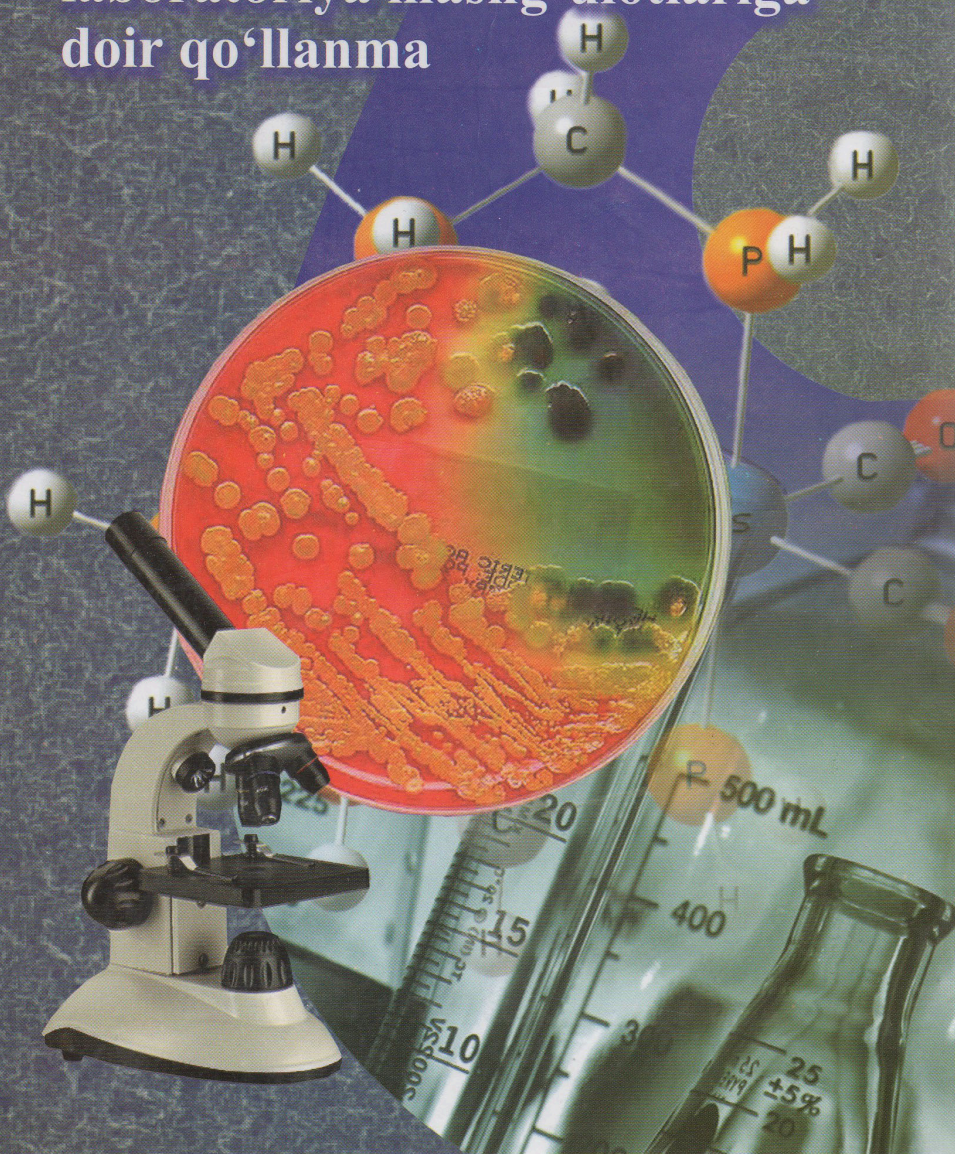


Sh. R. Aliyev, I.M. Muhamedov, Z.A. Nuruzova,  
Sh.A. Xo'jayeva, A.M. Davurov, F.X. Rasulov

# Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlariga doir qo'llanma





SH.R.ALIYEV, I.M.MUHAMEDOV,  
Z.A.NURUZOVA, SH.A.XO‘JAYEVA,  
A.M.DAVUROV, F.X.RASULOV

# MIKROBIOLOGIYADAN LABORATORIYA MASHG‘ULOTLARIGA DOIR QO‘LLANMA

*Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi tomonidan (ta'lim yo'nalishi:  
5726166 – Davolash ishi, 5726266 –Pediatriya ishi) tibbiyot oliy o'quv  
yurtlari talabalari uchun o'quv qo'llanma sifatida tavsiya etilgan*

Toshkent  
«Yangi asr avlodi»  
2013

**UO•K: 579.61(076.5)**

**KBK: 28.4ya722**

**M-68**

Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlariga doir qo'llanma: tibbiyot oliy o'quv yurtlari talabalari uchun / Sh.R.Aliyev, I.M.Muhamedov, Z.A.Nuruzova, Sh.A.Xo'jayeva, A.M.Davurov, F.X.Rasulov, -Toshkent: Yangi asr avlodi, 2013. - 436 b.

ISBN 978-9943-08-901-3

Ushbu qo'llanma O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash tizimini isloh qilish davlat dasturida qayd qilingan tibbiyot oliy o'quv yurtlarini o'zbek tilidagi qo'llanmalar bilan ta'minlash zaruriyatini inobatga olgan holda yozildi.

Qo'llanmada mikrobiologiya, virusologiya va immunologiyaga oid umumiy va xususiy tushunchalar, shuningdek Markaziy Osiyo davlatlarida so'nggi yillarda tez-tez uchrayotgan yuqumli kasalliklarning bakteriologik, immunologik va serologik diagnostikasi yoritilgan. Kitobda 100 dan ortiq rasm, jadval va sxemalar berildi.

Qo'llanma tibbiyot institutlarining talabalari, magistrlar, shu sohada ilmiy va amaliy ish olib borayotgan mutaxassislar uchun mo'ljallangan.

**UO•K: 579.61(076.5)**

**KBK: 28.4ya722**

**Taqrizchilar:**

**O.M. MURTAZOYEV,**

Toshkent tibbiyot akademiyasining epidemiologiya  
kafedrasini professori, tibbiyot fanlari doktori

**M.A. MIRZAYEVA,**

Toshkent pediatriya instituti mikrobiologiya, virusologiya va  
immunologiya kafedrasining mudiri, tibbiyot fanlari doktori, professor.

*Ushbu kitob O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligining O'quv yurtlari bosh boshqarmasi tomonidan tibbiyot oliy bilimgozlari talabalari uchun o'quv qo'llanma sifatida chop etishga ruxsat etilgan.*

ISBN 978-9943-08-901-3

© Sh.R.Aliyev, I.M.Muhamedov, Z.A.Nuruzova, Sh.A.Xo'jayeva, A.M.Davurov, F.X.Rasulov, «Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlariga doir qo'llanma». «Yangi asr avlodi», 2013-yil.



## QISQARTIRILGAN SO‘ZLAR RO‘YXATI:

- AG – antigen
- AT – antitela
- AR – agglyutinatsiya reaksiyasi
- BSST – Butun dunyo sog‘liqni saqlash tashkiloti
- BSJ- Kalmet va Geren batsillasi
- BGAR – bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi
- VSA – vismut sulfit agar
- GAR – gemagglyutinatsiya reaksiyasi
- GATR – gemagglyutinatsiyani tormozlash reaksiyasi
- GPA – go‘shli peptonli agar
- GPB – go‘shli peptonli bulyon
- DNK – dezoksiribonuklein kislota
- ZA – zardobli agar
- IA – ishqoriy agar
- IL – interleykin
- IF – interferon
- ITGB – ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar
- IFU – immunoflyuoresent usul
- IFA – immunoferment analiz
- KBR – komplementni bog‘lash reaksiyasi
- KR – Kumbs reaksiyasi
- KTYUK – kasalxonada tarqaluvchi yuqumli kasalliklar
- KHQB – koloniya hosil qiluvchi birlik
- QA – qonli agar
- MBK – minimal bakteritsid konsentratsiyasi
- MG – molekular gibridizatsiya
- MIK- minimal ingibitsiya konsentratsiyasi
- mAT – monoklonal antitela
- NA – neytrallash reaksiyasi
- NK – nuklein kislota
- NFA – neytrofillarni fagotsitar aktivligi
- OGV – oddiy herpes virus
- OITV – odam immun tanqislik virusi
- OITS – odam immun tanqislik sindromi
- PGAR – passiv gemagglyutinatsiya reaksiyasi
- PZR – polimeraza zanjirli reaksiya
- PR – pretsipitatsiya reaksiyasi
- RNK – ribonuklein kislota

SD – differensirovka klasteri  
SK – suyak ko'migi  
SKB – sanitariya ko'rsatkich bakteriyalari  
SQTA – sut qo'shilgan tuzli agar  
SES – sanitariya epidemiologik stansiya  
TI – terapevtik indeks  
TKB – termotolerant koleform bakteriyalar  
TSTA – tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agar  
UMS – umumiy mikroblar soni  
sM – sitoplazmatik membrana  
HD – hujayra devori  
HPT – hujayraga patogen ta'siri  
ShA – shokolad agar  
Ig – immunoglobulin  
DLM – Dosis letalis minima  
LD50 – letalis dosis 50

## KIRISH

Ma'lumki, mikrobiologik tekshirish natijalariga asoslangan holda yuqumli kasalliklarga aniq tashxis qo'yish mumkin. Bunda shu kasalliklarga sabab bo'lgan mikroob sof holda ajratib olinib, uning hamma xususiyatlari o'rganib chiqiladi. Shuning uchun tibbiyot institutlarining barcha fakultetlari talabalariga tavsiya etilayotgan mazkur darslikda yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilariga batafsil tavsif berildi hamda ular qo'zg'atadigan kasalliklarning mikrobiologik diagnostikasi keng yoritildi.

Qo'llanmada bakteriyalar, viruslar, rikketsiyalar, spiroxetalar, xlamidiyalar, mikoplazmalar, zamburug'lar, sodda jonivorlar va boshqa mikroorganizmlar qo'zg'atadigan kasalliklar, ularning bakteriologik, virusologik va immunologik tekshirish usullari bayon etildi.

Qo'llanmaning immunologiya qismida eng so'nggi zamonaviy diagnostika usullarini kengroq yoritishga harakat qilindi.

So'nggi yillarda ko'payib borayotgan hamda tashxis qo'yishda muammoli hisoblangan hujayra ichi bakteriyalari (xlamidiya, rikketsiyalar) va mikoplazma infeksiyalarining morfobiologik xossalari va laboratoriya diagnostikasi batafsil berildi.

Qo'llanmaning xususiy qismida esa bakteriyalar, zamburug'lar, viruslar, spiroxetalar va patogen, eng sodda bir hujayrali jonivorlar morfologiyasi, antigenlik xususiyatlari hamda ular paydo qiladigan kasalliklarning laboratoriya tashxisi, profilaktikasi va davolash usullari bayon etildi.

Qo'llanmada klinik mikrobiologiya asoslari mavzusi birinchi bor yoritilib, unda xavfli jarohatlar va kuyish, turli a'zo va to'qimalar zararlanishining etiologik omillari, bronx-o'pka, ichakning shartli-patogen infeksiyalari hamda urologik kasalliklar, disbakterioz va kasalxona ichi (yatrogen) infeksiyalari to'g'risida to'liq ma'lumotlar berildi.

Ushbu o'quv qo'llanmani tayyorlashda ayrim xato va kamchiliklarga yo'l qo'yilgan bo'lishi mumkin. Shuning uchun mualliflar darslik haqidagi tanqidiy fikr va mulohazalarni mamnuniyat bilan qabul qilib, kitobxonlarga oldindan minnatdorchilik bildiradilar.

## *I BOB. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA*

Mikrobiologiya fanining ushbu bobida bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalarning tuzilishi, asbob-uskunalarini hamda bakteriologik, virusologik tekshirishlarda qo'llaniladigan asosiy usullar: oziq muhitlarini tayyorlash, sterillash, mikroorganizmlarni o'stirish usullari va sof kulturalarni ajratib olish, mikroskop ostida ko'rish, identifikatsiya qilish bayon etilgan.

Yuqorida ko'rsatilgan usullar yordamida talabalar tomonidan laboratoriyalarda bakteriya va viruslarning morfologik, kultural hamda biokimyoviy belgilari o'rganiladi. Atrof-muhitdagi obyektlarni hamda oziq-ovqat mahsulotlarini sanitariya-bakteriologik jihatdan baholash ham shu usullar asosida o'tkaziladi. Shu bilan bir qatorda, talabalar tashqi muhitning fizik, ximik faktorlarini mikroorganizmlarga ta'siri, antibiotiklarning aktivligi, bakteriyalarning ularga sezuvchanligi hamda bakteriyalar irsiyatining asoslarini tekshirish usullarini ham ko'rib chiqishadi.

O'tkazilgan laboratoriya mashg'ulotlari talabalarga ma'ruzalarda olingan bilimlarini mustahkamlash va bakteriyali, virusli kasalliklarga laboratoriya tashxisini qo'yish hamda atrof-muhitni sanitariya-bakteriologik jihatdan tekshirishda egallangan mikrobiologik tekshirish mahoratidan foydalanish imkonini beradi.

### ***I-MAVZU. MIKROBIOLOGIK LABORATORIYALAR VA ULARNING JIHOZLARI. BAKTERIYALARNING MORFOLOGIYASI***

#### **Mashg'ulot rejasini**

1. Mikrobiologik (bakteriologik, virusologik va serologik) laboratoriyalarni tashkil etish va ularda ishlash qoidasi.
2. Mikrobiologiya laboratoriyalarining asosiy asboblari va jihozlari.
3. Mikroskoplar va ulardan foydalanish usullari.
4. Mikroorganizmlar haqida tushuncha, bakteriyalarni o'rganish usullari.
5. Sharsimon bakteriyalar morfologiyasi.
6. Surtma tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli.

#### **Namoyish qilish**

1. Mikrobiologiya laboratoriyalarida foydalaniladigan asosiy asbob va jihozlarning tuzilishi, qo'llanilishi: termostat, sentrifuga, avtoklav, quritish shkafi va boshqa asboblari, idishlar.
2. Biologik mikroskoplar va ularning turli xillari.
3. Bakteriya, achitqi zamburug'i preparatlari.
4. Bakteriologik amaliyotda qo'llanilayotgan bo'yoqlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq:**

1. Stafilokokkning agarli kulturasidan surtma tayyorlash, gensian binafsha bilan bo'yash, mikroskopda ko'rish, daftarga rasmini chizish.
2. Streptokokkning bulyonli kulturasidan surtma tayyorlash, gensian binafsha bilan bo'yash, mikroskopda ko'rish, daftarga rasmini chizish.
3. Ichak tayoqchasining agarli kulturasidan surtma tayyorlash, suvli fuksin bilan bo'yash, mikroskopda ko'rish, daftarga rasmini chizish.

### **Bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalarning tashkil qilinish prinsiplari**

Bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalar sanitariya epidemiologik stansiyalar (SES) tarkibida, yirik shifoxonalarda va tibbiyot institutlarida (talabalar bilan mashg'ulot o'tish uchun) tashkil qilinadi. Bu laboratoriyalarda bemorlardan olingan patologik materiallar asosida bakteriologik, virusologik va serologik tekshiruvlar o'tkaziladi. Shu bilan bir qatorda, bu laboratoriyalarda bakteriya tashib yuruvchilar ko'rikdan o'tkaziladi, hamda suv, havo, tuproq, oziq-ovqat mahsulotlari va turli buyumlar ham sanitariya bakteriologik tekshiruvdan o'tkaziladi.

Kasalxonalar tarkibidagi bakteriologik, serologik laboratoriyalarda 3- 4- guruh yuqumli kasalliklar (ichak, havo tomchi, yiringli infeksiyalar) tashxisi uchun tekshiruvlar o'tkaziladi. Shu bilan bir qatorda, shifoxonaning sanitariya gigiyena holatiga baho berishda, sterillash va dezinfeksiya sifatleri ham muntazam tekshirib boriladi.

O'ta xavfli yuqumli kasalliklar (toun, brutsellyoz, kuydirgi, tulyarimiya va bosh.) qo'zg'atuvchilari diagnostikasi maxsus laboratoriyalarda olib boriladi.

Virusologik laboratoriyalar respublika, shahar, viloyat SES lar tarkibida va virusologiya ilmiy tekshirish institutida tashkil qilingan. Bu laboratoriyalarda viruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklar (gripp, poliomyelit, qizamiq va boshqalar), xlamidiya (ornitoz va boshqalar) va rikketsiyalar chaqiruvchi kasalliklarga (toshmali tif, KU – isitmasi va boshqalar) tashxis qo'yiladi. Virusologik laboratoriyalarni tashkil etish va jihozlashda viruslar, hujayra kulturalari, tovuq embrionlari va laboratoriya hayvonlari bilan ishlash uchun maxsus bokslar ko'zda tutiladi va juda qattiq aseptik sharoitlar talab etilishi hisobga olinadi.

Laboratoriyalarni tashkil qilishda O'zbekiston Respublikasi sog'liqni saqlash vazirligi qoshidagi rejim ha'yatining talab va qoidalarga qattiq amal qilinadi. Ishning hajmi va maqsadlaridan kelib chiqqan holda laboratoriyalar bir necha xonalarga joylashgan bo'lishi kerak, ya'ni:

- a) analizlarni ro'yxatga olish va ularning javobini berish uchun xona;



- b) ayrim bakteriyalar guruhi (ichak, havo tomchi, sanitariya va bosh.) bilan ishlash uchun xonalar;
- v) steril materiallar bilan ishlash uchun bokslar;
- g) serologik tekshirishlar o'tkazish uchun xona;
- d) oziqli muhitni tayyorlash, sterillash uchun xona;
- z) idishlarni yuvish uchun alohida xonalar;
- j) sog'lom va tajriba qilinayotgan hayvonlar va ularni saqlash uchun xona (vivariya).

Virusologik laboratoriyalarda yuqorida ko'rsatilgan xonalardan tashqari yana tekshiriladigan materialga maxsus ishlov berish va hujayra kulturalari bilan ishlash uchun alohida bokslar mavjud bo'lishi shart.

Bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalar hozirgi kunda quyidagi zamonaviy asboblardan va anjomlar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak: biologik va qo'shimcha moslamali (yorug'lik beruvchi, fazo-kontrast) lyuminescent, elektron mikroskoplar, termostat, anayerostat, sterillash uchun asboblardan (avtoklav, quritish, sterillash shkafi), suv hammomi, pH-metrlar, distillangan suv tayyorlaydigan asboblardan (distillator), sentrifugal, texnik, analitik tarozilar, filtrlaydigan asboblardan (Zeytts filtri va boshqalar), xolodilniklar, paxta-dokali probkalar tayyorlaydigan apparat, asboblardan to'plam (bakteriologik qovuzloqlar, shpatellar, ignalar, pinset, avtomatik mikropipetkalar va boshqalar), laboratoriya idishi (probirkalar, kolbalar, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster pipetkasi va belgilangan pipetkalar) va boshqalar. Zamonaviy yirik laboratoriyalarda bakteriyalarning identifikatsiya (saralash) qilishda kompyuter dasturlari mavjud. Shu bilan bir qatorda, serologik, virusologik laboratoriyalarda immunoferment, immunobloting tekshirish uchun asbob-anjomlar va PZR apparati zarur.

Laboratoriyada mikroskopik preparatlarni bo'yash uchun alohida joy ajratiladi. Bu yerda bo'yoqlar eritmasi, spirt, kislotalar, reaktivlar filtr qog'oz va boshqalar mavjud. Har bir ish joyidagi bakteriolog gaz yoki spirtli gorelkalar va dezinfeksiya eritmasi solingan shisha idishlar bilan ta'minlanadi. Kundalik ish uchun laboratoriyada yetarli miqdorda oziqli muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa kerakli narsalar bo'lishi zarur.

### **Bakteriologik laboratoriyalarda ishlash qoidalari**

Mavjud bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalarda yuqumli kasalliklarni qo'zg'atuvchi, ya'ni patogen mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Shuning uchun laboratoriyada ishlashning ichki tartib va qoidalariga xodimlar va talabalar qat'iy rioya qilishlari zarur.

1. Laboratoriyalarda patologik materiallarni qabul qilish va bakteriologik ishlar bajarilishida bir tomonga yo'naltirilgan oqim qoidalariga qat'iy rioya qilinishi kerak.

2. Laboratoriyaning barcha xodimlari oq xalat, oq qalpoqcha yoki oq ro'molcha o'rab, maxsus almashtiriladigan oyoq kiyimida ishlashlari kerak. Laboratoriyaga xalatsiz kirish mutlaqo mumkin emas. Zarur hollarda xodimlar yuzlariga dokadan tayyorlangan niqoblar taqib ishlashlari mumkin. Virusologik va o'ta xavfli maxsus rejimli laboratoriyalarda xodimlar maxsus qabul qilingan qo'llanmalarga rioya qilgan holda ishlashadi.

3. Patologik materiallarni qabul qilish, ekish va serologik muolajalarni bajarishda xodimlar albatta rezina qo'lqop bilan ishlashlari zarur.

4. Laboratoriyada chekish, ovqatlanish qat'iy man qilinadi. Ovqatlanish, dam olish va yechinish uchun maxsus xonalar ajratiladi.

5. Favqulotda yuqumli materiallar ish stoliga, polga va boshqa joylarga tushsa, bu joy dezinfeksiya qiluvchi eritma bilan yaxshilab zararsizlantirilishi zarur.

6. Mikroorganizm kulturalarini saqlash, kuzatish va ularni o'ldirish maxsus qo'llanmalar asosida olib borilishi lozim. Barcha laboratoriyaga kelgan patogen materiallar, ajratib olingan mikroob shtammlari maxsus daftarlarda ro'yxatga olinadi.

7. Ishni tamomlagach, ish joyi tartibga keltiriladi va qo'lni yaxshilab yuvish, kerak hollarda, dezinfeksiya qiluvchi eritmalardan foydalanish lozim.

8. Har bir talaba o'quv laboratoriyasida o'z o'rniga ega bo'lishi kerak.

9. Mashg'ulot uchun berilgan materiallarni navbatchi talaba qabul qilib oladi va o'qituvchi nazoratida talabalarga tarqatadi.

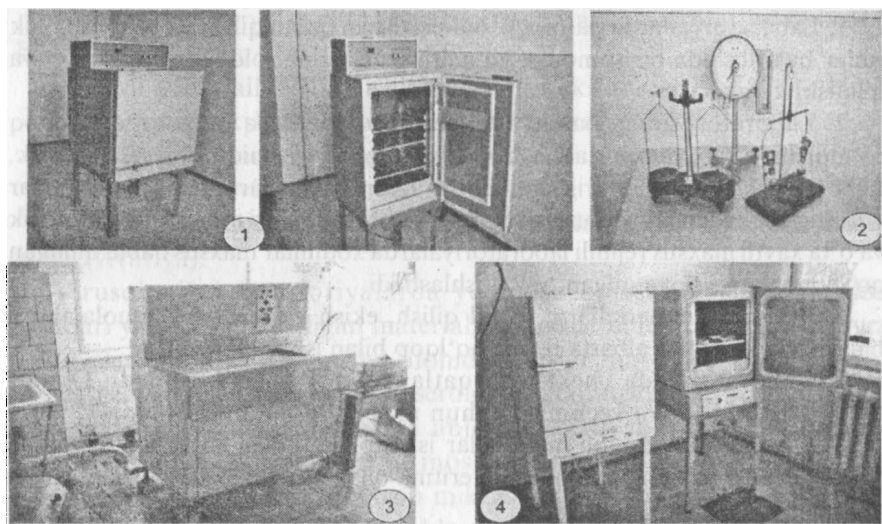
10. Mashg'ulot so'ngida talabalar ishlatilgan materiallarni navbatchi talabaga, navbatchi talaba kafedra laborantiga topshiradi.

11. Mashg'ulot so'ngida talabalar o'z ish joylarini tartibga keltirishadi, qo'llarini sovun bilan yuvishadi, mashg'ulot bo'yicha qilingan ishlar bayonnomalari va rasmlar chizilgan daftarga o'qituvchi imzosini qo'yadi.

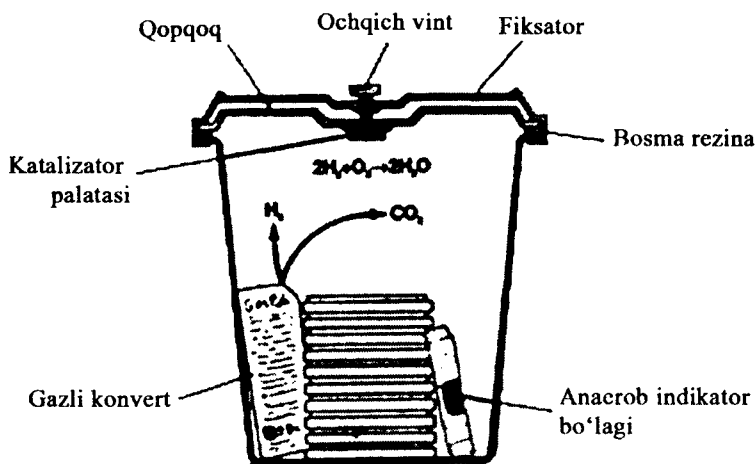
### **Laboratoriyalarda bakteriyalarni o'stirish, oziq muhitlarni, anjomlarni sterillash va boshqa maqsadlarda qo'llaniladigan asboblari**

**1. Termostat.** Bu apparatda issiqlik bir xil darajada saqlanib turadi va haroratni maxsus bakteriyalarni o'stirish uchun tartibga solib turish mumkin. Ko'pchilik bakteriyalarning ko'payishi uchun qulay temperatura 37° C hisoblanadi. Termostatlar quruq havoli va suvli bo'ladi (1-rasm). Termostatlardan amaliyotda bakteriyalarni o'stirib olishda foydalaniladi.

**2. Mikroanayerostat.** Hozirgi kunda uning juda ko'plab modifikatsiyalari chiqarilgan. Bu asboblarning asosiy xususiyati anaerob

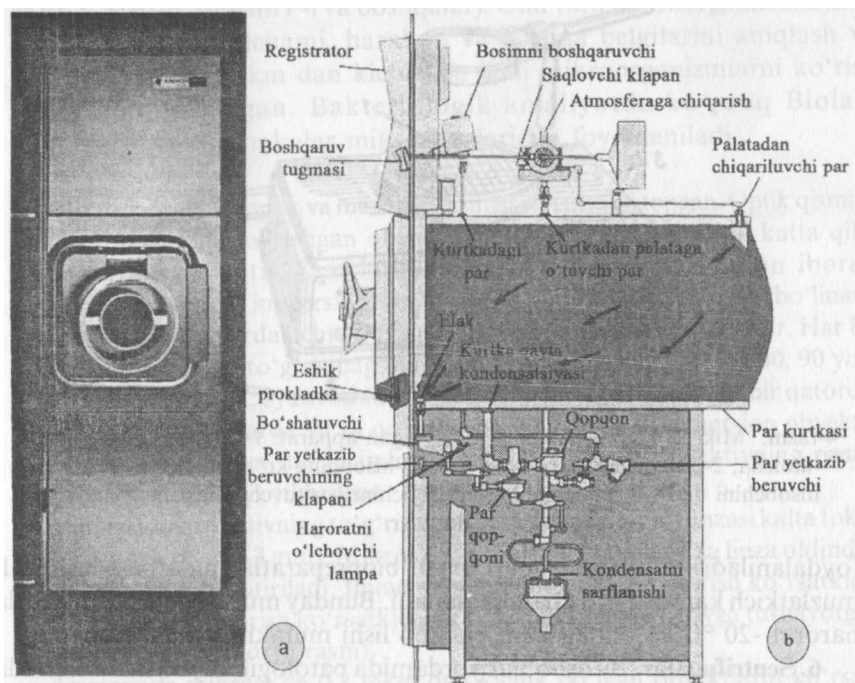


1-rasm. Mikrobiologik maqsadlarda qo'llaniladigan asboblari: 1. Termostat. 2. Tarozilar. 3. Suv hammomi. 4. Quritish shkafli.



2-rasm. Mikroanaerostatning tuzilishi va ishlash tartibi.

bakteriyalarni o'stirish uchun kislorodsiz sharoit yaratilishidan iborat. Tuzilishi metall yoki organik shishadan qilingan silindr bo'lib, qopqog'i germetik berkitiladi. Qopqog'ida vakummetr va ikkita kran bo'lib, bu kranlar yordamida silindr kameradan havo so'rib olinishi yoki kerakli



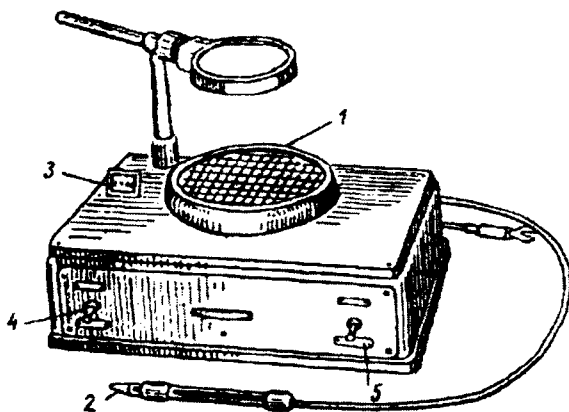
3-rasm. Avtoklav: a) tashqi tomondan ko'rinishi; b) ishlash tartibi.

gaz aralashmalari yuborilishi mumkin. Oxirgi yillarda HIMEDIA kompaniyasi tomonidan chiqarilgan orgshishali mikroanaerostat bakteriologik amaliyotda keng qo'llanilmoqda (2-rasm).

**3. Avtoklav.** Bu asbob bug' va bosim bilan sterillashga mo'ljallangan. (3-rasm). Bakteriologik laboratoriyalarda avtoklavlarning turli modifikatsiya modellari (gorizontal, vertikal, statsionar va ko'chirish mumkin bo'lgan turlari) ishlatiladi. Asosan avtoklavlar laboratoriyada oziq muhitlar, laboratoriya idishlari va boshqa materiallarni sterillashda va ajratib olingan bakteriyalarni o'ldirishda qo'llaniladi.

**4. Quritish shkafi (Paster pechi).** Bu asboblarning ham hozirgi kunda turli xillari ishlatiladi. Ularda harorat 180-200°C gacha ko'tarilishi mumkin (1-rasm). Asosan haroratga chidamli laboratoriya idishlari va boshqa materiallarni sterillash uchun qo'llaniladi.

**5. Xolodilniklar (Muzlatkichlar).** Bakteriyalarni, muzey kulturasini, oziq muhitni, qon, vaksina, diagnostik zardoblar va boshqa biologik jihatdan aktiv preparatlarni past haroratda (4°C atrofida) saqlash uchun



4-rasm. Mikrob koloniyalarini hisoblaydigan apparat: 1-Petri kosachasi uchun stolcha; 2-prujinaga ega bo'lgan igna; 3-hisobning ko'rsatkichi; 4- impulsli hisobchini ulash uchun tumbler; 5-hisobchini yorituvchi lampani yoqadigan tumbler.

foydalaniladi. Bundan tashqari, ba'zi biopreparatlar juda past haroratli muzlatkich kameralarida ham saqlanadi. Bunday muzlatkich kameralarda harorat  $-20^{\circ}\text{C}$  va undan ham past bo'lishi mumkin.

**6. Sentrifugalalar.** Bu asboblarda yordamida patologik suyuq materiallarda (siydik, suv va boshqalarda) mikroorganizmlarni cho'ktirib, ularning miqdorini oshirish va boshqa hujayralarni cho'ktirish (qon elementlari), bir xil bo'lmagan suyuqliklarni (emulsiyani, mikrob suspenziyasini) ajratib olishda ishlatiladi. Sentrifugalalar ayniqsa serologik laboratoriyalarda keng qo'llaniladi. Laboratoriyalarda turli tezlikda aylanadigan sentrifugalardan foydalaniladi.

**7. Koloniyalarni hisoblovchi asbob (4-rasm).** Yarim avtomat hisoblovchi asbob prujina moslama bilan ignaga ulangan. Igna Petri kosachasidagi koloniyalar ustiga biroz tekkiziladi va kosacha yuzasida iz qoladi. Bunda qo'l bilan ushlaydigan qismi yuqoriga ko'tariladi, natijada zanjir berkiladi, asbob hisoblay boshlaydi.

## Mikroskop va mikroskopiya qilish usullari

Mikrobiologik tekshiruvlar uchun mikroskoplarning bir necha turlari (biologik, lyuminescent, elektron) va mikroskopda ko'rishning maxsus usullari va moslamalari (fazo-kontrast, qorong'i ko'ruv maydoni) dan foydalaniladi.

**Biologik mikroskop.** Mikrobiologiya amaliyotida hozirgi kunda ishlab chiqarilgan ko'plab mikroskoplar qo'llaniladi (MBR-1, MBI-1, MBI-2,



MBI-3, MBI-6, Biolam P-1 va boshqalar). Ular turli mikroorganizmlarning shakli, tuzilishi, o'lchami, harakati va boshqa belgilarini aniqlash va kattaligi 0,2 -0,3 mkm dan kichik bo'lgan mikroorganizmlarni ko'rish uchun mo'ljallangan. Bakteriologik amaliyotda ko'proq Biolam monokular yoki binokular mikroskoplaridan foydalaniladi.

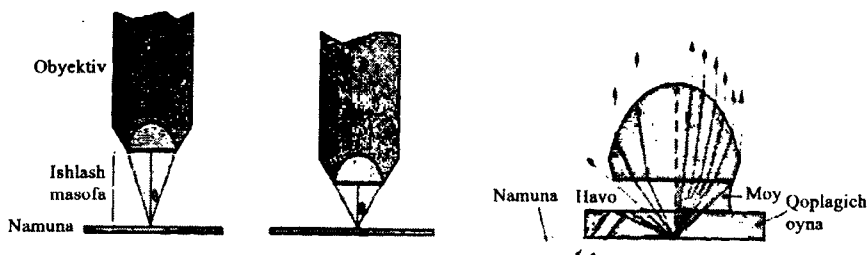
Mikroskop ikkita optik va mexanik qismlardan tashkil topgan. Optik qismiga mikroskop pastida joylashgan obyektivlar kiradi. Ular obyektini katta qilib ko'rsatuvchi va optik kamchiliklarni to'g'rilovchi linzalardan iborat. Obyektivlar quruq va immersion sistemaga (immersia – qamrab olish) bo'linadi. Biolam mikroskoplarda uchta quruq va bitta immersion obyektiv bor. Har bir obyektiv ustida ular to'g'risidagi ma'lumotlar yozilgan: 1) x8, 20, 40, 90 yoki 100; 2) sonli agertura; 3) zavodda chiqarilgan nomeri. Bular bilan bir qatorda, immersion obyektivlarda 90 va qo'shimcha IO yoki MI (immersion obyektiv yoki moyli immersiya) harfli indeks yozilgan, hamda obyektivning pastki qismidan qora chiziq o'tkazilgan.

Immersion obyektivning to'g'riga yo'naltirilgan (frontal) linzasi kalta fokus oralig'iga ega ( $f = 1,5-3$  mm). Mikroskop orqali ko'rilayotganda linza oldindan tomizilgan moyga botiriladi. Immersion moyning nurni sindirish ko'rsatkichi (1,52) oynaning sindirish ko'rsatkichiga yaqin. Bunda obyektivga tushayotgan nurlar to'liq saqlanadi (5-rasm).

Immersion mikroskop 0,2 mkm dan kichik bo'lgan obyektlarni ko'rsata olish qobiliyatiga ega. Mikroskopning umumiy kattalashtirish imkoniyatini aniqlash uchun obyektivning kattalashtirishini okularning kattalashtirishiga ko'paytiriladi. Masalan, immersion obyektivi 100 va okulari 10 bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi quyidagicha  $100 \times 10 = 1000$  marta. Immersion sistemadagi nurlarning yo'nalishi 5-rasmida ko'rsatilgan.

**Biologik mikroskopga qo'shimcha moslamalar.** Bu moslamalar mikroskopning butun imkoniyatidan to'liq foydalanish imkonini beradi, ishlash sharoitini yengillashtiradi va ularni qo'llash doirasini birmuncha kengaytiradi. Mikrobiologik laboratoriyalarda asosan quyidagi moslamalardan foydalaniladi:

1. Qorong'ilashtiruvchi kardoid va paraboloid-kondensorlar.
2. Fazo-kontrast moslamalar KF-1, KF-4 va boshqa nusxalari.
3. Mikroskopik obyektlarni o'lchash uchun mo'ljallangan okular-mikrometr va obyekt-mikrometrlar.
4. Preparatlarning rasmini chizuvchi, rasm oladigan asbob. Bu asbob yordamida bir vaqtning o'zida obyekt va stoldagi mikroskopga yaqin turgan qog'oz tasvirini ko'rish va qog'ozga obyektning konturlarini chizish mumkin.
5. Yorug'lik manbai bilan mikroskop oralig'iga o'rnatiluvchi va mikrofotografiyalarda, mikroskopiyaning maxsus usullarida qo'llaniluvchi rangli, neytral va iliq optik, yorug'lik filtrlari.



5-rasm. Immersion sistemadagi nurlar yo'nalishi

6. Mikroskopik obyektlarning rasmini olish uchun ishlatiluvchi MFN-1, MFN-3 va boshqa nusxadagi mikromoslamlar.

**Qorong'i ko'ruv maydonidagi mikroskopiya.** Qorong'i ko'ruv maydonida mikroskop ostida ko'rish suyuqlikdagi juda mayda zarrachalar aralashmasini (Tindal effekti) yon tomonidan kuchli yoritilishi natijasida hosil bo'ladigan yorug'lik difraksiyasiga asoslangan. Bunga biologik mikroskopdagi oddiy kondensorni paraboloid yoki kardiod-kondensor bilan almashtirish natijasida erishiladi.

Paraboloid kondensor o'z markazida markaziy yorug'lik nurlarini tutib qoladigan, qorong'ilikka va nurlarni qaytarish uchun ichki ko'zguli yuzaga ega. Kardiod-kondensorda yorug'lik nurlari avval qabariq sirdan, so'ngra esa botiq sirdan qaytariladi. Qorong'i ko'ruv maydonidagi kondensordan chiqadigan chetki nurlar qiyshiq yo'nalishda o'tib, obyektivga tushmaganligi sababli ko'ruv maydoni qorong'iligicha qoladi. Obyektivga obyektidan qaytarilayotgan nurlar kelib tushadi, ular preparatning qorongi fonidagi mikrobu hujayralar va boshqa zarrachalarning konturlarida yorug' nurlarning o'ziga xos tasvirini hosil qiladi.

**Fazo-kontrast mikroskop ostida ko'rish.** Shaffof obyektlardan yorug'lik to'lqini o'tayotganda faza o'zgarishlarining amplituda o'zgarishlariga aylanishiga asoslangan, buni ko'z bilan sezsa bo'ladi. Fazo-kontrast moslama yordamida obyektidan o'tuvchi yorug'lik to'lqinlarining fazoviy o'zgarishlari amplitudali va shaffof obyektlarga aylanib, mikroskop ostida ko'rinadigan bo'ladi. Bunda ular yuqori kontrastli tasvirlarga ega bo'lib, pozitiv yoki negativ bo'lishi mumkin. Pozitiv fazo-kontrast deb, yorug' ko'rish maydonida obyektning qora, negativ, fazo-kontrast deb, qorong'ilikda obyektning yorug' tasviriga aytiladi. Fazo-kontrast

mikroskopda ko'rish uchun oddiy mikroskop va unga qo'shimcha KF-1 yoki KF-4 moslamadan foydalaniladi. Ularning komplektiga quyidagilar kiradi:

1. Fazo halqasi bo'lgan maxsus obyektivlar bo'lib, ular fazani o'zgartiradi va yorug'lik to'lqinining amplitudasini kamaytiradi. Fazo obyektivlar gardishida qo'shimcha «F» harfli indeks: F-10, F-20, F-40 va FOI-90 belgilangan.

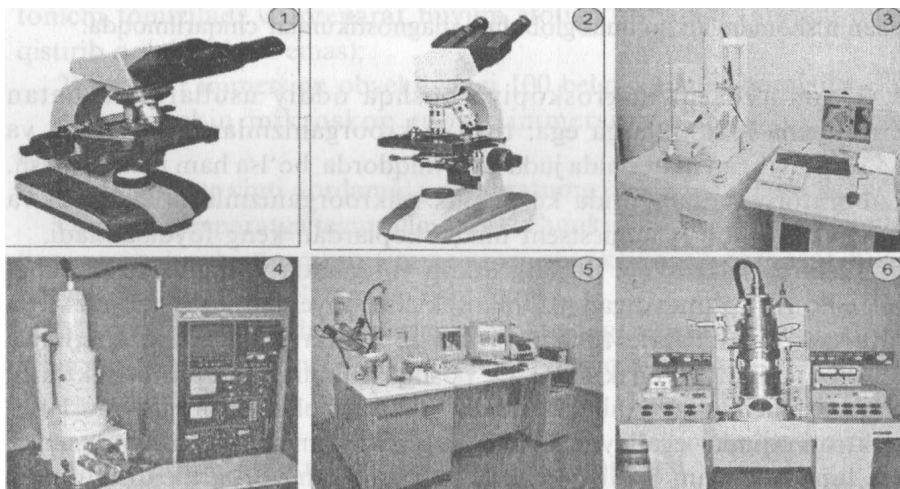
2. Har bir obyektiv uchun maxsus halqali diafragma revolveriga ega bo'lgan fazo-kondensor bor. Preparatni oddiy irisli diafragma usuli bilan kuzatiladigan tirqishi «0» indeksi bilan belgilangan.

3. Kam kattalashtiruvchi yordamchi mikroskop orqali yorug'likni markazlashtirish protsessi kuzatilganda okular almashtiriladi.

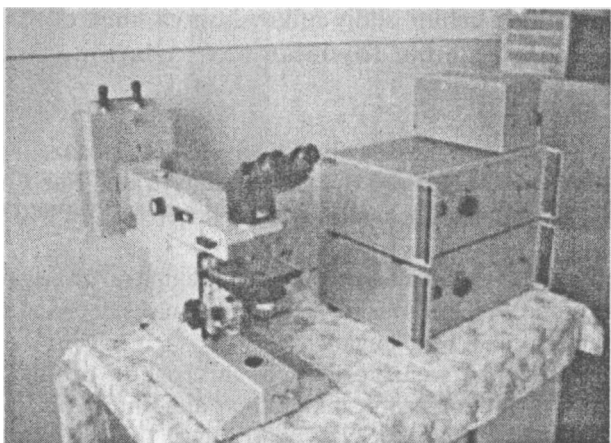
Fazo-kontrast mikroskopda OI-7 yoki OI-19 tipidagi yoritgichlardan foydalaniladi.

**Lyuminessent yoki flyuoessent mikroskopda ko'rish.** U fotolyuminessensiya holatiga asoslangan (7-rasm).

Lyuminessensiya (lumen so'zidan olingan bo'lib, yorug'likni anglatadi) – flyuoessensiya qiluvchi obyektlarni mikroskopiya qilib kuzatishda qo'llaniladi. Lyuminessent mikroskopiya kuchli manbadan tarqalgan yorug'lik ikkita filtdan o'tadi. Birinchi filtr tekshirilayotgan namunaga yorug'lik yetmasdan



6-rasm. Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniladigan mikroskoplar: 1,2-binokular mikroskoplar; 3,4-lazerli konfokal mikroskop; 5-interferensiyalovchi kompyuterli mikroskop; 6-elektron mikroskop.



7-rasm. Lyuminessent mikroskop.

ushlab qoladi. Lekin namunadagi flyuorestsentsiya aktivlashtiruvchi yorug'likning uzun to'liqini o'tkazadi. Ikkinchi filtr flyuorestsentsiya tarqatuvchi namunaning yorug'lik to'liqini o'tkazadi. Shunday qilib, flyuorestsentsiya tarqatuvchi namuna o'ziga bir yorug'lik to'liqining uzunligini yutadi va uni boshqa yorug'lik spektrida tarqatadi.

Birlamchi lyuminessentsiya obyekt oldindan bo'yalmasa ham kuzatiladi. Ikkilamchi lyuminessentsiya esa preparatni maxsus lyuminessent bo'yoqlar – flyuoroxromlar bilan bo'yalganda hosil bo'ladi. Oxirgi yillarda flyuoroxrom bilan nishonlangan immunoglobulinli diagnostikumlar chiqarilmoqda.

Lyuminessent mikroskopiya boshqa oddiy usullarga nisbatan birmuncha afzalliklarga ega: tirik mikroorganizmlarni tekshirish va tekshirilayotgan materialda juda kam miqdorda bo'lsa ham ularni topish. Laboratoriya amaliyotida ko'pchilik mikroorganizmlarni aniqlash va o'rganish uchun lyuminessent mikroskoplardan keng foydalaniladi.

**Elektron mikroskop.** Bu mikroskop yordamida yorug'lik mikroskopi bilan ko'rib bo'lmaydigan (0,2 mkm) kichik obyektlar ko'riladi. Elektron mikroskop viruslar, turli mikroorganizmlarning nozik tuzilishi, makromolekulyar birikmalar va boshqa submikroskopik obyektlarni o'rganish uchun qo'llaniladi. Bunday mikroskoplarda yorug'lik nurlarini elektron oqimlar egallaydi. Ushbu elektron oqimlarning to'liqin uzunligi ma'lum 0,005 nm bo'lib, deyarli ko'rinadigan yorug'lik to'liqining uzunligidan 100 000 marta kalta. Elektron mikroskopning eng kuchli ko'rsata olish imkoniyati amalda 0,1- 0,2 nm bo'lib, umuman 1 000 000 marta katta qilib ko'rsatadi (6-rasm).

«Nur tarqatuvchi» elektron asboblardan ham foydalaniladi. Ular obyekt relifini yaxshi ko'rsatadi. Ammo bu mikroskoplarning katta qilib ko'rsatish imkoniyati «nur tarqatuvchi» elektron mikroskopnikidan kam.

Hozirgi zamon texnologiyalarini mikrobiologik amaliyotda qo'llanilishi (6-rasm).

**1. Interferentsiyalovchi kompyuterli mikroskopiya** – hujayralarning submolekulyar darajada yuqori tiniqlikka ega bo'lgan tasvirlarini olish mumkin.

**2. Lazerli konfokal mikroskopiya** – obyektlarning aniq tasvirini butun maydon bo'ylab ko'rish mumkin. Kompyuter texnologiyalarini qo'llash orqali obyektни rekonstruksiya qilish ham mumkin.

### **Metodik ko'rsatmalar**

Mikroskopdan to'g'ri foydalanish uchun avvalo uni to'g'ri o'rnatish, ko'rish maydoni va preparatdagi yorug'lik yetarli darajada bo'lishi kerak. So'ng mikroskop ostida preparatni turli obyektiv yordamida ko'rish mumkin. Yorug'lik tabiiy (kunduzgi) yoki sun'iy bo'lishi mumkin. Buning uchun turli maxsus yorug'lik manbalaridan (masalan, OI-7 yoritkich) foydalaniladi.

Hozirgi mikroskoplarda yorug'lik manbai mavjud. Preparatni immersion obyektiv bilan mikroskopda ko'rganda ma'lum tartibda ishni ketma-ket olib borishga qat'iy rioya qilish kerak:

1) tayyorlangan va bo'yalgan surtmaga immersion moyidan kichkina tomchi tomiziladi va preparat buyum stoliga qo'yiladi (qisqich bilan qistirib qo'yish shart emas);

2) revolver immersion obyektivdagi 100 belgiga qadar buraladi;

3) asta-sekin mikroskop tubusi immersion moyga tekkuncha tushiriladi;

4) mikrometr vinti yordamida preparatning oxirgi fokusi aniqlanadn.

Obyektiv preparatga tegmasligi kerak, chunki u preparatni yoki frontal linzani sindirishi mumkin (immersion obyektivning preparat bilan bo'yalgan oralig'i 0,1-1 mm bo'lishi kerak).





Ish yakuniga yetgach, immersion obyektivdagi moyini maxsus material bilan yaxshilab artish va revolverni kichik, quruq 8-obyektivga aylantirib qo'yish shart.

## **Mikroorganizmlar morfologiyasi**

Mikrobiologiya fanining bu bobida turli mikroorganizmlar dunyosining asosiy vakillari: bakteriya, virus, sodda jonivorlar va



# MIKROBLAR OLAMI

nohujayraviy shakllari	Hujayraviy shakllari		
	Bakteria domenligi	Archeae domenligi	Eukarya domenligi
	Prokariotlar		
Prionlar	Yupqa devorli Grammanfiy bakteriyalar (proteobakteriyalar va boshqalar)	Arxebakteriyalar	Sodda jonivorlar (Protozoa podsholigi) amyobalar sporalilar xivchinilar kiprikchalilar
Viroidlar			zamburug'lar (Eumycota podsholigi) tur Zygomycota, tur Ascomycota, tur Basidiomycota, tur Deuteromycota
Viruslar	Grammusbat, qalin devorli bakteriyalar		
	Hujayra devori yo'q bakteriyalar		
	Hujayra devori yo'q bakteriyalar mikoplazmalar		

8-rasm. Mikroorganizmlar tasnifi

zamburug'larning morfologiyalariga xos xususiyatlari ko'riladi. Bakteriyalar prokariotlar olamiga kiradi (8-rasm). Berji tasnifi (2001) bo'yicha tabiatdagi mikroorganizmlarning 2 ta hujayraviy va nohujayraviy shakllari tafovut qilinadi. Mikroorganizmlarning nohujayraviy shakliga prionlar, viroidlar, viruslar kiritilgan. Hujayraviy shakli esa o'z navbatida prokariot va eukariot olamiga bo'lingan. Prokariotlar olami hujayra devorlari tuzilishi xarakteri bo'yicha ikkita (domenga) guruhga: Bacteria va Archayea ga kiritilgan.

1. Bacteria domeni (eubakteriya) tarkibiga quyidagilar kiradi:

- 1) Yupqa devorli – bularga hamma grammanfiy bakteriyalar kiritilgan.
- 2) Qalin devorli – bularga asosan grammusbat bakteriyalar kiritilgan
- 3) Mollicutes – bularga hujayra devori bo'lmagan bakteriyalar – mikoplazmalar kiritilgan.

2. Archeaye domeni (arxebakteriyalar) – bularga grammanfiy, grammusbat bakteriyalar kiritilgan bo'lib, ularning hujayra devori bor, lekin uning tarkibi peptidoglikan tutmaydi. Ular o'zlariga xos ribosomalar tutadi RNK (rRNK).

Eukariotlar olamiga sodda jonivorlar va zamburug'lar kiritilgan.

Mikroorganizmlar tasnifida ular sinf, tartib, oila, zot va turlarga bo'linadi.

Tibbiyot mikrobiologiyasida muhim ahamiyatga ega bo'lgan quyidagi bakteriyalar to'liq (bakteriyalar, spiroxetalar, mikoplazmalar, xlamidiyalar, rikketsiyalar, aktinomitsitlar) o'rganiladi.

## **Bakteriyalarning morfologiyasi va tuzilishi**

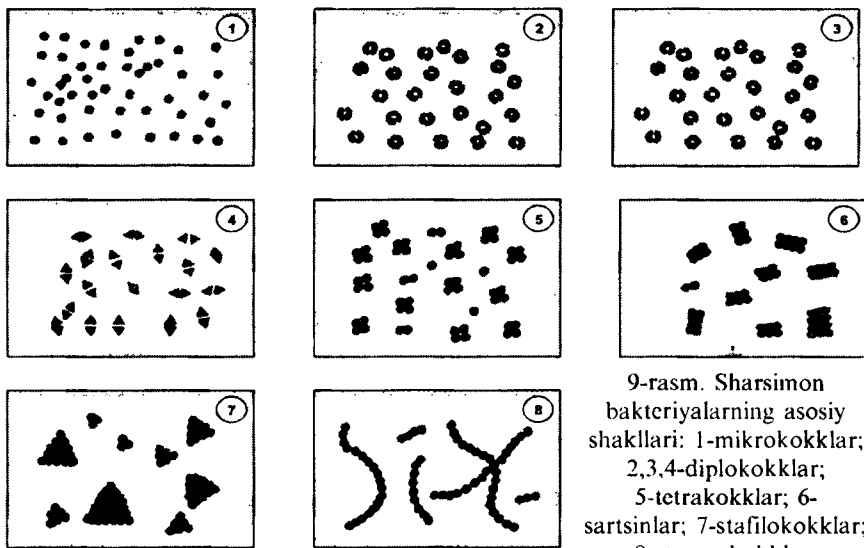
**Bakteriyalar** – bir hujayrali mikroorganizmlardir. Ular turli shaklda bo'lib, murakkab tuzilishga ega, bu esa ular faoliyatining turli-tumanligini belgilaydi. Bakteriyalarning asosan to'rt shakli bo'lib, ular quyidagicha: sharsimon, tayoqchasimon, burama shaklli va ipsimon.

**Sharsimon bakteriyalar** – k o k k l a r (yunoncha coccus – don, mag'iz degan so'zdan olingan) bo'linish sathi va har bir hujayraning surtmada joylashishiga ko'ra bir-biridan farq qiladi.

1. Alohida-alohida joylashgan kokklar mikrokokklar deb ataladi, ular saprofit, kasallik keltirib chiqarmaydi (9-rasm).

2. Diplokokklar – surtmada juft-juft bo'lib joylashgan kokklar. Diplokokklar orasida odamda uchrovchi har xil kasalliklarning qo'zg'atuvchilari (pnevmokokklar, gonokokklar, meningokokklar) bor.

3. Streptokokklar – bo'lingandan keyin bir-biridan ajralib ketmasdan, zanjirsimon joylashgan kokklar. Bularning ko'pchiligi odam uchun patogen hisoblanadi.



9-rasm. Sharsimon bakteriyalarning asosiy shakllari: 1-mikrokokklar; 2,3,4-diplokokklar; 5-tetarakokklar; 6-sartsinlar; 7-stafilokokklar; 8-streptokokklar.

4. Stafilokokk (uzum shingiliga oʻxshab joylashgan). Boʻlinishi muayyan tartib bilan bormaydigan boʻlsa, u vaqtda kokklar birgalikda qolaveradi va uzum shingiliga oʻxshash toʻplamlar hosil qiladi. Odam uchun patogen turlari mavjud.

5 Tetrakokklar (toʻrtta-toʻrtta boʻlib joylashgan kokklar) bir-biriga tik ikki tekislikda boʻlinganda toʻrtta kokkdan iborat holatda joylashadi. Odam uchun patogen emas.

6. Sartsinalar (8 yoki 16 ta kokklardan tashkil topgan toʻplamlar) bir-biriga tik uchta tekislikda boʻlinganda kubchalar koʻrinishini eslatadigan kokkdan iborat holatda joylashadi. Odam uchun patogen emas.

**Bakteriyalar morfologiyasini oʻrganish.** Buning uchun bakteriyalar kulturalaridan tirik preparatlar, yopishtirilgan surtmalar tayyorlanib, anilin boʻyoqlari bilan boʻyaladi va mikroskopda koʻriladi.

#### Metodik koʻrsatmalar

Mikroskop yordamida tekshirish uchun preparatlar tayyorlash.

**Tekshirish uchun materialning olinishi.** Preparat tayyorlash uchun probirka, kolba yoki Petri kosachasidan bakteriologik qovuzloq yoki steril pipetka orqali tekshiriladigan material olinadi. Ayrim hollarda bu maqsadda preparovka ignalari ham ishlatiladi. Bakterial kulturali probirka chap qoʻlga, bakteriologik qovuzloq esa oʻng qoʻlga olinadi. Qovuzloq gorelka alangasida qizargunga qadar qizdiriladi. Paxtali probka

probirkadan o'ng qo'lining IV, V barmoqlari bilan kaftga siqib burab, chiqarib olinadi va probirka og'zining chetlari alangada biroz qizdiriladi. Qovuzloq asta-sekin probirka ichiga kiritiladi, ichki devoriga tekkizib sovitiladi, so'ng asta harakat qilib material olinadi. Shundan keyin yana probirka chetlari qizdiriladi va probirka bilan berkitiladi. Preparat tayyorlangandan so'ng qovuzloq, albatta, gorelka alangasida qizdirilishi (sterillash) lozim. Suyuq materialni probirka yoki kolbadan pipetka orqali olish mumkin, bunda pipetka o'ng qo'lda ushlanadi va pipetka teshigi 2-barmoq bilan berkitib turiladi.

### **Surtma tayyorlash jarayoni**

1. Surtma tayyorlash.
2. Quritish.
3. Fiksatsiya qilish (qotirish).
4. Bo'yash.
5. Mikroskopda ko'rish.

**Ish tartibi.** Surtma tayyorlash uchun buyum oynasi yog'sizlantiriladi (spirtovka alangasida), mikroob kulturasi qovuzloq bilan olinib (mikroob kulturasi agarda o'sgan bo'lsa, steril fiziologik eritma bilan), buyum oynasida surtma tayyorlanadi. Surtma yupqa 10 so'mli tangaday bo'lishi kerak. Material aynan shunday taqsimlangandagina yakka-yakka joylashgan bakterial hujayralarni ko'rish mumkin. Agar tekshirilayotgan material suyuq muhitda bo'lsa, u holda uni qovuzloq bilan to'g'ridan-to'g'ri buyum oynasiga tomiziladi va surtma tayyorlanadi

Quritish. Surtmalar havoda yoki iliq havo oqimida gorelka alangasi ustida quritiladi.

Fiksatsiya qilish – surtmani qotirish uchun buyum oynasi (surtmani yuqoriga qaratgan holda) 3 marta asta-sekin (3 soniya davomida) gorelka alangasidan o'tkaziladi. Ayrim hollarda qon surtmasi, a'zo va to'qimalar surtma tamg'alari, mikroorganizm kulturalaridan tayyorlangan surtmalar 5–20 daqiqa metil yoki etil spirti, Nikiforov aralashmasi, sulemali spirt yoki boshqa fikstsatsiya qiladigan suyuqliklarga solinadi va fikstsatsiya qilinadi. Mikroorganizmlar fikstsatsiya qilinayotganda oyna yuzasiga qattiq birikkan holda o'ladi va keyingi ishlovlarda yuvilib ketmaydi.

Fiksatsiyadan maqsad, mikroorganizmlar fikstsatsiya qilinayotganda oyna yuzasiga qattiq birikkan holda o'ldiriladi, zararsizlanadi va keyingi ishlovlarda yuvilib ketmaydi va o'lgan bakteriyalar yaxshi bo'yaladi. Fiksatsiyada ro'y beruvchi xatoliklar: agar buyum oynasini yuqorida ko'rsatilgandan ko'proq qizdirilsa, hujayralarning tuzilishi keskin o'zgarib ketadi.

Surtmani bo'yashda 2 xil – oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi. Oddiy usulda faqat bitta bo'yoq qo'llaniladi, murakkab bo'yashda esa bir necha bo'yoqlar qo'llanilishi mumkin.

**Oddiy usul.** Fiksatsiyalangan surtma birgina bo'yoq bilan bo'yaladi, masalan, fuksinning suvli aritmasi (1-2 daq.) yoki metilen ko'kning eritmasi bilan (3-5 daq.) bo'yaladi, so'ng suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskop ostida immersion sistemada ko'riladi.

## **2-MAVZU. BAKTERIYALAR MORFOLOGIYASI VA TUZILISHI. GRAM USULIDA BO'YASH**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Bakteriya shakllari va ularni tekshirish usullari.
2. Bakterial hujayralarning kultura struktura tuzilishi.
3. Murakkab bo'yash usullari.

### **Namoyish qilish**

1. Bakteriya kulturalaridan surtmalar tayyorlash va ularni bo'yash usuli.
2. Oddiy usul bilan bo'yalgan surtmalardagi bakteriyalarning turli morfologik shakllari.
3. «Osilgan», «ezilgan» tomchi preparatidagi bakteriyalar harakatini aniqlash.
4. Stafilokokk kulturasidan tayyorlangan surtma. Gram usuli bilan bo'yalgan.
5. Ichak tayoqchasi kulturasidan tayyorlangan preparatlar. Gram usuli bilan bo'yalgan.
6. Stafilokokk, ichak tayoqchasi kulturasidan tayyorlangan preparatlar.
7. Obyekt-mikrometrga ko'ra okular mikrometрни belgilash bilan mikroob hujayrasining o'lchamlarini aniqlash usuli.
8. Bakteriya hujayrasini tashkil etuvchi komponentlarning elektron mikroskopik fotosuratları, rangli albom suratları.

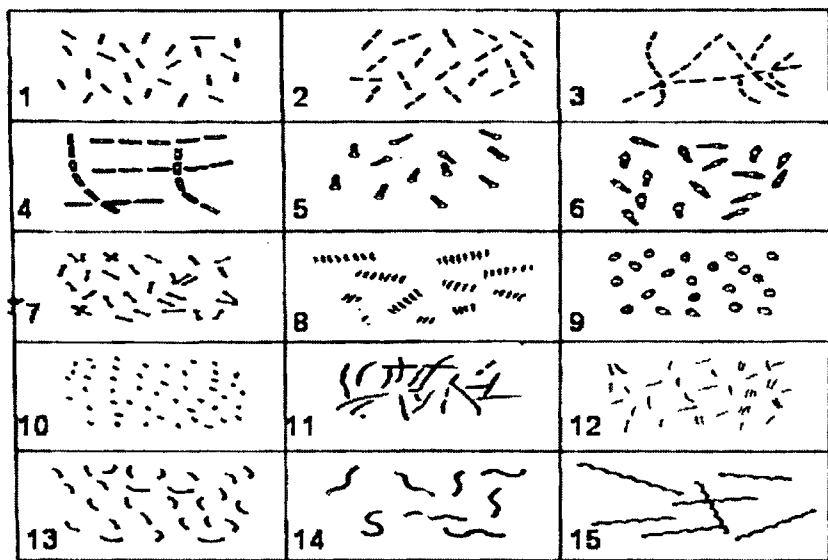
### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Tekshirilayotgan stafilokokk kulturasidan surtma tayyorlash, Gram usuli bilan bo'yash va mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini tushirish.
2. Tekshirilayotgan streptokokk kulturasidan surtma tayyorlash, Gram usuli bilan bo'yash va mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini tushirish.
3. Tekshirilayotgan ichak tayoqchasi kulturasidan surtma tayyorlash, Gram usuli bilan bo'yash va mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini tushirish.
4. Tekshirilayotgan Gram manfiy va Gram musbat bakteriyalar aralashmasidan surtma tayyorlash, Gram usuli bilan bo'yash va mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini tushirish
5. Tekshirilayotgan bakteriyalar harakatini aniqlash. O'tkazilgan tekshirishlar natijalariga ko'ra bayonnoma tuzish. Yakun yasash (1-jadval).



## Uslubiy ko'rsatmalar

**Tayoqchasimon bakteriyalar** – (yunoncha bacteria – tayoqcha degan soʻzdan olingan). Bular ham bir-birlaridan oʻlchami, shakli, surtmada joylashishi va tayoqchalar uchining koʻrinishi boʻyicha farq qiladi (10-rasm). Bakteriyalarning oʻlchami 0,1 dan 10 mkm gacha boʻladi. Oʻlchami boʻyicha 3 ta koʻrinishda uchraydi. Mayda bakteriyalar oʻlchami 0,1-0,25 mkm: bularga mikoplazmalar, bortonellalar; oʻrta oʻlchamli (1-3 mkm) bakteriyalar: bularga koʻpchilik tayoqchasimon (ichak tayoqchasi, boʻgʻma qoʻzgʻatuvchisi va boshqalar) bakteriyalar; oʻlchami katta (4-10 mkm): bularga gazli gangrena, qoqshol qoʻzgʻatuvchilari (10-rasm) kiradi. Bakteriyalar shakli boʻyicha farqlanadi – toʻgʻri shaklli (ichak tayoqchasi va bosh.), toʻgʻri boʻlmagan (korinebakteriya va bosh.) yoki shoxlangan (bifidobakteriya va bosh.), ovoid (oʻlat qoʻzgʻatuvchisi), tarmoqlangan ipsimon (aktinomitsitlar). Bakteriya tayoqchalarining ikki uchi tuzilishi boʻyicha ham ular bir-biridan farqlanadi. Ikki uchi qirqilgan (kuydirgi qoʻzgʻatuvchisi), yumaloqlashgan (ichak tayoqchasi), oʻtkirlashgan (fuzobakteriyalar), ikki



10-rasm. Tayoqchasimon bakteriyalarning asosiy formalari: 1-ichak tayoqchasi; 2-diplobakteriyalar; 3-streptobakteriyalar; 4-streptobatsillalar; 5,6-klostridiyalar; 7-boʻgʻma qoʻzgʻatuvchisi; 8-difteroidlar; 9-oʻlat qoʻzgʻatuvchisi; 10-kokkobakteriyalar; 11-fuzobakteriyalar; 12-mikobakteriya; 13-vibriionlar; 14-spirillalar; 15-treponemalar.

uchi kattalashgan (bo'g'ma qo'zg'atuvchisi) shakllari uchraydi. Bakteriyalar bir-birlariga nisbatan surtmada joylashuviga qarab ham farqlanadi. Ko'pchilik bakteriyalar surtmada tartibsiz joylashadi (enterobakteriyalar), surtmada juft-juft bo'lib joylashgan bo'lsa, diplobakteriyalar deb ataladi (klebsiyellalar), agar spora hosil qilsa, diplobatsillalar deb nomlanadi. Surtmada zanjirsimon bo'lib joylashsa, streptobakteriyalar (yumshoq shankr qo'zg'atuvchisi), spora hosil qilsa, streptobatsillalar (antarokoidlar) deb ataladi. Surtmada rim raqamlarini (bo'g'ma qo'zg'atuvchisi) yoki sigaret pachkasini eslatib turishi (moxov qo'zg'atuvchisi) mumkin.

