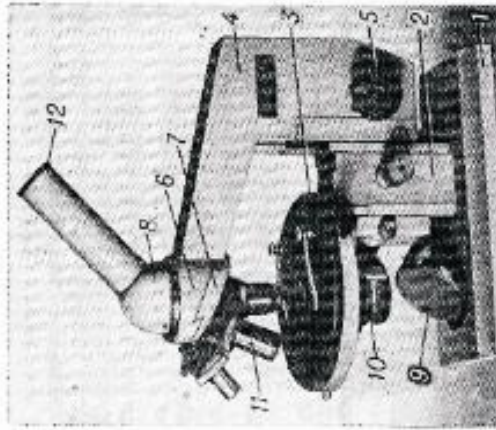
6. Elektr tarmoqlari simlariga metall yoki boshqa buyumlar bilan tegish mumkin emas.

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

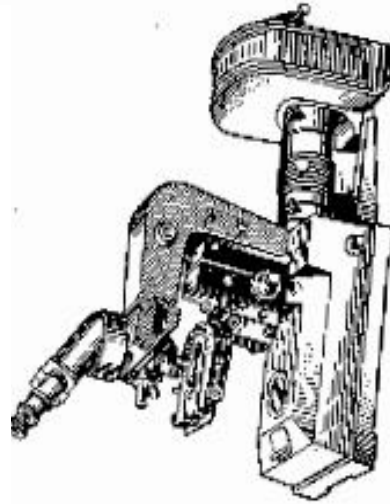
9. Ish tugagandan keyin har qaysi talaba o'z ish joyini yig'ishtirishi, keyin

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

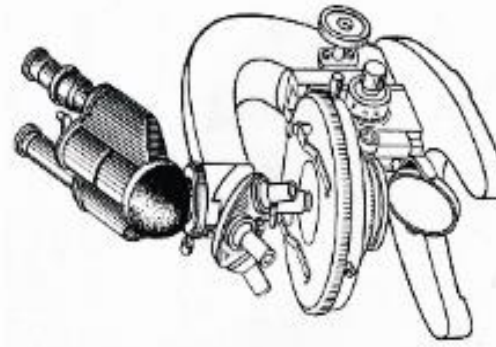
Mikroskop turlari



1-rasm. Biologik mikroskop
«Biolam»



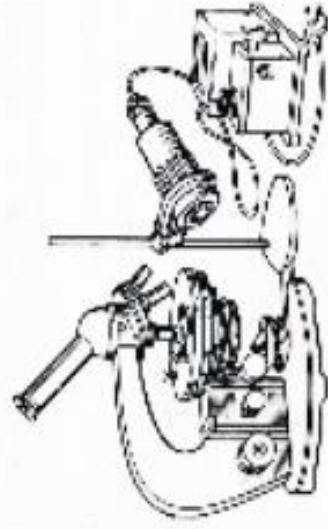
4-rasm. Ml-2 lyuminescent
mikroskopi.



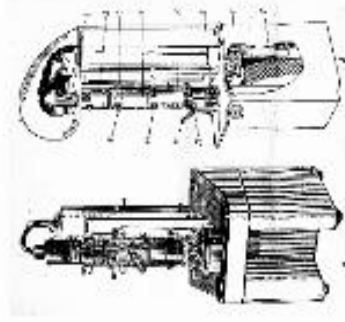
2-rasm. Binokulyar oʻrnatma
AU-12.



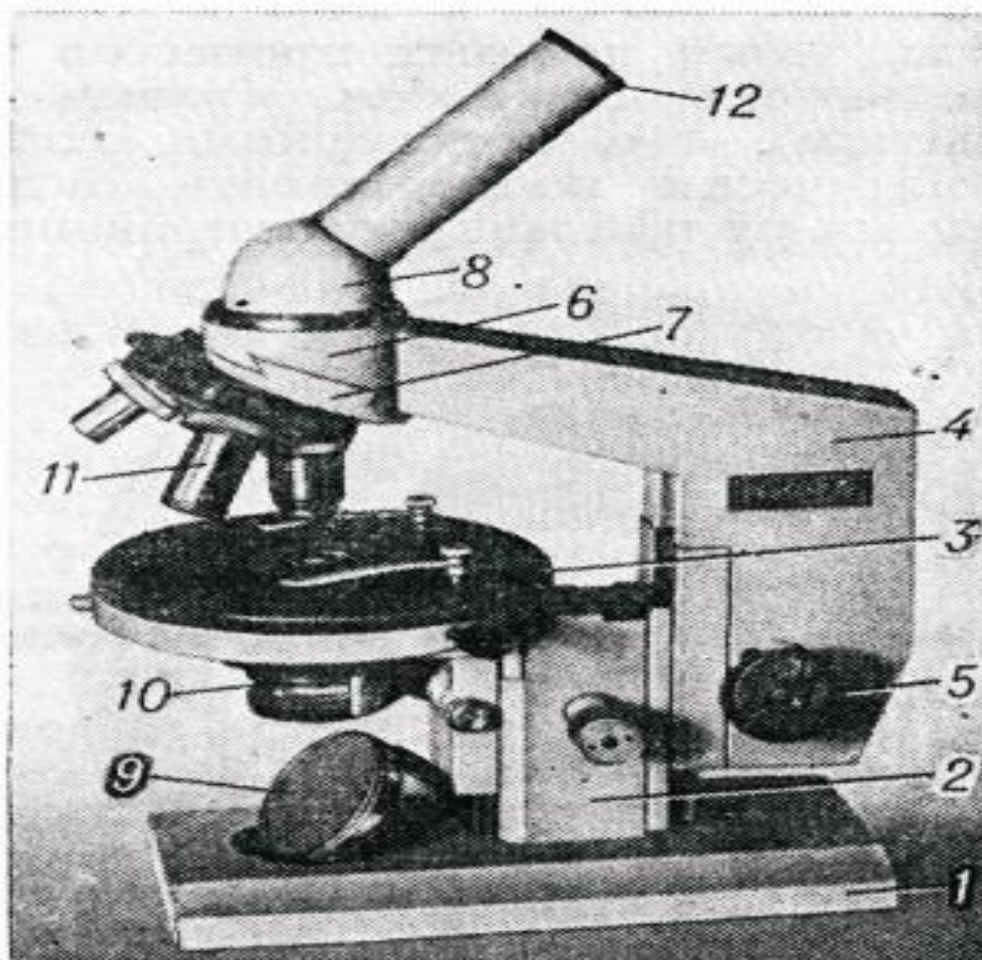
5-rasm. I-2 tipli «Lyumam»
lyuminescent mikroskopi.



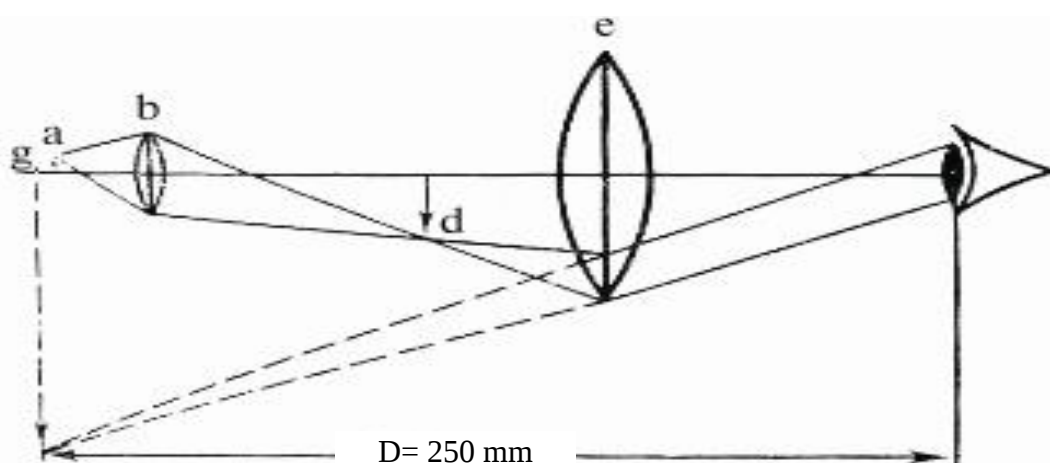
3-rasm. MBI-1 mikroskopi va
yoritgich OI-7.



6-rasm. Elektron mikroskop.



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



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

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

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

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

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

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

Ular 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 gorizonttal tekislikda harakatlantiriladi.

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

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

kattalashtirishda foydalaniladi. Ikkinchi botiq tomoni kichik kattalashtirishlarda kondensorsiz ishlashga mo'ljallangan.

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

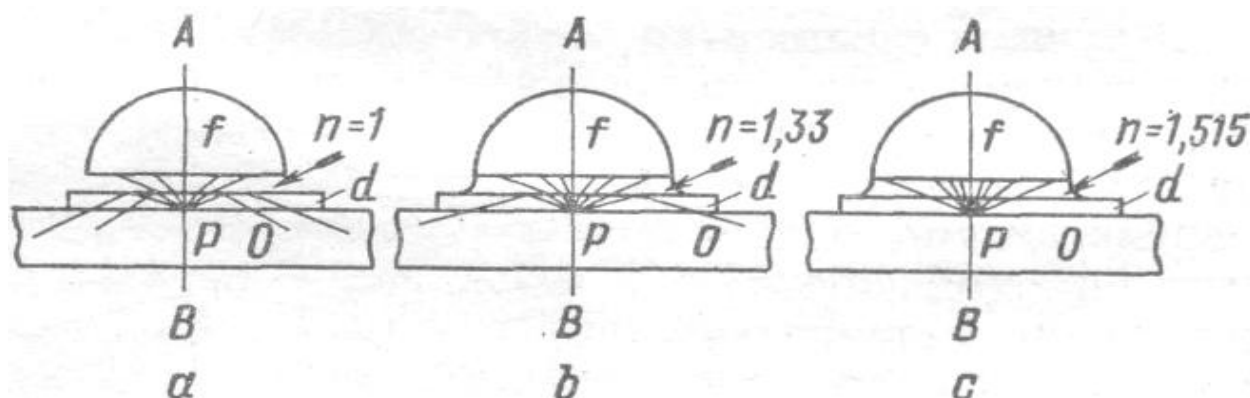
Obyektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U obyektни haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasvirni tuzuvchi linzalar sistemasidan iborat. Tashqi, asosiy yoki frontal linza preparatga yo'naltirilgan. Bundan tashqari, yuqorisida yana bir nechta (3-4 tadan 10-12 tagacha) korreksion linzalari bor. Ular tasvirni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

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

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

Mikroskopda tasvir quyidagicha paydo bo'ladi (8-rasm). 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'shimcha kattalashtirgach

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



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

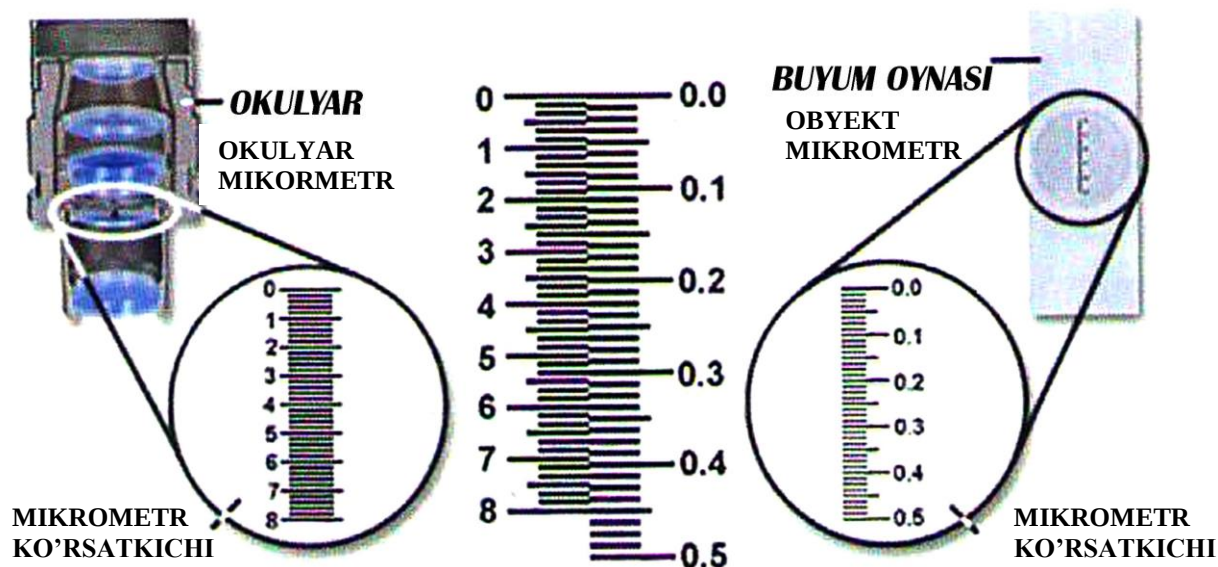
Bakteriyalarning o‘lchamlarini tavsiflashda odatda hujayraning uzunligi va eni mikrometrlarda (10^{-3}) ko‘rsatiladi. O‘lchov asbobi sifatida okulyar- va obyekt-mikrometrlar ishlatiladi (10-rasm).

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 qismga ajratilgan chiziqli buyum oynachasi.

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

OKULYAR MIKROMETR VA OBYEKT MIKROMETR 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'rniga tekshirilayotgan obyekt bor preparat joylashtiriladi. Masalan, tayoqchasimon mikroob 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,

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'rnatiladi. Okulyarga qarab, ko'zgu yordamida ko'rish maydoni to'liq yoritiladi.

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

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

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

Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. 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 ishlash qoidalarini ayting.
7. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?
8. Bo'yalgan 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'lgan masofasi hisoblanadi
- d) ob'ektiv va okulyar ko'rsatkichlarini ko'paytirib

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

- 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. Mikroob kulturasidan bakteriyali preparat tayyorlab, oddiy usulda bo‘yashadi.
3. Tayyor preparatni mikroskopda ko‘rib, bakteriyalarning shaklini daftarga chizib olishadi.

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

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

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

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

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

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

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

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

Metilen ko'ki eritmasi (ishqorli Leffler ko'ki). Eritmani tayyorlash uchun 3 g bo'yoq 100 ml 96⁰ spirtida uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

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

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

Tayyor suyuq azur – eozin bo'yog'i (Gimza bo'yog'i) bakteriyali preparatlarni maxsus bo'yash usullarida ishlatiladi. Uni ishlatishdan oldin distillangan suv bilan suyultirish kerak (1:10), lekin bunda tezda cho'kma hosil bo'ladi. Cho'kma preparatga ta'sir qilmasligi uchun, Romanovskiyning tavsiyasiga ko'ra quyidagicha bo'yaladi: Petri kocachasi tubiga shisha tayoqchalar yoki boshchasi olingan gugurt cho'plari qo'yiladi. Ularning ustiga preparat surtmasini pastga qaratib joylashtiriladi va bo'yoq eritmasi preparat ostiga quyiladi (Romanovskiyni – 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 kulturasini; sut, qon, yiring (surtma), jigar, taloq yoki boshqa organlar to'qimasi (tamg'ali, klyach – preparat) va h.k.lardan quyidagicha tayyorlanadi:

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

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

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

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

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

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

ipsimon shakllari 10-40 mkmga yetadi. Spora va kapsula hosil qilmaydi, Zdrovskiy 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'lmagan sharsimon elementar hosilaning yirik binar bo'lingan initsial tanachalarga aylanishi bilan ifodalanadi. Bo'linishdan oldin xlamidiya qismchalari bakteriya kapsulasini eslatadigan o'ziga xos tuzilmaga o'raladi. 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 ishlatiladi

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. Mikrobn 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 kulturas: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayoqchalari), videoprojektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

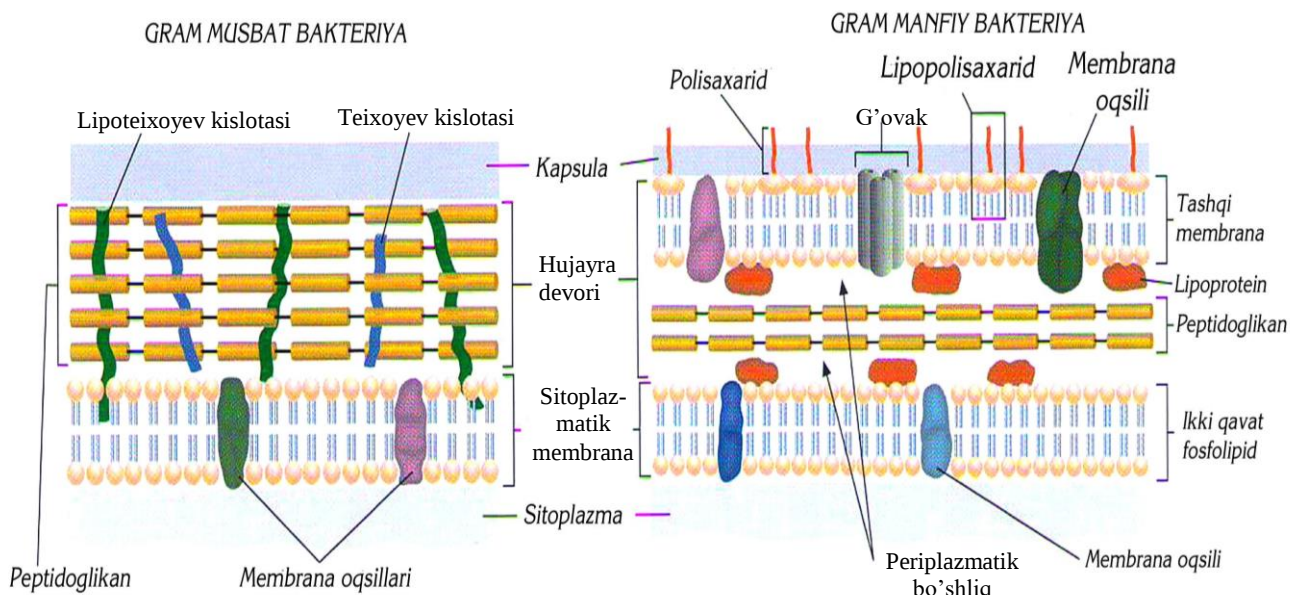
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1. Murakkab bo'yashning Gram usulini daftarga yozib olish. 2. Mikroorganizmlar

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

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

Har xil mikroorganizmlarni protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular aynan bir xil bo'yoq bilan turlicha bo'yaladi. Bir qancha hollarda mikroob 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'shimcha 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 spirtida kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta'sir ettirilganda hujayra devori qalin, ko'p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlamining g'ovaklari yirikroq bo'lib, spirtning o'tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo'lgan birikma parchalanib bo'yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta'sirida hujayra rangsizlanadi (19-rasm).



19-rasm. Grammusbat va grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi⁴

Gram usulida bo'yash

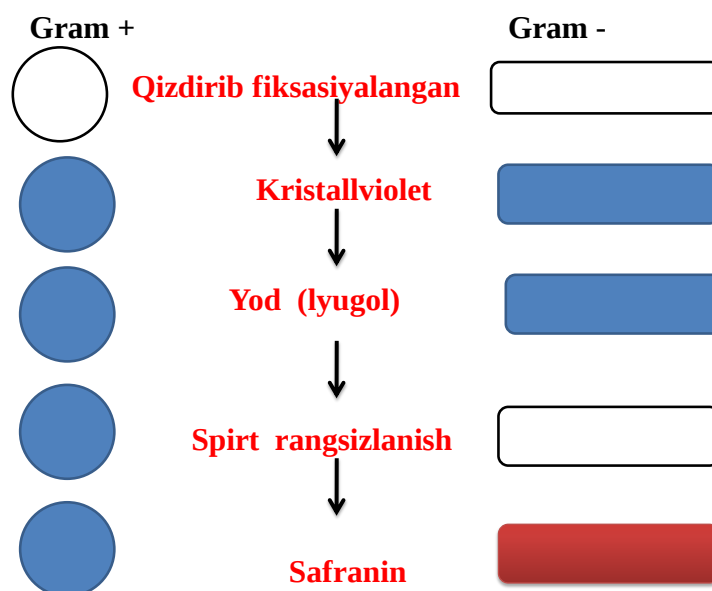
1. Alangaga tutib fiksatsiyalangan surtma filtr qog'oz orqali gensianviolet bo'yog'i bilan bo'yaladi - 2 daqiqa.
2. Filtr qog'ozni olib, bo'yoq to'kib tashlanadi va surtma ustiga Lyugol eritmasi quyiladi - 2 daqiqa .
3. Lyugol eritmasini to'kib, 96⁰ spirt quyiladi (30 soniya).
4. Suvda yaxshilab yuviladi.
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 qirrilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'ozni ishlatish mumkin. Bunda preparatga qirrilgan bo'yoqli filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan

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

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.2.

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 aytiladi?
2. Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yashning mohiyati nimadan iborat?
3. Mikroorganizmlarning grammanfiy yoki grammusbat bo'yalishining sababi nima?
4. Gram usulida bo'yash texnikasini ayting.
5. Lyugol eritmasining tarkibini ayting.
6. Grammusbat bakteriyalar hujayra devori qanday tuzilgan?
7. Grammanfiy bakteriyalar hujayra devori qanday tuzilgan?
8. Gram bo'yash usulini kim va qachon taklif etgan?

Test savollari:

⁵ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.202

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

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

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

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

3. Bakteriyalarning doimiy bo'lmagan 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 (suvdagi eritmasi), fiziologik eritma, bakteriyalar kulturasini: spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayoqchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlar, videoprojektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

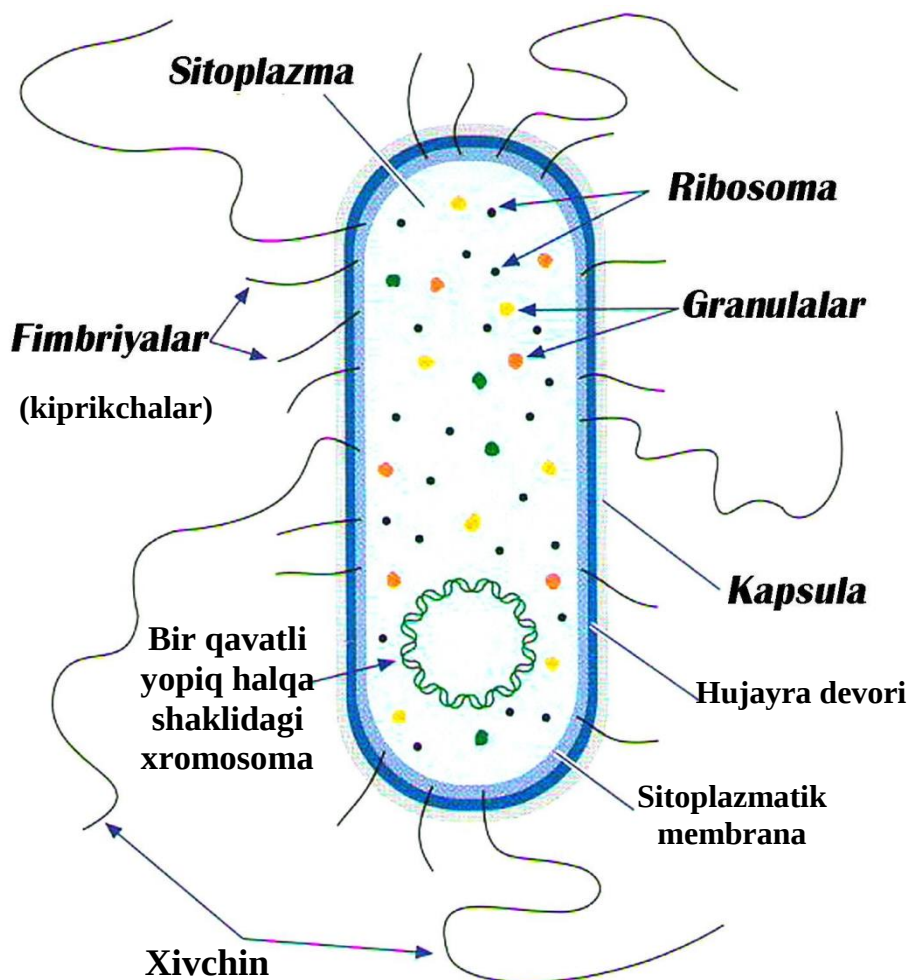
1.Sporalarni Auyski, Meller, Zlatogorov, Peshkov usullarida bo'yash, kapsulalarni Mixin, Romanovskiy-Gimza, Olt usullarida, kislotaga chidamli bakteriyalarni Sil-Nilsen usulida bo'yashni daftarga yozib olish.

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 quyuvlashib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko'p qavatli qobiqqa o'raladi (22-rasm). Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko'pchilik kislotaga, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz

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



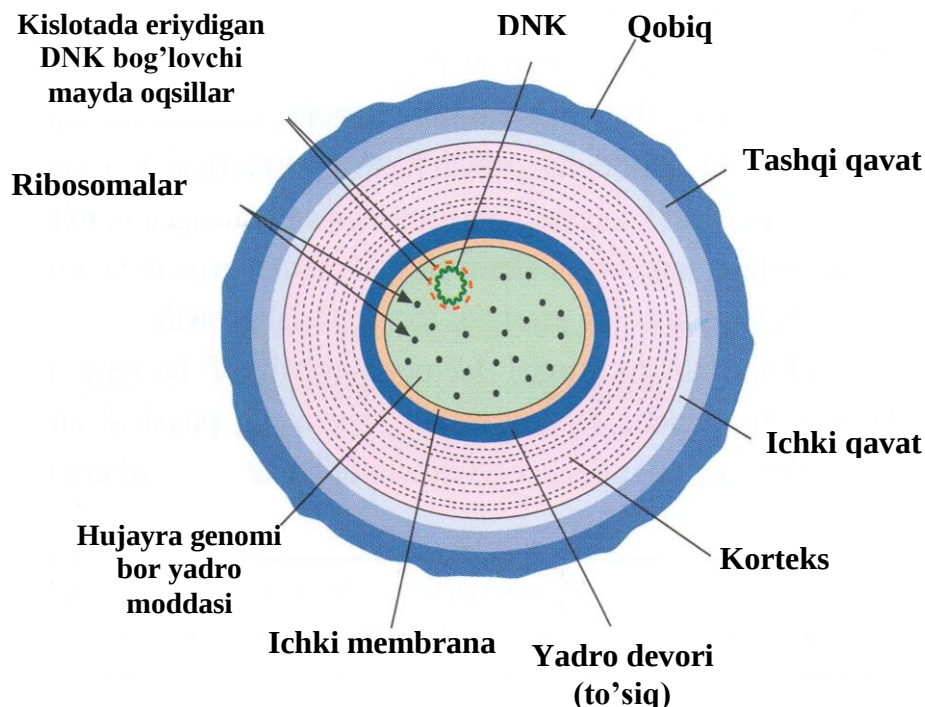
21-rasm. Bakteriyaning tuzilishi.⁶

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 quyiladi, 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'shimcha metilen ko'ki bilan 4-5 daqiqa bo'yaladi. Suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

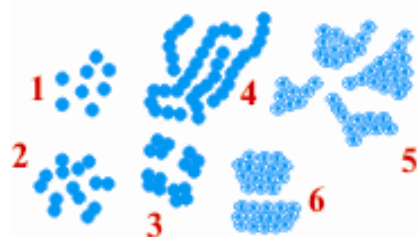
Mikroskopda ko'rinishi: sporalar pushti-qizil, vegetativ hujayralar ko'k rangda.

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

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

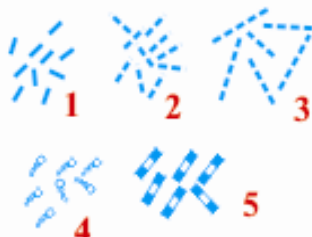
⁷ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.3

Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari



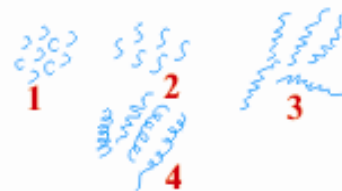
I SHARSIMON

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



II TAYOQCHASIMON

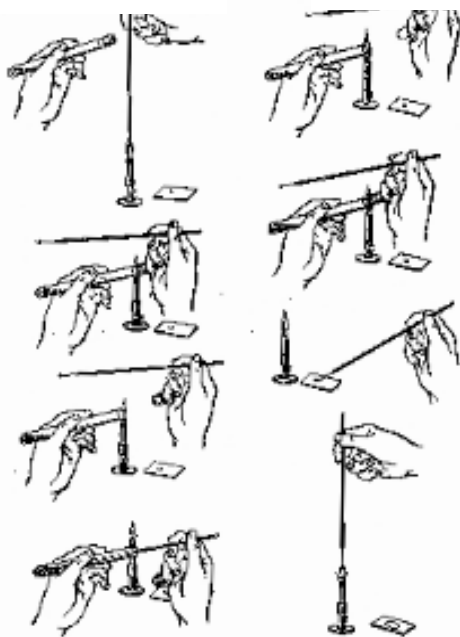
1. monobakteriyalar
2. diplobakteriyalar
3. streptobakteriyalar
4. klostridiyalar
5. basillalar



III BURAMASIMON

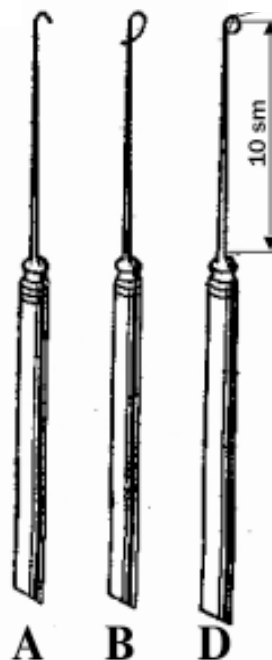
1. vibriionlar
2. leptospiralar
3. spiroxetalar
4. spirillalar

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 surtmal bakteriyalarning ko'rinishi

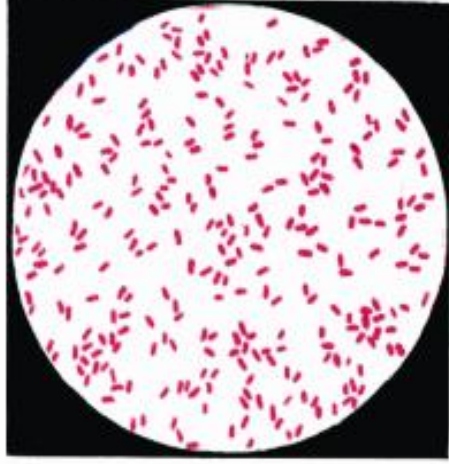
Gram usulida
bo'yalgan
surtmalarda



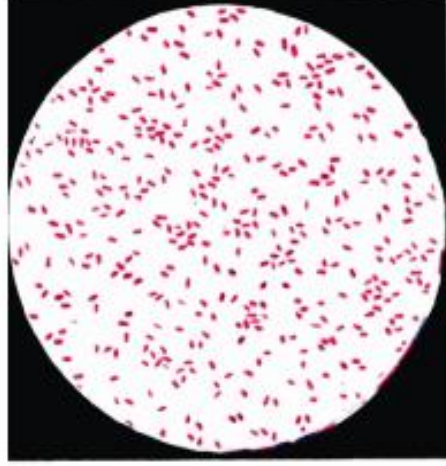
14-rasm. *Diplococcus pneumoniae*.



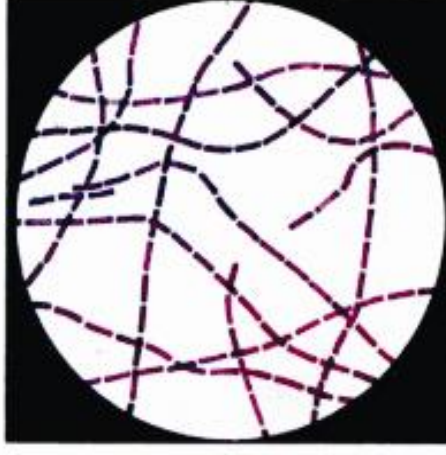
15-rasm. *Streptococcus pyogenes* qonda.



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

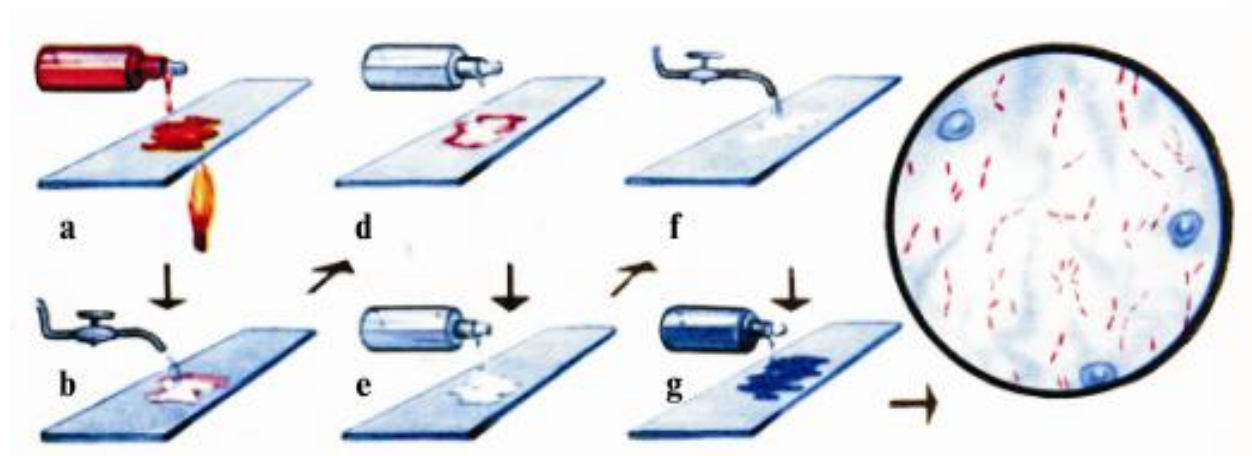


17-rasm. *Salmonella* – grammanfiy tayoqchalar.



