Z.J. SHAPULATOVA

VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANIDAN AMALIY VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI



O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O‘RTA MAXSUS TA’LIM VAZIRLIGI

Z.J. Shapulatova

VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANIDAN AMALIY VA LABORATORIYA MASHG‘ULOTLARI

O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligi tomonidan oliy o‘quv yurtlarining 5111000 – Kasb ta’limi (5440100 – Veterinariya) va 5440100 – Veterinariya bakalavriat ta’lim yo‘nalishlarining talabalari uchun o‘quv qo‘llanma sifatida tavsiya etilgan

«O‘zbekiston faylasuflari milliy jamiyati» nashriyoti
TOSHKENT–2019

UO'K: 619:579(076.5)
KBK: 48ya73
Sh 25

Shapulatova Z.J.
Sh 25 Veterinariya mikrobiologiyasi fanidan amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari [Matn]: o'quv qo'llanma. Z.J. Shapulatova. – Toshkent: «O'zbekiston faylasuflari milliy jamiyati» nashriyoti, 2019. – 248 bet.

UO'K 619:579(076.5)
KBK:48ya73

Mazkur o'quv qo'llanma ikki moduldan iborat bo'lib, «Veterinariya mikrobiologiyasi fanining umumiy qismi» modulida mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari, mikroorganizmlarni o'rganishning asosiy mikrobiologik, immunologik usullari yoritilgan. «Veterinariya mikrobiologiyasi fanining xususiy qismi» modulida infeksion kasallik qo'zg'atuvchilarining laboratoriya diagnostikasi usullari, qo'llanadigan biopreparatlar berilgan. Qo'llanmada amaliy va laboratoriya mashg'ulotlarining uslubiy ko'rsatmasi, veterinariya mikrobiologiyasi fanining umumiy va xususiy qismlari modullari bo'yicha talabalar bilimini mustahkamlash uchun nazorat va test savollari keltirilgan.

Ushbu qo'llanma Oliy o'quv yurtlarining 5111000 – kasb ta'limi (veterinariya), 5440100 – veterinariya ta'lim yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan.

Taqrizchilar:

X.S. Salimov – SamQXI Hayvonlarning yuqumli va invazion kasalliklari kafedrasi professori, v.f.d.

M.T. Isoqov – Samarqand viloyati tashxis markazining oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi, mirkobiologiya va vetsanekspertiza laboratoriyasi mudiri, veterinariya fanlari nomzodi

ISBN 978-9943-6170-0-1

SamVMI Axborot-resurs markazi
Inv № 2158/11

© «O'zbekiston faylasuflari milliy jamiyati» nashriyoti, 2019.

KIRISH

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

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

Oliy o'quv yurtlarining asosiy vazifalaridan biri – chuqur fundamental bilimlarni va puxta amaliy tayyorgarlikni o'zida mujassamlantirgan keng ixtisosli mutaxassislarni shakllantirishdan iborat. Qo'llanma oliy ta'lim muassasalarining veterinariya sohasida ta'lim olayotgan talabalar o'zlarida ushbu kasbiy ko'nikmalarni shakllantirish va rivojlantirish imkoniyatiga ega bo'lishlari va tan-

langan mutaxassislikni egallashlari uchun umumkasbiy fanlarini chuqur o'rganishlari, yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlarini ta'minlaydi. Veterinariya mikrobiologiyasi fani tayanch biologik fan hisoblanadi. U «Hayvonlar fiziologiyasi», «Hayvonlarni oziqlantirish», «Zoogigiyena», «Veterinariya virusologiyasi», «Veterinariya toksikologiyasi», «Farmakologiya», «Patologik anatomiya», «Veterinariya sanitariya ekspertizasi», «Epizootologiya», «Veterinariya akusherligi», «Operativ xirurgiya» va boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liq.

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

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

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

Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma

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

turasi to'kilsa, zararli material bilan ifloslangan buyumlar darhol dezinfeksiyalanishi kerak.

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

1-mavzu. 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 tanishtrish. 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, plakatlar, videoproyektor, 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 infeksion 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, ozuqalarni 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, oziqaviy 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 ti-

qinlar tayyorlash uchun apparat, asboblar to'plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'lchamli pipetkalar) va boshqalar.

Laboratoriyada preparatlarni bo'yash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial bo'yoqlar, spirt, kislotalar eritmalari, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli gorelka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi eritmalari bor bankalar bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak[1].

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

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

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

3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

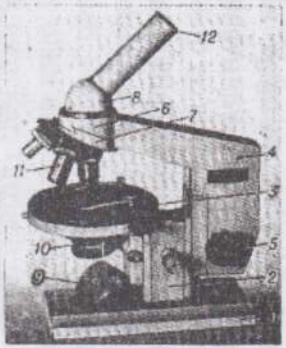
4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblar, idishlar, gaz, (spirtli) lampa) shu jumladan mikroskop tayyorligiga ishonch hosil qilish zarur. Kamchilik, nosozliklar bo'lsa, o'qituvchiga aytish kerak.

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

---

[1] Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: Колос, 2005. с.4–9.

MIKROSKOP TURLARI



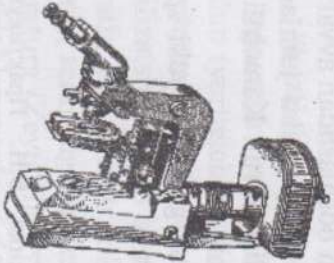
1-rasm. Biologik mikroskop «Biolam».



2-rasm. Binokulyar o'rnatma AU–12.



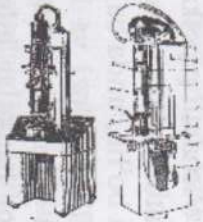
3-rasm. MBI–1 mikroskopi va yoritgich OI–7.



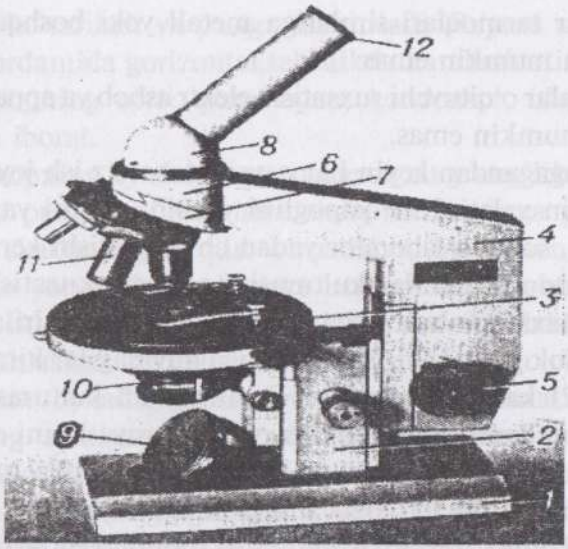
4-rasm. MI–2 lyuminessent mikroskopi.



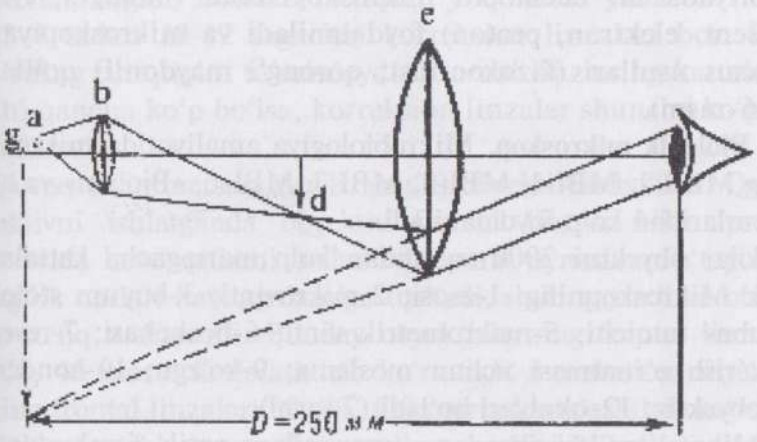
5-rasm. I–2 tipli «Lyumam» lyuminessent mikroskopi.



6-rasm. Elektron mikroskop.



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



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

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

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

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

Mikroskopik tekshirishda mikroorganizmlarning morfologiyasi, tinktorial xususiyatlari (har xil bo'yoqlar va bo'yash usullariga munosabati), kapsula, sporalari bor-yo'qligi, harakati aniqlanadi. Bu maqsadda mikroskoplar ishlatiladi. Laboratoriyada bir necha xil mikroskoplardan (biologik, 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 kiradi. Tubusni tutib turuvchi qismi makrometrik va mikrometrik vint

yordamida ko'tariladi va pastga tushiriladi. Buyum stolchasi ikkita vint yordamida gorizontal tekislikda harakatlantiriladi.

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

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

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

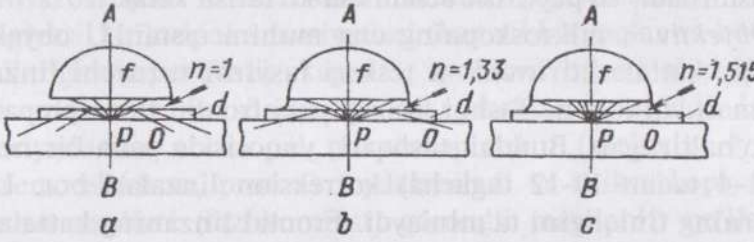
Obyektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U obyektni haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasvirni tuzuvchi linzalar sistemasidan iborat. Tashqi, asosiy yoki frontal linza preparatga yo'naltirilgan. Bundan tashqari, yuqorisida yana bir nechta (3-4 tadan 10-12 tagacha) korreksion linzalari bor. Ular tasvirning 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 nurlari tarqalishining oldini olish lozim, ya'ni preparatga immersiya yog'i tomiziladi, uning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi (1,515) preparat oyna-

sining 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: 90x10=900 marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda odatda, obyekt 630–900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

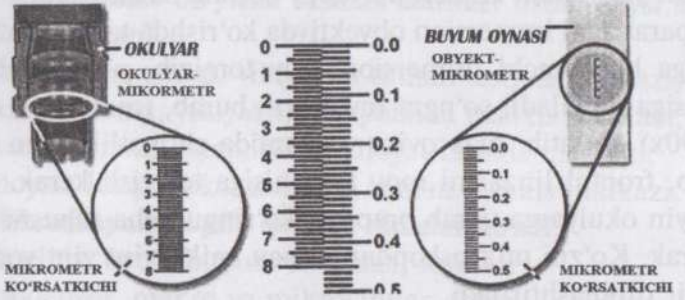
Bakteriyalarning o'lchamlarini tavsiflashda odatda hujayraning uzunligi va eni mikrometrlarda (10-3) ko'rsatiladi. O'lchov asbobi sifatida okulyar- va obyekt-mikrometrlar ishlatiladi (10-rasm).

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[1].

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 bo'lingan qismi 30:14= 2,14 mkm ni tashkil etadi. Okulyar-mikrometrning bir bo'lingan qismi bahosi aniqlangandan keyin, obyekt-mikrometr

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

o'rniga tekshirilayotgan obyekti bor preparat joylashtiriladi. Masalan, tayoqchasimon mikrob uzunligi okulyar-mikrometrning – 3, eni – 0,5 bo'lingan qismiga mos keladi. Agar okulyar-mikrometrning bir bo'lingan qismi 2 mkm bo'lsa, unda bakteriya hujayrasining uzunligi 3x2=6 mkm, eni – 0,5x2=1 mkm bo'ladi.

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

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

Preparatlarni immersion obyektivda ko'rishda tayyor bo'yalgan surtmaga bir tomchi immersion moy tomizib, preparat buyum stolchasiga qo'yiladi, so'ngra 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;

d) xususiy ishlab chiqarish muassasasi;

e) 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;

d) zonal, tuman, Respublika, viloyat tashxis markazi;

e) viloyat, Respublika, zonal va tuman tashxis markazi.

3. Mikroskopning optik qismiga nimalar kiradi?

a) obyektiv, oyna, buyum stolchasi, revolver;

b) kondensor, makro va mikrovintlar, tubus;

d) oyna, kondensor, obyektiv, okulyar;

e) okulyar, tubus tutqichi, tubus, obyektiv.

4. Mikroskopning umumiy kattalashtirishi qanday aniqlanadi?

a) obyektiv, okulyar va oynachalar oralig'i masofasini hisoblab;

b) obyektivning ko'rsatkichi bo'yicha;

d) okulyarning revolvergacha bo'lgan masofasi hisoblanadi;

e) obyektiv va okulyar ko'rsatkichlarini ko'paytirib.

5. Bo'yalgan preparatlar mikroskopning qaysi obyektivida ko'riladi?

a) immersion obyektivda;

b) quruq obyektivda;

d) immersion va quruq obyektivda;

e) x8, x20, x40 obektivlarda.

SamVMI Axborot-resurs markazi
Inv.№ 2158/11

2-mavzu. 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, moyqalam. Mavzuga oid ko'rgazmali plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ko'p ishlatiladigan bo'yoqlar bilan tanishadilar.

2. Mikrob kulturasidan bakteriyali preparat tayyorlab, oddiy usulda bo'yashadi.

3. Tayyor preparatni mikroskopda ko'rib, bakteriyalarning shaklini daftarga chizib olishadi.

Bakteriologik bo'yoqlar. Mikroskopda 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 – eritma qi-

zil 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 eritmalari tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmalari 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 eritmalari) bilan ishlov beriladi. Shuningdek, bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq eritmalari 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 96^0 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 tiqini zich berkitilgan holda shisha idishlarda 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 eritmalari tayyorlanadi: 10–20 ml fuksinning to'yingan spirtli eritmasiga tarkibida 5% fenoli bor 100 ml 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 eritmalari tez cho'kmaga tushadi va prepa-

ratni 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 96^0 spirtda uzoq vaqt (3–4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1 ml 1 % li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

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

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

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

Bakteriyali preparatlarni tayyorlash. Mikroblarning shaklini, ularning tuzilishi va biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash maq-

sadida 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 (17-rasm) yoki Paster pipetkasi ishlatiladi. Preparat suyuq yoki zich muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasi; sut, qon, yiring (surtma), jigar, taloq yoki boshqa organlar to'qimasi (tamg'ali, klyach – preparat) va h.k.lardan quyidagicha tayyorlanadi:

Suyuq muhitda o'stirilgan mikroblar kulturasidan preparat tayyorlash uchun chap qo'lga kulturali probirkani olib, o'ngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib sterillanadi, kichik o'ng barmoq bilan alangaga yaqin tutib probirka ochiladi, ilmoqni suyuqlikka botirib, bir tomchi olinadi, probirkani yopib, shtativga qo'yiladi. Chap qo'lga buyum oynasini olib unga tomiziladi, yengil aylana harakatlar bilan oynachaga surtiladi, so'ng havoda quritiladi (16-rasm), ilmoq alangada qizdirib sterillanadi (yoki Paster pipetkadan foydalanilsa, dizenfiksiyalovchi eritma – fenolning 5% li eritmasi solingan idishga botirib qo'yiladi).

Quritilgan preparat oynachada qotiriladi (fiksatsiyalanadi). Buning uchun ko'pincha fizikaviy usul ishlatiladi: ya'ni surtma orqa tomonidan spirt lampa alangasi ustidan 3-4 marta o'tkaziladi. Fiksatsiyalovchi kimyoviy vositalardan – efir, etil yoki metil spirti, formalin, formalin-spirt va spirt-efir aralashmalari qo'llaniladi. Fiksatsiya uchun quritilgan preparat 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 qizarib sterillangan va sovutilgan bakteriologik ilmoqda probirkadan olingan mikrob kulturasi aralashtiriladi va oyna yuzasi-

ga bir tekis surtiladi. Mikroorganizmlarni bo'yash uchun oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi.

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

Bakteriyalarning asosiy shakllari. Bakteriyalar asosan uch xil shaklda: sharsimon (kokklar), tayoqchasimon, spiralsimon (burama) bo'ladi (15-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.[1]

Tayoqchasimon bakteriyalar va basillalar. Bu shakldagi mikroblarning ba'zilari bakteriya, ba'zilari 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 mikrobning ko'ndalang yuzasidan katta bo'lsa, klostridiyalar deyiladi. Basillalarning sporalari asosan mikrob hujayrasining markazida joylashadi. Spora klostridiyalar o'rtasida joylashsa markaziy spora, bir uchida bo'lsa – terminal spora, bir uchiga yaqin joylashsa – subterminal spora deyiladi.

[1] Воробев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. –М., 2008 г. С.33–34.

Spiral shaklli bakteriyalar. Bularga vibrionlar (vergul shakli, 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 xlamidiyalar hujayra ichidagi obligat parazitlar bo'lib, kuchli polimorfizm bilan ifodalangan mayda grammanfiy mikroorganizmlar: kokksimon, tayoqchasimon va ipsimon shakllarda bo'ladi. Pikketsiyalarning o'lchami 0,5 dan 3-4 mkm gacha, ipsimon shakllari 10–40 mkm ga yetadi. Spora va kapsula hosil qilmaydi, Zdrodovskiy usulida qizil rangga bo'yaladi.

Xlamidiyalar sharsimon, oval yoki tayoqchasimon shakllarda bo'lib, o'lchamlari 0,1-2,5 mkm. Xlamidiyalarning morfologiyasi ularning hujayra ichidagi rivojlanish sikliga bog'liq. U uncha katta bo'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 holatda bo'ladi?

a) suyuq, yarimsuyuq, gel;
b) quruq, kukunsimon, kristall;
d) quyuq, spirtli eritma;
e) suvli, spirtli eritma.

2. Bakteriologik bo'yoqlardan qanday eritmalar tayyorlanadi?

a) har xil foizli murakkab eritmalar;
b) ishchi eritmalar, oddiy eritmalar;
d) to'yingan spirtli, spirt-suvli, suvli eritmalar;
e) bo'yoqlar aralashmasidan iborat eritmalar.

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

a) fiksatsiya, bo'yash, quritish, surtma tayyorlash;
b) quritish, bo'yash, fiksatsiya, surtma tayyorlash;
d) bo'yash, fiksatsiya, surtma tayyorlash, quritish;
e) surtma tayyorlash, quritish, fiksatsiya, bo'yash.

4. Oddiy bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlatiladi?

a) bitta;
b) ikkita;
d) uchta;
e) bir nechta.

5. Bakteriyalarning qanday asosiy shakllari bor?

a) trapetsiyasimon, rombsimon, amyobasimon;
b) sharsimon, tayoqchasimon, buramasimon;
d) kubsimon, spiralsimon, sharsimon;
e) tayoqchasimon, yulduzsimon, ko'p qirrali.

3-mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash

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

Material va jihozlar: Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampasi, bakteriologik il-

moq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, etil spirti 96^0, fiziologik eritma, bo'yoqlar eritmasi (karbolli gensianviolet, sil fuksini), lyugol, probirka, bakteriya kulturasi: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayoqchalari), videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

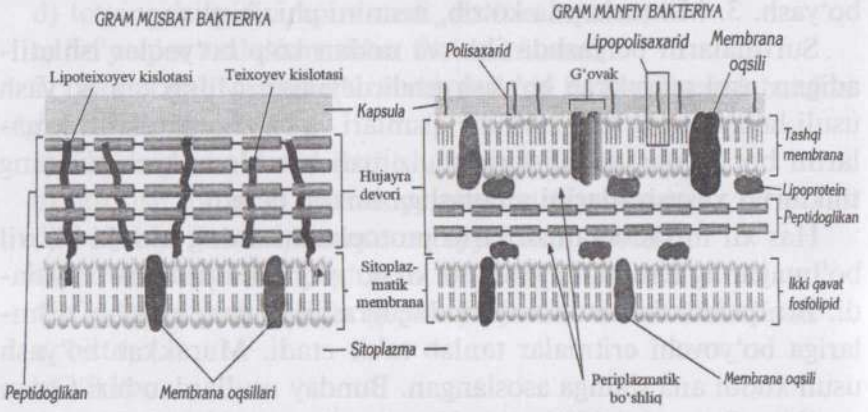
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1.Murakkab bo'yashning Gram usulini daftarga yozib olish. 2. Mikroorganizmlar aralashmasidan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yash. 3. Mikroskopda ko'rib, rasmini chizib olish.

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 mikrob 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 mikrob hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yovchi eritmalar tanlab ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuddi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1884-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yalishiga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2–3, uning tashqi qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday kislotali muhitda asosli bo'yoqlar yod bilan mustahkam birikma hosil qiladi. Grammanfiylarining pH 4–5, ularda bunday birikma hosil bo'lmaydi. Shu tufayli grammusbat bakteriyalar birinchi bo'yoq bilan bo'yagandan keyin spirt ta'sirida rangsizlanmaydi va binafsha rangni saqlab qoladi (18,19, 22-rasm). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta'sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo'shimcha bo'yaganda, qizil rangga kiradi (20–21-rasm).

Gensianviolet (yoki kristallviolet)va sitoplazmadagi nuklein kislotalar yod (Lyugol eritmasi: kristall holdagi yod – 1 g, kaliy

yod – 2 g, distillangan suv – 300 ml) ishtirokida suvda erimaydigan hamda spirtda kam eriydigan barqaror birikma hosil qiladi. Shuning uchun 30 soniya spirt ta'sir ettirilganda hujayra devori qalin, ko'p qavatli peptidoglikani bor (Grammusbat) bakteriyalar rangsizlanmaydi. Grammanfiy bakteriyalarda esa hujayra devori yupqa, peptidoglikani kam va qatlamining g'ovaklari yirikroq bo'lib, spirtning o'tishini onsonlashtiradi. Natijada hosil bo'lgan birikma parchalanib, bo'yoqni tutib qololmaydi hamda spirt ta'sirida hujayra rangsizlanadi (11-rasm).



11-rasm. Grammusbat va grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi [1]

Gram usulida bo'yash

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

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

3. Lyugol eritmasini to'kib, 96^0 spirt quyiladi (30 soniya).

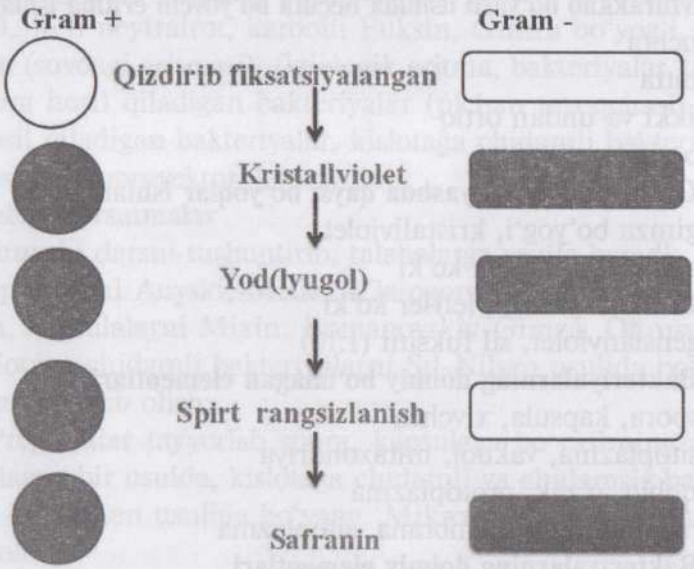
4. Suvda yaxshilab yuviladi.

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

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

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

Suyuq gensianviolet (yoki kristallviolet) o'rniga preparatga mos o'lchamda qirqilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'ozni ishlatish mumkin. Bunda preparatga qirqilgan bo'yoqli filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir nechta tomchi distillangan suv tomdiriladi. 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 (12-rasm)[1].



12-rasm. Gram usulida bo'yash jarayonlarining ifodasi

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

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:

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

a) uchta
b) bitta
d) ikki va undan ortiq
e) beshta

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

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

3. Bakteriyalarning doimiy bo'lmagan elementlari.

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

4. Bakteriyalarning doimiy elementlari

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

5. Lyugol eritmasining tarkibi.

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

4-mavzu. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

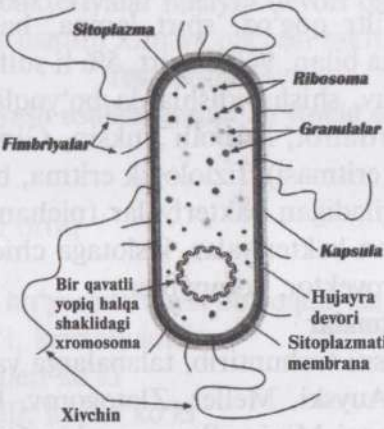
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Mikrob hujayrasining tuzilishida doimiy va doimiy bo'lmagan elementlari farqlanadi (13-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 batsillalar deyiladi. Spora hosil bo'lish jarayonida hujayra sitoplazmasi quyuqlashib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko'p qavatli qobiqqa o'raladi (14-rasm). Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko'pchilik kislota, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikrob turiga bog'liq ravishda hujayraning markazida, bir uchida yoki bir uchiga yaqin joylashadi. Oddiy yoki



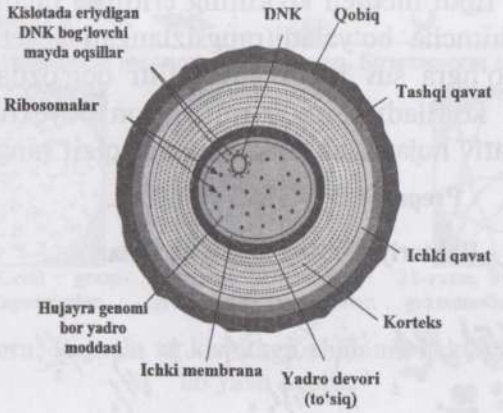
13-rasm. Bakteriyaning tuzilishi[1].

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

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

alanga ustida fiksatsiyalanadi. 2. Preparatga filtr qog'oz qo'yib, ustidan karbolli Sil fuksini quyiladi, bug' hosil bo'lguncha qizdirib 7-8 daqiqa bo'yaladi. 3. Bo'yoqni to'kib tashlab 5% sulfat kislota eritmasi bilan 5-7 soniya ishlov beriladi, keyin yaxshilab suv bilan yuviladi.



14-rasm. Bakteriyaning yetuk endosporasini tuzilishi[1].

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.

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

Zlatogorov usuli. Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksatsiyalashda sporalar qobig'ini biroz yumshatish va ularni nobud qilish uchun spirt lampa yoki gaz gorelkasi alangasi ustida 10 marta u yoq-bu yoqqa o'tkaziladi. Surtma ustiga filtr qog'oz qo'yib,

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

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'kining 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 rangda bo'yaladi.

Preparat tayyorlash texnikasi.

Bakteriyalarning asosiy shakllari



I SHARSIMON

1. Mikrokokklar
2. Diplokokklar
3. Tetrakokklar
4. Streptokokklar
5. Stafilokokklar
6. Sarsinala

II TAYOQCHASIMON

1. Monobakteriyalar
2. Diplobakteriyalar
3. Streptobakteriyalar
4. Klostridiyalar
5. Basillalar

III BURAMASIMON

1. Vibrionlar
2. Leptospiralar
3. Spiroxetalar
4. Spirillalar

15-rasm.



16-rasm. Surtma preparat tayyorlash sxemasi

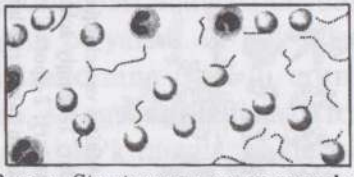


17-rasm. Bakteriologik ilmoqlar: A va B – noto'g'ri; D – to'g'ri tayyorlangan.

Gram usulida bo'yalgan surtmalarda bakteriyalarning ko'rinishi



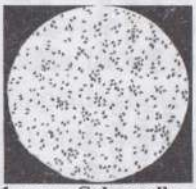
18-rasm. Diplococcus pneumoniae.



19-rasm. Streptococcus pyogenes qonda.



20-rasm. E.coli – gram-manfiy tayoqchalar.

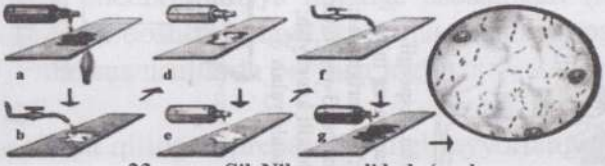


21-rasm. Salmonella – grammanfiy tayoqchalar.



22-rasm. Bac. anthracis – grammusbat tayoqchalar.

Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari

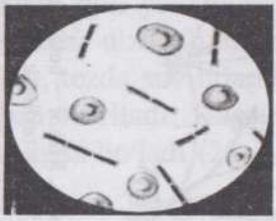


23-rasm. Sil-Nilsen usulida bo'yash.

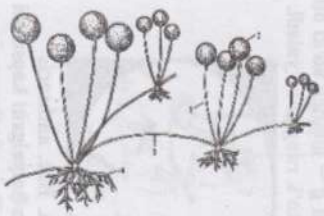
a – sil fuksini bilan bug' paydo bo'lgunicha olov ustida qizdirib bo'yaladi; b – bo'yoq suv bilan yuviladi; d – 5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e – avval spirt, keyin f – suv bilan yuviladi va g – metilen ko'ki bilan bo'yaladi. Tuberkuloz tayoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.



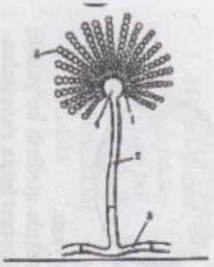
24-rasm. Bac. anthracis Olt usulida bo'yalgan: a – kapsulasi sariq, basillalar-qo'ng'ir rangda b – sporasi Sil-Nilsen usulida bo'yalgan.



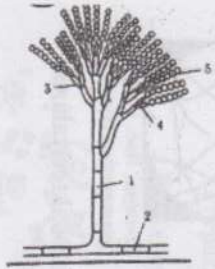
25-rasm. Bac. anthracis Leffer usulida bo'yalgan: kapsulasi pushti, basillalar-ko'k rangda.



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



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



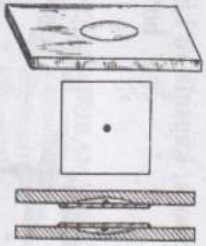
28-rasm. Penitsillum – zamburug'ining tuzilishi: 1-konidiofor; 2-vegetativ gif; 3-metulalar; 4-sterigmalar; 5-konidiyalar.



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

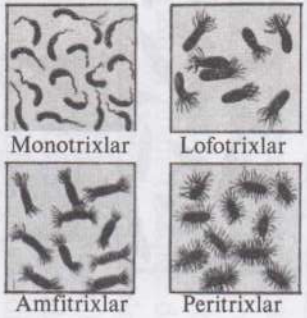


30-rasm. Takomillashmagan zamburug'-trixofiton:
1-xlamidosporalar; 2-mitseliyning shoxlanishi; 3-sochda mikrokonidiy zanjirlari; 4-makrokonidiylar.



31-rasm. Bakteriyalarda xivchinlarining joylashishi.

32-rasm. Bakteriyalarda xivchinlarining joylashishi.



Peshkov usuli. Tayyorlangan surtma spirt lampa alangasida fiksatsiyalanadi.

