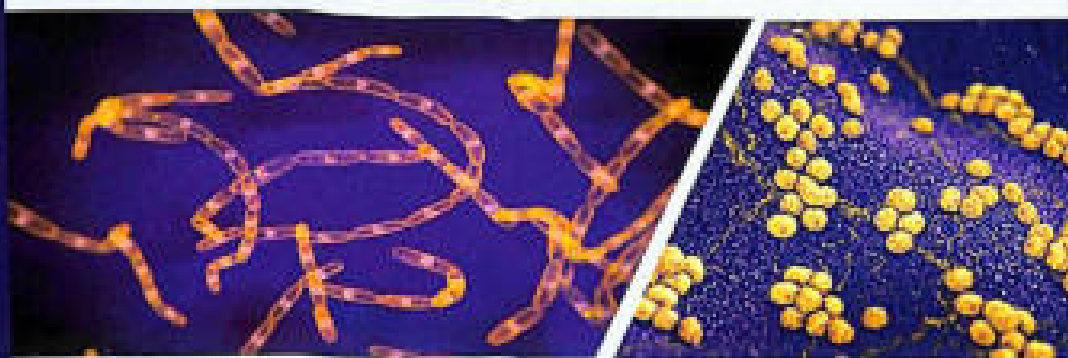


Z.K. SHAPULATOVA

**MIKROBIOLOGIYA FANIDAN  
AMALIY VA LABORATORIYA  
MASHG'ULOTLARI**



1870  
1871  
1872  
1873  
1874  
1875  
1876  
1877  
1878  
1879  
1880  
1881  
1882  
1883  
1884  
1885  
1886  
1887  
1888  
1889  
1890  
1891  
1892  
1893  
1894  
1895  
1896  
1897  
1898  
1899  
1900

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

Z. J. SHAPULATOVA

**MIKROBIOLOGIYA  
FANIDAN AMALIY VA  
LABORATORIYA  
MASHG'ULOTLARI**

*O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim  
vazirligi tomonidan 5410600 – Zooinjeneriya (turlari bo'yicha)  
ta'lim yo'nalishining talabulari uchun o'quv qo'llanma*



Toshkent  
"Ijod-press"  
2019

UDK: 579(075.8)

KBK: 28.4y73

Sh24

*Yuzriqchilar:*

*M.N. Mamonova - SamKMI Epizootologiya, mikrobiologiya va virusologiya kafedrasining dokenti, veterinariya fanlari doktari*

*K.A. Elomurov – Veterinariya ilmiy tadqiqot instituti mikrobiologiya laboratoriyasi mudiri, veterinariya fanlari doktari*

Shayulova, Z.J.

Mikrobiologiya fanidagi amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari.  
(Maml. O'quv qo'llanma / Z.J. Shayulova. – T. "Ijod-Press" nashriyoti, 2019. – 240 b)

ISBN: 978-9943-6224-8-7

O'quv qo'llanma ikki modaldan iborat bo'lib, "Mikrobiologiya fanining umumiy qismi" modulida mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalarini, mikroorganizmlarni o'rganishning asosiy mikrobiologik, immunologik usullari yoritilgan. "Mikrobiologiya fanining xususiy qismi" modulida infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilarining laboratoriya diagnostikasi usullari, qo'llanadigan birlipreparatlar, yem-xashak mikrobiologiyasi, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumdan mikrobiologik tekshirish usullari berilgan. Qo'llanmada amaliy va laboratoriya mashg'ulotlarining uslubiy kursantlari, mikrobiologiya fanining umumiy va xususiy qismlari modulini bo'yicha talabalar bilimsini mustahkamlash uchun muvofiq va tesirli savollari keltirilgan.

UDK: 579(075.8)

KBK: 28.4y73

ISBN: 978-9943-6224-8-7

© "Ijod-Press" nashriyoti, 2019  
© Z.J. Shayulova, 2019

## KIRISH

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

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

Ushbu fan O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015-yil 29-dekabr "Yetti inariyu to'g'risida"gi qonuni, 2006-yil 23-martdagi PQ-308 qarori, 2008-yil 21-apreldagi PQ-842-sanli "Shaxsiy yordamchi, dehqon va fermer xo'jaliklarida chorva mollarini ko'paytirishni rag'batlantirishni kuchaytirish hamda chorvachilik

mahsulotlari ishlab chiqarishni kengaytirish borasidagi qo'shimcha chora-tadbirlari to'g'risida"gi, 2009-yil 26-yanvardagi "Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab-chiqarishni kengaytirish va ichki bozorni to'ldirish yuzasidan qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risidagi" va 2015-yil 29-dekabrda PQ-24/60-son "Qishloq xo'jaligida islohatlarni yanada takomillashtirish va rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi qarorlari, "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida"gi 2017–2021-yillarda mamlakatni rivojlantirishga mo'ljallangan farmoni va boshqa me'yoriy huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga muayyan xizmat qiladi.

Oliy o'quv yurtlarining asosiy vazifalaridan biri – chuqur fundamental bilimlarni va puxta amaliy tayyorgarlikni o'zida mujassamlantirgan keng ixtisosli mutaxassislarni shakllantirishdan iborat. Qo'llanma oliy ta'lim muassasalarining zootexnika sohasida ta'lim olayotgan talabalar o'zlarida ushbu kasbiy ko'nikmalarini shakllantirish va rivojlantirish imkoniyatiga ega bo'lishlari va tanlangan mutaxassisliklarini egalashlari uchun umumkasbiy fanlarini chuqur o'rganishlari, yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlarini ta'minlaydi. *Mikrobiologiya* fani tayanch biologik fan hisoblanadi. U "Hayvonlar fiziologiyasi", "Hayvonlarni oziqlantirish", "Zoogigiyena", "Veterinariya asoslari" va boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liq.

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

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

Talabalarda mikroorganizmlarning umumiy xususiyatlarini, tabiatda organizmda va xo'jalik ishlab chiqarishining turli tarmoqlarida xilma-xil biologik jarayonlaridagi roli, amol-muhit obyektlarini, yem-xashak, sut va sut mahsulotlari, go'sht, tuxumni va h.k.larning sifatini tekshirish usullarini, infeksiyon kasallik qo'zg'atuvchilari, ular chaqiradigan kasallikka diaqnoz qo'yish, ofdini 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 muliti, xonaning iddal tozaligi talabalarda mas'uliyat hissi-ni, o'ziga talabchilikni tarbiyalaydi, kuchaytiradi. Birinchi amaliy darsda talabalarni kafedra, laboratoriyaning ish tartibi va qoidalari bilan tanishtirish lozim; laboratoriyaga xalatta kirib o'zining ish joyini egallab ish stolida barcha kerakli buyumlar bo'lsa, mikroskop ish holatidami tekshiradilar va kamchiliklarni darhol o'qituvchiga aytadilar; amaliy darslarda nihoyatda tinchlik saqlanishi kerak, muqsadsiz 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 kulturelar bilan ishlaganda fuqat kerakli ashoablardan foydalaniladi (pinsetlar, bakteriologik ilmoq, shpütel va h.k.). Ishlatilgandan so'ng hu ashoablar alan-

guda cho'g' holiga keltirib, qaynatib yoki boshqa usullar bilan dezinfeksiya qilib zararsizlantiriladi. Bexosdan bakteriya kulturasini to'kilsa, zararli material bilan ifloslangan buyumlar darhol dezinfeksiyalanishi kerak.

O'qituvchi talabalar bilan savol-javoblar o'tkazib, mavzuga tushuncha beradi. Talabalarga aniq topshiriq va vazifalar berib, ularni bajarish uslublari bilan tanishtiradi. Ba'zan mavzuga bog'liq holda uslublarni o'qituvchining o'zi talabalarga bajarib ko'rsatadi. Talabalar ko'rib, kichik 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 kuza-tishlari, bir vaqtda tartib bilan ketma-ketlikni saqlagan holda ishlash-ga 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 joylari-ni 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 ishini baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustah-kamlab boradi. Xususiyy mikrobiologiyani o'rganishda yuqumsiz ka-sallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olin-ganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir-ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa, yanada yaxshi bo'ladi.

# I-MODUL MIKROBIOLOGIYA FANINING UMUMIY QISMI

## 1-mavzu. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlantishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari

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

**Material va jihozlar:** Har xil modeldagi biologik mikroskop; immersiyon may, bo'yalgan tayyor har xil mikroob preparatlari to'plami, plakatlar, videoproektor, kompyuter.

### Ustuviy ko'rsatmalar

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

1. Biologik mikroskopning tuzilishi bilan tanishib, asosiy qismlarini daftra-ga chivadi va asosiy qismlarining nomini yozadi.

2. Preparatni mikroskopda ko'rish usullarini o'rganib, mustaqil ravishda immersiyon obyektivi-da bo'yalgan tayyor biologik preparatlarni ko'radi.

**Hayvonlar kasalliklari tashvishi va oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi davlat markazi** bu – davlat muassasasi hisoblanib, davlat veterinariya xizmati tizimiga kiradi, uning faoliyati chorvachilikni rivojlantirishga, hayvonlar infeksiyon kasalliklarining oldini olish va ularni yo'q qilishni ta'minlashga, shuningdek, xalqni hayvonlar va odamlar uchun umumiy bo'lgan kasalliklardan himoya qilishga qaratilgan. Ish masshtabi bo'yicha tashvish markazi tizimi quyidagicha:

tuman (shahar), tumanlararo, (zonal), viloyat va respublika tashxis markazlari.

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

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

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

**Mikrobiologiya laboratoriyasining jihozlari.** Laboratoriyada ishlash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo'shimcha moslamalari bilan (yoritgich, fazli – kontrastli qurilma, qorong'i maydonli kondensator va h.k.), lyuminessentli mikroskop-

lar, termostatlar, sterilizatsiya uchun apparatura (quritgich shkaf, avtoklav, Kox apparati), pH – metr, distillangan suv olish uchun apparat (distillator), sentrifugal, texnik va analitik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikromerostat, sovutgichlar, puxta dokali tiqintur tayyorlash uchun apparat, ashablar to'plami (bakterial imoq, shpatel, ignu, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (plovibka, kelba, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'lchamli pipetkalar) va boshqalar.

Laboratoriyada preparatlarni bo'ryash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial huyyoflar, spirt, kislotalar erimatlari, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli goretka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi erimatlari har kandakur bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, dimguslik preparatlar va hushqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak.

**Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari.** Laboratoriyada steril (nihoyatda toza) muhit yaratish va tozalikka himda 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. Kafatsiz kirish qat'iy man etiladi. Xalutda laboratoriya hududidan tashqariga chiqish mumkin emas.

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

3. Laboratoriyada chikish yu ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

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

---

Кочетикова Ж.Н. Практикум по микробиологии для студентов биологического факультета.  
– М.: КолосС, 2005. с.4-9

5. Gaz-gorelkasi yoki spirt lampasini faqat gugurt hifan yoqish kerak.

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

7. Talabalar o'qituvchi ruxsatsiz elektr asbob va apparatlarini 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 kulturasi 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 kulturasi ajratish hamda uning kultural va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish, 3) mikroblarning patogenligini aniqlash (laboratoriya hayvonlarida biosimv qo'yish), 4) serologik diagnostika.

Mikroskopik tekshirishda mikroorganizmlarning morfologiyasi, tirkorial xususiyatlari (har xil bo'yoqlar va bo'yash usullariga munosabati), kapsula, spora va 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'llaniladi (1 – G-rasm).

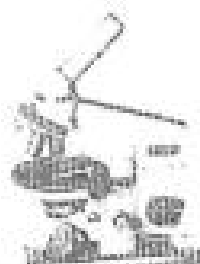
**Biologik mikroskop.** Mikrobiologiya amaliyotida mikroskopning MBK-1, MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, «Biolama» va hokazo turlaridan ko'p foydalaniladi.

Ular obyektini 2000 va undan ko'p marta gacha kattalashtiradi. Mikroskopning: 1-asosi; 2-mikrovintli; 3-buyum stulehasi; 4-tubus turqichi; 5-makrometrik vinti; 6-boshboshi; 7-revolver; 8-ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9-ko'zgu; 10-kondensor; 11-obyektiv; 12-okullari bo'ladi (7-rasm).

Mikroskop ikki qismdan – mexanik va optik qismlardan iborat. *Mexanik qismga* mikroskop asosi, tubus va tubusini tutib tu-

ruvchi qismi, buyum stolchasi, makrovint va mikrovint vint kiradi. Tubusni tutib turuvchi qismi makrometrik va mikrometrik vint yordamida ko'tariladi va pastga tushiriladi. Buyum stolchasi ikkita vint yordamida gorizontal tekislikda harakatlantiriladi.

### Mikroskop turlari



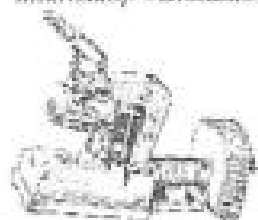
1-rasm. Biologik mikroskop «Biolam».



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



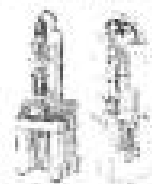
3-rasm. MBI-1 mikroskopi va yoritgich OI-7.



4-rasm. MB-2 lyuminesent mikroskopi.



5-rasm. I-2 tipli «Lyumina» lyuminesent mikroskopi.

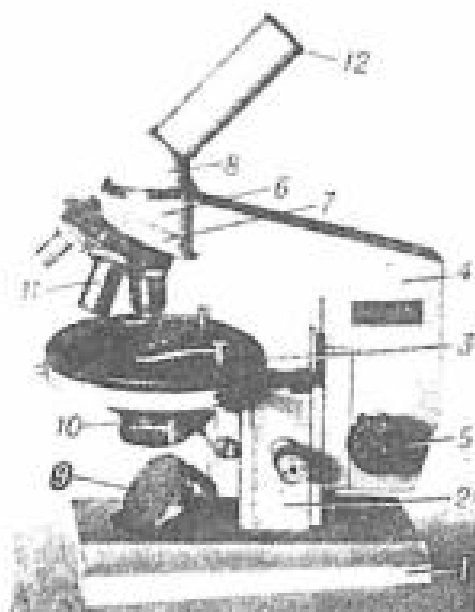


6-rasm. Elektron mikroskopi.

Mikroskopning *optik qismi* oyna, kondensor, obyektivlar va okulardan 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.



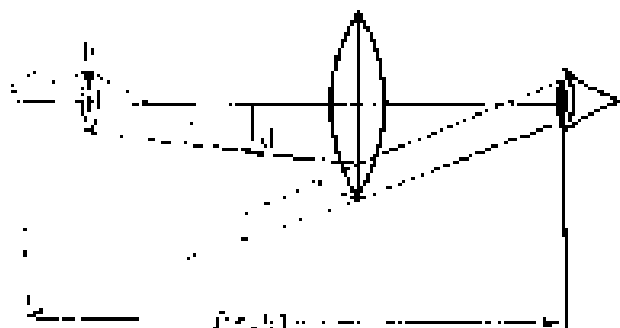
7-rasm. «Biolam» biologik mikroskopining tuzilishi:

1-irost; 2-mikrovint; 3-buyam stolchasi; 4-tubus tuzgichi;  
5-mikrovint; 6-boshchasi; 7-revolver; 8-ko'rish o'rammasi uchun  
maslaha; 9-ko'zga; 10-kondensar; 11-obyektiv; 12-okulyar.

*Obyektiv* – mikroskopning eng muhim qismi. U obyektini haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasviri tuzuvchi linzalar tizimidan 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 tasviri 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.



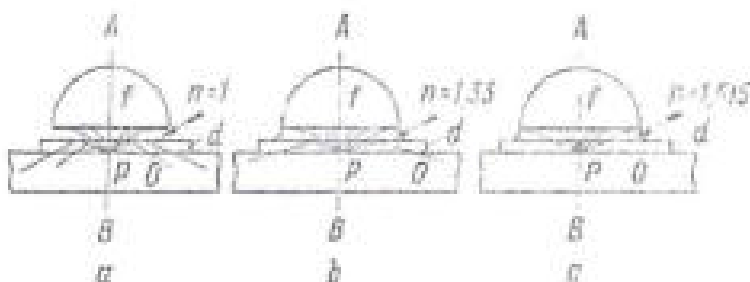
8-rasm. Mikroskopning optik sxemasi:

*a* - obyekt; *b* - obyektiv linzasini; *d* - obyektning teskari ko'rsatkichi;  
*c* - okularning yuqori qismi linzasini; *g* - okularning  
 ko'rsatkichini.

Ularning fokus masofasi va diametri kichik bo'ladi. Kerakli yorug'likni hosil qilish uchun yorug'lik nurlarini tarqatishni oldini olish lozim, ya'ni preparatga immersiya yog'i to'zibiladi, uning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi (1,515) preparat oynasining yorug'likni sindirish ko'rsatkichiga yaqin (1,52) bo'lgani uchun yorug'lik nurlari tarqalmaydi (9-rasm).

Okulyar tubusning yuqori qismiga qo'yiladi, ular 7x, 10x, 15x marta kattalashtiradi va yuqoridagi optik pastda to'plovchi linzalari bo'ladi. Okular faqat obyektiv bergan tasvirni kattalashtiradi. Monokulyar (bitta okularlik) 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 okularni-

ing 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.



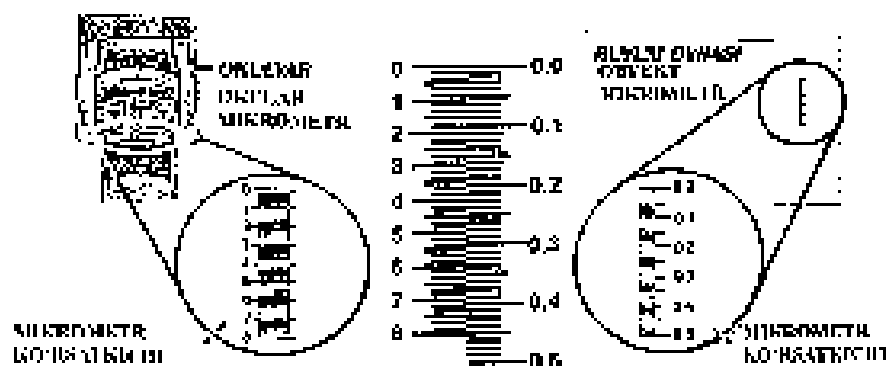
9-rasm. Optik mikroskopning obyektivi;

$f$  – 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 okulardagi yozilgan sonni ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, immersion obyektivi 90x va okular 10x bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi:  $90 \times 10 = 900$  marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda, odatda, obyekt 630-900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

Bakteriyalarning o'lchamlarini tavsiflashda odatda hujayraning uzunligi va eni mikrometrlarda ( $10^{-3}$ ) ko'rsatiladi. O'lchov asbobi sifatida okular va obyekt-mikrometrlar ishlatiladi (10-rasm). Okular – 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 chizikli buyum oynachasi. Obyekt-mikrometr buyum oynachasiga joylashtiriladi, okular-mikrometrli okularga qarab okular va obyekt-mikrometrlarni boshlang'ich chiziqlarini birlashtirib joylashtiriladi. Keyin okular-mikrometrning bo'linish bahosi okular va obyektivdagi berilgan ko'rsatkichlar bilan aniqlanadi.

## Okular mikrometr va obyekt mikrometr shkalasi



*10-rasm. Obyekt-mikrometr va okular-mikrometr shkalasini taqqoslash*

*Atvaf.* Obyekt-mikrometr shkalasi 1 mm ni tashkil etib, uning bir bo'lingan qismi  $10^{-2}$  mm, ya'ni 10 mikm ga teng. Shkalalarni birlashtirib taqqoslaganda obyekt-mikrometрни uch bo'lingan qismi (ya'ni 30 mikm) okular-mikrometрning 14 bo'lingan qismiga mos keladi, demak okular-mikrometрning bir bo'lingan qismi  $30:14=2,14$  mikm ni tashkil etadi. Okular-mikrometрning bir bo'lingan qismi buhasi aniqlangundan keyin, obyekt-mikrometr o'rniga tekshirilayotgan obyektli bir preparat joylashtiriladi. Masalan, tuyeqchasimni mikroб uzunligi okular-mikrometрning — 3, eni — 0,5 bo'lingan qismiga mos keladi. Agar okular-mikrometрning bir bo'lingan qismi 2 mikm bo'lsa, unda bakteriya hujayrasining uzunligi  $3 \times 2=6$  mikm, eni —  $0,5 \times 2=1$  mikm bo'ladi.

**Mikroskop bilan ishlash qoidalari.** Mikroskop bilan ishlashga kirishganda kondensomning holati tekshiriladi: u buyum stolchasi

Tracy H. Venugopalali, DVM, MS, Diplomate, Microbiology for Veterinary Technicians. Technical copyright. Printed in the United States of America 2013 y. p.10.

sathigacha ko'tarilgan, diafragma ochiq bo'lishi kerak. Mikroskop tubusini ko'tarib 8 yoki 10 chi obyektivlar o'rnatiladi. Okularga qarab, ko'zga 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 revolverti burab, immersion obyektivni (90x) o'rnatib, makrovint yordamida ehtiyotlik bilan pastga tushirib, frontal linzasini moy tomchisiga tegizish kerak. Shundan keyin okularga qarab preparat ko'ringunicha tubusni ko'tarish kerak. Ko'zni mikroskopdan olmay mikrovin 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'illofiga solib qo'yiladi.

#### **Nazorat savollari:**

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

### Test savollari:

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

- a) davlat veterinariya xizmat muassasasi
- b) xususiy veterinariya xizmati muassasasi
- c) xususiy ishlab chiqarish muassasasi
- d) veterinariyada qo'llaniladigan biopreparatlarni ishlab chiqarish muassasasi.

2. Ish mashtabi bo'yicha tashxis markazi tizimi qaysi bandeda to'g'ri ko'rsatilgan?

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

3. Mikroskopning optik qismiga nimalar kiradi?

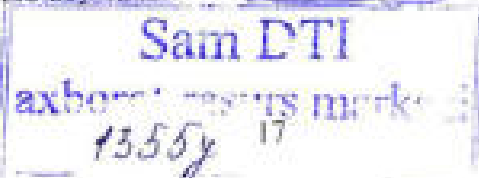
- a) obyektiv, oyna, buyum stolchasi, revolver
- b) kondensor, makro va mikrovinlar, tubus
- c) oyna, kondensor, obyektiv, okular
- d) okular, tubus tutqichi, tubus, obyektiv.

4. Mikroskopning umumiy kattalashtirishi qanday aniqlanadi?

- a) obyektiv, okular va oynachalar oralig'i masofasini hisoblab
- b) obyektivning ko'rsatkichi bo'yicha
- c) okularning revolvergacha bo'lgan masofasi hisoblanadi
- d) obyektiv va okular ko'rsatkichlarini ko'paytirib.

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

- a) immersion obyektivida
- b) quruq obyektivida
- c) immersion va quruq obyektivida
- d) x8, x20, x40 obyektivlarda.



## 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, moy qalam. Mavzuga oid ko'rgazmali plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

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

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

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

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo'yoqlar ko'p ishlatiladi: asosli – fuksin, metil qizili, neytral qizili – eritmada qizil rangda bo'ladi; karbollar kristallviolet, metilviolet, gensteinviolet. tayyor suyuq Gimza (azur – euzin) bo'yoqi - binafsharangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashili. Quruq kukunshonon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi eritmaları tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmaları qorong'ida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Eritmalarning ho'yash xossasini oshirish uchun ularga har xil kimyoviy moddalar (fenol, o'yuvchi kaliy) qo'shiladi yoki ho'yashdan oldin preparatlarga tular (xlorid, sulfat yoki xrom kishmalarining kuchsiz eritmasi) bilan ishlov beriladi. Shuningdek, bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq eritmaları faqat ishlatishdan oldin 1 – 2 %li eritmalar ko'rinishida tayyorlanadi.

**Spirtli suvli eritmalar.** *Karbollar fuksin (Sil fuksin).* Ayyul to'yingan spirtli eritma tayyorlanadi: 100 ml 96° spirtga 5 – 10g asosli fuksin olinadi. Spirtli eritmalar yaxshi to'yinishi uchun bo'yoqlar hatamom erib ketguncha termostatda saqlanadi (vaqt-vaqti bilan silkitib turiladi). Bir sutkadan keyin eritma tayyor bo'ladi. Uni shisha idishlarda tiqini zich berkitilgan holda saqlash kerak. Shisha idish tagida o'zgina bo'yoq cho'kmasi bo'lishi eritmaning to'yinganlik ko'rsatkichi hisoblanadi. Toza spirtli eritma ho'yash uchun yaroqsiz bo'ladi. stuning uchun uning spirtli suvli eritmaları tayyorlanadi: 10 – 20 ml fuksinning to'yingan spirtli eritmasiga 100 ml tarkibida 5% fenol bor distillangan suv qo'shiladi. Karbollar fuksinning tayyor suv-spirtli eritmasi qog'oz filtri orqali filtrlanadi. Chunki eritmada cho'kma bo'lmasa, surtma bir tekis yaxshi bo'yaladi. Sil fuksinni qattiq hullarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan

(1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pfeyfler fuksini) hosil bo'ladi.

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

*Karboli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet.* Kristallviolet, metilviolet bo'yog'i eritmaları tez cho'kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko'rganda ular xalaqit beradi. Ko'pincha gensianviolet bo'yog'i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo'yaladi. Uning spirtli suvli eritmasini tayyorlash uchun 1 g quruq gensianviolet farfor havonchada 10 ml spirt, bir necha tomchi glitserin va 2% fenol (kristall holda) bilan yaxshi ezib aralashiriladi 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 shimdirigan 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° spirtida uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

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

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

*Tayyor suyuq azur – ezin 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

choʻkma hosil boʻladi. Choʻkma preparatga taʼsir qilmastligi uchun, Romanovskiyning tavsiyasiga koʻra quyidagicha boʻyaladi: Pabri kasohasi tubiga shisha tayoqchalar yoki boshohasi olingan gugurt churplari qoʻyiladi. Ularning ustiga preparat surtmasini pastga qarab joylashtiriladi va har yoq eritmasi preparat ostiga quyiladi (Romanovskiy – Ginzza usuli).

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

Bu jarayon buyum oynalarida surtma tayyorlash, quritish, fiksatsiya qilish va boʻyashdan iborat.

Ishlatiladigan buyum oynalari nihoyatda toza va yogʻsizlantirilgan boʻlishi kerak. Surtma tayyorlash uchun bakteriologik ilmoq (12-rasm) yoki Paster pipetkasi ishlatiladi. Preparat suyuq yoki zich muhitda oʻstirilgan mikroblar kulturesi: sut, qon, yiring (surtma), jigar, taloq yoki boshqa organlar toʻqimasi (tarrigʻali, klyach – preparat) va h.k.lardan quyidagicha tayyorlanadi:

Suyuq muhitda oʻstirilgan mikroblar kulturesidan preparat tayyorlash uchun chap qoʻlga kulturali probirkani olib, oʻngiga bakterial ilmoq ushlanadi (ruchkani ushlagandek). Ilmoqni spirt lampasi alangasi ustida qizdirib sterilanadi. Kichik oʻng barmoq bilan alangaga yaqin tutib probirka ochiladi, ilmoqni suyuqlikka botirib, bir tomchi olinadi, probirkani yopib, shlativga qoʻyiladi. Chap qoʻlga buyum oynasini olib unga tomiziladi. yengil aylana harakatlar bilan oynuchaga surtiladi, soʻng havoda quritiladi (12-rasm), ilmoq alangada qizdirib sterilanadi (yoki Paster pipetkada foydalanilsa, dezinfeksiya qovchi eritma – fenolning 5% li eritmasi solingan ulishga botirib qoʻyiladi).

Quritilgan preparat oynuchada qoliriladi (fiksatsiyalanadi). Uning uchun koʻpincha fizikaviy usul ishlatiladi: yaʼni surtma orqa tomonidan spirt lampasi alangasi ustidan 3-4 marta oʻtkaziladi. Fiksatsiya qovchi kimyoviy vositalardan – efir, etil yoki metil spir-

ti, formalin, formalin-spirit va spirit-efir aralashmalari qo'llaniladi. Fiksatsiya uchun quritilgan preparat fiksatsiyalovchi suyuqligi bor stakanga solinadi (yoki 1 – 2 tomchi suyuqlik preparatga tomdiriladi) va 3 – 5 daqiqa turadi. Surtmani suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi.

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

Mikroorganizmlarni bo'yash uchun oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi.

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

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

Kokklar bo'linganlaridan keyin bir-biriga nisbatan har xil joylashadi va bir necha guruhga bo'linadi: 1) mikrokokklar – bittadan tartibsiz; 2) diplokokklar – ikkitadan; 3) tetrakokklar – to'rtta-to'rtta bo'lib; 4) stafilokokklar – uzum shingiliga o'xshab; 5) streptokokklar – zanjirsimon; 6) sarsinalar – paket (kubik) shaklida joylashadi.<sup>7</sup>

**Tayoqchasimon bakteriyalar va batsillalar.** Bu shakldagi mikroblarning ba'zilari bakteriya, ba'zilari esa batsilla deyiladi. Spora hosil qiladigan tayoqchalar – batsilla va hosil qilmaydiganlari esa bakteriyadir. Tayoqchasimon bakteriyalarning joy-

<sup>7</sup>Воро́вев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М.: 2008 г. С.33-34.

lashishiga qarab monobakteriya (monobatsilla), diplobakteriya (diplobatsilla) va streptobakteriya (streptobatsilla) shakllari ajratiladi. Demak, spora hosil qiluvchi tayoqchasimon bakteriyalar har xil ataladi. Agar spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta bo'lmasa, batsilla deb aytiladi. Agar spora mikrobnning ko'ndalang yuzasidan katta bo'lsa, klostridiyalar deyiladi. Batsillalarning sporalari, asosan, mikroob hujayrasining markazida joylashadi. Spora klostridiyalar o'rtasida joylashsa markaziy spora, bir uchida bo'lsa – terminal spora, bir uchigina yaqin joylashsa – subterminal spora deyiladi.

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

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

**Xlamidiyalar** sharsimon, oval yoki tayoqchasimon shakllarda bo'lib, o'leamlari 0,1-2,5 mikm. Xlamidiyalarning morfologiyasi ularning hujayra ichidagi rivojlanish sikliga bog'liq. U uncha katta bo'lmagan sharsimon elementar hosilaning yirik binair bo'lingan initsial tanachalarga aylanishi bilan ifodalanadi. Bo'linishdan oldin xlamidiya qismchalarini 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'leamlari 125-250 mikm. Sharsimon, oval yoki ipsimon shaklda, grammanfiy.

### Nazorat savollari:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ishlatiladigan bo'yoqlarni ayting?
2. Bakteriyali preparatlarni tayyorlash jarayonini tushuntiring?
3. Mikroorganizmlarning oddiy bo'yash usuli deb nimaga aytiladi?
4. Bakteriyalarning asosiy shakllarini ayting?
5. Bakteriyalar bilan batsillalar 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, yarim suyuq, gel
  - b) quruq, kukunsimon, kristall
  - c) quyuq, spirtli eritma
  - d) suvli, spirtli eritma.
2. Bakteriologik bo'yoqlardan qanday eritmalar tayyorlanadi?
  - a) har xil foizli murakkab eritmalar
  - b) ishchi eritmalar, oddiy eritmalar
  - c) to'yingan spirtli, spirt – suvli, suvli eritmalar.
  - d) bo'yoqlar aralashmasidan iborat eritmalar.
3. Bakteriyali preparatlarni tayyorlash jarayoni qaysi bandda to'g'ri ko'rsatilgan?
  - a) fiksatsiya, bo'yash, quritish, surtma tayyorlash
  - b) quritish, bo'yash, fiksatsiya, surtma tayyorlash
  - c) bo'yash, fiksatsiya, surtma tayyorlash, quritish
  - d) surtma tayyorlash, quritish, fiksatsiya, bo'yash.
4. Oddiy bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlatiladi?
  - a) bitta
  - b) ikkita
  - c) uchta
  - d) bir nechta.
5. Bakteriyalarning qanday asosiy shakllari bor?
  - a) trapesiyasimon, rombsimon, amyobasimon
  - b) sharsimon, tayoqchasimon, buramasimon
  - c) kubsimon, spiralsimon, sharsimon
  - d) tayoqchasimon, yulduzsimon, ko'p qirrali.

### 3-MAVZU.

## PREPARATLARNI GRAM USULIDA BO'YASH

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

**Material va jihozlar:** Biologik mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filte qog'oz, spirt lampasi, baktericologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan distillangan suv, etil spirti 96%, fiziologik eritma, bo'yoqlar eritmasi (karbollar gentsianviolet, sil fuksini), lyugol, prohirka, bakteriya kulturasi: grammusbat (stafilokokk, streptokokklar), grammanfiy (ichak tayuqchalarini), videoproyektor, kompyuter.

### Uslubiy ko'rsatmalar

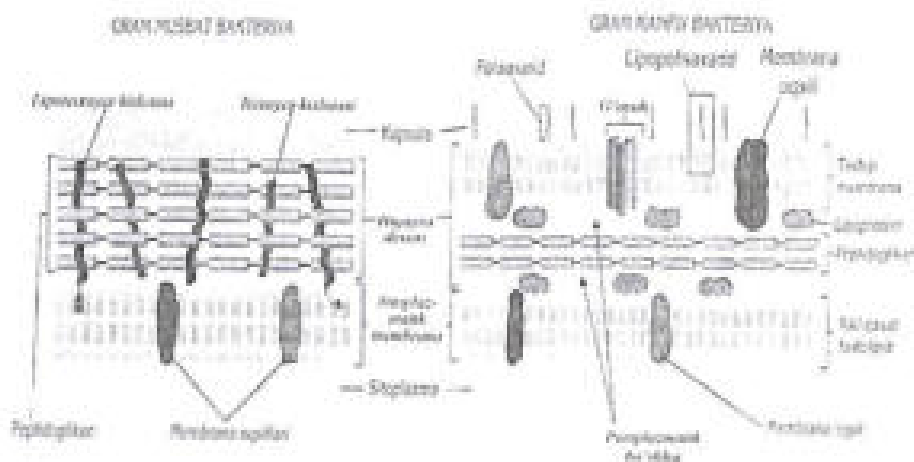
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi: 1. Murakkab bo'yashning Gram usulini daftarga yozib olish. 2. Mikroorganizmlar aralashmasidan surtna tayyorlab, Gram usulida bo'yash. 3. Mikroskopsda ko'rib, rasmini chizib olish.

Surtnalarnı bo'yashda ikki va undan ko'p bo'yoqlar ishlatiladigan usul murakkab bo'yash usuli deyiladi. Murakkab bo'yash usuli hujayrasining turli tarkibiy qismlari va bu'zi organik birikmalarini bo'yoqligini bilishga, shu orqali har bir mikrobl turining *reaktiv/ xususiyatlar* aniqlashga imkon beradi.

Har xil mikroorganizmlarnı protoplazmasining tarkibi bir xil bo'lmaganligidan ular ayon bir xil bo'yoq bilan turlicha bo'yiladi. Bir qancha hollarda mikrobl hujayrasining turli tarkibiy qismlariga bo'yoqchi eritmalar tadbir ta'sir etadi. Murakkab bo'yash usuli xuldi ana shunga asoslangan. Bunday usullardan biri Gram usulidir. Bu usulni 1834-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yatishga ko'ra, bakteriyalarning hamma turi ikki guruh: grammusbat va grammanfiyga bo'linadi. Grammusbat bakteriyalar sitoplazmasining pH 2 - 3, uning teskji qavatida ribonuklein kislotasining magniyli tuzi bor. Bunday kislotali muhitda asosli bo'yoqlar yod bilan mustahkamlanadi.

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 binafsharangni saqlab qoladi (14,15,18-rasm). Grammanfiy bakteriyalar esa spirt ta'sirida rangsizlanadi va Sil fuksini bilan qo'shimcha bo'yaganda, qizil rangga kiradi (16 – 17-rasm).

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



19-rasm. Grammusbat va grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi<sup>9</sup>

<sup>9</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.2.

### 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.

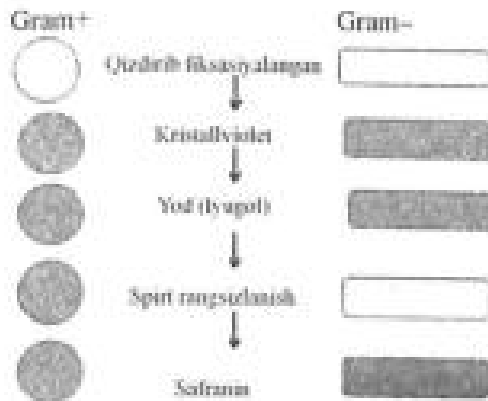
3. Lyugol eritmasini to'kib, 96° spirt quyiladi (30 soniya).

4. Suvda yaxshilab yuviladi.

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

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

Suyuq gensianviolet (yoki kristallviolet) o'rniga preparatga mos o'lehamda 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 tom-diriladi. Bakteriologiya amaliyotida preparatlarni Gram usulida bo'yash juda keng qo'llaniladi. Ba'zi adabiyotlarda bu usulda ikkinchi bo'yoq sifatida Sil fuksini o'rniga safranin ishlatishni lozim topishgan (20-rasm).<sup>5</sup>



20-rasm. Gram usulida bo'yash jarayonlarining ifodasi

<sup>5</sup>Tracy H Venulapalli, G Kenitra Hammase. 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  
c) ikki va undan ortiq  
d) beshta.
2. Gram usulida bo'yashda qaysi bo'yoqlar ishlatiladi?  
a) gimza bo'yog'i, kristallviolet  
b) safranin, metilen ko'ki  
c) brilliant yashili, leffler ko'ki  
d) gensianviolet, sil fuksini (1:10).
3. Bakteriyalarning doimiy bo'lmagan elementlari.  
a) spora, kapsula, xivchin  
b) sitoplazma, vakuol, mitaxondriya  
c) qobiq, o'zak, protoplazma  
d) regid qatlam, membrana, sitoplazma.
4. Bakteriyalarning doimiy elementlari qaysilar?  
a) spora, mitaxondriya, o'zak  
b) qobiq, sitoplazma, o'zak  
c) sitoplazma, xivchin, spora  
d) membrana, spora, kapsula.
5. Lyugol eritmasining tarkibi.  
a) kaliy yod, kalsiy xlorid, distillangan suv  
b) 10 % li yod, glitserin, distillangan suv  
c) 1g yod kristall, 2 g kaliy yod, 300 ml – distillangan suv  
d) fenol, kaliy yod, glitserin, distillangan suv.

#### 4-MAVZU.

### SPORA, KAPSULA VA KISLOTAGA CHIDAMLI BAKTERIYALARNING BO'YASH USULLARI

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

**Material va jihozlar:** Biologik mikroskop, immersio may, buyum oynasi, filtr qog'oz, spirt lampasi, bakteriological ilmoq, kyuveta ko'priktcha bilan 96° li spirt, 5% li sulfat kislotasi eritmasi, disillangan suv, shisha idishlarda bo'yoqlar: 1.effler meulen ko'ki, 0,5 % li neytralros. karbollar Faksim, Gimza bo'yoqi, 2 % li safranin (suvdagi eritmasi), fiziologik eritma, bakteriyalar kulturasini spora hosil qiladigan bakteriyalar (pichan tayoqchasi), kapsula hosil qiladigan bakteriyalar, kislotaga chidamli bakteriyalar. Plakatlar, videoproyektor, kompyuter.

#### Uslabiy ko'rsatmalar

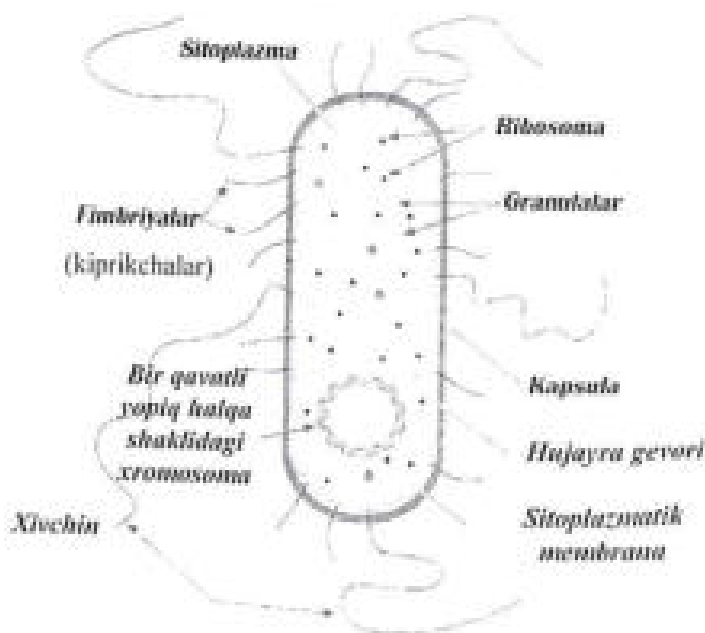
O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

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

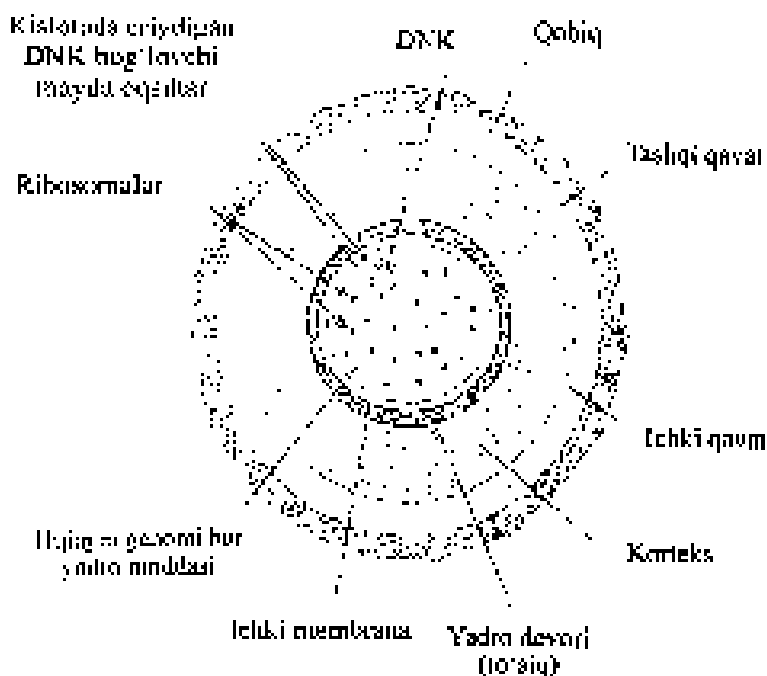
**Sporalarni bo'yash.** Tashqi muhitda spora hosil qiluvchi tayoqchasimon mikroblar batsillalar deyiladi. Spora hosil bo'lish jarayonida hujayra sitoplazmasi quyug'lashib, erkin suv 40% gacha kamayadi. Sitoplazma ko'p qavatli qobiqqa o'raladi (22-rasm). Uning tuzilishi, kimyoviy tarkibi tufayli spora qizdirish, quritish, ko'pchilik kislotaga, ishqor va bo'yoqlar ta'siriga chidamli bo'ladi. Spora hosil qilish jarayoni tugagan bo'lsa spora erkin, vegetativ hujayra qoldiqlarisiz bo'ladi; jarayon tugallanmagan bo'lsa spora mikroblar turiga bog'liq ravishda hujayraning markazida, bir uchida yoki bir uchiga yaqin joylashadi. Oddiy yoki gram usulida bo'yalgan preparatlarda mikroskopda hujayraning bo'yalgan vegetativ qismi va bo'yalmagan yorug'likni yaxshi sindiruvchi sporelar ko'rinadi. Demak, sporelar murakkab, maxsus usullarda bo'yaladi.



