

4-mavzu. Mikroorganizmlar preparatini tayyorlash usullari.

Buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash. Preparatlar buyum oynasida tayyorlanadi va ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Buyum oyna - bu qalinligi 1,2-1,4 mm dan oshmaydigan chetlari yaxshi silliqlangan yupqa plastinkalaridir (76x26 mm). Qalinroq oynalar tasvir aniqligiga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bu esa immersion ob'ektiv bilan ishlashni qiyinlashtiradi. Qoplagich oynalarning o'lchamlari ularning qalinligi 0,15-0,17 mm bo'lsa, 18x18, 20x20, 18x24 mm va boshqacharoq bo'lishi mumkin. Katta qalinlikdagi qoplagich oynalar ham tasvir sifatini pasaytiradi.

Buyum va qoplagich oynalar toza hamda yog'siz bo'lishi kerak. Oynaning tozaligini tekshirish uchun uning sirtiga suv tomiziladi. Agar oynaning sirti yog'siz bo'lsa, suv tomchilari sekin quriydigan qavariq pufakchalar hosil qilgan holda bir joyga to'planmasdan bir tekis yoyilib ketadi. Ishlatilgan oynalar 1-2 soat mobaynida xromli aralashmaga (1 litr suv + 50 gr kaliy dixromat + 100 gr texnik oltingugurt kislotasi) solib qo'yiladi. SHundan keyin ular iliq suv va spirt bilan chayiladi. Kundalik ishlarda buyum oynasi sirtidagi yog'larni ketkazish uchun u avval sovun bo'lagi bilan ishqalanadi va shundan keyin toza paxta ipli salfetka bilan artiladi.

Toza buyum oynalari quruq holatda yoki 96 foizli spirt to'ldirilgan zich tiqinli bankalarda saqlanadi. Oynalarni pinset bilan olish lozim. CHunki barmoqlar ularning sirtida yog'li dog'lar qoldiradi. Oynalarni ishlatishdan oldin havoda quritish yoki filtr qog'oz, toza mato bilan artish kerak. Qoplagich oynalar ham yaxshi yuvilgan, quritilgan bo'lishi hamda maxsus qutilar va Petri likopchalarida saqlanishi lozim.

Tadqiqot uchun kulturalarni ajratib olish. Laboratoriya sharoitida mikroorganizmlar qattiq va suyuq ozuq muhitlarda probirkalar, kolbalar, Petri likobchalarida o'stiriladi. Suyuq muhitdan hujayralarni ajratib olish uchun sterillangan bakteriologik ilmoq yoki pipetkalardan foydalaniladi. Qattiq muhitda o'sgan mikroorganizmlar ilmoq yoki preparoval ninalar yordamida olinadi. Kulturalarni olishda ularning yot mikroorganizmlar bilan ifloslanishini oldini olish uchun quyidagi qoidalarga rioya qilishi lozim:

1. Spirtovka yoki gaz gorelka yoqiladi.
2. Suyuq muhitda o'stirilgan kulturalar mavjud probirka kaftlar orasida sekin aylantiriladi, keyin chap qo'lga, bosh va ko'rsatkich barmoqlar orasida qiya holatda ushlanadi. Agar to'plam qattiq muhitda o'sgan bo'lsa, mikroorganizmlar kulturasining yuzasi yuqoriga qaratilgan bo'lishi va yaxshi ko'rinib turishi kerak.
3. Ilmoq vertikal holda garelka alangasiga tutib turiladi va sim qizarguncha qizdiriladi, shundan keyin tutqichning unga tutash qismi ham kuydiriladi.
4. O'ng qo'lning jimjilog'i nomsiz barmog'i bilan paxtali tiqinnning tashqi qismi kaftga bosiladi, probirkadan sug'urib olinadi va boshqa narsalarga tegdirmasdan tutib turiladi.
5. Ochilgan probirkaning chetlari garelka alangasida kuydiriladi.
6. Sterillangan ilmoq ehtiyotkorlik bilan kultura bor probirkaga kiritiladi. Qattiq muhitdagi hujayralarni shikastlamaslik uchun ilmoq probirkaning ichki sirtiga yoki

mikroorganizmlar bo'lmagan ozuq muhitiga tegizib sovutiladi. Engil silliq xarakat bilan ozgina mikrob massasi yoki hujayrali suyuqlik tomchisi olinadi. Ilmoqni probirkadan chiqarayotganda olingan material probirkaning devorlari yoki chetlariga tegib ketmasligiga e'tibor qilish kerak.