1. 15–20 soniya davomida (spirt lampasi alangasi ustida) qaynayotgan Leffler metilen ko'ki bilan bo'yaladi. 2. Suv bilan yuviladi. 3.30 soniya davomida neytralrotning 0,5% li eritmasida yana bo'yaladi. 4. Suv bilan yuvib, so'ng quritiladi. Mikroskopda ko'rinishi: sporalar havo rang yoki ko'k rangda, bakteriyaning vegetativ shakllari pushti rangda.

Kapsulalarni bo'yash. Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosilasidir. U mumsimon modda bo'lib yuqori molekulali polisaxariddan iborat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositozga qarshi himoya 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 kislotaga chidamli bakteriyalar – qizil; chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V.V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (Диагностика инфекционных и протозойных болезный 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 45^0 burchakda qo'yiladi va pastdagi oynachaning ikkinchi tomoniga yengilgina surtish harakati bilan siljitiladi. 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 Romanovckiy 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[1]. 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 sitoplazmasi – moviy, o'zagi – ko'k rangda bo'ladi.

Nazorat savollari:

1. Sporalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
2. Kapsulalarni bo'yash usulining mohiyati nimadan iborat?
3. Oddiy bo'yashda 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?

[1] Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: Колос, 2005.с.34.

a) uchta
b) bitta
d) ikki va undan ortiq
e) beshta

2. Gram usulida bo'yashda qaysi bo'yoqlar ishlatiladi?
a) gimza bo'yog'i, kristallviolet
b) safranin, metilen ko'ki
d) brilliant yashili, leffler ko'ki
e) gensianviolet, sil fuksini (1:10)

3. Bakteriyalarning doimiy bo'lmagan elementlari.
a) spora, kapsula, xivchin
b) sitoplazma, vakuol, mitaxondriya
d) qobiq, o'zak, protoplazma
e) regid qatlam, membrana, sitoplazma

4. Bakteriyalarning doimiy elementlari.
a) spora, mitaxondriya, o'zak
b) qobiq, sitoplazma, o'zak
d) sitoplazma, xivchin, spora
e) membrana, spora, kapsula

5. Lyugol eritmasining tarkibi.
a) kaliy yod, kalsiy xlorid, distillangan suv
b) 10% li yod, glitserin, distillangan suv
d) 1 g yod kristall, 2 g kaliy yod, 300 ml – distillangan suv
e) fenol, kaliy yod, glitserin, distillangan suv.

5-mavzu. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish

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

Material va jihozlar: Petri kosachasidagi zich oziq muhitlarda o'stirilgan mukor, penitsillium, aspergillus avlodlariga kiruvchi zamburug'lar kulturasi. Suyuq oziq muhitda o'stirilgan achitqi kulturasi. Buyum va yopqich oynachalar, bakteriologik il-

moq, probirkada spirt, glitserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayoqchasi, pichan tayoqchasi kulturasi, mavzuga oid plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar.

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Zamburug'lar (fungi) – xlorofilsiz eukariot (o'zagi membranaga o'ralgan) mikroorganizmlar. Zamburug' hujayrasining qobig'i, protoplazmasi, o'zagi va kiritmalari bor. Qobig'i xitin, oqsil, glyukan, yog'lardan iborat. Tashqi ko'rinishi, oziqani o'zlashtirishi bo'yicha osimlikka o'xshaydi. Lekin farqi–zamburug'larning xlorofili yo'q, zaxiradagi moddasi glikogen(kraxmal emas), hujayra devorida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug' hujayrasi ingichka ipchalardan iborat bo'lib bularga – giflar deyiladi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib 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. Fikomitsetlar (Phycomycetes) – tuban zamburug'larga kirib, ularning mitseliysi bo'g'inlarga bo'linmagan, ko'p o'zakli bitta kuchli shoxlangan hujayradan iborat. Askomitsetlar (Ascomycetes), bazidomitsetlar(basidiomycetes) va takomillashmagan zamburug'lar (Fungi imperfecti, Deuteromycetes) yuqori zamburug'larga kiradi (mikomitsetlar).

Ularning mitseliysi giflari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat[1]

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 (sporan-giyasporalar, 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.

Zamburug'larning suslo agarda o'sishi.

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

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

Aspergilla – takomillashmagan zamburug' bo'lib, mukorga nisbatan sekinroq o'sadi. Ikkinchi sutkada o'sish paydo bo'ladi. Konidiyalari qora (Aspergillus niger) va yashil-sariq (Aspergillus oryzae) rangda bo'lib, konidiyalarni tashuvchi uchlari to'g'nog'ich

[1] Кисленко В.Н., Количев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 1. Общая микробиология. – М.: КолосС, 2006 г. с.25–26.

boshiga o'xshab, undan tarqalgan nurdek har tomonga zanjirsimon joylashgan ekzosporalar o'sib chiqadi (27-rasm).

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

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

Aktinomitsetlar(nursimon zamburug'lar). Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomitsetlar mitseliysining giflari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Giflarining qalinligi bakteriyalarnikidan yo'g'on emas, shuning uchun ular ham mikroskopning immersiya sistemasida ko'riladi. Mitseliysi avval substratli keyin havoli bo'lib, koloniyalar baxmalga o'xshash mayin bo'ladi. Koloniya zich konsistensiyali, oziq muhitga mustahkam kirgani tufayli substrat bilan birga olinadi. Aktinomitsetlar pigment hosil qilgani uchun – pushti, qizil, qora va boshqa ranglarda bo'ladi. Aktinomitsetlar aerob, kraxmal-ammiakli agarda 30–35^{0}C da 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 shakli 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'zilari harakatlanadi, ba'zilari esa yo'q.

Bu ularning turlarini bir-biridan farq qilishdagi asosiy belgilardan biri. Mikroblar xivchinlar yordamida harakatlanadi, ular mikrob tanasining turli qismlarida joylashadi. Shunga qarab, harakatlanishi ham turlicha bo'ladi (32-rasm). [1]

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

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

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

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

---

[1] Воробев А.А. Медисинская микробиология, вирусология и иммунология. – М., 2008 г. С.40.

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 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) xlorafilsiz, zaxira moddasi glikogen, qobig'ida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina

d) ko'payishi, sporalari, tuzilishi bilan

e) 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

d) ezilgan tomchi usulida bo'yalmagan preparat

e) 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

d) differensial diagnostik muhitlarda

e) 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

d) 6 ta

e) 3 ta

5. Aktinomisetlar qanday mikroorganizmlar?

a) ko'p hujayrali, nursimon

b) bir hujayrali, bakteriya va zamburug'larga o'xshaydi

d) bir va ko'p hujayrali, bakteriyalarga o'xshaydi

e) bir hujayrali, zamburug'larga o'xshamaydi.

6-mavzu. 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, jelatin, 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'sish faktorlari bo'lishi kerak. 0,5% NaCl, pH muayyan darajada, namligi yetarli, steril, tiniq bo'lishi shart.

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

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

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

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

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

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

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

Mikrobiologiya amaliyotida asosan: go'sht-peptonli bulon, go'sht-peptonli agar va go'sht-peptonli jelatina ishlatiladi. Go'sht suvini tayyorlash uchun yangi so'yilgan mol yoki ot go'shti ishlatiladi. Buning uchun go'shtni pay, suyakdan ajratib, qiymalagichdan o'tkaziladi. Chiqarilgan qiymaning ustiga sovuq suv quyiladi (1:2 nisbatda), aralashtirib, bir sutka salqin (4-6^{0}C li) joyga qo'yiladi yoki ikki soat 37^{0}C da saqlanadi, so'ngra bir soat qaynatilib paxta-doka filtrda filtrlanadi.

Oziqa muhitlarining klassifikatsiyasi

Kelib chiqishiga ko'ra

tabiy	*sun'iy*	*sintetik*
(hayvon va o'simlik mahsulotlari) suti	(hayvon va o'simlik mahsulotlari va minera tuzlar)	(aminokislota, tuz, uglevod, vitamin)
qon zardobi	GPB	Van-Ierson muhiti
tuxum oqsili	GPA	Saburo agari
kartoshka	GPJ	Litman agari
sabzi		
somon		

Konsistensiya bo'yicha

suyuq	**yarim suyuq**	**zich**	**quruq**
GPB	tarkibida	GPA	oziq muhitlar
Peptonli suv	0,15-0,5%	GPJ	kukuni sanoatda
Koda muhiti	agar-agari	uyugan qon	ishlab chiqariladi
	bor muhit	zardobi	GPA, GPB, Endo, Levin, Ploskirev va h.k.muhitlar

Ishlatilishiga qarab

oddiy	**maxsus**	**differensial diagnostik**
GPA	GPJB	Gissa muhiti
GPB	GPJA	Endo
GPJ	zardobli GPA, GPB	Levina
yarim suyuq agar	qonli shakarli GPA	Ploskirev
	Kitt-Tarossi	Vismut sulfit agar
	Saburo	
	Petronyani muhiti	

Filtrni siqib olib, filtratga oldingi hajmiga yetguncha suv qo'shiladi. Keyin uni shisha idishga solib, avtoklavda 120^0C 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 120^0C 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 120^0 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. 2 ml muhitga 0,3 ml sarflandi. Muhitning umumiy miqdori – 1 litr. Unga qancha NaOH qo'shamiz?

Demak, 0,3x1000:2=150 ml 0,1n. yoki 15 ml 1 n NaOH qo'shish kerak. Odatda pH 0,1-0,2 ga ko'proq olinadi, chunki avtoklavdan keyin u kislotali tarafga o'zgaradi va optimal holga tushadi.

Nazorat savollari:

1. Oziq muhitlar klassifikatsiyasini ayting.
2. Pepton, agar-agar va jelatina nima? Ular qanday oziq muhiti tayyorlashda ishlatiladi?
3. Asosiy oziq muhitlari va ularni tayyorlash usullari.
4. Oziq muhitlarning mikrobiologiya amaliyotida qo'llanilishi.
5. Oziq muhitlarning pH ko'rsatkichi qanday aniqlanadi?
6. Differensial diagnostik oziq muhitlarga tushuncha bering.
7. Oziq muhitining reaksiyasi qanday usullarda aniqlanadi?
8. Oziq muhit qanday talablarga javob berishi kerak?

Test savollari:

1. Oziq muhitlar qaysi xususiyatlar bo'yicha klassifikasiyalanadi?

a) tayyorlanishi, sterilligi, PH ko'rsatkichi bo'yicha
b) tarkibi, manbasi, ishlatilishi
d) kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi
e) 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
d) GPJ, Levin, qonli agar
e) GPA, GPB, GPJ, yarim suyuq agar

3. Konsistensiyasi bo'yicha qanday oziq muhitlar farqlanadi?

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

4. GPA tarkibida agar necha foiz bo'ladi?

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

e) 0.5%

5. Agar-agar nima?

a) o'simlik kukuni va hayvonlar mahsuloti aralashmasi

b) maxsus tayyorlangan sun'iy preparat

d) dengiz suv o'tlaridan olinadigan azotsiz organik modda

e) hayvonlar oqsili, sut kukuni aralashmasi.

7-mavzu. Sterilizatsiya usullari

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

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

1. Mikrobni to'liq naslsizlantirish. 2. Sterillanayotgan materialni fizik-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qolish.

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

Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash maxsus ikki qavat devorli metall quritgich shkaf – yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (33-rasm). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritil-

gan 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: 160^0C–2 soat; 170^0C–1,5 soat, 180^0C–1soat. Yuklash hajmiga bog'liq holda 171^0C–1 soat, 121^0 C da 10–16 soat davomida va undan ham uzoqroq vaqt sterillanadi.[1] Sterillash vaqti tugashi bilan jihozni o'chirib, harorati 45^0C 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. Shprislarni qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblar – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rab sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopgunicha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20–30 daqiqa qaynatiladi. Keyin suvini to'kib, sovugandan so'ng asboblar ishlatiladi.

Oqar bug' bilan 100^0C da, 100^0C dan kam haroratda bo'lib-bo'lib sterillashga asoslangan. Kox apparati ishlatiladi (34-rasm). 100^0C da 30–40 daqiqa ketma-ket 3 kun sterillanadi. Avtoklavda ham 100^0C da bo'lib-bo'lib sterillash mumkin. Bu usulda 100^0C dan ortiq haroratga chidamsiz – uglevodli oziq muhitlar, sut, jelatina va boshqa materiallar sterillanadi.

Tindalizatsiya – 100^0C dan kam haroratda suv hammomida bo'lib-bo'lib sterillash. 70–80^0C da 3 kun, 60–65^0C da 5 kun, 56–58^0C da 6–7 kun davomida: birinchi kun 2 soat, qolgan kun-

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

lari esa bir soatdan sterillanadi. 56–58^{0}C da kolloid eritmalar, qon zardoblari, ya'ni oqsil saqlovchi moddalar sterillanadi.

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

Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash) – 100^0 C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm.-110–112^{0}C, 1 atm.-120–121^{0}C, 1,5 atm.-124–126^{0}C, 2 atm.-132–133^{0}C. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (36,37-rasm). Avtoklavdagi bug'ning bosimi va harorat monometr ko'rsatkichiga mos kelsa sterillash to'g'ri bajarilgan bo'ladi. Buni nazorat qilish uchun maxsus indikatorlardan foydalaniladi. Avtoklav indikatori sariq yoki oq tasmali ko'rsatkichdan iborat. Sterilizatsiya bajarilganda indikator tasmasining rangi sariq yoki oq rangdan to'q qo'ng'ir yoki qora rangga o'tadi. Rangning o'zgarishi 121^{0}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'gri ishlayotganini tekshirish uchun har hafta uni yuklangan avtoklavning markaziga qo'yib avtoklavlash kerak. Agar avtoklavlashdan keyin kultura o'lsa flakonda to'q qizil rang, o'lmasa sariq rangga aylanadi va avtoklavning qay darajada to'g'ri ishlayotganini ko'rsatadi. Shunday qilib testda – flakonda to'q qizil rang bo'lsa sterillash to'g'ri bajarilib, nihoyasiga etadi.[1] Avtoklavda 100^{0}C ga

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

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

Filtrlash usulida sterillanuvchi suyuqlik bakteriologik filtrlardan (38-rasm) o'tkaziladi. Qattiq – keramikali (silindr shaklli Shamberlan, Berkefeld), asbestli (plastina ko'rinishida Zeyts, F_2 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'yektlardagi mikroblarni o'ldirishdan iborat. Antiseptiklar (yod, vodorod peroksidi, kaliy permanganat, brilliant yashili va h.k.).

33-rasm. Quritgich shkaflar:
1-elektrli yumaloq; 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 shkaflarda sterillash vaqti: 160^0 da – 2 soat 170^0 da – 1,5 soat 180^0 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** (100^0C dan yuqori bo'lmagan haroratda). Kox apparati 100^0C 30–40 min. 3 kun. a) tindalizatsiya (suv hammomida 100^0C dan past haroratda bo'lib-bo'lib sterillash) $70–80^0$C – 3 kun $60–65^0$C – 5 kun $56–58^0$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^{0}C 1 atm – 120-121^{0}C 1,5 atm – 124-126^{0}C 2 atm – 132-133^{0}C 4. **Pasterizatsiya.** Maxsus pasterizatorlarda 80^0C da 30 min qizdirib tezda (4–8^0C cha) sovutiladi – sut, go'sht, baliq va sabzovot konservalari.	Suyuqliklar quyidagi filtrdan o'tkaziladi: 1) Shamberlyan 2) Berkefeld 3) Zeyts 4) Membranali filtr (ultrafiltrlar) **Ultrabinafsha nurlari** bilan bakterisid lampalar yordamida boks, operatsiya xonalari havosi sterillanadi. **Ulrtatovush yordamida** (suv, sut, ba'zi teri xomashyosi mahsulotlari)	1 Oziq muhit, vaksina 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.

Antiseptika – kimyoviy dezinfektorlar bilan yara va boshqa obyektlardagi 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, sirtqi 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 inshootlarning chirishini oldini olish uchun qo'llaniladi[1].

Nazorat savollari:

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

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

8. Filtrlash usulida, Ultrabinafsha nurlari, Ultratovush bilan bilan sterillashning mohiyatini tushuntiring.

Test savollari:

1. Sterillash nima?

a) oziq muhitlarni buzilishdan saqlash

b) mikroblarni vegetativ shakllarini yo'q qilish

d) mikroblarni o'sishdan to'xtatish

e) mikroblarni vegetativ va sporali shakllarini to'liq yo'q qilish

2. Sterillash qanday talablarga javob berishi kerak?

a) mikrobni to'liq naslsizlantirish, materialni fizik-kimyoviy xususiyatlari saqlanishi kerak

b) mikrobni ma'lum vaqt o'sishdan to'xtatish, material rangini o'zgartirmasligi kerak

d) sterillash jarayonida pH o'zgarmasligi, faqat vegetativ shakldagi mikroblar yo'q qilinishi kerak

e) oziq muhitni ma'lum vaqt buzilmay saqlanishini ta'minlashi kerak

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

a) mumkin

b) mumkin emas

d) farqi yo'q

e) juda kam vaqtda

4. Sterillashning qanday usullari bor?

a) ultrabinafsha nurlari, yuqori bosim bilan

b) quruq, nam, issiqlik bilan

d) fizikaviy, kimyoviy

e) qaynatish, filtrlash, konservasiya qilish

5. Pasterizatsiya usulida mahsulot.

a) 90^0C da 20 daqiqa qizdiriladi

b) 65^0C da 45 daqiqa

d) 70^0C da 40 daqiqa

e) 80^0C da 30 daqiqa

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

a) avtoklav
b) quritkich shkaf
d) Kox apparati
e) sterilizator

7. Quruq issiqlikda sterillash uchun nimalardan foydalaniladi?

a) Kox apparati
b) olov, qurutgich shkaf
d) avtoklav
e) S filtrlar

8-mavzu. 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 mikrobga 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 mikrob 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^{0}C gacha sovutilgan GPA 10–15 ml dan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadan alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotgandan so'ng, kosachalar to'nkarilib 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 (43-rasm). Suv, sut, tezak va h.k. materiallarni tekshirishda qo'llanadi.

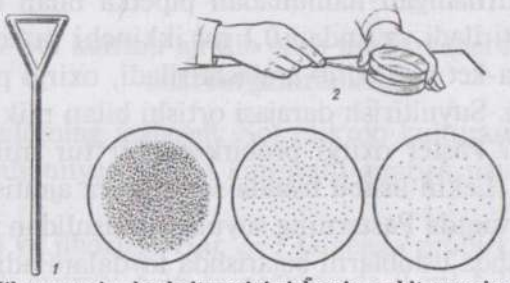
Drigalskiy usuli 5–6 GPAli Petri kosachalari olinadi. Birinchi kosachadagi muhit markaziga bir tomchi tekshiriladigan material tomdirib shisha shpatel bilan muhit yuzasiga surtiladi (41-rasm).

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 (42-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

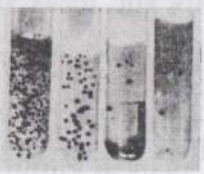
Sof kultura ajratish usullari



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



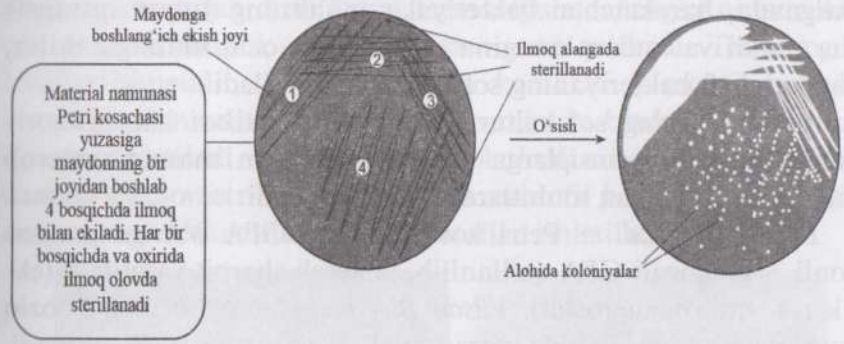
42-rasm. Mikroorganizmlar kulturasini zich oziq muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish.



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

4-bosqichda zigzag va shtrix chiziqlar ko'rinishida ekiladi. Har bir bosqichda va oxirida ilmoq olovda sterillanadi. Chunki

zigzag va shtrix chiziqlar kesishmasida har bir bosqichda material miqdori kamayadi hamda steril ilmoqga ilinadi. Natijada oxirgi bosqichda ekmalarda alohida koloniyalar osib chiqadi (44-rasm)[1].



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

Fizikaviy usul – ko'pincha bakteriyalarning sporali shakllarini, sporasizlaridan ajratishi uchun qo'llaniladi. Tekshirilayotgan material suspenziyasi 80^0C da 30–40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o'ladi, sporalar qoladi. Tekshirish Drigalskiy yoki Kox usullarida davom ettiriladi.

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

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

[1] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.13.

ichki organlaridan oziq muhitlarga ekilganda patogen mikrobning sof kulturasi ajraladi.

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

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

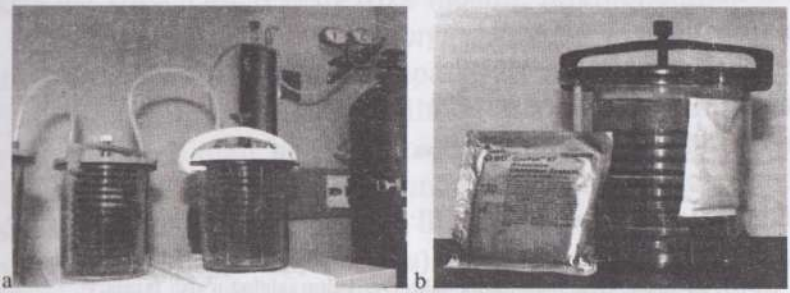
Drigalskiy usuli – Petri kosachalarida GPA o'rniga maxsus qonli – glukozali GPA qo'llanilib, anaerob sharoit yaratiladi (eksikator, mikroanaerostat). *Vilson-Bler muhitiga ekish usuli* – oziq muhitda alohida-alohida qora rangli koloniyalar o'sib chiqadi. Ularni Kitt-Tarossi muhitiga qayta ekkanda sof kultura ajratiladi. *Biosinov usuli* – tekshirilayotgan material yoki aralash kultura bilan moyil laboratoriya hayvonlari zararlanganda, ular kasallanib o'ladi. Patalogoanatomik yorib, ularning ichki organlaridan Kitt-Tarossi muhitiga, yarim suyuq agar yoki qonli – glukozali agarga ekib, yuqorida ko'rsatilgan sof kultura ajratish usullaridan birini qo'llagan holda patogen anaeroblarning sof kulturasi ajratiladi.

Mikroorganizmlarni o'stirish. Laboratoriya sharoitlarida o'stirilgan mikroorganizmlar mikrob kulturalari deb ataladi. Kulturani olish uchun tekshirilayotgan material(qon, to'qimalar emulsiyasi, shish suyuqligi, yiring, sut va h.k.) probirka, kolba yoki petri kosachalarida steril oziq muhitlarga ekiladi va ma'lum vaqtda termostatga joylanadi. Termostatda har xil guruh mikroorganizmlar uchun kerak bo'lgan harorat (37–38^{0}C; 26–30^{0}C; 22–25^{0}C) doim saqlanib turadi.

Mikroorganizmlarni o'stirish uchun jihozlar. Termostat 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.



45-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-mon-

ometr millimetr Simob ustunida(0dan 760 gacha) ko'rsatadi. Anaerostat ekmalar bilan termostatga qo'yiladi (45-rasm)[1]

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



46-rasm. Oziq muhitlarda bakteriya kulturasining o'sish fazalari[2].

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 boshlana-

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

[2] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.4.

di, 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 (46-rasm).

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

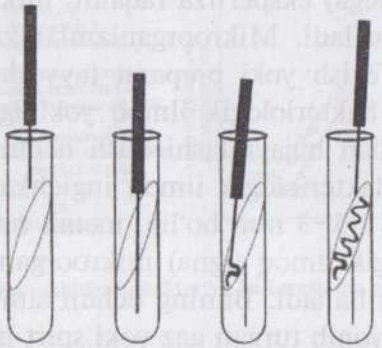
Ekishdan avval maxsus moyqalam bilan probirkaga (kolba yoki Petri kosachasiga) ekspertiza raqami, mikroorganizm nomi va ekish sanasi yoziladi. Mikroorganizmlar zich oziq muhitda o'stirilgan bo'lsa, ekish yoki preparat tayyorlash uchun bakteriologik material, bakteriologik ilmoq yoki igna bilan olinadi;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

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, gorel-

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

ka alangasida qizdiriladi. So'ngra ilmoqni qo'yib yubormay, mayda va nomsiz barmoqlar bilan paxta-dokali tiqinning tashqi tomoni kaftga bosilib, tiqin probirkadan olinadi. Ochiq probirkaning chetlari alanga ustida yengilgina qizdiriladi, probirkaga steril ilmoqni kiritib, kamroq mikrob massasi olinadi va ilmoq probirkadan chiqariladi. Probirkaning chetlari yana gorelka alangasida qizdiriladi, keyin paxta-dokali tiqinning ichkariga kiradigan tomoni ham alangadan o'tkazib olinadi va probirka yopilib, shtativga qo'yiladi.

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



47-rasm. Zich oziq muhitga ekish usuli[1].

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 xloramin-

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

ning suvdagi eritmasi yoki 3–5% li fenolning suvdagi eritmasi) eritmaga solinadi.

Mikroorganizm hujayralarini bir muhitdan ikkinchisiga ekish, qayta ekish uchun chap qo'lga ikkita probirka – birida oziq muhit bor (o'zingizdan uzoqda), ikkinchisida – mikroorganizmlar 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 mikrooarganizmlar 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 (47-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.

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

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

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

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

shi xarakterlidir. Pigment hosil bo'lish zich oziq muhitlarda yaxshi namoyon bo'ladi. Bunda harorat ham ahamiyatga ega; ko'pchilik turlar uchun 25–30^{0}C optimum hisoblanadi. Havo kislorodi va yorug'lik nurlari ham ma'lum darajada ta'sir etadi.

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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Sof kultura ajratishni Paster va Kox usullarining farqi.

a) suyultirish darajasida
b) haroratida
d) oziq muhitida
e) kultura miqdorida

2. Sof kultura nima?

a) bir xil patmaterialdan ajratilgan kulturalar
b) kultural xususiyatlari o'xshash mikroblar
d) morfologik o'xshash mikroblar
e) 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

d) Rebiger, Kox, Muromsev, fizikaviy, biologik
e) Kimyoviy, Drigalskiy, Auyski, Kozlovskiy

4. Anaeroblarni sof kulturasini ajratish usulini aeroblardan farqi.

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

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

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

9-mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni bakteriyalarning suyuq va zich oziq muhitlarda o'sish xususiyatlari bilan tanishtiradi. Ularga vazifa beradi: mikrob kulturalarini ko'zdan kechirib – makroskopik va mikroskopik (obyektiv 8 yoki lupa bilan) tekshirish. Mikrob kulturasi Petri kosachasida tanlangan mikrob koloniyasini maxsus qalam bilan belgilab tekshiriladi: a) sxema bo'yicha b) toza oziq mu-

hitlarga 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 xususiyatlarini o'rganadi.

Laboratoriyada har bir ajratilgan sof mikrob kulturasi 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'shilib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z, mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanadi – ko'p, o'rtacha, kam. Keyin koloniyalar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. *1. Shakli* – to'g'ri (oval, yumaloq), noto'g'ri (ildizsimon, yulduzsimon, amyobasimon, shoxlangan va h.k. (48-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 – 1 mm gacha bo'ladi. *3. Chetlari* – to'g'ri (S–shakl), g'adir-budir (R–shakl), to'lqinsimon, popukli, arra tishli, jingalak (50-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. (49-rasm). *7. Yuzasi* – silliq, g'adir-budir, unsimon, ajinsimon, qavat-qavat. *8. Konsistensiyasi*

– zich, ushoqsimon, quruq, yarim suyuq, xamirsimon, shilimshiq, kukunsimon, yog'li. *9. Tuzilishi* – bir xil, sertola, donador, pardali (51-rasm). *10. Hidi* – yo'q, bor (nimani eslatadi?).

Biokimyoviy xususiyatlar.

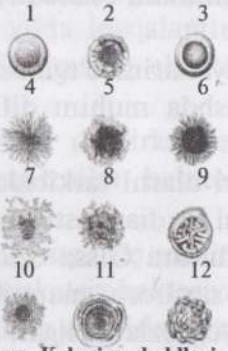
Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish infeksion kasallik qo'zg'atuvchilarini aniqlashda muhim differensial diagnostik usul hisoblanadi.

Bakteriyaning saxarolitik xususiyatlari ularni tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlari bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning uchun kultura Gissa oziq muhiti (tarkibida – glukoza, laktoza, maltoza, saxaroza, mannit, dulsit, arabinoza, sorbit va h.k. bo'ladi) steril yog'sizlantirilgan sut, lakmusli sut, metilen ko'ki qo'shilgan sutlarga ekiladi. Termostatda o'stirib, uglevodlarni fermentatsiya qilish natijasi hisobga olinadi. Muhit rangi qizaradi – uglevod parchalanib kislota va gaz hosil bo'ladi (53-rasm). Bu maqsadda uglevod va indikatorlar qo'shilgan yarim suyultirilgan agar, shuningdek, Endo, Levin, Ploskirev zich oziq muhitlari ishlatiladi.

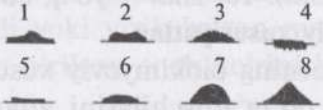
Proteolitik xususiyatlarni ko'pincha GPJ ga kulturani tik ekib o'rganiladi. Bakteriya fermentlari ta'sirida jelatina proteolizga uchrab, muhitda erish (suyulish) paydo bo'ladi. Har xil turdagi mikrob jelatinani eritishi har xil bo'ladi. Ba'zisi voronka, ba'zisi xaltachadek, paypoqsimon va h.k. (52-rasm). 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 coat termostatda o'stirgandan keyin uni rangsizlantiradi.

Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.



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



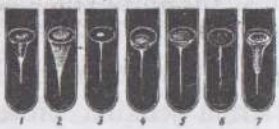
49-rasm. Koloniyaning yon tomonidan ko'rinishi (profile): 1-egilgan; 2-kratersimon; 3-g'adir-budir; 4-substratga o'sib kirgan; 5-te-kis; 6-bo'rtiq; 7-tomchisimon; 8-konus-simon. 8-konussimon.



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



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





52-rasm. Jelatina erishining har xil shakllari.

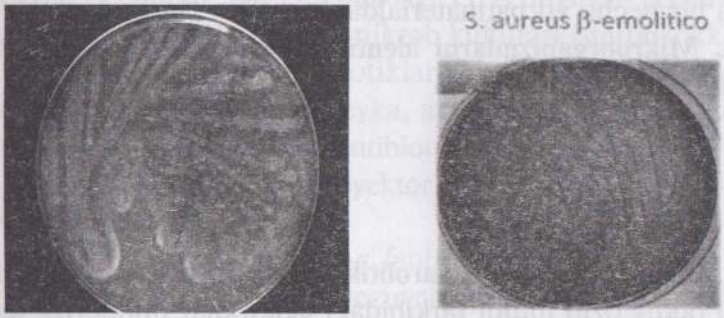


53-rasm. Naychada gaz to'planishi: 1-gaz hosil bo'lgan; 2-gaz hosil bo'lmagan.

