

1 –LABORATORIYA MASHGULOTI

Mavzu: Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash ning umumiy qoidalari. Mikroskopning tuzilishi va uni ishlatish tartib qoidalari. Mikroskop turlari.

Mikrobiologik tadqiqotlar maxsus jihozlangan mikrobiologik laboratoriyalarda olib boriladi. Ko‘pincha mikrobiologik tahlillar steril sharoitlarda o‘tkaziladi. Bunga sabab o‘rganilayotgan materialning boshqa muhitdagi begona mikroorganizmlar bilan zararlanmasligi, atrof–muhitni va tadqiqotchilarni muhofaza qilishdir.

Mikrobiologik laboratoriya tarkibiga tadqiqotlar xonasi, ozuqa muhitlari tayyorlash, reaktivlar tayyorlash, laboratoriyada ishlatiladigan idishlarni yuvish va sterilizatsiya qilish uchun maxsus xonalar kiradi. Sterillangan sharoitda bajariladigan ishlar uchun bitta xonada laboratoriya stollari, reaktivlar, idishlar va apparatura saqlash uchun maxsus shikaflar qo‘yilgan oynaband bokslar tashkil etiladi. Laboratoriyaning asosiy jihozlariga mikroskop, mikroorganizmni o‘stirish uchun termostat, avtoklav, sterilizatsiya qilish uchun asbob – anjomlar, sovutgich kiradi. Laboratoriya xonasi har kuni ehtiyoj uchun ozuqa muhitlari, bo‘yoqlar va boshqa laboratoriya anjomlari bilan ta‘minlanishi zarur.

Talabalarni mikrobiologik laboratoriyada ishlash qoidalari

Har bir talabaning laboratoriyada o‘z ish joyi bo‘lishi kerak. Ish joyi mashg‘ulot uchun mikroskop, uning yoritkichi, probirkalar uchun shtativlar, turli bo‘yoqlar, reaktivlar, suv, preparatlarni bo‘yash uchun vannalar, preparat tayyorlash uchun oyna, bakteriologik sirtmoq hamda dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishlar bilan ta‘minlangan bo‘lishi shart.

Mikrobiologik laboratoriyada quydagilar ta‘qiqlanadi:

1. Laboratoriyaga ustki va bosh kiyim bilan kirish;
2. Laboratoriyada xalatsiz ishlash va u erda bo‘lish;
3. Ovqatlanish, chekish, stollarga begona predmetlar, portfel, sumkalar, bosh kiyimlarni qo‘yish;
4. Laboratoriyada ortiqcha harakatlanish, keskin harakat qilish va bu bilan o‘rganilayotgan materialni boshqa mikroblar bilan ifloslantirish.

Mikrobiologiya laboratoriyasiga qo‘yiladigan havfsizlik qoidalari va talablar:

1. Laboratoriyaga kirishda va ishlash davomida oq xalatda bo‘lish shart.
2. Tozalik va tartib intizomga qat‘iy rioya qilinishi shart.
3. O‘qituvchi yoki laborantning ruxsatisiz elektr asbob, mikroskop va boshqa jixozlarni ishga tushirmaslik kerak.
4. Har bir talaba yoki xodim o‘ziga biriktirilgan joyda ishlash, faqat shu stoldagi asbob va reaktivlardan foydalanish kerak.
5. Laboratoriyada ovqat eyish, chekish va keraksiz narsalarni olib kirish man etiladi.
6. Stol ustida faqat ishga kerakli narsalar bo‘lishi kerak.
8. Spirt lampalarni bir-biridan yondirmasdan faqat gugurt orqali yondirish kerak.

9. Mikroskop bilan ishlash vaqtida, mikroskop vintlarini burab tashlamaslik va mikroskop bilan ishlash texnik qoidalariga rioya qilish shart.
10. Dars (ish) tugagandan so'ng ish joyini tartibga keltirish, hamda laboratoriyadan chiqib ketish oldidan qo'llarni sovunlab yuvish kerak.