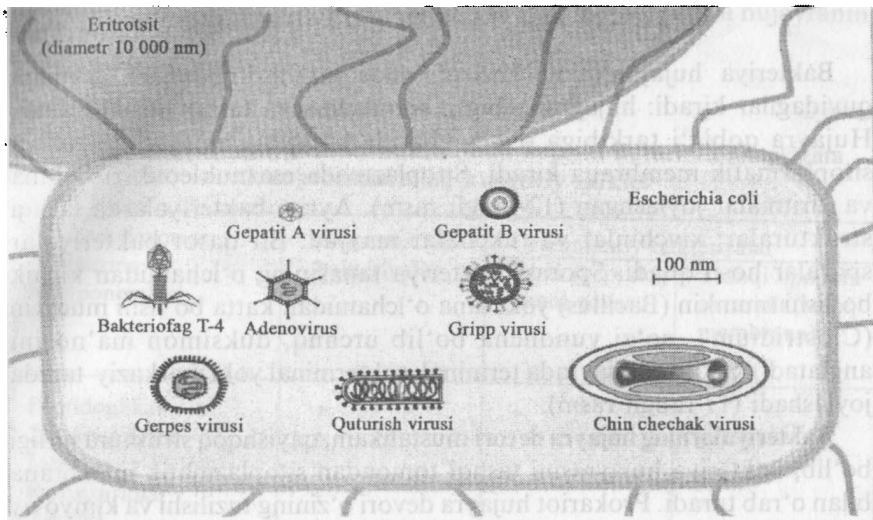
**B u r a m a, egilgan shaklli** bakteriyalarga –spirillalar, spiroxetalar, kampilobakteriya va xelikobakteriyalar kiradi. Spirillalar – spiral shakldagi bir necha buramadan iborat. Spirillalarning ko'pchiligi saprofit, patogen turiga Sodoku kasalligi qo'zg'atuvchisi kiradi (kalamushlar tishlashi oqibatida yuqadi). Spiroxetalar spiralsimon ko'rinishga ega bo'lib, spirallarining soni, bukilmalari va harakatlari tiplari bo'yicha bir-birlaridan farq qiladi. Spiroxetalarga 3 ta patogen avlodlar (treponema, borreliya, leptospira) kiradi (19-rasm).

### **Mikroblarning o'lchamini o'rganish**

Barcha mikroskopik obyektlar nanometr (nm) va mikrometrlar (mkm) bilan o'lchanadi:  $1 \text{ mkm} = 10^{-3} \text{ mm}$ ;  $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$ ;  $1 \text{ mkm} = 1000 \text{ nm}$  (11-rasm). Mikroblarni o'lchash uchun okular-mikrometr va obyekt-mikrometr ishlatiladi. Okulyar-mikrometr obyektini to'g'ridan-to'g'ri o'lchash uchun xizmat qiladi. U shisha plastinkadan iborat bo'lib, markazida 50 ta bo'lingan chizig'i bor. Obyekt-mikrometr shisha ko'rinishda bo'lib, o'rtasida 100 qismga bo'lingan etalon chiziq (shkala) bor. Shkalaning har bir bo'linmasi o'lchami ma'lum va shishada ko'rsatilgan. Odatda, obyekt-mikrometr shkalasining har bo'limi 10 mkm ga teng bo'ladi.

Mikroorganizmlar kattaligi okular-mikrometr bilan ham o'lchanadi. U okular diafragmasiga bo'lingan belgilari pastga qaratilgan holda joylashtiriladi. Bo'linmalar kattaligi esa obyekt-mikrometr bilan aniqlanadi. Bu plastinka bo'lib, o'rtasidan 1 mm uzunlikda chiziq o'tkazilgan. O'z navbatida, bu chiziq 100 ga bo'lingan bo'lib, har biri 10 mkm ga teng. Obyekt-mikrometr mikroskop stolchasiga shunday joylashtiriladiki, uning bo'linmalaridan biri, okulyar-mikrometrning qandaydir bir bo'linmasiga to'g'ri kelishi kerak.

Ikkala mikrometrning chizig'i bir-biriga parallel joylashishi lozim. So'ngra okulyar-mikrometr bo'linmalar soniga to'g'ri kelgan, obyekt-



11-rasm. Mikroorganizmlarning qiyosiy o'lchamlari.

mikrometrning bo'linmalar soni belgilanadi. Obyekt-mikrometr bo'linmalarining kattaligini (10 mkm) bo'lgan holda okulyar-mikrometrning bo'linmalar kattaligi aniqlanadi. Shundan so'ng obyekt-mikrometr tekshirilayotgan preparat bilan almashtiriladi va bakterial hujayraning o'lchami okulyar-mikrometr chizig'i bilan, uning bo'linmasi o'lchangan darajadagi kattalikda aniqlanadi.

Bakterial kulturalarni o'rganishda olingan natijalarga asoslanib, bayonnoma tuziladi (1-jadval).

*1-jadval*

**Bakteriyalarning morfologik va tinktoriai xususiyatlari (protokol shakli)**

Hujayralar shakllari	Kattaligi	Gram bo'yicha bo'yalgan	Mavjudligi			Kislota chidamligi	Harakatchanligi	Kiritmalar
			Sporalar	Kapsullar	Volyutin donachalari			

## Bakteriya hujayrasining ultra-strukturasi

Bakteriya hujayrasining hozirgi kunda yaxshi o'rganilgan tarkibiga quyidagilar kiradi: hujayra qobig'i, sitoplazma va tashqi strukturalari. Hujayra qobig'i tarkibiga o'z navbatida kapsula, hujayra devori va sitoplazmatik membrana kiradi. Sitoplazmada esa nukleoid, ribosoma va kiritmalar joylashgan (12-rangli rasm). Ayrim bakteriyalarda tashqi strukturalar: xivchinlar va tukchalar mavjud. Bir qator bakteriyalar sporalari hosil qiladi. Sporasi bakteriya tanasining o'lchamidan kichik bo'lishi mumkin (*Bacillus*) yoki tana o'lchamidan katta bo'lishi mumkin (*Clostridium* – so'zi yunoncha bo'lib urchuq, duksimon ma'nosini anglatadi). Sporasi hujayrada terminal, subterminal yoki markaziy tarzda joylashadi (17-rangli rasm).

**Bakteriyalarning hujayra devori** mustahkam, qayishqoq struktura birligi bo'lib, bakteriya hujayrasini tashqi tomondan sitoplazmatik membrana bilan o'rab turadi. Prokariot hujayra devori o'zining tuzilishi va kimyoviy tarkibi bilan eukariot hujayralarning hujayra devoridan farq qiladi. Hujayra devorining asosiy tarkibidan biri prokariotlarda peptidoglikan (murein, mukopeptid) hisoblanadi. Eukariot va boshqa hujayralarda bu mukopeptid uchramaydi. Peptidoglikan bir-biri bilan parallel joylashgan, qaytalanib keluvchi, glikozidli bog'lar bilan bog'lanuvchi N-atsetilglyukozamin va N-atsetilmuramin kislotalar qoldig'idan iborat murakkab polisaxarid hisoblanadi (13-rangli rasm). Bakteriya hujayrasi devorining kimyoviy tarkibi va tuzilishi ma'lum tur bakteriyalar uchun doimiy hisoblanib, muhim diagnostik ahamiyatga ega. Hujayra tuzilishiga qarab prokariotlarga kiruvchi eubakteriyalar ikkita katta guruhga bo'linadi. Agar fiksatsiya qilingan eubakteriya hujayrasi oldin kristal fiolet keyin yod bilan ishlov berilsa, bo'yalgan kompleks hosil bo'ladi. Keyingi bosqichlarida eubakteriyani spirt bilan ishlov bersak, hujayra devori strukturasiga qarab hosil bo'lgan kompleksning taqdiri ikki ko'rinishda bo'ladi. Birinchi guruh grammusbat deb nomlanuvchi bakteriyalarda kompleks spirtda yuvilib ketmaydi, binafsha rangi saqlanib qoladi. Grammanfiy eubakteriyalarda esa spirtde kompleks yuvilib ketadi va rangsizlanadi. Ma'lum bo'lishicha, kompleks eubakteriyalarni protoplastida hosil bo'ladi, lekin spirt bilan keyinchalik yuvilib ketishi yoki ketmasligi hujayra devorining strukturasiga bog'liq ekan. Grammusbat va grammanfiy bakteriyalarning hujayra devori o'zining kimyoviy tarkibi va strukturasi bilan (13-14-rangli rasm) farq qiladi. Grammusbat bakteriyalar hujayra devorida peptidoglikan hujayra devorining asosiy massasiga nisbatan 40-90% ni, grammanfiylarda esa 1-10 % ni tashkil qiladi. Peptidoglikan qalinligi har xil turlarda farq qilib,

20 dan 80 nm gacha bo'ladi. Grammanfiylarda esa 2-3 nm va hujayraning umumiy qalinligi 10-15 nm ga to'g'ri keladi.

2-jadval

**Grammusbat va grammanfiy bakteriyalar hujayra devori va sitoplazma komponentlarining kimyoviy tarkibi**

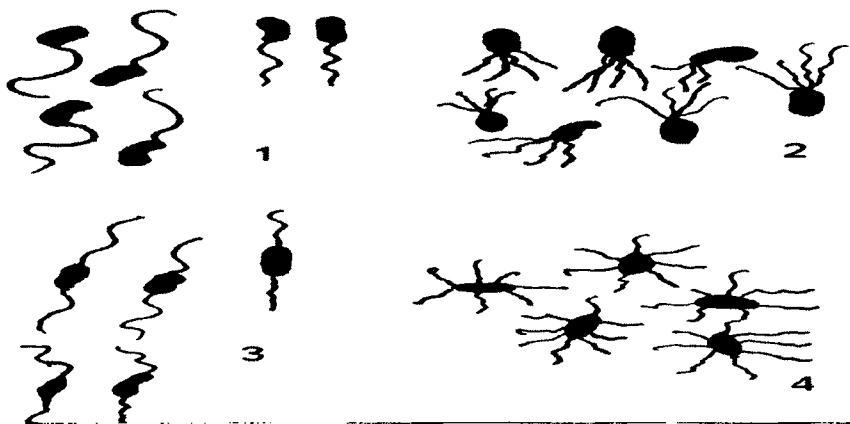
Hujayra devori va sitoplazma komponentlari	Grammusbat bakteriyalar	Grammanfiy bakteriyalar	
		Ichki (peptidoglikan) qavat	Tashqi lipopolisaxaridli (tashqi membrana) qavat
Peptidoglikan	+	+	-
Teyxoy kislota	+	-	-
Lipoteyxoy kislota	+	-	-
Polisaxaridlar	±	-	+
Yog'lar	±	-	+
Lipopolisaxaridlar	-	-	+
Lipoproteinlar	-	±	+
Magniyribonukleat	+	-	-
RNK va DNK nisbati	8 : 1	1 : 4	1 : 4
sitoplazma pH	2,0-3,0	5,0 atrofida	5,0 atrofida

Grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining grammusbat bakteriyalarga nisbatan yupqaligi uning o'tkazuvchanligining yuqori bo'lishiga olib keladi.

Shunday qilib, gensian binafsha bilan bo'yalgan, yod ishtirokida hujayra protoplastida hosil bo'lgan kompleks (GV+magniyribonukleati + yod va hujayra komponentlari) grammusbat bakteriyalarda mustahkam bo'lib, spirt bilan ishlov berilganda yuvilib, rangsizlanib ketmaydi. Bundan tashqari, hujayra devorining qalinligi va uning o'tkazuvchanligi pastligi bo'yoqning spirtida erib ketmasligiga sharoit yaratadi. Grammanfiy bakteriyalarda esa mustahkam kompleks hosil bo'lmaydi va hujayra devorining o'ta yupqaligi ham bo'yoqning tez (30 soniyagacha) erib, rangsizlanib ketishiga va fuksin bilan qayta bo'yalishiga olib keladi.

**Bakteriyalarning harakatchanligi, xivchinlari**

Bakteriyalarning harakatlari bir necha ko'rinishda bo'lishi mumkin; suzib yuruvchi, sirg'anuvchi, sudraluvchi, o'rmalovchi. Bakteriyalar harakati xivchinlari hisobiga ro'y beradi. Bakteriyalarning xivchinlari



15-rasm. Bakteriyalar xivchinlari (sxema). 1-monotrix; 2-lofotrix; 3-amfitrix; 4-peritrix.

ingichka, uzun oqsil ipchalar bo‘lib, diametri 12-30 nm, uzunligi esa 6-9 dan 80 nm gacha bo‘lishi mumkin. Xivchin tarkibida flagellin oqsili bo‘lib, u qisqarish xususiyatiga ega. Xivchinlar bakteriya tanasida joylashuviga qarab 4 guruhga bo‘linadi (15-rasm). Monotrixlar – bitta xivchini polyar joylashgan (*V. cholerae*). Lofotrixlar – bir tutam xivchinlari bitta uchida joylashgan (*Pseudomonas methanica*). Amfitrixlar – tutam xivchinlari har ikki uchida joylashgan (*Spirillum volutans*). Peritrixlar – xivchinlari tanasining hamma joyida joylashadi (*E.Coli*, *Salmonella typhi*).

### Bakteriyalarning harakatchanligini o‘rganish.

“Osilgan” tomchi tayyorlash usuli. Preparat bakteriya kulturasidan bir tomchi olinib, yupqa yopqich oyna o‘rtasiga tomiziladi. So‘ng o‘rtasida chuqurchasi bo‘lgan, atrofiga vazelin surib tayyorlangan buyum oynasiga yopqich oyna shunday yopishtiriladiki, tomchi chuqurchaning o‘rtasida turishi kerak. Tezlikda buyum oynasini aylantiriladi, natijada tomchi osilgan holatni oladi. To‘g‘ri tayyorlangan preparatda tomchi chuqurcha ustida erkin, atrofga yoki tagiga tegmasdan osilib turadi. Mikroskop ostida ko‘rish uchun avval kichik, quruq 8-obyektiv qo‘llaniladi, tomchining chetlari topilgach, 90 obyektiv o‘rnatilib, immersion moy tomizilib, preparatda bakteriyalarning harakati ko‘riladi.

“Ezilgan” tomchi tayyorlash usuli. Yog‘sizlantirilgan buyum oynasi ustiga bir tomchi tekshiriladigan material yoki bakteriya suspenziyasi tomiziladi va ustidan yopqich oyna yopiladi. Tomchi katta bo‘lmasligi va yopqich oynaning chetlaridan chiqmasligi kerak, preparat mikroskop ostida ko‘riladi.

Mikrobni (vital) tirik holda bo'ya sh. Mikroblar suspenziyasi bir tomchi 0,001 % li metilen ko'ki yoki neytral qizil eritmaga qo'shiladi. Ulardan «osilgan» yoki «ezilgan» tomchi tayyorlanadi va mikroskop ostida ko'riladi. Mikroskopiyadan so'ng ular dezinfeksiya qiluvchi moddalar eritmasiga solinadi.

Bakteriyalarning harakatchanligini bakteriologik amaliyotda yarim suyuq agarlarga tekshirilayotgan mikrob kulturasi sanchib ekish orqali ham aniqlash mumkin. Sanchib ekilganda, harakatchan bakteriyalar muhitda tarqalib yaqqol ko'rinib turadi, harakatsiz bakteriyalar esa yarim suyuq muhitda sanchuv bo'ylab o'sadi.

## **Bakteriyalarni murakkab bo'yash usullari**

Oddiy bo'yash usullaridan farq qilib, murakkab usulda preparatlarni bo'yashda bir nechta bo'yoqlar ketma-ket qo'llaniladi. Ular kimyoviy tarkibi, rangi, ishlov beruvchi va differensiyalovchi moddalari bilan bir-biridan farqlanadi. Bu esa hujayraning ma'lum tuzilishini aniqlash va mikroorganizmlarning bir turini ikkiuchi turidan differensiyalash imkonini beradi.

### **Gram usuli bilan bo'yash (16-rangli rasm).**

1. Fiksatsiyalangan surtmaga gensian binafshaning kربول-spirтли eritmasi filtr qog'oz ustidan tomiziladi. 1-2 daqiqa bo'yaladi, so'ng qog'oz olinadi, yuvib tashlanmaydi, bo'yoq esa to'kiladi.

2. Yuvib tashlanmasdan Lyugol eritmasi quyilib, 1-2 daqiqa davomida ushlab turiladi.

3. 20-30 soniya davomida etil spirti tomizilib, surtma rangsizlantiriladi.

4. Preparat suv bilan yuviladi.

5. Surtma, fuksinning suvli eritmasi bilan 1-2 daqiqa davomida qo'shimcha ravishda bo'yaladi, quritiladi va mikroskop ostida ko'riladi.

Grammusbat bakteriyalar to'q binafsha, grammanfiylar esa qizil rangga bo'yaladi. Gram usuli bilan bo'yash muhim differensial-diagnostik ahamiyatga ega va mikrobiologiyada keng qo'llaniladi (16-rangli rasm). Bakteriyalarning tinktorial xususiyati deb ataladi. Grammusbat bakteriyalarga stafilokokk, streptokokk, difteriya korinobakteriyasi, sil mikobakteriyasi va boshqalar kiradi. Grammanfiy bakteriyalarga – gonokokk, meningokokk, ichak tayoqchasi va boshqalarni kiritish mumkin (17-rangli rasm). Bakteriyalarning ayrim turlari Gram usuli bilan yaxshi bo'yalmay o'zgarib turadi. Bu esa ularning yoshi, o'stirish xususiyati va hujayra devorining tuzilishini o'zgartiruvchi omillariga bog'liq.

Gram usuli bilan bo'yashda yo'l qo'yiladigan asosiy kamchilik, surtmadagi bo'yoqni spirt bilan ko'proq ushlash yoki kam ushlab bo'yoqni yaxshi ketkazmaslikdir. Birinchi holatda grammusbat bakteriyalar gensian binafsha bilan bo'yalgan rangini yo'qotadi, so'ng (grammanfiy bakteriyalarga o'xshash) surtma, fuksin bilan bo'yalishi natijasida qizil rangni qabul qiladi. Ikkinchi holatda esa grammanfiy bakteriyalar gensian binafsha bilan bo'yalib, ko'k binafsha rangni saqlab qoladi. To'g'ri bo'yash uchun surtmani spirt bilan yuvishga qat'iy rioya qilish kerak (Gram bilan bo'yash usulining uchinchi punktiga qaralsin). Bundan tashqari, surtmani o'ta qalin tayyorlash ham bo'yashning sifatiga putur yetkazadi (Gram bilan bo'yash usulining uchinchi punktiga qaralsin).

### **3-MAVZU. BAKTERIYALARNING TUZILISHI VA MURAKKAB BO'YASH USULLARI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Bakteriya hujayralarining ultra-struktura tuzilishi.
2. Murakkab bo'yash usullari.

#### **Namoyish qilish**

1. Kapsula hosil qiluvchi bakteriyalarning sof kulturasidan tayyorlangan surtma. Burri-Gins usuli bilan bo'yash.
2. Volyutin donachasi bo'lgan achitqi zamburug'ining sof kulturasidan tayyorlangan surtma. Neysser usuli bilan bo'yalgan.
3. Spora hosil qiluvchi bakteriyalarning sof kulturasidan tayyorlangan surtma. Ojeshko usuli bilan bo'yalgan.
4. Kislotaga chidamli bakteriyalarning sof kulturasidan tayyorlangan surtma. Sil-Nilsen usuli bilan bo'yalgan.
5. Bakteriya hujayrasini tashkil etuvchi komponentlarning elektron mikroskopik fotosuratlarini.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Noma'lum bakterial kulturaning hujayra shaklini oddiy bo'yash usuli bilan aniqlash.
2. Tekshirilayotgan bakterial kulturalarning aralashmasidagi turli bakteriyalarning hujayralar shaklini va Gram bilan bo'yashga bo'lgan munosabatini aniqlash.
3. Bo'yashning tegishli usullaridan foydalanib, tekshirilayotgan bakterial kultura tarkibidagi spora, volyutin donachalari va kislotaga chidamliligini aniqlash (1-jadval).



## Uslubiy ko'rsatmalar

Biz yuqorida aytganimizdek, ko'pchilik grammusbat prokariotlar hujayra devorining kimyoviy tarkibi bilan ham bir-birlaridan farq qiladi va bu farqlar ularning Gram usulda bo'yalishiga ta'sir ko'rsatadi. Mikrobiologiya amaliyotida bu bakteriyalarni kislotaga chidamli bakteriyalar deb ataladi. Bu bakteriyalar Gram usulida bo'yalmaydi. Grammusbat bakteriya bo'la turib, Gram usulida bo'yalmasligiga asosiy sabab, ularning hujayra strukturasi kimyoviy tarkibi hisoblanadi.

Kislotaga chidamlilik bakteriyalarning hujayra devori va sitoplazmasida yog' va yog' kislotalarining ko'p bo'lishidir. Yog'lar hujayraning umumiy massasiga nisbatan 40% gacha bo'lishi mumkin. Lipidlarning (yog'larni) uch xil fraksiyasi aniqlangan; fosfolipidlar (efirda eruvchi), yog'simon (efir va atsetonda eruvchi) va mumsimon (efir va xloroformda eruvchi). Lipidlar tarkibida juda ko'p kislotaga chidamli yog' kislotalari uchraydi. Bularga stearin, ftoid va mikol kislotalari kiradi. Hujayra tarkibida lipidlarning yuqori bo'lishi bu bakteriyalarni kislotaga, spirtga va tashqi muhit omillariga chidamli qilib qo'yadi. Shuning uchun bu bakteriyalar bo'yoqlar bilan qiyin bo'yaladi. Ularni bo'yash uchun maxsus intensiv Sil-Nilsen usuli qo'llaniladi. Sil-Nilsen usulida kislotaga chidamli bakteriyalar karbolli fuksinning yuqori konsentratsiyali eritmasi bilan qizdirib bo'yaladi. Karbol kislotaning eritmasi hujayra devorini yumshatadi, shu bilan uning tinktorial xususiyatini oshiradi, bo'yoqning yuqori konsentratsiyasi va bo'yash jarayonida qizdirish orqali bo'yoq bilan bakterial hujayraning o'zaro ta'sir reaksiyasi kuchayadi va yaxshi bo'yaladi, natijaga sulfat kislota bilan ta'sir etilsa, kislotaga chidamsiz bakteriyalar rangsizlanadi va metilen ko'ki bilan havo rangga bo'yaladi. Kislotaga chidamli bakteriyalar esa fuksin bilan qizil rangga bo'yalganicha qoladi (18b-rangli rasm). Rasmdan ko'rinib turibdiki, sil kasalligi qo'zg'atuvchisi qizil rangda, kislotaga chidamsiz boshqa bakteriyalar metilin ko'ki bilan bo'yalgan.

### **Kislotaga chidamli bakteriyalarni Sil-Nilsen usuli bilan bo'yash**

1. Fiksatsiyalangan surtmaning ustiga tayyorlangan filtr qog'ozidan qo'yiladi, so'ngra fuksinning karbolli eritmasi tomiziladi va bug' hosil bo'lgunga qadar qizdiriladi. Shu holat uch marta takrorlanadi.
2. Filtr qog'oz olinadi va surtma suv bilan yuvilmaydi.
3. Surtmaga rangsizlantirish uchun 5% li sulfat kislota yoki 3% spirtli xlorid kislota eritmasidan tomiziladi va 1-2 daqiqa ushlab turiladi.
4. Suv bilan yuviladi.

5. Surtma metilen ko'kning suvli eritmasi bilan 3-5 daqiqa davomida yana bo'yaladi.

6. Suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskop ostida ko'riladi. Kislotaga va spirtlarga chidamli bakteriyalarga sil va moxov qo'zg'atuvchilari kiradi.

## **Bakteriyalarning kapsulasi**

Prokariot hujayrasi devorini tashqi tomonidan ko'pchilik hollarda shilliq moddalar o'rab turadi. Bunday tuzilmalar struktura tuzilishini o'ziga xos xususiyati bo'yicha kapsula deb nomlana boshlangan. Bularning hammasi biosintez oqibatida hujayra atrofini o'rab olgan organik polimerlardan iboratdir. Agar tuzilmalarning qalinligi 0,2 mkm dan kam bo'lsa, ularni faqat elektron mikroskopda ko'rish mumkin. Shuning uchun bunday tuzilmalar **mikrokapsula** deb ataladi. Tuzilmalarning o'lchami 0,2 mkm dan katta bo'lsa, yorug'lik mikroskopida ko'rish mumkin va **makrokapsula** deyiladi. Bakteriya hujayrasini o'rab turgan tuzilma tarkibi amorf va strukturasisiz bo'lsa, bunday tuzilmalarni shilliq qavat deb yuritiladi.

Bakteriyalar kapsulasining tarkibi hujayra devorining komponentlariga o'xshab ketadi, lekin kimyoviy strukturasi jihatidan ulardan farqlanadi. Ko'pchilik bakteriyalar kapsulasining kimyoviy tarkibi gomo-yoki geteropolimer polisaxarid hisoblanadi, lekin ba'zi bir bakteriyalar kapsulasi (*Bacillus*) polipeptidlardan tarkib topgan. Hamma bakteriyalarda ham kapsula uchramaydi. Kapsula bakteriyalarning tur belgisi hisoblanadi. Kapsulasi bor bakteriyalar boshqa bakteriyalarga nisbatan, yashash sharoitlarida afzalliklarga ega bo'ladi. Ko'pchilik patogen bakteriyalar kapsula hosil qiladi, bu ularning virulentlik belgisi hisoblanadi. Bakteriyalar kapsulasi ularni mexanik jarohatlanishdan, qurib qolishdan saqlaydi va bakteriya uchun qo'shimcha osmotik baryer, faglarining kirishi uchun to'siq, ko'pchilik hollarda oziq moddalar zaxirasi ham bo'lishi mumkin. Bundan tashqari, bakteriyalarda kapsula avlod va tur xususiyatini anglatuvchi antigen bo'lishi ham mumkin. Bakteriyalarning kapsulasini aniqlash amaliyotda ularni bir-birlaridan identifikatsiya qilishda qo'llaniladi.

### **Burri-Gins usuli bilan kapsulani aniqlash.**

1. Burri bo'yicha preparat quyidagicha tayyorlanadi: bir tomchi tush olinib, buyum oynasiga tomiziladi va unga bakteriologik qovuzloqda mikroob kulturasi olinib, yaxshilab aralashtiriladi, bir tomoni silliqlangan oynacha bilan qon surtmasiga o'xshash surtma tayyorlanadi, so'ngra u quritiladi va fiksatsiya qilinadi.

2. Surtmaga 1-2 daqiqa davomida fuksinning suvli eritmasi tomiziladi.

3. Suv bilan yuviladi, havoda quritiladi va mikroskop (immersion sistemada) ostida ko'riladi. Bunda kapsulali bakteriyalar tush bilan bo'yalmaydi va qora fonda ularning kapsulali tanalari chegaralanib qoladi, fuksin bilan bo'yalganda ularning tanasi qizil rangga bo'yaladi, bo'yalmagan kapsulalar esa qora pushti rang ostida ajralib turadi (18a-rangli rasm). Rasmda klebsiyellalar kapsulasi Burri-Gins usulida bo'yalgan.

### **Bakteriyalarning kiritmalari, volyutin donachalari**

Prokariotlarning sitoplazmasida turli kiritmalar uchraydi. Bu kiritmalar hujayraning metabolizmi natijasida chiqarilmay, yig'ilib qolgan metabolitlari yoki bakteriyalar uchun oziq-ovqat zaxirasi bo'lishi mumkin. Bakteriyalarning kiritmalari bo'lishi mumkin: neytral yog' tomchisi, mum, oltingugurt, maxsus uglevodlar zaxirasi (*Clostridium*); glikogen granulasi metapolifosfat ko'rinishida (*Shirillum volutans*, *Corynebacterium diphtheriae*). Bakteriyalar kiritmalari, volyutin donachalari hujayralar uchun doimiy bo'lmasdan ularning tarkibi, ko'rinishi o'zgarib turishi mumkin. Bakteriyalar och qolganda, kiritmalar yo'qolib ham ketadi. Shu bilan bir qatorda, bu kiritmalar, volyutin donachalari doimiy bo'lib, tur belgisini bildiradi (bo'g'ma qo'zg'atuvchisida, 18v-rangli rasm). Shuning uchun volyutin donachalarini aniqlash amaliy ahamiyatga ega.

#### **Neysser usuli bilan volyutin donachalarini bo'yash**

1. Fiksatsiyalangan surtmaga Neysser sinkasining atsetati tomiziladi va 2-3 daqiqa ushlab turiladi.
2. Lyugol eritmasi tomiziladi va 10-30 soniya ushlanadi.
3. Preparat suv bilan yuviladi.
4. Surtma vezuvinning suvdagi eritmasi yoki xrizoidin bilan  $\frac{1}{2}$ -1 daqiqa bo'yaladi.
5. Suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskop ostida ko'riladi.

Volyutin donachalari ishqoriy reaksiyaga ega bo'lgan birikma bo'lib, shu xususiyatiga ko'ra sitoplazmadan farq qiladi. Shuning uchun sinka atsetati bilan to'q ko'k rangga bo'yaladi. Hujayra sitoplazmasi, nordon reaksiyali bo'lganligi uchun ishqoriy bo'yoq vezuvinni qabul qilib, sariq rangga bo'yaladi.

Bakteriyalarning kiritmalari oddiy (Lyoffler) usulda, metilen ko'ki bilan ham yaxshi bo'yaladi.

#### **Lyoffler usuli bilan volyutin donachalarini bo'yash**

1. Fiksatsiyalangan surtmaga metilen ko'king 1% eritmasi tomiziladi va 1-2 daqiqa ushlab turiladi.
2. Preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va mikroskop ostida ko'riladi. Volyutin donachalari to'q ko'k rangga, tanasi ochroq havo rangga bo'yaladi.

## Bakteriyalarning sporasi

Ba'zi bir bakteriyalar (*Clostridium*, *Bacillus*) noqulay sharoitga tushib qolganda endospora hosil qiladi. Spora bakteriyalarni o'ziga xos bo'lgan tinch turuvchi shakli hisoblanadi va ularning metabolitik aktivligi o'ta past bo'ladi, lekin ular tashqi muhit omillariga (quritishga, yuqori haroratga, kimyoviy moddalarga) o'ta chidamli bo'ladi. Tashqi muhitda bir necha o'n yillar saqlanishi mumkin. Sporaning tashqi omillarga bunchalik chidamli bo'lishini, ular tarkibidagi dipikolin kislotasi va kalsiy tuzlari ta'minlaydi. Bundan tashqari, spora tarkibida erkin suv molekullari uchramaydi, suv faqat bog'langan ko'rinishda bo'ladi. Spora yaxshi sharoitga tushsa, undan yana vegetativ shakl hosil bo'ladi. Bakteriyalarda spora ko'payish xususiyatini emas, u turni tabiatda saqlanishini ta'minlaydi. Bakteriyalarning sporasini aniqlash amaliyotda diagnostik ahamiyatga ega.

3-jadval

### Noma'lum kulturalarni morfologik va tinktorial belgilari asosida aniqlash (dalolatnoma shakli)

№	Hujayra shakli	O'lchami (mkm)	Gram bo'yi-cha bo'yalishi	Mavjudligi			Kislotaga chidamliligi	Harakatchanligi	Xulosa
				Sporasi	Kapsulasi	Volyutin donachalari			
1.									
2.									

#### Sporalarni Ojeshko usuli bilan bo'yash.

1. Fiksatsiyalanmagan surtmaga 0,5% vodorod xlorid kislotasining eritmasi tomiziladi va 2-3 daqiqa davomida gorelka alangasida qizdiriladi.

2. Kislotaga to'kiladi, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va gorelka alangasida fiksatsiya qilinadi.

3. Preparat Sil-Nilsen usuli bilan bo'yaladi. Bunda bakteriya sporalari qizil rangga, vegetativ shakldagilari havo rangga bo'yaladi (18g-rangli rasm).

#### **4-MAVZU. SPIROXETA, RIKKETSIYA, XLAMIDIYA, MIKOPLAZMA VA AKTINOMITSETLAR MORFOLOGIYASI, STRUKTURASI, ULARNI O'RGANISH**

##### **Mashg'ulot rejasi:**

1. Spiroketalar morfologiyasi va strukturasi o'rganish usullari.
2. Spiroketalarni morfologik xususiyatlarga ko'ra differensiyalash.
3. Rikketsiya, xlamidiya va mikoplazmalar morfologiyasi va strukturasi o'rganish usullari.

4. Aktinomitsetlar morfologiyasi va strukturasi o'rganish usullari.

##### **Namoyish qilish**

1. Ko'ruv maydoni qorong'ilashtirilgan mikroskopda spiroketalarning harakati.

2. Leptospiralarning Burri usuli bilan bo'yalgan preparati.

3. Oqish treponemaning Burri usuli bilan bo'yalgan preparati.

4. Borreliyalarning Burri usuli bilan bo'yalgan preparati.

5. Qonning katta tomchili surtmasidagi Borreliyalarning Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalgan preparati.

6. Rikketsiyalarning kulturasidan tayyorlangan, Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalgan preparati.

7. Xlamidiyalarning kulturasidan tayyorlangan, Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalgan preparati.

8. Aktinomitsetlardan tayyorlangan preparatlar.

9. Zamburug'lardan tayyorlangan preparatlar.

10. Spiroketalar, rikketsiya va xlamidiyalarning elektron mikroskopik fotosuratlarini.

##### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Tish karashidan Burri usulida surtma tayyorlash va mikroskopda ko'rish, spiroketalarni topish.

2. 2-jadvaldagi ma'lumotlardan foydalanib, Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalgan tayyor surtmadagi spiroketaning qaysi zotga mansub ekanligini aniqlash.

3. Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalgan preparatlarda rikketsiya va xlamidiyalarning morfologiyasini o'rganish.

4. Aktinomitsetlar kulturasidan surtma tayyorlash va Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

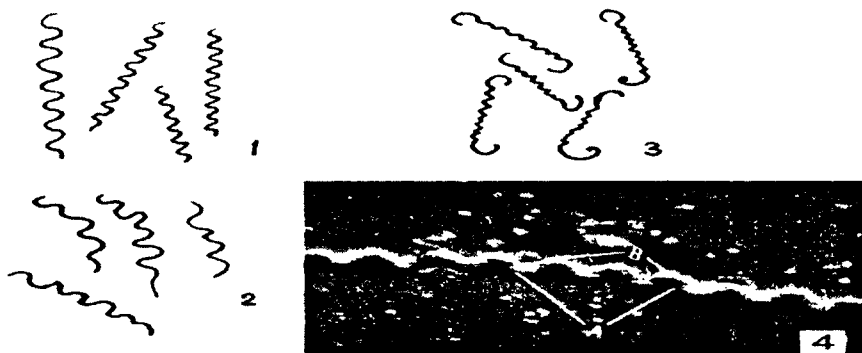
5. O'tkazilgan tekshirishlar natijasiga ko'ra dalolatnoma tuzish, yakun yasash (1-jadvalga qaralsin.)

6. Kandidaning agarli kulturasidan surtma tayyorlash. Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

## Spiroxtlar

**Spiroxtlar** –ingichka, uzun buralgan harakatchan bakteriyalar bo‘lib, Spirochayetales tartibiga, Spirochayetaceaye oilasiga kiradi. Patogen spiroxetalar uchta: *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira* avlodlarga bo‘linadi.

Spiroxeta hujayrasi buralgan protoplazmatik silindsimon bo‘lib, sitoplazmatik parda bilan chegaralangan sitoplazmaga ega, tashqarisida biroz peptidoglikan qatlami bo‘lgan hujayra devoridan tashkil topgan. Tarkibi jihatdan grammanfiy bakteriyalarga o‘xshab ketadi. Hujayra devorining ustidan aksial iplari fibrillalari o‘rab turadi. Ularning soni turlarga qarab 2 tadan 100 tagacha bo‘lishi mumkin. Fibrillalar spiroxetalarning bir uchi bleforoplastlarga mahkamlangan bo‘ladi, ikkinchi uchi ham ba’zilarida mahkamlangan, ba’zilarida esa birikmagan bo‘lishi mumkin, ularning ustidan tashqi yopqich qavat o‘rab turadi (19-rasm, 20-rangli rasm). Patogen spiroxetalarning uzunligi 3-20 mkm va yo‘g‘onligi 0,1-0,5 mkm. Ayrim zotlarning vakillari bir-biridan uzunligi va yo‘g‘onligi, o‘ramaning soni, harakat tiplari va xususiyati (4-jadval) bilan farqlanadi. Spiroxetalar grammanfiy. *Borreliya*lar *treponema* va *leptospiralardan* anilin bo‘yoqlari bilan yaxshi bo‘yalishi bilan farq qiladi. *Treponema* va *leptospiral*ar morfologiyasi tirik mikroorganizmlarni mikroskop ostida ko‘rish usuli bilan «ezilgan» yoki «osilgan» tomchi – preparatlarni qorong‘ilashtirilgan maydon yoki fazo-kontrast mikroskoplar yordamida hamda Romanovskiy-Gimza yoki maxsus bo‘yash usullari bilan o‘rganiladi. Masalan, surtmani kumushlantirish usullari bilan ham spiroxetalarning morfologiyasi o‘rganiladi.



19-rasm. Spiroxtalar morfologiyasi. 1-treponemalar; 2-borreliyal; 3-leptospiral; 4-elektron mikroskopda ko‘rinishi (a) buramalari; b) tashqi yopqich qavati).

Spiroxetalarning morfologik belgilari

Spiroxe <span style="text-decoration: underline;">talar</span> avlodi	O'ramalar soni va xususiyati	Harakat turlari	Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yalishi
Borreliya	3-10 yirik, notekis	Turtkisimon, bukilgan, ilgari <span style="text-decoration: underline;">lama</span>	Ko'k binafsha
Treponema	8-12 mayda, bir tekis	Bukilgan, ilgari <span style="text-decoration: underline;">lama</span> , bir tekis	Oqish pushti
Leptospira	Ko'p sonli, birlamchi o'ramalari bor, ikkilamchi o'ramalari S shakliga ega.	Juda tez, aylanuvchan, ilgari <span style="text-decoration: underline;">lama</span>	Pushti sirensimon
Saprofit(og'iz bo'shlig'idagi) spiroxe <span style="text-decoration: underline;">talar</span>	6-10 yirikroq, birmuncha dag'al, buramalarining kattaligi har xil, notekis	Bir tekisda emas, avvaliga to'xtab, so'ngra keskin harakat qiladi, harakati davomida o'z shaklini o'zgartirib turadi.	Ko'k binafsha

**Tish karashidan Burri usulida surtma tayyorlab mikroskopda ko'rish, spiroxetalarni topish.**

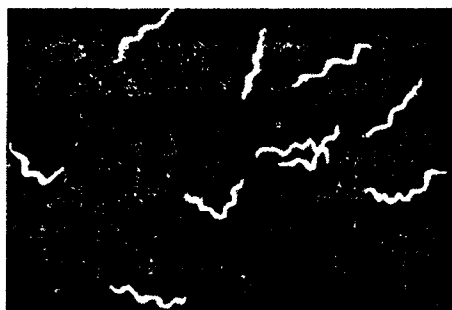
1. Yaxshilab yog'sizlantirilgan buyum oynasiga bir tomchi tush olinadi va steril tish kavlagich bilan tish karashi olinib aralashtiriladi, bir tomoni silliqlangan oynacha bilan qon surtmasiga o'xshash surtma tayyorlanadi, so'ngra quritiladi va fiksatsiya qilinadi.

2. Surtma mikroskopning immersion sistemasida ko'riladi.

Spiralsimon bakteriyalar qorong'i fonda yaltiroq spiral shaklida ko'rinadi (21-rasm).

**Qondan surtma tayyorlash.** Toza buyum oynasining bir tomoniga bir tomchi qon tomiziladi. Ikkinchi bir tomoni silliqlangan buyum oynasi 45° da ushlagan holda birinchi buyum oynasidagi qon tomchisiga tekkiziladi va asta-sekin ikkinchi tomonga qon bilan birga suriladi. Natijada, qon buyum oynasining ustida bir xil qalinlikda suriladi. Preparat havoda quritiladi va suyuq fiksatorda (metil spirti yoki etil spirtining efir bilan aralashmasi) oynaga birliktiriladi.

«Katta» tomchi tayyorlash uchun buyum oynasiga 2-3 tomchi qon tomiziladi va 10 so'mlik tanga kattaligicha aralashtiriladi. Havoda quritilgandan so'ng, eritrotsitlardan gemoglobinni ajratish uchun asta-sekin bir necha tomchi



21-rasm. Qorong'ilashtirilgan maydonda borrelalarning ko'rinishi.

distillangan suv tomizilib, 10-15 daqiqa ushlab turiladi.

**Preparatni Romanovskiy Gimza usuli bo'yicha** (metilen ko'ki, eozin va azur aralashmasi bilan) **bo'yash**. Surtmaga bo'yoqning eritmasi (1 ml distillangan suvga 2 tomchi bo'yoq) tomiziladi va 10-20 daqiqa davomida ushlab turiladi. So'ngra preparat suv bilan yuviladi va havoda quritiladi.

Qaytalama tif spiroxetalari Romanovskiy-Gimza usuli bilan

bo'yalganda binafsha rangga, qon eritrotsitlari - pushti, leykotsitlarning yadrosi - binafsha rangga bo'yaladi. Treponemalar oq-pushti rangga, leptospiralalar esa pushti-siren rangga bo'yaladi.

**Rikketsiyalar** oxirgi tasnif bo'yicha (2001, Berdje qo'llanmasi) Rikketsiyalar Protobacteria tipiga Alphaproteobacteria sinfiga va bu sinfga Rickettsia avlodi kiritilgan. Rikketsiya va xlamidiyalar Rickettsia sinfiga tegishli bo'lib, hujayra ichida qat'iy (obligat) parazitlik qilib yashaydi. Ular ikkita: Rickettsiales va Chlamidiales tartiblariga bo'linadi.

Rikketsiyalar mayda grammanfiy mikroorganizmlar bo'lib, obligat hujayra ichida yashovchi parazitlar hisoblanadi, juda ham o'zgaruvchandir (polimorfizm). Shuning uchun kokksimon, tayoqchasimon, batsilyar, ipsimon shakllari uchraydi. Rikketsiyalarning o'lchami 0,5 mkm dan 3-4 mkm gacha, ipsimon shakldagi rikketsiyalarning uzunligi 10-40 mkm gacha yetishi mumkin. Spora va kapsulalar hosil qilmaydi. Rikketsiyalarning hayot sikli xo'jayin organizmining holatiga bog'liq bo'lib, ularda ikki xil yashash bosqichi: vegetativ faol va tinch turuvchi shakllari kuzatiladi. Rekketsiyalarning vegetativ shakllari asosan tayoqchasimon bo'lib, faol binar yo'li bilan bo'linadi, o'ta harakatchan, tinch turuvchi shakli sferik ko'rinishda bo'lib, ko'paymaydi. Rikketsiyalar tipik prokariot hujayralari bo'lib, ularning hujayra devorining tuzilishi grammanfiy bakteriyalardan farq qilmaydi. Rikketsiyalar spora, kapsula hosil qilmaydi. Zdrodovskiy usuli bilan qizil rangga bo'yaladi. Rikketsiyalar odamlarda transmissiv yuqumli kasalliklarni keltirib chiqaradi.

**Xlamidiyalar** oxirgi tasnif bo'yicha (2001, Berdje qo'llanmasi) Clamydiaye tipiga Clamydiaye sinfiga va bularga 2 ta avlod Clamydia,



Clamydophila kiradi. Xlamidiyalar grammanfiy sharsimon obligat hujayra ichida yashovchi parazit bakteriyalar bo'lib, faqat tirik hujayralardagina hayot kechiradi. Xlamidiyalarni energetik parazitlar sifatida qaraladi, chunki ular o'zlarini hujayra uchun zarur energiya bo'lgan adenozintrifosfat (ATF) va guanozintrifosfat (GTF) sintez qila olmaydi, bu energiyani xo'jayin hujayrasidan o'zlashtiradi. Xlamidiyalarni 2 ta biologik shakli tafovut qilinadi; elementar tanacha (ET), sferik shaklda, metabolitik faol emas (0,3 mkm), hujayradan tashqarida uchraydi, infeksiyon, sezgir hujayralarga kira oladi. ET epitelial hujayralarga endotsitoz yo'li bilan kiradi va hujayra ichida vakuolada shakllanadi, kattalashib faol bo'linuvchan retikulyar tanachaga (RT) aylanadi. RT ko'payib ETga aylanadi va hujayradan chiqadi, yangi sikl takrorlanadi. Xlamidiyalar Romanovski-Gimza usuli bilan bo'yaladi, grammanfiy, fazokonstrast mikroskop ostida, tirik holda tayyorlangan preparatlarda juda yaxshi ko'rinadi.

**Mikoplazmalar** oxirgi tasnif bo'yicha (2001, Berdje qo'llanmasi) Firmicutes tipiga, Mollicutes sinfiga va bularga 2 ta avlod Mycoplasma, Ureaplasma kiradi. Mikoplazmalarining hujayra devori bo'lmaydi, osmotik sezgir, lekin sitoplazmatik membranasini yaxshi rivojlangan, uch qatlamli lipoproteidlardan tarkib topgan. Ko'plab morfologik shakllari uchraydi: kokksimon, ipsimon, kolbasimon. Mikoplazmalarining o'lchami 125-250 mkm atrofida, grammanfiy, spora kapsula hosil qilmaydi, harakatsiz. Mikoplazmalar odamlarda atipik pnevmoniya va siydik tanosil yo'llari kasalliklarini keltirib chiqaradi.

**Aktinomitssetlar** oxirgi tasnif bo'yicha (2001 Berdje qo'llanmasi) Actinobacteria Tipiga, Actinobacteria sinfiga va Actinomyces avlodiga kiritilgan. Aktinomitsset hujayralari uzun va shoxlangan ipsimon, tayoqchasimon grammusbat bakteriyalar bo'lib, zamburug'lar singari mitseliya hosil qiladi. Mitseliya iplarining uzunligi 100-600 mkm, eni 0,2-1,2 mkm. Aktinomitssetlar sporalar hosil qilib, ko'ndalangiga bo'linib, kurtaklanib ko'payadi. Ular kapsula, xivchin hosil qilmaydi. Aktinomitssetlar o'z nomini to'qima shakliga qiyoslab olgan, ya'ni jarohatlangan to'qimalarda aktinomitssetlar druz shaklida, bir-biriga chirmashib ketgan iplar (nur sochuvchi) ko'rinishida bo'lib, markazdan boshlanib kolbasimon yo'g'onlashib tugaydi (yunoncha actis – nur, mykes – zamburug'). Aktinomitssetlar zamburug'lar singari mitseliy hosil qiladi – bir-biriga o'ralib ketgan iplar (giflar), lekin ulardan farq qilib, substratli mitseliy hosil qiladi. Substratli mitseliy hujayrani oziq muhitlarga o'sib kirishini ta'minlaydi. Boshqa bakteriyalar singari aktinomitssetlar

anilin bo'yoqlari bilan bo'yaladi. Odatda, ular oddiy yoki Gram usuli bilan bo'yaladi. Aktinomitsetlar grammusbat bakteriyalardir.

#### **Rikketsiyalarni Zdrodovskiy usuli bilan bo'yash.**

1. Surtma suyultirilgan Sil fuksini bilan (10-15 tomchi 10 ml distillangan suvga tomiziladi) 5 daqiqa davomida bo'yaladi.
2. Suv bilan yuviladi.
3. Surtmaga 0,5% li limon kislota yoki 0,01% li xlorid kislota eritmasi tomiziladi.
4. Suv bilan yuviladi.
5. Metilen ko'ki bilan 1 daqiqa davomida bo'yaladi.
6. Preparat suv bilan yuviladi va quritiladi. Rikketsiyalar Zdrodovskiy usuli bilan qizil rangga bo'yaladi, ichida rikketsiyalari bo'lgan hujayra sitoplazmasi havorang, yadro esa ko'k rangga bo'yaladi.

### **5-MAVZU. MIKROORGANIZMLAR FIZIOLOGIYASI. OZIQ MUHITLAR TASNIFI. OZIQ MUHITLARNI TAYYORLASH PRINTSIPLARI VA EKISH USULLARI**

Ushbu bo'limda mikrobiologik tekshirishlarda ishlatiladigan asosiy usullar keltirilgan: oziq muhitni tayyorlash, ekish usullari, laboratoriya sharoitida mikroorganizmlarni o'stirish va sof kulturalarni ajratib olish yozilgan. Bakteriyalar fiziologiyasini o'rganish bakteriyalarning oziq-ovqatga ehtiyojini, plastik va energetik metabolizmida qatnashuvchi fermentlarini aniqlash, qattiq, suyuq va yarim suyuq oziqli muhitlarda o'sishi va ko'payishini tekshirishdan iborat. Turli mikroorganizmlar metabolizmidagi umumiy qonuniyatlar energetik va konstruktiv metabolizmida turga xos belgilar, o'zgarish usullari va yo'llaridagi jiddiy farqlar bilan birga kechadi. Mikroorganizmlarni bir-biridan ajratish va identifikatsiya qilish shularga asoslangan bo'lib, yuqumli kasalliklar mikrobiologik diagnostikasida muhim bosqichlardan hisoblanadi.

Bakteriyalar metabolizmini o'rganish faqat amaliy ahamiyatga ega bo'lib qolmay, balki biokimyoviy va irsiy axborotga javobgar gen tiplarining mexanizmlarini va ularni amalga oshirish yo'llarini, oqsil sintezidagi boshqaruv sistemasini va mikroob hujayrasida sodir bo'ladigan boshqa jarayonlarni bilish uchun juda keng istiqbollar ochib berdi.

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Oziqli muhitlarni tayyorlash usuli.
2. Oziqli muhitlar va ularni tayyorlash uchun kerakli ingredientlar.
3. Oziqli muhitlarga ayerob sharoitda birlamchi patologik materiallarni ekish usullari.

### **Namoyish qilish**

1. Oziqli muhitlarni tayyorlash uchun ishlatiladigan ingrediylentlar.
2. Oziqli muhitlarni tayyorlash bosqichlarini o'quv laboratoriyasida ko'rish.
3. Asosiy, differensial-diagnostik, elektiv, sun'iy oziqli muhitlar, ularni tayyorlash bosqichlari.

4. Kukun yoki pastadan oziqli muhit tayyorlash.
5. Oziqli muhitlarga qo'yiladigan talablar bilan tanishish.
6. Oziqli bulyonning pH ni aniqlash.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Petri kosachasiga go'shtli peptonli plastinkali agar tayyorlash.
2. Tayyorlangan go'shtli peptonli plastinkali agarga havodan (sedimentatsion) cho'ktirish usuli bilan ekish.
3. Bakteriya sof kulturasi ajratib olish maqsadida bemor yiringini sut qo'shilgan tuzli agar (SQTA) ga ekish.
4. Bemor najasidan Endo muhitiga ekish.

## **Oziqli muhitlar**

Mikrobiologik amaliyotda bakteriya yoki boshqa mikroorganizmlarni laboratoriya va ishlab chiqarish sharoitida ko'paytirish uchun qo'llaniladigan, turli tarkibli murakkab yoki oddiy birikmalardan tashkil topgan ozuqa moddalarga **oziqli muhit** deb ataladi.

Oziqli muhitlarga qo'yiladigan talablar:

1. Tarkibi (asosiy xususiyatlaridan biri) – ma'lum mikroorganizmlarning ko'payishi uchun barcha kerakli moddalar tutishi (azot va uglerodni universal manbasi oqsil gidrolizati, peptid va peptonlar, vitamin va mikroelementlarning manbasi o'simlik, hayvon oqsillari) kerak.
2. Oziq moddalarni bakteriyalar oson o'zlashtirishlari zarur.
3. Qulay namlik, yopishqoqlik va har bir bakteriyalarga xos pH ga ega bo'lishi.
4. Izotonik holatda tiniq bo'lishi kerak.
5. Har bir muhit albatta sterillangan bo'lishi kerak.

Tarkibi bo'yicha oqsilli, oqsilsiz va mineral oziqli muhitlar ishlatiladi.

Oziqli muhitlar kelib chiqishiga qarab, tabiiy va sun'iy muhitga bo'linadi. Tabiiy muhitlar hayvonlar mahsuloti (qon, zardob, o't-safro, mol go'shti, tuxum va bosh.) va o'simliklardan (meva va sabzavotlar) olinadi. Sun'iy muhitlar esa yuqoridagi moddalardan olingan mahsulotlardan (pepton, aminopeptid, achitqi uglevodlar va jo'xori ekstraktlari) tayyorlanadi.

Oziqli muhitda o'stiruvchi omillarning borligi katta ahamiyatga ega. Ular metabolik jarayonlarda katalizator vazifasini bajaradi,

asosan B guruhi vitaminlari, nikotin kislota va boshqalar shular qatoriga kiradi.

**Yu m sh o q – q a t t i q l i g i g a** (konsistensiyasiga) ko'ra oziqli muhitlar qattiq, suyuq va yarim suyuq bo'ladi. Qattiq muhitlar suyuq muhitga 1,5-2% arap, yarim suyuq muhitga 0,3-0,7% agar qo'shish natijasida tayyorlanadi. Agar – maxsus dengiz o'simligini qayta ishlash natijasida hosil bo'lgan mahsulot bo'lib, u qotirilsa, muhitni qattiq holatga keltiradi. Agar 80-86°C da eriydi, 40°C da qotadi. Ayrim hollarda qattiq oziqli muhitlarni olish uchun (10-15%) jelatin ishlatiladi. Tabiiy muhitlar, ivitilgan qon zardobi, tuxum oqsili o'z-o'zidan qattiq holatda bo'ladi.

Bakteriologiya amaliyotida ko'pincha quruq oziqli muhitlardan foydalaniladi. Ular sanoat ko'lamida oziq-ovqat uchun ishlatilmaydigan mahsulotlarning arzon gidrolizatlaridan (baliq chiqindilari, go'sht-suyak uni, texnik kazein) va oziqli agardan tayyorlanadi. Quruq muhitlarni uzoq vaqt saqlash mumkin, ularni transportda yuborish ham qulay, negaki tarkibi standart, o'zgarmagan holda saqlanadi.

Oziqli muhitlar qo'llanilishi va nima maqsadda ishlatilishiga ko'ra saqlab turuvchi, (konserviruyushiy) ko'paytiruvchi (obogasheniya) asosiy, elektiv, maxsus va differensial-diagnostik turlarga bo'linadi.

**Saqlab turuvchi muhitlar** patogen bakteriyalarning saqlanishini ta'minlaydi va saprofitlarning ko'payishini to'xtatishi mumkin. Amaliyotda glitserin aralashmasi (Tiga muhiti), gipertonik eritma, glitserinli konservant va dezoksixolat natriy va boshqalar qo'llaniladi. Bu muhitlar asosan bakteriyalarni ma'lum muddatda saqlash va laboratoriyaga yetkazib borishda ishlatiladi.

**Ko'paytiruvchi muhitlar** ma'lum guruh bakteriyalarni ko'paytirib olishda qo'llaniladi va birlamchi ekishda ishlatiladi. Masalan, bularga (Myuller, Kitta - Tarotstsi, tioglikolli muhitlar va selenitli bulyon) kiradi.

**Asosiy muhitlar.** Bu muhitlar ko'pgina bakteriyalarni o'stirish uchun qo'llaniladi. Bular baliq mahsulotlarining triptik gidrolizatlari, go'sht bulyonlari yoki kazeinlar bo'lib, ulardan suyuq muhit – oziqli bulyon va qattiq oziqli agar tayyorlanadi. Bunday muhitlar boshqa murakkab muhitlarni tayyorlash uchun asos bo'ladi. Ko'rsatilgan muhitlar qandli, qonli, zardobli va boshqa patogen bakteriyalarni oziqli muhitga talabini qondira oladigan aralash muhitlar tayyorlashda ishlatiladi. Ayrim hollarda muhitning asosi sifatida ma'lum mineral tuzlardan tayyorlangan sun'iy muhitlar ishlatilib, ularga aminokislotalar, vitaminlar, glyukoza, pepton, jo'xori yoki achitqi ekstrakti va boshqa oziqli moddalar qo'shiladi.

**Elektiv muhitlar.** Elektiv oziqli muhitlar turli xil boshqa mikroflorali materialdan ma'lum turni ajratib olish va uni to'plashga mo'ljallangan. Ma'lum mikroblarga elektiv oziqli muhitni yaratishda, bu mikroblarning boshqa ko'pchilik mikroblardan farqlanadigan biologik, fermentativ xususiyatlariga asoslaniladi. Masalan, qonli zardobli muhitlar bo'g'ma, ko'kyo'tal qo'zg'atuvchisini ajratib olishda (Klauberq II, KKA), tuberkulyozda (Levenshteyn-Yensen), stafilokokklarda natriy xlor tuzining konsentratsiyasi yuqori bo'lgan muhiti, vabo vibrionida esa ishqoriy muhit qo'llani ladi.

**Differensial-diagnostik oziqli muhitlar** ayrim turdagi (yoki guruhlar) mikroorganizmlarni bir-biridan ajratish, farqlash uchun ishlatiladi.

Differensial-diagnostik muhit tuzilish prinsipiga ko'ra, bakteriyalar xilma-xil turlarining o'zaro biokimyoviy faolliqi hamda bir xil bo'lmagan fermentlar to'plamiga ega bo'lishi va oziqli muhit tarkibiga kiruvchi substratlarning parchalanishiga asoslangan.

Differensial-diagnostik muhitlar tarkibiga quyidagi asosiy komponentlar kiradi: a) bakteriyalarning ko'payishini ta'minlaydigan asosiy organik, noorganik birikmalar, kazein gidrolizati, pepton va bosh.

b) qo'shimcha ma'lum kimyoviy substrat ularning parchalanishi oqibatida muhitni pH nordon (uglevodlar, mochevina) yoki ishqoriy (oqsillar parchalanishida) tomonga o'zgaradi. Bu xususiyat shu mikrobninq diagnostik belgisi hisoblanadi; v) rangli indikator (masalan, Andrede, bromtimol ko'ki, bromkrezol purpur, krezol qizil indikator), rangining o'zgarishi sodir bo'layotgan biokimyoviy reaksiyadan va tekshirilayotgan mikroorganizmda ushbu fermentlar borligidan dalolat beradi. Agar oziq muhitdagi metabolitlarni parchalasa, muhit nordonlashuvi mumkin, Andrede indikatorini bor muhit qizarishi, brom timol ko'k bilan musbat bo'lishi mumkin, lekin oraliq mahsulot natijasida muhit ishqoriy tomonga siljisa, bu ikki indikatorning rangi o'zgarmaydi.

Hamma differensial-diagnostik muhitlar 4 ta asosiy guruhga bo'linadi.

1. Tarkibida oqsil tutuvchi, bakteriyalar fermentlari ta'sirida xarakterli o'zgaruvchi muhitlar (qon, jelatina, sut va bosh.). Bu muhitlarda bakteriyalarning gemolitik, protolitik xususiyatlari o'rganiladi, bulardan eng ko'p go'sht peptonli jelatina, ivitilgan ot qon zardobi, sutli va qonli agar ishlatiladi.

2. Tarkibida uglevodlar, ko'p atomli spirtlar tutuvchi indikatorli muhitlar. Bu muhitlarda bakteriyalar uglevodlarni parchalashi oqibatida kislotalar va gaz hosil bo'ladi, muhitning pH nordon tomonga siljiydi

va indikator muhit rangini o'zgartiradi. Bakteriologik amaliyotda lakmusli sut (Minkovich muhiti), Giss (Xissa) muhitlari keng qo'llaniladi. Giss muhitida bakteriyalarning, turli uglevodlarni fermentatsiya qilish xususiyati o'rganiladi. Enterobakteriyalarni farqlashda peptonli uglevod, Andrede indikatorni qo'shilgan va muhitga gaz hosil bo'lishini aniqlash uchun uzunligi 3 sm, bir tomoni berk shisha naycha solib qo'yiladi. Agar bakteriyalar uglevodni parchalasa, indikatorning rangi o'zgaradi, gaz hosil bo'lsa, shisha naychaga gaz yig'iladi. Giss muhitida bir nechta uglevodlar qo'llanganligi sababli bakteriyalar bir uglevodni parchalashi, ikkinchisini esa parchalamasligi mumkin. Shuning uchun uglevodlar qatori olachipor (rangli qator) bo'lishi mumkin, nomlash shundan kelib chiqqan. Uglevodlardan amaliyotda ko'pincha monosaxaridlar (glyukoza, arabinoza, mannoza), disaxaridlar (laktoza, maltoza, saxaroza) polisaxaridlardan (kraxmal, glikogen, inulin, dekstrin) va glikozidlardan esa (adonit, inozit, salitsin) ishlatiladi.

3. Bakteriyalar tomonidan ma'lum moddalarni parchalashini, tiklanishini (redutsiruyushiye) o'rganuvchi muhitlar (metilen ko'ki qo'shilgan sutli muhit, nitratli muhit). Masalan, enterokokklar metilen ko'ki qo'shilgan sutli muhitda uni reduksiyaga uchratib, muhitni oqartirib qo'yadi, *Str pyogens* esa muhit rangini o'zgartirmaydi.

4. Bakteriyalar tomonidan ma'lum moddalarni o'zlashtira (assimilatsiya) olishini aniqlovchi muhitlar. Amaliyotda eng ko'p sitratli agar (*Simmons* muhiti) qo'llaniladi. Masalan, *Salmonella* avlodi vakillari *Simmons* muhitida yaxshi o'sadi, muhit ko'karadi, ichak tayoqchasi esa sitratli agarda moddalarni assimilatsiya qila olmaydi, muhit rangini o'zgartirmaydi.

### **Oziqli muhitlarni tayyorlash**

**Asosiy muhitlar.** Triptik gidrolizat pastasi ma'lum hajmdagi distillangan suvda eritiladi, pH o'rnatiladi, tegishli idishlarga quyilib, og'zi paxta-dokali probkalar bilan berkitiladi va avtoklavda sterillanadi. Oziqli agar kukuni ma'lum hajmdagi suvga solinadi va 10-15 daqiqa davomida qaynatiladi, so'ngra steril Petri kosachalariga yoki probirkalarga quyiladi. Qiyalantirilgan oziqli agar tayyorlash uchun ichiga agar quyilgan probirkalar stol ustida qiyshaytirilgan holda qotiriladi.

**Qonli, zardobi va astsitik muhitlar.** Eritilgan va 45-50°C gacha sovutilgan oziqli agarga steril sharoitda 5-10% fibrinsizlantirilgan qon yoki shu miqdorda qon zardobi yoki 25% li astsit suyuqlik qo'shiladi, yaxshilab aralashtiriladi va tezda Petri kosachasiga, probirka yoki boshqa laboratoriya idishiga quyiladi. Suyuq muhit tayyorlash uchun oziqli bulyonga yuqorida ko'rsatilgan miqdorda zardob yoki astsit suyuqlik qo'shiladi.

**Uglevodli muhitlar.** Oziqli agar yoki bulyonga 0,5-1% li glyukoza yoki boshqa uglevod qo'shiladi. Oquvchan bug' yoki 0,5 atmosfera bosimida bug' bilan sterillanadi.

**Elektiv oziqli muhitlar.** 1% peptonli suv, pH 8,0. Vabo vibrioni uchun elektiv muhit bo'lib, u boshqa mikroblarga nisbatan juda tez ko'payadi. Muhitning ishqoriy reaksiyasi, vabo vibrionining o'sishiga to'sqinlik qilmaydi, lekin boshqa mikroorganizmlarning o'sishini sekinlashtiradi.

**Ishqoriy agar (IA).** Qattiq muhit: oziqli agar, pH 7,8. Oldingi muhitga o'xshash, vabo vibrioniga elektiv hisoblanadi.

**Myuller muhiti** tif-paratif bakteriyalar uchun elektiv hisoblanadi, chunki ular ichak tayoqchasiga nisbatan tetrationsat natriyga (bu birikma oziqli bulyonga Lyugol eritmasi va natriy giposulfit qo'shilganda hosil bo'ladi) deyarli chidamli.

**Tuxum sarig'ining tuzli a g a r i (TSTA).** Muhitning tarkibida natriy xlorid yuqori konsentratsiyada (8-10%) bo'ladi. Bu esa stafilokokkning o'sishi uchun to'sqinlik qilmay, balki muhitni shu mikroblar uchun elektiv holatga keltiradi. Muhit letsitovitellaza hosil qiladigan stafilokokklarni shunday ferment ajratmaydigan stafilokokklardan farq qilishga yordam beradi. Shu muhitda letsitovitellaza musbat mikroblar koloniyalari atrofida sadaf rangli halqa hosil bo'ladi (ferment tovuq tuxumi sarig'idagi letsitinni parchalaydi, shuning uchun eritilgan va 45°C gacha sovitilgan oziqli, tuzli agarga tuxum sarig'i qo'shiladi).

#### **Differensial-diagnostik muhitlar.**

**Giss muhiti.** 1% li peptonli suvga 0,5% uglevodlardan biri alohida-alohida (glyukoza, laktoza, maltoza, mannit va boshqalar) va Andrede indikator (NaOH ning 1 n. eritmasidagi nordon fuksin) qo'shiladi. So'ngra probirkalarga quyilib, ichiga po'kak (uzunligi 3 sm bo'lgan shisha naycha, uning bir tomoni berk) solinadi. Po'kak shisha naycha uglevodlarning parchalanishi natijasida hosil bo'ladigan gazsimon mahsulotlarni yig'ish maqsadida solinadi. Oquvchan bug' yoki 0,5 atmosfera bosimidagi bug' bilan sterillanadi; bunda po'kak oziqli muhit bilan to'ladi. Muhit 7,2-7,4 pH da rangsiz bo'lib, uglevodlar parchalangandan so'ng qizil tusga kiradi.