7. Yana probirkaning chetlari, keyin paxtali tiqinning ichki uchi, gorelka alangasida kuydiriladi va probirka yopiladi. Agar paxtali tiqin yona boshlasa, uni puflab o'chirishga harakat qilish yoki tashlab yuborish kerak emas. Balki uni zudlik bilan probirkaga tiqish va cho'g'langan joyini barmoq bilan bosib o'chirish lozim.
8. Kultura mavjud probirka shtativga qo'yiladi, olingan material esa preparat tayyorlash uchun ishlatiladi.
9. Ilmoqda qolgan mikroorganizm hujayralari gorelka alangasida kuydirib tashlanadi.

Petri likobchasida qattiq muhitda o'sgan mikroorganizm kulturalari ham xuddi shu ketma-ketlikda ajratib olinadi: gorelka yoqiladi, ilmoq(igna) sterillanadi, shundan keyin chap qo'lning bosh va ko'rsatkich barmoqlari yordamida Petri likobchasining qopqog'i qiya ochiladi. Sterillangan ilmoq likobcha qopqog'i ostiga kiritiladi va mikroorganizm koloniyalaridan xoli muhitga tegiziladi. Qizigan ilmoq muhitning "erib" ketishiga olib keladi. YUzadan uncha ko'p bo'lmagan miqdorda mikrob hujayralari olinadi hamda shundan keyin likopchaning qopqog'i zudlik bilan berkitiladi. Ilmoq yordamida olingan material preparat tayyorlash yoki ekish uchun ishlatiladi. Ilmoq (igna) ni qizdirish orqali unda qolgan hujayralar yo'q qilinadi. Xo'l ilmoqni qizdirish vaqtida mayda suyuqlik tomchilari va ular bilan birga mikrob hujayralari ham aerosol hosil qilgan holda atrofga sachrashni mumkin. SHuning uchun ilmoq simning halqaga tutashgan joyidan boshlab qizdiriladi. Ilmoqda qolgan hujayralar quriydi, shundan keyin igna tutqich tik holatga keltirib, ilmoq qizdiriladi.

Suyuq muxitdan mikroorganizmlarni graduslarga bo'lingan yoki Paster pipetkasi bilan ajratib olish mumkin. Qog'ozga o'ralgan sterillangan pipetkalar paxtali tampon bilan berkitilgan yuqori uchidan tutgan holda sug'urib olinadi. Suyuq kultura mavjud kolba (probirka) chap qo'lda ushlanadi. Pipetkaning yuqoridagi teshigini (tamponli) ko'rsatkich barmoq bilan berkitgan holda o'ng qo'lning bosh va o'rta barmoqlari bilan ushlanadi. Agar pipetkadagi suyuqlik etarli bo'lmasa, uning paxtali tampon tiqilgan uchidan og'iz bilan so'riladi. Suyuq kulturani rezina nok yordamida so'rish ham mumkin. Ajratib olingan namuna preparatlar tayyorlash yoki yangi ozuq muhitiga ekish uchun ishlatiladi. Iflos pipetkani shtativga o'rnatish yoki boshqa narsalarga tegdirish mumkin emas. U darhol dezinfeksiyalovchi suyuqlikka (xloraminning 0,5-3% li suvdagi aralashmasi yoki fenolning 3-5% li suvdagi aralashmasiga) solib qo'yilishi kerak.

Tirik hujayralar preparatini tayyorlash.