Talabalarni laboratoriyada ishlash paytidagi vazifalari:

1. Navbatchi o'qituvchidan o'quv materialni qabul qiladi va talabaga tarqatadi.
2. Mashg'ulot paytida:
 - a) mikroskop va boshqa laboratoriya anjomlari bilan ehtiyot bo'lib ishlash.
 - b) mashg'ulot jarayonida uzatilayotgan ob'ekt haqida ma'lumotlarni uzluksiz yozib borish va albomga chizib borish.
 - v) probirkalar, Petri idishchalariga guruh raqami, ish joyi va sanalarni qayd qilish.
 - g) mashg'ulotlar tugagach esa pipetkalar, shpatellar va boshqa asboblarni dezinfektsiyalovchi eritmaga solib, zararsizlantirish. Sirtmoqlarni spirt alangasida kuydirib, zararsizlantirish.
 - d) o'quv mashg'ulotlari tugagach, ish joyini va mikroskoplarni o'z holiga keltirib qo'yish, mikroorganizmlar ekilgan probirka va Petri chashkalarini termostatga joylash uchun navbatchiga topshirish va o'qituvchiga topshirishlari zarur.

Eslatma

Hamma bakteriya va mikroorganizm preraratlari immersiya ob'ekti orqali ko'riladi, albomga suratlari chiziladi, tagiga nomi yoziladi. Ish mikroskopini to'g'ri va ohistalik bilan shkafga joylashtirish va o'z ish joyini tartibga solish bilan tugallanadi. Bu qoidalarga mikrobiologiya darslarida doimo amal qilinadi.

Kerakli jihoz va materiallar: Biologik mikroskoplarning turli modellari, imersion ion, tayyor bo'lgan mikrobiologik preparatlar.

Ishga uslubiy ko'rsatma: Mikroskop (grekcha- kichik ko'rish, ya'ni narsalarni ko'rish degan so'zdan olingan)- optik asbob bo'lib, 0,2- 0,3 mkm li kichik ob'ektlarni 56-1800 va 3000 marta kattalashtirib ko'rsatish xususiyatiga ega. Mikroorganizmlar turli xil morfologik xususiyatlarga ega ekanligini nazarda tutib, ularni o'rganishda turli xil mikroskoplar, uslublardan ya'ni biologik, lyuminiscent elektron protonli va maxsus faza-kontratsli kabilardan foydalaniladi. Mikroskop asosan ikki qismdan tashqil topgan: 1.optik. 2. mexanik.

1. Mexanik qism-mikroskopning asosi va trubasini tutib turuvchi yoysimon tutgich, predmet stolchasi va o'tib turuvchi asosidan tuzilgan. Tubis tutgichi makro va mikro vintlar yordamida yuqoriga ko'tarish yo'li bilan ko'rilyotgan ob'ektni tiniqligini ta'minlaydi.

2. Mikroskopning optik qismi okulyar, ob'ektiv va yoritish qurilmasidan tashqil topgan. Okulyar tubisning yuqori qisimida joylashgan, uning kattalashtirish imkoniyati sonlar bilan belgilangan (7x, 10x, 15x, 20x).

Okulyar yuqori optik va pastki yig'uvchchi linzalardan iborat. Ob'ektiv mikroskopning asosiy va engi muhim qismi bo'lib, uning optik quvvatini belgilaydi. Ob'ektning kattalashtirishga va qo'llanishiga qarab ko'rik holda va emirson moy yordamida quvvatlanish mumkin.

Quruq ob'ektivlar nisbatan katta fokus oralig'iga ega bo'lib (8x, 10x) asosan uncha kattalashtirishni talab qilmaydigan (400-600 marta) yirik biologik hujayralarni ko'rish uchun foydalaniladi.

Bundan ob'ektiv va preparat oralig'ida havo qatlami bo'ladi. Preparat oynasi havoning yorug'lik nurlarini sindirish ko'rsatmalari turlicha bo'lganligi uchun, nurlarning bir qismi atrofga taralib kuzatuvchining ko'ziga etib bormaydi. SHuning uchun mikroorganizmlar o'rganishda asosan imirson ob'ektivlardan (85x, P= 33) foydalaniladi. Ular suv yordamida 900-1500 martagacha ob'ektni kattalashtira oladi.