21-rasm. Bakteriyaning tuzilishi.<sup>6</sup>

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

*Arxivi usuli.* 1. Havoda quritilgan preparatga 0,5% li sulfat kislotu quyib 2-3 daqiqa qizdiriladi, sovuqib, suv bilan yuviladi va aluuga ustida fiksatsiyalanadi. 2. Preparatga filtr qog'oz qo'yib, ustidan karbollarli Sil fuksini quyiladi, bug' hosil bo'lguncha qizdirib 7-8 daqiqa ho'yaladi. 3. Bo'yoqni to'kib tashlab 5% sulfat kislotu eritmasi bilan 5-7 soniya ishtirov beriladi, keyin yaxshilab suv bilan yuviladi.



22-*rasm.* *Bakteriyaning yetuk endosporaxi tuzilishi*

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

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

<sup>1</sup>P.F.Quinn., D.K.Markay and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Delhi, India 2016 y.p. 6

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

*Zlatogorov usuli.* Surtma tayyorlanib, havoda quritiladi. Fiksatsiyalashda sporalar qobig'ini 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, karbol faksini quyiladi, so'ngra bug' hosil bo'lguncha 8-10 daqiqa qizdiriladi (natijada bakteriyalarning sporasi ham, vegetativ shakllari ham bir xil qizil rangga bo'yaladi).

### Preparat tayyorlash texnikasi. Bakteriyalarning asosiy shakllari



#### I SHARSIMON

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

#### II TAYOQCHASIMON

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

#### III BURAMASIMON

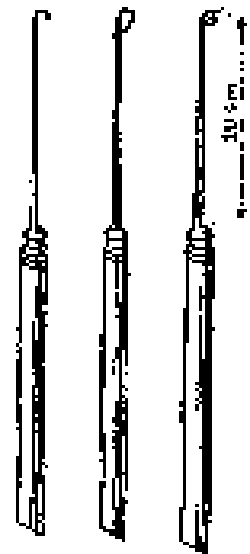
1. vibrionlar
2. leptospiralalar
3. spiroxetalar
4. spirillalar

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

21,5-3mm.



12-rasm. Sirtinon-preparat tayyorlash qadamlari



A B D

13-rasm. Bakteriologik ilmoqlar: A va B — o'zga g'iri; D — to'g'ri tayyorlanmagan

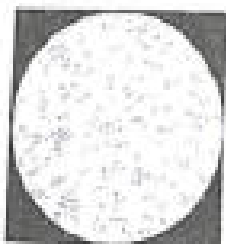
### Gram usulida bo'yalgan sirtinonlarda bakteriyalarning ko'rinishi



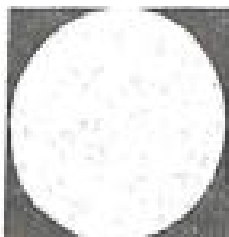
14-rasm. *Diplococcus pneumoniae*



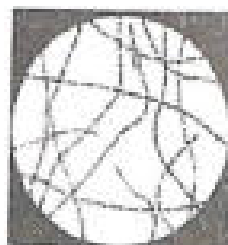
15-rasm. *Streptococcus pyogenes* qonda



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

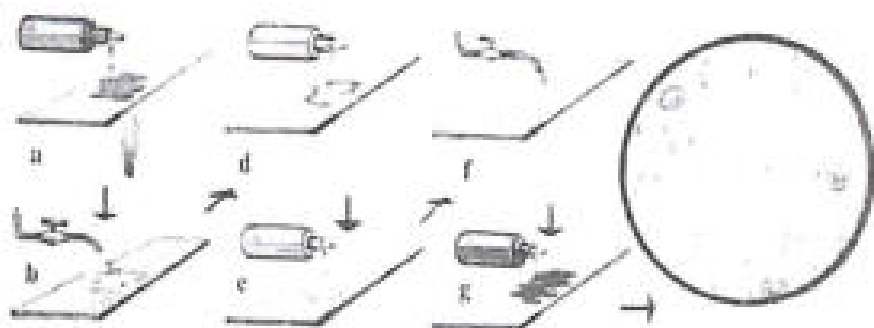


17-rasm. *Salmonella*  
– grammanfiy  
tayyoqchalar



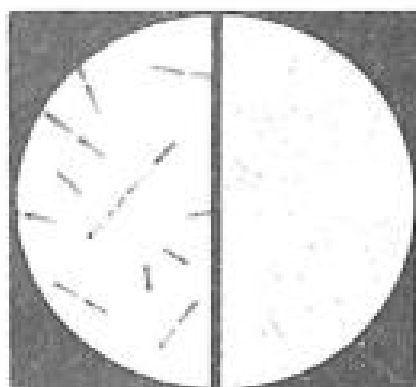
18-rasm. *Bac.  
anthracis* –  
grammusbat  
tayyoqchalar

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

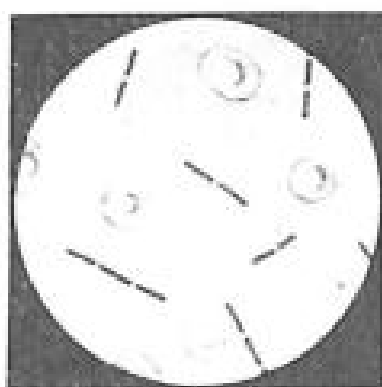


23-rasm. *Silt-Nilsen* usulida bo'yash

*a-sil fuchsini bilan bug' paydo bo'lguncha olov ustida qizdirib bo'yaladi;*  
*b-bo'yag suv bilan yuviladi, d-5% H sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi, e-av-*  
*val spirt, keyin f-suv bilan yuviladi va g-metilen ko'ki bilan bo'yaladi.*  
*Tuberkuloz tayyoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yiladi.*

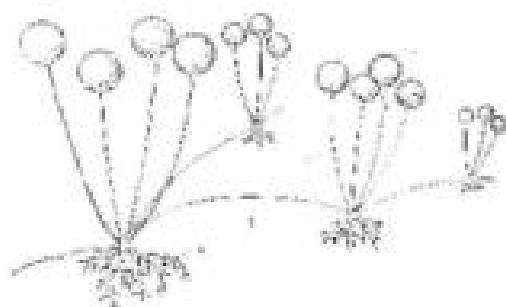


24-rasm. *Bac. anthracis*  
*OLT* usulida bo'yalgan:  
 a-kapsulasi sariq,  
 b-sporasi Sil-Nilsen  
 usulida bo'yalgan

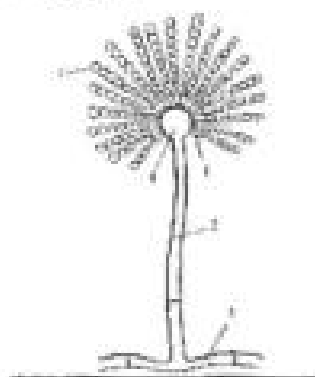


25-rasm. *Bac. anthracis*  
 Leffer usulida bo'yalgan;  
 kapsulasi pushti,  
 batsillalar-ko'k rangda

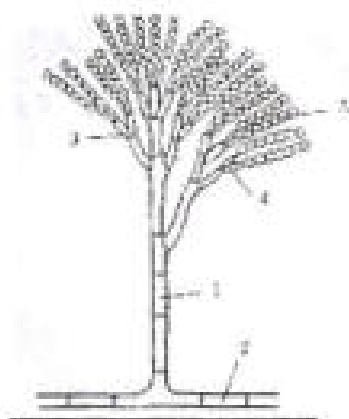
### Zamburug'larning morfologiyasi



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



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



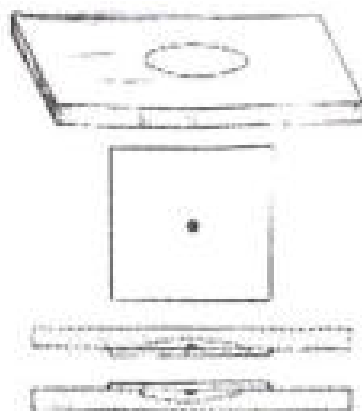
28-rasm. *Penicillium* – zamburug'ining tuzilishi: 1-kandiyofar; 2-vegetativ gij; 3-metulalar; 4-sterigmalar; 5-kandiyalar



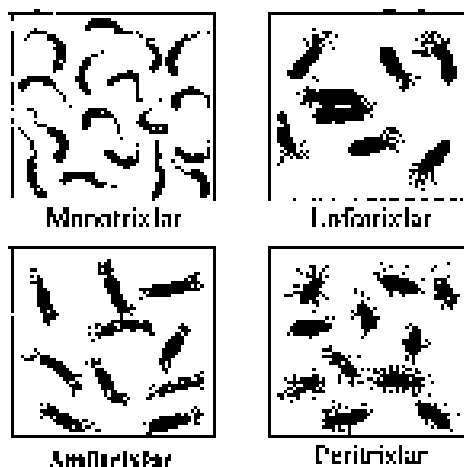
29-rasm. *Achitqi* va *achitqisimon* zamburug'lar: 1-haqiqiy achitqilar (*Ascaromyces*lar); 2-spiralli asklar; 3-achitqisimon zamburug'larining *pseudomitsellyari* (*blastosporalar*) bilan



30-rasm. Takomillashmagan zamburug'-trikoftion: 1-stamidosporalar; 2-mitsellyning shoxlanishi; 3-sachlaka mikrokonidiy zanjirlari; 4-makrokonidiyalar



31-rasm. O'silgan tomchi usulida preparat tayyorlash



12-rasm. Bakteriyalarda xirchintalarining joylashishi

**Pushtani usuli.** Tayyorlangan surtma spirt lampasi alangasida fiksatsiyalanadi.

1. 15-20 soniya davomida (spirt lampasi alangasi ustida) qaynayotgan Lefiler merilera ko'ki bilan bo'yaladi. 2. Suv bilan yuviladi. 3. 30 soniya davomida neytralnining 0,5 % li eritmasida yana bo'yaladi. 4. Suv bilan yuvib, so'ng quritiladi. Mikroskopda ko'rinishi: sporalar hayotang yuki ko'k rangda. bakteriyaning vegetativ shakllari pushti rangda.

**Kapsulalarni bo'yash.** Kapsula – tashqi qobiq qavatining hosilidir. U muhim modda bo'lib yuqori molekulyar polisaxariddan iborat. Patogen kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning kapsulasi faqat zararlangan organizmda fagositonga qarshi himoy vositasi sifatida kuzatiladi (sun'iy oziq muhitlarda ularga qon zardohi yoki fibrinsizlangan qon qo'shig'ida kapsula hosil bo'ladi). Kuydirgi, yomon sifatli shish kasalliklari, diplokokklli septisemiya qo'zg'atuvchilari kapsula hosil qiladi. Kapsula moddasini oddiy usulda bo'yash juda qiyin. Shuning uchun ularni metaxromaziya holatiga asoslangan (bitta bo'yov bilan sitoplazma boshqa rangga, kapsula moddasi boshqa rangga bo'yaladi) muxsus usullarda bo'yash lozim.

### *Olt usuli.*

1.Fiksatsiya qilingan preparat, yangi tayyorlangan issiq 2% li sufraninning 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 Lefler metilen ko'ki bilan 4-5 daqiqa bo'yaladi.

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

Mikroskopda kislotaga chidanli bakteriyalar – qizil; chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (Диагностика инфекционных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. – М: Колос, 1968, с.101) surtmaga karbulli Sil foksini quyib 1-2 daqiqa bog' paydo bo'lguncha yoki quynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b). 5% li sulfat kislotaga bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma uyval spirt (e). Keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (c), (23-rasm).

**Qondun surtmaga tayyorlash va spiroxetalarni bo'yash.** Toza yog'sizlantirilgan buyum oymachasining bir chetiga yaqin bir tomchi qon tomdiriladi. Ikkinchi buyum oymachasining silliqlangan tomoni tomchiga 45° burchakda qo'yiladi va pastdagi oymachaning ikkinchi tomoniga yengilgina surtish harakati bilan siljitiladi. Natijada qon oymachada bir xilda yayilib yupqa qatlam hosil bo'ladi. Uni havo-da quritib metil spirti yoki etil spirti va efir aralashmasida fiksatsiya qilish kerak. Preparat Romanovskiy Qizilga usulida bo'yovning ishelti eritmasi (1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo'yov) bilan 10-20 daqiqa bo'yaladi. Suv bilan yuvib havo-da quritiladi. Leptospiralar pusti-hinafisha, eritrotsitlar pusti, leykositlarning o'zagi himushbarangda bo'ladi.

**Rikketsiyalarni Zhrachovskiy usulida bo'yash.**<sup>3</sup> Surtma Sil foksini suyultirmasi (10 ml distillangan suvga 10-15 tomchi) bilan 5 daqiqa davomida bo'yaladi va suv bilan yuviladi. Surtmaga 0,5% li himon kislotaga 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.

<sup>3</sup>Кисленко Д.П. Практикум по петрицадрийей микробиологии и иммунологии. –М.: КолосС, 2005.с.34

### Nazorat savollari:

1. Sporalami 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. Sporalami bo'yash usullarini ayting.
8. Sil-Nilsen usulida bo'yash texnikasini ayting.
9. Zdradovskiy usulida rikketsiyalar qanday rangga bo'yaladi?
10. Qondan sirtma qanday tayyorlanadi?

### Test savollari:

1. Murakkab bo'yash usulida nechta bo'yovchi eritma ishlatiladi?
  - a) uchta
  - b) bitta
  - c) ikki va undan ortiq
  - d) beshta.
2. Gram usulida bo'yashda qaysi bo'yoqlar ishlatiladi?
  - a) gimza bo'yog'i, kristallviolet
  - b) safranin, metilen ko'ki
  - c) brilliant yashili, leffler ko'ki
  - d) gensianviolet, sil fuksini (1:10).
3. Bakteriyalarning doimiy bo'lmagan elementlari qaysilar?
  - a) spora, kapsula, xivchin
  - b) sitoplazma, vakuol, mitaxondriya
  - c) qobiq, o'zak, protoplazma
  - d) regid qatlam, membrana, sitoplazma.
4. Bakteriyalarning doimiy elementlari qaysilar?
  - a) spora, mitaxondriya, o'zak
  - b) qobiq, sitoplazma, o'zak
  - c) sitoplazma, xivchin, spora
  - d) membrana, spora, kapsula.
5. Lyugol eritmasining tarkibi qanday?
  - a) kaliy yod, kalsiy xlorid, distillangan suv
  - b) 10 % li yod, glitserin, distillangan suv
  - c) 1g yod kristall, 2 g kaliy yod, 300 ml – distillangan suv
  - d) fenol, kaliy yod, glitserin, distillangan suv.

## 5-MAVZU.

### ZAMBURUG'LARNING MORFOLOGIYASI VA BAKTERIYALARNING HARAKATINI O'RGANISH

**Mas'uliyatning 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 kulturasini. Suyuq oziq muhitda o'stirilgan achitqi kulturasini. Buyum va yuqgich oymachalar, bakteriologik ilmoq, probirkada spirt, glitserin, suvning teng miqdordagi aralashmasi, fiziologik eritma, mikroskop, ichak tayoqchasi, pichan tayoqchasi kulturasini, mavzuga oid plakallar, videoprojektor, kompyuter.

#### Ushbu ko'rsatmular

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

2. Harakatchan mikroorganizmlar (ichuk, pichan tayoqchalari) dan «sezilgan» va «osilgan» omchi usullarida preparatlar tayyorlash. Ularni mikroskopda ko'rib, bakteriyalarni harakatlanishini kuzarish, o'rganib, dafllarga 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'zlashtirish bo'yicha osimlikka o'xshaydi. Lekin farqi – zamburug'larning xlorofilli yo'q, taxiradagi moddasi glikogen (kraxmal emas), hujayra devorida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina. Zamburug' hujayrasi

ingichka ipchalardan iborat bo'lib bularga – gillar deyiladi. Gillar 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 (miko-mitsetlar). Ularning mitseliysi gillari bo'g'inlarga bo'lingan bir yoki ko'p o'zakli hujayralardan iborat.\*

Zamburug'lar vegetativ, reproduktiv (jinsiy va jinssiz) usullarda ko'payadi. Vegetativ usulda maxsus ko'payish organlarisiz – mitseliy qismchalari, mitseliy parchalanganda hosil bo'lgan sporalar (xlamidaspora, oidiylar, artrosporalar, blastosporalar va h.k.), bilan amalga oshadi. Reprodukativ 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 gillar hosil bo'ladi. Gillarda 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.

---

\*Киселев В.Н., Колічев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть I. Общая микробиология. – М.: КолосС, 2006 г. с.25-26.

### Zamburug'larning suslo agarda o'sishi

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

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

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

Penitsilla ham takomillashmagan zamburug'. Suslo agarda ikkinchi-uchunchi sutkalarda mo'niq pardak kulrang – yashil yoki yashil chet oq boshiyali nozik qatlam hosil qilib o'sadi. Zamburug'ning mitseliysi bo'g'inlarga bo'lingan va shaxobchasimon tarqalgan ko'payuvchi gifi bor. Uning uchida shingil shaklli konidiyalar (ekzosporalar) hosil bo'lib, zanjirsimon joylashadi (28-rasm).

Mikroskopik tekshirish uchun tayyarlamaqan sezilyan tomchilo preparati tayyorlanadi. Bu maqsadda mikologik ilmoq bilan materialni olib, buyum oynasidagi bir tomchil suyuqlikka (fizyologik eritma, steril suv, albatta teng hajmda olingan suv, spirt va gliserindan iborat suyuqlik yanada yaxshi) solinadi. Mitseliy iplarini tarqatib, yopqich oyna bilan yopiladi. Mikordan tayyorlangan preparat mikroskopning x8 obyektivida, penitsillium, aspergilluslar x40 obyektivda ko'riladi.

**Aktinomitsetlar (nursimon zamburug'lar).** Bir hujayrali mikroorganizmlar bo'lib bakteriya va tuban zamburug'larga o'xshaydi. Aktinomitsetlar mitseliysining gillari substrat bo'yicha nursimon tarqalib o'sishi ularni zamburug'larga yaqinlashtiradi. Gillarining 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°Cda o'sadi.

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

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

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

## Bakteriyalar harakatini o'rganish

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

Bu ularning turlarini bir-biridan farq qilishdagi asosiy belgilardan biri. Mikroblar xivchilar yordamida harakatlanadi, ular mikroblar tanasining suvli qismlarida joylashadi.<sup>11</sup> Shunga qarab harakatlanishi ham turlicha bo'ladi (32-rasm).

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

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

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

4. Peritrix – bu guruh bakteriyalarda xivchilar hujayraning hamma tomonidan o'sib chiqqan. Tutibsiz harakatlanadi.

Bakteriyalarning harakatini o'silgan tomchi, o'zilgan tomchi usullarida preparat tayyorlash, 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. Agar da o'stirilgani ham bo'ladi. Ular tekshirish uchun oddiy sterilangan fiziologik eritmada yoki suvda suspenziya tayyorlanadi.

o-O'silgan tomchi preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun o'rtasi chuqur maxsus buyum oynasi ishlatiladi. Tekshiriladigan materialdan qoplagich oyna ga bir tomchi tomiziladi. Buyum oynasidagi chuqur-ning chetlariga vazelin surtiladi. Keyin buyum oynasi qoplagich oyna ustiga shunday yopiladi, undagi tomchi chuqurchaning o'rtasida bo'ladi. Oyna eldiyotlik bilan o'rnatiladi, ana shunda zich yopilgan chuqurchada tomchi osilib qoladi, u qurub qolmaydi (31-rasm). Preparat quruq obyektiv sistemasida, yengil qorong'itashirilgan ko'rish maydonida (dialtagma va tushirilgan kondensatdan foyda-

<sup>11</sup>Воробин А. А. Медицинская микробиология, паразитология и иммунология. – М.: 2008 г. С.10.

laniladi) 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 xivchining 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 nimada?
  - a) oziqlanishi, nafas olishi bilan
  - b) xlorofilsiz, zaxira moddasi glikogen, qobig'ida xitini bor, almashinuv mahsuloti mochevina
  - c) ko'payishi, sporalari, tuzilishi bilan
  - d) miseliysi, giffari, o'sishi bilan.
2. Zamburug'larni mikroskopik tekshirishda qanday preparat tayyorlanadi?
  - a) «osilgan tomchi» usulida bo'yalmagan preparat
  - b) Gram usulida bo'yalgan preparat
  - c) ezilgan tomchi usulida bo'yalmagan preparat

d) oʻzdiy usulda boʻyalgan preparat.

**3. Bakteriyalarning barakati qanday oʻrganiladi?**

a) maxsus murakkab usulda boʻyalgan preparatda

b) preparatni boʻyab, ezilgan tomchi usulida

c) differensial diagnostik muhitlarda

d) ezilgan tomchi, osilgan tomchi, yariqsuyuq aynirgi tik ekib, GFA kondensatiga ekib.

**4. Bakteriya xiretinlarda joylashishi boʻyicha qancha gurubi farqlanadi?**

a) 4 ta

b) 8 ta

c) 6 ta

d) 3 ta.

**5. Aktivatsseflar qanday mikroorganizmlar?**

a) koʻp hujayrali, narsimon

b) bir hujayrali, bakteriya va zamburugʻlarga oʻxshaydi

c) bir va koʻp hujayrali, bakteriyalarga oʻxshaydi

d) bir hujayrali, zamburugʻlarga oʻxshamaydi.

## 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 ingrediylentlar (go'sht suvi, pepton, agar-agar, jelatina, kimyoviy toza osh tuzi); GPA, GPB, Kitt-Tarossi, Endo, Levin muhitlari, tarozi toshlari bilan, voronka, Petri kosachasi, tiqimli probirkalar, kolbalar, paxta dokali filtr, elektr plitka, shtativ, pH ni aniqlash uchun Mixaelis komparatori, lakmus qog'oz, mavzuga oid plakatlari, 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

faktori bo'lishi kerak. 0.5% NaCl. pH muayyan darajada, namligi yetarli, steril, iltij bo'lishi shart.

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

Pepton - oqsillar parchalanishidagi omil q mahsulot, shirdondun tayyorlanadi. Aminokislota, peptidlarga boy.

Jelatina - hayvonlar oqsidi. To'g'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azotli nordon mahsulot.

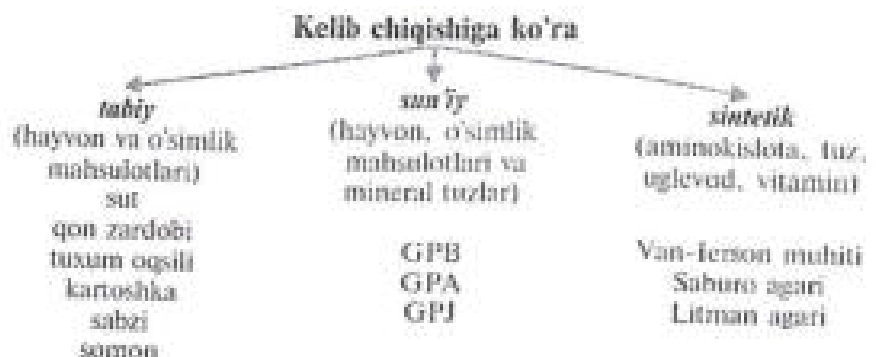
Oziq muhitlar kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi bo'yicha klassifikatsiyalanadi. Kelib chiqishi bo'yicha tabiiy, sun'iy va sintetik oziq muhitlar farqlanadi. Tabiiy oziq muhitlar hayvonot va o'simlik mahsulotlaridan (go'sht, sut, tuxum, qon zardobi, sabzavotlar, kazein va boshqalardan) tayyorlanadi.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

Konsistensiyasi bo'yicha oziq muhiti suyuq, zich, yarim suyuq va quruq bo'lishi mumkin. Suyuq muhitlarga GPB, Peptonli suv, sut va h.k.lar kiradi. Oziq muhiti zich bo'lishi uchun GPBga 2-3 % yarim suyuq bo'lishi uchun 0,15-0.7% agar-agar qo'shish lozim. GPJ tarkibida 20% jelatina bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda har xil miqdorda ishlatiladigan ko'pgina oziq muhitlar quruq holda ishlab chiqiladi. Quruq oziq muhit qopqog'i zich berkitiladigan shisha idishlarda sotiladi (uglevodlar va ko'p atomli spirtlar bo'lgan Gissa muhiti, Endo, Pleskinev muhiti, haktogar J. quruq oziq agari va boshqalar).

Ishlatilishiga ko'ra oziq muhitlar oddiy, maxsus va differensial-diagnostik turlariga bo'linadi. Oddiyiga 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, ta'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.

### Oziq muhitlarning klassifikatsiyasi



Selektiv oziq muhiti faqat ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. Boshqalari yo'qotiladi (anaeroblar, sut kislotasi hosil qiluvchi bakteriyalar, uchak tayyovchasi, gemolitik stafilokokklar, proteolitik mikroorganizmlar va boshqalar uchun tayyorlanadigan oziq muhiti).

Differensial-diagnostik oziq muhitlar (Giss, Endo, Ploskirev muhiti, baktagar va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalariга 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 suyilgan 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°C) joyga qo'yiladi yoki ikki soat 37°C da saqlanadi, so'ngra bir soat qaynatilib paxta-doka filtda filtrlanadi.

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

*Go'sht-peptonli bulon (GPB)* tayyorlash uchun go'sht suviga 0.9% natriy xlorid va 1% pepton qo'shiladi. Keyin u 10 daqiqa qayratiladi, pH (7,2-7,4) aniqlanadi, sovuritadi, filtrlanadi. Oldingi miqdoriga yetkazish uchun suv qo'shiladi, zarur idishlarga quyib, avtoklavda 120°C da 30 daqiqa sterilanadi.

*Go'sht-peptonli agar (GPA)* tayyorlash uchun GPB ga kesib maydalangan 2-3 % quruq agar qo'shib butunlay erib ketguncha qaynatiladi, so'ngra pH 7,2-7,4 aniqlanadi. Paxta-doka yoki filtr qog'ozda filtrlanadi. muhit reaksiyasi tekshiriladi va to'g'rilanadi, zarur idishga quyib 30 daqiqa davomida 120°C da avtoklavda sterilanadi. Probirkalaridagi GPA qiyulatiladi (40-rasm).

*Go'sht-peptonli jelatina (GPJ)* tayyorlash uchun GPB ga 10-20% jelatina qo'shiladi, u burkkandan 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 sityuq agar* GPB singari tayyorlanadi, faqat agar kamroq miqdorda – ya'ni 0,15 – 0,5% qo'shiladi.

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

#### Nazorat savollari:

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

### Test savollari:

1. Oziq muhitlar qaysi xususiyatlar bo'yicha klassifikatsiyalanadi?
  - a) tayyorlanishi, sterilligi, PH ko'rsatkichi bo'yicha
  - b) tarkibi, manbasi, ishlatilishi
  - c) kelib chiqishi, konsistensiyasi, ishlatilishi
  - d) muhitlar turi, mikroorganizmni o'sishi bo'yicha.
2. Oddiy oziq muhitlar qaysi turda to'g'ri ko'rsatilgan?
  - a) yarimsuyuq agar, Ploskirev, Gissa muhiti
  - b) GPR, erdye, Vismol sol'li agar
  - c) GPR, Levin, qonli agar
  - d) GPR, GPR, GPR, yarimsuyuq agar.
3. Konsistensiyasi bo'yicha qanday oziq muhitlar tarqalanadi?
  - a) suyuq, yarimsuyuq, zich, quruq
  - b) suyuq va zich
  - c) kukunsimon, maxsus, tabiiy
  - d) zich, oddiy, murakkab, quruq.
4. GPA tarkibida agar necha foiz bo'ladi?
  - a) 4-5 %
  - b) 2-3 %
  - c) 1 %
  - d) 0.5 %.
5. Agar-uqur nima?
  - a) o'simlik kukuni va hayvonlar mahsuloti aralashmasi
  - b) maxsus tayyorlangan sun'iy preparat
  - c) dengiz suv o'tlaridan ulinadigan azotsiz organik modda
  - d) hayvonlar uqsili, 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, videoprojektor, kompyuter.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Laboratoriyalarda oziq muhitlar, shisha idishlar (probipka, pipetka, kolba va h.k.), asboblari, bog'lovchi materiallar, xalatlari sterilanadi. Maxsus ish sharoitini yaratish uchun havo va boksdagi buyumlar ham sterilanadi. 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. Mikrobnl to'liq naslsizlantirish. 2. Sterillanayotgan materialni fiziko-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qolish.

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

*Quruq qizdirilgan havo bilan sterillash* maxsus ikki qavat devorli metall quritgich shkaf – yumaloq elektorli, Paster pechkasida amalga oshiriladi (33-rasm). Unda toza, yaxshi yuvilgan, quritilgan shisha idishlar sterilanadi. Kolbalarni paxta tiqin bilan yopib, ustidan qog'oz bilan o'raladi va bog'lanadi. Probirka, Petri kosachasi va probirkalarni

pergument qopqo'zga o'rash lozim. Ularni quritgichga joylashtirgach elektr tarmoqqa ulab, kerak haroratga yetganida sterillashning boshlanish vaqti belgilanadi. Sterillash davomiyligi: 160°C – 2 soat, 170°C – 1,5 soat, 180°C – 1 soat. Yuklash hajmiga bog'liq holda 171°C – 1 soat, 121°C da 10 – 16 soat davomida va undan ham uzoqroq vaqt sterillanadi.<sup>11</sup> Sterillash vaqti tugashi bilan jihozni o'chirib, harorati 45°C ga tushgandan keyingina u ochiladi. Yonuvchi moddalar, suyuqliklar, oziq muhitlar, rezina narsalarni quruq issiqda sterillash mumkin emas.

2. Nam issiq bilan sterillash. *Qaynatish* – anson, oddiy sterillash usuli bo'lib, maxsus sterilizator (33-rasm) yoki toza idishlardan foydalaniladi. Bu usulda ignular, shprits, pinsellar, qaychi, skalpellar, rezinali va shisha narsalar sterilizator selkasidagi 2 – 3 qavatli doka ustiga qo'yib sterillanadi. Shpritslarni qismlarga ajratib, ignalarni mandreni bilan, o'tkir asboblari – skalpel, qaychilarning o'tkir qismlarini doka yoki paxtaga o'rab sterilizatorga joylash kerak. Sterilizatorga asboblarni to'liq yopgunicha distillangan suv quyiladi. Qopqog'ini yopib 20 – 30 daqiqa qaynatiladi. Keyin suvini to'kiib, sovugandan so'ng asboblari ishlatiladi.

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

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

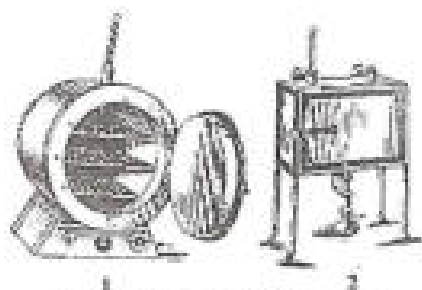
<sup>11</sup> Tracy D Venulupathi, G Kenitra Hancock. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2013 y. p.24.

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

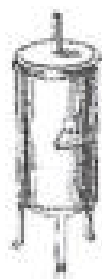
*Bug' bilan bosim ostida yuqori haroratda sterillash (avtoklavlash)* – 100° C dan ortiq haroratda sterillashning eng samarali usuli. Avtoklavda bug'ning bosimi bilan birga harorat ham ortadi: 0,5 atm. –110–112° C, 1 atm.–120–121° C, 1,5 atm.–124–126°C, 2 atm. –132–133°C. Vertikal va gorizontal avtoklavlar mavjud (36,37-rasm). Avtoklavdagi bug'ning bosimi va harorat monometr ko'rsatkichiga mos kelsa sterillash to'g'ri bajarilgan bo'ladi. Buni nazorat qilish uchun maxsus indikatorlardan foydalaniladi. Avtoklav indikator sariq yoki oq tasmali ko'rsatkichdan iborat. Sterilizatsiya bajarilganda indikator tasmalarning rangi sariq yoki oq rangdan to'q qo'ng'ir yoki qoraga rangga o'tadi. Rangning o'zgarishi 121°C haroratda 15–20 daqiqada amalga oshadi. Ba'zan yuqori haroratda bir necha daqiqada indikatorning rangi o'zgaradi, demak bu uslubga to'liq ishonib bo'lmaydi. Sterillikni to'liq amalga oshganini aniqlashning boshqa usuli – biologik indikatorlar (yuqori haroratga chidamli – *Geobacillus stearothermophilus* endosporalari) dan foydalanish mumkin. Bu usuldan avtoklavni to'g'ri ishlayotganini tekshirish uchun har hafta uni yuklangan avtoklavning markaziga qo'yib avtoklavlash kerak. Agar avtoklavlashdan keyin kultura o'lsa flakonda to'q qizil rang, o'lmasa sariq rangga aylanadi va avtoklavning qay darajada to'g'ri ishlayotganini ko'rsatadi. Shunday qilib testda-flakonda to'q qizil rang bo'lsa sterillash to'g'ri bajarilib, nihoyasiga yetadi.<sup>12</sup> Avtoklavda 100° C ga chidamli oziq muhitar (GPA, GPB, fiziologik eritma), qog'ozga o'ralgan shisha idishlar, metall boiksga solingan

<sup>12</sup>Tracy H. Venulapalli, G. Kenitra Hammac, *Microbiology for veterinary Technicians*, Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.24.

## Sterilizatsiya



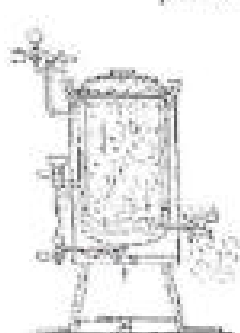
33-rasm. Qaritgich shloflar  
1-eklektarli yumaloq; 2-paster  
pechkasi.



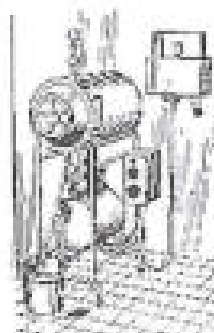
34-rasm. Oqivchi  
bug'li kor  
apparati.



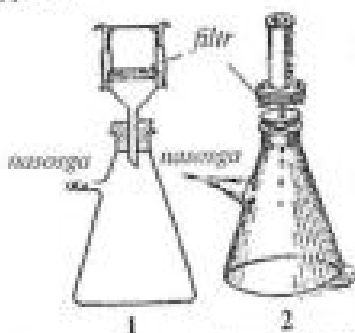
35-rasm. Sterilizator  
1-qopqog'i;  
2-korpusi; 3-setkasi;  
4-setkani ilgich.



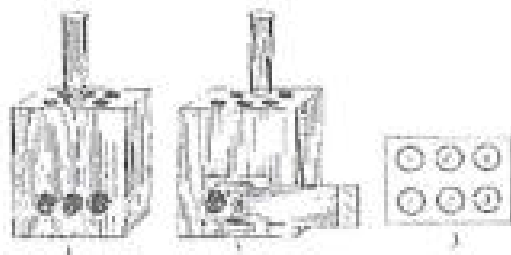
36-rasm. Vertikal  
avtoklav xemati.



37-rasm. Gorizontal  
avtoklav.



38-rasm. Tuyoq Zeyt filtrlari:  
1-shisha va 2-metall ushlagichlari  
bilan.



39-rasm. Uolpal komparatori: 1-umumiy  
ko'rinishi; 2- orqa tomondan ko'rinishi;  
3-komparatorida probirlarini joylashtirish  
xemati.



40-rasm. Agarni  
qiyulatish.

## Sterillash usullari

Fizikaviy		Kimyoviy	
Quruq issiqlik	Nam issiqlik	Filtrlash va h.k. usullar	
<p><b>1. Olov yordamida sterillash</b> Flombirlash (bakteriologik linuz, pirset va h.k. metall predmetlar)</p> <p><b>2. Quruq issiq havo bilan (toza shisha idishlar),</b> Quruq ich shakllarda sterillash vaqti: 1600 da - 2 soat 1700 da - 1,5 soat 1800 da - 1 soat</p>	<p><b>1. Qaynatish - sterilizatorida 20-30 min</b> (shpirt, igna, pirset, qopchi, skalpel va h.k.)</p> <p><b>2. Oquvchi lug' bilan bo'lib-bo'lib (100°C dan yuqori haroratda)</b> Kov apparati 100°C 30-40 min, 3 kun. a) indulizatsiya (suy. hammaida 100°C dan past harorada bo'lib-bo'lib sterillash) 70-80°C - 3 kun 60-65°C - 5 kun 56-58°C 6-7 kun (kollold eritmalar, zardab va oqsil saqlovchi moddalar). Birinchi kun 2 soat, qolgan kunlari 1 soat sterillanadi.</p> <p><b>3. yuqurigi bosim ostida (avtoklavda) sterillash</b> 0,5 atm - 110-112°C 1 atm - 120-121°C 1,5 atm - 124-126°C 2 atm - 132-133°C</p> <p><b>4. Pasterizatsiya, Maxsus pasterizatorlarda 80°C da 30 min</b> qidirib tezda (4-8°C chet) sovutildi - sut, go'sht, baliq va sabzavot konservalari</p>	<p>Suyuqliklar quyidagi filtrdan o'tkaziladi: 1) Shunberfyan 2) Berkefeld 3) Zeiss 4) Membranalı filr (ultrafiltrlar)</p> <p>Ultrabinafska nurlari bilan bakteriasid lampalar yordamida boks, opanatsiya vositalari hayoti sterillanadi.</p> <p>Ultratovush yordamida (sut, sut, bo'zi bari xom-ashyosi mahsulotlari)</p>	<p><b>I. Oziq mahali, vaktsina davolovchi va diagnostik zardoblarni konservatsiya qilish</b> 1. slonoforn 2. iodol 3. efir 4. fenol 5. formalin 6. merkur 7 bor kislotasi 8. gliserinlar bilan.</p> <p><b>II. Dezinfektsiya uchun:</b> 1-3% li skoramin 3-5% li fenol 70% li spirt va hokazo</p>

Sterillash (lotincha mulsizlasib) - turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporalı shakllarini) ber'liq yo'qotishga - o'ldirishga qaratilgan.

bug'lovchi materiallar, xalalar sterilanadi. Bundan tashqari ishlatilgan bakteriya kulturalari, idishlar zararsizlantiriladi. Sterillash vaqti tugashi bilan avtoklav o'chiriladi. Sovuganidan keyin manometr nolni ko'rsatganida bug' chiqaradigan kran ochildadi. Bug' to'liq chiqib ketmaguncha avtoklavning qopqog'ini ochish mumkin emas. Chunki hosim tez tushganida avtoklavdagi suyuq muhitlar qaynab ketadi, natijada probirkalarning tiqini suyuqlik bilan birga otiladi.

*Filtirlash usulida* sterilanuvchi suyuqlik bakteriologik filtrlardan (33-rasm) otkaziladi. Qutliq – keramikuli (silinde shakli Chamberlan, Berkefeld), asbestli (plastina ko'rinishida Zeyts, F<sub>1</sub> va SF) va membranali (g'ovakli ultrafiltrlar, kolloidli membranalar) filtrlar bo'ladi.

*Ultrahalqa usuli bilan sterilash* uchun maxsus bakterisid lampalar ishlatiladi. Boks, operatsiya xonalarining havosini zararsizlantirishda ko'proq qo'llaniladi.

*Ultratovush bilan sterilash* usuli sov, sut, ba'zi mahsulotlar, teri xomashyosini zararsizlantirishda ishlatiladi.

**Kimyoviy moddalar yordamida sterilash** laboratoriya amaliyotida cheklangan. Bu usul asosan: vaktsina, davolovchi va diagnostik zararlarni bakterial zararlantirishdan saqlash uchun ishlatiladi – *konservatsiya* qilinadi. Vaktsina va zardoblar: fenol (0.25 – 0.5% li), xloroform (0.5% li), formalin (0.05% li), mertiolat (1:5000 – 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** – sterilashdan ilg'ri qilib, unla faqat patogen mikroorganizmlar o'ldiriladi, sterilashda esa biron buyundagi harcha mikroblar butunlay o'ldiriladi.

**Antiseptiku** – kimyoviy dezinfektorlar bilan yara va boshqa obyektlardagi mikroblarni o'ldirishdan iborat. Antiseptiklar (yod, vodorod peroksidi, kaliy permanganat, heilliant 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 metall tuzlari, gazlar, galogenlar, bo‘yoqlar, sirtki faol moddalar, spirtlar hamda boshqa kimyoviy moddalar va ularning aralashmalari ishlatiladi.

Antiseptiklar (grekchadan *anti* – qarshi, *septicus* – chirigan) – odamlar amaliy faoliyatida ishlatiladigan bakterisidlar. Veterinariyada antiseptiklar yaralarga ishlov berish uchun, oziq-ovqat sanoatida – mahsulotlarni buzilishdan saqlash uchun, yog‘och inshootlarni chirishini oldini olish uchun qo‘llaniladi.<sup>13</sup>

#### Nazorat savollari:

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

#### Test savollari:

##### 1. Sterillash nima?

- a) oziq muhitlarni buzilishdan saqlash
- b) mikroblarni vegetativ shakllarini yo‘q qilish

<sup>13</sup>Carter, G. R. darla J. Wise Essentials of Veterinary Bacteriology And Mycology Sixth Edition 2004 y. p.87.

- c) mikroblarni o'zishdan to'xtatish
- d) mikroblarni vegetativ va spori shakllarini to'liq yo'q qilish.

**2. Sterillash qanday talablarga javob berishi kerak?**

a) mikrobnl to'liq nasbsizlantirish, materialni fizik kimyoviy xususiyat-lari saqlanishi kerak

b) mikrobnl ma'lum vaqt usishdan to'xtatish, materialning o'zgar-timastligi kerak.

c) sterillash jarayonida pl o'zgarimastligi, faqat vegetativ shakldagi mikroblar yo'q qilinishi kerak.