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

vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi. Gaz pufakchalarining ajralishi (har xil darajada) katalazaning borligidan dalolat beradi.

Gemolitik xususiyatlar. Ba'zi bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida, eritrotsitlarni lizisga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar–gemotoksinlar hosil qiladi. U eritrotsit qobig'ini parchalaydi. 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 (54-rasm).



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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Kultura nima?

a) o'simliklar bargidan ajratilgan mikrob

b) bakteriyalar aralashmasi

d) hayvonlar organizmida uchraydigan bakteriyalar to'plami

e) 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

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

e) bir necha xil patmaterialdan ajratilgan mikroblar

3. Mikroorganizmlarni identifikasiyalashda qanday kulturalar ishlatiladi?

a) 4–5 kunlik

b) yosh (16–48 soatlik)

d) 4–5 soatlik

e) 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

e) 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 sulfat kislota eritmasi

b) har xil foizdagi yod eritmasi

d) har xil foizdagi xlorid kislota eritmasi

e) har xil foizdagi vodorod peroksid eritmasi

6. Bakteriyaning proteolitik xususiyatlari qanday o'rganiladi?

a) GPJ ga kulturani tik ekib

b) suyuq oziq muhitga ekib

d) vodorod peroksid qo'shib

e) eritrositlarni kulturaga aralashtirib

7. Gemolitik xususiyatli kultura

a) gemokulturani o'ldiradi
b) gemotoksinlar hosil qilib, eritrositlarni lizisga uchratadi
d) eritrosit qobig'ini parchalamaydi, bujmaytiradi
e) qonning barcha shaklli elementlarini parchalaydi

10-mavzu. 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, mikrob kulturasi (stafilokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskli flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik disklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli jadvallar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

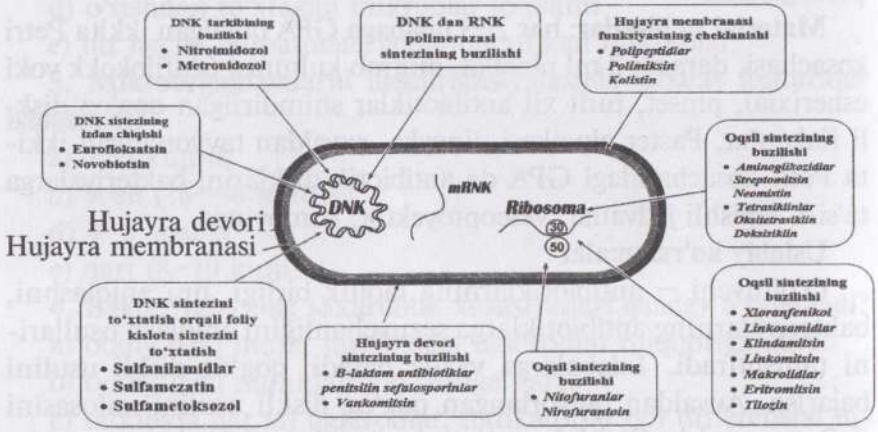
O'qituvchi – antibiotiklarning faollik birligi, uni aniqlashni, bakteriyalarning antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash usullarini tanishtiradi. Talabalarga vazifa beradi: qog'oz diskli usulini bajarish. Avvaldan tayyorlangan qog'oz diskli usulini xulosasini daftarga yozish. O'sishdan to'xtash zonasini 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 hugayraning tarkibiy qismlariga tanlab ta'sir etadi va bakteriyaga turlicha shikast yetkazadi. Ba'zilari

hujayra DNK, RNK siga, ribosoma, hujayra devoriga ta'sir etsa, boshqalari oqsil sintezi va h.k larga salbiy ta'sir etadi (55-rasm). 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.

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



55-rasm. Antibakterial preparatlarning hujayraga ta'siri.[1]

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

[1] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.18.

ga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent og'irlik miqdori xalqaro ta'sir birlik (XTB) deyiladi.

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

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

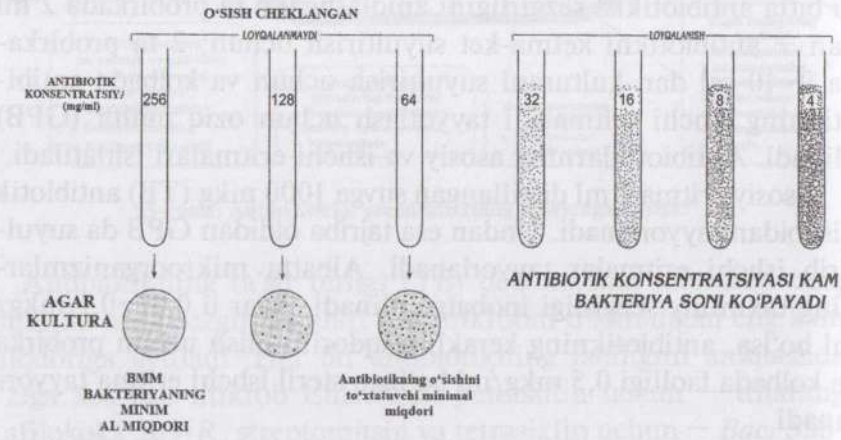
2. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar) usuli.

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 mikrobni bitta antibiotikka sezgirligini aniqlashga: 6 ta probirkada 2 ml dan – antibiotikni ketma-ket suyultirish uchun; 2 ta probirkada 9–10 ml dan kulturani suyultirish uchun va kolbada antibiotikning ishchi eritmasini tayyorlash uchun oziq muhit (GPB) olinadi. Antibiotiklarning asosiy va ishchi eritmalari ishlatiladi.

Asosiy eritma 1 ml distillangan suvga 1000 mkg (TB) antibiotik hisobidan tayyorlanadi. Undan esa tajriba oldidan GPB da 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

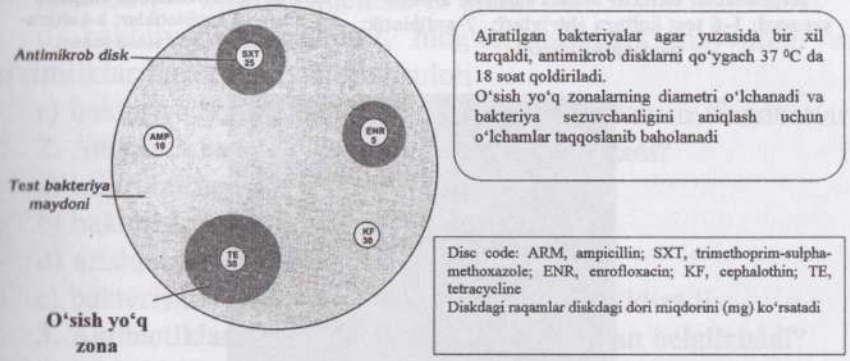
mkg bo'ladi. Zich oziq muhitda aniqlash uchun 6 ta probirkada antibiotik bir qator suyultiriladi: 400, 200, 100, 50, 25 va 12,5 mkg /ml. Har bir probirkadan 1 ml steril Petri kosachasiga quyib, ustidan 19 ml dan (550C) eritilgan GPA qo'shiladi va sekin chayqatib aralashtiriladi. Natijada Petri kosachalarida antibiotikning miqdori 20 marta kamayadi: 20,10, 5, 2,5, 1,25 va 0,6 mkg. Muhit qotguncha stolda turadi. Antibiotik suyultirilgan oziq muhitli probirkalarga yoki Petri kosachalariga 16-18 soat o'stirilgan aniq konsentratsiyali (10000 mikrob/ml) mikrob kulturasi 0,2 ml dan ekiladi. So'ng probirkalarning 1 ml da 1000 ta mikrob bo'ladi. Termostatda 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdorini, yonidagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdoriga qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakteriostatik miqdorini ko'rsatadi. Demak, antibiotikni suyultirish usulida bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdori aniqlanadi (56-rasm).



56-rasm. Suyuq oziq muhitda antibiotikni bir qator suyultirish usulida bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdorini aniqlash.[1]

[1] 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 perpendikulyar shtrixlar, agarli qoliplar, standart antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar usullarida bajariladi (57-, 58-, 59-rasm). Antibiotikli standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalariga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so'ng, 1 ml 1 milliardli tekshiriladigan mikrob kulturasi muhit yuzasiga bir tekis surtiladi. Ortiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalar 37^0C da 15–40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklarni steril pinset bilan kosachalar chetidan va bir-biridan 2 sm masofada o'rnatib, ustidan sekin bosiladi. Kosachaning markaziga ham bir dona disk o'rnatiladi. Har bir diskni o'rnatgandan keyin pinsetni alangada sterillash lozim. Kosachalar uy haroratida 2–3 soat, keyin 16–18 soat termostatda saqlanib, natijasi diskka qo'shib aniqlanadi: uning atrofida mikroblar o'smagan hududning diametri lineyka bilan o'lchanib, mm larda ifodalanadi (60-rasm).



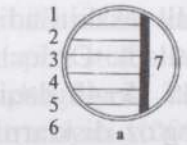
57-rasm. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar) usulida kulturaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.[1]

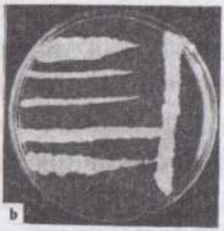
Natija quyidagicha baholanadi: o'smagan hududning diametri 15 mm gacha bo'lsa mikrob antibiotikka kam sezuvchan; 15–

[1] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.20.

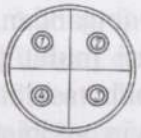
25 mm sezuvchan; o'smagan hudud bo'lmasa sezuvchan emas. O'smagan hudud diametri qancha katta bo'lsa, bakteriyaning ushbu antibiotikka sezuvchanligi shuncha yuqori bo'ladi.

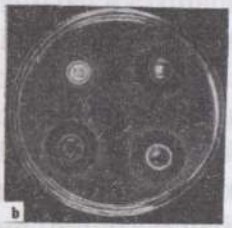
Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash



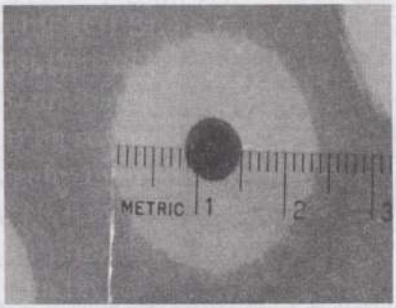


58-rasm. Kulturalarni antibiotiklarga seziluvchan perpendikular shtrixlar usulida aniqlash: a-ekish sxemasi; 1-6 test kultura shtrixlari; 7-antibiotik; b-ularning o'sishi.





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



60-rasm. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash natijasini baholash.[1]

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

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?

Test savollari:

1. Antibiotik nima?

a) hayvonlar organizmidagi mikroblarni o'ldiruvchi vosita

b) makro – mikroelementlar to'plami

d) bakteriya, aktinomiset, mog'or, lishaynik, hayvonlar va o'simliklar hayot faoliyati mahsuloti

e) bakteriya, zamburug'lardan olinadigan vitamin, fermentlar

2. Antibiotiklar mikroblarga qanday ta'sir qiladi?

a) mikrobning shaklini o'zgartiradi

b) bakteriostatik, bakterisid ta'sir etadi

d) anabiozga uchratadi

e) bakteriyalarni rivojlanishdan to'xtatadi, o'ldiradi

3. Antibiotiklarning biologik faolligi nima bilan belgilanadi?

a) ta'sir birlik

b) eritma konsentrasiyasi

d) eritmaning miqdori

e) eritma tarkibi va hajmi bilan

4. Penisillinning faolligini aniqlashda qaysi testmikrob ishlatiladi?

a) Bac. subtilis

b) tilla rang stafilokokk 209-R

d) E. coli

e) salmonella

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

a) antibiotik miqdori bilan o'lchanadi

b) diffuzlanish darajasi aniqlanadi

d) o'sish yo'q hudud diametri o'lchanadi

e) antibiotikning agarga nisbati bilan o'lchanadi

11-mavzu. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

Sof kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlashga «biosinov» deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararsizligi ham biosinovda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan mikrobning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikrobning 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 hayvonlarning ko'p qismini mikrobga sezuvchanligini ko'rsatadi. Dcl esa chidamli mikrob turlarining sezuvchanligini ko'rsatadi.

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

Rid va Mench usulida LD_{50} 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 aniqlanadi. Masalan, minimal dozada 10-6 zararlangan 6 ta sichqon tirik, ammo katta dozada zararlangandan keyin tirik qolgan barcha sichqonlar ham o'lmasligi mumkin edi. Demak, 10-6 dozada kumulyativ ko'rsatkich: 6+5+4+1=16 ta sichqon. Boshqa dozalar uchun ham ko'rsatkichlar shu tarzda aniqlanadi. Kumulyativ ma'lumotlarga asoslanib, har bir dozada zararlaganda o'lgan sichqonlar foizi hisoblanadi. Tajribada hech qaysi doza zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmagan, uni topish uchun matematik hisoblash kerak. Misolimizda LD_{50} 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 logarifmiga ko'paytiriladi (faktor=10, 1 g=1). U 1 ga teng. Uni 10^{-4} dan ayirsak LD_{50} kelib chiqadi.

Rid va Mench usulida LD_{50} ni hisoblash

1-jadval

Bakteriya suspenziyasi miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma'lumotlar		Kumulyativ ma'lumotlar			
		o'ldi	tirik	o'ldi	tirik	O'lganlarini zararlanganlariga nisbati	o'lim %
1	2	3	4	5	6	7	8
10^{-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

$\frac{50-37,5}{88-37,5} = 0,243$ (proporsionallik faktori).

$0,243x1=0,243,\ 4,0-0,243=3,756$

Demak, $LD_{50}= 10^{-3,756}$. Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakteriya suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun logarifmik jadvaldan foydalaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun 10^9/ml bakteriya suspenziyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda, $LD_{50}= 10^{-9}x0,5:5747=87000$ 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 hay-

vonlar 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^{0}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 dezinfeksiyalanadi. 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.

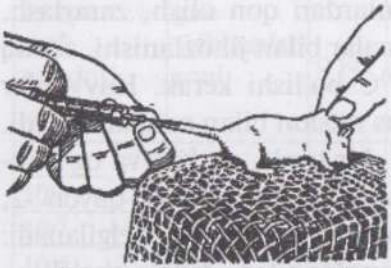
Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari

1. Teri yuzasiga (skarifikatsiyalash) – skalpel bilan teri yuzasi tirnaladi 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 (64-rasm), oq sichqon va kalamushning dumg'ozasiga 1–10 ml yuboriladi.

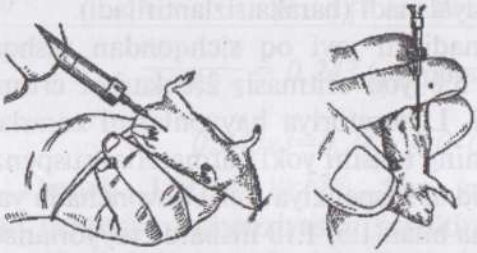
4. Mushak orasiga – ko'pchilik hayvonlarning soniga(ichki tomondan), kabutar va tovuqlarning ko'krak mushagiga(to'shiga), oq sichqonga 0,5 ml, dengiz cho'chqasi va kalamushga 3–5 ml, quyonga 5–8 ml yuboriladi.



61-rasm. Sichqonning venasidan zararlanishi.



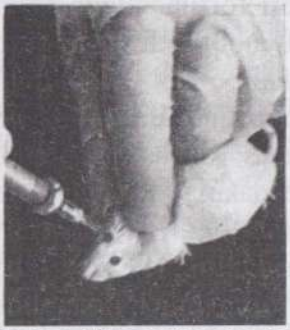
62-rasm. Quyonni quloq venasidan zararlash.



63-rasm. Qorin bo'shlig'idan zararlash. a—katta, b—yosh sichqonga.



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



65-rasm. Sichqonning miyasiga zararlash.



66-rasm. Quyonning miyasiga zararlash.

5. Qorin bo'shlig'iga laboratoriya hayvonining boshini past-ga 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 (63-rasm).

6. Qon tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (62-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (61-rasm), dengiz cho'chqasining to'g'ridan-to'g'ri yuragiga zararlanadi. Quyon, sichqon, kalamushlarni yuboriladigan yeri issiq suv yoki ksilol bi-lan ishlov beriladi. Shunda venalar qonga to'lib yaxshi ko'rinadi.

7. Bosh miyaga – quyonlarning ko'z ustidagi suyagi bitmagan joyiga (66-rasm), sichqonga esa shpris ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (65-rasm).

8. Burunga – oldin hayvonning burniga efir bilan namlan-gan paxta tutib narkozlanadi, keyin pipetka bilan material burni-ga tomdiriladi.

9. Og'iz orqali zararlash – patmaterial ovqat, suv bilan ara-lashtirib 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 ush-lab, 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.[1]

Nazorat savollari:

1. Hayvonlarni zararlab, biosinov qo'yishdan maqsad nima?

2. Mikroorganizmlarning virulentligi qanday shartli belgila-nadi?

---

[1] Ruzikulova U.X. «Kavshovchi hayvonlarda pasterelloz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish» mavzusidagi Magistr akademik darajasini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. – Samarqand. 2014-Y.

3. Rid va Mench usulida LD_{50} ni aniqlash.

4. Laboratoriya hayvonlarning turlari va ullarni 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?

Test savollari:

1. Laboratoriya hayvonlarini zararlashdan maqsad nima?

a) kasallikni klinik belgilarini kuzatish, qarshi kurash chora-tadbirlarini ishlab
chiqish

b) kulturaning patogenligini, hayvonni mikrobga chidamliligini aniqlash

d) biosinov qo'yish, biopreparatlar sifatini aniqlash

e) patmateriyaldan qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratish, kulturaning patogenligini sinash, vaksina, immun zardoblar samaradorligini aniqlash

2. Mikrobning virulentlik xususiyatlari qanday birlikda o'lchanadi?

a) D cl – 100%, LD_{50}, ZD_{50}

b) D cl – dosis certae letalis

d) LD_{50}, TB

e) ZD_{50}, TB

3. Teri orasiga zararlashda necha ml material yuboriladi?

a) 0.5 ml

b) 0.2 ml

d) 0.25–0.5 ml

e) 0.5–1 ml

4. Qorin bo'shlig'iga zararlashda hayvon qanday fiksatsiyalanadi?

a) belini yengil orqaga qayirib

b) gorizontal holda

d) boshini pastga qaratib

e) qulog'i va belini ushlab gorizontal qo'yiladi.

5. Burunga zararlash usuli qanday bajariladi?

a) avval burnini tozalab, material tomdiriladi va paxta bilan yengil yopiladi

b) pipetka bilan material tomdirib, burni qisib turiladi

d) pipetka bilan material tomdirib, 5 soniya qimirlatmay ushlab turiladi

e) avval narkoz berib, keyin pipetka bilan material tomdiriladi

12-mavzu. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologik materialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Diagnostik tekshirishda mikrobning sof kulturasini ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobni atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dez-

infeksiyalanadi, steril asboblar bilan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (67-rasm), terisi mushagidan ajratiladi. Teriosti 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. Parenximatoz 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, asboblar sterillanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan qafas dezinfeksiyalanib, qolgan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash. 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 (bakte-

riologik tekshirish uchun rezina tiqin bilan yopilgan probirkalarda 15 ml 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 (68-rasm). Mustahkam yopib muhrlanadi va taxta yashikka joylanadi.

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

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

Laboratoriyada konservatsiya qilinmagan materialni 4^0C da 1–2 sutka, 50% li glitserinda konservatsiyalanganini bir necha hafta saqlash mumkin. Uzoq saqlash uchun material $-15–20^0$C da 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

d) yoriladi va patanatomik tekshiriladi

e) 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

d) aseptika, antiseptika qoidalariga

e) tashqaridan mikrob 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

d) olingan materialdan oziq muhitlarga ekiladi, surtmalar tayyorlab, bo'yaladi, mikroskopda ko'riladi

e) bakteriologiya, biosinov, mikroskopiya usullari bajariladi

4. Patmateriyalni laboratoriyaga yo'llashda qanday hujjat rasmiylashtiriladi?

a) yo'riqnoma

b) ko'rsatma

d) dalolatnoma

e) yo'llanma

5. Patologik material olishda nimalar inobatga olinadi?

a) mikrobning tropizmi va joylashishi

b) patmaterialdagi o'zgarishlar

d) materialning ifloslanish darajasi

e) materialning yangi yoki eskirganligi

13-mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O‘qituvchi talabalarni AR ning 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 antitelalarning o‘zaro maxsus reaksiyalari yotadi[1].

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

Antitelo – qon zardobi globulinli fraksiyasining yuqori molekulali maxsus oqsillari(immunoglobulinlar). Antigen va antitelolarning *in vitro* o‘zaro ta’siri bo‘yicha – cho‘kmali(agglutinin, pretsipitin), erituvchi (bakteriolizin, gemolizin) va neytrallovchi (toksinlarni 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. Mikrob hujayrasining antigen tuzilishiga bog‘liq ravishda – O - somatik antigenlar mayda donador, xivchinli H-antigenlar yirik donador cho‘kma paydo qila-

[1] Кисленко В.Н., Количев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 2. Иммунология. –М.: КолосС, 2006 г.

di. 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[1].

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

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

Y.sh.h. zardobi 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbatda suyultiriladi. Shtativga birinchi qatorga 5 ta probirka terib, raqamlanadi. Birinchisida asosiy suyultirish nisbati 1:25 tayyorlanadi: 0,1 ml zardob+2,4 ml fiziologik eritma. Qolgan to'rtta probirkalarga bir xilda 1 ml dan fiziologik eritma quyiladi. Keyin maxsus pipetkada ketma-ket suyultiriladi – asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan 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 (69-rasm).

Har bir komponent uchun alohida pipetka ishlatiladi. Probirkalar yaxshilab silkitib aralashtiriladi va 37^0C 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.

---

[1] Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: КолосС, 2005.с.110–114

Natijani hisobga olish(70-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

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

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

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

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

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

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

Tomchili AR usuli. Mikrob turini aniqlash va uni farqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun buyum oynachasiga aniq maxsus zardob va fiziologik eritmadan (nazorat uchun) alohida tomchilar olinadi. Har bir tomchiga tekshirilayotgan mikrob bakterial ilmoqda olib qo'shiladi, aralashtiriladi. 5–10 daqiqada natija aniq bo'ladi. Ijobiy natijada suyuqlik tiniq, cho'kma donador bo'ladi. Bu usulda ko'proq kolibakterioz, salmonelloz qo'zg'atuvchilari tipizatsiya qilinadi (71-rasm).

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

Sut halqali reaksiya.Y.sh.h. brutsellozga tekshirishda ishlatiladi. Probirkalarga 2–3 mldan sut olib, 0,2 ml dan (2 tomchi) gemotoksilin bilan bo'yalgan antigen qo'shiladi. Sut bir xil bo'yalguncha aralashtiriladi va 37^0Cda 45–60 daqiqa saqlanadi. Sutda antitelo bo'lsa, antigen-antitelo kompleksi hosil bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuzaga ko'tarilib ko'k halqa paydo

bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi, halqa hosil bo'lmaydi (72-rasm).

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. AR ning mohiyati qaysi bandda to'g'ri berilgan?

a) qon zardobidagi antitelo va maxsus antigen eritrosit bilan reaksiyaga kirishib cho'kma hosil qiladi

b) qon zardobidagi agglyutinin maxsus agglyutinogen bilan yopishib agglyutinat hosil qiladi.

c) antigen – antitelo kompleksi ko'zga ko'rinmaydigan cho'kma hosil qiladi

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

2. Qanday antigenlar farqlanadi?

a) oqsilli, polisaxaridli, molekulyar dispersli

b) yopishqoq, kompleks, polivalent

c) korpuskulyar, hujayrali, eruvchi

d) kimyoviy, genetik begona, turga oid

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

a) elektrolitli, kislotali, ishqorli

b) korpuskulyar, gemagglyutinasiyalovchi

c) tomchili, halqali, cho'kmali

d) cho'kmali, erituvchi, neytrallovchi

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

a) normal, sinovdagi, standart ijobiy zardob, standart antigen, fiziologik eritma

b) sinovdagi zardob, gipertonik eritma, gemolizin

c) fiziologik eritma, standart zardob va antigen

d) komplement, eritrosit, zardob, gemsistema

5. Sut halqali reaksiya qaysi kasallikni tekshirishda ishlatiladi?

a) salmonelloz

b) brutselloz

c) listerioz

d) tuberkuloz

14-mavzu. Pretsipitatsiya reaksiyasi (PR)

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

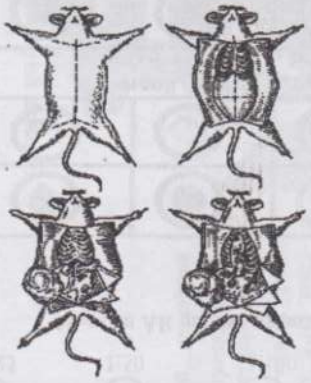
Material va jihozlar: Probirkalarda ekstraksiya qilingan antigen, maxsus antigen, pretsipitatsiyalovchi zardob, normal zardob, Ulengut probirkalari, ularga shtativ, Paster pipetkalari, rezina grushalar, Petri kosachalarida agar geli, eksikator, plakatlar, shtamp-o'yiqlar hosil qilish uchun, plakatlar,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

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.

Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash usullari



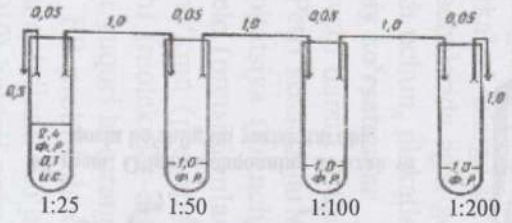
67-rasm. O'lgan sichqonning ko'krak va qorin bo'shlig'ini yorish tartibi.



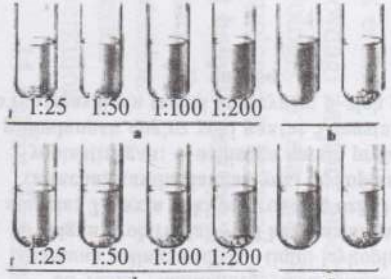
68-rasm. Patologik material namunalarini laboratoriyaga yo'llash uchun konteynerlar (fibrali va plastmassali).



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



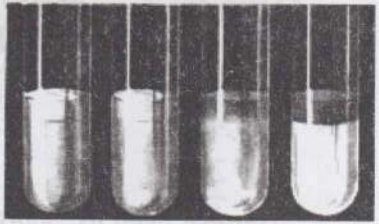
69-rasm AR qo'yish sxemasi..



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



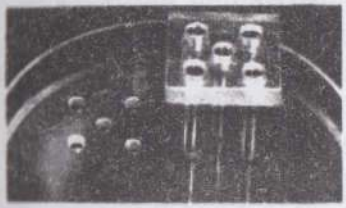
71-rasm. Plastinkali ARni baholash.



72-rasm. Sut halqalir eaksiya.a-manfiy; b-gumonli; c-ijobiy

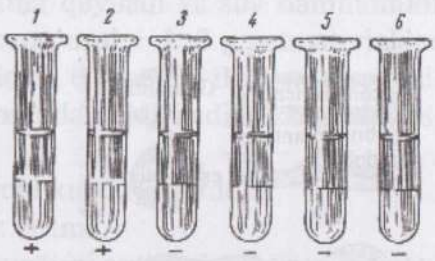
Presipitatsiya reaksiyasi



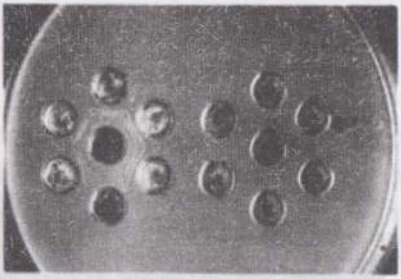




73-rasm. DPR qo'yish usullari.



74-rasm. Ijobiy pretsipitatsiya (Askoil) reaksiyasi.



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

KBR – komplement bog'lash reaksiyasi

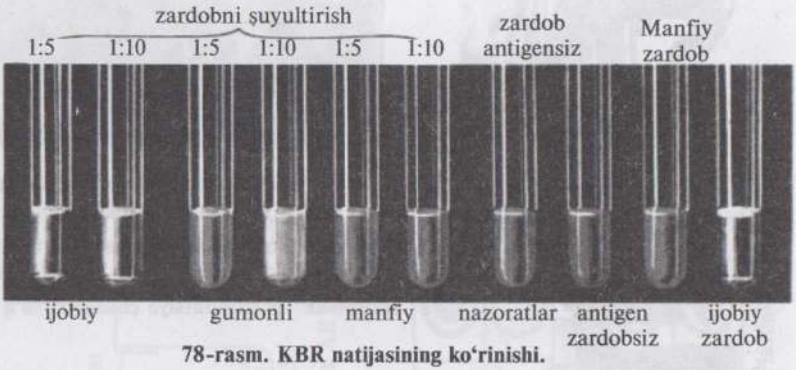


76-rasm. KBR sxemasi:

1-ijobiy; 2-manfiy



77-rasm. KBR sxemasi.



78-rasm. KBR natijasining ko'rinishi.

Komponentlar:

1. Ekstrakt – tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patologik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqiqa yoki 1

atm da 1 soat sterillanadi. Sovugach uni maydalab ekstraksiyalanadi. Ekstraksiyalashning ikki usuli bor:

a) issiq usul–maydalangan 1–2 g patmaterial probirkaga solinib, 1:10 nisbat fiziologik eritma quyiladi va suv hammomida 30–40 daqiqa qaynatiladi; b) sovuq usul – 1–2 g patmaterialdan 1:10 nisbatda 0,3% fenolli fiziologik eritma quyiladi va suspenziya tayyorlab 16–24 soat uy haroratida qoldiriladi. Ekstraktlar asbest paxta bilan filtrlanadi.

2. Standart pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobi.

3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.

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

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

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

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

Nazorat reaksiyasi.