Preparatni yorituvchi nurlardan to'la foydalanish va uning qaytarilishini, preparat oynasi va qoplovchi oynasi orasida sinishini preparat va ob'ektiv frontal linza orasidagi sinishini oldini olish uchun ob'ektiv va preparat orasiga immersion moy tomiziladi. Uning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi (P=1,515) shishaning ko'rsatkichiga (P=1,52) yaqin. Havoning yorug'ligi sindirish ko'rsatkichi P=1 ga teng . Shuning uchun yorug'lik nurlarini bir qismi kuzatuvchining ko'ziga etib bormaydi suyuqlik tomchisi preparatga tizilib, unga ob'ektni tushiriladi. Kattalashtirish darajasi yuqori bo'lgan ob'ektni Foks masofasi 1,9- 2,1 mm uni tomchidan linza va preparat orasida bir xil optik muhit hosil mikoniyatini beradi. Bu esa o'z navbatida ob'ektivdan kelgan nurlarni kuchaytiradi. Biolam tipidagi mikroskoplar 7,10,15,20 marta kattalashtiradigan okulyar bilan jihozlangan bo'lib, ob'ektni 1800 martagacha kattalashtira oladi.

Yig'uvchi linza yoki kondensor bir necha linzalardan iborat bo'lib preparatni yaxshilab yoritish imkoniyatini beradi. U oynasidan tushadigan nurni predmet yuzasiga o'tkazadi. Kondensorni vint yordamida yuqoriga va pastga harakatlantirish mumkin. Bo'yalgan mikroorganizmlarni kondensorni yuqoriga ko'tarilgan holda kuzatiladi. Bunda nazorat maydoni kengayadi va muhit bilan mikroorganizmlarni yorug'likni turlicha sindirish hisobiga mikroblarning ko'rinishi tiniqlashadi.

Iris-kondensor tagiga joylashtirilgan diafragma bo'lib, u kondensatorga tushayotgan yorug'likni kerakli miqdorda o'zgarishini ta'minlaydi. Iris bir necha po'lat katakchalardan iborat va bu katakchalar yordamida u yoki bu tarafga surishi mumkin. Natijada tirqishni toraytirish yoki kengaytirish imkoni tug'iladi.

Biokulyar - 2 okulyarli va ob'ektivli mikroskop bo'lib ikki ko'z bilan ob'ektni kuzatish va uni aniq ko'rish imkonini beradi.

Faza kontrast mikroskop-preparatlarining kontrastini sun'iy ravishda kuchaytirish imkonini beradi. Bu esa bo'yalmagan mikroorganizmlarni hujayralarini yaxshiroq o'rganish imkonini beradi.

Lyuminisent mikroskop-to'liqin uzunligi 300-400 mm ultrabinafsha yoki qisqa to'liqinli havo rang nurlar (460 nm) mikroorganizmlarga tushirilganda ulardan chiqadigan yorug'liklar (flyuorensiya) hodisasi foydalanishga asoslangan.

Elektron mikroskop-biologik ob'ektlarni 500000 marta va undan ham kattaroq ko'rsatish qobiliyatiga ega. Bu usul bilan mikrobiologiyada viruslarni va mikroblar hujayralarini eng noziq strukturlarini o'rganiladi. Elektron mikroskoplarda oq yorug'lik o'rniga elektronlar oqimidan foydalaniladi.

Mikroskopdan foydalanish qoidalari: Mikroskop bilan ishlashning asosiy qoidalaridan biri uni to'g'ri o'rnatish, nazorat maydonchasini va preparatni to'g'ri yoritishdan iboratdir. Yoritish uchun tabiiy yorug'likdan yoki OI-19,7,32 kabi maxsus yoritgichlardan foydalanish mumkin.

Maksimal yoritish uchun revolvorni eng kichik ob'ektivga etkazib uni kuzatilayotgan ob'ekt bilan oralig'ini 1,5-2 sm qo'yiladi.

Okulyarga qarab oynacha orqali yorug'lik nurlari tutilgach diafragma kondensor orqali ob'ektivga yo'naltiriladi va kuzatish maydonchasi bir xilda yoritilishiga erishiladi. Mikroskopni ish oxirigacha joyidan jildirilmasligi kerak. Bo'lmagan ob'ektlarni ko'rishda nazorat maydoni diafragmani toraytirish yoki kondensatorni pastga tushirish yo'li bilan qoraytirib preparat yuzasiga fosk to'g'rilanadi. Mikroskopga imersion ob'ektlar bilan ishlaydi quydagicha amalga oshiriladi.

- Tayyor preparatga yoki ob'ektga bir tomchi imersion moy tomizilib preparat predmet stoliga o'rnatiladi.