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

**3. Yonuvchi muhitdagi, suyuqliklar, oziq muhitlar, rezina mahsulot-lari qanday issiqda sterillash mumkinmi?**

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

**4. Sterillashning qanday usullari bor?**

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

**5. Pasterizatsiya usulida mahsulot,**

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

**6. Bug' hilu bosim ostida yuqori baroratda sterillash uchun jihoz.**

- a) avtoklav
- b) quritgich shkaf
- c) Kox apparati
- d) sterilizator.

**7. Quruq issiqlikda sterillash uchun nimalardan foydalaniladi?**

- a) Kox apparati
- b) olov, quritgich shkaf
- c) avtoklav
- d) filtrlar.

## 8-MAVZU.

### SOF KULTURA AJRATIB OLISH USULLARI (aerob va anaerob mikroorganizmlarni)

**Mashg'ulotning maqsadi:** Sof mikroorganizmlarini 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, videoprojektor, 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 nechta tur mikroblar aralashmasi bo'lishi mumkin. Undan ajratib olingan bir turga mansub mikrobgga sof kultura deyiladi.

Mikroblarning sof (bir turining) kulturasi 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 mikroorganizmning ko'payib, rivojlanishidan hosil bo'lishini hisobga olsak, alohida bitta koloniyadan steril oziq muhitga qayta ekilsa, sof kultura ajratib

olishga imkon beradi. Sof kulturanı ajratishning har xil usullari mavjud: Paster, Kox, Drigalskiy, fizikaviy, kinyoviy va biologik.

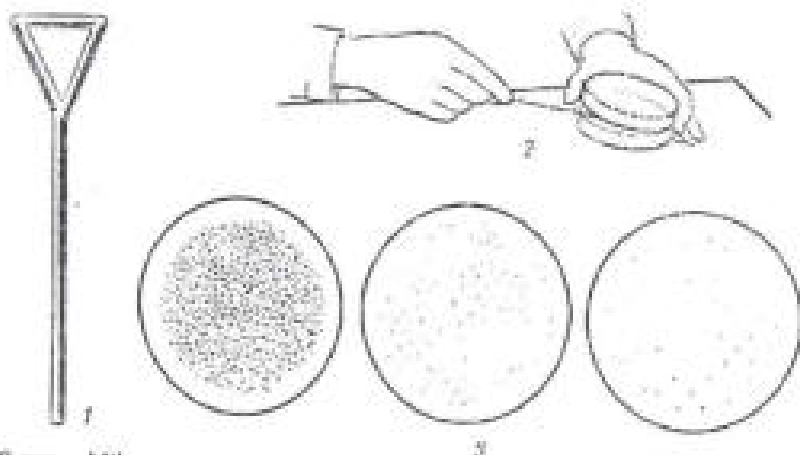
*Paster usuli* 8-10 probirkaga 9 ml dan GPB olinib, birinchisiga tekshiriladigan namunadun pipetka bilan bir tomchi qo'shib, aralashtiriladi va undan 0.1 ml ikkinchi va keyingi probirkalarga ketma-ket o'tkazilib aralashtiriladi, oxirgi probirkagacha suyultiriladi. Suyultirish darajasi ortishi bilan mikroblar soni kamayib boradi. Paster oxirgi probirkada bir tur mikroob qoladi deb o'ylagan. Lekin ushbu usulda sof kulturu ujrutish ehtiyoqli kam. Hozirgi vaqtda Pasterning suyultirish usulidan yordamchi usul sifatida hoshqa usulblarni bajarishda foydalaniladi.

*Kox usuli* 5-6 probirkada eritilgan yu 45-50°C gacha sovutilgan GPA 11-15 ml dan olinadi va ularda birin-ketin tekshiriladigan material suyultirilib, har bir probirkadun alohida Petri kosachalariga solinadi. Muhit qotqandan so'ng, kosachalar ko'nikarilib termostatda 18-34-48 soatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar shaklida bizni qiziqtirgan sof kulturu o'sib chiqadi. Alohida koloniyadan steril GPB, GPA larga ekiladi. Kox Paster usulidun foydalanib, faqat suyuq muhit o'rniga zich oziq muhitini ishlatgan (42-rasm). Suy, sur, tezsk va h.k. materiallarni tekshirishda qo'llanadi.

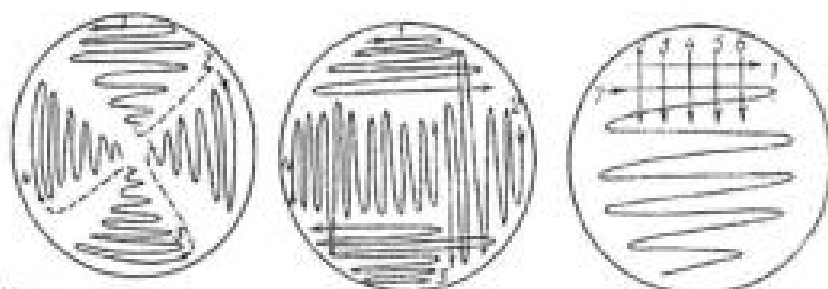
*Drigalskiy usuli* 5-6 GPA li Petri kosachalari olinadi. Birinchi kosachadagi muhit markaziga bir tomchi tekshiriladigan material tomdirib shisha shpatel bilan muhit yuzasiga surtiladi (40-rasm).

Shpateldagi qoldiq material ikkinchi kosachaga o'tkazilib muhit yuzasiga surtiladi va h.k. oxirgi kosachaga. Keyin kosachalar termostatga qo'yiladi. Oxirgi kosachalarda alohida-alohida koloniyalar o'sib chiqadi, ulardan sanlab steril oziq muhitga qayta ekib sof kulturu ajratiladi. Shpatel o'rniga bakterial ilonq ishlatish ham mumkin (41-rasm). Bu holda material zigzag yoki shtrix chiziqlar ko'rinishida ekiladi. Sof kulturu ujrutishning hoshqa bir usulida bundan fargli nevishda material namunasi Petri kosachasi yuzasiga may-

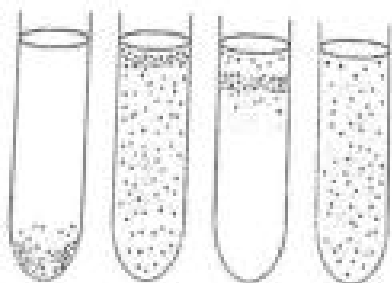
## Sof kultura ajratish usullari



40-rasm. Mikroorganizmlar kulturasiini zich aziq muhit yuzasiga shpatel bilan ekish: 1-Dregalskiy shpateli; 2-ekish; 3-mikroorganizmlarning o'rtichi.

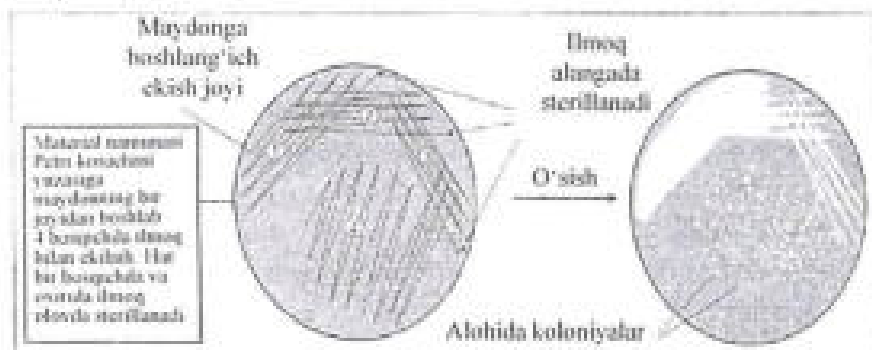


41-rasm. Mikroorganizmlar kulturasiini zich aziq muhit yuzasiga ilmoq bilan ekish.



42-rasm. Sayulirish usulida olingan anaerob bakteriyalarning chegaralangan kulturayalari.

donning bir joyidan boshlab ilmoq bilan 4 bosqichda zigzag va shtrix chiziqlar ko'rinishida ekiladi. Har bir bosqichda va oxirida ilmoq olovda sterilanadi. Chunki zigzag va shtrix chiziqlar kesishmasida har bir bosqichda material miqdori kamayadi hamda steril ilmoqqa ilinadi. Natijada oxirgi bosqichda ekmalarda alohida koloniyalar osib chiqadi (43-rasm).<sup>14</sup>



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

*Fizikaviy usul* – ko'pincha bakteriyalarning sporali shakllarini, sporasizlaridan ajratishi uchun qo'llaniladi. Tekshirilayotgan material suspenziyasi 80° C da 30-40 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Vegetativ shakldagi bakteriyalar o'ladi, sporelar 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 kulturasi ajratishda qo'llaniladi: tekshiriladigan material (to'qima, bakteriya) suspenziyasi

<sup>14</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.13.

bilan moyil laboratoriya hayvoni (oq sichqon, dengiz cho'chqasi, quyon) zararlantiriladi. Materialda patogen mikroob bo'lsa hayvon kasallanib o'ladi. O'lgan hayvonni yorib, uning ichki organlaridan oziq muhitlarga ekilganda patogen mikroobning sof 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 kulturasi 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. *Bloxinov usuli* – tekshirilayotgan material yoki aralash kultura bilan moyil laboratoriya hayvonlari zararlenganda, ular kasallanib o'ladi. Patologoanatomik yorib, ularning ichki organlaridan Kitt-Tarossi muhitiga, yarim suyuq agar yoki qonli – glukozali agarga ekib, yuqorida ko'rsatilgan sof kultura ajratish usullaridan birini qo'llagan holda patogen anaeroblarning sof kulturasi ajratiladi.

**Mikroorganizmlarni o'stirish.** Laboratoriya sharoitlarida o'stirilgan mikroorganizmlar mikroob kulturalari deb ataladi. Kultura-ni 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°C; 26-30°C; 22-25°C) doim saqlanib turadi.

**Mikroorganizmlarni o'stirish uchun jihozlar.** T e r m o s t a t ikki devorli shkaf, tashqaridan issiqni izolatsiyalovchi material (plastika) bilan qoplangan. Termostatlar suvli yoki quruq-havoli bo'lishi

mumkin. Termostatning ichida bir nechta to'rsimon tokehasi bo'lib, unga ekmali shtativlar, probirkalar solingan savatchalar, kolbalar, petri kosachalari, eksikatorlar, mikroanaerostatlar joylanadi.

Harorat termostatda termoregulator yordamida tutib turiladi. Harorat keragidan ortib ketsa, termoregulator isitgichni avtomatik tarzda o'chiradi, pasayib ketsa – uni qo'shadi. Termoregulatorlar bimetalli, «yostiqchali» va kontaktli (simobli) bo'lishi mumkin. Zamonaviy termostatlarda odatda *kontaktli termoregulatorlar* ishlatiladi – ikki tomoniga platinali simlar kavsharlangan simobli termometr. Anaerob va mikroaerofil bakteriyalarni o'stirish uchun eksikatorlar va anaerostatlar ishlatiladi.



44-rasm. Anaerostatlarda kimyoviy usulda anaerob sharoit yaratish.

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

Anaerostat – germetik yopiladigan metall silindr idish, havoni chiqarish yoki ish uchun kerakli gazni ( $CO_2$ ,  $N_2$ ,  $O_2$  va h.k.) berish uchun jo'mraklari va vakuum-monometrlari bor. Ekmalarni silindrning ichiga joylashtirib, qopqog'i yopiladi va nasos yordamida

eksikator ichidagi havo chiqariladi. Undagi holatni vakuum-monometr millimetr Simob ustunida (0 dan 760 gacha) ko'rsatadi. Anaerostat ekmalar bilan termostatga qo'yiladi (41-rasm).<sup>15</sup>

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



45-rasm. Oziq muhitlarda bakteriya kulturasining o'sish fazalari.<sup>16</sup>

Ammo, hujayraning o'sishi cheksiz emas. O'lchami ma'lum kattalikka yetganda hujayra bo'lina 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

<sup>15</sup>Tracy H. Venolapalli, G. Kenitra Hammac, Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y. p.193.

<sup>16</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.4.

bo'linishning hashqa varianti kurtaklanish hisoblanadi. Bakteriyalarning juda ko'p bo'linishi yu'li bilan ko'payishi ham ifoda etilgan. U stomasomaning oldindan replikatsiyalanishi va vegetativ hujayra o'lchamlarining kattalashishi bilan boshlanadi, keyin ona hujayra devorining qo'shimcha fibrillyar qavatli ichida quturasiga tezda ketma-ket bimar bo'linadi. Oziq muhitda kulturaning o'sishi bir necha fazalarda kechadi (45-rasm).

**Mikroblarni ekish texnikasi.** Sut, yog'i, somon, silos, suv, yiring, o'lgan hayvonlar to'qimsalaridan 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 atangasi yuqimida bajariladi. Ekish ilmoq yoki puster pipetkalari bilan olib boriladi.

Ekishdan avval maxsus moyqalam bilan probirkaga (kolba yoki Petri kuschasiga) 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 plinalni simdan yasalgan, diametri 1,5 - 3 mm bo'lib, metall tutqichga muhkamlanadi. Bakteriologik ilmoq (igna) mikroorganizm hujayralarini olishdan oldin sterilanadi. Buning uchun sim tutqich bilan tutashgan joyigacha yonib turgan gaz yoki spirt lampasi atangasida qizarguncha qizdiriladi. Bunda birtakis sterilanishi uchun ilmoq atangada vertikal holatda tutib turiladi, keyin tezda mikroorganizmlar bor idishga solinadi. Mikroorganizmlar hujayrasini shikastlamaslik uchun, ilmoq (igna) idishning ichki yuzasiga yoki oziq muhitning mikroob o'smagan joyiga tegdirib sovutiladi va shundan keyingina kamroq miqdarda mikroob massasi olinadi.<sup>14</sup>

<sup>14</sup>Киселевич В.Н. Практикум по бактериальной микробиологии и микротопологии. - М.: КолосС, 2005.с.56-57.

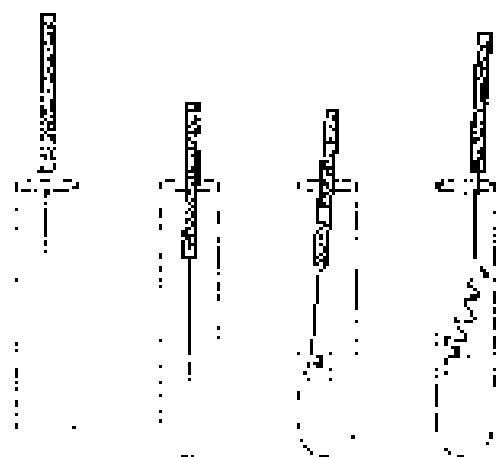
Probirkada zich oziq muhitda o'stirilgan mikroorganizmlar hujayralari quyidagicha olinadi: kulturali probirka chap qo'lda ushlanadi, oziq muhitning mikroorganizmlar o'sgan yuzasi yuqoriga qaragan bo'lishi va yaxshi ko'rinishi kerak. Probirka gorizontal yoki sal qiya ushlanadi. O'ng qo'lda ilmoq qalamdek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

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

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 goretka alangasida sterilanadi, keyin ikkala probirka tiqinlarini o'ng qo'lning kichik va nomsiz barmoqlari bilan kaftga bosib, probirkalar ochiladi. Bakteriologik ilmoq bilan mikroorganizmlar hujayralari

ilib olinadi va ilmoq qiyalatilgan steril oziq muhitga deyarli probirka tubigacha olib boriladi; ilmoq yuqoriga zigzag yuki to'g'ri (shlitix) chiziqli harakatlar bilan yurgizib olinadi. Igna bilan ekish ham xuddi shunday olib boriladi, faqat igna oziq muhitga tik yuboriladi (46-rasm).



46-rasm. Zich oziq muhitga ekish usuli.<sup>14</sup>

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 sulinadi.

Yuqorida aytilgan barcha jarayonlar gorizontal 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.

<sup>14</sup>Tracy H Venutapalli, G Kerira Hammac, Microbiology for veterinary Technicians Textbook copyright Printed in the United States of America 2015 y.

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

Zich oziq muhit ga ekkanda qayta ekiladigan kulturali va steril oziq muhitli (GPA) probirkalar chap qo'lda (agarning qiya yuzasi yuqorida) tiqinlari gorelka alangasi tomonga qaratib qiya ushlanaadi. 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 gorizontaal 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 loyqalan tiradi, 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, mikrobyoyilib o'sadi. Oziq muhitning keng yuzasiga kamroq hujayra ekilsa, har bir bakteriya hujayrasi bo'linib ko'paysishi hisobiga alohida koloniya shakllanadi. Koloniyaning diametriga bog'liq ravishda ular katta, kichik, shadringsimon bo'lishi mumkin. Ko'pchilik bakteriyalar aktinomitsetlar, mog'or zamburug'lari tur-turlarining koloniyalari har xil oziq muhitlarda o'sgunda har xil rang-gu bo'yalishi mumkin. Bu ularning bo'yovehi moddalar -- pigment hosil qilishi bilan ifodalanadi. Agar pigment eruvchan bo'lsa, muhit to'liq bo'yaladi, erimaydigan bo'lsa, faqat koloniya bo'yaladi. Ular xil mikroorganizmlar turlari uchun aniq rangli -- tillu rang, ko'k-yashil, oq, sariq, qizil va h.k. pigment hosil qilishi xarakterlidir. Pigment hosil bo'lish zich oziq muhitlarda yaxshi namoyon bo'ladi. Bunda harorat ham ahamiyatga ega; ko'pchilik hujayra uchun 25-30°C optimum hisoblanadi. Havo kislorodli va yorug'lik murlari ham mu'him darajada ta'sir etadi.

Mikroorganizmlarning kultural xususiyatlari keyingi mavzulor-da (Bakteriyalarning kultural, biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash) yanada batafsil yoritilgan.

#### Nazorat savollari:

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

### Test savollari:

1. Sof kultura ajratishni Paster va Kox usullarining farqi nimada?

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

2. Sof kultura nima?

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

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

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

4. Anaeroblarni sof kulturasi ajratish usulini aeroblardan farqi?

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

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

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

## 9-MAVZU.

### BAKTERIYALARNI KULTURAL, BIOKIMYOVIY XUSUSIYATLARINI O'RGANISH

**Mashg'ulotning maqsadi:** talabalarni mikroorganizmlarning kultural xususiyatleri bilan tanishtirish, suyuq, yarim suyuq va zich oziq muhitlarda o'sishi xos o'sish xususiyatlarini o'zlashtirish. Bakteriyaning biokimyoviy xususiyatlarini aniqlashning ba'zi usullarini o'rganish.

**Material va jihozlari:** har 2-3 talabuga: GPB va GPAda o'sgan mikroob kulturalari. Probirkalarda toza GPB va GPA, GPJ. Petri kosa-chalarida Levin, Endo, qonli agar, indikator qog'ozlar – va dorud sulfid, indol, ammiakni aniqlash uchun. Tegishli jadvallar, videoprojektor, kompyuter.

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi talabalarni bakteriyalarning suyuq va zich oziq muhitlarda o'sish xususiyatlari bilan tanishtiradi. Ularga vazifa beradi: mikroob kulturalarini ko'zdan kechirib, makroskopik va mikroskopik (obyektiv # yoki lupa bilan) tekshirishi. Mikroob kulturasini Petri kosachasida tartlangan mikroob kulturayusini maxsus qulum bilan belgilab tekshiriladi: a) sxema bo'yicha b) toza oziq muhitlarga ekib d) surnma preparat tayyorlab. Gram usulida bo'yiladi va mikroskopda tekshirib, natijasi daftarga chiziladi. Mikroob kulturasi uglevodli muhitlarga ekib – saxarolitile, GPJ ga ekib proteolitik, qonli agarda gemolitik xususiyatlarini o'rganadi.

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

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

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

3. Kultural xususiyatlari (oziq muhitlarda o'sishi)

4. Biokimyoviy xususiyatlari (saxarolitik, gemolitik, proteolitik)

5. Toksigenligi (ekzo va endotoksinlar hosil qilishi).

6. Patogenligi (laboratoriya hayvonlarini zararlab).

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

Olingan ma'lumotlar maxsus qo'llanma Bergining (1984-yil) «Bakteriyalarni aniqlagich»idan foydalanib mikroob 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 mikroob hujayrasi bo'lishi mumkin.

*Suyuq oziq muhitda o'xgan 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, ushqosimon, 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'xgan mikroorganizmlarning xususiyatlari:* harakatsiz bakteriyalar ekish yo'lida oq sterjen ko'rinishda

o'sadi, uning atrofidagi muhit tiniqligicha qoladi. Harakatchalari butchalar ko'rinishida tarqalib muhitni har xil darajada loyqalantiradi.

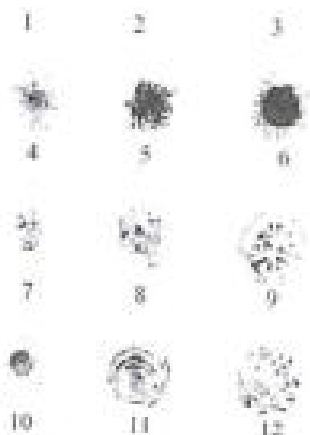
*Zich oziq muhitida o'sgan bakteriya koloniyasining xususiyatlari.* Koloniyalar alohida chegaralangan va qo'shilib birlashib ketgan bo'ladi. Qurollanmagan ko'z. mikroskop (x8 obyektiv), lupa bilan o'rganiladi. Avval o'sish jarayoni aniqlanishi – ko'p, o'trocha, kam. Keyin koloniyalar shaklining bir xil yoki har xilligi va quyidagi belgilari hisobga olinadi. 1. *Shakli* – to'g'ri (ovul, yonaloq), noto'g'ri (ildizsimon, yulduzsimon, umyubosimon, shoxlangan va h.k. (47-rasm)). 2. *O'lchami* diametrida ifudalanadi; yirik koloniyalar – 4 mm dan ortiq, o'trochasi 2 - 4 mm, maydasi 1 – 2 mm va yanada mayda shudringsimonlari . 1mm gacha bo'ladi. 3. *Uchlar* – to'g'ri (S – shakl), g'adir-budir (R – shakl), to'rtinimsimon, popukli, artalishli, jingalak (49-rasm). 4. *Tiniqligi va yaltiroqlik* (tushuyotgan yorug'likda ko'riladi) – tiniq, tiniq emas, loyqa, xira, yaltiroq, fluoressensiyalovchi koloniya. 5. *Rang* – kulrang-oq, rangsiz, oq, qora, sariq, qizil, ko'k, tillarang, yashil va boshqa rangli. Hosil qilgan pigmentning rangiya bog'liq. 6. *Yuzidan ko'rinishi* (o'stirilgan) kulturalar ishlatiladi, chunki eskilarining kultural xususiyatlari (*probe*) – bo'rtiq, yassi, konussimon, tekis, markazi hotiq va h.k. (48-rasm). 7. *Yuzi* – silliq, g'udir-budir, unsimon, qjinsimon, qavat-qavat. 8. *Konsistensiyasi* – zich, ushoqsimon, quruq, yarim suyuq, xamirsimon, shilimshiq, kukansimon, yog'li. 9. *Thick* – bir xil, serola, dovsador, pardali (50-rasm). 10. *Hidi* – yo'q, bor (nima eglatadi?).

### **Biokimyoviy xususiyatlar**

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

*Bakteriyaning serovollitik xususiyatlari* ulami tarkibida har xil uglevodlar, indikatorlari bor differensial – diagnostik oziq muhitga ekib aniqlanadi. Buning uchun kultura Gissa oziq muhiti (tarkibida – glukoza, laktoza, maltoza, saxaroza, manit, dultsi, arahinoza, sorbit

## Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish

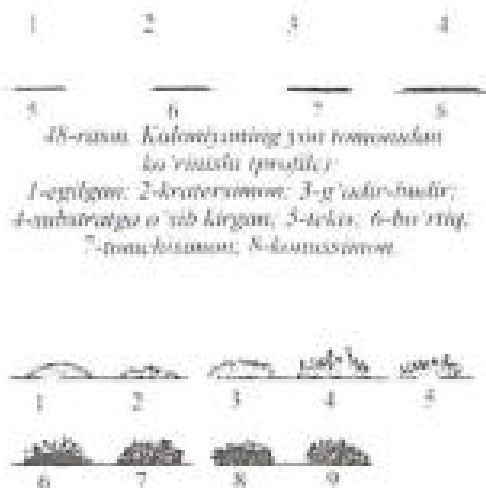


47-rasm. Koloniyalar shakllari;

1-yumaloq; 2-yumaloq chetlari to'liqsimon;  
3-yumaloq chetlari bo'shiqali; 4,5-rixtali;  
6-chetlari rixtali;  
7-amyodanimon; 8-ipsimon; 9-qalqalqan;  
10-noto'g'ri shaklli; 11-koncentrik;  
12-spiralshakl.



51-rasm. Jelatin erishining har xil shakllari.



48-rasm. Koloniyaning yuz tomonidan ko'rinishi (profil);

1-egribog'li; 2-braterimon; 3-g'ildir-buqir;  
4-ambatranga o'rab kirgan; 5-tekis; 6-bu'stiq;  
7-panchimon; 8-konussimon.

49-rasm. Koloniyaning chetlari;

1-silliq; 2-to'liqsimon; 3-tushchali;  
4-parrakli; 5-notekis; 6-kiriksimon;  
7-ipsimon; 8-tukchali; 9-shochlangan.



50-rasm. Koloniyaning tuzilishi;

1-bir zil; 2-mayda dimador; 3-yirik dimador;  
4-qlinimon; 5-surtola.



52-rasm. Najachochi gaz to'planishi;

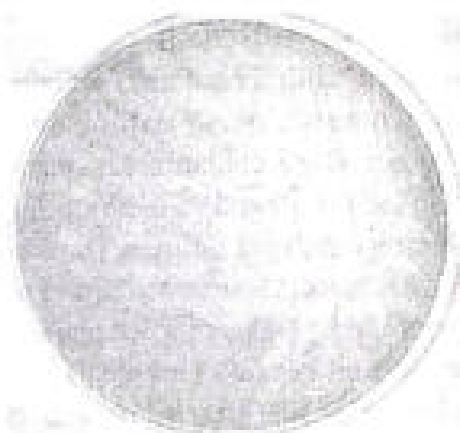
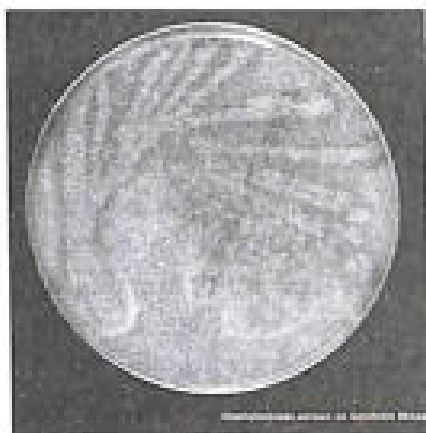
1-gaz hosil bo'lgan;  
2-gaz hosil bo'lmagan.

va h.k. bo'ladi) steril yog'sizlantirilgan sut, lakmusli sut, metilen ko'ki qo'shilgan sutlarga ekiladi. Termostatda o'stirib, uglevodlarni fermentatsiya qilish natijasi hisobga olinadi. Muhit rangi qizaradi – uglevod parchalanib kislotaga va gaz hosil bo'ladi (52-rasm). Bu maqsadda uglevod va indikatorlar qo'shilgan yarim suyultirilgan agar, shuningdek, Endo, Levin, Ploskirev zich oziq muhitlari ishlatiladi.

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

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

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



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

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

#### Nazorat savollari:

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

### Test savollari:

#### 1. Kultura nima?

- a) o'simliklar bargidan ajratilgan mikroblar
- b) bakteriyalar aralashmasi
- c) hayvonlar organizmida uchraydigan bakteriyalar to'plami
- d) hayvon, o'simlik, tashqi muhit substratlaridan oziqa muhitlarda o'stirilgan mikroorganizmlar

#### 2. Koloniya nima?

- a) bir tur bakteriya hujayrasi ko'payishidan hosil bo'lgan mikroblar to'plami
- b) mikroblar aralashmasi
- c) o'sishdan to'xtagan mikroblar to'plami
- d) bir necha xil patnmaterialdan ajratilgan mikroblar.

#### 3. Mikroorganizmlarni identifikatsiyalashda qanday kulturalar ishlatiladi?

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

#### 4. Bakteriyalarning saxarolitik xususiyatlari qanday o'rganiladi?

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

#### 5. Katalazani aniqlashda qaysi reaktiv ishlatiladi?

- a) har xil foizdagi sul'fat kislotasi eritmasi
- b) har xil foizdagi yod eritmasi
- c) har xil foizdagi xlorid kislotasi eritmasi
- d) har xil foizdagi vodorod peroksid eritmasi.

#### 6. Bakteriyaning proteolitik xususiyatlari qanday o'rganiladi?

- a) GPJ ga kulturani tik ekib
- b) suyuq oziq muhitga ekib
- c) vodorod peroksid qo'shib
- d) eritrositlarni kulturaga aralastirib.

#### 7. Gemolitik xususiyatli kultura

- a) gemokulturani o'ldiradi
- b) gemotoksinar hosil qilib, eritrositlarni lizisga uchratadi
- c) eritrosit qobig'ini parchalamaydi bujmaytiradi
- d) 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, mikroob kulturasi (stafilokokk yoki esherixia), pinset, turli xil antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskli flakonlar, Paster pipetkasi, lineyka, avvaldan tayyorlangan ikkita Petri kosachasidagi GPA da antibiotik diskklarini bakteriyalarga ta'siri, tegishli jadvallar, videoproyektor, kompyuter.

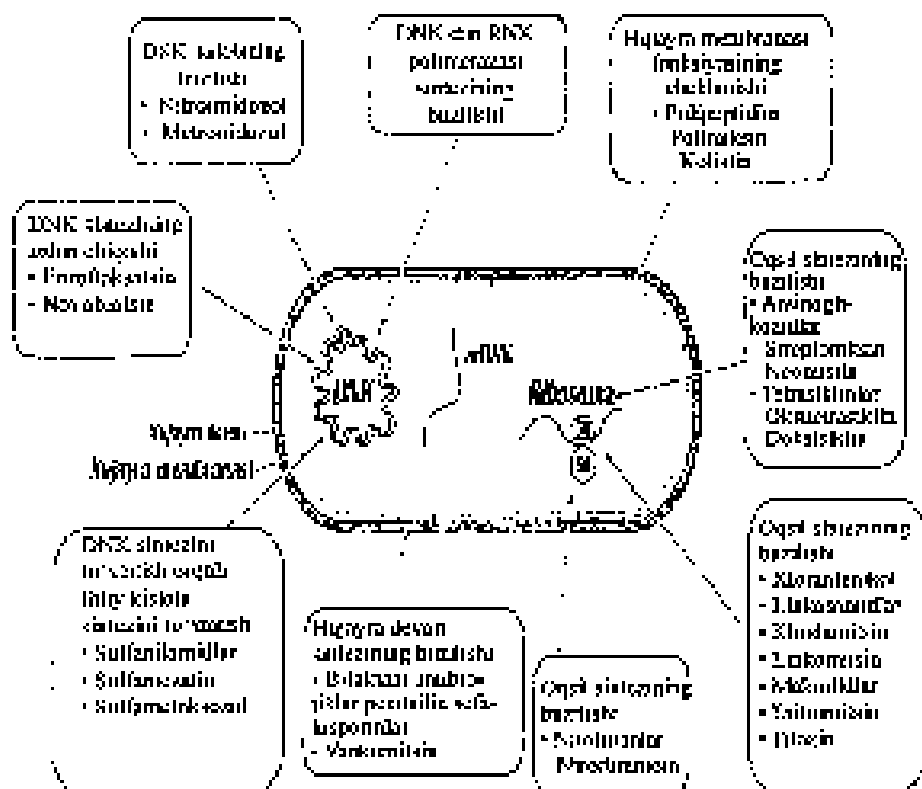
### Uslubiy ko'rsatmalar

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 usulining xulosasini daftarga yozish. O'sishdan to'xtash zonasini o'lash.

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, grammusbut 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'zilar hujayra

DNK, RNK sira, ribosoma, hujayra devoriga ta'sir etsa, hoshqalari oqsil sintezi va h.k larga salbiy ta'sir etadi (54-rasm).<sup>19</sup>



54-rasm. Antibiotiklar preparatlarining hujayraga ta'siri.

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

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

<sup>19</sup>P.L.Quinn, B.R.Morkey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Delhi, India 2016 yp.18.

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

Antibiotikning taʼsir birligi (TB) deb maʼlum hajmdagi oziq muhitda unga sezgir standart test mikrobnı oʻldiradigan eng kam miqdoriga aytiladi. Har bir antibiotikning faolligini aniqlashda oʻziga xos test mikrobnı ishlatiladi: penitsillin uchun – tillarang stafilokokk 209-R, streptomitsin va tetrasiklin uchun – *Boc. Subtilis*, biomitsin, levomitsetin uchun – *E.coli*. Antibiotiklarning biologik faol taʼsir birligi bir xil emas: penitsillinning 1 TB – 0,6 mkg, streptomitsin – 1 mkg, neomitsin – 3,3 mkg sof moddaga ekvivalent. Antibiotikning 1 TB ga ekvivalent ogʻirlik miqdori xalqaro taʼsir birlik (XTB) deyiladi.

Samarali antibiotiklarnı tanlash uchun laboratoriyada ajratilgan sof kulturaning antibiotiklarga sezgirligi aniqlanadi. Mikrobnıng antibiotiklarga sezgirligi ularning eng oz miqdori 16-18 soatda bakteriyalarning oʻsishini toʻxtatishi yoki oʻldirishi bilan aniqlanadi. Buning ikki usuli bor:

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

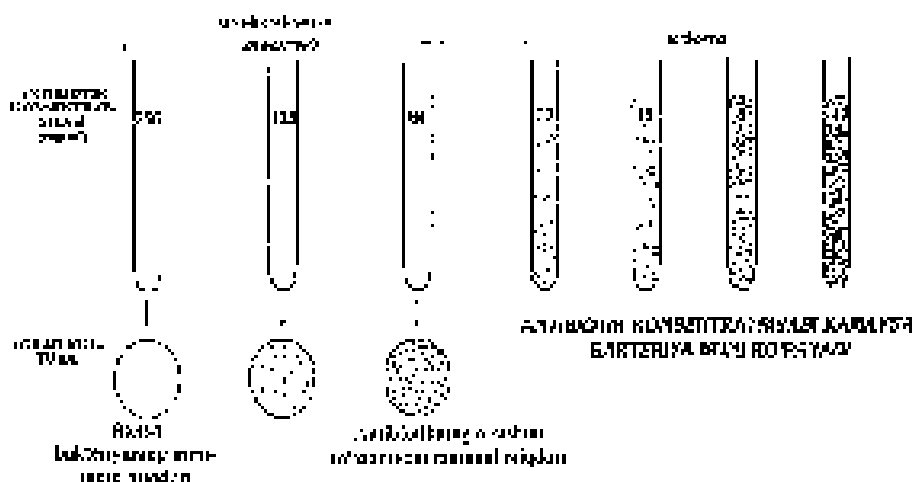
2. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qogʻoz disklar) usuli.

**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 bogʻliq ravishda kulturaning optimal oʻsishini taʼminlashi kerak (pH 7,2 – 7,4). Bir turdagi mikrobnı bitta antibiotikka sezgirligini aniqlashga: 6 ta probirkada 2 ml dan – antibiotikni ketma-ket suyultirish uchun; 2 ta probirkada 9 – 10 ml dan kulturani suyultirish uchun va kolbada antibiotikning ishchi eritmasini tayyorlash uchun oziq muhit (GPB) olinadi. Antibiotiklarning asosiy va ishchi eritmaları ishlatiladi.

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

ishchi eritmalar tayyorlanadi. Albatta mikroorganizmlarning taximiniy sezgirliги inobatga olinadi. Agar u 0.01 – 0.1 mkg/ml bo'lsa, antibiotikning kerakli miqdorini olish uchun probirka va kolbada hajligi 0.5 mkg/ml bo'lgan steril ishchi eritma tayyorlanadi.

Qatordagi 2 ml oziq muhiti bor 6 ta probirkadan birinchisi-ga 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, usridan 19 ml dan (55°C) eritilgan GPA qo'shiladi va sekin chay-qalib aralashtiriladi.

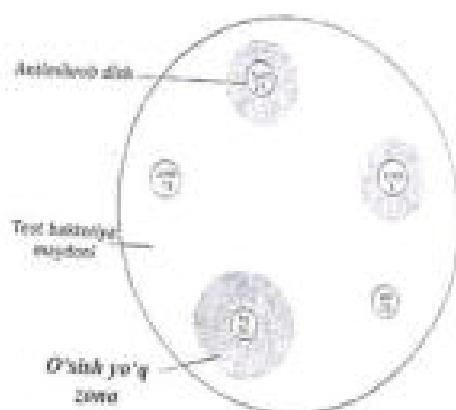


*55-rasm. Suyuq oziq muhitda antibiotikni bir qator suyultirish usulida bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdorini aniqlash.<sup>29</sup>*

<sup>29</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Delhi, India 2016 y.p.28.

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. Termostada 16-18 soat o'stirib, natijasi aniqlanadi: bakteriya o'smagan idishdagi antibiotikning miqdorini, yonidagi bakteriya o'sgan idishdagi antibiotikning miqdoriga qo'shib, ikkiga bo'lganda chiqqan raqam antibiotikning bakteriostatik miqdorini ko'rsatadi. Demak, antibiotikni suyultirish usulida bakteriyani o'sishdan to'xtatuvchi minimal miqdori aniqlanadi (55-rasm).

**2-usul** – laboratoriya amaliyotida ko'pincha agarga diffuzlash usuli qo'llaniladi. U perpendikular shrixlar, agarli qoliplar, standart antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar usullarida bajariladi (56-57-58-rasm).



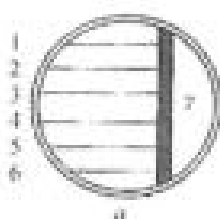
Ajratilgan bakteriyalar agar yuzasida bir xil tarqadi, antimikrob diskarni qo'y gach 37 °C da 18 soat qoldiriladi. O'sish yo'q zonalarining diametri o'lchanadi va bakteriya sezuvchanligini aniqlash uchun o'lchamlar taqqoslanib baholanadi

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

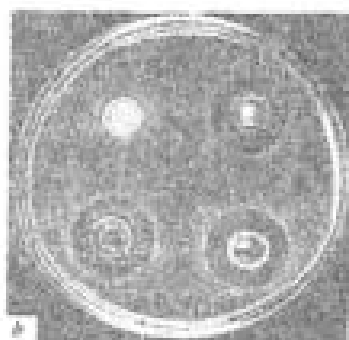
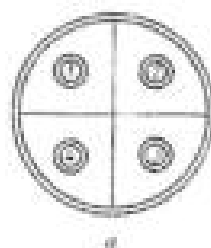
56-rasm. Agarga diffuzlash (antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklar) usulida kulturaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.<sup>21</sup>

<sup>21</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.20.

## Bakteriyalarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash

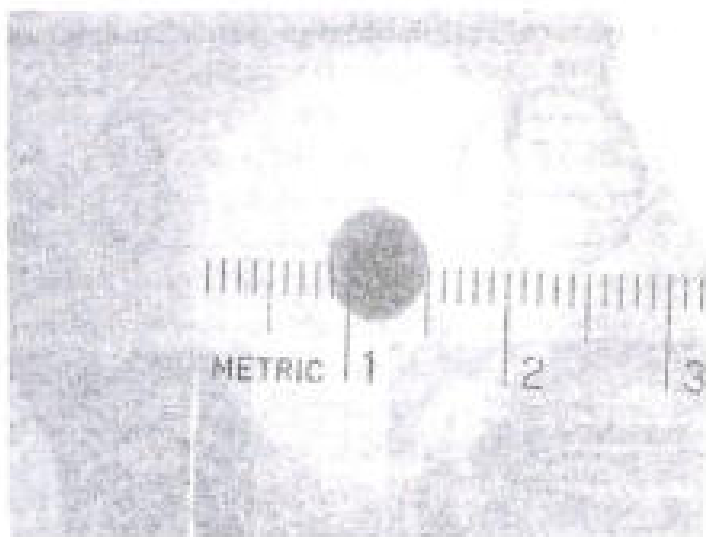


57-rasm. Kulturalarni antibiotiklarga seziluvchanlikni perpendikular shtrixlar usulida aniqlash: a-ekish sxemasi; 1-6 test kultura shtrixlari; 7-antibiotik; b-ularning o'sishi.



58-rasm. Agartli qolliplar usulida antibiotiklarga seziluvchanlikni aniqlash: a-1-4 har xil antibiotiklar; b-kulturaning o'sishdan to'xtash zonasi.

Antibiotikli standart disklar ishlatilganda steril Petri kosachalari-ga 20 ml eritilgan GPA quyiladi. Muhit qotgandan so'ng, 1 ml 1 mil-liardli tekshiriladigan mikroob kulturasi muhit yuzasiga bir tekis surti-ladi. Ortiqchasi pipetka bilan olib tashlanadi. Ekmalar 37°Cda 15 - 40 daqiqa quritiladi. Keyin antibiotiklar shimdirilgan qog'oz disklarni steril pinset bilan kosachalar chetidan va bir-biridan 2 sm masofada o'rnatib, ustidan sekin bosiladi. Kosachaning markaziga ham bir dona disk o'rnatiladi. Har bir diskni o'rnatgandan keyin pinsetni alangada sterillash lozim. Kosachalar uy haroratida 2-3 soat, keyin 16-18 soat termostatda saqlanib, natijasi diskka qo'shib aniqlanadi; uning atrofi-da mikroblar o'smagan hududning diametri lineyka bilan o'lchanib, mm larda ifodalanadi (59-rasm).



59-rasm. Mikroorganizmlarni antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash natijasini baholash.<sup>22</sup>

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

#### Nazorat savollari:

1. Antibiotiklar nima?
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.

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

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
- c) bakteriya, aktinomiset, moq'or, lishaynik, hayvonlar va o'simliklar hayot faoliyati mahsuloti.

d) bakteriya, zamburug'lardan olinadigan vitamin, fermentlar.

2. Antibiotiklar mikroblarga qanday ta'sir qiladi?

- a) mikroblarning shaklini o'zgartiradi
- b) bakteriosutik, bakterisid ta'sir etadi
- c) suvini o'churatadi
- d) bakteriyalarni rivojlanishdan to'xtatadi, o'ldiradi.

3. Antibiotiklarning biologik faolligi nima bilan belgilanadi?

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

4. Penitsillinning faolligini aniqlashda qaysi termikroblar ishlatiladi?

- a) Hac. subtilis
- b) tilla rang stafilokokk 209-K
- c) E. coli
- d) sahmoqella.