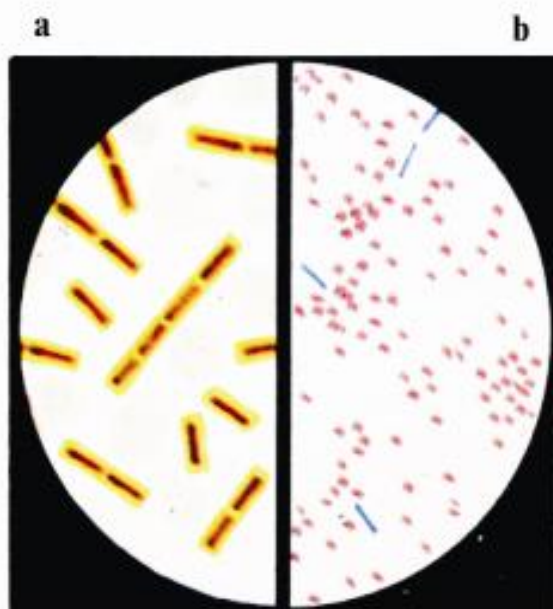
18-rasm. *Bac. anthracis* – grammusbat tayoqchalar.

Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari

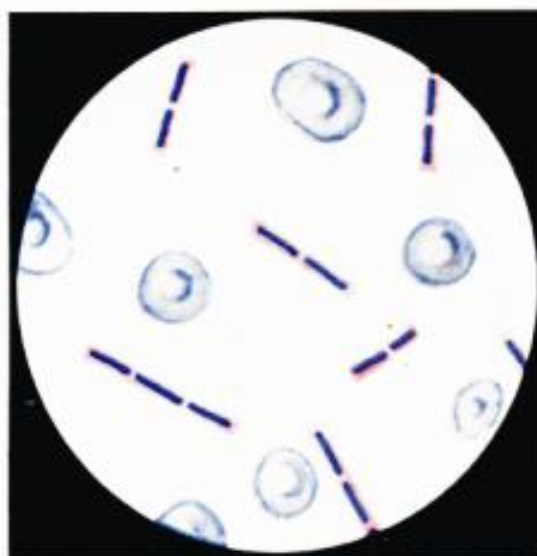


23-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

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 spirt, keyin f – suv bilan yuviladi va g – metilen ko'ki bilan bo'yaladi. Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rahgga bo'yaladi.

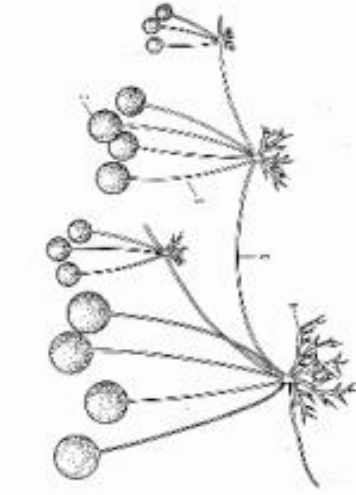


24-rasm. *Bac. anthracis*
Olt usulida bo'yalgan:
a-kapsulasi sariq,
basillalar-qo'ng'ir rangda
b-sporasi Sil-Nilsen
usulida bo'yalgan.

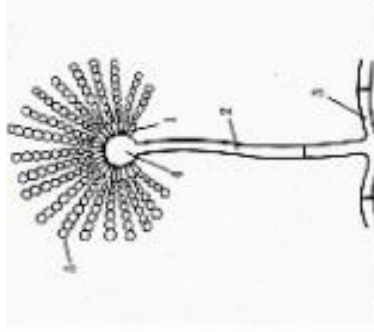


25-rasm. *Bac. anthracis*
Leffer usulida bo'yalgan:
kapsulasi pushti,
basillalar-ko'k rangda.

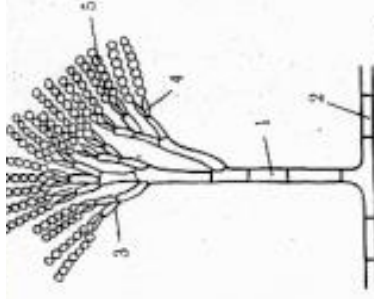
Zamburug'larning morfologiyasi



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



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



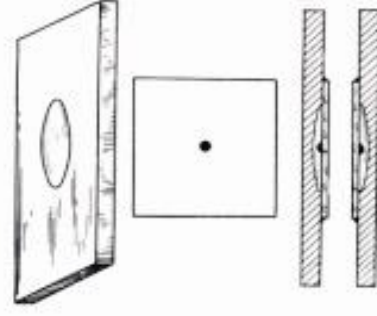
28-rasm. Penitsillum – zamburug'ining tuzilishi:
1-konidiofor; 2-vegetativ gif;
3-metulalar; 4-sterigmalar;
5-konidiyalar.



29-rasm. Aচিতqi va aচিতqisimon zamburug'lar:
1-haচিতqi aচিতqilar (saxaromisetlar);
2-sporali asklar; 3-aচিতqisimon zamburug'larning psevdomitseliylari blastosporalari bilan.



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



31-rasm. Osilgan tomchi usulida preparat tayyorlash.

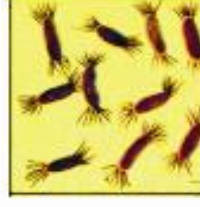
32-rasm. Bakteriyalarda xivchinlarining joylashishi.



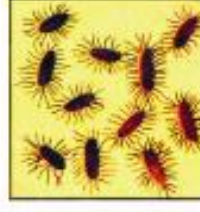
Monotrixlar



Lofotrixlar



amfitrixlar



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'yaladi). Keyin filtr qog'ozni olib tashlab, 6-10 soniya davomida sulfat kislotaning 5% li eritmasida rangsizlantiriladi (sporalar qizil rangda qoladi) va suv bilan yuviladi. Endi metilen ko'kning eritmasi bilan 1 daqiqa davomida qo'shimcha bo'yaladi (rangsizlangan vegetativ formalari bo'yaladi). So'ngra suv bilan yuvib filtr qog'ozda quritiladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda immersion obyektivdan foydalaniladi. Vegetativ hujayralar ko'k, sporalar qizil rangga bo'yaladi.

Peshkov usuli. Tayyorlangan surtma spirt lampa alangasida fiksatsiyalanadi.

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

Kapsulalarni bo'yash. Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosila-sidir. U mumsimon 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 sifatli shish kasalliklari, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchilari kapsula hosil qiladi.

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

Olt usuli.

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

quritiladi. Mikroskopda ko‘riladi. Kapsula sariq, hujayra qo‘ng‘ir rangda bo‘ladi (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‘yalganda 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 kislota ga 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. Ikkinchi buyum oynachasining silliqlangan tomoni tomchiga 45⁰ burchakda qo‘yiladi va pastdagi oynachaning ikkinchi tomoniga yengilgina surtish harakati bilan siljiriladi. Natijada qon oynachada bir xilda yoyilib yupqa qatlam hosil bo‘ladi. Uni havoda quritib metil spirti yoki etil spirti va efir aralashmasida fiksatsiya qilish kerak. Preparat Romanovskiy Gimza usulida bo‘yoqning ishchi eritmasi (1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo‘yoq) bilan 10-20 daqiqa bo‘yaladi. Suv bilan yuvib havoda quritiladi.

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

Rikketsiyalarni Zdradovskiy usulida bo‘yash.⁸ Surtma Sil fuksini suyultirmasi (10 ml distillangan suvga 10-15 tomchi) bilan 5 daqiqa davomida bo‘yaladi va suv bilan yuviladi. Surtmaga 0,5% li limon 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 ishlatiladi.

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

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

- 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'lmagan 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 harakatini o‘rganish.

Material va jihozlar: Petri kosachasidagi zich oziq muhitlarda o‘stirilgan mukor, penitsillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zambu-rug‘lar kulturasi. Suyuq oziq muhitda o‘stirilgan achitqi kulturasi. Buyum va yopqich oynachalar, bakteriologik ilmoq, probirkada spirt, glitserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayoqchasi, pichan tayoqchasi kulturasi, mavzuga oid plakatlari, videoprojektor, 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 zamburug‘ tanasini – mitseliysini hosil qiladi. Zamburug‘ mitseliysi oziq muhitda substratli (koloniya oziq muhitga mustahkam kiradi) va havoli (oziq muhit ustida) bo‘ladi. Mitseliysining tuzilishi bo‘yicha barcha zamburug‘lar *tuban* va *yuqori* zamburug‘larga bo‘linib to‘rt sinfga kiritilgan. Fikomitetlar (Phycomycetes) – tuban zamburug‘larga kirib, ularning mitseliysi bo‘g‘inlarga bo‘linmagan, ko‘p o‘zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomitsetlar (Ascomycetes), bazidomitsetlar (basidiomycetes) va takomillashmagan zamburug‘lar (Fungi imperfecti, Deuteromycetes) yuqori zamburug‘larga kiradi (mikomitsetlar). Ularning mitseliysi giflari bo‘g‘inlarga bo‘lingan bir yoki ko‘p o‘zakli hujayralardan **iborat**.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, oidiylar, artrosporalar, blastosporalar va h.k.), bilan amalga oshadi. Reproduktiv usulda zamburug‘lar maxsus organlar yordamida ko‘payadi. Jinssiz ko‘payish maxsus endogen (sporangiasporalar, zoosporalar) yoki ekzogen (konidiyalar) hujayralar yordamida kechadi. Jinsiy ko‘payishda ikki hujayraning yadrosi qo‘shilib, keyin bo‘linadi va maxsus giflar hosil bo‘ladi. Giflarda esa spora hosil qiluvchi organlar paydo bo‘ladi.

Jinsiy ko‘payish xususiyatiga ega zamburug‘lar – *takomillashgan*, jinsiy sikli yo‘qlari – *takomillashmagan* (Deuteromycetes) deb ataladi (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 immunologiya. Chast 1. Obshaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2006 g. c.25-26.

Zamburug‘larning suslo agarda o‘shishi.

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 konidiyalalar, konidiyalarning chetida ekzosporalar joylashadi.

Aspergilla– takomillashmagan zamburug‘ bo‘lib, mukorga nisbatan sekinroq o‘sadi. Ikkinchi sutkada o‘shish 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‘shib 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 gifi bor. Uning uchida shingil shaklli konidiyalalar (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‘shishi

ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarining qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Mitseliysi avval substratli keyin havoli bo'lib, koloniyalar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zich konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi.. Aktinomitsetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomitsetlar aerob, kraxmal – ammiakli agarda 30 – 35⁰Cda 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 Pfeyffer fuksini bilan bo'yaladi.

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 bakteriyalarnikidan katta 10 – 15 mkm gacha. Achitqi hujayrasining ichida 4 tadan 12 tagacha sporalar hosil bo'lib, ular xalta – askalarga aylanadi. Achitqilarning tinch holatdagi hujayralari vegetativ shakllaridan ikki qavatli qobig'i, ko'p miqdorda oziqa moddalar zaxirasi (glikogen, yog') bor bo'lib, vakuoli yo'qligi bilan farq qiladi. Achitqilar kurtaklanish, spora hosil qilish, oddiy bo'linish va jinsiy yo'l bilan ko'payadi.

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

Bakteriyalarning harakatini o'rganish.

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

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

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

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

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

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

4. Peritrix – bu guruh bakteriyalarda xivchinlar hujayraning hamma tomonidan o‘tib chiqqan. Tartibsiz harakatlanadi.

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

«Osilgan» tomchi preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun o‘rtasi chuqur maxsus buyum oynasi ishlatiladi. Tekshiriladigan materialdan qoplagich oynaga bir tomchi tomiziladi. Buyum oynasidagi chuqurning chetlariga vazelin surtiladi. Keyin buyum oynasi qoplagich oyna ustiga shunday yopiladiki, undagi tomchi chuqurchaning o‘rtasida bo‘lsin. Oyna ehtiyotlik bilan to‘nkariladi, ana shunda zich yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (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 usti 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'rganiladi?
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) xlorafiltsiz, 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'yalgan preparat
- c) ezilgan tomchi usulida bo'yalmagan preparat
- d) oddiy usulda bo'yalgan preparat

3. Bakteriyalarning harakati qanday o'rganiladi.

- a) maxsus murakkab usulda bo'yalgan 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, lakmus 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, to‘plash, saqlash, aniqlash, ularni ajratib olish, ulardan har xil biologik preparatlar va mahsulotlar (toksinlar, antibiotiklar va boshqalar) olish uchun oziq muhitidan ko‘p foydalaniladi.

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

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

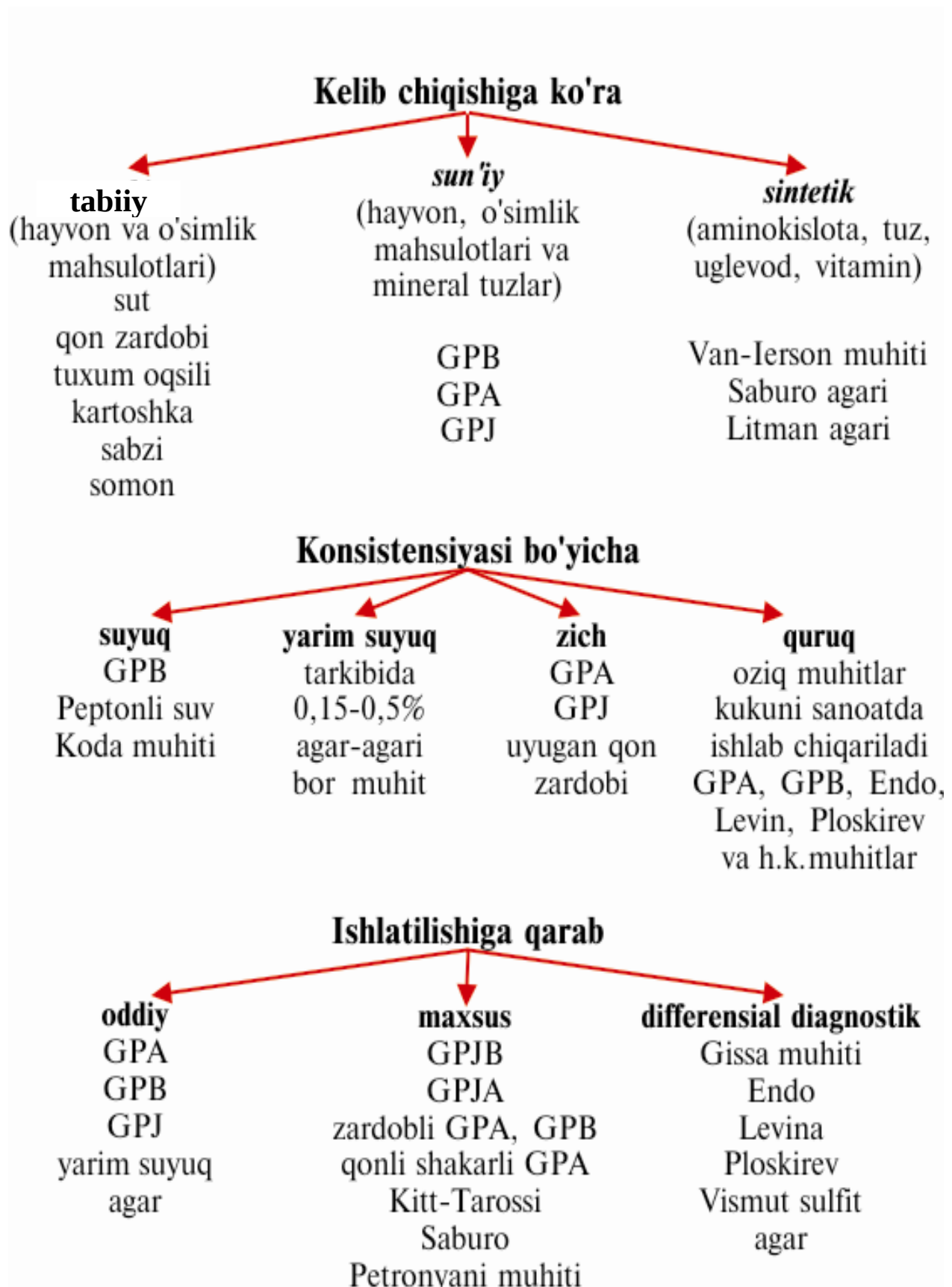
Pepton – oqsillar parchalanishidagi oraliq mahsulot, shirdondan tayyorlanadi. Aminokislota, peptidlarga boy.

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

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

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

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'stirishda ishlatiladi. Maxsus oziq muhitlar oddiy oziq muhitlarda rivojlanmaydigan mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Selektiv, elektiv, to'plovchi oziq muhitlar ham maxsus muhit turlari hisoblanadi. Selektiv oziq muhiti tekshirilayotgan materialdan (har xil bakteriyalar aralashmasi) faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Elektiv oziq muhiti faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi, boshqalari yo'qotiladi (anaeroblar, sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar, ichak tayoqchasi, gemolitik stafi-lokokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).

Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalari qarang 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, qiyimalagichdan o'tkaziladi. Chiqarilgan qiymaning ustiga sovuq suv quyiladi (1:2 nisbatda), aralashtirib, bir sutka salqin ($4-6^{\circ}\text{C}$ li) joyga qo'yiladi yoki ikki soat 37°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 120° 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 joylanadi. pH talab qilingan ko'rsatkichdan past bo'lsa 0,1 n NaOH, yuqori bo'lsa 0,1 n HCl eritmasi bilan kerak darajaga yetkaziladi va necha ml sarflangani aniqlanadi. 2ml muhitga 0,3 ml sarflandi. Muhitning umumiy miqdori – 1litr. Unga qancha NaOH qo'shamiz? Demak, $0,3 \times 1000 : 2 = 150 \text{ ml } 0,1 \text{ n}$. yoki 15 ml 1 n NaOH qo'shish kerak. Odatda pH 0,1-0,2 ga ko'proq olinadi, chunki avtoklavdan keyin u kislotali tarafga o'zgaradi va optimal holga tushadi.

Nazorat savollari:

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

4. Oziq muhitlarning mikrobiologiya amaliyotida qo'llanilishi.
5. Oziq muhitlarning pH ko'rsatkichi qanday aniqlanadi.
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, videoprojektor, 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.), asboblari, bog'lovchi materiallar, xalatlar sterillanadi. Maxsus ish sharoitini yaratish uchun havo va boksda buyumlar ham sterillanadi. Sterillashning bir necha fizikaviy va kimyoviy usullari mavjud. Bu usullarning ta'sir etish mexanizmi har xil bo'lgani bilan, ular ikkita asosiy talabga javob berishi kerak.

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

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

Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash maxsus ikki qavat devorli 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 vaqti belgilanadi. Sterillash davomiyligi: 160°C -2 soat; 170°C -1,5 soat, 180°C -1 soat. Yuklash hajmiga bog'liq holda 171°C -1 soat, 121°C da 10-16 soat davomida va undan ham uzoqroq vaqt **sterillanadi**.¹¹ Sterillash vaqti tugashi bilan jihozni o'chirib, harorati 45°C ga tushgandan keyingina u ochiladi. Yonuvchi moddalar, suyuqliklar, oziq muhitlar, rezina narsalarni 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. Shprislarini qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblari – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rab sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopgunicha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20 – 30 daqiqa qaynatiladi. Keyin suvini to'kib, sovugandan so'ng asboblari ishlatiladi.

Oqar bug' bilan 100°C da, 100°C dan kam haroratda bo'lib-bo'lib sterillashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (34-rasm). 100°C da 30- 40 daqiqa ketma-ket 3 kun sterillanadi. Avtoklavda ham 100°C da bo'lib-bo'lib sterillash mumkin. Bu usulda 100°C dan ortiq haroratga chidamsiz – uglevodli oziq muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterillanadi.

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

Pasterizatsiya usulida oziq-ovqat mahsulotlari – sut, go'sht, baliq, sabzavot konservalari 80°C da 30 daqiqa qizdiriladi va tezda 4 – 8°Cgacha sovutiladi. Bunda bakteriyalarning vegetativ shakllari o'ladi, sporalar saqlanib qoladi. Tezda

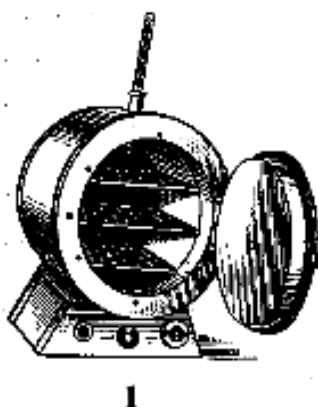
¹¹ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.24.

sovutish va ularni past haroratda (4 – 5°C) saqlash sporalarning o'sishi va ko'payishiga to'sqinlik qiladi.

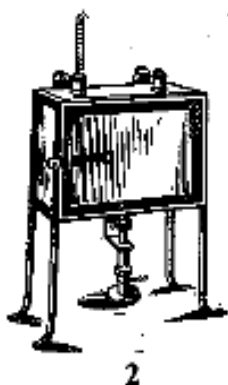
Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash) - 100° C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm.-110–112° C, 1 atm.-120–121° C, 1,5 atm.-124–126° C, 2 atm.-132–133° C. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (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 indikator sariq yoki oq tasmali ko'rsatkichdan iborat. Sterilizatsiya bajarilganda indikator tasmaining 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 indikatorning rangi o'zgaradi, demak bu uslubga to'liq ishonib bo'lmaydi. Sterillikni to'liq amalga oshganini aniqlashning boshqa usuli – biologik indikatorlar (yuqori haroratga chidamli – *Geobacillus stearothermophilus* endosporalari) dan foydalanish mumkin. Bu usuldan avtoklavni to'g'ri 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 vaqti 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



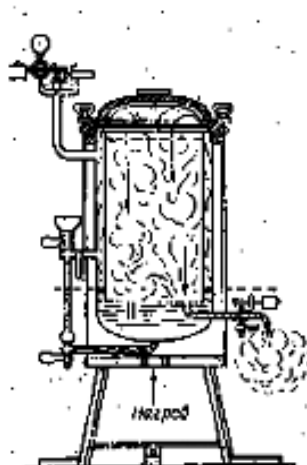
33-rasm. Quritgich shkaflar
1-elektorli yumoloq; 2-paster pechkasi.



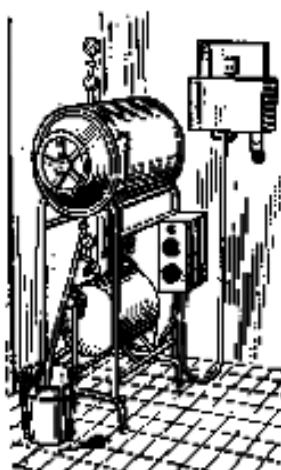
34-rasm. Oquvchi
bug'li Kox apparati.



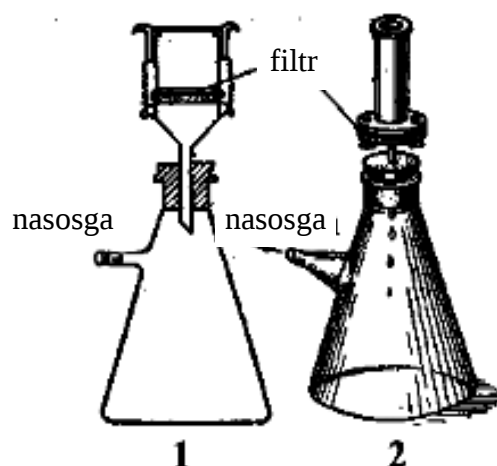
35-rasm. Sterilizator
1-qopqog'i;
2-korpusi;
3-setkasi;
4-setkani ilgich.



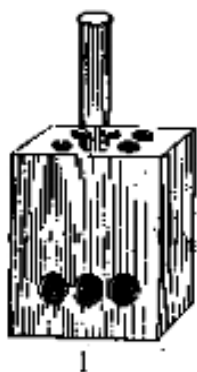
36-rasm. Vertikal
avtoklav sxemasi.



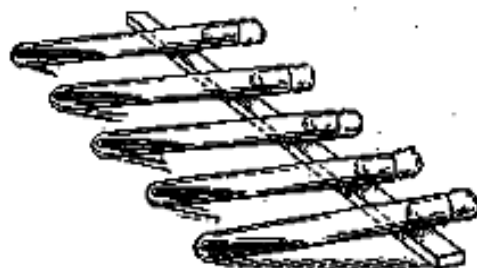
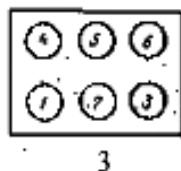
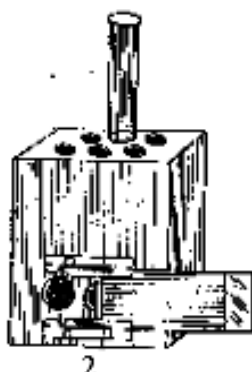
37-rasm. Gorizontal
avtoklav.



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



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



40-rasm. Agarni qiyalatish

Sterillash usullari

Fizikaviy			Kimyoviy
Quruq issiqlik	Nam issiqlik	Filtrlash va h.k. usullar	
1. Olov yordamida sterillash Flombirlash (bakteriologik ilmoq, pinset va h.k. metall predmetlar) 2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar). Quritgich shakflarda sterillash vaqti: 160° da - 2 soat 170° da - 1,5 soat 180° da - 1 soat	1. Qaynatish – sterilizatorda 20-30 min (shpris, igna, pinset, qaychi, skalpel va h.k.) 2. Oquvchi bug' bilan bo'lib-bo'lib (100°C dan yuqori bo'lmagan haroratda). Kox apparati 100°C 30-40 min. 3 kun. a) tindalizatsiya (suv hammomida 100°C dan past haroratda bo'lib-bo'lib sterillash) 70-80°C – 3 kun 60-65°C – 5 kun 56-58°C 6-7 kun (kolloid eritmalar, zardob va oqsil saqlovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi. 3. yuqorigi bosim ostida (avtoklavda) sterillash 0,5atm – 110-112°C 1 atm – 120-121°C 1,5 atm – 124-126°C 2 atm – 132-133°C 4. Pasterizatsiya. Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min qizdirib tezda (4-8°C cha) sovutiladi – sut, go'sht, baliq va sabzovot konservalari.	Suyuqliklar quyidagi filtrlardan o'tkaziladi: 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeyts 4) Membranali filtr (ultrafiltrlar) Ultrabinafsha nurlari bilan bakterisid lampalar yordamida boks, operatsiya xonalari havosi sterillanadi. Ultratovush yordamida (suv, sut, ba'zi teri xom-ashyosi mahsulotlari)	I. Oziq muhit, vaktsina davolovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish 1. xloroform 2. toluol 3. efir 4. fenol 5. formalin 6. mertiolat 7 bor kislotasi 8. glitserinlar bilan. II. Dezinfeksiya uchun: 1-3% li xloramin 3-5% li fenol 70% li spirt va hokazo

Sterillash (lotincha naslsizlash) – 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 probipkalarining 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 buyumdagi barcha mikroblar butunlay o'ldiriladi.

Antiseptika–kimyoviy dezinfektorlar bilan yara va boshqa ob'ektlardagi mikroblarni o'ldirishdan iborat. Antiseptiklar (yod, vodorod peroksidi, 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 inshootlarni 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. «Sterilizatsiya», «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 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) mikrobnı to'liq naslsizlantirish, materialni fizik kimyoviy xususiyatlari saqlanishi kerak
- b) mikrobnı 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 narsalarnı quruq ıssiqda sterillash mumkinmi.

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

4. Sterillashning qanday usullari bor.

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

5. Pasterizasiya usulida mahsulot.

- a) 90⁰ C da 20 daqiqa qizdiriladi
- b) 65⁰C da 45 daqiqa
- c) 70⁰ C da 40 daqiqa
- d) 80⁰C 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 ıssıqlıkda sterillash uchun nimalardan foydalaniladi.

- 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 mikrobgga sof kultura deyiladi

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

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

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

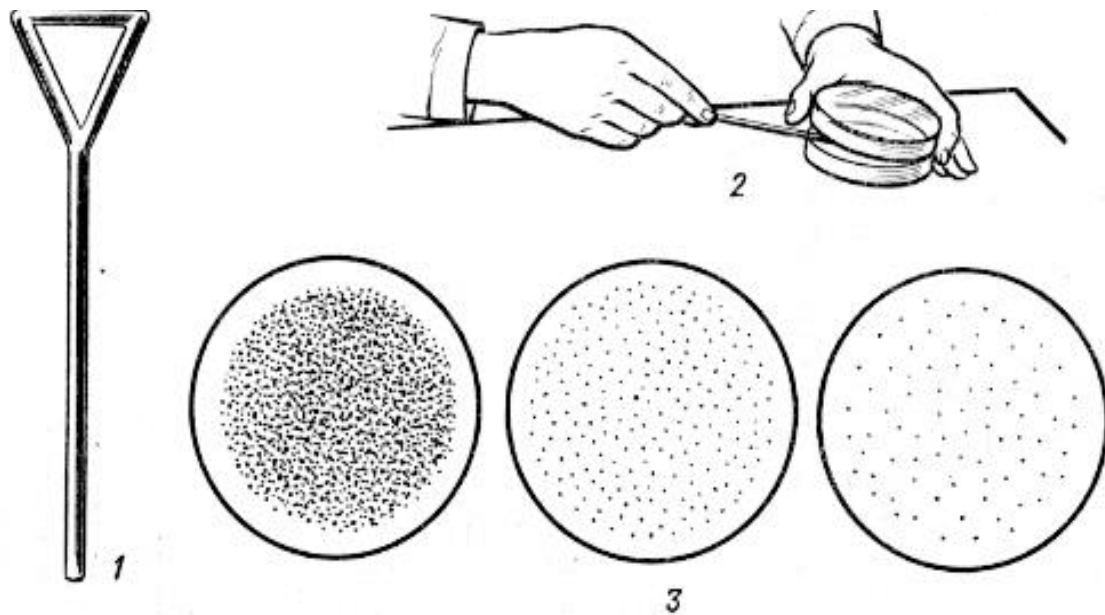
Kox usuli 5-6 probirkada eritilgan va 45-50°C gacha sovutilgan GPA 10-15 mldan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'ng'itilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda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

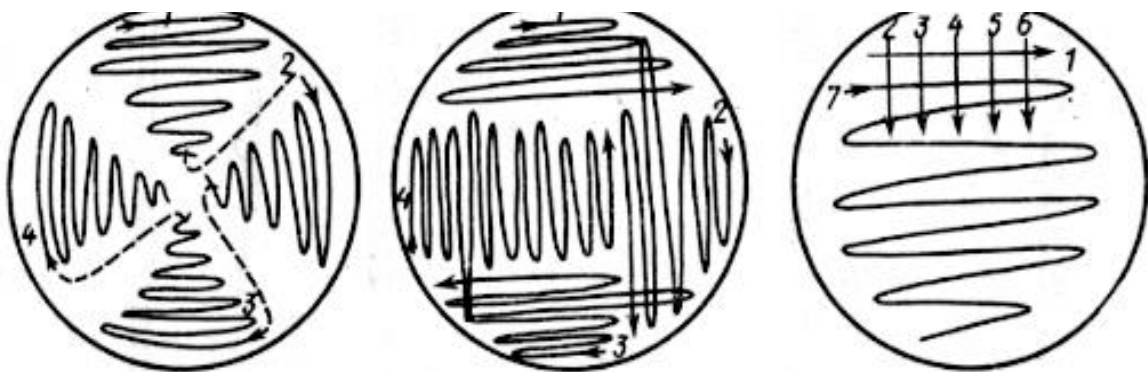
Shpateldagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilib muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi kosachaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar o'sib chiqadi, ulardan tanlab steril oziq muhitga qayta ekib sof kultura ajratiladi. Shpatel o'rniga bakterial 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

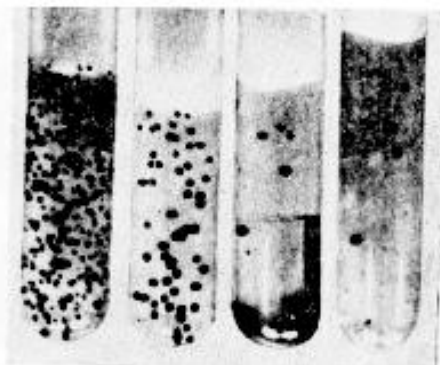
Sof kultura ajratish usullari



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

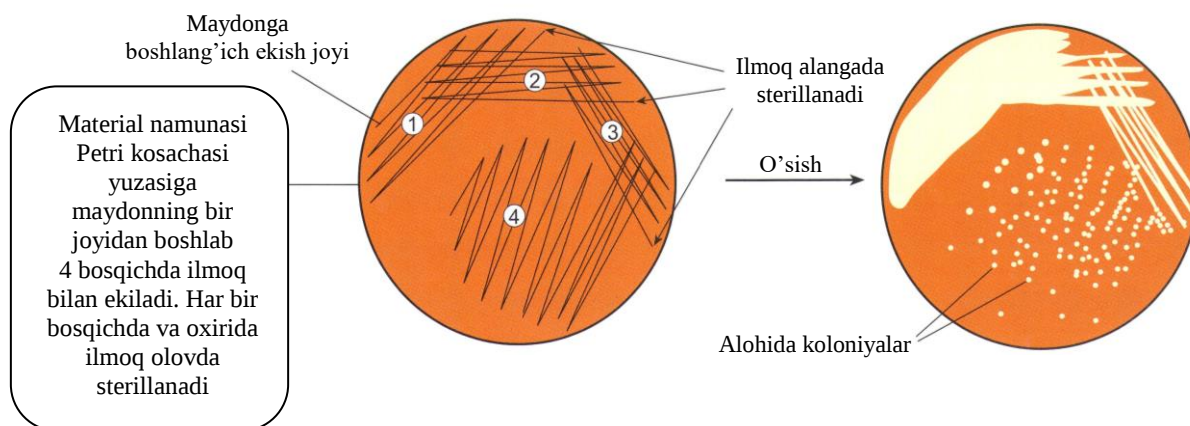


41-rasm. Mikroorganizmlar kulturasini zich oziq muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish:



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

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



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

Fizikaviy usul – ko‘pincha bakteriyalarning sporali shakllarini, sporasizlaridan ajratishi uchun qo‘llaniladi. Tekshirilayotgan material suspenziyasi 80° C da 30-40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o‘ladi, 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‘shishdan to‘xtaydi (bakteriostatik) boshqa turlariga kimyoviy moddalar ta’sir etmasdan, ular yaxshi o‘sadi. Selektiv va elektiv muhitlarni qo‘llash ham shunga asoslangan.