Tirik holatdagi mikroorganizmlar "ezilgan omchi", "osilgan tomchi" va "tamg'a" ko'rinishidagi preparatlar yordamida kuzatiladi.

"Ezilgan tomchi" preparati. Buyum oynasiga suv, bulon yoki fiziologik aralashma (NaCl ning 0,5% li aralashmasi) ning kichik bir tomchisi tomiziladi.

Unga ilmoq yoki igna yordamida qattiq ozuq muhitidan olingan kultura yoki o'rganilayotgan boshqa material (xamir, achitqi sharbat va hokazo) qo'shiladi. SHundan keyin sal loyqalangan suspenziya hosil bo'lgunga qadar yaxshilab aralashtiriladi. Suyuq muhitlarda o'sgan mikroorganizmlarni kuzatilayotganda buyum oynasida suv tomchisini tomizish shart emas. Qoplagich oynaning cheti mikroorganizmoar tomchisi chekkasiga qo'yiladi va oynalar orasida mikroskopda ko'rish uchun halaqit beruvchi xavo pufakchalari hosil bo'lmasligiga harakat qilib, sekin-asta tushiriladi. Ilmoqning shisha uchi bilan qoplagich oyna buyum oynasiga qisiladi. Qoplagich oyna chetidan chiqib qolgan ortiqcha suyuqlik filtr qog'oz parchasi bilan artib olinadi. Tayyorlangan preparat zudlik bilan o'rganilishi lozim. CHunki suyuqlik qurib qolishi va mikroskopda ko'rish qiyinlashishi mumkin.

"Ezilgan tomchi" preparati yordamida yorug' va qora maydonlarda hujayralarning shakli va o'lchamlari, fiziologik holatlari, ko'payish turlari, sporalarning joylashishi, zahira ozuq moddalarning mavjudligi, harakatchanligi aniqlanishi mumkin. Hujayralarning harakatchaligini aniqlashda ularning haqiqiy xarakatini braun harakatidan farqlash lozim, Braun harakatida hujayralar bitta joyda qolgan holda tebranma harakatni amalga oshiradi yoki suyuqlik oqimi bo'yicha ko'chadi.

"Osilgan tomchi" preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun dumaloq shaklda ishlangan chuqurchali buyum oynasidan foydalaniladi. CHuqurcha chetlariga vazelin surtiladi. YOg'sizlantirilgan qoplagich oyna o'rtasiga mikroorganizmlar suspenziyasining kichik bir tomchisi tomiziladi. Tomchini pastga qaratib oyna to'ng'ariladi va ehtiyotkorlik bilan vazelinli halqaga bosiladi. Tomchi chuqurchaning o'rtasiga joylashishi, uning chetlari va tubiga tegmasligi lozim (2-rasm).

Bunday preparatda tomchi qoplagich oynaning ichki sirtiga osilgan holda bo'lib, germetik berk kamera ichida qoladi. Bu esa uni bir necha kun mobaynida o'rganishga, mikroorganizmlarning o'sishi va ko'payishini, sporalarning hosil bo'lishi va o'sishini hamda hujayralarning harakatchanligini kuzatishga imkon beradi.

"Tamg'a" preparati aktinomitsetlar va mitselial zamburug'larning hujayralarini koloniyadagi tabiiy joylashishini o'rganish uchun tayyorlanadi. Mikroorganizmlar koloniyasi o'sgan qattiq muhitdan skalpel yordamida uncha katta bo'lmagan kubik yoki alohida koloniya kesib olinadi va buyum oynasi ustiga qo'yiladi. Mikroorganizmlar joylashtirilgan oyna yuzasi tepaga qaratilgan bo'lishi kerak. So'ngra uning ustiga toza qoplagich oyna qo'yiladi, ilmoq yoki igna bilan u sal bosiladi va chetga surib yubormaslikka harakat qilgan holda tezlik bilan ko'tarib olinadi. Hosil bo'lgan tamg'ani pastga qaratgan holda preparat buyum oynasiga tomizilgan suv yoki ko'k metilen (1:40) tomchisi ustiga joylashtiriladi va mikroskopda qaraladi.