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

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

## II-MAVZU.

### ATROF-MUHIT OBYEKTLARINI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH USULLARI

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

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

Mikrob bilan zararlantirish tekshirilayotgan obyektning ma'lum hajm va massa birligidagi (1 sm<sup>3</sup> suv, 1 g tuproq, 1 m<sup>3</sup> havo)

mikroorganizmlarning umumiy miqdori – ya'ni mikroblar soni hika ifodalanadi. Ulardagi sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar litr va indekslarda baholanadi. Ushbu bakteriyalar topilgan minimal hajm yoki massa litr deb uytiladi. 1 litr suyuqlik, 1kg tuproq, 1 m<sup>3</sup> havodagi sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar soniga indeks deb ataladi.<sup>23</sup>

Sanitar ko'rsatkich hisoblangan ichak tayyoqchalari guruhlari bakteriyalari enterobakteriya oilasining turli avlodlariga mansub.

**Suvni sanitar bakteriologicalik tekshirish uchun namuna olish.** *Uchliq suv havzalardan* suv namunalari yuzadan 10-15sm chuqurlikda va tubidan 10-15 sm yuqori masofada olinadi. *Suv quvuridan* namuna olish uchun avval uning jo'mragini ochib, suv 10-15 daqiqa sharillatib oqiziladi, keyin suv bekitiladi. Jo'mragi ochini ulangada kuydirib, so'ngi suv 0,5 litrli flakonlarga olinadi. Suv havzasining tubidan namuna batomeu bilan olinadi. Quduqdan suv namunalari eralab undan foydalanishdan oldin va quduqlar suv olinish to'xtatilgandan 10-12 soatdan keyin olinadi. Suv namunalari steril idishga olingandan so'ng tezda tiqilari bilan zich yopiladi.

Xlorlangan suvni tekshirishdan avval Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (natriy gidrosulfit) bilan 1 litr suvga 10 ml hisobidan qo'shib neytrallash kerak.

Namuna olinganda bakteriologicalik tekshirishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan ko'p bo'lmashligi lozim (1-1,5°C haroratda 6 soatgacha suqlash mumkin).

**Suvda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash.** Suv quvuridan olingan suv namunasi 1 ml hajmda, uchliq suv havzalardan olinganlari esa – 1,0; 0,1; 0,01 ml hajmlarda olinadi. 0,1 va 0,01 ml suvni ekish uchun tekshirilayotgan suv suyultiriladi. Buning uchun probirkadagi 9 ml steril suvga 1 ml suv namunasi pipetkani suv sathidan 3 mm pastga tushirib qo'shiladi. Boshqa steril pipetka bilan putlab aralashtiriladi va undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0,1 ml suv namunasi olingan bo'ladi). Birinchi probirkadan 1 ml

<sup>23</sup>Желенко В.Н. Практикум по петрицарской микробиологии и иммунологии. М.: КолосС, 2015.с.97

olib, ikkinchi probirkadagi 9 ml steril suvga qo'shiladi. Undan 1 ml olib Petri kosachasiga solinadi (0.01 ml suv namunasi olingan bo'ldi). Petri kosachalaridagi barcha namunalar ustiga 10-12 mldan eritib 45-50°C cha sovutilgan GPA quyib, aylanma harakat bilan yaxshi aralashtiriladi. GPA qotgach Petri kosachalarini to'ng'ak, ekmalarni 37°Cda 1-2 sutka o'stiriladi. Ochiq havzalardan olingan namunalar ikkitadan Petri kosachalariga ekiladi. Bir qatori 37°Cda bir sutka, qolganlari 20°Cda 2 sutka o'stiriladi. Keyin ularning yuzasida va ichkarida o'sgan koloniyalar sanaladi hamda suvdagi mikroblarning umumiy soni – ya'ni 1 ml suvdagi mikroorganizmlar soni hisoblanadi.

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

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

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

Ochiq suv havzalari namunalari 100, 10, 1 va 0,1 ml hajmda tekshiriladi. Suv quvuridan olingan suv namunalari tekshirish uchun 3 ta 100 mldan, 3 ta 10 ml va 3 ta 1 ml hajmdan ekiladi. Ekmalar bir sutka 37 °Cda o'stiriladi. Naychada gaz pufakchalarining borligi bi-jig'ishdan dalolat beradi. Bijg'igan yoki loyqalangan namunalardan sirtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi va oksidaza testi qo'yila-

<sup>24</sup>Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: КолосС, 2005.с.99.

di. Oksidaza testi *Escherichia*, *Citrobacter* va *Enterobacter* uyloqlariga mansub bakteriyalarni suvda uchraydigan *Pseudomonadocae* oilasiga mansub grammanfiy bakteriyalardan hamda boshqa oksidaza bo'sil qiluvchi bakteriyalardan farqlashga imkon beradi. Buning uchun shisha tayoqchela bilan 2-3 ta koloniya oziq muhit yuzasidan olinadi va dimetil - n - fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga shoxlar shaklida o'tkaziladi. Oksidaza testi manfiy bo'lsa qog'oz rangi o'zgarmaydi, musbat bo'lsa, o'z bir daqiqa ichida ko'k rangga bo'yaladi.

Oksidaza hosil qilmaydigan grammanfiy tayoqchalar, qayta bi-jg'ish testidan tekshiriladi - 0,5 %li glyukozali yarimsuyuq go'shit peptunli agarga ekiladi, 37° C da 1 sutka o'stiriladi. Natija musbat bo'lsa koli-titri va koli-indeksi statistik jadvall bo'yicha aniqlanadi (1-jadval).

1-jadval

*Suvda ichruk tayoqchasi indeksini aniqlash*

Uch hajmda musbat natijalar soni			Koli-indeksi	Indeks chegarasi		Koli-titr
100 ml dan	10 ml dan	1 ml dan		Pnc	Yuqori	
0	0	0	3 dan kam	-	-	333 dan ko'p
0	0	1	3	0,5	9	333
0	1	0	3	0,5	13	333
1	0	0	4	0,5	30	250
1	0	1	7	1	21	143
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
3	3	2	1100	150	4800	0,9
3	3	3	1100 dan ko'p	-	-	0,9 dan kam

Suv quvurlarining suvi uchun koli - titr 333dan, ochiq suv havzalari uchun 111 ml dan kam bo'lmashligi kerak.

*Membranali filtrlar usuli.* Zeyin vazonasiga NG membranali filtr

qo'yiladi, u Bunzen kolbasiga o'rnatilib, vakuum – nasosga ulanadi. Membranali filtrlar distillangan suvda qaynatib, sterillangan bo'lishi kerak.

Suv quvurlari va artezian suv namunalari 333 ml hajmda filtrlanadi. Ochiq suv havzasidan olingan toza suv namunasi 100, 10, 1.0 va 0,1 ml hajmda filtrlanadi. Nisbatan iflosroq suv namunasini filtrlashdan avval steril suv bilan suyultirish kerak. Keyin filtrni Petri kosachasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi va 37° Cda 1 sutka o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar sanaladi.

2 – 3 ta qizil rangli koloniyalardan surtmalar tayyorlab Gram usulida bo'yaladi, oksidaza testi qo'yiladi. Buning uchun filtrdagi bakteriya koloniyalarini pinset bilan dimetil – n – fenilendiamin bilan namlangan filtr qog'ozga o'tkazish lozim. Oksidaza bor bo'lsa indikator koloniyani ko'k rangga bo'yaydi. Rangi o'zgarmagan 2-3 ta koloniya 0,5% glyukozali yarimsuyuq agarga ekiladi. Ekmalar 37°Cda bir sutka o'stiriladi. Gaz hosil bo'lsa, filtrdagi qizil koloniyalarni sanab, koli-indeksi aniqlanadi.

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

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

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

**Sedimentasion usul.** Go'sht peptonli agar solingan ikkita Petri kosachani ochib xonada 5-10 daqiqa davomida qoldiriladi, keyin ekmalar termostatda 37°Cda o'stiriladi. Ikkala kosachada o'sib chiqqan koloniyalarning soni yig'indisi bo'yicha natija baholanadi: 250dan



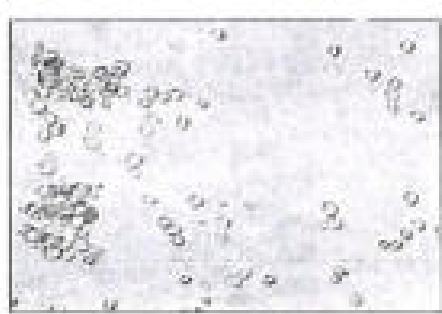
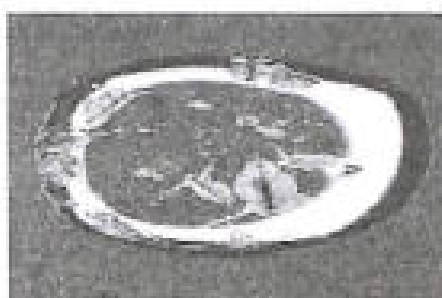
dan o'tkazilib, keyin oziq muhitlariga o'lovli ekishlar qilinadi). Bu uskunalarda katta hajmli havolarni tekshirish hamda patogen bakteriya va viruslarni aniqlash mumkin. Mikrobiologik bokslar, jarrohlik, akusher-ginekologik va boshqa xonalar havosi unda patogen, shartli-patogen bakteriyalar-infeksiya qo'zg'atuvchilarini (stafilokokklar, ko'k yiring tayoqchalar va boshqa grammanfiy bakteriyalar) aniqlash maqsadida tekshiriladi.

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

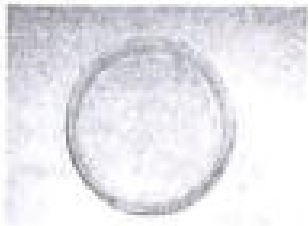
Tuproqni tekshirish uchun steril pichoq bilan 10-15 sm chuqurlikdan olib (tekshirilayotgan hududning har xil joyidan 10 ta namunadan kam bo'lmashligi kerak), steril bankaga solinadi. Namunalardan 30g o'lehab, kolbadagi survga (270 ml) solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. Ushbu suspenziyadan  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$  suyultirmalar tayyorlanadi. Oxirgi ikkitasidan 0,1 ml olib 40ml 0,7%li eritilgan va  $45^{\circ}\text{C}$  gacha sovutilgan go'sht peptonli agar bilan aralashtiriladi. Keyin Petri kosachadagi 2%li GPA ustiga quyiladi. Ekmalar  $37^{\circ}\text{C}$ da o'stiriladi. So'ngra o'sib chiqqan koloniyalar sonini hisoblab, mikroblar soni aniqlanadi.

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

Tuproq suspenziyasining har xil suyultirmalarini probirkalardagi Keyssler muhitiga ekiladi va  $43^{\circ}\text{C}$  da 48 soat davomida o'stiriladi. Keyin tahlil suvning koli-titrini aniqlaganda qo'llangan sxema bo'yicha davom ettiriladi. Perfringens-titrini aniqlash uchun tuproq suspenziyasining har xil suyultirilmalarini (1 ml) probirkalarda steril yog'sizlantirilgan sut yoki extempore tayyorlangan temirsulfidli Vilson-Bler muhitiga ekiladi.

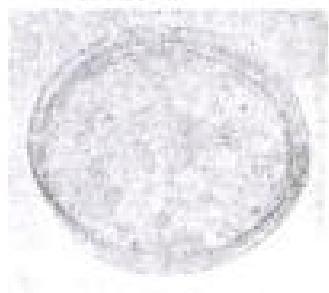


*60-rasm. Savdan olingan namunani tekshirish natijasi.*



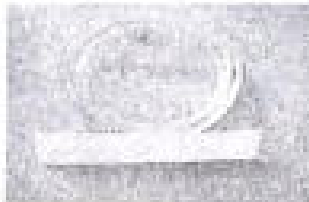
II-xona

12-xona



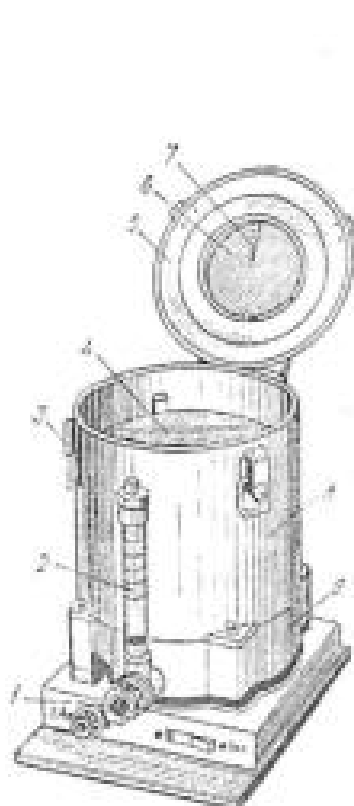
Oshxona

Garderob



61-rasm. Cho'ktirish (sedimentatsiya) usulida havodan namuna olish va tekshirish natijasi.

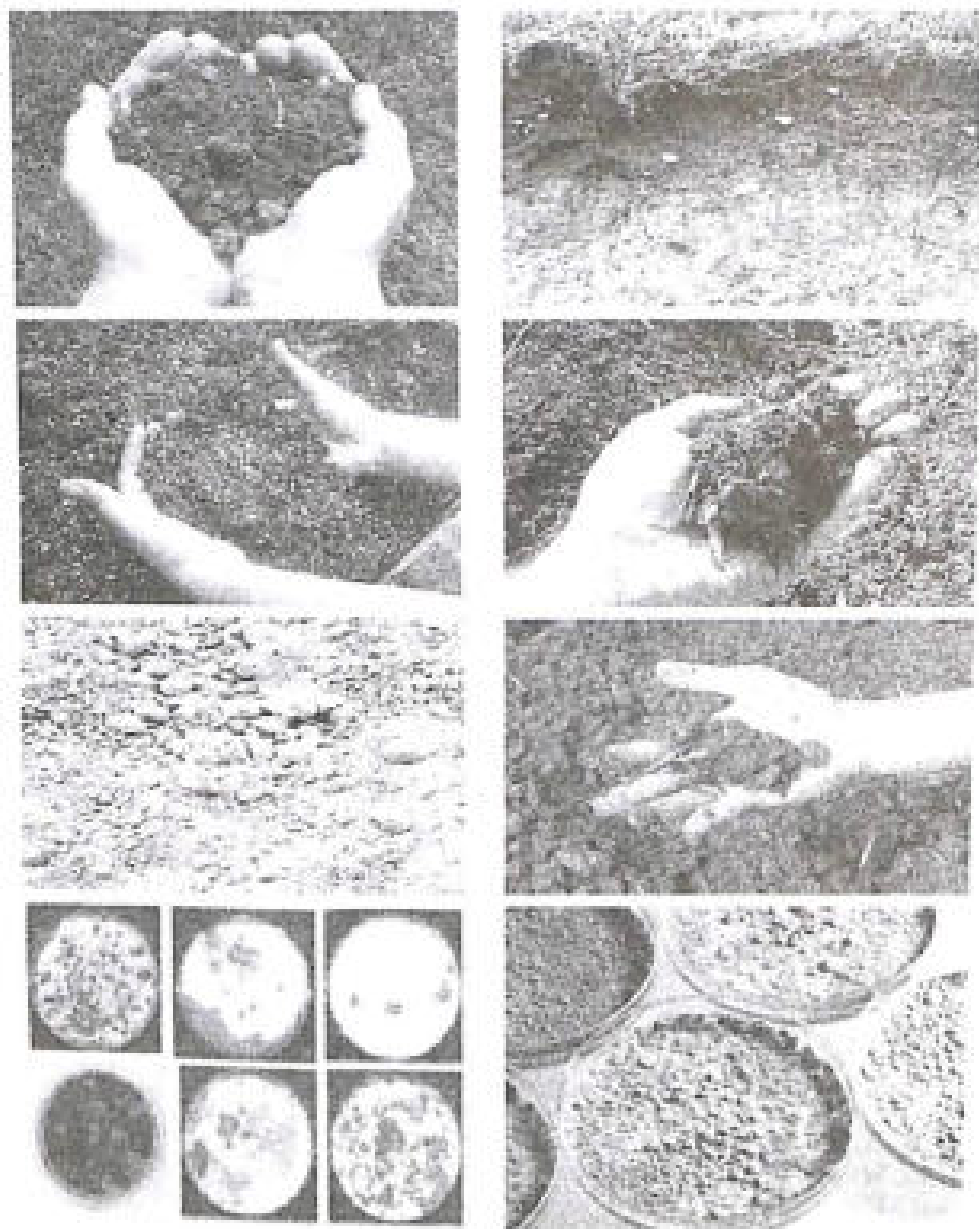
## HAVO MIKROFLORASINI TEKSHIRISH



MIKEL  
NAYCHASI

62-rasm. Krotov apparatining tuzilishi

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



*63-rasm. Har xil tiproqlardan olingan namunalarni tekshirish natijasi.*

Ekmalur 43°C da 24-48 soat davomida o'stiriladi va natijasi sutning ivishi yoki Vilson-Bler muhitiga Clostridium perfringensning qora koloniyalari hosil bo'lishi bilan hisobga olinadi. Koloniyalardan surtmalar tayyorlanib, Gramm usulida boyaladi, mikroskopda ko'rib, perfringens titri aniqlanadi.

Termodil bakteriyalarining titrni aniqlash uchun tuproq suspenziyalarining sayvutirilmalaridan (3ml) Petri kosuchasiga quyib, ustiga eritib, sovutilgan go'sht peptonli agar quyiladi. Ekmalur 60°C da sutka davomida o'stiriladi va koloniyalar sonini sanab, 1 g tuproqdagi miqdori hisoblanadi. Tuproq kompleks ko'rsatkichlar, bo'yicha sanitar-mikrobiologik baholanadi. Ular ichida najas bilan zararlantirish darajasi nihoyatda muhim hisoblanadi.

Oziq-ovqat tarkibi. Keyxalar mahiti: 1% pepton, 5% o't suyuqligi, 0.25% laktosa, gensial binafsha (grammusbat bakteriyalarini o'stirishdan to'xtatish uchun). Temirsulfidli Vilson-Bler mahiti: 3% go'sht peptonli agar, 1% glyukoza, 2% natriy sulfid, 0.08% temir xlorid.

#### Nazorat savollari:

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

#### Test savollari:

1. **Atrof-muhit obyektlarini mikrobiologik tekshirishda sanitar ko'rsatkichli bakteriyalar qanday ifodalanadi?**  
a) titr va indekslarda

- b) litr va titrlarda
- c) indeks va millilitrlarda
- d) hajm va titrlarda.

**2. Qaysi tur bakteriya sanitar ko'rsatkich hisoblanadi?**

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

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

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

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

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

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

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

**6. Havoni miqdoriy mikrobiologik tekshirish usullari qaysi?**

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

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

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

8. Sedimentasion usulda tekshirilganda koloniyalar suni qochra bo'lganda havo toza hisoblanadi?

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

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

- a) sedimentasion
- b) aerozelli
- c) miqobiy
- d) aspirasion.

10. Tuproqning sanitar-mikrobiologik tahlilida nimular aniqlanadi?

- a) mikroblar soni, kolitini, perfringens-titr va termofil bakteriyalar titri
- b) kolitini, zambarug-tu va putay titri
- c) perfringens-titr, achitqi titri, spiroxetalar
- d) termofil bakteriyalar titri, aktinomitset, spirillalar titri.

11. Tuproq suspenziyalari suyuq tirmalar qaysi oziq muhitga ekidiladi?

- a) Endo
- b) Keyssler
- c) GFA
- d) Levin.

12. Perfringens-titrni aniqlash uchun tuproq suspenziyalari suyuq tirmalar qaysi oziq muhitga ekidiladi?

- a) glitserinali GFA, GPB
- b) qun zartlobli GPD, glyukozali GFA
- c) steril yog'sizlanatilgan sut, temirsulfidli Wilson-Jeter muhitiga
- d) Kitt turussii, qoqli agar.

13. Tuproq sanitar-mikrobiologik baholashganda nima ulloqatda muhim hisoblanadi?

- a) biologik chiqindilar ko'pligi bilan
- b) hayvon va o'simliklar qoldig'i
- c) kinyuviy ishlab chiqarish chiqindilari
- d) najas bilan zararlanish darajasi.

## 12-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, videoprojektor, 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 mikroob kulturasiining patogenligini sinash, vaktsinalarning, immun zardoblarning samaradorligini aniqlash.

Sof kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlashga «biosinova» deyiladi. Biopreparatlarni baholashda ularning zararsizligi ham biosinovda aniqlanadi. Ammo hayvonni zararlash uchun ishlatilayotgan mikroobning miqdoriy xususiyatlarini aniqlash muhim. Mikroobning virulentlik (toksigenlik) xususiyatlari maxsus shartli birliklarda o'lchanadi: absolyut letal doza ( $D_{cl}$  – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %li letal doza ( $LD_{50}$ ) – 50 % zararlangan hayvonlarni o'ldiradi; 50 %li zararlavchi doza ( $ZD_{50}$ ) – zararlangan hayvonlarni 50 % kasallanadi.  $LD_{50}$  va  $ZD_{50}$  – aniq ko'rsatkichlar hisoblanadi, chunki ular tajribaga olingan hayvonlarni ko'p qismini mikroobga sezuvchan-

ligini ko'rsatadi. Del esa chidamli mikroblar miqdorini sezuvchanligini ko'rsatadi.

Teleshtirilayotgan mikroblar kulturasining  $LD_{50}$  ko'rsatkichi quyidagicha aniqlanadi. 1 ml da 1 milliard mikroblar tujay rasi bo'lgan suspenziyadan ketma-ket 500 ml, 250 ml, 125 ml, 62.5 ml li suyultirmalar tayyorlanadi. Har biri bilan 6 ta dan oq sichqon qorin bo'shlig'i yoki terisi ostiga 0.5 ml dozada zararlanadi. 10 kun davomida kuzatiladi. Odatda qorin quturuvchining hech qaysi dozasi zararlangan hayvonlarni 50% ni o'ldirmaydi. Shuning uchun  $LD_{50}$  statistik usulda aniqlanadi.

*Rid va Murch usulida  $LD_{50}$  ni aniqlash.*

3-jadval

*Rid va Murch usulida  $LD_{50}$  ni hisoblash*

Bakteriya suspenziyasi miqdori	Zararlangan sichqonlar soni	Haqiqiy ma'lumotlar		Kumulyativ ma'lumotlar			
		o'ldi	tirik	o'ldi	tirik	O'lganlarini Zararlanganlariga nisbati	o'lim %
1	2	3	4	5	6	7	8
$10^{-1}$	6	6	0	14	0	14:14	100
$10^{-2}$	6	5	1	8	1	8:9	88,8
$10^{-3}$	6	2	4	3	5	3:8	37,5
$10^{-4}$	6	1	5	1	10	1:11	9
$10^{-5}$	6	0	6	0	16	0:16	0

Jadvalda ko'rsatilgan tajriba natijasining haqiqiy raqamlari 3-4, kumulyativ ma'lumotlar esa 5-6 ustunlarda berilgan.  $10^{-2}$  qatoridagi 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 lagorifmiga ko'paytiriladi (faktor=10, lg=1). U 1 ga teng. Uni  $10^4$  dan ayirsak  $LD_{50}$  kelib chiqadi.

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

Demak,  $LD_{50} = 10^{-3,756}$ . Shu ko'rsatkichga to'g'ri keladigan bakteriya suspenziyasini suyultirish darajasini topish uchun lagorifmik jadvaldan foydalaniladi. Antilogarifm va izlanayotgan suyultirish 1:5747 ni tashkil etadi. Sichqonlarni zararlash uchun  $10^9$ /ml bakteriya suspenziyasi 0,5 ml hajmda olingan, bundan kelib chiqqan holda,  $LD_{50} = 10^9 \times 0,5 : 5747 = 87000$  mikroob 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 ehtiyot alohida ajratilgan karantin, sog'lom va zararlangan hayvonlar uchun bo'limlar bo'ladi. Zararlangan hayvonlar ular uchun ajratilgan alohida xonada saqlanadi. Yangi keltirilgan laboratoriya hayvonlarini veterinariya ko'rigidan o'tkazib, oq sichqonlar 10 kun, kalamush, dengiz cho'chqalari va quyonlar 21 kun karantinda saqlanadi. Vivariya kerakli aqjora, laboratoriya idishlari, taqoz, teridometrlar, hayvonlardan qon olish, zararlash, yorish va h.k. har uchun asbob-uskunalar bilan jihozlanishi, sovuq kunlarda vivariyada harorat 12-20°C bo'lishi kerak. Hayvonlar maxsus kataklarda saqlanadi, maxsus ratsion bilan oziqlantiriladi.

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

Hayvonlarning zararlanadigan joyi oq sichqondan tashqari jundun tozalanadi: spirt, 5% yod eritmasi, 2% karbol eritmasi bilan dezinfeksiyalanadi. Laboratoriya hayvonlarini zarurlash uchun mikroob kulturasi, uning toksini yoki patmaterial suspenziyasi qo'llanadi. Patmaterialdan suspenziya steril hevonchada 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 orusiga – chap qo'l bilan teri tortiladi igna terining ichigini kirgiziladi, 0,2 ml gacha material yuboriladi. To'g'ri zararlangan yerda mayda nu'xatday shish hosil bo'ladi.

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

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

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

6. Qon tomiriga – quyonlarning quloq venasiga (65-rasm), oq sichqon va kalamushning dum venasiga (64-rasm), dengiz cho'chqasining to'g'ridan-to'g'ri yuragiga zararlantiradi. Quyon, sichqon, kalamushlarni yuboriladigan yeri issiq suv yoki ksilol bilan ishlav beriladi. Shunda venalar qonga to'lib yaxshi ko'rinadi.

7. Bosh miyaga – quyonlarning ko'z ustidagi suyagi bitmagan joyiga (69-rasm), sichqonga esa shprits ignasi bilan miya suyagini teshib 0,2 ml yuboriladi (68-rasm).

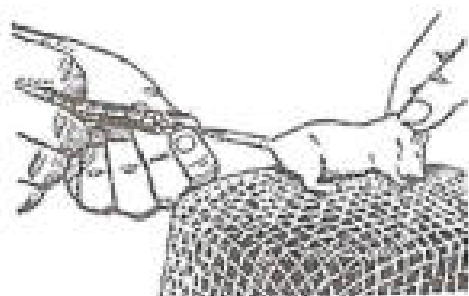
8. Burunga – oldin hayvonning burniga efir bilan namlangan paxta tutib narkozlanadi, keyin pipetka bilan material burniga tomdiriladi.

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

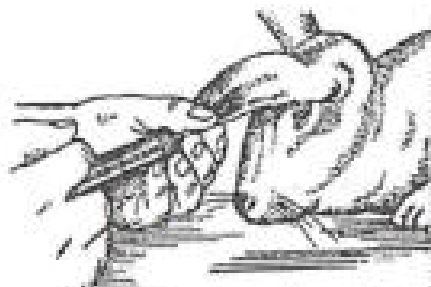
10. Ko'z konyunktivasiga zararlantirish faqat yirik hayvonlar: it, quyon, dengiz cho'chqalarida o'tkaziladi. Ko'z qovoqlarini ushlab, material ko'zning ichki burchagiga 1-2 tomchi tomdiriladi.

Ba'zan ajratilgan kulturaning patogenligini, virulentligini o'rganishda zararlantirishning ikkita usuli birgalikda qo'llaniladi. Masalan, pasterella kulturasi suspenziyasini oq sichqonlarning qorin bo'shlig'iga

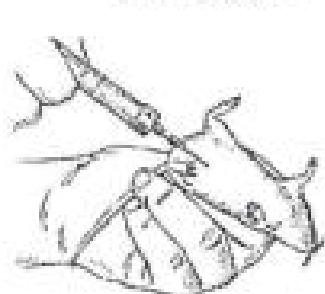
## Laboratoriya hayvonlarini zararlash



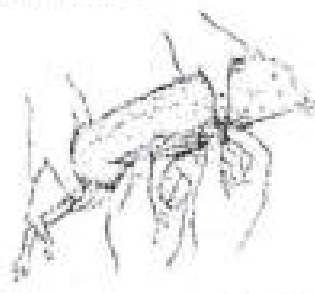
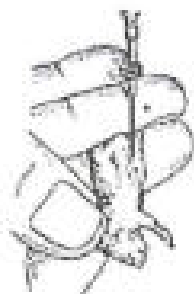
64-rasm. Sichqonning venasidan zararlantishi.



65-rasm. Quyvonning quloq venasidan zararlantish.



66-rasm. Qarin bo'shlig'iga zararlantish.  
a-katta, b-yosh sichqonga.



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



68-rasm. Sichqonning miyasiga zararlantish.



69-rasm. Quyvonning miyasiga zararlantish.

yoki terisi ostiga va qorin bo'shlig'iga yuborish usulida zararlash tavsiya etilgan.<sup>26</sup>

#### Nazorat savollari:

1. Hayvonlarni zararlab, biosinov qo'yishdan maqsad nima?
2. Mikroorganizmlarning virulentligi qanday shartli belgilanadi?
3. Rid va Mench usulida LD<sub>50</sub> ni aniqlash.
4. Laboratoriya hayvonlarning turlari va ularni zararlash usullarini ayting?
5. Laboratoriya hayvonlari qanday materiallar bilan zararlantiriladi?
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 mikrobg'a chidamliligini aniqlash
- c) biosinov qo'yish, biopreparatlar sifatini aniqlash
- d) patmateriyaldan qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratish, kulturaning patogenligini sinash, vakcina, immun zardoblar samaradorligini aniqlash.

##### 2. Mikrobnng virulentlik xususiyatlari qanday birlikda o'lchana-di?

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

<sup>26</sup>Ruzikulova U.X. "Kavshovchi hayvonlarda pasterelloz kasalligiga qarshi kurashish usulini takomillashtirish" mavzusidagi Magistr akademik darajisini olish uchun yozilgan dissertatsiya ishi. Samarqand, 2014-y.

- c) LD 50, 119.
- d) ZD 50, 119.

3. Teri orasiga zararlashda nechta ml material yuboriladi?

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

4. Qoria ho'shlig'iga zararlashda hayvon qanday fikslatsiyulmadil?

- a) belini yengil ucqaga qayirib
- b) gorizontal holda
- c) boshini pastga qaratib
- d) quloq'ni va belini ushlab gorizontal qo'yiladi.

5. Burnung zararlash usuli qanday bajariladi?

- a) avval burnini tozalab, material tondiriladi va pasta bilan yengil yopiladi
- b) pipetka bilan material tondirib, burni qisib turiladi
- c) pipetka bilan material tondirib, 5 soniya qimirlanmay ushlab turiladi
- d) avval markuz berib, keyin pipetka bilan material tondiriladi.

### 13-MAVZU. JASADNI BAKTERIOLOGIK TEKSHIRISH USULI. PATOLOGIK MATERIALNI OLISH VA LABORATORIYAGA YO'LLASH USULLARI

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

Diagnostik tekshirishda mikrobnig sof kulturasini ajratish, sof kultura bilan zararlangan hayvon, aynan shundan o'lganini tasdiqlash uchun jasad yoriladi, patologoanatomik o'zgarishlari o'rganiladi, bakteriologik tekshiriladi. O'lgan hayvon jasadi darhol yoki 2-3 soatda yorib ko'riladi. Bunda shaxsiy profilaktika, aseptika qoidalariga rioya qilinadi. Mikrobnig atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblari bilan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (70-rasm), terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinset bilan qalqonsimon o'simta ushlanib, mushak, ikkala

tomon qovurg'alarini yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'kruk qafasi ochiladi. Oq sichoqning jigar va taloqi alohida steril Petri kosuchasiga olinadi. Undagi o'zgarishlar e'tiborga olinadi jigar, taloq va yurak, o'pka, buyrak sirini qizigan shpatelda kuydirib, probirkali GPA, GPB larga ekiladi, surtomalar tayyorlanadi. Ekmalni probirkalarga, surtomalarga ekspertiza, organ raqamlari, sanasi yoziladi. Yurakdan steril paster pipetka bilan avval GPB, keyin GPAga ekiladi.

Xuddi shunday qarin boshlig'ini yaxshi ochish uchun qarin devorining chekkalari qaytarilib igra bilan mahkamlanadi. Qarin boshlig'i organlaridagi o'zgarishlar ham e'tiborga olinadi. Parenximatuz organlar, limfa tugunlardan, ilikdan oziq muhitlarga ekib, surtomalar tayyorlanadi. Ekilgan oziq muhitlar termostatga qo'yiladi, preparatlarni bo'yab, mikroskopda ko'riladi.

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

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

**Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash.** Infeksiyon kasallikka guman qilinganda veterinar kerakli patologik materialni tekshirish uchun veterinariya laboratoriyasiga yo'llaydi. Material kasal, majburiy sot'yilgan yoki o'lgan hayvonlardan olinadi. Lekin barcha hollarda antimikrobi preparatlar bilan davolanmagan hayvonlardan olingan material. Bakteriologik tekshirish uchun material sifatida mayda hayvonlar va parrasdalarning jasadlari, yirik hayvonlardan taloq, jigar (o't xaltasi bilan), buyrak to'qimalari, mushak, yurak (buntunligicha), limfa tugunlar, qon (bakteriologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probirkaladan fibrinlanmagan qon; serologik tekshirish uchun iyyan qon), oshqozundagi massa, yiring, balg'am, sut

**13-MAVZU.**  
**JASADNI BAKTERIOLOGIK TEKSHIRISH USULLARI**  
**PATOLOGIK**  
**MATERIALNI OLISH VA LABORATORIYAGA**  
**YO'LLASH USULLARI**

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

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

**Uslubiy ko'rsatmalar**

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

Diagnostik tekshirishda mikrobnning 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. Mikrobnni atrof-muhitga tarqalishining oldi olinadi. Tajribadagi mayda laboratoriya hayvonlarining jasadi maxsus taxtachaga orqasi bilan yotqizib ignalar bilan fiksatsiyalanadi. Kesiladigan joyi 5% li fenol bilan dezinfeksiyalanadi, steril asboblardan oq chiziq bo'ylab uzunasiga va ko'ndalang kesib (70-rasm), terisi mushagidan ajratiladi. Teri osti to'qimasi tekshiriladi. Keyin qorin devorini kesib, qorin va ko'krak bo'shliqlari ochiladi. Bunda pinset bilan qalqonsimon o'simta ushlanib, mushak, ikkala

tomon qovurg'alarini yarmidan kesib, olib tashlanadi va ko'krak qafasi ochiladi. Oq sihqonning 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 nuqamlari, 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, asboblari sterilanadi. Biosinovdagi hayvon saqlangan qafas dezinfeksiyalanib, qolgan yem-xashak, chiqindilar kuydiriladi.

Tabiiy moyil hayvonlarning jasadi ham xuddi shunday tekshiriladi.

**Patologik material olish va laboratoriyaga yo'llash.** Infektsion kasallikka gumon qilinganda veterinch kerakli patologik materialni tekshirish uchun veterinariya laboratoriyasiga yo'llaydi. Material kasal, majburiy so'yilgan yoki o'lgan hayvonlardan olinadi. Lekin barcha hollarda antimikrobl preparatlar bilan davolanmagan hayvonlardan olgan ma'qul. Bakteriologik tekshirish uchun material sifatida mayda hayvonlar va parrandalarning jasdlari, yirik hayvonlardan taloq, jigar (o't xaltasi bilan), buyrak to'qimalari, mushak, yurak (butunligicha), limfa tugunlar, qon (bakteriologik tekshirish uchun 15 ml rezina tiqin bilan yopilgan probirkalarda fibrinsizlangan qon; serologik tekshirish uchun ivigan qon), oshqozondagi massa, yiring, balg'am, sut,

siydik, tashlangan homila, bosh miya, ichak qismchasi ikki tomoni boylangan holda, ilik suyagi, gumon qilingan oziqa namunasi, qondan tayyorlangan surtmalar va tung'ali preparatlar yo'llanadi.

*Patologik materialni yo'llashda quyidagi qoidalarga rioya qilish kerak:*

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

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

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

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

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

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

Laboratoriyada konservatsiya qilinmagan materialni 4°C da 1-2 sutka, 50% li glitserinda konservatsiyalanganini bir necha hafta

saqlash mumkin. Uzoq saqlash uchun material  $-15-20^{\circ}\text{C}$ 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 parenximatuz organlari olinadi
  - c) yoriladi va patanatomik tekshiriladi
  - d) yoriladi, tashqi va ichki o'zgarishlari o'rganiladi, dalolatnoma tuziladi.

**2. Jasadni yorishda nimalarga rioya qilinadi?**

- a) shaxsiy gigiena, mehnat muhofazasiga
- b) shaxsiy profilaktika aseptika qoidalariga, atrofda tarqalishini oldi olindi
- c) aseptika, antiseptika qoidalariga
- d) tashqaridan mikrobtushmaslik va tarqalmasslik qoidalariga.

**3. Bakteriologik tekshirish qanday bajariladi?**

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

**4. Patmaterialni laboratoriyaga yo'llashda qanday hujjat rasmiylashtiriladi?**

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

**5. Patologik material olishda nimalar inobatga olinadi?**

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

## 14-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, shlativlar, y.sh.h. ijobiy (hrutsellozli) zardobi, y.sh.h. normal zardobi; AR uchun hrutselloz antigeni, fiziologik eritma, rezinali grusha, mavzuga oid plakatlar, kompyuter, videoproektor.

### Ustuhiy ko'rsatmalar

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

Barcha serologik tekshirishlar asosida antigen va antitelaning o'zaro maxsus reaksiyalari yotadi.<sup>7</sup>

**Antigenlar** – genetik heyona moddalar, hayvon organizmiga parazitni yu'l bilan yuborilganda sensibilizatsiya, intolerantlik va antitelalar ishlab chiqarish kabi javob reaksiyasini paydo qilib, antitelalar bilan *in vivo* va *in vitro* maxsus o'zaro ta'sirlashadi. Korpuskular, hujayrali (bakteriyalar, eritrotsitlar) va eruvchi (molekular-dispersli) antigenlar farqlanadi. Antigenlarni polivalentli - antitelalar bilan bog' hosil qiluvchi bir qancha determinantli retseptorlari bor. Yo'liq qiymatli antigenlardan tashqari gaptenlar, ya'ni oqsilsiz polisuxatidlar, mikroh hujayrasi somulik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.

**Antitelo** – qon zardobi globulinli fraksiyasining yuqori molekulyali maxsus oqsillari (immunoglobulinlar). Antigen va antitelolarning *in vivo* o'zaro ta'siri bo'yicha – chu'kmali (agglutinir, pretsipitir), eri-

<sup>7</sup>Коваленко В.П., Колосова Н.М., Суворина О.С. Ветеринария микробиология и иммунология. Стр.2. Иммунология. М.: КолосС. 2006 г.

tuvchi (bakteriolizin, gemolizin) va neytrallovchi (toksinlarni zararsizlantiradi) reaksiyalar, antitelolar farqlanadi.

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

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

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

**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 suyul-

<sup>28</sup>Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: КолосС, 2005.с.110-114.

iriladi — asosiy eritmadan 1 ml ikkinchisiga, undan uchinchi va oxirgi probirkadan dezinfeksiyalovchi eritmani idishga quyiladi. Ikkinchidan boshlab hamma probirkalarga bir xilda 0.05 ml dan antigen quyiladi (1 ml da 10 mlrd mikroob hisobidan). Komponentlarning umumiy hajmi 1 ml bo'ladi (73-rasm).

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

1. Ijobiy brutselloz zardobi + standart brutselloz antigeni natija — (+ + +) ijobiy.
2. Normal zardob + standart brutselloz antigeni natija (-) manfiy.
3. Standart brutselloz antigeni + fiziologik eritma natija (-) manfiy.

Natijani hisobga olish (74-rasm) nazoratli probirkalardan boshlanadi.

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

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

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

4. Cho'kma tupra shaklida, suyuqlik loyqa — 25 % agglutinatsiya (+).

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

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

**Tomchili AR usuli.** Mikroob turini aniqlash va uni faqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun buyum oynachasiga aniq maxsus zardob va fiziologik eritmadan (nazorat uchun) alohida tomchilar olinadi. Har bir tomchiga tekshirilayotgan mikroob bakterial ilmoqda olib qo'shiladi.

aralashiriladi. 5-10 daqiqada natija aniq bo'ladi. Ijobiy natijada suyuqlik tiniq, cho'kma donador bo'ladi. Bu usulda ko'proq kolibakterioz, salmonelloz qo'zg'atuvchilari tipizatsiya qilinadi (75-rasm).

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

**Sut halqali reaksiya.** Y.sh.h. brutsellozga tekshirishda ishlatiladi. Probirkalarga 2-3 ml dan sut olib, 0,2 ml dan (2 tomchi) gemotoksilin bilan bo'yalgan antigen qo'shiladi. Sut bir xil bo'yalguncha aralashiriladi va 37°Cda 45-60 daqiqa saqlanadi. Suda antitelo bo'lsa, antigen-antitelo kompleksi hosil bo'lib yog' tomchilariga adsorblanadi va yuziga ko'tarilib ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi, halqa hosil bo'lmaydi (76-rasm).

#### Nazorat savollari:

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

#### Test savollari:

1. AR ning mohiyati qaysi bandda to'g'ri berilgan?
  - a) qon zardobidagi antitelo va maxsus antigen eritrosit bilan reaksiyaga kirishib cho'kma hosil qiladi

ht qon zarfidagi agglyutinin maxsus agglyutinogen bilan yopishib agglyutinat hosil qiladi.

c) antigen – antitelo kompleksi koʻzga koʻrinmaydigan choʻkma hosil qiladi

d) har xil antigenlar, antitelo bilan gemolitik sistema orqali reaksiyaga kirishib choʻkma paydo boʻladi.

**2. Qanday antigenlar farqlanadi?**

a) oqsilli, polisaxaridli, molekulyar dispersli

b) yopishqoq, kompleks, polivalent

c) korpuskular, hujayrali, eruvchi

d) kionyuvchi, genetik beqona, turga oid.

**3. Antigen va antitelolarning in vitro oʻzaro taʼsiri natijada qanday antitelalar farqlanadi?**

a) elektrikli, kislotali, ishqorli

b) korpuskular, gemagglyutinasizalevchi

c) tomshiqi, halqali, choʻkmalı

d) choʻkmalı, erituvchi, neytrallevchi.

**4. AB ning komponentlari qaysi bandda taʼgʻri berilgan?**

a) normal, sinovdagi, standart (jobiy zarfob, standart antigen, fiziologik eritma

b) sinovdagi zarfob, gipertonik eritma, gemolizln

c) fiziologik eritma, standart zarfob va antigen

d) komplemen, eritrosit, zarfob, gemasistema.

**5. Sut halqali reaksiya qaysi kasallikni tekshirishda ishlatiladi?**

a) sifiloz

b) brutselloz

c) listerioz

d) tuberkuloz.

## 15-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, videoproektor.

### Uslubiy ko'rsatmalar

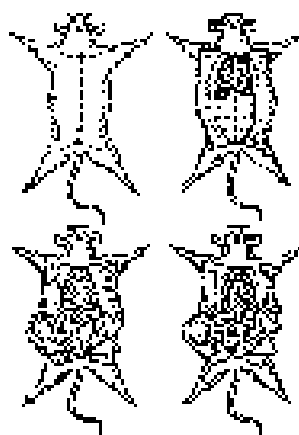
O'qituvchi darsni tushuntirgandan keyin, talabalar PRni probirka va Petri kosachalarida qo'yib o'rganadilar.