Sanoatda uglevodli, VR-indikatorli (suvli havorang bo'yoq va rozol kislotalar aralashmasi) yarim suyuq muhitlar kukun (poroshok) shaklida paketlarda ishlab chiqariladi. VR-indikator neytral reaksiyalik muhitda rangsiz bo'lib, nordon muhitda ko'k, ishqoriy muhitda esa qizil rangga aylanadi. Hosil bo'ladigan gaz yarim suyuq agar ustunchasini parchalab yuboradi.

**Endo muhiti** kukun (poroshok) shaklida paketlarda chiqariladi. U quritilgan oziqli agar, 1% li laktoza va indikator -asosiy fuksin, rangsizlantirilgan natriy sulfid dan tashkil topgan. Ishlatishdan oldin ma'lum miqdordagi kukun distillangan suvga solinadi, qaynatiladi, so'ngra Petri kosachalariga quyiladi. Yangi tayyorlangan muhit rangsiz yoki oq pushti rangli bo'ladi.

Laktoza musbat bakteriyalarning koloniyalari metallga o'xshab yaltiraydigan, to'q-qizil rangga bo'yaladi; laktozamanfiy bakteriyalar esa

rangsiz koloniyalarni hosil qiladi, chunki fuksin ma'lum muhitning pH da rangsiz bo'lsa, laktoza parchalanishi natijasida hosil bo'lgan kislota muhitning pH ni nordon tomonga o'zgartiradi va fuksin natriy sulfid dan ajralib qizaradi, bu esa bakteriya koloniyasini qizil rangga bo'yalishiga olib keladi.

**L y e v i n m u h i t i** kukun ko'rinishida paketlarda chiqariladi. U quritilgan oziqli agar bilan laktoza,  $K_2NPO_4$ , metilen ko'ki va ezindan tashkil topgan. Endo muhiti kabi tayyorlanadi. Muhit to'q binafsha rangda bo'ladi. Laktoza musbat bakteriyalar to'yingan, havo rangli, laktoza manfiylar rangsiz koloniyalarni hosil qiladi. Buning mexanizmi ham Endo muhitidagi kabi kislota hosil bo'lishiga asoslangan. Laktoza parchalansa muhitning pH nordon tomonga surilishi natijasida muhitning to'q binafsha rangi o'zgarib, metilin ko'ki ta'sirida koloniya to'q havo rangiga kiradi. Masalan, ichburug' qo'zg'atuvchilari laktozani parchalamaydi, muhit pH o'zgarmaydi, ularning koloniyalari rangsiz oqimtir bo'ladi, ichak tayoqchasi koloniyasi esa to'q havo rangga kiradi.

**Ploskiryov muhiti** (J baktogari). Quruq holda chiqarilib, laktoza, brilliant yashili, o't kislotalar tuzlari, mineral tuzlar va indikator (neytral qizil) oziqli agardan iborat. Bu muhit faqat differensial-diagnostik bo'lib qolmasdan, balki selektiv hamdir. Chunki u ko'p mikroblarning (ichak tayoqchasi va boshqalar) o'sishini to'xtatadi va ko'pgina kasal qo'zg'atuvchi bakteriyalar (ich terlama, paratif, dizenteriya qo'zg'atuvchilar) ning o'sishini ta'minlaydi. Laktoza manfiy bakteriyalar bu muhitda rangsiz, laktoza musbatlar esa och qizil koloniyalarni hosil qiladi. Bu muhitning mexanizmi ham kislota hosil bo'lishiga asoslangan.

5-jadval

**Klinik materiallardan bakteriyalarni ajratib olishda keng qo'llaniladigan oziqli muhitlar**

Tekshirilayotgan material	Qo'llanilayotgan muhitlar	Ekish tartibi
Chipqon, fleqmonali yaralardan yiring, to'qima suyuqligi	QA, Qandli bulyon, Endo, Saburo muhiti	Material gomogenizatsiyalanadi va 10-20% fosfat buferida yoki peptonli suvda suspenziya tayyorlanadi va ekiladi.
Siydik	QA, Qandli bulyon, Endo, Saburo muhiti	0,002 ml. Gold usulida ekiladi



Balg'am va bronx yo'llari yuvindisi	QA, Qandli bulyon, ShA, Ploskirova, Saburo muhitlari	Tugunchalari bo'lsa gomogenizatsiya qilinadi, ekiladi.
Tomoq, burun, halqumdan olingan surtma	QA, ShA, Sut yoki tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agar	Meningokokk yuqumli kasalligiga shubha qilinsa ShA qo'llaniladi.
Najas	Endo, Ploskirova, VSA, Saburo muhitlari, QA	Material gomogenizatsiyalanadi va 10 % fosfat buferida yoki peptonli suvda suspenziya tayyorlanadi va ekiladi.
Qin va uretra ajralmasi	QA, Endo, Saburo	10 % fosfat buferida yoki peptonli suvda suspenziya tayyorlanadi va ekiladi.
Atsit, orqa miya va to'qima suyuqliklari	QA, ShA, tioglikolli bulyon	Material oldin sentrifuga qilinib, keyin ekiladi.
Ko'z, quloqdan olingan ajralma	QA, ShA, tioglikolli bulyon, Saburo muhiti	Ekilgandan so'ng, tioglikolli bulyonda qoldiriladi

*Eslatma:* QA – qonli agar; ShA – shokoladli agar; VSA – vismut sulfit agar.

**Uch qandli mochevina qo'shilgan (Olkenitskiy bo'yicha) muhit.** 100 ml distillangan suvga 2,5 g quruq oziqli agar, 1 g laktoza, 1 g saxaroza, 0,1 g glyukoza, 1 g mochevina, 0,02 g Mor tuzi, 0,03 g tiosulfat natriy, 0,4 ml 0,4% fenol qizilini suvli eritmasi. Hammasi aralastirilib pH 7,2-7,4 keltirilib probirkalarga quyiladi va 0,5 atmosferada avtoklavda sterilizatsiya qilinadi. Muhitni probirkada qiyalantiriladi, uning ustunchasi 2-3 sm bo'lishi zarur. Muhit oqish binafsha rangda bo'ladi. Bakteriyalar uglevodni parchalasa, kislota hosil bo'ladi, muhitning rangi sariq somon rangiga kiradi. Agar glyukozani parchalasa, faqat ustunchani rangi o'zgaradi, qiyalantirilgan qismi qizaradi. Bakteriyalarda ureaza fermenti bo'lsa, mochevina parchalanadi, muhit ishqoriy tomonga suriladi va u qizarib ketadi. Shuning uchun ureaza musbat bakteriyalarda uglevodlarning parchalanganlik natijalarini bu muhitda o'rganib bo'lmaydi, bunday holatlarda boshqa muhitlar qo'llash tavsiya etiladi. Hozirgi kunda bu muhitlarning modifikatsiyalari chiqarilgan. Masalan, Kliger muhiti. Bu muhitda yuqoridagi hususiyatlardan tashqari temir sulfati qo'shiladi. Bakteriyalar  $N_2S$  hosil qilsa, muhit ustunchasi qorayadi.

### **Anaerob mikroblarni o'stirish uchun muhitlar.**

**Vilson-Bler (temir-sulfitli agar) muhiti.** Bu muhit oziqli agarda, glyukoza,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$  (temir xloridi) qo'shib tayyorlanadi. Anaerob klostridiyalari (*Clostridium perfringens*) bu muhitda  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  ning  $\text{Na}_2\text{S}$  bilan (natriy sulfitga) qaytarilishi hisobiga temir xlorid bilan birikib, qora rangli temir sulfat cho'kmasini berishi natijasida qora rangli koloniyalarni vujudga keltiradi.

**Kitt-Tarotssi muhiti.** Uning tarkibi oziqli bulyon, 0,5 % li glyukoza va kislorodni shimib oluvchi jigar bo'lakchalari yoki go'sht qiymasidan iborat. Ekishdan oldin havoni chiqarib yuborish uchun muhit suv hammomida 10-15 daqiqa davomida qaynatiladi. Atmosfera havosidan ajratib turish uchun muhitga ozgina vazelin moyi tomiziladi.

### **Patologik materiallarni oziqli muhitlarga ekish texnikasi**

Bakteriologik qovuzloq ekish uchun eng qulay asbob hisoblanadi. Bundan tashqari, sanchib ekish uchun maxsus bakteriologik igna, Petri kosachasiga ekish uchun metaldan yoki shishadan tayyorlangan shpatellar qo'llaniladi. Suyuq materiallarni ekish uchun qovuzloq bilan bir qatorda, Paster va graduirlangan pipetkalar ishlatiladi. Paster pipetkalari sterilangan, oson criydigan shisha naychalaridan olovda qizdirilib, kapillyar shakliga kelgunga qadar tortilib tayyorlanadi. Steril holatni saqlash uchun kapillyarning oxiri olovda tezda eritilib berkitiladi. Paster va gradiurlangan pipetkalarining ikkinchi, ya'ni keng tomoni paxta tiqin bilan berkitiladi, so'ngra ular maxsus idishga (penallarga) joylashtiriladi yoki qog'oz bilan o'rab sterilanadi. Bakteriya kulturasini qayta ekishda probirka chap qo'lga olinadi. O'ng qo'l bilan garelka alangasi ustida paxtali probka olinadi. Qovuzloq bilan ekiladigan material olinib, so'ngra probirka probka bilan yopiladi. Shundan so'ng qiyalantirilgan agarli probirkaga qovuzloq bilan ekiladigan material kiritiladi va muhitning pastki qismidagi kondensatgacha tushiriladi. Ilon izi harakati bilan qiyalatib qo'yilgan agar yuzasida material taqsimlanadi. Qovuzloq olingach, probirkaning og'zi qizdiriladi va probka bilan berkitiladi. Qovuzloq garelka alangasida sterilanadi va shtativga qo'yiladi. Ekilgan probirkalarga ekilgan vaqti, materialning xarakteri (tekshirish raqami yoki kulturaning nomi) yoziladi. Pipetka bilan ishlash vaqtida avvalo uni qog'ozdan ajratib olinadi yoki penaldan chiqariladi. Tezlikda garelka alangasi ustidan o'tkaziladi va probirkaga kiritiladi. So'ngra uning ichki tomoni sovutiladi. Shundan so'ng rezinali nokcha orqali yuqorida yozilgan qoidaga amal qilgan holda ekiladigan material kerakli miqdorda so'rib olinib, probirkadagi yoki boshqa laboratoriya idishidagi oziqli muhit ustiga tomiziladi. Mikrob kulturasini rezinali nay yoki rezinali nokcha orqali so'rib olish xavfsizdir. Ishlatilgan pipetka

dezinfeksiya qiluvchi eritmasi bo'lgan bankaga solinadi va shu yo'l orqali Paster pipetkalari yordamida ekma ham ekiladi. Petri kosachasidagi oziqli agar yuzasiga tomizilgan material shisha shpatel yordamida gazon uslubida ekiladi (22-rangli rasm). Buning uchun qopqoq biroz ochiladi, qovuzloq yoki pipetka bilan ekiladigan materialdan oziqli agar yuzasiga tomiziladi. So'ngra shpatel gorelka alangasidan o'tqaziladi, qopqoqning ichki tomonida sovutiladi va material muhitning butun yuzasiga surtiladi. Bunda chap qo'l bilan qopqoq ushlab turiladi va bir vaqtning o'zida kosacha stoldan ajratilgan holda aylantirib turiladi. Ekma inkubatsiyasidan so'ng bakteriyalar bir tekis unib chiqadi.

Mikroorganizmlarni sof kultura holda ajratib olishda aerob va anaerob sharoit yaratilishi zarur.

### **Aerob bakteriyalarning toza kultasini ajratib olish usullari**

Tekshirilayotgan material va turli mikroorganizmlar aralashmasidan bakteriyalarning ayrim turlarini ajratib olish, odatda, har qanday bakteriologik tekshirishlarning birdan bir, asosiy boshlang'ich bosqichi hisoblanadi.

Bu tekshirishlar esa turli maqsadlarda: kasallikka diagnoz qo'yishda, atrof-muhitdagi mikroblarning qay darajada tarqalganligini aniqlash uchun olib boriladi. Sof kulturalarni ajratib olish bilangina yuqoridagi maqsadlarga erishish mumkin. Odatda, tekshirilayotgan patologik materialda izlanilayotgan bakteriyalardan tashqari boshqa ko'plab saprofit bakteriyalar bo'lishi mumkin. Ularning ichidan shubhalanilayotgan yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi sof kultasini ajratib olish orqaligina yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilarini identifikatsiya qilish mumkin. Sof kultura ajratib olishda quyidagi usullar qo'llaniladi:

1) bakteriya hujayralarini mexanik ravishda bir-biridan ajratish usullari;

2) mikroorganizmlarning biologik xususiyatlariga asoslangan ajratish usullari.

### **Bakteriya hujayralarini mexanik ravishda bir-biridan ajratish usullari.**

Bu usullarning asosiy mohiyati zich oziqli muhit yuzasida bakteriyalarni mexanik ravishda yoyib tashlashga yoki tekshirilayotgan materialdagi bakteriyalarni ma'lum miqdorgacha suyultirib kamaytirishga asoslangan. Materiallarni ekish maxsus shisha shpatel yoki bakteriologik qovuzloq orqali amalga oshiriladi (22-rangli rasm).

**1. Materiallarni Drigalskiy usuli bilan shpatelda ekish.** Oziqli muhitli 3 ta Petri kosachasi olinadi. Birinchi kosachaga bir tomchi tekshirilayotgan materialdan tomiziladi va uni sterilangan shisha shpatel bilan kosacha ichidagi

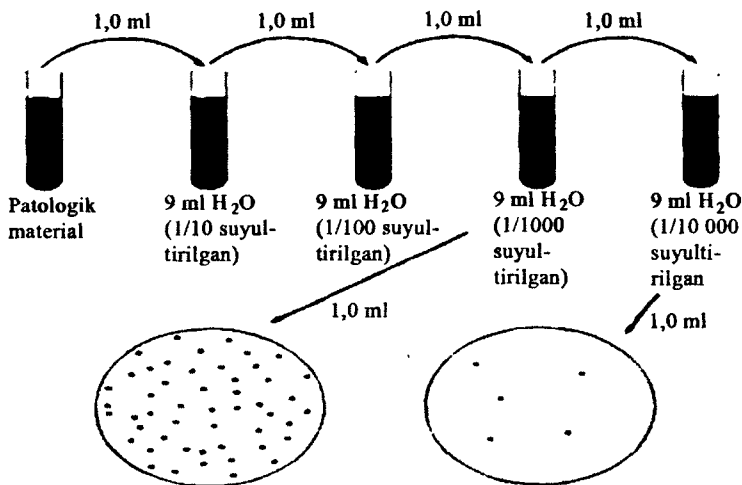
oziqli agar yuzasiga surkaladi. Shpatelda qolgan kulturani (shpatel sterilanmaydi) ikkinchi va uchinchi kosacha ichidagi oziqli agar yuzasiga surkab ekib chiqiladi, ekilgan ekma termostatga (37°C) qo'yiladi.

Birinchi kosachadagi oziqli agar yuzasida mikroblar qalin o'sishi mumkin, ikkinchi va ayniqsa uchinchi kosachada alohida chegaralanib yotgan mikroblar koloniyalarini olish va ulardan toza kultura ajratib olish mumkin.

## 2. Bakteriologik halqa qovuzloq /petlya/ bilan shtrix va shpatel bilan gazon usulida ekish.

Bu usul ham oldingi usullardan tubdan farq qilmaydi, lekin sezilarli darajada tejamli. Qovuzloq bilan shtrix usulida ekishni bir necha modifikatsiyalari mavjud (Ekish texnikasiga qaralsin). Birinchi holatda qovuzloq bilan olingan material oziqli agar yuzasining bir chekkasiga ko'p marotaba surkab ekiladi, qovuzloqdagi ko'p material shu yerda qoladi, so'ngra muhitning qolgan qismiga bir-biriga parallel shtrix qilib ekib chiqiladi. Odatda, birinchi qovuzloq bilan qalin ekilgan sohada mikroblar ko'p o'sadi, ularning miqdori keyin ekilgan shtrix bo'ylab kamayib boradi, tabiiyki koloniyalar ham ekmaning oxirrog'ida alohidalangan holda uchraydi (22-rangli rasm).

Ikkinchi holatda qovuzloq bilan olingan materialni oziqli agar yuzasiga sektor usulida ekish mumkin. Buning uchun Petri kosachasi oziqli muhit bilan olinadi va uni 4 sektorga bo'linadi. Tekshirilayotgan material qovuzloq bilan birinchi sektorga olinadi va bir-biriga parallel ravishda shtrix qilib sektorga ekiladi (chiziqlar orasi 0,5 mm atrofida bo'ladi), shu qovuzloq bilan boshqa sektorlarga ham ekib chiqiladi, ekilgan ekma termostatga (37°C) qo'yiladi.



23-rasm. Seriyali suyultirish usuli bilan ekish.

**4. Tekshirilayotgan materialni seriyali suyultirish usuli bilan ekish.** Bu usulda sof kultura ajratib olishdan tashqari tekshirilayotgan materialda mikroorganizmlarning miqdoriy ko'rsatkichlari ham aniqlanadi (23-rasm). Dastlab steril probirkalar olinadi va har biriga 9,0 ml steril fiziologik eritma yoki steril suv olinadi va asosiy materialdan 1,0 ml olinib 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 (tekshirilayotgan materialga qarab yanada ko'proq suyultirish ham mumkin) nisbatda suyultiriladi. Tayyorlangan probirkalardan belgilangan pipetka yordamida 0,1 ml material olinib, oziqli agar yuzasiga tomiziladi va shpatel bilan surkab, gazon usulida ekiladi va termostatga (37°C) qo'yiladi. Tekshirilayotgan materialdan umumiy mikroblar soni (UMS)ni quyidagi formula orqali aniqlash mumkin  $UMS = A \times V \times S$ .

A – probirkadagi suyultirish darajasi;

V – 0,1 ekilgan ekma;

S – oziqli agar yuzasida o'sgan mikroblar soni.

**Mikroorganizmlarning biologik xususiyatlariga asoslangan ajratish usullari.**

**Shukevich usuli.** Amaliyotda Protey bakteriyasining sof kulturasi (Proteus vulgaris) ajratib olishda, uning oziqli muhitda «yoyilib» o'sish xususiyatidan foydalaniladi.

Buning uchun tekshirilayotgan materialdan qovuzloq bilan yangi tayyorlangan qiyshiq agarni kondensatsion suviga ekiladi va termostatga (37°C) qo'yiladi.

Protey bakteriyalari oziqli muhitda o'rmalab o'sish xususiyatiga ega va keyingi kunlarda qiyshiq agarning yuqori qismiga o'rmalab o'sib chiqadi, uning yuqori qismidagi kulturasi olinib, toza kultura ajratib olish mumkin.

**Qizdirish usuli bilan toza kultura ajratib olish.** Bu usuldan spora hosil qiluvchi bakteriyalarni ajratib olishda qo'llaniladi. Bu usulda spora hosil qilmaydigan, ammo qo'shib qolgan mikroorganizmlarni vegetativ shaklini yo'q qilish uchun, tekshiriladigan material 80°C da qizdiriladi yoki qisqa vaqt davomida qaynatiladi. Bu holatda mikroorganizmning sporasi saqlanib qoladi va qizdirilgan materialni oziqa muhitiga ekilganda, agar u shu turga mansub bo'lsa, bakteriyaning sof kulturasi tashkil qilgan holda o'sib chiqadi.

**Bakteriostatik usul (Ingibitsiya usuli).** Mikroorganizmlarning o'sishi turli kimyoviy moddalar, antibiotiklar va turli omillarning ta'sir qilishiga asoslangan. Tekshirilayotgan materialni oziqli muhitga ekishda, asosiy mikrobnig ko'payishiga ta'sir ko'rsatmaydigan, ammo tashqi mikrofloraning ko'payishini, o'sishini to'xtatadigan haroratda o'stiriladi. Masalan, aktinomitsetlar, iyersiniya bakteriyasining sof kulturasi ajratib olish uchun ekilgan material 22°C haroratda o'stiriladi. Ko'pchilik boshqa bakteriyalarning bu haroratda o'sishi sustlashadi. Ikkinchi holatda oziqli muhitga begona bakteriyalarning ko'payishini to'xtatadigan, ammo tekshirilayotgan mikrobnig ta'sir qilmaydigan aniq konsentratsiyada ma'lum antibiotiklar qo'shish mumkin. Ko'kyo'tal qo'zg'atuvchisini ajratib olishda Kazeinli ko'mirli agarga

(KKA) penitsillin antibiotigi qo‘shiladi. Penitsilin grammanfiy ko‘kyo‘tal qo‘zg‘atuvchisiga ta‘sir ko‘rsatmaydi, lekin qo‘shimcha grammusbat bakteriyalarning o‘shini to‘xtatib qo‘yadi.

Kislotaga chidamli bakteriyalarning toza kulturasini ajratib olishda, tekshirilayotgan material 5 % sulfat kislota bilan ishlov beriladi, kislotaga chidamsiz qo‘shimcha floralar hammasi o‘lib ketadi, kislotaga chidamli bakteriyalar saqlanib qoladi, oziqli muhitlarga ekilganda ular yaxshi o‘radi. Bu usuldan sil tayloqchasining sof kulturasini ajratib olishda keng qo‘llaniladi.

**Bo‘yituvchi usul** (metod obogasheniya). Tekshiriluvchi material bakteriyalar uchun elektiv muhitlarga ekiladi. Bu muhitlarda ma‘lum bir bakteriyalar yaxshi o‘sa oladi. Masalan, stafilokokklar natriy xlor tuzining yuqori konsentratsiyasi bo‘lgan (10-15%) muhitda, vabo vibriyonlari esa ishqoriy muhitda yaxshi o‘radi, qo‘shimcha floraning o‘shini to‘xtatib qoladi yoki sustlashadi.

**Bakteriyalarning sof kulturasini biologik usullar bilan ajratib olish.** Ko‘pgina patogen bakteriyalarni saprofitlardan ajratib olishda qo‘llaniladi. Amaliyotda ba‘zi bakteriyalarni ajratib olishda qiyinchiliklar tug‘iladi, ya‘ni tekshirilayotgan materialda izlanilayotgan bakteriya miqdori juda kam bo‘lishi yoki hayvonlar o‘ligini tekshirilganda (o‘latda), chirituvchi bakteriyalarning ko‘payib ketganligi, materialni laboratoriyaga yetkazib berish vaqtining cho‘zilib ketishi, bakteriyalarning sof kulturasini ajratib olish ehtimolini kamaytirib yuboradi. Bunday hollarda biologik usul muhim ahamiyat kasb etadi. Materialni yuqtirish uchun izlanilayotgan bakteriyaga sezgir bo‘lgan laboratoriya hayvonlari tanlanadi. Masalan, pnevmokokk va o‘lat qo‘zg‘atuvchisi uchun eng sezgir hayvon oq sichqonlar hisoblanadi. Rikketsiyalar uchun kalamush, zahm qo‘zg‘atuvchisi esa quyon organizmida yaxshi ko‘payadi. Material yuqtirilgan hayvonda kasallik belgilari boshlansa, patologik anatomik tekshiriladi va ularning organ va to‘qimalaridan yuqoridagi usullar yordamida toza kultura ajratib olinadi.

**Laboratoriya ishini bajarish:**

**Plastinkali GPA oziq muhitini tayyorlash.**

1. Toza sterillangan shisha kolba tayyorlanadi.
2. Kolbaga 1 litr distillangan suvga 40 gr GPA kukuni solinadi, eritiladi.
3. pH tekshirib ko‘rib, og‘zi paxta-dokali probka bilan berkitiladi.
4. Avtoklavga qo‘yib 10-15 daqiqa davomida 120 °C da, 0,5 atmosfera bosimida sterilizatsiya qilinadi.
5. Tayyor bo‘lgan oziq muhit sterillangan Petri kosachalariga 15-20 ml dan quyiladi.
6. Qiyalatilgan oziqli agar tayyorlash uchun ichiga agar quyilgan probirkalar stol ustida 45 °C qiyshaytirilgan holatda qotiriladi.

**Havoni sedimentatsion usul bilan ekish.**

1. Tayyorlangan plastinkali GPA xonaning ma‘lum tanlab olingan joyiga qopqog‘i ochib, 15-20 daqiqa qoldiriladi.

2. Belgilangan vaqtdan keyin kosachaning qopqog'i yopilib, ustiga material olingan sana, soati, guruh raqami yozib qo'yiladi.

3. Havo ekilgan GPA termostatga 37°C ga qo'yiladi.

**Bakteriyalarning toza kulturasini ajratib olish maqsadida bemor yiringi va najasini TSTA, Endo muhitlariga ekish.**

1. Tekshirilayotgan bemor yiringi va najasi yuqorida keltirilgan bakteriyalarning ekish texnikasi va aerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratib olishdagi usullarga amal qilingan holda TSTA va Endo muhitlariga ekiladi.

2. Ekma ekilgan Petri kosachasining qopqog'i yopilib, ustiga material ekilgan sana, soati, guruh raqami yozib qo'yiladi.

3. Ekilgan GPA termostatga 37°C ga qo'yiladi.

Bajarilgan ishlar bo'yicha protokol tuziladi va xulosa yoziladi.

## **6-MAVZU. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH VA SOF KULTURA AJRATIB OLISH USULLARI. AEROB BAKTERIYALARNING SOF KULTURASINI AJRATIB OLISH USULLARI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Aerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratib olish.

2. Bakteriyalarning kultural xususiyatlarini o'rganish.

### **Namoyish qilish**

1. Qovuzloq, pipetka, igna, shpatel bilan qayta ekish texnikasi.

2. Aerob kulturalarini o'stirishda foydalaniladigan oziq muhitlar, asboblar.

3. Turli bakteriyalarni qattiq va suyuq oziq muhitlarda o'sishi, koloniyalarning har xil tiplari, biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish uchun muhitlar («ola-chipor» qator).

4. Anaerob bakteriyalarining sof kulturasini ajratib olish usuli.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Tekshirilayotgan materialdan aerob bakteriyalarining sof kulturasini ajratib olish.

2. Havodan, yiringdan, najasdan ajratib olingan kulturani morfologik, tinktorial, o'sish xususiyatlariga ko'ra l-sxemadan foydalanib, identifikatsiya qilish. 4-jadvalda ko'rsatilganiga asoslanib, o'tkazilgan tekshiruv bo'yicha protokol tuzish.

### **Metodik ko'rsatmalar**

Yuqumli kasalliklarga diagnoz qo'yishda tibbiyot amaliyotida bakteriologik usul asosiy, hal qiluvchi hisoblanadi. Yuqumli kasalliklarga diagnoz qo'yish bir nechta bosqichlarda olib boriladi. Birinchi bosqichi patologik materiallardan qo'zg'atuvchining toza kulturasini ajratib olish, ikkinchi bosqichi esa ajratib olingan sof kulturani qaysi tur yoki avlodlarga mansubligini aniqlash yoki identifikatsiya qilish hisoblanadi.

Oziqli muhitda o'stirilgan bir turdagi yoki bir xil bakteriyalar populyatsiyasi **sof kultura** deb ataladi. Ko'p bakteriyalarning turlari birgina xususiyatiga ko'ra biologik variantlar – biovarlarga (sinonimi: biotiplar) bo'linadi. Kimyoviy xususiyatlari bilan farqlanadigan – xemovarlar, antigenlik xususiyati bilan – serovar, faglarga sezuvchanligi bilan fagovarlar deb ataladi. Bir turning mikroba kulturasi yoki biovari, turli manbalardan yoki har xil vaqtlarda bir manbadan ajratib olingan bo'lsa, ular **shtamm** deb nomlanadi. Shtammlar ko'pincha raqam yoki qandaydir belgilar bilan belgilanadi. Bakteriyalarning sof kulturasini diagnostik bakteriologik laboratoriyalarda, alohida ajratilgan koloniyalardan qattiq yoki suyuq oziqli muhiti bo'lgan probirkalarga qovuzloq orqali ekib ajratib olinadi.

Qattiq oziqli muhitda bir turdagi yoki biovardagi bakteriyalar o'stirilganda, bitta yoki bir nechta bakteriya hujayralarining ko'payishi natijasida hosil bo'lgan ayrim-ayrim to'plamlar hosil qiladi, bular amaliyotda **koloniya** deb ataladi. Koloniya deb bir turga yoki biovarga mansub bo'lgan bakteriyalarning ma'lum vaqt ichida, zich oziq muhit yuzasida hosil qilgan mikroba to'plamiga aytiladi. Koloniyalar zich muhitda o'stirilganda ularning o'sishi, koloniya hosil qilishi materialdagi mikroba miqdoriga va ekish texnikasiga bog'liq bo'ladi. Materialda mikroba soni kam bo'lsa va to'g'ri texnik usul qo'llanilsa, kerakli mikroorganizmlarni alohida, chegaralangan koloniyalarini olish mumkin. Har xil turdagi bakteriyalarning koloniyalari bir-biridan o'zining morfologiyasi, rangi va boshqa belgilariga ko'ra farq qiladi.

Bakteriyaning sof kulturasini diagnostik tekshirishlar o'tkazish uchun ajratib olinadi. Bu esa identifikatsiyalash, ya'ni ajratib olingan bakteriyalarning qaysi zotga, turga mansub ekanligini aniqlash demakdir. Bunga esa ularning morfologiyasi, o'sishi, biokimyoviy va boshqa xususiyatlarini tekshirish natijasida erishiladi (1-sxema).

Ko'pchilik bakteriyalarning sof kulturasini ajratish uchun 2-3 kun vaqt sarf bo'ladi. Sil kasalligi miko-bakteriyasini o'stirish uchun ketadigan vaqt 4-5 haftagacha davom etadi.

Sof kulturaning ajratish jarayonini bir necha bosqichlarga bo'lish mumkin.

## **Aerob bakteriyalarning toza kulturasini ajratib olish bosqichlari**

**Birinchi bosqich** – tekshirilayotgan materialdan surtma tayyorlanadi. Gram yoki boshqa usul bilan bo'yaladi va mikroskop ostida ko'riladi. Kerak bo'lsa, tekshirilayotgan material probirkada NaCl ning sterillangan izotonik eritmasi bilan suyultiriladi. Bir tomchi suyultirilgan materialni



bir xilda taqsimlab, qovuzloq yoki shpatel bilan Petri kosachasidagi oziqli agar yuzasiga ekiladi (Yuqoridagi ekish texnikasi va usullariga qaralsin). Ekilgandan so'ng kosacha osti yuqoriga qilib aylantiriladi va unga yoziladi. U 37°C da termostatga 18-24 soatga qo'yiladi;

**Ikkinchi bosqich** – ekma ekilgan kosachalar ko'riladi, yakka-yakka joylashgan koloniyalar o'rganiladi. Ularning shakliga, katta-kichikligiga, qattiq yoki yumshoqligiga va boshqa belgilariga ahamiyat beriladi. Bakteriyalarning zoti va turigacha identifikatsiyalashda koloniya va kulturalarga turli ranglar beruvchi pigmentlar ham muhim ahamiyatga ega. Masalan, *Serratia marcescens* (ajoyib qon tayoqchasi) qizil pigment, *Staphylococcus aureus* tilla rangli pigment (tilla rangli stafilokokk), *Pseudomonas aueruginosa* ko'k-yashil pigment (ko'k-yashil yiringli tayoqcha) hosil qiladi.

Hujayraning morfologiyasi va ularning tinktorial xususiyatlarini aniqlash uchun tekshirilayotgan koloniyaning bir qismidan surtma tayyorlanadi, Gram usuli bilan bo'yaladi va mikroskop ostida ko'riladi. Sof kulturani ajratish va to'plash uchun bitta yoki bir necha xil alohida joylashgan koloniyalarni, qiyalantirilgan neytral agarga yoki boshqa differensial oziq muhitli (ko'proq Kliger, Ressel muhitlari) probirkalarga qaytadan ekiladi. Buning uchun boshqa koloniyalarga tekkizmasdan qovuzloq bilan koloniyaning bir qismi olinadi.

**Uchinchi bosqich** – ajratib olingan sof kulturaning xususiyatlari qayd qilinadi. Sof kultura ko'z bilan ko'rilganda bir tekis o'sgan bo'ladi. Shu kulturadan tayyorlangan, bo'yalgan surtma mikroskop ostida ko'rilganda, morfologiya, tinktorial xususiyati jihatidan bir xil bo'lgan hujayralar ko'rinadi. Agar bakteriyalarning ayrim turlariga xos ro'yi-rost ko'rinadigan polimorfizm bo'lsa, u holda sof kulturadan tayyorlangan surtmada haqiqiy hujayralar bilan bir qatorda, boshqa o'zgargan shakldagi hujayralar ham uchraydi.

Bakteriyalarning morfologik va tinktorial belgilari harakatlari turli usullar bilan bo'yalgan va bo'yalmagan preparatlarni mikroskop ostida tekshirish bilan o'rganiladi. Uchinchi bosqichda ajratib olingan bakteriyalar ko'pchilik hollarda avlodgacha aniqlanadi, ularning turgacha identifikatsiya qilish uchun bakteriyalarning biokimyoviy, faglarga, antibiotiklarga bo'lgan sezgirlik xususiyatlari chuqurroq o'rganiladi. Buning uchun bakteriyalarni saxarolitik aktivligini o'rganishda uzun Giss qatoriga, proteolitik xususiyatini aniqlash uchun GPB, jelatinali muhitlarga ekiladi.

Kultural (o'sish) xususiyatlari bakteriyaning oziqaga bo'lgan talabini, qattiq va suyuq oziqli muhitda o'sish sharoitini belgilaydi. Bu xossalr

esa koloniyalar morfologiyasi va kulturaning o'ziga xos o'sish xususiyatlari bo'yicha aniqlanadi.

Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlari ma'lum zotga, turga, variantga xos bir qator konstitutiv va induktiv fermentlar bilan belgilanadi. Bakteriologik amaliyotda bakteriyalarning saxarolitik va proteolitik belgilari taksonomik ahamiyatga ega bo'lib, differensial-diagnostik muhitlarda aniqlanadi.

**To'rtinchi bosqich** – ajratib olingan bakteriyalarning sof kulturasi ularning biokimyoviy, antigenlik, faglarga bo'lgan sezgirligi natijalari asosida to'liq turgacha identifikatsiya qilinadi va bakteriologik tashxis javobi beriladi. Agar xususiyatlari bo'yicha ba'zida nomutanosibliklar kuzatilsa, bu xususiyatlarini aniqlash bo'yicha qo'shimcha-tadqiqot ishlari olib boriladi.

### **Bakteriya kulturalarini identifikatsiya qilish**

Har bir turga mansub bo'lgan bakteriyaning morfologik, o'sish belgilarini, biokimyoviy, antigenlik va boshqa xususiyatlarini o'rganish natijasida ajratib olingan bakteriya kulturasi identifikatsiya qilish mumkin (1-sxema).

1. Morfologik va tinktorial xususiyati. O'rganilayotgan kulturani morfologiyasi va ularning tinktorial xususiyatlarini aniqlash uchun tekshirilayotgan koloniyadan surtma tayyorlanadi, Gram usuli bilan bo'yaladi va mikroskop ostida ko'riladi.

2. Kultural xususiyati (o'sish belgilari). Ularga bakteriya koloniyasining qattiq hamda suyuq oziqa muhitlarda o'sishi kiradi.

**Bakteriyalarning qattiq oziqli muhitlarda o'sishi.** Qattiq oziqli muhitlarda o'sgan bakteriyalar koloniyalarining katta-kichikligi o'lchami, shakli, rangi, qattiq-yumshoqligi (konsistensiyasi), chetlarining konturi, yuzasining xarakteri va tuzilishi (24-rasm) bilan bir-biridan farq qiladi.

6-jadval

### **Zich muhitda o'sgan bakteriya kultural va tinktorial xususiyatlari bo'yicha bayonnoma shakli**

Paologik material va ekilgan oziqli muhit	Koloniya raqami	Gram bo'yicha bo'yalishi	O'lchami	Shakli	Rangi	Yuzasi	Konsistensiyasi	Tarkibi	Qirradi	Koloniyalar tipi (S. R., M.)	Ajratib olingan kultura

**Kattaligi bo'yicha** koloniyalar yirik (diametri 4-5 mm, sarsinlar, ko'proq zamburug'lar hosil qiladi), o'rtacha (2-4 mm, ichak guruhi bakteriyalari E.coli, S. typhi) va mayda (1-2 mm, Bordetella pertussis), mayda koloniyalarni mikroskop ostida (MB-1) yoki kattalashtirib ko'rsatuvchi lupa yordamida ko'rish mumkin.

**Shakliga ko'ra** yumaloq, rozetkasimon, duksimon, tolali, o'zgaruvchan barg shaklida bo'lishi mumkin.

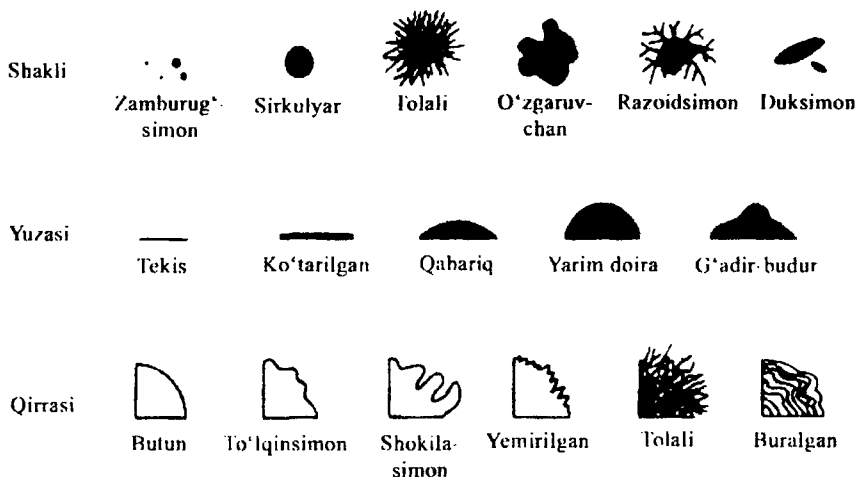
**Koloniyalarning rangi** ishlab chiqarilayotgan oq, sariq, qizil va boshqa pigmentlarga bog'liq. Pigment ajratmaydigan bakteriyalarning koloniyasi rangsiz bo'ladi.

**Konsistensiyasi.** Qattiq-yumshoqligi, asosan bakteriologik qovuzloq bilan olinganda o'rganiladi. Koloniyalar bu jihatidan quruq (Sil qo'zg'atuvchisi), nam (protey bakteriyalari), cho'ziluvchan (kapsula hosil qiluvchi bakteriyalar – Klebsiyella), yengil olinuvchi yumshoq pastasimon (kokklar: stafilokokk, sarsinlar, tetrakokklar) bo'lishi mumkin.

**Koloniyalarning yuzasi** (sathi) – tekis silliq, ko'tarilgan, qabariq, burishgan, chizilgan, yassi, biroz ko'tarilgan, botgan bo'ladi.

**Koloniyaning qirralari** (cheti konturi) – tekis butun, to'lqinsimon, shokilasimon, yemirilgan, tolali, buralgan bo'ladi.

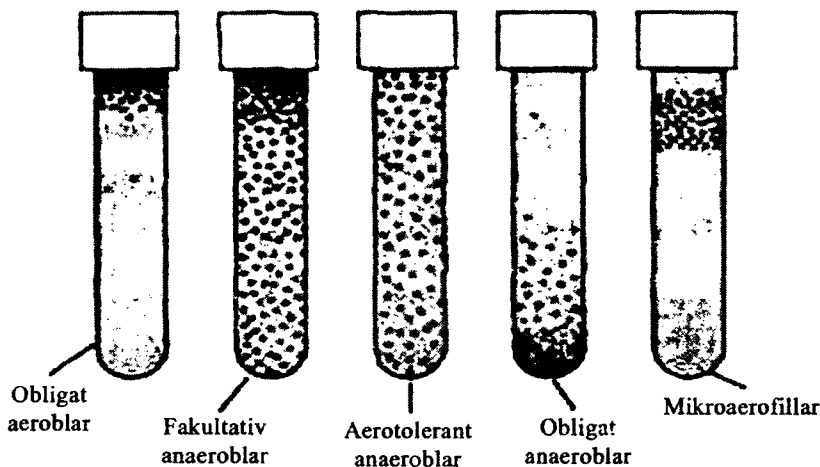
**Koloniyalarning tarkibi** (ichki tuzilishi)- amorfli, donali, pastasimon, tolasimon qiyin agardan ajraluvchi bo'lishi mumkin.



24-rasm. Turli bakteriyalar hosil qiluvchi koloniyalarning shakli, yuzasi va qirralari ko'rinishi

Bakteriyalarning koloniyalarini o'rganish muhim amaliy ahamiyatga ega bo'lib, bakteriyalarni birlamchi saralashda qo'llaniladi. Amaliyotda koloniyalarni bir necha tipda, umumiy nomlar bilan atash qabul qilingan. Masalan, koloniyalar silliq, dumaloq shaklda, qirralari tekis, yuzasi silliq, yaltiroq, bir jinsli bo'lsa, S-koloniyalar deb ataladi (inglizcha smooth – silliq degan so'zdan olingan). Boshqa koloniyalar g'adir-budir, xira, qirralari notekis, shakli noto'g'ri, quruq bo'lishi mumkin. Bunday koloniyalarni R-koloniyalar deb (inglizcha rooth – g'adir-budir degan so'zdan olingan) ataladi. Bundan tashqari, koloniyalarning oraliq shakllari ham uchraydi: shilimshiq (M-shakllar) yoki mitti (G-shakllar) shular jumlasidandir.

**Bakteriyalarning suyuq oziq muhitlarda o'sishi.** Suyuq oziqli muhitda bakteriyalar o'sganda ham ular ayrim turlarga xos ko'rinishlarda o'sadi va kultural jihatdan bir-birlaridan farq qiladi. Ko'pchilik bakteriyalar suyuq bulyonlarda o'sganda uni loyqatib o'sadi (ichak guruhi bakteriyalari ichak tayoqchasi, klebsiyella), ba'zilar esa muhitni yuzasida yupqa parda (vabo vibrioni), qalin parda hosil qilib (sil, o'lat qo'zg'atuvchisi) o'sadi, boshqa birlari esa probirka tagida ipir-ipir cho'kma hosil qilib (kuydirgi qo'zg'atuvchisi) yoki probirkani devori bo'ylab o'sishi mumkin (piogen streptokokk). Bundan tashqari, bakteriyalarning suyuq muhitlarda o'sishi ularning nafas olish tiplariga ham bog'liqdir (25-rasm). Obligat aeroblar muhitning eng ustki yuzasida,



25-rasm. Suyuq oziqli muhitlarda bakteriyalarning o'sishi, ularning nafas olish tiplariga bog'liqligi

kislorodga yaqin joyda, fakultativ anaeroblar muhitning hamma qismida, lekin ko'proq yuzasida, aerotolerantlar muhitda bir xil tarqalib ko'paysa, qat'iy anaeroblar muhitning tagida va mikroaerofillar esa muhitning yuzasiga yaqin qismida o'sadi.

### **Laboratoriya ishini bajarish**

1. Sedimentatsion usulda ekilgan havo ekmasi natijalarini qayd qilish:

- zich muhitda o'sgan mikroblarning kultural xususiyatlarini o'rganish (koloniyalarini o'lchash, shakli, yuzasi, qirralari, rangi, konsistensiyasi, tarkibi, reliefi va boshqa xususiyatlari);

- o'rganilgan mikroblar koloniyalaridan surtma tayyorlab Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish, daftarga rasmini chizish (morfologiyasini o'rganish uchun);

- toza kultura ajratib olish maqsadida, shubhali koloniyadan olib GP qiyshiq agarga ekish.

2. TSTAgA ekilgan yiring ekmasini natijalash:

- TSTAgA ekilgan ekmani kultural xususiyatini o'rganish (koloniyalarini o'lchash, shakli, yuzasi, qirralari, rangi, konsistensiyasi, tarkibi, reliefi va boshqa xususiyatlari);

- morfologiyasini o'rganish uchun, o'rganilgan koloniyadan surtma tayyorlash, Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish, daftarga tasvirini tushirish;

- TSTA o'sgan mikroorganizmlarning toza kultasini ajratib olish uchun qiyshiq GPAgA ekish.

3. Endo muhitiga najas ekilgan ekmani kultural xususiyatlarini natijalash.

- Endo muhitiga najas ekilgan ekmani kultural xususiyatlarini o'rganish (koloniyalarini o'lchash, shakli yuzasi, qirralari, rangi, konsistensiyasi, tarkibi, reliefi va boshqa xususiyatlari);

- morfologiyasini o'rganish, surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish, rasmini daftarga chizish;

- shubhali koloniyalardan 3-qandli muhitga ekish (fermentativ xususiyatini o'rganish uchun).

4. Anaerob bakteriyalarni ajratib olish maqsadida tuproqdan Kitt-Tarotsi muhitiga ekish.

- o'rganilgan kulturani tinktorial, morfologik va muhitda o'sish xususiyatlari va 4-jadvalda ko'rsatilganlarga asoslanib, o'tkazilgan tekshiruvlar bo'yicha protokol tuzish.

## **7-MAVZU. ANAEROB BAKTERIYALARNING SOF KULTURASINI AJRATISH. MIKROORGANIZMLARNING HAYOT FAOLIYATI MAHSULOTLARINING (PIGMENTLAR, FERMENTLAR, TOKSINLAR VA BOSHQ.) IDENTIFIKATSIYADA QO‘LLANILISHI**

### **Mashg‘ulot rejasi**

1. Anaerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratib olish.
2. Bakteriyalarning avlodi, turi va tiplarini aniqlashdagi identifikatsiyalash usullari.

### **Namoyish qilish**

1. Turli bakteriyalarni biokimyoviy saxarolitik xususiyatlarini (Kliger, ola-chipor qatorlar) ko‘rish.
2. Bakteriyalarning proteolitik (indol, vodorod sulfid, ammiak, jelatinaning yemirishi) xususiyatlarini ko‘rish.
3. Anaerob kulturalarini o‘stirishda foydalaniladigan oziqli muhitlar, asboblari, anaerobioz hosil qiluvchi paket.
4. Anaerob bakteriyalarining sof kulturasini ajratib olish usuli.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

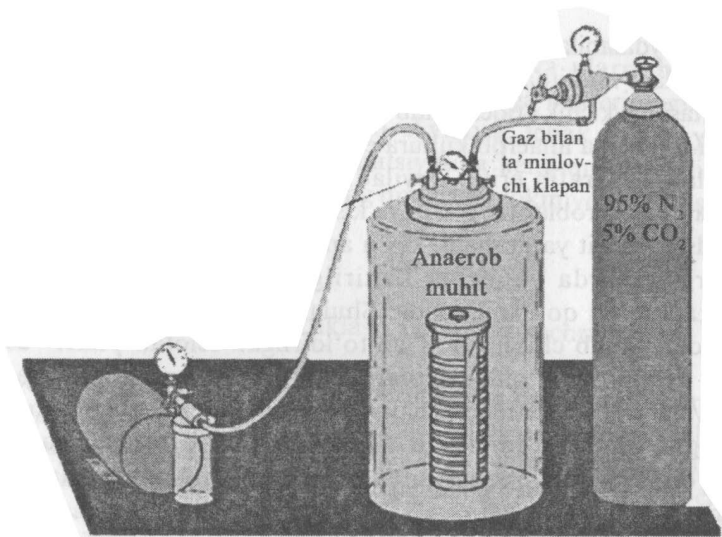
1. Havodan, yiringdan, najasdan ajratib olingan kulturani morfologik, tinktorial, o‘shish xususiyatlari va biokimyoviy xususiyatlarini o‘rganish va jadvalda ko‘rsatilganiga asoslanib, o‘tkazilgan tekshiruv bo‘yicha protokol tuzish.
2. Anaerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratib olish bo‘yicha protokol tuzish.

## **Uslubiy ko‘rsatmalar**

Anaerob bakteriyalarni ajratib olish mohiyati havoda yoki oziqli muhitdagi kislorodni porsial miqdorini anaeroblar uchun kamaytirishga qaratilgan bo‘lib, buni bir necha usullarda amalga oshirish mumkin.

1. **Anaerob kulturani ukol usulida ekish** eng oddiy usullardan biri hisoblanadi. Baland quyilgan probirkadagi (stolbik) qandli agarga material ukol qilib ekiladi. Stolbikni pastki qismida anaeroblar o‘shishi mumkin.

2. **Muhitlarga kislorodni reduksiyaga (retsudiruyushix) uchratuvchi moddalar qo‘shish bilan ajratib olish.** Ko‘pincha Kitt-Tarotsi muhitidan foydalaniladi, muhitning tarkibi: go‘shli bulyon, 0,5 % glyukoza va yangi jigar bo‘lakchasi solib, muhit yuzasiga vazelin moyi quyib qo‘yiladi. Muhitni tayyorlash davrida GPB qaynatiladi, ya‘ni kislorod chiqarilib yuboriladi, muhitda qolgan kislorodni 0,5 % glyukoza va jigar bo‘lakchasi reduksiyaga uchratadi va muhitda anaerobioz holati vujudga keladi. Muhit yuzasiga quyilgan moy kislorodni o‘tkazmaydi.



26-rasm. Gazlar aralashmasi manbasi yordamida anaerob sharoit yaratish

**3. Mexanik ravishda kislorodsiz sharoit yaratish.** Buning uchun maxsus asboblardan anaerostat, mikroanaerostatlardan foydalaniladi.

Mikroanaerostatlarda hozirgi kunda kislorodli sharoit yaratishda bir necha usullar qo'llaniladi. Birinchi usulda anaerob kulturali chashkalar qo'yilgan mikroanaerostatga gaz chiqaruvchi maxsus paket qo'yiladi (2-rasm).

Ikkinchi usulda anaerostatdagi kislorod vakuum nasos bilan so'rib olinadi va boshqa gazlar bilan to'ldiriladi (26-rasm).

Yuqorida keltirilgan usullarda kislorod o'rniga indifferent gazlar almashtiriladi. Indifferent gaz sifatida ko'pincha vodorod, karbonat anhidriddan foydalaniladi.

**4. Kimyoviy usul.** Bu usulning mohiyati shundan iboratki, havodagi kislorodni kimyoviy moddalar yordamida shimib olishga asoslangan. Laboratoriya sharoitida ko'pincha bu usulda shisha eksikatoridan foydalaniladi. Shisha eksikatorning tagiga kislorodni shimib oluvchi ishqor yoki pirogol (10 % eritmasi) olinadi. Uning ustiga maxsus chinni moslama qo'yiladi va uning ustiga anaerob bakteriyalar ekilgan Petri kosachalari o'rnatiladi. Eksikatorning qopqog'iga vazelin moyi surkab yaxshilab berkitiladi. Pirogol yoki ishqor eritmasi kislorodni shimib shisha eksikatorda anaerob sharoit yaratadi.

**5. Biologik usul.** Bu usulning mohiyati, aerob va anaerob bakteriyalarni birgalikda ekib, anaerob sharoit yaratishga asoslangan. Ko'pincha Fortner

usulidan foydalaniladi. Buning uchun qalin qilib qonli agar quyilgan Petri kosachasidagi muhitdan foydalaniladi. Qizdirib sterillangan pinset bilan agar o'rtasidan kichik ariqcha qilib ikkiga bo'linadi va bir tomoniga ayerob, ikkinchi tomoniga anaerob kultura ekiladi. Kosacha aylantirilib qopqog'i chekkalariga parafin eritib quyiladi va termostatga qo'yiladi. Oziqli muhitda oldin aeroblar tez o'sadi va kislorodni o'zlashtiradi, anaeroblarga kislorodsiz sharoit yaratishadi, keyin anaeroblar o'sa boshlaydi.

Oxirgi yillarda yuqorida keltirilgan usullarning juda ko'plab modifikatsiyalari qo'llanilmoqda. Shulardan biri kafedramiz xodimlari tomonidan ishlab chiqilgan "Gaz to'ldirilgan selofan paket" usulidir. Buning uchun oddiy qalin selofan paket olinib, uning ichiga anaerob bakteriyalar ekilgan Petri kosachalari qo'yiladi va rezina shlang yordamida tabiiy gaz bilan to'ldiriladi. Paket yaxshilab burab, gaz chiqib ketmaydigan qilib, rezina bilan boylanadi. Bu sharoitda anaerob bakteriyalar yaxshi o'sadi.

### **Anaerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratish**

Anaerob mikroflorani ajratish ham bir necha bosqichlardan iboratdir.

**Birinchi kun.** Tekshirilayotgan material (tuproq, yiring va boshq.) Kitt-Tarotsi muhitiga bakteriologik qovuzloq yordamida ekiladi. Spora hosil qiluvchi (klostridiyalar) batsillalarni ajratishda material ekilgan Kitt-Tarotsi muhiti suv hammomida 20 daqiqa 80°C da qo'shimcha bakteriyalarning vegetativ shaklini yo'qotish uchun ushlab turiladi. Spora hosil qilmaydigan anaeroblarni (bakterioid, peptostreptokokklar, peptokokklar) qat'iy anaerob sharoitlarda yuqorida keltirilgan usullarning birini qo'llash bilan ajratib olinadi.

**Ikkinchi kun.** Kitt-Tarotsi muhitiga ekilgan ekmada anaeroblar muhitni loyqalantirib o'sadi, ba'zida gaz pufakchalari ham ko'rinishi mumkin. Muhitdan surtma tayyorlanadi va Gram usulda bo'yab, mikroskopda ko'riladi. Surtmada o'lchami katta tayoqcha shaklidagi bakteriyalarning sporali va sporasiz shakllari topilsa, taxminiy tashxis qilish mumkin. Toza kulturasini ajratib olish uchun QA yoki maxsus muhitlarga ekilib, aeroblar singari sof kulturasini ajratib olinadi. Aroblardan farqi hamma o'rganilishi zarur bo'lgan xususiyatlarini anaerob sharoitda amalga oshiriladi.

### **Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini differensial-diagnostik maqsadda o'rganish**

Bakteriyalarning biokimyoviy faolligi turli darajada bo'lib, ular tarkibidagi fermentlariga bog'liqdir. Bakteriologik amaliyotda bakteriyalarning fermentativ xususiyatlarini aniqlash muhim ahamiyatga



ega bo'lib, bakteriya turlarini ajratib olishda va ularni bir-biridan farqlashda va yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilariga bakteriologik tashxis qo'yishda asosiy vosita deb qaraladi. Ayniqsa, ichak guruhi yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilarini identifikatsiyasida keng qo'llaniladi.

Bakteriyalarni saralashda ularning quyidagi biokimyoviy xususiyatlari o'rganiladi:

- 1) uglevodlarni parchalashi;
- 2) oqsillarni parchalashi;
- 3) bo'yoqlarni reduksiyaga (tiklash xususiyati) uchratishi.

**Uglevodlarni parchalashi.** Mikroorganizmlarning uglevodlarni parchalash xususiyatini aniqlash uchun qisqa va uzun «ola-chipor» qatordan foydalaniladi. Qisqa qatorga suyuq mono- va disaxaridli Giss muhiti: glyukoza, laktoza, saxaroza, maltoza va olti atomli spirt-mannitlar kiradi. Uzun «ola-chipor» qatorga ko'rsatilgan uglevodlar bilan bir qatorda, yana turli xil monosaxaridli (arabinoza, ksiloza, ramnoza, galaktoza va boshqalar), polisaxaridli (inulin, kraxmal, glikogen va boshqalar) va spirtli (glitserin, dulsit, inozit va boshqalar) muhitlar kiritiladi. Indikator sifatida barcha muhitga Andrede yoki VR reaktivi qo'shiladi.

Tekshirilayotgan mikrobnig sof kulturasini qovuzloq orqali «ola-chipor» qatorli muhitga ekiladi. Ekilgan probirkalar 37°C da termostatga 18-24 soat yoki uzoqroq vaqtga qo'yiladi. Agar bakteriyalar uglevodni kislorod ishtirokida parchalasa, oraliq mahsulot sifatida aldegidlar, kislotalar va gazsimon moddalar ( $SO_2$ ,  $N_2$ ,  $SN_2$ ) hosil bo'ladi. Fakultativ va qat'iy anaeroblar esa uglevodlarni bijg'itadi, buning natijasida turli bijg'ish mahsulotlari hosil ( moy kislotasi, sut kislotasi, chumoli kislotasi va spirtlar) bo'ladi. Bakteriyalar uglevodlarni parchalashi oqibatida hosil bo'lgan oraliq mahsulotlar muhitning Ph ni o'zgartiradi, bu o'z navbatida indikatorli muhit rangini o'zgartiradi, agar uglevodni kislota va gazsimon mahsulotlar hosil bo'lguncha parchalasa, muhitning rangi o'zgarishi bilan bir qatorda, po'kakda (suyuq muhitlarda) gaz pufakchalari paydo bo'ladi. Agar yarim suyuq agarli muhitdan foydalanilsa, gaz hosil bo'lganligini ustunchaning yorilishi orqali aniqlash mumkin (27-rangli rasm). Uglevodlar parchalanmasa, muhitning rangi o'zgarmay qoladi. Chunki bakteriyalar hamma qo'llanilgan uglevodlarni parchalamaydi, balki har bir tur o'ziga xos bo'lgan uglevodni (Giss, Kliger muhiti) parchalaydi. Natijada, har xil rangda parchalangan uglevodli indikatorli muhit hosil bo'ladi, bu esa «ola-chipor» qator deb ataladi.

**Oqsillarni parchalashi.** Proteolitik fermentlarni aniqlash uchun bakteriya kulturasini sanchib, 10-20% jelatin ustuniga yoki go'sht peptonli bulyonga ekiladi. Jelatinga ekilgan material 20-22°C bir necha kun davomida termostatda saqlanadi. Agar proteolitik ferment bo'lsa, bakteriyalar jelatinni suyultiradi va shu yerda voronkaga (vabo vibrioni) yoki to'ntarilgan archaga o'xshash

(kuydirgi qo'zg'atuvchisi) yuqoridan pastga qarab qavatma-qavat (ko'k yashil yiring hosil qiluvchi tayoqcha) yemiradi.

GPB yoki peptonli suvga ekilgan bakteriyalar 37°C li termostatda 1-3 kun inkubatsiya qilingach, peptonning parchalanishi natijasida hosil bo'lgan mahsulotlarni aniqlash uchun (ammiak, indol,  $H_2S$ ) reaksiyalar qo'yiladi.

**Ammiak uchun reaksiya.** Lakmus qog'ozining ensiz tasma-sini oziqli muhitga tegmaydigan qilib probkaning yoniga yaxshilab joylashtiriladi. Qog'ozning ko'k rangga aylanishi ammiak borligini ko'rsatadi.

**Indol uchun reaksiya.** Erlix usuli: bakteriya kulturasi bo'lgan probirkaga 2-3 ml efir qo'shiladi, yaxshilab aralashtiriladi va bir necha tomchi Erlix reaktivi (paradimetilamidobenzaldegidning spirtli eritmasi vodorod xlorid kislota bilan) tomiziladi. Indol ta'sirida pushti rangga bo'yalganligi kuzatiladi, asta-sekin tomizilsa pushti rangli halqa hosil bo'ladi. Amaliyotda ko'proq indol hosil bo'lishini shavel kislotasi shimdirilgan filtr qog'oz tasma-si yordamida aniqlanadi. Mikro-b kulturasi ekilgan GPB ga shavel kislotasi shimdirilgan filtr qog'ozning ensiz tasma-sini oziqli muhitga tegmaydigan qilib yaxshilab joylashtiriladi. Aminokislota triftofan parchalanishi natijasida hosil bo'lgan indol shavel kislotasi shimdirilgan filtr qog'ozini qizil pushti rangga kiritadi.

**Vodorod sulfid uchun reaksiya.** Bakteriya kulturasi sanchib oziq muhit ustunchasiga ekiladi. Oziq muhit tarkibida  $H_2S$  ni aniqlash uchun zarur bo'lgan tuzlar aralashmasi: temir sulfati, natriy tiosulfati, natriy sulfid kiradi. Agar  $H_2S$  hosil bo'lsa, agar qorayadi. Vodorod sulfid hosil bo'lishini qo'rg'oshin atsetati shimdirilgan filtr qog'oz yordamida ham aniqlash mumkin. Qo'rg'oshin atsetati shimdirilgan qog'oz  $H_2S$  hosil bo'lsa, qorayadi.

**Katalazani aniqlash.** Buyum oynachasiga 1-3% li vodorod peroksidi eritmasidan bir tomchi tomiziladi va uning ustiga qovuzloq bilan bakteriya kulturasi qo'shiladi. Katalaza vodorod peroksidini  $H_2O$  va  $O_2$  ga parchalaydi. Kislorod pufakchalarining ajralishi shu turdagi bakteriyada katalaza fermenti



28-rasm. Katalaza faolligini aniqlovchi sinama. O'ngda stafilokokk musbat reaksiya; chapda streptokokk manfiy reaksiya

borligini ko'rsatadi (28-rasm).

**Oksidazani aniqlash.** Fenilendiamin shimdirilgan qog'ozli diskga mikro-b kulturasi tomiziladi. Agar oksidaza bo'lsa, fenilendiaminni oksidlaydi va qog'oz ko'k rangga kiradi.

**Ureaza testi.** Ureaza musbat bakteriyalar mochevinani ammoniy hosil qilib parchalaydi va fenol qizil indikatorini tutgan muhit qizaradi. Asosan enterobakteriyalardan Proteus, Klebsiella, Yersinia avlodi

vakillari hosil qiladi, boshqa enterobakteriya avlodi vakillaridan ularni farqlashda qo'llaniladi

**Xyu –Leyfson testi.** Bakteriyalar glyukozani ikki usulda ( oksidlash va fermentatsiya) parchalaydi. Bakteriyalarni bu xususiyatini aniqlash uchun glyukoza tutuvchi oziqli muhitga aerob va anaerob sharoitda ekiladi. Glyukozani oksidlab parchalovchi bakteriyalar anaerob sharoitda glyukozani parchalamaydi. Fermentatsiyalab parchalovchi bakteriyalar esa anaerob sharoitda glyukozani parchalaydi. Masalan, ko'k yashil yiring hosil qiluvchi bakteriyalar glyukozani oksidlab, ichak tayoqchasi esa fermentatsiya qilib parchalaydi.

#### **Bo'yoqlarni reduksiyaga (tiklash xususiyati) uchratishi**

Ba'zi bakteriyalar organik bo'yoqlarni reduksiyaga uchratish xususiyatiga ega bo'lib, ularni rangsiz moddalarga aylantiradi. Bunday organik bo'yoqlarga metilen ko'ki, tionin, lakmus, indigokarmin va neytral qizil va bosh. kiradi. Bakteriyalarning bu xususiyatini aniqlash identifikatsiyada keng qo'llaniladi. Masalan, metilen ko'ki qo'shilgan sutli agarda patogen streptokokkni enterokokklardan farqlashda ishlatiladi. Piogen streptokokk metilen ko'kini reduksiyaga uchratmaydi, shuning uchun muhit rangi o'zgarmaydi. Enterokokklar esa metilen ko'kini reduksiyaga uchratib, muhitni oq rangga kiritadi.

**Mikroblar pigmenti.** Ba'zi mikroorganizmlar (bakteriyalar, zamburug'lar) bo'yovchi moddalar **pigmentlar** hosil qiladi va bakteriyalar koloniyasini turli ranglarga bo'yaydi. Bakteriyalar pigmentlarni hujayra ichida hosil qilishi yoki tashqariga ishlab chiqarib, oziq muhitni bo'yashi mumkin. Pigmentlar erishiga qarab-suvda, spirtida va efirda eruvchi pigmentlarga bo'linadi. Suvda eruvchi pigmentlarga ko'k yashil pigment (piotsianin *Ps. aerugenosa* ishlab chiqaradi) kiradi.

2. Suvda erimaydigan, lekin spirtida eruvchi pigmentlar (masalan, prodigiozin-qizil pigment (*V.prodigiousum*, sartsinlar ishlab chiqaradi).

3. Suvda ham, spirtida ham erimaydigan, lekin efirda eriydigan, bunday pigmentlarga qora rangli pigmentlar kiradi (zamburug'lar ishlab chiqaradi).

Bakteriyalar pigmentlarni faqat kislorod ishtirokida hosil qiladi, bundan tashqari pigment hosil bo'lishi oziq muhitning tarkibiga, harorat va boshqa omillarga bog'liq bo'ladi.



### Ajratib olingan sof kulturaning morfologik va fiziologik belgilari bo'yicha identifikatsiya natijalari (protokol ko'rinishida)

Shtamm №	Morfolo-giyasi	Bo'yali-shi (Gram va boshqa usullar da)	O'sish xarakteri		Biokimyoviy xususiyatlari						Kultura avlodi yoki turi-ning nomi		
			Zich agarda (koloniyasi)		Parchalash				Hosil qilish				
			S	R	Bulonda	glyukoza	laktoza	saxaroza	mannit	indol		H <sub>2</sub> S	plazmokogulaza

#### Mikrob zaharlari

Ko'pchilik patogen bakteriyalar o'zlarining hayot faoliyatlarida o'ziga xos bo'lgan zaharli moddalar ishlab chiqaradi. Bular umumiy nom bilan "mikrob zaharlari" (toksin) deb nomlanadi. Mikrob zaharlari yuqumli kasalliklar jarayonida muhim ahamiyatga ega bo'lib, ular kasallikning klinik belgilari (yengil, og'ir o'tishi yoki o'lim bilan tugashi) va kasallikning kechishini belgilab beradi. Keyingi yillarda mikrob zaharlari tabiatiga qarab ikki guruhga bo'linmoqda.