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

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 mikrobnining sof kulturasini ajratiladi.

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

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

Drigalskiy usuli – Petri kosachalarida GPA o'rniga maxsus qonli – glukozali GPA qo'llanilib, anaerob sharoit yaratiladi (eksikator, mikroanaerostat). *Vilson-Bler muhitiga ekish usuli* – oziq muhitda alohida-alohida qora rangli koloniyalar o'sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekkanda sof kultura ajratiladi. *Biosinov usuli* – tekshirilayotgan material yoki aralash kultura bilan moyil laboratoriya hayvonlari zararlanganda, ular kasallanib o'ladi. Patologoanatomik 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 mikroblar kulturalari deb ataladi. Kulturaning 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 ($37-38^{\circ}\text{C}$; $26-30^{\circ}\text{C}$; $22-25^{\circ}\text{C}$) doim saqlanib turadi.

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun jihozlar. T e r m o s t a t ikki devorli shkaf, tashqaridan issiqni izolatsiyalovchi material (plastika) bilan qoplangan. Termostatlar suvli yoki quruq-havoli bo'lishi mumkin. 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* ishlatiladi – ikki tomoniga platinali simlar kavsharlangan simobli termometr. Anaerob va mikroaerofil bakteriyalarni o‘stirish uchun eksikatorlar va anaerostatlar ishlatiladi.



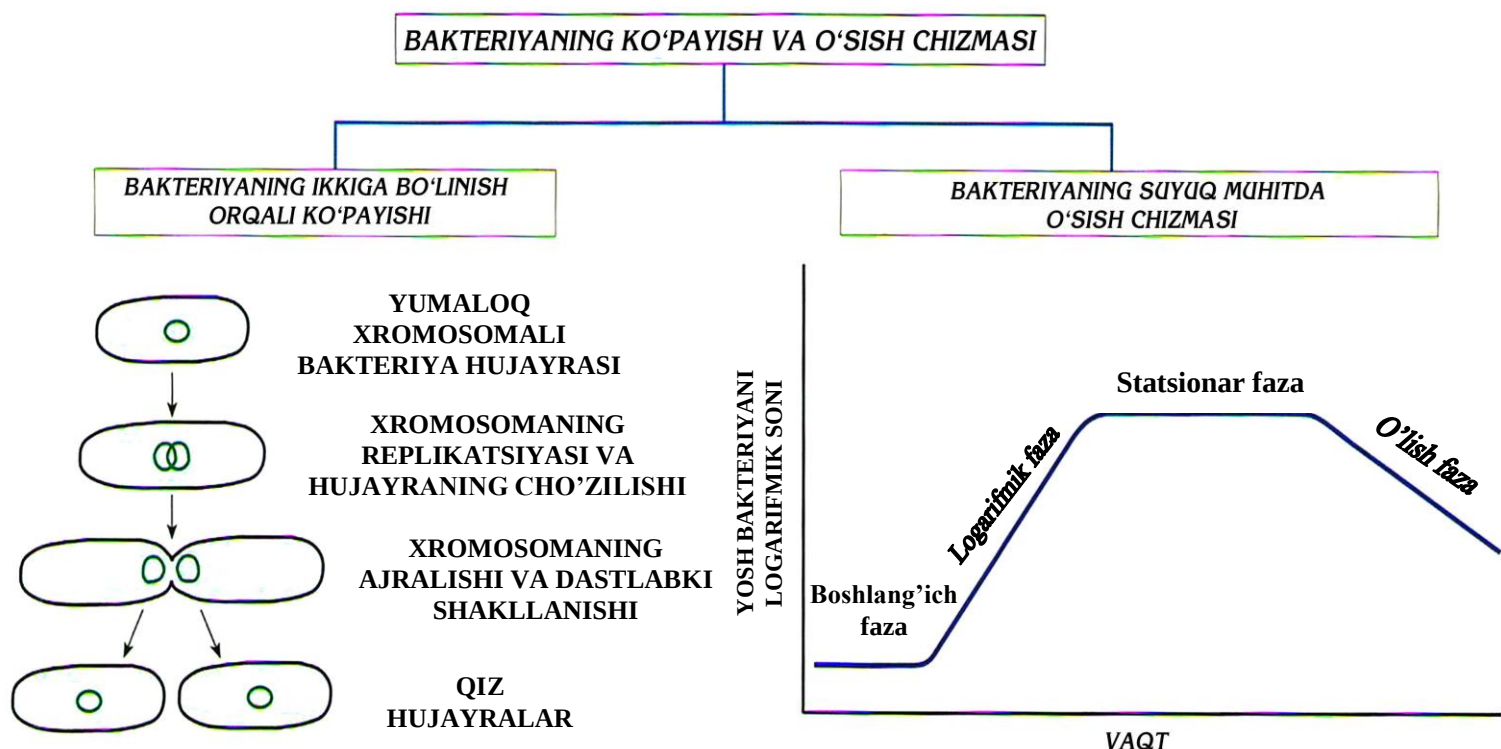
44-rasm. Anaerostatlarda kimyoviy usulda anaerob sharoit yaratish.

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

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 millimetr 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.

Bakteriyaning 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 kattalashadi.



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.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.4.

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 mikroob o‘smagan joyiga tegdirib sovutiladi va shundan keyingina kamroq miqdorda mikroob massasi **olinadi**.¹⁷

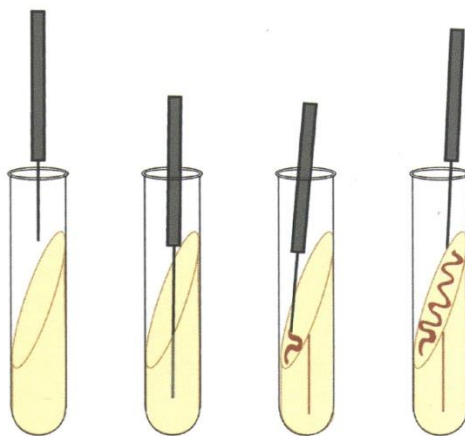
Probirkada zich oziq muhitda o‘stirilgan mikroorganizmlar hujayralari quyidagicha olinadi: kulturali probirka chap qo‘lda ushlanadi, oziq muhitning mikroorganizmlar o‘sgan yuzasi yuqoriga qaragan bo‘lishi va yaxshi ko‘rinishi kerak. Probirka gorizontal yoki sal qiya ushlanadi. O‘ng qo‘lda ilmoq qalamdek 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 mikroob 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 kiradigan tomoni ham alangadan o'tkazib olinadi va probirka yopilib shtativga qo'yiladi.

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

Suyuq oziq muhitda o'sgan mikroorganizmlar hujayralari steril pipetkada, kamroq hollarda – ilmoqda olinadi. O'ng qo'lning o'rta va bosh barmoqlari bilan steril pipetka olinadi, chap qo'lga suyuq muhitli probirka (kolba)ni ushlab, yuqorida aytilgan ehtiyot choralarini ko'rib, pipetka suyuqlikka yuboriladi. Bir qism muhitdan olib, probirka tiqin bilan yopiladi. Olingan namuna preparat tayyorlash uchun yoki yangi oziq muhitga ekish uchun ishlatiladi. So'ngra ishlatilgan pipetka atrofdagi buyumlarga 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 material bor ilmoq (yoki pipetka) va probirkalar tiqinlari olinadi. Gorelka alangasi yonida material tomchisi olingan ilmoq (yoki pipetka) probirkadagi steril muhitga yengilgina botirib olinadi. Probirkani tiqini bilan yopib, ilmoq olovda kuydiriladi, paster pipetkasi esa dezinfeksiyalovchi eritma (karbol kislota, lizol, farmalin)ga solinadi. Ishlash jarayonida suyuqlik probirka tiqiniga tegmasligi va to‘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 (agarining qiya yuzasi yuqorida) tiqinlari gorelka alangasi tomonga qaratib qiya ushlanadi. Gorelka alangasi yonida ochilgan kulturali yoki boshqa materialli probirkaga ehtiyotlik bilan ilmoq kiritiladi va yengilgina tekshirilayotgan materialga tegdirib, kamroq miqdorda (bir tomchi) olinadi hamda steril oziq muhitli probirkaga o‘tkaziladi. Ilmoqni probirka

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

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

Zich oziq muhitlarda kultural xususiyatlar o'sayotgan koloniya xarakteriga qarab aniqlanadi. Muhit yuziga ko'p miqdorda bakteriya hujayralari ekilsa, mikrob yoyilib o'sadi. Oziq muhitning keng yuzasiga kamroq hujayra ekilsa, har bir bakteriya hujayrasi bo'linib ko'payishi hisobiga alohida koloniya shakllanadi. Koloniyaning diametriga bog'liq ravishda ular katta, kichik, shudringsimon bo'lishi mumkin. Ko'pchilik bakteriyalar, aktinomitsetlar, mog'or zamburug'lari turlarining koloniyalari har xil oziq muhitlarda o'sganda har xil rangga bo'yalishi mumkin. Bu ularning bo'yovchi moddalar – pigment hosil qilishi bilan ifodalanadi. Agar pigment eruvchan bo'lsa, muhit to'liq bo'yaladi, erimaydigan bo'lsa, faqat koloniya bo'yaladi. Har xil mikroorganizmlar turlari uchun aniq rangli – tilla rang, ko'k-yashil, oq, sariq, qizil va h.k.pigment hosil qilishi xarakterlidir. Pigment hosil bo'lish zich oziq muhitlarda yaxshi namoyon bo'ladi. Bunda harorat ham ahamiyatga ega; ko'pchilik turlar uchun 25-30°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 ajratishda Paster va Kox usullarining farqini ayting.
7. Harakatchan bakteriyalarning sof kulturasini 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 badda to'g'ri berilgan.

- a) 65⁰C da 1 soat
- b) 90⁰ C da 20 daqiqa
- c) 80⁰ C da 30-40 daqiqa
- d) 56⁰ 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, videoprojektor, 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.

Laboratoriyada 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 foydalanib 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 koloniyalar hosil qiladi.

Koloniya – deb bir tur bakteriya hujayrasining ko‘payishidan hosil bo‘lgan mikroblar to‘plamiga aytiladi. Har bir koloniyada bir necha yuz mingdan 2 mlrd.gacha 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 (qatlamli, ajinli, silliq, to‘rsimon, momiq), konsistensiyasi (mo‘rt, shilimshiq, yog‘li) hisobga olinadi. 3. Cho‘kma hosil bo‘lishi – ko‘p, oz, yo‘q. Holati – zich, yumshoq, donador, paxta bo‘lakchasidek, ipr-ipr, ushoqsimon, shilimshiq. Rangi – oq, sarg‘ish, yashil, kulrang. Qoqib ko‘rganda cho‘kma tarqalib, muhitni bir xilda loyqalantiradi yoki yirik ba‘zan mayda ipr-iprli bo‘ladi. Shilimshiq cho‘kma o‘rilgan soch ko‘rinishida ko‘tariladi.

Mikroblar probirka devoriga yopishib rivojlanishi mumkin. Mikroorganizmlar ba‘zan bir nechta xususiyatlarni namoyon qiladi.

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

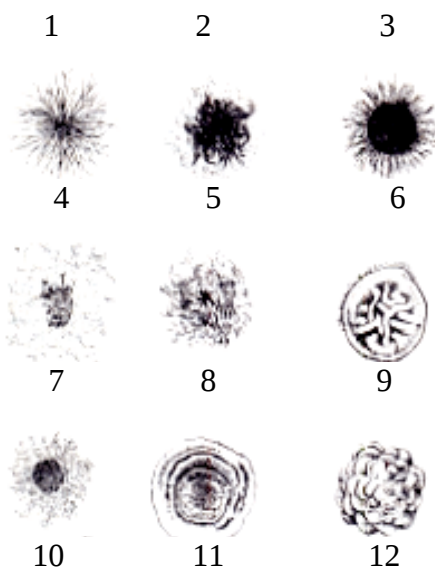
Zich oziq muhitida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari. Koloniyalar alohida chegaralangan va qo'shib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanadi – ko'p, o'rtacha, kam. Keyin koloniyalar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. 1. *Shakli* – to'g'ri (oval, yumaloq), noto'g'ri (ildiz-simon, yulduzsimon, amyobasimon, shoxlangan va h.k. (47-rasm) .2. *O'lchami* diametrda ifodalanadi: yirik koloniyalar - 4 mm dan ortiq, o'rtachasi 2 - 4 mm, maydasi 1 – 2 mm va yanada mayda shudringsimonlari – 1mm gacha bo'ladi. 3. *Chetlari* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'liqsimon, popukli, arratishli, jingalak (49-rasm). 4. *Tiniqligi va yaltirashi* (tushayotgan yorug'likda ko'riladi) - tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltiroq, fluoressensiyalovchi koloniya. 5. *Rangi* – kulrang-oq, rangsiz, oq, qora, sariq, qizil, ko'k, tillarang, yashil va boshqa rangli. Hosil qilgan pigmentining rangiga bog'liq. 6. *Yonidan ko'rinishi* o'stirilgan) kulturalar ishlatiladi, chunki eskilarining kultural xususiyatlari (*relefi*) – bo'rtiq, yassi, konussimon, tekis, markazi botiq va h.k. (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?).

Biokimyoviy xususiyatlar.

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

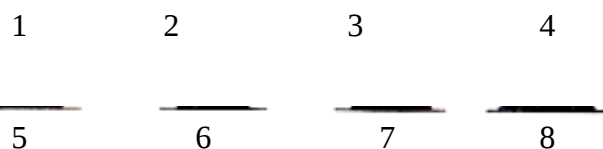
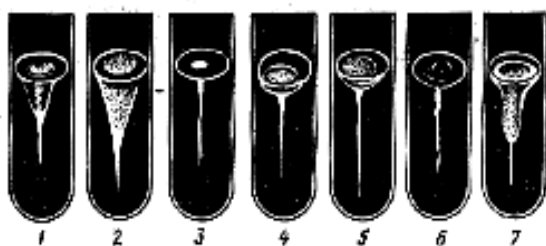
Bakteriyaning saxarolitik xususiyatlari ularni tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlari bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning

Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish



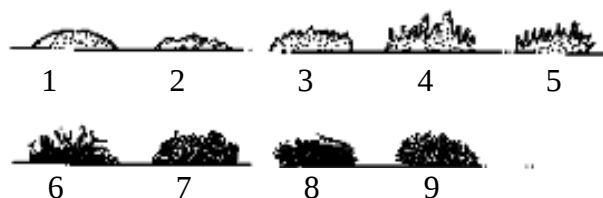
47-rasm. Koloniya shakllari:

1-yumaloq; 2-yumaloq chetlari to'liqinsimon; 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.



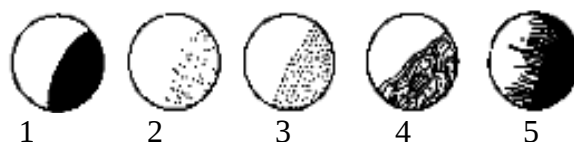
48-rasm. Koloniyaning yon tomonidan ko'rinishi (profile):

1-egilgan; 2-kratersimon; 3-g'adir-budir; 4-substratga o'sib kirgan; 5-tekis; 6-bo'rtiq; 7-tomchisimon; 8-konusimon.



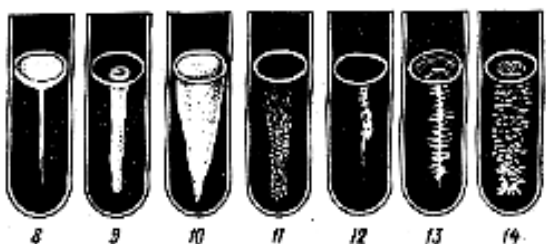
49-rasm. Koloniyaning chetlari:

1-silliq; 2-to'liqinsimon; 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.



51-rasm. Jelatina erishining har xil shakllari.



52-rasm. Naychada gaz to'planishi:

1-gaz hosil bo'lgan; 2-gaz hosil bo'lmagan.

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

Proteolitik xususiyatlarni ko‘pincha GPJ ga kulturani tik ekib o‘rganiladi. Bakteriya fermentlari ta’sirida jelatina proteolizga uchrab, muhitda erish (suyulish) paydo bo‘ladi. Har xil turdagi mikroob 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 lakmus qog‘ozlardan foydalaniladi. Qo‘rg‘oshin asetat eritmasi shimdirilgan qogoz vodorod sulfid ta’sirida qorayadi, ammiak ta’sirida pushti rangli lakmus qog‘oz zangori, indol ta’sirida esa sariq indikator qog‘oz pushti rangga kiradi.

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

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

S. aureus β -emolitico



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

Gemolitik xususiyatlar. Ba'zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, eritrotsitlarni lizisga 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 lizisga 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. Mikrobnining proteolitik xususiyatlari qanday o'rganiladi?
8. Koloniya nima?

Test savollari:

1. Kultura nima

- a) o'simliklar bargidan ajratilgan mikroorganizm
- 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'lgan mikroblar to'plami
b) mikroblar aralashmasi
c) o'sishdan to'xtagan mikroblar to'plami
d) bir necha xil patmaterialdan ajratilgan mikroblar

3. Mikroorganizmlarni identifikatsiyalashda qanday kulturalar ishlatiladi.

- a) 4-5 kunlik
b) yosh (16-48 soatlik)
c) 4-5 soatlik
d) qari (8-10 kunlik)

4. Bakteriyalarning saxarolitik xususiyatlari qanday o'rganiladi.

- a) oddiy oziq muhit tarkibidagi uglevodlar miqdoriga qarab
b) oddiy oziq muhitlarda o'sishiga qarab
c) tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlar bor differensial diagnostik muhitlarga ekib
d) suyuq va zich oziq muhitlarda o'sish muddatini uzaytirib

5. Katalazani aniqlashda qaysi reaktiv ishlatiladi.

- 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'rganiladi.

- 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 chidamliligini aniqlash usullarini o'rganish.

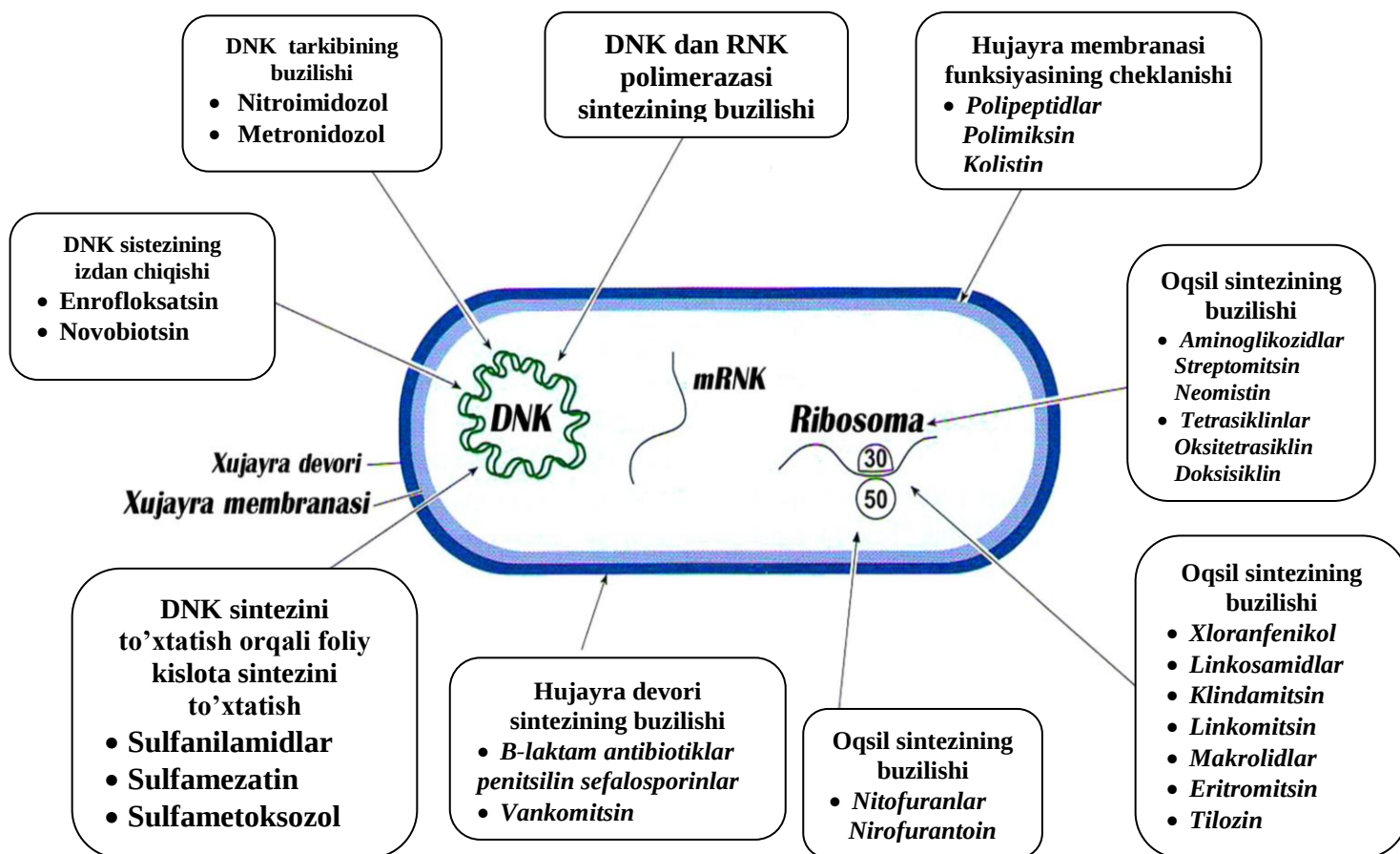
Material va jihozlar: har 2-3 talabaga GPA quyilgan ikkita Petri kosachasi, darajali 2 ml pipetka, mikroob kulturasi (stafilokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskli flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik diskklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli jadvallar, videoprojektor, 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 guruhiga (masalan, grammusbat yoki grammanfiylariga) ta'sir etuvchi yoki har xil guruh mikroblarga ta'sir etuvchi.

Antibakterial preparatlar hujayraning tarkibiy qismlariga tanlab ta'sir etadi va bakteriyaga turlicha shikast yetkazadi. Ba'zilar 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 hujayraga 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 guruhiga antimikrobli 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 mikrobnı o'ldiradigan eng kam miqdoriga aytiladi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda o'ziga xos test mikroblar ishlatiladi: 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.

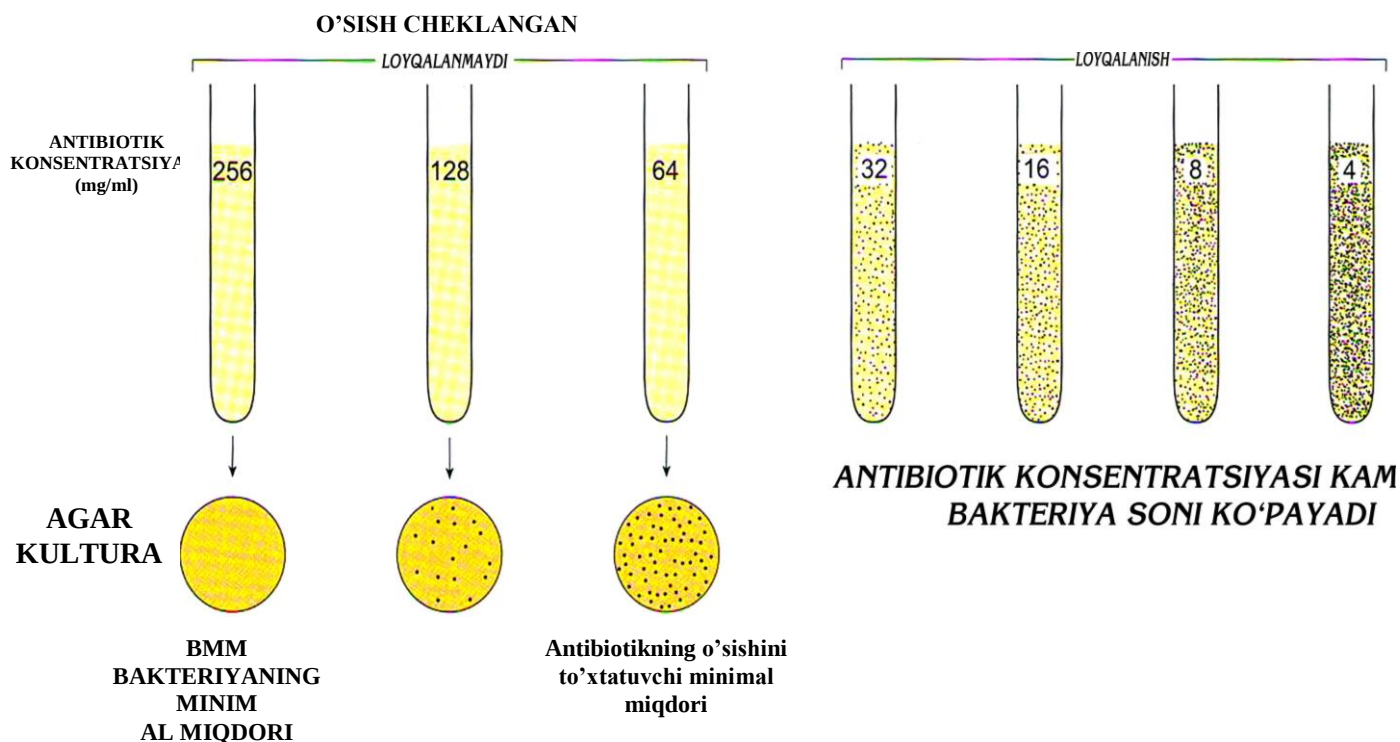
Subtilis, biomitin, levomitsetin uchun – *E.coli*. Antibiotiklarning biologik faol ta'sir birligi bir xil emas: penitsillinning 1 TB - 0,6 mkg, streptomitsin – 1 mkg, neomitsin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birlik (XTB) deyiladi.

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

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

1-usul: a) oziq muhitni tanlash; b) antibiotikning eritmalarini tayyorlash; d) kulturani tekshirishga tayyorlash; e) natijani hisobga olish bilan bajariladi. Oziq muhit mikroorganizmning turi va tekshurish uslubiga bog'liq ravishda kulturaning optimal o'sishini ta'minlashi kerak (pH 7,2 – 7,4). Bir turdagi mikrobnini 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 eritmaları ishlatiladi.

Asosiy eritma 1ml distillangan suvga 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 probirka va kolbada faolligi 0,5 mkg/ml bo'lgan steril ishchi eritma tayyorlanadi. Qatordagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisiga kolbadagi miqdori 0,5 mkg/ml bo'lgan antibiotikning ishchi eritmasidan 2 ml quyib, aralashtiriladi. Undan keyingi probirkaga 2ml dan ketma-ket o'tkazib birin-ketin suyultiriladi. Natijada birinchi probirkadagi oziq muhitda antibiotik miqdori 0,25 mkg, ikkinchisida – 0,12 mkg, keyingisida – 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 mkg bo'ladi. Zich oziq muhitda aniqlash uchun 6 ta probirkada antibiotik bir qator suyultiriladi: 400, 200, 100, 50, 25 va 12,5 mkg /ml. Har bir probirkadan 1 ml steril Petri kosachasiga



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

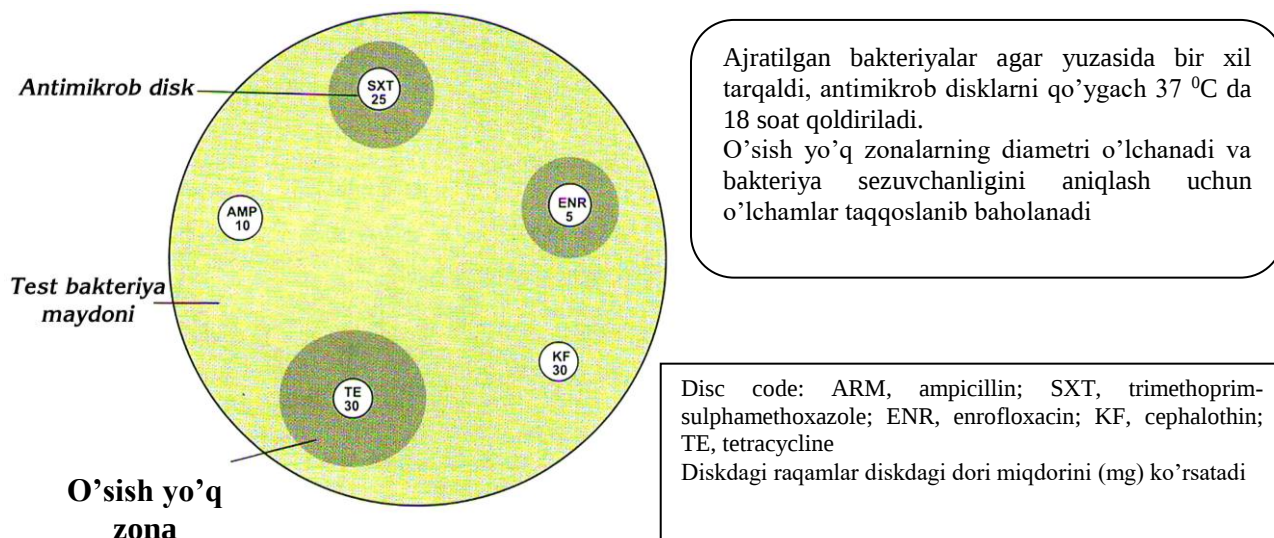
bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdorini aniqlash.²⁰

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 kulturasini 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



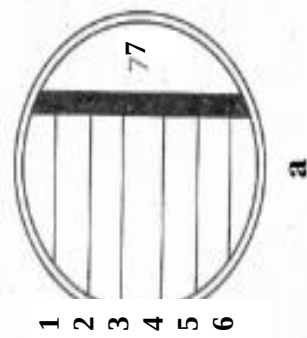
56-rasm. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar) usulida kulturaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.²¹

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 mikroblar kulturasini muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. Ortiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalar 37°Cda 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'shib 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.

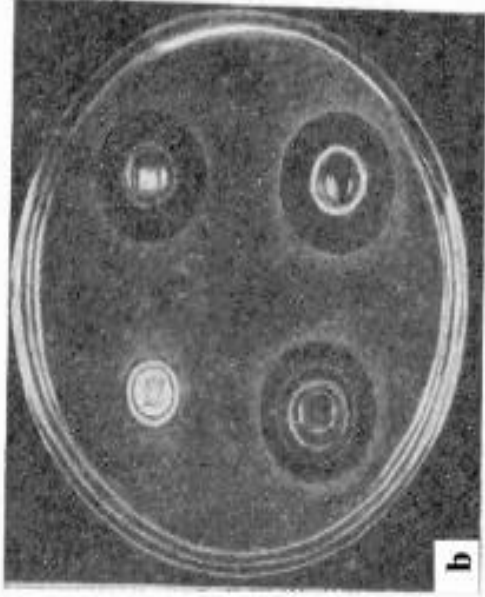
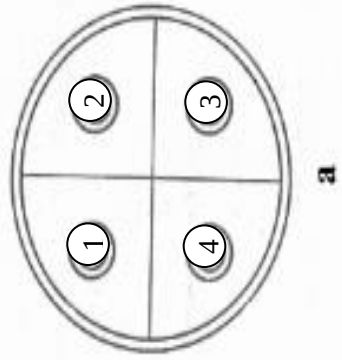
This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.20.

Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash



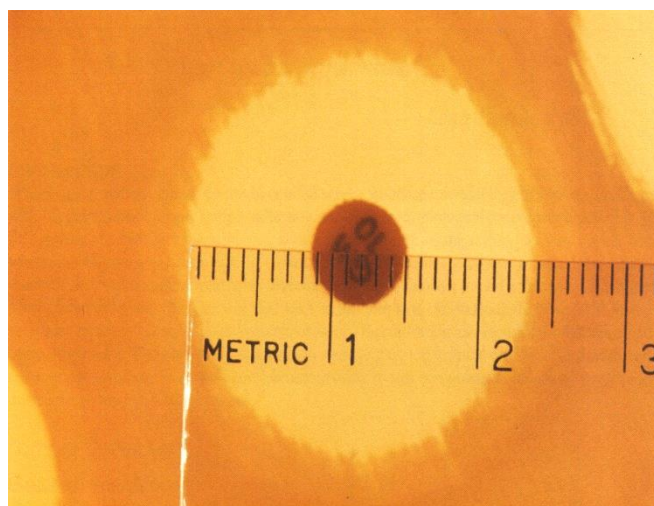
57-rasm. Kulturalarni antibiotiklarga seziluvchan perpendikular shtrixlar usulida aniqlash:

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'sishdan 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 aytiladi?
4. Agarga diffuzlash usulini ta'riflang.
5. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlashning usullarini ayting.
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) mikrobnining 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 konsentratsiyasi
- c) eritmaning miqdori
- d) eritma tarkibi va hajmi bilan

4. Penisillinning faolligini aniqlashda qaysi testmikrob ishlatiladi.

- 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 darajasi aniqlanadi
- c) o'sish yo'q hudud diametri o'lchanadi
- d) antibiotikning agarga nisbati bilan o'lchanadi

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar.

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

Epizootik xavfsizlikni aniqlash maqsadida atrof muhitning har xil obyektlarini sanitar – gigienik holati baholanadi va sanitar-bakteriologik tekshirishlar o'tkaziladi. Ularni to'g'ridan to'g'ri aniqlash qiyin, chunki bu mikroorganizmlar miqdori suv, tuproqda kam bo'lib sekin ko'payadi. Shuning uchun sanitariya-mikrobiologiya amaliyotida ma'lum obyektning mikrob bilan zararlanishini aniqlash va unda sanitar ko'rsatkichli bakteriyalarni topish usuli qo'llaniladi (rasm 60, 61, 63).

Mikrob bilan zararlanish tekshirilayotgan ob'ektning ma'lum hajm va massa birligidagi (1 sm^3 suv, 1 g tuproq, 1 m^3 havo) mikroorganizmlarning umumiy miqdori – ya'ni mikroblar soni bilan ifodalanadi. Ulardagi sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar titr va indekslarda baholanadi. Ushbu bakteriyalar topilgan minimal

hajm yoki massa titr deb aytiladi. 1 litr suyuqlik, 1kg tuproq, 1 m³ havodagi sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar soniga indeks deb ataladi.²³

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

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

Xlorlangan suvni tekshirishdan avval Na₂HSO₃ (natriy gidrosulfit) bilan 1 litr suvga 10 ml hisobidan qo'shib neytrallash kerak.

Namuna olingandan bakteriologik tekshirishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan ko'p bo'lmasligi lozim (1-1,5°C haroratda 6 soatgacha saqlash mumkin).

Suvda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash. Suv quvuridan olingan suv namunasi 1 ml hajmda, ochiq suv havzalardan olinganlari esa – 1,0; 0,1; 0,01 ml hajmlarda olinadi. 0,1 va 0,01 ml suvni ekish uchun tekshirilayotgan suv suyultiriladi. Buning uchun probirkadagi 9 ml steril suvga 1 ml suv namunasi pipetkani suv sathidan 3 mm pastga tushirib qo'shiladi. Boshqa steril pipetka bilan puflab aralashtiriladi va undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,1 ml suv namunasi olingan bo'ladi). Birinchi probirkadan 1 ml olib, ikkinchi probirkadagi 9 ml steril suvga qo'shiladi. Undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,01 ml suv namunasi olingan bo'ladi). Petri kosachalaridagi barcha namunalar ustiga 10-12 mldan eritib 45-50°C cha sovutilgan GPA quyib, aylanma harakat bilan yaxshi

²³ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.s.97

aralashtiriladi. GPA qotgach Petri kosachalarini to'ntkarib, ekmalarni 37°Cda 1-2 sutka o'stiriladi. Ochiq havzalardan olingan namunalar ikkitadan Petri kosachalariga ekiladi. Bir qatori 37°Cda bir sutka, qolganlari 20°Cda 2 sutka o'stiriladi. Keyin ularning yuzasida va ichkarida o'sgan koloniyalar sanaladi hamda suvdagi mikroblarning umumiy soni – ya'ni 1 ml suvdagi mikroorganizmlar soni hisoblanadi.

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

Suvning koli –titri va koli-indeksini aniqlash.²⁴ Suvning koli-titri bu suvning ichak tayoqchasi uchraydigan eng kichik hajmidir (ml), koli – indeksi esa 1 litr suvdagi ichak tayoqchalari miqdoridir. Koli – titrni aniqlash uchun titrlash usuli va membranali filtrlar usullari ishlatiladi.

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

Ochiq suv havzalari namunalaridan 100, 10, 1 va 0,1 ml hajmda tekshiriladi. Suv quvuridan olingan suv namunalari tekshirish uchun 3 ta 100 mldan, 3 ta 10 ml va 3 ta 1 ml hajmdan ekiladi. Ekmalar bir sutka 37 °Cda o'stiriladi. Naychada gaz pufakchalarining borligi bijg'ishdan dalolat beradi. Bijg'igan yoki loyqalangan namunalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi va oksidaza testi qo'yiladi. Oksidaza testi Esherichia, Citrobacter va Enterobacter avlodlariga mansub bakteriyalarni suvda uchraydigan Pseudomonadaceae oilasiga mansub grammanfiy bakteriyalardan hamda boshqa oksidaza hosil qiluvchi bakteriyalardan farqlashga imkon beradi. Buning uchun shisha tayoqcha bilan 2-3ta koloniya oziq

²⁴ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.s.99.

muhit yuzasidan olinadi va dimetil – n – fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga shtrixlar shaklida o'tkaziladi. Oksidaza testi manfiy bo'lsa qog'oz rangi o'zgarmaydi, musbat bo'lsa – u bir daqiqa ichida ko'k rangga bo'yaladi.

Oksidaza hosil qilmaydigan grammanfiy tayoqchalar, qayta bijg'ish testida tekshiriladi – 0,5 %li glyukozali yarimsuyuq go'sht peptonli agarga ekiladi, 37⁰ Cda 1 sutka o'stiriladi. Natija musbat bo'lsa koli – titri va koli – indeksi statistik jadval bo'yicha aniqlanadi (jadval 1).

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

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

Jadval 1

Suvda ichak tayoqchasi indeksini aniqlash

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

Suv quvurlari va artezian suv namunalari 333 ml hajmda filtrlanadi. Ochiq suv havzasidan olingan toza suv namunasi 100, 10, 1,0 va 0,1 ml hajmda filtrlanadi. Nisbatan iflosroq suv namunasini filtrlashdan avval steril suv bilan suyiltirish kerak. Keyin filtrni Petri kosachasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi va 37⁰ Cda 1 sutka o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi.

2 – 3 ta qizil rangli koloniyalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi, oksidaza testi qo'yiladi. Buning uchun filtrdagi bakteriya koloniyalarini pinset bilan dimetil – n – fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga o'tkazish lozim. Oksidaza bor bo'lsa indikator koloniyani ko'k rangga bo'yaydi. Rangi o'zgarmagan 2-3 ta koloniya 0,5% glyukozali yarimsuyuq agarga ekiladi. Ekmalar 37⁰Cda bir sutka o'stiriladi. Gaz hosil bo'lsa, filtrdagi qizil koloniyalarni sanab, koli-indeksi aniqlanadi.

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

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

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

Sedimentasion usul. Go'sht peptonli agar solingan ikkita Petri kosachani ochib xonada 5-10 daqiqa davomida qoldiriladi, keyin ekmalar termostatda 37⁰Cda o'stiriladi. Ikkala kosachada o'sib chiqqan koloniyalarning soni yig'indisi bo'yicha natija baholanadi: 250dan kam koloniya bo'lsa-havo toza hisoblanadi; 250-500-o'rtacha ifloslangan; 500 koloniyadan ortiq-ifloslangan (rasm 61).

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

Krotov apparati (rasm 62) shunday tuzilgan-ki, havo berilgan tezlikda agarli Petri kosachasi yuzini yopib turgan pleksiglas plastinaning tor tirqishidan o'tadi.

Bunda tarkibida mikroorganizmlar bor aerosol qismlari oziq muhit yuzasiga bir xilda tushadi, chunki kosacha tirqish ostida bir xilda aylanib harakatda bo'ladi.

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

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

A-kosachada o'sgan koloniyalar soni;

V-uskunadan o'tgan havo hajmi, dm³;

1000-izlanayotgan havo hajmi, dm³.

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

Oziq muhit tarkibi. ²⁵Gensian binafshali qonli agar: 2% go'sht peptonli agar, 5-10% fibrinsizlantirilgan (ot, quyon yoki qo'y) qoni va gensian binafsha (1:50.000). Tuxum sarig'i-tuzli agar: 2% go'sht peptonli agar, 10% natriy xlorid, 20% (hajmi bo'yicha) tuxum sarig'i (1 ta tuxum sarig'i 200 ml natriy xloridning izotonik eritmasi).

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

²⁵ Kislenko V.N. Praktikum po veterinarnoy mikrobiologii i immunologii. – M.: KolosS, 2005.s.101

Tuproq mikroflorasi. Tuproqning sanitar-mikrobiologik tahlilida undagi mikroblar soni, kolititr, perfringens-titr va termofil bakteriyalarning titri aniqlanadi. Zarur holatlarda nitrifikasiyalovchi va ammoniy-fikasiyalovchi bakteriyalar, aktinomisetlar, zamburug'lar, sellyulozali va boshqa mikroorganizmlar tarkibi tekshiriladi.

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

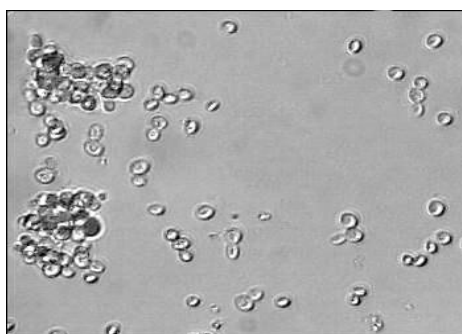
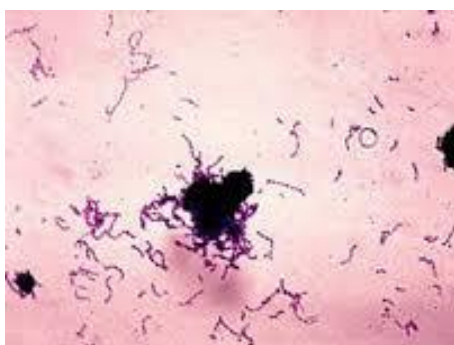
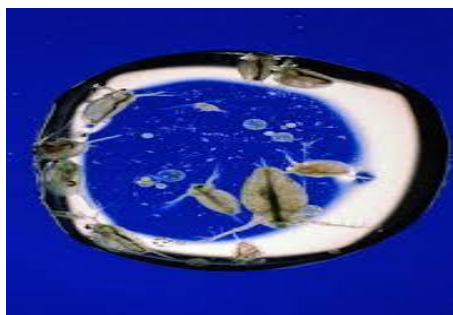
So'ngra o'sib chiqqan koloniyalar sonini hisoblab, mikroblar soni aniqlanadi.

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

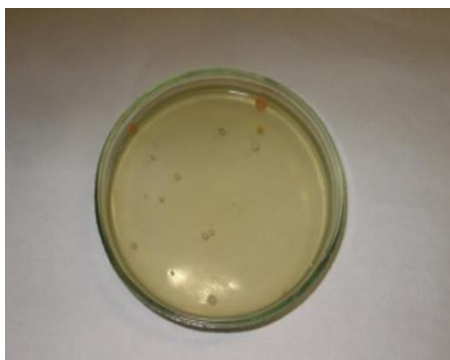
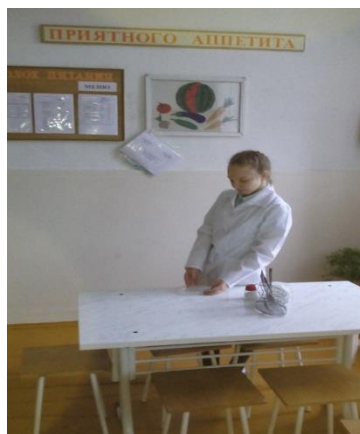
Tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini probirkalardagi Keyssler muhitiga ekiladi va 43°C da 48 soat davomida o'stiriladi. Keyin tahlil suvning koli-titrini aniqlaganda qo'llangan sxema bo'yicha davom ettiriladi.

Perfringens-titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyasining har xil suyultirilmalarini (1 ml) probirkalarda steril yog'sizlantirilgan sut yoki extempore tayyorlangan temirsulfitli Vilson-Bler muhitiga ekiladi. Ekmalar 43°C da 24-48 soat davomida o'stiriladi va natijasi sutning ivishi yoki Vilson-Bler muhitiga *Clostridium perfringens*ning qora koloniyalari hosil bo'lishi bilan hisobga olinadi. Koloniyalardan surtmalar tayyorlanib, Gramm usulida bo'yaladi, mikroskopda ko'rib, perfringens titri aniqlanadi.

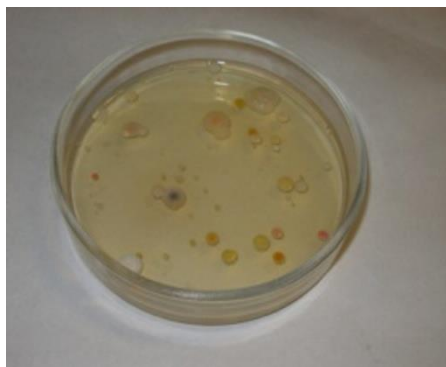
Termofil bakteriyalarining titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyalarining suyultirilmalaridan (1ml) Petri kosachasiga quyib, ustiga eritib, sovutilgan go'sht peptonli agar quyiladi. Ekmalar 60°C da sutka davomida o'stiriladi va koloniyalar sonini sanab, 1 g tuproqdagi miqdori hisoblanadi.



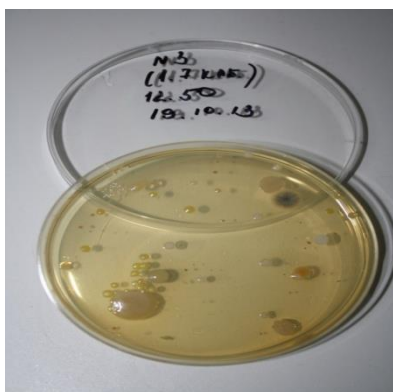
Rasm 60. Suvdan olingan namunani tekshirish natijasi



11-xona



12- xona



Oshxona

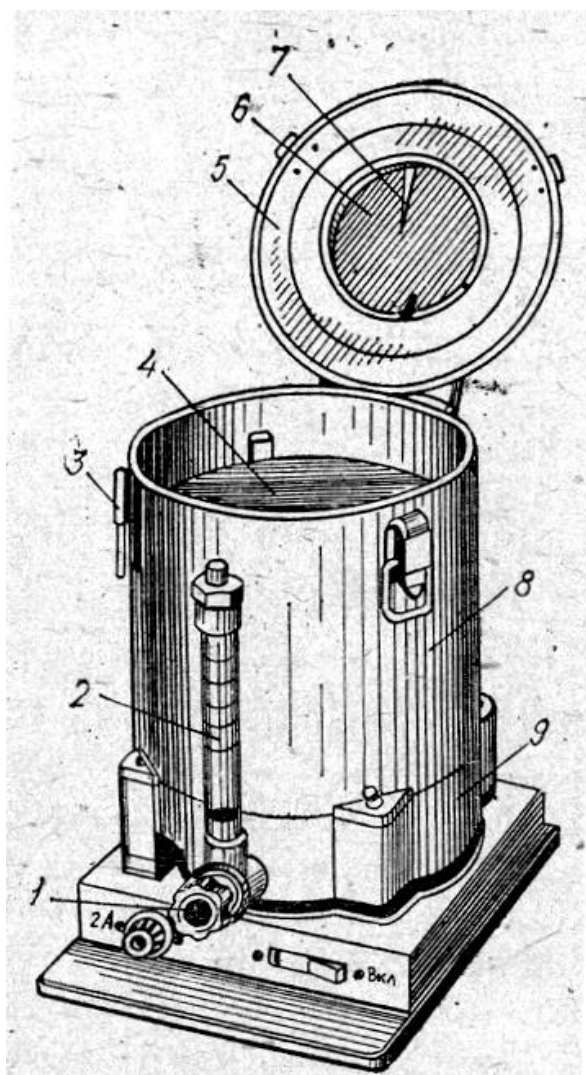


Garderob



Rasm 61. Cho'ktirish (sedimentasiya) usulida havodan namuna olish va tekshirish natijasi

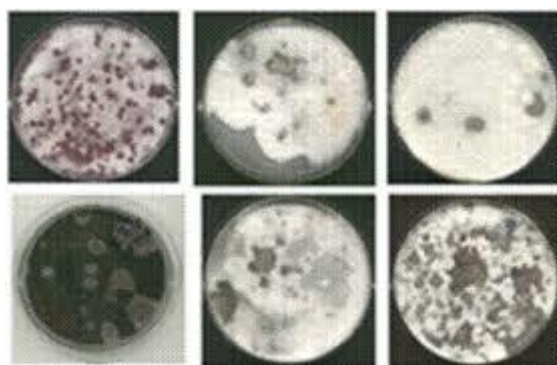
HAVO MIKROFLORASINI TEKSHIRISH



Rasm 62. KROTOV APPARATINING TUZILISHI

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

**MIKEL
NAYCHASI**



Rasm 63. Har xil tuproqlardan olingan namunani tekshirish natijasi

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

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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1.Atrof muhit obyektlarini mikrobiologik tekshirishda sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar qanday ifodalanadi?

- a) titr va indekslarda
- b) litr va titrlarda
- c) indeks va millilitrlarda
- d) hajm va titrlarda

2. Qaysi tur bakteriya sanitar ko'rsatkich hisoblanadi?

- a) protey
- b) ichak tayoqchasi
- c) psevdomonas
- d) streptokokk

3.Suv namunasini olgandan bakteriologik tekshirishgacha bo'lgan vaqt necha soatdan ko'p bo'lmasligi lozim?

- a) 3 soatdan

- b) 4 soatdan
- c) 2 soatdan
- d) 5 soatdan

4. 1 ml quvur suvida mikroorganizmlarning umumiy miqdori qanchadan ortmasligi kerak?

- a) 15
- b) 25
- c) 50
- d) 100

5. 1 ml ochiq havzalar suvida mikroorganizmlarning umumiy miqdori qanchadan ortmasligi kerak?

- a) 1000
- b) 100
- c) 50
- d) 10

6. Havoni miqdoriy mikrobiologik tekshirish usullari qaysi?

- a) aspirasion, aerezolli
- b) sedimentasion, aspirasion
- c) aerezolli, suv-tomchili
- d) kondensatli, aspirasion

7. Havo tarkibidagi mikroblar sonini aniqlashda qaysi oziq muhit ishlatiladi?

- a) GPB
- b) GPJ
- c) GPA
- d) Endo

8. Sedimentasion usulda tekshirilganda koloniyalar soni qancha bo'lganda havo toza hisoblanadi?

- a) 50
- b) 200
- c) 250

d) 50

9. Krotov apparati havodagi mikroblar sonini aniqlashning qaysi usulida ishlatiladi?

a) sedimentasion

b) aerosolli

c) miqdoriy

d) aspirasion

10. Tuproqning sanitar-mikrobiologik tahlilida nimalar aniqlanadi?

a) mikroblar soni, kolititr, perfringens-titr va termofil bakteriyalar titri

b) kolititr, zamburug'-titr va protey titri

c) perfringens-titr, achitqi titri, spiroxetalar

d) termofil bakteriyalar titri, aktinomiset, spirillalar titri

11. Tuproq suspenziyalari suyultirmalari qaysi oziq muhitga ekiladi?

a) Endo

b) Keyssler

c) GPA

d) Levin

12. Perfringens-titrni aniqlash uchun tuproq suspenziyalari suyultirmalari qaysi oziq muhitga ekiladi?

a) gliserinli GPA, GPB

b) qon zardobli GPB, glyukozali GPA

c) steril yog'sizlantirilgan sut, temirsulfitli Vilson-Bler muhitiga

d) Kitt tarossii, qonli agar

13. Tuproq sanitary-mikrobiologik baholanganda nima nihoyatda muhim hisoblanadi?

a) biologik chiqindilar ko'pligi bilan

b) hayvon va o'simliklar qoldig'i

c) kimyoviy ishlab chiqarish chiqindilari

d) najas bilan zararlanish darajasi

12 - 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 kulturasini (*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 mikroob 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 mikroobning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroobning virulentlik (toksigenlik) xususiyatlari maxsus shartli birliklarda o'lchanadi: absolyut letal doza (Dcl – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %li letal doza (LD_{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 mikroobga sezuvchanligini ko'rsatadi. Dcl esa chidamli mikroob turlarini sezuvchanligini ko'rsatadi.

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

2-jadval

Bakteriya suspensiyasi miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma'lumot- lar		Kumulyativ ma'lumotlar			
		o'ldi	tirik	o'ldi	tirik	O'lganlarini Zararlangan- lariga nisbati	o'lim %
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 zararlangedan 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 LD_{50} dan farqi aniqlanadi. Bu faktor suyultirish lagorifmiga ko'paytiriladi (faktor=10, lg=1). U 1 ga teng. 10^{-4} dan ayirsak LD_{50} kelib chiqadi.

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

Demak, $LD_{50} = 10^{-3,756}$. Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakteriya suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun lagorifmik jadvaldan foydalaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun $10^9/\text{ml}$ bakteriya suspenziyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda, $LD_{50} = 10^{-9} \times 0,5 : 5747 = 87000$ mikrob hujayrasi.

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

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

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

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

Hayvonlarning zararlanadigan joyi oq sichqondan tashqari junidan tozalanadi: spirt, 5% yod eritmasi, 2% karbol eritmasi bilan 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 tiriladi 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.

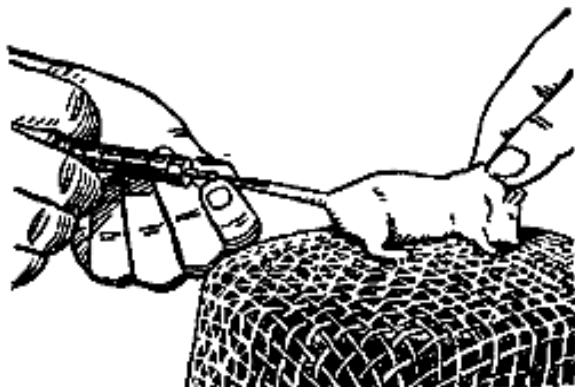
3. Teri ostiga–chap qo'l bilan teri ko'tarilganda uchburchak hosil bo'ladi va uning ichkarisiga shprisning ignasi kiritiladi: quyon belining bir tomoniga 20-25 ml, dengiz cho'chqalariga 10 ml (67-rasm), oq sichqon va kalamushning dumg'ozasiga 1-10 ml yuboriladi.

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

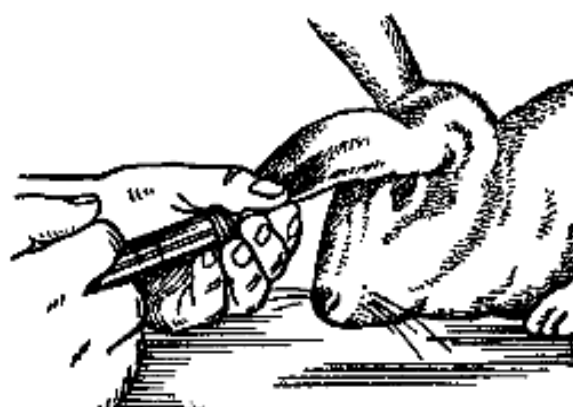
5. Qorin bo'shlig'iga laboratoriya hayvonining boshini pastga qaratib fiksatsiyalanadi va tekshiriladigan material 0,1-0,2 ml, shprisning ignasi bilan, qorin bo'shlig'ining pastki 3 chi qismiga markaziy oq chiziqdan chetroq yuboriladi (66-rasm).

6. Qon tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (65-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (64-rasm), dengiz cho'chqa-sining to'g'ridan-to'g'ri

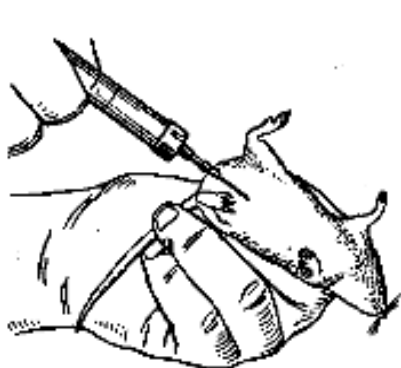
Laboratoriya hayvonlarini zararlash



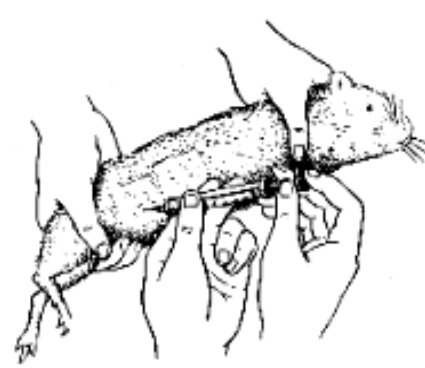
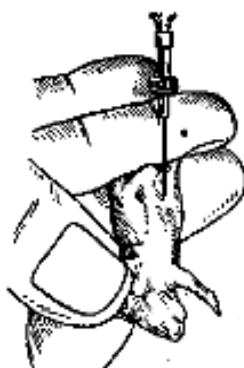
64-rasm. Sichqonning venasidan zararlanishi.



65-rasm. Quyonning quloq venasidan zararlash.



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



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



68-rasm. Sichqonning miyasiga zararlash.



69-rasm. Quyonning miyasiga zararlash.

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 (69-rasm), sichqonga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (68-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.²⁶

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 ularni zararlash usullarini ayting.
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi.
6. Zararlashning ikki usulini bir vaqtda qo'llash mumkinmi?
7. Hayvonlarning zararlanadigan joyi qanday tayyorlanadi?
8. Biosinov qo'yish uchun qanday hayvonlar tanlanadi va ular qanday belgilanadi?

²⁶ Ruzikulova U.X. “Kavshovchi hayvonlarda pasterellyoz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish” mavzusidagi Magistr akademik darajasini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. Samarqand. 2014y.

Test savollari:

1. Laboratoriya hayvonlarini zararlashdan maqsad nima.

- a) kasallikni klinik belgilarini kuzatish, qarshi kurash chora tadbirlarini ishlab chiqish
- b) kulturaning patogenligini, hayvonni mikrobgacha 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. Mikrobnin 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'iga zararlashda hayvon qanday fiksasiyalanadi.

- a) belini yengil orqaga qayirib
- b) gorizantal holda
- c) boshini pastga qaratib
- d) qulog'i va belini ushlab gorizantal 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

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

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

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

Diagnostic tekshirishda mikrobnining sof kulturasini ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobnini atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblardan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (70-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'riladi.

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

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

Patologik material olish va laboratoriyaga 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 antimikrobli preparatlar bilan davolanmagan hayvonlardan olgan ma'qul. Bakteriologik tekshirish uchun material sifatida mayda hayvonlar va parrandalarning jasadlari, yirik hayvonlardan taloq, jigar (o't xaltasi bilan), buyrak to'qimalari, mushak, yurak (butunligicha), limfa tugunlar, qon (bakteriologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probirkalarda fibrinsizlangan qon; serologik tekshirish uchun ivigan qon), oshqozondagi massa, yiring, balg'am, sut, siydik, tashlangan homila, bosh miya, ichak qismchasi ikki tomoni boylangan holda, ilik suyagi, gumon qilingan oziqa namunasi, qondan tayyorlangan surtmalar va tamg'ali preparatlar yo'llanadi.

Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalarga rioya qilish kerak:

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

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

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

4. Patologik material germetik yopiladigan alyumin yoki emal idishga joylanadi. Mustahkam yopib muhrlanadi. Hayvonlarning jasadi yog'och qirindisi solingan zich taxta yashiklarga joylanadi (qirindi suyuqlikni shimib oladi). O'ta xavfli kasalliklarda (kuydirgi, manqa, tuberkuloz, brutselloz, qorason) shisha idishga olingan bo'lsa, maxsus konteynerlarga joylanadi (71-72-rasm). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

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

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

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

Materialni mikrobiologik tekshirish quyidagi bosqichlardan iborat:

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

Test savollari:

1. Diagnostik tekshirishda o'lgan hayvon jasadi:

- a) yoriladi, patanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi
- b) yoriladi va parenximatoz organlari olinadi
- c) yoriladi va patanatomik tekshiriladi
- d) yoriladi, tashqi va ichki o'zgarishlari o'rganiladi, dalolatnoma 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 mikroob tushmaslik va tarqalmaslik qoidalariga

3. Bakteriologik tekshirish qanday bajariladi.

- a) qayta biosinov o'tkazib, bakteriologik 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'riladi
- d) bakteriologiya, biosinov, mikroskopiya usullari bajariladi

4. Patmateriyalni laboratoriyaga yo'llashda qanday hujjat rasmiylashtiriladi.

- a) yo'riqnoma
- b) ko'rsatma
- c) dalolatnoma
- d) yo'llanma

5. Patalogik material olishda nimalar inobatga olinadi.

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

14 - m a v z u. Agglutinatsiya reaksiyasi

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

Material va jihozlar: Probirkalar, 1 va 5 ml. li pipetkalar, Paster pipetkalari, shtativlar, y.sh.h. ijobiy (brutsellozli) zardobi, y.sh.h. normal zardobi; AR uchun brutselloz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, mavzuga oid plakatlari, 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.²⁷

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

²⁷ 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, mikroob 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 zararsizlantiradi) reaksiyalar, antitelolar farqlanadi.

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

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

AR bir nechta usullarda qo'yiladi: probirkali (klassik) usul, tomchili, qon-tomchili, plastinkali Roz-bengal, sut-halqali, mikroagglutinatsiya usullari.²⁸

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

²⁸ . 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 eritmada 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfeksiyalovchi eritmali idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0,05 ml dan antigen quyiladi (1 ml da 10 mlrd mikrob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo'ladi (73-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 (74-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

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

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

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

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

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

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

Tomchili AR usuli. Mikrob turini aniqlash va uni farqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun buyum oynachasiga aniq maxsus zardob va fiziologik eritmada (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 (75-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‘yalgan) 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‘yalgan 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 (76-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 mikroob 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, gemagglutinasialovchi
- 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 ishlatiladi.

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

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

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

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

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

Uslubiy ko‘rsatmalar

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

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

Komponentlar:

1. Ekstrakt – tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patologik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqiqa yoki 1 atmda. 1 soat 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 asbest paxta bilan filtrlanadi.

2. Standart pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobi.

3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.

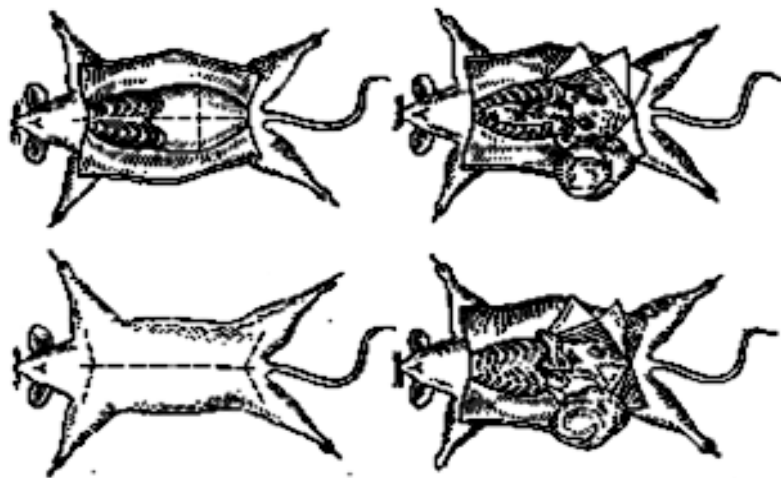
4. Nazorat uchun: standart kuydirgi antigeni, sog‘lom hayvondan olingan material ekstrakti, normal zardob.

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.

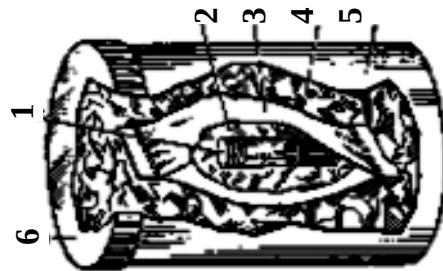
Patologik materialni olish va laboratoriyaga joʻnatish usullari



70-rasm. Oʻlgan sichqonning koʻkrak va qorin boʻshligʻini yorish tartibi.

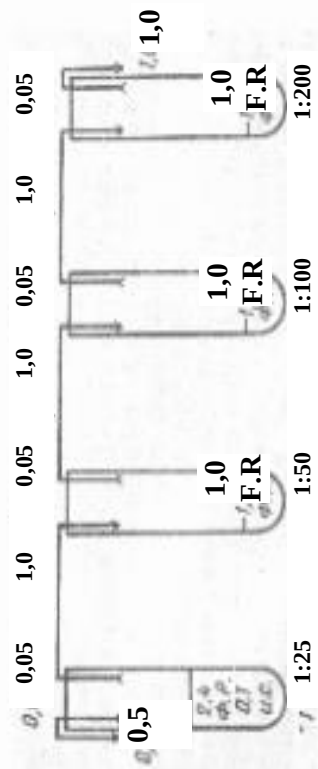


71-rasm. Patologik material namunalarini laboratoriyaga joʻnatish uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).