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

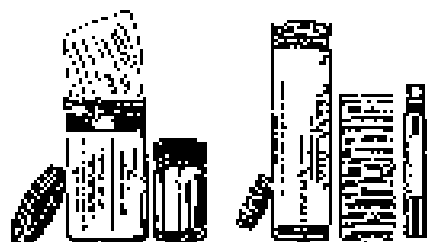
### Komponentlar:

1. Ekstrakt – tekshiriladigan materialdan tayyorlanadi. Avval patologik material avtoklavda 1,5 atmosferada 30 daqiqa yoki 1 atmda. 1 soat sterillanadi. Sovugach uni maydalab ekstraksiyalanadi. 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.

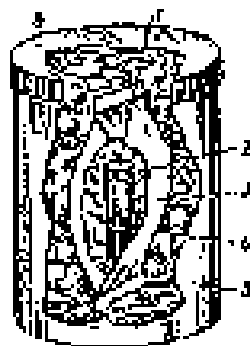
**Jusadai bakteriologik tekshirish usuli.  
Patologik materialni olish va laboratoriyaga jo'natish usullari**



70-rasm. 1) Uzun zichpanning ka'krak va qarir bo'liblig'ini yoritish tartibi.

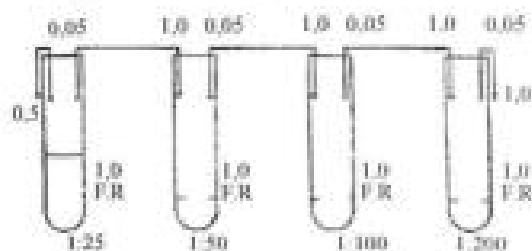


71-rasm. Patologik material namunasini laboratoriyaga jo'natish uchun konteynerlar g'ijrafi va plavaniyasi.

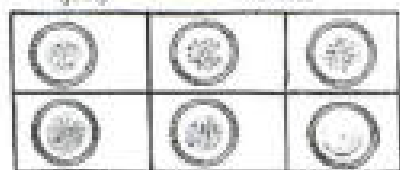
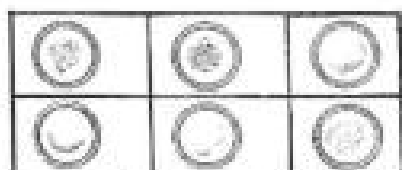


72-rasm. Namunani joylash elementlari: 1-namuna xaligaq kichik, 2-petli huyabplastir bilan o'rnatilgan probitrikalar yoki karshay tayyom shisha ampulalar; 3-pastki yoki yuqoridagi qog'oz; 4-plastikali xaligaqta, karshay tayyom yoki karshay tayyom bilan joylashtirilgan; 5-midiliga qarshi probitrikalar g'ijratilgan qog'oz raki pastki; 6-namunalar, 7-namunalar uchun raki pastki konteyner; 8-zich yopitilgan qog'oz.

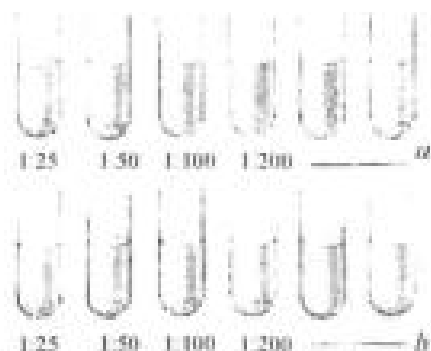
## Agglutinatsiya reaksiyasi



73-rasm. AR qo'yish sxemasi.

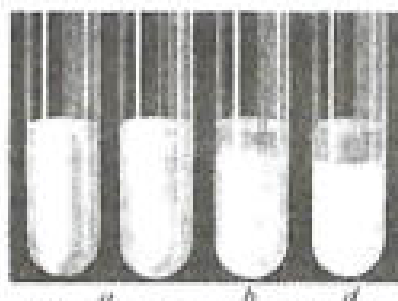


75-rasm. Plastikali ARni baholash.



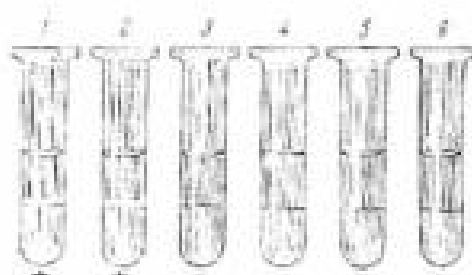
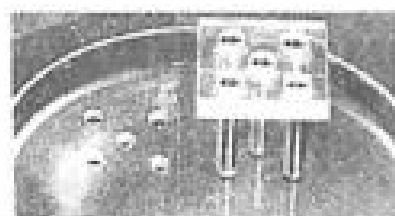
74-rasm. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutselloz, qoramol). *a* - gurmondli AR 1:50;

*b* - nazorat; *d* - ijobiy AR 1:100-1:200; *b* - nazorat.



76-rasm. Sut halqali reaksiya: *a* - amaliy; *b* - gurmondli; *d* - ijobiy.

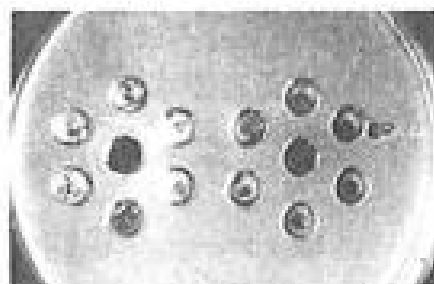
## Pretsipitatsiya reaksiyasi



78-rasm. *Ijobiy pretsipitatsiya (Askoil) reaksiyasi.*

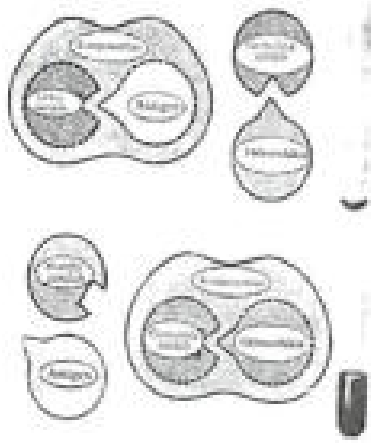


77-rasm. *DPR qo'yish usullari.*

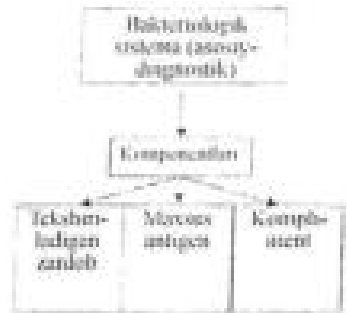


79-rasm. *DPR. Chapida markazda pretsipitatsiyalovchi zardob, atrofidagi o'yiklarda antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari aniq ko'ringan. O'ngda markazda manfiy zardob, atrofidagi o'sha antigenlar- pretsipitatsiya chiziqlari yo'q.*

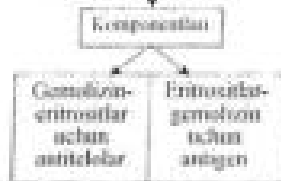
# Pretsipitatsiya reaksiyasi



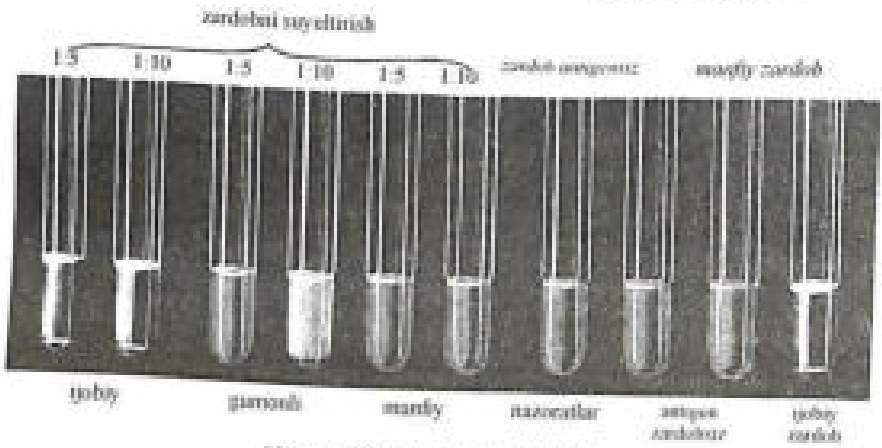
10-rang KBR sinovasi  
1-yubiy; 2-maqfiy



Gemolitik sistem (indikator, bak. sistemada rima bo'lganini ko'rsatadi)



11-rang KBR sinovasi



12-rang KBR natijalarini ko'rsatadi

2. Standart pretsipitatsiyalovechi kuydirgi zardobi.
3. Elektrolit muhit-fiziologik eritma.
4. Nazorat uchun: standart kuydirgi antigeni, sog'lom hayvondan olingan material ekstrakti, normal zardob.

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

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

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

#### **Nazorat reaksiyasi**

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

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

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

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

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

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

### Nazorat savollari:

1. Pretsipitatsiya reaksiyasining amaliyotda ishlatilishi va mohiyati.
2. Pretsipitatsiya va agglutinatsiya reaksiyalarida antigenlarning farqi.
3. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasini qo'yish texnikasini tushuntiring?
4. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasining komponentlarini ayting?
5. Diffuz pretsipitatsiya reaksiyasini qo'yish, uning mohiyati.
6. Halqali pretsipitatsiya reaksiyasida nazorat reaksiyasi qanday qo'yiladi?
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) antitelalar antigenlar bilan faqat komplement orqali birikadi
  - b) antigenlari yuqori harorat, chirishga chidamli
  - c) eruvchi antigenlar ishlatiladi, qo'yish texnikasi o'zgacha
  - d) agar gelida chiziqlar hosil qiladi.
2. PR ning komponentlari qaysi bandeda to'liq berilgan?
  - a) antigen, gemolizin, ekstrakt, fiziologik eritma
  - b) sog'lom hayvondan olingan material ekstrakti, standart zardob, fiziologik eritma
  - c) antigen, ekstrakt, qon, fiziologik eritma,
  - d) ekstrakt, standart zardob va antigen, normal zardob, fiziologik eritma.
3. Probirkali PR qo'yishni necha xil usullari bor?
  - a) 2
  - b) 4
  - c) 5
  - d) 3.
4. PR usullarining qaysinisida zardob probirka pastida bo'ladi?
  - a) zardobni ekstrakt ostiga quyganda
  - b) barcha usullarida
  - c) antigenni zardob ustiga quyganda
  - d) zardob umuman probirka pastida bo'lmaydi.
5. PR da ekstrakt tayyorlash ketma-ketligi qaysi bandeda to'g'ri berilgan?
  - a) filtrlash, maydalash, sterillash, ekstraksiyalash
  - b) maydalash, filtrlash, ekstraksiyalash, sterillash
  - c) sterillash, maydalash, ekstraksiyalash, filtrlash
  - d) ekstraksiyalash, filtrlash, maydalash, sterillash.

## 16-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, sov hammomi, aniq titrli gemolizin, antigen, komplement, sinovli zardoblar 1:10 (56°C da 30 daqiqa inaktivlangan), ijobiy, normal zardoblar, qo'y eritrotsitlari 1:40, tegishli jadvallar, videoproektor, kompyuter.

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

**Komplement bog'lash reaksiyasi** Britonchi 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 antitelalar taqat komplement ishtirokidagina reaksiyaga kirishadi. Shuning uchun reaksiya ikki sistemada o'tadi:

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

2. **Gemolitik-indikatorli sistema** (gemoliz + eritrosit) bakteriolitik sistemada komplement bog'langan yoki erkin qolganini aniqlashga imkon beradi. Demak, gemolitik sistemadagi gemolizin-antilelo: eritrositlar esa ular uchun antigen. Komplement erkin qolsa aynan ularga ta'sir qiladi.

Bakteriolitik sistemaga gemolitik sistema qo'shiladi. Eritrositlar gemoliz bo'lishiga yoki bo'linasligiga qarab, bakteriolitik sistemada komplement bog' bor, yo'qligi bilinadi (80-81-rasm).

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

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

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

#### **KBR komponentlari:**

1. Tekshiriladigan qon zardobi – hayvonlardan olinadi.
  2. Standart zardob (musbat natijali) – biofabrikalarda tayyorlanadi.
  3. Normal zardob (manfiy natijali) – sog'lom hayvondan olinadi.
  4. Kompliment (oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to'qima syuyqliklarining tarkibiy qismi) – biofabrikada dengiz cho'chqasining qon zardobidan tayyorlanadi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
  5. Antigen – aniq mikrobdan biofabrikada tayyorlanadi. Ularda seriya raqami, faolligi (titri) va qancha suyultirishi ko'rsatilgan bo'ladi.
  6. Gemolizin – biofabrikada, qo'y eritrotsitlari bilan quyovni giperimmunlab tayyorlanadi. 1:1 nisbatda glitserin qo'shilgan bo'ladi. Aniq titrda suyultirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
  7. Qo'y eritrotsitlari 1:40 (2,5%) fiziologik eritmada tayyorlanadi.
  8. Fiziologik eritma (0,85% li NaCl).
- KBR ning asosiy tajribasini qo'yish.* Zardoblarni (tekshiriladigan, standart, normal) avval 1:10 nisbatda suyultirib, 56°C da 30 daqiqa inaktivlanadi. Shtativga tekshiriladigan qon zardoblarining soniga

konta (har bir zardob uchun 2- taqdan) 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 harcha probirkalarga 0,2 ml komplement quyilib, probirkalar sifkirlib yaxshi aralashtiriladi va suv hammomida 37°C da 20-40 daqiqa saqlanadi. Bu bakteriolitik sistema. Probirkalarni suv hammomidan olib unga 0,4 ml dan gemisistema (ishchi tirdagi gemolizin bilan eritrotsitlarning teng miqdordagi aralashmasi) qoʻshiladi va ikkinchi marta suv hammomida 20 daqiqa saqlanadi.

### KIKK ning asosiy tajribasini qoʻyish

Komponentlar	Tekshirilayotgan zardobli probirkalar 1:10		Standart zardobli		Normal zardobli		Nazorat gemisistema
	M 1	M 2	Sr 1	M 2	Nr 1	Nr 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
Komplement	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
37° C da 20 daqiqa suv hammomi							
Gem sistema	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
37° C da 20 daqiqa suv hammomi							
	GY	G	GY	G	G	G	GY

GY-- gemolit yoʻq. G - gemolit.

Reaksiyu natijasi ikki marta aniqlanadi: birinchi 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, gemistema nazoratli probirkalarda gemoliz bo'lmaydi (72-rasm) – natija musbat.

#### **KBR natijasini baholash**

(++++) – gemoliz yo'q eritrotsitlar to'liq nuqta shaklida cho'kma-ga 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).** Im-munoferment usul mikroorganizmlar va antitelolarni aniqlash ham-da qiyoslash uchun qo'llanadi. Immuoferment usulining ikki turi farqlanadi: gomogen va geterogen. Geterogen usul (immunosorbentli ELISA test) va suvda erimaydigan polimerazali materiallar yuzasi-da 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 sul-fat bilan cho'ktirib, keyin tozalab olinadi).
3. Oqsil A (tillarang stafilokokkdan olinadi) yoki ho'kiz zardobi albumini.

4. Antigen (zararlangan hayvonlar organlaridan tayyorlanadi). Olingan ma'lum hujayra mushat va mantiy antigenlar.

5. Peroksidaza fermenti (srandan olinadi).

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

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

8. Detergent (siringa fanl moddalar: tvin – 20, - 80, triton X – 100, sorbitol S – 20)

9. Immunologik plashket (shaffof polistiroldan tayyorlangan).

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

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

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

**Reaksiya bosqichlari:**

1. Plashketni sensibillash. Plashket o'yiqchalariga maxsus antitelolar (immunoglobulinlar) yordig'ida ko'rsatilgan ishchi eritmasi quyiladi. Plashket antitelolar bilan uch soat termostatda 37°C da yoki 4°C ga 18 soat qo'yiladi. Keyin plashketlar tvimli fosfat bufer eritmasi bilan 3 – 4 marta yuviladi. Eritmaning qoldiqlari filr qog'ozga plashketni bir necha bor qoqib olinadi.

2. Antigen quyish. Maxsus antitelolar bilan sensibillangan plashket o'yiqchalariga nuzuratli mushat va mantiy antigenlar banda 1 : 10 dan 1 : 1280 nisbatgacha suv uldirilgan sinovli namunani quyib, termostatda 37°C da 1 soat turliriladi. Inkubatsiya muddati o'tishu bilan plashket o'yiqchalaridagi antitelo bilan bog'lanmay qolgan antigenlarni uch marta yuvib, filr qog'ozda quritiladi.

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

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

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

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

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

Reaksiya natijalarini spektrofotometrik hisobga olishda maxsuslik 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'lsa reaksiya musbat, 2,1 dan kam bo'lsa manfiy hisoblanadi.

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

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

Oldindan tekshirilayotgan bakteriyalarning ogonlar banki yaratiladi. Bu maqsadda bakteriya DNKni endonukleazalar bilan eritib, elektrofores yordamida DNK fragmentlari ajratiladi, transformatsiya usulida ularning genetik xususiyatlari aniqlanadi, DNKning kerakli fragmenti ajratib olinadi va ligazalar yordamida vektor bo'lib xizmat qiladigan plazmidiga kiritiladi. Aniq gen bilan yaxlit holga keltirilgan plazmidni biror-bir yeturilcha oson va yengil o'sadigan bakteriya shtamiga kiritiladi. Ko'p miqdorda DNK – zond saqlovchi biomassa olinadi. Plazmidli DNKni ajratib, radioaktiv izotop bilan belgilanadi, keyin bu belgilangan DNK tekshirilayotgan bakteriyaning DNKsi bilan gibridlanadi. Autoradiografiya usulida markerning tekshirilayotgan DNK bilan gibridizatsiyasini nisbiy chastotasini aniqlab, shu ko'rsatkich orqali aniq bakteriya – DNK donori va tekshirilayotgan bakteriyaning genetik yaqinligi fikrlanadi.<sup>29</sup>

**Pollimerazali 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 – ko'paytish).

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

1. Tekshirilayotgan DNKni issiqda (95°Cda) denaturatsiyalash. Bunda juft usoslarni bog'lanishni hosil qilgan vodород bog'lar parchalanib, DNK zanjirlari tarqalib ketadi, ya'ni bir zanjirli DNK hosil bo'lib primersalar DNK polimerazalar kirishi uchun yengillik paydo qiladi. Jarayonning davomiyligi 1 daqiqa.

<sup>29</sup>Киселевко В.Н. Практикум по всепериспарной микробиологии и иммунологии. – М.: КолосС. 2005.с.90.

Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М.: 2008 г. С.114.

2. Praymerlarni DNKni ikkita antiparallel zanjirlarining komplementar qismlariga o'tkazish (yumshatish). Praymerlar 20 – 30 nukleotidlardan iborat ikkita sintetik oligonukleotidlardir. Ularning har biri qo'zg'atuvchi 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 zanjirligiga birikishidan (renaturatsiya) avval o'zining komplementar qismlarini egallashiga imkon beradi. Bosqichning davomiyligi 1 – 2 daqiqa.

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

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

ko'payishi tekshirilayotgan namunada gomologik DNK, ya'ni infeksiou kasallik qo'zg'atuvchisi bo'lgini isbot qiladi.

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

PZR – diagnostikani o'tkazish uchun quyidagi komponentlar kerak: to'rt xil tipdagi dezoksitriofosfatlarning suvdagi erimarlari (dATP, dTTP, Dstf, 10 mM, pH 7,0); birinchi prайmer (5 nM); ikkinchi prайmer (5 nM); *Taq* – polimeraza fermenti (5 TB/mkl); amplifisirlanadigan DNK (- 1 mkg);  $Mg^{2+}$  ionlari (25 mM) polimeruzaning ishini ta'minlash uchun; bufferli eritma (10 karrali konsentrat), masalan, quramol 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, prайmerlar - 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 dezoksinukleozidtrifosfat bor reaksiyu aralashmasiga polimeraza quyib, amplifikatonga yoki termosikler (loyihalovchi termoset) ga solinadi. Amplifikatsiyu termosiklerda berilgan dasturda o'tkaziladi, masalan: 90°C – 1 daqiqa, 60°C – 1 daqiqa, 72°C – 1 daqiqa (5 sikl), 93°C – 1 daqiqa, 57°C - 1 daqiqa, 92°C – 1 daqiqa (5 sikl), 93°C – 1 daqiqa, 55°C – 1 daqiqa, 72°C – 3 daqiqa (25 sikl).

Amplifikatsiya tugaganidan keyin PZR mahsulotlari, ya'ni amplifikonlarni aniqlash bosqichi keladi. DNK 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 DNK-ga nisbatan taqqoslash bilan tasdiqlanadi. Qo'shimcha ravishda amplifikonlarning maxsusligini maxsus radioaktiv zond bilan gibridlash yo'li orqali tasdiqlash mumkin.

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

Infektsion 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 tizimlarini mohiyatini tushuntiring?
6. Kompliment bog'lash reaksiyasi mohiyatini tushuntiring?

7. Immunolizament usul qanday maqsadda qo'llaniladi va uning tularini ayting?

8. Komplemment bog'lash reaksiyasining natijasi qanday baholanadi?

Test savollari:

1. KBR nechta tizimda o'tadi?

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

2. KBR da qanday holat namoyon bo'ladi.

- a) bakteriolizis, gemoliz
- b) agglutinasiya, lizis
- c) presipitasiya, toksigenlik
- d) bakteriya komplemment bog' hosil qilishi.

3. KBR hosilq. AB, PR laridun qanday farq qilsadi?

- a) antigen – antitelo kompleksi ko'zga ko'rinmaydi
- b) komponentlari, gemosistema ishtiroki
- c) komplemment genulizin eritrositlarni lizisga uchradi
- d) eritrositlar lizitiladi.

4. KBR natijasi mashaf bo'lganda eritrositlar..

- a) komplemment bilan bog'lanadi
- b) lizisga uchraydi
- c) lizisga uchramaydi
- d) gemosistemada – komplemment bilan bog'lanadi.

5. KBR komponentlari qaysi bunda to'g'ri berilgan?

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

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

### 17-MAVZU.

#### BAKTERIAL INFEKSIYA QO'ZG'ATUVCHILARI – TUBERKULOZ, BRUTSELLOZ, CHO'CHQALAR SARAMASI, PASTERELLOZ, KOLIBAKTERIOZ, SALMONELLOZ QO'ZG'ATUVCHILARI

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

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

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

**Tuberkuloz (sil)** – uy va yovvoyi hayvonlar, jumladan, parrandalar va odamlarning surunkali yuqumli kasalligi bo'lib, har xil organ va to'qimalarda o'ziga xos tugunlar (tuberkulalar) hosil bo'lishi bilan xarakterlanadi (87, 88-rasm). Qo'zg'atuvchisini 1882-yilda R.Kox ochgan. Hozirgi vaqtda 5 turdagi tuberkuloz qo'zg'atuvchisi ma'lum.

1. Odamlarda – *Mycobacterium tuberculosis*
2. Qoramuklarda – *Mycobacterium bovis*
3. Parvandalarda – *Mycobacterium avium*
4. Sichqonlarda – *Mycobacterium mageritense* (murtum)
5. Sovuqqonli hayvonlarda – *Mycobacterium paratuberculosis*.

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

Kasal hayvonni vaqtida aniqlash uchun tuberkulin bilan allergik usulda tekshiriladi.<sup>20</sup>

**Patologik material:** Kasal hayvonlardan – burundan oqqan ajratma, bulg'ona, traxeya shilimshigi, tezagi, siydik namunalari olinadi. *Ulganidlar* -- zararlangan organ bo'lukchalari, bronxial, inmoq, yelin usti, kurak oldi limfa tugunlari olinadi. O'lgan parvandaning jasadi yuboriladi. Patomaterial olishda aseptika, shaxsiy profilaktika, texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilishi shart. Patomaterial olingan zahoti laboratoriyaga yuboriladi. Buning imkoni bo'lmasa 50-40% glicerinda konservatsiyalab yoki muzlatilgan holda yuboriladi.

1. **Yilroskopiya:** Qo'zg'atuvchi kislota-spirit-ishqorlarga chidamli bakteriyalar guruhiga kiradi. Uning qobig'ida steorin kislotalari va mumsimon moddalar bor. Bu moddalar suv, bo'yoq, kislota va ishqorlarni suvdagi erimalarını 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, usildan karboli Sil fukisini quyiladi. Spirit lampasi alangasida bug' paydo bo'lguncha qizdiriladi va 5-7 daqiqa ko'prikelhada turadi.

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

<sup>20</sup>Tracy H. Ventulapalli. G. Kenira Hammac. Microbiology for veterinary Technicians. Textbook copyright. Printed in the United States of America 2013 y. p.84.

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 (83-rasm); chidamsizlari esa ko'k rangda bo'ladi.

V. V. Pavlovskiy ma'lumoti bo'yicha (Диагностика инфекционных и протозойных болезней сельскохозяйственных животных. Альбом. М., Колос, 1968, с.101) surtmaga karbolli Sil fuksini quyib 1-2 daqiqa bug' paydo bo'lguncha yoki qaynaguncha qizdiriladi (a). Suv bilan yuviladi (b), 5% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi (d). So'ngra surtma avval spirt (c), keyin suv bilan yuviladi (f) va metilen ko'ki bilan bo'yaladi (e), (89-rasm).

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

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

**Gon usuli:** Patmaterialni steril havonchada yaxshilab ezib 1:4 nisbatda 10-12%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi bilan arashtiriladi. 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 havonchada 0,5 sm<sup>2</sup> kattalikda maydalanib, ustiga 10-8-6%li sulfat kislotaning suvdagi eritmasi quyiladi. 10-20 daqiqa turadi. Kislotaning ekspozitsiya vaqti

va konsentratsiyasi materialning ifloslanish darajasiga bog'liq. 10-20 daqiqadan keyin kislota tarkib tashlanib, o'rniga fiziologik eritma quyiladi va 8 daqiqa turadi. Keyin fiziologik eritmani to'kib, patmaterial hovonahuda yaxshilab eziladi. fiziologik eritmada suspenziya tayyorlanadi. 5-6 probirka oziq muhitga ekiladi.

Ishlov berilgan patmaterial – elektiv: tuxum-krazmali, kartoshkali-gliserin-bulonli (84-rasm) – begona mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatuvchi muhirlarga ekiladi. Ko'pincha Petranyani (86-rasm), Levenshoyit-Iyensen, Gelberg muhitlaridan foydalaniladi. Gliserinli GPH va GPA lari ham ishlatiladi (85-rasm).

Tuberkuloz qo'zg'atuvchisi – aerob, sekin o'sadi (2-4 hafta va undan ko'proq). Gliserinli bulonda uzoq vaqt davomida (6-8 hafta) o'stirilganda zaharli modda **tuberkulin** to'planadi. Undan tuberkulozni uniqlashda foydalaniladi. Suyaq muhitda qo'zg'atuvchisi 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, oqishoq 21 chi kuni kuchli ajinlashgan avval quruq, keyin shilimshiq parda hosil qiladi. Zich oziq muhitlarda boshida zo'rg'u ko'rinadigan mikrokoloniyalar paydo bo'ladi, keyin ular kattalashib boradi. Oziq muhit yuzasidan mayda yoki katta, yaltiroq yoki xiranoq, silliq yoki kengish 1-2 koloniyalar paydo bo'ladi, yoki koloniyalar birlashib kelib, yuzasi hilan bita oqish qatlami hosil qiladi. Bakteriologik tekshirish muddati – 2 oy. Ekmalseni har 4-5 kunda ko'rib natija yozib boriladi.

3. **Biosinov.** Dengiz cho'chqasi chotining terisi ostiga 1ml, quyurmlar quloq venasiga 2 ml, tovuqlar qanoti osti venasiga 1-2ml suspenziya yuhiriladi. Kuzatish muddati 3 oy.

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

### Qo'zg'atuvchilarni farqlash (tipizatsiya)

*M. bovis* – kulturasi dengiz cho'chqalari va quyonda umumlashgan tuberkuloz jarayonini keltirib chiqaradi.

*M. tuberculosis* – dengiz cho'chqalarida umumlashgan, quyonlarda esa o'pkasida mahalliy jarayonni paydo qiladi.

*M. avium* – quyonlarda septik jarayon paydo bo'lgach, u o'ladi. Ba'zida mahalliy jarayon hosil qiladi. Dengiz cho'chqalarida faqat mahalliy jarayon (kultura yuborilgan joyda abscess) ni keltirib chiqaradi.

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3 ta test o'tkaziladi: 1. katalazali aktivlik-50% pergidrol eritmasi bilan gaz pufakchalari hosil bo'lishi mm da o'lanib 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 sezgirliги-tuber-kulostat preparatlar (streptomitsin, rifavazid, 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* vakcina shtammini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sutemizuvchilar uchun.

Altuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

**Brutselloz** – hayvon va odamlarda surunkali kechadigan yuqumli kasallik. Kasallik odatda klinik belgisiz kechadi, ba'zan-homila tashlash, bursit, orxit, epidedimit, endometrit kabi klinik belgilar namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisini birinchi bo'lib 1886-yilda Bryus o'rgangan va ilmiy isbotlagan.

Qoʻzgʻatuvchisi — *Brucella* avlodiga mansub.<sup>11</sup> 6 ta turdan iborat: *melitensis* (qoʻy-echkiklarda), *abortus* (qoramollarda), *suis* (choʻchqalarda), *ovis* (qoʻchqorlarda), *canis* (itlarda), *maritima* (kalamushlarda). *Brucella ovis* — qoʻchqorlarda infeksiyon epidemiyat kasalligini chaqiradi.

**Patologik material.** Kasal hayvondan tashlangan homila, homila pardasi bilan yoki ikki tomoni bogʻlangan homila oshqozoni, jigar va talq boʻlakchalari (90-rasm): gigroma moddasi, sut — (yelini yuvib, 70° spinda dezinfeksiyalab, keyin har bir soʻngʻichdan alohida steril probirkalarga oxirgi porsiyalardan 10-15ml olinadi). Qoʻy va echkidan esa, sut yelindan shpris ignasi bilan steril holda olinadi. Sut, namuna olingan kuni tekshirilishi kerak. Imkonli boʻlmasa, borat kislotasi bilan 10 ml sutga 0,1gr miqdorda konservatsiyalanadi.

Qoʻchqorlardan (soʻyilganda) urugʻdan xultasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial boʻlak selofan, pergament qogʻozlarga alohida uralib, suv oʻtkazmaydigan idishga (polietilen paket, yashik, banku) joylanadi. Homila tashlagan hayvonlar qonini albatta tekshirish shart (homila tashlagandan bir hafta keyin). Patmaterialni laboratoriyaga yu'llanma bilan mutaxassis olib keladi.

**1. Mikroskopiya.** Patmaterialdan ikkitadan surtma tayyorlab Gram va Kozlovskiy usullarida boʻyaladi. Brusellalar—mayda, tayoqcha yoki kukksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6-1,5mikm, diametri 0,3-0,5mikm, grammanfiy, harakatsiz, spora hosil qilmaydi, surtmada bittadan, ikkitadan yoki toʻp-toʻp boʻlib joylashadi. Kozlovskiy usulida boʻyalgan surtmalarda-brusellalar qizil, boshqa mikroblar yashil rangda boʻladi (91-rasm).

Ye. V. Kozlovskiy boʻyash usuli (1936): filksutsiya qilingan surtmaga 2 % li safraninning suvdagi eritmasini quyib, pufakcha hosil boʻlguncha qizdiriladi, keyin suv bilan yuvib, qoʻshimcha 0,75%

<sup>11</sup>Кисленко В.Н., Колічев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарних мікробіології та патології. Част. 3. Частина мікробіології. — М.: КолосС, 2007 г. с.113.

– 1 % li malaxit ko'ki bilan 30 soniya bo'yaladi. Brusellalar qizil rangda, boshqa bakteriyalar va to'qima hujayralari yashil rangga bo'yaladi.

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

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

Qoramollardan olingan patmaterial ekmalari esa yarmi 10–15% karbonat angidridli, qolganlari odatdagi atmosferada o'stiriladi (91, 92-rasm).

Ekmalari 30 kun termostatda 37–38°C o'stiriladi.

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

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

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

Ularga brusellalarning sof kulturasi ekiladi. *B. suis* fuksinli muhitda, *B. abortus* tioninli muhitda o'smaydi, *B. melitensis* ikkala bo'yoqlar qo'shilgan muhitda o'sadi.

3. **Biosinov.** Aveal 350-400 gramli dengiz cho'chqalari yuragidan qon olib, zardobi AR usulida brutsellozga tekshiriladi. 1:5 nisbatda manfiy natija olinmagina ularda biosinov qo'yish mumkin.

Patmaterialdan tayyorlangan 1:10 nisbatdagi suspenziya 1 ml dozada, dengiz cho'chqalari sovining 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 kuzariladi. Ajratilgan barcha kulturelar ish yakunida avtoklavda 1,5 AT 1soat avtoklavlab, yo'q qilinadi.

Serologik tekshirish usullaridan (95, 96, 97, 98, 99-rasm) AR, KBR, LKBR, RBN, sut halqali AR qo'yiladi. AR 1 ml hajmda 4 ta nisbatda qo'yiladi. Qo'y. echki, oha, ular qon zardobi 1:25 dan 1:200 gacha (ijobiy natija ikki nisbatga 1:50 va undan yuqori titr). Ysh.n. ot, tuyalarda 1:50 dan 1:400 gacha (ikki nisbatga 1:100 va yuqori titr ijobiy). Dengiz cho'chqasi va mo'ryali hayvonlarda 1:10 dan 1:80 gacha (ikki nisbatga 1:10 va yuqori titr ijobiy).

RBN, 0,3 ml zardob maxsus emalli plastinkalar o'yiqcholariga quyiladi. Ustiga 0,03 ml Bengal pushtisi bilan bo'yalgan brutselloz antigeni quyiladi. 4 daqiqa davomida sekin chayqatib, unlashdiriladi. Nazorat uchun antigen musbat, manfiy zardoblar fiziologik eritma bilan reuksiya qo'yiladi. Ijobiy natijada pushti rangda agglutinat paydo bo'ladi. Ijobiy natija bergan zardoblar namunasi AR, KBR da qayta tekshiriladi.

**Sut halqali reaksiya.** Probirkaga 2-3 ml yangi sog'ilgan sut quyib, unga gemotoksilin bilan bo'yalgan antigenidan 0,2 ml (2 tomchi) ustiga qo'shiladi. Probirkalarni silkirib, yaxshilab aralashtiriladi, 37°C da 45-60 daqiqa sov hammomi yoki termostatda turadi. Ijobiy natijada - ko'k halqa paydo bo'ladi, sut rangsizlanadi. Manfiy natijada sut ko'k rangda qoladi (97-rasm).

## Qo'zg'atuvchilarni farqlash (tipizatsiya)

*M. bovis* – kulturasi dengiz cho'chqalari va quyonda umumlashgan tuberkuloz jarayonini keltirib chiqaradi.

*M. tuberculosis* – dengiz cho'chqalarida umumlashgan, quyonlarda esa o'pkasida mahalliy jarayonni paydo qiladi.

*M. avium* – quyonlarda septik jarayon paydo bo'lgach, u o'ladi. Ba'zida mahalliy jarayon hosil qiladi. Dengiz cho'chqalarida faqat mahalliy jarayon (kultura yuborilgan joyda abscess) ni keltirib chiqaradi.

Virulentligi past kulturani kislotaga chidamli saprofitlardan farqlash uchun 3 ta test o'tkaziladi: 1. katalazali aktivlik-50% pergidrol eritmasi bilan gaz pufakchalari hosil bo'lishi mm da o'lganib 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 sezgirliги-tuber-kulostat preparatlar (streptomitsin, flivazid, 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* vakcina shtammini quritilgan tirik kulturasi.

Tozalangan, quruq PPD tuberkulini, sutemizuvchilar uchun.

Altuberkulin, sutemizuvchilar uchun.

PPD tuberkulini parrandalar uchun.

**Brutselloz** – hayvon va odamlarda surunkali kechadigan yuqumli kasallik. Kasallik odatda klinik belgisiz kechadi, ba'zan-homila tashlash, bursit, orxit, epidedimit, endometrit kabi klinik belgilar namoyon bo'ladi. Qo'zg'atuvchisini birinchi bo'lib 1886-yilda Bryus o'rgangan va ilmiy isbotlagan.

Qu'zgatuvchisi – *Brucella* avlodiga mansub.<sup>1)</sup> 6 ta turdan iborat: *melitensis* (qu'y-echkilarda), *abortus* (qoramollarda), *swis* (cho'chqalarda), *ovis* (qo'chqorlarda), *canis* (itlarda), *neotomae* (kulmushlarda). *Brucella* ovis – qo'chqorlarda infeksiyon epidefinit kasalini chaqiruvchi.

**Patologik material.** *Kasal hayvondan* tashlagan homila, homila pandasi bilan yoki ikki tomni bog'langan homila oshqozoni, jigar va taloq bo'lakchilari (90-rasm); gignoma moddasi, sut – (yelinni yuvib, 70° spirtda dezinfeksiyalab, keyin har bir so'rg'ichdan alohida steril probirkalarga o'zigi porsiyalardan 10-15ml olinadi). Qu'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 sulga 0,1gr niqulorda konservatsiyulanadi.

Qo'chqorlardan (su'yilganda) urug'dan xalatasi bilan olinadi. Har bitta hayvondan olingan patmaterial bo'lak selofan, pergament qog'ozlarga alohida o'tralib, suv o'tkazmaydigan idishga (polyetilen paket, yashik, hanka) joylanadi. Homila tashlagan hayvonlar qonini alhadda tekshirish shart (homila tashlagandan bir hafta keyin). Patmaterialni laboratoriyaga yo'llanma bilan mutaxassis olib keladi.

**1. Mikroskopiya.** Patmaterialdan ikkitafta surtma tayyorlab (Gram va Kozlovskiy usullarida bo'yaladi). *Brucellalar*–mayda, layoqcha yoki kakksimon shakldagi bakteriyalar, uzunligi 0,6-1,5mikm, diametri 0,3-0,5mikm, grammanfiy, harukatsiz, spora hasil qilmaydi, surtmada bittadan, ikkitedan yoki to'p-to'p bo'lib joylashadi. Kozlovskiy usulida bo'yalgan surtmalarda-brucellalar qizil, boshqa mikroblar yashil rangda bo'ladi (91-rasm).

Ye.V.Kozlovskiy bo'yush usuli (1916): fiksatsiya qilingan surtmaga 2 % li safrinning suvdagi eritmasini quyib, pufakcha hasil bo'lguncha qizdiriladi, keyin suv bilan yuvib, qo'shitilgacha 0.75%

<sup>1)</sup>Киселько В.В., Колычева Н.М., Суворкин О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3. Частная микробиология. - М.: КолосС, 2007 г. с.113.

**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 vaktsina. Emlangan hayvonlarni serologik reaksiyalarda farqlash mumkin.

Samaradorligi yuqori 73/79AB yangi vaktsina.

Shtamm 19 vaktsina 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.

Fluorensiyalovchi brutselloz zardobi. Ijobiy brutselloz zardobidan tayyorlangan.

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

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

**Patologik material.** Laboratoriyaga tekshirish uchun hayvonning jasadi yoki parenximatov 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.

**I. Mikroskopiya.** Patmaterialdan tamg'ali surtmalar tayyorlanib Gram usulida bo'yaladi. Saramas qo'zg'atuvchisi spora, kap-

sula hosil qilmaydi, harakatsiz, grammusban, bitta, ikkita yoki to'p-to'p bo'lib joylashgan tayoqchasimon bakteriyalardir."

O'lchami 0.2-0.3 x 0.5-1.5 mikm. Ba'zi adabiyotlarda berilgan ma'lumatlarda uzunligi 2-2.5 mikm gacha. Zararlangan yurak klapanlaridan tayyorlangan surtmada uzun iplar shaklida joylashadi (100,101-rasm). Fluorescentli zaridoblar bilan ham bo'yash mumkin. Lyuminescentli mikroskopiyada saramas qo'zg'atuvchisi intensivligi uch nishandan (+++) kam bo'lmagan maxsus nurlanish paydo qiladi.

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

GPB da — muhit yengilgina loyqalanadi, 48-72 soatdan keyin tinib, probirka tubida cho'kma hosil bo'ladi (99 a-rasm). Qoqih ko'rganda nozik bulut shaklida ko'tariladi.

GPA da saramas qo'zg'atuvchisi mayda, shaffof, shudringasimon koloniyalar hosil qiladi (S-shakli). R-shaklida — yirik, yuzasi notekis, chetlari o'simtali koloniyalar — (kasallik surunkali o'tganda) paydo bo'ladi. Ba'zan unliq koloniyalar ham hosil bo'ladi (100,101,102-rasm).

GPI ga tik ekilganda uni suyaltirmaydi, bir necha kundan keyin «yurnaluvq sim cho'kma» shaklida o'sadi (103 b-rasm).

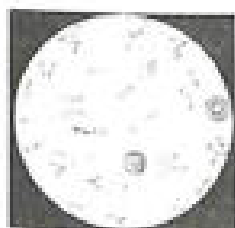
*Bakteriya yotmasi* — saramas qo'zg'atuvchisi yndorod sulfid ajratadi, katalaza hosil qilmaydi. Glukoza, laktosa, galaktozalarni parchalab kislotaga, gaz hosil qiladi, saxarozaga, manit, salisinini parchalamaydi.

*Serologik farqlash.* Buyum oyrachasida to'pchili usulda 1:50 nisbatida saramas zaridobi bilan AR qo'yiladi. Bir sutkali GPA da o'tagan kultura ishlatiladi. Agar saramas qo'zg'atuvchisi ho'lsa zich, mayda, donador agglutinat paydo bo'ladi.

---

W.E. Quinn, B.K. Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Delhi, India 2016 y. p.47.

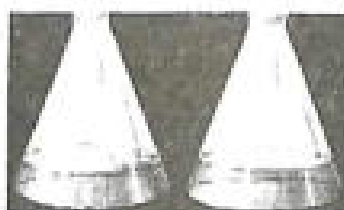
## Tuberkulozning laboratoriya diagnostikasi



83-rasm. Tuberkuloz qo'zg'iruvchisi (Silt-Nilsen usulida bo'yalgan).



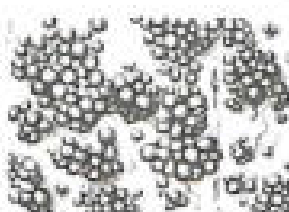
84-rasm. Tuberkuloz kulturacisini glitserinli kartofilda o'rishi.



85-rasm. Tuberkuloz kulturacisini glitserinli GPB da o'rishi; a-humamus; b-bovinius tipi.