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

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

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

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

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

Diffuzli PR. Buyum oynachasida yoki Petri kosachalaridagi 1% agar gelida qo'yiladi. Gel qotgach standart shtamp bilan o'yiqlar

qilinadi (73,75-rasm). Markazdagi o'yiqqa standart zardob, atrofidagilarga esa antigen namunalari Paster pipetkasi bilan quyiladi. U eksikatorda bir sutka termostatda turgandan keyin, bir xil antigen va antitelolar uchrashgan joyda kompleks hosil bo'lib, aniq pretsipitat chiziqlari ko'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
d) eruvchi antigenlar ishlatiladi, qo'yish texnikasi o'zgacha
e) 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

d) antigen, ekstrakt, qon, fiziologik eritma,

e) ekstrakt, standart zardob va antigen, normal zardob, fiziologik eritma

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

a) 2

b) 4

d) 5

e) 3

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

a) zardobni ekstrakt ostiga quyganda

b) barcha usullarida

d) antigenni zardob ustiga quyganda

e) 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

d) sterillash, maydalash, ekstraksiyalash, filtrlash

e) ekstraksiyalash, filtrlash, maydalash, sterillash

15-mavzu. Kompliment bog'lash reaksiyasi – KBR

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

Material va jihozlar: Shtativda toza probirkalar, darajalangan pipetkalar, flakonda fiziologik eritma, suv hammomi, aniq titrli gemolizin, antigen, kompliment; sinovli zardoblar 1:10 (56^0C da 30 daqiqa inaktivlangan), ijobiy, normal zardoblar, qo'y eritrotsitlari 1:40, tegishli jadvallar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

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

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

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

KBR komponentlari:

1. Tekshiriladigan qon zardobi – hayvonlardan olinadi.

2. Standart zardob (musbat natijali) – biofabrikalarda tayyorlanadi.

3. Normal zardob (manfiy natijali) – sog'lom hayvondan olinadi.

4. Kompliment(oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to'qima syuyqliklarining tarkibiy qismi)–biofabrikada dengiz cho'chqasining qon zardobidan tayyorlanadi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.

5. Antigen – aniq mikrobdan biofabrikada tayyorlanadi. Ularda seriya raqami, faolligi (titri) va qancha suyultirishi ko'rsatilgan bo'ladi.

6. Gemolizin – biofabrikada, qo'y eritrotsitlari bilan quyonni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda glitserin qo'shilgan bo'ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.

7. Qo'y eritrotsitlari 1:40 (2,5%) fiziologik eritmada tayyorlanadi.

8. Fiziologik eritma (0,85% li NaCl).

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish. Zardoblarni (tekshiriladigan, standart, normal) avval 1:10 nisbatda suyultirib, 56^0C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Shtativga tekshiriladigan qon zardoblarining soniga ko'ra (har bir zardob uchun 2-tadan) ikki qator probirkalar olinib, ularga (har bir qatordan bittadan) tekshiriladigan qon zardobidan 0,2 ml dan quyiladi. Nazorat uchun yana ikki juft probirkalar olinib, birinchi juftiga standart, ikkinchisiga – normal zardobdan 0,2 ml quyiladi. 1-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 37^0C da 20–40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriolitik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 ml dan 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	
37^0 C da 20 daqiqa suv hammomi							
Gem sistema	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
37^0 C da 20 daqiqa suv hammomi							
	GY	G	GY	G	G	G	GY

GY – gemoliz yo'q, G – gemoliz.

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

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

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

KBR natijasini baholash

(++++) – gemoliz yo'q eritrotsitlar to'liq nuqta shaklida cho'kmaga

tushgan, suyuqlik tiniq.

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

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

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

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

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

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

Zich fazali immunofermentli usul komponentlari:

1. Maxsus immunoglobulinlar (immun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho'ktirib, keyin tozalab olinadi).
2. Turga qarshi globulinlar (giperimmun zardobdan ammoniy sulfat bilan cho'ktirib, keyin tozalab olinadi).
3. Oqsil A (tillarang 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 perioksidi).
8. Detergent (sirtga faol moddalar: tvin – 20, – 80, triton X – 100, sorbital S – 20).
9. Immunologik planshet (shaffof polistiroldan tayyorlangan).
10. Shpris – dozator (peaksiya ingridientlarini quyish uchun).

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

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

Reaksiya bosqichlari:

1.Planshetni sensibillash. Planshet o'yiqchalariga maxsus antitelolar (immunoglobulinlar) yorlig'ida ko'rsatilgan ishchi eritmasi quyiladi. Planshet antitelolar bilan uch soat termostatda 37^0C da yoki 4^0C ga 18 soat qo'yiladi. Keyin planshetlar tvinli fosfat bufer eritmasi bilan 3-4 marta yuviladi. Eritmaning qoldiqlari filtr qog'ozga planshetni bir necha bor qoqib olinadi.

2. Antigen quyish. Maxsus antitelolar bilan sensibillangan planshet o'yiqchalariga nazoratli musbat va manfiy antigenlar hamda 1 : 10 dan 1 : 1280 nisbatgacha suyultirilgan sinovli namunani quyib, termostatda 37^0C da 1 soat undiriladi. Inkubatsiya muddati o'tishi bilan planshet o'yiqchalaridagi antitelo bilan bog'lanmay qolgan antigenlarni uch marta yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

3. Antigen + antitelo kompleksini aniqlash uchun suyultirmalarga qarshi peroksidazali turga kon'yugatni quyish. Kon'yugat quyib chiqilgach planshetlar termostatga 37^0C da 1 soat ga qo'yiladi. Keyin o'yiqchalarni uch marta tvinli fosfatli bufer bilan yuvib quritiladi.

4. Substratli aralashmani quyish. Reaksiya namoyon bo'lishi uchun planshet o'yiqchalariga substrat eritmasi(peroksidaza indikatori)– ortofenilendiamin quyiladi. Eritmaga antigen + antitelo – kon'yugat kompleksini aniqlash uchun 3% li vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi. Planshetlarni yopib qorong'i joyda yu haroratida 15–30 daqiqa qoldiriladi.

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

++++ – intensiv bo'yalgan ;
+++ – sabzi rangga bo'yalgan ;
++ – och sabzi rangga bo'yalgan;
+ – sariq rangga 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 rangga bo'yalsa (++), antigen titri hisoblanadi.

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

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

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

Bakteriyalarning genetikasini o'rganish. Gen zondlari usuli juda ko'p hollarda bakteriyalarni qiyoslashda ishlatiladi. Bu usul oddiy DNK – DNK gibridlashdan total DNK ni 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 DNK ni endonukleazalar bilan eritib, elektroforez yordamida DNK fragmentlari ajratiladi, transformatsiya usulida ularning genetik xususiyatlari aniqlanadi, DNK ning 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 DNK ni ajratib, radioaktiv izotop bilan belgilanadi, keyin bu belgilangan DNK tekshirilayotgan bakteriyaning DNK si 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.[1]

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 (95^0C da) denaturatsiyalash. Bunda juft asoslarni bog'lanishni hosil qilgan vodorod bog'lar parchalanib, DNK zanjirlari tarqalib ketadi, ya'ni bir zanjirli DNK hosil bo'lib praymeronlar DNK polimerazalar kirishi uchun yengillik paydo qiladi. Jarayonning davomiyligi 1 daqiqa.

2. Praymerlarni DNKni ikkita antiparallel zanjirlarining komplementar qismlariga o'tkazish (yumshatish). Praymerlar 20–30 nukleotidlardan iborat ikkita sintetik oligonukleotidlardir. Ularning har biri qo'zgatuvchi DNKsi tanlab olingan chegaralangan segmentlari qismida qarama-qarshi DNK zanjirlariga komplementar bo'ladi. Demak, praymerlar qo'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) avval o'zining komple-

[1] Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: КолосС, 2005.с.90.
Воробев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М., 2008 г. С.114.

mentar 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^{0}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, DNK ni 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 infeksion 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 aso-

sida 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 eritmalari (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: 90^0C – 1 daqiqa, 60^0C – 1 daqiqa, 72^0C – 1 daqiqa (5 sikl), 93^0C – 1 daqiqa, 57^0C – 1 daqiqa, 92^0C – 1 daqiqa (5 sikl), 93^0C – 1 daqiqa, 55^0C – 1 daqiqa, 72^0C – 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 maxsusli-

gini 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 usulida 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 xarakteristikalari 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

d) 3
e) 2

2. KBR da qanday holat namoyon bo'ladi?

a) bakteriolizis, gemoliz
b) agglyutinasiya, lizis
d) presipitasiya, toksigenlik
e) 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
d) komplement gemolizin eritrositlarni lizisga uchratadi
e) eritrositlar ishlatiladi

4. KBR natijasi musbat bo'lganda eritrositlar.

a) komplement bilan bog'lanadi
b) lizisga uchraydi
d) lizisga uchramaydi
e) 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
d) fiziologik eritma, normal zardob, antigen komplement
e) sinovdagi, standart, normal zardoblar, komplement, antigen, gemolizin, eritrositlar (2.5%), fiziologik eritma

16-mavzu. Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

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

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

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

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

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

Faolligi(immunogenligi) moyil hayvonlarga vaksinani yuborib, ma'lum (faol immunitet hosil qilish uchun yetarli) vaqt 15–20

kundan keyin, gomologik mikrob bilan letal dozada zararlanadi. Nazorat guruhidagi emlanmagan hayvonlarning 80% va undan ko'prog'i o'ladi, emlanganlari esa tirik qolishi kerak.

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

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

Tayyor zardob sterillikka, zararsizligiga, maxsus faollikka tekshiriladi.

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

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

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

Misol. Cho'chqalar saramasiga qarshi immun zardobning nazorati.

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

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

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

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

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

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

chiqariladi. Diagnostik zardoblar sterillik, faollik va maxsuslikka tekshirib nazorat qilinadi.

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

Diagnostik antigenlarni nazorat qilish:

– sterillik nazorati vaksina kabi bajariladi;

– antigenning optimal miqdori 1 mlda mikroblar soni bilan ifodalanadi va u serologik reaksiyalar uchun aniq ko'rsatiladi;

– antigenning faolligi serologik reaksiyalarda aniq maxsus zardob bilan aniqlanadi. Antigen aniq musbat natija berishi kerak. Ba'zan antigen titrlanib, ishchi titri aniqlanadi;

– antigenning maxsusligi ma'lum manfiy zardob bilan serologik reaksiyada aniqlanadi.

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

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

shiriladi (AR, KBR). *Faolligi* nazorati: 10–15 ta dengiz cho'chqalari terisi ostiga (0,25–1)109 *B. Melitensis Rev 1* shtammi hujayralari yuboriladi. 4 haftadan keyin 0,1 ml brutsellin va etalon allergen yuboriladi. 24 soatdan keyin reaksiya hisobga olinadi. Sinovdagi va etalon allergenlarga reaksiya bir xilda bo'lishi kerak.

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

Nazorat savollari:

1. Veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlarga nimalar kiradi?
2. Biopreparatlar qanday maqsadlarda ishlatiladi?
3. Diagnostikum, vaksina va davolovchi zardoblarning farqini ayting?
4. Biopreparatlarni veterinariya amaliyotida qo'llanilishini tushuntiring.
5. Biopreparatlarning sifati qaysi ko'rsatkichlarga tekshiriladi?
6. Vaksinalarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi.
7. Immun zardoblarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi.
8. Allergenlarning sterillik, zararsizlik, faolligi qanday aniqlanadi

Test savollari:

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

ko'rsatilgan?

a) diagnostikumlar, antizardoblar, vaksinalar, davolavchi zardoblar

b) diagnostikumlar, antibiotiklar, faglar, vaksinalar

d) antibiotiklar, giperimmin zardob, allergen, antigen

e) faglar, antigen, allergen, vaksinalar, antibiotiklar

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

a) sterillik, maxsuslik, pishiqlik
b) sterillik, zararsizlik, faollik
d) sterillik, zaharlilik, maxsuslik
e) zararsizlik, immunogenlik, ferment hosil qilishi

3. Vaksina sterillikka qanday tekshiriladi?

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

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

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

5. Diagnostikumlarga nimalar kiradi?

a) antizardoblar, antigenlar, allergenlar, faglar,
b) giperimmun zardoblar, suspenziya, eritrositlar, tuberkulin
d) diagnostik to'plamlar, bo'yalgan antigenlar, normal zardob
e) barcha biologik preparatlar

II-MODUL. VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANINING XUSUSIY QISMI

17-mavzu. Stafilokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Stafilokokklar – sharsimon shakldagi mikroorganizmlar bo'lib, Staphilococcus avlodiga mansub. Ularning 20 dan ortiq turlari bor. Hozirgi zamon klassifikatsiyasida patogenligi bo'yicha uch turga bo'linadi: *S.aureus* (79-rasm) – patogen; *S.epidermidis* – shartli patogen, teri va shilimshiq qavatlarda doimo uchraydi; *S. saprophyticus* – patogen emas stafilokokklar. Bu avlodning barcha turlari ichida hayvon va odamlarda har xil yiringli jarayonlarni – furunkul, karbunkul, flegmona, jarohatlarning yiringli yallig'lanishi, abssess, sepsis, septikopiyemiya, stafilokokkli mastitni chaqiradigan shtammlari mavjud. Stafilokokklarning patogen shtammlari odamlarning oshqozon ichak tizimiga tushib, oziqa toksikoinfeksiyasini chaqiradi. Chiritish xususiyatiga ega saprofit stafilokokklar xomashyo va oziq mahsulotlarini buzi-

lishiga olib keladi. Amaliyotda patogen (gemolitik) kokklar muhim ahamiyatga ega.

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

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

2. Bakteriologiya. Sof kultura ajratib, kultural xususiyatlarini o'rganish. Stafilokokklar – aeroblar, fakultativ anaeroblar. Oddiy oziq muhitlarda pH 7,2–7,8 yaxshi o'sadi. Stafilokokklar fizikaviy va kimyoviy faktorlarga ko'proq chidamli bo'lgani uchun ulardan dezinfeksiya sifatini aniqlashda test mikrob sifatida foydalaniladi. Stafilokokklar galofillar – 8–1% NaCl bor muhitda o'sadi.

Patmaterial – selektiv muhit tuz-qonli GPA (8-10% NaCl va 5% fibrinsizlangan qon qo'shilgan), GPB, GPA larga ekiladi. Ekmalar 37^0C da termostatda 12–24 soat o'stiriladi. GPB– loyqalanib, ko'p cho'kma tushadi. Halqa yoki parda hosil bo'lishi mumkin. GPA da yumaloq, uncha tiniq bo'lmagan, diametri 2–6 mm li koloniyalar paydo bo'ladi (81-rasm). Ularning rangi pigment hosil qilayotgan stafilokokk turiga bog'liq ravishda oqish, sarg'ish, tillarang bo'lishi mumkin. Qonli agarda koloniya atrofida gemoliz zonasini hosil qiladi (82-rasm). Eritrotsitlarning lizisi bakteriya gemotoksini tiplariga bog'liq – a, b, c, d va h.k. Bu ekzotoksinlar antigenlik va immunogenlik xususiyatlarga, shuningdek, letal, nekrotik ta'sirga ega.

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

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

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

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

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

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

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

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

Biopreparatlar: autovaksina (30 daqiqa 75^0C qizdirilgan kultura), bakteriofaglar.

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Gram usulida bo'yalgan preparatda stafilokokklarning ko'rinishi.

a) gr - uzun zanjirlar ko'rinishida joylashgan kokklar

b) gr +, to'p-to'p uzum shingili ko'rinishida joylashgan, harakatsiz kokklar

d) gr +, ikki tomoni botiq, 2–4 tadan joylashgan harakatsiz kokklar

e) gr +, spora, kapsula hosil qilmaydigan, bittadan, ikkitadan joylashgan sharsimon bakteriyalar

2. Stafilokokklar patogenligi bo'yicha necha turga bo'linadi?

a) 2

b) 4

d) 3

e) 6

3. Stafilokokkli infeksiyalarda patmateriyal qaysi mikrobiologik usullarda tekshiriladi?

a) barchasi to'g'ri

b) mikroskopiya, serologiya, DNK-aza faolligini aniqlash
d) serologiya, biokimyoviy, mikroskopiya
e) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov qo'yish

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

a) kristallviolet qo'shilgan GPA
b) kristallviolet qo'shilgan GPB
d) glyukozali qonli agar
e) GPJ, GPA, GPB

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

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

6. Stafilokokkli infeksiyalarda biosinov qaysi hayvonlarda qo'yiladi?

a) dengiz cho'chqasi, oq sichqon
b) oq sichqon, olmaxon
d) quyon, mushuk bolasi
e) barcha laboratoriya hayvonlarida

18-mavzu. Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

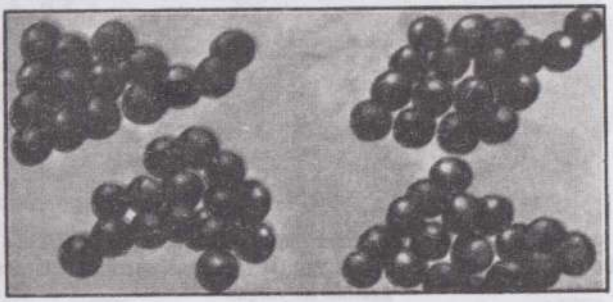
Yuqumli mastit qo'zg'atuvchisi. Yuqumli mastitni 80 dan ortiq mikrob turlari chaqiradi, ammo asosiy, juda ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi – *Str. agalactiae (Str. mastitidis)* va patogen stafilokokklar.

Patologik material. Klinik namoyon bo'lgan mastitda sut yelinning har bir zararlangan so'rg'ichidan alohida steril holda probirkalarga olinadi. Subklinik mastitda avval sut alohida idishga sog'ib tashlanadi, keyin, yelinni yuvib 700 spirt bilan dezinfeksiyalanadi va steril har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga sutning oxirgi porsiyalaridan(parenximali sut) sog'ib olinadi va og'zi yopiladi. Namunani 2 soatdan kechiktirmay tekshirish kerak.

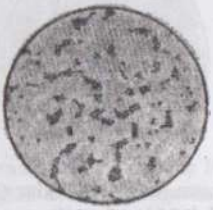
1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram, Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda *Str. agalactiae* grammusbat, kokklardan iborat uzun zanjirlar, agarli kulturadan tayyorlanganlari

qisqa zanjirlar shaklida joylashadi. Kokklar diametri 0,5–1 mkm. Harakatsiz, spora va kapsula hosil qilmaydi (84, 85-rasm).

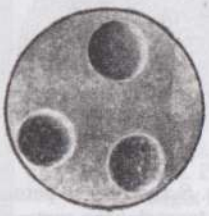
Stafilokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



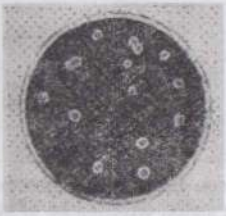
79-rasm. Stafylococcus aureus toza kulturada.\ Gram usulida bo'yalgan.



80-rasm. Stafilokokklarning toza kulturasi.



81-rasm. GPAda stafilokokk koloniyasi.

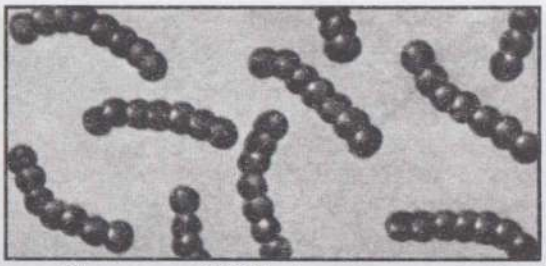


82-rasm. Stafilococcus aureus qonli agarda gemoliz hosil qilgan.



83-rasm. Stafilokokkning DNK-azali faolligi.

Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi



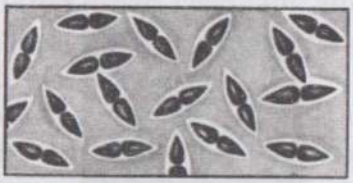
84-rasm. Strepococcus GPB dan tayyorlangan surtmada. Gram usulida bo'yalgan.



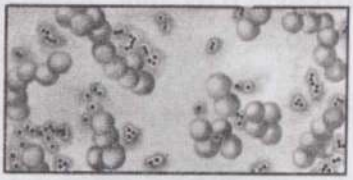
85-rasm. S.agalactiace petmateri-aldan tayyorlangan surtmada.



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



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



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

Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi



89-rasm. Pasterella GPB kulturasida tayyorlangan surtma.



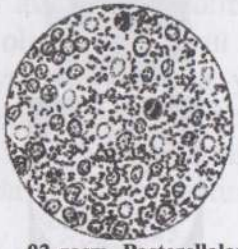
90-rasm. Pasterellaning S-shaklli koloniyasi-agarda.



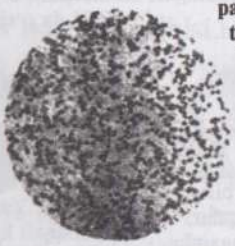
91-rasm. Pasterellaning R-shaklli koloniyasi-agarda.



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



92-rasm. Pasterellalar. Patologik materialdan tayyorlangan surtmada.



94-rasm. S-shaklli pasterella surtmasi.



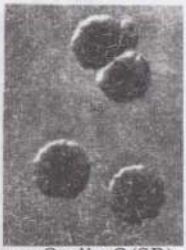
95-rasm. R-shaklli pasterella surtmasi.



96-rasm. Mikrobning S-shaklli koloniyasi (a,b);



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



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



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



100-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.



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

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

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

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

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

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

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

1. Mikroskopiya. Yiringdan tayyorlangan surtmalarda *Str.equi* kokklardan iborat uzun zanjir shaklida joylashadi. Bulon kulturasidan tayyorlangan surtmada zanjirlar qisqa bo'ladi, zich oziq muhitidan tayyorlanganlarida esa zanjirlar qisqa, hatto diplokokk ko'rinishida joylashadi. Gram, Romanovskiy usulida bo'yala-

di. Qo'zgatuvchi grammusbat, harakatsiz, spora hosil qilmaydi o'lchami 0,4–1 mkm.

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

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



102-rasm. Qonli agarda streptokokklarning α, β, γ gemoliz hosil qilish xususiyatlari[1].

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

Pnevmokokkli septitsemiya qo'zg'atuvchisi – *Str. pneumoniae (Dipl. Septicum, Dipl. lanceolatus).* Kasallik yosh hayvonlarda

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

o'pka va ichak orqali o'tadi. Hayvonlar 2–4 haftaligidan bir necha oylikkacha kasallanadi.

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

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

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

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

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

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

O'zbekiston veterinariya ilmiy-tekshirih institutida olimlar mahalliy shtammdan qo'zilar diplokokkoziga qarshi GOA formol

vaksinaning tajriba seriyasini tayyorlab, sinab ko'rishgan (2006-y).

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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Bergi klassifikasiyasi bo'yicha streptokokklar qanday guruhlarga bo'linadi?

a) yuqori haroratga chidamli, psixrofil
b) mastit, soqov, diplokokkli septisemiya qo'zg'atuvchilari
d) yiringli, saprofit, abssess, flegmona paydo qiluvchi
e) yiringli gemolitik, ko'kartiruvchi, sut kislotali mezofil.

2. Yuqumli mastit qo'zg'atuvchisi qaysi?

a) Str.agalactiae
b) Str.viridans
d) Str.salivaris
e) Str.lactis

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

a) mikroskopiya

b) KAMP
d) bakteriologiya
e) serologiya

4. Soqov qo'zg'atuvchisini ajratish uchun qanday patmaterial ishlatiladi?

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

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

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

19-mavzu. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar GPA, GPB, qonli GPA da *P. multocida* ning kultural xususiyatlarini o'rganib, daf-

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

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

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

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, mayda, qisqa tayoqcha shaklida (0,25–0,5 x 2 mkm), grammanfiy bakteriyadir. Leffler ko'ki yoki Gimza usulida bo'yalgan surtmalarda pasterellalar bipolyar(bakteriyalarning uchlari intensiv bo'yalgan) holda ko'rinadi. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikkitadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shtammlari apsula hosil qiladi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rinadi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (89, 92, 94, 95-rasm).

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

GPA da- pasterellalar mayda, silliq, bo'rtgan, tiniq, yumaloq, chetlari tekis (S-shakl) kulrang oq koloniyalar (90-rasm), ba'zan yirik, shilimshiq (M-shakl) yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (R-shakl) shaklida o'sadi (91-rasm). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

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

P. multocida glukoza, saxaroza, sorbit va mannitni gazsiz 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 brilliant yashilining suvdagi eritmasi tomdiriladi. Burun bo'shlig'idan yiringli ajratmaning oqishi pasterella tashuvchiligini bildiradi. Ularda biosinov qo'yish mumkin emas. Parrandalardan tekshirilayotgan material bilan – kabutar, tovuq, o'rdaklar mushaklari orasiga 0,3 ml suspenziya yuborib zararlanadi. Ijobiy natijada 18–36 soatda biosinovdagi hayvonlar o'ladi.

Natija ijobiy hisoblanadi:

Patologik materialdan grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatsiz tayoqchasimon 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. Oxir-

gi 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 koli-bakterioziga qarshi polivalent giperimmun qon zardobi ishlab chiqilgan.

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

Nazorat savollari:

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

Test savollari:

1. Pasteurella multocida qaysi oziq muhitlarda yaxshi o'sadi?

a) zardobli GPA, GPB, qonli GPA
b) GPA, GPB, Saburo agari
d) GPA, GPJ, Kitt-Tarossi
e) GPB, Saburo agari, Endo muhiti

2. Pasterellozda patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?

a) mikroskopiya, bakteriologiya, serologiya
b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov

d) serologik, biosinov, mikroskopiya

e) biosinov, Gissa muhitiga ekib, serologik

3. Pasterellozda qaysi laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yiladi?

a) dengiz cho'chqasi, oq sichqon, kalamush

b) quyon, oq sichqon, xo'roz

d) quyon, oq sichqon, tovuq, o'rdak

e) og'maxon, oq sichqon, o'rdak

4. Quyonlar pasterellatashuvchanligi qanday tekshiriladi?

a) qonini bakteriologik va serologik tekshirib

b) uch kun terisiga 0,5% li brilliant yashili bilan ishlov berib

d) terisi ostiga 0,2 ml 0,5% li brilliant yashilini suvdagi eritmasini yuborib.

e) uch kun burniga 2 tomchidan 0,5% li brilliant yashilini suvdagi eritmasini burniga tomdirib

5. Pasterellozga tekshirganda qaysi holda natija ijobiy hisoblanadi?

a) grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatsiz, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa

b) grammanfiy, kapsula hosil qiladigan, harakatchan, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa

d) qo'zg'atuvchini sof kulturasi ajratilsa, biokimyoviy xususiyatlari aniqlansa

e) grammusbat, kapsula hosil qiladigan, harakatchan, tayoqchasimon bakteriyalar kulturasi ajratilsa, biosinovda virulentligi tasdiqlansa

20-mavzu. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Cho'chqalar saramas kasalligi qo'zg'atuvchisi — *Erysipelothrix rhusiopathiae.* O'tkir kechganda septit semiya, eritemali yallig'lanish, surunkali kechganda endokardit, artrit bilan namoyon bo'ladigan yuqumli zooantroponoz kasallik (100, 101-rasm). Uch oylikdan bir yoshgacha bo'lgan cho'chqalar, uch-to'rt haftadan katta qo'zilar kasallanadi. Boshqa tur hayvonlarda kasallik kam uchraydi. Odamlar ham kasallanadi.

Patologik material . 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. O'lchami 0,2–0,3x0,5–1,5 mkm. Ba'zi adabiyotlarda berilgan ma'lumotlarda uzunligi 2–2,5 mkm gacha (96-rasm). Zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada uzun iplar shaklida joylashadi (97-rasm). Fluoressentli zardoblar bilan ham bo'yash mumkin. Lyuminissentli mikroskopiyada saramas qo'zg'atuvchisi intensivligi uch nishondan (+++) kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

2. Bakteriologiya. Patologik materialdan GPB, GPA, GPJ larga ekiladi. Ekmalar 37^0C da 18–24 soat termostatda o'stiriladi, o'sish bo'lmasa, yana 24 soatga qoldiriladi. *E.rhusopathiae* aerob, mikroaerofil (5–10% CO_2 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 yoki «soch o'rimi» 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 (96, 97, 98-rasm).

GPJ ga tik ekilganda uni suyultirmaydi, bir necha kundan keyin «yumaloq sim cho'tka» shaklida o'sadi (99-b rasm).

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

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

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

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

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

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

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

3. Biosinovdagi hayvonlar o'lsa va organlaridan saramas qo'zg'atuvchisi 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.

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

Nazorat savollari:

1. Cho'chqalar saramasi qanday kasallik?
2. Saramasga tekshirish uchun patmaterial olib, laboratoriyaga yo'llash qoidasi.
3. Saramas qo'zg'atuvchisining morfologik xususiyatlari.
4. Saramas qo'zg'atuvchisining kultural xususiyatlari.
5. Saramas qo'zg'atuvchisining biokimyoviy xususiyatlari.
6. Saramas qo'zg'atuvchisini serologik farqlash usullari.

7. Saramasda biosinov qo'yish usulini ayting.

8. Qachon cho'chqalar saramasiga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi?

9. Cho'chqalar saramas kasalligida qo'llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Saramas qo'zg'atuvchisi *Eryzipelothrix rhusiopathiae* zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada qanday ko'rinishda bo'ladi?

a) tayoqchalardan iborat kichik zanjirlar ko'rinishida

b) uzun iplar shaklida

d) bitta, ikkita, to'p-to'p joylashgan holda

e) alohida joylashgan tayoqchalar ko'rinisida

2. Saramasda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi?

a) quyon, oq sichqon

b) dengiz cho'chqasi, kabutar

d) oq sichqon, kabutar

e) kabutar, quyon

3. *Eryzipelothrix rhusiopathiae* qaysi oziq muhitlarda o'sadi?

a) tuzli GPA, GPB

b) GPB, Endo, Levin

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

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

a) aerob, mikroaerofil, 37^0C da 18–24 soat o'stiriladi

b) aerob, 41^0C da 18 soat o'stiriladi

d) anaerob, 35^0C da 48 soat o'stiriladi

e) anaerob, 37–38^0C da 16–18 soat o'stiriladi

5. 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

d) lyuminissent mikroskopiyada qo'zg'atuvchi topilmasa ham, patmaterialdan sof kultura ajratilsa

e) mikroskopik va serologik tekshirish natijalari ijobiy bo'lsa

21-mavzu. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

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

Patologik metarial. Yangi o'lgan hayvon jasadi yoki ilik suyagi, jigar bo'lakchasi o't xaltasi bilan, taloq, buyrak, yurak, ichak limfa

tugunlari, ingichka ichak bo'lagi ikki tomondan boylangan holda (u boshqalaridan bo'lak idishga joylanadi). Materialni 4 soat ichida laboratoriyaga yuborish kerak. Masofa uzoq bo'lsa 30% glitserin, 10% li osh tuzida konservatsiyalash mumkin. Kasal hayvonning to'g'ri ichagidan tezagi olinadi.

1.Mikroskopiya. Patmaterialdan surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Qo'zg'atuvchi uchlari qayrilgan, grammanfiy (pushti-qizil rang) tayoqchasimon bakteriyalar; spora hosil qilmaydi; uzunligi 1–3 mkm, eni – 0,8 mkm. Bittadan joylashadi (104-rasm). Faqat 08, 09, 0101 shtammlari kapsula hosil qiladi. Harakatchan va harakatsiz turlari bor (106-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^{0}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 (105-rasm). Qonli GPA da koloniya atrofida gemoliz zonasi hosil bo'ladi (109-rasm).

Biokimyoviy xususiyatlari – endo muhitida (107-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 (108-rasm) glukoza, laktozani kislota va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sitrat tuzlarini o'zlashtirmaydi.