- Revolvorni aylantirib ob'ektni (90 x) ehtiyotkorlik bilan o'rnatib, tubs asta sekin ob'ektiv immersion moyga tekunicha tushiriladi.

- Ehtiyotkorlik bilan qoplagich oynani sindirmay mikrometrik vint bilan taxminiy foks o'rnatiladi.

- Oxirgi aniq foksni mikrovint orqali bir martadan ortiq buramasdan to'g'irlanadi.

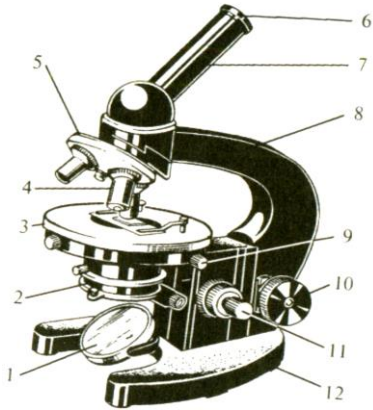

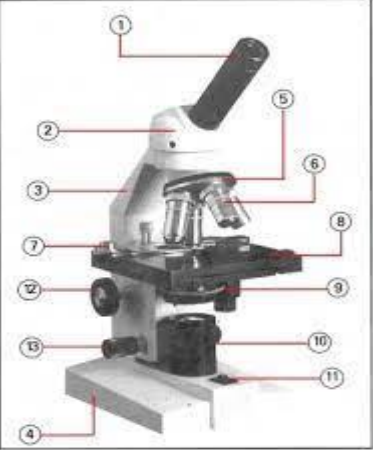
Tuzatish ishlari tugamay, predmet oynasini mikroskopdan olib tubs tagiga kichik ob'ektni qo'yib ob'ektivdagi immersion moyini benzin yoki spirt bilan ho'llangan yumshoq latta bilan artib mikroskopni qobiq ostiga joylashtiriladi.

Ishning bajarilish tartibi: Mikroskopni talaba o'ziga nisbatan perpendikulyar holda qo'yadi. Ko'zgudan va kondensorning iris diafragmasidan foydalanib, kunduzgi yorug'likda yoki mahsus yoritgichlar, masalan, OI-19 dan foydalanib yorug'lik topiladi. Preparatga bir tomchi immersiya moyi tomiziladi va mikroskopning buyum stolchasiga joylashtiriladi. Mikroskop revolveridagi 90x ob'ektiv (immersiya obektivi) preparatni ko'rishga moslanadi, yon tomonidan kuzatilgan holda obektiv linzasi moyga botiriladi. Okulyarga qaragan holda makrovint yordamida obektiv topiladi. Aniq ko'rinishga erishish uchun mikrovintdan foydalaniladi. Mikrovintdan juda ehtiyotlik bilan foydalaniladi-soat milli yo'nalishida yoki aksincha, faqat 1-2,5 aylanishdan ortiq buralmaydi. Preparatni yoritilishini kondensorni vertikal yo'nalishda harakatga keltirib, kamaytiriladi yoki ko'paytiriladi. Bo'yalgan preparatlarni kuzatganda kondensor taqalguncha yuqoriga ko'tariladi.

Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlar uchun tutilgan maxsus albomga ko'rish maydoniga o'hshash, 3-4sm lik doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan bakteriya hujayralarining rasmi chiziladi, o'lchamlari va shakllariga alohida ahamiyat beriladi, kerakli yozuvlar yoziladi.

Ish tugagandan so'ng ob'ektivdagi moy tozalanadi, (toluol shimdirilgan paxta bilan artiladi) revolverdagi kichik ob'ektiv fiksirlanadi, tubus va kondensor tushiriladi hamda mikroskop va boshqa o'quv qurollari maxsus joyga qo'yiladi, ish joyi tartibga keltiriladi.

1-topshiriq. Mikroskopning nomini yozing va jadvalni to'ldiring

2-topshiriq. Nima uchun mikrobiologiyada mikroskopdan foydalanilganda ob'ektlarni ko'rish uchun emmersion moydan foydalanilish sabababini tushuntiring.

3-topshiriq. Mikroorganizmlarni mikroskopda o'rganilayotganda katta ob'ektlarda ko'rish sabablarini tushuntiring.