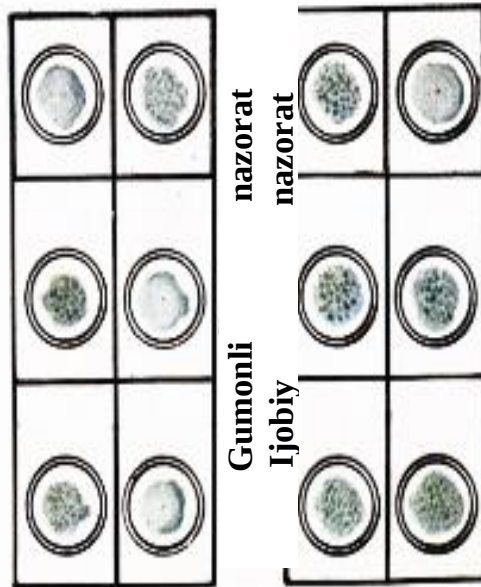


72-rasm. Namunani joylash elementlari:
1-namuna solingan idish, -tiqini leykoplastir bilan oʻralgan probirkalar yoki kavsharlangan shisha ampula; 2-paxta yoki papiros qogʻozi; 3-plastikali xaltacha, kavsharlangan yoki leykoplastir bilan yopishtirilgan; 4-urilishga qarshi prokladka-gʻijimlangan qogʻoz yoki paxta; 5-mustahkam, suv oʻtkazmaydigan tashqi konteyner; 6-zich yopiladigan qopqoq.

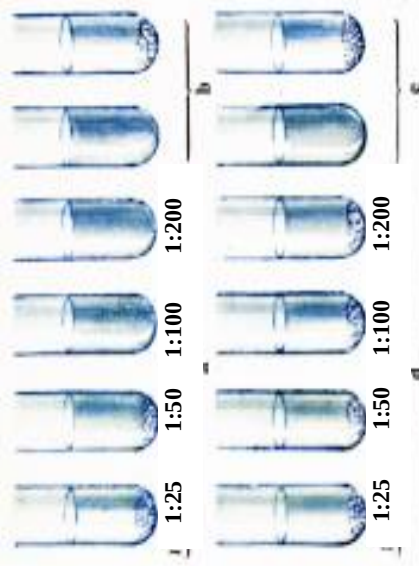
Agglutinatsiya reaksiyasi



73-rasm. AR qo'yish sxemasi.



75-rasm. Plastinkali ARni baholash.

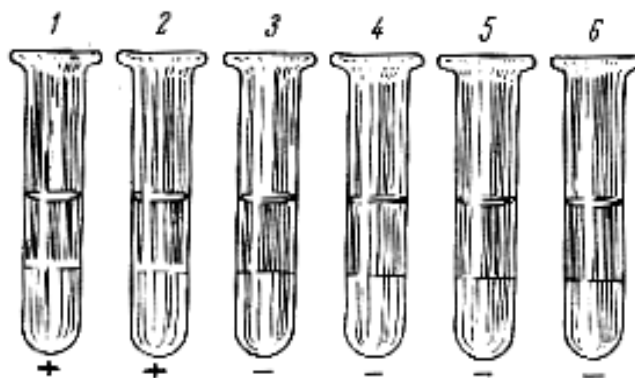
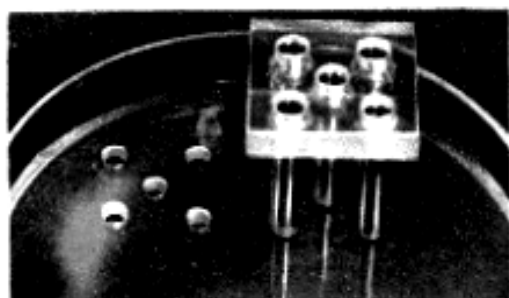
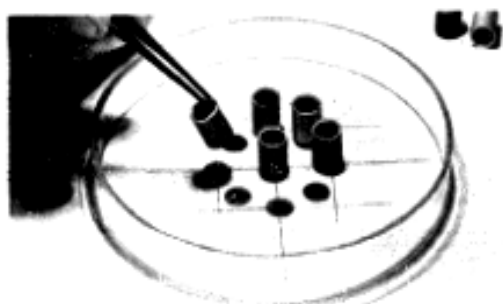


74-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol). A-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; t-nazorat.

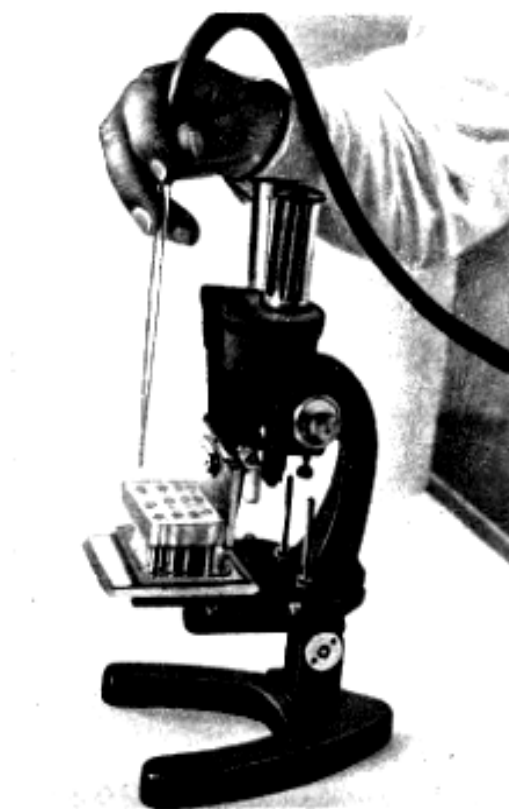


76-rasm. Sut halqali reaksiya: a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.

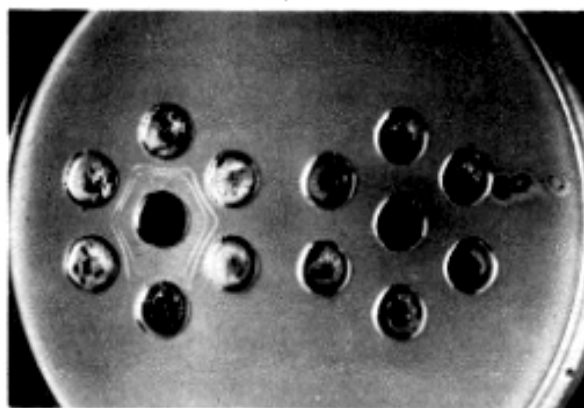
Pretsipitatsiya reaksiyasi



78-rasm. Ijobiy presipitatsiya (Askoil) reaksiyasi.

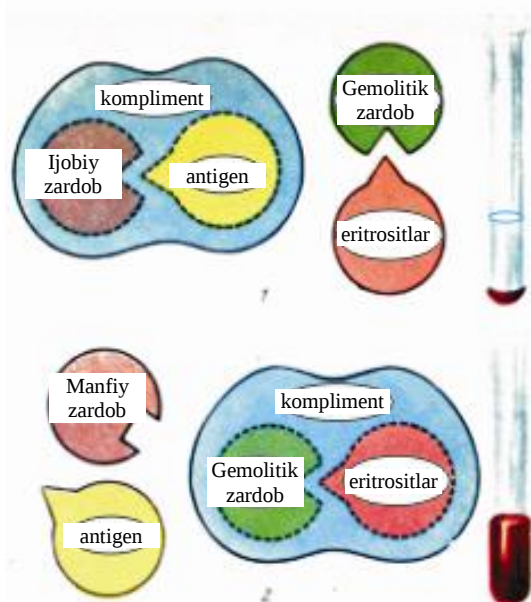


77-rasm. DPR qo'yish usullari.

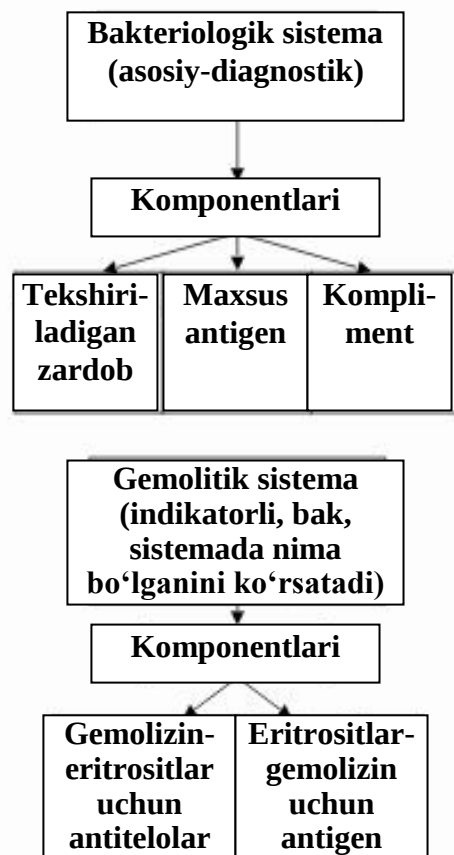


79-rasm. DPR. Chapda markazda pretsipitatsiyalovchi zardob, atrofidagi o'yoqlarda antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda markazda manfiy zardob, atrofida o'sha antigenlar-pretsipitatsiya chiziqlari yo'q.

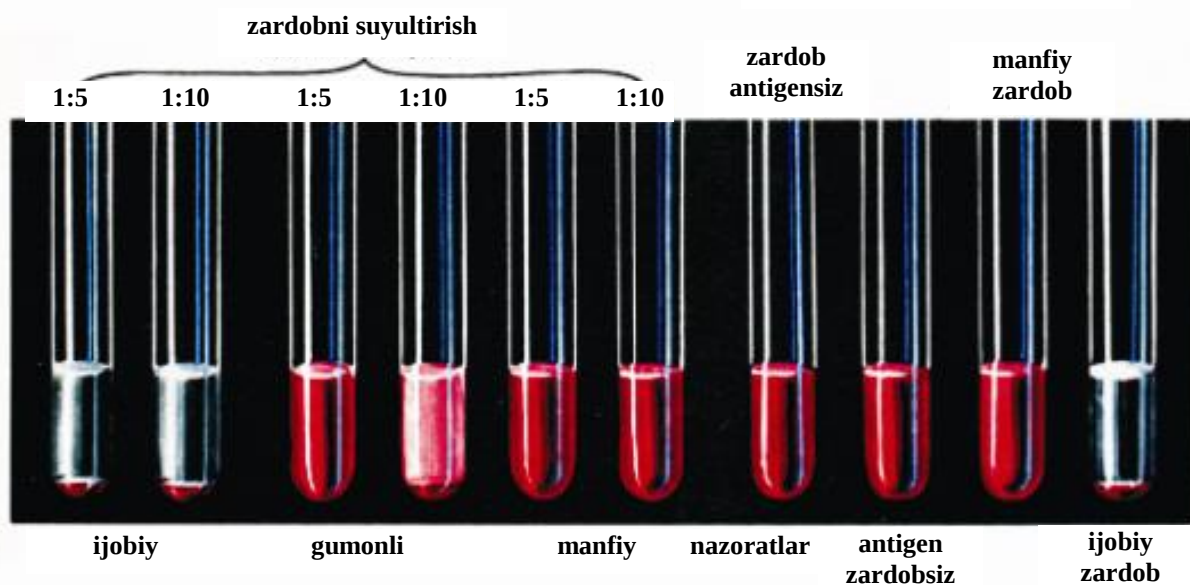
KBR - kompliment bog'lash reaksiyasi



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



81-rasm. KBR sxemasi.



82-rasm. KBR natijasining ko'rinishi.

2. *Antigen ostiga zardob quyish.* Ikkinchi usulda probirkaga avval 0,2-0,3 ml ekstrakt quyib, uning ostiga teng miqdorda Paster pipetkasi bilan kuydirgi zardobi quyiladi. Ikkala usulda ham natija ijobiy bo'lsa, ikkala komponentlar o'rtasida 1-2 daqiqada yaxshi ko'rinadigan tutunsimon rangda halqali pretsipitat hosil bo'ladi (78-rasm).

Nazorat reaksiyasi.

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

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

Diffuzli PR. Buyum oynachasida yoki Petri kosachalaridagi 1 % agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yiqlar qilinadi (77,79-rasm). Markazdagi o'yiqa standart zardob, atrofida gilarga esa antigen namunalari Paster pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatorida bir sutka termostatda turgandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq pretsipitat chiziqlari ko'rinadi. Bunda ham nazorat reaksiyasi qo'yiladi. Pretsipitatsiya chiziqlari yanada yaxshi ko'rinishi uchun plastinalar fiziologik eritmada yuviladi va 65%li kadmiy sulfat eritmasi quyiladi, bir necha daqiqadan keyin yanada ravshan ko'rinadi.

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 ishlatiladi, 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

16-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 (56⁰C 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 (80-81-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 gemesistemadagi 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, 56⁰C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Shtativga tekshiriladigan qon zardoblarining soniga ko‘ra (har bir zardob uchun 2- tadan) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan bittadan) tekshiriladigan qon zardobidan 0,2 mldan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib,

birinchi juftiga standart, ikkinchisiga–normal zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1-qatordagi probirkalarga 0,2 ml antigen, 2- qatordagilariga fiziologik eritma quyiladi. Keyin ikki qatordagi barcha probirkalarga 0,2 ml kompliment quyilib, probirkalar silkitib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37°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 (72-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% eritrotsitlar 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 stafilokokkdan olinadi) yoki ho‘kiz zardobi albumini.

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

5. Peroksidaza fermenti (xrendan olinadi).

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

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

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

9. Immunologik planshet (shaffof polistiroldan tayyorlangan).

10. Shpris – dozator (reaksiya ingredientlarini quyish uchun).

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

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

Reaksiya bosqichlari:

1.Planshetni sensibillash. Planshet o'yiqlariga maxsus antitelolar (immunoglobulinlar) yorlig'ida ko'rsatilgan ishchi eritmasi quyiladi. Planshet antitelolar bilan uch soat termostatda 37°C da yoki 4°C ga 18 soat qo'yiladi. Keyin planshetlar 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'yiqlariga 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'yiqlaridagi 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'yiqlarni uch marta tvinli fosfatli bufer bilan yuvib quritiladi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

keltirilgan plazmidni biror bir yetarlicha oson va yengil o'sadigan bakteriya shtammiga kiritiladi. Ko'p miqdorda DNK – zond saqlovchi biomassa olinadi. Plazmidli DNKni ajratib, radioaktiv izotop bilan belgilanadi, keyin bu belgilangan DNK tekshirilayotgan bakteriyaning DNKsi bilan gibridlanadi. Autoradiografiya usulida markerning tekshirilayotgan DNK bilan gibridizatsiyasini nisbiy chastotasini aniqlab, shu ko'rsatkich orqali aniq bakteriya – DNK donori va tekshirilayotgan bakteriyaning genetik yaqinligi fikrlanadi.²⁹

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

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

1. Tekshirilayotgan DNKni issiqda (95°Cda) 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 DNKni ikkita antiparallel zanjirlarining komplementar qismlariga o'tkazish (yumshatish). Praymerlar 20 – 30 nukleotidlardan iborat ikkita sintetik oligonukleotidlardir. Ularning har biri qo'zgatuvchi DNKsi tanlab olingan chegaralangan segmentlari qismida qarama - qarshi DNK zanjirlariga komplementar bo'ladi. Demak, praymerlar qo'zg'atuvchi uchun maxsus bo'lgan DNK qismini chegaralaydi. Praymerlar reaksiya aralashmasiga keragidan ortiq qo'shiladi, bu ularga bir zanjirli DNKlar ikki zanjirliga birikishidan (renaturatsiya)

²⁹ 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 DNKning aynan o‘sha qismini nusxalari soni ikki hissa ortadi. Bitta praymer yordamida sintezlangan DNK molekulasi boshqa praymer yordamida komplementar DNK sintezi uchun matrisa bo‘lib xizmat qilishi mumkin. Bu bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiqa.

Birinchi sikl tugashi bilan reaksiyani to‘xtatib, DNKni yana harorat bilan denaturatsiya qilinadi. Sovutganda ortiqcha praymerlar yana boshlang‘ich va yangi sintezlangan DNK zanjirlari bilan gibridlanadi. 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 infeksiyon kasallik qo‘zg‘atuvchisi borligini isbot qiladi.

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

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

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

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

Amplifikatsiya tugaganidan keyin PZR mahsulotlari, ya‘ni amplifikonlarni aniqlash bosqichi keladi. DNK 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.

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

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

Nazorat savollari:

1. Kompliment bog'lash reaksiyasining AR, PR laridan farqi?
2. Kompliment bog'lash reaksiyasining komponentlarini ayting?
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 ayting.
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'rinmaydi
- b) komponentlari, gemsistema ishtiroki
- c) komplement gemolizin eritrositlarni lizisga uchratadi
- d) eritrositlar ishlatiladi

4. KBR natijasi musbat bo'lganda eritrositlar.

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

II - MODUL. MIKROBIOLOGIYA FANINING XUSUSIY QISMI
QISHLOQ XO'JALIK MIKROBIOLOGIYASI

17-m a v z u. Bakterial infeksiya qo'zg'atuvchilari - tuberkulyoz, brusellyoz, cho'chqalar saramasi, pasterellyoz, kolibakterioz, salmonellyoz qo'zg'atuvchilari

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

Material va jihozlar: patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, preparatlar, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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 (87, 88-rasm). Qo'zg'atuvchisini 1882-yilda R.Kox ochgan. Hozirgi vaqtda 5 turdagi tuberkuloz qo'zg'atuvchisi ma'lum.

1. Odamlarda – *Mycobacterium tuberculosis*
2. Qoramollarda – *Mycobacterium bovis*
3. Parrandalarda – *Mycobacterium avium*
4. Sichqonlarda – *Mycobacterium. microt (murium)*
5. Sovuqqonli hayvonlarda – *Mycobacterium poykilothermorum* .

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

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.³⁰

Patologik material: Kasal hayvonlardan – burundan oqqan ajratma, balg'am, traxeya shilimshig'i, tezagi, siydik namunalari olinadi. *O'lganidan–*

1. ³⁰ Tracy H Vemulapalli. G Kenitra Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.84.

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 laboratoriyaga yuboriladi. Buning imkoni bo'lmasa 30–40% glitserinda kanservatsi-yalab yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

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

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

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

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

Mikroskopda kislotaqa chidamli bakteriyalar – qizil (83-rasm); chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (diagnostika infeksiyonni i protozoyni bolezney selskoxozyastvenni jivotni. 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), (89-rasm).

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

Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi. Kulturadan tayyorlangan surtmada ipsimon uzun shakli ham uchraydi.

2. **Bakteriologiya:** Avval Gon yoki Alikayev usullaridan birida patmaterialga ishlov beriladi.

Gon usuli: Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan aralashtiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqiqasiga 3000 aylanma tezlikda 10-15daqiqa 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 havonchada 0,5sm³ kattalikda maydalanib, ustiga 10-8-6%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10-20 daqiqa turadi. Kislotaning ekspozitsiya vaqti va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10-20 daqiqadan keyin kislota to'kib tashlanib, o'rniga fiziologik eritma quyiladi va 8 daqiqa turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial havonchada yaxshilab eziladi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5-6 probirka oziq muhitga ekiladi.

Ishlov berilgan patmaterial - elektiv: tuxum-kraxmalli, kartoshkali-glitserin-bulonli (84-rasm) – begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhitlarga ekiladi. Ko'pincha Petranyani (86-rasm), Levenshteyn-Iyensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Glitserinli GPB va GPA lari ham ishlatiladi (85-rasm).

Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi – aerob, sekin o'sadi (2-4 hafta va undan ko'proq). Glitserinli bulonda uzoq vaqt davomida (6-8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulozni aniqlashda foydalaniladi. Suyuq muhitda qo'zg'atuvchi 10-30 kundan keyin o'sib parda hosil qiladi.

M.tuberculosis–qalin parda, *M.bovis*– to'rsimon o'simtali parda, *M.avium*– esa 7-10 chi kuni yupqa, nozik, oqishroq 21 chi kuni kuchli ajinlashgan avval quruq, keyin shilimshiq parda hosil qiladi. Zich oziq muhitlarda boshida zo'rg'a

ko‘rinadigan mikrokoloniyalar paydo bo‘ladi, keyin ular kattalashib boradi. Oziq muhit yuzasidan mayda yoki katta, yaltiroq yoki xiraroq, silliq yoki kengish 1-2 koloniyalar paydo bo‘ladi, yoki koloniyalar birlashib ketib, yuzasi bilan bitta oqish qatlam hosil qiladi. Bakteriologik tekshirish muddati- 2 oy. Ekmalarni har 4-5 kunda ko‘rib natija yozib boriladi.

3. Biosinov. Dengiz cho‘chqasi chotining terisi ostiga 1ml, quyon-lar quloq venasiga 2ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1-2ml suspenziya yuboriladi. Kuzatish muddati 3 oy.

Biosinovga olingan hayvonlar oldindan tuberkulozga tuberkulin bilan allergik usulda tekshirilishi kerak. Manfiy natija berganlarigina biosinov uchun ishlatiladi. O‘lgan hayvonni yorib, xarakterli tuberkulalardan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi.

Qo‘zg‘atuvchilarni 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-tuberkulostat 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, sutemizuvchilar uchun.

Altuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

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.³¹ 6 ta turdan iborat: *melitensis* (qo'y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (cho'chqalarda), *ovis* (qo'chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotomae* (kalamushlarda). *Brusella ovis* – qo'chqorlarda infeksiya epidedimit kasalini chaqiradi.

Patologik material. Kasal hayvondan tashlangan homila, homila pardasi bilan yoki ikki tomoni bog'langan homila oshqozoni, jigar va taloq bo'lakchalari (90-rasm); gigroma moddasi, sut - (yelinni yuvib, 70° spirtida dezinfeksiyalab, keyin har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga oxirgi porsiyalardan 10-15ml olinadi). Qo'y va echkidan esa, sut yelindan shpris ignasi bilan steril holda olinadi. Sut, namuna olingan kuni tekshirilishi kerak. Imkoni bo'lmasa, borat kislotasi bilan 10ml sutga 0,1gr miqdorda konservatsiyalanadi.

Qo'chqorlardan (so'yilganda) urug'don xaltasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial bo'lak selofan, pergament qog'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

³¹ Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g. c.113.

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 (91-rasm).

Ye.V.Kozlovskiy bo‘yash usuli (1936): fiksatsiya qilingan surtma-ga 2 % li safraninning suvdagi eritmasini quyib, pufakcha hosil bo‘l-guncha qizdiriladi, keyin suv bilan yuvib, qo‘shimcha 0,75% - 1 % li malaxit ko‘ki bilan 30 sekund bo‘yaladi. Brusellalar qizil rangda, boshqa bakteriyalar va to‘qima hujayralari yashil rangga bo‘yaladi.

2.Bakteriologiya. Brusellalar maxsus oziq muhitlarda o‘sadi: go‘sh-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 (91, 92-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‘kimtir tovlanadigan (R-shakli ham uchraydi) koloniyalar hosil qiladi. Uzoq o‘stirilganda koloniyalar xiralashib, pigment hosil bo‘lishi bilan – qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

Suyuq oziq muhitda bir xil loyqalanish, ko‘kimtir tovlanadigan halqa hosil qiladi, keyin kamroq cho‘kma tushadi. Ko‘proq ifloslangan materialni ekish uchun 1:800000 kristallviolet yoki antibiotik qo‘shilgan muhitga ekiladi (93 a, b-rasm). Ularda begona mikroflora o‘smaydi, kristallvioletli muhitda brusellalar ko‘kimtir, yaltiroq, silliq, yumaloq koloniyalar ko‘rinishida o‘sadi.

Brusella turlarini farqlashning bakteriostatik usuli. Brusellalarning oziq muhitga qo'shilgan bo'yoqqa munosabati inobatga olinadi. Go'sht peptonli jigarli agarga alohida probirkalarda – fuksin (1:25000), tionin (1:50000-1:100000) aralashtiriladi.

Ularga brusellalarning sof kulturasi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhitda, *B.abortus* tioninli muhitda o'smaydi. *B.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 tarafıga terisi ostıga yuboriladi. 15, 25, 40 - kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brutsellozga tekshiriladi. 1:10 va undan yuqori nisbatlarda musbat natija olinsa, keltirilgan patmaterialdan kultura ajratilmasa ham, tekshirish natijasi ijobiy hisoblanadi. Biosinov ikki oy kuzatiladi. Ajratilgan barcha kulturalar ish yakunida avtoklavda 1,5 AT 1soat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan (95, 96, 97, 98, 99-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'yiqlariga quyiladi. Ustıga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo'yalgan brutselloz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, aralashtiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar, fiziologik eritma bilan reaksiya qo'yiladi. Ijobiy natijada pushti rangda agglutinat paydo bo'ladi. Ijobiy natija bergan zardoblar namunasi AR, KBR da qayta tekshiriladi.

Sut halqali reaksiya. Probirkaga 2-3 ml yangi sog'ilgan sut quyib, unga gemotoksilin bilan bo'yalgan antigendan 0,2 ml (2 tomchi) ustiga qo'shiladi. Probirkalarni silkitib, yaxshilab aralashtiriladi, 37°C da 45-60 daqiqa suv hammomi yoki termostatda turadi. Ijobiy natijada – ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi (97-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 reaksi-yalarda 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'yalgan rangli antigen. *B.abortus* (shtamm 19) kulturasidan tayyorlangan.

Fluoressensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardo-bidan tayyorlangan.

Ijobiy brutselloz zardobi, hayvonlarni giperimmunlab olinadi. Serologik reaksiyalarda nazorat uchun ishlatiladi.

Cho'chqalar saramas kasalligi qo'zg'atuvchisi – *Erysipelothrix rhusiopathiae*. O'tkir kechganda septit semiya, eritemali yallig'lanish, surunkali kechganda endokardit, artrit, bilan namoyon bo'ladigan yuqumli zooantroponoz kasallik (104, 105-rasm). Uch oylikdan bir yoshgacha bo'lgan cho'chqalar, uch - to'rt haftadan katta qo'zilar kasallanadi. Boshqa tur hayvonlarda kasallik kam uchraydi. Odamlar ham kasallanadi.

Patologik material . Laboratoriyaga tekshirish uchun hayvonning jasadi yoki 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 shimdirilgan dokaga o'raladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tamg'ali surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Saramas qo'zg'atuvchisi spora, kapsula hosil qilmaydi, harakatsiz, grammusbat, bitta, ikkita yoki to'p-to'p bo'lib joylashgan tayoqchasimon bakteriyalardir.³² 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 (100,101-rasm). Fluorescentli zardoblar bilan ham bo'yash mumkin. Lyuminissentli mikroskopiya saramas qo'zg'atuvchisi intensivligi uch nishondan (+++) kam bo'lmagan maxsus nur-lanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan GPB, GPA, GPJ larga ekiladi. Ekmalar 37°C da 18-24 soat termostatda o'stiriladi, o'sish bo'lmasa, yana 24 soatga qoldiriladi. *E.rhusopathiae* aerob, mikroaerofil (5-10% 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 koloniyalar hosil qiladi (S- shakli). R- shaklda – yirik, yuzasi notekis, chetlari o'simtali koloniyalar –(kasallik surunkali o'tganda) paydo bo'ladi. Ba'zan oraliq koloniyalar ham hosil bo'ladi (100,101,102-rasm).

GPJ ga tik ekilganda uni suyultirmaydi, bir necha kundan keyin «yumaloq sim cho'tka» shaklida o'sadi (103 b-rasm).

1. ³² P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.
This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.47.

Biokimyoviy 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 ishlatiladi. Agar saramas qo‘zg‘atuvchisi bo‘lsa zich, mayda, donador agglutinat paydo bo‘ladi.

3. Biosinov. Kabutar va oq sichqonlarda qo‘yiladi. Kabutarlar to‘shiga 0,2 – 0,3 ml dozada, 16-18g li oq sichqonlar terisi ostiga 0,1 – 0,2 ml dozada patmaterial suspenziyasi yoki GPA da o‘stirilgan 1-2 sutkali kultura suspenziyasi yuboriladi. Ijobiy natijada zararlantirilgan kabutarlar 3 - 6 sutka, oq sichqonlar 2-4 sutkadan keyin o‘ladi. Biosinov 7 kun kuzatiladi.

Diagnoz qo‘yildi deb hisoblanadi:

1. Lyuminissentli mikroskopda patmaterial, aralash kulturadan tayyorlangan surtmalarda saramas qo‘zg‘atuvchisi topilsa (toza kultura ajratilmasa ham);
2. Patmaterialdan qo‘zg‘atuvchiga xos xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa;
3. Biosinovdagi hayvonlar o‘lsa va organlaridan saramas qo‘zg‘a-tuvchisi kulturasi ajratilsa (hatto birlamchi qo‘zg‘atuvchi ajratilmasa ham).

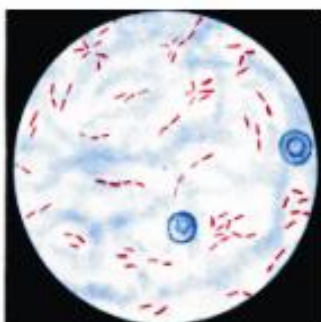
Biopreparatlar. Cho‘chqalar saramas kasalligiga qarshi konsentrlangan gidrookisaluminli formolvaksina.

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

Cho‘chqalar saramas kasalligiga qarshi quruq 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.

Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi



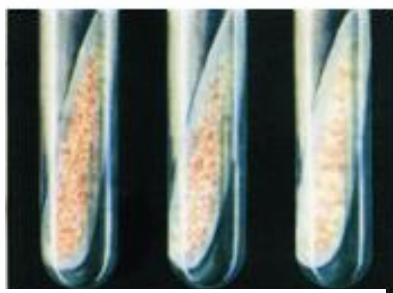
83-rasm. Tuberkuloz
qo'zg'atuvchisi
(Sil-Nilsen usulida bo'yalgan).



84-rasm.
Tuberkuloz
kulturasini
glitserinli
kartofelda
o'sishi.



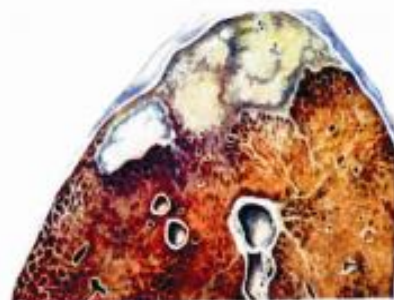
85-rasm. Tuberkuloz kultu-rasini
glitserinli GPB da o'sishi: hi:
a-humanus; b-bovinus tipi.



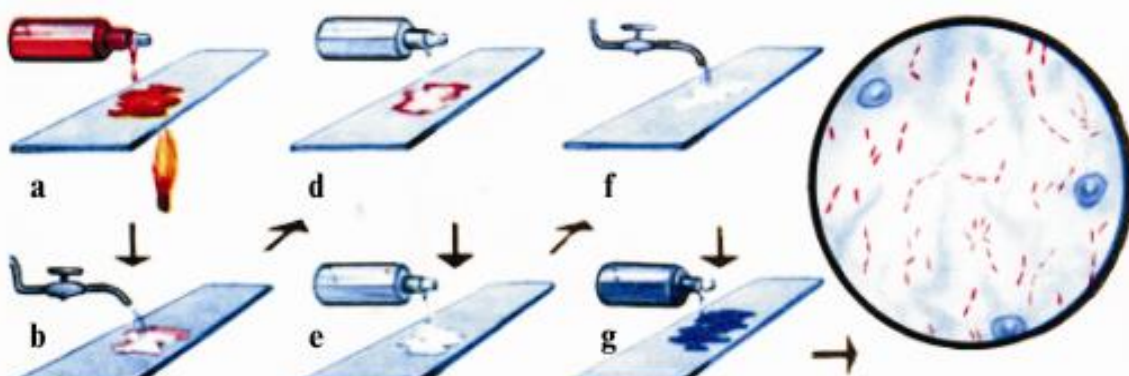
86-rasm. Tuberkuloz
kulturasini Petranyani
muhitida o'sishi:
chapdan-bovinus,
humanus, avium tiplari.



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

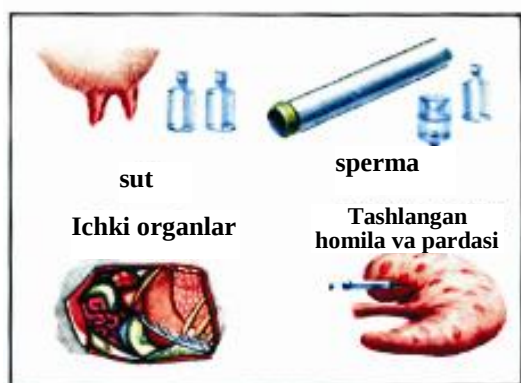


88-rasm. Ohaklashgan
lobulyar kazeoz. n

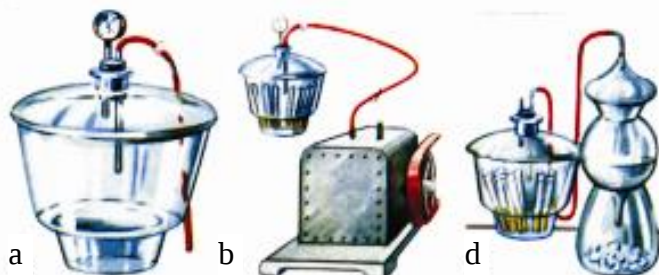


89-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.
a-sil fuksini bilan bug' paydo bo'lgunicha olov ustida qizdirib bo'yaladi; b-
bo'yoq suv bilan yuviladi; d-5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e-
avval spirt, keyin f-suv bilan yuviladi va g – metilin ko'ki bilan bo'yaladi.
Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.