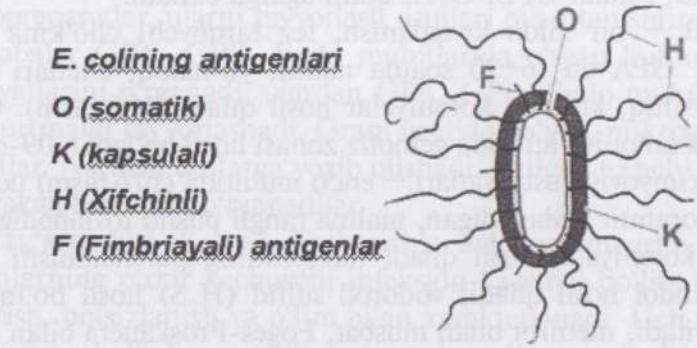
Ajratilgan kultura ARda tipospesefik agglutinatsiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizatsiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik «*O*», qobiqli «*K*», xivchinli «*H*» antigenlar farqlanadi (103-rasm). Biofabrikada faqat «0» antigenga diagnostik zardoblar ishlab chiqilgan. Shu bilan *E.coli* ning 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. coli*ning ba'zi shtammlari antibiotik tabiatli modda – kolisinlar ishlab chiqaradi. Kolisinlar alohida ichak tayoqchalari shtammini o'sishga yo'l qo'ymaydi, ammo boshqa tur bakteriyalarga ta'sir etmaydi.

3. Biosinov. Uchta oq sichqonning qorin bo'shlig'iga sutkalik *E. coli* kulturasi suspenziyasi 500 mln/ml konsentratsiyada yuboriladi. 5 sutka kuzatiladi. Shu vaqt ichida oq sichqonlarning bittasi o'lsa ham natija ijobiy hisoblanadi. Zaharlilik xususiyatiga ega kultura Shvarsman fenomenida quyonlar terisi orasiga yuborganda nekroz o'chog'i paydo bo'ladi (110-rasm).



103-rasm ***E.coli*** **antigenlari** [1]

Biopreparatlar. Cho'chqa bolalari, buzoq va qo'zilar kolibakteriozi ga qarshi polivalent gidrooksidaluminli formoltiomersal vaksina.

[1] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.58.

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 salmonelloz kasalliklariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina.

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

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

Nazorat savollari:

1. Kolibakterioz qanday kasallik?
2. Kolibakteriozga tekshirish uchun patmaterial olish va yuborish qoidasi.
3. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining morfologik xususiyatlarini ayting.
4. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining kultural xususiyatlarini ayting.
5. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining biokimyoviy xususiyatlarini ayting.
6. Serologik tipizatsiya o'tkazishdan maqsad.
7. Differensial-diagnostik oziq muhitlarda *E.coli* ning o'sish xarakterini ayting.
8. Kolibakteriozda ishlatiladigan biopreparatlarni ayting.

Test savollari:

1. Kolibakterioz qanday shakllarda namoyon bo'ladi?

a) teri, mushaklar zararlanishi, zaharlanish

b) intoksikasiya, o'pkaning yallig'lanishi, shish

d) septik, enterotoksemik, enterit

e) septisemiya, o'pkaning yallig'lanishi

2. Kolibakteriozda kasal hayvondan olinadigan patmaterial?

a) ichagidan qirindi

b) siydigi, qon, oqmalar

d) sut, burun oqmasi

e) to'g'ri ichagidan tezagi

3. *E.coli* ning morfologiyasi qaysi bandda to'g'ri berilgan?

a) grammanfiy, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora hosil qilmaydi

b) grammusbat, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora hosil qilmaydi

d) grammanfiy, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, ba'zi shtammlari kapsula hosil qiladi, harakatsiz, spora hosil qiladi

e) grammusbat, uchlari qayrilgan tayoqcha, bittadan joylashadi, harakatchan va harakatsiz turlari bor, spora, kapsula hosil qilmaydi

4. *E.coli* ning qanday antigenlari farqlanadi?

a) O, H

b) O, K, H

d) K, O

e) K, H

5. *E.coli* qanday oziq muhitlarda o'sadi?

a) Seyssler agari, Ploskirev muhiti

b) Vismut sulfit agar, Kitt-Tarossii

d) GPB, GPA,Endo

e) qonli-tuzli GPA, GPB

22-mavzu. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi: patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasini tushuntiradi. Tekshirish usullarini aytib o'tadi. Qo'zg'atuvchining morfologik, kultural xususiyatlarini tushuntiradi. Ishlatiladigan biopreparatlar bilan tanishtiradi.

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

Salmonelloz barcha turdagi yosh hayvonlarning septik shaklida namoyon bo'ladigan, o'tkir o'tuvchi yuqumli kasallik. Qo'zg'atuvchilari *Salmonella* avlodiga kiradi. Bakteriyalarni birinchi bo'lib Salmon (1885), o'rgangani uchun uning sharafiga nomi berilgan. Buzoqlar 3–4 haftadan 4 oylikkacha bo'lgan yoshda kasallanadi. Qo'zg'atuvchisi *S.enteritidis* (dublin) va *S.typhimurium* lar. Kasallik isitma va kuchli ich ketish bilan kechadi (katta yoshdagilari salmonella tashuvchi hisoblanib, kasallik klinik belgilarsiz o'tadi). Cho'chqalar 4 oylikkacha yoshda kasallanadi, qo'zg'atuvchisi

S.choleraesuis, *S.typhimurium*. Qo'ylar hamma yoshida kasallanadi, ona qo'ylarda salmonellozli homila tashlash kuzatiladi. Qo'zg'atuvchisi *S.abortus ovis*. 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^{0}C da bir sutka davomida termostatda o'stiriladi. GPBda qo'zg'atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq , rangsiz, tiniq yoki kulrang-ko'kimtir, chetlari tekis (S shakl), ba'zan kengish (R shakl) koloniyalar paydo bo'ladi (111-rasm). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko'kimtir koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (115-rasm). Harakatchanligi yarimsuyuq 0,2–0,3% li GPAga kulturani ekib aniqlanadi. *S.pullorum (S.gallinarum)* tik ekish yo'lida sterjen kabi o'sib, muhit yuzida parda hosil qiladi (112-rasm, o'rtadagi probirka). Harakatchan kultura esa muhitning butun qalinligi bo'yicha o'sadi va u ham muhit yuzida parda hosil qiladi.

Fermentativ xususiyatlari. Salmonellalar glukoza, mannitni parchalaydi, *laktoza, saxarozani parchalamaydi,* jelatinani eritmaydi, sutnu ivitmaydi, metilen ko'kili sutni rangsizlamaydi, indol hosil qilmaydi, ko'pchiligi vodorod sulfid (H_2S) hosil qiladi (113-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 (114-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 diagnoz qo'yish usulini qo'llash mumkin.

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

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

Biopreparatlar. Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrlangan formolachchiqtoshli vaksina.

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

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), probirkali 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.

Fluorestsensiyalovchi salmonellozli *O*- zardoblar.

Salmonellozli *O*- kompleksli hamda monoreseptorli *O*- va H- agglutinatsiyalovchi zardoblar to'plami. Hayvonlar, hayvonlar mahsulotlari va tashqi muhit obyektlaridan ajratiladigan 33 ta salmonella guruhini buyum oynasida AR usulida ekspress tekshirish uchun qo'llaniladi.

Nazorat savollari:

1. Salmonelloz qanday kasallik?
2. Salmonellozda patmaterial olish va laboratoriyaga yo'llash.
3. Salmonellalarning morfologik xususiyatlari.
4. Salmonellalarning kultural xususiyatlari.

5. Salmonellalarning differensial-diagnostik muhitlarda o'sishi.

6. Salmonellalarning serologik tipizatsiyasi.

7. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini ayting.

8. Salmonellozda qanday biopreparatlar ishlatiladi?

Test savollari:

1. Salmonellozda 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

d) qon, sut, teri, ichak qirindisi, parenximatoz organlari

e) tezak, plasenta, ajratmalar, tashlangan homila yoki uning oshqozoni, parenximatoz organlari

2. Salmonellalar qaysi oziq muhitlarda o'sadi?

a) GPB, GPA, elektiv muhitlarda

b) GPJB, GPJA, eritrit agar

d) Seyssler agari, Gissa muhiti, GPJ

e) Gelberg, Petranyani, Vilson Bleyer muhitlari

3. Salmonellalar spora va kapsula hosil qiladimi?

a) ha

b) yo'q

d) ikkalasi ham to'g'ri

e) ba'zida

4. Salmonellalarning qaysi turi harakatsiz?

a) S. enteritidis

b) S. typhimurium

d) S. pullorum (gallinarum)

e) S. choleraesuis

5. Salmonellalar laktoza va saxarozani

a) parchalab gaz hosil qiladi

b) parchalaydi

d) parchalab kislota hosil qiladi

e) parchalamaydi

23-mavzu. Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi

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

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

Uslubiy ko'rsatmalar

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

Kuydirgi kasalligi – qo'zg'atuvchisi *Bacillus anthracis (Basillus avlodiga mansub).* 1857-yilda Brauel ajratgan va o'rgangan. U ko'pchilik qishloq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar, shuningdek, odamlarda intoksikatsiya, isitma, septitsemiya, karbunkulalar paydo bo'lishi bilan namoyon bo'ladigan o'tkir yuqumli kasallik. Cho'chqalarda tamoq limfa tugunlari zararlanadi – angionoz shakli. Kuydirgi kasalligiga gumon qilinganda jasadni yorish man etiladi[1].

---

[1] Кисленко В.Н., Количёв Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 3. Частная микробиология. – М.: КолосС, 2007 г. с.41.

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

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram va kapsulalarga Mixin yoki Romanovskiy Gimza usullarida bo'yaladi. Maxsus eritma 180 ml 96^0 etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiriladi. Qo'zg'atuvchi harakatsiz, grammusbat tayoqchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (116, 117-rasm). Tayoqchaning bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan bo'ladi. Ko'pincha cho'chqalardan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchining shakli o'zgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yo'g'on, egilgan yoki donachali bo'lib, o'rtasi yoki ikki cheti shishgan bo'ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturadan tayyorlangan surtmalarda *B.anthracis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (123-rasm). O'lchamlari 1–1,3x3.0–10,0 mkm. Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani ta'kidlanadi.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan GPB, GPA larga (pH 7,2–7,6) ekib, 37^0C da termostatda 18–24 soat o'stiriladi, mikrob o'smagan bo'lsa, yana ikki sutka termostatda turadi. *B.anthracis* - aerob. GPA da silliq (121-rasm), sal xira, kulrang, kengish (*R, RO, O* -shakl) koloniyalar hosil qiladi (118, 119, 120-rasm). Koloniyalarning markazi qorong'ilashgan, chetlari bo'yra-bo'yra,

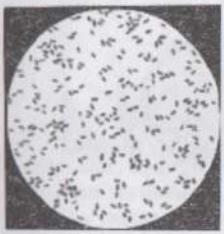
jingalak sochdek bo'ladi. Koloniyalar mikroskopda ko'rganda «meduza kallasi» yoki «sher yoli» shaklida ko'rinadi.

GPB tiniq (shaffof) holda qolib, tubida yumshoq paxtasimon cho'kma hosil bo'ladi (122-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.

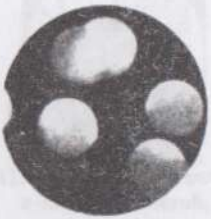
Gumonli hollarda kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisini saprofit basillalardan farqlash maqsadida uning harakatchanligi, gemolitik xususiyatlari aniqlanadi, lyuminissentli mikroskopiya, fagotiplash, «Marjon» testi o'tkazilib, laboratoriya hayvonlari zararlantiriladi. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi – harakatsiz. GPJ da yuzaga yaqin joyda kislorod yetarli bo'lib, yoniga shoxlanib ko'proq o'sadi. Chuqurlashgani sayin o'sish kamayib, shoxlanish qisqaradi, to'nkarilgan archa shaklida bo'ladi (122-b rasm). 3–5 kun o'tib, jelatina eriydi va voronkasimon shakl paydo bo'ladi), qonli agarda gemoliz hosil qilmaydi (125-rasm), organizmda kapsula hosil qiladi, penitsillinga sezuvchan – «Marjon» testi ijobiy (124-rasm). 1 ml muhit tarkibida 0,5; 0,05 TB penitsillin bor GPA ga kultura ekiladi, 37–38°C da 3 soat termostatda o'stiriladi, qo'zg'atuvchi hujayrasi marjon shakliga kiradi. Lyuminissentli mikroskopiya «OKVC» fluoressent kuydirgi zardobi yordamida o'tkaziladi. Bevosita yoki bilvosita fluoressensiyalovchi antitelolar usuli qo'llaniladi. Ijobiy natijada hujayra konturi to'rt yoki uch nishonga nurlanish beradi.

Fagotiplash: oqar tomchi usuli («Gamma–MVA» yoki «K» VIEV) kuydirgi bakteriofaglari bilan probirkalarda yoki mikrousulda bajariladi. 6 ta probirkadagi qiya GPA ga bir xilda tarqatib tekshirilayotgan kultura ekiladi. 15 daqiqa 37^0C termostatga qo'yiladi. Keyin 4 ta probirkaga bir tomchidan fag agarning chetlaridan 8–10 mm qoldirib tomdirilib, shtativga qo'yiladi. 37^0C da 6–8 soatdan keyin fagolizis paydo bo'ladi, 12–18 soatdan keyin yanada ko'proq namoyon bo'ladi, ya'ni tomchining oqish yo'llarida kultura o'smaydi, uning atrofida kultura odatdagidek o'sib, «bordyur» shaklini beradi (126-rasm).

Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi



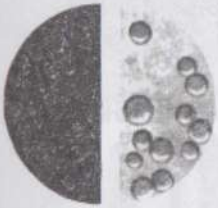
104-rasm. *E. coli* kulturasi – grammanfiy kalta tayoqchalar.



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



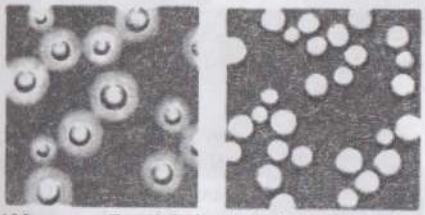
106-rasm. *E. coli*-uzilgan xivchinlari bilan. Elektronogramma.



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



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



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



110-rasm. Shvarsman fenomeni.

Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



a b

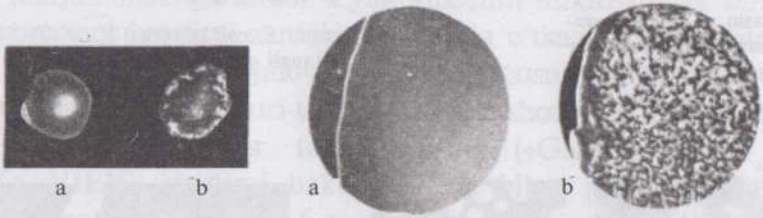
111-rasm. Salmonella koloniyalari. A) S-shaklda; b) R-shaklda.



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



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



a b a b

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



a b d

1 2

115-rasm. *E. coli* **(a) va S. typhi (b) 1-lakmus-laktozali agarda;**

2-Endoda; S. typi koloniyalari vismut sulfit (d) agarda.

Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi

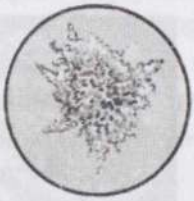


116-rasm. *Bac. anthracis* qondan tayyorlangan surtmada. Lyoffler usulida bo'yalgan (kapsula – pushti, basilla-ko'k rangda).

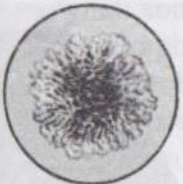


a b

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



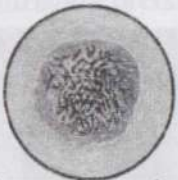
118-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



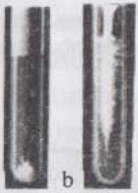
119-rasm. *Bac. anthracis* RO-shakl koloniyasi.



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



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



a b

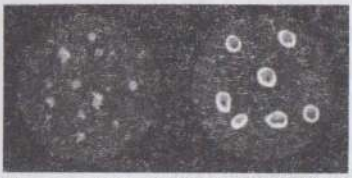
122-rasm. *Bac.anthracis* a-GPB, b-GPJ da o'sish.



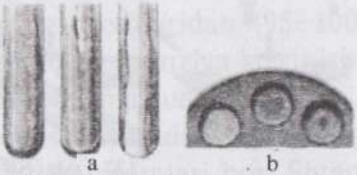
123-rasm. *Bac. anthracis* GPB dan tayyorlangan surtmada.



124-rasm. «Marjon» testi.



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



a b

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

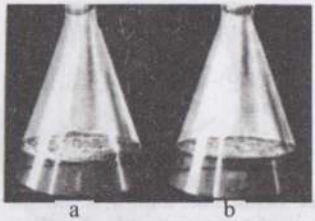
Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi



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

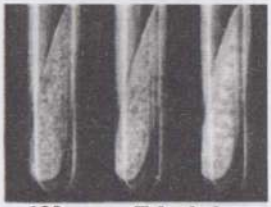


128-rasm. Tuberkuloz kulturasini glitserinli kartofelda o'sishi.

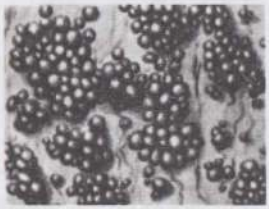


a b

129-rasm. Tuberkuloz kulturasini glitserinli GPB da o'sishi: a-humanus; b-bovinus tipi.



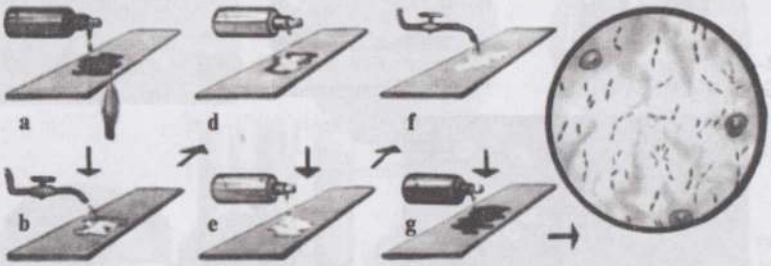
130-rasm. Tuberkuloz kulturasini Petranyani muhitida o'sishi:chapdan-bovinus, humanus, avium tiplari.



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



132-rasm. Ohaklashgan lobulyar kazeoz.



133-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.

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

3. Biosinov patmaterial keltirilgan kuni qo'yilishi shart. 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)107 tirik sporalar mavjud.

GNKI vaksinasi – GNKI etalon shtammidan tayyorlangan quruq, tirik vaksina. 1 ml da 5x107 tirik sporalari bor. Shtamm 55 dan tayyorlangan kuydirgiga qarshi vaksina.

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

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

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

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

Lyuminessensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

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

Nazorat savollari:

1. Kuydirgi qanday kasallik?
2. Kuydirgi kasalligida patmaterial olish qoidalarini tushuntiring.
3. Kuydirgi kasalligini laboratoriyada tekshirish usullari.
4. *B.anthracis* ning xususiyatlarini ayting.
5. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuchisini «Marjon» testi yordamida qiyoslash.
6. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuchisini bakteriofag yordamida fagotiplash.
7. Kuydirgi kasalligiga yakuniy diagnoz nimaga asoslanib qo'yiladi?
8. Kuydirgi kasalligida qo'llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Kuydirgi kasalligi gumon qilinganda jasadni yorish

a) qat'iy man etiladi
b) ruxsat etiladi
d) qisman amalga oshiriladi
e) 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

d) zararlangan ichak bo'lakchasi, jigar o't xaltasi bilan, buyrak, qon

e) 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

d) maxsus spirt-pergidrolli eritmada 30 daqiqa

e) spirt-efirda 20 daqiqa

4. Kuydirgi kasalligi diagnostikasida «Marjon» testi uchun qaysi antibiotik ishlatiladi?

a) eritromisin

b) streptomisin

d) tetrasiklin

e) penicillin

5. Laboratoriya tekshiruvlarida kuydirgiga yakuniy diagnoz nimaga asoslanib qo'yiladi?

a) lyuminissent mikroskopiya, PR, biosinov natijasiga

b) mikroskopiya, bakteriologik tekshirish natijasiga

d) bakteriologiya, PR, mikroskopiya natijasiga

e) «marjon» testi, «fagotiplash», mikroskopiya natijasiga

24-mavzu. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi

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

Material va jihozlar: Probirkada o'ldirilgan mikobakteriya bilan birorta kislotaga chidamsiz bakteriyaning aralashmasi, steril glitse-

rinli GPB, Petranyani muhiti, Sil-Nilsen usulida bo'yalgan tayyor mikobakteriya surtmalari, oziq muhitda o'stirilgan tayyor mikobakteriya kulturasi, patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynachalari, bo'yoqlar komplekti, mikroskop, moyqalam, kyuveta, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproyektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni patmaterialni tekshirish tartibi bilan tanish-tiradi, vazifa beradi.

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

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

3. Biopreparatlar bilan tanishish.

Tuberkuloz (sil) – uy va yovvoyi hayvonlar, jumladan parrandalar va odamlarning surunkali yuqumli kasalligi bo'lib, har xil organ va to'qimalarda o'ziga xos tugunlar (tuberkulalar) hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi (131, 132-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.tuber-culosis, M. bovis, M. avium* turlari muhum ahamiyatga ega. Tuberkuloz asosan yashirin kechadi.

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.

Patologik material: *Kasal hayvonlardan* – burundan oqqan ajralma, balg'am, traxeya shilimshig'i, tezagi, siydik namunalari olinadi. O'lganidan zararlangan organ bo'lakchalari, bronxial, tomoq, yelin usti, kurak oldi limfa tugunlari olinadi. O'lgan par-

randaning jasadi yuboriladi. Patmaterial olishda aseptika, shaxsiy profilaktika, texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilish shart. Patmaterial olingan zahoti labaratoriyaga yuboriladi. Buning imkoni bo'lmasa 30–40% glitserinda kanservatsiyalab yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

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

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

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

3. Yaxshilab suv bilan yuviladi.

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

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

Mikroskopda kislotaga chidamli bakteriyalar–qizil (127-rasm); chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

В.В. Павловский ma'lumoti bo'yicha (диагностика инфексионных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. М., КолосС, 1968, с.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1–2 daqiqa bug' paydo bo'lguncha yoki qayna-guncha 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), (133-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 joy-

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

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

Gon usuli: Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12% li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan aralashtiriladi. Hosil bo'lgan suspenziya daqiqasiga 3000 aylanma tezlikda 10–15 daqiqa sentrifuga qilinadi. Ekspozitsiya (kislotaning ta'siri) 20–30 daqiqadan oshmasligi kerak. Cho'kmadan surtmalar tayyorlanadi, oziq muhitga ekiladi. Biosinov uchun cho'kma 1–2 marta steril fiziologik eritma bilan yuviladi.

Alikayev usuli: Ko'pincha patmaterial yangi, kam ifloslangan bo'lganda qo'llaniladi. Patmaterial steril hovonchada 0,5 sm^3 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 hovonchada yaxshilab eziladi, fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi, 5–6 probirka oziq muhitga ekiladi.

Ishlov berilgan patmaterial – elektiv: tuxum-kraxmalli, kartoshkali-glitserin-bulonli (128-rasm) – begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhitlarga ekiladi. Ko'pincha Petranyani (130-rasm), Levenshteyn-Iyensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Glitserinli GPB va GPA lari ham ishlatiladi (129-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 par-

da 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 1 ml, quyonlar quloq venasiga 2 ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1–2 ml 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 abssess) ni keltirib chiqaradi.

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3 ta 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.

Alttuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

Nazorat savollari:

1. Tuberkuloz qanday kasallik?
2. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterial olish
3. Tuberkulozga tekshirish uchun patmaterialga qanday usullarda ishlov beriladi?
4. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
5. Mikobakteriyalarining morfologik-tinktorial xususiyatlari
6. Mikobakteriyalar qanday oziq muhitlarda o'sadi?
7. Mikobakteriyalarni farqlash (tipzatsiya) ni aytib bering
8. Tuberkulozda qanday biopreparatlar qo'llanadi?

Test savollari:

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

a) 4

b) 5

d) 3

e) 2

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

a) spirtga chidamli, sitoplazmasi zich, yadrosi shakllangan, donador

b) kislotaga chidamli, qobig'i qalin, sitoplazmasi zich

d) kislota, spirt, ishqorga chidamli, qobig'ida steorin kislotalari, mumsimon moddalar bor

e) ishqorga chidamli, sitoplazma va yadrosi o'zgargan, donador

3. Kislotaga chidamli bakteriyalar qaysi usulda bo'yaladi?

a) Mixin

b) Gram

d) Kozlovskiy

e) Sil-Nilsen

4. Tuberkulozda 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 0,5 sm^3 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, Alikayev usulid 10 daqiqa

d) Har xil foizli H_2SO_4 eritmasi ishlatiladi

e) Suspenziya uchun olingan patmaterialning miqdori bilan farq qiladi

5. Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi qaysi oziq muhitlarda o'sadi?

a) Tuxum-kraxmalli, Lyuboshenko, Ulengut, Kitt-Tarossi

b) Tuxum-kraxmalli, Petranyani, Levenshteyn Iyensen, Gelberg, gliserinli GPB, GPA

d) Qonli glyukozali agar, glyukoza zardobli agar, GPB, GPA, Endo

e) Zardobli agar, bulon, Levin, Ploskirev, Kessler.

25-mavzu. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasini o'rganish. Patmaterialni brutsellozga bakteriologik, serologik usullarda tekshirishni o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Kozlovskiy, Gram usullarida ishlatiladigan bo'yoqlar, Rozbengal-namuna uchun-brutselloz antigeni, sut halqali AR-uchun brutselloz antigeni, probirkalarda qoramol qon zardobi ijobiy, normal, sinovli. Yangi sog'ilgan sut (probirkada), pipetkalar 1, 0,1 ml hajmli, reaksiya (RBN) uchun plastinalar, probirkalarda – brutsella kulturasi suspenziyasi, aralash kulturalar: jadvallar, biopreparatlar, tayyor Gram, Kozlovskiy usullarida bo'yalgan surtmalar, plakatlar, kompyuter, videoproyektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntirib, ishlash vaqtida texnika xavfsizligi va shaxsiy profilaktika qoidalariga rioya qilish kerakligini ta'kidlaydi. Talabalar probirkadagi suspenziyadan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usulida bo'yaydi, mikroskopda ko'rib, daftariga chizib oladilar. Sut halqali AR, plastinkali Roz-bengal namuna -AR qo'yadilar.

Brutselloz – hayvon va odamlarda surunkali kechadigan yuqumli kasallik. Kasallik odatda klinik belgisiz kechadi, ba'zan– homila tashlash, bursit, orxit, epididimit, 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[1] mansub. 6 ta turdan iborat: *melitenzis* (qo'y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (cho'chqalarda), *ovis* (qo'chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotoma* (kalamushlarda). *Brusella ovis* – qo'chqorlarda infeksion epididimit kasalini chaqiradi.

Patologik material. *Kasal hayvondan* tashlangan homila, homila pardasi bilan yoki ikki tomoni bog'langan homila oshqozoni, jigar va taloq bo'lakchalari (134-rasm); gigroma moddasi, sut – (yelinni yuvib, 70^0 spirtda dezinfeksiyalab, keyin har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga oxirgi porsiyalardan 10–15 ml 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 10 ml sutga 0,1 gr miqdorda konservatsiyalanadi.

Qo'chqorlardan (so'yilganda) urug'don xaltasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial bo'lak selofan, pergament qog'ozlarga alohida o'ralib, suv o'tkazmaydigan idishga (polietilen paket, yashik, banka) joylanadi. Homila tashlagan

[1] Кисленко В.Н., Количёв Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 3. Частная микробиология. – М.: КолосС, 2007 г. с.113.

hayvonlar qonini, albatta, tekshirish shart (homila tashlagandan bir hafta keyin). Patmaterialni laboratoriyaga yo'llanma bilan mutaxassis olib keladi

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usullarida bo'yaladi. Brutsellalar – mayda, tayoqcha yoki kokksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6–1,5 mkm, diametri 0,3–0,5 mkm, 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 (138-rasm).

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

2. Bakteriologiya. Brutsellalar maxsus oziq muhitlarda o'sadi: go'sht-peptonli jigarli bulon(GPJB), jigar-glukoza-glitserinli agar (JGGA) va bulon (JGGB), eritrit-agar, zardobli-dekstrozali agar va h.k. Patmaterialdan bir probirka bulon, ikki probirka agarga, oshqozondan ikki probirka bulon,beshta probirka agarga ekiladi.

Qo'chqor patmaterialidan ekilgan oziq muhitlar 10–15% karbonat angidridli, atmosferada o'stiriladi.

Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari esa yarmi 10–15% karbonat angidridli, qolganlari odatdagi atmosferada o'stiriladi (135, 136-rasm).

Ekmalar 30 kun termostatda 37–38^{0}C o'stiriladi.

Zich oziq muhitda – mayda, tiniq, bo'rtgan, yumaloq, yaltiroq, yuzasi silliq (*S*-shakl) va ko'kimtir tovlanadigan (*R*-shakli ham uchraydi) koloniyalar hosil qiladi. Uzoq o'stirilganda koloniyalar xiralashib, pigment hosil bo'lishi bilan – qorayib, bir-biriga tutashib ketadi.

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 an-

tibiotik qo'shilgan muhitga ekiladi (137-a, b rasm). Ularda begona mikroflora o'smaydi, kristallvioletli muhitda brusellalar ko'kimtir, yaltiroq, silliq, yumaloq koloniyalar ko'rinishida o'sadi.

Brutsella turlarini farqlashning bakteriostatik usuli. Brutsellalarning 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 brutsellalarning sof kulturasi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhitda, *B.abortus* tioninli muhitda o'smaydi. *B.melitenzis* ikkala bo'yoqlar qo'shilgan muhitda o'sadi.

3. Biosinov. Avval 350–400 grammli dengiz cho'chqalari yuragidan qon olib, zardobi AR usulida brutsellozga tekshiriladi. 1:5 nisbatda manfiy natija olinsagina ularda biosinov qo'yish mumkin.

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho'chqalari sonining ichki tarafiga terisi ostiga yuboriladi. 15, 25, 40-kunlari ulardan qon olinib, zardobi AR usulida 1:10 dan 1:80 gacha nisbatda brutsellozga tekshiriladi. 1:10 va undan yuqori nisbatlarda musbat natija olinsa, keltirilgan patmaterialdan kultura ajratilmasa ham, tekshirish natijasi ijobiy hisoblanadi. Biosinov ikki oy kuzatiladi. Ajratilgan barcha kulturalar ish yakunida avtoklavda 1,5 AT 1 soat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan (139, 140, 141, 142, 143-rasm) AR, KBR, UKBR, RBN, sut halqali AR qo'yiladi. AR 1 ml hajmda 4 ta nisbatda qo'yiladi. Qo'y, echki, ohu, itlar qon zardobi 1:25 dan 1:200 gacha (ijobiy natija ikki nishonga 1:50 va undan yuqori titr). Y.sh.m, ot, tuyalarda 1:50 dan 1:400 gacha (ikki nishonga 1:100 va yuqori titr ijobiy). Dengiz cho'chqasi va mo'ynali hayvonlarda 1:10 dan 1:80 gacha (ikki nishonga 1:10 va yuqori titr ijobiy).