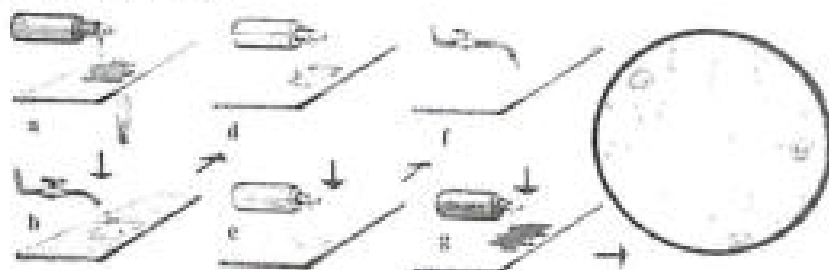
86-rasm. Tuberkuloz kulturacisini Petramyan muhitida o'rishi; chapdan-bovinius, humamus, avium tiplari.



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



88-rasm. Oshaklashgan tabulyar kazov.

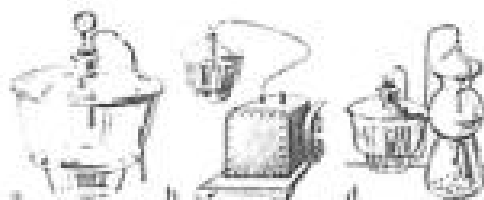


89-rasm. Silt-Nilsen usulida bo'yash. a-sil fuksin bilan bog' poyda bo'lguncha alov ustida qizdirib bo'yaladi; b-bo'yog' suv bilan yuviladi; d-3% li sulfat kislotasi bilan rangsizlantiriladi; e-arsval spirt, keyin f-suv bilan yuviladi va g - metilin ko'ki bilan bo'yaladi. Tuberkuloz tuyoqchalari qizil, boshqasi ko'k rangga bo'yaladi.

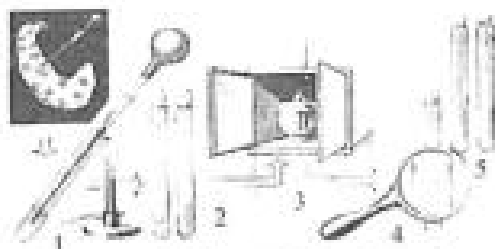
## Brutsellozning laboratoriya diagnostikasi



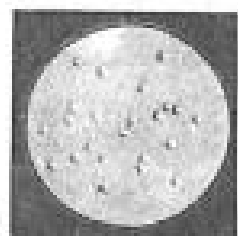
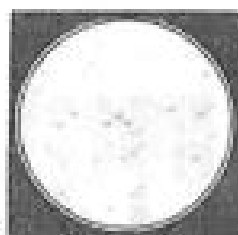
90-rasm. Bakteriologik tekshirish uchun asosiy materiallar.



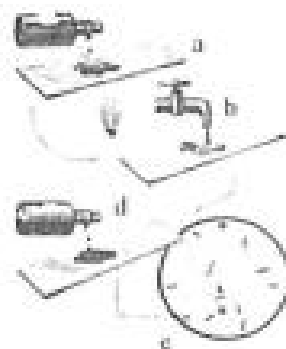
91-rasm. a-brutselloz kulturasi o'stirish uchun eksikator, b-birlamchi kulturalar havosi qisman olingan eksikator, d-KIPP apparati yordamida uglerodga hasil qilish.



92-rasm. Ekish, o'stirish va brusella kulturasi ko'rish sxemasi

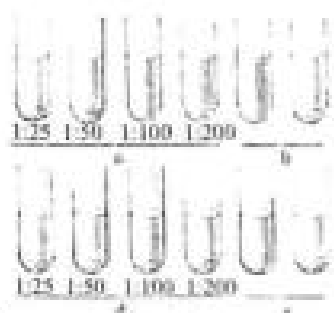


93-rasm. Brusella koloniyasi: a-figarli agarda; b-kristall violet hayog'i va antibiotik qo'shilgan agarda (beqama mikroflora o'lmagan).

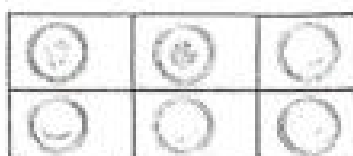


94-rasm. Brusellalarni Kuzlovskiy usulida ko'rish.  
Qotirilgan serum 2% li zafaronning suvliq eritmasi bilan hayog' hosil bo'lguncha qizdirib ko'yaladi (a), bo'yoq suv bilan yuviladi (b) va 0,5% li asitlan ko'ki yoki mahavit yashiti bilan ko'yaladi (c). Brusellalar qizil, boshqa mikroblar ko'k yoki yashil rangga bo'yaladi (e).

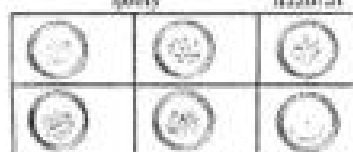
## Brutsellozning laboratoriya diagnostikasi (serologik tekshirish)



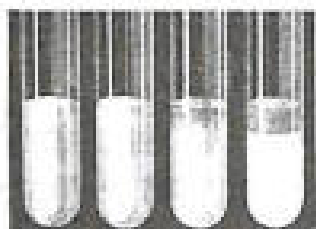
95-rasm. *Probirkalarda ARni hisobga olish (Brutsella, qaramol). a-gumonli AR 1:50; b-nazorat; d-ijobiy AR 1:100-1:200; e-nazorat.*



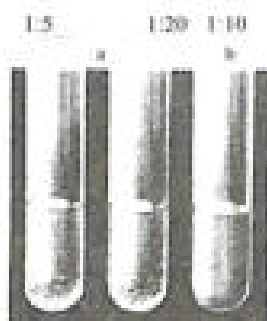
gumonli  
ijobiy      nazorat  
nazorat



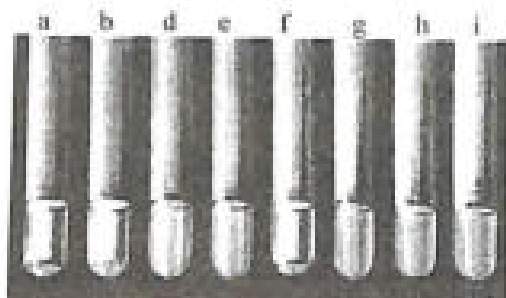
96-rasm. *Plastinkali ARni baholash.*



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

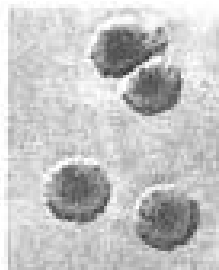
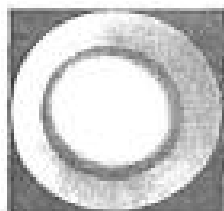


98-rasm. *AR urug' plazmasi bilan: a-ijobiy; b-maʼnfiy.*

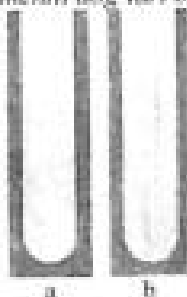
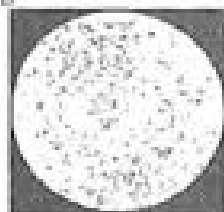


99-rasm. *KBR. Zardob 1:5 va 1:10 (a, b), zardob 1:5 nazorat (d), umumiy nazorat uchun: a) normal zardob + -komplement - antigen - genistroma; b) ijobiy zardob + komplement - -antigen + genistroma; g) antigen + -komplement + genistroma + fiziologik eritma; h) genistroma + fiziologik eritma; i) ijobiy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

## Cho'chqalar saramas kasalligining laboratoriya diagnostikasi



102-rasm. Ovaliy O(SR)-shaklli mikrobnning eski koloniyalari pigmentli dog'lari boq.



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

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

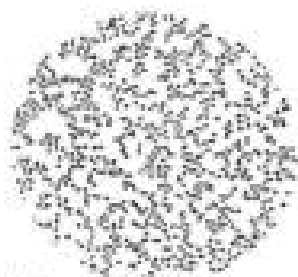
103-rasm. A-GPB da kulturani qoqib ko'rganda «soch o'rini» shingari ko'tarilishi, b-mikrobnning GPJ da o'sishi.



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

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

## Pasterellozning laboratoriya diagnostikasi



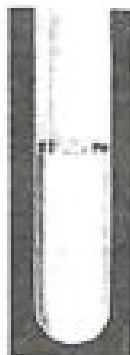
106-rasm. *Pasterella* GPB kulturasiida tayyorlangan sirtma.



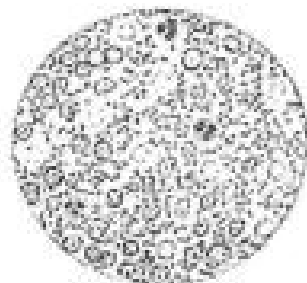
107-rasm. *Pasterella*ning S-shaklli koloniyasi-agarda.



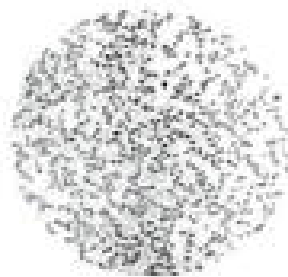
108-rasm. *Pasterella*ning R-shaklli koloniyasi-agarda.



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



109-rasm. *Pasterella*lar Patologik materialdan tayyorlangan sirtmada.



111-rasm. S-shaklli *pasterella* sirtmasi.



112-rasm. R-shaklli *pasterella* sirtmasi.

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

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

1. Lyuminescentli mikroskopda patmaterial, aralash kulturalardan tayyorlangan surmatlarda 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 kulturalari ajratilsa (hatto birlunchi qo'zg'atuvchi ajratilmasa ham).

*Biopreparatlar:* Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi konsentrlangan gidrooksisaluminium formolvaksina.

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

Cho'chqalar saramas kasalligiga qarshi quruq tiotillangan tirik vaksina .VR – 2 vaksina shtammi kulturalaridan tayyorlangan.

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

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

**Pasterelloz** qishluq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar (parrandalar) da o'tkir o'tuvchi septik kasallik. U septisemiya, 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<sup>22</sup>. Kulturadan tayyorlangan surtmalarda bittadan, ikkitadan ba'zan qisqa zanjir shaklida joylashgan kokksimon yoki qisqa tayoqchasimon bakteriyalar ko'rinadi. Ba'zi yangi ajratilgan virulentli shtammlari kapsula hosil qiladi. Maxsus usullarda bo'yalganda (Mixin) kapsula yaxshi ko'rinadi. Harakatsiz, spora hosil qilmaydi (106, 109, 111, 112- rasm).

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

GPA da pasterellalar mayda, silliq, bo'rtgan, tiniq, yumaloq, chetlari tekis (S-shakl) kulrang oq koloniyalar (107-rasm), ba'zan yirik, shilimshiq ( M- shakl) yoki chetlari notekis kengish, koloniyalar (R-shakl) shaklida o'sadi (108-rasm). *P. multocida* gemolitik xususiyatga ega emas.

---

<sup>22</sup>P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.66.

GPB da muhit bir xilda loyqalanib, shillimshiq choʻkma hosil qiladi (110-rasm). Quqib koʻrganda choʻkma oʻtirilgan soch shaklida koʻrinadi (S-shakl), mukoid stramunlari intensiv oʻsib, koʻp shillimshiq choʻkma hosil qiladi (M-shakl), R-shaklli stramunlarida muhit loyqalanmaydi, mayda donachali choʻkma hosil boʻladi. GPBda avval alohida koloniyalar, keyin oʻsintisiz oq sterjen kati oʻsadi.

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

3. **Biosinov.** Qoramol, choʻchqa, qoʻylardan tekshirilayotgan material bilan oq sichqon va quyonlar zararlantadi. Material oq sichqonga – 0,2 ml, quyonga – 0,5 ml dozada terisi ostiga yuboriladi. Quyonlarni avvalni pasterella tashuvchanlikga tekshiriladi – uch kun davomida ularning burun boʻshligʻiga 2 tomchidan 0,5 % li brilliurt yashilining suvdagi emulsiyasi tomdiriladi. Burun boʻshligʻidan yilngli ujramaning oqishi pasterella tashuvchanligini bildiradi. Ularda biosinov qoʻyish mumkin emas. Parrandalardan tekshirilayotgan material bilan – kabutar, tovuq, oʻralaklar mushaklari orasiga 0,3 ml suspenziya yuborib zararlantadi. Ijohiy natijada 18-36 soatda biosinovdagi hayvonlar oʻladi.

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

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

*Diapreparatlar.* Hozirgi vaqtda hayvonlarda pasterellozning oldini olish uchun oʻldirilgan va tirik vaktsinalar qoʻllanadi. Oxirgi yillarda hayvon va parrandalar pasterelloziga qarshi veterinariya amaliyotiga emulgirlangan vaktsinalar kiritilgan. Immunitet 6 - 12 oy davom etadi.

Oʻzbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy ahammiyatlardan qishloq xoʻjalik 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 giperimmunos qon zardobi ishlab chiqilgan.

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

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

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

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

**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan GPA, GPB, Endo muhitlariga ekiladi. Probirkali muhitlarga Paster pipetkalari bilan, Petri kosacha-

liridagiga spatel bilan yoki organlardan tanq'ga usulida ekiladi. Ekimlar 37–38°C da termostatda bir sutka eritiladi. *E. coli* aerob va fakultativ anaerob. Endo muhitida xarakterli koloniya bo'lsa, undan GPB, GPA, qonli ugarga ekiladi.

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

Biokimyoviy xususiyatlari – endo muhitida (117-rasm) uchi xit: qizil qoramoir tovlanadigan, mafina rangli pushti tovlanadigan va pushti koloniyalar hosil qiladi (laktozaning parchalanishi hisobiga), indol hosil qiladi, vodород sulfid ( $H_2S$ ) hosil bo'lmaydi, sumi iyiladi, metilrot bilan musbat, Voges – Proskaueru bilan manfiy reaksiya beradi. Gissa rangli qatorda (118-rasm) glukoza, laktozani kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi. Simmons muhitida *E. coli* o'smaydi, chunki ammoniy sulfat tuzlarini o'zlashtirmaydi. Ajratilgan kultura ARda tipospesetik agglutinatsiyalovchi koli – zardoblar bilan serologik tipizatsiyalanadi. Antigeni bo'yicha somatik «O», qobiqli «K», xivchinli «H» antigenlar tanq'lanadi (113-rasm). Biofabrikuda faqat «O» antigeniga diagnostik zardoblar ishlab chiqilgan. Shu bilan *E. coli* ning seroguruhlari 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.

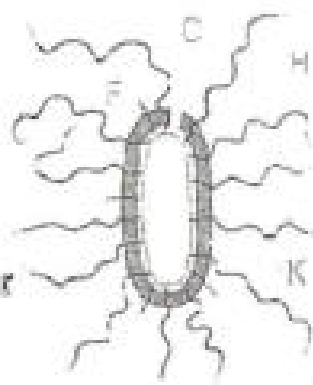
O'zbekistonda *E. coli* ning O26, O111, O78, O55, O41, O20, O9, O119, K99, 41, A 25, O86, O15, O8 va h.k. shtammlari uchraydi.

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

3. **Blosinov.** Uchta oq seltqonning qorin bo'shlig'iga sutkalik *E. coli* kulturasi suspenziyasi 500 ml/ml konsentratsiyada yuhuriladi. 5

sutka kuzatiladi. Shu vaqt ichida oq sichqonlarning bittasi o'lsa ham natija ijobiy hisoblanadi. Zaharlilik xususiyatiga ega kultura Shvarzman fenomenida quyonlar terisi orasiga yuborganda nekroz o'chog'i paydo bo'ladi (120-rasm).

*E. colining antigenlari*  
**O** (somatik)  
**K** (kapsulali)  
**H** (Xifchilni)  
**F** (Fimbriyalik) antigenlar



113-rasm. *E. coli* antigenlari.<sup>24</sup>

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

Mo'ynali hayvonlar salmonelloz va kolibakterioziga qarshi polivalent vaksina.

VIEV koliprotektani.

Qishloq xo'jalik hayvonlari kolibakterioziga qarshi polivalent zardob.

Agglutinatsiyalovchi O – koli zardoblar.

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

O'zbekiston veterinariya ilmiy tekshirish institutida mahalliy shtammlardan qo'zilar, cho'chqa bolalari va buzoqlar kolibakterioziga qarshi konsentrlangan gidrooksidaluminli vaksina. Buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalarining kolibakterioz va salmonel-

<sup>24</sup>P.J.Quim., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India 2016 y.p.58.

loz kasalliklariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaktsina.

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

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

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

**Patologik material.** Yangi o'lgan hayvon jasad 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.

**I. Mikroskopiya.** Patmateriallardan tayyorlangan tamg'ali surtmalar, ajratilgan qo'zg'atuvchi kulturasidan tayyorlangan surtmalar

Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rinishi: salmonellalar grammanfiy, tayoqchasimon, 2-4 mkm kattalikdagi bakteriya. Spora va kapsula hosil qilmaydi, bittadan, ba'zan ikkitadan joylashadi. *S.pullorum* dan tashqari, barchasi harakatchan (peritrixlardir). Harakati ezilgan yoki osilgan tomchi usulida tekshiriladi.

**2. Bakteriologiya.** Patmateriallardan GPA, GPB va elektiv muhitlardan birortasiga – Endo, Ploskirev, Levin, vismut-sulfit agarga ekiladi. Muhitning pH 7,2–7,4. Ekmalar 37-38°C da bir sutka davomida termostatda o'stiriladi. GPBda qo'zg'atuvchi bir xilda loyqalanish paydo qiladi. GPA da – silliq, rangsiz, tiniq yoki kulrang-ko'kimsir, chetlari tekis (*S* shakl), ba'zan kengish (*R* shakl) koloniyalar paydo bo'ladi (121-rasm). Endo, Levin, Ploskirev muhitlarida salmonellalar rangsiz yoki kulrang-ko'kimsir koloniyalar, vismut-sulfit agarda qora koloniyalar hosil qiladi (125-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 (122-rasm, o'rtadagi probirka).

Harakatchan kultura esa muhitning butun qalinligi bo'yicha o'sadi va u ham muhit yuzida parda hosil qiladi. Fermentativ xususiyatlari. Salmonellalar glukoza, mannitni parchalaydi, *laktosa*, *saxarozani parchalamaydi*, jelatinani eritmaydi, sutni ivitmaydi, metilen ko'kili sutni rangsizlamaydi, indol hosil qilmaydi, ko'pchiligi vodorod sulfid ( $H_2S$ ) hosil qiladi (123-rasm *S.typhimurium* kulturasi rangli qatorda o'sishi). Metilrot bilan musbat, Foges – Proskauera bilan manfiy natija beradi.

**Serologik tipizatsiya** uchun salmonellaning ajratilgan sof kulturasi avval polivalent salmonellozli agglutinatsiyalovchi «O» – zardoblar bilan tomchili AR usulida tekshiriladi (124-rasm). Ijoiy natija bersa, polivalent zardob tarkibiga kiruvchi alohida monoreseptorli «O» – zardoblar bilan tekshiriladi. Keyin aynan o'sha kulturalar monoreseptorli «H» zardob bilan (I va II fazalari raqam

va kichik harflar bilan belgilangan) tekshiriladi. Bundan tashqari immunofluoresent diaqnoz qo'yish usulini qo'llash mumkin.

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

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

*Biopreparatlar:* Buzoqlar salmonelloziga qarshi konsentrlangan formolachchiqtoshli vaksina.

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

Cho'chqalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaksina *S.choleraesuis* ning TS-177 shtammidan tayyorlangan. Buzoqlar salmonelloziga qarshi vaksina *S. dublin* №6 shtammidan tayyorlangan.

Qo'ylar salmonelloziga qarshi polivalentli formolmionersalli vaksina.

Suvda suzuvchi parrandalar salmonelloziga qarshi quruq tirik vaksina.

Buzoq, cho'chqa bolalari, qo'zi va parrandalarning salmonelloziga qarshi polivalent antitoksinli zardob. *S. Dublin*, *S.typhimurium*, *S. abortus ovis* *S. choleraesuis* shtammlaridan iborat antigen bilan immunlangan hayvonlarning qonidan olinadi.

Buzoqlar salmonellozi va kolibakterioziga qarshi bakteriofag hamda parranda pulloroziga qarshi bakteriofaglar. Salmonelloz va kolibakterioz bilan kasallanib, sog'aygan hayvonlardan ajratib olingan faglardan tayyorlanadi. O'zbekiston veterinariya ilmiy tadqiqot institutida mahalliy shtammlardan buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalarining kolibakterioz va salmonellozlariga qarshi assotsiatsiyalangan gidrooksidaluminli vaksina va immun zardob yaratilgan.

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

Pullorozli eritrositar antigen.

Parranda pullorozini tekshirish uchun rangli antigen. Formalin bilan o'ldirib, kristallviolet bilan bo'yalgan salmonellalarning gomogen suspenziyasi. Qon tomchili agglutinatsiya reaksiyasida parrandalar tirik vaqtida salmonellozga tekshirish uchun ishlatiladi.

Fluoressensiyalovchi salmonellozli O-zardoblar.

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

#### Nazorat savollari:

1. Tuberkeulyoz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
2. Brutselloz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
3. Cho'chqalar saramasi kasalligi, pasterelloz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
4. Pasterelloz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
5. Kolibakterioz qo'zg'atuvchisining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
6. Salmonelloz qo'zg'atuvchilarining morfologiyasi, kultural xususiyatlari, laboratoriya diagnostini ayting?
7. Salmonella va E.colilarning differensial – diagnostik muhitlarda o'sishi.
8. Salmonellalarning esherixiyalardan farqini ayting?

### Test savollari:

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

- a) 4
- b) 5
- c) 3
- d) 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
- c) kislotaga, spirt, ishqorga chidamli, qobig'ida steorin kislotalari, mum-simon moddalar bor
- d) ishqorga chidamli, sitoplazma va yadrosi o'zgargan, donador

3. Kislotaga chidamli bakteriyalar qaysi usulda bo'yaladi?

- a) Mixin
- b) Gram
- c) Kozlovskiy
- d) Sil-Nilsen.

4. Tuberkulozda patmaterialga ishlov berish – Gon va Alikayev usullarining farqi nimada?

a) Gon usulida patmaterialdan suspenziya 10-12%li  $H_2SO_4$  eritmasida tayyorlanib sentrafugalanadi. Alikayev usulida patmaterial  $0,5sm^3$  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. Alirayev usulida 10 daqiqa

c) Har xil foizli  $H_2SO_4$  eritmasi ishlatiladi

d) Suspenziya uchun olingan patmaterialning miqdori bilan farq qiladi.

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

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

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

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

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

6. Brusellalarning nechta turi bor?

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

1) 3

7. Qu'y-echklarda brusellalarning qaysi turi uchraydi?

a) Br. Neotomae

b) Br. Abonus

c) Br. ovis

d) Br. melitensis.

8. Homila tashlagan hayvonlardan brusellozga tekshirish uchun qoni qachon olinadi?

a) bir haftadan keyin

b) sht kun

c) ikki kun o'tib

d) bir oydan keyin.

9. Brusellozga tekshirganda patmaterialdan tayyorlangan sartaqlar qaysi usullarda tatyalladi?

a) Gram, Sjl-Nilsen

b) Gram, Kozlovskiy

c) Kozlovskiy, Romanovskiy-Ginza

d) Gram, Mixin, Peshkov

10. Qu'chqorlardan olingan patmaterial ekmalari qanday atmosferada o'tiriladi?

a) yarmi 10-15% CO<sub>2</sub>li atmosferada

b) udatdagi atmosferada

c) hammaisi 10-15% CO<sub>2</sub>li atmosferada

d) anasroh sharoitda.

11. Qoramollardan olingan patmaterisi ekmalari qanday atmosferada o'stiriladi?

a) anaasroh sharoitda

b) udatdagi atmosferada

c) hammaisi 10-15% CO<sub>2</sub>li atmosferada

d) yarmi 10-15%li atmosferada, qolganlari udatdagi atmosferada.

12. Brusellozda biosinroz qaysi laboratoriyu hayvonida qniyiladi?

a) dengiz chor'chqasi

b) quyon

c) uy sishqaci

d) jar'ju.

13. Brutsellozda qoramollar qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1:25dan 1:200 gacha
- b) 1:50dan 1:400 gacha
- c) 1:10dan 1:80 gacha
- d) 1:2dan 1:64 gacha.

14. Brutsellozda qo'ylar qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1:50dan 1:400 gacha
- b) 1:10dan 1:80 gacha
- c) 1:25dan 1:200 gacha
- d) 1:2dan 1:64 gacha.

15. Brutsellozda dengiz cho'chqalari qon zardobi nisbatlari AR uchun

- a) 1: 50dan 1:64 gacha
- b) 1:25dan 1:200 gacha
- c) 1:2dan 1:64 gacha
- d) 1:10dan 1:80 gacha.

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

- a) tayoqchalardan iborat kichik zanjirlar ko'rinishida
- b) uzun iplar shaklida
- c) bitta, ikkita, to'p-to'p joylashgan holda
- d) alohida joylashgan tayoqchalar ko'rinishida.

17. Saramasda biosinov qaysi laboratoriya hayvonlarida qo'yiladi?

- a) quyon, oq sichqon
- b) dengiz cho'chqasi, kabutar
- c) oq sichqon, kabutar
- d) kabutar, quyon.

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

- a) tuzli GPA, GPB
- b) GPB, Erdo, Levin
- c) GPA, Ploskirev, Gelberg
- d) GPB, GPA, GPJ.

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

- a) aerob, mikroaerofil, 37°Cda 18-24 soat o'stiriladi

- b) aerob, 41°Cda 18 soat o'stiriladi
- c) anaerob, 35°Cda 48 soat o'stiriladi
- d) anaerob, 37-38°Cda 16-18 soat o'stiriladi.

**20. Saramasga qachon diagnoz qo'yidi deb hisoblanadi?**

- a) patmaterialdan qo'zg'atuvchi kulturasi ajratilsa, surtmalarda xarakterli morfologik xususiyatlari bo'lsa
- b) lyuminissent mikroskopiyada qo'zg'atuvchi topilsa, sof kultura ajratilsa, biosinov natijasi ijobiy bo'lsa
- c) lyuminissent mikroskopiyada qo'zg'atuvchi topilmasa ham, patmaterialdan sof kultura ajratilsa
- d) mikroskopik va serologik tekshirish natijalari ijobiy bo'lsa.

**21. *Pasteurella multocida* qaysi oziq muhitlarda yaxshi o'sadi?**

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

**22. Pasterellozda patmaterial qaysi usullarda tekshiriladi?**

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

**23. Pasterellozda qaysi laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yiladi?**

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

**24. Quyonlar pasterellatashuvchanligi qanday tekshiriladi?**

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

**25. 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

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

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

**26. Kolibakterioz qanday shakllarda namoyon bo'ladi?**

a) teri, mushaklar zararlanishi, zaharlanish

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

c) septik, enterotoksemik, enterit

d) sepsisemiya, o'pkaning yallig'lanishi.

**27. Kolibakteriozda kasal hayvondan olinadigan patmaterial**

a) ichagidan qirindi

b) siydigi, qon, oqmalalar

c) sut, burun oqmasi

d) to'g'ri ichagidan tezagi.

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

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

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

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

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

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

a) O, H

b) O, K, H

c) K, O

d) K, H.

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

a) Seyssler agari, Ploskirev muhiti

b) Vismut sulfid agar, Kitt-Tarossii

c) GPB, GPA, Endo

d) qonli tuzli GPA, GPB.

**31. Salmonellozda kasal hayvondan olinadigan patmatrialllar qaysi bandda to'g'ri berilgan?**

a) barcha ekskret va sekretlar, parenximatoz organlari

b) tezak, siydik, qon, sut namunalari, parenximatoz organlari

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

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

**32. Salmonellalar qaysi oziq muhitlarda o'sadi?**

a) GPB, GPA, elektiv muhitlarda

b) GPJB, GPJA, eritrit agar

c) Seyssler agari, Gissa muhiti, GPJ

d) Gelberg, Petranyani, Vilson Bleyer muhitlari.

**33. Salmonellalar spora va kapsula hosil qiladimi?**

a) ha

b) yo'q

c) ikkalasi ham to'g'ri

d) ha'zida.

**34. Salmonellalarning qaysi turi harakatsiz?**

a) *S. enteritidis*

b) *S. typhimurium*

c) *S. pullorum (gallinarum)*

d) *S. choleraesuis*.

**35. Salmonellalar laktoza va saxarozani...**

a) parchalab gaz hosil qiladi

b) parchalaydi

c) parchalab kislota hosil qiladi

d) parchalamaydi.

**18-MAVZU.**  
**BATSILLALI INFEKSIYA – KUYDIRGI,**  
**QORASON, QOTMA KASALLIKLARI, BOTULIZM**  
**QO'ZG'ATUVCHILARI**

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

**Material va jihozlar:** patmaterial, qaychi, skalpel, pinset, buyum oynaqchalari, balyoqlar komplekti, mikroskop, moyqulani, kyuveta, preparatlar, biopreparatlar, jadvallar, plakatlar, kompyuter, videoprojektor.

**Ushubiy ko'rsatmalar**

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

**Kuydirgi kasalligi** – qo'zg'atuvchisi *Bacillus anthracis* (*Bacillus* avlodiga mansub). 1857-yilda Brauel ajratgan va o'rgangan. U ko'pchilik qishloq xo'jalik, yovvoyi hayvonlar, shuningdek, odamlarda intoksikatsiya, isitma, septisemiya, karbunkullar paydo bo'lishi bilan namoyon bo'ladigan, o'tkir yuqumli kasallik. Cho'chqalarda tamoq limfa tugunlari zararlanadi – angiooz shakli. Kuydirgi kasalligiga gumon qilinganda jasadni yorish man etiladi.<sup>35</sup>

**Patologik material.** Jasadning yetgan tarafidagi (pastdagi) quloq'i asosi ikki tomonidan orasi 1 sm bog'lanadi, o'trasidan kesib, kesilgan tomonlari qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. Kesilgan quloqni 3%

<sup>35</sup>Клименко В.Н., Котлячок Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3. Часть 2. Микробиология. М.: КолесС. 2007 г. с.41

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° etil spirti + 20 ml 30% li pergidrol bilan 30 daqiqa qotiraladi. Qo'zg'atuvchi harakatsiz, grammusbat tayoqchalar, qisqa zanjirchalar yoki juft-juft, bittadan joylashadi (126, 127-rasm). Tayoqchanning bir-biriga qaragan tomonlari tekis kesilgandek, ochiq qolgan tomonlari oysimon qayrilgan bo'ladi. Ko'pincha cho'chqalardan olingan patmaterialdan tayyorlangan surtmalarda qo'zg'atuvchining shakli o'zgarishi mumkin: tayoqchalar qisqa, yo'g'on, egilgan yoki donachali bo'lib, o'rtasi yoki ikki cheti shishgan bo'ladi. Kapsula hosil qiladi (hayvon organizmi yoki maxsus oziq muhitda), spora hosil qiladi (kultura va tashqi muhitda). Kulturadan tayyorlangan surtmalarda *B.anthraxis* tayoqchalardan iborat uzun zanjirlar hosil qiladi (133-rasm). O'lchamlari 1-1,3 x 3,0-10,0 mkm. Mikroskopik tekshirishlarning taxminiy natijasi haqida darhol javob ekspertizasi beriladi, boshqa tekshirishlar davom etayotgani ta'kidlanadi.

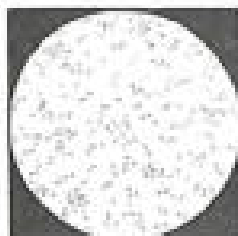
**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan GPB, GPA larga (pH 7,2-7,6) ekib, 37°C da termostatda 18-24 soat o'stiriladi, mikroob o'smagan bo'lsa, yana ikki sutka termostatda turadi. *B.anthraxis* – aerob. GPA da silliq (131-rasm), sal xira, kulrang, kengish (*R, RO, O*-shakl) koloniyalar hosil qiladi (128, 129, 130-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.

GPA tiq (shaffof) holda qolib, tubida yumshoq paxtasimon choʻkma hosil boʻladi (132 a-rasm). Probirkani silkitib koʻrganda choʻkma mayda boʻlakchalarga boʻlinadi yoki bulut kabi koʻtariladi. Baʼzan kultura diffuz holda oʻsib (yengil loyqalanish), silkitganimizda mayar toʻliqlarini paydo qiladi.

Qumonli holdarda kuydirgi kasalligi qoʻzgʻatuvchisini suprofit batsillalardan farqlash maqsadida uning harakatchiligi, gemolitik xususiyatlari aniqlanadi, lyuminissentli mikroskopiya, fagotiplash, «Marjon» testi oʻtkazilib, laboratoriya hayvonlari zararlantiriladi. Kuydirgi kasalligi qoʻzgʻatuvchisi – harakatsiz, GPJ da yuzaga yaqin joyda kislovd yetarli boʻlib, yaniga shoxlanib koʻproq oʻsadi. Chuqurlashgani sayin oʻsish kamayib, shoxlanish qisqardi, toʻnkarilgan arehu shaklida boʻladi (132 b-rasm). 3-5 kun oʻtib, jelatina eriydi va voronkasion shakl paydo boʻladi. qonli ugurdu gemoliz hosil qilmaydi (135-rasm), organizmda kapsula hosil qiladi. penitsilliga sezuvchan – «Marjon» testi ijobiy (134-rasm). 1 ml mutit tarkibida 0,5; 0,05 TB penitsillin bor GPA ga kultura ekiladi. 37-38 °C da 3 soat termostatda oʻstiriladi, qoʻzgʻatuvchi hujayrasi marjon shakliga kiradi. Lyuminissentli mikroskopiya «OKVC» fluoressent kuydirgi zarubi yordamida oʻtkaziladi. Bevosita yoki bilvosita fluoressensiyatuvchi antitelalar usuli qoʻllaniladi. Ijobiy natijada hujayra konturi toʻrt yoki uch nishonga nurlanish beradi.

**Fagotiplash:** oqar tomchi usuli («Gamma - MVA» yoki «K» VEV) kuydirgi bakteriofaglari bilan probirkalarda yoki mikrosulda bajariladi. 6 ta probirkadagi qiya GPA ga bir xilda urqutib tekshirilayotgan kultura ekiladi. 15 daqiqa 37 °C termostatga qoʻyiladi. Keyin 4 ta probirkaga bir tomchikun fag agarning cheklaridan 8-10 mm qoldirib tomdirilib, shlativga qoʻyiladi. 37 °C da 6-8 soatdan keyin fagolizis paydo boʻladi, 12-18 soatdan keyin yanada koʻproq namoyon boʻladi, yaʼni tomchining oqish yoʻllarida kultura oʻsmaydi. uning ustrufida kultura odatdagidek oʻsib, «borduro» shaklini beradi (136-rasm).

## Kolibakteriozning laboratoriya diagnostikasi



114-rasm. *E. coli* kulturası – grammasıfy katta tayyqchalar.



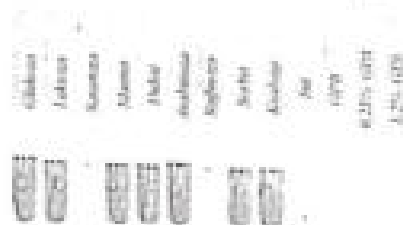
115-rasm. *E. coli* kulturası GPA da.



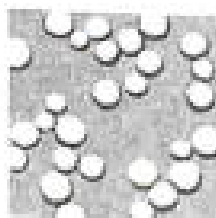
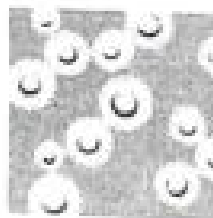
116-rasm. *E. coli* uzilgan xivchintari bilan. Elektromogramma.



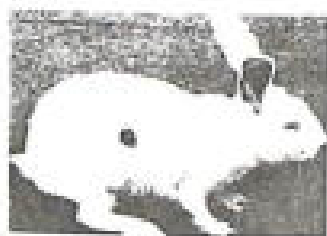
117-rasm. *E. coli* kulturası (chapda) va salmonella (o'ngda) Endo muhitida.



118-rasm. *E. coli* kulturası «Rangli qator»da.



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



120-rasm. Shvartsman jonsuveni.

## Salmonellozni laboratoriya diagnostikasi



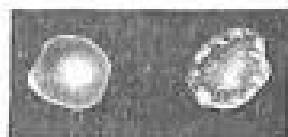
121-rasm. *Salmonella* koloniyalari. a) S-shaklda; b) R-shaklda.



122-rasm. *Salmonella* kulturasiini yarim sayiq GP1 da o'sishi.



123-rasm. *S. typhimurium* kulturasiining «Rangli qatorida» o'sishi.



a

b



a



b

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



1



a

b



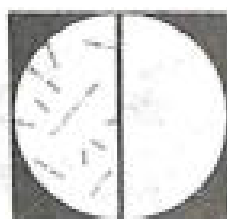
d

125-rasm. *E. coli* (a) va *S. typhi* (b) 1-laktos-laktozali agarda; 2-Endoda; *S. typhi* koloniyalari visimni sulfit (d) agarda.

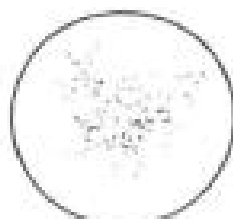
## Kuydirgi kasalligining laboratoriya diagnostikasi



126-rasm. *Bac. anthracis* qosdan tayyorlangan surinmada. Lyoffler usulida ko'rsalgan (chapqisqis) va boshqa ko'rsalgan.



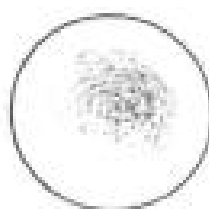
127-rasm. *Bac. anthracis* a-kapsullali mikroob, b-sporulanti.



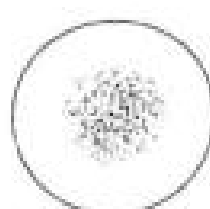
128-rasm. *Bac. anthracis* R-shakl koloniyasi.



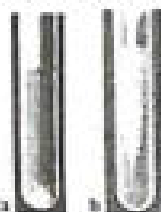
129-rasm. *Bac. anthracis* RO-shakl koloniyasi.



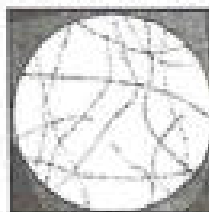
130-rasm. *Bac. anthracis* O-shakl koloniyasi.



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



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



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



134-rasm. «Martyana» testi.



135-rasm. *Bac. anthracis* (chapda) va *Bac. anthracoides* (o'ngda) qandayligida o'ishi.

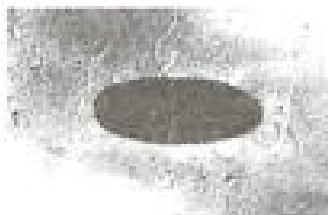


136-rasm. Bakteriofag: a-oqar tomchi; b-Petri karachida usuli.

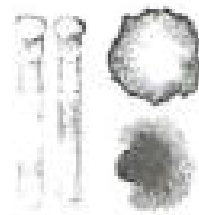
## Qorason kasalligining laboratoriya diagnostikasi



137-rasm. *Cl. Chauvoei* Kito-Tarvosi muhitidagi tayyorlangan surimada.



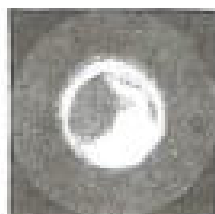
138-rasm. *Cl. Chauvoei* xifchilni tayyorgacha. Elektronogramma x200000.



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



140-rasm. *Cl. Chauvoei* Kito-Tarvosi muhitida o'rishti.



a



b



d

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



a



b



143-rasm. *Biosinor* buzogida. *Cl. Chauvoei* kulturasi mushakka yubarib zararlangan.

142-rasm. *Biosinor*da o'lgan dengiz cho'chqasi (24 soatda): a-teri asti klerehatkasi sarozli gemorragik yallig'langan; mushaklari qoraygan; b-ichaklarida atoniya, gaz yo'q, jigar qonqir to'lgan.

Unda boshqa tur mikroorganizm bo'lsa, kultura muhit sirtida bir xilda o'sadi va «bordyuro» 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 batsillalar topilsa;

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

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

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

Yirik shoxli hayvonlarning kuydirgi va qorason kasalliklariga qarshi asansiyatsiyalovchi tirik suyuq vaktsina.

**Davolovchi** – profilaktik zardoblar. Inaktivlangan kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisi kulturasi bilan odarni giperimmunlab olinadi.

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

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

Lyuminessensiyalovchi kuydirgi zardobi. Pretsipitatsiyalovchi kuydirgi zardobidan tayyorlanadi.

Kuydirgining diagnostik bakteriofagari. Bakteriofag bilan zararlangan qo'zg'atuvchining bilonli kulturasi filtrati. Bakteriofag titri 10.

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

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

**Patologik material** Laboratoriyaga tekshirish uchun zararlangan mushak bo'lakchalari (steril asboblار bilan chuqurroq kesib, mushakning o'rtiqismidan 3x3x3 sm o'lchamda zararlangan o'qima bo'lakchasi kesib olinadi), krepitutsiya qiladigan shishning eksudati yuboriladi. Jasad yorilgan bo'lsa jigar, taloqdan bo'lakchalar yurakdan qon olinadi. Putmaterial hayvon o'lgandan keyin 4 soatdan kechiktinmay olinadi.

1. **Mikroskopiya.** Patmaterialdan tayyorlangan surtmalalar Gram. Peshkov usulida bo'yaladi. Mikroskopda bo'lak-bo'lak yoki ikkitadan joylashgan polimorf (urchunqsimon, sharsimon, neksimon) donachuli

grammusbat tayoqchalar ko'rinadi. Peshkov usulida bo'yalgan surtmada sporalar ko'k rangda ko'rinadi. U tayoqchanning o'rtasida, chetlarida joylashishi, erkin holda bo'lishi ham mumkin. Kapsula hosil qilmaydi, harakatchan, uzunligi 2-8 mkm, eni 0,5-0,7 mkm, anaerob (137, 138-rasm).

**2. Bakteriologiya.** Patmaterialdan Kitt-Tarossi oziq muhitiga ekiladi. Buning uchun mushak, jigar, taloq bo'lakchalarini olovdan o'tkazib, keyin oziq muhitli probirkaga solinadi. Qon, ekssudatlar Paster pipetkasida ekiladi. Bir vaqtda Petri kosachalarida glukoza – qonli Seyssler agariga ham ekish mumkin. Patmaterial eski bo'lsa, undan fiziologik eritmada birga to'rt nisbatda suspenziya tayyorlab, 15-20 daqiqa 80 °C da qizdiriladi. Ekmalar 24-48 soat 37-38 °C da termostatda turadi. Kosachalar anaerob sharoitida 24-48 soat turishi kerak.

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

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

Sutni ivitadi. Glukoza, saxaroza, laktoza va maltozalarni intensiv kislota va gaz hosil qilib parchalaydi.