1. Oqsil tabiatli toksinlar.
2. Lipopolisaxarid tabiatli toksinlar.

Oqsil tabiatli toksinlar (ekzotoksinlar) mikroblar tomonidan ishlab chiqariladi, tur belgisi hisoblanadi, bu xususiyat avloddan avlodga o'tadi va bu xususiyatni bakteriya genomi boshqarib turadi. Bakteriyalarning ekzotoksinlari sintezini plazmidlar va mo'tadil faglar ham (genetika bo'limiga qaralsin) boshqarib turadi. Shuning uchun ba'zi bir bakteriyalarning toksigen va toksigen bo'lmagan shtammlari (bo'g'ma qo'zg'atuvchisi) uchraydi.

Lipopolisaxarid tabiatli toksinlar (endotoksinlar). Asosan grammanfiy bakteriyalarda uchraydi. Bakteriyalar hujayra qobig'ining tarkibi hisoblanadi. Endotoksinlar tashqi muhitga faqat hujayra o'lib, parchalanganda ajralib chiqadi (Mikrob zaharlari to'g'risidagi to'liq ma'lumot yuqumli kasalliklar bo'limida berilgan).

#### Laboratoriya ishini bajarish

1. Tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agardan ajratib olingan bakteriya shtammini virulentlik xususiyatini aniqlash.



29-rasm. Plazmakoagulaza faolligini aniqlovchi sinama.

Yuqorida – manfiy; pastda – musbat reaksiya

Birinchi probirkani kontrol uchun (K), ikkinchi probirkani tajriba uchun (T) deb yozib qo'yiladi. Birinchi probirkaga plazmokoagulaza musbat stafilokokk kulturasidan qovuzloq yordamida material olinib, probirkadagi suyultirilgan plazmaga aralashiriladi. Ikkinchi tajriba probirkasiga tekshirilayotgan bakteriya kulturasidan aralashiriladi. Har ikkala probirka ham termostatga 6-8 soatga qo'yiladi. Tekshirilayotgan kultura plazmokoagulaza faolligiga ega bo'lsa, quyon plazmasini ivitib qotirib qo'yadi (29-rasm).

**Bakteriyalarning gemolitik toksinini aniqlash.** Bakteriyalarning bu xususiyatlarini aniqlashda 5 - 10% fibrinsizlantirilgan qon qo'shilgan agardan foydalaniladi. Qonli agar ko'pchilik bakteriyalar uchun juda yaxshi universal muhit bo'lib, amaliyotda keng qo'llaniladi. Gemolitik xususiyatli bakteriyalar koloniyasi atrofida yaqqol ko'zga tashlanuvchi gemoliz zonasi paydo bo'ladi. Bakteriyalarning gemolitik xususiyati ularning virulentlik belgilari hisoblanadi, amaliy ahamiyatga ega.

2. Endo muhitidan 3 qandli muhitga ekilgan ekmaning biokimyoviy xususiyatlarini (27-rangli rasm) natijalash va jadvalda ko'rsatilganiga asoslanib o'tkazilgan tekshiruv bo'yicha protokol tuzish.

## 8-MAVZU. UMUMIY VIRUSOLOGIYA. VIRUSLARNI KO'PAYTIRISH USULLARI. VIRUSLI YUQUQLI KASALLIKLARGA TASHXIS QO'YISH. BAKTERIOFAGLAR

### Mashg'ulot rejası

1. Turli viruslar va faglarning morfologiyasi, ultra tuzilishini o'rganish.
2. Viruslarni hujayra kulturasida, tovuq embrionida va laboratoriya hayvonlari organizmida o'stirish.

3. Viruslarni hujayra kulturasi va tovuq embrionida aniqlash (indikatsiya) usullari.
4. Viruslarni identifikatsiya qilish usullari.
5. Tashqi muhit obyektlaridan faglarni ajratib olish usullari.
6. Faglarni aniqlash (indikatsiya) usullari.
7. Gratsiya usuli bo'yicha fagni titrlash.

### **Namoyish qilish**

1. Virusologik amaliyotda ishlatiladigan idishlar, asboblari (hujayra kulturasi o'stirish uchun shisha idishlar, matras, ovoskop, avtomatik titrlashda qo'llaniladigan pipetkalar, planshetkalar).
2. Chechak vaktsinasi virusining Morozov usuli bilan bo'yalgan preparatlari.
3. Viruslar saqlanishini ta'minlaydigan va ko'paytirishda qo'llaniladigan oziq (199, Iгла, Xenks, Gidrolizat va bosh.) muhitlar.
4. Oddiy va murakkab virionlar tuzilishini sxema va elektron-mikroskopik fotosuratlarini, rangli surat, slaydlar.
5. Birlamchi hujayra kulturasi va ularning tayyorlash bosqichlarining sxemasi.
6. 10-12 kunlik tovuq embrioni va unga patologik materiallarni yuqtirish usullari.
7. Viruslarni indikatsiya va identifikatsiya qilish usullari.
8. Tashqi muhit obyektlaridan faglarni ajratib olish usullari.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Hujayra kulturasi va tovuq embrionida viruslar reproduksiyasini aniqlash (indikatsiya).
  - a) viruslarning hujayraga sitopatik ta'siri bo'yicha.
  - b) gemaglyutinatsiya reaksiyasi yordamida.
2. Rinotsitoskopik usulda bosma surtma tayyorlab, bo'yab ko'rish.
3. Stafilokokk kulturasi fagotipini aniqlash.

## **Viruslar morfologiyasi va ultra-struktura tuzilishi**

Mikroblar olamiga hujayra tuzilishiga ega bo'lgan prokariot va eukariotlardan tashqari hujayra tuzilish shakliga ega bo'lmagan patogen agentlar ham kiritilgan. Bularga quyidagilar kiradi:

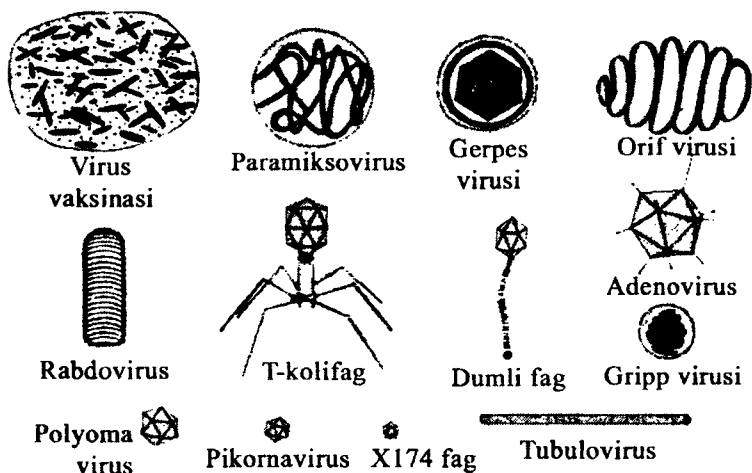
1. Prionlar.
2. Virioidlar.
3. Viruslar.

**Prionlar** (ing.so'z proeinaceous infectious partict – oqsilsimon yuqumli bo'lakcha). Hujayrada normal prion oqsil strukturasi bo'lib (PrP<sup>c</sup> –celluar prion protein) tarkibida nuklein kislota tutmaydi. Normal prion oqsili nukleazlarga rezistent bo'ladi, lekin proteaz fermentlar ta'sirida

inaktivatsiyaga uchraydi. Ularni issiq qonli organizmlardagi (odamda) 20 xromosoma tarkibidagi prion genomi tomonidan kodlashtirilib, boshqarilib turadi. Uzoq davom etuvchi mutatsiya ta'sirida PrR<sup>c</sup> gen va Pr R<sup>sc</sup> ishtirokida transformatsiyalanib (PrR<sup>c</sup>), normal prion oqsildan proteaz fermentlarga chidamli PrR<sup>sc</sup> (scrapie prion protein) patogen agentga aylanadi. Prion oqsillari boshlang'ich yuqumli agent sifatida (skrepi) tovuqlardan (Kroyttsfeldt-Yakoba kasalligi), katta shoxli qoramollardan (spongi ko'rinishdagi ensefalopatiya – sigir qutirishi kasalligi) ajratib olingan.

Viruslar esa hozirgi kundagi tasnifiga asosan vira (Vira) podsholigiga kiritilgan. Viruslar o'ta mayda organizmlar bo'lib, ularda hujayra tuzilishi va oqsil sintez qiluvchi tizimi shakllanmagan. Tarkibida bitta tipdagi nuklein kislotasi tutadi (RNK yoki DNK). Qat'iy obligat hujayra ichida ko'payuvchi parazitlar hisoblanib, parazitligini genetik darajada amalga oshiradi. Shuning uchun viruslarni genetik parazitlar ham deb atashadi.

Viruslar avtonom genetik strukturalar bo'lib, faqat ularga xos bo'lgan bir-biridan ajralgan (disyunktiv) usul bilan ko'payadi, ya'ni virusni nuklein kislotasi hujayrada alohida sintez bo'lsa, uning oqsillari boshqa joyda sintez bo'ladi, keyin ular har bir virus tiplariga xos bo'lgan joyda (yadroda, yadro membranasida, sitoplazma strukturalarida yoki sitoplazmatik membranada) yig'iladi. Ularning yig'ilishida nuklein kislotasi oqsilni tanishi, oqsil-oqsilni tanishi prinsiplari yotadi. Viruslarning



30-rasm. Viruslarning qiyosiy o'lchamlari



hujayradan tashqaridagi shaklini *virion*, hujayra ichidagi shaklini esa *virus* deb yuritiladi.

Viruslarning morfologik va ultrastrukturasi elektron mikroskop yordamida o'rganiladi. Virionlar o'lchami jihatidan mayda (22-30 nm poliomiyelit), o'rta (80-120 nm gripp), katta o'lchamda (200-350 nm chinchechak) bo'lishi mumkin. Virionlarning shakli ham (30-rasm) turli ko'rinishlarda uchraydi. Shakli tayoqchasimon (tamaki bargi virusi), o'qsimon (qutirish virusi), sharsimon (gripp, paragripp, gepatit B viruslari), ipsimon (flaviviruslar), kuboidal (chinchechak, ospa vaksina) spermatozoidsimon (bakteriofaglar) bo'lishi mumkin.

Viruslar genomi gaploid ko'rinishda bo'lib, bir tipdagi nuklein kislotadan (DNK yoki RNK) iborat, lekin retroviruslarda diploidli genom uchraydi. Virus genomi oltitadan bir necha yuz genlar tutishi mumkin va ularning nuklein kislotalari – ikki ipli, bir ipli, chiziqli (lineyni), halqasimon va fragmentlangan bo'lishi mumkin.

RNK saqlovchi viruslarda faqat musbat ipli (+RNK) genom tutuvchi viruslar uchrab, infeksiyon virus deb ham ataladi. Bu viruslarda transkripsiya kuzatilmaydi, virusning RNK si bir vaqtning o'zida informatsion (iRNK) vazifasini ham bajaradi.

Manfiy ipli RNK tutuvchi viruslarda esa RNK genomi faqat nasliy funksiyani bajaradi.

Virionlar tuzilishi jihatidan oddiy (yalang'och) va murakkab (kiyingan) viruslarga bo'linadi. Oddiy viruslarga (shol, gepatit A), murakkab viruslarga (qizamiq, OITV, gepatit B) kiradi.

Oddiy virionlar nuklein kislota va uni zich o'rab turgan oqsil qobig'i – kapsiddan iborat («capsa» lotincha so'z bo'lib, g'ilof demakdir). Virionlarning kapsidlari o'z navbatida ketma-ket keluvchi subbirliklardan iborat bo'lib, ularni kapsomerlar deb ataladi (31-rasm). Kapsomerlarni elektron mikroskopda ko'rish mumkin, har bir virionlar oilasi uchun kapsomerlarning soni ularga xos hisoblanadi. Masalan, adenoviruslar 252 ta, pikornoviruslar 60 ta kapsomerlar tutadi. Nuklein kislotasi va kapsomer o'zaro birikib, virus nukleokapsidini hosil qiladi.

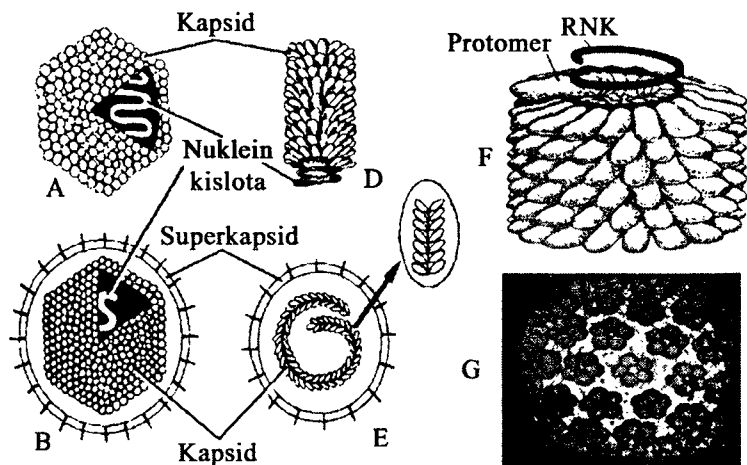
Murakkab virionlarning nukleokapsidi tashqi tomondan lipoproteinli qobiq bilan o'ralgan bo'lib, superkapsid yoki peplos deb nomlanadi (31-rasm). Superkapsid tarkibida oqsillardan tashqari, yog' va uglevodlar lipo=, glikoproteinlar ko'rinishida uchraydi. Ba'zi viruslarda glikoproteinlar superkapsid tarkibida tikanak ko'rinishida (gripp, paragripp viruslarda) bo'lishi mumkin. Superkapsid ostida M, F oqsillar bo'lib, viruslar bilan zararlangan hujayralarning bir-biri bilan qo'shilib ketishini ta'minlaydi, bu esa gigant ko'p yadroli simplast hujayralar hosil

bo'lishiga olib keladi va hujayralarning destruksiyasi bilan tugaydi. Bundan tashqari, ba'zi viruslar o'ta murakkab tuzilishlarga ega bo'lib, virusning nuklein kislotasi oqsil qobiq bilan o'ralgan, uning ustidan kapsid o'rab turadi (virus mag'izi), kapsid ustida esa virusni yana bir ichki matriks oqsil qavati (M-qavat) bo'lib, u super kapsidga birikib ketadi (OITV), chinchekak virusi tuzilishi esa prokariot hujayralariga yaqin turadi.

Virionning kapsid kapsomerlari nuklein kislotani tashqi tomondan o'rab turganda ma'lum simmetriya tiplarini shakllantiradi. Virionlarda uch xil simmetriya tiplari uchraydi: spiralsimon, kubsimon va aralash.

**Spiralsimon simmetriya** (tamaki mozaika, gripp, koronaviruslarda) vintsimon ko'rinishdagi nuklein kislotasini tashqaridan mustahkam oqsil subbirliklari (protomer) o'rab (31-rasm) turadi. Shakllangan nukleokapsid tayoqchasimon yoki ipsimon ko'rinishda bo'ladi. Spiral tayoqchasimon simmetriya tipiga ega bo'lgan oddiy viruslarga tamaki bargi virusi, ipsimonlariga esa ba'zi bir bakteriofaglar misol bo'la oladi. Bu tipdagi simmetriya tutuvchi oddiy viruslar odam va umurtqali hayvonlarda kasallik keltirib chiqarmaydi.

**Kubik yoki ikosayedrik simmetriya** da kapsid virionni nuklein kislotasi joylashgan ma'lum ko'rinishdagi izometrik tana, mag'izni hosil qiladi. Kubsimon simmetriyada kapsid sharsimon, ba'zida prizmasimon shaklli



31-rasm. Viruslarning tuzilishi va simmetriya tiplari. A. Yalang'och ikosayedral simmetriya. B. Kiyingan ikosayedral simmetriya. V. Yalang'och spiral simmetriya. G. Kiyingan spiral simmetriya. D. Tamaki mozaika virusi. Ye. Polioma virusi (sxematik modeli)

kapsomerlardan tuzilgan. Har bir kapsomer besh (pentomer) yoki olti (seksomer) subbirliklardan tashkil (31b-rasm) topadi. Kubsimon simmetriya asosida kapsomerlar hosil qiladigan teng tomonli burchakli kombinatsiyalar yotadi.

Kubsimon simmetriyali oddiy viruslar (yalang'och) ko'p qirrali shaklda (gapatit A, koksaki va boshqa enteroviruslar), superkapsid bilan o'ralgan murakkab viruslar esa asosan sferik shaklga ega (orto, paramiksoviruslar) bo'ladi. Lekin murakkab viruslarning o'qsimon (qutirish virusi), parallelepiped (chinchechak virusi) shakllariga ega tiplari ham bor.

**Aralash simmetriya** tiplari bakteriofaglarda kuzatiladi, ularning bosh qismida kubsimon, tanasida esa spiralsimon simmetriyalar uchraydi (30-rasm).

Murakkab tuzilishga ega bo'lgan virionlarning ichki strukturasi ularning mag'izi (serdsevina) deb ataladi. Adenoviruslarda mag'iz qismida DNK bilan bog'langan gistonlarga o'xshash oqsillar uchrasa, reoviruslarda bu ichki kapsid oqsillaridan iborat.

**Viruslarning taksonomik toifalari.** Virusologiyada quyidagi taksonomik toifalar (kategoriyalar) qabul qilingan viruslar tasnifi va taksonomiyasi yangi olingan ma'lumotlar asosida doimo to'ldirilib boriladi.

Viruslar taksonomiyasi bo'yicha Xalqaro Tashkilot-VTXX (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) shug'ullanadi. Bu tashkilot Butun Dunyo Sog'liqni Saqlash Tashkiloti bilan yaqin aloqada bo'ladi. Hozirgi kunda VTXX da 1550 xildan ortiq viruslar xususiyatlari yozilgan reestr tuzilgan va ma'lumotlar bazasi ICTV dB yaratilgan. Viruslar taksonomiyasining zamonaviy tizimi Linney tasnifining prinsiplariga asoslanadi va quyidagi taksonomik mezonlardan iborat: tartib, oila, oilacha, avlod, tur.

**Tartib** – genomning tipiga bog'liq ravishda virus oilalarini birlashtiradi va ularning lotincha nomlanishiga “viralis” qo'shimchasi qo'shiladi, masalan, Mononega viralis (bir ipli manfiy RNK ipli).

Oila – umumiy evolyutsion kelib chiqishiga ega bo'lgan viruslar guruhlaridan (avlodlardan) tashkil topadi. Oila nomining oxiriga viridaye so'zi qo'yiladi, masalan Poxviridaye.

Oilacha – bir oilaga kiruvchi viruslarni o'rganishda ularning umumiy evolyutsion kelib chiqishiga qarshi yangi ma'lumotlar olingan taqdirda bu takson qo'llaniladi. Oilacha “virinaye” qo'shimchasiga ega. Masalan, chinchechak virusi oilasi 2 ta oilachaga Chordopoxvirinaye (umurtqalilarda chinchechak keltirib chiqaruvchi) va Entomopoxvirinaye (hashoratlarda chinchechak keltirib chiqaruvchi) bo'linadi.

Avlod – evolyutsion kelib chiqishiga ega va umumiy ko‘plab xususiyatlari o‘xshash bo‘lgan viruslarni jamlashtiradi. Avlod so‘zi virus so‘zi bilan tugaydi. Masalan, Chordopoxvirinaye oilachasiga 6 avlod kiritilgan, bulardan Orthopoxvirus va Parapoxvirus avlod vakillari tibbiy amaliyotda ahamiyatliroq.

Tur – viruslarning avlod ichidagi bo‘limidir. Tur – bu nukleotid tarkibi o‘xshash va ma‘lum bir ekologik muhitni egallovchi bir avlodga mansub viruslar yig‘indisidir. Turni nomlashda “virus” qo‘shimchasi ishlatiladi. Masalan, chinchechak virusi, gripp virusi, poliovirus, lekin hamma viruslarda oila osti kategoriyasi berilmagan va bakteriyalarga o‘xshash binomenal (qo‘shloq) nomlash ham virusologiyada qo‘llanilmaydi.

Virusologik amaliyotda virus turlarining kenja tur, serovariantlar, genetik variantlar, shtammlar kabi rasmiy qabul qilinmagan ko‘rsatkichlar ham keng qo‘llaniladi.

Viruslarning tartib, oila, oilacha, avlod, turlarini aniqlashda asosiy mezonlar quyidagilar hisoblanadi:

1. Virus genomini tashkiliy tuzilishi va turi.
2. Virus replikatsiyasining strategiyasi.
3. Virionning tuzilishi.

Avlod ichida turni saralash maqsadida quyidagi mezonlardan foydalaniladi:

- genom tarkibidagi o‘xshashlik;
- tabiiy xo‘jayini (ekologik manba);
- to‘qima va hujayralarga tropizmi;
- patogenlik va sitopatologiya;
- infeksiyaning yuqish yo‘li;
- virionning fizik-kimyoviy xususiyati;
- simmetriya tiplari;
- virusning antigenlik xususiyatlari.

Zamonaviy tasnif bo‘yicha odam uchun patogen bo‘lgan viruslar 20 ta oilaga kiritilgan. Bulardan 13 tasi RNK genomli viruslar va 7 tasi esa DNK genomli viruslar hisoblanadi (32-rangli rasm).

### **Virusologiyada qo‘llaniladigan tekshiruv usullari**

D.I. Ivanovskiy chinni sham filtrlarini qo‘llab, viruslar olamini kashf qildi. Elektron mikroskopning kashf qilinishi, viruslarni ko‘rish, ularning ultrastrukturalarini o‘rganishni ochib berdi. Gradiyent zichliklarda o‘ta tez ultra sentrifugalarni qo‘llash orqali viruslarning tozalangan preparatlarini olish imkoniyatini va ularning kimyoviy tarkibini o‘rganishga olib keldi. Virusologiya fani rivojidadagi asosiy omillardan biri.

viruslarning o‘stirib olish usullari ishlab chiqilganligi hisoblanadi. Viruslar obligat parazitlar bo‘lib, faqat tirik hujayralardagina ko‘paya olishi mumkin.

Viruslar keltirib chiqaruvchi yuqumli kasalliklar diagnostikasida zamonaviy usullar bilan bir qatorda, sinalgan turli xil virusologik tekshirish usullari qo‘llaniladi:

- elektron mikroskopiya usuli;
- sitoskopik, immunoflyuorissent usullar;
- hujayra kulturalarida viruslarni o‘stirish va ajratib olish;
- rivojlanayotgan tovuq embrionida viruslarni o‘stirish va ajratib olish;
- gemaglyutinatsiya reaksiyasi yordamida viruslarni aniqlash;
- serologik reaksiyalar, an’anaviy serologik reaksiyalar (KBR, PR, NR) bilan bir qatorda zamonaviy (IFA, RIU, immunbloting) usullar;
- molekulyar-genetik tekshirish usullari – molekulyar gibridizatsiya (MG) va polimeraza zanjirli reaksiya (PZR).

Asosan viruslarni laboratoriya sharoitida ajratib olishda quyidagi usullardan foydalaniladi: sezgir laboratoriya hayvonlariga yuqtirish, rivojlanuvchi tovuq embrionida va hujayra kulturalarida o‘stirish.

Viruslarni undirib olishda hujayra kulturalari muhim ahamiyatga egadir.

Hujayra kulturalari – sun’iy sharoitda o‘stirish va ko‘payish qobiliyatiga ega bo‘lgan, odam va hayvonlarning to‘qima hujayralaridir.

Hujayra kulturalarini olish, qo‘llashda 4 ta muhim bo‘lgan muammolarni hal qilishga to‘g‘ri keladi, bularga quyidagilar kiradi:

1. Bir-biridan chegaralanib turgan, miqdoriy jihatdan yetarli hujayralarni olish.

2. Bu hujayralarni saqlash va ko‘payishini ta’minlovchi oziq muhitlarni qo‘llash.

3. Hujayra kulturalarida bakteriyalarning ko‘payib ketmasligi uchun chora-tadbirlar qo‘llash.

4. Viruslarni hujayra kulturalarida ko‘payotganligini (indikatsiya) aniqlash va ularni bir-biridan (identifikatsiya) saralash.

Virusologik amaliyotda qo‘llaniladigan oziqli muhitlar. Hujayra kulturalarini saqlash va ko‘paytirishda murakkab tarkibga ega bo‘lgan muhitlar qo‘llaniladi. Bu muhitlar tarkibiga aminokislotalar, vitaminlar, odam yoki hayvon qon zardobi, mineral tuzlar kiradi va ularni pH buferli eritmalar stabil saqlaydi.

Hujayra kulturalari uchun tayyorlangan ko‘pgina oziqli muhitlar tarkibi tuzli eritmalaridan iborat. Virusologik amaliyotda turli eritmalar hujayra kulturalarni organizmdan tashqarida yashashini ta’minlaydi va

ularni tayyorlash jarayonida to'qima va hujayralarni yuvishda qo'llaniladi va virusologik oziq muhitlarni tayyorlashda asosiy manba hisoblanadi. Amaliyotda eng ko'p Xenks va Erl tuzli eritmaları ishlatiladi (8-jadval).

Virusologik amaliyotda qo'llaniladigan oziqli muhitlar kelib chiqishiga qarab farqlanadi:

1. Tabiiy oziq muhitlar (kam qo'llaniladi);
2. Oqsil moddalarning fermentativ gidrolizatlari;
3. Sun'iy oziq muhitlar.

8-jadval

**Virusologik amaliyotda qo'llaniladigan tuzli eritmalar va ularning tarkibi (gramm / litrda)**

Tuzli eritma tarkibi	Xenks eritmasi	Erl eritmasi
NaCl	8,0	6,8
KCl	0,4	0,4
CaCl <sub>2</sub>	0,14	0,2
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,1	0,1
MgSO <sub>4</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,1	-
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,06	-
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	-	0,125
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,06	-
Glyukoza	1,0	1,0
Fenolrot (doim emas)	0,02	0,05
Na HCO <sub>3</sub>	0,35	2,2

**Tabiiy oziq muhitlar** asosan tuzli eritmalar asosida tayyorlanadi va ularga odam va hayvonlar zardobi, amniotik suyuqlik va embrional ekstrakt qo'shiladi.

Zardoblar sog'lom odam, ot, sigir, buzoq, tovuq, quyon va boshqalarning qonidan olinadi. Zardoblar olingandan keyin ularni hujayra kulturalariga toksik ta'sirga ega emasligi aniqlanadi va ular uzoq muddat sovtkichlarda saqlanishi mumkin.

Amnion suyuqligi homilador hayvonlardan, ayollardan aseptika qoidalariga rioya qilgan holda olinadi. Amnion suyuqligi rezina tiqimli flakonlarda sovtkichlarda saqlanadi.

Embrional ekstraktlar asosan 10-12 kunlik tovuq yoki hayvonlar embrionidan tayyorlanadi. Embrion tanasi qondan tozalanib, maydalanadi va teng hajmda biror tuzli eritma (ko'pincha, Xenks) qo'shiladi, 30 daqiqa sentrifuga (3000 aylanma/daqiqa) qilinadi. Olingan

cho'kma usti suyuqligi pipetkalar yordamida ajratib olinib, muzlatkichlarda saqlanadi.

Fermentativ gidrolizat saqlovchi oziq muhitlar. Ko'proq sut laktoalbuminining gidrolizati, kazein va shoxli hayvonlarning oqsil gidrolizatlari ishlatiladi. Bu gidrolizatlardan oziq muhit tayyorlashda ularga tuzli eritmalar, 2, 4 va 10% gacha zardoblar qo'shiladi.

Sun'iy muhitlar. Bular ma'lum kimyoviy moddalardan tayyorlanadi, shuning uchun ular doimiy va aniq tarkibga ega bo'ladi. Ular tabiiy moddalarga o'xshab ballast (begona oqsillar) tutmaydi. Bu muhitlar ancha murakkab tarkibga (aminokislotalar, vitaminlar, pirimidin, uglevodlar, mineral tuzlar va bosh. moddalar) ega bo'ladi. Bularga 199, Igla muhitlari kiradi.

### **Hujayra kulturalari**

Hujayra kulturasi odam, hayvon yoki parrandalar va boshqa biologik obyektlar to'qimasidan tayyorlanadi. Hujayra kulturasi tayyorlash quyidagi bir necha ketma-ket bosqichdan iborat:

- to'qimani olish, qondan, keraksiz to'qimalardan tozalash va maydalash.

- tripsin ta'sir ettirib, hujayralarni bir-biridan ajratish.

- hosil bo'lgan bir jinsli hujayralar suspenziyasini yuvib, tripsindan tozalash.

- tayyorlangan hujayra kulturalarini sanash va hujayraning ma'lum miqdordagi suspenziyasini tayyorlash.

- hujayra kulturalarini viruslarni undirishda qo'llaniladigan maxsus shisha probirka, flakon (matraslar) larda, hujayralarning o'sishini ta'minlab beradigan oziq muhitlar qo'shib saqlash.

Hujayra kulturalarini olishda va saqlashda yuqorida keltirilgan oziq muhitlardan foydalaniladi.

Hujayra kulturalarini bakteriyalar bilan ifloslanib qolmasligi uchun hujayra kulturalari bilan ishlashda qat'iy aseptik qoidalarga rioya qilgan holda maxsus steril bokslarda ish olib boriladi va tekshirilayotgan materiallardagi qo'shimcha mikroflorani ko'payib ketishini oldini olish maqsadida oziqli muhitlarga antibiotiklar qo'shiladi.

Hujayra kulturalarini tayyorlash usullari bo'yicha fiksatsiyalangan to'qima bo'lakchalari kulturasi, bir qavatli, suspenziyalangan va organ kulturasi tafovut qilinadi.

1) Bir qavatli hujayra kulturasi – kimyoviy neytral shisha, plastika laboratoriya idishlari yuzasiga bir qavat bo'lib (monosloy) birikib oluvchi va

ko'payuvchi hujayra kulturalaridir. Virusologiya amaliyotida eng ko'p qo'llaniladi.

2) Suspenziyali hujayra kulturasini – oziqli muhitning hamma hajmida ko'payuvchi hujayralar yig'indisi bo'lib, ular har doim aylantiruvchi magnit yordamida aralastirib turiladi. Bunday hujayra kulturalari virusologik amaliyotda vaksina preparatlari olishda qo'llaniladi.

3) Fiksatsiyalangan to'qima bo'lakchalari kulturasini – maydalangan to'qima bo'lakchalari tovuq plazmasiga solinadi. Plazmada hosil bo'lgan cho'kmaga to'qima bo'lakchalari fiksatlanadi. Uning ustiga antibiotiklar va Xenks eritmasi, embrion ekstraktidan tayyorlangan suyuq suspenziya qo'shiladi. 1-2 kundan keyin to'qima bo'lakchalari atrofida plazma fibrinlaridan hosil bo'lgan to'rda yangi hujayralar o'sa boshlaydi.

Fiksatsiyalangan to'qima bo'lakchalari kulturasini olish va saqlash ancha murakkab jarayon bo'lganligi sababli bu usulda olingan hujayra kulturalarini bir qavatli hujayra kulturasini amaliyotda siqib chiqarmoqda.

4) Organ kulturasini – birlamchi strukturasi o'zgarmagan ma'lum organ bo'lakchalari yoki to'qima. Chegaralangan holda qo'llaniladi.

Hujayra kulturasini va ularni undirib olish jarayonida bir qancha o'nlab generatsiyalar (bir ko'payish sikli) kuzatiladi. Hujayra kulturalarining hayot faoliyati saqlanib qoluvchi generatsiya sonlariga qarab bo'linadi: birlamchi hujayra kulturalari, undiriladigan va yarim undiriladigan.

**Birlamchi hujayra kulturalari** to'qimalardan ajratib olingandan keyin ko'payish generatsiyasi 5-10 marotaba qayta undirib olishga yaraydi. Bunday hujayra kulturalari laboratoriya sharoitida embrional, normal to'qimalarini bo'lakchalaridan maxsus proteolitik fermentlar (tripsin) ta'sir ettirilib, hujayra kulturalari olinadi. Birlamchi tripsinlangan hujayra kulturalarining kamchiligi asosan ularni bir necha generatsiyadan keyin ko'payishini to'xtatib qolishi hisoblanadi.

**Undiriladigan yoki stahil hujayra kulturalari** – bunday hujayra kulturalari laboratoriya sharoitida bir necha 10 yillar ko'payish xususiyatini yo'qotmaydi va ko'plab qayta undirishlarga chidaydi. Bu hujayra kulturalari yuqori ko'payish potensialiga ega bo'lgan o'sma yoki embrional to'qimalardan olinadi. Bularga xavfli o'sma hujayralari HeLa (birinchi marta bachadon bo'ynidagi kartsinomadan olingan), Ner-3 (limfoid kartsinomasidan olingan), hamda odam amnionining normal hujayralari, maymun buyragi va boshqalardan tayyorlangan hujayralar kiradi va ular birlamchi hujayra kulturalariga nisbatan qator afzalliklarga ega. Bular quyidagilar: uzoq yillar undirilishi va yuqori ko'payish potensialiga ega bo'lishi, kam mehnat talabi, uzoq yillar muzlatib qo'yilganda ham o'zining xususiyatini yo'qotmasligi, xalqaro hujayra



kultura liniyasi bo'ylab ko'plab dunyodagi laboratoriyalarda qo'llanilishi. Lekin bu hujayralarning ko'plab generatsiyalari natijasida xavfli ko'payish xarakteri va somatik mutatsiyalarga uchrash ehtimolligi bu hujayralarni virus vaksinalari olish jarayonlarida qo'llashni chegaralab qo'yishga olib kelgan.

**Yarim undiriladigan (diploid) hujayra kulturalari** – ko'paytirilib undirilishi chegaralangan 40 va 50 generatsiyaga chidaydi. Bu hujayralar asosan odam embrioni diploid hujayralaridan olinadi. Undirilish jarayonida bu hujayralar o'zlarini birlamchi avlodlari singari tarkibida diploid xromosoma to'plami saqlaydi va xavfli hujayra shakliga transformatsiyalanmaydi. Shuning uchun bu hujayra kulturalaridan virusologik amaliyotda diagnostik va vaksinalar olish maqsadlarida keng qo'llaniladi.

**Viruslarni indikatsiya qilish usullari.** Virusologik amaliyotga hujayra kulturalarining kirib kelishi, oldin noma'lum bo'lgan ko'plab kasallik qo'zg'atuvchi viruslarni ajratib olish va ularni identifikatsiya qilish imkoniyatlarini ochib berdi. Hozirgi kunda har bir viruslar uchun sezgir hujayra kulturalarini tanlash imkoniyatlari mavjud.

Hujayra kulturalariga virus saqlovchi materialni yuqtirilganda, virusning ko'payishi (reproduksiyasi) natijasida hujayralarda turli o'zgarishlar (destruksiya), kiritmalar hosil bo'lishi kuzatiladi. Viruslarning bunday xususiyati SPT (sitopatologik ta'siri) ya'ni hujayra morfologiyasining o'zgarishi, hatto uning o'limiga sabab bo'luvchi omil deb qaraladi. Ularni quyidagi fenomenlar asosida aniqlash (indikatsiya) mumkin:

1. Virusning hujayraga sitopatologik ta'siri (effekti).
2. Virusning hujayrada kiritmalar hosil qilishi.
3. Hujayra kulturasida pilakchalar hosil qilishi.
4. Gemadsorbsiya reaksiyasi.
5. Gemaglyutinatsiya reaksiyasi.
6. Rangli reaksiya.
7. Interferensiya fenomeni.

**Virusni hujayraga sitopatologik ta'siri (effekti).** Viruslarning hujayra kulturasida ko'payayotganligi (reproduksiyasi), ularning hujayraga SPT asosida mikroskop ostida ko'rish bilan aniqlanadi va morfologik o'zgarishlarning sodir bo'lganligiga qarab baholanadi. Bunda ularning bir qismi halok bo'lib, probirka devoridan ko'chadi. Ayrim hujayralarning yemirilishi oqibatida ajralib chiqqan viruslar boshqa hujayralarga yuqadi. Ma'lum vaqtdan so'ng bu hujayralar ham o'ladi. Natijada, bir qavatli yaxlit hujayra qatlami o'rnida alohida-alohida



33-rasm. Virusning hujayraga sitopatik ta'siri: a-maymun buyragidan olingan normal hujayra kulturasi; poliomeilit virusi yuqtirilgandan keyin morfologik o'zgarigan shu hujayralarni mikroskop ostida ko'rinishi

hujayrasiz zonada hujayra orolchalari hosil bo'ladi. Turli viruslar hosil qilgan SPTning xarakteri bir xil emas. Bir xil viruslar (poliviruslar, Koksaki va bosh.) mayda donador bir xil tipdagi hujayra destruksiyasini keltirib chiqaradi (33-rasm), o'choqli mayda donador destruksiyani gripp, kana ensefaliti viruslari, katta donador bir xil ko'rinishdagi destruksiyani herpes, simplast ko'p yadroli hujayralarni retroviruslar, morbiloviruslar, respirator-sinsitial viruslar keltirib chiqaradi. SPT amaliyotda viruslarning birlamchi indikatsiya qilishda va oldindan taxminiy tashxis qo'yishda qo'llaniladi.

**Virusning hujayrada kiritmalar hosil qilishi.** Ko'pchilik viruslar hujayralarda ko'payganda ilgari kuzatilmagan kiritmalar hosil qilishlari mumkin. Masalan, qutirish virusi nerv hujayralarining sitoplazmasida eozinofilli kiritmalar hosil qiladi (Babesh-Negri tanachasi), virus nukleokapsidlarini sitoplazmada (yadro oldida) yig'ilib qolishi natijasida kuzatiladi. Chinchechak virusi xo'jayin hujayrasining sitoplazmasida ko'payadi va sitoplazmada katta hujayralar va ularning sitoplazmasida Gvarniyeri tanachalarini hosil qiladi. Bu holatni yorug'lik mikroskopida ham aniqlash mumkin (34-rangli rasm).

**Pilakchalar (blyashkek)ning hujayra kulturasi hosil bo'lishi** viruslarning miqdoriy jihatdan aniq sonini hisobga olish usuli hisoblanadi (34-rangli rasm). Viruslarni ajratib olishda bir qavatli hujayra kulturasi oziqli muhit olib tashlanib, virus saqlovchi material bilan hujayra kulturasi virus yuqtiriladi, so'ngra neytral qizil indikator qo'shilgan yupqa agar qatlami bilan qoplanadi. Termostatda bir necha kun saqlab turilgandan so'ng agar qoplama ma'lum shakldagi oq-oq dog'lar monoqatlam

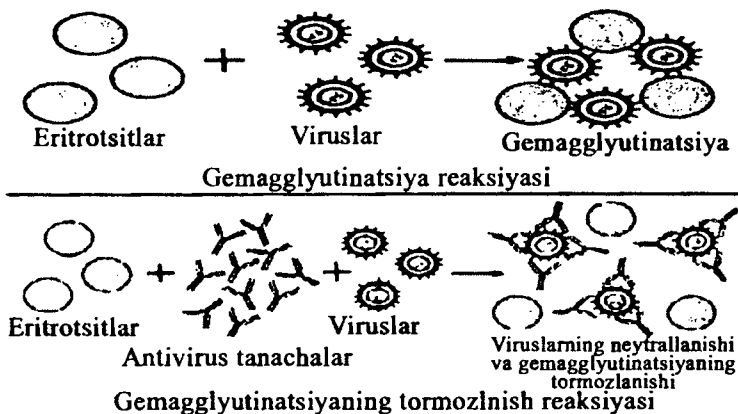
fonida (pilakcha) paydo bo'ladi. Bu esa bir tekisda o'sgan hujayra kulturasi tarkibida virus ko'payishi natijasida hosil bo'lgan jonsizlangan hujayralar to'plamidir. Har bir pilakcha birgina virus zarrachasining ko'payishi natijasida hosil bo'lib, neytral qizil bilan bo'yalgan hujayralar fonida yumaloq oq dog'lar shaklida ko'rinadi.

Shu usul bilan aniqlangan virusning titri 1 ml tekshirilayotgan materialda pilakcha hosil qiluvchi birlik (PXB) bilan belgilanadi. Pilakchanning katta-kichikligi, morfologiyasi va uning paydo bo'lish vaqti virusning har xil turida turlicha bo'ladi, hatto shu tur ichidagi ayrim shtammlarida ham farqlanadi. Viruslarning bu xususiyati shtammlarni seleksiya qilishda va ularning sof liniyasini ajratib olishda qo'llaniladi.

**Gemadsorbsiya reaksiyasi.** Viruslarni indikatsiya qilish usullaridan biri, ular kirib ko'payayotgan (reproduksiya) hujayraning yuzasi eritrotsitlarni adsorbsiya qilish qobiliyatiga asoslangan, bu esa gemadsorbsiya reaksiyasi deyiladi (34-rangli rasm). Gemadsorbsiya ham gemagglyutinatsiya reaksiyasiga o'xshash mexanizmga ega. Gemadsorbsiyalash xossasiga ega bo'lishi virus yuqtirgan hujayra membranasida virusga xos maxsus oqsillarning - gemagglyutininlarning joylashganiga bog'liq bo'lib, eritrotsitlarda bu oqsillarga komplementar retseptorlar bo'ladi va shuning uchun ham ular virus bilan zararlangan hujayralar yuzasiga adsorbsiyalanadi. Bu reaksiyani o'tkazish uchun viruslar bilan zararlangan hujayra kulturasi eritrotsitlar (ko'proq tovuq, dengiz cho'chqachasi, maymun va odamning O (I) eritrotsitlari ishlatiladi) suspenziyasi qo'shiladi. Ma'lum vaqtdan so'ng hujayralar natriy xloridning izotonik eritmasi bilan yuviladi. Tarkibida viruslar bo'lgan hujayralar yuzasida eritrotsitlar yopishganicha qoladi. Buni yorug'lik mikroskopida ko'rish mumkin. Virus yuqtirilgan hujayra kulturasi tip maxsusligini namoyon qiluvchi zardob qo'shib saqlansa, hujayralar gemadsorbsiya qilish qobiliyatini yo'qotadi, ya'ni gemadsorbsiya tormozlanib qoladi. Bu fenomen viruslarning identifikatsiyasida qo'llaniladi.

**Gemagglyutinatsiya reaksiyasi.** Bu reaksiya suyuqlikdagi hujayra kulturasi yoki tovuq embrionining xorion-allantois yoki amniotik suyuqlikdagi viruslarni indikatsiya qilish uchun qo'llaniladi.

Gemagglyutinatsiya reaksiyasida virus superkapsidi tarkibida gemagglyutin fermenti bo'lgan viruslar (gripp, paragripp) keltirib chiqaradi, ya'ni virus ko'paygan hujayra kulturasi tovuq, g'oz, dengiz cho'chqachalari eritrotsitlari qo'shilsa, viruslar eritrotsitlarni bir-biriga yopishtirib (35-rasm) qo'yadi. Bu usulda viruslarning suyuqlikdagi titrini suyultirish darajasiga qarab aniqlash mumkin. Virusologik amaliyotda viruslarning indikatsiya qilishda keng qo'llaniladi.



35-rasm. Viruslarning indikatsiyasi va identifikatsiyasida gemagglyutinatsiya va gemagglyutinatsiyaning tormozlanish reaksiyalari (sxemasi) mexanizmlari

**Rangli reaksiya.** Hujayra kulturalarida viruslarning ko'payishini rangli reaksiya orqali ham indikatsiya qilish mumkin. Buni aniqlash uchun normal ko'payuvchi hujayra kulturasida uchun qo'llanilgan oziqli muhitdagi indikatoridan foydalaniladi. Agar hujayrada virus ko'paymasa, tirik hujayra kulturalarda normal metabolitik jarayon kuzatiladi va bu jarayon natijasida nordon mahsulotlari yig'ilib qoladi, indikator rangi o'zgaradi. Hujayra kulturasida virus ko'paysa, hujayraning metabolizmi buziladi (nobud bo'lishiga olib keladi), indikator rangi o'zgarmaydi.

**Interferensiya fenomeni.** Bu usul asosan hujayra kulturalarida ko'payib, lekin aniqlab bo'lmaydigan HPT xususiyatga ega bo'lgan viruslarni indikatsiya qilishda qo'llaniladi. Hujayra kulturasiga virus saqlovchi material yuqtiriladi, keyin esa indikator virus (vezikulyar stomatit virusi – VSV) yuqtiriladi. Agar tekshirilayotgan materialda izlanilayotgan virus bo'lsa, indikator virusning HPT kuzatilmaydi (hujayra izlanilayotgan virus tomonidan egallangan). Buni yorug'lik mikroskopida vizual ko'rish mumkin. Tekshirilayotgan materialda virus bo'lmasa, VSV hujayraga patologik ta'sir ko'rsatadi.

### Viruslarni undirib olishda tovuq embrionidan foydalanish

Virusologik amaliyotda tovuq embrioni hujayra kulturasida va tajriba qilinayotgan hayvonlarga nisbatan bakteriyalar bilan ifloslanish darajasi kam va qo'shimcha mikroorganizmlar bilan kamdan-kam hollardagina zararlangan bo'ladi. Bundan tashqari, turli ta'sirotlarga ham juda

chidamlidir. Rikketsiya, xlamidiya va bir qator viruslarning diagnostik maqsadlarda, sof kulturasini olish va turli preparatlar (vaksina, diagnostikumlarni) tayyorlash uchun 8-12 kunlik tovuq embrionlaridan foydalaniladi (36-rangli rasm). Yuqorida ko'rsatilgan mikroorganizmlarning ko'payganligi embrion qobiqlarining ochilganidan so'ng pardalarida hosil bo'lgan morfologik o'zgarishlar orqali o'rganiladi. Masalan, chinchechak yuqtirilgan embrion tanasida, qobig'ida qon quyilishlar kuzatiladi, embrion nobud bo'ladi. Bundan tashqari, virus ko'payishi natijasida allantois, amnion suyuqligida viruslar yig'ilib qoladi va gemagglyutinin fermenti bor viruslarni GAR orqali indikatsiya qilish mumkin.

Rivojlanayotgan tovuq embrionida viruslarni ko'paytirish sanoat miqyosida qo'llaniladi, ammo ko'pchilik viruslar tovuq embrionida ko'paymaydi, bundan tashqari tekshirilayotgan viruslarning embrionini ochmay turib aniqlab bo'lmaydi, shuningdek unda ko'p miqdordagi oqsil va boshqa yot birikmalarning borligi, tayyorlangan preparatlarning allergik xususiyatini oshiradi, ularning tozalanishini qiyinlashtiradi.

### **Viruslarni ko'paytirishda laboratoriya hayvonlaridan foydalanish**

Amalda ko'pincha turli xil zotsiz laboratoriya hayvonlaridan (voyaga yetgan, emadigan sichqon bolalari, quyon, maymun, dengiz cho'chqachalari va bosh.) foydalaniladi. Hayvonlarning ma'lum turdagi viruslarga beriluvchanligi va ularning yoshi viruslarning ko'payish qobiliyati tajribada hisobga olinadi. Ko'pincha yangi tug'ilgan hayvonlarga u yoki bu virusga (masalan, emadigan sichqon bolalari – Koksaki virusiga, sichqon, quyon – qutirish virusiga, oqsim (yashur) virusiga – dengiz cho'chqachasi va gripp virusiga – sichqon va olmaxon) sezgir bo'ladi.

Bu usulning afzalliklari va kamchiliklari mavjud. Afzalligi shuki, bunda kultura yoki tovuq embrionida yaxshi reproduksiya qilinmaydigan viruslarni ajratib olish mumkin bo'ladi. Bu usulning kamchiligi esa tajriba qilinayotgan hayvon organizmidagi mikroorganizmlarning begona virus va mikoplazmalar bilan aralashib ketishidadir. Bundan tashqari, iqtisodiy etikaviy jihatlari, shuningdek, virusning "sof" liniyasini olish uchun keyinchalik hujayra kulturasiga hayvondan olingan material yuqtiriladi, bu esa tekshirish muddatini cho'zib yuboradi.

Virus saqlovchi materiallarni laboratoriya hayvonlariga yuqtirishning turli (teri ostiga, teri ichiga, muskul ichiga, qorin pardasiga, subdural va bosh.) usullari qo'llaniladi.

Viruslarning laboratoriya hayvonlari organizmida reproduksiya bo'lganligini kasallikning ko'zga tashlanadigan klinik rivojlanishi, organ va to'qimalarning patomorfologik o'zgarishi, organlardan olingan suspenziyalarda virus borligini gemagglyutinatsiya (GAR), neytralizatsiya (NR) reaksiyalari orqali (agar virus o'z tarkibida gemagglyutin fermenti tutsa) aniqlash mumkin.

### **Metodik ko'rsatmalar**

#### **Viruslarni Morozov usulida bo'yash.**

Viruslarni Morozov usuli bilan bo'yash uchun uchta reaktiv tayyorlanadi:

1) 1 ml muzli sirka kislotasiga 40% li 2 ml formalin eritmasi qo'shiladi va distillangan suv bilan uning hajmi 100 ml ga yetkaziladi;

2) 1 ml karbol kislotasiga 5 g tanin qo'shiladi va distillangan suv bilan uning hajmi 100 ml ga yetkaziladi;

3) 5 ml kumush nitrat eritmasiga ammiak eritmasi biroz quyqa hosil bo'lgunga qadar tomchilab tomiziladi.

Bo'yash usuli: 1) tayyorlangan surtma – 1-eritma bilan 1 daqiqa davomida fiksatsiyalanadi, so'ng reaktiv to'kiladi va surtma suv bilan yuviladi;

2) 2-eritma bilan 1–2 daqiqa davomida bug' paydo bo'lguncha qizdiriladi, so'ngra suv bilan yuviladi;

3) 3-eritma bilan surtma to'q jigir rang hosil bo'lgunga qadar qizdiriladi, so'ng suv bilan yuvib, quritiladi va mikroskop ostida ko'riladi. Bunda virus elementar tanachalari qora rangga bo'yaladi. Morozov usulida bo'yalganda ospa vaksina virusning o'lchami 0.2 mkm bo'lib, kokksimon ko'rinishda bo'ladi.

**Viruslarning SPT ni o'rganish.** Probirkadagi hujayra kulturasi tekshirish uchun mikroskopning buyum stolchasiga probirka shunday qo'yiladiki, undagi bir qavatli hujayra qatlami yuqoriga qaragan holda bo'lishi kerak. Bir qavatli hujayra yopishgan joyi probirkaning qarama-qarshi tomonidan qalam bilan belgilab qo'yiladi.

Hujayradagi morfologik o'zgarishlar kulturali probirkani mikroskop ostida 8-obyektiv bilan kondensator tushirilgan va diafragmasi biroz bekitilgan holda tekshiriladi. Virus bilan yuqtirilgan bir qavatli hujayra qatlamini, virus bilan yuqtirilmagan kontrol probirkadagi kulturalar bilan solishtirib ko'rilganda virus yuqtirilgan hujayra qatlamida to'liq yoki orolcha shaklidagi hujayraning (destruksiyasi) parchalanganligi yoki boshqa o'zgarishlar qayd etiladi, bu esa virusning hujayraga patogenlik ta'sirini ko'rsatadi.

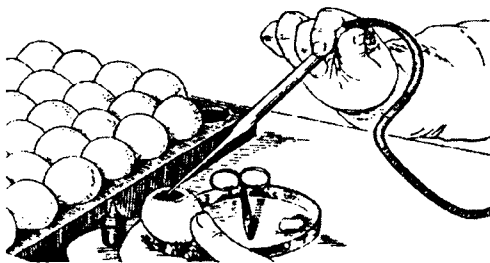
**Rivojlanayotgan tovuq embrioniga yuqtirish.** Tekshiriladigan material tovuq embrionining allantois va amniotik bo'shlig'iga, xorionallantois qobig'iga yoki sariqlik xaltachasiga (37-rasm) yuboriladi.

Materialni yuqtirishdan oldin tuxumning havoli kamera ustidagi po'stlog'i 70 % li spirt bilan tozalanadi, alangada qizdiriladi, 2% li yod eritmasi surtiladi, ikkinchi marta spirt bilan artiladi va qizdiriladi. Allantois bo'shlig'iga yuqtirish

uchun havoli kamera (ovoskopda tuxumga yorug'lik tushirilganda uning chegarasi oldindan qalam bilan chizib qo'yiladi) ustidagi tuxum po'chog'i qaychi, skalpel yoki maxsus asbob yordamida ehtiyotlik bilan teshiladi. Shpris bilan 0,1-0,2 ml virusli material (antibiotik qo'shilib ishlov berilgan) havo kamerasi chegarasidan 2-3 mm chuqurlikka yuboriladi. Tuxum po'chog'idagi teshikka eritilgan parafin quyiladi.

Zararlangan embrion virus juda ko'paygan vaqtda, ya'ni 48-72 soat 37° C da termostatda saqlangandan so'ng ochiladi. Tuxum spirt bilan artiladi va unga 2% li yod eritmasi surtiladi. So'ngra qaychi bilan havo kamera atrofi bo'ylab chizilgan belgidan biroz yuqoriroqdan tuxum po'chog'i kesiladi. Bunda tuxum po'chog'i bo'shliqqa tushmasligi uchun qiyshaytirilgan holda ushlanadi (37-rasm). Po'choq olinib, asta-sekin uning pardasi ham olinadi va xorion-allantois pardasining virus yuqtirilgan joyida gemorragik, oqimtir shikastlanish o'choqlarining bor-yo'qligi qayd qilinadi. So'ngra Paster pipetkasi bilan xorion-allantois pardasining qon tomiri kam bo'lgan joyidan teshiladi va allantois suyuqligi so'rib olinadi. Keyin xorion-allantois pardasi ajratib olinib, ikki marta natriy xloridning izotonik eritmasi bilan yuviladi, Petri kosachasiga o'rnatiladi va qora fonda, maxsus (spetsifik) zararlanish borligi aniqlanadi.

**Gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish (GAR).** Tovuq embrioni ochilgandan so'ng allantois suyuqligi so'rib olinadi va probirkalarga yoki pleksiglasdan tayyorlangan plastinkalar chuqurchasiga 0,5 ml hajmda (kontrol uchun 0,5 ml yuqtirilmagan embrionning shunday suyuqligidan) quyiladi. So'ngra uning ustiga 0,2 ml 1% li yuvilgan tovuq eritrotsitidan qo'shiladi va uy temperaturasida saqlanadi. Reaksiya natijasi 40 daqiqadan so'ng, ya'ni eritrotsitlar cho'kma hosil qilgandan keyin tekshiriladi. Reaksiya musbat bo'lsa, probirkaning ostida bir-biri bilan yopishgan eritrotsitlardan tashkil topgan yupqa parda zontik hosil bo'ladi. Reaksiya natijalari 4 tagacha musbat belgi bilan aniqlanadi. Yaxshi gemagglyutinatsiya + + + + – bu holatda probirkaning ostida parda zontik yaqqol ko'rinishida bo'ladi; + + + pardaning oralarida ochiq joylar qoladi; + + eritrotsitlarning birlashishida viruslar kamayganligi sababli parda chetlari tekislashadi; + kam agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar birikmalari bilan o'ralgan eritrotsitlarniig cho'kmasi; – eritrotsitlar cho'kmasining atrof chegarasi yaqqol ko'rinib turadi, ammo kontroldan (eritrotsitlar tugmacha shaklini oladi) farq qilmaydi. Agar tajribadagi probirkalarda gemagglyutinatsiya



37-rasm. Virus saqlovchi materialni rivojlanayotgan tovuq embrioniga yuqtirish

siya bo'lib, kontrol probirkalarda bo'lmasa, bu – tekshirilayotgan suyuqlikda virus borligini ko'rsatadi.

Viruslarni indikatsiya qilishda tekshirilayotgan suyuqliklarda viruslarning titrini (miqdoriy ko'rsatkichini) aniqlash muhim amaliy ahamiyatga ega. Virus saqlovchi materialni maksimal suyultirilganda virus o'zining (TsPT. GAR, hayvonlarni nobud qilish va bosh.) infeksiyon aktivligini namoyon qila oladigan miqdoriga virus titri deb ataladi. Titr 1 birlik qilib olingan, ya'ni shu titrda viruslar 50% yuqtirilgan kulturalarda SPT keltirib chiqaradi. GAR virus titri deb ++ ( I AE – bitta agglyutinatsiya beruvchi birlik) dan kam bo'lmagan eritrotsitlarni agglyutinatsiyasini beruvchi eng ko'p suyultirilgan eritmasiga aytiladi. Viruslar titrlarini aniqlash viruslarning ishchi, yuqish dozalari ishlab chiqishda va keyinchalik viruslarni identifikatsiya qilishda muhim amaliy ahamiyatga ega.

### Gemaglyutinatsiya reaksiyasi bilan viruslar titrini aniqlash

GAR tovuq embrionidan olingan allantois suyuqligidagi virus titrini aniqlash, hamda virusni identifikatsiya qilishda GART usulidan foydalanish uchun qo'llaniladi.

9-jadval

### Virus titrini aniqlash uchun qo'yiladigan GAR

Suyultirilgan virus saqlovchi material	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	Eritrot-sit kontroli
Tovuq eritrotsitlarini 1 % suspenziyasi	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4 + f/l
Olingan natija GAR +/-	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	-

O'tkazilgan tajribadan ko'rinib turibdiki, allantois suyuqligida virus titri 1/64 ga, GART uchun ishchi dozasi esa 1/32 ga teng ekan.

### Viruslarni identifikatsiya (tiplarini aniqlash) qilish

Viruslarni identifikatsiya qilish ularning biologik aktivligini tip maxsuslikka ega bo'lgan zardoblar bilan neytrallashga asoslangan. Uning oxirgi natijasi quyidagi belgilar asosida aniqlanadi:

- 1) Sitopatik ta'sirini neytrallash;
- 2) Gemadsorbsiya reaksiyasini neytrallash;
- 3) Rangli reaksiyaning o'zgarishi;



4) Gemagglyutinatsiya reaksiyasini tormozlash;

5) Neytrallashni tajriba hayvonlarida aniqlash.

Bundan tashqari, viruslarning identifikatsiyasida immunofluores-sensiya va DNK- DNK (RNK- RNK) – gibridizatsiya usullari qo'llaniladi.

### Gemagglyutinatsiya reaksiyasini tormozlash usuli bilan virus tiplarini aniqlash

Amaliyotda tarkibida gemagglyutinin tutuvchi viruslarning tipini aniqlashda (ortomiksovirus, paramiksovirus) identifikatsiyada qo'llaniladi.

10-jadval

### Virus tiplarini aniqlash uchun qo'yiladigan GART

Suyultirilgan diagnostik zardob	Tajribadagi					Kontroldagi			
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Zar-dob	Vi-rus	Erit-rotsit	
1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	
2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	
3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	
Virus ishchi dozasi (1/32)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	0,2	-	
Tovuq erit-rotsitlarini 1 % suspenziyasi	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Xona haroratida 60 daqiqa saqlanadi									
Olin-gan natija GAR +/-	1	+	+	+	+	+	-	+	-
	2	-	-	-	-	-	-	+	-
	3	+	+	+	+	+	-	+	-

O'tkazilgan tajribadan ko'rinib turibdiki, tovuq embrioni allantois suyuqligidagi virus 2-qatordagi tipga xos diagnostik zardob bilan 1:10 - 1: 160 nisbatida neytrallandi, ya'ni tekshirilayotgan virus shu tipga mansub ekan.

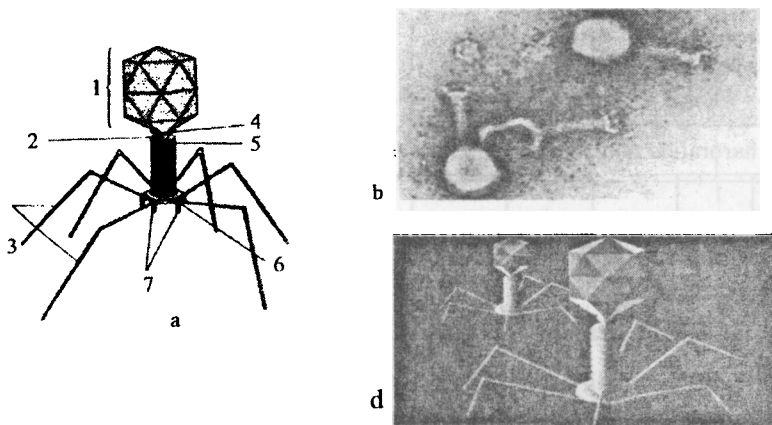
## Bakteriya viruslari (Bakteriofaglar)

Bakteriofaglar (“bakteriya” va yunoncha soʻz “phagos” – yeb yuboruvchi) – bakteriya hujayralariga maxsus kirishi va ularda parazitlik qilib, lizisga, oʻlimga olib keluvchi bakteriya viruslari hisoblanadi.

Bakteriofaglar atrof-muhitda, suv havzalarida, tuproqda keng tarqalgan. Shu bilan birgalikda, ularning koʻpchiligi bakteriyalarda va boshqa mikroorganizmlarda va zamburugʻlarda topilgan. Shuning uchun bakteriofaglar keng maʼnoda umumiy soʻz bilan fag deb nomlanadi. Faglarni nomlashda lotin, yunon va rus alfaviti harflaridan, raqamlardan foydalaniladi va ularning oldida bakteriya avlodi va turi yoziladi ( *E. coli* T2 ). Qarindosh avlod va tur vakillarini nomlashda, ularning ajratib olingan manbasi nomi beriladi: kolifaglar, stafilofaglar, aktinofaglar va boshq.

Faglarning ultrastrukturasi asosan elektron mikroskopda oʻrganiladi (38-rasm). Faglar shakli va struktura tuzilishi jihatidan bir necha morfologik tiplarga boʻlinadi: ipsimon, mayda kubsimon (baʼzilarida oʻsimtalar analogi boʻlishi mumkin), spermatozoidsimon faglar, yaʼni kubsimon boshi va dum qismidan iborat boʻlib, ustida qisqaruvchi va qisqarmaydigan yopqichlar mavjud boʻladi. Faglarning oʻlchami 20 dan 800 nm gacha boʻladi.

Faglar oʻzlarining tarkibida DNK yoki RNK tutadi. Faglarning nuklein kislotalari ikki ipli, bir ipli, chiziqli halqasimon boʻlishi mumkin.



38-rasm. T-4-kolibakteriograf: a-sxematik strukturasi (1-boshchasi; 2-naycha; dum ipchalari; 4-dum qismiga birikish joyi; 5-dum qismi qobigʻi; 6-olti qirrali plastinka; 7-dum oʻsimtasi); b-fagning elektron mikroskopdagi tasviri; v-T fagning rangli kompyuter tasviri

Ko'pchilik faglar ikki ipli halqasimon DNK tutadi. Struktura tuzilishlari viruslarga o'xshash kapsid va kapsomerlar faglar shakllanishida qatnashadi, lekin faglarda simmetriya tiplari aralash bo'ladi. Bosh qismi kubsimon simmetriyaga ega bo'lsa, dum qismida spiralsimon simmetriya tiplari uchraydi.

Faglarining antigen xususiyati. Bakteriofaglar gruppospetsifik va tipospetsifik antigenlar tutadi va ular immunogen xususiyatga ega, organizmda maxsus antitelalar hosil qiladi. Bu antitelalar faglar bilan birikib, ularning bakteriyaga qarshi litik xususiyatini neytrallashi mumkin. Tipospetsifik xususiyati bo'yicha faglar serotiplarga bo'linadi.

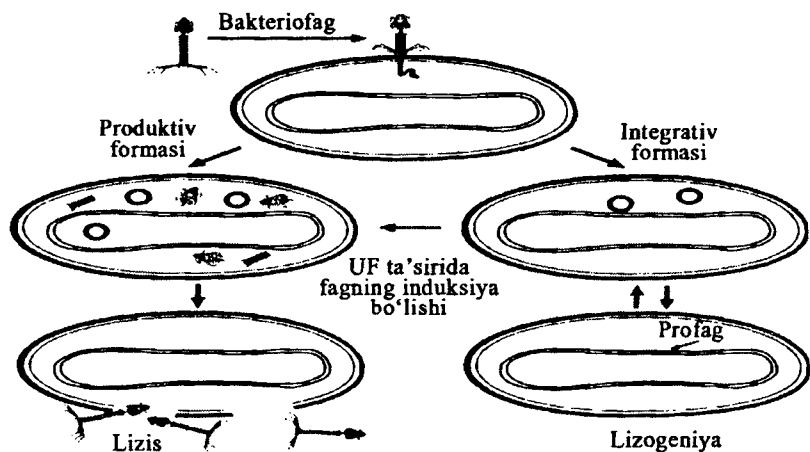
Rezistentligi (chidamliligi). Viruslarga qaraganda tashqi muhit faktorlariga ancha chidamli. 65-70°C harorat ta'sirida o'ladi, bundan tashqari UF nurlari va radiatsiyaning yuqori dozalari, kislotalar, formalinlarga chidamli. Uzoq vaqt past haroratda, quritilganda saqlanib qoladi.

Faglarining yuqumliligi o'ta maxsus bo'lib, ma'lum bakteriyalarda ko'payadi. Ularning maxsus strukturasi nisbatan sezgir bakteriyalarda retseptorlar mavjud. Faglar sezgir bakteriyalar bilan maxsus o'zaro munosabatiga asosan quyidagi ko'rinishlarda bo'ladi: polivalent – qarindosh bakteriyalarda ko'paya oladi; monovalent – ma'lum tur bakteriyalarda ko'payadi; tipovoy – bakteriya turlarining alohida tiplarida ko'paya oladi.

Faglarni bakteriya bilan o'zaro munosabati viruslarga o'xshab produktiv, abortiv va integrativ ko'rinishda kuzatiladi. Produktiv formada fag bakteriyani to'liq lizisga uchratadi va fagning avlodlari hosil bo'ladi. Abortiv formada bakteriya lizisga uchramaydi va fagning avlodlari ham hosil bo'lmaydi. Integrativ tipda esa fag bakteriyaning xromosomasiga kirib oladi va u bilan birga (profag) turadi. Shuning uchun faglarining bakteriyalar bilan o'zaro munosabati natijasida ular ikki xil ko'rinishda, virulent va avirulent (mo'tadil) bo'ladi.