Tirik hujayralarni bo'yash. Hujayralarning ba'zi xususiyatlarini va ulardagi qo'shimchalarni aniqlash uchun mikroorganizmlarni tirik holda bo'yash usulidan foydalaniladi. Bo'yoq moddalarning zaharliligini hisobga olgan holda, tirik hujayralar neytral qizil, neytral binafsha, ko'k metilen, fkusin, eozin va eritrozinlarning juda kam miqdordagi (0,001 -0,0001%) konsentratsiyalari bilan

bo'yaladi. O'rganilayotgan mikroorganizmlar tomchisi buyumoynasida bo'yoq aralashmasi tomchisi bilan aralashtiriladi, qoplagich oyna bilan yopiladi va 2-3 minutdan so'ng mikroskopda qaraladi.

Mikroorganizmlarning tabiiy shakli, kattaligi va tuzilishi, ularning ayrim tuzilmalari (hujayradan tashqaridagi shilimshiqlik) to'g'risidagi tushunchalarni negativ preparatlar beradi. Negativ bo'yash uchun suyuq tush, qizil kongoning 3% li suvli eritmasi, nigrozinning 10 foizli eritmasi va mirob hujayralariga singmaydigan boshqa bo'yoqlar ishlatiladi. Tush yoki boshqa bo'yoq eritmasini tomchisi o'rganilayotgan kultura tomchisi bilan aralashtiriladi, ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Bo'yoqlar hujayrani o'rab turgan bo'shliqni to'ldiradi. Natijada bo'yalmagan mikroorganizmlar preparatning to'q fonida yaxshi yoritilgan rangsiz kapsulalar ko'rinishida aniq ajralib turadi.

Negativ bo'yash boshqacha tarzda amalga oshirilishi ham mumkin. Buyum oynasiga qizil kongoning 3 foizli suvdagi eritmasining tomchisi tomiziladi. Bu tomchiga o'rganilayotgan material qo'shiladi va sal aralashtiriladi. SHundan keyin hosil bo'lgan aralashma ilmoq yordamida spiral ko'rinishida yoyiladi. Bunda ilmoq har gal yangi joydan olib o'tiladi. Material qon surtmasi tayyorlash jarayonidagi singari qoplagich oyna bilan ham yopilishi mumkin. Surtma havoda quritiladi, fiksirlanmaydi va immersion ob'ektiv bilan mikroskopda ko'riladi. Qizil-jigarrang fonda mikroorganizmlarning bo'yalmagan shakllari yaxshi ko'rinadi.

Fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash. YAshash jarayoni to'gatilgan, lekin nozik tuzilmalari to'liq saqlangan mikroorganizm hujayralari fiksatsiya qilingan hisoblanadi. Fiksatsiya qilingan bo'yalgan hujayralar va ularning tuzilish detallari preparatda yaqqol ajralib turadi. Bu hujayralarning shakli va ichki elementlarini o'rganishni engillashtiradi. Fiksatsiya qilingan preparatlar odatda immersiya orqali ko'rinadi. Fiksatsiya qilingan, bo'yalgan preparatlarni tayyorlash quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi: surtmanni tayyorlash, quritish, fiksatsiya qilish va uni bo'yash.

Surtmani tayyorlash. Surtmalar yog'sizlantirilgan toza buyum oynalarda tayyorlanadi. Buyum oynasi pinset yordamida yoki ikki chetidan barmoqlar bilan ushlagan holda olinadi va gorelka alangasiga tutib sal kuydiriladi. SHundan keyin kuydirilgan tomonini tepaga qaratib vannacha ustidagi ko'prikcha (rezina shlang parchalari bilan tutashtirilgan ikkita shisha tayoqcha)ga qo'yiladi. "Ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi, ilmoq yordamida yaxshilab aralashtiriladi va hosil bo'lgan suspenziya yupqa tekis qatlam ko'rinishida 1-2 sm maydonga yoyiladi.