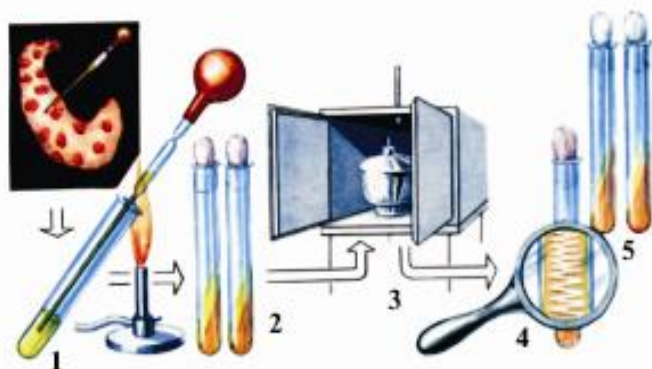
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi



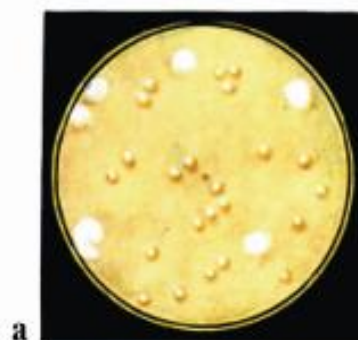
90-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



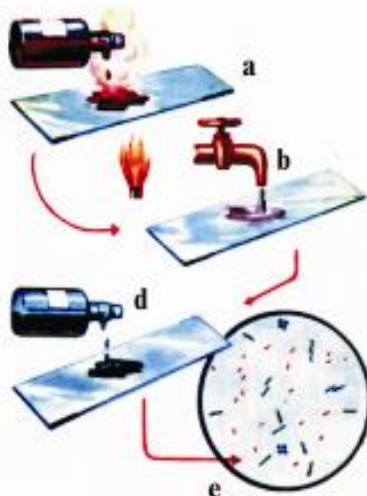
91-rasm. a-brutselloz kulturasini o'qirish uchun eksikator, b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikator, d-KIPP apparati yordamida uglekislota hosil qilish.



92-rasm. Ekish, o'qirish va brusella kulturasini ko'rish sxemasi



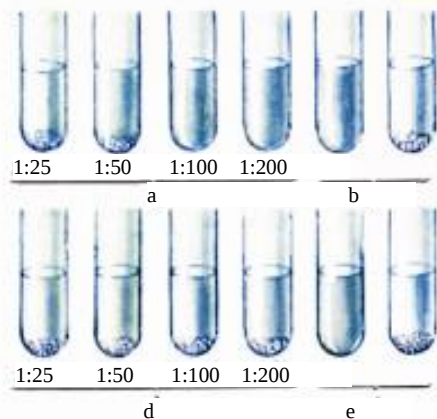
93-rasm. Brusella koloniyasi: a-jigarli agarda; b-kristall violet buyog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (begona mikroflora o'smagan).



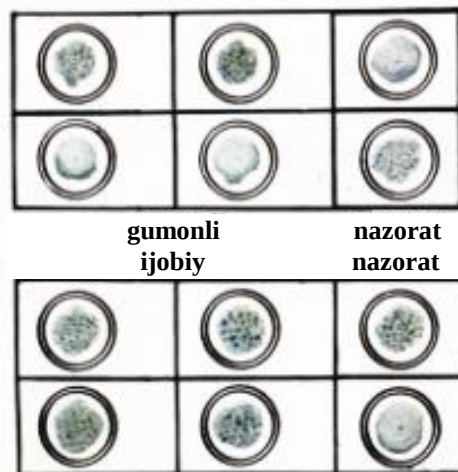
94-rasm. Brusellalarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtma 2% li safraninining suvdagi eritmasi bilan bug' hosil bo'lgunicha qizdirib bo'yaladi (a), bo'yoq suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li metilin ko'ki yoki malaxit yashili bilan bo'yaladi (d). Brusellalar qizil, boshqa mikroblar

ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (e).

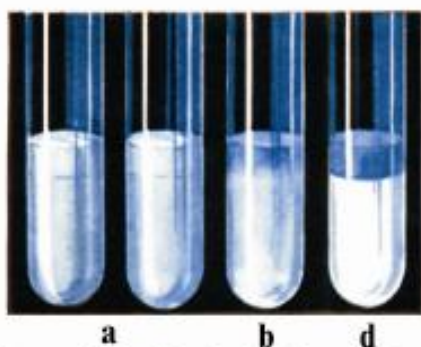
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



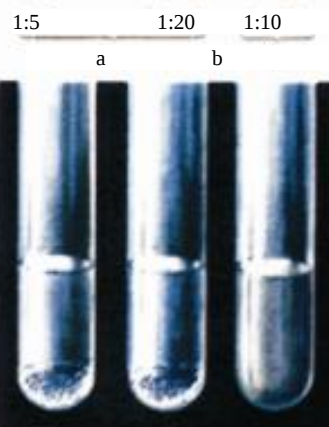
95-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol).
a-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; e-nazorat.



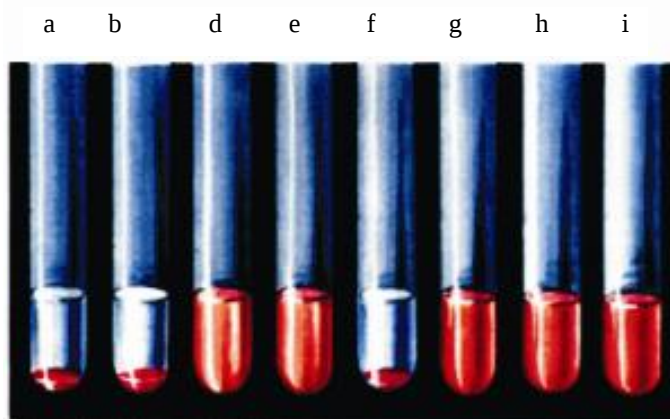
96-rasm. Plastinkali ARni baholash.



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

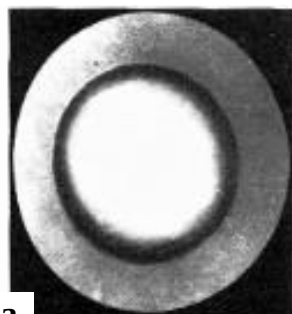


98-rasm. AR urug' plazmasi bilan:
a-ijobiy; b-manfiy.

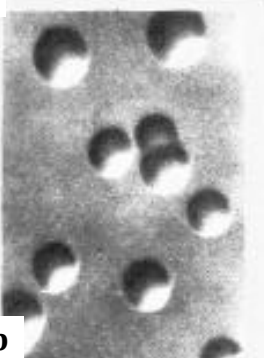


99-rasm. KBR. Zardob 1:5 va 1:10 (a,b), zardob 1:5 nazorat (d), umumiy nazorat uchun: e) normal zardob+ +kompliment+antigen+gemsistema; f) ijobiy zardob+kompliment+ +antigen+gemsistema; g) antigen+ +kompliment+gemsistema+fiziologik eritma; h) gemsistema+fiziologik eritma; i) ijobiy zardob+kompliment+ +fiziologik eritma.

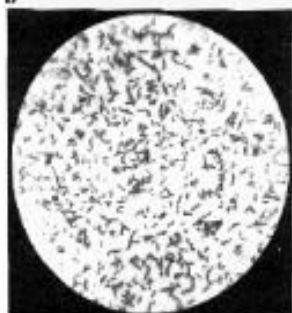
Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi



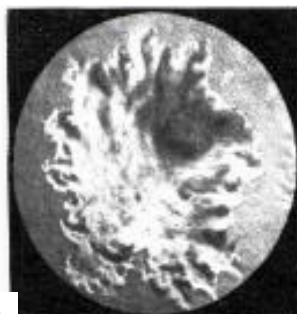
a



b



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



a



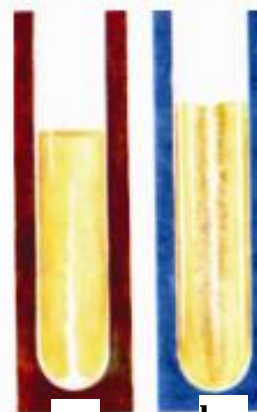
b



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



102-rasm. Oraliq O(SR)-shaklli mikrobnig eski koloniyalari pigmentli dog'lari



a

b

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



1



3



2

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



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

Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi



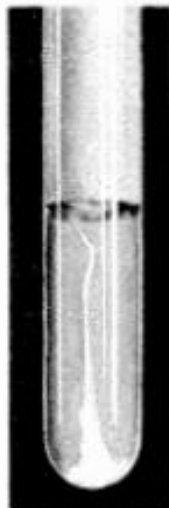
106-rasm. Pasterella GPB
kulturasida tayyorlangan surtma.



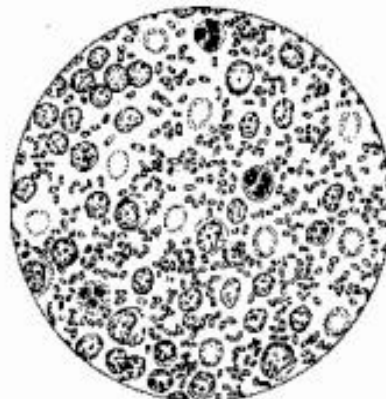
107-rasm. Pasterellaning S-shaklli
koloniyasi-agarda.



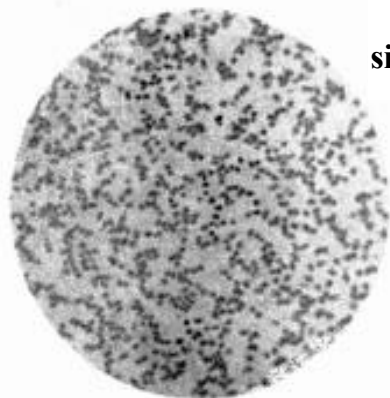
108-rasm. Pasterellaning R-shaklli
koloniyasi-agarda.



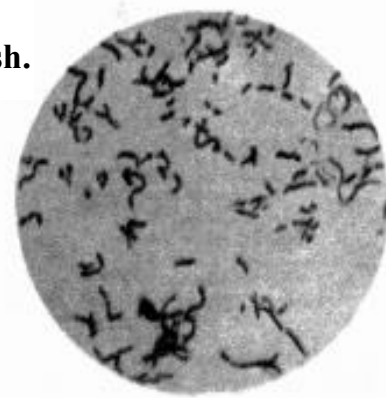
110-rasm. GPB da 2 sutkali
pasterella cho'kmasini
silkitgandan keyingi ko'rinish.



109-rasm. Pasterellalar.
Patologik materialdan
tayyorlangan surtmada.



111-rasm. S-shaklli
pastrella surtmasi.



112-rasm. R-shaklli
pastrella surtmasi.

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

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

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, mayda, qisqa tayoqcha shaklida (0,25 -0,5 x 2 mkm), grammanfiy bakteriyadir. Leffler ko'ki yoki Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda pasterellalar bipolyar (bakteriyalarning uchlari intensiv bo'yalgan) holda ko'rinad³³i. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikkitadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shtammlari kapsula hosil qiladi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rinadi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (106, 109, 111, 112- rasm).

2. Bakteriologiya. *P. multocida* – aerob sharoitda, 37- 38⁰C 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 koloniyalar (107-rasm), ba'zan yirik, shilimshiq (M- shakl)

1. ³³ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.66.

yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (*R*- shakl) shaklida o'sadi (108-rasm). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

GPB da muhit bir xilda loyqalanib, shilimshiq cho'kma hosil qiladi (110-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 gazzsiz kislota hosil qilib parchalaydi. Laktoza, dulsitni parchalamaydi, sutni ivitmaydi, indol hosil qilmaydi. Somatik va kapsulali antigenlari borligi aniqlangan.

3. Biosinov. Qoramol, cho'chqa, qo'ylardan tekshirilayotgan material bilan oq sichqon va quyonlar zararlanadi. Material oq sichqonga- 0,2 ml, quyonga – 0,5 ml dozada terisi ostiga yuboriladi. Quyonlarni avvalo pasterella tashuvchanlikga tekshiriladi - uch kun davomida ularning burun bo'shlig'iga 2 tomchidan 0,5 % li brilliart yashilining suvdagi eritmasi tomdiriladi. Burun bo'shlig'idan yiringli ajratmaning oqishi pasterella tashuvchanligini bildiradi. Ularda 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 ijobiy hisoblanadi:

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

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

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

Qishloq xo'jalik hayvonlarining pasterelloz, salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent giperimmunoserdobi ishlab chiqilgan.

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

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

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

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, grammanfiy (pushti – qizil rang) tayoqchasimon bakteriyalar; spora hosil qilmaydi; uzunligi 1 – 3 mkm, eni – 0,8 mkm (114-rasm). Bittadan joylashadi. Faqat 08, 09, 0101 shtammlari kapsula hosil qiladi. Harakatchan va harakatsiz turlari bor (115-rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan GPA, GPB, Endo muhitlariga ekiladi. Probirkali muhitlarga Paster pipetkalari bilan, Petri kosachalaridagiga shpatel bilan yoki organlardan tamg'a usulida ekiladi. Ekmalar 37–38°C da termostatda bir sutka

o'stiriladi. *E. coli* aerob va fakultativ anaerob. Endo muhitida xarakterli koloniya bo'lsa, undan GPB, GPA, qonli agarga ekiladi.

GPB – bir xilda loyqalanish, tez tarqovchi cho'kma hosil bo'ladi. GPA da 16–20 soatda namli, yumaloq chetlari tekis, yuzasi silliq, kulrang koloniyalar hosil qiladi (115-rasm). Qonli GPA da koloniya atrofida gemoliz zonasi hosil bo'ladi (119-rasm).

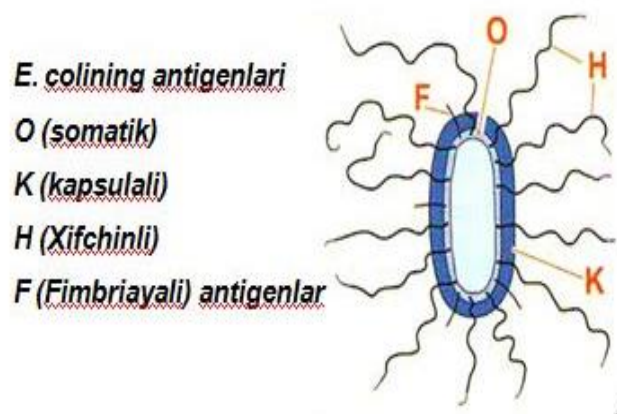
Biokimyoviy xususiyatlari – endo muhitida (117-rasm) uch xil: qizil qoramtir tovlanadigan, malina rangli pushti tovlanadigan va pushti koloniyalar hosil qiladi (laktozaning parchalanishi hisobiga). Indol hosil qiladi, vodorod sulfid (H_2S) hosil bo'lmaydi, sutni ivitadi, metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy reaksiya beradi. Gissa rangli qatorda (118-rasm) glukoza, laktozani kislota va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sitrat tuzlarini o'zlashtirmaydi.

Ajratilgan kultura ARda tipospesefik agglutinatsiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizatsiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik «O», qobiqli «K», xivchinli «H» antigenlar farqlanadi (113-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



113-rasm E.coli **antigenlari**³⁴

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 (120-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.

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 konsentrlangan 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.

³⁴ P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology.

This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.58.

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

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

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

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

2. Bakteriologiya. Patmateriallardan GPA, GPB va elektiv muhitlardan birortasiga – Endo, Ploskirev, Levin, vismut-sulfit agarga ekiladi. Muhitning pH 7,2 – 7,4. Ekmalar 37-38°C da bir sutka davomida termostatda o'stiriladi. GPBda qo'zg'atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq, rangsiz, tiniq

yoki kulrang-ko'kintir, chetlari tekis (S shakl), ba'zan kengish (R shakl) koloniyalar paydo bo'ladi (121-rasm). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko'kintir koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (125-rasm). Harakatchanligi yarimsuyuq 0,2 – 0,3%li GPAg kulturani ekib aniqlanadi. *S.pullorum* (*S.gallinarum*) tik ekish yo'lida sterjen kabi o'sib, muhit yuzida parda hosil qiladi (122-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 (123-rasm *S.typhimurium* kulturasining rangli qatorda o'sishi). Metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy natija beradi.

Serologik tipizatsiya uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasini avval polivalent salmonellozli agglutinatsiyalovchi «O» – zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (124-rasm). Ijobiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga kiruvchi alohida monoreseptorli «O» – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin aynan o'sha kulturalar monoreseptorli «H» zardob bilan (I va II fazalari raqam va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tashqari immunofluoresent diagnostika 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 mikroob tanachalari 1 ml da) 0,2-0,3 ml yuboriladi. Ijobiy natijada 3-10 kunda sichqonlar o'ladi.

Biopreparatlar. Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrlangan formolachchiqtoshli vaksina.

Cho'chqa bolalari salmonelloziga qarshi vaksina – 50% *S.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 /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.

Fluoressensiyalovchi 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. Tuberkeulyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
2. Brusellyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
3. Cho'chqalar saramasi kasalligi, pasterellyoz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
4. Pasterellyoz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
5. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
6. Salmonellyoz qo'zg'atuvchlarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
7. Salmonella va E.colilarning differensial – diagnostik muhitlarda o'sishi.
8. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini ayting.

Test savollari:

1. Tuberkuulyoz qo'zg'atuvchisining nechta turi bor?

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

2. Tuberkuulyoz qo'zg'atuvchisi nega oddiy usulda bo'yalmaydi ?

- a) spirtga chidamli, sitoplazmasi zich, yadrosi shakllangan, donador
- b) kislotaga chidamli, qobig'i qalin, sitoplazmasi zich
- c) kislota, spirt, ishqorga chidamli, qobig'ida steorin kislotalari, mumsimon moddalar bor
- d) ishqorga chidamli, sitoplazma va yadrosi 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 0,5sm³ o'lchamda maydalanib 10-8-6% li H_2SO_4 eritmasida 10-20 daqiqa turadi
- b) Gon usulida patmaterialga H_2SO_4 eritmasining ta'sir ekspozitsiyasi 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.

6. Brusellalarning nechta turi bor

- a) 4
- b) 5
- c) 6
- d) 3

7. Qo'y-echkilarda brusellalarning qaysi turi uchraydi

- a) Br. Neotomae
- b) Br. Abortus
- c) Br. ovis
- d) Br. melitensis

8. 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

9. Brusellyozga tekshirganda patmaterialdan tayyorlangan surtmalar qaysi usullarda bo'yaladi

- a) Gram, Sil-Nilsen
- b) Gram, Kozlovskiy
- c) Kozlovskiy, Romanovskiy Gimza
- d) Gram, Mixin, Peshkov

10. Qo'chqorlardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi

- a) yarmi 10-15% CO₂li atmosferada
- b) odatdagi atmosferada
- c) hammasi 10-15% CO₂ li atmosferada
- d) anaerob sharoitda

11. Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi

- a) anaerob sharoitda
- b) odatdagi atmosferada
- c) hammasi 10-15% CO₂ li atmosferada
- d) yarmi 10-15%li atmosferada, qolganlari odatdagi atmosferada

12. Brusellyozda biosinov qaysi laboratoriya hayvonida qo'yiladi

- a) dengiz cho'chqasi
- b) quyon
- c) oq sichqon
- d) jo'ja

13. 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

14. 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

15. 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

16.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'rinishida

17. Saramasda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi.

a) quyon, oq sichqon

b) dengiz cho'chqasi, kabutar

c) oq sichqon, kabutar

d)kabutar, quyon

18.*Eryzipelothrix rhusiopathiae* qaysi oziq muhitlarda o'sadi

a) tuzli GPA, GPB

b) GPB, Endo, Levin

c) GPA, Ploskirev, Gelberg d) GPB, GPA, GPJ

19.*Eryzipelothrix rhusiopathiae* ni o'stirish uchun optimal harorat qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan

a) aerob, mikroaerofil, 37⁰Cda 18-24 soat o'stiriladi

b) aerob, 41⁰Cda 18 soat o'stiriladi

- c) anaerob, 35⁰Cda 48 soat o'stiriladi
- d) anaerob, 37-38⁰Cda 16-18 soat o'stiriladi

20. Saramasga qachon diagnoz qo'yidi deb hisoblanadi

- a) patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi 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

21. *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 muhiti

22. Pasterellyozda patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi.

- a) mikroskopiya, bakteriologiya, serologiya
- b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov
- c) serologik, biosinov, mikroskopiya
- d) biosinov, Gissa muhitiga ekib, serologik

23. 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

24. 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

25. Pasterellyozga tekshirganda qaysi holda natija ijobiy hisoblanadi

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

26. 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

27. Kolibakteriozda kasal hayvondan olinadigan patmaterial

- a) ichagidan qirindi
- b) siydigi, qon, oqmalar
- c) sut, burun oqmasi
- d) to'g'ri ichagidan tezagi

28. 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

29. E.coli ning qanday antigenlari farqlanadi

- a) O, H
- b) O, K, H
- c) K, O
- d) K, H

30. 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

31. 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

32. 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

33. Salmonellalar spora va kapsula hosil qiladimi?

- a) ha
- b) yo'q
- c) ikkalasi ham to'g'ri
- d) ba'zida

34. Salmonellalarning qaysi turi harakatsiz

- a) S. enteritidis
- b) S. typhimurium

c) *S. pullorum* (*gallinarum*)

d) *S. choleraesuis*

35. Salmonellalar laktoza va saxarozani

a) parchalab gaz hosil qiladi

b) parchalaydi

c) parchalab kislota hosil qiladi

d) parchalamaydi

18 - m a v z u. Basillali infeksiya - kuydirgi, qorason, qotma kasalliklari, botulizm qo'zg'atuvchilari

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

Material va jihozlar: patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, preparatlar, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Kuydirgi 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.

Choʻchqalarda tamoq limfa tugunlari zararlanadi – angionoz shakli. Kuydirgi kasalligiga gumon qilinganda jasadni yorish man etiladi.³⁵

Patologik material. Jasadning yotgan tarafidagi (pastdagi) qulogʻi asosi ikki tomonidan orasi 1 sm bogʻlanadi, oʻrtasidan kesib, kesilgan tomonlari qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. Kesilgan quloqni 3% bor kislotasi shimdirilgan dokaga oʻrab, sellofanga solinadi, ustidan pergament qogʻoz bilan yana oʻrab, germetik yopiq idishga (karobka, metall yashik) solinadi. Qon olish uchun joyi dezinfeksiyalanadi, qon olinib, joyi olovda yoki qizdirilgan shpatelda kuydiriladi. Choʻchqa-lardan – tomoq limfa tugunlari va shishgan biriktiruvchi toʻqima boʻlakchalari olinadi. Agar yorish vaqtida kuydirgi kasalligiga gumon qilinsa, yorishni toʻxtatib, taloqning bir qismi tekshirishga olinadi.

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovski-Gimza usullarida boʻyaladi. Maxsus eritma 180 ml 96⁰ etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiriladi. Qoʻzgʻatuvchi harakatsiz, grammusbat tayoqchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (126, 127-rasm). Tayoqchanning bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan boʻladi. Koʻpincha choʻchqalardan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qoʻzgʻatuvchining shakli oʻzgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yoʻgʻon, egilgan yoki donachali boʻlib, oʻrtasi yoki ikki cheti shishgan boʻladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturan tayyorlangan surtmalarda *B.anthraxis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (133-rasm). Oʻlchamlari 1-1,3 x 3.0-10,0 mkm. Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani taʼkidlanadi.

³⁵ Kislenko V.N., Kolichyov N.M., Suvorina O.S. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. Chast 3. Chastnaya mikrobiologiya. –M.: KolosS, 2007 g. c.41.

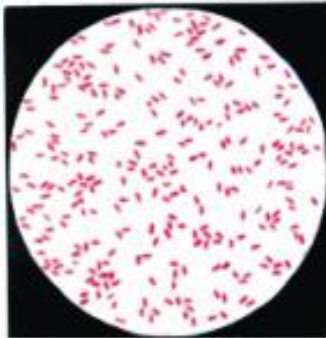
2. **Bakteriologiya.** Patmaterialdan GPB, GPA larga (pH 7,2-7,6) ekib, 37 °C da termostatda 18-24 soat o'stiriladi, mikrobo'smagan bo'lsa, yana ikki sutka termostatda turadi. *B.anthraxis* - aerob. GPA da silliq (131-rasm), sal xira, kulrang, kengish (R, RO, O -shakl) koloniyalar hosil qiladi (128, 129, 130- rasm). Koloniyalarning markazi qorong'ilashgan, chetlari bo'ya-bo'ya, jingalak sochdek bo'ladi. Koloniyalar mikroskopda ko'rganda «meduza kallasi» yoki «sher yoli» shaklida ko'rinadi.

GPB tiniq (shaffof) holda qolib, tubida yumshoq paxtasimon cho'kma hosil bo'ladi (132 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 kislorod yetarli bo'lib, yoniga shoxlanib ko'proq o'sadi. Chuqurlashgani sayin o'sish kamayib, shoxlanish qisqaradi, to'ng'arilgan archa shaklida bo'ladi (132 b-rasm). 3-5 kun o'tib, jelatina eriydi va voronkasimon shakl paydo bo'ladi), qonli agarda gemoliz hosil qilmaydi (135-rasm), organizmda kapsula hosil qiladi, penitsillinga sezuvchan – «Marjon» testi ijobiy (134-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

Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



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



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



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



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



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



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



120-rasm. Shvartsman fenomeni.

Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



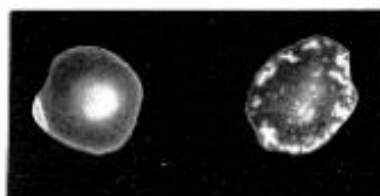
121-rasm. *Salmonella* koloniyalari. A) S-shaklda; b) R-shaklda.



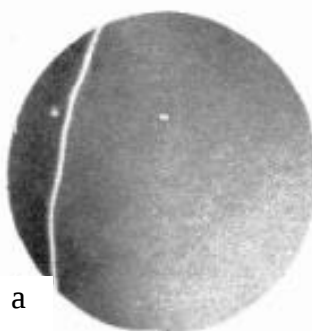
122-rasm. *Salmonella* kulturasini yarim suyuq GPA da o'sishi.



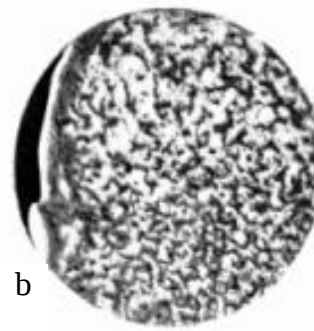
123-rasm. *S. typhimurium* kulturasining «Rangli qatorda» o'sishi.



a b



a

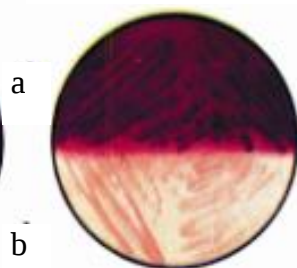


b

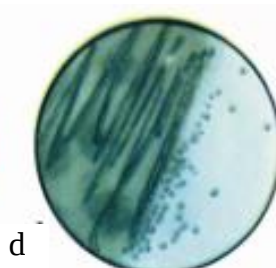
124-rasm. AR-plastinkada: a-manfiy; b-ijobiy.



1



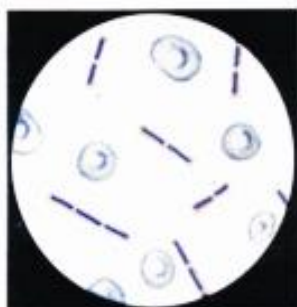
b



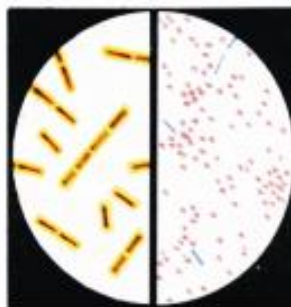
d

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

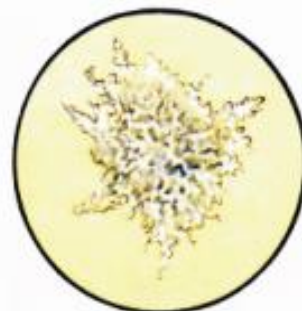
Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi



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



127-rasm. *Bac. anthracis* a-kapsulali mikrob, b-sporalari.



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



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



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



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



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



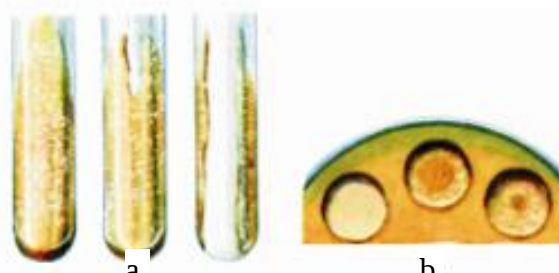
133-rasm. *Bac. anthracis* GPB dan tayyorlangan surtmada.



134-rasm. «Marjon» testi.



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



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

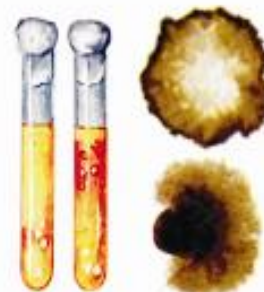
Qorason kasalligini laboratoriya diagnostikasi



137-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi muhitidan tayyorlangan surtmada.



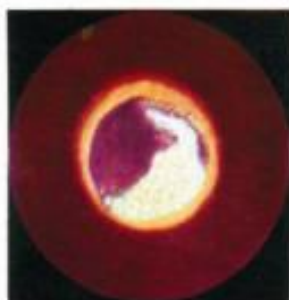
138-rasm. *Cl. Chauvoei* xifchinli tayoqcha. Elektronogramma x20000.



139-rasm. *Cl. Chauvoei* qandli agarda o'sishi va koloniyalari (Grossberg bo'yicha).



140-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi muhitida o'sishi.



a



b



d

141-rasm. *Cl. Chauvoei* qandli qonli agarda: a-silliqli yumaloq koloniya gemolizi bilan; b-uzum bargi shaklida; d-hoshiyali koloniyalar.



a



b

142-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.



143-rasm. Biosinov buzogda. *Cl. Chauvoei* kulturasi mushakka yuborib zararlangan.

soatdan keyin fagolizis paydo bo'ladi, 12-18 soatdan keyin yanada ko'proq namoyon bo'ladi, ya'ni tomchining oqish yo'llarida kultura o'smaydi, uning atrofida kultura odatdagidek o'sib, «bordyr» shaklini beradi (136-rasm).

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

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

Serologik tekshirish (PR)

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

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

Yakuniy diagnoz qo'yiladi

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

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

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

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

Biopreparatlar. STI tirik vaksina - etalon shtammdan tayyorlangan. Agarda o'stirilgan kulturaning sporalaridan (95 – 100%) iborat. Steril 30% li

glitserin eritmasidagi suspenziya ko‘rinishida bo‘lib, 1 ml da $(2,5-3,5)10^7$ tirik sporalar mavjud.

GNKI vaktsinasi – GNKI etalon shtammidan tayyorlangan quruq, tirik vaksina. 1 ml da 5×10^7 tirik sporalari bor. Shtamm 55dan tayyorlangan kuydirgiga qarshi vaksina.

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

Davolovchi - profilaktik zardoblar. Inaktivlangan kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuvchisi kulturasida bilan otlarni giperimmunlab olinadi.

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

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

Lyuminessensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

Kuydirgining diagnostik bakteriofaglari. Bakteriofag bilan zararlangan qo‘zg‘atuvchining bulonli kulturasida filtrati. Bakteriofag titri 10.

Qorason shoxli hayvonlarga oid o‘tkir o‘tuvchi infeksiyon kasallik bo‘lib, tananing mushaklarga boy qismlarida o‘ziga xos tovush krepatatsiya paydo qiluvchi tez kattalashadigan gazli shish hosil bo‘lishi, isitmaning ko‘tarilishi bilan namoyon bo‘ladi. Qoramol 3 oylikdan 4 yoshgacha kasallanadi. Qo‘y, echkilarda kasallik kam uchraydi. Hayvonlar asosan alimantar yo‘l bilan zararlanadi.

Qo‘zg‘atuvchisi – *Clostridium chauvoei*, anaerob.

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo‘lakchalari (steril asboblardan bilan chuqurroq kesib, mushakning o‘rta qismidan $3 \times 3 \times 3$ sm o‘lchamda zararlangan to‘qima bo‘lakchasi kesib olinadi), krepatatsiya qiladigan shishning ekssudati yuboriladi. Jasad yorilgan bo‘lsa jigar, taloqdan bo‘lakchalar, yurakdan qon olinadi. Patmaterial hayvon o‘lgandan keyin 4 soatdan kechiktirmay olinadi.

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram, Peshkov usulida bo'yaladi. Mikroskopda bo'lak-bo'lak yoki ikkitadan joylashgan polimorf (urchuqsimon, sharsimon, noksimon) donachali grammusbat tayoqchalar ko'rinadi. Peshkov usulida bo'yalgan surtmada sporalar ko'k rangda ko'rinadi. U tayoqchanning o'rtasida, chetlarida joylashishi, erkin holda bo'lishi ham mumkin. Kapsula hosil qilmaydi, harakatchan, uzunligi 2-8 mkm, eni 0,5-0,7 mkm, anaerob (137, 138- 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 vaqtda Petri kosachalarida glukoza – qonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo'lsa, undan fiziologik eritmada birga to'rt nisbatda suspenziya tayyorlab, 15-20 daqiqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmalar 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitida 24-48 soat turishi kerak.