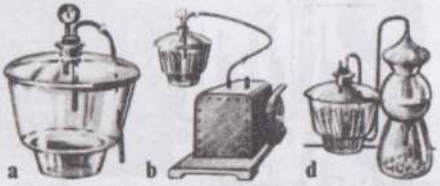
RBN. 0,3 ml zardob maxsus emalli plastinkalar o'yiqchalariga quyiladi. Ustiga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo'yalgan brutselloz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, aralashtiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar, fiziologik eritma bilan reaksiya qo'yiladi. Ijobiy natijada push-

ti rangda agglutinat paydo bo'ladi. Ijobiy natija bergan zardoblar namunasi AR, KBR da qayta tekshiriladi.

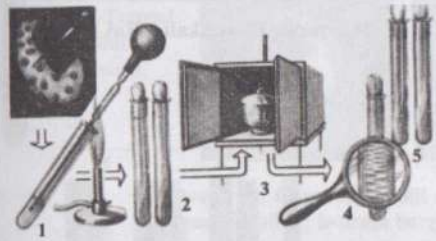
Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi



134-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.

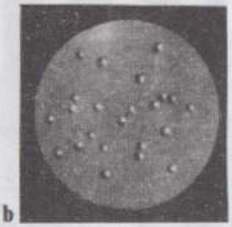


135-rasm. a-brutselloz kulturasini o'stirish uchun eksikator, b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikatorda, d-KIPP apparati yordamida uglekislota hosil qilish.



136-rasm. Ekish, o'stirish va brutsella kulturasini ko'rish sxemasi





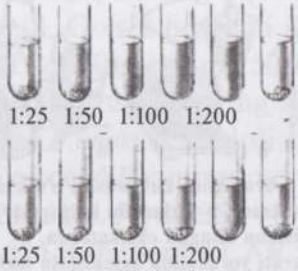
137-rasm. Brutsella koloniyasi: a-jigarli agarda; b-kristall violet bo'yog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (begona mikroflora o'smagan).

138-rasm.



Brutsellalarni Kozlovskiy usulida bo'yash. Qotirilgan surtma 2% li safraninning 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). Brutsellalar qizil, boshqa mikroblar ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (e).

Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)

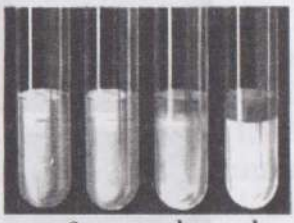


139-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol).

a-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; e-nazorat.

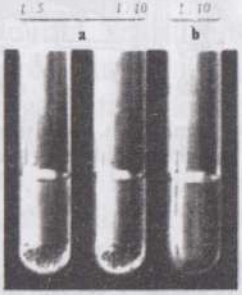


140-rasm. Plastinkali ARni baholash.

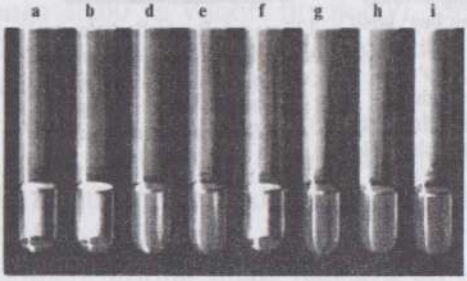


141-rasm. Sut halqali reaksiya:

a-manfiy; b-gumonli; d-ijobiy.



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



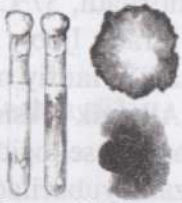
143-rasm. KBR. Zardob 1:5 va 1:10 (a,b), zardob 1:5 nazorat (d), umumiy nazorat uchun: e) normal zardob+ +kompliment+antigen+gemsistema; f) ijobiy zardob+kompliment+ +antigen+gemsistema; g) antigen+ +kompliment+gemsistema+fiziolog ik eritma; h) gemsistema+fiziologik eritma; i) ijobiy zardob+kompliment+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



144-rasm. Cl. Chauvoei Kitt-Tarossi muhitidan tayyorlangan surtmada.



145-rasm. Cl. Chauvoei xivchinli tayoqcha. Elektronogramma x20000.



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

147-rasm.

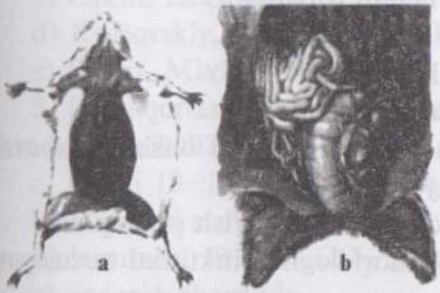


Cl. Chauvoei Kitt-Tarossi muhitida o'sishi.



a b d

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



a b

149-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi (24 soatda): a-teri osti klet-chatkasi serozli gemorragik yallig'langan; mushaklari qoraygan;

b-ichaklarda atoniya, gaz yo'q, jigar qonga to'lgan.



150-rasm. Biosinov buzoqda. Cl. Chauvoei kulturasi mushakka yuborib zararlangan.

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, 37^0C 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 (141-rasm).

Allergik tekshirish. Xo'jalikda allergenlar qo'llanadi – brusellizat, brusellogidrolizat, brusellin. Hayvon terisi orasiga 0,2 ml dozada yuboriladi va 24–48 soatdan keyin natija hisobga olinadi.

Biopreparatlar. Brutsellozga qarshi shtamm 82 kulturasidan tayyorlangan tirik, quruq vaksina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vaksina.

Shtamm 19 vaksina shtammidan tayyorlangan AR, KBR, UKBR lar uchun yagona brutselloz antigeni.

Sut halqali reaksiya uchun gemotoksilin bilan bo'yalgan rangli antigen. *B.abortus* (shtamm 19) kulturasidan tayyorlangan.

Fluoressensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardobidan tayyorlangan.

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

Nazorat savollari:

1. Brutselloz qanday kasallik?
2. Brutselloz qo'zg'atuvchilarini ayting.
3. Brutsellozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini ayting.
4. Brutsellozga laboratoriyada diagnoz qo'yish prinsiplari.
5. Brutsellalarning kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari.
6. Brutsellozga qanday serologik usullarda tekshiriladi?
7. Brutsellozga biosinov qo'yish.
8. Brutsellozni serologik tekshirish usullari.
9. Brutsellozni allergic tekshirish usuli.
10. Brutsellozda qo'llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Brutsellalarning nechta turi bor?

a) 4
b) 5
d) 6
e) 3

2. Qo'y-echkilarda brutsellalarning qaysi turi uchraydi?

a) Br. neotomae
b) Br. abortus
d) Br. ovis
e) Br. melitenzis

3. Homila tashlagan hayvonlardan brutsellozga tekshirish uchun qoni qachon olinadi?

a) bir haftadan keyin
b) shu kuni
d) ikki kun o'tib
e) bir oydan keyin

4. Brutsellozga tekshirganda patmaterialdan tayyorlangan surtmalar qaysi usullarda bo'yaladi?

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

5. Qo'chqorlardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi?

a) yarmi 10–15% CO_2 li atmosferada
b) odatdagi atmosferada
d) hammasi 10–15% CO_2 li atmosferada
e) anaerob sharoitda

6. Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi?

a) anaerob sharoitda
b) odatdagi atmosferada
d) hammasi 10–15% CO_2 li atmosferada

e) yarmi 10–15% li atmosferada, qolganlari odatdagi atmosferada

7. Brutsellyozda biosinov qaysi laboratoriya hayvonida qo'yiladi?

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

8. Brutsellyozda qoramollar qon zardobi nisbatlari AR uchun

a) 1:25 dan 1:200 gacha
b) 1:50 dan 1:400 gacha
d) 1:10 dan 1:80 gacha
e) 1:2 dan 1:64 gacha

9. Brutsellyozda qo'ylar qon zardobi nisbatlari AR uchun

a) 1:50 dan 1:400 gacha
b) 1:10 dan 1:80 gacha
d) 1:25 dan 1:200 gacha
e) 1:2 dan 1:64 gacha

10. Brutsellyozda dengiz cho'chqalari qon zardobi nisbatlari AR uchun

a) 1: 50 dan 1:64 gacha
b) 1:25 dan 1:200 gacha
d) 1:2 dan 1:64 gacha
e) 1:10 dan 1:80 gacha

26-mavzu. Qorason kasalligining laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va uni laboratoriyaga yo'llash qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Kitt-Tarossi oziq muhitida o'stirilgan *Cl.chauvoei* kulturasi, patmaterial, steril muhitlar probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali-qonli agar, steril Paster pipetkalari, oldindan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar, bo'yoqlar komplekti, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoproyektor.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patmaterialdan oziq muhitlarga ekish, ulardan surtmalar tayyorlab Gram va sporalarni maxsus usullarning birida (Peshkov) bo'yash. Mikroskopda ko'rib, daftarga chizib olish.

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

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

Patologik material. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari (steril asboblar bilan chuqurroq kesib, mushakning o'rta qismidan 3x3x3 sm o'lchamda zararlangan to'qima bo'lakchasi kesib olinadi), krepitatsiya qiladigan shishning ekssudati yuboriladi. Jasad yorilgan bo'lsa jigar, taloqdan bo'lakchalar, yurakdan qon olinadi. Patmaterial hayvon o'lgandan keyin 4 soatdan kechiktirmay olinadi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan surtmalar Gram, Peshkov usulida bo'yaladi. Mikroskopda bo'lak-bo'lak yoki ikkitadan joylashgan polimorf (urchuqsimon, sharsimon, noksimon) donachali grammusbat tayoqchalar ko'rinadi. Peshkov usulida bo'yalgan surtmada sporalar ko'k rangda ko'rinadi. U tayoqchaning o'rtasida, chetlarida joylashishi, erkin holda bo'lishi ham mumkin. Kapsula hosil qilmaydi, harakatchan, uzunligi 2–8 mkm, eni 0,5–0,7 mkm, anaerob (144, 145-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^{0}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 (147-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 (148-rasm). Glukozali tik agarda yasmiqsimon koloniyalar hosil qiladi (146-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 qoramtir qizil rangda bo'ladi. Chot va qo'ltiq osti qisimlarida kamgina gaz pufakchalari yig'iladi (149, 150-rasm).

Quyidagi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

1. Patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilsa hamda hech bo'lmasa bitta biosinovdagi hayvon tipik belgilar bilan o'lib, undan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratib olinsa.

2. Keltirilgan patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilmasa ham, ikkita biosinovdagi hayvonning hatto bittasi tipik belgilar bilan o'lib, undan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratib olinsa.

Emlash uchun konsentrlangan gidrooksifarmol vaksina ishlatiladi. Immunitet 6 oy davom etadi. 3 oylikdan 4 yoshgacha bo'lgan qoramol, 6 oylikdan katta bo'lgan qo'ylar emlanadi.

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

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

Nazorat savollari:

1. Qorason qanday kasallik?
2. Qorasonga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalari.
3. Patologik material qaysi usullarda tekshiriladi?
4. *Cl.chauvoei* ning morfologik, tinktorial xususiyatlari.
5. *Cl.chauvoei* ning kultural xususiyatlari.
6. Qorasonga biosinov qo'yish, undagi patanatomik o'zgarishlar.
7. Qaysi hollarda qorasonga diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi?
8. Qorason kasalligida qo'llanadigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Qorason kasalligida laboratoriyaga tekshirish uchun qanday patmaterial yo'llanadi?

a) zararlangan mushak bo'lakchalari, gazli shish ekssudati, jigar, taloq, yurak

b) parenximatoz organlardan bo'lakchalar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi

d) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfa tugunlari

e) ekskret va sekretlar, parenximatoz organlardan namunalar

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

a) Cl. septicum

b) Cl. chauvoei

d) Cl. oedematiens

e) Cl. perfringens

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

a) oziq muhitda

b) tashqi muhitda

d) organizmda, tashqi muhitda

e) tuproqda

4. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi:

a) gr+, sporali, harakatsiz, kokksimon

b) polimorf, gr-, spora va kapsulali, harakatsiz tayoqcha

d) gr-, kapsulali, harakatchan tayoqcha

e) polimorf, gr+, sporali, harakatchan tayoqcha. bakteriya

5. Qorason qo'zg'atuvchisi qanday oziqa muhitlarda va sharoitda o'sadi?

a) Kitt-Tarossi, glyukoza-qonli Seyssler agari, 37–38^{0}C da, anaerob sharoitda

b) GPB, GPA, GPJlarda, 40–42^{0}C da, aerob sharoitda

d) Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida, 37^{0}C da, anaerob sharoitda

e) Gissa muhiti, Gelberg, Lyuboshenko muhitlarida, 37^{0}C da, anaerob sharoitda

6. Laboratoriyada qorason kasalligiga qaysi usullarda tekshiriladi?

a) mikroskopiya, serologik, bakteriologiya

b) mikroskopiya, bakteriologiya, biosinov

d) serologik, mikroskopiya, patanatomik

e) biologik, patanatomik, klinik

27-mavzu. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Probirkalarda Kitt-Tarossi muhitida o'stirilgan *Cl. septicum, Cl. perfringens* kulturalari, patmaterial, steril oziq muhit – probirkalarda Kitt-Tarossi, Petri kosachalarida glukozali-qonli Seyssler agari, steril Paster pipetkalari, bo'yoqlar to'plami, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: patmaterialdan oziq muhitlarga ekish, surtma tayyorlash. Gram va Peshkov usullarida bo'yab, mikroskopda ko'rish, natijani daftarga yozish.

Gazli gangrena – barcha turdagi hayvonlarga oid, tez tarqaluvchi, jarohatlanish yoki shikastlanish natijasida yallig'lanib, shishning rivojlanishi, to'qima nekrozi, organizm intoksikatsiyasi bilan namoyon bo'ladi. Gazli gangrena polimikrob etiologiyaga ega[1]. Qo'zg'atuvchilari *Cl. septicum*, Cl. oedematiens, *Cl. perfringens*, *Cl. sordelii*, *Cl. histolyticum*, *Cl. chauvoei* har qaysisi alohida kasallik chaqirishi mumkin, lekin ko'pincha birgalikda uchraydi.

Patmaterial. Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima ekssudati, parenximatoz organlar jo'natiladi.

1. Mikroskopiya. Patmaterialdan tayyorlangan, Gram usulida bo'yalgan surtmalarda:

Cl. septicum – ingichka, uchlari qayrilgan, polimorf, uzunligi 2–10 mkm, eni 0,8–1 mkm tayoqcha, seroz qavatlardan tayyorlangan surtmada ipsimon shaklda bo'ladi. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi, sporalari, uchlari yoki markazda joylashadi, harakatchan (152, 153-rasm).

Cl. oedematiens – yirik, polimorf, uchlari qayrilgan, alohida, ba'zan 2–3–4 tadan iborat zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 5–15 mkm, eni 0,8–1,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qilmaydi. Sporalari markazda yoki uchlarida joylashadi. Harakatchan (159, 160-rasm).

Cl. perfringens – yo'g'on, uchlari yengilgina egilgan, tayoqchalar, bittadan alohida joylashgan, uzunligi 4–8 mkm, eni 1–1,5 mkm. Ba'zan kokksimon bo'lishi mumkin. Grammusbat, *kapsula hosil qiladi* (hayvon organizmida), sporalari markazida yoki uchlarida joylashgan. Harakatsiz (165-rasm).

Cl. histolyticum – ingichka uchlari qayrilgan tayoqchalar. Bittadan, ikkitadan, ba'zan zanjircha shaklida joylashadi. Uzunligi 2–5 mkm, eni 0,2–0,5 mkm. Grammusbat, kapsula hosil qil-

[1] Кисленко В.Н., Количёв Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 3. Частная микробиология. – М.: КолосС, 2007 г. с.181.

maydi, sporalari mayda, markazda yoki uchlarida joylashgan. Harakatchan (171-rasm).

2. Bakteriologiya. Patmaterial Kitt-Tarossi, qonli-glukozali Seyssler agarlariga ekiladi. 24–48 soat 37–38°C da termostatda anaerob sharoitda o'stiriladi.

Cl. septicum – Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish, ko'p gaz hosil qiladi, Seyssler agarida nozik, rangsiz, harir ro'molsimon, chetlari qirqilganday o'sadi. Koloniya gemoliz zonasi bilan o'ralgan (154, 155-rasm).

Cl. oedematiens – Probirka pastida intensiv o'sadi, 18–24 soatdan keyin bulon tiniqlashib, cho'kma paydo bo'ladi. Kam gaz hosil qiladi. Seyssler agarida kengish, ildizsimon, qatlamli, chetlari qirqilgandek, markazi bo'rtiq, qorong'ilashgan, kuchli gemoliz hosil qiladi (161, 162-rasm).

Cl. perfringens – Kitt-Tarossi muhiti ertaroq loyqalanadi, ko'p intensiv gaz hosil qiladi. Seyssler agarida yumaloq, silliq, bo'rtgan kulrang-yashil koloniyalar hosil qiladi, kuchli gemoliz (166, 167-rasm) namoyon bo'ladi.

Cl. histolyticum – Kitt-Tarossi muhitida intensiv loyqalanish kuzatiladi, gaz hosil qilmaydi. Seyssler agarida mayda, yumaloq, silliq, chetlari tekis koloniyalar o'sadi, gemoliz bo'lmaydi (172, 173-rasm) namoyon bo'ladi.

3. Biosinov. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikkita 350–400 g vazndagi dengiz cho'chqasining qorin qismi terisi ostiga 0,5-1 ml dozada yuboriladi. 8 kun kuzatiladi.

Cl. septicum – dengiz cho'chqalari 14–28 soatda o'ladi. Teri mushaklaridan yengil ajraladi. Mushak, teri osti kletchatkasi och qizil rangda, ko'p miqdorda gaz pufakchalari bor. Ichaklar shishgan, gazli suyuq massa bilan to'lgan (156, 157, 158-rasm).

Cl. oedematiens – dengiz cho'chqasi 12–36 soatda o'ladi. Inyeksiya joyida jelatina sifatli, dirillagan shish sarg'ish-pushti rangda paydo bo'ladi. Mushaklar oqimtir (163, 164-rasm).

Cl. perfringens – dengiz cho'chqalari 36–48 soatda o'ladi. *«A»* va *«D»* tiplarida – inyeksiya joyida teri mushaklaridan xaltacha

singari ajralib turadi, mushaklar qaynatilgan go'shtdek bo'ladi. Ichaklar shishgan, qon tomirlar bo'rtgan bo'ladi.

«B» va *«C»* tiplarida – inyeksiya joyida teri yengil ajraladi, lekin ajralib tushmaydi. Mushaklar, quruq, qizil rangda. Ichaklar shishgan, gemorragik yallig'langan, ba'zan yaralar paydo bo'ladi (168, 169, 170-rasm).

Cl. histolyticum – dengiz cho'chqalari 18–48 soatda o'ladi. Teri ostiga yuborganda ular ko'pincha sog'ayib ketadi. Son mushagiga zararlanganda teri qizil siyohrang, taranglashgan bo'lib, ba'zan yoriladi (174-rasm). Mushaklar strukturasini yo'qotib, bo'tqasimon massaga aylanadi. Yumshoq to'qimalar suyak va tomirlardan ajralib qoladi. Gaz bo'lmaydi. O'lgan biosinovdagi hayvonlar bakteriologik tekshiriladi.

Biopreparat. Immunitet hosil qilish uchun bradzot, infeksion ente-rotoksemiya, qo'ylarning yomon sifatli shishi va qo'zilarning dizenteriyasiga qarshi tayyorlangan polivalentli gidrooksialuminli vaksina ishlatiladi. Immunitet 4–5 oy davom etadi.

Nazorat savollari:

1. Gazli gangrena kasalligiga ifoda bering.
2. Gazli gangrenada tekshirish uchun qanday patmateriallar olinadi?
3. Patologik material qaysi usullarda tekshiriladi?
4. Qo'zg'atuvchilarning morfologik xususiyatlari.
5. Qo'zg'atuvchilarning kultural xususiyatlari.
6. Gazli gangrenaga biosinov qo'yish.
7. Qo'zg'atuvchilarning biologik xususiyatlari(biosinovdagi patanatomik o'zgarishlari).
8. *Cl. perfringens* gazli gangrenaning boshqa qo'zg'atuvchilaridan qanday farq qiladi?

Test savollari:

1. Gazli gangrena kasalligida laboratoriyaga qanday patmateriallar yo'llanadi?

a) limfa tugunlar, ichak bo'lakchasi, parenximatoz organlar

b) balg'am, ekskret va sekretlar, ilik suyagi, ichak bo'lakchasi

d) zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima ekssudati, parenximatoz organlar

e) to'qima ekssudati, ko'krak va qorin bo'shlig'i suyuqligi, ingichka ichak, ilik suyagi

2. Gazli gangrenada Cl.perfringensning boshqa qo'zg'atuvchilardan farqi.

a) bo'yalishi, o'lchami, harakatchanligi

b) sporalarning joylashishi, o'lchamlari kichkina

d) shakli va o'lchami bilan

e) kapsula hosil qiladi, harakatsiz

3. Gazli gangrena qo'zg'atuvchilari qanday sharoitda o'sadi?

a) 24–48 soat 37–38^{0}C da anaerob sharoitda

b) 24–48 soat 37–38^{0}C da aerob sharoitda

d) 18 soat 37^{0}C da tarkibida 10–15% CO_2 bo'lgan atmosferada

e) 18 soat 37^{0}C da aerob sharoitda

4. Gazli gangrenada biosinov qaysi laboratoriya hayvonida qo'yiladi?

a) oq sichqon

b) dengiz cho'chqasi

d) quyon

e) jo'ja

5. Gazli gangrenada patmaterial qaysi oziq muhitga ekiladi?

a) Ulengut, Lyuboshenko, Ploskirev, Gelberg

b) Differensial diagnostik oziq muhitlariga

d) Kitt-Tarossi, qonli glyukozali Seysler agari

e) Levenshteyn Iyensen, Petranyani, Eritrit agar

28-mavzu. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikrob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari, jadval, biopreparatlar, plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar patmaterialdan surtma tayyorlaydilar, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'rishadi. Natijani daftarga yozishadi.

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

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

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

1. Mikroskopiya. *Cl. tetani* – ingichka, 4–0,6 mkm o'lchamli, bir uchida yumaloq sporasi bor(baraban tayoqchasi shaklida) tayoqcha. Grammusbat, harakatchan (175, 179-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 xarak-

terli holatda – oyoqlari cho'zilgan, umurtqa pog'onasi material yuborilgan tomoniga qiyshaygan holda o'ladi (178-rasm).

Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi



151-rasm. *Cl. Chauvoei* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada.



152-rasm. *Cl. Septicum*-tayoqcha xivchinlari bilan



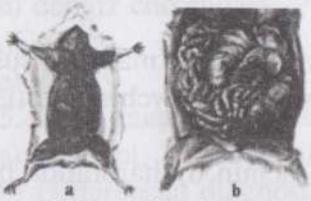
153-rasm. *Cl. Septicum*- dengiz cho'chqasi jigari yuzasidan tayyorlangan surtmada.



154-rasm. *Cl. Septicum*: a-Kitt-Tarossi da o'sishi (o'ngda nazorat); b-qandli agarda Veynberg bo'yicha koloniyalar.



155-rasm. *Cl. Septicum* koloniyalari qandli-qonli agarda: a-nozik ro'molsimon; b-alohida yumaloq va o'simtali; d-o'simtali gemoliz zonasi bilan.



156-rasm. Biosinovdan o'lgan dengiz cho'chqasi (*Cl. Septicum*): a-teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, mushaklari och qizil rangda gaz pufakchalari bilan; b-ichki organlari ichaklari shishgan, tomirlari bo'rtgan.



157-rasm. Yomon sifatli gazli shish cho'chqada: a-mushaklari; b-oshqozon



158-rasm. Bradzot qo'yda: oshqozonda gemorragik shish va qon quyilishlar.

Gazli gagngrenali laboratoriya diagnostikasi



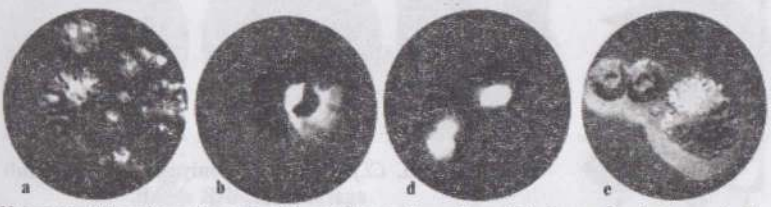
159-rasm. *Cl oedematiens* Kitt-Tarossi dan tayyorlangan surtmada



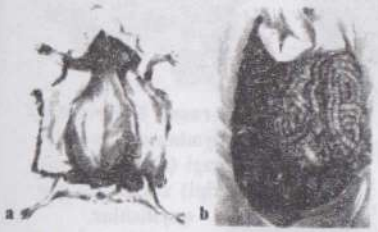
160-rasm. *Cl oedematiens* xivchinli tayoqcha



161-rasm. *Cl oedematiens* kulturasi: a-Kitt-Tarossi da; b-qandli agarda; d-jelatinada



162-rasm. *Cl oedematiens* qandli-qonli agarda: a-kengish; b-markazi chuqurlashgan; d-silliq; e-kengish, markazi chuqurlashgan koloniyalar



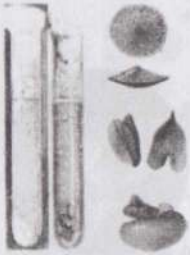
163-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi (36 soatda): a-teriosti kletchatkasida dirilloq shish; b-uning ichki organlari.



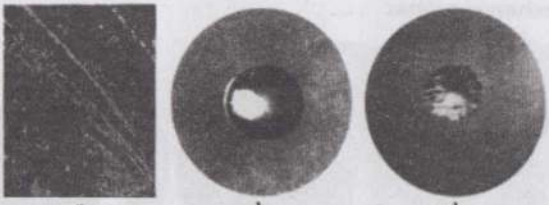
164-rasm. Biosinovda o'lgan qo'yning jigari



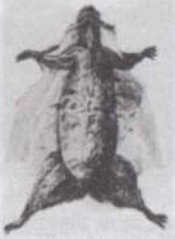
165-rasm. Cl. Perfringens: 1-kapsulali tayoqchalar dengiz cho'chqasi jigaridan tayyorlangan surtmada; 2-sporali tayoqchalar (kulturada); 3-xivchinsiz tayoqcha.



166-rasm. *Cl.perfringens* **kulturasi: 1-sutda; 2-kitt-Tarossida;3-qandli o'sishi.**



167-rasm. *Cl.perfringens* **koloniyasi: a-qandli-qonli agarda; b-S; d-R shakli.**



168-rasm. Biosinovda o'lgan dengiz cho'chqasi mushaklar bo'shashgan, teri osti kletchatkasida serozli gemorragik shish, gaz pufakchalari.



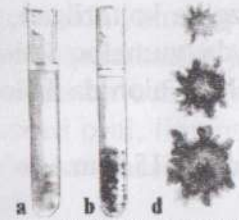
169-rasm. Nekrotit enteritdan o'lgan cho'chqaning ichaklari: ingichka ichak gemorragik yallig'langan.



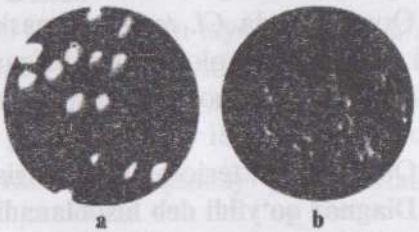
170-rasm. Enterotoksimiyadan o'lgan qo'y ichagi (cl.perfringens D tipi) xarakterli qon quyilishlar.



171-rasm. *Cl. histolyticum*: a-Kitt-Tarossidan; b-qandli qonli agar kulturasidan tayyorlangan surtmada; d-xivchinli tayoqcha.



172-rasm. *Cl. histolyticum* **kulturasi: a-Kitt-Tarossida; b-miyali muhitda (qoraygan); d-chuqur ekilgan agardagi koloniyalar.**



173-rasm. *Cl. histolyticum* **koloniyasi qandli-qonli agarda: a-S; b-R shakl.**



174-rasm. *Cl. histolyticum* **kulturasi bilan mushak orasiga zararlangan dengiz cho'chqasi: inyeksiya joyda yumshoq to'qimalar erigan.**

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

Tekshirilayotgan materialda va qotma toksini ajratilsa, kulturani ajratish uchun tekshirish o'tkazilmaydi.

Qo'zg'atuvchi kulturasini ajratish.

2. Bakteriologiya. Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikki probirka Kitt-Tarossi muhitiga ekiladi. Bittasi 80°C da bir soat qizdiriladi. Ekmalar termostatda 37–38°C da o'stiriladi.

Bu muhitda *Cl. tetani* – intensiv loyqalanish paydo qilib kamroq gaz hosil qiladi. 48–72 soatdan keyin bulon tiniqlasha boshlaydi, cho'kma hosil bo'ladi. Kulturadan o'ziga xos kuydirilgan shox hidi keladi (176-rasm).

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

Qonli agarda *Cl. tetani* – markazi ozgina ko'tarilgan, o'smalari bor, nozik koloniyalar, ba'zan mayda yumaloq koloniyalar hosil qiladi. Gemoliz zonasi bilan o'ralgan alohida koloniyalar ham uchrab turadi (177-rasm).

Qotmani bakteriologik tekshirish muddati 15 kun.

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

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

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

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

Nazorat savollari:

1. Qotma qanday kasallik?
2. Qotma kasalligida patmaterial olish qoidalari.
3. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?

4. *Cl. tetani* ning morfologik xususiyatlari.
5. *Cl. tetani* ning kultural xususiyatlari.
6. Qotma kasalligida toksinni ajratish usulini ayting.
7. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
8. Qotma kasalligida ishlatiladigan biopreparatlar.
9. Qotma kasalligiga qachon diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi?

Test savollari:

1. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi?

a) Cl. oedematiens
b) Cl. chauvoei
d) Cl. septicum
e) Cl. tetani

2. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi:

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

3. Qotma kasalligida laboratoriyaga qanday patmateriallar yo'llanadi?

a) zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qima ekssudati, parenximatoz organlar
b) jarohat sekreti, to'qima bo'lakchalari, qon, jigar, taloq
d) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfa tugunlari
e) parenximatoz organlar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi

4. Laboratoriya tekshiruvlari nechta yo'nalishda olib boriladi?

a) 4
b) 3
d) 2
e) 5

5. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi kulturasining qanday o'ziga xos hidi bo'ladi?

a) buzilgan tuxum hidi
b) achigan moy hidi

d) achigan baliq hidi
e) kuydirilgan shox hidi

29-mavzu. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidalarini o'rganish. Bakteriologik tekshirish usullarini o'zlashtirish.