Surtmani quritish. Surtma xona haroratida quritiladi. Agar quritish jarayoni sekin kechsa, surtma tepaga qaratilgan preparat gorelka alangasi ustida balandroq ko'tariladi va oynani qizdirmasdan iliq havoda quritiladi. Aks holda hujayralar shakli buzilishi mumkin.

Fiksatsiya qilish. Fiksatsiya qilish jarayonida mikroorganizm hujayralari o'ldiriladi va xavfsizlantiriladi. Bu esa patogen kulturalar bilan ishlashda muhim ahamiyatga ega. Fiksatsiya qilish natijasida hujayralar oynaga jips yopishib qoladi va keyingi operatsiyalarda tushib ketmaydi. O'lik hujayralar bo'yoqni o'ziga yaxshi singdiradi, ya'ni yaxshi bo'yaladi.

Fiksatsiya qilish uchun preparat pinset yordamida yoki bosh va ko'rsatgich barmoqlar bilan ushlanadi va gorelka alangasi ustidan 3-4 marta olib o'tiladi. Buyum oynasi barmoq tekkizilganda sal kuydiradigan darajagacha 2-3 sekund mobaynida qizdiriladi. Bundan ortiq termik fiksatsiya mikrobu hujayralarining tuzilishi va shaklini o'zgartirib yuborishi mumkin. SHuningdek kimyoviy moddalar bilan fiksatsiya qilish ham qo'llaniladi. Buning uchun surtmali buyum oynasi 96% li etanol solingan menzurkaga 15-20 min, suvsiz metanolga 3-5 min, atsetonga 5 min, Nikiforov aralashmasiga 15-20 min, 96% etanol va 40% li shakllinning 95:5 nisbatdagi aralashmasiga 2 min solib qo'yiladi. Fiksatorni bevosita surtma ustiga qo'yish va ko'rsatilgan vaqtgacha tutib turish ham mumkin. Fiksatsiya tugagandan keyin surtma distillangan suv oqimi bilan yuviladi va shundan keyin bo'yaladi.

Fiksatoridan yuvilgan surtma vannacha ustiga o'rnatilgan ko'prikchaga joylashtiriladi. Surtma ustiga bo'yoq eritmasi tomizg'ich bilan quyiladi. Bo'yash davomiyligi har xil bo'ladi: suvli fuksin uchun – 1-2 min, ko'k metilen uchun esa - 3-5 min. Bo'yash jarayoni tugagandan keyin preparat oynaning chetidan ushlagan holda olinadi, qiya holatda tutiladi va kuchsiz suv oqimi yordamida bo'yoq yuvib tashlanadi. YUvish oqib tushayotgan suvda bo'yoq deyarli qolmagunga qadar davom ettiriladi. SHundan keyin preparat havoda yoki oynaga ehtiyotlik bilan filtr qog'ozini tegizib quritiladi. Bo'yalgan surtma immersion ob'ektiv orqali mikroskopda ko'riladi. Puxta tayyorlangan va to'g'ri bo'yalgan preparatda ko'rish maydoni toza bo'lib, faqat hujayralar bo'yalgan bo'ladi xolos.

Toza fon hosil qilish uchun bo'yoq eritmasini surtma ustiga qo'yilgan filtr qog'ozga qo'yish yoki oldindan tegishli bo'yoq singdirilgan filtr qog'ozdan foydalanish mumkin. Fiksatsiya qilingan surtma ustiga bir necha distillangan suv tomchisi tomiziladi, uning ustidan esa surtma o'lchamiga moslab qirqib olingan va tegishli bo'yoq bilan bo'yalgan filtr qog'oz qo'yiladi, u oyna sirtiga bosiladi va belgilangan muddatda shunday ushlab turiladi. SHundan keyin qog'oz olib tashlanadi, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va immersiya orqali mikroskopda ko'riladi.