Kitt-Tarossi muhitida *Cl.chauvoei* – bulon bo'yicha bir xilda loyqalanish paydo bo'ladi. 36-48 soatda tinib, cho'kma hosil bo'ladi. Gaz kam hosil qiladi (140-rasm).

Seyssler agarida koloniyalar yaltiroq tugma yoki uzum bargi singari chetlari qirqilgandek o'sadi, koloniya atrofida uncha katta bo'lmagan gemoliz zonasi paydo bo'ladi (141-rasm). Glukozali tik agarda yasmiqsimon koloniyalar hosil qiladi (139-rasm).

Sutni ivitadi. Glukoza, saxaroza, laktoza 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 ijobiy bo'lsa, zararlangan hayvonlar 24-96 soat davomida o'ladi. Jasadni yorib, bakteriologik tekshirish kerak. Terisida serozli – nekrozli ajratma, qon quyilishlar bo'ladi. Teri zararlangan mushakdan qiyin ajraladi. Ko'krak, qorin, orqa oyoq

mushaklari qoram-tir qizil rangda bo'ladi. Chot va qo'ltiq osti qisimlarida kamgina gaz pufakchalari yig'iladi (142, 143-rasm).

Quyidagi hollarda qorasonga diagnostika 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 konsentrlangan gidrooksifarmol vaksina ishlatiladi. Immunitet 6 oy davom etadi. 3 oylikdan 4 yoshgacha bo'lgan qoramol, 6 oylikdan katta bo'lgan qo'ylar emlanadi.

Biopreparatlar. Yirik shoxli hayvonlar va qo'ylar qorason kasalligiga qarshi gidrooksialuminli inaktivlangan vaksina. Immunitet 6 oy davom etadi.

Konsentrlangan gidrooksialuminli tirik vaksina. Immunitet 6 oy davom etadi. Ikkala vaksinalarning dozasi 2 ml, mushaklar orasiga yuboriladi.

Qotma – hayvon va odamlarning yuqumli, jarohatli kasalligi bo'lib, mikrobnining toksini ta'sirida kuchli qo'zg'alish, skelet mushaklarining reflektor tortilishi bilan namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisi *Cl. tetani*.

Patologik material – laboratoriyaga tekshirish uchun jarohat sekreti, zararlangan joyning eng chuqur qatlamlaridan olingan to'qima bo'lakchalari yuboriladi. O'lgan hayvonlardan bundan tashqari (5-10 ml) qon, jigar va taloq bo'lakchasi olinadi.

Laboratoriya tekshirishlari ikki yo'nalishda olib boriladi: toksinni ajratish, qo'zg'atuvchi kulturasi ajratib, uning zaharliligini aniqlash.

1. Mikroskopiya. *Cl. tetani*– ingichka, 4-0,6 mkm o'lchamli, bir uchida yumaloq sporasi bor (baraban tayoqchasi shaklida) tayoqcha. Grammusbat, harakatchan (144, 148-rasm).

Toksinni ajratish.

Patmaterialdan birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanib, ikkiga bo'linadi. Biri qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

Ikkinchisi toksinni ekstraksiya qilish uchun uy haroratida bir soat qoldiriladi, keyin filtrlanadi.

2. Filtrat bilan 16-18 g vazndagi 2-3 ta oq sichqonga 0,5-1 ml dozada yoki ikkita 300-350 g vazndagi dengiz cho'chqasiga 3-5 ml dozada orqa oyog'i terisi ostiga yuborib zararlantiriladi. Patmaterialda qotmaning toksini bo'lsa 48-96 soatdan keyin biosinovdagi hayvonlarda mushaklarning tetanik qisqarishi bilan xarakterlanadigan kasallik belgilari rivojlanadi. Hayvonlar xarakterli holatda – oyoqlari cho'zilgan, umurtqa pog'onasi material yuborilgan tomoniga qiyshaygan holda o'ladi (147-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. Kulturaning o'ziga xos kuydirilgan shox hidi keladi (145-rasm).

Kultura termostatda yana o'stiriladi, 4-5 chi sutkada, unda toksinning bor yoki yo'qligi tekshiriladi. Buning uchun kultura – oq sichqon yoki dengiz cho'chqalariga yuboriladi.

Qonli agarda *Cl. tetani* – markazi ozgina ko'tarilgan, o'smalari bor, nozik koloniyalar, ba'zan mayda yumaloq koloniyalar hosil qiladi. Gemoliz zonasi bilan o'ralgan alohida koloniyalar ham uchray turadi (146-rasm).

Qotmani bakteriologik tekshirish muddati 15 kun.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

tekshirilayotgan patologik materialda qotma toksini aniqlansa (kulturasida ajratilmasa ham);

patologik materialdan toksin hosil qiluvchi qotma qo'zg'atuvchisi kulturasiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa.

Biopreparat. Aktiv immunizatsiya uchun konsentrlangan, bir foiz achchiq toshli anatoksin ishlatiladi. Immunitet 30 kundan keyin hosil bo'lib, bir yildan ko'p saqlanadi, otlarda esa besh yilgacha. Profilaktika, davolash maqsadida qotmaga qarshi zardob ishlatiladi.

Botulizm – barcha hayvonlarga oid toksikoinfeksion kasallik. Botulinum zaharini saqlovchi oziqlarni yeyish natijasida paydo bo'lib, markaziy asab tizimining og'ir zararlanishi, hiqildoq, til va pastki jag'ning falajlanishi bilan xarakterlanadi. Botulizm bilan odam ham kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi – spora hosil qiluvchi anaerob – *Cl. botulinum* ning A, B, C, D, E, F tiplaridir. Bu tiplar faqatgina immunologik jihatdan o'zaro farq qiladi: har biri o'zining o'xshash zardoblari bilan neytrallanadi.

Patologik material – laboratoriyaga tekshirish uchun gumon qilingan oziqalardan namunalar (silos, don, kombikorm, go'sht va baliq chiqindilari), shuningdek, o'lgan hayvonlarning oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni yuboriladi.

Patmaterial hayvon o'lganidan keyin ikki soatdan kechiktirmasdan olinadi.

Patmaterialdan birga bir yoki birga ikki nisbatda fiziologik eritma bilan suspenziya tayyorlanadi. Ekstraksiya bo'lish uchun ikki soat uy haroratida turadi. Bir qismi – toksinni ajratish uchun, ikkinchisi – qo'zg'atuvchini ajratish uchun ishlatiladi.

1.Mikroskopiya. *Cl. botulinum* – uchlari aylanasimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayoqcha. Sporalari oval shaklida bo'lib hujayra uchlariga yaqin joylashgani uchun **tennis raketkasi** shaklida bo'ladi. Grammusbat, harakatchan. O'lchami 4-6 mkm (149, 150-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 (153- 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.

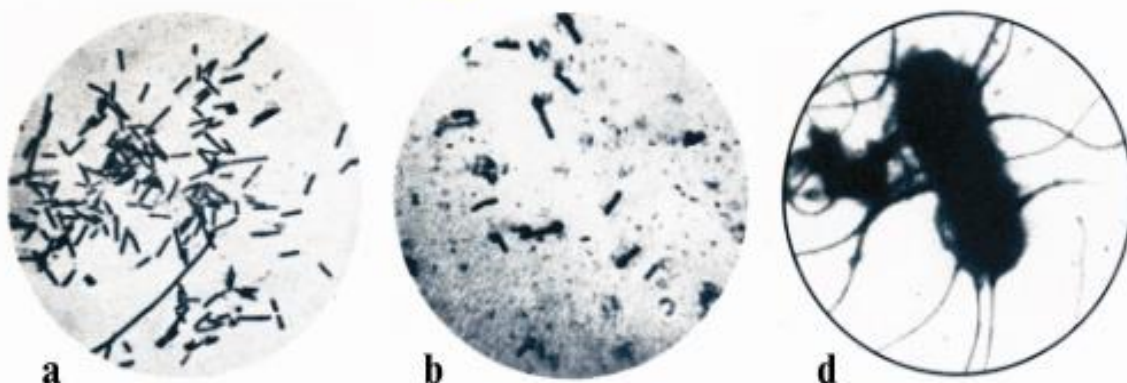
2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, Xottinger buloni, qonli Seyssler agariga ekiladi. Ekmalar 30-35 °C da termostatga qo'yiladi. Petri kosachalaridagi ekmalarni anaerostatga joylashtirib, anaerob sharoit yaratish kerak. Qo'zg'atuvchi ikki-to'rt sutka o'sadi.

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 (151-rasm).

Seyssler agarida – *Cl. botulinum* koloniyalari yumaloq, ildizsimon o'smalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasi bo'ladi (152-rasm).

Biopreparat. Odatda, norkalar botulizmga qarshi farmol kvassli anatoksin vaksina bilan emlanadi. Immunitet bir yilgacha saqlanadi. Davolash uchun botulizmga qarshi antitoksik zardob taklif etilgan. Neytralizatsiya reaksiyasi uchun maxsus butulizm tiplari zardobi ishlab chiqilgan.

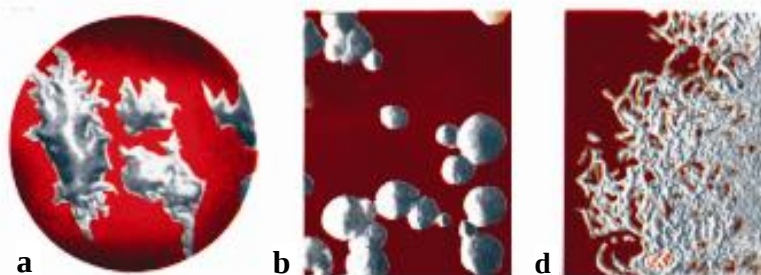
Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi



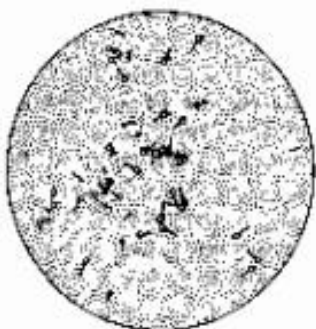
144-rasm. *Cl. tetani*: a-kulturadan; b-bulyondan tayyorlangan surtmada; d-xifchinli tayoqcha.



145-rasm. *Cl. tetani* kulturasi:
a-Kitt-Tarossi muhitida; b-
chuqur ekilgan qandli agarda;
d-miyali muhitda (qoraygan).



146-rasm. *Cl. tetani* qandli-qonli agarda:
a-yumaloq koloniya-S shakl; b-R-shakl;
d-harir ro‘molsimon koloniya-R-shakl.

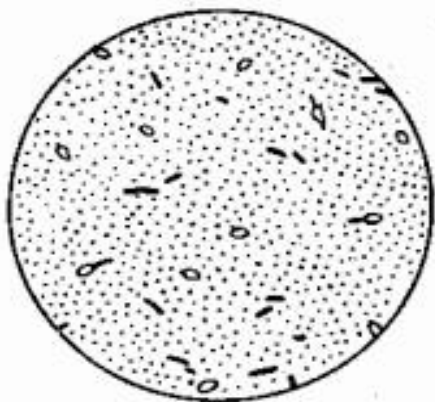


148-rasm. *Cl. tetani* kulturada.
Sporali tayoqchalar.

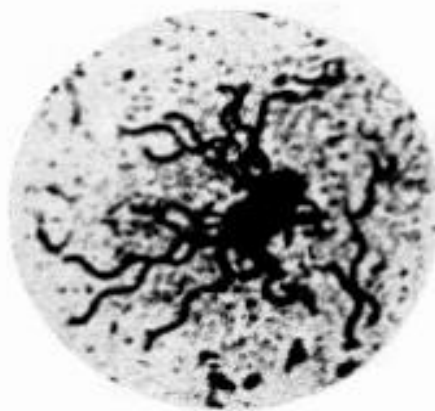


147-rasm. dengiz cho‘chqasida
qotmaning klinik ko‘rinishi.

Botulizmni laboratoriya diagnostikasi



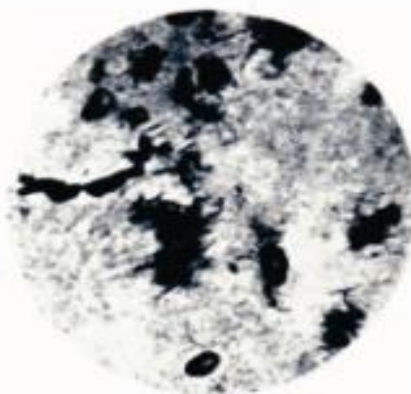
149-rasm. *Cl. botulinum*
kulturadan tayyorlangan
surtmada.



150-rasm. *Cl. botulinum*
tayoqcha xivchinlari bilan.



151-rasm. *Cl. botulinum*
chapda-jigarli bulyonda,
o'ngda-qandli agarda o'sishi.



152-rasm. *Cl. botulinum*
koloniyalari qonli agarda.



153-rasm. *Cl. botulinum* bilan
zararlangan dengiz cho'chqasi.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

- tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturasi ajratilmasa ham);
- patologik materialdan botulizm qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharliligi aniqlansa.

Nazorat savollari:

1. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
2. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
3. Qorasonga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalari.
4. Kuydirgi va qorason kasalliklari qo'zg'atuvchilarining farqini ayting.
5. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
6. Qotma kasalligida toksinni ajratish usulini ayting.
7. Botulizm qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting.
8. Botulizm kasalligida toksinni ajratish usulini ayting.

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 ishlatiladi

- 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

6. 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

7. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan

- a) Cl. septicum
- b) Cl. chauvoei
- c) Cl. oedematiens
- d) Cl. perfringens

8. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi spora hosil qiladi

- a) oziq muhitda

- b) tashqi muhitda
- c) organizmda, tashqi muhitda
- d) tuproqda

9. 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

10. 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

11. Laboratoriyada qorason kasalligiga qaysi usullarda tekshiriladi

- a) mikroskopiya, serologik, bakteriologiya
- b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov
- c) serologik, mikroskopiya, patanatomik
- d) biologik, patanatomik, klinik

12. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi

- a) Cl. oedematiens
- b) Cl. chauvoei
- c) Cl. septicum
- d) Cl. tetani

13. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi:

- a) bir uchida yumaloq sporasi bor, baroban tayoqchasi shaklida
- b) sporasi markazida joylashgan, urchuqsimon shaklda
- c) sporasi bir uchiga yaqin joylashgan, noksimon shaklda
- d) sporasi oval, limonsimon shaklda

14. 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

15. Laboratoriya tekshiruvlari nechta yo'nalishda olib boriladi

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

16. 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

17. 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

18. Botulizm qo'zg'atuvchisining tiplari qaysi jihatdan o'zaro farq qiladi

- a) bakteriologik
- b) immunologik
- c) fermentativ
- d) morfologik

19. Botulizmda laboratoriyaga 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

20. 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

21. 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

19 - m a v z u. Yem-xashak mikrobiologiyasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: silos namunalarining mikroflorasini aniqlash, surtmalar tayyorlab mikroskopda ko'rish. Silosni mikrobiologik tekshirish, sifatini aniqlash. Laboratoriya sharoitida achitilgan oziqalardan namuna olib, «Ezilgan tomchi» usulida preparat tayyorlash.

O'rilgan o'tlarni quritish, pichan, senaj tayyorlash va siloslash yo'li bilan saqlash mumkin (154-rasm). Siloslash asosan haroratga, namlik va o'simliklar turiga bog'liq. O'sib turgan o'simliklar tanasida ularga ziyon yetkazmaydigan epifit mikroorganizmlar ko'p, chunki o'simlik hujayralari shu mikroorganizmlarga qarshilik qilish qobiliyatiga ega. Siloslangan



154-rasm. Silos tayyorlash uchun xom ashyo

paytida esa o'simliklarning mikroorganizmlarga qarshi himoyasi susayadi va yo'qoladi. Natijada ayniqsa chirituvchi mikroorganizmlar rivojlanadi. Noto'g'ri siloslangan oziqlarda mog'or zamburug'lari, chirituvchi, moy kislotali bakteriyalar va hakovalar uchraydi. Buzilgan silosni yegan hayvonlarda zaharlanish alomatlari paydo bo'ladi. Uning oldini olish uchun silos laboratoriyada tekshiriladi. Siloslangan oziqada shakar, sut kislota sirka kislotasiga nisbatan 2-3baravar ko'p boladi.

Silosdagi mikroflorani aniqlash. Namuna olish. Silosdagi mikroorganizmlar soni va sifatini aniqlash uchun uch marta namuna olinadi: 1) silosni tayyorlash paytida epifit mikroorganizmlarni aniqlash uchun; 2) silos tayyorlangandan so'ng 10 -15 kun o'tgach yetilgan silosning mikroflorasini aniqlash uchun; 3) silosni ochgandan keyin. Silosning umumiy massasida mikrobiologik jarayonlar bir xilda kechmaydi. Shuning uchun minora ustidan va pastidan 1 m uzoqlikda №1, №2, va ular oralig'idan №3namunalar olinadi. Transheyadan uzunligiga qarab 2-3 ta namuna ustidan 1 m chuqurlikda olinadi.

Silosni mikroskopik tekshirish

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

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

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

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

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

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

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

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

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

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

Ekmalar 30-35⁰C haroratda termostatda 3 sutka o'stiriladi. 4 chi sutkada ularda mikroorganizmlarining fiziologik guruhlari aniqlanadi.

Silosning sifatini baholash.

Organoleptik baholash. Rangi silos tayyorlangan o'simlik rangiga yaqin bo'lishi kerak. Sifatli silos rangi - sariq, sarg'imir – yashil, qo'ngir-yashil, ochiq-qo'ng'ir bo'ladi. Sifatsiz silosning rangi qo'ng'ir, to'q qo'ng'ir bo'ladi.

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

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

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

Silosning pH-ni aniqlash

Silos pH-ni aniqlash uchun sifatli va sifatsiz silosdan alohida suvli so'rimlari tayyorlanadi. 100 g mayday qirqilgan silosni 1litrlidishga

Jadval 4

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

Silos suvli so'rimini indikator qo'shgandan keyingi rangi	pH ko'rsatkichi	Ball
<i>Silos pHi</i>		
Qizil	4,2 va past	5
Qizil- to'q sariq	4,2 – 4,6	4
To'q sariq	4,6 – 5,1	3
Sariq	5,1 – 6,1	2
Sarg'imtir-yashil	6,1-6,4	1
Yashil	6,4 – 7,2	0
Yashik-ko'k	7,2 – 7,6	0
<i>Hidi</i>		
Xushbo'y, meva, bir oz achigan non hidli		4
Kuchsiz xushbo'y, sirka kislotali, bodring hidli		2
O'tkir sirka kislotali, yog' kislota – hidli		2-1
Chirigan, sassiq, go'ng, o'tkir yog' kislota hidli		0
<i>Rangi</i>		
Yashil		3
Qo'ng'ir yoki sariq-yashil		2
Qora-yashil		1
Qora		0

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

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

solib $\frac{3}{4}$ hajmgacha distillangan suv quyiladi. Yaxshi aralashtirib 1 litrga yetgunicha suv qo'shiladi. 4-5 soat davomida vaqt vaqtida aralashtirib turiladi. Filtrlanadi. Farfor havonchaga 1 ml silosning suvli so'rimini solib, unga 1 tomchi universal indikator tomiziladi va aralashtiriladi. Aralashmaning rangi o'zgaradi. Standart indikator qog'oz rangi bilan taqqoslab pH aniqlanadi.

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

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

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

Silosda mikrobiologik jarayonlarning rivojlanishi.

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

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

Uchinchi faza. Sut kislotali tayoqchalar miqdori ortib, sut kislotaning yuqori konsentrasiyasiga chidamsiz bo'lgani uchun kokksimon bakteriyalar kamayib ketadi. Bu fazada pH 4,0-4,2 ga yetadi, sut kislota miqdori 1,5-2% oziqaga nisbatan.

Achitish - oziqani oziqlantirish uchun tayyorlashning mikrobiologik usuli. Achitqilar oziqani oqsil, vitamin, fermentlar bilan boyitadi. Yovvoyi va madaniy achitqilar mavjud. Achitqilarning madaniy turlari tez va kuchli rivojlanib ko'payishi, hamda sun'iy oziq muhitlarda o'sishi bilan farq qiladi. Madaniy achitqilarga pivo, non, vino, oziqa achitqilari kiradi. Ular bir biridan achitish aktivligi, spirt hosil qilishi, kraxmalni qandga aylantirish qobiliyati bilan farq qiladi. Oziqani achitish uchun shu achitqilarning xoxlagan birortasini ishlatish mumkin, lekin eng yaxshisi non achitqisidir.

Achitqilarning to'yimlilik qiymati yuqori bo'ladi. Ular tarkibida: 48-52 % oksil, 13-16 % uglevod, 2-3 % yog, 22-40 % biologik aktiv moddalar, 6-10 % kul bor. Achitqilar tarkibiga ko'pgina hayot uchun zarur bo'lgan aminokislotalar-arginin, gistidin, lizin, leysin, tirozin, treonin, fenilalanin, metionin, valin, triptofan kiradi. Qishloq xo'jalik hayvonlarining o'sishi uchun zarur bo'lgan lizin oziqa achitqilari tarkibida ko'pligi bilan asosiy o'simlik oziqalaridan ustun turadi va hayvonlardan olinadigan oziqaga yaqin bo'ladi. Achitqilar kuli tarkibida fosfor, kaliy, kalsiy, natriy, magniy, mis, sink, marganes, kobaltlar bor. Achitqilarda «B»guruhi vitaminlari ko'p (tiamin, riboflavin, pantoten kislota, xolin, piridoksin, biotin, inozit, foliy kislota), vitamin «D₂»ning provitamini(ergosterin), shuningdek «E», «C» va boshqa vitaminlar bor.

Achitqilarning rivojlanishi uchun oziqa moddalar, havo kislorodi, optimal harorat kerak. Achitqilar oziq moddalarni achitiladigan massadan, kislorodni havodan, haroratni 25-30 ° C darajada isitish yo'li bilan oladi. Achitish jarayoni 9-12 soat davom etadi.

Oziqalarni tanlash va tayyorlash. Achitqilar o'simliklardan olingan har xil oziqalarda rivojlanadi. Ayniqsa uglevodlarga boy va proteini kam oziqalar-kartoshka, lavlagi, oshqovoq, don va un ishlab chiqarish chiqindilari, pichanlarni ishlatgan yaxshi. Oziqa aralashmalarida yetarli darajada uglevodlar, azotli moddalar va fosfor bo'lishi lozim. Hayvonlardan olinadigan oziqalarni (go'sht, qon, go'sht-suyak uni), oshxona chiqindilarini achitish kerak emas. Bunday

muhitlarda chirituvchi mikroorganizmlar tez ko'payadi. Kombikorm, jmix, dukkaklilarni toza o'zini achitish kerak emas.

Achitishdan oldin oziqalarni yaxshilab tayyorlash kerak. Pichan maydalanadi, don chiqindilari tugiladi, kartoshka, lavlagi yuvilib maydalanadi.

Tarkibida eruvchi qand yetarli miqdorda bo'lgan oziqalarni achitish ko'proq samaralidir. Ko'pgina konsentrlangan oziqalarda (suli, arpa, makka, kombikorm) suvda eruvchi qand miqdori 2 % dan oshmaydi. Uni ko'paytirish uchun oziqani solodlash ya'ni solod (undirib yanchilgan bug'doy, arpa) qo'shish yo'li bilan yem - xashak sifatini yaxshilash. Bunda fermentlar faoliyati aktivlashib, bir qism kraxmalni qandga aylantiradi. Uning miqdori 8-12 % ga yetadi. Oziqani solodlash 55-60°C haroratda issiq xonada 3-4 soat davomida olib boriladi.

Oziqani achitishning 3 xil usuli bor: ko'pchitib, ko'pchitmay va ivitib achitish.

Ko'pchitish usulida avval xamirturush ko'pchitilib tayyorlanadi, keyin oziqa achitiladi. Ko'pchigan xamirturushni tayyorlash uchun, presslangan achitqi suyultirilib oziqa bilan aralashtiriladi (1 % achitqi va oziqaning 5 chi qismi) va 6 soat davomida har 20-30 daqiqada aralashtirib turiladi. Keyin oziqaning qolgan qismi 2 barobar suv qo'shib yana qayta aralashtiriladi va yana 3 soat turadi. Shu vaqt davomida vaqti vaqti bilan aralashtirilib tursa, achish jarayoni kechadi.

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

Hamirturush (achitqi) kam bo'lgan xollarda **ivitib achitish usuli** qo'llaniladi. Avval ivitqi tayyorlanadi, oziqa solodlanadi va u achitiladi. Ivitqi tayyorlashni bir necha usullari bor, hammasi bir narsaga asoslanadi-0,5 kg zichlangan xamirturush, kamroq miqdordagi yaxshi achiydigan uglevodli oziqalarda (kepak, sul, arpa) 30-35°C dan past bo'lmagan haroratda 5-6 soat

davomida saqlanadi. Solodlangan oziqaga shuncha miqdorda suv va ivitqini yarmi qo'shiladi. Yaxshilab aralashtirib, yopiladi va 6 soatga iliq joyga qo'yiladi.

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

Laboratoriya sharoitida achitilgan oziqalardan achitishning boshida va oxirida namuna olib «Ezilgan tomchi» usulida preparat tayyorlanadi. Preparat tayyorlash uchun ilmoq bilan buyum oynasiga bir tomchi namuna olinadi. Yopqich oyna bilan yopib mikroskopning immersiya sistemasida, x90 obyektivda ko'riladi. Achitqi hujayralarini x40 obyektivda ham ko'rish mumkin.

Zamburug'larni mikroskopda ko'rib, sanash usuli bilan tekshiriladi. Achitishning boshida va oxirida achitqi hujayralarining soni e'tiborga olinadi.

Nazorat savollari:

1. Silosdagi mikroflorani aniqlash uchun namuna olish qoidasini ayting.
2. Silosni mikrobiologik tekshirish usulini ayting.
3. Silosning sifati organoleptik usulda qanday baholanadi.
4. Silosning pHni aniqlash usullarini ayting.

Silosda mikrobiologik jarayonlarning rivojlanish fazalariga tushuncha bering.

5. Achitqi zamburug'lari bilan oziqani achitishning mohiyatini tushuntiring.
6. Oziqalarni achitishda qanday achitqi zamburug'lari ishlatiladi.
7. Achitqilarning rivojlanishi uchun qanday sharoitlar kerak
8. Oziqani achitishning qanday usullari bor.
9. Achitqilarning o'sishi va ko'payishi qanday nazorat qilinadi.

Test savollari:

1.Siloslash asosan nimalarga bog'liq?

- a) harorat, namlik va o'simliklar turiga
- b) osimlikni quritish darajasi, muhitiga
- c) namlik, mikroblar bilan ifloslash darajasiga
- d) mikroblar bilan ifloslash darajasiga va turiga

2. Qanday mikroorganizmlar epifit mikrofloraga kiradi?

- a) Osimliklarning faqat bargi da ko'payadi ganlari
- b) Osimliklarning yer usti qismida ko'payadiganlari
- c) Osimliklarning yer osti qismi da ko'payadi ganlari
- d) Osimliklarning faqat baban dida ko'paya diganlari

3. Epifitlar sog'lom o'simlik hujayrasiga kirib, uni zararlaydimi?

- a) Zararlaydi
- b) Turini tanlab zararlaydi
- c) Zararlamaydi
- d) Faqat bargini zararlaydi

4. Silosda mikroorganizmlarning maksimal miqdori qachon paydo bo'ladi?

- a) 3 kuni
- b) 20 kuni
- c) 10 kuni
- d) 7 kuni

5.Silosdagi mikroorganizmlar soni va sifatini aniqlash uchun necha marta hamuna olinadi?

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

6.Mikroskopik tekshirishda natija qanday bo'lganda silos sifatli hisoblanadi?

- a) bir-ikkita zamburug', kokklar ko'rinsa
- b) bir-ikkita tayoqcha, kokklar ko'rinsa
- c) bir-ikkita tayoqcha, achitqi ko'rinsa

d) bir-ikkita spora, zamburug'lar ko'rinsa

7. Siloslash jarayoni nechta fazada o'tadi?

a) 4

b) 2

c) 3

d) 1

8. Silosning pH –ni aniqlash natijasi qanday bo'lsa silos sifatsiz hisoblanadi?

a) 3 ball va undan past baholansa

b) 4 ball va undan past baholansa

c) 5 ball va undan past baholansa

d) 6 ball va undan past baholansa

9. Achitqilar oziqani nima bilan boyitadi?

a) Oqsil, vitamin, ferment

b) Vitamin, makro-, mikro elementlar

c) Ferment, gormon, aminokislotalar

d) Toksin, oqsil, fermentlar

10. Achitqilar tarkibida oqsil necha foizni tashkil etadi?

a) 18-22%

b) 48-52%

c) 20-25%

d) 3-5%

11. Oziqani achitishni necha xil usuli bor?

a) 4

b) 5

c) 3

d) 2

12. Oziqani achitishni qanday usullari bor?

a) Ivitib, sovutib, ko'pchitib

b) Ivitmay, ko'pchitib, quritib

c) Ko'pchitmay, quruq, issiq

d) Ko'pchitib, ko'pchitmay, ivitib

13. Ko'pchigan xmirturushni tayyorlash uchun-?

- a) 1 % achitqi va oziqaning 5 chi qismi aralashtiriladi
- b) 2 % achitqi va oziqaning 6 chi qismi aralashtiriladi
- c) 3 % achitqi va oziqaning 7chi qismi aralashtiriladi
- d) 4 % achitqi va oziqaning 8chi qismi aralashtiriladi

14. Ko'pchitmay achitish usulida oziqaning hammasini birdan achitish uchun-

- a) 1 % zichlangan hamirturush iliq suvda suyultiriladi, oziqa va ikki miqdor suv bilan aralashtiriladi.
- b) 3 % zichlangan hamirturush iliq suvda suyultiriladi, oziqa va uch miqdor suv bilan aralashtiriladi.
- c) 5 % zichlangan hamirturush iliq suvda suyultiriladi, oziqa va to'rt miqdor suv bilan aralashtiriladi.
- d) 7 % zichlangan hamirturush iliq suvda suyultiriladi, oziqa va ikki miqdor suv bilan aralashtiriladi.

15. Ivitib achitish usulida avval-

- a) ivitqi tayyorlanadi, oziqa solodlanadi va u achitiladi
- b) oziqa solodlanadi va u achitiladi, ivitqi tayyorlanadi
- c) oziqa achitiladi va solodlanadi, ivitqi tayyorlanadi
- d) ivitqi tayyorlanadi, oziqa solodlanadi va u achitiladi

16. Oziqani achitish uchun eng yaxshisi achitqi qaysi?

- a) pivo achitqisi
- b) non achitqisi
- c) vino achitqisi
- d) oziqa achitqisi

20 - m a v z u. Sut va sut mahsulotlarini mikrobiologik tekshirish

Mashg'ulotning maqsadi: Suldagi mikroorganizmlar sonini hisoblash, kolititrini aniqlash, reduktaza namunasini qo'yish. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish.

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Suldagi mikroorganizmlar miqdori va guruhini ekish yo'li bilan aniqlash. Namuna olish. Sutni yaxshilab aralashtirgandan keim steril kolbaga 500 ml sut olinadi. Namuna sovuq joyda +6°C haroratda saqlanadi. Namuna olgan zahoti yoki 4 soatdan kechiktirmay oziqa muhitlarga ekiladi.

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

Suyultirma tayyorlash uchun 9 ml dan steril suvi bor 7 ta probirka raqamlanadi. birinchisiga steril pipetka bilan 1 ml sut namunasini quyib aralashtiriladi 1:10 nisbat hosil bo'ladi. Shu tarzda 1:1 000 000 gacha ketma-ket suyultirmalar tayyorlanadi.



155-rasm. Sut va sut mahsulotlarini laboratoriyada tekshirish

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

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

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

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

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

Ekmalar Petri kosachasidagi GPA termostatda 37⁰C, Suslo agar 25-28⁰C haroratda 2- 3 sutka o’stiriladi. Sut va laktozali probirkadagi ekmalar termostatda 30-40⁰C haroratda o’stiriladi.

Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash uchun reduktaza namunasini qo’yish.

1. *Metilen ko’ki bilan sinash.* Reduktaza bu mikroorganizmlar ajratadigan ferment bo’lib, metilen ko’kini rangsizlantirish xususiyatiga ega. Tekshirilayotgan sutda mikroorganizmlar qancha ko’p bo’lsa, ferment miqdori shuncha ortadi.

Sutning mikroblar bilan oz yoki kop ifloslanganligini aniqlash aynan shunga asoslangan.

Metilen ko'kning ishchi eritmasini tayyorlash. Avval bo'yoqning to'yingan spirtli eritmasi tayyorlanadi: 10 g metilen ko'ki 100 ml 96⁰ etil spirti bilan aralashtiriladi. Eritma 1 sutka termostatda 37⁰ Cda saqlanadi, filtrlanadi. Ushbu to'yingan eritmaning 5 ml ga 195 ml distillangan suv aralashtirib metilen ko'kning ishchi eritmasi tayyorlanadi.

Jadval 5

Sutning rangsizlanishi va bo'yalishi bo'yicha sifatini baholash

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

Reaksiyani qo'yish. Bakteriologik probirkaga 1 ml metilen kokining ishchi eritmasi va 20ml sut namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashtirib 38-40⁰C li suv hammomiga qo'yiladi. Sutning rangsizlanishi 20 daqiqa, 2soat va 5,5 soatdan keyin hisobga olinadi. Rangsizlanish vaqtiga bog'liq ravishda sut 4 sinfga bo'linadi (jadval 5).