Material va jihozlar: Patmaterial, tayyor mikrob kulturalaridan tayyorlangan surtmalar, bo'yoqlar, Paster pipetkalari jadval, biopreparatlar, plakatlar.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin talabalar surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yashadi va mikroskopda ko'rishadi. Natijani daftarga yozib olishadi.

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

Patologik material – laboratoriyaga tekshirish uchun gumon qilingan ozuqalardan 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 (180, 181-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 (30^0–35^0 g vaznli) terisi ostiga 3–5 ml dozada yuboriladi (184-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 30–35^0C da termostatga qo'yiladi. Petri kosachalaridagi ekmalarni anaerostatga joylashtirib, anaerob sharoit yaratish kerak. Qo'zg'atuvchi ikki-to'rt sutka o'sadi.

Kitt-Tarossida qo'zg'atuvchining o'sishi muhit asta-sekin loyqalanib (2–3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan achigan moyning hidi keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5–7 sutkada aniqlanadi (182-rasm).

Seyssler agarida – *Cl. botulinum* koloniyalari yumaloq, ildizsimon o'smalari bor, rangsiz yoki kulrang intensiv gemoliz zonasi bo'ladi (183-rasm).

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

Diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi:

– tekshirilayotgan patologik materialda botulinumning toksini aniqlansa (kulturasi ajratilmasa ham);

– patologik materialdan botulism qo'zg'atuvchisiga xarakterli xususiyatli kultura ajratilsa, biologik usulda uning zaharliligi aniqlansa.

Nazorat savollari:

1. Botulizm qanday kasallik?
2. Botulizmda patmaterial olish qoidalari.
3. Patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?
4. *Cl. botulinum* ning morfologik xususiyatlarini ayting.
5. *Cl. botulinum* ning kultural, biologik xususiyatlarini ayting.
6. Botulizmda toksinni ajratish usulini ayting.
7. Botulizm qo'zg'atuvchisining kulturasini ajratish usulini ayting.
8. Botulizmda ishlatiladigan biopreparatlar.
9. Botulizmga qachon diagnoz qo'yildi deb hisoblanadi?

Test savollari:

1. Botulizm qo'zg'atuvchisining qanday tiplari bor?

a) A, B, C, D, E, F
b) C, D, E, F, Z, S
d) A, B, S, Y, U, V
e) W, S, C, V, E, R

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

a) bakteriologik
b) immunologik
d) fermentativ
e) morfologik

3. Botulizmda laboratoriyaga yo'llanadigan patmaterial

a) ilik suyagi, ingichka ichak bo'lakchasi, shirdon
b) parenximatoz organlardan namunalar, ilik suyagi
d) gumon qilingan ozuqadan namunalar, o'lgan hayvon oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni
e) ekskret va sekretlar, ilik suyagi, parenximatoz organlar

4. Botulizm toksinini ajratish:

a) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, oziq muhitga ekiladi, biosinov qo'yiladi.
b) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, suv hammomida 30 daqiqa qizdiriladi, biosinov qo'yiladi
d) patmaterial suspenziyasi ekstraksiya qilinadi, filtrlanadi, biosinov qo'yiladi e) 1:2 suspenziya tayyorlab 2 soat uy haroratida qoldiriladi, filtrlanadi, 2 ga bo'lib qaynoq suv hammomida 20–30 daqiqa qizdiriladi. Filtratlar bilan biosinov qo'yiladi

5. Cl. botulinum:

a) sporasi oval, hujayra tennis raketkasi shaklida
b) sporasi yumaloq, hujayra baroban tayoqchasi shaklida
d) sporasi oval, hujayra urchuq shaklida
e) sporasi oval, yumaloq, hujayra nok, limon shaklida

30-mavzu. Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi

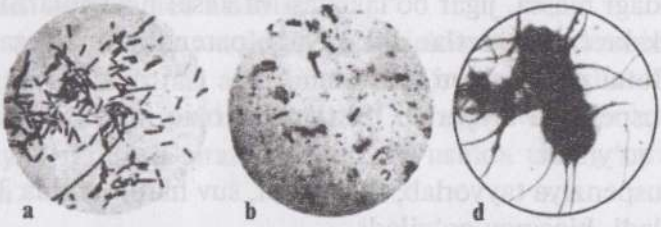
Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni dermatomikozlarda(trixofitiya, krosporiya), kandidamikoz va mog'or mikozlarda patmaterial olish qoidalari, mikologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Saburo muhitida o'stirilgan zamburug' kulturalari, trixofitiya va mikrosporiya bilan kasallangan hayvonlardan olingan patmaterial, mikologik ilmoq, buyum va yopqich oynalar, plakatlar, biopreparatlar, videoproyektor, kompyuter.

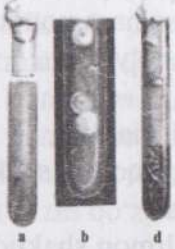
Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalar trixofitiya va mikrosporiyaning morfologiyasi bilan tanishadilar. Patmaterial va zamburug' kulturasidan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlaydilar. Qo'zg'atuvchining kultural xususiyatlarini o'rganadilar.

Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi



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



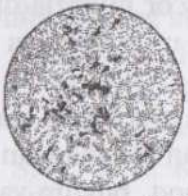
176-rasm. *Cl. tetani* **kulturasi: a-Kitt-Tarossi muhitida; b-chuqur ekilgan qandli agarda; d-miyali muhitda (qoraygan).**



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

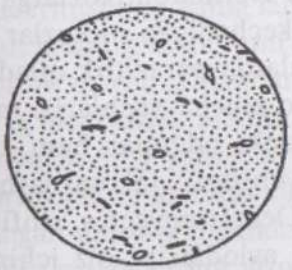


178-rasm. Dengiz cho'chqasida qotmaning klinik ko'rinishi.

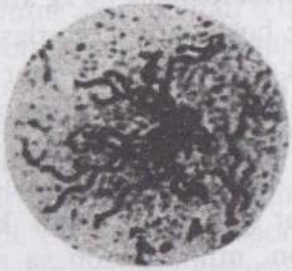


179-rasm. *Cl. tetani* **kulturada. Sporali tayoqchalar**

Botulizmni laboratoriya diagnostikasi



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



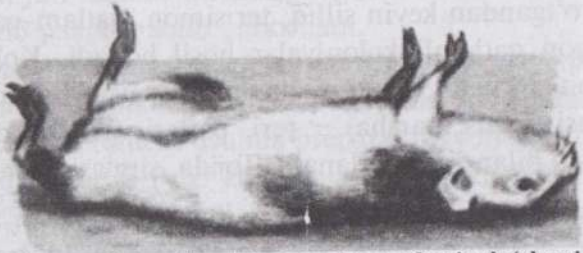
181-rasm. *Cl. botulinum* **tayoqcha xivchinlari bilan.**



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



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



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

Mikozlar–patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi. Ularga dermatomikoz, mog'ormikoz, kandidamikoz qo'zgatuvchilari kiradi[1] (186-rasm).

Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari. Dermatomikozlarga teri va uning hosilalarini zararlash bilan kechadigan mikozlar kiradi. Qo'zg'atuvchi keratini bor to'qimalarda parazitlik qiladi. Barcha qishloq xo'jalik hayvonlari (ko'pincha yoshlari), mo'ynali va yirtqich hayvonlar, shuningdek, odamlar ham kasallanadi. Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari takomillashmagan mog'or zamburug'lariga kiradi (Deuteromycetes sinfi). Trihofiton, mikrosporon va achorion avlodlarini o'z ichiga oladi (188-rasm).

Trixofitiya – surunkali kasallik bo'lib, teri va junning keskin chegaralangan tamg'a shaklida zararlanishi bilan ajralib turadi. Qo'zg'atuvchisi: buzoq va qo'zilarda – *Tr.verrucosum*, otlarda – *Tr.equinum*, kemiruvchilarda – *Tr.gypseum*, parrandalarda *Tr.gallinae*.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Mikroskopda zamburug'larning tanasi(mitseliysi) mayda shoxlangan ipchalardan tuzilganligi va unda rangsiz yumaloq sporalarning joylashganligini ko'rish mumkin. Zararlangan jun mikroskopda ko'rilsa, zamburug' va uning sporalari jun ichida yoki atrofida tartibli zanjirsimon joylashganligi ma'lum bo'ladi.

Trixofitiya qo'zg'atuvchisi – aerob, maxsus oziq muhitlarda yaxshi o'sadi. Saburo agarida 26–28^{0}C da termostatda 10–20 sutka o'tgandan keyin silliq, terisimon, qatlam-qatlam, ba'zida unsimon qatlamli koloniyalar hosil bo'ladi. Koloniyalardan oziq muhitga kuchli, chuqur shoxlanish paydo bo'ladi. Parranda trixofitiyasi (favus, parsha) – teri, patlari va ichki organlarning zararlanishi bilan xarakterlanadi. Tojida, sirg'asi, tumshug'iga ya-

[1] Кисленко В.Н., Количёв Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Част 3. Частная микробиология. – М.: КолосС, 2007 г.С.194.

qin joylarida kulrang-oqish qatlamlari – skutulalar paydo qiladi. Qo'zg'atuvchisi *Tr.gallinae.*

Mikrosporiya – it, mushuk, yirtqich va boshqa hayvonlarda teri epidermisining yallig'lanishi, junning sinishi bilan o'tadigan yuqumli kasallik bo'lib, uni mikrosporon avlodiga mansub zamburug'lar qo'zg'aydi. Odamlar ham kasallanadi.

Qo'zg'atuvchilari: itlarda *Microsporum canis* (lanosum), otlarda *M.eqvuinum, M. gypseum* va boshqalar.

Morfologik va kultural xususiyatlari. Patmaterialda zamburug' shoxlangan mitseliy shaklida ko'rinadi. U parchalanib spora hosil qiladi. Zararlangan jun atrofida sporalar tartibsiz joylashib chexol ko'rinishini eslatadi (187-rasm). Trixofitiyadan farqi glukozali Saburo agarida 26–28^{0}C da *M. equinum* 6–7-kuni rivojlanib, terisimon, kulrang-oqish mitseliy bilan qoplangan koloniya hosil qiladi.

Mikrosporum avlodi zamburug'lari nurlanuvchi pigment – pteridan hosil qiladi. Yetilgan koloniya sariq yoki qo'ng'ir rangda bo'ladi.

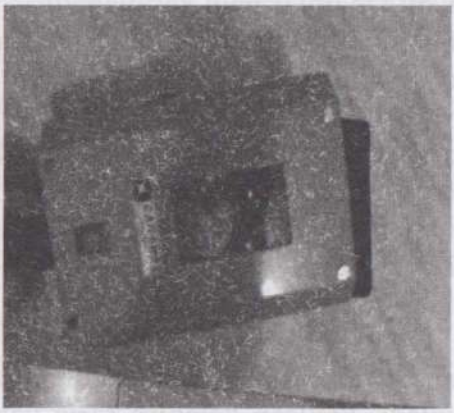
Lyuminissentli analiz – patmaterialni Petri kosachasiga qo'yib, qorong'i xonada simob-kvarsli lampaning (PRK-2, PRK-4) ultra-binafsha nurlari ostida 20 sm masofada qaraganda mikrosporiya bilan jarohatlangan jun tolalari yashil nurlanish beradi. Bu usulda mikrosporiyaning yashirin shaklini aniqlash mumkin (185-rasm).

Laboratoriyaga tekshirish uchun jarohatlangan-zararlangan epidermis va jun tolalari qirindisi sog'lom to'qima bilan chegara joyidan olinib paketga solib yuboriladi.

Trixofitiya, mikrosporiyaga laboratoriyada diagnoz mikroskopiya usulida qo'yiladi. Patmaterial 10% li ishqorda 20–30 daqiqa turadi. Undan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi. Yoki tekshirilayotgan material Petri kosachalarida qaychi bilan maydalanadi. Keyin jun, qazg'oq bo'lakchasi buyum oynachasiga olinadi. Unga bir tomchi 20% li NaOH yoki KOH tomdirib, yengilgina qizdiriladi (spirt lampasi alangasi ustida). So'ngra ustiga bir tomchi 50% li glitserin eritmasi tomdiriladi, ustiga yopqich oyna yo-

piladi. Avval x8 obyektiv, keyin x40 obyektivda yoki immersion sistemada ko'riladi.

Zamburug' mitseliysi va sporalar borligi diagnoz qo'yishga asos bo'ladi. Trixofiton va mikrosporumlar sporalarining zararlangan junda joylashish tartibiga qarab bir-biridan farqlanadi.



185-rasm. Lyuminissentli analiz.

Mikroskopik tekshirish natijasi gumonli bo'lsa – patmaterialdan toza kultura ajratiladi, lyuminisentli analiz va biosinov qo'yiladi.

Toza kultura ajratish uchun Saburo, suslo – agar, 2% glukozali GPA, Chapeka muhitlaridan foydalanish mumkin.

Biosinov – dengiz cho'chqasi yoki quyonning terisi tirnalib, patmaterial surtiladi.

Biopreparatlar. Aktiv profilaktika maqsadida:

Qoramollar uchun TF–130 va LTF–130 quruq vaksina *Trichophyton verrucosum* (faviforme)ning attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Otlar uchun SP–1 vaksinasi *Trichophyton equinum* shtammidan tayyorlangan.

Qo'ylar uchun Trixovis quruq vaksinasi *Trichophyton verrucosum* (avtotrofikum) shtammidan tayyorlangan.

Mo'ynali hayvonlar va quyonlar uchun MENTAVAK vaksinasi *Trichophyton mentagrophytes* kulturasidan tayyorlangan.

Tuyalar uchun Kamelvak–TC vaksinasi *Trichophyton sarkisovi* zamburug'ining attenuirlangan shtammidan tayyorlangan.

Go'shtxo'r hayvonlar, nutriya va quyonlar uchun MIKOLAM vaksinasi.

Itlar dermatomikozlariga qarshi Polivak–TM inaktivlangan vaksina *Trichophyton* va *Microsporum* avlodlari zamburug'larining 8 turidan iborat.

Dermatomikozlarga qarshi VAKDERM vaksinasi: it, mushuk, mo'ynali hayvonlar va quyonlar mikrosporiyasi hamda trixofitiyasiga qarshi kurashish uchun mo'ljallangan. *Microsporum canis, Microsporum gipseum* va *Trichophyton.*

Mentagrophytes larning yuqori immunogenli shtammlaridan tayyorlanadi.

Emlangan hayvonlarda immunitet hayotiy saqlanadi.

Mog'or mikozlari qo'zg'atuvchilari – *Aspergillus, penicillium, Mucor* va h.k. lar avlodlariga mansub zamburug'lar kiradi (189-rasm).

Aspergilloz – uy va yovvoyi hayvonlarning yuqumsiz kasalligi, ba'zan yirik shoxli hayvonlar, mayda shoxli hayvonlar, ot, cho'chqa, arilar ham kasallanadi. Nafas olish organlari, asosan, o'pkaning granulematoz zararlanishi bilan xarakterlanadi.

Patologik material. Yangi o'lgan mayda hayvonlarning jasadi, tugunlar, zararlangan organlar, tuxum. Chapeka, Saburo, qonli, miya va makkajo'xori agari, GPA lardan foydalaniladi.

25–37^{0}C da 3–5 chi sutkada zich oziq muhitlarda aspergilla koloniyalari o'sadi. *A. fumigatus* Chapeka muhitida tekis yoki kengish koloniya hosil qiladi. Rivojlangan mitseliysi avval oq, keyinchalik yashil rangda kigizsimon shakl beradi. Yetilgan kulturalar spora hosil qilish bosqichida qora rangda bo'ladi.

Mukormikoz qo'zg'atuvchilari – mukor avlodiga mansub, ko'proq *M.M. racemosus* uchraydi. Mukormikoz limfa bezlari, o'pka, boshqa organ va to'qimalarda granulematoz jarayonlarining rivojlanishi bilan xarakterlanadigan surunkali kasallik.

Patologik material. Yiring, nekrozga uchragan to'qima, ekssudat, granulematozli to'qima.

Mikroskopiya. Surtmada bo'g'inlarga bo'linmagan mitseliy, sporalar ko'rinadi.

Chapeka muhitida(Petri kosachasida) 25–30^{0}C da o'stiriladi. Uchinchi sutkada zamburug' kulturalari kigiz tutami shaklida kulrang-oq koloniyalar hosil qiladi. Keyinroq qo'ng'ir ranggacha o'zgaradi.

Kandidamikoz qo'zg'atuvchisi – *Candida albicans. Kandida* avlodiga mansub achitqisimon zamburug'.U fakultativ parazit bo'lib, hayvonlarning shilliq qavatlarida doimiy yashab, kandidamikoz(molochnitsa) kasalligini qo'zg'aydi. Hazm trakti shilimshiq qavati, har xil organ va to'qimalarni zararlashi bilan xarakterlanadi. Asosan parrandalar zararlanadi. Buzoq, qo'zi va boshqa yosh mollar kamroq kasallanadi.

Patologik material. Og'iz, qizilo'ngach, zob qatlamlardan qirindi olinadi.

Mikroskopiya. Bo'yalgan (Gram, Sil-Nilsen), bo'yalmagan preparatlar ko'riladi. Bo'yalmagan surtmada ko'pgina oval achitqisimon hujayralar ko'rinadi.

Saburo agari, suslo-agar, glukozali GPA larda o'sadi. Ekmalar 25–30^{0}C da o'stiriladi. Birinchi koloniyalar 2–3 chi kuni o'sadi. Suyuq muhitlarda C.albicans halqa va cho'kma hosil qiladi. Kulturaning patogenligi quyon, dengiz cho'chqasi, oq sichqonlarda biosinov qo'yib aniqlanadi. Kultura suspenziyasi tomirga yuboriladi. Musbat natijada barcha ichki organlarida zamburug' rivojlanadi.

Nazorat savollari:

1. Dermatomikozlarga qaysi mikozlar kiradi?
2. Trixofitiya qanday kasallik?
3. Mikrosporiya qanday kasallik?
4. Trixofitiya va mikrosporiya qo'zg'atuvchilarining bir-biridan farqlovchi belgilari.
5. Dermatomikozlarga tekshirish uchun patmaterial olish.

6. Patologik materialni tekshirish usullari.

7. Kandidamikoz, aspergilloz qo'zg'atuvchilari, ularni o'stirish.

8. Kandida avlodiga kiruvchi zamburug'larning patogen xususiyatlari.

9. Zamburug'lar qaysi oziq muhitlarda o'sadi.

Test savollari:

1. Mikozlarga qaysi izoh to'g'ri berilgan?

a) mikoplazmalar chaqiradigan kasalliklar

b) mog'or zamburug'lari chaqiradigan kasalliklar

d) patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan kasalliklar guruhi

e) faqat teri zararlanishi bilan kechadigan kasalliklar

2. Dermatomikoz qo'zg'atuvchilari qayerda parazitlik qiladi?

a) parenximatoz organlarda

b) glikogeni bor to'qimalarda

d) mushakning chuqur qatlamlarida

e) keratini bor to'qimalarda

3. Trixoftiya va mikrosporiya qo'zg'atuvchilari qanday farqlanadi?

a) lyuminissentli analiz, sporalarining joylashishi bo'yicha

b) sporalarining shakli, o'lchami bilan

d) kislorodga munosabati bilan

e) oziq muhitda o'sishi, koloniya rangi bilan

4. Qaysi avlod dermatomikoz qo'zg'atuvchilari yashil nurlanish beradi?

a) trixofiton

b) mikrosporon

d) axarion

5. Trixofitiya va mikrosporiyada olinadigan patmaterial

a) qon va ajratmalar

b) zararlangan to'qima, jun tolalari bilan

d) zararlangan va sog'lom to'qima chegarasidan olingan qirindi

e) zararlangan teri bo'lakchasi, ajratma

31-mavzu. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi

Mashg'ulotning maqsadi: Talabalarni patmaterial olish, laboratoriyaga jo'natish qoidalari, bakteriologik, serologik tekshirish usullari bilan tanishtirish.

Material va jihozlar: Probirkada leptospira kulturasi, buyum, yopqich oynachalari, steril Paster pipetkalari, agglutinatsiyalovchi leptospiroz zardoblari, antigen, tayyor surtmalar, jadvallar, biopreparatlar, plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntiradi. Talabalarga vazifa beradi: Surtmalarni mikroskopda ko'rib, daftarga yozish, mikroagglutinatsiya reaksiyasini qo'yish, ARni buyum oynachasida qo'yish va natijasini hisobga olish.

Leptospiroz – qishloq xo'jalik hayvonlari, kemiruvchi va barcha go'shtxo'r hayvonlarga xos yuqumli kasallik bo'lib, isitma, sarg'ayish, gemoturiya, anemiya va shilimshiq parda hamda terida to'qimalarning nekrozi bilan namoyon bo'ladi. Odamlar ham kasallanadi.

Leptospiralar *Spirochetaceae* sinfi, *Leptospira* avlodiga mansub. Ularning ikki guruhi farqlanadi – *L.interrogans* – hayvon va odamlar uchun patogen va *L.biflexa* – patogen emas. Asosiy leptospiroz qo'zg'atuvchilariga: *bataviye, gebdomadis, grippotifoza, ikterogemorragiye, kanikola, pomona, tarassovi* lar kiradi.

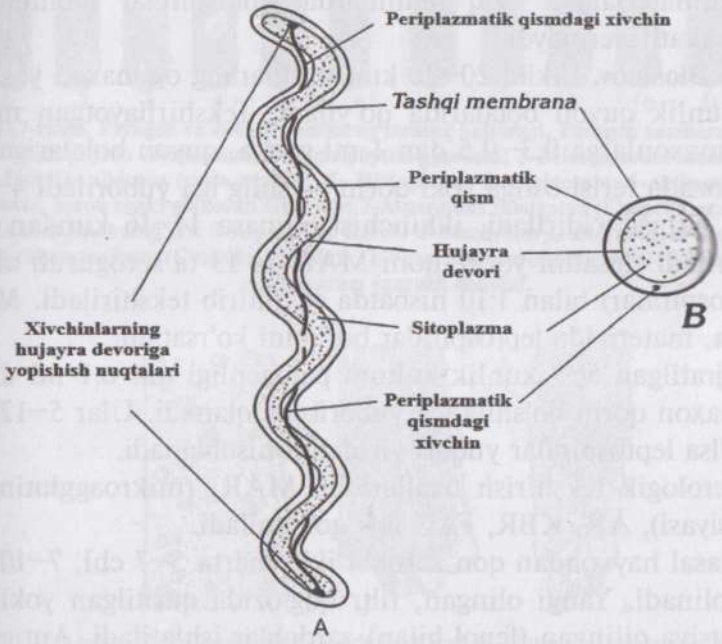
Patologik material. Kasal hayvondan 5–10 ml qon, siydik, tashlangan homila yuboriladi. O'lgan mayda hayvonlarning jasadi, yirik hayvonlardan yurak, parenximatoz organlardan bo'lakchalar, buyrak, siydik xaltasi boylangan holda, orqa miya suyuqligi yuboriladi. Siydik ertalab yem-xashak berishdan oldin olinadi.

Patmaterialni laboratoriyada 6 soatdan (sovutgichda saqlansa 10-12 soatdan) kechiktirmay tekshirish kerak.

Diagnoz bakteriologik va serologik usullarda qo'yiladi.

1. Mikroskopiya. Leptospiralar bo'yoqni yomon qabul qiladi. Ular ezilgan tomchi usulida, qorong'ilashtirilgan kondensorda tek-

shiriladi. Leptospiralar spiral shakldagi, to'g'ri yoki S holdagi ingichka, harakatchan ipsimon organizm. Uzunligi 5–20 mkm, diametri 0,1–0,2 mkm, uchlari ilmoq shaklida egilgan. Leptospiralar fibrillalar yordamida harakatlanadi (186, 190, 191, 192, 193-rasm). Grammanfiy, Romanovskiy Gimza usulida 48 soat bo'yaganda pushti-binafsha rangda bo'ladi. Lyuminissent mikroskopiyada leptospirozning maxsus fluoresensiyali globulini ishlatiladi.



186-rasm spiroxetaning tuzilishi[1]

Mikroskopik tekshirishda leptospiralar aniqlansa, diagnoz qo'yishda shu bilan chegaralanish mumkin.

2. Bakteriologiya. Patmaterial (siydik 10–15 ming aylanma tezlikda 30 daqiqa sentrifugalanib, cho'kmasi va ustidagi suyuqli-

[1] P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.82.

gi, qonning plazmasi, organlardan suspenziya tayyorlab tekshiriladi) maxsus Lyubashenko, Ulengut oziq muhitlariga ekiladi. Har bir namunadan 3–5 tomchidan 5–6 ta probirka yarim suyuq yoki suyuq oziq muhitga ekiladi. Leptospiralar – fakultativ aerob, 28–30^{0}C da 3 oy o'sadi. 3, 5, 7, 10 kundan keyin, so'ngra har 5 kundan keyin hamma probirkalardan ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab ko'riladi.

Patmaterialdan oziq muhitlarda leptospiralar hamma vaqt ham ajratilavermaydi.

3. Biosinov. Ikkita 20–30 kunlik tillarang og'maxon yoki 10–20 kunlik quyon bolalarida qo'yiladi. Tekshirilayotgan material olmaxonlarga 0,3–0,5 dan 1 ml gacha, quyon bolalariga -2–3 ml dozada terisi ostiga yoki qorin bo'shlig'iga yuboriladi 4–5 chi kuni bittasi o'ldiriladi, ikkinchisi o'lmasa 14–16 kundan keyin o'ldiriladi. Jasadni yorib, qoni MAR da 13 ta seroguruh antigen (leptospiralar) bilan 1:10 nisbatda suyultirib tekshiriladi. Musbat natija, materialda leptospiralar borligini ko'rsatadi.

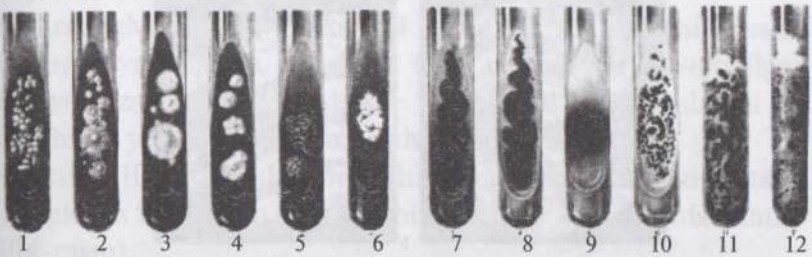
Ajratilgan 5–7 kunlik kultura patogenligi uni o,1 ml dozada og'maxon qorin bo'shlig'iga yuborib aniqlanadi. Ular 5–12 kunda o'lsa leptospiralar yuqori virulentli hisoblanadi.

Serologik tekshirish usullaridan MAR, (mikroagglutinatsiya reaksiyasi), AR, KBR, FAU lari qo'llaniladi.

Kasal hayvondan qon zardobi ikki marta 5–7 chi, 7–10 kunlari olinadi. Yangi olingan, filtr qog'ozida quritilgan yoki konservatsiya qilingan (fenol bilan) zardoblar ishlatiladi. Antigen sifatida tirik leptospira kulturalari ishlatiladi.

MAR. Zardoblar 1:50, 1:250, 1:1250 nisbatda suyultiriladi. Reaksiya o'yiqchali plastinkalarda qo'yiladi. Har bir suyultirilgan zardobdan, alohida 6 ta qator 3 tadan o'yiqqa (antigen soniga qarab) 0,1 mldan quyiladi. 6 ta leptospira kulturasining har biridan 0,1 ml dan 3 ta o'yiqqa zardob ustiga quyib, aralashtiriladi, bunda zardoblar 1:100, 1:500, 1:2500 nisbatda suyultirilgan bo'ladi. Plastinani sekin chayqatib, termostatga 30^{0}C 1 soatga qo'yiladi. Bir vaqtda nazorat qo'yiladi: 0,1 ml kultura +0,1 ml fiziologik eritma.

Patogen zamburug'larni laboratoriya diagnostikasi



187-rasm. Patogen va zaharli zamburug'larning kulturasi. Patogen zamburug'lar: 1-Trichophyton verrucosum; 2-Trichophyton gypseum; 3-Microsporum lanosum;4-Candida albicans (suslo agarda); 5- Histoplasma farciminosum; 6-Actinomyces bovis, aerob shakl glukozali GPA da); 7-Aspergillus fumigatus (Chapeka agarida). Zaharli zamburug'lar: 8-Aspergillus flavus; 9-Stachybotrys alternans;10-Dendrodochium toxicum (Chapeka agarida); 11-Fusarium sporotrichioides; 12-Fusarium graminearum (guruch donida).

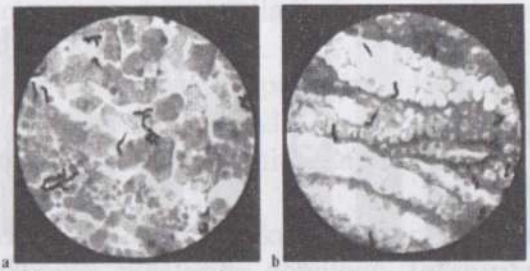


188-rasm. Dermatomisetlar zararlangan sochda. Pathogen zamburug'lar: 1-Trichophyton schoenleini; 2-Trichophyton violaceum; 3-Microsporum canis.



189-rasm. 1Mukor zamburug'i sporangiyalari; 2-Aspergillus fumigatus kulturada.

Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi

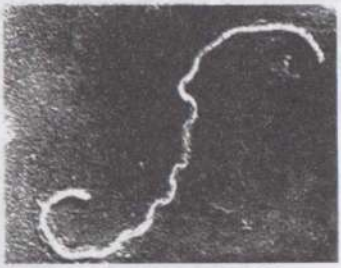


a b

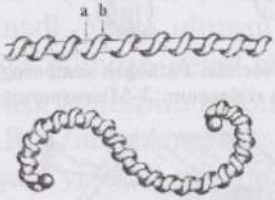
190-rasm. Leptospiralar: a-buzoq jigari to'qimasida; b-buyragi kanalchalarida.



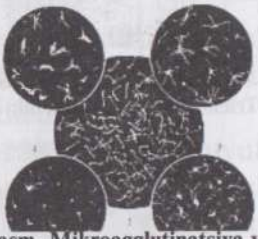
191-rasm. Leptospiralar ezilgan tomchida qorong'i maydonda.



192-rasm. Leptospira. Spiralsimon tuzilishi va tana o'q ipi aniq ko'ringan.



193-rasm. Leptospiraning tuzilish sxemasi: tinch holatida (yuqorida) va harakatda (pastda). Elastik oq ip (a), periplast (b) bilan bir xil qalinlikda. Birinchi o'ramlari zich, mayda, ikkinchilari leptospiralarga S-shaklini beradi.



194-rasm. Mikroagglutinatsiya va lizis reaksiyasi: 1-manfiy (leptospiralar harakati va shaklini saqlab qolgan);
2-5-ijobiy (leptospiralar har xil darajada agglutinatsiya va lizisga uchragan).