Predmetlarni fikssatsiyalash usullari.

Preparatlar : 1) undagi mikroorganizmlarni nobut qilish : 2) mikroblarni buyum oynasiga mustahkam yopishtirish (suv bilan yuvilganda buyum oynasidagi mazok yuvilib ketmasligini ta'minlash) 3) nobut bo'lgan bakteriyalar (oqsil birikmalar) tezroq bo'yalishini ta'minlash maqsadida fikssatsiyalanadi.

Odatda mikroblar buyum oynasiga yopishib qolishi uchunpreparat spirt lampa alangasi ustidan bir necha marta o'tkaziladi.Biroq bunday fikssatsiyalashda ularning morfologik tuzilishi o'zgarib ketishi sababli preparatlar ximiyaviy birikmalar bilan fikssatsiyalanadi. Ularning morfologik tuzilishi o'zgarib ketishi sababli preparatlar quydagi kimyoviy brikmalar bilan fikssatsiyalanadi .

1.Etil spirt. Odatda, etil spirtining 95 % eritmasi, ayrim vaqtlarda absalyut spirt ham ishlatiladi. Fiksatsiyalash vaqtida bu spirt buyum oynasida tayyorlangan mazok ustiga tomiziladi. Oradan bir necha minut, preparat suv bilan yuviladi va bo'yaladi.

2. 50 ml spirtga 50 ml efir qo'shilgan aralashma. Byum oynasidagi mazok ustiga bu aralashmadan bir necha tomchi tomiziladi va bug'lanib ketguncha qoldiriladi (Nikiforov bo'yicha).

3. Atseton. Mazokli buyum oynasi atseton eritmasiga botiriladi. Oradan besh minut o'tgach, mazok quriydi . Keyin bo'yab ko'riladi.

4. Formalin . Mazokli buyum oynasini xo'llab Petri idishining qopqog'iga yopishtiriladi va idishga 10-15 ml chamasi formalin eritmasi quyiladi. So'ngra qopqog'i yopilib, unga yopishtirilgan buyum oynasidagi mazok bir muncha vaqt formalin bilan bug'lantiriladi . Formalin bug'i ta'sirida mikroblar nobud bo'lib, buyum oynasiga yopishib qoladi .

5. Fiksatsiyalovchi moddalarning aralashmasi. Bu tipdagi fiksatorlani tayyorlashda bir xil kimyoviy brikmaladan foydalanildi. Sitologik tekshirishlarda mikroblarning ichki tuzilishini aniqlash uchun tayyorlangan mazoklar 7 ml 3% li bixromat, 7 ml 1% li xromat kislota eritmasi va 4 ml osmiy kislota eritmasidan iborat aralashmada 1-2 minut fiksatsiyalanadi.

Bo'yash. Mikroorganizmlarni bo'yashning oddiy, murakkab va differensial usullari mavjud. Oddiy bo'yash usulida bitta bo'yoq ishlatiladi va barcha hujayralar bo'yaladi. Murakkab bo'yash usulida ikki yoki bir nechta bo'yoqlardan foydalanish ko'zda tutiladi. Masalan, bakteriyalarning Gram bo'yicha bo'yashga munosabatini diagnostik aniqlash. Differensial bo'yash usuli hujayra biologik tuzilmalarining turli bo'yoqlarga nisbatan individual munosabatiga asoslangan (sporalarni, qobiqni, xivchinlarni, yadroni, kapsulani va hokazolarni bo'yash).

Preparatni bo'yashda ishlatiladigan bo'yoqlar.

Fiksatsiyalangan preparatni suv bilan yaxshilab yuvib ustiga yo'l qilib bo'yoq tomiziladi. Mikrobiologiyada ishlatiladigan bo'yoqlarning turi juda ko'p bo'lib , har qaysi bo'yoq o'ziga xos ta'sir ko'rsatadi .