Virulent faglarining bakteriyalar bilan o'zaro munosabati produktiv tipda kuzatiladi. Ularning reproduksiyasida 200-300 ta yangi faglar hosil bo'ladi.

Mo'tadil faglar virulent faglardan farqlanib, ularning bakteriyalar bilan munosabati produktiv yoki integrativ bo'lishi mumkin (39-rasm). Produktiv ko'rinishda virulent fagdan reproduksiyasida farq kuzatilmaydi va bakteriyaning lizisi bilan tugaydi. Integrativ tipda fag genomi bakteriya xromosomasiga kirib oladi va sinxron ko'rinishda ko'payayotgan bakteriya genomi bilan birga replikasiya bo'ladi, bakteriyani lizisga uchratmaydi. Shunday DNK saqlovchi faglar p r o f a g deb ataladi,



39-rasm. Mo'tadil lambda fagning ko'payish tiplari

bakteriya esa “l i z o g e n” li kultura deb nomlanadi, chunki bunday lizogenli bakteriyalarda har doim profag aktivlansa, lizisga uchrash ehtimoli yuqori bo'ladi. Bunday bakteriyalar profagni o'z avlodlariga o'tkazadi. Lekin fag replikatsiyaga uchramaydi va o'z naslini qoldirmaydi. Buning sababi bakteriya hujayrasida fagni transkripsiyasini to'xtatib turuvchi past molekulyar oqsil repressor ishlab chiqiladi. Repressorlar biosintezini fag genlari boshqaradi. Shuning uchun bunday lizogenli bakteriyalarda boshqa faglarga nisbatan immunitet hosil bo'ladi, ya'ni boshqa yaqin qarindosh faglar bakteriyaga kira olmaydi. Ammo lizogen termini shu bakteriyalarning har doim lizisga uchrashi mumkinligini bildiradi. Buning isboti sifatida bakteriyalar tarkibidagi fag o'z-o'zidan birdaniga yoki fizik, kimyoviy omillar ta'sirida vegetativ shaklga o'tishi va bakteriya hujayrasini lizisga uchratishi mumkin. Bakteriya xromosomasidan ajrab chiqqan fag, bakteriyadan ma'lum informatsiya saqlovchi genlarni o'ziga biriktirib olishi va bu ma'lumotlarni boshqa bakteriyalarga (transduksiya hodisasi) o'tkazishi mumkin. Bakteriyalar oldin o'zlarida kuzatilmagan belgi va xususiyatlarni namoyon qilishi mumkin. Profag ta'sirida bakteriyalar xususiyatlarini o'zgarishi “fagli konversiya” deb nomlangan (lot. sonversio – o'zgartirmoq).

Bakteriofaglar amaliyotda quyidagi maqsadlarda qo'llaniladi; fagoterapiyada, fagoprofilaktikada, fagoidentifikatsiyada va fagotiplashda. Bundan tashqari, ichak tayoqchasining kolifagi tashqi

muhit obyektlarining ifloslanishini aniqlashda sanitar ko'rsatkich (indikator) mikroorganizm sifatida qo'llaniladi:

1) fagoterapiya – ayrim yuqumli kasalliklarni keltirib chiqaradigan (shigella, protey, stafilokokk, ko'k yiring tayoqchasi) bakteriyalarga qarshi davolashda ishlatiladi.

2) fagoprofilaktikada – epidemik o'choqda bo'lgan kishilar orasida ayrim kasalliklarning oldini olishda (masalan, dizenteriya, vabo);

3) fagoidentifikatsiyada – fag yordamida bakteriya kulturasi qaysi turga mansubligini aniqlash;

4) fagodiagnostika kasal organizmidan (masalan, najasdan) fagni ajratib olishdan iborat bo'lib, organizmda shu fagning mikrobi borligini ko'rsatadi, ya'ni fag bilan diagnoz qo'yish;

5) fagotiplash – bakteriyalarning fagotipini aniqlashda, ya'ni fagotipning bir turdagi bakteriya shtammini shu tipga xos faglar bilan lizis qilish orqali aniqlanadi; bu esa tekshirilayotgan kulturalarni belgilaganda, kasallikni epidemiologik tekshirishda ayniqsa muhimdir.

Amaliyotda bulyonda o'stirilgan bakteriyalar hujayralaridagi virulent faglar reproduksiyasi bu hujayralarning lizisga uchrashi va muhitning tiniq, yaltiroq tusga aylanishi bilan tugaydi. Petri kosachasidagi agarli muhitda sezuvchan bakteriyani gazon usuli bilan o'stirilganda faglar lizis o'choqli yoki yaxlit zonalarini hosil qiladi. Bu esa fagning konsentratsiyasiga bog'liqdir. Lizisning o'choqli zonolari fagning negativ koloniyalari yoki steril dog'lar – pilakchalar deb nomlanadi. Ular ma'lum faglariga xos morfologiyaga ega bo'lib, birgina fag zarrachasidan va boshqa hujayralarga kirishi va keyinchalik ko'payishi natijasida hosil bo'ladi.

Fagning «sof liniyasini» (boshqa faglar aralashmasidan holi) olish uchun morfologik jihatdan bir xil bo'lgan negativ koloniyalarning qator passajlari bir xil bakterial shtamm gazonining aynan o'zida olib boriladi.

### **Metodik ko'rsatmalar**

**Fagni atrof-muhitdan ajratib olish.** Virulentli fag olish uchun dastlabki material (suv, najas suspenziyasi va boshqalar) bakteriya filtridan o'tkaziladi. So'ng filtrat tayyorlanadi. Olingan filtrat ma'lum bakteriya kulturasi bilan birgalikda bulyonga ekiladi va termostatda 37°C da 18-24 soat davomida saqlanadi. Kultura lizisga uchragandan so'ng, qolgan bakteriya hujayralaridan fag sentrifuga yordamida yoki filtrdan o'tkazib tozalanadi. Filtratda fagning borligini sifat va son jihatidan aniqlaydigan usullar bilan tekshiriladi.

**S.aureus fagi sifatini aniqlash usuli.** Oziqli agarli Petri kosachasiga *S.aureus* sutkali, bulyonli kulturasi gazon bilan ekiladi va 37°C da 10-15 daqiqa davomida quritiladi. So'ng gazon yuzasiga bir tomchi fag tomiziladi va ikkinchi chetiga

tomchi yetib borguncha Petri kosachasi qiyshaytiriladi. Termostatda bir sutka davomida inkubatsiya qilinganidan so'ng kosacha ko'zdan kechiriladi, bunda fag tomchisi tekkan yerda lizis zonasining borligi belgilanadi.

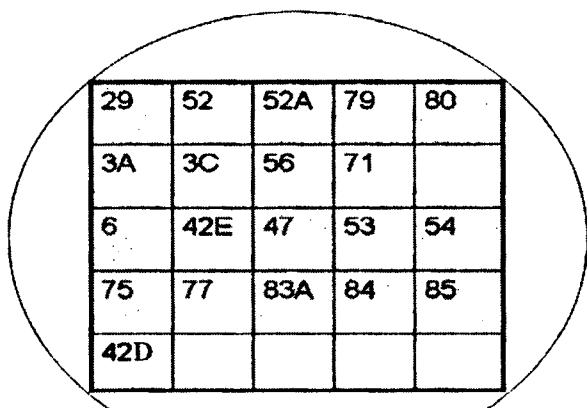
#### **Miqdoriy usul – Gratsia usuli bilan fagning titrini aniqlash.**

Usulning mohiyati. Probirkadagi suyultirilgan GPA ga indikator mikrobidan va suyultirilgan ma'lum fag saqlovchi materialdan 1,0 ml quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi, so'ng Petri kosachasiga quyib inkubatsiya qilingandan keyin kosachadagi negativ koloniyalar sanaladi va 1,0 ml tekshirilayotgan materialdagi virus miqdori hisoblab topiladi. Tajriba o'tkazish uchun oldindan quyidalarni tayyorlash lozim:

a) oziqli agar Petri kosachasiga quyiladi, termostatda quritiladi;

b) 3-4 ml dan probirkaga quyilgan, 0,7% li yarim suyuq oziqli agar suv hammomida eritiladi.

Tekshirilayotgan fag o'n martadan ( $10^2$ - $10^7$  va yana ham fagning taxminiy titriga ko'ra ko'proq suyultirishi mumkin) natriy xloridning izotonik eritmasida suyultiriladi. So'ng eng oxirgi suyultirilgan ( $10^7$ ) fagdan 0,5 ml olib, shu hajmdagi fagga sezuvchan bakteriyaning sutkali bulyonli kulturasi bilan aralashtiriladi va 45 °C gacha sovutilgan, yarim suyuq agarli probirkaga quyiladi. Bu aralashma tezlikda agarli Petri kosachasiga quyiladi, natijada yupqa qavat hosil qilib qotadi. Bakteriyalar va yarim suyuq agar bilan keyingi ( $10^6$ ) suyultirishdagi fag aralashmasi ham xuddi shunday tayyorlanib, boshqa kosachadagi agar yuziga quyiladi, keyin –  $10^5$  suyultirilgan joydan aralashma tayyorlanadi. Agarining ikkinchi quyilgan qavati qotganidan so'ng kosacha 37°C da inkubatsiya qilinadi. Fag bilan zararlanmagan bakteriyalar ko'payib, oziqli agar yuzasida bir tekis o'sib, gazon hosil qiladi.



40-rasm. Stafilokokk kulturasi fagotipini aniqlash sxemasi. Raqamlar bilan stafilokokk fag tiplari belgilangan

Fag bilan zararlangan har bir bakteriya lizisga uchraydi va natijada bir necha yuz yangi fag zarrachalari ajralib chiqadi. Ular butun hujayralarga yana kiradilar va sikl qaytadan boshlanadi. Hujayralar lizisi natijasida yaxlit bakterial gazon ichida «steril» dog'lar yoki fagning negativ koloniyalari hosil bo'ladi. Shu dog'larning soni aralashmadagi ekilgan fag zarrachalarining soniga teng. Ya'ni 1 ml tekshirilayotgan suspenziyadagi miqdorini ko'rsatadi, bu esa uning titri deb ataladi. Masalan,  $10^{-7}$  suyultirilgan namunadan ekilganda hosil bo'lgan fagning "steril" dog'lar soni 5 ta ekan, bunda 1 ml tekshirilayotgan suspenziyadagi fag miqdori  $5 \times 10^7$  teng bo'ladi.

**Stafilokokk kulturasi fagotipini aniqlash.** Tekshirilayotgan sutkali stafilokokkning bulyonli kulturasi Petri kosachasidagi oziqli agarga gazon usulida ekiladi, termostatda bir oz quritiladi, so'ngra Petri kosachasi orqasi kvadratlarga bo'linadi, qo'llanilayotgan fag tiplari yoziladi va har bir kvadratga Paster pipetkasi bilan bir tomchidan yozilgan raqamga xos bo'lgan stafilokokkni 4 guruh faglar tiplari tomiziladi. Bir sutka termostatda o'stirilgandan so'ng qaysi kvadratlarda lizis bo'lganligi ko'zdan kechiriladi. Stafilokokk kulturasi fagotipi lizisni keltirib chiqaradigan fag tipi bilan aniqlanadi (40-rasm).

## **9-MAVZU. MIKROORGANIZMLARGA TASHQI MUHIT OMILLARINING TA'SIRI. STERILLASHNING SIFATINI, DEZINFEKSIYA VA ANTISEPTIK MODDALARINING TA'SIRINI O'RGANISH USULLARI**

### **Mashg'ulot rejası**

1. Fizik va kimyoviy omillarning mikroblarga ta'siri.
2. Sterillash usullari.
3. Sterillash uchun foydalaniladigan asboblari.
4. Sterillashning sifatini, antiseptik va dezinfeksiya qiladigan moddalarning ta'sirini aniqlash usullari.

### **Namoyish qilish**

Sterillash uchun ishlatiladigan apparatlar (avtoklav, quruq issiqlik bilan ishlovchi shkaflar, filtrlaydigan moslama).

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Fizik omillarning bakteriyalarga ta'sirini o'rganish.
  - avtoklavda va quruq issiqlik yo'li bilan sterillashning sifatini nazorat qilish uchun bakterial test obyektlar bilan qo'yilgan tajriba natijalarini hisobga olish.

Xulosa chiqarish.

- bakteriyalar (stafilokokk va ichak tayoqchasi) kulturasi o'sishida ultrabinafsha nurlarining ta'sirini aniqlash.

2. Kimyoviy omillarning bakteriyalarga ta'sirini o'rganish.

- antiseptik va dezinfeksiya qiladigan moddalarning bakteriyalarga qarshi ta'sirini o'rganish uchun qo'yilgan tajribalarning natijasini aniqlash. Xulosa chiqarish.

## **Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlarga ta'siri**

Tashqi muhitning fizik, kimyoviy va biologik omillari mikroorganizmlarga turlicha ta'sir ko'rsatadi: bakteriotsid – bakteriyalarni o'limiga olib keladi; bakteriostatik – bakteriyalar ko'payishini to'xtatib qo'yadi; mutagen-nasliy belgilarini o'zgartiradi.

Fizik omillarga quyidagilar kiradi:

1. Harorat ta'siri.
2. Quritish ta'siri.
3. Nurlar ta'siri.

**Harorat ta'siri.** Bakteriyalarning turli vakillari ma'lum harorat diapazonida hayot kechiradi. Past haroratda yashovchi mikroorganizmlarni **psixrofillar** (-10 dan 40°C gacha) deb ataladi. Psixrofillarga asosan katta guruh saprofit bakteriyalar kiradi, lekin ba'zi patogen bakteriyalar past haroratda ko'paya oladi (masalan, psevdotuberkulez qo'zg'atuvchisi 4 °C da ko'payadi).

Ikkinchi guruh mikroorganizmlarni **mezofil** bakteriyalar deb yuritiladi. Ularning harorat yashash diapazoni 10 - 47°C, optimal yashash mezoni 37°C.

Uchinchi guruh mikroorganizmlar **termofil** bo'lib, 40-90° C da yashay oladi. Okean tubidagi qaynoq suv manbalarida yashovchi ba'zi bir bakteriyalar 250 - 300 °C gacha yashay oladi.

Ularning ichida patogenlari uchramaydi.

Yuqorida keltirilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, asosiy patogen bakteriyalar mezofillar bo'lib, 50°C dan yuqori harorat bakteriyalarning vegetativ shakliga salbiy ta'sir ko'rsatadi va oqsil, nuklein kislotalarini denaturatsiyaga uchratib, bakteriyalar o'limiga sabab bo'ladi.

**Quritishning ta'siri.** Suvsizlantirish ko'pchilik bakteriyalarning metabolitik jarayonlariga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Quritishga nisbatan chidamsiz patogen bakteriyalarga gonokokk, meningokokk, vabo, qorin tifi va boshqalar kiradi. Quritishga chidamli bakteriyalarga esa shilliq qatlam bilan himoyalangan bakteriyalar kiradi. Masalan, sil qo'zg'atuvchisi balg'amda 90 kun saqlanishi mumkin. Bundan tashqari, bakteriyalarning sporasi quritishga o'ta chidamli hisoblanadi. Mikrobiologiya amaliyotida quritish liofilizatsiyadan foydalaniladi. Liofilizatsiya vakuum sharoitida bakteriyalarni past haroratda



suvsizlantiradi, bu anabioz holatida bakteriyalar bir necha yil o'zining birlamchi xususiyatini o'zgartirmasdan saqlanadi. Bakteriologik immunologik preparatlarni saqlashda qo'llaniladi.

**Nurlar ta'siri.** Nurlarni tabiatiga qarab ikki guruhga bo'lish mumkin: ionlashtiruvchi (radiaktiv – rentgen, gamma) va ionlashtirmovchi (ultrabinafsha, infraqizil, quyosh nurlari).

Radiaktiv nurlar – gamma va rentgen nurlari bakteriyalarning NK lariga ta'sir etadi, radikallar hosil qiladi va o'limga olib keladi. Amaliyotda bu nurlardan bir marotaba qo'llaniladigan plastik mikrobiologik idishlar, shprislar, dorivor moddalarni sterilizatsiya qilishda foydalaniladi.

UF nurlar radiaktiv nurlarga nisbatan amaliyotda keng qo'llaniladi. Bakteriyalarga qisqa to'liqlik 250-270 nm ga teng bo'lgan UF nurlari ta'sir etadi. Bu nurlar bakteriyalarning nuklein kislotalariga ta'sir etib, ulardagi N- bog'larini uzadi. UF nurlar mikrobiologik amaliyotda ishdan oldin, keyin, ish joylari, bokslar, klinikalarda tug'ruq zallari, operatsiya oldi, operatsiya va boshqa xonalar, mikrobiologik amaliyotda bakteriologik, virusologik boks xonalari havosini zararsizlantirishda qo'llaniladi. Bu maqsadda to'liqlik uzunligi 200-400 nm ga teng bo'lgan UF lampalari ishlatiladi.

Fizik omillarning mikroorganizmlarga ta'siri tibbiyot amaliyotida aseptik maqsadlarda qo'llaniladi.

**Aseptika** – jarrohlik operatsiyalari vaqtida jarohatlarni, yaralarni bog'lashda, jarohat yuzasiga yoki organizmga diagnostik, davolash manipulyatsiyalar qo'llashda hamda mikrobiologik amaliyotda tekshirilayotgan materiallarga, oziqlik muhitga, bakteriyalarni ajratib olishda, qayta ekishlarda mikroorganizmlarning tushishiga qarshi ko'riladigan chora-tadbirlar yig'indisidir. Aseptik chora-tadbirlarga sterilizatsiya kiradi.

**Sterilizatsiya** (Sterillash) deb tashqi muhit obyektidagi mikroorganizmlarning vegetativ va sporeli shakllarini to'liqlik yo'q qilishga qaratilgan usullar yig'indisiga aytiladi. Sterillash fizikaviy, kimyoviy usullar bilan amalga oshiriladi:

- 1) yuqori harorat ta'siri ostida;
- 2) nurlar bilan (rentgen, radioaktiv va ultrabinafsha nuri);
- 3) mexanik yo'llar, ya'ni bakterial filtrlar orqali hamda kimyoviy usullar bilan sterillanadi.

Sterillashning fizikaviy usullari.

1. **Spirtoyka yoki gaz gorelkasi alangasida cho'g'lantirish.** Bu usuldan asosan bakteriologik qovuzloq, preparoval igna, pinsetlarni sterillashda foydalaniladi.

2. **Qaynatish yo‘li bilan sterillash.** Bu usul hozirgi kunda kam qo‘llaniladi, mayda jarrohlik rezina asboblari (kateter, xirurgik bush, endoskop), buyum va yopqich oynalar, shuningdek boshqa ayrim buyumlar sterillanadi. Ular sterilizatorlarga solinadi va ustidan suv quyiladi. Suvni yumshatish va qaynash temperaturasini oshirish uchun bikarbonat natriyning 1-2% li eritmasi qo‘shiladi. So‘ng 30 daqiqa davomida qaynatiladi. Ammo bu usul to‘liq sterillash imkonini bermaydi, chunki ayrim viruslar (masalan, gepatit virusi) va bakteriyaning sporalari yashash qobiliyatini saqlab qolishi mumkin.

3. **Quruq issiqlik bilan sterillash** – yuqori temperaturali shkaflarda (Paster pechi) quruq issiq havo orqali sterillash. Bu usul 165–180°C gacha qizdirilgan havoda mikroorganizmlarni o‘ldirish (bakteritsid) xususiyatiga asoslangan. Yuqori temperaturada paxtali probka, idish o‘ralgan qog‘ozlar biroz kuyib, jigarrangga aylanadi. Past temperaturada esa uzoq vaqt sterillashga to‘g‘ri keladi. Quruq issiqlik bilan shisha idishlar: Petri kosachasi, probirka, pipetka, kolbalar va boshqalar sterillanadi.

4. **Avtoklavda bug‘ bilan bosim ostida sterillash** ( 3-rasmga qaralsin).

Bu eng samarali sterillash usullaridan biri bo‘lib, faqatgina mikrobiologiya amaliyotida emas, balki klinik tibbiyotda ham keng tarqalgan. Avtoklavda ishlash uchun maxsus qo‘llanma va xavfsizlik qoidalariga qat‘iy rioya qilish lozim. Avtoklavda bosimning oshishi qaynash haroratining oshishiga olib keladi.

*11-jadval*

**Atmosfera bosimining qaynash temperaturasiga ta’siri**

Atmosfera bosimi	Qaynash temperaturasi
0,5 atm	80°C
1 atm	100°C
2 atm	121°C
3 atm	136 °C

Bakteriyalarga yuqori issiqlikdan tashqari, atmosfera bosimi ham ta’sir etadi, bakteriyalarning sporasini 120°C da o‘ldiradi. Eng ko‘p tarqalgan rejim 2 atm – 121 °C -15 – 20 daqiqa. Bu rejimda korroziyaga uchramaydigan metal instrumentlar, bog‘lash uchun ishlatiladigan materiallar, xalatlari sterillanadi. Uglevodli oziqli muhitlar 0,5 atm. da 15 daqiqa, mikroba tushgan materiallar 2-2,5 atm bosimida 20-25 daqiqa (11-jadval) davomida sterillanadi.

Bug'ning temperaturasi avtoklavga o'rnatilgan maxsus yuqori darajali termometr bilan o'lchanadi va sterillash sifati yuqori temperaturada eriydigan kimyoviy moddalar: benzonaftol (110°C), benzol kislotasidan (120°C) foydalaniladi.

**5. Kox apparati yoki avtoklavda oquvchi bug' bilan sterillash.** Sterillashning bu turi bug'ning bakteriya vegetativ shakllariga ta'sir qilish kuchiga asoslangan. Bu usul bilan yuqori temperaturada sterillash mumkin bo'lmagan materiallar, vitaminli va qandli oziqli muhitlar sterillanadi. Mikroorganizmlarni to'liq yo'qotish uchun bo'lib-bo'lib sterillash usuli qo'llaniladi. Materiallar 100°C da (yoki 80–90°C) 20–30 daqiqa davomida 3 kun surunkasiga sterillanadi. Bu holda vegetativ hujayralar o'ladi, sporalar esa qoladi va bir sutka ichida vegetativ hujayralarga aylanadi. Keyingi ikki marta qaytadan sterillash natijasida ular butunlay o'ladi va material to'liq sterillangan hisoblanadi.

**6. Tindalizatsiya.** Materiallar 5-6 kun bir soat davomida 56-58°C da surunkasiga bo'lib-bo'lib sterillanadi. Bu usul yuqori temperaturada tez buziladigan moddalarni (qon zardobi, vitamin va boshqalar) sterillashda qo'llaniladi.

**7. Pasterizatsiya.** Bu usul temperaturaning bakteriya sporasiga emas, faqat vegetativ hujayrasiga ta'sir qilish xususiyatiga asoslangan. Material 50-65°C da 15-30 daqiqa yoki 70-80°C da 5-10 daqiqa qizdiriladi, so'ngra tezlikda sovutiladi. Ko'pincha ichimliklar va oziq-ovqat mahsulotlari (vino, pivo, sharbat, sut va boshqalar) pasterizatsiyalanadi.

**8. Ultrabinafsha nurlar bilan sterillash.** Bu usul 260-300 mkm to'lqin uzunligidagi ultrabinafsha (UF) nurlarning mikroorganizmlarni o'ldirish xususiyatiga asoslangan. Bokslardagi, operatsiya xonalaridagi, bolalar tashkilotlaridagi havoni sterillash uchun turli quvvatdagi (BUV-15, BUV-30) maxsus bakteriyalarni o'ldiruvchi (bakteritsid) lampalar qo'llaniladi.

**Mexanik (filtrlab) sterillash.** Bu usulda ma'lum diametrli mayda-mayda teshikka ega bo'lgan filtrlar bo'lib, mikroorganizm va ularning sporalari shu filtrdan o'tmay qolishiga asoslangan. Amaliy laboratoriyalarda materiallarni turli diametrdagi teshikka ega bo'lgan asbest, keramik, shishali va membranali filtrlar bilan filtrlash keng yo'lga qo'yilgan.

Bakteriologik amaliyotda Zayts filtri va asbest filtrlar qo'llanib kelingan. Bu filtrlar Zeyts voronkasining silindr bo'limidagi ajraladigan qismiga o'rnatiladi. So'ngra ikkala qism boltlar bilan birlashtiriladi. Voronkaning trubkali tomoni rezina probkadan o'tkaziladi va probka Bunzen kolbasiga mustahkam o'rnatiladi. Filtrlashdan oldin asbest filtr o'rnatilgan sistema avtoklavda sterillanadi. Membranali filtrlar alohida

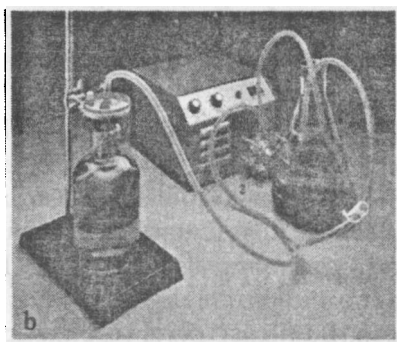
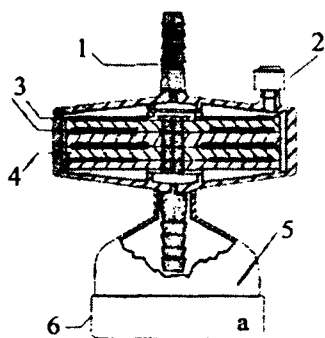
qaynatish usuli bilan sterillanadi, birlashtiriladi va uning yordamida suyuqlik filtrlanadi.

Membrana filtrlarining turli modifikatsiyalari ishlab chiqilgan (41-rasm). Rasmda zamonaviy membrana filtr moslamasining ishlash prinsipi keltirilgan (b). Shisha kolbadagi sterillashga mo'ljallangan (1) suyuqlik qisqarib ishlovchi nasos yordamida (2) membrana filtr moslamasidan bosim ostida o'tkaziladi (sterillash sifatli bo'lishi uchun filtrlovchi moslamaga bir nechta filtr qo'yilgan) va sterillangan suyuqlik maxsus konteynerga (3) yig'iladi.

Asbestli filtrlar 35 va 140 mm diametrdagi chiqariladi; ular filtrlaydigan (F) va sterillaydigan (SF) turga ajraladi. Membranali filtrlar yupqa plastinkadan iborat bo'lib, qalinligi 0,1-0,5 mm, diametri 35 mm ni tashkil etadi va ular nitrokletchatka yoki atsetilsellyulozadan tayyorlangan. Bu filtrlar teshiklarning o'lchamiga ko'ra 1-5 gacha (teshiklar o'lchami 350-1200 nm) belgilanadi. Ikkala turdagi filtrlar bir marta foydalanish uchun mo'ljallangan.

Filtrlash usulidan suyuq, qizdirishga chidamsiz materiallarni (qon zardobi, antibiotiklar) sterillashda foydalaniladi. Bundan tashqari, bu usul yordamida bakteriyaning toksinlari, faglari va hayot faoliyatida ajralib chiqadigan turli mahsulotlari olinadi.

**Kimyoviy omillarning mikroorganizmlarga ta'siri.** Kimyoviy omillar ham mikroorganizmlarga bakteriotsid va bakteriostatik ta'sir ko'rsatadi. Kimyoviy moddalar amaliyotda sterillashda, antiseptikada va dezinfeksiyada keng qo'llaniladi.



41-rasm. Membrana filtr bilan sterillash. a) membrana filtrlash apparatining ko'ndalang kesimi: 1-1/4 qadamli ulanuvchi trubka; 2-sovutish moslamasi; 3-o'rnatilgan filtrlar; 4-filtr o'rnatiluvchi moslama; 5-filtrat yig'uvchi idish; 6-idish poqpoq'i. b) filtrlovchi moslamaning ko'rinishi.

**Kimyoviy sterillash usuli.** Bakteriyalarni o'ldirish (bakteritsid) xususiyati bo'lgan turli kimyoviy moddalardan foydalaniladi. Ammo amaliy laboratoriyalarda keng qo'llanilmaydi. Bu usullarda zaharli gazlardan (etilen oksidi va brommetil aralashmasi, formaldegid) foydalaniladi. Bu moddalar suv ishtirokida bakteriyalar fermentlarini faol guruhlarini, boshqa oqsillarni, DKN va RNKlarning aktivligini yo'qotadi va bakteriyalar o'limiga sabab bo'ladi.

Gaz bilan sterillash maxsus kameralarda 18 dan 80°C temperaturada olib boriladi. Klinikalarda formaldegid gazidan, sanoat miqyosida esa etilen oksidi va aralashmasi qo'llaniladi.

Kimyoviy sterillash oldidan sterillashga tayyorlangan obyektlar ishlov berilib, quritiladi. Sterillashning bu usuli xodimlar va bemorlar hamda tashqi muhit uchun xavfsiz hisoblanadi, chunki asosiy sterillovchi agentlar predmetlarda qolmaydi.

Oxirgi yillarda tibbiyotda temperaturaga chidamsiz bo'lgan materiallardan tayyorlangan instrumentlar (optik moslamalar, endoskop, bronxoskop) keng ko'lamda ishlatilmoqda. Bu instrumentlarni sterillashda termik gaz qo'llash usullari asboblarni optik moslamalariga ta'sir qilishini hisobga olib, kimyoviy eritmalar bilan sterillash taklif qilinmoqda. Instrumentlar tozalangandan va dezinfeksiya qilingandan keyin ma'lum vaqt (45 dan 60 daqiqagacha) eritmalarda sterillanadi. Bu priborlar sterillashdan so'ng sterillangan suv bilan yuviladi. Sterillangan instrumentlar maxsus, steril, berkiluvchi idishlarda saqlanadi. Hamma bajarilayotgan ishlar steril bokslarda va aseptik qoidalarga qat'iy rioya qilingan holda bajariladi.

Kimyoviy moddalar amaliyotda asosan antiseptik va dezinfektant sifatida qo'llaniladi.

**Antiseptika** – bu jarohatlangan yoki sog'lom teri va shilliq qavatlarda yuqumli protsessni qo'zg'atish qobiliyatiga ega bo'lgan, mikroorganizmlarni o'ldirishga qaratilgan kompleks davolash va profilaktika tadbirlaridir. Antiseptika sifatida turli mikroblarga qarshi ta'sir ko'rsata oladigan kimyoviy birikmalardan foydalaniladi

**Dezinfeksiya** – tashqi muhit obyektlaridagi patogen mikroblarning vegetativ formasini tugatishga, kamaytirishga qaratilgan tadbirlar yig'indisiga aytiladi. Dezinfeksiya ma'lum maqsadlarga muvofiq qilinadi. Masalan, kundalik dezinfeksiya ishlari operatsiya xonalari, bokslar ish joylarini (profilaktik) va yuqumli kasallik chiqqan joyni (yakunlovchi) dezinfeksiya qilinadi. Antiseptik va dezinfektant moddalarga kiradi:

**1. Spirt yoki alkogollar** (etanol, izopronol va bosh.). Antiseptik sifatida spirtning 60-70 % suvli eritmasi qo'llaniladi. Spirtlar hujayra oqsillarni

cho'ktirish va hujayra devori yog'larini yuvib yuboradi. To'g'ri qo'llanilganda ko'pchilik bakteriyalarning vegetativ formalariga effektiv bakteritsid ta'sir ko'rsatadi, lekin bakteriyalar sporasi va zamburug'larga ta'sir ko'rsatmaydi.

**3. Galogenlar** va galogen tutuvchi (yod va xlor preparatlari) preparatlar oqsillarning gidroksil gruppalari bilan birikib, ularning strukturasi buzadi, antiseptik sifatida qo'llaniladi:

- yod tutuvchi preparatlar – yodning 5 % spirtli eritmasi, yodinol (1% suv va 0,1% yod tutadi), 0,3% kaliy yodid, yodanid, Lyugol eritmasi shilliq qavatlarini ishlov berishda qo'llaniladi.

Xlor saqlovchi moddalar amaliyotda dezinfektant sifatida qo'llaniladi. Keng tarqalgan dezinfeksiya qiluvchi moddalarga xlorli ohak (0,1-10% li eritma), xloramin B tarkibida 25-29% aktiv xlor tutadi (0,5-5% li eritma), xlorgeksidin biglyukanat, gipoxlorat kalsiyning uchdan ikki asosiy tuzi–DTSGK (0,1 – 10% li eritma) kiradi. Dezinfeksiya qiluvchi moddalarni tanlash va uning konsentratsiyasini aniqlash dezinfeksiya qilinadigan obyektga va materiallarga bog'liq.

**4. Fenol** preparatlari dezinfektant va kam konsentratsiyasi antiseptik sifatida ishlatiladi (rezorsin, xlorofen, timol)

**5. Aldegidlar** mikroorganizmlarning oqsil, aminokislotalari sulfgidril va karboksil gruppalariga ta'sir etadi, ularning strukturasi buzadi, bakteriyalar o'limiga sabab bo'ladi. Aldegidlar tibbiyotda konservant sifatida qo'llaniladi (formaldegid 8%, glutaraldegid 2-2,5%). Formaldegid suyuqligi va mazi, sovuni (lizoform) xirurgik praktikada qo'llaniladi. Urotropindan (geksametilintetramin) nordon muhitda formaldegid ajralib chiqadi, urologik praktikada qo'llaniladi.

**6. Oksidlovchilar** ta'siri asosan metabolitlarni va fermentlarni oksidlashlari mumkin yoki ularni denaturatsiyaga uchratadi (vodorod perioksidi, kaliy permanganat), jarrohlik amaliyotida keng qo'llaniladi.

**7. Kislotalar** antiseptik sifatida qo'llaniladi va bundan tashqari, benzoy, uksus, salitsil kislotalari ko'proq teri kasalliklarini davolashda qo'llaniladi.

**8. Ishqorlar** ko'proq ammiakning spirtli eritmasi xirurgik praktikada ishlatiladi.

**9. Bo'yovchi moddalar** keng (brilliant ko'ki, metilen ko'ki, rivanol) tibbiyot amaliyotida antiseptik preparatlar sifatida foydalaniladi.

**10. Metallar va ularning tuzlari** oqsil va boshqa organik birikmalarni cho'ktirib qo'yish xususiyatiga ega, antiseptik va dezinfektant sifatida: mis sulfat (mis kuporos), kumush nitrati (lyapis) qo'llaniladi.

## **Metodik ko'rsatmalar**

**Yuqori temperaturaning bakteriyaga qarshi ta'sirini tekshirish.** Ichida oziqli bulyoni bo'lgan uchta probirkaga sporalari va sporasiz kultura aralashmasi shimdirilgan ipak ip solinadi. Birinchi probirka avtoklav qilinadi, ikkinchisi qaynatiladi; uchinchi (kontrol) probirkaga hech qanday ta'sir ko'rsatilmaydi. Probirkalar 37°C ga 24 soat davomida termostatga qo'yiladi. Qo'yilgan tajribaning natijasi aniqlanadi. Agar yuqori temperatura bakteriyalarni vegetativ va sporalari formasiga avtoklavda bakteritsid ta'sir ko'rsatgan bo'lsa, bulyon o'zgarmaydi, tiniqligicha qoladi, agar ta'sir ko'rsatmagan bo'lsa, bulyon loyqalanadi. Shunday natijalar qolgan ikki probirkada ham o'rganiladi va xulosa chiqariladi.

**Ultrabinafsha nurlarining bakteriyalarga qarshi ta'sirini tekshirish.** Ikki GPA quyilgan Petri kosachasiga stafilokokk yoki E. coli kulturesi ekiladi va birinchi kosacha qopqog'i ochiq qoldiriladi, ikkinchi kosachaning qopqog'i yopib qo'yiladi. So'ngra BUV-30 lampasi bilan 15 daqiqa davomida lampada markazidan 10-20 sm oraliqda kosachalarga nur ta'sir etiladi. Nurlatilgan va nurlatilmagan (kontrol) bakteriyalar kulturesi 37°C da 16-24 soat davomida termostatga qo'yiladi. So'ngra natijalar ko'riladi: agar ochiq qoldirilgan Petri kosachasida bakteriyalarning o'sishi kuzatiladi, UF nuri ta'sir etgan bo'lsa, nurlangan bakteriyalar kulturesi agar yuzasida o'smaydi. Ikkinchi kontrol kosachada oziqli muhit yuzasida bakteriya kulturesi ko'paygan bo'ladi. Har ikkala natija bo'yicha xulosa chiqariladi.

**Antiseptik va dezinfeksiya qiladigan moddalarning bakteriyaga qarshi ta'sirini aniqlash.**

**1. Kimyoviy omillardan fenolning E.coli bakteriyasiga ta'sirini o'rganish.**  
a) E. coli kulturesi; b) spora hosil qiluvchi (B. anthracoidis) kulturelari, (5%) fenol, (5%) lizol eritmasi solinib tayyorlangan qiyalantirilgan GPA va kontrol sifatida kimyoviy moddalarsiz muhitlarga ekilib, keyingi kungacha termostatga qo'yiladi. Qo'yilgan tajriba natijalari aniqlanadi va xulosa chiqariladi.

**2. Tekshiriladigan moddalar eritmasiga filtr qog'oz disklari shimdiriladi va ular Petri kosachasidagi oziqli agar yuzasiga ekilgan test stafilokokk yoki ichak tayoqchasi kulturesi ustiga qo'yiladi. Kosachalar bir sutka davomida 37°C da termostatda saqlanadi. Disklar atrofida bakteriyalar o'smasa, u holda tekshirilayotgan moddalarning bakteriyalarga qarshi ta'siri haqida xulosa chiqariladi.**

# 10-MAVZU. XIMIYATERAPEVTIK MODDALAR VA ANTIBIOTIKLAR. MIKROORGANIZMLARNING ANTIBIOTIKLARGA SEZGIRLIGINI ANIQLASH

## **Mashg'ulot rejasi**

1. Antibiotiklarning biologik kelib chiqishi, ximiyaviy tarkibi, ta'sir mexanizmi, ta'sir doirasiga qarab qilingan zamonaviy tasnifini muhokama qilish.

2. Muhim antibiotik gruppalarining bakteriyalarga qarshi ta'sir mexanizmlarini (jadval va sxemalar orqali) muhokama qilish.

3. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezuvchanligini sifat va miqdor jihatidan aniqlashning zamonaviy usullari.

4. Antibiotik aktivligini odam organizmidagi suyuqliklarda (qon, siydik va boshqalar) aniqlash usuli.

5.  $\beta$  - laktamazani aniqlash usuli.

## **Namoyish qilish**

1. Antibiotiklarning har xil preparatlari.

2. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirlikni aniqlash uchun ishlatiladigan, antibiotiklar bilan shimdirilgan, standart qog'ozli disklar.

3. Muhim gruppadagi antibiotiklarning hozirgi zamon tasniflarini (biologik kelib chiqishi, kimyoviy tarkibi, mikroba ta'sir mexanizmi va ta'sir doirasi) ko'rsatuvchi jadval va sxemalar.

## **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Disk usuli bo'yicha stafilokokkning har xil antibiotiklarga sezgirlikni aniqlash uchun tajriba o'tkazish.

2. O'tkazilgan tajribalar bo'yicha quyidagilarni aniqlash kerak: a) ketma-ket suyultirish usuli bilan antibiotikning juda ham past konsentratsiyasini har xil bakteriya kulturalariga ta'sir qilishini; b) bemor qon zardobidagi, siydikdagi antibiotikni MIK mg/ml aniqlash; v) penitsillin ta'sirini yo'q qiluvchi turli xil stafilokokk shtammlarining  $\beta$ -laktamazani hosil qilishdagi xususiyatini.

**Ximiyaterapevtik preparatlar** – yuqumli kasalliklarni etiotrop davolashda qo'llaniluvchi kimyoviy moddalar bo'lib, mikroorganizmlarga tanlab ta'sir ko'rsatadi va makroorganizmlarga nisbatan zararsizdir. Har bir antimikrob preparatlarni qo'llashda uning fiziologik imitatsiya prinsipi tuziladi, ya'ni qo'zg'atuvchi uchun maxsus bo'lgan fiziologik boshqaruv jarayonlariga preparatning ta'sir qiluvchi molekulyar konfiguratsiyasi, qo'shilmalari aniqlanadi. Hozirgi kunda bir necha o'n minglab preparatlar olingan bo'lib, ular yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi bakteriyalarning hayot faoliyatini to'xtatib qo'yishi mumkin. Lekin farmakologik xususiyatlari, talablari bo'yicha bir necha yuz antibiotiklar amaliyotda qo'llaniladi. Preparatlarning foydaliligi, terapevtik ta'sir



doirasini ta'minlovchi xususiyatlar yig'indisi bilan ifodalanadi. Ya'ni organizmga kiritilganda uning struktura doimiyligini saqlashi yoki aktiv metabolitlar hosil qilishi, to'qimalarga va biologik suyuqliklarga adsorbsiya va eliminatsiya qilinish tezligi, tanlab ta'sir qilishi va mikroorganizmlarning sezgirligi inobatga olinadi.

Preparatlarning foydalilik kriteriyasi asosini aktivlik spektori ham tashkil qiladi.

**Aktivlik spektori** – antimikrob preparatlar bakteriyalarning faqat vegetativ formasiga ta'sir ko'rsata oladi, ularning spora va sista formalariga ta'sir etmaydi. Preparatlar o'zining antibakterial biologik aktivligini namoyon qilishi uchun quyidagi xususiyatlarga ega bo'lishi zarur:

- mikroob hujayrasiga kira olishi;
- ma'lum nishon strukturalar bilan birikishi va uni o'zgartirishi;
- shu bilan bir qatorda, o'z strukturasini saqlashi yoki metabolitlarga aylanishi.

Ximiyaterapevtik preparatlarni tanlashda uning aktivlik spektori va mikroorganizmlarning sezgirlik xususiyati hisobga olinadi. Preparatlar maxsus aktivligi bo'yicha bakteriyalarga, zamburug'larga, sodda jonivorlarga va viruslarga qarshi bo'lishi mumkin. Bundan tashqari, ta'sir qilish spektor doirasiga qarab bo'linadi:

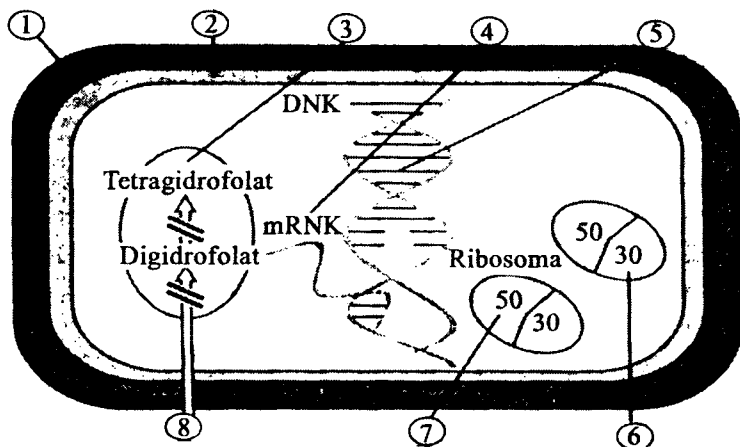
- tor doirada ta'sir qiluvchi preparatlar (ma'lum gruppada mikroorganizmlar uchun aktiv bo'ladi);
- keng doirada ta'sir qiluvchi preparatlar (katta guruh bakteriyalar uchun aktiv hisoblanadi);
- ximiyaterapevtik preparatlar bakteriostatik (ko'payish va o'sishini to'xtatishi) yoki bakteriotsid (ularni o'ldirishi) ta'sirga ega bo'ladi va mikroorganizmlarning turli strukturalariga tanlab ta'sir ko'rsatadi (42-rasm).

Ximiyaterapevtik preparatlar ta'sir qilish omiliga qarab quyidagicha bo'linadi:

- 1) sodda jonivorlarga ta'sir qiluvchi (protivoprotozoynie);
- 2) zamburug'larga qarshi (protivogribkovie);
- 3) viruslarga qarshi (protivovirusnie);
- 4) bakteriyalarga qarshi (antibakterialnie).

Ximiyaterapevtik preparatlar kimyoviy strukturasini bo'yicha ham bir nechta guruhlarga bo'linadi:

1) sulfanilamidlar – sulfanil kislota hosilalari. Bu preparatlar bakteriyalar uchun zarur bo'lgan o'sish faktorlarini ingibitsiya qilib (foliy kislota va boshq.) qo'yadi. Ularga streptotsid, norsulfazol, sulfametizol, sulfametaksazol va boshqalar kiradi;



- 42-rasm. Ximiyaterapevtik preparatlarning bakteriyalar hujayrasiga ta'sir etish mexanizmi. 1. Hujayra devoriga (penitsillin, sefalosporin, vankomitsin). 2. Sitoplazmatik membranaga (polimiksinar). 3. Foliy kislotasi sinteziga (sulfanilamidlar, trimetoprim). 4. RNK sintezini buzuvchi (rifampitsin). 5. DNK sintezini buzuvchi (ftorxnolinlar). 6. 30 S ribosoma subbirligi ingibitorlari (aminoglikozidlar, tetratsiklin). 7. 50 S ribosoma subbirligi ingibitorlari (eritromitsin, linkomitsin). 8. r -aminobenzoy kislotasi.

2) nitrofuran asoslari – ta'sir mexanizmlari bakteriyalarning bir nechta fermentlar sistemasini to'xtatib qo'yadi. Bularga – furatsilin, furagin, furazolidon, nitrofurazon va boshqalar kiradi;

3) imidazol asoslari azollar – zamburug'larga qarshi ta'sirga ega. Steroidlarning biosintezini ingibitsiya qiladi va hujayra sitoplazmatik membranasi o'tkazuvchanligini oshirib yuboradi. Bularga nistatin, klotrimazol, ketokonazol, flukonazol va boshqalar kiradi;

4) daminopirimidinlar – mikroob hujayrasi metabolizmini buzadi. Bularga trimetoprim, pirimetamin va boshqalar kiradi;

5) xinolonlar – mikroob hujayrasida DNK sintezining turli bosqichlarini buzadi. Bularga nalidiksov kislotasi, sinoksatsin, norfloksatsin, siprofloksatsin va boshqalar kiradi;

6) antibiotiklar – bularga tabiiy, sun'iy va sintetik antibiotiklar kiradi.

## Antibiotiklar

Antibiotiklar turli bakteriya yuqumli kasalliklarini davolashda qo'llanilayotgan ximiyaterapevtik vositalar orasida asosiy o'rinni egallaydi. Antibiotiklar kelib chiqishi, kimyoviy tuzilishi, bakteriyaga qarshi ta'sir mexanizmi va ularga sezgir bakteriyalar soniga (ta'sir doirasiga)

ko'ra qator guruhlarga bo'linadi. Tor ta'sir doirasiga ega bo'lgan antibiotiklar (penitsillin, sefalosporinlar) bilan bir qatorda, keng ta'sir kuchiga ega bo'lgan antibiotiklar (aminoglikozidlar, tetratsiklin, levomitsetin va boshqalar) ham qo'llaniladi.

Antimikrob preparatlarni amaliyotda keng (ba'zida noto'g'ri) qo'llanishi, bakteriyalarning preparatlarga nisbatan chidamli (rezistent) variantlarini shakllanishiga olib keladi. Hozirgi kunda bakteriyalarning antimikrob preparatlarga nisbatan rezistent shtammlari paydo bo'lishining ikkita asosiy mexanizmi mavjud: tabiiy va hayot davomida orttirilgan.

Tabiiy rezistentlik tur belgisi hisoblanadi va avloddan avlodga o'tadi. Bularning hujayralarida asosan preparatlar uchun nishonlar bo'lmaydi yoki preparatlar hujayralarga kira olmaydi.

Hayot davomida bakteriyalarda shakllangan rezistentlik amaliyotda muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Bakteriyalarning rezistentligi ularning preparatlarni faolsizlantiruvchi fermentlar ishlab chiqarishiga yoki preparat ta'sir qiluvchi metabolitini o'zgartirishi modifikatsiya qilishiga bog'liq bo'ladi.

Ba'zi hollarda bakteriyalar o'zining nasliy xususiyatlariga bog'liq bo'lmagan holda rezistentlik belgilarini namoyon qiladi. Ko'pchilik antibakterial preparatlar aktiv o'sayotgan, bo'linayotgan bakteriyalarga ta'sir qiladi. Ba'zi bakteriyalar esa organizmda latent formaga kirib oladi va to'qimalarda uzoq yillar yashashi mumkin (sil qo'zg'atuvchisi). Ba'zi bakteriyalar esa o'zining hujayra tarkibidagi antibakterial preparatlar ta'sir qiluvchi nishon strukturalarini kamaytirishi mumkin. Masalan, penitsillin ta'sirida ma'lum bakteriyalar transformatsiyalanish xususiyatiga ega bo'lib, L-formaga o'tib olishadi (hujayra devorisiz). Bu esa bakteriyani penitsilliga nisbatan chidamli bo'lishiga olib keladi.

Bakteriyalar o'zlarini genomini o'zgartirishlari oqibatida ham antibakterial preparatlarga nisbatan rezistentlik xususiyatini shakllantirishlari mumkin. Masalan, mutatsiya natijasida bakteriya o'zining preparat ta'sir qiluvchi strukturasini, preparat kiruvchi porinlarini, preparat bilan bog'lanuvchi oqsillarini yoki fermentlarini o'zgartirishi mumkin (masalan, ribosomadagi 30 S subbirlikni, DNK ga taalluqli RNK polimeraza).

Mikroorganizmlar bundan tashqari, rezistentlikni antibakterial preparatlarga nisbatan shtammlarini seleksiyalashi oqibatida ham namoyon qilishlari mumkin. Ba'zi bakteriyalar populyatsiyasida antibakterial preparatlarga nisbatan chidamli shtammlari paydo bo'lishi, keyinchalik bu shtammlar populyatsiyada dominant bo'lishiga olib kelishi

mumkin. Shunday usul bilan tillarang stafilokokkni metitsillinga nisbatan chidamli shtammi hosil bo'lgan (MRSA ing. methicillin resistant S.aureus).

Bundan tashqari, bakteriyalarning antibakterial preparatlarga nisbatan rezistentlik xususiyatini bakteriyalarning xromosomasiga taalluqli bo'lmagan irsiy ma'lumotlarni tashib yuruvchi plazmidlar ham boshqaradi. Plazmidlar tarkibidagi transpazonlar bakteriyalarni bir qancha preparatlarga nisbatan chidamligini namoyon qilishi mumkin. Shunday qilib, bakteriyalarning antibakterial preparatlarga nisbatan rezistentlik xususiyati ularning xromosomasiga yoki tarkibidagi plazmidlarga (R- plazmid, ang. "resistantu" – chidamli) bog'liqdir, bu xususiyatlar keyingi populyatsiyalarga o'tkaziladi (genetika bo'limiga qaralsin).

Yuqorida keltirilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, amaliyotda antibakterial preparatlarga nisbatan rezistentlik xususiyatini namoyon qiluvchi bakteriyalarning keng tarqalganligi, yuqumli kasalliklarni davolashda ko'plab muammolarni keltirib chiqarmoqda. Shuning uchun bemorni davolash maqsadida, avvalambor, ajratib olingan qo'zg'atuvchi shu antibiotikka chidamsizmi-yo'qmi bilgan holda dorini tanlay bilish zarur.

Hozirgi vaqtda bakteriyalar antibiotiklarga bo'lgan sezuvchanligi darajasiga ko'ra uchta kategoriyaga bo'linadi: sezgir, o'rtacha chidamli va chidamli.

### **Metodik ko'rsatmalar**

Mikroorganizmlarning antimikrob preparatlarga sezgirligini aniqlash klinik bakteriologning asosiy vazifalaridan biri hisoblanadi. Ajratib olingan bakteriyalarning antibakterial preparatlarga sezgirlik darajasini bilish yuqumli kasalliklarni to'g'ri davolashda, antibakterial preparatni ratsional tanlashda va kasallikning tarqalishi, yuqishini oldini olishda (profilaktikada) ahamiyatlidir. Shu bilan birga, bakteriyalarning antibiotiklarga nisbatan (rezistogrammasi) natijalarni olinishi epidemiologik tekshiruvlar uchun muhim marker bo'lishi mumkin. Har qanday sharoitda ham bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirliklarini o'rganishdagi natija miqdoriy ko'rsatkichda berilishi kerak. Ajratib olingan yuqumli kasallik qo'zg'atuvchisini antibiotiklarga sezgirligi har doim va davolash jarayonida aniqlanib turilishi kerak. Bu maqsadda bir necha usullar qo'llaniladi: agarda, diskodiffuziya usuli, seriyali qator suyultirish usuli, E - test va boshqa usullar.

Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlashda qaysi usullarni qo'llashdan qat'i nazar, uning ko'rsatkichi MIK (minimal ingibitsiya

konsentratsiyasi) hisoblanadi, ya'ni ximiyaterapevtik preparatlarning minimal konsentratsiyasi, standart sharoitda tekshirilayotgan kulturaning o'sishini to'xtatib qo'yuvchi miqdoriga va MBK (minimal bakteriotsid konsentratsiyasi) preparatlarni minimal konsentratsiyasi, standart sharoitda tekshirilayotgan kulturaga bakteriotsid ta'sir ko'rsatishiga aytiladi. MIK va MBK kattaligini sezgirlik kriteriyasi terapevtik indeksi hisoblanadi (TI). TI ni seriyali suyultirish, diskodiffuziya, E – testlar orqali aniqlash mumkin.

12-jadval

**O'rtacha terapevtik doza yuborilganda antibiotiklarning qondagi konsentratsiyasi (K - mkg/ml)**

Antibiotik	K	Antibiotik	K
Ampitsillin	15-25	Polimiksin B	10-15
Benzilpenitsillin	0,52 (ED/ml)	Rifampitsin	15-25
Vankamitsin	10-15	Streptomitsin	20-25
Gentamitsin	6-8	Tetratsiklin	3-5
Kanamitsin	15-20	Tobramitsin	6-8
Linkomitsin	10-15	Fuzidin kislota	10-20
Metitsillin	10-15	Xloramfenikol	5-10
Oksatsillin	4-6	Sefaleksin	15-25
Oleandomitsin	3-5	Eritromitsin	3-5

**Terapevtik indeks (TI)**  $TI = MIK/K$  – minimal ingibitsiya konsentratsiyasi. K – terapevtik dozada qo'llanilgan antibiotikning kasallik o'chog'ida yoki qondagi (mkg/ml) miqdori.

Terapevtik indeks me'yorda 0,3 dan yuqori bo'lmasligi kerak. Indeks ko'rsatkichi qanchalik kichik bo'lsa, preparatning samaradorligi shunchalik yuqori bo'ladi.

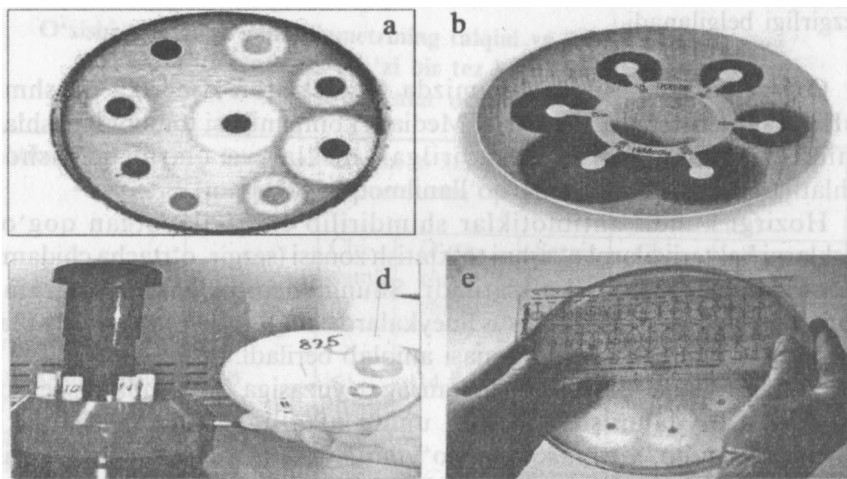
**Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgiriligini seriyali suyultirish usuli bilan aniqlash sxemasi**

Ingrediyentlar	Probirkalar										Bakteriya kontroli	Antibiotik kontroli
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Go'shtli peptonli bulyon o'lchami, ml.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Antibiotik ( tarkibida 100 mkg/ml saqlovchi eritma)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	- *	-	1
Seriyali suyultirish	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
Antibiotik konsentratsiyasi, mkg/ ml	50	25	12.5	6.2	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	-	50
Bakteriya suspenziyasi, ml	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-
Termostatda 18-24 soat mobaynida 37°C da inkubatsiya qilinadi												
Natijalar	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

*Eslatma:* \* 1 ml probirkadan olib tashlanadi, hamma probirkalarda bir xil miqdorda suyuqlik bo'lishi uchun; + tekshirilayotgan bakteriya kulturasini o'sganligi; - o'smasligi; antibiotikning minimal ingibitsiya konsentratsiyasi (MIK) 0,8 mkg/ml.

**Antibiotikning qon zardobidagi erishilgan miqdoriga qo'llanilgan antibiotikning o'rtacha terapevtik dozasini yuborish orqali erishiladi.** Antibiotikning qondagi konsentratsiyasi bemorning tana massasiga, preparat dozasi, organizmga yuborish yo'li va sxemasiga hamda preparatning organizmdan chiqib ketish tezligiga bog'liq. Hozirgi kunda bu jihatlari preparatning absolyut ko'rsatkichi hisoblanmaydi, chunki ba'zi to'qimalarda preparatning konsentratsiyasi qondagi miqdoridan yuqori bo'lishi mumkin.

**Qator suyultirish usuli bilan antibiotiklarga bo'lgan bakteriyalar sezgiriligini aniqlash.** Bu usul bilan antibiotikning minimal ingibitsiya konsentratsiyasi (MIK) va minimal bakteritsid konsentratsiyasi (MBK) aniqlanishi mumkin. Tekshirishni oziqli muhitlarning turli miqdorida (1-10 ml) o'tkazish mumkin. Tajribada bakteriyalarning oziqlanish talabiga qarab suyuq muhitlar ishlatiladi. Probirkalardagi (ko'proq o'nta) suyuq oziqli muhitda preparat (tetratsiklin) seriyali suyultiriladi. Preparat konsentratsiyasi 100 dan 0,1 mkg/ml gacha kamayib boradi (preparatning boshlang'ich dozasi uning aktivligiga bog'liq bo'ladi). Har bir probirkada muhitning miqdori 1 ml bo'lishi kerak. Tajribada kontrol sifatida mikrob kulturasi va antibiotik olinadi, so'ngra har bir suyultirilgan probirka (0,1 ml dan) tarkibida 1 ml da  $10^6$  bakteriya hujayrasi bo'lgan (*S. aureus*) bakteriya suspenziyasi qo'shiladi. Oxirgi 11 - probirkaga



**43-rasm. Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgiriligini aniqlash. A – stafilokokk kulturasi antibiotiklarga sezgiriligini disk diffuziya usulida aniqlash; b – bitta antibiotikning turli dozasi shimdirilgan disklarni qo'llash; v – antibiotik disklarni dispensor yordamida qo'yish; g – bakteriyalarni o'sishi to'xtagan zona diametri ni maxsus lineyka yordamida aniqlash.**

1ml bulyon va 0,1 ml bakteriya suspenziyasi (kulturaning kontroli), 12 probirkaga 1ml bulyon va antibiotik quyiladi (13-jadval). Ekilgan probirkalar 37°C da keyingi kunga qadar termostatda saqlangach, quyqalashib o'sgan ozuqa muhit kontrol kulturaga solishtiriladi va tajriba natijasi aniqlanadi.

Ma'lumki, tetratsiklinning o'rtacha terapevtik dozasi yuborilganda uning K ko'rsatkichi 4 mkg/ml teng (maksimal yuborilganda 10 mkg/ml). Shundan kelib chiqqan holda tetratsiklinni  $TI = 0,8 : 4,0 = 0,2 (> 0,3)$ , ya'ni o'rganilgan qo'zg'atuvchi tetratsiklinga sezgir ekan. Agar maksimal dozasi bilan davolansa ( $0,8 : 10 = 0,08$ ) juda yaxshi natija berishi mumkin (13-jadval).

Ichak guruhi bakteriyalarini bu usulda aniqlashda glyukoza va indikator qo'shilgan bulyondan foydalanish ham mumkin. Bakteriyalar muhitda glyukozani kislotaga hosil qilib parchalaydi va muhit pH nordon tomonga siljiydi, bu esa indikator rangining o'zgarishiga olib keladi. Oxirgi probirkadagi oziqli muhit tiniq va yaltiroq bo'ladi, bu esa tekshirilayotgan bakteriya kulturasi o'sishini juda kam dozadagi antibiotik to'xtatganini ko'rsatadi.

**Disk diffuziya usuli bo'yicha bakteriyaning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.** Tekshirilayotgan bakteriya kulturasi "gazon" usulida oziqli agarli Petri kosachasiga ekiladi, masalan standartlashtirilgan mikroob ( $10^6$  KOE/ml) suspenziyasini steril tampon bilan ho'llab ekiladi, so'ngra pinset bilan ma'lum miqdorda antibiotiklar shimdirilgan qog'oz diskleri bir xil oraliqda agar yuzasiga joylashtiriladi (43a-rasm). Ekilgan kosachalar 37°C da bir kun davomida termostatda saqlanadi. Disk atrofidagi stafilokokk kulturasi o'sishi to'xtagan zona diametriga ko'ra, uning ma'lum antibiotiklarga bo'lgan sezgirligi belgilanadi.

Oxirgi yillarda Respublikamizda O'zbekiston-Amerika qo'shma («Feniks Interneshnl LTD» «Hei Media») kompaniyasi tomonidan ishlab chiqilgan va antibiotik shimdirilgan disklar va ularni qo'yishda ishlatiladigan asboblarning keng qo'llanilmoqda (43-rasm).

Hozirgi kunda antibiotiklar shimdirilib chiqarilayotgan qog'oz diskleri bakteriyalarni o'sishni to'xtatish zonasi (sezgir, o'rtacha chidamli va chidamli) diametri ko'rsatiladi. Shunga asosan bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirlik maxsus lineykalarda belgilanib, maxsus jadvallar yordamida uning sezgirlik darajasi aniqlab beriladi.

Antibiotiklarni bakteriya ekilgan agar yuzasiga qo'yishda dispensor asbobdan foydalanish mumkin, uning afzalligi shundan iboratki, antibiotiklar bir xil masofaga qo'yiladi va ularning sterilligi to'liq ta'minlanadi va vaqtdan yutiladi (43v-rasm).

Bundan tashqari, maxsus halqasimon disklar bir antibiotikning har xil konsentratsiyasi bilan shimdirilgan bo'lsa (43b-rasm), u holda tekshirilayotgan bakteriya kulturasi o'sishini to'xtatgan preparatning MIK yoki MBK dozasi aniqlanadi.



**Antibiotiklarning odam organizmidagi qon, siydik va boshqa suyuqliklarda aniqlash.** Shtativga ikki qator probirkalar o'rnatiladi. Birinchi qatorda etalon antibiotiklar suyultiriladi, ikkinchi qatorda esa tekshirilayotgan suyuqlik. Keyin har bir probirkaga Giss muhitida glyukoza bilan tayyorlangan test-bakteriya tomiziladi. Tekshirilayotgan suyuqlikda penitsillin, tetratsiklin, eritromitsin aniqlanayotgan bo'lsa, test-bakteriya sifatida Staph. aureus ning standart shtammi, agar streptomitsin aniqlansa, u holda – E. coli qo'llaniladi. Ekilgan probirkalar 37°C da 18-20 soat davomida termostatga qo'yiladi. Keyin muhitning quyqalashganligi hamda test-bakteriyalar glyukozani parchalashi natijasida indikator ta'siri ostida muhit rangining o'zgarishiga ko'ra, tajribadan xulosa chiqarish mumkin. Antibiotik konsentratsiyasi test-bakteriyalar o'sishini to'xtatadigan, tekshiriladigan suyuqlikning eng yuqori konsentratsiyasini xuddi o'sha test-bakteriyalar o'sishini to'xtatadigan etalon antibiotikning minimal konsentratsiyasiga ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, tekshirilayotgan suyuqlikning test-bakteriyalar o'sishini to'xtata oladigan maksimal konsentratsiyasi 1:1024 ga teng bo'lib, etalon antibiotikning test-bakteriyalar o'sishini to'xtata oladigan minimal konsentratsiyasi esa 0,313 mg/mg ga teng bo'lsa, u holda 1 ml tekshirilayotgan suyuqlikdagi antibiotik konsentratsiyasi  $1024 \times 0,313 = 320$  mg/ml ni tashkil etadi.