Natija ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlab, mikroskopda tekshirib aniqlanadi. Barcha suyultirilgan zardoblarda agglutinatsiya 4, 3, 2 plusga baholansa – musbat hisoblanadi. Nazorat reaksiyasidan tashqari.

Makroagglutinatsiya reaksiyasi – A R – tomchili usulda buyum oynachasida qo'yiladi. 0,04 ml har bir suyultirilgan zardob yoki zardobning o'zidan + bir tomchi antigen shisha tayoqcha bilan yoki chayqatib aralashtiriladi.

Reaksiya 10 daqiqa davomida hisobga olinadi. Agglutinatsiya 4, 3, 2 plusga baholansa musbat, bir plusga – manfiy hisoblanadi (194-rasm).

Biopreparat. VGNKI ning polivalentli, deponirlangan vaksinalari. Giperimmunli qon zardobi qo'llaniladi.

Nazorat savollari:

1. Leptospiroz qanday kasallik?
2. Leptospirozga tekshirish uchun patmaterial olish va laboratoriyaga yuborish qoidasi.
3. Leptospiroz qo'zg'atuvchisining morfologik, tinktorial xususiyatlari.
4. Leptospiroz qo'zg'atuvchisining kultural xususiyatlari.
5. Leptospirozda biosinov qanday qo'yiladi?
6. Leptospirozni serologik tekshirish usullari.
7. Serologik tekshirishlar uchun ishlatiladigan leptospiroz antigenini ayting.
8. Leptospirozda qo'llaniladigan biopreparatlar.

Test savollari:

1. Leptospirozda kasal hayvonlardan olingan patmaterial qaysi bandlarda to'g'ri berilgan?

a) traxeya shilimshig'i, burun ajratmalari, qon
b) siydik, tezak, so'lak
d) tashlangan homila, ajratmalar, balg'am
e) qon, siydik, tashlangan homila

2. Leptospiralar:

a) harakatchan, spiral shaklli, ingichka, ipsimon organizm
b) harakatchan, kokksimon bakteriya
d) harakatsiz, spiral shaklli, ingichka, ipsimon organizm
e) harakatsiz, vergul shaklli, buramasimon organizm

3. Leptospiralarni mikroskopik tekshirish uchun asosan qaysi usulda preparat tayyorlanadi?

a) osilgan tomchi usulida
b) ezilgan tomchi usulida
d) Shukevich usulida
e) surtma, tamg'a usulida

4. Leptospirozda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi?

a) kalamush, kabutar, tovuq
b) dengiz cho'chqasi, oq sichqon
d) og'maxon, quyon
e) jo'ja, quyon, baqa

5. Leptospirozga serologik usullarda tekshirganda qanday antigen ishlatiladi?

a) o'ldirilgan kulturadan tayyorlangan maxsus antigen
b) kimyoviy usulda inaktivlangan kultura suspenziyasi
d) fizikaviy usulda inaktivlangan kultura suspenziyasi
e) leptospira kulturalari

GLOSSARIY

O'zbek tili	Ingliz tili	Rus tili	Ma'nosi
Achitqilar (drojji)	Yeasts (drojji)	Дрожжи	Xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular mitseliyasiz bir hujayrali kurtaklanadigan yumaloq yoki oval shaklli zamburug'lar.
Aktinomisetlar	Aktinomisety	Актиномицеты	(Grekcha–*actis*–nur, *mykes* – zamburug')–nursimon zamburug'lar. Bir hujayrali gram-musbat mikroorganizmlar. Bu guruhning 8ta oilasi *Actinomucetales* qatoriga kiradi.
Autotrof	Autotrophs	Аутотроф	(*Autos* – o'zim, *trophe*-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.- *aer* – havo, *bios* – hayot) – atmosferadagi erkin kislorodni o'zlashtirib organik va anorganik moddalarni biologik oksidlab yashab rivojlanadigan organizmlar.

Anaerob mikroblar	Anaerobic microorganisms	Анаэробные микроорганизмы	(*An*-inkor, *aer*-havo, bias-hayot) erkin kislorod bo'lmagan muhitda yashaydigan mikroorganizmlar.
Antogonist 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 75^0C qizdirilib tayyorlangan vaksina.
Anafilaksiya	Anafilaktsiya	Анафилаксия	(Grekcha *«ana»* – qarshi, *«filaksiya»* himoya demakdir). Begona oqsilni (zardob, antibiotiklar) takror parenteral yuborish natijasida organizmda unga nisbatan haddan tashqari sezuvchanlikning ortishi.
Antitoksinli zardob	Antitoxinous serum	Антитоксическая сыворотка	Toksinga qarshi immun zardoblar.

Allergiya	Allergy	Аллергия	(Grek. *Allos* – begona, *ergon*- ta'sir) organizmga yot bo'lgan antigenlar (mikrob oqsili, toksini, dorilar va h.k.) ta'sirida organizm sezuvchanligining ortishidir.
Allergenlar	Allergens	Аллергены	(Gr. *allos* – boshqa, *ergon* –ta'sir) – bakteriyalar gidrolizati bo'lib (brusellin, tuberkulin, mallein), tirik hayvonlarda brusellyoz, tuberkuloz, 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 *anti* – qarshi, *genes* – tur). Organizmga parenterial 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. *agglutinatio* – yopishish) suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriya, eritrosit va boshqa hujayra elementlari) ning bir biriga yiopishishi.
Aktiv immunitet	Active immunity	Активный иммунитет	Yuqumli kasallik yoki emlash natijasida paydo bo'lib, bunda organizm aktiv ishtirok etadi.
Antropozoonoz	Anthropozoonosis	Антропозооноз	Hayvon va odamlarni zararlab, o'zaro bir-birini zararlash qobilyatiga ega kasalliklar.
Anaerob bakteriyalar	Anaerobic bacteria	Анаэробные бактерии	Kislorodsiz muhitdagina yashaydigan mikroorganizmlar, bakteriyalar, bular klostridiyalar, enterobakteriyalar
Antroponoz	Anthroponosis	Антропоноз	Faqatgina odamlarga xos kasalliklar.
Aralash infeksiya	mixed infection	смешанная инфекция	Ikki yoki undan ortiq tur qo'zg'atuvchilar kirishidan paydo bo'ladigan kasallik. Aralash infeksiyalar og'ir o'tadi.
Anaerostat	Anaerostat	Анаэростат	Germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni (CO_2, N_2, O_2 va hokazo) berish uchun jo'mraklari va vakuummonometrlari 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	(*Anti*—qarshi, *bios*—hayot) bakteriyalar, aktinomisetlar, mog'or va lishayniklar, hayvonlar va o'simliklaning 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 (TBml) 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 mikrobni 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 mikrob rivojlangan muhitda ikkinchi bir tur mikrob rivojlana 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 infeksion kasalliklarga bakteriologik diagnoz qo'yish, kasallikning oldini olish bilan shug'ullanadi.
Bakterioliz	Bacteriolis	Бактериолиз	(Grek. *bakterion* – bakteriya, *lysis* – erish) bakteriyalar qobig'ining yemirilishi natijasida sitoplazmasining tashqi muhitga chiqishi. Bakteriofag, bakteriolizinlar, lizosim fermentlari shu xususiyatga ega.

Bakteriologik bo'yoqlar.	Bacteriological paints	Бактериологические 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) shakli 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	бактерицидные действия	Bakteriyalarni o'ldiradi.
Bakteriostatik ta'sir	bacteriostatic effect	Бактериостатические 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	Bziqa 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 mikroorganizmlarning turini aniqlab, kasalliklarga diagnoz qo'yishda hamda yuqumli kasalliklarni davolashda qo'llanadi.
Basilla	Bacillus	Бацилла	Spora hosil qiluvchi tayoqchasimon bakteriyalar. Spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta emas.
Bipolyar bakteriyalar	Bipolar bacteria	Биполярные бактерии	Uchlari intensiv bo'yalgan bakteriyalar (pasterellala).

Dezaminlovchilar	Dezaminidazi	Дезаминизаторы	Aminokislotalarni parchalaydi.
Dermatomikozlar	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	Diagnostik 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 hujayraralari kiradi. Yadro membranasidir.
Epidedimit	Epididymite	Эпидедимит	Urug'don ortig'ini yallig'lanishi.
Enterit	Enteritis	Энтерит	Ingichka ichak shilliq pardasining yallig'lanishi.
Elektiv oziq muhiti	Elective food medium	Элективные питательные среды	Faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi, boshqalari yo'qotiladi (anaeroblar, sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar, ichak tayoqchasi, gemolitik stafilakokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).

			Differensial – diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktoagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalariga qarab aniqlashga imkon beradi.
Endometrit	Endometritis	Эндометрит	Bachadon shilliq pardasining yallig'lanishi
Eksikator	Defective	Эксикатор	Bu qopqog'i zich yopishadigan shisha idish. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chetlariga vazelin surtiladi, keyin termostatga qo'yiladi.
Ekzogen infeksiya	Heteroinfection	Экзогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga tashqi 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) Mikrob tirik vaqtida yoki o'lganidan keyin uning tanasidan sirtga ajrab chiqadi.
Endotolksinlar	Endotoxins	Эндотоксины	Bakteriya hujayrasiga ayniqsa devoriga mahkam bog'langan bo'ladi. Shu sababdan mikrob o'lganidan keyingina ajraladi.

Fagositoz	Phagocytosis	Фагоцитоз	Immunitet haqidagi ta'limotda fagasitozning muhim o'rni bor. Birinchi bo'lib I.I. Mechnikov fagositoz va uning ahamiyati haqida to'liq ma'lumot bergan.
Fluoressensiyalovchi antitelolar usuli (FAU)	Fluorescence Antitellar Method (FAM)	Метод флуоресцирующих антител (МФА)	O'ta maxsus immunli lyuminessensiyalovchi zardoblar ishtirokida bajariladigan, ekspress diagnostika usuli. Bunda antigen va antitelo orasida immunologik reaksiyalar buyum oynachasida 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, ularning 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‘simliklarda antibiotiklarga o‘xshash moddalar borligini birinchi bo‘lib olim V.P.Tokin 1928-1930-yillarda isbotlab, ularni fitonsidlar deb atagan. Fitonsidlar o‘simlik bargi, guli, ildizi, mevasida bo‘ladi. Fitonsidlar asosan yiringli jarayonlarni mahalliy davolashda qo‘llaniladi.
Giflar	Gifs	Гифы	Ingichka ipchalardan iborat Zamburug‘ hujayrasi.
Gram usuli	G r a m method	Метод Грама	1884-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo‘yalishiga ko‘ra, bakteriyalarning hamma turi hujayrasi devoridagi peptidoglikanga bog‘liq holda ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo‘linadi.
Galozoy	Galoza	Галозой	Oziqlanish usuli hayvonlarga (yuqori va sodda) xosdir. Bunda hayvon ozuqani yutadi va ozuqa hazm traktida hazm bo‘ladi.

Golofit	Golofit	Голофит	Ozuqalanish usuli o'simlik va mikroorganizmlarga xosdir. Ular oziq moddalarning suvdagi eritmasini uncha katta bo'lmagan molekulalar ko'rinishida butun tanasi bilan qobig'i orqali ikki tomonlama osmotik hodisa va diffuziya hisobiga iste'mol qiladi.
Gemoliz	Hemolysis	Гемолиз	(gr. *haema* – qon, *lysis*– erish) qondagi eritrositlarning parchalanib, ichidagi gemoglobinning tashqi muhitga chiqishi.
Gemolizin	Hemolytic	Гемолизин	biofabrikada, qo'y eritrositlari bilan quyonni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda gliserin qo'shilgan bo'ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
Gigroma	Gigroma	Гигрома	Bo'g'imlararo shilliq pardaning shishishi
Gomologik	Homological	Гомологический	(gr. *homogenes* – bir xil)- o'xshash, bir xil.
Giperimmunlash	Hyperimmunization	Гипериммунизация	Bakteriya, virus yoki toksinlarga qarshi maxsus zardob olish maqsadida hayvonlarni vaksina, toksin yoki mikroblar, viruslar bilan ma'lum tizim bo'yicha bir necha bor emlash.

Gemoturiya	Hemoturia	Гематурия	Siydikning qon aralash chiqishi
Gaptenlar	Gaptenlar	Гаптены	Oqsilsiz polisaxaridlar, mikrob hujayrasi somatik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.
Gemotoksin	Gemotoxin	Гемотоксин	Bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida hosil bo'ladigan, eritrositlarni lizisga uchratuvchi oqsil tabiatli moddalar. U eritrosit qobig'ini parchalaydi.
Gematogen yo'l	Gemotogenny path	Гемотогенный путь	Patogen mikroblarning organizm bo'ylab qon orqali tarqalishi.
Galofil stafilokokklar	Galophilic staphylococci	Галофильные стафилококки	8–10% NaCl bor muhitda o'sadi.
Gemotoksin (stafilolizin)	Gemotoxin (staphylolizine)	Гемотоксин	Eritrositlarni lizis qiladi. Stafilokokklar ekzotoksini.
Infeksiya	Infection	Инфекция	(lotinchadan *infectio*) yuqtiraman degan ma'noni anglatadi. Infeksiya deganda tashqi muhit sharoitida hayvon organizmi va patogenli mikrob-kasallik qo'zg'atuvchi orasida vujudga keladigan murakkab biologik jarayon, o'zaro kurash ta'siri tushuniladi.

Infeksion kasallik	Infectious disease	Инфекционное заболевание	Organizm va mikroblar o'zaro ta'sirining eng ifodalangan shakli. Bu organizmning shunday holatiki, bunda qo'zg'atuvchi ta'siriga javoban ma'lum patologik jarayonlar rivojlanadi.
Intoksikasiya	Intoxication	Интоксикация	Toksin bilan organizmning zaharlanishi.
Inkubasion davr	Inkubasionny stage	Инкубационный период	Ya'ni yashirin davr, organizmda infeksion jarayon rivojlanishining birinchi bosqichi. U organizmga mikrobning kirgan vaqtidan kasallikning birinchi kilinik belgilari paydo bo'lgan vaqtini o'z ichiga oladi, klinik belgilarsiz o'tadi.
Infeksiya darvozasi	Infection gates	Ворота инфекции	Mikrobning organizmga kirish yo'llari. Tabiiy sharoitda ko'p hollarda qo'zg'atuvchi organizmga alimentar- hazm yo'llari (yem- xashak, suv bilan), aerogen -nafas olish organlari orqali, kontaktda – bir-biriga tegishi bilan, hasharotlar chaqqanida, nosteril igna bilan inyeksiya orqali o'tadi.
Infeksion immunitet	Infectious immunity	Инфекционный иммунитет	Infeksion kasalliklarga chidamlilikning paydo bo'lishi.

Invazivlik	Invasiveness	Инвазивность	Virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri bo'lib, Mikroorganizmlarning makroorganizm to'qimalariga kirishi, tarqalish va ko'payishi qobiliyatidir. Ba'zi mikroorganizmlar ajratgan moddalar ta'siri – makro organizmning himoya kuchlarini, asosan fagositozni pasaytiradi.
Intoksikasiya	Intoxication	Интоксикация	(lot. in – da, grek *toxikon* – zahar) organizmga tashqaridan kirgan (ekzogen) yoki organizmning o'zida hosil bo'lgan (endogen) moddalarning umumiy ta'siri natijasida vujudga kelgan zaharlanish holati.
Immunitet	Immunity	Иммунитет	(lotincha *immuniutas* – ozod bo'lish, qutilish) Organizmning patogen mikrob yoki zaharli moddasiga chidamliligi.
Immun zardoblar	Immune serums	Иммунные сыворотки	Maxsus antigenlarni sxema asosida yirik hayvonlarga bir necha marta yuborib, giperimmunlash yo'li bilan olinadi.

Idiosinkraziy	I d i o t - s i n k r a - ziya	Идиосинк-разия	Oqsilli yoki oqsilsiz xarakterdagi har xil zararsiz moddalarga gul yoki unsimon chang, kimyoviy preparatlarning zaharsiz dozalarga (margimush, simob, ximin), hayvon va o'simliklardan tayyorlangan oziq-ovqat mahsulotlari va boshqalarga nisbatan organizm sezuvchanligining ortishidir.
Jelatina	Gelatine	Желатина	Hayvonlar oqsili. Tog'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot. Selektiv oziq muhiti – tekshirilayotgan materialdan (har xil bakteriyalar aralashmasi) faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi.
Karbunkul	C a r b u n - cle	Карбункул	(lot. *carbo* – 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. *klon* – nasl, urug') Bir hujayradan ajratilgan mikroorganizmlar kulturasi.

Koli–titr	Koli – titer	Коли – титр	Eng kam miqdordagi suvda (ml) ichak tayoqchasining miqdori.
Koli–indeks	Koli–index	Коли – индэкс	1 litr suvdagi ichak tayoqchasi miqdoridir.
Klassifikasiya	Classification	Классификация	Sistematik guruhlarni xarakterni aniqlash jarayonlash.
Komplement	Complement	Комплемент	(lot. *Complementum* – qo'shimcha vosita) oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to'qima syuyqliklarining tarkibiy qismi. Biofabrikada dengiz cho'chqasining qon zardobidan tayyorlanadi.
Komplement bog'lash reaksiyasi	Complement Binding Reaction	Реакция связывания комплемента	Antigen va antitelolar faqat komplement ishtirokidagina reaksiyaga kirishadigan, bakterioliz va gemoliz holatlariga asoslangan serologic reaksiya.
KAMP (CAMP) usuli	CAMP (CAMP) method	Метод CAMP (CAMP)	*S.agalactiae* ni boshqa streptokokklardan farqlash uchun ishlatiladi. Atama Avstraliyalik olimlar Kristi, Atkins, Munx – Petrson nomlaridan olingan.
Koloniya	Colony	Колония	Bitta mikrob hujayrasining ko'payib, rivojlanishidan hosil bo'lgan mikrob to'plami.

Kapsula hosil qilish	Capsule education	Капсула образование	Virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri, u mikroblarning agressiv bo'lishiga olib keladi.
Lyuminessent mikroskopiya	Lyumi-nessent micros-copy	Люминисцентная микроскопия	Qator muhim hujayra strukturalarini, organizmning har xil funksional holatlarida ularning o'zgarishini o'rganish, o'lgan va tirik hujayralarni farqlashga imkon beradi, mikroorganizmlar miqdorini sanashni yengillashtiradi.
Lyuminessensiya	Lyumi-nessence	Люминисценция	(*lumen* – yorug'lik, *eskent* – kuchsiz ta'sir) bu yutilgan yorug'lik energiyasining qo'zg'alishidan ob'ektning nurlanishidir.
Lipidlar	Lipids	Липиды	Ularning miqdori 3,8 dan 40% cha bo'ladi. Lipidlar sitoplazmaning ma'lum tuzilishini qo'llab turadi va sitoplazmatik membrana tarkibiga kiradi. Lipidlar mikrob hujayrasida bir xilda taqsimlanmagan.
Leykosidin	Leuco-side	Лейкоцидин	(Gr. *leukos*–oq + lot. *caedere*–o'ldirish) leykositlarni parchalaydi. Stafilokokklar ekzotoksini.

Letal toksinni aniqlash	Determination of Lethal Toxin	Определение летального токсина	Quyon qon tomiriga 0,75 ml\kg bulon kulturasi filtrati yuboriladi.
Leptospira	Leptospirae	Лептоспира	(*Lepto* – nozik, *spira* – spiral) spiralsimon, buramali bakteriya. Leptospirozni chaqiradi.
Mikomisetlar	Micromycsets	Микомицеты	Yuqori zamburug'lar. Ularning miseliysi giflari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat. Konidiyalar – zamburug' ekzosporalari.
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, grekchadan *mikros* – mayda, *bios*–hayot, *logos*–fan demakdir.
Mikrob	Microbes	Микроб	Mikroorganizmlarni barchasini birlashtirgan yagona atama. Fransuz olimi Seddilo XIX asrning oxirida kiritgan

Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазмы	Polimorf mikroorganizmlar bo'lib, 100–150 nm o'lchamdagi filtrlardan o'tadi, spora, kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy harakatsiz mikroorganizmlar.
Metatroflar	Metatrofy	Метатрофы	(Saprofitlar) hayvon va o'simliklarning o'lgan to'qimalari bilan oziqlanadi (chirituvchi bakteriya lar, achitqilar).
Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазмы	Polimorf mikroorganizmlar bo'lib, 100–150 nm o'lchamdagi filtrlardan o'tadi, spora, kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy harakatsiz.
Mitseliy	Mycelium	Мицелий	Zamburug' tanasi. Giflar o'sib, shoxlanadi va o'ralib mitseliy hosil qiladi.
Mikroaerofillar	Mikroaerofily	Микроаерофилы	(grek. *mikros*–kichik, *aer*-havo, *philla*–moyillik)– ko'payishining birinchi bosqichida molekulyar kislorodni (1% cha) kam miqdorda talab qiladi (qoramol brutsellozi, leptospiroz qo'zg'atuvchisi).
Mikroorganizmlarning fermentlari	Enzymes and microorganisms	Ферменты микроорганизмов	Mikrob hujayralari tomonidan sintezlanib, murakkab tuzilishga ega. Endo va ekzofermentlar farqlanadi.

Mikozlar-	Mycoses	Микозы	Patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan maxsus kasalliklar guruhi.
Mikroblarining antigenlari	Microbial antigens	Микробные Антигены	Mikrob hujayrasidagi kapsulali, xivchinli va somatik antigenlar.
Monoklonal antitelola.	Monoclonal antibodies	Моноклональные антитела	Normal immun sistema millionlab har xil antitelolar ishlab chiqaradi.
Mastit	Mastitis	Мастит	Yelinning yallig'lanishi.
Nekrotoksinni aniqlash	Detection of necrotoxin	Определение некротоксина	Quyonning terisi orasiga bul'on kulturasi filtratidan 0,2 ml yuboriladi (1 ml da 2 mlrd mikrob hujayrasi) 24 soatdan keyin nekroz reaksiyasi paydo bo'ladi.
Orxit	Orchitis	Орхит	Urug'donni yallig'lanishi
Oqsil	Protein	Белок	Hujayraning eng muhim hayotiy organik moddasi hisoblanadi. Patogen mikroblar tanasida quruq moddalarning yarmidan ko'pini, boshqalarida esa 80% gacha miqdorini tashkil qiladi.
Presipitasiya reaksiyasi	Precipitation reactions	Реакция преципитации	(lotinchadan praecipitatus – cho'kma) reaksiyasi antitelo (presipitinlar) va antigen (presipitinogenlar) o'zaro birikib cho'kma (presipitat) hosil qilishi.

Pepton	Peptone	Пептон	Oqsillar parchalanishidagi oraliq mahsulot, shirdondan tayyorlanadi. Aminokislota, peptidlarga boy.
Patogen mikroblar	Pathogens	Патогенные микробы	Kasallik chaqiradigan mikroblar.
Patologik material	Pathological material	Патологический материал	Kasal, kasallikka gumon qilingan yoki o'lgan hayvondan tekshirih uchun olingan material namunalari (qon, sut, parenximatoz organlardan bo'lakchalar va h.k.).
Patogenlik	Pathogenicity	Патогенность	Mikrobning ma'lum sharoitda o'ziga xos infeksion kasallikni qo'zg'atish xususiyati. U mikrob turiga xos, o'zgaruvchan belgidir.
Parenximali sut	Parenchymal milk	Паренхимное молоко	Sutning oxirgi porsiyalari.
Rikketsiyalar	Rickettsia	Риккетсии	Bakteriyalar bilan viruslar oralig'ida joylashgan, bir hujayrali, harakatsiz, polimorf, grammanfiy organizmlar.
Peptidoglikan	Peptidoglycan	Пептидогликан	(Murein, mukopeptid) hisoblanib, bakteriyalar hujayra devorining asosiy komponenti.
Shtamm	Strain	Штамм	Bir turga mansub, lekin har xil hayvon va substratlardan ajratilgan va o'zaro xususiyatlarining kamroq o'zgarishi bilan farq qiladigan kultura.

Spiroxetlar	Spiro-chetes	Спирохеты	Harakatchan mikroorganizmlar bo'lib, ingichka va spiral shaklda juda ko'p mayda burmalari bo'lgan organizmlardir.
Sistematika	Taxono-my	Систематика	Tirik organzmlarni umumiy o'xshashliklari bo'yicha guruhlash bilan shug'illanadigan biologiya fanining maxsus tarmog'i.
Sterillash	Steriliza-tion	Стерилизация	(lotincha – *sterillis*-naslsizlash) turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporali) shakllarini to'liq yo'qotishga, ya'ni o'ldirishga qaratilgan.
Serologik diagnostika	Serologi-cal diag-nostics	Серологическая диагностика	(lot. *serum*-qon zardobi) yuqumi kasalliklarni serologic reaksiyalar yordamida diagnostika qilish.
Serologik reaksiya	Serologic reactions	Серологическая реакция	Antigen va antitelolarning o'zaro ta'siriga asoslangan o'ta maxsus reaksiya.
Septisemiya	Septice-mia	Септицемия	Mikrobning qonda ko'payib, qon orqali butin organizmga tarqalishi. U juda tez kechib, odatda o'lim bilan tugaydi.
Stafilokokklar.	Staphylo-cocci.	Стафилококки.	Sharsimon shakldagi mikroorganizmlar
Subklinik mastit	Subclini-cal mastitis	Субклинический мастит	Klinik belgilari namoyon bo'lmagan mastit

Septisemiya	Septicemia	Септицемия	(grek. *septicos, haima* – qon) kasallik qo'zg'tuvchisining qonda ko'payishi va butun organizmga tarqalishi natijasida organizmda chuqur o'zgarishlar paydo bo'lishi.
Tur	Species	Вид	Kelib chiqishi umumiy va xususiyatlari yaqin bo'lgan mikroorganizmlar avlodining to'plami.
Tropizm	Tropism	Тропизм	Mikroorganizmlarning organizmda joylashishi.
Toksinlar	Toxins	Токсины	Mikroorganizmlar hosil qiladigan zararli moddalardir, virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri.
Toksigenlik	Toxigenicity	Токсигенность	Mikrobning toksin hosil qila olish xususiyati.
Toksemiya	Toxemia	Токсемия	Mikroblar shikastlangan joyning o'zida (to'qima) ko'payadi, hosil bo'lgan toksini qon oqimiga o'tib, butun organizmni zaharlaydi.
Vaksinalar	Vaccines	Вакцины	(lot. *vaccinum*) 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	C h l a mydia	Хламидии	Antigenligi bo'yicha yaqin, qardosh, tinktorial va morfologik xususiyatlari o'xshash mikroorganizmlarning o'ziga xos taksonomik guruhi.
Zonooz	Zoonoses	Зонооз	Faqatgina hayvonlarga xos kasalliklar.
Zooatroponoz	Zooatroponoses	Зооатропоноз	Hayvonlarni zararlab odamlarga o'tadigan kasalliklar.
Zamburug'lar	Mushrooms	Грибы	(*Fungi*) – 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.: КолосС, 2005-й.

5. Кисленко В.Н., Количев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 1. Общая микробиология. – М.: КолосС, 2006 г.

6. Кисленко В.Н., Количев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 2. Иммунология. – М.: КолосС, 2006 г.

7. Кисленко В.Н., Количёв Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3. Частная микробиология. – М.: КолосС, 2007 г.

8. Воробев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М., 2008 г.

9. Ruzikulova U.X. «Kavshovchi hayvonlarda pasterelloz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish» mavzusidagi Magistr akademik darajasini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. Samarqand. 2014-y.

10. Zooveterinariya jurnallari, – Toshkent.

Internet ma'lumotlari:

11. www. Ziyo.net.uz.
12. email: zooveterinariya @.ru
13. email: sea @ mail.net21.ru
14. email: veterinariy @.actavis.ru
15. email: fvat@.academy. uzsci.net

MUNDARIJA

KIRISH 3

I-MODUL. VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANINING UMUMIY QISMI 7

1-mavzu. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari. 7

2-mavzu. Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari 18

3-mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash. 24

4-mavzu. Spora, kapsula va kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash usullari. 29

5-mavzu. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning harakatini o'rganish 38

6-mavzu. Oziq muhitlarini tayyorlash. 44

7-mavzu. Sterilizatsiya usullari 50

8-mavzu. Sof kultura ajratib olish usullari (aerob va anaerob mikroorganizmlarni) 58

9-mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish 70

10-mavzu. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash 77

11-mavzu. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari 84

12-mavzu. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli. Patologikmaterialni olish va laboratoriyaga yo'llash usullari. 91

13-mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi 95

14-mavzu. Pretsipitatsiya reaksiyasi (PR) 100

15-mavzu. Komplement bog'lash reaksiyasi – KBR. 107

16-mavzu. Veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlar. 118

II-MODUL. VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANINING XUSUSIY QISMI 125

17-mavzu. Stafilokokkli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasi 125
18-mavzu. Streptokokkli infeksiyalarni laboratoriya diagnostikasi 129
19-mavzu. Pasterellozni laboratoriya diagnostikasi 139
20-mavzu. Cho'chqalar saramas kasalligini laboratoriya diagnostikasi 143
21-mavzu. Kolibakteriozni laboratoriya diagnostikasi 148
22-mavzu. Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi 153
23-mavzu. Kuydirgi kasalligini laboratoriya diagnostikasi 158
24-mavzu. Tuberkulozni laboratoriya diagnostikasi 167
25-mavzu. Brutsellozni laboratoriya diagnostikasi 173
26-mavzu. Qorason kasalligining laboratoriya diagnostikasi 182
27-mavzu. Gazli gangrenani laboratoriya diagnostikasi. 186
28-mavzu. Qotma kasalligini laboratoriya diagnostikasi 190
29-mavzu. Botulizm kasalligini laboratoriya diagnostikasi 198
30-mavzu. Patogen zamburug'larning laboratoriya diagnostikasi 201
31-mavzu. Leptospirozni laboratoriya diagnostikasi 210

GLOSSARIY **217**

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR **244**

Shapulatova Zumrat Jaxongirovna

VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANIDAN AMALIY VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

O'quv qo'llanma

Muharrir *M. Tursunova*
Musahhih *M. Turdiyeva*
Dizayner *R. Yuldasheva*

«O‘zbekiston faylasuflari milliy jamiyati» nashriyoti,
100029, Toshkent shahri, Matbuotchilar ko‘chasi, 32-uy.
Tel./faks: 239-88-61.

Nashriyot litsenziyasi: AI №216, 03.08.2012.
Bosishga ruxsat etildi 16.12.2019. «Uz-Times» garniturasi. Ofset usulida chop etildi. Qog‘oz bichimi 60x84 $^{1}/_{16}$. Shartli bosma tabog‘i 16,0. Nashriyot bosma tabog‘i 15,5. Adadi 300 nusxa.
Buyurtma № 11

«ZAKOVAT-PRINT» XK bosmaxonasida chop etildi.
Manzil: Toshkent shahri, Z.Roziy ko‘chasi, 1-proyezd, 24-uy.