1. Metilen ko'ki. 100 ml 96% li spirtga 3 g metilen ko'ki eritiladi. Hosil bo'lgan eritma bir necha kun saqlanadi shu vaqt ichida bir necha marta chayqatiladi . So'ngra eritma fil'tirlanadi Bu bo'yoqni ishlatishdan oldin unga 5-10 barovar suv quyiladi , bu bo'yoq bilan preparat 2-3 minut davomida bo'yaladi .

2. Fuksin (asosiy). Qizil rangli fuksin bo'yog'i juda barqaror bo'ladi. Uni tayyorlash uchun 100 ml 96 % li spirtga 10 g asosiy fuksin kiristallarini qo'shib, to'yingan eritma hosil qilinadi. SHu eritmada 10 ml olib . Unga 100 ml suv qo'shiladi, bu bo'yoq bilan preparat 1-3 minut davomida bo'yaladi .

3. Sil' - karbol fuksini. Avval konsentrlangan fuksin eritmasi tayyorlanadi . Buning uchun 1 g fuksin 10 ml 96 % ml spirtga eritiladi . SHu eritmaga 100 ml 5% li karbol (fenol) kislota eritmada qo'shiladi. Oradan 24soat o'tgach , aralashma fil'tirlanadi , bu bo'yoq bilan preparat 2-3 minut davomida bo'yaladi .

4. Metlen –violet yoki pioktanin bo'yog'i . Bu bo'yoq ham metilen ko'ki va fuksin bo'yoqlari singari tayorlanadi . Metalen bo'yog'i yod eritmasi bilan birgalikda iishlatilganda bakteriyalar juda yaxshi bo'yaladi . Bu bo'yoq bakteriyalarni Gramm asosida bo'yashda ishlatiladi .

5. Eritrozin. Avval 5 g karbol kislatasi (fenol) 100 ml distillangan suvda eritilib, so'ngra unga 1-5 g eritrozin bo'yog'i qo'shiladi. Eritrozining karbol kislotadagi eritmasida tuproq zarrachalarini bo'yamasdan, uning ichidagi bakteriyalarnigina bo'yaladi. Bu bo'yoq tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlashda ishlatiladi.

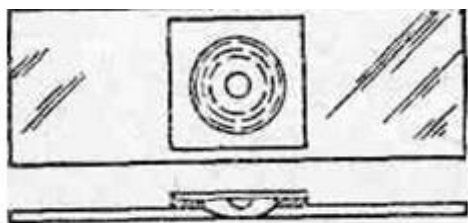
6. Yod eritmasi. Bu eritmani tayyorlash uchun 1g kiristal yodni 2g kaliy yodid tuziga qo'shib, 300 ml suvda eritiladi, bu eritmada lyugol eritmasi ham deyiladi ..

7. Gensan –violet bo'yog'i. Bu bo'yoq 100 ml suvga 11 ml gensan - violet bo'yog'ning to'yingan eritmasi va 10 tomchi anilin aralashtirilib tayyorlanib, bakteriyalarni gramm usulida bo'yashda ishlatiladi.

Kerakli jihoz va materiallar: mikroskop, buyum oynasi, bakterial ilmoq spirt lampa, to'xtab qolgan suv yoki tish kiri, filtr qog'oz, fuksin bo'yog'i.

Ishning borishi: Ishning bajarilish tartibi: Bakteriyalarni tirik holda ko'rish uchun to'xtab qolgan iflos suv ishlatiladi. Bu suvni tayyorlash uchun 20—25 g quruq pichan maydalanadi va 200 ml suv solingan idishga botirilib, 30⁰ li termostatda 2—3 kun saqlanadi. Mikroorganizmlar neytral sharoitda yaxshi rivojlanishini nazarda tutib, idishga ozgina oq bo'r solinadi. Hosil qilingan iflos suvdan osma hamda ezilgan tomchili preparatlar tayyorlanadi.