**3. Biosinov.** Patmaterialdan 1:10 nisbatda suspenziya tayyorlanadi. Suspenziya 0,5-1 ml dozada 350-450 g og'irlikdagi ikkita dengiz cho'chqasining qorin qismi terisi ostiga yuboriladi. Hayvonlar 8 sutka kuzatiladi. Material ijobiy bo'lsa, zararlangan hayvonlar 24-96 soat davomida o'ladi. Jasadni yorib, bakteriologik tekshirish kerak. Terisida serozli – nekrozli ajratma, qon quyilishlar bo'ladi. Teri zararlangan mushakdan qiyin ajraladi. Ko'krak, qorin, orqa oyoq mushaklari qoramtir qizil rangda bo'ladi. Chot va qo'ltiq osti qisimlarida kamgina gaz pufakchalari yig'iladi (142, 143-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 vaktsina 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 vaktsina. Immunitet 6 oy davom etadi. Konsentrlangan gidrooksialuminli tirik vaktsina. Immunitet 6 oy davom etadi. Ikkala vaktsinalarning dozasi 2 ml, mushaklar orasiga yuboriladi.

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

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

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

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

### **Toksinni ajratish**

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

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

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

Biosinovdagi hayvonlar 10 kun kuzatiladi.

*Tekshirilayotgan materialda va qotma toksini ajratilsa, kulturani ajratish uchun tekshirish o'tkazilmaydi.*

### **Qo'zg'atuvchi kulturasi ajratish**

**Bakteriologiya.** Patmaterialdan tayyorlangan suspenziya ikki probirka Kit-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 (145-rasm).

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

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

**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 neytrullanadi.

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

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

**I. Mikroskopiya.** *Cl. botulinum* – uchlari aylanasimon, spora hosil qiluvchi, anaerob tayoqcha. Sporolari oval shaklida bo'lib hujayra uchlariga yaqin joylashgani uchun **tennis raketkasi** shaklida bo'ladi. Grammusbat, harakatchan. O'lchami 4-6 mkm (149, 150-rasm). Toksini 15-20 daqiqadan ikki soatgacha qaynatilganda parchalanadi. Sporolari juda chidamli, 5-6 soat qaynatilganda o'ladi.

#### **Botulizm toksinini ajratish**

Patmaterial va oziq namunalaridan tayyorlangan suspenziya filtrlanadi. Ikkiga bo'linib bir qismi qaynoq suv hammomida

20-30 daqiqa qizdiriladi. Bittasiga qaynatilgan va ikkinchisiga qaynatilmagan filtratlar ikkitadan oq sichqon qorin bo'shlig'iga 0,5-0,8 ml dozada yoki dengiz cho'chqalari (300-350 g vaznli) terisi ostiga 3-5 ml dozada yuboriladi (153-rasm).

Agar botulizm toksini bo'lsa qaynatilmagan filtrat yuborilgan laboratoriya hayvonlari, ikkinchi beshinchi sutkada botulizmga xos klinik belgilari bilan (muvozanatni yo'qotish, nafasning tezlashishi, skelet mushaklarining bo'shishi, qorin devorining tushishi «ari belidek») o'ladi. Qaynatilgan filtrat yuborilgan hayvonlar esa sog' qoladi.

Ajratilgan toksin maxsus har xil tiplardagi botulizm zardobi bilan neytralizatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Buning uchun filtrat polivalent antitoksik botulizm zardobi bilan aralashtirilib, bir-ikki soat termostatga qo'yiladi. Keyin aralashma laboratoriya hayvonlariga yuboriladi. Toksin zardob bilan neytrallanib, hayvonlar tirik qoladi. HP natijasi to'rt kun davomida hisobga olinadi.

#### Qo'zg'atuvchini ajratish

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

Kitt-Tarossida qo'zg'atuvchining o'sishi muhit asta-sekin loyqalanib (2-3 sutkada), gaz hosil qiladi. Undan achigan moyning hidi keladi. Kultural suyuqlikda toksinlar 5-7 sutkada aniqlanadi (151-rasm).

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

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

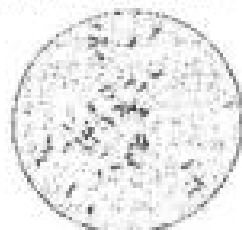
## Qotma kasalligining laboratoriya diagnostikasi



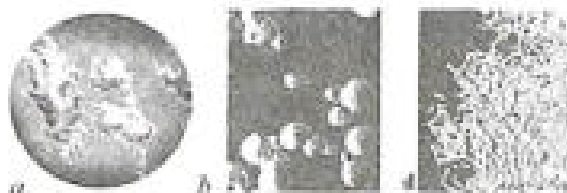
144-rasm. *Cl. tetani*: a-kulturada; b-bulyondan tayyorlangan sirtmada; d-xifchisi tayyorgacha.



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



148-rasm. *Cl. tetani* kulturada. Sporal tayyorgachalar.

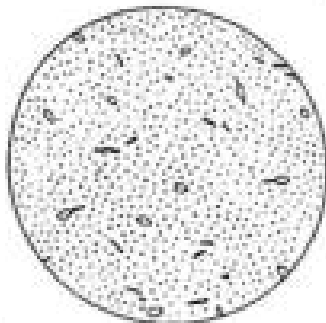


146-rasm. *Cl. tetani* qandli-yonli agarda: a-yumaloq koloniya-S shakl; b-R-shakl; d-luarir to'raltsimon koloniya-R-shakl.

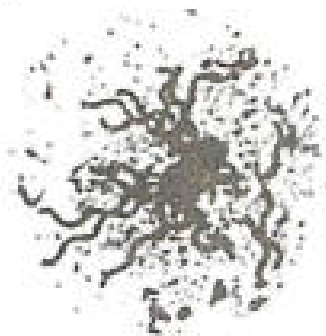


147-rasm. Dengiz cho'chqasida qotmaning klinik ko'rinishi.

**Botulizmning laboratoriya  
diagnostikasi**



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



150-rasm. *Cl. botulinum* tayyorga  
sivchilari bilan.



151-rasm. *Cl. botulinum* chapda-  
figarli buliyonda, o'ngda-qandli  
agarda o'rishi.



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



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

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

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

### **Nazorat savollari:**

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

### **Test savollari:**

1. Kuydirgi kasalligi gumon qilinganda jasadni yorish
  - a) qat'iy man etiladi
  - b) ruxsat etiladi
  - c) qisman amalga oshiriladi
  - d) ixtiyoriy.
2. Kuydirgi kasalligida olinadigan patmateriallar
  - a) parenximatoz organlardan bo'lakchalar, qon, ilik suyagi, limfa tugunlar
  - b) quloq, qon, taloq, tomoq limfa tugunlari, biriktiruvchi to'qima bo'lagi
  - c) zararlangan ichak bo'lakchasi, jigar o't xaltasi bilan, buyrak, qon
  - d) ajratmalar, balg'am, limfa tugunlar, qon, ilik suyagi, ichak bo'lakchasi.
3. Kuydirgi kasalligida surtmalar qaysi usulda qotiriladi?
  - a) etil spirtida 20 daqiqa
  - b) alanga ustida

c) maxsus spirt - pergidrolli eritmada 30 daqiqa

d) spirt – efrida 20 daqiqa.

4. Kuydirgi kasalligi diagnostikasida “Marjon” testi uchun qaysi antibiotik ishlatiladi?

a) eritromisin

b) streptomisin

c) tetrasiklin

d) penicillin.

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

a) lyuminiscent mikroskopiya, PR, biosinov natijasiga

b) mikroskopiya, bakteriologik tekshirish natijasiga

c) bakteriologiya, PR, mikroskopiya natijasiga

d) “marjon” testi, “fagotiplash”, mikroskopiya natijasiga.

6. Qorason kasalligida laboratoriyaga tekshirish uchun qanday pat-material yo'llanadi?

a) zararlangan mushak bo'lakchalari, gazli shish ekssudati, jigar, taloq, yurak

b) parenximatoz organlardan bo'lakchalar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi

c) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfa tugunlari

d) ekskret va sekretlar, parenximatoz organlardan namunalar.

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

a) Cl. septicum

b) Cl. chauvoei

c) Cl. oedematiens

d) Cl. perfringens.

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

a) oziq muhitda

b) tashqi muhitda

c) organizmda, tashqi muhitda

d) tuproqda.

9. Qorason kasalligi qo'zg'atuvchisi:

a) gr+, sporali, harakatsiz, kokksimon

b) polimorf, gr-, spora va kapsulali, harakatsiz tayoqcha

c) gr-, kapsulali, harakatchan tayoqcha

d) polimorf, gr+, sporali, harakatchan tayoqcha. bakteriya.

10. Qoraxna qo'zg'atuvchisi qanday oziqa muhitlarda va sharoitda o'sadi?

a) Kiri-Tarossi, g'yulana-qo'ni Seyssler agari, 37-38°C da, anaerob sharoitda

b) GPB, GPA, GPJlarda, 40-42°C da, aerob sharoitda

c) Kudo, Lavia, Ploskirev muhitlarida, 37°C da, anaerob sharoitda

d) Gissa muhiti, Gelberg, Lyuboshenko muhitlarida, 37°C da, anaerob sharoitda.

11. Laboratoriyada qoraxna kasalligiga quyisi usullarda tekshiriladi?

a) mikroskopiy, serologik, bakteriologya

b) mikroskopiya, bakteriologiya, tuximov

c) serologik, mikroskopiya, patanatmik

d) biologik, patanatmik, klinik.

12. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi qaysi?

a) Cl. nedemansiens

b) Cl. chauvoei

c) Cl. septicum

d) Cl. tetani.

13. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi:

a) bir uchida yumalig sporasi bor, baroban tayoqchasi shaklida

b) sporasi markazida joylashgan uchluqsimon shaklida

c) sporasi bir uchiga yaqin joylashgan, nuksimon shaklida

d) sporasi oval, limonsimon shaklida.

14. Qotma kasalligida laboratoriyaga qanday patomateriallar yo'llanadi?

a) zararlangan mushak bo'lakchalari, to'qluna eksudati, parenximatov organlar

b) jirohat sekreti, to'qima bo'lakchalari, qon, jigar, taloq

c) zararlangan mushak, ichak bo'lakchalari, limfo tugunlari

d) parenximatov organlar, ilik suyagi, zararlangan ichak bo'lagi.

15. Laboratoriya tekshiruvlari nechra yo'nallishda olib boriladi?

a) 4

b) 3

c) 2

d) 5.

16. Qotma kasalligi qo'zg'atuvchisi kulturasi qanday o'ziga xos hidi bo'ladi?

a) buzilgan tuxum hidi

b) achilgan moy hidi

- c) achigan baliq hidi
- d) kuydirilgan shox hidi.

17. Botulizm qo'zg'atuvchisining qanday tiplari bor?

- a) A,B,C,D,E,F
- b) C,D,E,F,Z,S
- c) A,B,S,Y,U,V
- d) W,S,C,V,E,R.

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

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

19. Botulizm laboratoriyaga yo'llanadigan patmaterial

- a) ilik suyagi, ingichka ichak bo'lakchasi, shirdon
- b) parenximatoz organlardan namunalar, ilik suyagi
- c) gumon qilingan oziqadan namunalar, o'lgan hayvon oshqozonidagi massa, jigar bo'lakchasi va kasal hayvonlarning qoni
- d) ekskret va sekretlar, ilik suyagi, parenximatoz organlar.

20. Botulizm toksinini ajratish:

- a) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, oziq muhitga ekiladi, biosinov qo'yiladi.
- b) suspenziya tayyorlab, filtrlanadi, suv hammomida 30 daqiqa qizdiriladi, biosinov qo'yiladi
- c) patmaterial suspenziyasi ekstraksiya qilinadi, filtrlanadi, biosinov qo'yiladi
- d) 1:2 suspenziya tayyorlab 2 soat uy haroratida qoldiriladi, filtrlanadi, 2ga bo'lib qaynoq suv hammomida 20-30 daqiqa qizdiriladi. Filtratlar bilan biosinov qo'yiladi.

21. Cl. botulinum:

- a) sporasi oval, hujayra tennis raketkasi shaklida
- b) sporasi yumaloq, hujayra baraban tayoqchasi shaklida
- c) sporasi oval, hujayra urchuq shaklida
- d) sporasi oval, yumaloq, hujayra nok, limon shaklida.

## 19-MAVZU. YEM-XASHAK MIKROBIOLOGIYASI

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

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

### Uslubiy ko'rsatmalar

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

O'rilgan o'tlarni quritish, pichan, senaj tayyorlash va siloslash yo'li bilan saqlash mumkin (154-rasm). Siloslash asosan haroratga, namlik va o'simliklar turiga bog'liq. O'sib turgan o'simliklar tanasida ularga ziyon yetkazmaydigan epifit mikroorganizmlar ko'p, chunki o'simlik hujayralari shu mikroorganizmlarga qarshilik qilish qobiliyatiga ega. Siloslangan paytida esa o'simliklarning mikroorganizmlarga qarshi himoyasi susayadi va yo'qoladi. Natijada, ayniqsa chirituvchi mikroorganizmlar rivojlanadi. Noto'g'ri siloslangan oziqlarda mog'or zamburug'lari, chirituvchi, moy kislotali bakteriyalar va hokazolar uchraydi. Buzilgan silosni yegan hayvonlarda zaharlanish alomatlari paydo bo'ladi. Uning oldini olish uchun silos laboratoriyada

tekshiriladi. Siloslangan oziqada shakar, sut kislota sirka kislotasiga nisbatan 2-3baravar ko'p boladi.



154-rasm. Silos tayyorlash uchun xomashyo.

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

#### **Silosni mikroskopik tekshirish**

Bir parcha silosni farfor havonchada kamroq distilangan suv bilan aralashtirib eziladi. To'qmoqcha bilan undan buyum oynachasida surtma tayyorlab, qotiriladi, ertirozin bilan bo'yaladi. Surtmani

mikroskopda ko'rib, chizib olinadi. Sifatli silosda bir-ikkita toyoqcha, kokklar ko'rinadi, yomon silosda ular ko'p miqdorda uchraydi.

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

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

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

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

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

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

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

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

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

Ekmalar 30-35°C haroratda termostatda 3 sutka o'stiriladi. 4 chi sutkada ularda mikroorganizmlarining fiziologik guruhlari aniqlanadi.

### **Silosning sifatini baholash**

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

Sifatli silosning hidi yoqimli meva, non kvasi, ho'l olma hidini eslatadi. Buzilgan silosdan sirka hidi paydo bo'ladi. Sifatsiz silosdan

turup, achigan moy, chirigan baliq hidi, ba'zan yoqimsiz go'ng hidi keladi.

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

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

#### **Silosning pH-ni aniqlash**

Silos pH-ni aniqlash uchun sifatli va sifatsiz silosdan alohida suvli so'rimlari tayyorlanadi. 100 g mayda qirqilgan silosni litrli idishga solib  $\frac{1}{4}$  hajmgacha distillangan suv quyiladi. Yaxshi aralashtirib 1 litrga yetgunicha suv qo'shiladi. 4-5 soat davomida vaqt vaqtida aralashtirib turiladi. Filtrlanadi. Farfor havonchaga 1 ml silosning suvli so'rimini solib, unga 1 tomchi universal indikator tomiziladi va aralashtiriladi. Aralashmaning rangi o'zgaradi. Standart indikator qog'oz rangi bilan taqqoslab pH aniqlanadi.

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

*4-jadval*

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

Silos suvli so'rimini indikator qo'shganidan keyingi rangi	pH ko'rsatkichi	Ball
Silos pfti		
Qizil	4,2 va past	5
Qizil-to'q sariq	4,2 - 4,6	4
To'q sariq	4,6 - 5,1	3
Sariq	5,1 - 6,1	2
Sarg'imitir-yashil	6,1-6,4	1

Yashil	6,4 – 7,2	0
Yashik-ko'k	7,2 – 7,6	0

*Hidi*

Xushbo'y, meva, biroz achigan non hidli	4
Kuchsiz xushbo'y, sirka kislotali, bodring hidli	2
O'tkir sirka kislotali, yog' kislota – hidli	2-1
Chirigan, sassiq, go'ng, o'tkir yog' kislota hidli	0

*Rangi*

Yashil	3
Qo'ng'ir yoki sariq-yashil	2
Qora-yashil	1
Qora	0

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

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

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

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

**Silosda mikrobiologik jarayonlarning rivojlanishi**

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

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

*Uchinchi faza.* Sut kislotali tayoqchalar miqdori ortib, sut kislolaning yuqori konsentratsiyasiga chidamsiz bo'lgani uchun kokksi-

mon bakteriyalar kamayib ketadi. Bu fazada pH 4,0-4,2 ga yetadi. sut kislota miqdori 1,5-2% oziqaga nisbatan.

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

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

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

**Oziqalarni tanlash va tayyorlash.** Achitqilar o'simliklardan olingan har xil oziqalarda rivojlanadi. Ayniqsa uglevodlarga boy va proteini kam oziqalar-kartoshka, lavlagi, oshqovoq, don va un ishlab chiqarish chiqindilari, pichanlarni ishlatgan yaxshi. Oziqa aralashma-

larida yetarli darajada uglevodlar, azotli moddalar va fosfor bo'lishi lozim. Hayvonlardan olinadigan oziqalarni (go'sht, qon, go'sht-suyak uni), oshxona chiqindilarini achitish kerak emas. Bunday muhitlarda chirtuvchi mikroorganizmlar tez ko'payadi. Kumbikorm, jmix, dukkakidarni tova o'zini achitish kerak emas.

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

Tarkibida eruvchi qand yetarli miqdorda bo'lgan oziqalarni achitish ko'proq samarali. Ko'pgina konsentrlangan oziqalarda (soli, arpa, maku, kombikorm) suvda eruvchi qand miqdori 2 % dan oshmaydi. Uni ko'paytirish uchun oziqani sozodlash, ya'ni sozod (undirib yaxshilgan bug'joy, arpa) qo'shish yo'li bilan yom-xashak sifatini yaxshilash. Bunda fermentlar faollashib, bir qism krazmalni qandga aylantiradi. Uning miqdori 8-12 % ga yetadi. Oziqani sozodlash 55-60°C haroratda issiq xonada 3-4 soat davomida olib boriladi.

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

**Ko'pchitish usulida** avval xamirturush ko'pchitilib tayyorlanadi, keyin oziqa achitiladi. Ko'pchigan xamirturushni tayyorlash uchun, presslangan achitqi suyultirilib oziqa bilan aralashiriladi (1 % achitqi va oziqaning 5 eki qismi) va 6 soat davomida har 20-30 daqiqada aralashirib turiladi. Keyin oziqaning qolgan qismi 2 barobar sov qo'shib yana qayta aralashiriladi va yana 3 soat tursadi. Shu vaqt davomida vaqti-vaqti bilan aralashirilib tursa, achitish jarayoni kechadi.

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

Hamirturush (achitqi) kam bo'lgan xollarda **ivitib-achitish usuli** qo'llaniladi. Avval ivitqi tayyorlanadi, oziqa solodlanadi va u achitiladi. Ivitqi tayyorlashni bir necha usullari bor, hammasi bir narsaga asoslanadi – 0,5 kg zichlangan xamirturush, kamroq miqdordagi yaxshi achiydigan uglevodli oziqalarda (kepak, suli, arpa) 30-35°C dan past bo'lmagan haroratda 5-6 soat davomida saqlanadi. Solodlangan oziqaga shuncha miqdorda suv va ivitqini yarmi qo'shiladi. Yaxshilab aralashtirib, yopiladi va 6 soatga iliq joyga qo'yiladi.

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

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

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

#### Nazorat savollari:

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

5. Silosda mikrobiologik jarmyonlarning rivojlanish fozalariga tushuncha bering?

6. Achitqı zamburug'lari bilan oziqani achitishning mohiyatini tushuntiring?

7. Oziqlarni achitishda qanday achitqı zamburug'lari ishlatiladi?

8. Achitqılarning rivojlanishi uchun qanday sharoitlar kerak?

9. Oziqani achitishning qanday usullari bor?

10. Achitqılarning o'sishi va ko'payishi qanday nazorat qilinadi?

#### Test savollari:

1. Siloslashi asosan nimalarga bog'liq?

a) harorat, namlik va o'simliklar turiga

b) osimlikni quritish darajasi, mohitiga

c) namlik, mikroblar bilan ifloslashish darajasiga

d) mikroblar bilan ifloslashish darajasiga va turiga.

2. Qanday mikroorganizmlar epifit mikrofloraga kiradi?

a) Osimliklarning faqat bargida ko'payadiganlari

b) Osimliklarning yer usi qismida ko'payadiganlari

c) Osimliklarning yer osti qismida ko'payadiganlari

d) Osimliklarning faqat bandida ko'payadiganlari.

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

a) Zararlaydi

b) Tuzini tanlab zararlaydi

c) Zararlanmaydi

d) Faqat birgini zararlaydi.

4. Silosda mikroorganizmlarning maksimal miqdori qancha paytda bo'ladi?

a) 3 kuni

b) 20 kuni

c) 10 kuni

d) 7 kuni.

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

a) 3

b) 2

- c) 1
- d) 4.

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

- a) bir-ikkita zamburug', kokklar ko'rinsa
- b) bir-ikkita tayoqcha, kokklar ko'rinsa
- c) bir-ikkita tayoqcha, achitqi ko'rinsa
- d) bir-ikkita spora, zamburug'lar ko'rinsa.

7. Siloslash jarayoni nechta fazada o'tadi?

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

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

- a) 3 ball va undan past baholansa
- b) 4 ball va undan past baholansa
- c) 5 ball va undan past baholansa
- d) 6 ball va undan past baholansa.

9. Achitqilar oziqani nima bilan boyitadi?

- a) Oqsil, vitamin, ferment
- b) Vitamin, makro-, mikro elementlar
- c) Ferment, gormon, ami nokislotalar
- d) Toksin, oqsil, fermentlar.

10. Achitqilar tarkibida oqsil necha foizni tashkil etadi?

- a) 18-22%
- b) 48-52%
- c) 20-25%
- d) 3-5%.

11. Oziqani achitishni nechta xil usuli bor?

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

**12. Oziqani uchtitishni qanday usullari bor?**

- a) Ivitib, sovutib, ko'pchitib
- b) Ivitmay, ko'pchitib, qurqib
- c) Ko'pchimay, quruq, issiq
- d) Ko'pchitib, ko'pchimay, ivitib.

**13. Ko'pchigan xamirturushni tayyorlash uchun:**

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

**14. Ko'pchimay achitish usulida oziqaning hammasini birdan uchtitish uchun:**

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

**15. Ivitib uchtitish usulida avval:**

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

**16. Oziqani uchtitish uchun eng yaxshi achitqi qaysi?**

- a) pivu achitqisi
- b) non achitqisi
- c) vino achitqisi
- d) oziqa achitqisi.

## 20 -MAVZU.

### SUT VA SUT MAHSULOTLARINI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

**Mashg'ulotning maqsadi:** Sutdagi mikroorganizmlar sonini hisoblash, koli-titrini aniqlash, reduktaza namunasini qo'yish. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasini ajratish.

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

#### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

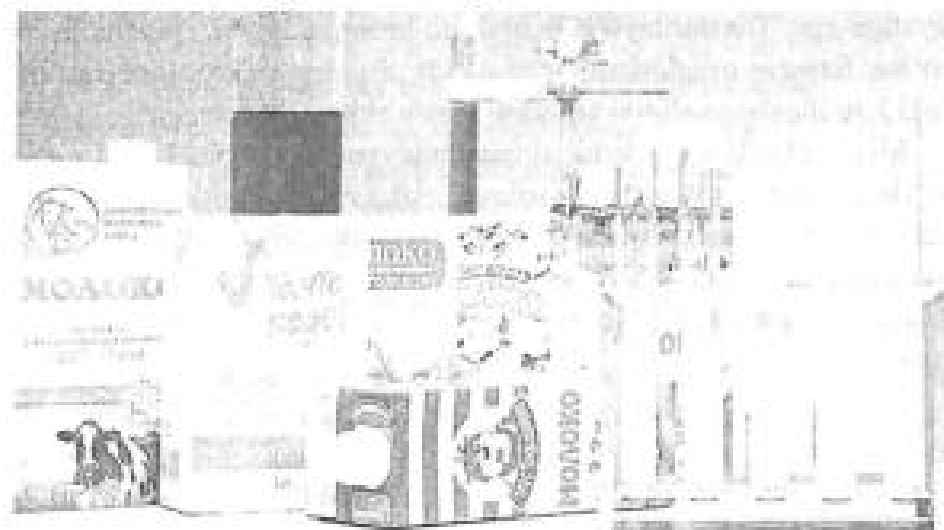
1. Sut namunasidan ketma-ket suyultirmalar tayyorlab oziqa muhitlarga ekish.
2. Reduktaza namunasini qo'yish.

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

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

Sutdan suyultirmalar tayyorlashdan avval unda taxminan qancha mikroblar borligini bilish kerak: alohida bir sigirdan olingan yangi sutning 1 mlida 10 000, yig'ilgan sutda 100 000, sut zavodida yig'ilgan sutda 100000 dan 1000000 mikroblar bo'ladi. Sut tarkibidagi mikroblar miqdori qancha ko'p bo'lsa, suyultirish darajasi shuncha yuqori bo'lishi kerak. Lekin oxirgi suyultirmada 1-10 ta tirik mikroblar hujayralari qolishi kerak.

Suyultirma tayyorlash uchun 9 ml dan steril suvi bor 7 ta probirka raqamlanadi, birinchisiga steril pipetka bilan 1 ml sut namunasini quyib aralashiriladi 1:10 nisbat hosil bo'ladi. Shu tarzda 1:1000000 gacha ketma-ket suyultirmalar tayyorlanadi.



*155-rasm. Sut va sut mahsulotlarini laboratoriyada tekshirish.*

Quyidagi oziqa muhitlarga ekiladi:

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

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

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

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

Ekmalar Petri kosachasidagi GPA termostatda 37°C, Suslo agar 25-28°C haroratda 2-3 sutka o'stiriladi. Sut va laktozali probirkadagi ekmalar termostatda 30-40°C haroratda o'stiriladi.

### **Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash uchun reduktaza namunasini qo'yish.**

1. *Metilen ko'ki bilan sinash.* Reduktaza bu mikroorganizmlar ajratadigan ferment bo'lib, metilen ko'kini rangsizlantirish xususiyatiga ega. Tekshirilayotgan sutda mikroorganizmlar qancha ko'p bo'lsa, ferment miqdori shuncha ortadi. Sutning mikroblar bilan oz yoki ko'p ifloslanganligini aniqlash aynan shunga asoslangan.

Metilen ko'kining ishchi eritmasini tayyorlash. Avval bo'yoqning to'yingan spirtli eritmasi tayyorlanadi: 10 g metilen ko'ki 100 ml 96% etil spirti bilan aralashtiriladi. Eritma 1 sutka termostatda 37° Cda saqlanadi, filtrlanadi. Ushbu to'yingan eritmaning 5 ml ga 195 ml distillangan suv aralashtirib metilen ko'kining ishchi eritmasi tayyorlanadi.

*5-jadval*

*Sutning rangsizlanishi va bo'yalishi bo'yicha sifatini baholash*

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

*Reaksiyani qo'yish.* Bakteriologik probirkaga 1 ml metilen ko'kining ishchi eritmasi va 20 ml sut namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashtirib 38-40°C li suv hammomiga qo'yiladi. Sutning rangsizlanishi 20 daqiqa, 2 soat va 5,5 soatdan keyin hisobga olinadi. Rangsizlanish vaqtiga bog'liq ravishda sut 4 sinfga bo'linadi (5-jadval).

*Metilen ko'ki bilan sutni tekshirishni tezlashtirilgan usuli.* Steril probirkalarga 1 ml metilen ko'kining ishchi eritmasi va 10ml

sut namunasini quyib rezina tiqin bilan yopiladi. Ohista aralashdirib 38–40°C li suv hammomiga quyiladi. Sutning rangsizlanishi 5, 10, 15 daqiqadan keyin hisobga olinadi. Bu vaqtda sutning rangsizlanishi, uning 1 ml da 10 millionlab mikroorganizmlar bo'ligini ko'rsatadi.

### **Mikroblarni bevosita mikroskopda sanash**

Drayer – Korolev usuli. Bu usul standart suspenziyadagi hujayralar bilan tekshirilayotgan sudagi mikroblar sonini taqqoslashga asoslangan. Standart bu biror mikrobrning (masalan, achitqi) fiksatsiya qilingan, o'ldirilgan aralashmasi bo'lib, uning 1 ml da 10 mln hujayra bor. Yaxshilab silkitib 1 ml dan standart va sut namunasini olib aralashdiriladi. Yog'sizlantirilgan buyam oynachusiga bir tomchi aralashma yoyib surtiladi. Qotirib, bo'yagandan keyin mikroskopning 10 – 20 ta ko'rish maydonida standart hujayra va boshqa mikroblarni alohida sanaladi. Keyin mikroblar hujayrasining o'rtacha soni standart mikrobrning o'rtacha soniga taqqoslab aniqlanadi.

*Misol: 20 ta ko'rish maydonida 60 ta standart hujayra va 80 ta mikroblar hujayrasini aniqlandi. 1 ml standartida 10 mln hujayra bo'lsa, 1 ml tekshirilayotgan sut namunasida taxminan 13 mln hujayra bo'ladi.*

$$X = 80 \times 10^6 : 60 = 13,10^6.$$

### **Sutda mikroblarning umumiy miqdorini aniqlash**

Har bir mikroblar hujayrasini zich oziq muhitda koloniya hosil qiladi. Tekshirilayotgan sudagi mikroblar miqdorini Petri kosachalaridagi zich oziq muhitda o'sib chiqqan koloniyalarni sanash bilan hisoblanadi.

Agar ko'p koloniyalar o'sgan bo'lsa sanash qulay bo'lishi uchun kosacha bir necha sektorlarga bo'linadi. Sutning har xil suyultirish darajasidagi ekmalardan koloniyalar sanaladi. Sanash natijalarini taqqoslab, koloniyalarning o'rtacha soni aniqlanadi. 1 ml sudagi

mikroblar soni umumiy koloniyalar miqdorini sutning suyultirish darajasiga ko'paytmasiga teng.

1 ml sutda qancha mikroblar borligi uni steril yog'i olinmagan yoki olingan sutga ekkanda uni ivishiga qarab hisoblanadi.

*Ma'lolan: agar birinchi beshta probirkalarda ivinsa, 1 ml'da 100 ning mikroblar hujayra bor, birinchi oltita probirkalarda ivinsa, 1 ml'da 1 mln. mikroblar hujayra bor.*

### Sutning koli-titrini aniqlash

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

Sut yoki sut mahsulotlari avval 1:10, 1:100 va h.k. nisbalarida suyultiriladi. Keyin Kessler muhiti bor oltita probirkadan uchtasiga 1 ml'dan, qolganlariga – 0,1 ml har bir suyultirmedan solib ekiladi. Ekmalarda 43°C haroratlarda termosutga ikki sutka qo'yiladi. Oltita probirkaning hatimmasida gaz hosil bo'lmasa mahsulotning tozaligidan dalolat beradi, va uning koli-titri 3 ml'dan yuqori hisoblanadi: 1 ml ekilgan probirkaning bittasida gaz hosil bo'lsa, koli-titr 3 ml'ga teng; birdan oqitig 0,1 ml ekilgan probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 ml; olti yoki beshta probirkalarda gaz hosil bo'lsa koli-titr 0,3 ml'dan kam hisoblanadi. Hunday sut iste'molga yararoqsiz bo'ladi.

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

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

## Siyir sutining mikrobiologik tashifi

Sut pasteurizatsiyalangan	1 ml suda umumiy mikroblar soni	Ixlak tayanchosining tiri, ml
Bullka va jasketlarda.		
Guruh A	75 000	3
Guruh B	150 000	0.3
Flyuga va sistemalarda	500 000	0.3

**Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasi**ni ajratish. Sut kislotali bolgar tayogchularini ajratish uchun pnestokvashadan ilmoqda olib steril sutga ekiladi. 40-45°C da termostarda o'stiriladi. Ikki sutka dan keyin sut ivigan probirkalardan surtmalar tayyorlab, mikroskopda ko'riladi.

## Nazorat savollari:

1. Sutdagi mikroorganizmlar miqdori va guruhini aniqlash usulini ayting?
2. Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini reduktaza namunasida aniqlashi.
3. Sutda mikroblarning umumiy miqdori qanday aniqlanadi?
4. Mikroblarni hevasita mikroskopda sanash usulini ayting?
5. Sutning koldi-turini aniqlash usulini ayting?
6. Sutga ta'rif bering?
7. Sut kislotali bakteriyalarning toza kulturasi ni ajratish.
8. Siyir sutining mikrobiologik tashifiga tashuncha bering?

## Test savollari:

1. Sut bu nimalar?
  - a) ichki sekreziya bezni mahsuloti
  - b) Sut emizuvchilar sut bezining sekresi
  - c) O'zmetik tayyorli ichimlik
  - d) A'yevalar o'qimida topiladigan soyuqlik.
2. Olingan sut umumiashi uchun vaqtda uzig muhitga ekiladi?
  - a) olgan zahoti. 3 soatdan kechiktinmay

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

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

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

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

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

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

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

**6. Sutdagi mikroblarni mikroskopda sanash qaysi usulda bajariladi?**

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

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

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

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

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

d)5.

9. Butilka va paketlarda pasteurizatsiyalangan A gurubiga kiradigan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasi ning tittel qancha bo'ladi?

a) 50 000, 4

b) 75 000, 3

c) 25 000, 2

d) 15 000, 1.

10. Butilka va paketlarda pasteurizatsiyalangan B gurubiga kiradigan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasi ning tittel qancha bo'ladi?

a) 50 000, 2

b) 75 000, 3

c) 150 000, 0,3

d) 25 000, 0,3.

11. Flyuga va slaternalarda pasteurizatsiyalangan sutning 1 ml da umumiy mikroblar soni va ichak tayoqchasi ning tittel qancha bo'ladi?

a) 50 000, 2

b) 75 000, 3

c) 25 000, 0,3

d) 300 000, 0,3.

12. Sut kistotali bakteriyalarining toza kulturasini ajratish uchun namunaga quyil oziq muhitga ehtiladi?

a) steril sutga

b) qon zarfichiga

c) GIPB, GPA larga

d) Ersko, Levin muhitlariga.

## 21-MAVZU. GO'SHT, TUXUMNI MIKROBIOLOGIK TEKSHIRISH

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

**Material va jihozlar:** Sifati yaxshi (№1) va buzilgan (№2) go'sht namunalari, qaychi, pinset, scalpel, gensianviolet, lyugol, etil spirti 96°, sil fuksini, spirt lampasi, bakteriologik ilmoq, kyuveta ko'prikchasi bilan, distillangan suv, mikroskop, immersion moy, buyum oynasi, filtr qog'oz, Nessler reaktivi, benzidinning 0,2 % eritmasi, spirt lampasi, yangi va eskirgan tuxum namunalari, ovoskop, stakanda suv, GPB, GPA, Saburo oziq muhitlari, mavzuga oid plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi darsni tushuntirib, talabalarga vazifa beradi:

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

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

Sogʻlom hayvonlardan olingan goʻshtda odatda, mikroorganizmlar boʻlmaydi. Ammo qulay sharoitlarda goʻsht mikroorganizmlar bilan endogen va ekzogen zararlanishi mumkin. Goʻsht mikroorganizmlarning yashashi va rivojlanishi uchun yaxshi oziq muhit hisoblanib mikroorganizmlar goʻshtning sifatini buzadi.

*Goʻshtni mikroorganizmlar taʼsirida buzilishi.* Goʻshtni chirishi uning yetlishidan keyin boshlanadi. Bunda anaerob va aerob mikroorganizmlar ishtirok etib, oqsil moddasini zaharli moddalarga ( $\text{NH}_3$  va N) parchalaydi. Goʻshtda mikroorganizmlar taʼsirida buzilishlar roʻy berganda, uning rangi, xidi taʼmi va konsistensiyasi oʻzgaradi (156-rasm).

*Goʻshtning pigmentatsiyasi.* Pigment (rang) hosil qiluvchi bakteriyalar goʻshtning ustki qatlamida rivojlanadi. Ular sariq, koʻk, qizil, ranglar hosil qiladi. Ular zaharli moddalar ishlab chiqarmaydi.

Goʻsht mahsulotlaridan zaharlanish 2 guruhga boʻlinadi. Toksikoinfeksiya va toksikozlar. Toksikoinfeksiyalarni salmonella guruhidagi bakteriyalar, shartli patogen mikrofloralar va kokklar keltirib chiqaradi. Toksikozlarni esa faqat mikroorganizmlar ajratib chiqargan zaharlari qoʻzgʻatadi.



156-rasm. Mikroorganizmlar paydo qiladigan goʻshtning kamchiliklari.

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

#### *Natijani hisobga olish*

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

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

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

#### **Go'shtda mikroblarning umumiy sonini aniqlash**

Har bir go'sht namunasi steril qaychi bilan 1-2 g kesib, steril boksga solinadi va o'lchanadi. Steril hovoncada to'qmoqcha bilan ezib 10 ml steril suvda suspenziya tayyorlanadi. Steril Petri kosacha-

laviga 1 ml suspenziya va 10-12 ml eritib 45°C gacha sovutilgan GPA quyiladi. Uni uylanma harakatlar bilan aralashtirib, zichlashguncha qoldiriladi. Kneachalarni teskari to'ntarib termostatga 37°Cga bir sutka qo'yiladi. 1 g go'shtdagi mikroblar sonini aniqlash uchun unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga ko'paytiriladi.

### **Vodorod kontlari miqdori aniqlash (pH)**

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

*Natija* – yangi go'shtda pH 5.9-6.4; gumonlida – 6.6; yaroqsizida – 6.7 va undan yuqori.

### **Nessler reaktiv bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul)**

Ikki ta probirkaga olib birlasiga 1 ml go'sht ekstrakti filtrati. Ikkinchisiga 1 ml distillangan suv quyiladi. Probirkalarga Nessler reaktivi tomchili bilan qo'shiladi. Har bir tomchini qo'shganidan so'ng rangining o'zgarishi va cho'kmaning hosil bo'lishi hisobga olinib, + lar bilan belgilanadi (jadval 7).

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

**Benzidin sinov reaksiyasida go'sht ekstrakti filtratidan probirkaga 2 ml olib unga 5 tomchi benzidinning 0.2%li spirtli eritmasi va 2 tomchi 1%li vodorod peroksidi qo'shiladi, silkitib aralashiriladi. Natijani hisobga olish:**

1. Sifatli go'sht – aralashma 0.5-1.5 minutda ko'k-yashil rangga kiradi.

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

7-jadval

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

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

**Tuxum mikroflorasi.** Tuxum 3 ta asosiy qism: oqsil, sarig'i va po'stloq osti g'ilof hamda po'stloqdan iborat. Parranda tuxumi vitaminlarga boy oziqa hisoblanadi. 100 gram tuxum sarig'ida 2500 – 5000 mkg vitamin A – (retinol), 3,5 – 12,5 mkg vitamin D, 200 mkg – vitamin B<sub>2</sub> (tiamin), 600 mkg vitamin B<sub>1</sub> (riboflavin) mavjud. Tuxum oqsillar, yog', uglevodlar, mineral moddalar, suvdan, po'stloq'i esa 90 % kalsiy fosforidan iborat. Tuxum oqsilining tabiiy xususiyatlari pasayishi natijasida uning po'chog'idagi mikroorganizmlar ichiga kirib turli xil buzilishlarni hosil qiladi. Bunday tuxumlar kasallik

infeksiyalarini tarqatuvchi manba bo'lib, hisoblanadi va odamlarda toksikoinfeksiyani qo'zg'atadi.

Tuxumga mikroblar faqat uainig shakllanish vaqtida enas, saqlash vaqtida ham tushadi. Tuxum po'stloq bilan himoyalangan bo'lib, unda diametri 4-10 mikromli teshiklari bor. Po'stloqning 1 sm<sup>2</sup> da ularning miqdori: tuxum yo'nalishida 147, go'sht yo'nalishida – 132 ta. Mikroblar shu teshiklardan tuxumning ichiga kiradi. Harorat va namlikning ortishi huuga ko'pincha ko'p bo'ladi. Sifati buzilgan tuxumda vulgar protei, ichak tsyooqchasi, zamburug', achitqi va h.k. mikroorganizmlar topiladi. Tuxum oqsili mikroorganizmlarning rivojlanishi uchun juda yaxshi oziqa muhit. Ko'pincha eski, uzoq saqlash natijasida himoya kuchi kamayib, lizosimi neytrallangan tuxumlar zararlanadi. Yangi tuxumda tabiiy immunitet bo'ladi. Lizosim miqdori tovuq tuxumining oqsilida ko'p (5,71 mg/ml), suvda suzuvchilarda kamroq: u'rdak (1,80 mg/ml), g'oz (0,38 mg/ml). Tovug' oqsilida mikroblarning rivojlanishi mahsulotlarning buzilishiga olib keladi. Bunday tuxumlarini uvoskopda tekshirganda qora dog', nuqta shaklida koloniya ko'rinadi.

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

#### **Mikroorganizmlar ta'sirida tuxumning buzilishlari**

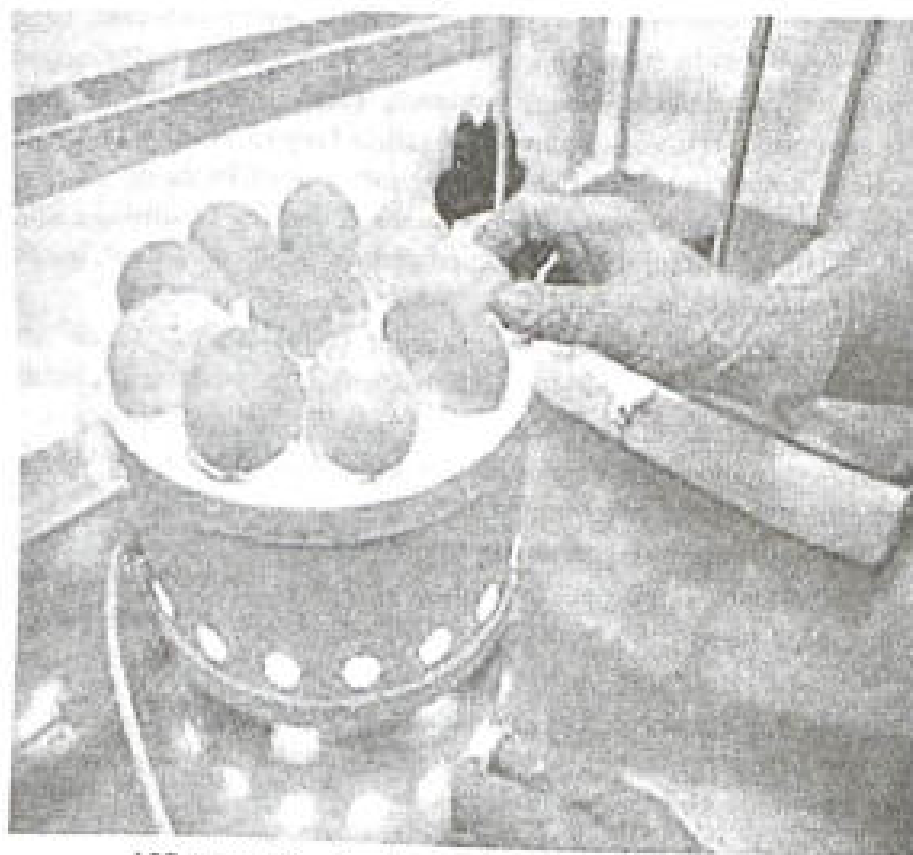
Mog'orlash – mog'or zamburug'lari havo kamerasi yaqinida koloniyalar hosil qilib yovug'lik o'lkazmaydi, har xil qora, ko'k, qo'ng'ir, ko'kimtir dog'lar hosil bo'ladi. Giflar zich to't hosil qiladi, oqsil eriydi. Ko'pincha *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* avladi vakillari uchraydi.