14-jadval

**O'sishi to'xtagan zona diametrining talqini va MIK (mg/ml) ning ekvivalent ko'rsatkichi (ba'zi bir tez ko'payuvchi, uchrovchi bakteriyalar uchun)**

Antibiotik	Diskdagi miqdori (mg)	O'sishi to'xtagan zona diametri, mm			MIK (mg/ml) ning ekvivalent ko'rsatkichi	
		Chidamli	O'rtacha chidamli	Sezgir	Chidamli	Sezgir
Ampitsillin	10	≤13	14-16	≥17	≥32	≤ 8
Enterobakteriyalar uchun		≤28	-	≥29	β-lakt.	≤ 0.25
Stafitokokklar uchun		≤18'	19-25	≥26	≥8	≤ 0.25
β-gemol. Streptokokklar	10					
Benzilpenitsillin	10 ЕД	-	-	-	-	-
Enterobakteriyalar uchun						

Stafilokokklar uchun	10 ЕД	≤28	-	≥29	β-lakt	≤0.25
β-gemol. Streptokokklar	10 ЕД	≤19	20-27	≥29	≥4	≤0.12
Korbenitsillin Enterobakteriyalar uchun	100	≤19	20-22	≥23	≥64	≤0.16
Stafilokokklar uchun	-	-	-	-	-	-
β-gemol. Streptokokklar	-	-	-	-	-	-
Vankomitsin Enterobakteriyalar uchun	30	≤19	10-11	≥12	≥32	≤4
Stafilokokklar uchu	30	-	-	≥15	≥32	≤4
β-gemol. Streptokokklar	30	-	-	≥17	-	≤1
Tsefprizol Hayemophius spp.	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Stafilokokklar uchun	30	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
β-gemol. Streptokokklar	30	-	-	≥24	-	≤0.5
Rifampitsin Hayemophius spp.	5	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1
S. pneumoniaye	5	≤16	17-18	≥19	≥4	≤1
Stafilokokklar	5	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1
Kanamitsin	30	≤13	14-17	≥18	≥25	≤6
Gentamitsin	10	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
Streptomitsin	10	≤11	12-14	≥15	-	-
Eritromitsin	15	≤13	14-22	≥23	≥8	≤2
Doksitsiklin	30	≤12	13-15	≥16	≥16	≤4
Norfloksatsin	10	≤12	13-16	≥17	≥32	≤4
Xloramfenikol	30	≤12	13-17	≥18	≥32	≤8

**Staph. aureus bakteriyasining β-laktamaza ishlab chiqarish xususiyatini aniqlash.**

Qo'llanib kelinayotgan ko'plab usullar ichida eng keng tarqalgan β-laktamaza testi hisoblanib, bu usulda nitrotsefin - sefalosporin shimdirilgan disklar qo'llaniladi, antibiotik gidrolizga uchrasa, rangi

o'zgaradi. Petri kosachasidagi oziq muhitda o'sgan mikroblar koloniyasi ustiga nitrotsefin shimdirilgan disk qo'yiladi, 10 daqiqadan (stafilokokk uchun 60 daqiqa) keyin  $\beta$ -laktamaza ishlab chiqaruvchi bakteriyalar diskni sariq rangdan jigar rangiga o'zgartiradi. Musbat reaksiya, tekshirilayotgan kultura  $\beta$ -laktamaza hosil qilish xususiyatga ega deb xulosa chiqarish mumkin va bu kultura, hamma  $\beta$ -laktamazaga sezgir penitsilinlarga chidamli hisoblanadi. Lekin bu usul bilan aniqlangan rezistentlikda kulturani sefalosporinlarga chidamli ekan, degan xulosa chiqarish kerak.

### **Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlashning yangi usullari**

Oxirgi yillarda bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlashda kompyuterlashtirilgan va avtomatlashtirilgan sistemalardan foydalanilmoqda. Ajratib olingan kulturani identifikatsiyasi va antibiotiklarga sezgirligini aniqlash kompyuterlashtirilgan va avtomatlashtirilgan. Bu usullarning afzalligi, asosan bakteriologiya mutaxassislarini uzoq davom etuvchi identifikatsiya jarayonidagi qo'l ishlaridan ozod qilish va yuqumli kasalliklarga tashxis qo'yishning ham muddatini kamaytirishga qaratilgan. Bu usullarning qo'llanilishini chegaralanishi faqat ularning qimmatligidir. Ishlab chiqilgan usullarning ichida MDH davlatlarida keng tarqalgan quyidagi (Baxter Scan AutoCAN-4, Cistema Alamar, E - test) usullardir.

**Seriya suyuqlash bilan antibiotiklarga bakteriyalarning sezgirligini avtomatlashtirilgan (Baxter Scan AutoCAN-4) sistemasi orqali aniqlash.** Ajratib olingan kultura mikropanellarga tomizilib, 24 soat ichida antibiotiklarga sezgirliги aniqlab beriladi. Usulning mohiyati, muhitda o'sayotgan bakteriyalarning fotometriya, nefelometriya usullarda o'sishini aniqlashga, ya'ni mikropanel lunkasida bakteriyaning o'sishi yoki o'smasligi ular o'rtasidagi optik zichlikning farqlanishiga asoslangan. Oxirgi yillarda ko'plab yangi qurilmalar ishlab chiqilmoqda, masalan, VITEK qurilmasida 4-6 soat ichida javob olish mumkin. **E - test orqali bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirligini aniqlash.** Usulning mohiyati shundan iboratki, lentali maxsus qog'ozga antibiotiklarning kamayib ( 128, 64, 32, 16, 8, 4 mg/ml) boruvchi dozasi shimdiriladi. Bu usulda ham antibiotik shimdirilgan lentali qog'ozlar standart agarga "gazon" usulida ekilgan tekshirilayotgan kultura yuzasiga qo'yiladi. Inkubatsiya qilingandan keyin antibiotik shimdirilgan lentali qog'oz atrofida ellipssimon o'sishi to'xtagan zona hosil bo'ladi, ya'ni uning o'lchami antibiotikning kam dozasi tomonga qarab torayib boradi va o'sish zonasi boshlangan joydan oldingi ko'rsatkich preparatni MIK hisoblanadi.

# 11-MAVZU. MIKROORGANIZMLAR EKOLOGIYASI. TUPROQ, SUV, HAVO MIKROFLORASI. ATROF-MUHIT OBYEKTLARINI SANITAR-BAKTERIOLOGIK JIHATDAN BAHOLASH

## Mashg'ulot rejasi

1. Atrof-muhitdagi mikroflorani o'rganish usullari.
2. Suv, havo va tuproqni sanitari-bakteriologik usullari bilan baholash.
3. Membran filtr usuli bo'yicha suvning koli-indeksini aniqlash.
4. Krotov apparati va sedimentatsiya usuli bilan havodagi mikroorganizmlar sonini aniqlash.
5. Tuproqning perfringeis-titri va koli-titri aniqlash usullari.

## Namoyish qilish

1. Gemolitik streptokokkning qonli agarda o'sishi.
2. Staph. aureus ning tuxum sarig'i va sut qo'shilgan tuzli agarda o'sishi.
3. Clostridium perfringens Kitt-Tarotsi muhitida o'sishi.
4. Krotov apparati, membranali filtrlar.
5. Tuproq, suv va havoga sanitar-bakteriologik baho berishda qo'llaniladigan usullar sxemalari.

## Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq

1. Quyidagi tajribalar natijasiga asosan havo, suv, tuproqning sanitari-bakteriologik holatini baholash;
  - a) havodagi mikroorganizmlar sonini sedimentatsiya usulida aniqlash;
  - b) vodoprovod suvi va ochiq suv havzalaridagi suvning umumiy mikroorganizmlar sonini aniqlash;
  - v) suvning koli-titri va koli-indeksini hisoblab topish;
  - g) tuproqning koli-titri va perfringens-titri, mikroorganizmlar sonini hisoblab topish.

## Mikroorganizmlar ekologiyasi

**Mikroorganizmlarning ekologiyasi** mikroorganizmlarning o'zaro va tashqi muhit bilan aloqalarini, munosabatlarini o'rganuvchi fan hisoblanadi. Tibbiyot mikrobiologiyasini o'rganish obyekti mikroorganizm bilan inson organizmi o'rtasidagi kompleks munosabatlar hisoblanadi.

**Mikroorganizmlarning tabiatda tarqalganligi.** Mikroorganizmlar tabiatdagi hamma (suv, havo, tuproq) muhitda uchraydi. Ularning bunchalik keng tarqalishiga asosiy sabab ularning oziqlanish mexanizmlarining turli ko'rinishda bo'lishidir. Mikroorganizmlar

tabiatdagi tashqi muhit omillariga tez moslashadi, shuning uchun boshqa organizmlar yashashi mumkin bo'lmagan sharoitlarda va muhitlarda ham ular hayot kechirishadi. Mikroorganizmlarning bunchalik tabiatda keng tarqalishiga yana bir sabab, ularning o'lchamini o'ta kichikligi va havo oqimlari, suv bilan uzoq masofalarga tez tarqalishidir.

Mikroorganizmlar ma'lum yashash mintaqalarda biosenozni (yunon. bios- hayot, + koinos – birga yashash) shakllantiradi. Har bir mikroob biosenozni o'zining aniq mikroorganizmlar tarkibiga ega bo'lib, shu muhitning autohton (yunon. autos – o'ziniki + chthon – joy, mamlakat) mikroorganizmlari deb yuritiladi, ya'ni bu mikroorganizmlar shu yashash muhitida doim uchraydi. Bu mikroblarni yashash muhitiga boshqa allohton (yunon. allos – begona, chthon – joy, mamlakat) bakteriyalar, parazit mikroorganizmlar tushib qolishi mumkin. Tabiiy biosenozlarda (tuproq, suv, havo) mikroorganizmlarning yashashi tashqi muhit omillari ta'siriga bog'liq bo'lib, agar tashqi omillar ularning yashashiga ijobiy yoki salbiy ta'sir etsa, bu biosenozdagi mikroblarning yashashi, ko'payishi to'xtab qolishi mumkin.

**Biosenozdagi mikroorganizmlarning o'zaro munosabatlari tiplari.** Mikroorganizmlar bir-birlari bilan o'ta kuchli raqobatda yashaydi. Mikroorganizmlarning biosenozda o'zaro yashash munosabatlari simbioz ko'rinishlarda bo'lishi mumkin.

**Simbioz (yunon. symbiosis – birga yashamoq)** mikroorganizmlarning uzoq yillar ma'lum muhitlarda birga hayot kechirishi bo'lib, xo'jayin hujayrasidan tashqarida yashasa, ektosimbioz; hujayra ichida hayot kechirsa, endosimbioz deb ataladi. Ektosimbiozning tipik vakillariga ichak bakteriyalari (*E. coli*, *Bacteroides* va boshq.) misol bo'la oladi. Endosimbioz vakillariga esa plazmiidlar, proviruslar, profaglar kiradi. Tabiiy sharoitda simbiozning bir qancha shakllari uchraydi.

**Mutualizm** – (lot. mutuus, o'zaro) simbiozda yashovchi mikroorganizmlar o'zaro foyda keltirib yashashlari mumkin. Masalan, ichakning normal mikroflorasi odam uchun foyda keltiradi (moddalar almashinuvida, vitaminlar sintezida va boshq.), shu bilan bir qatorda, bu mikroorganizmlar doimo muhitning noqulay sharoitlaridan (qurib qolishdan, ekstremal temperaturadan) himoyalaniib va oziqli muhitlar yetarli bo'lishini ta'minlab turadi.

**Kommensalizm** – simbioz shakli bo'lib, muhitda yashovchi mikroorganizmlardan biri foyda ko'radi, lekin ikkinchi guruh bakteriyalarga ziyon keltirmaydi. Tipik kommensal mikroblarga ichak tayoqchasi, laktobakteriyalarni kiritish mumkin. Lekin ko'pchilik

kommensal bakteriyalar shartli patogenlar ham bo'lishi mumkin, ya'ni ma'lum holatlarda kasallik keltirib chiqarishi mumkin.

**Parazitizm** – antagonistik simbioz shakli bo'lib, bir guruh bakteriyalar boshqa organizmlar hisobiga yashab (tekinho'r), unga ziyon yetkazishi (yunon. Para – oldida, sitos – ovqat) tushuniladi. Parazit bakteriyalar xo'jayin organizmiga kirib, kasallik keltirib chiqarishi mumkin, shuning uchun ularni patogen mikroorganizmlar ham deb ataladi. Parazitlarni hujayra ichida yashovchi (viruslar, xlamidiyalar, rikketsiyalar) va hujayradan tashqarida yashovchi (ko'pchilik bakteriya, zamburug'lar) shakllari bo'lishi mumkin. Ba'zi bakteriyalar yashash sharoitiga qarab parazit tipida yoki saprofit bo'lib yashashi kuzatiladi. Bunday bakteriyalarni **fakultativ parazitlar** ham deb ataladi. Agar bakteriyalar o'zlari uchun kerakli metabolitlarni boshqa organizmlar hisobiga to'liq o'zlashtirishsa, bunday mikroorganizmlarni **obligat parazitlar** deb yuritiladi.

**Satellizm** – ba'zi bir mikroorganizmlar ishlab chiqargan metabolitlari boshqa bakteriyalarning ko'payishini stimullashi mumkin. Masalan, sartsinlar va stafilokokklar o'sganda o'sish faktori ishlab chiqarishadi va Hayemophilus avlodi bakteriyalari o'sishini ta'minlaydi. Tipik satellitlarga gepatit B virusini ham kiritish mumkin, gepatit delta virusi gepatit B virusi ishtirokida ko'payadi.

**Tuproq mikroflorasi.** Tuproq mikroorganizmlar uchun asosiy tabiiy yashash muhiti hisoblanib, tabiatning shakllanishida, tozalanishida va moddalar almashinuvida (azot, uglerod, oltingugurt, temir) faol qatnashadi. Tuproq mikroflorasining tarkibi tuproqning turiga, ishlov berilishiga, geografik zonasiga, namlik, harorat va organik moddalar bilan qanchalik ifloslanishiga va boshqa xususiyatlarga bog'liq. Tuproqning mikroflorasi juda ham ko'p va turli bakteriya vakillari bo'lishi mumkin. Tuproqning autoxton mikrobioseneziga quyidagi bakteriyalar kiradi: mikobakteriyalar, psevdomonadlar, spora hosil qiluvchi, azot biriktiruvchi, aktinomitsetlar, zamburug'lar. Bu mikroorganizmlar har doim o'simliklar va bir-birlari bilan simbioz ko'rinishlarida yashaydi.

Tuproqning alloxton mikroflorasiga asosan odam va hayvonlarning normal va patogen mikroflorasi kirishi mumkin, lekin bu mikroorganizmlar tuproqda ko'paymaydi va ma'lum davrgacha saqlanib turishi mumkin. Shuning uchun tuproqning yuqumli kasallik manbasi bo'lishini e'tirof etgan holda, patogen bakteriyalarni tuproqda qancha vaqtgacha saqlanishini bilish va tuproqning epidemiologik nuqtai nazardan xavfsiz ekanligini aniqlashda muhim amaliy ahamiyatga ega.

## Tuproqning patogen mikroorganizmlari

Tuproqda doimiy yashaydigan (rezident) mikroblar	Odam va hayvon chiqindilari bilan tuproqqa tushadigan mikroblar	
	Uzoq vaqt saqlanadigan mikroblar	Qisqa vaqt saqlanadigan mikroblar
Clostridium botulinum, teri osti mikozini keltirib chiqaruvchi Actinomyces turi va ba'zi bir mikotoksikozlar	Bacillus anthracis, Clostridium tetani, Clostridium – anaerob yuqumli kasallik (gazli gangrena) qo'zg'atuvchilari	Salmonella, Shigella, Vibrio, Brucella, Francisella, Mycobacterium, Leptospira, Pseudomonas, Enteroviruslar, Yashur virusi

**Suv mikroflorasi.** Suv ham mikroorganizmlarning tabiiy yashash muhitlaridan biri hisoblanadi. Suv mikroflorasining tarkibi sho'r dengiz, okean suvlari va chuchuk suv havzalariga bog'liq. Suvda mikroorganizmlarning taksonomik gruppalarining qariyb hamma vakillari uchraydi. Suv mikrofloralari majmuasi mikroblar planktoni deb yuritiladi.

Suvning autoxton mikroflorasiga suvda doimo yashovchi mikroblar majmuasi kiradi va ko'proq tuproq mikroflorasiga o'xshab ketadi, chunki suv va tuproq o'rtasida doimo tabiiy munosabatlar ro'y berib turadi (qor, yomg'ir). Suvning maxsus mikroflorasiga quyidagilar kiradi: Micrococcus candidianis, M. roseus, Sarcina lutea, Bacteriumaquatilis communis, Pseudomonas, Leptospira, Proteus anaeroblardan Clostridium, Chromobacterium violaceum. Alloxtion florasini esa asosan suvga tasodifan tashqi muhitdan tushgan mikroorganizmlar yig'indisi tashkil qiladi va ular suvda nisbatan uzoq saqlanib turmaydi.

Ochiq suv havzalarining mikroflorasi miqdoriy ko'rsatkichlari doim o'zgarib turadi, uning o'zgarib turishi asosan suv havzasi tipiga, uning ifloslanish darajasiga, metereologik holatga va yil fasllariga bog'liq bo'ladi.

Suvning bakteriyalar bilan ifloslanishi asosan unga ishlatilgan chiqindi suvlarning tozalanmasdan tushishi oqibatida ro'y beradi. Suvga bu iflos suvlar bilan odam va hayvonlarning normal mikroflorasidan tashqari shartli patogenlar va patogen mikroorganizmlar ham tushishi (ichak yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilari, tulyaremiya, iyersiniozlar,

leptospirozlar, viruslar, poliomiyelit virusi, gepatit A va boshq.) mumkin. Bundan tashqari, odamlar va hayvonlarning cho‘milishi oqibatida ham suvga alloxtan mikroorganizmlar tushadi. Suv patogen bakteriyalarning ko‘payishi uchun noqulay muhit hisoblanadi. Suv tabiiy sharoitda doimo tozalanib turadi, chunki suvning avtoxtan mikroflorasi kuchli antogonistik xususiyatga ega, shu bilan birgalikda bu mikrofloralar suvga tushgan organik moddalarni tez o‘zlashtirib oladi va bu o‘z navbatida, suvni odam va hayvon chiqindilaridan tozalanishiga olib keladi. Lekin suv biosenozida mikroorganizmlarning miqdoriy va sifat ko‘rsatkichlari bir xil ko‘rinishda bo‘lmaydi va turli faktorlar ta‘sirida doimo o‘zgarib turadi, ya‘ni saproblik holatiga bog‘liqdir. Saproblik (sapronost) termini suv havzasidagi umumiy xususiyatlar va shular bilan birga, suvdagi mikroblar tarkibi, miqdori va suvdagi ma‘lum organik, neorganik moddalarning konsentratsiyasini belgilaydi. Suvning doimo tozalanib turishi oqibatida suvning biosenozi o‘zgarib turadi. Ifloslanish darajasiga qarab, suv havzalarida polisaprob, mezosaprob, oligosaprob zonalar qabul qilingan.

Polisaprob zonada (o‘ta ifloslangan) katta miqdorda yengil parchalanuvchi organik moddalar saqlanadi, kislorod konsentratsiyasi minimal darajada va 1 ml suvda milliondan ko‘p mikroblar uchraydi.

Mezosaprob zonada esa oksidlanish va nitrifikatsiyalanish jarayonlari ustun turadi, suv tozalanib boradi, 1 ml suvda 100 ming atrofida mikroblar bo‘lishi mumkin.

Oligosaprob zonada suvning o‘z-o‘zidan tozalanishi nihoyasiga yetgan, organik moddalar suv tarkibida deyarli bo‘lmaydi va 1 ml suvda 10 dan 1000 tagacha mikroblar bo‘lishi mumkin.

Patogen bakteriyalar polisaprob zonada juda ko‘p uchraydi, sekin-asta o‘lib, tozalanib mezosaprob zonada kamroq va oligosaprob zonada esa deyarli uchramaydi.

### **Havo mikroflorasi**

Suv va tuproqdan farqliroq, havoda mikroblar hayot qobiliyatini vaqtincha saqlab turadi, so‘ngra namlikning yetishmasligi, quyosh nurlarining ta‘siri, harorat o‘zgarishi, oziq moddalar yo‘qligi kabi noqulay omillar ta‘sirida o‘lib ketadi. Mikroblarning havoda saqlanib turishini ma‘lum darajada muallaq turuvchi suv, chang zarralari ta‘minlab turadi. Uy, turar joy xonalari havo mikroflorasi tarkibi va miqdori jihatidan atmosfera florasi bilan tubdan farq qiladi. Bakteriyalar va ularning patogen formalari uy, turar joy xonalari uchrasa bir muncha atmosfera havo



mikroflorasidan ko'p uchraydi, chunki bu muhitga mikroob kasal odam va hayvonlar, bakteriya tashib yuruvchilardan tushishi mumkin.

Havo mikroflorasi ham shartli doimo (rezident) topiluvchi (*Micrococcus roseus*, *M. flavus*, *M. candidanis*, *Sarcina . flava*, *S. alba*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces* va *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* zamburug'lar va sporadik doimo topilmaydigan (suv va chang zarralari bilan tushuvchi ) mikroorganizmlarga bo'linadi.

Patogen mikroorganizmlar og'iz bo'shlig'i yoki nafas yo'llari kasallanganda atrofda mavjud patogen mikroorganizmlar: stafilokokk, streptokokk, bo'g'ma, ko'kyo'tal, sil qo'zg'atuvchilari, viruslardan gripp, qizamiq qo'zg'atuvchilari tarqaladi. Bu mikroorganizmlar havoda aerazol tarkibida uchraydi. Aerazol – bu kolloid sistema bo'lib, asosiy tarkibi havo, suyuqlik yoki qattiq moddalar, zarralardan iborat bo'ladi. Aerazol o'lchami 10 – 2000 nm ga teng bo'lishi mumkin. Odam aksirganda 40 000 dan ortiq aerazol hosil bo'ladi. Aerazol o'lchami, elektrik zaryadi, havodagi harakat tezligi bo'yicha tomchi, changli va tomchi yadroli fazalarga bo'linadi. Biz uchun eng muhimi, tomchi yadroli aerazol bo'lib, uning o'lchami 100 nm atrofida bo'ladi, aerazolning bu fazasi uzoq vaqt havoda saqlanishi, tarkibida ma'lum miqdorda namlik bo'lganligi uchun chidamli aerodispers sistemani havoda shakllantiradi. Ulardagi namlik bakteriyalarni havoda uzoq vaqt saqlanishini ta'minlaydi. Masalan, yadroli aerozolda bo'g'ma qo'zg'atuvchisi 1 sutkagacha, gemolitik streptokokk 2 kungacha, sil qo'zg'atuvchisi 18 kungacha hayot faoliyatini saqlab qolishi mumkin. Bu esa, odatda, yopiq binolarda yuqumli kasalliklar qo'zg'atuvchilariga havo-tomchi yo'li bilan tarqalishi uchun qulay sharoit yaratiladi, chunki hona havosida patogen bakteriyalar miqdori ko'p bo'lishi mumkin.

### **Atrof-muhit obyektlarini sanitariya-bakteriologik jihatdan baholash**

Atrof-muhitdagi turli obyektlar: suv, tuproq, havo va oziq-ovqat mahsulotlarining sanitariya-gigiyena holatini baholash uchun sanitariya-bakteriologik tekshiruvlar o'tkaziladi. Tekshiruv o'tkazishdan maqsad, ko'rsatilgan obyektlarning epidemiologiya jihatidan xavfsiz ekanligini aniqlash. Ulardan patogen mikroorganizmlarni ajratib olish epidemiologik nuqtai nazardan xavfli ekanligini ko'rsatadi. Bu mikroorganizmlar obyektlarda kam miqdorda bo'lib, ular havo, suv va tuproqda ko'paymaydi, ularni to'g'ridan-to'g'ri ajratib olish ham juda qiyin. Shu boisdan, sanitariya-mikrobiologiya amaliyotida tashqi

muhitning patogen mikroblar bilan ifloslanish ehtimolini bilvosita ko'rsatkichlar – sanitariya-ko'rsatkich mikroorganizmlarining topilishi asosida aniqlanadi.

Obyektning mikroblar bilan zararlanganligini umumiy mikroblar soni (UMS) bo'yicha aniqlash mumkin. Ya'ni, tekshirilayotgan obyektlarning ma'lum hajmi yoki massasidagi (1 ml suvda, 1 g tuproqda, 1 m<sup>3</sup> havoda) mikroorganizmning umumiy soni aniqlanadi. Tuproq va suvdagi mezofil aerob va fakultativ bakteriyalarning umumiy miqdori bo'lib, agarli muhitda 37°C va 24 soatda 2 marotaba kattalashtirilganda ko'zga ko'rinuvchi koloniyalar hosil qiladi. Sanitar ko'rsatkich bakteriyalarning borligi ikkita ko'rsatkich (t i t r va i n d e k s) orqali baholanadi. Bitta sanitar ko'rsatkich bakteriyasi topilgan suv va tuproqning eng kam miqdoriga titr va 1 l suyuqlikda, 1 g tuproqda yoki zich moddada, 1 m<sup>3</sup> havoda topilgan sanitariya-ko'rsatkich bakteriyalar soniga – indeks deyiladi.

Sanitar-ko'rsatkich bakteriyalarga odam va hayvon organizmidagi doimiy mikrofloraning vakillari kiradi. Ular ichak yoki nafas yo'llarida yashaydi. Ular quyidagi xususiyatlarga ega:

1) mikroorganizmlar doimiy ravishda odam va hayvon organizmida yashashi va tashqi muhitga ko'p miqdorda najas yoki nafas yo'llaridan shilimshiq tomchilar bilan ajralishi;

2) mikroblar tashqi muhitda ko'paya olmasligi (oziq-ovqatlardan tashqari) yoki uning ko'payishi juda qisqa bo'lishi;

3) atrof-muhitda, ichak yoki nafas yo'lida parazitlik qiluvchi patogen bakteriyalar qancha vaqt yashasa, ular ham shuncha vaqt mobaynida yoki ulardan ko'proq yashash qobiliyatiga ega bo'lishi;

4) tashqi muhitga ularning chidamligi shundaki, o'zlari singari yashash muhitlariga ega bo'lgan patogen bakteriyalarga o'xshash bo'lishi yoki ulardan ustun turishi va o'z xususiyatini o'zgartirmasligi;

5) tashqi muhitda ularga yashash xususiyatlari yaqin bo'lgan, o'xshash bakteriyalarning bo'lmasligi;

6) ularni aniqlash, ajratib olish va identifikatsiya usullari oson va iqtisodiy jihatdan qulay bo'lishi.

Keltirilgan xususiyatlar bir qator bakteriyalarga xos bo'lib, atrof-muhitdagi turli obyektlar uchun sanitar-ko'rsatkich bakteriyalar deb qabul qilingan (16-jadval).

**Tashqi muhitning xilma-xil obyektlarida aniqlanadigan sanitar -  
ko'rsatkich mikroblari**

Tekshirilayotgan obyekt	Ifloslanish xarakteri	Sanitar-ko'rsatkich bakteriyalar
Suv	Najas bilan	Ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar (E. coli, Citrobacter freundii, Enterobacter ayerogenes) Str. fecalis.
Tuproq	Najas bilan	Ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar ( E. coli, Citrobacter freundii, Enterobacter ayerogenes) Str. fecalis, Clostridium perfringens
Oziq-ovqat mahsulotlari	Chiriydigan tashlandiqlar	Termofil bakteriyalar, Proteus vulgaris
	Najas bilan	Ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar, Str. fecalis, Proteus vulgaris
	Og'iz ajralmalaridan	Staph. aureus, Str. pyogens
Kundalik foydalaniladigan predmetlar va ro'zg'or buyumlari	Najas bilan	Ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar, Str. fecalis, Proteus vulgaris
	Og'iz ajralmalaridan	Staph. aureus, Str. pyogen
Havo	Og'iz ajralmalaridan	Staph. aureus, Str. pyogen

Ichak tayoqchasi guruhidagi sanitar-ko'rsatkichli bakteriyalar (ITGB) Enterobacteriaceae oilasining turli avlodlariga mansubdir. Tashqi muhitning xilma-xil obyektlariga sanitar-bakteriologik baho berishda unga qo'yilgan maqsad va vazifalarga asoslanib, ITGB aniqlanadigan sanitariya-ko'rsatkich mikroblar 3 ta guruhga bo'linadi.

A. Bu guruhga kiruvchi ITGB quyidagi talabga javob berishi zarur: ular umumiy mezofil aerob va fakultativ anaerob bakteriyalar bo'lib, oziqli muhitlarda laktoza va glyukozani yoki faqat glyukozani 37°C da kislotaga va gaz hosil qilib parchalashi va oksidaza aktivligiga ega bo'lmasligi kerak. Bu ITGB ga E. coli, Citrobacter, Enterobacter lar kiradi va ularni koliform bakteriyalar (KB) deb yuritiladi. SKB ga bunday

talab tabiatan “toza” bo‘lgan (suv) yoki termik ishlov berilgandan keyin toza bo‘lgan obyektlarga qo‘yiladi. Bunday mahsulotlarda hech qanday ITGA bo‘lmasligi shart. Bunday mahsulotlarga ichimlik suvlari (artezian, xlorangevod vodoprovod suvlari, distillangan suv), termik ishlov berilgan oziq-ovqat mahsulotlari (kolbasa, kotletlar, baliq va boshq.), sut va sut mahsulotlari va dezinfeksiya sifatini tekshirish uchun olingan(smivi) yuvindilar kiradi. Hamma tekshirish, ekish usullari 37°C da olib boriladi.

B. Bu guruhga kiruvchi ITGB bakteriyalarning aniqlanishi tashqi muhit ma’lum bo‘lmagan davrda najas bilan ifloslanganligini bildiradi. Bular ham laktoza va glyukozani yoki faqat laktozani 43-44,5°C da kislota va gaz hosil qilib parchalashi va oksidaza aktivligiga ega bo‘lmasligi, ya’ni bu bakteriyalar yuqori temperaturada ham glyukozani kislota va gazgacha parchalash xususiyatini yo‘qotmasligiga asoslangan. Termotolerant koliform bakteriyalar (TKB). Bu ITGB ga E. coli, Citrobacter, Enterobacter lar kiradi. Bunday talab ITGB tashqi muhit obyektlarini ifloslanish ehtimolidan saqlab bo‘lmaslik holatlarida qo‘yiladi. Bunday obyektlarga suv (ochiq havzalardagi, chiqindi suvlar), tuproq va termik ishlov berilgandan keyin ham ifloslanish ehtimoli yuqori bo‘lgan oziq-ovqatlar kiradi. Hamma tekshirish, ekish usullari 43-44,5°C da olib boriladi.

V. Bu guruhga kiruvchi ITGB ni aniqlanishi obyektlarni yangi (yaqinda) najas bilan ifloslanganligini bildiradi. Bu guruh ITGB ning oldingi guruhlardan farqi E. coli laktozani 43-44,5°C da kislota va gaz hosil qilib parchalaydi. Shunday qilib quyidagilar SKB hisoblanadi:

1. ITGB laktoza va glyukozani kislota va gaz hosil qilib, 37°C da parchalasa.

2. Koliform bakteriyalari (ITGB) hisoblanadi, qachonki ular laktoza va glyukozani kislota va gaz hosil qilib, 37°C da 24 soatda parchalasa.

3. Najas termotolerant koliform bakteriyalari (ITGB) hisoblanadi, faqat laktozani kislota va gaz hosil qilib, 43-44,5°C da parchalasa.

**Enterokokklar** – enterokokklarning hamma turlari va variantlari sanitar ko‘rsatkich xususiyatini namoyon qiladi va bir qator SKB talablariga javob beradi:

a) Enterokokklar ichakning doimiy mikroflorasi hisoblanadi, ular ichak tayoqchasi miqdoridan kam bo‘lsa ham;

b) Enterokokklar tashqi muhitda ko‘paya olmaydi;

v) Enterokokklar tashqi muhitda o‘z xususiyatlarini o‘zgartirmaydi va yengil ajratib olish mumkin;

g) Tashqi muhitda enterokokklarning analoglari yo‘q;

d) Enterokokklar ichak tayoqchasiga nisbatan tashqi muhitda tezroq o'radi, shuning uchun ularni aniqlash tashqi muhit obyektlarini yangi najas bilan ifloslanganligidan darak beradi;

e) Enterokokklarning eng asosiy xususiyatlaridan biri, ularning tashqi muhit omillariga chidamliligi bo'lib, shu asosda ularning differensatsiyasi Sherman testlari asosida qilinadi.

1. Enterokokklar qizdirishga chidamli, 60°C da 30 daqiqagacha chidaydi. Shuning uchun ularni termik ishlov berish va pasterizatsiya sifatini aniqlashda qo'llaniladi.

2. Enterokokklar yuqori konsentratsiyali osh tuziga (6,5-17%) chidamli. Shuning uchun dengiz suvlari va tuzlangan mahsulotlarni tekshirishda qo'llaniladi.

3. Enterokokklar pH muhit katta (3 dan 12 gacha) farqlanganda ham yashashga chidamli hisoblanadi. Shuning uchun nordon mahsulotlarni najas bilan ifloslanganligini aniqlashda va bu mahsulotlar chiqindi suvlar ishqoriy bo'lganda indikator bakteriya sifatida qo'llaniladi. Bunday sharoitlarda ichak tayoqchasi o'zining tipik xususiyatini yo'qotib, qiyin ajratib olinadi.

4. Enterokokklarni identifikatsiya qilish uchun yuqori elektiv muhitlar ishlab chiqilgan. Hozirgi kunda suvning miqdoriy enterokokkometriyasi xalqaro standart bo'yicha ishlab chiqilgan bo'lib, qo'shimcha najas bilan ifloslanish ko'rsatkichi sifatida xizmat qiladi.

5. Ochiq suv havzalarining najas bilan ifloslanish darajasini aniqlashda najas ichak tayoqchasining (NIT) najas enterokokklariga (NE) bo'lgan nisbatini aniqlash taklif qilingan. Agar koeffitsent yuqori bo'lsa, ya'ni NIT/NE nisbati 1 va undan yuqori bo'lsa, bunda suv havzasiga xlorlanmagan chiqindi suvi tushayotganligini bildirsa, koeffitsent 1 va undan kam bo'lsa, zararsizlantirish to'g'ri olib borilayotganligini ko'rsatadi.

**Clostridium perfringens** – tashqi muhit obyektlari ichak mikroflorasi bilan ifloslanganligini indikatsiya qilishda keng qo'llaniladi. 1925-yilda Uilson va Bleyr temir sulfidli muhitni klostridiyalarni ajratib olishda qo'llashni taklif qilishdi. Bu muhitda najas klostridiyalarini tashqi muhitda yashovchi klostridiyalaridan farqlash mumkin. Ichak klostridiyalari sulfidni tiklash xususiyatiga ega bo'lib, ular ko'payganda muhit qorayadi, erkin sharoitda yashovchi klostridiyalarda sulfid reduktaza yo'q, shuning uchun muhit rangini o'zgartirmaydi. Lekin shuni aytish joizki, muhitni *E. coli* ham qoraytirishi mumkin, shuning uchun qo'shimcha mikroblar o'sishini to'xtatish maqsadida, ekilgan ekmalar 80°C da 15-20 daqiqa saqlanadi. Tuproqdan *Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* va boshqa klostridiyalar topilsa, u holda tuproq najas bilan

ifloslanganligiga ancha bo'lganligini ko'rsatadi. Bu esa ularning yaqin vaqt ichida yoki uzoq davr mobaynida sporalar hosil qilgani uchun atrof-muhitda (xususan, tuproqda) uzoq vaqt yashashiga imkon beradi.

Issiqni sevuvchi (termofil) bakteriyalarga turli guruhdagi bakteriyalarni (*Lactobacillus lactis*, *Str. thermophilus* va boshqalar) kiritish mumkin. Ular 60°C da va undan ham yuqori temperaturada ko'payadi.

Ular odam ichagida doimo yashamaydi va muhitni najas bilan ifloslangan deb baho berishda sabab ham emas. Qizigan go'nglarda va komposlarda ushbu bakteriyalar sonining keskin ko'payib ketishi tuproqning chiryidigan chiqindilar bilan ifloslanganligini ko'rsatadi.

Enterobacteriaceae oilasi, *Proteus* avlodiga (*Proteus vulgaris* va boshqalar) kiruvchi bakteriyalar tabiatda keng tarqalgan. Ular chirituvchi bakteriyalar bo'lib, ko'p miqdorda hayvon va o'simliklarning chiriyotgan qoldiqlarida uchraydi. Qandaydir oziq-ovqat mahsulotlaridan bunday bakteriyalarning topilishi chirish jarayoni borayotganligidan darak beradi.

**Gemolitik streptokokklar** (*Str. pyogens*) najas streptokokki kabi Streptococceaceae oilasiga kiradi. Ular burun-halqum, tomoqdagi vaqtinchalik mikroorganizmlar bo'lib, og'izdagi suyuq tomchilar orqali tashqariga tushadi. Gemolitik streptokokklarning tashqi muhitda yashash vaqti nafas yo'lidagi havo-tomchi infeksiyasining boshqa qo'zg'atuvchilari yashash vaqtidan deyarli farq qilmaydi. Gemolitik streptokokklarning uy havosidan topilishi, uning tomoq, burun-halqum, odam nafas olish organlarining yuqori qismidagi havo-tomchi infeksiyasining qo'zg'atuvchilari bilan zararlanganligini ko'rsatadi.

**Staph. aureus** tomoq, burun-halqum hamda odam terisida yashovchi fakultativ bakteriya hisoblanadi. *Staph. aureus* ning uy havosi yoki u yerdagi predmetlardan topilishi ularning og'izdagi suyuqlik tomchilari bilan zararlanganini bildiradi.

Bir vaqtning o'zida tillarang stafilokokk va gemolitik streptokokklarning topilishi esa havoning juda ham ifloslanganligidan dalolat beradi.

### **Tuproqni sanitar-mikrobiologik tekshirish**

Tuproqni sanitar-mikrobiologik tekshirishning asosiy maqsadi quyidagicha:

- yangi qurilayotgan turar joylar, kasalxonalar, sanatoriyalar, bolalar oromgohlari, maktabgacha muassasalar va maktab binolari, suv omborlarining tuproq holatiga sanitar-mikrobiologik baho berish;

- aholi yashash punktlarini suv bilan ta'minlanishi, kanalizatsiya va chiqindilarni tozalash muammolarini yechish;

- tuproq kimyoviy moddalar bilan ifloslanganda, unga sanitar-mikrobiologik baho berish;
- tuproq biologik chiqindilar bilan ifloslanganda undagi tabiiy tozalanish jarayonini tekshirish;
- tuproq orqali tarqaluvchi yuqumli kasalliklarda epidemiologik tekshiruvlar o'tkazish.

Ko'pgina yuqumli kasalliklarda va ularning tarqalishida, yuqishida tuproq ma'lum rolni (salmonella, shigella, patogen klostridiyalari, kuydirgi kasalligi va boshq.) o'ynaydi. Shuning uchun tuproqdagi bu kasallik qo'zg'atuvchilari aniqlanadi, identifikatsiya qilinadi va tuproqqa epidemiologik jihatdan baho beriladi.

Tuproqning sanitar mikrobiologik tekshiruv usullari qo'yilgan maqsad bo'yicha ish olib boriladi, qisqa va to'liq tekshiruvlar o'tkaziladi.

**Tuproq namunasini olish.** Sanitar-bakteriologik tekshirish uchun tuproq namunasi qo'yilgan maqsad asosida tekshirilayotgan uchastkani ma'lum kvadratlaridan (5 x 5 m. kam bo'lmaslik kerak) "konvert" usulida (4 ta namuna diagonal bo'yicha va 1 ta markazdan) olinadi. Namunalar tuproqning 20-30 sm. chuqurligidan 200 g, tuproqning bakteriologik ifloslanganini aniqlash uchun esa 20 sm chuqurligidan olinadi. Olingan namunalar maxsus steril idishlarga solinib, laboratoriyaga jo'natiladi. Tuproq namunalari zarur sharoit kelib chiqqanda 24 soat muzlatkichlarda saqlanishiga ruxsat beriladi.

**Tuproqni tekshirish uchun tayyorlash.** Beshta nuqtadan olingan tuproq namunalari maxsus idishda aralashtirilib, undan 10-30 g tortib olinadi va 1:10 nisbatda sterillangan vodoprovod suvi bilan tuproq suspenziyasi tayyorlanadi (10 g tuproq + 100 ml suv). Bu asosiy suspenziyadan qo'yilgan maqsad asosida suyultirilgan ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  va h.k.) namunalar tayyorlanadi. Tuproqqa sanitar - mikrobiologik baho berishda tuproqdagi UMS va SKB koli-titri va perfringens titri aniqlanadi.

**Tuproqdagi umumiy mikroblar sonini topish** - oxirgi 2 ta suyultirilgan namunadan oziq muhitning yuzasiga 0,1 ml olinib, shpatel bilan (GPA yoki suslo-agarga) ekiladi. Ekilgan ekma 48 soat termostatda saqlanib, oziqli muhitlarda o'sib chiqqan koloniyalar soniga qarab 1 g tuproqdagi UMS topiladi. Masalan,  $10^{-4}$  nisbatda suyultirilgan namunadan ekilgan idishda 41 koloniya topildi,  $10^{-5}$  dan esa 33.

$$UMS = \frac{41 \times 10000 + 33 \times 100000}{2} \times 10 = 18550000$$

1 gr tuproqdagi UMS 18550000 teng ekan.

**Tuproqning koli-titri va perfringens titrini aniqlash.** Tuproqning koli yoki perfringens titri deb. bitta ichak tayoqchasi yoki perfringens topilgan tuproqning eng kam miqdoriga aytiladi. Tuproqdagi ichak tayoqchasi koli-titrini aniqlashda

elektiv muhitlar ishlatiladi. Bu muhitlar tarkibi qo'shimcha mikroblar o'sishini to'xtatib qo'yuvchi o't-safrosi, gension violet tutadi, lekin ichak tayoqchasi o'sishiga to'sqinlik qilmaydi. Eng ko'p qo'llaniladigan suyuq Kessler muhiti hisoblanadi, uning tarkibida yuqorida aytilgan komponentlardan tashqari *E. coli* bijg'itib, gaz hosil qilishi uchun pepton va laktoza tutadi. Gaz hosil bo'lganini aniqlash uchun muhitga bir tomoni payatlangan shisha po'kak solib qo'yiladi, hosil bo'lgan gaz po'kakka yig'iladi. Tuproq suspenziyasining suyultirilganidan 1 ml dan Kessler muhiti bo'lgan probirkalarga ekiladi va termostatda 43°C da 48 soat davomida saqlanadi. 48 soatdan keyin Kessler muhiti ko'zdan kechiriladi va musbat reaksiyali probirkalar (*E. coli* muhitda gaz hosil qilib, loyqalatib o'sadi) ajratib olinadi va Endo muhitiga musbat namunalardan qayta ekiladi va termostatga 37°C da 24 soatga qo'yiladi. Muhitda to'q qizil metall singari tovlanib turgan koloniyalar hosil bo'lsa va surtma tayyorlanib bo'yab ko'rilganda grammanfiy tayoqchalar topilsa *E. coli* deb xulosa qilinadi. Keyinchalik suvning koli-titrini aniqlashda qo'llaniladigan sxema bo'yicha analiz o'tkaziladi va tuproqning koli-titri topiladi.

Tuproq suspenziyasining perfringens-titrini topish uchun turli darajada suyultirilgan suspenziyadan 1 ml (sporasiz bakteriyalar o'smasligi uchun suyultirilgan tuproq suspenziyasi 80°C da 10-15 daqiqa qizdiriladi) dan yog'siz, steril sut yoki tayyorlangan temir sulfitli Vilson-Bler muhit quyilgan probirkalarga ex tempore (tezlikda) ekiladi.

Bu ekmalar 43°C da termostatda 24-48 soat davomida saqlanadi, so'ng sutning chirishi yoki Vilson-Bler muhitining agarli ustunchasida hosil bo'lgan *Cl. perfringens* qora koloniyalarga ko'ra xulosa chiqariladi. Koloniyalardan surtmalar tayyorlanib, Gram usuli bilan bo'yaladi. Mikroskop ostida ko'rilgandan so'ng, perfringens-titri aniqlanadi.

**Muhit tarkibi.** Kessler muhiti 1% peptonli suv, 5% o't-safro, 0,25% laktoza va grammusbat bakteriyalarning o'sishini to'xtatish uchun gension binafshadan iborat.

**Temir sulfitli Vilson-Bler muhiti** 3% oziqli agar, 1% glyukoza, 2% natriy sulfit, 0,08% temir xloriddan iborat.

Termofil (issiqni sevuvchi) bakteriyalarni aniqlash uchun suyultirilgan tuproq suspenziyasidan 1 ml Petri kosachasiga tomiziladi, ustidan eritilgan va sovutilgan oziqli agar quyiladi. Ekmalar 60°C da termostatda 1 kun saqlanadi. So'ng hosil bo'lgan koloniyalar sanalib, 1 g tuproqdagi bakteriya soni aniqlanadi.

Tuproqning sanitar mikrobiologik holati kompleks ko'rsatkichlar bo'yicha uning najas bilan ifloslanganlik darajasiga qarab aniqlanadi (17-jadval).



## Tuproqning SKB bo'yicha tozalik ko'rsatkichlari

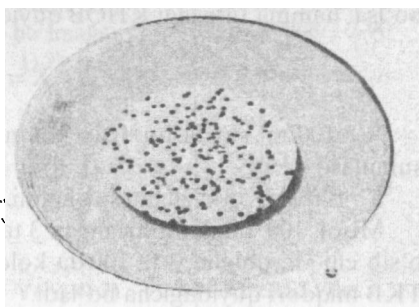
Tuproq kategoriyasi	Ichak tayoqchasi titri	Nitrifikatsiya-lovchi bakteriyalar titri	Cl. perfringens titri	Termofil bakteriyalar miqdori (1,0 g)
Toza	1,0 va yuqori	0,1 va yuqori	0,01 va yuqori	100-1000
Ifloslangan	0,9-0,01	0,1-0,001	0,009-0,0001	1001-100 000
O'ta ifloslangan	0,009 va kam	0,0001 va kam	0,00009 va kam	10 001-4 000 000

**Suvni sanitar-mikrobiologik tekshirish. Suvning umumiy mikroblar sonini aniqlash.** Usulning mohiyati tekshirilayotgan suvni ikkitadan kam bo'lmagan namunasidan 1,0 ml olib, oziq muhitga ekib, o'sgan koloniyalarni sanab hisoblashga asoslangan.

Tadqiqot usuli quyidagicha bajariladi: tekshirilayotgan suv yaxshilab aralastirilib, 1,0 ml dan olingan suvlar sterilangan Petri kosachasiga (diametri 90-100 mm) quyiladi, ustiga 10-12 ml eritilgan, 45-49°C gacha sovutilgan oziqli agar quyiladi va yaxshilab suv bilan aralastiriladi. So'ngra ekilgan materiallar 37°C da termostatda 24 soatga qo'yiladi. So'ng har ikkala kosachadagi agar yuzasida va ichida o'sib chiqqan koloniyalar soni sanaladi, qo'shilib ikkiga bo'linib, suvning 1 ml dagi umumiy mikroblar soni aniqlanadi (hisoblab topish tuproqning UMS aniqlashga o'xshash, faqat namuna 1,0 ml olingani uchun 10 ga ko'paytirilmaydi).

Natija 1 ml suvda topilgan bakteriyalarni koloniya hosil qiluvchi birligida (KHQB) beriladi.

**Umumiy va termotolerant koliform bakteriyalarni membrana filtrlash usulida aniqlash.** Usul mohiyati tekshirilayotgan suvni maxsus membrana filtridan o'tkazilib, laktoza tutuvchi differensial muhitda o'stirib, kultural va bioximik xususiyatlari bo'yicha identifikatsiya qilishga asoslangan. Tadqiqot usulining bajarilishi. 3-raqamli membranali filtr Bunzep kolbasiga o'rnatilgan Zeytts voronkasiga joylashtirilib, so'ngra vakuum-nasos bilan birlashtiriladi. Membranali filtrlar oldindan distillangan suvda qaynatilib, sterilanadi. Ichimlik suvlari uchun namuna 300 -500 ml, ochiq suv havzasidan olingan toza suv 5, 10, 40,



44-rasm. Tekshirilayotgan suv namunasi filtrlangan, membrana filtrda o'sgan ichak tayoqchasi koloniyalari

100, 150 ml hajmda filtrlanadi (40-rasm). Agar suv nihoyatda ifloslangan bo'lsa, filtrlashdan oldin steril distillangan suv bilan suyultiriladi.

Ichimlik suvni tekshirishda 3 hajm 100 ml dan olinadi, har bir hajm suv filtrdan o'tkaziladi. Filtrlar Petri kosachasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi va 37°C da termostatda 24 soat saqlanadi. Agar filtr yuzasida 24 soat mobaynida koloniyalar o'smasa yoki koliform bakteriyalarga xos bo'lmagan mog'or zamburug'lari koloniyasi topilsa, umumiy koliform bakteriya (UKB) va termotolerant koliform bakteriya (TKB) topilmadi, deb natija beriladi.

Agar membrana filtrda tipik alohida o'sgan laktozamusbat, qizil metall singari yaltiroq yoki rangsiz koloniyalar topilsa, har ikkala tip koloniyalar alohida sanalib, ularning UKB va TKB mansubligi aniqlanadi. UKB tasdiqlash uchun filtrda 5 tadan kam, lekin 3-4 tadan har bir tipdagi koloniyalardan, TKB ni tasdiqlash uchun hamma tipik alohida koloniyalardan 10 tadan oshmagan holda oksidaza aktivligi, Gram usulida bo'yalishi va laktozani kislota gaz hosil qilib, fermentlashi aniqlanadi. Oksidaza testini qo'yishda oksidaza diskalaridan foydalaniladi (dimetil-p-fenilendiamin shimdirilgan filtr qog'ozi). Membrana filtrlarda koloniyalar qalin o'sgan bo'lsa, oksidaza diski to'g'ridan-to'g'ri filtr ustidagi koloniyalarga distillangan suv bilan namlab qo'yiladi, ko'k rangga kirsas, reaksiya musbat bo'ladi. Agar filtr yuzasidagi hamma koloniyalar oksidazamusbat bo'lsa, tekshirish to'xtatiladi va namunadan UKB va TKB topilmadi, deb javob beriladi. Agar koloniyalar oksidaza manfiy bo'lsa, tekshirilayotgan koloniyalar qayta ekilib, alohida koloniyalar olinadi va ularni UKB va TKB mansubligi o'rganiladi. Koloniyalarni UKB mansubligi grammanfiy bakteriyalar koloniyasi oksidaza manfiy va laktozani kislota, gaz hosil qilib 37°C da fermentatsiya qilsa, ularni UKB mansubligi tasdiqlanadi. TKB mansubligi esa shu testlarni 44°C da aniqlanadi. Boshqa hollarda agar namunalardan UKB va TKB topilmasa, tekshirilgan 100 ml suvda KHQB UKB va 100 ml suvda va KHQB TKB topilmadi, deb javob beriladi.

Agar membrana filtrda o'sgan koloniyalar hammasi identifikatsiya qilingan bo'lsa, hamma filtrdagi KHQB quyidagi formula orqali hisoblab chiqiladi.

$$X = \frac{A \times 100}{V}$$

X - 100 ml suvda topilgan koloniyalar; A – filtrda sanalgan koloniyalar summasi;

V - filtrdan o'tkazilgan suv hajmi.

Misol, 100 ml dan filtrlangan 3 ta ekilgan filtrning bittasida 1 ta koloniya o'sib chiqdi, qolgan 2 ta filtrda koloniyalar o'smadi. Bu holda umumiy va TKB miqdori quyidagicha bo'ladi.

$$X = \frac{1 \times 100}{300} = 0,3 \text{ KHQB UKB va TKB } 100 \text{ ml.}$$

Misol, 10, 40, 100, 150 ml suv filtrlanib, ekilgan filtrlardan 40 ml da 4 koloniya, 100 ml da 3 ta alohida koloniyalar aniqlandi. 10 va 150 ml suv filtrlangan membrana filtrlarda koloniyalar sanab bo'lmadi. UKB va TKB ning KHQB faqat alohida koloniyalar hosil bo'lgan filtrlar olinadi va 100 ml hajm hisoblanadi.

$$X = \frac{(4 + 3) \times 100}{40 + 100} = 5 \text{ KHQB } 100 \text{ ml.}$$

Suvning koli- indeks va koli-titrini aniqlash. Birinchi misolda UKB va TKB ning KHQB gi 0,3 -100 ml da bo'lsa, suvning koli -indeksi 1000 ml - 3 ga teng, u holda koli-titr 333 (1000: 3) tashkil etadi. Ichimlik suvi talabga javob beradi. Ikkinchi misolda suvning koli-indeksi 100 ml suv uchun 5 ga teng bo'lsa, 1000 ml -50 ga teng, u holda koli-titr 20 ml (1000: 50) tashkil etadi. Suv o'ta ifloslangan ekan.

Umumiy va termotolerant koliform bakteriyalarni titrlash usulida aniqlash.

Suvdagi umumiy va termotolerant koliform bakteriyalarning borligi va miqdorini filtrlash usullari uchun zarur asboblardan bo'lmagan taqdirda, titrlash (bijg'itish) usulidan foydalangan holda aniqlanadi.

*18-jadval*

### Suvning mikrobiologik ko'rsatkichlari va ularning nazorat usullari

*(Ichimlik suvi gigiyenik talablari va sifatini nazorat qilish*

*O'zDS 950: 2000)*

Ko'rsatkichlar	O'lchov birligi	Normativlar	Nazorat usuli
1. Umumiy mikroblar soni	1 ml suvda mikroblar soni	100 dan ko'p bo'lmagan 1)	GOST 18963-73 ISO 8360/1-2-88
2. Ichak tayoqchalar guruhi bakteriyalar soni (koli- indeks)	1000 ml suvda ichak tayoqchalar guruhi bakteriyalari (BGKP)	3 dan ko'p bo'lmagan 1) 2) 3)	GOST 18963-73 ISO 9308/1-2-90
3. Eshirixiyalar (yangi najasli (fekal) ifloslanish ko'rsatkichi)	300 ml suvda eshirixiyalar soni	Yo'q 3) 4)	GOST 18963-73 ISO 9308/1-2-90
4. Kolifaglar soni	200 ml suvda yaproqchalar hosil qilish birligi (YaHB)	Yo'q 4) 7)	O'zRSSVda tasdiqlangan uslubiy ko'rsatma

**Bijg'itish usuli.** Usulning mohiyati tekshirilayotgan ma'lum hajmdagi suvni suyuq oziq muhitlarga ekib, o'stirib, laktoza tutuvchi differensial muhitga qayta ekib ajratib olish va ISKB xos bo'lgan koloniyalarni kultural va bioximik xususiyatlari bo'yicha identifikatsiya qilishga asoslangan.

19-jadval

**Tekshirilayotgan suvdagi ichak tayoqchasi guruhining indeksini aniqlash**

Tekshirilgan suvdagi musbat namunalar ko'rsatkichi			Koli-indeks	Indeks ko'rsatkichi (ishonarli chegara)		Koli-titr
3 ta namuna 100 ml dan	3 ta namuna 10 ml dan	3 ta namuna 1 ml dan		Pastki ko'rsatkich	Yuqori ko'rsatkich	
0	0	0	Kam 3	-	-	Ko'proq 333
0	0	1	3	0.5	9	333
0	1	0	3	0.5	13	333
1	0	0	4	0.5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
1	1	0	7	1	23	143
1	1	1	11	3	36	91
1	2	0	11	3	36	91
2	0	0	9	1	36	111
2	0	1	14	3	37	72
2	1	0	15	3	44	67
2	1	1	20	7	89	50
2	2	0	21	4	47	48
2	2	1	28	10	149	86
3	0	0	23	4	120	43
3	0	1	39	7	130	26
3	0	2	64	15	379	16
3	1	0	43	7	210	23
3	1	1	75	14	230	13
3	1	2	120	30	380	8
3	2	0	93	15	380	11
3	2	1	150	30	440	7
3	2	2	210	35	470	5
3	3	0	240	36	1300	4
3	3	1	460	71	2400	2
3	3	2	1100	150	4800	0.9
3	3	3	Ko'p 1100	-	-	0.9 kam

Ichimlik suvini joriy sanepid. ishchi nazorat ko'rigidagi sifat tekshiruvda 3 ta 100 ml hajmda ekiladi. Agar suvni UKB va TKB ga miqdoriy tekshirilsa, u holda suv 100 ml 3 ta, 10 ml 3 ta va 1 ml dan 3 ta hajmdan ekiladi. 100 va 10 ml hajmli namunalardan 1 ml suv konsentratsiyasi yuqori bo'lgan suyuq laktoza peptonli muhitga ekiladi, 1 ml hajmli namuna esa oddiy usulda ekiladi.

Ekilgan materiallar 37°C da termostatga bir sutkaga qo'yiladi. Po'kakchada gaz pufakchalarining hosil bo'lishi unda bijg'ish jarayoni ketayotganligini ko'rsatadi. Bijg'igan va quyqa hosil qilgan namunalardan Endo muhitiga ekiladi. Hosil bo'lgan koloniyalardan surtma tayyorlanadi, Gram usuli bilan bo'yaladi va Escherichia, Citrobacter, Enterobacter oilasiga kiruvchi bakteriyalarni suvda yashaydigan grammanfiy Pseudomonaceae hamda boshqa oksidaza musbat bakteriyalardan ajratish uchun oksidaza testi qo'yiladi. Shu maqsadda muhit yuzasidan shisha tayoqcha orqali 2-3 ta ayrim-ayrim joylashgan koloniyalar olinadi va dimetil-p-fenilendiamin shimdirilgan filtr qog'ozga shtrix bilan surtiladi. Agarda oksidaza testi manfiy bo'lsa, qog'ozning rangi o'zgarmaydi va aksincha musbat bo'lsa, qog'oz 1 daqiqa davomida ko'k rangga kiradi.

Oksidaza hosil qilmaydigan, grammanfiy tayoqchalar qaytadan bijg'itish usuli bilan tekshiriladi. Ular 0,5% glyukozali, yarim suyuq agarga ekiladi va 37°C da bir sutka davomida termostatda saqlanadi. Musbat natijalarga asoslanib 19-jadvalga ko'ra koli-titr va koli-indeks aniqlanadi.

## Havoni sanitar-mikrobiologik tekshirish

Havoni miqdoriy mikrobiologik tekshirish usullari sedimentatsiya (cho'ktirish), aspiratsiya yoki filtrlash prinsipiga asoslangan. Havo mikroflorasini tekshirish ikki yo'nalishda olib boriladi. Birinchi yo'nalish atmosfera havosiga sanitar-bakteriologik baho berish. Atmosfera havosida SKB (stafilokokk va streptokokk) 3,7% hollardagina aniqlanadi, asosan bu zonalarda odamlar (shaharlar) ko'p to'planishi, zich yashashlari mumkin. Havo mikroflorasida asosan tuproq mikroflorasi dominantlik qiladi. Atmosfera havosining bakterial ifloslanganligini baholaydigan normativlar yo'q.

Yopiq xonalar havosini sanitar-bakteriologik jihatdan tekshirish rejali ravishda yaslilar va bolalar bog'chalarida, maktablar, kasalxonalar, operatsiya xonalari, dorixonalar, kinoteatrlarda olib boriladi.

Davolash muassasalarining havosi har bir kvartalda bir marotaba DSENM tomonidan joriy tekshiruv yo'li orqali kuzatib boriladi. Kasalxona bakteriologik laboratoriyasida esa epidemiologik ko'rsatma asosida har oyda bir marotaba joriy tekshiruv o'tkaziladi. Gigiyenik va epidemiyaga qarshi o'tkazilayotgan joriy tekshiruvlarda 1m<sup>3</sup> havodagi UMS (umumiy mikroblar soni) va SKB (tillarang stafilokokk, gemolitik

streptokokk va grammanfiy tayoqchalar, zamburug'lar) dorixonada aniqlanadi.

Kasalxona xonalari havosida asosan tillarang stafilokokk, gemolitik streptokokklar 70-30% hollarda uchraydi. Shu bilan bir qatorda, operatsiya oldi, operatsiya zallarida, operatsiyadan keyingi palatalarda, tug'ruq zallarida va reanimatsiyalarda bu mikroorganizmlar topilmasligi kerak. Havo mikroflorasiga sanitar – bakteriologik baho berishda quyidagi usullar qo'llaniladi.

**Sedimentatsion (Kox usuli) usul** asosan yopiq xonalar havosini tekshirishda qo'llaniladi. Bu usulning mohiyati shundan iboratki, oziqli agar quyilgan Petri kosachasi xonaning bir necha joyiga ochiq holda ma'lum vaqtga qoldiriladi (ko'proq 20-30 daqiqqa). So'ng 37°C li termostatga joylashtiriladi. Kosachalardan o'sib chiqqan koloniyalar soniga qarab 1 m<sup>3</sup> havodagi UMS Omelyanskiy formulasi yordamida topish mumkin.

$$x = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{b \cdot 10 \cdot t}$$

Bu yerda x - 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroblar miqdori; a- Petri kosachasidagi oziqli muhitda o'sgan mikroblar soni; b- Petri kosacha yuza maydoni (sm<sup>2</sup>); t – kosacha ochiq turgan vaqt, daqiqada; 5- Omelyanskiy hisobidagi vaqt; 10- mikroorganizmlar cho'kishi zarur bo'lgan havo hajmi; 1000 – izlanilayotgan havo hajmi litrda. Hisob qilishda xonaga qo'yilgan har bir kosachalardagi mikroblar soni aniqlanib, uning o'rtacha miqdoriy ko'rsatkichi (a) olinadi. Tekshirilayotgan xonalarda topilgan UMS 250 dan kam koloniya o'sib chiqsa, havo toza hisoblanadi. Koloniyalar soni 250–500 ta bo'lsa, havo o'rtacha ifloslangan, agar 500 dan ortiq bo'lsa, nihoyatda ifloslangan bo'ladi.

**Aspiratsion usul.** Bu havodagi UMS aniqlashda juda ham aniq usul hisoblanadi. Havo apparat yordamida ekiladi.

Krotov apparati shunday tuzilganki, havo ma'lum tezlikda agarli kosacha yopib turgan pleksiglas plastinkaning tor yorig'idan so'rilib turiladi. Bunda mikroorganizmlarga ega bo'lgan aerosol zarrachalari bir tekis agar yuzasiga joylashadi, chunki kosacha yorig'ning tagida doimiy aylanib turadi.

Termostatga qo'yilgandan so'ng formula bo'yicha umumiy mikroblar soni hisoblanadi.

$$x = \frac{a \cdot 1000}{v \cdot t}$$

a – kosachada hosil bo'lgan koloniyalar soni; v– apparat orqali so'rib o'tkazilgan havoning hajmi, l; 1000–tekshiriluvchi havoning hajmi, l, t – tekshirish vaqti

**Shifoxona xonalarining funksional vazifalari va tozalik klassiari bo'yicha ularning havosidagi bakteriyalar tarqalishining ruxsat etilgan darajasi**

№	Tozalik klassi	Xonalar nomi	Sanitar mikrobiologik ko'rsatkich					
			1 m <sup>3</sup> havodagi mikroblarning umumiy miqdori (KHQB m <sup>3</sup> )	Ish vaqtida	Ishdan oldin	Ish vaqtida	1 m <sup>3</sup> havodagi Staphylococcus aureus koloniyasi soni (KHQB m <sup>3</sup> )	1 m <sup>3</sup> havodagi mog'or zamburug'larining miqdori
1	O'ta toza (A)	Operatsiya xonasi, tug'ruq zallari, aseptik gematologik bokslar, kuyganlar, chala tug'ilgan bolalar palatasi, aptekalar aseptik bloki, bakteriologik, virusologik bokslar	Ishdan oldin 200 dan ko'p emas	Ish vaqtida 500 dan ko'p emas	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida Bo'lmali ligi kerak	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida Bo'lmali ligi kerak
2	Toza (B)	Operatsiya oldi, protsedura, bog'lash xonalari, reanimatsiya zali, bolalar palatalari, apteka, bakteriologik va klinik laboratoriya ishlash xonalari	Ishdan oldin 500 dan ko'p emas	Ish vaqtida 750 dan ko'p emas	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida Bo'lmali ligi kerak	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida Bo'lmali ligi kerak
3	Shartli toza (V)	Jarrohlik bo'lim palatalari, yo'laklari, operatsiya va tug'ruq zallariga tutashgan xonalar, yuqumli kasalxona bo'limi palatalari, bokslar, somatik palatalari va shifokorlar xonasi, toza kiyimlar va choyshablar omborxonasi.	Ishdan oldin 750 dan ko'p emas	Ish vaqtida 1000 dan ko'p emas	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida 2 dan ko'p emas	Ishdan oldin Bo'lmali ligi kerak	Ish vaqtida Bo'lmali ligi kerak
4	Ifloslangan (G)	Administrativ bino xonalari va yo'laklari, davolash diagnostik binolarining yo'laklari, sanitar xonalar, hojatxona va ifloslangan kiyimlar, choyshablar omborxonasi.	Norma belgilanmagan	Norma belgilanmagan	Norma belgilanmagan	Norma belgilanmagan	Norma belgilanmagan	Norma belgilanmagan

Havodagi umumiy mikroblar sonini aniqlash uchun neytral oziq muhitdan, gemolitik streptokokklar uchun esa gentsian binafsha qo‘shilgan qonli agardan, stafilokokklar uchun tuxum sarig‘i qo‘shilgan tuzli agardan foydalaniladi. Keyinchalik koloniyalar mikroskop ostida ko‘riladi. Gumon qilingan koloniyalar esa qaytadan qonli agarga ekiladi va ajratib olingandan keyin identifikatsiya qilinadi.

Qo‘llaniladigan muhitlar. Gensian binafshali qonli agarning tarkibi – 2% oziqli agar va 5- 10% fibrinsizlantirilgan ot, quyon yoki qo‘y qoni va gentsian binafshadan (1 :50 000) iborat. Tuxum sarig‘ili-tuzli agar quyidagilardan tashkil topgan: 2% oziqli agar 10% NaCl bilan, 20% (hajmga ko‘ra) tuxum sarig‘i aralashmasi (200 ml NaCl izotonik eritmasiga bir dona tovuq tuxumining sarig‘i qo‘shiladi).

Havoni tekshirish uchun boshqa apparatlardan (Dyakov, Rechmenskiy, Kiktenko, PAB-1 – aerozol bakteriologik namuna oluvchi, POV-1 – havodan tekshirish uchun namuna oluvchi apparat) ham foydalaniladi.