Osma tomchili preparat tayyorlash uchun o'rtasi chuqur buyum oynasining chuqurchasi atrofiga vazelin surkab qo'yiladi. Tozalangan qoplag'ich oyna o'ng qo'lga olinib sterillanadi, ya'ni sirtidagi mikroblarni yo'qotish uchun spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. So'ngra chap qo'lga bakterial ilmoq olinib, cho'g' bo'lguncha spirt lampasi ustiga tutiladi. Sterillangan ilmoq yordamida tekshiriladigan ob'ektdan —sasigan suvdan bir tomchi olib qoplagich oyna ustiga tomiziladi. So'ngra u teskarisiga aylantirilib, buyum oynasidagi atrofiga vazelin surkalgan chuqurcha ustiga qoplanadi.



2-rasm. Osma tomchili preparati tayyorlash uchun ishlatiladigan o'rtasi chuqur buyum oynasi
a -ustidan ko'rinishi; b -yonidan ko'rinishi

Ezilgan tomchili preparat tayyorlash uchun tekis buyum oynasi artib tozalangandan keyin sterillanadi va ustiga tekshiriladigan suyuqlik tomchisi tomiziladi. So'ngra usti qoplag'ich oyna bilan yopiladi. Natijada suyuqlik ezilgan holatga aylanadi. Tayyorlangan preparatlar mikroskopning 8x va 40x li ob'ektivlari orqali tekshirilib, ularning ichida harakatsiz va harakatlanayotgan tirik mikroorganizmlar borligi aniqlanadi.

Eslatma: a— qoplag'ich oyna o'rniga emulsiyadan tozalangan fotoplyonka bo'laklari ishlatilsa, u bir marta foydalanib, so'ngra tashlab yuboriladi; b —o'rtasi chuqur oyna o'rniga oddiy buyum oynasi ishlatilganda uning ustiga o'rtasi doira shaklida o'yib olingan va namlangan fil tr qog'oz yopishtirib qo'yiladi. Uning ustiga tekshiriladigan tomchi tomizilgach, qoplag'ich oyna yopiladi.

To'xtab qolgan iflos suvdan yoki tish kiridan bakteriyali preparat tayyorlash uchun oddiy buyum oynasi ishlatiladi. U yaxshilab artilib sterillanadi. Buning uchun oyna spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. So'ngra tekshiriladigan suyuqlikdan sterillangan bakterial ilmoqda bir tomchi olib, buyum oynasiga surkaladi, ya'ni mazok tayyorlanadi. Mazok ochiq havoda quritiladi, so'ngra bakteriyalarni oyna ustida fiksatsiyalash maqsadida, oyna spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. Tayyorlangan preparat ustiga 2—3 tomchi Lyoffler sin'kasi yoki fuksin bo'yog'i tomiziladi. Oradan 1—2 minut o'tgach, bo'yoq yuviladi. Preparat ustidagi suv tomchilari fil'trlanadi qog'ozga shimdirib olinadi. So'ngra mazok ustiga bir tomchi kedr yoki kastorka moyi tomizib, u avval quruq (moyga botirilmagan, 8x li), keyin immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Preparatda sharsimon, tayoqchasimon, spiralsimon va boshqa shakldagi mikroblar borligi aniqlanadi.

Nazorat savollari

1. Biologik mikroskop nima maqsadda ishlatiladi?
2. Mikroskop qanday qismlardan tashkil topgan?
3. Makro- va mikrovintlarning vazifasi nima va ulardan qanday foydalaniladi?
4. Quruq va immersion ob'ektivlar nima?
5. Nima uchun immersion ob'ektivlarda kedr va boshqa shunga o'xshash yog'lar ishlatiladi?
6. Buyum oynasi va yopqich oyna nima? Nima uchun ular ishlatiladi?
7. «Ezilgan tomchi» preparati qanday tayyorlanadi?
8. «Osilgan tomchi» preparati qanday tayyorlanadi?
9. Fiksatsiya qilingan preparat qanday tayyorlanadi?
10. Mikroorganizm preparatlarini bo'yash usullari qanday?