Metilen ko'ki bilan sutni tekshirishni tezlashtirilgan usuli. Steril probirkalarga 1 ml metilen kokining ishchi eritmasi va 10ml sut namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashtirib 38-40⁰C li suv hammomiga qo'yiladi. Sutning rangsizlanishi 5,10,15 daqiqadan keyin hisobga olinadi. Bu vaqtda sutning rangsizlanishi, uning 1 ml da 10 millionlab mikroorganizmlar borligini ko'rsatadi.

Mikroblarni bevosita mikroskopda sanash.

Drayer – Korolev usuli. Bu usul standart suspenziyadagi hujayralar bilan tekshirilayotgan sutdagi mikroblar sonini taqqoslashga asoslangan. Standart bu

biror mikrobning (masalan, achitqi) fiksasiya qilingan, o'ldirilgan aralashmasi bo'lib, uning 1 ml da 10 mln hujayra bor. Yaxshilab silkitib 1 ml dan standart va sut namunasini olib aralashtiriladi. Yog'sizlantirilgan buyum oynachasiga bir tomchi aralashma yoyib surtiladi. Qotirib, bo'yagandan keyin mikroskopning 10 – 20 ta ko'rish maydonida standart hujayra va boshqa mikroflora alohida sanaladi. Keyin mikrob hujayrasining o'rtacha soni standart mikrobning o'rtacha soniga taqqoslab aniqlanadi.

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

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

Sutda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash.

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

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

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

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

Sutning koli-titrini aniqlash.

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

Sut yoki sut mahsulotlari avval 1:10, 1:100 va h.k. nisbatlarda suyultiriladi. Keyin Kessler muhiti bor oltita probirkadan uchtaga 1 mldan, qolganlariga – 0,1

ml har bir suyultirmadan solib ekiladi. Ekmalar 43°C haroratda termostatga ikki sutka qo'yiladi. Oltita probirkaning hammasida gaz hosil bo'lmasa mahsulotning tozaligidan dalolat beradi, va uning koli-titri 3 mldan yuqori hisoblanadi; 1 ml ekilgan probirkaning bittasida gaz hosil bo'lsa, koli-titr 3 mlga teng; ,irdan optiq 0,1 ml ekilgan probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 ml; olti yoki beshta probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 mldan kam hisoblanadi. Bunday sut iste'molga yaroqsiz bo'ladi.

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

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

Jadval 6

Sigir sutining mikrobiologik tasnifi

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

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

Nazorat savollari:

1. Sutdagi mikroorganizmlar miqdori va guruhini aniqlash usulini ayting.

2. Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini reduktaza namunasida aniqlash.
3. Sutda mikroblarning umumiy miqdori qanday aniqlanadi.
4. Mikroblarni bevosita mikroskopda sanash usulini ayting.
5. Sutning koli-titrini aniqlash usulini ayting.
6. Sutga ta'rif bering
7. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish.
8. Sigir sutining mikrobiologik tasnifiga tushuncha bering.

Test savollari:

1. Sut bu nima?

- a) Ichki sekresiya bezi mahsuloti
- b) Sut emizuvchilar sut bezining sekreti
- c) Diyetik to'yimli ichimlik
- d) Alveolalar oqimida to'planadigan suyuqlik

2. Olingan sut namunasi necha vaqtda oziq muhitga ekiladi?

- a) olgan zahoti, 5 soatdan kechiktirmay
- b) olgan zahoti, 6 soatdan kechiktirmay
- c) olgan zahoti, 4 soatdan kechiktirmay
- d) olgan zahoti, 7 soatdan kechiktirmay

3. Sutni suyultirish uchun qancha nisbatgacha ketma-ket suyultiriladi?

- a) 100 000
- b) 10 000
- c) 1000
- d) 1 000 000

4. Reduktaza namunasini qo'yishda qaysi bo'yoq ishlatiladi?

- a) metilen ko'ki
- b) asosli fuksin
- c) gentsianviolet
- d) brilliant yashili

5. Reduktaza namunasini qo'yishda sutning rangsizlanishi necha daqiqadan keyin hisobga olinadi?

- a) 20,30,35
- b) 5,10,15
- c) 3,7,10
- d) 20,25,30

6. Sutdagi mikroblarni mikroskopda sanash qaysi usulda bajariladi?

- a) Krotov
- b) Alikayev
- c) Drayer-Korolyov
- d) Kox

7. Keyssler muhitida sut kislotali va boshqa grammusbat mikroblarni o'sishdan to'xtatuvchi qanday mikroblar bor?

- a) safranin va streptomisin
- b) brilliant yashili va gliserin
- c) asosli fuksin va andrade
- d) o't suyuqligi va gentsianviolet bo'yog'i

8. Tarkibidagi mikroblar miqdori va ichak tayoqchasi titri bo'yicha pasterizasiyalangan sut necha guruhga bo'linadi?

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

9. Butilka va paketlarda pasterizasiyalangan A guruhiga kiradigan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasining titri qancha bo'ladi?

- a) 50 000, 4
- b) 75 000, 3
- c) 25 000, 2
- d) 15 000, 1

10. Butilka va paketlarda pasterizasiyalangan B guruhiga kiradigan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasining titri qancha bo'ladi?

- a) 50 000, 2
- b) 75 000, 3
- c) 150 000, 0,3
- d) 25 000, 0,3

11. Flyaga va sisternalarda pasterizasiyalangan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasining titri qancha bo'ladi?

- a) 50 000, 2
- b) 75 000, 3
- c) 25 000, 0,3
- d) 300 000, 0,3

12. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish uchun namuna qaysi oziq muhitga ekiladi?

- a) steril sutga
- b) qon zardobiga
- c) GPB, GPA larga
- d) Endo, Levin muhitlariga

21 - m a v z u. Go'sht, tu[umni mikrobiologik tekshirish

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

Material va jihozlar: Sifati yaxshi (№1) va buzilgan (№2) go'sht namunalari, qaychi, pinset, scalpel, gentsianviolet, lyugol, etil spirti 96⁰, sil fuksini, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, Nessler reaktivi, benzidinning 0,2 % eritmasi, spirt lampasi, yangi va eskirgan tuxum namunalari,

ovoskop, stakanda suv, GPB, GPA, Saburo oziq muhitlari, mavzuga oid plakatlar. mavzuga oid plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Sog'lom hayvonlardan olingan go'shtda odatda, mikroorganizmlar bo'lmaydi. Ammo qulay sharoitlarda go'sht mikroorganizmlar bilan endogen va ekzogen zararlanishi mumkin. Go'sht mikroorganizmlarning yashashi va rivojlanishi uchun yaxshi oziq muhit hisoblanib mikroorganizmlar go'shtning sifatini buzadi.

Go'shtni mikroorganizmlar ta'sirida buzilishi. Go'shtni chirishi uning yetilishidan keyin boshlanadi. Bunda anaerob va aerob mikroorganizmlar ishtirok etib, oqsil moddasini zaharli moddalarga (NH_3 va N) parchalaydi. Go'shtda mikroorganizmlar tasirida buzilishlar ro'y berganda, uning rangi, xidi ta'mi va konsistensiyasi o'zgaradi (156-rasm).

Go'shtning pigmentasiyasi. Pigment (rang) hosil qiluvchi bakteriyalar go'shtning ustki qatlamida rivojlanadi. Ular sariq, ko'k, qizil, ranglar hosil qiladi. Ular zaharli moddalar ishlab chiqarmaydi.

Go'sht mahsulotlaridan zaharlanish 2 guruhga bo'linadi. Toksikoinfeksiya va toksikozlar. Toksikoinfeksiyalarni salmonella guruhidagi bakteriyalar, shartli

patogen mikrofloralar va kokklar keltirib chiqaradi. Toksikozlarni esa faqat mikroorganizmlar ajratib chiqargan zaharlari qo'zg'atadi.



156-rasm. Mikroorganizmlar paydo qiladigan go'shtning kamchiliklari.

Mikroskopiya. Kamida 3 ta 1 – 1,5 sm li yuza qavatdan va 3 – 3,5 sm li ichkari qavatdan surtma olish lozim. №1, №2 go'sht namunalarining: 1) yuza qismidan tamg'ali surtmalar tayyorlanadi. Buning uchun steril qaychi bilan bir bo'lak go'shtni kesib, shu tomoni tayyor steril buyum oynasiga yengilgina bosib olinadi. 2) go'shtning ichki chuqur qatlamidan surtma tayyorlanadi. Avval qizdirilgan shpatel go'shtning ustiga bosib olinadi, keyin chuqurroq joyidan bo'lakchani kesib, steril buyum oynasiga yengilgina bosib olinadi. Preparatlar havoda quritiladi, spirt lampasi alangasida qotiriladi, sovugach Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi. Kamida beshta ko'rish maydonida sharsimon va tayoqchasimon bakteriyalar sanaladi. Sanalgan barcha mikroblar sonini qo'shib, ko'rilgan maydon soniga bo'linsa, mikroblarning o'rtacha miqdori aniqlanadi.

Natijani hisobga olish.

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

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

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

Goshtda mikroblarning umumiy sonini aniqlash.

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

Vodorod ionlari miqdorini aniqlash (pH).

Ekstrakt filtrati tayyorlanadi – pay va yog'siz toza go'shtdan 10 g o'lchab olinadi. Mayda kechiladi va 100 ml distillangan suv quyib, silkitib aralashtiriladi. Har 5 daqiqada chayqatilib turiladi. 15 daqiqadan so'ng qog'oz filtrda filtrlanadi. Ekstrakt filtrat kalorimetrik usulda paranitrofenol bilan tekshiriladi.

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

Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul).

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

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

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

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

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

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

Tuxum mikroflorasi. Tuxum 3 ta asosiy qism: oqsil, sarig'i va po'stloq osti g'ilof hamda po'stloqdan iborat. Parranda tuxumi vitaminlarga boy oziqa hisoblanadi. 100 gram tuxum sarig'ida 2500 – 5000 mkg vitamin A – (retinol), 3,5 – 12,5 mkg vitamin D, 200 mkg – vitamin B₂ (tiamin), 600 mkg vitamin B₁

(riboflavin) mavjud. Tuxum oqsillar, yog', uglevodlar, mineral moddalar, suvdan, po'stlog'i esa 90 % kalsiy fosforidan iborat. Tuxum oqsilining tabiiy xususiyatlari pasayishi natijasida uning po'chog'idagi mikroorganizmlar ichiga kirib turli xil buzilishlarni hosil qiladi. Bunday tuxumlar kasallik infeksiyalarini tarqatuvchi manba bo'lib, hisoblanadi va odamlarda taksikoinfeksiyani qo'zg'atadi.

Tuxumga mikroblar faqat uning shakllanish vaqtida emas, saqlash vaqtida ham tushadi. Tuxum po'stloq bilan himoyalangan bo'lib, unda diametri 4-10 mkml teshiklari bor. Po'stloqning 1 sm² da ularning miqdori: tuxum yo'nalishida 147, go'sht yo'nalishida – 132 ta. Mikroblar shu teshiklardan tuxumning ichiga kiradi. Harorat va namlikning ortishi bunga ko'proq imkon beradi. Sifati buzilgan tuxumda vulgar protei, ichak tayoqchasi, zamburug', achitqi va h.k. mikroorganizmlar topiladi. Tuxum oqsili mikroorganizmlarning rivojlanishi uchun juda yaxshi oziqa muhit. Ko'pincha eski, uzoq saqlash natijasida himoya kuchi kamayib, lizosimi neytrallangan tuxumlar zararlanadi. Yangi tuxumda tabiiy immunitet bo'ladi. Lizosim miqdori tovuq tuxumining oqsilida ko'p (5,71 mg/ml), suvda suzuvchilarda kamroq: o'rdak (1,80 mg/ml), g'oz (0,38 mg/ml). Tovuq oqsilida mikroblarning rivojlanishi mahsulotlarning buzilishiga olib keladi. Bunday tuxumlarni ovoskopda tekshirganda qora doq', nuqta shaklida koloniya ko'rinadi.

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

Mikroorganizmlar ta'sirida tuxumning buzilishlari.

Mog'orlash – mog'or zamburug'lari havo kamerasi yaqinida koloniyalar hosil qilib yorug'lik o'tkazmaydi, har xil qora, ko'k, qo'ng'ir, ko'kimtir dog'lar hosil bo'ladi. Giflar zich to'r hosil qiladi, oqsil eriydi. Ko'pincha *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporum* avlodi vakillari uchraydi.

Tuxumning chirishi – ammonifikatorlar va proteolitik fermentlari ta'sirida oqsil chirib parchalanadi, natijada ammiak, vodopod sulfid va boshqa gazlar hosil qiladi. Bunday gazlar po'stloqni yorilishiga olib keladi, tuxum oqib atrofidagi boshqa tuxumlarni mikroblar bilan zararlaydi. Zararlangan tuxum oqsili suyuq - yashil, qora ba'zan sariq rangda. Ulardan *Pseudomonas*, *Proteus*, shuningdek *Escherichia*, *Salmonella*, *Pichia* tayoqchasi, sarsina va h.k.lar ajratiladi.

Tuxumning yangiligini aniqlash:

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



157-rasm. Ovoskopiya usulida tuxumni tekshirish

Yangi tuxumning havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i markazida joylashgan bo'ladi. Biroz eskirgan tuxumda dog' va yorilish hosil bo'ladi. Eskirgan tuxumdan yorug'lik faqat havo kamerasidan o'tadi.

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

Tuxumni mikrobiologik tekshirish.

Eski, sifati buzilgan tuxum ichidagi massadan (oqsili va sarig'idan alohida) surtma tayyorlab Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rib mikroblarning tarkibi va miqdori bo'yicha tuxumda kechayotgan jarayonlar haqida mulohaza qilinadi. GPB, GPA, Saburo muhitlariga ekiladi va termostatda o'stiriladi.



158-rasm. Tuxumni tekshirishga tayyorlash

Nazorat uchun savollar.

1. Go'stni mikrobiologik tekshirish usullarini ayting.
2. Go'shta mikroblarning umumiy soni qanday aniqlanadi.
3. Goshtning pH ni aniqlash usulini ayting.
4. Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul).
5. Benzidin sinov reaksiyasida go'shtning sifatini aniqlash.
3. Tuxumni yangiligini aniqlash usullari?
6. Mikroorganizmlar tufayli tuxumda qanday buzilishlar kuzatiladi?
7. Nima uchun suvda suzuvchi parrandalar (ordak, g'oz) tuxumlari xavfli hisoblanadi.
8. Tuxumni tekshirishning mikrobiologik usullari.

Test savollari:

1. Go'sht nima maqsadda mikrobiologik tekshiriladi?

- a) pH, rangini aniqlash
- b) mikroblar bilan ifloslanganligi, kasallik qo'zg'atuvchisini, iste'molga yaroqliligini aniqlash
- c) iste'molga yaroqliligini, biokimyoviy ko'rsatkichlarini aniqlash
- d) biokimyoviy ko'rsatkichlarini, harorat, namlik darajasini aniqlash

2. Go'sht mikrobiologik tekshirishdan avval qaysi usulda tekshiriladi?

- a) patanatomik
- b) ovoskopik
- c) organoleptik
- d) mikroskopik

3. Go'sht namunalarini mikroskopik tekshirish uchun uning qayeridan surtmalar tayyorlanadi?

- a) yuza qatlamidan
- b) ichki chuqur qatlamidan
- c) o'rta qatlamidan
- d) yuza va ichki chuqur qatlamidan

4. Yangi go'shtni mikroskopik tekshirish natijasi qanday bo'ladi?

- a) surtma yaxshi bo'yalmaydi, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkita tayoqchalar ko'rinadi, chuqur qatlamida bo'lmaydi
- b)) surtma yaxshi bo'yalgan, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkita tayoqchalar ko'rinadi, chuqur qatlamida bir, ikkita tayoqchalar bo'ladi
- c) surtma yaxshi bo'yalgan, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkita tayoqchalar, kokklar ko'rinadi
- d) surtma kuchli bo'yalgan, kokk va tayoqchalar juda ko'p

5. 1 g go'shtdagi mikroblar soni qanday hisoblanadi?

- a) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga ko'paytiriladi
- b) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirmalar soniga ko'paytiriladi
- c) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish soniga qo'shiladi
- d) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga bo'linadi

6. Go'shtning pH ni aniqlashda ekstrakt qaysi usulda tekshiriladi?

- a) fotoelektrokolorimetrik usulda, paranitrofenol bilan
- b) uolpol komparatorida, metanitrofenol bilan
- c) kolorimetrik usulda, paranitrofenol bilan
- d) kolorimetrik usulda, metilen ko'ki bilan

7. Benzidin sinov reaksiyasi natijasida sifatsiz go'sht qanday bo'ladi?

- a) aralashma ko'k yashil rangga kiradi
- b) aralashma qo'ng'ir rangga kiradi
- c) aralashma yengil bo'yaladi
- d) aralashma bo'yalmaydi

8. Nessler reaktivining tarkibi qaysi bandeda to'g'ri berilgan?

- a) KJ, KOH, sulema
- b) Fenol, NaOH, sulema
- c) sulema, eozin, NaOH
- d) sulema, kbzol, KOH

9. Tuxumning mikrob bilan zararlanishiga chidamliligining sababi-?

- a) Tuxum oqsilini ko'pligi
- b) Tuxum oqi tarkibida lizosim borligi

- c) Tuxum sarigida faol moddalar borligi
- d) Tuxumda makro-, microelement-lar borligi

10. Qaysi parrandaning tuxumida lizosim moddasi ko'p?

- a) O'rdak
- b) G'oz
- c) Tovuq
- d) Kurka

11. Tovuq tuxumi oqining lizosim miqdori qancha ?

- a) 0,2 mg/ml
- b) 0,38 mg/ml
- c) 1,8mg/ml
- d) 5,7 mg/ml

12. Tuxumning chirishi bu-?

- a) Mikrobbing proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum oqsilining pachalanishi
- b) Mikrobbing proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum sarig'ining pachalanishi
- c) Mikrobbing proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum qobig'ining pachalanishi
- d) Mikrobbing proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum po'stlog'ining pachalanishi

13. Zararlangan tuxumlar necha vaqt qaynatiladi?

- a) 20-25 daqiqa
- b) 13-14 daqiqa
- c) 30-35 daqiqa
- d) 5-10 daqiqa

14. Ovoskopda yangi tuxumning ko'rinishi qanday bo'ladi?

- a) havo kamerasi katta, dog'li, sarig'i markazida joylashgan
- b) havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i aralash joylashgan
- c) havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i markazida joylashgan
- d) havo kamerasi katta, dog'lari ko'p, sarig'i markazida joylashgan

15. Tuxumni stakandagi suvga solish namunasida sifatsiz tuxum.....

- a) tezda sinib, sarig'i oqadi
- b) po'stlog'ining rangi o'zgaradi

- c) stakan tubida yotadi
- d) turib qoladi yoki qalqib chiqadi

16.Tuxumni stakandagi suvga solish namunasida yangi tuxum.....

- a) stakan tubida yotadi
- b) tezda sinib, sarig'i oqadi
- c) po'stlog'ining rangi o'zgaradi
- d) turib qoladi yoki qalqib chiqadi

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	Aktinomiseti	Актиномицеты	(grekcha – <i>actis</i> - nur, <i>mykes</i> - zamburug') - nursimon zamburug'lar. Bir hujayrali grammusbat mikroorganizmlar. Bu guruhning 8 ta oilasi <i>Actinomucetales</i> qatoriga kiradi.
Autotrof	Autotrophs	Аутоτροφ	(<i>autos</i> -o'zim, <i>trophe</i> -oziqlanish) fotosintez yoki xemosintez jarayonida noorganik moddalardan organik birikmalarni 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 kislorodni o'zlashtirib

			organik va anorganik moddalarni biologik oksidlab yashab rivojlanadigan organizmlar.
Anaerob mikroblar	Anaerobic microorganisms	Анаэробные микроорганизмы	(<i>an</i> -inkor, <i>aer</i> -havo, <i>bias</i> -hayot) erkin kislorod bo'lmagan muhitda yashaydigan mikroorganizmlar.
Antagonist bakteriyalar	Antagonistic bacteria	Антагонистические бактерии	tabiatda, tuproqda bo'ladigan jarayonlarda, ayniqsa kasallik qo'zg'atuvchi mikroblarga qarshi kurashishda muhim ahamiyatga ega.
Aktivator mikroblar	Microbial activators	Микробы 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	Anafilaktsiya	анафилаксия	(grekcha “ <i>ana</i> ” - qarshi, “ <i>filaksiya</i> ” 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 ishlatiladi.
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</i> -tur). Organizmga parenteral yo'l bilan yuborilganda o'ziga qarshi immun modda hosil qiluvchi yot oqsillar.
Agglyutinasiya reaksiyasi	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 yopishishi.
Aktiv immunitet	Active immunity	Активный иммунитет	Yuqumli kasallik yoki emlash natijasida paydo bo'lib, bunda organizm aktiv ishtirok etadi.
Anaerob bakteriyalar	Anaerobic bacteria	Анаэробные бактерии	Kislorodsiz muhitdagina yashaydigan mikroorganizmlar, bakteriyalar, bular klostridiyalar, enterobakteriyalar

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	анаэроостат	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</i> -qarshi, <i>bios</i> -hayot) 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 mikrobnini 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.
Antogonizm	antagonism	Антогонизм	Bir tur mikrobrivojlangan muhitda ikkinchi bir tur mikrobrivojlana olmaydi. Masalan: chirituvchi

			mikroblar, ko'k yiring tayoqchasi kuydirgi tayoqchasining o'sishiga to'sqinlik qiladi.
Bakteriyemiya	Bacterymia	Бактериемия	Mikrobning 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 infeksiyon kasalliklarga bakteriologik diagnostika 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	Бактериологический 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, spiroxetlar) shaklli bo'ladi. Bakteriya hujayrasi 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	бактериостатическая действия	bakteriyalarni o'sishdan to'xtatadi
Bakteriyalarning gemolitik xususiyati	Bakteriyalarning gemolitik xususiyati	Гемолитические свойства бактерий	Qonli agarda eritrositlar 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	Бактериологическая 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 davolash va diagnostik maqsadda ishlatiladi.
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	Dermatomycoses	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 unumdorligi 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 infeksion kasalliklarini tekshirish uchun ishlatiladi, mikroorganizmlar kulturasidan tayyorlanadi.
Diagnostikumlar	Diagnostics	диагностикумы	dignostik maqsadda ihlatiladigan standart biologik preparatlar.
Diagnostik immun zardoblar	Diagnostic immun serum	Диагностические иммунные сыворотки	Infeksion kasalliklarga serologik usulda diagnoz 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 buyumdagi 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 hujayralarini kiradi. Yadro membranasi.
Epidedimit	Epididymite	Эпидидимит	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 turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi, boshqalari yo'qotiladi. Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalari qarang aniqlashga imkon beradi.
Endometrit	Endometritis	Эндо метрит	Bachadon shilliq pardasining yallig'lanishi
Eksikator	Defective	Эксикатор	bu qopqog'i zich yopiladigan shisha idish. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chetlariga vazelin surtiladi.
Ekzogen infeksiya	Heteroinfection	Экзогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga tashqi muhitdan 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) Mikrobtirik vaqtida yoki o'lganidan keyin uning tanasidan sirtga ajrab chiqadi.
Endotoksinlar	Endotoxins	Эндотоксины	Bakteriya hujayrasiga ayniqsa devoriga mahkam bog'langan bo'ladi. Shu sababdan mikrob o'lganidan keyingina ajraladi.
Fagositoz	Phagocytosis	Фагоцитоз	(<i>Fago</i> – yutish, <i>cytos-hujayra</i>) organizmga tushgan yot zarrachalar (bakteriyalar)ning fagositlar tomonidan ushlanib, hazm qilinishi. I.I. Mechnikov fagositoz haqida to'liq ma'lumot bergan.
Fluoresensiyalovchi antitelalar usuli	Fluorescence Antitellar	Метод флуоресцирующи	o'ta maxsus immunli lyuminessensiyalovchi

(FAU)	Method (FAM)	х антител (МФА)	zardoblar ishtirokida bajariladigan, ekspress diagnostika usuli. Bunda antigen va antitelo orasida immunologik reaksiyalar buyum oynachasida amalga oshiriladi.
Fimbriyalar va pili	Fimbriae and drinking	Фимбрии и пили	Ya'ni tukchalar (vorsinka). Bakteriya hujayralarida xivchinlardan tashqari uzun, ingichka, to'g'ri, iplari – fimbriyalar ham bo'ladi
Fikomisetlar (Phycomycetes)	Phukomycetes (Phycomycetes)	Фикомицеты	tuban zamburug'lar, miseliysi bo'g'inlarga 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'simliklardagi antibiotik larga o'xshash moddalar 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'yalishiga ko'ra, barcha bakteriyalar hujayra devoridagi peptidoglikanga bog'liq holda: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi.
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 olinadi 1:1 nisbatda gliserin qo'shiladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
Gigroma	Gigroma	Гигрома	Bo'g'imlararo shilliq pardaning shishishi
Gomologik	Homological	Гомологический	(gr. <i>homogenes</i> – bir xil)-o'xshash, bir xil.
Giperimmunlash	Hyperimmunizat ion	Гипериммунизаци я	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.
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.
Infeksiya	Infection	Инфекция	(lotinchadan <i>infectio</i>) yuqtiraman degan ma'noni anglatadi. Tashqi muhit sharoitida makroorganizm va kasallik qo'zg'atuvchisi orasida vujudga keladigan murakkab biologik jarayon, o'zaro kurash ta'siri.
Infeksion kasallik	Infectious disease	Инфекционное заболевание	Makroorganizm va mikroblar o'zaro ta'sirining eng ifodalangan shakli. Bunda

			qo'zg'atuvchi ta'siriga javoban ma'lum patologik jarayonlar rivojlanadi.
Intoksikasiya	Intoxication	Инттоксикация	Toksin bilan organizmning zaharlanishi.
Inkubasion davr	Inkubasionny stage	Инкубационный период	Organizmga mikrobnining kirgan vaqtdan kasallikning birinchi klinik belgilari poydo bo'lgan vaqtini o'z ichiga oladigan yashirin davr, klinik belgilarsiz o'tadi.
Infeksiya darvozasi	Infection gates	Ворота инфекции	Mikrobning organizmga kirish yo'llari. Alimentar-(yem-xashak, suv), aerogen-nafas olish organlari orqali, kontaktda-bir biriga tegishi bilan, hasharotlar chaqqani da, nosteril igna bilan inyeksiya orqali o'tadi.
Infeksion immunitet	Infectious immunity	Инфекционный иммунитет	Infeksion kasalliklarga chidamlilikning paydo bo'lishi.
Invazivlik	Invasiveness	Инвазивность	Virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri bo'lib, Mikroorganizmlar ning makroorganizm to'qimalariga kirishi, tarqalish va ko'payishi qobiliyatidir.

Immunitet	Immunity	ИММУНИТЕТ	(lotincha <i>immuniutas</i> –ozod bo’lish, qutilish) Organizm ning patogen mikrobyoki zaharli moddasiga chidamliligi.
Immun zardoblar	Immune serums	ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ	maxsus antigenlarni sxema asosida yirik hayvonlarga bir necha marta yuborib, giperimmunlash yo’li bilan olinadi.
Jelatina	Gelatine	Желатина	hayvonlar oqsili. Tog’ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot.
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 kulturasini.
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	Sistematik guruhlarni 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 suyuqliklari ning tarkibiy qismi. Biofab rikada dengiz cho'chqasi ning qon zardobidan tayyorlanadi.
Komplement bog'lash reaksiyasi	Complement Binding Reaction	Реакция связывания комплемента	antigen va antitelolar faqat komplement ishtirokida reaksiyaga kirishib, bakterio liz va gemoliz holatlariga asoslangan serologik reaksiya.
Koloniya	Colony	КОЛОНИЯ	bitta mikrob hujayrasining ko'payishidan hosil bo'lgan mikroblar to'plami
Kapsula hosil qilish	Capsule education	Капсула обрзование	Virulentlikni paydo qiluv chi xususiyatlardan biri, u mikroblarning agressiv bo'lishiga olib keladi.
Lyuminessent mikroskopiya	Lyuminessent microscopy	Люминисцентная микроскопия	qator muhim hujayra strukturalarini, organizm ning har xil funksional holatlarida ularning o'zgari

			shini o'rganish, o'lgan va tirik hujayralarni farqlashga imkon beradi.
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.
mikomisetlar	microcomyssets	Микомицеты	yuqori zamburug'lar. Ular ning miseliysi giflari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat.
Mikrobiologiya	Microbiology	Микробиология	Juda mayda organizmlar – mikroblarning – morfologiyasi, 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, <i>mikros-mayda, bios- hayot, logos -</i>

			<i>fan</i> demakdir.
Mikrob	Microbes	Микроб	Mikroorganizmlarni barchasini birlashtirgan yagona atama. Fransuz olimi Seddilo 19 asrning oxirida fanga kiritgan
Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазмы	Polimorf mikroorganizmlar bo'lib, 100-150 nm o'lcham dagi filtrlardan o'tadi, spora, kapsula hosil qilmay di, grammanfiy harakatsiz mikroorganizmlar.
Mitseliy	Mycelium	Мицелий	zamburug' tanasi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib mitseliy hosil qiladi.
Mikroaerofillar	Mikroaerofily	Микроаерофилы	(grek. <i>mikros</i> -kichik, <i>aer</i> -havo, <i>philla</i> -moyillik)– ko'payishining birinchi bosqichida molekulyar kislorodni (1% cha) kam miqdorda talab qiladi.
Mikroorganizmlar ning fermentlari	Enzymes and microorganisms	Ферменты микроорганизмов	Mikrob hujayralari tomonidan sintezlanib, murakkab tuzilishga ega endo va ekzofermentlar.
Mikozlar-	Mycoses	Микозы	Patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi.
Mikroblarining	Microbial	Микробные	Mikrob hujayrasidagi

antigenlari.	antigens	Антигены	kapsulali, xivchinli va somatik antigenlar.
Orxit	Orchitis	Орхит	Urug'donni yallig'lanishi
Oqsil	Protein	Белок	Hujayraning eng muhim hayotiy organik moddasi, patogen mikroblar tanasida quruq moddalarning yarmi dan 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 tekshirish uchun olingan material namunalari (qon, sut, parenximatoz organlardan bo'lakchalar va h.k.).

Patogenlik	Pathogenicity	Патогенность	Mikrobning ma'lum sharoit da o'ziga xos infeksiyon kasallikni qo'zg'atish xususiyati. U mikrob turiga xos, o'zgaruvchan belgidir.
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.
Spiroketlar	Spirochetes	Спирохеты	Harakatchan mikroorganizmlar bo'lib, ingichka va spiral shaklda juda ko'p mayda burmalari bo'lgan organizmlardir.
Sistematika	Taxonomy	Систематика	Tirik organizmlarni umumiy o'xshashliklari bo'yicha guruhlash bilan shug'illandigan biologiya fanining

			maxsus tarmog'i.
Sterillash	Sterilization	Стерилизация	(lotincha – <i>sterillis-</i> naslsizlash) turli muhitlar dagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporali shakllari) to'liq yo'qotishga, ya'ni o'ldirishga qaratilgan.
Serologik diagnostika	Serological diagnostics	Серологическая диагностика	(lot. <i>serum</i> -qon zardobi) infeksiyon kasalliklarni serologik reaksiyalar yordamida tekshirish.
Serologik reaksiya	Serologic reactions	Серологическая реакция	Antigen va antitelolarning o'zaro ta'siriga asoslangan o'ta maxsus reaksiya.
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	Mikrobning qonda ko'payib, qon orqali butin organizmga tarqalishi. U juda tez kechib, odatda o'lim bilan tugaydi.
Stafilokokklar.	Staphylococci.	Стафилококки.	sharsimon shakldagi mikroorganizmlar
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	(grek. <i>septicos</i> , <i>haima</i> - qon) kasallik qo'zg'uvchisi ning 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 moddalar, 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 turdagi organizmlar-hayvon, odam, o'simlik, hashorat, bakteriya, zamburug', sodda hayvonlar hujayrasi ichida parazitlik qiladi.
Xlamidiyalar	Chlamydia	Хламидии	Antigenligi bo'yicha qardosh, tinktorial va morfologik xususiyatlari o'xshash mikroorganizmlarining o'ziga xos taksonomik guruhi.
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. Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. М.2005 г.
5. Кисленко В.Н., Колычев Н.М., Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 1, Общая микробиология. М.2006 г.
6. Кисленко В.Н., Колычев Н.М. Ветеринарная микробиология И иммунология. Часть 2, Иммунология. М.2006 г.
7. Кисленко В.Н., Колычев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3, М.2007 г.
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. Veterinariya tibbiyoti jurnallari, Toshkent.
11. Gariyev I.G. Mikrobiologiya. Toshkent 1990 y.
12. Теппер Е.З., Шилникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.2005 г.
13. Internet ma'lumotlari: [www. Ziyo.net.uz](http://www.Ziyo.net.uz).
email: [zooveterinariya @.ru](mailto:zooveterinariya@ru)
email: [sea @ mail.net21.ru](mailto:sea@mail.net21.ru)
email: [veterinariy @.actavis.ru](mailto:veterinariy@actavis.ru)
email: [fvat@.academy. uzsci.net](mailto:fvat@academy.uzsci.net)