Bu apparatlar yordamida ma‘lum hajmdagi havo suyuqlik yoki filtrlardan o‘tkaziladi. So‘ngra o‘lchab, oziqli muhitga ekiladi. PAB-1 va POV-1 apparatlari yordamida ko‘p hajmdagi havoni tekshirish orqali patogen bakteriya va viruslarni topish mumkin. Hozirgi vaqtda kasalxonalar ichida yuqadigan infeksiyalarning qo‘zg‘atuvchilari bo‘lmish patogen va shartli-patogen bakteriyalarni (stafilokokklar, ko‘k-yiring tayoqchalari va boshqa grammanfiy bakteriyalar) bevosita jarrohlik, akusher-ginekologik va boshqa bo‘limlarning havosini tekshirish mobaynida topish mumkin.

Kasalxona ichida stafilokokk etiologiyali infeksiya paydo bo‘lganida, tekshirishlar infeksiya manbaini, tarqalish yo‘llarini aniqlashga qaratiladi. Atrof-muhitdagi obyektlardan, shuningdek bemorlar va kasalxona xizmatchilaridan ajratib olingan stafilokokk kulturasi namunasini bir xilligini ularning fagotiplarini tekshirish yo‘li bilan aniqlanadi. Kasalxona binolaridagi havolarga mo‘ljallangan UMS va Staph. aureus sonining normativ ko‘rsatkichlari 20-jadvalda keltirilgan.

## **12-MAVZU. ODAM ORGANIZMI NORMAL MIKROFLORASI. BOLALARDA MIKROFLORA SHAKLLANISHI VA ULARNI O‘RGANISH USULLARI**

### **Mashg‘ulot rejasi**

1. Odam organizmining normal mikroflorasini o‘rganish.
2. Odam organizmidagi indigen va fakultativ mikroorganizmlarni bilish.
3. Normal mikrofloraning inson organizmi uchun foydali va zararli tomonlari.



4. Disbakterioz tushunchasi. Disbakteriozga olib keluvchi sabablar.

5. Disbakteriozlarning bakteriologik diagnostikasi.

### **Namoyish qilish**

1. Teri, ko'z shilliq qavati, quloq, nafas yo'llari, og'iz bo'shlig'i, oshqozon-ichak va siydik, tanosil organlari normal mikroflorasi aks ettirilgan jadvallar, rasmlar.

2. Disbakteriozni aniqlash uchun materiallar olish va ularni suyultirish, oziqli muhitlarga ekish usullari.

3. Disbakteriozni aniqlashda qo'llaniladigan oziq muhitlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Ichak va qin mikrobiosenozi sifat va miqdoriy tarkibini o'rganish usullari

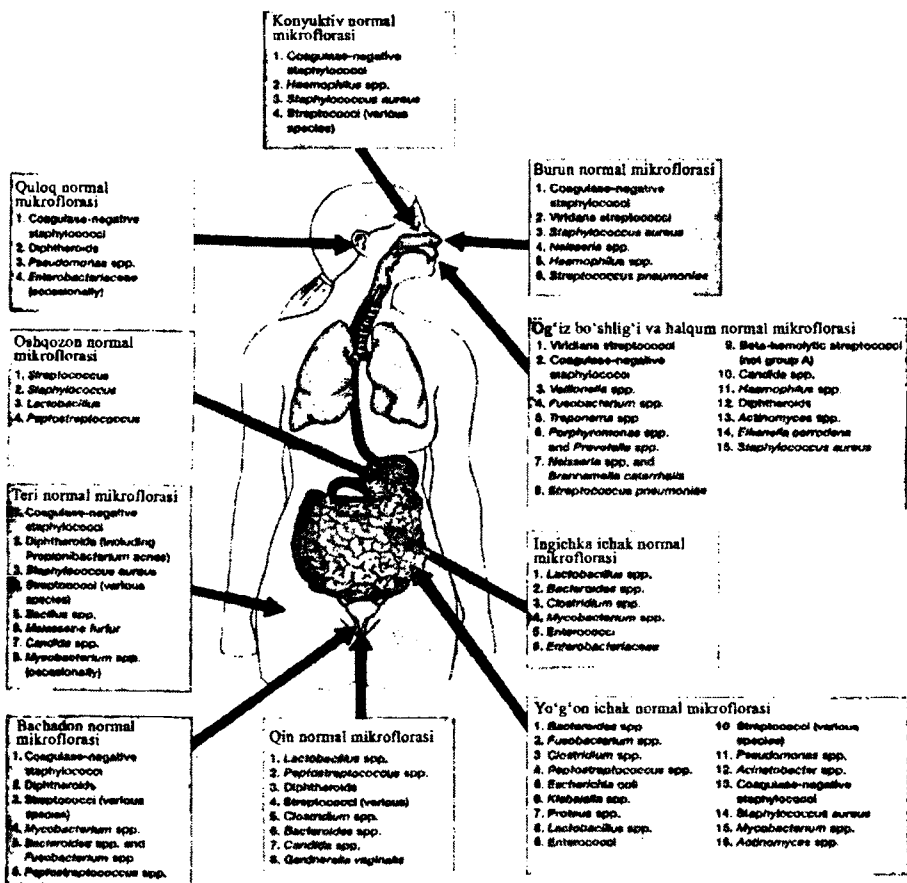
2. Og'iz bo'shlig'i mikroflorasini o'rganish uchun tish karashidan surtma tayyorlash. Burri va Gram usullarida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

3. Qo'l mikroflorasini o'rganish uchun barmoqlardan bosma usulida NA ga ekish.

## **Odamning normal mikroflorasi**

Inson hayotining birinchi kunidan boshlab juda ko'p son-sanoqsiz mikroorganizm vakillari bilan bevosita aloqada bo'lib turadi. Ona bachadonida homila steril bo'ladi. Bola tug'ilishidan boshlab bir necha yillar ichida har bir biotopga xos mikroflora shakllanadi. Turli bakteriyalar va mikrohayotning boshqa vakillari chaqaloqning terisi va shilliq qavatlar bilan aloqada bo'ladi. Bularning ba'zilar organizm uchun patogen bo'lsa, ularga qarshi organizm kurashishi zarur, boshqalari esa organizm bilan uzviy aloqada (simbioz) yashab, foyda keltiradi, ko'pchiligi esa kommensal hisoblanib, organizmga na foyda, na ziyon keltiradi. Inson organizmidagi asosiy mikroorganizmlar makroorganizm hisobiga yashaydi, u bilan juda yaqin uzviy aloqada bo'lib, odamning hayot faoliyatida juda muhim vazifalarni bajaradi. Sog'lom odamlarda uchrovchi mikroorganizmlar yig'indisi odamning normal mikroflorasini yoki mikrobiotsenozini tashkil qiladi. "Normal mikroflora" deb, asosan sog'lom odam organizmidan doimo va ko'proq topiladigan mikroblar yig'indisiga aytiladi. Odamning normal mikroflorasi tarkibiga kiruvchi bakteriyalar 45-rasmda keltirilgan.

Normal mikroflora asosan odamlarning terisida va tashqi muhit bilan bevosita aloqada bo'lgan organlarida (yuqori nafas yo'llari, oshqozon-ichak sistemasi, siydik-tanosil organlari) uchraydi va shu organlarda mikroorganizmlarning ma'lum biotoplarini, mikrobiosenozini shakllantiradi. Har bir odam biotopida uchrovchi mikroorganizmlar o'zlarining tarkibi va miqdori jihatidan boshqa biotoplardan tubdan farq qiladi.



45-rasm. Odamning normal mikroflorasi

Eng kam mikroorganizmlar terida uchraydi va organizmdagi umumiy mikroorganizmlarga nisbatan 2% ini tashkil qiladi, 9% i urogenital traktga. 15-16 % halqum-og'iz bo'shlig'iga to'g'ri kelsa, 60-70 % oshqozon-ichak traktida uchraydi. Mikroorganizmlarga eng boy organlar og'iz bo'shlig'i, qin va yo'g'on ichak hisoblanadi.

### Ichak mikroflorasi, uning bolalarda shakllanishi va disbakterioz

Chaqaloq mikroflora bilan tug'ilmaydi, mikrobiosenozlar bolalarning hayoti jarayonida shakllanadi. Ona bachadonda homila steril bo'ladi. Bola tug'ilishidan boshlab bir necha yillar ichida har bir biotopga xos

mikroflora (onaning tugʻish yoʻllari, terisi, suti, tashqi muhit – havo, tuproq, oziq-ovqatlar mikroflorasi hisobiga) shakllanadi.

Meʼyoriy ichak mikroflorasining holatiga endogen va ekzogen omillar doimiy ravishda taʼsir etib turadi. Ekzogen omillarga klimatogeografik, ekologik, kasbiy-maishiy sharoitlar va boshqalar kiradi. Endogen omillariga esa somatik kasalliklar, organizmning turli biotoplaridagi shartli-patogen bakteriyalar keltirib chiqaruvchi kasalliklar, tugʻma immun tanqisliklar va b. kiradi. Oxirgi vaqtlarda mikrofloraning buzilishi immun va asab tizimidagi kasalliklar bilan birgalikda namoyon boʻlishi kuzatilmoqda.

Fiziologik sharoitda ichak shilliq qavati bioplenka – bakterial glikokaliks bilan qoplangan boʻlib, uning tarkibida mikroblarning ekzopolisaxaridlar matriksi va shilliq qavat qadahsimon hujayralarning mutsini mavjud. Bu plenkaning qalinligi 1-10 mikron boʻlishiga qaramasdan, undagi indigen flora mikrokolonyalarining miqdori bir necha yuz mingtani tashkil qilib, bu plenka ichidagi bakteriyalarning noqulay omillar taʼsiriga chidamliligi boshqa bakteriyalarga nisbatan oʻn, yuz marotaba yuqoridir.

Normal ichak mikroflorasi 1500 dan ortiq mikroorganizmlardan tashkil topib, xoʻjayin organizmining metabolizmidagi va ichakda kolonizatsion rezistentlikni shakllanishida ishtirok etadi. Ichakning mikroblar toʻplami makroorganizmda moddalar almashinuvi jarayonlarining holatini aniqlaydi, bir tomondan, biologik faol birikmalarni zararsizlantirib, hazm boʻlmagan ozuqa moddalarini oʻzlashtirsa, ikkinchi tomondan B guruh vitaminlarini, vitamin K, nikotin, foliy va askorbin kislotalarni, ayrim fermentlarni sintezlaydi.

Makroorganizmning immunobiologik reaktivligi shakllanishida mikrofloraning muhim oʻrni eʼtirof qilinadi, buning natijasida organizmda umumiy immunoglobulinlar miqdori boshqariladi. Shunday qilib, meʼyoriy ichak mikroflorasining oʻziga xos – himoya, modda almashinuv, immun faollashtiruvchi vazifalari aniqlangan va birortasining izdan chiqishi metabolizmning buzilishiga, natijada mikro-nutriyentlarning –vitaminlarning, mikroelementlarning, mineral moddalarning yetishmovchiligiga hamda immun holatning pasayishiga, bu esa makroorganizm aʼzo va tizimlarida qaytmas jarayonlarning kelib chiqishiga sabab boʻladi.

Meʼyoriy ichak mikroflorasining sifatiiy va miqdoriy buzilishlari «disbakterioz» yoki «disbioz» termini bilan nomlanadi. Bu termin tibbiyot amaliyotiga 1916-yili A.Nisle tomonidan kiritilgan. Disbakterioz – ingliz tilida bakteriyalarning ortiqcha oʻsib ketishi sindromi (bacterial

overgrowth syndrome), nemis tilida esa bakteriyalarning xato o'rmashishi (baktielle Fenlbesiedlung) deb nomlanadi. Disbakterioz mustaqil nozologik shakl bo'lmay, klinik-laborator sindrom sifatida ko'riladi. Uning paydo bo'lishida turli-tuman sabablar: odamning ovqatlanish turi, yoshi, yil fasli, atrof-muhit holati, surunkali kasalliklar mavjudligi, oshqozon-ichak tizimi, ichakning jarohatlanishi bilan kechuvchi o'tkir ichak infeksiyalari, surunkali kolitlar va enterokolitlar, nospetsifik yarali kolitlar, ichak invazyalari, uzoq vaqt antibiotiklar, gormonlar va nur bilan davolanish patologiyasi va h.k. mavjudligi aniqlangan. Chaqaloqlarda va ko'krak yoshidagi bolalarda ichak disbakteriozi chala tug'ilganlik, sun'iy ovqatlantirishga erta o'tish hamda onadagi patologiyalar (homiladorlik davridagi og'ir toksikoz holat, mastitlar va b.) natijasida paydo bo'ladi.

Ichak disbakteriozi keng yoritilgan ko'pgina qo'llanmalar yaratilgan va ularda disbakteriozni aniqlashning turli usullari va baholash mezonlari mavjud, chunki mutaxassislar turli klinik-laborator usullarni qo'llaydilar. Ichak disbakteriozi shakli, og'irligi va kompensatsiya darajasi bo'yicha quyidagicha tavsiflanadi. Shakli bo'yicha:

- latent (subklinik);
- mahalliy;
- tarqalgan (bakteriyemiya, generalizatsiyalashgan sepsis infeksiyasi, septikopiyemiya).

Kompensatsiya darajasi bo'yicha :

- kompensatsiyalangan;
- subkompensatsiyalangan;
- dekompensatsiyalangan.

RF da ichak mikroflorasining disbiotik buzilishlarini to'rtta daraja bo'yicha baholash taklif qilingan:

I daraja – bifido- va laktoflora me'yorda bo'lib, anaerob floradan ustun turadi.

II daraja – anaeroblar miqdori kamayib, to'laqonli ichak tayoqchasining atipik shakllari paydo bo'ladi, qolgan mikroblar miqdori  $10^3 - 10^4$  KHQB/g (1g najasdagi koloniya hosil qilish birligi) tashkil qiladi.

III daraja – anaerob floraning keskin pasayib ketishi, bifido va laktobakteriyalarning umuman bo'lmasligi, biror bir shartli patogen flora vakillarining  $10^5 - 10^7$  KHQB/g va undan ko'p miqdorda paydo bo'lishi.

IV daraja – shartli-patogen mikroorganizmlar to'plamining  $10^6 - 10^7$  KHQB/g va undan ko'p miqdorda o'sib ketishi.

Qozog'iston olimlari ichak disbakteriozini uch darajada baholashni taklif qilishgan:

I darajali disbakterioz (yashirin, kompensatsiyalangan shakli). Bunda aeroblarning oz miqdorda kamayishi, normal ichak tayoqchani, kokklarning sezilarsiz kamayishi yoki ko'payishi, anaeroblarning miqdori esa me'yorning pastki chegarasida bo'ladi. Ichak disfunktsiyasi kuzatilmaydi.

II darajali disbakterioz (subkompensatsiyalangan shakli). Bunda anaeroblar miqdorining kamayishi, ichak tayoqchasining sifatii va miqdorii o'zgarishi va shartli-patogen mikroorganizmlarning ko'payishi kuzatiladi. Ichak disfunktsiyalari paydo bo'ladi.

III darajali disbakterioz (dekompensatsiya shakli). Obligat anaeroblar miqdorining kamayib ketishi, ichak tayoqchasining sifatii va miqdorii o'zgarishi va shartli-patogen mikroorganizmlarning miqdori ko'payishi kuzatiladi. Kuchli ichak disfunktsiyasi bilan kechadi.

O'zbekiston sharoitida yuqorida taklif qilingan usullardan tashqari, disbakteriozni olimlar Garib F.Yu., Odilov Sh.K., Narbayeva I.E., va boshqalar, taklif qilgan usul bo'yicha tashxislanadi. Bunda ichak mikroflorasining o'zgarishi ikki daraja orqali aniqlanadi:

I darajali disbakteriozda o'zgarishlar faqat indigen guruh vakillari orasida ro'y beradi, bifido- va laktobakteriyalar normal xususiyatga ega ichak tayoqchaga nisbatan kamayib ketadi. Ichak disfunktsiyasi namoyon bo'lmaydi.

II darajali disbakteriozda nafaqat indigen bakteriyalar miqdori kamayadi, balki fakultativ guruhga kiruvchi shartli - patogen bakteriyalar miqdori oshib ketadi. Ichak disfunktsiyasi belgilari yaqqol ko'rinadi.

Bu darajalar disbakterioz indeksi (DI) yordamida aniqlanadi.

$$DI I = \frac{E.coli KHQB/g}{Indigen bakteriyalar KHQB/g} < 0,1;$$

$$DI II = \frac{Fakultativ bakteriyalar KHQB/g}{Indigen bakteriyalar KHQB/g} \leq 0,5;$$

Agar  $DI I > 0,1$  ;  $DI II \geq 0,5$  ; bo'lsa, bu disbakterioz birinchi darajasi hisoblanadi. Agar  $DI P > 0,5$  ;  $DI I$  necha bo'lishidan qat'iy nazar, disbakteriozning ikkinchi darajasi deb qaraladi.

Bu usul oddiyligi bilan ajralib turadi, unda mikroflora buzilishi ikkitagina ko'rsatkich orqali aniqlanadi. Ya'ni normal mikrofloraning vakillari miqdori me'yordan pasayishi kuzatilsa – disbakteriozning birinchi darajasi, indigen flora miqdori pasayib, aksincha shartli-patogen flora vakillari me'yordan ko'payib ketsa – disbakteriozning ikkinchi darajasi deb qabul qilingan.

## **Qin (vaginal) mikroflorasi, uning qiz bolalarda shakllanishi va undagi disbiotik holatlar**

Ayollar jinsiy yo'llari ichki tomondan yassi epiteliy bilan qoplangan qin silindrsimon epiteliy bilan qoplangan, bachadon bo'yni morfologik hamda bioximik ahamiyatga ega bo'lgan vaginal sekret dan iborat. Shuning uchun ham, bu har qaysi biotopda ma'lum bir turdagi mikroorganizmlar joylashgan.

Vaginal tuzilma ko'p qavatli yassi epiteliy bo'lib, bazal qavati yetilish jarayonida qin ichki yuzasiga harakat qiladi. Epiteliotsitlar fiziologik rivojlanish jarayoni, ularning ko'chishi va yuza qavatning qalinligi tuxumdonlar gormonlari nazorati ostida bo'ladi. Vaginal sekret seroz transsudat hisoblanib, tarkibida leykotsitlar, ko'chgan epiteliy hujayralari, bachadon bo'yni shilliq qavati va bartolin bezlari ajratgan moddalar bo'ladi.

Yangi tug'ilgan qiz bolalarda qin normada hayotining 1 - soatlarida steril bo'ladi. 1-sutkaning oxirlariga kelib, aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar to'planadi. Bir necha kundan so'ng laktobakteriyalar ko'payishi boshlanadi. Buni quyidagicha tushuntirish mumkin: onadan bolaga transplatsentari yo'l bilan o'tgan estrogenlar vaginal epiteliyda glikogen to'planishiga olib keladi va glikogen laktobakteriyalar ko'payishi uchun substrat rolini bajaradi. Bunga qo'shimcha ravishda, gormonlar vaginal epiteliyning laktobakteriyaga nisbatan retseptor faolligini kuchaytiradi. Laktobakteriyalar glikogenni sut kislotagacha parchalab, pH ning kislotali tarafga (4,4 – 4,6 gacha) siljishiga olib keladi va kislotali muhitga sezgir bo'lgan mikroorganizmlarning o'sishi va ko'payishiga to'sqinlik qiladi. Bu davrda chaqaloqlarning mikroflorasi sog'lom ayol qin mikroflorasiga o'xshash bo'ladi.

Tug'ilishdan 3 haftadan so'ng onadan o'tgan estrogenlar to'liq parchalanib bo'ladi va epiteliy yupqa va «yetilmagan» holga keladi. Undagi glikogen miqdorining kamayishi organik kislotalarning ham kamayishiga olib keladi va vaginal muhit pH 4,5 dan 7,0 gacha ko'tariladi. pH ning neytral ko'rsatkichga yaqinlashuvi oksidlanish-qaytarilish potentsiali kamayishiga va laktobakteriyalar miqdorining pasayishiga sabab bo'ladi. Buning natijasida qat'iy anaerob mikroorganizmlar mikroflorada dominantlikka erishadi. 2 oylik qiz bola chaqaloqlarda yangi tug'ilgan chaqaloqlarga nisbatan qin mikroflorasidagi umumiy mikroblar soni sezilarli darajada past bo'ladi.

Pubertatlik davrida qizlar organizmida ovarial funksiya rivojlanishi natijasida endogen estrogenlar paydo bo'ladi va estrogen ta'sirida

vaginal epiteliy hujayralarida glikogen to'planadi. Epiteliy qavat qalinlashadi va laktobakteriyalar adgeziyasi uchun retseptorlar soni ko'payadi. Shu davrdan boshlab, qin mikroflorasida laktobakteriyalar dominantlikka erishadi va bu ayollar butun reproduktiv davrigacha saqlanib qoladi.

Sog'lom tug'ruq yoshidagi ayollarda estrogenlar menstrual hayz davrining proliferativ bosqichida, progesteron gormoni esa sekretor bosqichida ta'sir etib turadi. Shu sababli vaginal mikroflora hayz davrining turli davrlarida (bosqichlarida) o'zgarib turadi. Eng kam mikroorganizmlar soni hayz davrida aniqlanadi.

Normal mikrofloraning turli aerob va qat'iy anaerob mikroorganizm vakillari sekretor bosqichga nisbatan proliferativ bosqichda ko'p uchraydi. Hayz siklining proliferativ bosqichida ayollar organizmida infeksiyalarga moyillik ortadi. Hayz davrining 2-14 kunlarida qinda aerob bakteriyalar qat'iy anaerob mikroorganizmlardan son jihatdan ko'p bo'ladi, lekin hayz davri oldidan qat'iy anaeroblar aerob bakteriyalardan deyarli 100 baravar oshiq bo'ladi.

Homiladorlik davrida qinda glikogen miqdori oshib borganligi tufayli laktobakteriyalar hayot faoliyati uchun qulay sharoit yuzaga keladi. Ushbu davrda bakteroidlar, spora hosil qilmaydigan qat'iy anaeroblar va aerob Gram (+) sharsimon va Gram (-) tayoqchasimon bakteriyalar soni kamayadi. Bu o'zgarishlar homiladorlikning 3-trimestrida eng yuqori nuqtaga chiqadi.

Tug'ruq qin mikroflorasi tarkibini sifat va miqdor jihatidan o'zgarishlariga sabab bo'ladi; spora hosil qilmaydigan Gram (-) anaerob bakteroidlar, esherixiyalar ko'payib, lakto- va bifidobakteriyalar soni kamayadi. Tug'ruqdan 3-4 kun o'tgach, vaginal mikroflora buzilishlari turli xil asoratlar rivojlanishini yengillashtiradi. Lekin bu mikroflora o'zgarishlari tranzitor bo'lib, tug'ruqdan 6 hafta o'tgach, me'yorgacha tiklanadi.

Menopauza davrida genital traktda estrogenlar, glikogen va oksidlanish-qaytarilish potentsiali sezilarli pasayishi boshlanadi, bifido- va laktobakteriyalar miqdori kamayib, pH neytral ko'rsatkichga ega bo'ladi. Mikroflora tarkibi sifat va miqdor jihatidan eng past ko'rsatkichlarni tashkil qiladi. Qin mikroflorasining asosiy qismini obligat anaerob bakteriyalar egallaydi.

Ayollarda normal qin mikroflorasi tarkibini nazorat qiluvchi bir qator omillar mavjuddir.

Ayollar hayotining ma'lum bosqichlarida gormonga bog'liqlik kuzatiladi; vaginal fiziologik o'zgarishlar va shunga bog'liq har oydagi

siklik jarayonlar vaginal mikrofloraning sifat va miqdoriy tarkibining o'zgarishlarini keltirib chiqaradi. Vaginal mikroflora Gram (+) va Gram (-) aerob, fakultativ anaerob va qat'iy anaerob mikroorganizmlarni o'z ichiga oladi (21-jadval). Ular vaginal epiteliyga adgeziya bo'lish va muhit uchun kurashish kabi xususiyatlarga ega.

Vaginal mikrofloraning asosiy vakillaridan bo'lgan laktobakteriyalar mikroaerofillar bo'lib, ayollar qinida ularning *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri* turlari ko'p uchraydi. Sog'lom ayollarda laktobakteriyalar faqat qinda uchramay, balki uretraning distal bo'limlarida ham topiladi. Uroepitelial hujayralarda joylashgan laktobakteriyalar siydik-tanosil traktining pastki bo'limlarini uropatogen bakteriyalar kolonizatsiyasidan himoya qiladi. Laktobakteriyalar qinda  $10^7 - 10^9$  KHQB/ml da uchraydi. Ular vaginal traktida ekzogen mikroorganizmlar adgeziyasiga to'sqinlik qilib, boshqa bakteriyalarning proliferatsiyasini chegaralaydi.

Laktobakteriyalarning vaginal mikrobiosenozi nazoratining bir qancha mexanizmlari aniqlangan. Shulardan biri, bu laktobakteriyalarning metabolizmi jarayonida sut kislotasi va boshqa organik kislotalarning hosil bo'lishidir. Kislotalar qin muhit pH ni kislotali bo'lishini ta'minlaydi. Vaginal suyuqlik muhit pH ning past bo'lishi, uning redoks-potensialini oshiradi, shu sababli, yanada shartli patogen anaerob mikroorganizmlarning o'sishini to'xtatadi. Ikkinchidan, bu laktobakteriyalarning  $H_2O_2$  ishlab chiqarishidir. Vodород peroksidi *G.vaginalis*, *P.bivia*, *P.disiens*, *Mobiluncus* spp. kabi mikroorganizmlarning kolonizatsiyasiga qarshilik qiladi. Uchinchidan, laktobakteriyalarga nisbatan vaginal epiteliy hujayralari yuzasidagi yuqori adgezivlik xususiyatli omillarning borligidir. Laktobakteriyalarning adgezin moddasi – lipoteyxoyevaya kislota. Bulardan tashqari, laktobakteriyalar bakteritsin, lizotsim, laktatsidin, laktatsin, atsidolin kabi moddalarni ishlab chiqaradi. Qolgan vaginal floralari ham har biri o'ziga xos funksiyalarni bajaradi.

Qin mikroflorasi holatini baholash muhim ahamiyatga ega bo'lib, hozirgi kunda ko'plab bakteriologik tasniflar taklif qilingan. Bulardan Ye.F.Kira 1994 yilda ishlab chiqqan qin biosenozi mikroscopik xarakteristikasining original tasnifi alohida o'rin tutadi. Bu tasnifda qin biosenozi 4 ta tipga tavsif berilgan va har bir tipga mos keluvchi nozologik shakl ko'rsatilgan (21-jadval).



## Qin biosenozining mikroskopik tasnifi

(E.F.Kira bo'yicha)

Biosenoz holati (tipi)	Belgilar tavsifi	Nozologik shakl
Normosenoz	Laktobakteriyalar ko'p, gram (-) bakteriyalar. sporalar, mitseliylar, psevdogiflar, leykotsitlar uchramaydi, kam miqdorda "toza" epiteliy hujayralar bor	Qin biotopining me'yoriy holati
Oraliq tip	Laktobakteriyalar soni kam, gram (+) kokklar, gram (-) tayoqchalar uchraydi. Leykotsitlar, monotsitlar, makrofaglar, epiteliyal hujayralar mavjud.	Ko'pincha sog'lom ayollarda kuzatiladi, ba'zan subyektiv shikoyatlar va klinik belgilar yuzaga keladi
Qin disbiozi	Laktobakteriyalar juda kam yoki umuman bo'lmaydi, ko'plab polimorf gram (+) va gram (-) tayoqchali va kokkli mikroflora; "asosiy" hujayralar bo'ladi. Leykotsitlar soni o'zgaruvchan, fagotsitoz kuzatilmaydi yoki tugallanmagan holda bo'ladi. Surtmaning polimikrob ko'rinishi.	Bakterial vaginoz
Vaginit (surtmaning yallig'lanishga xos tipi)	Leykotsitlar, monotsitlar va epiteliyal hujayralar soni juda ko'p, yaqqol fagotsitoz kuzatiladi. Gonokokklar, trixomonada, mitseliylar, psevdogiflar va sporalar uchraydi.	Nomaxsus vaginit, so'zak, trixomonoz, mikotik vaginit

Epidemiologik tekshiruvlar ma'lumotlariga ko'ra, ayollar jinsiy a'zolari yuqumli-yallig'lanish kasalliklari orasida me'yoriy mikroflora tarkibiy qismini tashkil etgan shartli patogen bakteriyalar va zamburug'lar (*U.urealyticum*, *Bacteroides* spp., *Sandida* spp. va boshq.) keltirib chiqargan yallig'lanish kasalliklari asosiy o'rinni egallaydi. Bu kasalliklar yallig'lanishning maxsus belgilarisiz (simptomlarsiz) kechganda tashxis qo'yish qiyinlashadi va kasallikning surunkali shaklga o'tishi hamda asoratlar rivojlanishi kuzatiladi. Vaginal mikroflora tarkibida

mikroorganizmlarning alohida turlari aniqlanganda mikrobiosenozi holatiga obyektiv baho berib bo'lmaydi va etiotrop davolash choratadbirlari o'tkazish zarurligi haqidagi savolni yechish qiyinlashadi. Faqatgina alohida tur mikroorganizmlarning nisbatini aniqlovchi miqdoriy tekshiruvlar o'tkazilganda va ularning biologik xossalari o'rganilgandagina vaginal mikrobiosenozi xarakteristika berish mumkin bo'ladi.

### **Ichak va vaginal mikrobiosenozi sifati va miqdoriy tarkibini o'rganish usullari**

Mikrobiologik tekshirishlar natijasiga ta'sir etadigan muhim omillardan biri bu – patsiyentdan biologik materialni to'g'ri olish va laboratoriyaga o'z vaqtida yetkazish masalasidir. Materialni olish, uni laboratoriyaga jo'natish va kerakli oziq muhitlarga ekish mavjud qoidalarga asoslangan holda o'tkaziladi.

Odam mikroflorasida dominant mikroorganizmlar hisoblangan spora hosil qilmaydigan qat'iy anaerob bakteriyalarni ajratib olishda, material olib, ekishgacha bo'lgan vaqtda bu mikroorganizmlar  $O_2$  ning letal ta'siridan himoyalangan bo'lishi lozim. Shuning uchun bemor najasi transportirovkasida rezina tiqimli probirkalardan foydalaniladi. Vaginal material maxsus transport oziq muhiti hisoblangan – tioglikol solingan rezina tiqimli probirkada olib kelinadi. Ma'lumki, material olinib, ekishgacha bo'lgan vaqt 2 soatdan oshmasligi kerak.

Laboratoriyaga olib kelingan najasning chuqur qismidan 1 g tortib, vaginal suyuqlik bo'lsa 1 ml olamiz va 9 ml bufer eritmasida aralashtiriladi. Bu ham aerob, ham anaerob bakteriyalarning bir tekis tarqalishi va ularning tirik saqlanishi uchun sharoit yaratadi. Bu eritmalarni  $10^1$  dan  $10^{10}$  darajasigacha suyultiriladi va ularning har biridan tegishli oziqa muhitlariga turli ayerob, hamda anaerob mikroorganizmlarni ajratib olish uchun ekiladi (22-jadval).

Anaerob bakteriyalar normal ichak mikroflorasining 98-99% ni, aerob flora esa 1-2% ni tashkil qilishini hisobga olinib, ularni o'stirishda kimyoviy modda tutadigan gaz paketchalari joylashtirilgan mikroanaerostatdan foydalanish mumkin (anaerob bakteriyalarni ajratib olish usullariga qaralsin).

Gr (-) spora hosil qilmaydigan qat'iy anaerob bakteriyalar natriy-azid qo'shilgan qonli va bakteroidlar uchun agarlarda o'stiriladi. Inkubatsiya vaqti  $35^\circ\text{C}$  da 72 soat. Bu oziq muhitlarda bakteroidlar yaxshi o'sadi. Bakteroidlar kulrang, to'q jigarrang, qora koloniyalar hosil qilib, shakli - grammanfiy polimorf tayoqcha, spora hosil qilmaydi, katalaza manfiy. Bakteroidlar qat'iy anaerob hisoblanib, anaerostatlarda 2-4 kun o'stiriladi.

Gram (+) qat'iy anaerob bakteriyalar "Blourokko" va "Himedia" firmasining "Bifidobakteriyalar uchun agar" oziq muhitlarida  $37,5^\circ\text{C}$  -  $38^\circ\text{C}$  da

48 soat anaerob sharoitda o'sadi. Bifidobakteriyalar disk ko'rinishdagi koloniyalar hosil qiladi. Bu agarda boshqa anaeroblar ham o'sishi mumkin. Shuning uchun koloniyalardan surtma tayyorlanib ko'riladi.

22-jadval

**Aerob va anaerob bakteriyalarni ajratib olishda suyultirish darajalaridan foydalanish\***

№	Oziqa muhitlar	O'suvchi bakteriyalar	Suyultirish darajasi										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1.	BQA	Bakte-rioidlar							+		+		+
2.	Blaurok	Bifidobak-teriyalar					+			+		+	
3.	Karamli muhit MRS-4	Laktobak-teriyalar				+			+		+		
4.	Endo	Enterobak-teriyalar			+		+			+			
5.	5% qonli agar	Kokklar, bakteriya-lar (gemo-liz. xus.)			+		+			+			
6.	Tuxum sarig'i qo'shilgan tuz-li agar	Patogen stafilo-kokklar		+		+			+				
7.	Kalina muhiti	Strepto-kokklar D-guruhi			+		+			+			
8.	Shoko-ladli agar	Gard-nerella		+		+			+				
9.	Saburo muhiti	Zambu rug'lar			+		+						
10.	Vilson-Bler muhiti	Klostri-diyalar			+		+			+			

\**Eslatma:* Toshkent Tibbiyot akademiyasi mikrobiologiya kafedrasi amaliyot laboratoriyasining uzoq yillik tajribasi asosida tuzilgan.

Surtmada bifidobakteriyalar Xitoy iyerogliflari singari to'g'ri yoki shoxlangan, X, Y, V ko'rinishdagi, chetlari yo'g'onlashgan tayoqcha shaklida bo'ladi. Bifidobakteriyalar indol va katalaza hosil qilmaydi. Nitratlarni qaytarmaydi. Dulsit, glitserin, eritrit, ramnozani parchalamaydi.

Laktobakteriyalar SRM-4 muhitida o'stiriladi. Bu muhitda zamburug'lar o'smasligi uchun unga sorbin kislotasi qo'shildi. Ekilgandan so'ng Petri kosachasi mikroanaerostatga joylashtirildi, O<sub>2</sub> ni yutuvchi katalizator qo'yilmaydi. 37°C da 48 soat termostatda saqlanadi. Laktobakteriyalar oziq muhitda yirik, silliq, oq rangli koloniyalar hosil qiladi.

Laktobakteriyalar – Gram (+) tayoqchasimon, mikroaerofil bakteriyalar bo'lib, ular oksidaza hosil qilmaydi, harakatsiz, sporasi yo'q.

Gardnerella vaginalis – Gram (–) yoki gramvariabel kokkobatsillalar, mikroaerofil bakteriyalardir. Gardnerellalar Gardnerella vaginalis agar va shokoladli agarda mikroaerofil sharoitda o'stiriladi. β - gemolizinni aniqlash uchun muhitga 10% qon qo'shiladi. Bu muhitda gardnerellalar kulrang, yaltiroq, silliq, dumaloq, diametri 0,25-0,45 mm, atrofida β - gemolizli koloniya hosil qiladi.

Enterobakteriyalar – Gram (–), spora hosil qilmaydigan, fakultativ anaerob bakteriyalardir. Ularni o'stirish uchun Endo muhitidan foydalaniladi. Laktozonegativ va laktozopozitiv ichak tayoqchasi alohida-alohida hisobga olinadi. Bu mikroblarni bioximiyaviy identifikatsiya qilish uchun Kligler differensial-dagnostik oziq muhitidan foydalaniladi. Har bir ichak disbakteriozi uchun olingan tahlilda salmonella va shigella bor-yo'qligi tekshiriladi. Shuning uchun tekshirish uchun olingan fekaliiy vismut-sulfit agar va Ploskireva muhitariga ham ekiladi.

Stafilokokklar Staphylococcus agar № 110 yoki tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli va qonli agarda o'stiriladi. Bu oziq muhitlar 7,5% NaCl, mannit va jelatin tutadi. Patogen mikroblar hisoblangan St. aureus oziq muhitda sariq pigment hosil qiladi. Mannitni parchalanganligini bilish uchun koloniyaga 0,04% li brom-timol ko'ki tomiziladi. Bo'yoq sariq rang hosil qilsa, reaksiya (+) hisoblanadi. Jelatinni parchalanganligini bilish uchun koloniyaga 20% li sulfosalitsil kislotasi (Stone reaksiyasi) tomiziladi. Koloniya atrofida tiniq, yorug' zona paydo bo'lsa, reaksiya (+) hisoblanadi. Bundan tashqari, stafilokokklarni gemolitik va plazmokoagulaza hosil qilish xususiyati o'rganildi.

Streptokokklar 5% li qon qo'shilgan agarda o'stirildi. Bu muhitda streptokokklardan tashqari, katalaza pozitiv stafilokokklar ham o'sadi. Shuning uchun bakteriyalar identifikatsiyasida katalaza borligini aniqlovchi test o'tkazish shart.

Enterokokklar – streptokokklarning D guruhiga mansub mikroorganizmlar bo'lib, ular o'tli-eskulinli muhitda o'stiriladi. Enterokokklar eskulinni gidrolizga uchratib, eskuletin va glyukoza hosil qiladi. Eskuletin temir sitrat bilan birikib, qora rang hosil qiladi.

Candida avlodi zamburug'lari xloramfenikol (400 mg/l) qo'shilgan Saburo muhitida o'stiriladi. Bu muhitda zamburug'lar 24-48 soatdan keyin qaymoqsifat, dumaloq, chetlari tekis koloniya hosil qiladi.

Vilson-Bler muhiti sporali anaeroblarni o'stirish uchun mo'ljallangan bo'lib, ular qora koloniyalar hosil qilib o'sadi. Shakli grammusbat yirik tayoqcha, sporasi markazda yoki subterminal joylashishi mumkin, 0,9 - 9 mkm o'lchamli, yakka holda yoki to'plam holda bo'lishi mumkin. Katalaza hosil qilmaydi.

Miko- va ureaplazmalar ED-1 va mikoplazma uchun ishlab chiqilgan agarlarda o'stirish mumkin. ED-1 oziq muhiti quyvon go'shti va jigari ekstraktidan tayyorlanadi. Tayyor ekstraktga 2% li agar-agar, 1% li pepton, 0,5% osh tuzi solinib, avtoklavda 0,5 atmosfera bosimida 121°C da 20 daqiqa sterilizatsiya qilinadi. 2-bosqichda ikkilamchi ingredientlardan mikoplazma o'sishi uchun 40% ot zardobi va assit suyuqligi, vitaminlar, mikroblar va zamburug'larga qarshi antibiotiklar qo'shiladi. Ureaplazmalar o'sishi uchun 2 ml 10% li mochevina va 0,5 gr. 30% li linkomitsin gidroxlorid qo'shiladi. Bu muhitlarda miko- va ureaplazmalar o'sish natijalari 48-72 soatdan keyin o'rganildi. Kuzatishlar bakterioskopik usulda o'tkazildi.

Petri kosachalarida o'sib chiqqan mikroorganizmlar miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$M = N \times 10^{n+1}$$

Bu yerda, M-1 g najasdagi mikroblar soni; N- Petri kosachasida o'sib chiqqan koloniyalar soni; p- materialni suyultirish darajasi.

Masalan, agar Petri kosachasida 10<sup>6</sup> darajali suyultirishdan 31 ta koloniya o'sib chiqqan bo'lsa, yuqoridagi formuladan foydalanib, 1 g materialdagi mikroblar sonini topish mumkin:

$$M = 31 \times 10^{(6+1)} = 31 \times 10^7 \text{ yoki } 3,1 \times 10^8 \text{ KHQB/g}$$

Qo'llanilgan muhitlarda oxirgi suyultirishga asosan o'sgan mikroorganizmlar miqdori aniqlanadi va me'yor bilan solishtiriladi. Me'yoriy miqdor ko'rsatkichlariga nisbatan buzilishlarni disbakterioz deb hisoblanib, uning darajasi aniqlanadi.

Odam najasi yoki vaginal suyuqligidan laboratoriyada ekilgan ekilmalarni natijalash. 1 gramm najasda yoki 1 ml vaginal suyuqlikdagi bakteriyalarning KHQB/g yoki mlda hisoblab topish.

**Og'iz bo'shlig'i mikroflorasi va uni o'rganish.** Og'iz bo'shlig'i mikroflorasini o'rganishda bakteriologik, ya'ni 1 ml suyuqlikda yoki 1 g tarkibidagi mikroorganizmlar o'rganiladi, shilliq qavat mikroflorasi esa tamg'a surtma usulida bakterioskopik aniqlanadi.

Bakteriologik tekshirish uchun material ovqatlanmasdan oldin ertalab yoki ovqatlanishdan 2 soat keyin og'iz bo'shlig'i so'lak suyuqligi steril probirkalarga yig'iladi. Laboratoriyada so'lakdan 1 ml olamiz va 9 ml bufer eritmasida aralastiriladi. Bu eritmalarni 10<sup>1</sup> dan 10<sup>10</sup> darajasigacha suyultiriladi va ularning har biridan tegishli oziqa muhitlariga turli aerob hamda anaerob

mikroorganizmlarni ajratib olish uchun ekiladi. Tekshirishni qolgan bosqichlari yuqorida keltirilgan usullardan farq qilmaydi. Og'iz bo'shlig'idagi mikroblar va har bir bakteriyalarning 1,0 ml so'lakdagi miqdori hisoblab topiladi.

**Og'iz bo'shlig'i mikroflorasini bakterioskopik o'rganish.** Talabalar bir-birlaridan steril cho'p (sterillangan tish kavlagich cho'pi) bilan tish karashidan olib surtma tayyorlashadi. Burri va Gram usullarida bo'yab, mikroskopda ko'rishadi va bakteriyalar rasmini chizib, og'iz bo'shlig'i mikroflorasi bo'yicha xulosa qilishadi.

**Teri mikroflorasi va uni o'rganish.** Teri mikroflorasini o'rganishda ham bir necha usullar qo'llaniladi. Teri mikroflorasini miqdoriy o'rganilganda 1 sm<sup>2</sup> teri yuzasi mikroflorasi aniqlanadi. Buning uchun steril tampon oziqli bulon bilan namlab olinib, 1 sm<sup>2</sup> teri yuzasidan surtib olinadi va kerakli oziqli muhitlarga ekiladi. Oziqli muhitda o'sgan koloniyalar sanalib 1 sm<sup>2</sup> teridagi mikroblar miqdori (KHQB) ko'rsatiladi. Sanitariya epidemiologik tekshiruvlarda, neytral bulyon bilan namlangan steril tampon bilan barmoqlardan va teridan yuvindi olinadi. Bundan tashqari, talabalar barmoqlardan tamg'a surtma usulda GPA ekishadi va teri mikroflorasiga epidemiologik baho berishadi.

### **13-MAVZU. BAKTERIYALAR GENETIKASI, YUQUMLI KASALLIKLAR VA ULARNING KECIIISH JARAYONLARI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Bakteriyalardagi modifikatsiyalar va ularni aniqlash usullari.
2. Bakteriyalardagi mutatsion o'zgarishlar va ularni aniqlash usullari.
3. Transformatsiya, transduksiya va kon'yugatsiya tajribalari yordamida bakteriyalardagi nasliy rekombinatsiyalarni o'rganish.
4. Bakteriotsinogeniyani (*E. coli* kolitsin va kolitsinogen tipini aniqlash) o'rganish usullari.
5. Bakteriyalardagi patogenlik omillari.
6. Laboratoriya hayvonlariga eksperimental yuqtirish va biologik sinamalar qo'yish usullari.

#### **Namoyish qilish**

1. *E. coli* va boshqa bakteriyalarning S va R shakldagi koloniyalari.
2. Bak. subtilis transformatsiya tajribasi orqali Str<sup>r</sup> (streptomitsinga chidamlilik) xususiyatiga ega bo'lgan transformantlar (rekombinantlar) hosil bo'lish tezligini aniqlash usullari.
3. Fag  $\lambda$  dgal bilan o'tkaziladigan maxsus transduksiya tajribalariga ko'ra, *E. coli* transduktantlarining hosil bo'lish tezligini aniqlash usullari.
4. *E. coli* Hfr shtamining va *E. coli* F- shtamining hujayralari bilan qo'yilgan kon'yugatsiya tajribasi natijasida olingan leu<sup>+</sup> rekombinantlarning hosil bo'lish tezligini aniqlash usullari.

5. Ko'pchilik antibiotiklarga chidamlilikni kontrol qiladigan R-plazmidani *E. coli* ning bir shtamidan ikkinchisiga o'tishida paydo bo'lgan rekombinantlarning (transkon'yugantlarning) hosil bo'lish tezligini aniqlash usullari.

6. Bakteriyalarning irsiyatiga taalluqli albom, rasmlar, sxemalar, slaydlar.

7. Organizmdagi himoya mexanizmlarini to'xtatuvchi patogen omillarni: bakteriyalarda kapsulani, agressiv fermentlarni, patogen mikobakteriyalarda esa kord-faktorni aniqlash usullari.

8. Laboratoriya hayvonlariga biologik materiallarni yuqtirish, biologik sinamalar qo'yish usullari.

#### Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq

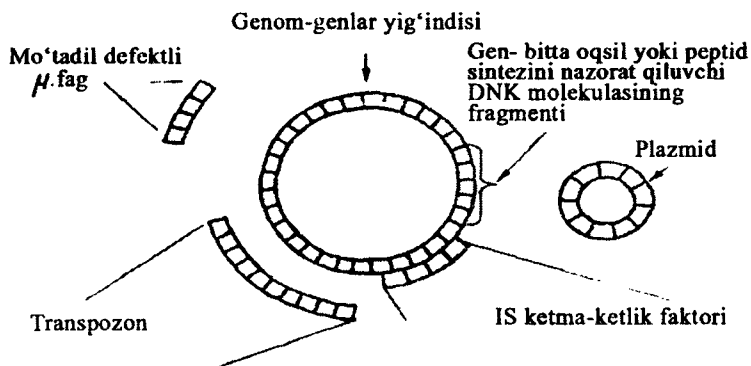
1. *Proteus vulgaris* bakteriyalari harakatchanligi yo'qotilishining modifikatsion yoki mutatsion tabiatini aniqlash.

2. Har xil *E. coli* shtammlarida o'tkazilgan tajribalar natijasiga ko'ra Col-plazmidada borligini va ularning kolitsinogenotipini aniqlash.

3. Stafilokokklarni patogen omillarini aniqlash (plazmokoagulaza, letsitinaza, gemolizin) uchun ekilgan ekmalarning natijalarini qayd etish va tegishli xulosa chiqarish.

### Bakteriyalar irsiy materialining tuzilishi

Mikroorganizmlarda ham xuddi boshqa tirik jonivorlar singari, muayyan turga xos belgilar nasldan - naslga o'tib boradi. Bakteriyalarning irsiy ma'lumotlari hujayrani DNK sida (xromosomasi ham deyiladi) mujassamlashgan bo'lib, spiralsimon halqa ko'rinishida bo'ladi (46-rasm). Bu halqa bitta nuqtasi bilan sitoplazmaga birikib turadi. Xromosoma ma'lum genlardan iborat bo'ladi. Bakteriya xromosomasining funksional birligidan tashqari, bakteriyalarda xromosomalardan holi turadigan irsiy



46-rasm. Bakteriyalarning xromosomasi va unga taalluqli bo'lmagan faktorlarning sxematik ko'rinishi

ma'lumotlar saqlovchi kichik DNK fragmentlari uchraydi, bularga quyidagilar kiradi:

1. Plazmidlar.
2. Traspozonlar.
3. Mo'tadil faglar ( $\mu$  – fag).
4. Is- elementlar.

**Plazmidlar** qo'shimcha irsiy material bo'lib, ikki ipli halqasimon DNK molekulasidir (46-rasm). Ular tarkibidagi genlar bakteriya hujayrasida qo'shimcha belgi va xususiyatlarni shakllantiradi va ularni selektiv imkoniyatini oshiradi.

Bakteriya hujayrasida plazmidlar ikki ko'rinishda: avtonom va genomga integratsiya bo'lgan holda uchraydi. Plazmidlar bakteriya xromosomasi boshqaruvsiz o'zlari avtonom holda replikatsiyaga uchrashi kuzatiladi va ularda amplikatsiya (bitta plazmidni bir necha nusxasi) hodisasi namoyon bo'ladi va ular tashib yurgan belgi xususiyatlarni namoyon bo'lishini kuchaytiradi. Plazmidlar bakteriya hujayralarida kodlashtirilgan va boshqaruvchi funksiyalarni bajaradi. Kodlashtirilgan funksiyasida bakteriya hujayrasiga yangi bir ma'lumotni yoki belgi xususiyatni olib kiradi. Boshqaruvchilik funksiyasida esa bakteriya metabolizmida ro'y beruvchi defektlarni yoki genom jarohatlarini tiklash bilan ularning funksiyalarini muvofiqlashtiradi. O'z tarkibidagi belgi xususiyatlarining ko'rinishiga qarab plazmidlar quyidagicha farqlanadi (23-jadval).

Bakteriyalar plazmidlarini yo'qotishi ularning o'limiga olib kelmaydi.

Bitta bakteriya hujayrasida bir necha funksiyalarni bajaruvchi plazmidlar bo'lishi mumkin.

**Migratsiyaga uchrovchi elementlar (MUE)** – DNK bo'lakchasi bo'lib, genomda ko'chib yurish xususiyatiga ega (transpozitsiya). MUE genomda ko'chib yurishini ular tarkibidagi maxsus ferment transpozaza sintezini amalga oshiruvchi genlar boshqaradi. Bularga transpozonlar va Is-elementlar kiradi.

**Transpozonlar** – o'z tarkibida 2000-25000 juft nukleoid tutuvchi DNK fragmenti bo'lib, ikki uchida Is- elementlar va maxsus genlar tutadi.

Transpozonlar bakteriya genomiga birikkanda duplikatsiya, genomdan chiqish davrida ma'lum qismida deletsiya va qayta chiqishi va kirish davrida 180° burilish oqibatida inversiya keltirib chiqaradi. Transpozonlar o'zlari replikatsiyaga uchramaydi, faqat genom tarkibida ko'payishi mumkin. Har bir transpozon tarkibida maxsus struktura genlari tutganligi uchun bakteriyalar fenotipida yangi belgi va xususiyatlar namoyon bo'ladi. Masalan, antibiotiklarga chidamlilik xususiyatini namoyon



qiluvchi genlar tutishi mumkin. Bitta bakteriya o'zining tarkibida bir nechta transpozonlar tutadi.

23-jadval

### Plazmidlarning xususiyatlari bo'yicha klassifikatsiyasi

Kategoriyasi (turlari)	Xususiyatlari
F- plazmidlar	Donorlik funksiyasi. (F+ bakteriyani erkak tipi. Bakteriya membranasida maxsus F-vorsinkalarning sintezini boshqaradi, kon'yugatsiyada qatnashadi).
R- plazmidlar	Ximiyaterapevtik preparatlarga chidamlilik xususiyatini shakllantiradi.
Col- plazmidlar	Bakteriotsinlar (kolitsin) sintezini amalga oshiradi.
Ent- plazmidlar	Enterotoksinlar sintezini amalga oshiradi.
Hly – plazmidlar Tox - plazmidlar Biodegradativ plazmidlar	Gemolizinlar sintezini amalga oshiradi. Ekzotoksinlar sintezini amalga oshiradi Turli ko'rinishdagi organik va neorganik birikmalarni, shuningdek og'ir metallarni parchalashda qatnashadi.

**Is- elementlar** – kichik DNK fragmenti bo'lib, tarkibida 800-1400 juft nukleoid tutadi. Ularda struktura genlari uchramaydi, faqat boshqaruvchi, transpozitsiyaga uchratuvchi genlar tutadi, ya'ni transpozon, plazmid, mo'tadil faglarni va o'zini bakteriya genomga kirishi, chiqishini kordinatsiya qilib boshqaradi.

**Mo'tadil faglar ( $\mu$  – fag)** – plazmidlarga o'xshash bo'lib, bakteriya xromosomasiga integratsiya bo'lishi yoki avtonom holda sitoplazmada uchrashi mumkin. Bakteriya genomiga birikishi (profag) bakteriyada yangi belgi xususiyatlarni hosil qilishi mumkin. Mo'tadil fag tutuvchi bakteriyalar lizogenli bakteriyalar deb ataladi va boshqa faglariga nisbatan tolerant bo'lib qoladi.

### Bakteriyalardagi o'zgaruvchanlik turlari

Boshqa organizmlar, jumladan yuqori darajali organizmlar genetikaning qaysi qonunlariga bo'ysunsa, mikroorganizmlarning o'zgaruvchanligi va irsiyati ham o'sha qonuniyatlarga bo'ysunadi.

Mikroorganizmlarda fenotipik va genotipik o'zgaruvchanlik tafovut qilinadi.

**Fenotipik o'zgaruvchanlik yoki modifikatsiyalar** – bu o'zgaruvchanlik genonga aloqador bo'lmaydi, o'zgarishlar nasldan-naslga o'tmaydi va ularni keltirib chiqaruvchi onillar ta'siri to'xtatilishi bilan bartaraf bo'ladi va bakteriyalar asl xususiyatiga yoki ko'rinishiga qaytadi.

**Genotipik o'zgaruvchanlik** – hujayra genomida o'zgarishlar ro'y beradi va genomdagi axborotlarga ta'sir ko'rsatadi. Bunda bakteriyalarda yangi belgi, xususiyatlar vujudga kelishi yoki ularni yo'qotishi kuzatiladi va bu xususiyatlar nasldan-naslga o'tishi mumkin. Genotipik o'zgaruvchanlik asosida mutatsiya va rekombinatsiyalar yotadi.

Mutatsiyalar joylashuviga qarab quyidagicha bo'linadi:

1. Genli (nuqtali).
2. Xromosomal.
3. Plazmidli.

Kelib chiqishiga qarab:

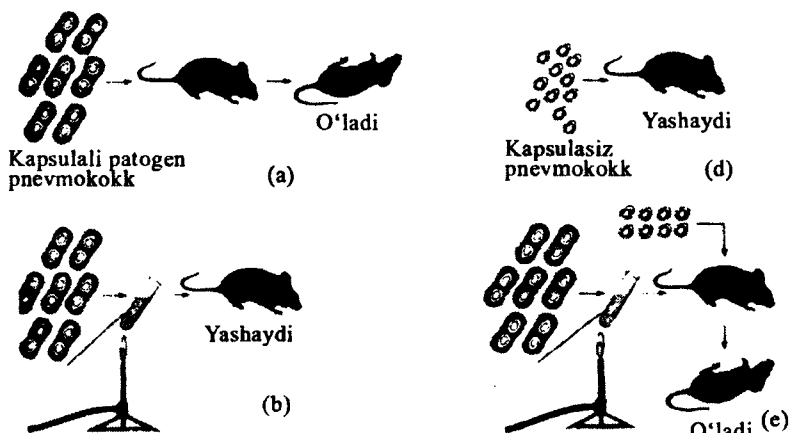
1. Spontan (kelib chiqishi noma'lum).
2. Induksiyalangan bo'lishi mumkin.

Rekombinatsiyalar – bakteriyalar o'rtasida genetik material almashinuvi bo'lib, ma'lum bir belgi xususiyatga ega bo'lgan rekombinant bakteriyalar hosil bo'ladi. Bakteriyalarda quyidagi rekombinatsiya turlari tafovut qilinadi.

1. Kon'yugatsiya.
2. Transformatsiya.
3. Transduksiya.
4. Protoplastlarning yopishishi (sliyaniye).

**Kon'yugatsiya** – genetik materialni donordan retsepiyentga bevosita bakteriyalar to'qnashishida o'tishiga aytiladi. Genetik materialning bir bakteriyadan ikkinchisiga o'tkazishni F- plazmidlar boshqaradi (inglizcha fertility – pushtlilik degan so'zdan olingan). Donor bilan retsepiyent o'rtasida hosil bo'lgan kon'yugatsion ko'priqcha qanchalik uzoq tursa, shunchalik irsiy ma'lumot ko'proq o'tadi.

**Transformatsiya** – DNK donor saqlovchi muhitdan DNK ma'lum ajralgan fragmentini retsepiyent hujayrasiga o'tkazilishiga aytiladi. Transformatsiya tajribasini sichqonlarda ko'rish mumkin (47-rasm). Rasmdan ko'rinib turibdiki, sichqon (a) kapsulali patogen pnevmokokk yuqtirilganda o'ladi, kapsulasiz pnevmokokk yuborilganda (b) o'lmagan, kapsulali formasi qizdirilganda esa (v) sichqonlar yana o'lmay qolgan, qizdirilgan kapsulali va tirik kapsulasiz formasi aralashtirib yuqtirilganda,



47-rasm. Transformatsiya hodisasini sichqonlar orqali tajribada ko'rish.

sichqon o'lib (g), uning organizmidan tirik kapsulali pnevmokokk ajratib olingan.

Transformatsiya davrida retsepiyent hujayralar o'ziga xos bo'lgan kompetentlik holatida bo'ladi. Bu holat retsepiyent bakteriyalarning faol bo'linish davriga to'g'ri kelib, ularda aynan shu davrda o'zining nuklein kislotasi replikatsiyasi ro'y berayotgan bo'ladi. Bakteriya hujayralarining bu davrida maxsus kompetentsion faktor ta'sir etadi – bu oqsil hujayra devorlari va sitoplazmatik membrananing o'tkazuvchanligini oshirib yuboradi. Shuning uchun DNK fragmenti retsepiyent hujayrasiga kirishi va genomiga birikishi kuzatiladi.

**Transduksiya** – donor hujayrasidan genetik ma'lumotni retsepiyent hujayrasiga mo'tadil faglar yordamida tashib o'tkazilishiga aytiladi. Transduksiyalovchi faglar donordan bitta yoki bir necha genlarini o'tkazishi mumkin. Transduksiya quyidagicha bo'ladi:

1. Maxsus transduksiya (mo'tadil faglar xromosomaning doim bir qismidan joy oladi va o'zi bilan yonma-yon joylashgan ma'lum genni olib o'tkazadi).

2. Maxsus bo'lmagan transduksiya (mo'tadil faglar xromosomani turli qismlariga joylashishi va turli genlarni o'tkazishi mumkin).

**Protoplastlarning yopishishi** – genetik material almashinuvi hujayra devori yo'q bakteriyalarning sitoplazmatik membranalarning o'zaro kontakti natijasida ro'y beradi.

## **Yuqumli kasalliklar va ularning kechish jarayonlari**

Yuqumli kasallik (infeksiya) – organizmga patogen qo'zg'atuvchilarning kirishi va to'qimalarning ularga hamda ular ishlab chiqaradigan toksinlarga biologik javob reaksiyalar yig'indisi hisoblanadi. Yuqumli kasallikning diapazoni turlicha bo'lib, uning oxirgi ko'rinishi quyidagicha bo'ladi:

1. Bakteriya yoki virus tashuvchilik (persistensiya – genomga viruslarning kirib olishi).

2. Yuqumli kasallik (kasallikning klinik jihatdan namoyon bo'lishi); Yuqumli kasallik kelib chiqishi quyidagi faktorlarning o'zaro munosabatlariga bog'liq:

1. Mikroob agentining bo'lishiga;
2. Makroorganizmning beriluvchanligiga;
3. Munosabatlar ro'y berayotgan muhitga.

### **Yuqumli kasallik qo'zg'atuvchisi va ularning xususiyatlari**

Bakteriyalar ichida quyidagilar kasallik keltirib chiqaradi:

1. Patogen turlari;
2. Shartli patogen turlari.

Patogen turlar – nisbiy yuqumli kasallik keltirib chiqarish xususiyatiga ega mikroorganizmlar, mikroorganizmlarning kasallik keltirib chiqarishi ularning patogenlik va virulentlik xususiyatlariga bog'liqdir.

**Patogenlik** – tur belgisi bo'lib, organizmga patogen qo'zg'atuvchilarning kirishi va to'qimalarda patologik o'zgarishlarni keltirib chiqarishi tushuniladi. Patogenlik xususiyati bakteriya genomida yoki ularning tarkibidagi plazmidlar, transpazonlar tarkibida bo'lishi mumkin.

Shartli patogenlar kasallik keltirib chiqarishi mumkin, qachonki organizmning himoya rezistentligi pasayib ketish oqibatida. Bakteriyalar o'zlarini patogenliklarini virulentlik xususiyatlari orqali amalga oshirishadi.

**Virulentlik** – shtamm belgisi bo'lib, bu xususiyatni miqdoriy hisoblash mumkin. Virulentlik patogenlikni fenotipdagi ko'rinishi hisoblanadi. Virulentlik faktorlariga quyidagilar kiradi:

1. Adgezivlik – bakteriyalarning epiteliylar yuzasiga yopishib olishi. Adgeziv faktorlarga bakteriyalarning kiprikchalari, adgeziv oqsillari, grammanfiy bakteriyalarda polisaxaridlar, grammusbat bakteriyalarda teyxoy kislotasi, viruslarda maxsus superkapsid oqsillari, glikoproteinlar kiradi;

2. Kolonizatsiya – bakteriyalarning shilliq qavat va hujayra yuzalarida ko‘payib yig‘ilib qolish xususiyati;

3. Penetratsiya – hujayralarga kirish qobiliyati;

4. Invazivlik – to‘qimalardan o‘tish va tarqalish qobiliyati. Bakteriyalarda bu xususiyatni ular ishlab chiqaruvchi patogen fermentlar (gialuronidaza, neyraminidaza) amalga oshiradi;

5. Agressiv xususiyati – organizmning nomaxsus va maxsus immun himoya omillariga qarshi kurashishi. Agressiv faktorlarga quyidagilar kiradi:

1. Hujayraning yuza strukturasi kiruvchi turli tabiatli moddalar (bakteriyalar kapsulasi, yuza oqsillari va b., bu strukturalar leykotsitlar migratsiyasi va fagotsitozni sustlashtirishi mumkin);

2. Patogen fermentlar – proteazalar, koagulaza, fibrinolizin, letsitinaza, RNK-za, DNK-za;

3. Bakterial toksinlar – bakteriyalarning kasallik keltirib chiqaruvchi zaharli moddalar hosil qilishi. Toksinlar endo va ekzotoksinlarga bo‘linadi (24-jadval).

24-jadval

### Bakterial toksinlar xarakteristikasi

Xususiyatlari	Ekzotoksinlar	Endotoksinlar
Uchrashi	Grammusbat va grammanfiy bakteriyalarda	Grammanfiy bakteriyalarda
Joylashuvi	Hujayra ichida va tashqarida	Hujayra ichida
Kimyoviy tabiati	Oqsil, peptidlar	“LPS-oqsil” kompleksi
100°C stabilligi	Doimiy emas	Doimiy
Formaldegid bilan inaktivatsiyaga uchrashi	Inaktivatsiyaga uchraydi	Inaktivatsiyaga uchramaydi
Gomologik AT bilan neytralizatsiya bo‘lishi	To‘liq neytralizatsiya bo‘ladi	Qisman neytralizatsiya bo‘ladi
Biologik aktivligi	Har bir toksin uchun individual	Hamma toksinlar uchun umumiy
Zaharliligi*(toksichnost)	100- 1 000 000	0,1

\*Strixninga nisbatan olingan (strixning faolligi shartli 1 deb ko‘rsatilgan)

## Uslubiy ko'rsatmalar (genotipik o'zgaruvchanlik bo'yicha amaliy ko'rsatmalar)

### Proteus vulgaris bakteriyalar kulturasining harakatiga fenolning ta'sir qilish mexanizmini aniqlash bo'yicha tajriba o'tkazish.

Bir kunlik kultura oziqli bulyon solingan ikkita probirkaga ekiladi; ularning biriga oldindan konsentratsiyasi 1:100 bo'lgan fenol eritmasi tomiziladi.

Termostatda 37°C da 18–20 soat davomida ushlangandan so'ng, ulardan «osilgan» tomchi preparati tayyorlanadi va bakterial hujayralar harakati tekshiriladi. Proteya kulturasining harakati modifikatsion yoki mutatsion o'zgarish natijasida bo'lganmi-yo'qligini aniqlash uchun fenol qo'shilmagan probirkadan bulyonli boshqa probirkaga ekiladi va bir sutka davomida termostatga qo'yiladi. So'ngra shu kulturadan «osilgan» tomchi preparati tayyorlanib, harakati tekshiriladi. Yo'qolgan belgining qaytadan tiklanishi (reversiya) modifikatsion o'zgarish ekanligini ko'rsatadi.

**Transformatsiya tajribasini o'tkazish.** Retsepiyent – Bas. subtilis Str<sup>r</sup> (beda tayoqchasi, streptomitsinga chidamsiz) shtammi. Donor – Bas. subtilis Str<sup>s</sup> (streptomitsinga chidamli) shtammdan ajratib olingan DNK, tarkibida 100 TB/ml streptomitsin bo'lgan oziqli agar, rekombinantlarni (transformantlarni) ajratib oladigan selektiv muhit bo'lib xizmat qiladi.