Tuxumning chirishi – ammonifikatorlarin proteolitik fermentlari ta'sirida oqsil chirib parchalanadi, natijada ammiak, yodopod sulfid va boshqa gazlar hosil qiladi. Bunday gazlar po'stloqni yoritishiga

olib keladi, tuxum oqib atrofidagi boshqa tuxumlarni mikroblar bilan zararlaydi. Zararlangan tuxum oqsili suyuq-yashil, qora ba'zan sariq rangda. Ulardan *Pseudomonas*, *Proteus*, shuningdek, *Escherixia*, *salmonella*, pichan tayoqchasi, sarsina va h.k.lar ajratiladi.

#### **Tuxumning yangiligini aniqlash:**

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



*157-rasm. Ovaskopiya usulida tuxumni tekshirish.*

Yangi tuxumning havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i markazida joylashgan bo'ladi. Biroz eskirgan tuxumda dog' va yorilish hosil bo'ladi. Eskirgan tuxumdan yorug'lik faqat havo kamerasidan o'tadi.

*Tuxumni suvga solish namunasini qo'yish.* Tuxumni o'tmas tomonidan ehtiyotlik bilan stakandagi suvga solinadi. Bunda eski, sifati buzilgan tuxum turib qoladi yoki qalqib chiqadi. Yangi tuxum – stakan tubida yotadi.

### **Tuxumni mikrobiologik tekshirish**

Eski, sifati buzilgan tuxum ichidagi massadan (oqsili va sarig'idan alohida) surtna tayyorlab Gram usulida bo'yaladi. Mikroskopda ko'rib mikroblarning tarkibi va miqdori bo'yicha tuxumda kechayotgan jarayonlar haqida mulohaza qilinadi. GPB, GPA, Saburo muhitlariga ekiladi va termostatda o'stiriladi.



*158-rasm. Tuxumni tekshirishga tayyorlash.*

### Nazorat uchun savollar:

1. Go'stni mikrobiologik tekshirish usullarini ayting?
2. Go'stga mikroblarning umumiy soni qanday aniqlanadi?
3. Goshning pH ni aniqlash usulini ayting?
4. Nessler reaktivi bilan ammiakni aniqlash (tomchili usul).
5. Benzidin sinov reaksiyasida go'shtning sifatini aniqlash.
6. Tuxumni yangiligini aniqlash usullari qanday?
7. Mikroorganizmlar tufayli tuxumda qanday buzilishlar kuzatiladi?
8. Nima uchun suvda suzuvchi parrandalar (o'rdak, g'oz) tuxumlari xavfli hisoblanadi?
9. Tuxumni tekshirishning mikrobiologik usullari.

### Test savollari:

1. Go'sht nima maqsadda mikrobiologik tekshiriladi?
  - a) pH, rangini aniqlash
  - b) mikroblar bilan ifloslanganligi, kasallik qo'zg'atuvchisini, iste'molga yaroqliligini aniqlash
  - c) iste'molga yaroqliligini, biokimyoviy ko'rsatkichlarini aniqlash
  - d) biokimyoviy ko'rsatkichlarini, harorat, namlik darajasini aniqlash.
2. Go'sht mikrobiologik tekshirishdan avval qaysi usulda tekshiriladi?
  - a) patanatomik
  - b) ovoskopik
  - c) organoleptik
  - d) mikroskopik.
3. Go'sht namunalarini mikroskopik tekshirish uchun uning qayeridan surtmalar tayyorlanadi?
  - a) yuza qatlamidan
  - b) ichki chuqur qatlamidan
  - c) o'rt qatlamidan.
  - d) yuza va ichki chuqur qatlamidan
4. Yangi go'shtni mikroskopik tekshirish natijasi qanday bo'ladi?
  - a) surtma yaxshi bo'yalmaydi, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkita tayoqchalar ko'rinadi, chuqur qatlamida bo'lmaydi

b) surtma yaxshi bo'yalgan, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkinchi tayyoqchalar ko'rinadi, chiqur qatlamlarida bir, ikkinchi tayyoqchalar ko'rinadi

c) surtma yaxshi bo'yalgan, yuzasidan tayyorlanganlarida bir, ikkinchi tayyoqchalar, kokklar ko'rinadi

d) surtma kuchli bo'yalgan, kokk va tayyoqchalar juda ko'p.

**5. 1 g go'shtdagi mikroblar soni qanday hisoblanadi?**

a) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga ko'paytiriladi

b) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirmalar soniga ko'paytiriladi

c) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish soniga qo'shiladi

d) unib chiqqan koloniyalar soni suyultirish darajasiga bo'linadi.

**6. Go'shtning pH ni aniqlashda ekstrakt qaysi usulda tekshiriladi?**

a) fotoelektrokolorimetrik usulda, paranitrofenol bilan

b) uolpol komparatorida, metanitrofenol bilan

c) kalorimetrik usulda, paranitrofenol bilan

d) kalorimetrik usulda, metilen ko'ki bilan,

**7. Benzidin sinov reaksiyasi natijasida sifatsiz go'sht qanday bo'ladi?**

a) aralashma ko'k yashil rangga kiradi

b) aralashma qo'ng'ir rangga kiradi

c) aralashma yengil bo'yaladi

d) aralashma bo'yalmaydi.

**8. Nessler reaktivining tarkibi qaysi bandda to'g'ri berilgan?**

a) KI, KOH, sulema

b) Fenol, NaOH, sulema

c) sulema, eozin, NaOH

d) sulema, kbzol, KOH.

**9. Tuxumning mikroblar bilan zararlanishiga chidamliligining sababi nimada?**

a) Tuxum oqsilini ko'pligi

b) Tuxum oqi tarkibida lizosim borligi

c) Tuxum sarigida faol moddalar borligi

d) Tuxumda makro-, microelementlar borligi.

**10. Qaysi parrandaning tuxumida lizosim moddasi ko'p?**

a) O'rdak

b) G'oz

c) Tovuq

d) Kurka.

**11. Tovuq tuxumi oqining lizosim miqdori qancha?**

a) 0,2 mg/ml

b) 0,38 mg/ml

c) 1,8mg/ml

d) 5,7 mg/ml.

**12. Tuxumning chirishi bu:**

a) Mikrobnng proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum oqsilining pachalanishi

b) Mikrobnng proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum sarig'ining pachalanishi

c) Mikrobnng proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum qobig'ining pachalanishi

d) Mikrobnng proteolitik fermentlari ta'sirida tuxum po'stlog'ining pachalanishi.

**13. Zararlangan tuxumlar qancha vaqt qaynatiladi?**

a) 20-25 daqiqa

b) 13-14 daqiqa

c) 30-35 daqiqa

d) 5-10 daqiqa.

**14. Ovoskopda yangi tuxumning ko'rinishi qanday bo'ladi?**

a) havo kamerasi katta, dog'li, sarig'i markazida joylashgan

b) havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i aralash joylashgan

c) havo kamerasi kichik, dog'lari yo'q, sarig'i markazida joylashgan.

d) havo kamerasi katta, dog'lari ko'p, sarig'i markazida joylashgan.

**15. Tuxumni stakandagi suvga solish namunasida sifatsiz tuxum...**

a) tezda sinib, sarig'i oqadi

b) po'stlog'ining rangi o'zgaradi

c) stakan tubida yotadi

d) turib qoladi yoki qalqib chiqadi.

**16. Tuxumni stakandagi suvga solish namunasida yangi tuxum...**

a) stakan tubida yotadi

b) tezda sinib, sarig'i oqadi

c) po'stlog'ining rangi o'zgaradi

d) turib qoladi yoki qalqib chiqadi.

## ATAMALAR

O'zbek tili	Ingliz tili	Rus tili	Ma'nosil
Achitqilar (drajji)	Yeast (drajji)	Дрожжи	Xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Ular misliyasiz birlinjay o'li yotaklanadigan yuqotiq yoki avni shaklli zamburug'lar.
Aktivomitsillar	Aktivomitsiy	Активомити	(prokcha – aktiv – nur, upker – zamburug') – muqim zamburug'lar. Birlinjayraki prouemushba mikroorganizmlar. Ba'zularning 8 ta o'ligi deymovnemides qatoriga kiradi.
Autotrof	Autotrophs	Автотрофи	(avto – o'zini, trof – oziqlanish) fotosintez yoki xosimotuz. Jarayonda xosimotuzlik natijida o'z organik biriktiruvchi tuzil qiluvchi mikroorganizmlar.
Ayansuqar	Ayaz-sugar	Айра-сугар	Dengiz ane o'llaridan ajratilgan nisbat organik muhida, o'z qimmi zich halimga kiradi.
Aerob mikroblar	Aerobic microorganisms	Аэробные микроорганизмы	(greek. aer-havo, bios-hayot) – ammasfandagi o'zlik kislardni o'zlashtirib organik va anorganik moddalarni biotologik oksidlab yashab oziqlanadigan organizmlar.
Anaerob mikroblar	Anaerobic microorganisms	Анаэробные микроорганизмы	(ana – o'z, aer-havo, bios-hayot) erkin kislard mu'lmagan muhida yashaydigan mikroorganizmlar.
Antagonist bakteriyalar	Antagonistic bacteria	Антиагонистические бактерии	Ekidonda, upraqda bo'ladigan juyaylarda, o'ymiga kasallik qo'zg'atuvchi mikroblarga qarshi korralalarda muhim ahamiyatga ega.

Aktivator mikroblar	Microbial activators	Микроби активаторы	Yashilish davrida foydalanilgan mikroorganizmlar bilan o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini tezlashti.
Autovaksina	Autovaccine	Аутовакцина	Organizmdagi mikroorganizmlar kulturasidan 30 daqiqa 75°C qizdirilib tayyorlangan vaksina.
Azafiksziya	Azafiksziya	Азификсация	qarabcha "avo" – qorshi, "fiksiya" – himoya (qaymoqli). Heqqa oqib o'tayotgan sentinellarni takror parenteral yuburish natijasida organizmda raqamli mikroorganizmlar haddan tashqari ko'payib ketishini oldini berish.
Antikoktsidli zarfob	Antikoktsidous serum	Антикокцидные сыворотки	Tikishga qarshi immun zarfoblar.
Allergiya	Allergy	Аллергия	(Grek. <i>Allos</i> – boshqa, <i>ergon</i> – ta'sir) oqimangacha yetilgan antigenlar (mikrob oqsidi, toksinlar, dardlar va boshqalar)ni organizm tomonidan sezguchiligidaning ortishidir.
Allergenlar	Allergens	Аллергены	(gr. <i>allos</i> – boshqa, <i>ergon</i> – ta'sir) – bakteriyalar picholizati bo'lib (USd) lin. ucherkullik, mallein, lirik havo zararda toksinlar, tuberkoloz, meningitdiagnoz qo'yishda ishlatiladi.
Antigen va antitelalarning o'zaro munosabatlari	Interaction of antigens and antibodies	Взаимодействие антигенов и антител	Antigen va antitelalarning o'zaro ta'siri.
Aureola	Aureoly	Ауреола	Bu mikroorganizmlar – immunoglobulinlar bo'lib, hayvon organizmlarida antigenlar ta'sirida paydo bo'ladi.
Antigenlar	Antigens	Антигены	qarabcha avni-qorshi, geyo-ant. Organizmda parenteral yuburilgan yashilish davrida o'simlik bilan yuburilganida o'simlik qarshi immun modda hosil qiluvchi yuburilgan.

Agglutinatsiya reaksiyasi	Agglutination Reactions	Полная агглютинация	Qoq zardni tarkibidagi zardeta (agglutinini) maxsus aragdan jaggilyulninga) bilan yopishtirib, cho'kma jaggilyulmaga hosil qilishi.
Agglutinatsiya	Agglutination	Агглютинация	Qoq agglutinantlar – yopishtirish uyushtirishdagi zardetalarga (qabziyariya, urinosit va boshqa hujayra elementlari) ning bir-biriga yopishishi.
Aktiv immunitet	Active immunity	Активный иммунитет	Yuqumli kasallik yoki oqiltirish natijasida paydo bo'lib, bunda organizm aktiv ishlab chiqaradi.
Amakrobakteriyalar	Amacrobic bacteria	Амакробактерии	Kislota-shekin muhitidagina yashaydigan mikroorganizmlar. hakteriyalar, hujayra kharaktiriyali, o'zlashtiruvchilar.
Aralash infeksiya	Mixed infection	Смешанная инфекция	Ikki yoki undan ortiq turdagi mikroorganizmlar kirishida paydo bo'ladigan kasallik. Aralash infeksiyaning og'ir o'tadi.
Amakrosit	Amacrosite	Амакросит	Organizm yopiriladigan makrofitik hujayra, har qanday chiqarish yoki ishlab chiqarish qayta (H <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> ) va boshqalar) berish uchun jo'natilgan va vakuumosozmetrlari boq. Ekzotik makrofitik hujayra yopishtirish, qopqog'ini yopishtirish va nasa yordamida eksikator o'ldirish uchun chiqariladi.
Antiseptika	Antiseptika	Антисептики	Qiyin o'qitiladigan mikroorganizmlar bilan yam va boshqa uyaykildardagi mikroorganizmlarni o'ldirish uchun ishlatiladi.
Aseptika	Aseptika	Асептика	Mikroorganizmlar yam yamga yopishtirishga qarshi qaratiladi. Aseptika yam yam bilan aloqada bo'ladigan muhitdagi (qizil, hujayra va boshqalar) mikroorganizmlar yam yamga yopishtirish uchun chiqariladi.

Antibiotiklar	Antibiotics	Антибиотиклар	(anti-qarshi, bios-hayot) bakteriyalar, aktinomisetlar, moq'or va lishayniklar, hayvonlar va o'simliklarning hayot faoliyatida hosil bo'lgan mahsulotlar
Antibiotiklarning biologik faolligi	Biological activity of antibiotics	Биологическая активность антибиотиков	Ta'sir birligi TB bilan belgilanib, 1 ml eritma (TB/ml) va 1 mg preparatdagi miqdori (TB / mg) bilan ifodalanadi.
Antibiotikning ta'sir birligi (TB)	Antibiotic Effectiveness (TB)	Эффективность антибиотиков (TB)	Ma'lum hajmdagi oziq muhitda unga seçgir standart test mikrobnı 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	(Del – dosis certae letalis) 100% tajribaga olingan zararlangan hayvonlarnı o'ldiradi.
Antagonizm	Antagonism	Антагонизм	Bir tur mikroblar rivojlangan muhitda ikkinchi bir tur mikroblar rivojlana olmaydi. Masalan: chirituvchi mikroblar, ko'k yiring tayoqchasi kuydirgi tayoqchasining o'sishiga to'siqlik qiladi.
Bakteriyemiya	Bacterymia	Бактериемия	Mikroblarning qonda juda qisqa muddat bo'lib, ko'pinchadan, qon orqali hamma organlarga tarqalishi.
Biosinov	Bioassay	Биопроба	Kulturaning patogenligini aniqlash uchun laboratoriya hayvonlarini zararlash.
Bakteriologiya	Bacteriology	Бактериология	Bakteriyalarning hayot faoliyati, ular chaqiradigan infeksiyon kasalliklarga bakteriologik diaqnoz qo'yish, kasallikning oldini olish bilan shug'ullanadi.

Bakterioliz	Bacteriolysis	Бактериолиз	(grek. <i>bakterion</i> -bakteriya, <i>lysis</i> -erish) bakteriyalar qo'biq'ining yemirilishi natijasida sitoplazmasining tashqi muhiga chiqishi, Bakteriolyag, bakteriolyzintlar, lizosim fermentlari shu xususiyatga ega.
Bakteriologik bo'yog'lar.	Bacteriological paints	Бактериологические краски	Mikroorganizmlarning morfologiyasi va tinkorial xususiyatlarini o'rganish uchun ishlatiladigan massus (anilin) bo'yog'lar.
Bakteriyali preparatlar	Bacterial preparations	Бактериальный препарат	Mikroblarning shakli, ularning tuzilishi va biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash maqsadida mikroskopik tekshirish uchun buyum oynasida tayyorlanadi. Bu jarayon buyum oynalarida sutma tayyorlash, quritish, fiksatsiya 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), tayog'chasimon (bakteriya, batsilla va klostridiy'lar), burama (vibriion, spirillalar, spiroxetlar) shakli bo'ladi. Bakteriya hujayrasi qo'biq, sitoplazma va o'zak apparatidan iborat.
Bakteriyaning hujayra devori	The cell wall of bacteria	Клеточная стенка бактерии	Uch qatlamdan – tashqi lipoproteid, o'rtaliipopolisaxarid va ichki mukopolimerlardan tuzilgan regid qatlamlardan iborat.
Bakterioid ta'sir	Bacterioid effect	Бактериоидный эффект	Bakteriyalarni o'ldiradi.
Bakteriostatik ta'sir	Bacteriostatic effect	Бактериостатический эффект	Bakteriyalarni o'sishdan to'stadi.

Bakteriyalarning genofitik xususiyati	Bakteriyalarning genofitik xususiyati	Генетическое строение бактерий	Qonli agarda eritrositlar lizisiga uchrab koloniya atrofida tiniq genofiz paydo qiladi.
Bakteriyalarni kultural xususiyatlari	Cultural properties of bacteria	Культуральные свойства бактерий	Oziq mahiflarda o'rgan bakteriyalarning o'ziga xos ifodasi.
Bakteriologik ilmoq	Bacteriological implant	Бактериологический металл	Ingichka platinali simdan yasalgan bo'lib, u metall utqichga mahkamlanadi.
Bursit	Bursitis	Бурсит	Sinovial bo'shliqning yallig'lanishi.
Bakteriofaglar	Bacteriophage	Бактериофаги	Fag ta'sirida bakteriyalarning erib ketishi bakteriofagiya deyiladi. Bakteriofaglar davolash va diagnostik maqsadda ishlatiladi.
Batsilla	Bacillus	Бактерии	Spora hosil qiluvchi tayoqchasiimon bakteriyalar. Spora uni hosil qilgan bakteriya diametridan katta emas.
Bipolyar bakteriyalar	Bipolar bacteria	Биполярные бактерии	Uchlari intensiv bo'yulgan bakteriyalar (posterellalar).
Dezamidrochilar	Dezamidase	Дезаминирование	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 profilaktika	Prevention prophylactic	Kasal hayvonlarni davtosh, kasallikning oldini olistada ishlatiladigan biologik preparatlar.
Diagnostik antijodlar (Antizardoblar)	Diagnostic Antijodlar (Antiseruma)	Diagnosticum antiserum	Hayvonlarni gipotalamustayn qilish yo'li bilan olinadi. Diagnostik zardoblar yordamida mikroblar aniqlanadi va tiratilgan kulturan identifikatsiyalantadi.
Diagnostik antigenlar	Diagnostic antigen	Diagnosticum antigenum	Hayvonlarning infeksiyon kasalliklarini tekshirish uchun ishlatiladi, mikroorganizmlar kulturatsidan tayyorlantadi.
Diagnostikumlar	Diagnostics	Diagnosticum	Diagnostik maqsadda ishlatiladigan standart biologik preparatlar.
Diagnostik immunit zardoblar	Diagnostic immun serum	Diagnosticum immunisera	Infeksiyon kasalliklarga serologik usulda diagnostik qo'yish uchun qayt ishlatiladigan immunit zardoblar.
Dexinteksizya	Dexinteksizya	Decontaminatio	Maxsuslik, fizikaviy, kimyoviy harada histologik usullarda bajariladi. Dexinteksizya yanilashdan tuz qilib dexinteksizyada faqat patogen mikroblar o'ldiriladi. sterilizatsiya biror buyumdagibarchu mikroblar butunlay o'ldiriladi.
Endokardit	Endocarditis	Endocardium	Yurakning endokard qavatining yallig'lanishi.
Eukarion	Eukaryotes	Eucaryont	Uzqonli organelalari uchun hayvonlar, zamburug'lar, o'simlik va hayvon hujayralari qamdi. Yaqin muvazansadi.
Epididimit	Epididymite	Epididymium	Urug'don o'tig'ini yallig'lanishi.

Enterit	Enteritis	Энтерит	Ingichka ichak shilliq pardasi-ning yallig'lanishi.
Elektiv oziq muhiti	Elective food medium	Избирательная среда	Faqt ma'lum turdagi mikroblarni o'stirishda ishlatiladi. boshqalari yo'qotiladi. Differensial - diagnostik oziq muhitlar (Gissa, Endo, Ploskirev muhiti, baktiolog va boshqalar) bakteriyalarni fermentativ xossalariiga qarab aniqlashga imkon beradi.
Endometrit	Endometritis	Эндометриит	Buholadon shilliq pardasining yallig'lanishi.
Eksikator	Defective	Дефектор	Bu qopqog'i zich yopiladigan shisha idish. Germetik yopilishi uchun eksikatorning chetlariga vazelin surtiladi.
Ekzogen infeksiya	Heteroinfection	Экзогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga tashqi muhitdan kiradi.
Endogen infeksiya	Endogenous infection	Эндогенная инфекция	Qo'zg'atuvchilari odatda organizmning o'zida bo'lib, organizmning ahvoli yomonlashgandagina kasallikni rivojlantiradi. Bunga shartli patogen mikroblar, latent viruslar va h.k. lar kiradi.
Ekzotoksinlar	Exotoxins	Экзотоксины	(oqsil moddalar) Mikrobl tirik vaqtida yoki o'lganidan keyin uning tanasidan sirga ajrab chiqadi.
Endotoksinlar	Endotoxins	Эндотоксины	Bakteriya hujayrasiga, ayniqsa devoriga mahkam bog'langan bo'ladi. Shu sababdan mikrobl o'lganidan keyinigi ajraladi.

Fagositlar	Phagocytes	Фагоцитлар	(Фаго – yotish, cytos- kichikni) organizmda tashqari yoki zararchalar (infeksiyalar) ning fagositka tontoradkan ustalarida saqlan qilmish. II. Mexmikay fagositlar haqida to'liq ma'lumot berilmagan.
Fluoresensiyalovchi antitelalar usuli (FAM)	Fluorescence Antibodies Method (FAM)	Микроскопик уярув усули (МКУ)	Uta maqsadli immuniti fluoresenssiyalovchi zarrachalar ishlatilgan. Ushbu zarrachalar bilan birga antitelalar usulida immunologik reaksiyalar buyurt uyandirishni amalga oshirishadi.
Fimbriyalar va pili	Fimbriae and pili	Фимбриялар ва пили	Yuliz antitelalar (varidlik). Bakteriya hujayraida shaxshilardan tashqari ushbu ingichka to'g'ri ipkari – fimbriyalar ham bor bo'ladi.
Fikomisetslar (Physomyces)	Physomyces	Физиомицетлар	Tuban zamburug'lar miseliasini ko'rganlarga ko'rinmagan, ko'p shaxshil bilan kuchli shoxlangan hujayradan iborat.
Fakultativ anaerob	Facultative anaerobe	Факультативно анаэроблар	Nafas olish usulini turda faolligi.
Filozodlar	Filicid	Филарицидлар	Organizmda qolgan moddalar V.P. Tokin 1978–1980-yillarda ishlatilgan. Filozodlar deb atalgan. Filozodlar asosan barcha gull, kilti, mevalar bilan bo'ladi. Filozodlar asosan yirikli jarayonlarni mahalliy darajada oshirishadi.
Gillar	Gills	Гиллар	Engilish ipchalaridan iborat zararchalar hujayrasini

Gram-usuli	Gram method	Метод Грама	1884-yilda Xristian Gram taklif qilgan. Gram usulida bo'yalishiga ko'ra, barcha bakteriyalar hujayra devoridagi peptidoglikanga bog'liq holda gramusbat va gramusbatligiga bo'linadi.
Gemoliz	Hemolysis	Гемолиз	(gr. haema – qon, lysis-erish) qondagi eritrositlarning parchalanib, ichidagi gemo-globinning tasbiq mohitga chiqishi.
Gemolizin	Hemolytic	Гемолитин	Biofabrikada, qo'y eritrositlari bilan quyovni giperimmunlanib olinadi 1:1 nisbada gliiserin qo'shiladi. Aniq tirda sayvutirilgan tayyor ishchi eritmasi ishlatiladi.
Gigroma	Gigroma	Гигрома	Bo'g'imlarni shilliq parda-ning shishishi
Gomologik	Homological	Гомологический	(gr. homogenos – bir xil) o'xshash, bir xil.
Giperimmunlash	Hyperimmunization	Гипериммунизация	Bakteriya, virus yoki toksinlarga qarshi maxsus zardob olish maqsadida hayvonlarni vaktsina, toksin yoki mikroblar, viruslar bilan ma'lum tizim bo'yicha bir necha bor emlash.
Gaptlar	Captenlar	Каптен	Oqsilsiz polisaxaridlar, mikroblar hujayrasini somatik antigenining lipopolisaxarid kompleksi antigenlik xususiyatiga ega.
Gemotoksin	Gemotoxin	Гемотоксин	Bakteriyalar hayot faoliyati jarayonida hosil bo'ladigan, eritrositlarni lizisga uchuvchi oqsil tabiatli moddalar. U eritrosit qobig'ini parchalaydi.
Gemotogen yo'l	Gemotogeny path	Гемотогенный путь	Patogen mikroblarning organizm bo'ylab qon orqali tarqalishi.

Infeksiya	Infektion	Huquqiyatga	(Infektionni ayetga) zinjir- man degan ma'noni anglati- di. Taqibi muhit sharoitida mehnatkorlik va kasallik qo'zg'atuvchisi orasida vujudga keladigan murk- lab biologik jarayon. U zara kuchli hislat.
Infektsion kasallik	Infektions- disease	Huquq- nomlari sabablariga	Infektionizmni va mikrobu- lar o'zaro ta'sirining eng ifodalovchi shakli. Bunda qo'zg'atuvchi g'ildirak jivahon ma'lum prototipik jarayonlar taqiblanadi. Taksin bilan organizmning zahiratishi.
Infektsiya	Infektionizm	Huquqiyatga	
Infektsion davr	Infektionniy stage	Huquqiyatga asosida	Organizmga mikrobu- lar kirgan vaqtida kasallikning birinchi klinik belgilari paydo bo'lgan vaqtida o'z ichiga oladigan yashirin davr, klinik belgilarisiz o'tadi.
Infektsion sharoitga	Infektionniy gimn	Huquqiyatga asosida	Mikrobu- lar kirgan vaqtida kasallikning birinchi klinik belgilari paydo bo'lgan vaqtida o'z ichiga oladigan yashirin davr, klinik belgilarisiz o'tadi.
Infektsion immunitet	Infektionniy immunity	Huquqiyatga asosida	Infektionniy kasalliklarga o'ta- dardlilikning paydo bo'lishi.
Infeksiyozlik	Infektionniy	Huquqiyatga asosida	Infeksiyozlikni qo'zg'atuvchi vujudlarning bari hislat, Mikrobu- lar kirgan vaqtida kasallikning birinchi klinik belgilari paydo bo'lgan vaqtida o'z ichiga oladigan yashirin davr, klinik belgilarisiz o'tadi.

Immunitet	Immunity	Hisoyimret	(lotincha immunitas – azod bo'lish, qatllish) Organizmning patogen mikroorganizm yoki zaharli moddasiga chidamliligi.
Immun zardoblar	Immune serums	Hisoyimret serumlari	Massas antigenlarni xemta asosida yirik hayvonlarga bir necha marta yuborib, giperimmunitash yo'li bilan olinadi.
Jelatina	Gelatine	Желатина	Hayvonlar oqsili. To'g'ay va suyaklarni qaynatib olinadi, azodli nordon mahsulot.
Karbunkul	Carbuncle	Карбункул	(lot. carbo – ko'mir) yog' bezlari, jun idizlari, teri, teri osti to'qimalarining 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	Колититр	Eng kam miqdordagi suvda (ml) ichak tayoqchasining miqdori.
Koli-indeks	Koli - index	Колитиндекс	1 l suvdagi ichak tayoqchasi miqdoridir.
Klassifikatsiya	Classification	Классификация	Sistematik guruhlarni xarakterlash va aniqlash jarayoni.
Komplement	Complement	Комплемент	(lot. Complementum – qo'shimcha vosita) oqsil tabiatli modda bo'lib, hayvon va odamlar zardobi, limfa, to'qima syuyqliklarining tarkibiy qismi. Biosfrikada dengiz cho'chqasining qon zardobidan tayyorlanadi.

Kompleksni bog'lash reaksiyasi	Complement Binding Reaction	Reaktivni kompleksni bog'lash	Antigen va antitelalar birga kompleksni tashkil etishda reaksiyaga kirishib, bakterial va gemolitik to'plamlarga qarshilik reaksiyasi
Kislatma	Autolysis	Yemirilish	Bakterial hujayra qobirig'ini ko'payishida hosil bo'lgan mikroblar to'plami
Kapsula hosil qilish	Encapsulation	Enkapsulyatsiya	Vaktsinani paydo qiluvchi xususiyatlardan biri, u mikroblarning agressivligini oshirishga olib keladi
Laymnesent mikroskopiyat	Laymnesent microscopy	Fluoresent mikroskopiyat	Qator muhim hujayra strukturalarini, organizmning har xil funktsional tashkilatida ularning o'zgarishini o'rganish, o'rgan va tirik hujayralarni foydalanish imkon beradi.
Laymnesensiya	Laymnesence	Laymnesentlanish	Glukoz – yonq'ilib, askva – kuzatib (ta'bir) bo'yalgan yonq'ilib energiyasining qo'yg'atishidan olib olinadigan nurlanishdir.
Lipidlar	Lipids	Lipidlar	Uning miqdori 3.8 dan 40% gacha bo'ladi. Lipidlar sitoplazmaning ma'lum qismini qo'llab tutadi va sitoplazmatik membrana tarkibiga kiradi.
Mikroplastik	Mikroplastik	Mikroplastik	Yuqori zang'aboqlar, ularning miqdori gillari to'g'ri bo'lgan bo'linma, bu yoki ko'p o'ralib tajayritilgan iborat.
Mikrobiologiya	Microbiology	Mikrobiologiya	Juda muhim aspektlar – mikroblarning – morfologiyasi, fiziologiyasi, genetikasi, ekologiyasini o'rganish, ularning hayoti, o'simlik va odamlar hayoti uchun va ularning o'zaro munosabati. Bu faning nomi E. Dyer to'rtinchi egan bo'lib, u o'ziga "microbiology" deb ataydi. Dyer – <i>micro</i> – kichik, <i>biology</i> – hayot.

Mikrob	Microbes	Микроб	Mikroorganizmlarni barchasini birlashtirgan yagona atama. Fransuz olimi Sedzillo 19 asrning oxirida fanga kiritgan.
Mikoplazmalar	Mycoplasma	Микоплазма	Polimorf mikroorganizmlar bo'lib, 100-150 nm o'lchamdagi filtrlardan o'tadi, spora kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy barakatsiz mikroorganizmlar.
Mitseliy	Mycelium	Мицелий	Zamburug' tanasi. Gillar o'sib, shaxlanadi va o'ralib mitseliy hosil qiladi.
Mikroaerofililar	Mikroaerofily	Микроаэрофилы	(grek. mikro-kichik, aer-hava, philia-moyillik) – ko'payishning birinchi bosqichida molekulyar kislorodni (1% cha) kam miqdorda talab qiladi.
Mikroorganizmlarning fermentlari	Enzymes and microorganisms	Ферменты микроорганизмов	Mikrob hujayralari tomonidan sintezlanib, murakkab tuzilishga ega endo va ekzofermentlar.
Mikozlar	Mycoses	Миозы	Patogen mikroskopik zamburug'lar qo'zg'aydigan mucedas kasalliklar guruhi.
Mikroblarining antigenlari	Microbial antigens	Микробиальные антигены	Mikrob hujayrasidagi kapsulali, xivchilni va somatik antigenlar.
Oxsit	Oxchitis	Охсит	Urug'donni yadlig'lanishi.
Oqsil	Protein	Белок	Hujayraning eng muhim hayotiy organik moddasi, patogen mikroblar tanasida quruq moddalarning yarmidan ko'pini, boshqalarida esa 80 % gacha miqdorini tashkil qiladi.
Presipitatsiya reaksiyasi	Precipitation reactions	Реакция преципитации	(lotincha dan <i>praecipitatus</i> – cho'kma) reaksiyasi antitelo (presipitanlar) va antigen (presipitogenlar) o'zaro birikib cho'kma (presipitat) hosil qilishi.

Peptin	Peptone	Hidroliz	Qisqilgan garchidamishiligi oraliq mahsulot, shirdandan uyaylanadi. Anabolizmda peptidlariga hay.
Patogen mikroblar	Pathogeny	Harakteristik va ilmiy	Kasallik xususiyatligi mikroblar.
Patologik material	Pathological material	Parazitologiya	Kasal, kasallikka guman qilingan yoki o'lgan hayvonlardan olinadigan uchun olingan material (parazitlar, qoqa, sut, parazitlar, mater organlari)ni o'z ichiga oladi va h.k.)
Patogenlik	Pathogenicity	Ushbu xususiyat	Mikroblarning o'zlarini sharoitida o'ziga xos imkoniyat kasallikka o'tkazish xususiyati. U mikroblar turiga xos, o'zgaruvchan bo'lganlikdir.
Rikketsiyalar	Rickettsia	Rikketsiya	Rikketsiyalar b'lar vujudlar' oraliq'ida joylashgan, bir hujayrali, harakatsiz, patogen, gumanal, organizmlar.
Peptidoglikan	Peptidoglycan	Hidrolizlanadigan	(muravin, mukopeptid) hisoblanadi, bakteriyalar hujayra devorining asosiy komponenti.
Sluayim	Slime	Ushbu	Bir turda mavjud, lekin har xil turlarda va sharoitlarda d'ni ajratilgan va o'zaro xususiyatlarining kam va o'zgarishi bilan farq qiladigan kultura.
Sporelar	Spores	Ushbu	Harakatsiz mikroorganizmlar hujayra, ingichka va spora shaklida juda ko'p mavda bunyolarini bo'lgan organizmlardir.
Sistemika	Systemic	Ushbu	Yakka organizmlarda umumiy o'xshashliklari bo'lgan g'ranatasi bilan shug'illanadigan biologiya fanining muassasasi.

Sterillash	Sterilization	Стерилизация	(lotincha – <i>sterilis</i> – nasilsizlash) turli muhitlardagi barcha mikroblarni (vegetativ va sporal shakllarini) to'liq yo'qotishga, ya'ni o'ldirishga qaratilgan.
Serologik diagnostika	Serological diagnostics	Серологическая диагностика	(lot. <i>serum</i> – qon zardobi) infeksiyon kasalliklarni serologik reaksiyalar yordamida tekshirish.
Serologik reaksiya	Serologic reactions	Серологические реакции	Antigen va antitelolarning o'zaro ta'siriga asoslangan o'ta maxsus reaksiya.
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	Mikroblarning qonda ko'payib, qon orqali butun organizmga tarqalishi. U juda tez kechib, odada o'lim bilan tugaydi.
Stafilokokklar	Staphylococci	Стрептококки	Sharsimon shakldagi mikroorganizmlar.
Septisemiya	Septicemia	Септицемия	(grek. <i>septicus, furans</i> – qon) kasallik qo'zg'uvchisining qonda ko'payishi va butun organizmga tarqalishi natijasida organizmida 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 organizmida joylashishi.
Toksinlar	Toxins	Токсины	Mikroorganizmlar hosil qiladigan zararli moddalar, virulentlikni paydo qiluvchi xususiyatlardan biri.
Toksigenlik	Toxigenicity	Токсигенность	Mikroblarning toksin hosil qilish xususiyati.
Toksemiya	Toxemia	Токсемия	Mikroblar shikastlangan joyning o'zida (to'qima) ko'payadi, hosil bo'lgan toksin qon oqimiga o'tib, butun organizmni zaharlaydi.

Vaksinalar	Vaccines	Bakimma	(Jut. vaqinno) vaktsinus biologik preparat. kasallik qoʻzgʻatuvchisi bilan tayyorlanadi. Kasallikning oldini olish uchun ishlatiladi.
Viruslilik	Viruslike	Buysakim-onam	Mikrobning pufogʻalik darajasi, yaʼni viruslilik nuqtasining individual belgisi boʻlib, har vil shakllarda oʻzgarib turadi.
Viruslar	Viruses	Dugʻon	Dujayrasiz mikroorganizmlar boʻlib, barcha turdagi organizmlar (huyvan, odam, oʻsimlik, hasharat, bakteriya, zamburugʻ), soʻgʻin hujayralar ichida parazitlik qiladi.
Xlamidiyalar	Chlamydia	Xizmatqum	Antigenligi boʻyicha qandish, sifidlarial va morfologik xususiyatlarini oʻzlashtirish mikroorganizmlarining oʻziga xos xlamidiyalik guruhli.
Zamburugʻlar	Mushukarus	Uyusha	(Funga) – oʻsimlik dugʻoniga karadigan xlamidiyalik organizmlar boʻlib, eukariotlarga kiradi. Har vil shakllarda yuzasida yashaydilar.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. P.J.Quinn., B.K.Markey and others. Veterinary microbiology. This edition first published New Dehli, India. 2016-y.
2. Tracy H Vemulapalli, G Kenitra Hammac. Microbiology for, veterinary Technicians, Textbook copyright Printed in the United States of America. 2015-y.
3. Carter, G. R darla J. Wise Essentials of Veterinary Bakteriology And Mycology Sixth Edition/ 2004-y.
4. Кисленко В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: 2005 г.
5. Кисленко В.Н., Кольчев Н.М.. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 1, Общая микробиология. – М.: 2006 г.
6. Кисленко В.Н., Кольчев Н.М. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 2, Иммунология. – М.: 2006 г.
7. Кисленко В.Н., Кольчев Н.М., Суворова О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3. – М.: 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. Veterinariya tibbiyoti jurnallari, Toshkent.
11. Gariyev I.G. Mikrobiologiya, Toshkent, 1990-y.
12. Tenper E.З., Шилишкова В.К., Переверзева Г.Н. Практикум по микробиологии. – М.: 2005 г.
13. Internet ma'lumotlari: [www.Ziyo.net.uz](http://www.Ziyo.net.uz)  
email: [zooveterinariya@ru](mailto:zooveterinariya@ru)  
email: [sea@mail.net21.ru](mailto:sea@mail.net21.ru)  
email: [veterinariy@actavis.ru](mailto:veterinariy@actavis.ru)  
email: [fvul@academy.uzsci.net](mailto:fvul@academy.uzsci.net)

## MUNDARIJA

Kirish .....	3
Axborotiy va laboratoriya mashg'ulotlarni o'qish uslubiy ko'rsatkichlari .....	5

### I-MODUL. MIKROBIOLOGIYA FANINING UMUMIY QISMI

1-mavzu. Mikrobiologiya fanimoriy asmi tashkil etish va uning tuzilishi, jihrlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalarini .....	7
2-mavzu. Bakteriologik bo'yovlar. Preparat tayyorlash texnikasi. oʻzdiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari .....	18
3-mavzu. Preparatlarni Gram usulida bo'yash .....	25
4-mavzu. Spora, kapsula va kichikragan ellipsoid bakteriyalarni bo'yash usullari .....	30
5-mavzu. Zamburug'larning morfologiyasi va bakteriyalarning hujayrasini o'rganish .....	41
6-mavzu. Oziq mullatlarini tayyorlash .....	48
7-mavzu. Sterilizatsiya usullari .....	54
8-mavzu. Sof kultura oqitib olish usullari .....	60
9-mavzu. Bakteriyalarni kultural, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish .....	75
10-mavzu. Mikroorganizmlarni antibiotikka sezuvchiligin i aniqlash .....	82
11-mavzu. Avul-mulit obyektlarini mikrobiologik tekshirish .....	90
12-mavzu. Laboratoriya hayvonlarini zararlash usullari .....	104
13-mavzu. Jasadni bakteriologik tekshirish usuli, Patologik materialni olish va laboratoriyaga yetilish usullari .....	112
14-mavzu. Agglutinatsiya reaksiyasi .....	117
15-mavzu. Prezippitatsiya reaksiyasi .....	122
16-mavzu. Komplement bog'lash reaksiyasi .....	129

### II-MODUL. MIKROBIOLOGIYA FANINING XUSUSIY QISMI

17-mavzu. Bakterial infeksiya qo'zg'uvchilari – tuberkular, hujaselloz, chirochqalir anamosi, pasterelloz, kolibakteriaz, salmonelloz qo'zg'uvchilari .....	140
18-mavzu. Batsillali infeksiya – kuydirgi, qarasur, qotira kasalliklari, botulizm qo'zg'uvchilari .....	173
19-mavzu. Yemir-kashak mikrobiologiyasi .....	191
20-mavzu. Sut va sut mahsulotlarini mikrobiologik tekshirish .....	202
21-mavzu. Qo'shir, mustaxim mikrobiologik tekshirish .....	210
A'loqalar .....	221
foydaleshgan adabiyotlar .....	226

Z. J. SHAPULATOVA

**MIKROBIOLOGIYA  
FANIDAN AMALIY VA LABORATORIYA  
MASHG'ULOTLARI**

*Muharrir O.Qanayev  
Dizayner R.Toshmatov  
Musahhib M.Xoliqova  
Sahifalovchi H.Safaraliyev*

Nashriyot litsenziyasi AI №270  
Bosishga 09.12.2019-yilda berildi. Qog'oz bichimi 60x84<sup>1/4</sup><sub>16</sub>  
"Times New Roman" garniturasida ofset usulida bosildi.  
Nashr bosma tabog'i 15,0. Adadi 300. Buyurtma №103.

"Ijod-Press" nashriyotida nashrga tayyorlandi.  
"Dizayn-print" MChJ O'CHK bosmaxonasida chop etildi.  
100054, Toshkent shahri, Cho'pon ota ko'chasi, 28-a uy.

Telefon: (371) 273-19-51  
Faks: (371) 273-19-50