1 ml Bas. subtilis bulyonli kulturasiga 1 mkg/ml donorning DNK qo'shiladi. Aralashma 37°C da 30 daqiqa davomida termostatda saqlanadi. So'ngra probirkaga 0,1 mg/ml dan DNK aza eritmasi 0,5 ml magniy xlorid bilan tomiziladi va 5 daqiqa ushlab turiladi, bu o'z navbatida retsepiyent shtammining bakterial hujayralariga kira olmagan DNK ni parchalaydi. Hosil bo'lgan streptomitsinga chidamli rekombinantlarni (transformantlarni) aniqlash uchun 0,1 ml suyultirilmagan aralashmadan (chunki transformatsiyalangan hujayralar soni juda ham kam) Petri kosachasidagi selektiv muhitga ekiladi. Retsepiyent kulturaning hujayra sonini aniqlash uchun natriy xloridning izotonik eritmasida  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  gacha (sanash mumkin bo'lgan koloniyalar sonini olish uchun suyultiriladi) va 0,1 ml dan streptomitsinsiz, oziqli agarga ekiladi, kontrol uchun esa streptomitsinli agarga ham ekiladi. Oxirgi muhitda retsepiyent kultura o'smaydi, chunki u streptomitsinga chidamsiz. Ekmalar 37°C da inkubatsiya qilinadi. Keyingi kuni tajribaning natijasi ko'riladi va transformatsiya tezligi, hosil bo'lgan rekombinant hujayralar sonining, retsepiyent bakteriyalar soniga bo'lgan nisbati bilan aniqlanadi.

Masalan, 0,1 ml retsepiyent shtammining  $10^5$  darajagacha suyultirilgan kulturasida ekilganda 170 ta koloniyalar o'sib chiqdi, suyultirilmagan kulturasidan 0,1 ml ekilganda – 68 ta rekombinant shtammlar koloniyasi paydo bo'ldi. Har bir koloniya bir dona bakteriyaning ko'payishi natijasida hosil bo'lganligi uchun 0,1 ml ekilgan retsepiyent shtammining kulturasida yashash qobiliyatiga ega bo'lgan  $170 \cdot 10^5$  ta hujayra, 1 ml da esa  $170 \cdot 10^3$  yoki  $1,7 \cdot$

$10^8$  ta bo'ladi. Shu vaqtning o'zida 0,1 ml aralashmada 68 rekombinant hujayra, 1 ml da esa – 680 yoki  $6,8 \cdot 10^2$  hujayra mavjud bo'ladi. Shunday qilib, transformatsiya tezligi yuqoridagi tajribaga ko'ra quyidagiga teng bo'ladi:

$$\frac{6,8 \cdot 10^2}{1,7 \cdot 10^5} = 4,0 \cdot 10^{-6}$$

**Spetsifik transduksiya tajribasini o'tkazish.** Retsepiyent - laktoza fermentatsiyasini nazorat qiluvchi  $\beta$ -galaktozidaza operonidan mahrum bo'lgan E. coli lac (-) shtammidir. Transduksiya qiluvchi fag – fag X dgal genomidagi genlarning bir qismi E. coli ning  $\beta$ -galaktozidaza E. coli operoni bilan almashgan. Bu fag nuqsonli fagdir, ya'ni u ichak tayoqchasi ichiga kirib, uni lizis qila olmaydi va d harfi hamda unga qo'shib aytiladigan genomidagi bakteriya operonining nomi - gal bilan belgilanadi ( $\lambda$  dgal fag). Endo muhiti selektiv muhit bo'lib, unda shtammlar rangsiz koloniyalar hosil qiladi, chunki bu bakteriyalar laktozamanfiydirlar. Rekombinant shtammning koloniyalari esa shu muhitda laktozamusbat bo'lganliklari uchun qizil rangli metallga o'xshash yaltiroq koloniyalar hosil qiladi.

1 ml 3 soatli, bulyonli retsepiyent shtammning kulturasiga 1 ml transduksiya qiluvchi 1 ml da  $10^6$ – $10^7$  zarracha bo'lgan  $\lambda$  dgal fagdan qo'shiladi. Aralashma  $37^\circ\text{C}$  da 60 daqiqa davomida termostatda saqlanadi. So'ngra o'n martadan ayrim-ayrim koloniyalar olish mumkin bo'lgunicha suyultiriladi.  $10^{-6}$  darajaga suyultirilgan probirkadan 0,1 ml dan Endo muhiti solingan uchta Petri kosachasiga ekiladi va shpatel bilan bir tekis yoyiladi. Kosachalar bir kun davomida termostatda saqlanadi, so'ng tajriba natijasi qayd etiladi va transduksiya tezligi rekombinant (transduktantlar) hujayralarining soni, retsepiyent shtamm hujayralar soniga nisbatan aniqlanadi. Masalan, 0,1 ml aralashmaning  $10^{-1}$  marta suyultirilganidan Endo muhitiga ekilganda 138, 170 va 160 retsepiyent shtammning rangsiz koloniyalari hosil bo'ldi. Birinchi va oxirgi kosachalarda – beshta va bitta qizil rangli transduktant koloniyalar paydo bo'ldi. Shunga ko'ra, transduksiya tezligi quyidagiga teng:

$$\frac{(5+1) \cdot 10 \cdot 10^6}{(138+170+160) \cdot 10 \cdot 10^6} = \frac{6}{468} = 1,3 \cdot 10^{-2}$$

**Leytsin – sintezini nazorat qiluvchi, leu genga ega bo'lgan xromosoma fragmentining berilishini aniqlash maqsadida kon'yugatsiya tajribasi o'tkazish.** Rekombinantlarni ajratib olish uchun minimal glyukoza-tuzli ( $\text{KN}_2\text{RO}_4$  – 6,5 g,  $\text{MgSO}_4$  – 0,1 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 1 g,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  – 0,001 g,  $\text{FeSO}_4$  – 0,0005 g, glyukoza - 2 g, streptomitsin – 200 TB/ml, distillangan suvdan – 1 l) iborat bo'lgan selektiv muhitdan foydalaniladi.

2 ml 3 soatli retsepiyent kulturasiga 1 ml donorning bulyonli kulturasiga qo'shiladi. Aralashma  $37^\circ\text{C}$  da 30 daqiqa davomida termostatga qo'yiladi. So'ng aralashma  $10^{-2}$ – $10^{-3}$  darajada suyultiriladi va 0,1 ml dan Petri

kosachasidagi selektiv agarli muhitga ekiladi, bu muhitda faqatgina rekombinant koloniyasi o'sadi. Nazorat sifatida shu muhitga donor va retsepiyent shtammlar ekiladi, ammo ular o'smaydi, chunki birinchi shtamm streptomitsinga chidamsiz, ikkinchisi esa leytsinga muhtoj (auksotrof). Bundan tashqari, donor shtammning kulturasida streptomitsinsiz selektiv muhitga ekiladi, retsepiyent shtamm kulturasida esa to'liq, antibiotikli, oziqli agarga o'sa oladigan hujayralar sonini aniqlash uchun ekiladi. Ekilgan kosachalar keyingi kungacha 37°C da termostatda saqlanadi. O'sib chiqqan koloniyalar soni hisoblangandan so'ng rekombinatsiyaning tezligi rekombinant hujayralar miqdorining retsepiyent hujayralari soni nisbatiga ko'ra aniqlanadi.

Masalan, 0,1 ml donor va retsepiyent kulturalar aralashmasidan  $10^{-2}$  darajagacha suyultirib ekilganda 150 ta rekombinant koloniya, 0,1 ml retsepiyent kulturasida  $10^{-6}$  tacha suyultirib ekilganda 75 ta koloniya hosil bo'ldi. Shunday qilib, rekombinatsiya tezligi quyidagiga teng bo'ladi:

$$\frac{150 \cdot 10 \cdot 10}{75 \cdot 10 \cdot 10^4} = \frac{1,5 \cdot 10^5}{7,5 \cdot 10^4} = 2,0 \cdot 10^{-4}$$

**Ko'pchilik antibiotiklarga: streptomitsin ( $Str^r$ ), tetratsiklin ( $Te^r$ ) va xloramfenikol ( $Cm^r$ ) ga chidamlilikni nazorat qiluvchi R-plazmidani o'tkazish uchun kon'yugatsiya tajribasini qo'yish.**

Donor-shtamm *E. coli*  $K_{12}$   $R^+$   $leu^-$   $Str^r$   $Ts^r$   $Cm^r$ . Retsepiyent-shtamm *E. coli*  $K_{12}$   $R^-$   $leu^+$   $Str^r$   $Ts^r$   $Cm^s$ . Selektiv muhit minimal glyukoza tuzli muhit bo'lib, tarkibida yuqorida ko'rsatilgan antibiotiklarning har biridan 50 mg/ml bor. Steril probirkaga 1 ml dan 3 soatli donor va retsepiyent bulyonli kulturasidan qo'yiladi. Aralashma 37°C da 2 soat davomida termostatga qo'yiladi va 0,1 ml dan tarkibida uchta antibiotik bo'lgan selektiv muhitga ekiladi. Bu muhitda faqat rekombinant koloniyalar (trans-kon'yugantlar) o'sadi, chunki ular antibiotiklarga bo'lgan chidamlilikni qabul qilgan. Donor va retsepiyent shtammlar bu muhitda o'smaydi, chunki birinchi leytsinga muhtoj, ikkinchisi esa antibiotikka chidamsiz. Transkon'yugantlarning shakllanish tezligi transkon'yugant hujayralar sonining retsepiyent shtamm hujayralari soni nisbatiga ko'ra aniqlanadi. Masalan, 0,1 ml retsepiyent shtammning  $10^{-4}$  suyultirilgan kulturasidan glyukoza-tuzli va leytsinli muhitda 20 ta koloniya, 0,1 ml suyultirilmagan aralashmadan ekilganda – 60 ta transkon'yugant koloniyasi hosil bo'ldi. Shunday qilib, transkon'yugantlar hosil bo'lish tezligi quyidagicha:

$$\frac{60 \cdot 10}{20 \cdot 10 \cdot 10^4} = \frac{6 \cdot 10^2}{2 \cdot 10^6} = 3,0 \cdot 10^{-4}$$

**Kolitsinogen faktorlarni aniqlash.** Tekshirilayotgan *E. coli* kulturalari oziqli-agardan iborat Petri kosachalariga sanchilib (bir kosachasiga 7–8 ta) ekiladi. Ekilgan kosachalar 37°C da bir sutkaga termostatga qo'yiladi, so'ngra kosacha



qopqog'ining ichki tomoniga xloroform bilan shimdirilgan paxta qo'yiladi, natijada bakteriyalar halok bo'ladi. So'ngra agar ustiga 3 ml eritilgan va 45°C gacha sovutilgan, yarim suyuq (0,7%) oziqli agarga 0,1 ml 4 soatli bulyonli indikator kulturasi aralashtirilib, bir tekis qilib quyiladi. Indikator kultura uchun kolitsinning shy tipiga sezgir bo'lgan E. coli kulturasi tanlab olinadi. Ular 18–24 soat 37°C li termostatda saqlangandan so'ng, tajribaning natijasi ko'riladi. Ekilgan, tekshirilayotgan kulturalarning atrofida agar kolitsin hosil qilsa, tiniq-yaltiroq zonalar hosil bo'ladi. Bu esa indikator shtammining o'sishi kolitsin bilan to'xtatilganligini ko'rsatadi.

Kolitsin tipini aniqlash. Petri kosachasidagi oziqli-agarga kolitsin-genotipi aniq bo'lgan bakteriyalarning etalon shtammi sanchib ekiladi. Material 37°C da 24 soat davomida termostatga qo'yiladi, so'ngra xloroform bug'i bilan bakteriyalar o'ldiriladi. Keyin agar ustiga 3 ml eritilgan va sovutilgan 0,1 ml noma'lum kolitsin genotipi (masalan, Col A, Col B va boshqalar) E. coli ning 4 soatli bulyonli kulturasi bilan aralashtirilgan yarim suyuq agar bir tekis qilib quyiladi. Oradan 18-24 soat o'tgandan so'ng etalon shtammning atrofida tekshirilayotgan kulturaning o'sish va o'smasligiga ko'ra, tajribadan xulosa chiqariladi. Agar ikkala kultura (tekshirilayotgan va indikatorli) bir xil kolitsin-genotipga, ya'ni bir xil Gol-plazmidalarga ega bo'lsa, u holda kulturalar o'sadi. Yoki aksincha, etalon shtammning atrofida tiniq zonalar hosil bo'ladi, bu esa bakteriyalar o'sishining to'xtaganligini ko'rsatadi.

## **Yuqumli kasalliklar diagnostikasida zamonaviy molekulyar genetik usullar**

Oxirgi yillarda molekulyar genetika fanining yutuqlari tibbiyot amaliyotida va shu jumladan, mikrobiologiyada ham qo'llanilmoqda. Mikrobiologiya amaliyotida diagnostik maqsadda molekulyar gibridizatsiya va polimeraza zanjirli reaksiyalari qo'llanilib, ular o'zining maxsusligi va o'ta sezgirligi tufayli yuqumli kasalliklar diagnostikasida keng qo'llanilmoqda. Bu usul patologik materialda izlanilayotgan bakteriya yoki virusning yagona gen nusxasi (bir molekula DNK yoki RNK) bo'lganda ham uning mavjudligini aniqlashga imkon beradi va yuqumli kasallik qo'zg'atuvchisi patologik materialda borligini isbotlaydi.

### **Molekulyar gibridizatsiya (molekulyar zond usuli)**

Bu usul ikki ipli DNK molekulasini qizdirish (80 -100°C), denaturatsiya yoki ishqor bilan ishlov berish natijasida DNK zanjirining ajralishi va uning haroratning (renaturatsiya) pasayishi (40-60°C) oqibatida N bog'lari yordamida DNK zanjirning dastlabki ikki ipli ko'rinishini tiklanishi mexanizmiga asoslangan.

Ajralgan DNK zanjirlari nukleotidlar joylashishida komplementar bo'lakka ega bo'lgan boshqa DNK fragmentlari bilan gibridizatsiyaga qodir.

Komplementar iplar gibrizatsiyasiga shuningdek, RNK ham qodir, DNK – RNK yoki RNK-RNK kompleksini hosil qiladi.

Molekulyar gibrizatsiya uchun zarur bo'lgan DNK va RNK bo'laklari yordamida tekshirilayotgan materialda nuklein kislotaning komplementar iplari bor-yo'qligi aniqlanadi va bu bo'laklar molekulyar zond deb ataladi.

Molekulyar zond turli xil bakteriya va viruslardan ajratib olingan nuklein kislotalaridan tayyorlanadi va ba'zida virus iRNK sidan ham foydalaniladi. Oxirgi yillarda DNK ning klonlashtirilgan rekombinanti zond bo'lib xizmat qilmoqda.

Hozirgi kunda ko'pchilik viruslarni va bakteriyalarni aniqlash uchun rekombinant zond to'plamlari mavjud va ular faol ishlab chiqilmoqda.

Molekulyar gibrizatsiya reaksiyasini qo'yishda zondlar radiaktiv (R-32), flyuoressent yoki biotinli belgilar bilan nishonlanadi va aniqlanayotgan tekshiriluvchi material bilan birlashtiriladi (material izlanilayotgan agentni nuklein kislotasini tutish mumkin). Agar zond izlanilayotgan agentni nuklein kislotasiga komplementar bo'lsa, unda komplementar uchastkada gibrizatsiya sodir bo'ladi.

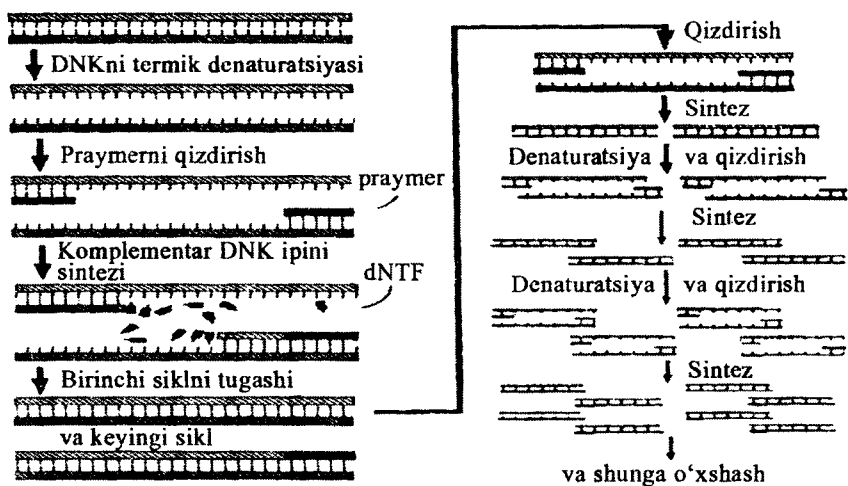
Qayta tiklanish bosqichidan so'ng zond renaturatsiyalangan nuklein kislotaga birlashadi, qayta tiklanishda qatnashadi va bunda nishonlangan belgisi bilan aniqlanadi.

Molekulyar gibrizatsiyaning aniqlanishi izlanilayotgan virus tabiatini bilishga imkon beradi. Bu usul klinik materialdan, birinchi navbatda, latent virusli infeksiyalarda persistentlangan viruslarni va hujayra kulturasida rivojlanmaydigan viruslarni aniqlashda qo'llaniladi. Molekulyar gibrizatsiya yuqori maxsuslikka ega bo'lgan usul bo'lib, uning sezgirliги immunkimyoviy usullar darajasida turadi, masalan immunoferment usulining sezgirlik darajasi  $10^{-14}$  g/l atrofida bo'ladi.

### **Polimeraza zanjirli reaksiya (PZR)**

Polimeraza zanjirli reaksiya molekulyar gibrizatsiya kabi, DNK ning denaturatsiya (DNK zanjirining ajralishi) va denaturatsiya bo'lish (DNK zanjirining tiklanishi) xususiyati va DNK zanjirining komplementarligiga asoslangan. PZR da ham dastlab ikki ipli DNK molekulasi alohida zanjirlarga termik ajraladi. So'ngra sovigan muhitga har bir zanjir nukleotidlari ketma-ket komplementarligi asosida praymerlar "zatravka" biriktiriladi. Reaksiya amalga oshishi uchun sintetik praymerlar – oligonukleotidlar (10-20 nukleotidlardan iborat, misol uchun dezoksinukleotidtrifosfat) qo'llaniladi (48-rasm), ular 50 -1000 asosdan iboratdir. So'ngra termostabil tag- polimeraza qo'shiladi. Termostabil DNK polimeraza erkin nukleotidlardan foydalanib, DNK zanjirini keyingi nusxasi (kopiya) ko'chirilishi- amplifikatsiyasini amalga oshiradi.

Shundan so'ng ikki ipli DNK molekulasi qayta qizdiriladi. Alohidalashgan zanjirlar faollashadi, praymerlarni qabul qiladi va yana qizish-sovish



48-rasm. PZR ning qo'yish sxemasi. DDNK – dezoksinnukleotidtrifosfat.

jarayonlarini amalga oshiradi, bunda tag- polimeraza termostabil bo'lganligi uchun uni qayta qo'shilishi talab etilmaydi.

PZR ning bitta siklidan keyin izlanilayotgan DNK molekulasini ikki marotaba ortadi (bitta DNK matritsasi ikki nusxa paydo bo'ladi). Odatda, amplifikatsiyaning 25-40 ta sikli o'tkaziladi va 2-3 soatda izlanilayotgan mikrobyoki virusni DNK si yoki uning maxsus bo'lagining millionlab nusxalari olinadi.

Reaksiya natijasida tekshirib izlanilayotgan irsiy material ko'p miqdorda uning nusxasi sintezlanib, to'planib qoladi va oson aniqlanib identifikatsiya qilinadi. Bu reaksiyaning yuqori sezgirliги aynan DNK yoki uning bo'laklarining amplifikatsiyasiga asoslangan. Reaksiyada quyidagi ingređiyentlar qatnashadi:

1. Tekshirilayotgan biologik materialdagi izlanilayotgan infeksiyon agentni DNK si;

2. 2 xil tipdagi praymerlar (oligonukleotidlar) nukleotidlar ketma-ketligiga ega DNK ning qisqa zanjiri. Bu zanjir izlanilayotgan DNK ning har ikkala ipiga ham komplementar bo'ladi. Praymerlar turli xildagi bakteriya va viruslar nuklein kislotasidan va sintetik olinadi.

3. Erkin nukleotidlar – amplifikatsiyani amalga oshirish uchun kerak bo'lgan material;

4. Termostabil DNK – polimeraza fermenti erkin nukleotidlardan komplementar DNK zanjirini hosil qiladi; bu ferment faqatgina *Thermus aquaticus* bakteriyasidan emas, balki gen injeneriya usuli bilan ham olinadi.

Polimeraza zanjirli reaksiya o'rganiluvchi DNK fragmentining ko'p qismini, hattoki, tekshiruvchi faqat bitta molekula DNK genomi bilan qiziqayotganda ham uni o'rganish imkonini beradi.

Izlanilayotgan DNK nusxasining identifikatsiyasi poliakrilamid gelda elektroforez yordamida yoki avtoradiografiya (izotoplar bilan nishonlangan erkin nukleotidlar ishtirok etadigan reaksiya) usulida aniqlanadi.

PZR o'ta sezgir usul bo'lganligi uchun yuqumli kasalliklarning diagnostikasida, ko'proq latent virusli infeksiyalarda, OIV-infeksiyasida va qator bakterial infeksiyalarda (brutsellyoz, legionellyoz, mikobakterioz, xlamidioz) qo'llanilmoqda.

Oxirgi yillarda PZR yuqumli kasalliklar laboratoriya tashxisida ekspress-usul sifatida katta ahamiyatga ega bo'lib bormoqda.

## **Laboratoriya hayvonlariga mikroorganizmlarni eksperimental yuqtirish**

Infeksion jarayonni sun'iy ravishda laboratoriya hayvonlariga yuqtirib olib borish mumkin: quyon, dengiz cho'chqachasi, oq sichqon, oq kalamush va boshqalarda yuqumli jarayonni qo'zg'ash mumkin. Hayvonlarga eksperimental yuqtirish quyidagi maqsadlarda amalga oshiriladi:

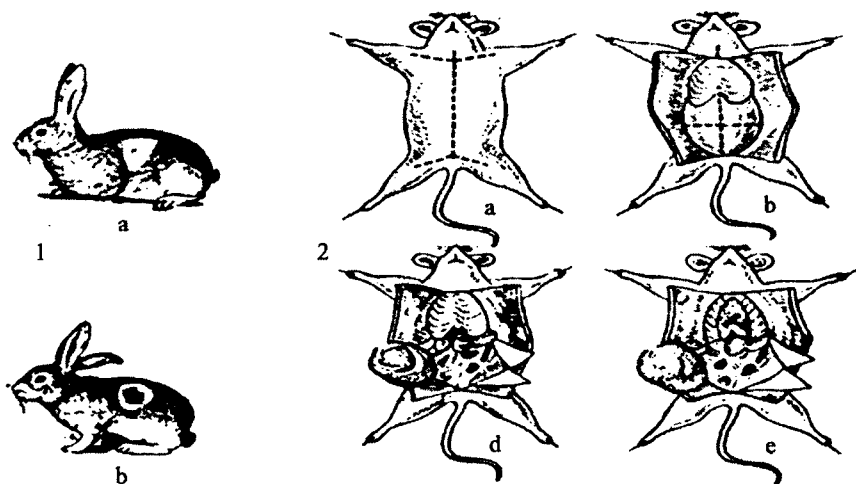
1) mikroorganizmlarning patogenlik va virulentlik xususiyatini tekshirish;  
2) qo'zg'atuvchining sof kulturasini turli materiallardan ajratib olish (biosinama);

3) eksperimental ravishda infeksiyani keltirib chiqarish, davolash uchun ishlatiladigan ximiyaterapevtik preparatlarning ta'sirini o'rganish va boshqalar.

Hayvonlarning terisi ustiga, terisi ichiga, terisi ostiga, muskuli orasiga, venasiga, og'ziga, burniga, traxeyalariga, miyasiga va qorin pardasiga bakteriyalarni yuborish bilan ularga kasallik yuqtiriladi. Tajribani boshlashdan oldin hayvonlar tanlanadi, tortiladi va belgilanadi. Sichqonga yuqtirishda uni dumidan ushlab, stol ustiga qo'yiladi, tanasi ikkala barmoq bilan stolga bosiladi, so'ngra siypalab turib, boshidagi terisi ushlanadi, chap qo'l bilan tortilgan holatda joylashtiriladi. Ma'lum konsentratsiyadagi mikroob shprisga igna bilan tortib olinadi. Shpris ruchka perosini ushlangandek, o'ng qo'lda ushlanadi. Teri ostiga yuqtirilganda yelkadagi teri qavatiga yoki dum ildiziga igna sanchiladi va asta-sekin shpris ichidagi mikroob yuboriladi. So'ngra igna tezda tortib olinadi, o'rniga spirt bilan ho'llangan paxta qo'yiladi.

Qorin ichiga yuqtirilganda hayvon boshi pastga qaratiladi, chunki bu holatda ichaklar diafragma tomon suriladi, qorinning chap tomonidagi pastki uchdan bir qismiga igna sanchiladi, so'ngra o'tkir burchak ostida ignani ushlab turgan holda shpris qorin devoriga perpendikulyar holatga keltiradi va turtib qorin pardasi teshiladi, so'ngra shprisdagi material yuboriladi. Instrumentlar qaynatish usuli bilan sterilanadi.

**Oq sichqonni bakteriologik tekshirish (49-rasm).** Hayvon o'limiga sababchi bo'lgan mikrobn, uning organizmda joylashgan o'rnini aniqlash va sof kulturasini ajratib olish uchun mikroob yuqtirilgan hayvon o'lgan zahoti



49-rasm. Laboratoriya hayvonlariga eksperimental yuqtirish. 1. Quyon terisida nekroz hosil qilish sinamasi (a-manfiy; b-musbat). Eksperimental mikrobu yuqtirilgan sichqonlarni yorish sxemasi (yorish bosqichlari – a, b, d, e)

boshqa mikroblar tushmasligi uchun tezlik bilan aseptika qoidalariga rioya qilgan holda yoriladi. O'lgan sichqon tagiga dezinfeksiya qiluvchi moddalar shimdirilgan doka bilan parafin solingan idish qo'yilib, qorni tepaga qaratilgan holda yotqiziladi va boshchasi, oyoqlari to'g'nog'ich bilan to'g'nab qo'yiladi.

Antiseptiklarning biri bilan terisi yaxshilab artiladi. Yorish esa sterillangan instrumentlar bilan amalga oshiriladi.

Pastki jag'idan, qovug'iga qadar to'g'ri kesiladi, ehtiyotlik bilan teri ikki tomonga ajratiladi. Teri ostidagi kletchatka va limfa tugunlari holati tekshiriladi; kerak bo'lganda ulardan surtma (tamg'a) tayyorlanadi va material ekiladi.

Ko'krak bo'shlig'i esa to'sh suyagining hanjarsimon o'simtasi tagidan va qovurg'alardan ko'ndalangiga, to'shga parallel ravishda kesib olingan bo'lakcha ajratib olinib, ko'krak bo'shlig'idagi organlar tekshiriladi, eksudat bor yoki yo'qligi esa bayonnomaga yoziladi. Yurakdan qon olib ekish uchun uning yuza qismi qizdirilgan pinset uchi bilan kuydiriladi va sterillangan Paster pipetkasi yordamida kapillyar yurak bo'shlig'iga kiritiladi. So'ngra pipetkadagi qon tomchilari muhitli probirkaga quyiladi. O'pka to'qimasidan surtma-tamg'a tayyorlanadi va ekiladi.

Qaychi bilan to'g'ri qilib qorin bo'shlig'i ochiladi, bunda ichaklar jarohatlanmasligi kerak. Qorin bo'shlig'idagi organlar tekshiriladi. Protokolda eksudat borligi, jigar, taloq, buyrak usti bezi, mezenterial limfa bezlarining kattaligi, rangi va konsistensiyasi ko'rsatiladi.

Zarur bo'lganda shu organlardan oziq muhitlarga ekiladi. Surtma-tamg'a tayyorlash uchun jigar, taloq, buyrakdan kichkina bo'lagi kesiladi va pinset bilan olinib, buyum oynachasiga ularning yuzasi tekkiziladi. Surtma-tamg'a suyuq fiksatorida fiksatsiyalanadi va metilen ko'ki bilan bo'yaladi. Mikroskop ostida ko'rilganda organ va to'qimalarda mikroob borligi aniqlanadi. Ekilgan materiallar natijasi bir sutkaga termostatga qo'yilgandan so'ng ko'riladi. Hayvon yorilganda olingan ma'lumotlar bayonnomaga yoziladi. Hayvon tanasi yorilgandan so'ng yo'q qilinishi lozim.

### **Patogen bakteriyalar virulentligi va toksinlar kuchini baholash usullari**

Bakteriyalarning toksigenligi to'liq yoki qisman atrof-muhitda ajraluvchi fenotipik tarzda oqsil toksinlarining hosil bo'lishi bilan namoyon bo'ladi.

Hujayra devoridagi lipopolisaxarid qavatining komponenti hisoblangan endotoksinlar bakteriya hujayrasi parchalangandan so'nggina ajraladi va makroorganizm to'qimalariga zaharli ta'sir ko'rsatadi.

Patogen bakteriyalar virulentligi va toksigenligi o'zicha har xil, ammo patogen genotipi ko'rinishlarining o'zaro bog'liq shakllaridir. Ular maxsus birliklarda, ya'ni eng kam o'ldiradigan miqdor – doza (Dosis letalis minima) – DLM bilan o'lchanadi. Oqsildan iborat toksinning yoki qo'zg'atuvchining eng kam dozasi 95% yuqtirilgan laboratoriya hayvonini o'ldirsa–I DLM deb qabul qilinadi. Ko'pincha aniq miqdor hisoblangan LD50, ya'ni yuqtirilgan hayvonning 50 foizini o'ldiradigan birlikdan foydalaniladi.

#### **Bakteriyalar virulentligi yoki toksinning ta'sir kuchini aniqlash.**

Tekshiriladigan preparatlar ma'lum dozalarda bir guruh laboratoriya hayvonlariga yuboriladi. Keyinchalik ular halokatini ro'yxatga olib boriladi va preparatning o'ldiradigan miqdori aniqlanadi. Bu tajribani o'tkazishda sharoitlar mumkin qadar standart: hayvonlarning turi, jinsi, og'irligi, ularning yashash sharoiti, ovqatlanishining to'liqligi va boshqalar bir xil bo'lishi lozim. O'n martadan suyultirilgan bir qator toksin (yoki bakteriya kulturasi) bir guruh hayvonlarga yuboriladi. Ma'lum vaqt o'tgandan so'ng bir gruppada o'lgan hayvonlar soni belgilanadi va LD50 hisoblab chiqariladi.

**Dermotonekrotik sinama.** Quyvon terisi orasiga ingichka ignali tuberkulin shprisi bilan 0,2 ml bulyonli tekshirilayotgan kultura yuboriladi. 2–3 sutkadan so'ng kultura yuborilgan yerda – terida nekroz hosil bo'lsa, u holda namuna musbat hisoblanadi (49-rasm).

**Keratokon'yunktival sinama.** Bakteriyaning bir kunlik agarli kulturasini diametri 5 ml bo'lgan standart qovuzloq bilan dengiz cho'chqachasi ko'zining pastki qismiga yuboriladi. 2–4 kundan so'ng ko'zning shilliq qavatlari qizaradi, muguz parda xiralashadi, yiring paydo bo'lib, yara hosil bo'lishi mumkin (Sheren sinamasi), ya'ni keratokon'yunktivit namoyon bo'ladi.

## **Bakteriyalarning invazivlik xususiyatini ta'minlaydigan fermentlarni aniqlash.**

1. Gialuronidaza gialuron kislotani gidroliz qiladi, natijada gialuron kislota sirka kislotasi bilan birgalikda mutsin hosil qila olmaydi. Bu fermentni aniqlash uchun tarkibida gialuron kislotasi bo'lgan substratli probirkaga bir sutkali bakteriya kulturasi yoki bulyonli kulturaning filtrati tomiziladi va 15 daqiqa davomida  $37^{\circ}\text{C}$  da termostatga qo'yiladi. So'ngra ustiga 2–3 tomchi kuchli sirka kislotasi tomiziladi. Gialuronidaza bor probirkada ivish hosil bo'lmaydi.

2. Plazmakoagulazani aniqlash uchun tekshirilayotgan kulturani, quyoning (1:5 nisbatda suyultirilgan) 0,4 ml steril sitratli plazmasiga ekiladi. 2–5 soatga  $37^{\circ}\text{C}$  da termostatga qo'yiladi. Agar ferment bo'lsa, plazma iviydi va kontrol probirkada plazma suyuq holda saqlanadi (29-rasm).

3. Gemolizinni aniqlash maqsadida tekshirilayotgan kulturani Petri kosachasidagi qonli agarga ekiladi. Ular  $37^{\circ}\text{C}$  da termostatda bir sutka davomida saqlanadi. Agar natija musbat bo'lsa, mikroba koloniyasi atrofida gemoliz zonalari hosil bo'ladi.

4. Letsitovitellazani aniqlash uchun tuxum sarig'ini tuzli agarga tekshirilayotgan kultura ekiladi va termostatda bir sutka davomida saqlanadi. Muhitda letsitovitellaza hosil qilgan bakteriyalar koloniyasi atrofida sadaf rangli halqa hosil bo'ladi (tekshirilayotgan bakteriya fermenti tovuq tuxumi sarig'idagi letsitinni parchalaydi).

## **II BOB. IMMUNOLOGIYA**

### **14-MAVZU. IMMUNITET HAQIDA TUSHUNCHA. IMMUNITET TURLARI. ORGANIZMNING MAXSUS VA NOMAXSUS HIMOYA OMILLARI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Immunitet haqida tushuncha, immunitetning turlari.
2. Organizmning maxsus va nomaxsus bo'lmagan himoyalanihi (teri, shilliq pardalar, limfa tugunlari, fagositoz hujayralari, lizotsim, komplement va h.k) turlari.

#### **Namoyish qilish**

1. Komplementning gemolitik xususiyatini kuzatish (probirkada maxsus antitela ishtirokida).
2. So'zak (gonoreya) bilan og'rigan bemorning siydik yo'lidani olingan yiringdani tayyorlangan va metilen ko'ki bilan bo'yalgan surtmada gonokokklarning tugallanmagan fagositozini ko'rish.

#### **3. Sxemalar, jadvallar, rasmlar, slaydlar.**

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. So'lakdagi lizotsim fermentining titrini aniqlash.
2. Odam qoni tarkibidagi neytrofillar fagositar aktivligi, fagositar ko'rsatkichni (indeks) aniqlash.
3. In vivo fagositoz ko'rinishlarini o'rganish uchun oq sichqon qorin pardasiga stafilokokk suspenziyasini yuborish va NFA %, fagositar indeksni aniqlash.
4. Opson fagositar reaksiyani qo'yish va oldindani qo'yilgan tajribalardan tayyorlangan surtmalardagi fagositar ko'rsatkichlarni aniqlash va xulosa chiqarish.

### **Immunitet va organizmning himoyalanihi omillari**

Immunitet va uning asosiy xususiyatlari va muammolarini – immunologiya fani o'rganadi.

Immunitet – individumning ichki muhiti tarkibini (gomeostaz) doimo bir xilda saqlanishini ta'minlovchi biologik omillari bo'lib, organizmning genetik begona hujayra va yuqumli kasallik agentlariga qarshi himoyalanihi xususiyatlariga aytiladi. Immunitetning ko'rinishi ko'p qirrali bo'lib, uning asosiy vazifasi o'zinikidan begonani ajratish hisoblanadi.

Immunitet, yuqumli kasalliklarga (infeksionni), o'smalarga (protivoopuxolevim) qarshi va transplantatsion bo'lishi mumkin.



Immunitetning asosiy reaksiyalarini immun sistema keltirib chiqaradi, uning asosida maxsuslik mexanizmlari yotadi.

Infekzion immunitet turlari:

- 1) antibakterial (bakteriyalarga qarshi);
- 2) antitoksik (toksinlarga qarshi);
- 3) viruslarga qarshi;
- 4) zamburug'larga qarshi;
- 5) sodda jonivorlarga qarshi (antiprotozoy).

Infekzion immunitet ikki xil ko'rinishda bo'lishi mumkin:

1. Steril immunitet (qo'zg'atuvchi organizmda yo'q, lekin unga qarshi immunitet bor).

2. Nosteril immunitet (qo'zg'atuvchi organizmda bo'ladi).

Organizmning himoyalaniş turlari:

1. Organizmning maxsus himoyalanişi (immunitet).

2. Organizmning nomaxsus himoyalanişi.

Organizmning maxsus himoyalanişi (immunitet) – tug'ma va hayot davomida orttirilgan bo'ladi.

Tug'ma immunitet – yuqumli kasalliklarga tug'ma berilmaslik holati, turga xos va individual bo'lishi mumkin.

**Turga xos immunitet** – bir turga mansub bo'lgan hayvon yoki odamning, boshqa tur vakillarida yuqumli kasallik keltirib chiqaruvchi qo'zg'atuvchilarga berilmaslik holati tushuniladi. Turga xos immunitet odamning tur belgisi hisoblanadi va avloddan-avlodga o'tadi. Shuning uchun odam ba'zi bir hayvonlar og'riydigan yuqumli kasalliklar bilan kasallanmaydi (tovuq vabosi). Turga xos immunitet har doim faol bo'ladi. Individual tug'ma immunitet esa passiv bo'lib, onadan immunoglobulinlar ko'rinishida yo'ldoshdan homilaga o'tishi (IgG – platsentar immunitet) mumkin. Shuning uchun yangi tug'ilgan chaqaloqlar bir necha oy yuqumli kasalliklardan himoyalangan bo'ladi.

Hayot davomida orttirilgan immunitet – himoyalanişning bu turi o'ta maxsus bo'lib, har bir individ o'zining hayoti davomida yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilariga berilmaslik xususiyatlarini shakllantiradi, tabiiy va sun'iy bo'ladi. Hayot davomida orttirilgan tabiiy immunitet, o'z navbatida, aktiv va passiv shakllanishi mumkin.

Hayot davomida orttirilgan tabiiy aktiv immunitet yuqumli kasallik bilan og'rib o'tgandan keyin uzoq vaqtga yoki bir umrga shakllanadi (qizamiq, ko'kyo'tal, bo'g'ma kasalliklariga qarshi).

Hayot davomida orttirilgan tabiiy passiv immunitet – ona suti orqali chaqaloqqa immunoglobulin, limfotsit, leykotsitlar va boshqa faktorlar ko'rinishida o'tkaziladi.

Hayot davomida orttirilgan sun'iy immunitet ham, o'z navbatida, ikki ko'rinishda: aktiv va passiv shakllanadi. Hayot davomida orttirilgan sun'iy immunitet aktiv shakli turli antigen preparat – vaksina va anatoksinlarni yuborish orqali shakllantiriladi, passiv shakli esa tayyor immun zardoblar va immunoglobulinlar yuborish bilan hosil qilinadi. Hayot davomida orttirilgan sun'iy immunitetni shakllantirish orqali yuqumli kasalliklarning oldi olinadi.

### **Organizmning nomaxsus himoyalaniishi**

Himoyalaniishning bu turi evolyutsion jarayonda yuqumli kasalliklarga qarshi shakllangan bo'lib, quyidagi ko'rinishda bo'ladi:

- mexanik to'siqlar (baryerlar);
- fizik-kimyoviy;
- immunobiologik.

Bu omillarga quyidagilar kiradi:

- 1) teri va shilliq qavatlarining himoya omili;
- 2) limfatik tugunlar (og'iz bo'shlig'i va oshqozon-ichak tizimida);
- 3) lizotsim va boshqa fermentlar (og'iz bo'shlig'i, oshqozon-ichak tizimi va siydik tanosil organlarida);
- 4) normal mikroflora;
- 5) yallig'lanish omillari;
- 6) fagotsitlovchi hujayralar;
- 7) tabiiy killer hujayralar;
- 8) komplement sistemasi;
- 9) interferonlar.

**Teri va shilliq qavatlar.** Bu omillar mexanik va fizik-kimyoviy rezistentlikka kiradi. Mikroblar asosan organizmga teri va shilliq qavatlar orqali kiradi. Yuqori qavat epiteliy hujayralarining doimo yangilanishi, teri va yog' bezlari ajratmalari, shilliq qavat suyuqliklari mikroblarining kirishiga to'sqinlik qilib, teri va shilliq qavatlarini tozalab turadi. Teri faqat mexanik to'siq vazifasini o'tab qolmay, bakteritsid (mikroblarni o'ldiruvchi) ta'sirga ham ega. Bu teri muhitining kislotali ekanligi (pH–5,5) (sut, sirka va yog' kislotalari hisobiga) va teri bezlari ishlab chiqaradigan har xil omillarga bog'liq. Bundan tashqari, shilliq qavatlar ham ma'lum to'siq vazifasini o'taydi.

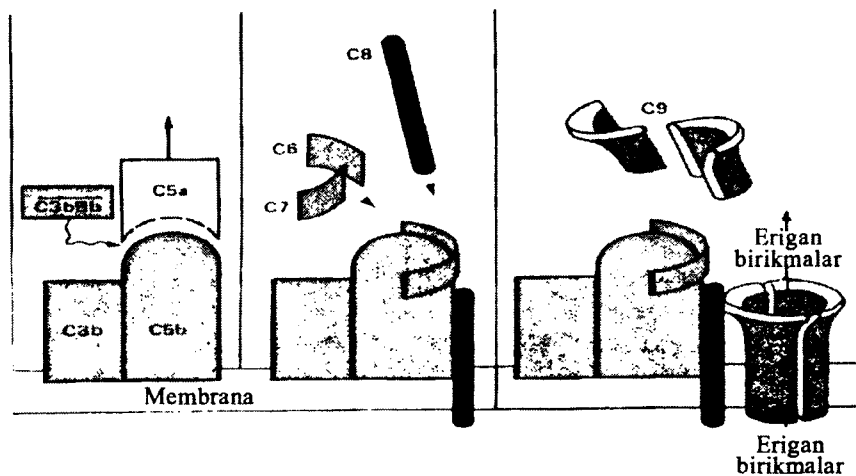
Maxsus bo'lmagan himoyalaniishga qon va boshqa suyuqliklardagi biologik faol moddalar (lizotsim fermenti, komplement, preperdin va lizinlar, eritrin, leykinlar, C-reaktiv oqsil va oshqozon suyuqligi kiradi.

**Lizotsim fermenti** – kimyoviy jihatdan atsetilmuramidaza bo'lib, asosan organizmda suyuqliklarda uchrab, ko'z yoshida, so'lak tarkibida,

balg'amda, qonda, ko'krak sutida ko'p miqdorda bo'ladi. Lizotsim grammusbat bakteriyalar devoridagi peptidoglikan polisaxaridini disaxaridlargacha parchalab, bakteriyalarning hujayra devorini eritib yuboradi. Grammanfiy bakteriyalarning hujayra devoridagi peptidoglikan polisaxaridi hujayra devorining ichki qobig'ida joylashganligi uchun lizotsim fermenti bu bakteriyalarga kuchli ta'sir eta olmaydi. Lizotsimga viruslar ham inert hisoblanadi.

**Komplement** – odam va hayvon qon zardobining tarkibida uchraydi. Oqsil birikmalaridan tarkib topgan bo'lib, qonda 20 tadan ortiq oqsil fraksiyasi uchraydi, shulardan 9 tasi yaxshi o'rganilgan: C1, C2,...C9. Komplement issiqqa chidamsiz bo'lib, 56 °C da 30 daqiqa qizdirilganda, o'zining faolligini yo'qotadi. Komplement sistemasidagi uning qator komponentlari «C» harfi bilan va son tartib belgisi bilan belgilanadi. Bu tartib sonlar komplementning faollashish tartibi asosida belgilangan emas. Komplement organizmdagi turli omillar ta'sirida faollashadi, faollashgan bir fraksiyasi ikkinchi fraksiyani faollashtiruvchi omil bo'ladi va oxirgi fraksiyaning aktivlashuvi natijasida membranaga hujum qiluvchi faktor (MHF) hosil bo'ladi (50-rasm), bu esa komplementning faollashuviga sabab bo'lgan omilni (hujayra, eritrotsit, bakteriya va b.) halok qiladi.

Qon zardobida komplementning eng ko'p miqdorli komponenti C3 (1,2 mg/ml) hisoblanadi. Komplement organizmda maxsus va maxsus bo'lmagan himoyalanihlarda qatnashadi. Komplementni organizmda



50-rasm. Komplementning faollashuv sxemasi

hosil bo'lgan maxsus (AT+AG) kompleksi aktivlashtirishi mumkin. Komplementning bu aktivlashuvini klassik aktivlashuv deyiladi va organizmning maxsus himoyalanişida qatnashadi, ya'ni bu aktivlashuv organizmga patogen mikroorganizmlarni kirishi, unga qarshi antitelalar hosil bo'lishi bilan bog'liq. Komplementning ikkinchi aktivlashuvi alternativ deb ataladi, chunki komplementning bu aktivlashuvi klassik usulidan keyin kashf qilingan, lekin bu aktivlashuv klassik aktivlashuvdan ancha ilgari shakllangan. Shuning uchun ham ko'plab mikroorganizmlar komplementni AT+AG kompleksi bo'lmasa ham aktivlashtirishi mumkin, bunda ham yuqoridagi aktivlashuv singari bo'ladi, lekin uning intensivligi ancha past bo'lib, birinchi maxsus bo'lmagan himoya omillariga kiradi.

Organizm suyuqliklarida lizotsim va komplement moddalardan tashqari, sekretor immunoglobulin A va interferonlar ham bo'lib, mahalliy iimmunitetni ta'minlashda bu moddalarning ahamiyati katta. Sekretor IgA bakteriya va viruslarga yopishib, ularni epitelial hujayralarning yuza qismiga yopishishini (adgezivani) kamaytiradi. Organizmda mexanik to'siq vazifasini sIgA dan tashqari qo'shuvchi to'qimalar tarkibidagi gialuron va neyramin kislotalari ham bajaradi. Mikroblarning biriktiruvchi to'qima ichiga kirmasligini gialuron kislotasi, ma'lum bir bakteriya va viruslarning hujayra ichiga kirmasligini esa neyramin kislotasi ta'minlaydi.

**Limfa tugunlari.** Teri va shilliq qavat "to'siqlarini" yengib o'tgan mikroorganizmlar limfaga tushadi, limfa tugunlari patogen bakteriyalarni tutib qoladi va halok qiladi.

Patogen mikroorganizmlar limfa tugunlariga tushgach, u yerda yallig'lanish jarayoni yuzaga keladi. Bunda to'qimalardan leykotoksin, leykopenik omil, gistamin, serotonin va boshqa moddalar ajraladi, bular leykotsitlarga ta'sir etib, ularning faolligini oshiradi. Leykotsitlar yallig'langan joyda to'planib, mikrobnig to'qima, qon va a'zolarga tarqalishiga yo'l qo'ymaydi.

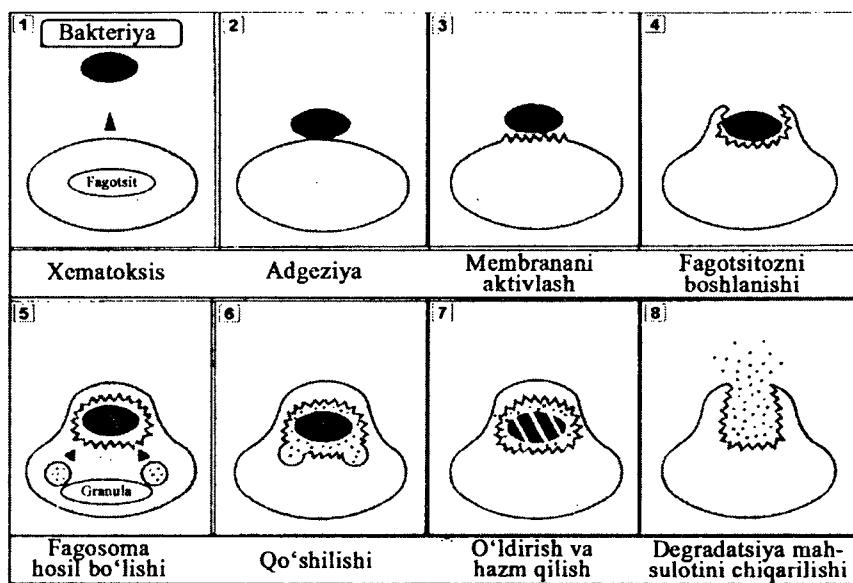
Yallig'lanish natijasida gavda harorati ko'tariladi, atsidoz, gipoksiya rivojlanadi, bular ham o'z navbatida, patogen mikroorganizmlarga bakteritsid ta'sir ko'rsatadi.

Organizmning maxsus bo'lmagan himoyalanişiga qondagi va to'qimalarda uchrovchi fagotsit hujayralari ham kiradi. Leykotsitar va retikuloendotelial sistemasidagi hujayralarning biologik reaksiyasi tufayli organizmga kirib olgan mikroblar va yot zarralar, yuqorida qayd qilingan hujayralar tomonidan aktiv qamrab olinib, yo'q qilinadi. Bu hujayralarning mikroblar va yot zarralarga qarshi organizmda kurashish faoliyatini fagotsitoz hodisasi deb ataladi.

I.I.Mechnikov fagotsit hujayralarini ishchanlik faoliyatiga qarab 2 gruppaga bo'lgan: mikrofaqtlar va makrofaqtlar. Mikrofaqtlar yoki granulotsitlar (neytrofillar va eozinofilllar) birinchi bo'lib mikroblar kirgan joyda hozir bo'lishadi. Makrofaqtlarga esa harakatchan monotsitlar, poliblastlar, gistotsitlar va bir joyda turadigan taloqda, limfa tugunlarida, suyak ko'migida, jigarda uchrovchi hujayralar kiradi.

Fagotsitoz reaksiyasining bosqichlari: Fagotsit hujayrasini obyektga yaqinlashuvi, musbat xematoksis, adgeziya – obyektzni hujayra retseptorlari bilan tutilishi, hujayra membranasining aktivlanishi, obyektning yutilishi, fagotsit hujayrasida fagosomaning hosil bo'lishi, fagosoma bilan fagotsit hujayrasidagi granularning birikishi, obyektning parchalanishi va parchalangan (degradatsiya) obyekt parchalarining hujayradan chiqarib tashlanishi (51-rasm).

Fagotsitoz hodisasining tugallangan va tugallanmagan turlari tafovut qilinadi. Tugallangan fagotsitoz hodisasida, fagotsit hujayrasi qamrab olgan mikrobnini yoki mayda zarrani butunlay eritib, parchalab yuboradi. Ba'zi bir yuqumli kasalliklarda (so'zak, sil, moxov, leishmanioz) fagotsitoz tugallanmay qoladi. Bu holatda fagotsitoz qilingan mikroorganizm fagotsit hujayrasi ta'sirida halok bo'lmasdan, balki fagotsit hujayrasida uzoq vaqt ushlanib qolinishi va ko'payishi mumkin.



51-rasm. Fagotsitoz reaksiyasi davrlari (sxemasi)

Tugallanmagan fagotsitozda patogen bakteriyalarning salbiy ta'siri natijasida fagotsit hujayrasi halok bo'lishi yoki patogen bakteriyalar uchun ko'payish, yashash manbasiga aylanishi mumkin. Organizmning nospetsifik himoyalanihidagi bu kamchiligi yuqorida bayon qilingan kasalliklarning o'tkir formasidan surunkali formasiga o'tishiga olib keladi. Bemor esa shu kasallik qo'zg'atuvchisining tashib yuruvchisiga aylanadi.

Odam organizmida bir qancha moddalar va omillar fagotsitoz hodisasini tezlashtiradi, bularga: komplement, gistamin, geterogen moddalar, elektrolitlar, kalsiy va magniy tuzlari, limfokinlar, antitelalar – opsoninlar va bakteriotropinlar kiradi. Fagotsitoz hujayralari organizmda faqat maxsus bo'lmagan himoyalaniшни bajaribgina qolmay, balki maxsus immun javobda ham qatnashadi, ya'ni T va  $\beta$  limfotsitlar uchun mikroorganizmlar antigenini aniqlab beruvchi (antigen prezentant) hujayralar hisoblanadi.

Organizmning normal mikroflorasi ham maxsus bo'lmagan himoyalanişda qatnashadi. Normal mikrofloraning ba'zi bir vakillari patogen mikroorganizmlarga nisbatan antogonistik munosabatda bo'ladi. Masalan, ichak tayoqchasi «Col» faktor ishlab chiqaradi, bu faktor antibiotik ta'sir mehanizmiga egadir (qorin tifi, ichburug' kasalliklarida).

### **Metodik ko'rsatmalar**

Lizotsim fermenti organizmning boshqa gumoral nospetsifik himoya faktorlari bilan bir qatorda, organizmda kechayotgan patologik jarayonlarning rivojlanishini baholashda muhim ahamiyatga egadir. Lizotsim fermentini biologik suyuqliklarda aniqlashning bir necha usullari mavjuddir.

### **So'lak tarkibidagi lizotsim fermentini tajribada qog'ozli disk usulida aniqlash**

Tekshirilayotgan so'lak filtr qog'ozli diskga steril pinset yordamida olib shimdiriladi va *M. lizodecticus* ning 1 mlrd/ml kulturasi gazon usulida Petri kosachasidagi agarga ekilgan yuzaga joylashtiriladi (bitta kosachadagi agar yuzasiga 8-10 ta so'lak shimdirilgan disklar qo'yilishi mumkin). Tajriba qo'yilgan kosacha 37°C da bir kun davomida termostatda saqlanadi. So'lak shimdirilgan disk atrofidagi mikrokokk kulturasi o'sishi to'xtatgan zona diametri o'lchanadi va standart lizotsim bilan aniqlangan tajriba natijasi asosida formula asosida topiladi.

**Standart lizotsim konsentratsiyasini qog'ozli disk usulda aniqlanib olingan natijasi**

Qo'llanilgan standart lizotsim konsentratsiyasi (mg%)	M. lizodecticus kulturasi o'sishini to'xtatgan zona diametri (mm)
50 mg%	27 mm
25 mg%	21 mm
12,5 mg%	14 mm
6,25 mg%	9,0 mm

Ilova: tekshirilayotgan so'lakdagi lizotsim 9 mm gacha mikrokokkni o'sishini to'xtatish zonasi hosil qilsa, so'lak tarkibidagi lizotsimni topish uchun 9 mm qo'llaniladi, agar 9 mm dan yuqori bo'lsa 14, undan yuqori bo'lsa 21 va keyin 27 qo'llaniladi.

Masalan, tekshirilayotgan so'lak shimdirilgan disk atrofida mikrokokk kulturasi o'sish zonasi to'xtatgan diametri 16 mm. Lizotsimning miqdorini topish uchun proporsiya tuzamiz:

21 mm – 25 mg%

16 mm - x

$$x = \frac{16 \cdot 25}{21} = 19,05 \text{ mg\%}$$

So'lakdagi lizotsim fermenti titrini aniqlash.

So'lak probirkalarda ketma-ket (26-jadval) suyultiriladi. Har biriga 1ml dan 1mlrd/ml mikroob tanasiga ega bo'lgan M. lizodecticus ning bir kunlik kulturasi suspenziyasidan tomiziladi, 45°C da 14 daqiqa suv hammomida qizdiriladi. Inkubatsiyadan so'ng, oxirgi suyultirilgan probirkadagi natijaga ko'ra, undagi bakteriyalar to'liq erigan (lizislangan), suyuqlik tiniq bo'lsa, shunga qarab lizotsim titri aniqlanadi. Lizotsimning titrini, aktivligini fotoelektrokolorimetr yordamida quyqalik darajasiga ko'ra yoki mikroob suspenziyasidagi optik zichlik bo'yicha nefelometrik usul bilan ham aniqlash mumkin.

**So'lak tarkibidagi lizotsim fermentini tajribada seriyali suyultirish usulida aniqlash**

Komponentlar	Probirkalar			
	1:100	1:1000	1:10000	Kontrol
Fiziologik eritma	3,6	2,0	2,0	2,0
So'lak 1:10	0,4	2,0	2,0	-
M. lizodecticus (1mlrd/ml kulturasi)	1,0	1,0	1,0	1,0

**Odam periferik qonidagi neytrofillarning fagotsitar aktivligini (NFA) aniqlash**

Bu usul qon tarkibidagi neytrofillarni begona mikroob va boshqa agentlarni qamrab, fagotsit qilib olishiga asoslangan. Ahamiyatligi shundan iboratki, in vitro da 30 daqiqa ichida neytrofillar mikroblarni qamrab, fagotsit qilishi mumkin.

**Tajriba o'tkazish**

Geparin qo'shib olingan qondan 0,2 ml steril probirkaga olinadi. So'ngra unga, 1 ml 1mlrd. *S. aureus* ning bir kunlik kulturasiidan tayyorlangan va suv hammomida 80°C da bir soat davomida o'ldirilgan bakteriya suspenziyasidan 0,1 ml qo'shiladi. Tayyor aralashma 5 daqiqa (1 daqiqada 800 aylanish tezligi) sentrifuga qilinadi va 30 daqiqa termostatda saqlanadi. 30 daqiqa inkubatsiyadan keyin probirkaning ustki qismidagi suyuqlik ehtiyotlik bilan Paster pipetkasi yordamida olib tashlanadi va cho'kma sekin-asta aralashtiriladi. Surtma tayyorlaniladi, quritilib, metil spirti yoki Nikiforov eritmasida (5-10 daqiqa) fiksatsiya qilinadi va Romanovskiy-Gimza usulida 15-30 daqiqa bo'yaladi. Surtma immersion sistemada mikroskopda ko'riladi va 100-200 ta neytrofillar sanaladi. Sanalgan neytrofillar ichida fagotsit qilganlari NFA % ifodalaniladi. Har bir neytrofildagi fagotsit qilingan mikroblarning o'rtacha miqdori (fagotsitar indeks) hisoblab topiladi. Normada o'rta yashar odamlarda NFA 50-65%, fagotsitar indeks esa 5-9 bo'lishi mumkin.

**Oq sichqonlarda fagotsitoz tajribasini o'tkazish.** Tajriba boshlashdan 24 soat oldin oq sichqonlar qorin pardasiga 2-3 ml steril, 1 % li kraxmal eritmasi yuboriladi. Bu qorin bo'shlig'ida fagotsitoz qiluvchi hujayralarning to'planishiga olib keladi. Bu holat kraxmalga



bo'lgan septik yallig'lanish va fagotsitlar xemotaksisi natijasida sodir bo'ladi. So'ngra sichqonlarning qorin pardasiga 1 ml ikki milliardli stafilokokk kulturasi yuboriladi. 30 daqiqa o'tgandan so'ng oq sichqonlarning qorin devoriga Paster pipetkasi kapillyarining ingichka tomoni bilan sanchiladi va bir necha tomchi ekssudat olinadi. Undan buyum oynachasida surtma tayyorlanadi, havoda qurutiladi, fiksatsiya qilinadi va metilen ko'ki eritmasi bilan 3-4 daqiqa davomida bo'yaladi.

Surtmalar mikroskop ostida ko'rilganda stafilokokklarni qamrab olgan mikroflaglar (polimorf – yadro hujayralari) va makroflaglar (mononuklearlar) och-havo rangli fagotsitlar sitoplazmasi fonida to'q ko'k rangga bo'yalgan holda ko'rinadi. Preparatda fagotsitning ayrim bosqichlarini: yopishish, qamrab olish, qisman hazm qilishni ko'rish mumkin.

**Opsonfagotsitar reaksiyasini qo'yish.** Probirkaga bir hajmli sterillangan 2 foizli natriy sitrat eritmasi ustiga ikki hajmli yangi olingan qon va bir hajmli 1 mlrd/ml mikrofl hujayrasiga ega bo'lgan, 80°C da bir soat davomida o'ldirilgan bakteriya suspenziyasi quyiladi.

Probirkadagi suyuqliklar aralashiriladi, 37°C da 30 daqiqa davomida termostatda saqlanadi, keyin Romanovskiy-Gimza usuli bilan bo'yaladi.

Surtmada 25 ta neytrofilarning har biri qamrab olgan bakteriyalar soni hisoblanadi. Olingan natijalarga ko'ra, quyidagi fagotsitar ko'rsatkichlar topiladi: fagotsitar ko'rsatkich (indeks) – fagotsitlovchi neytrofillar foizi, fagotsit soni bir neytrofilga fagotsitlangan bakteriyalarning o'rtacha soniga to'g'ri keladi. Opsionfagotsitar reaksiyasining ko'rsatkichi (OFRK) quyidagi formula bilan aniqlanadi:  $OOPK + 3a + 2b + lc + Od$ , bu yerda a – tarkibida 41 dan ko'p bakteriyalar saqlaydigan neytrofillar soni; b – 21– 40 bakteriyalar saqlaydigan neytrofillar soni; c – 1 dan 20 gacha bakteriyalar soniga ega bo'lgan neytrofillar soni; d – tarkibida bakteriyalari bo'lmagan neytrofillar soni. Bu sistemada hisoblanganda, eng yuqori ko'rsatkich 75 ni tashkil etadi.

Taxminan, ko'rsatkich 10-24 ni tashkil etsa, reaksiya kuchsiz musbat, 25-49 bo'lsa aniq, 50-75 bo'lsa kuchli musbat reaksiya hisoblanadi. Aniq, sezilarli va kuchli musbat reaksiyalar bemor zardobidagi opsoninlar va fagotsitlar faoliyatining aktivligini belgilaydi.

**15-MAVZU. ANTIGEN VA ANTITELALAR. SEROLOGIK  
REAKSIYALAR HAQIDA TUSHUNCHA. AGGLYUTINATSIYA  
REAKSIYASI, QO'YILISHI, AHAMIYATI**

**Mashg'ulot rejasi**

1. Antigenlar haqida tushuncha, ularning xususiyatlari, kimyoviy tarkibi va maxsusligi.
2. Bakteriya, virus hujayralarining antigenlari, ularning xususiyatlari.
3. Antitelalar (immunoglobulinlar), ularning kimyoviy tuzilishi, sinflari va vazifalari.
4. Antigen va antitela birikishi, reaksiyalari, mexanizmi.
5. Agglyutinatsiya reaksiyasi, ularning maxsusligi va amaliyotda qo'llanishi.

**Namoyish qilish**

1. Kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasi.
2. Sxema, albom rasmlari va jadvallar.

**Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Kasal qon zardobidagi antitela titrini aniqlash uchun kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.
2. Noma'lum kulturani aniqlash uchun buyum oynasida agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.
3. Reaksiyalar natijasida olingan ma'lumotlarni tahlil qilish.

**Antigenlar**

Organizmning hayot faoliyati davomida orttirilgan immunitet asosida immun sistemaning shu organizmga begona irsiy molekulalar tuzilishini tanib, ajratib olib, ularga qarshi maxsus javob bera olish yotadi. Mana shu javob berishda antigenlar ishtirok etadi. Antigenlar – tabiiy va sun'iy, sintetik (oqsil, polisaxarid va bosh.mod.) moddalar bo'lib, organizmga yuborilganda immunkompetent limfoid hujayralarning maxsus aktivligini oshirib, maxsus immun javobni yoki tolerantlik holatini keltirib chiqaradi (berilmaslik). Antigenlar o'zlarining tuzilishida irsiy begonalik xususiyatini tashib yuradi (anti-qarshi, gen-tur). Antigenlar quyidagi xususiyatlari bilan farqlanadi:

1. Antigenlik – ya'ni antigenning sifat ko'rsatkichi. Masalan, ko'proq yoki kamroq antitelalar, sezuvchanligi oshgan limfotsitlar hosil qila olishi.
2. Immunogenlik – antigenning immunitet hosil qilish xususiyati yoki kuchi. Antigenning bu xususiyati ko'proq mikroorganizmlarning antigeniga taalluqlidir, chunki mikroorganizmlarning antigenlari organizmning kasallikka berilmasligini shakllantiradi. Masalan, ichburug' qo'zg'atuvchisi yuqori darajadagi antigenlik xususiyatiga ega, lekin

immunogenlik xususiyati sust, shuning uchun uzoq davom etadigan immunitetni hosil qila olmaydi, aksincha, qorin tifi qo'zg'atuvchisi esa yuqori darajali antigenlik va immunogenlik xususiyatiga ega, shuning uchun vaksinatsiyada qo'llaniladi.

3. Maxsusligi – antigenning asosiy xususiyati bo'lib, shu xususiyatlari bilan antigenlar bir-birlaridan farqlanadi. Antigenlarning maxsus ko'rinishlariga quyidagilar kiradi: tur maxsusligi; guruh maxsusligi; tipga xos maxsuslik; geteromaksuslik; organ maxsusligi; funksional maxsuslik; bosqichli maxsuslik; gapten maxsusligi; patologik maxsuslik; antigen mimikriya.

4. Antigenning kolloid xususiyati – (tarkibi, erishi) antigenlar kolloid holida organizmga yuborilganda yaxshi so'riladi.

Antigenlik xususiyati bor moddalarga oqsillar, mikroorganizmlar, ularning mahsulotlari (zaharlari), ilon, chayon zaharlari, o'simliklarda uchraydigan moddalar (ritsin, abriya), hujayra va to'qima elementlariga yot zarralar va h.k. kiradi.

Antigenlar to'la qimmatli va to'la qimmatsizlarga bo'linadi. To'la qimmatli antigenlar (oqsillar, polisaxaridlar, lipoproteinlar, kompleks moddalar) organizmga yuborilganda maxsus antitelalarni hosil qilib, immunokompetent limfoid hujayralarning aktivligini oshiradi, ya'ni shular bilan muayyan tarzda o'ziga xos birika oladi.

To'la qimmatsiz antigenlar gaptenlar bo'lib, organizmga yuborilganda organizmda maxsus antitelalar va sezgirligi oshgan limfotsitlar hosil qila olmaydi. Gaptenlarga yog'lar, kichik molekulali organik moddalar kiradi, lekin shu gaptenlarning tarkibiga oqsil birlashtirilsa yoki organizmdagi oqsillar, fermentlar bilan biriksa, gaptenlar to'la qimmatli antigenlarga aylanadi. Immun javob gaptenga qarshi hosil bo'ladi (gapten maxsuslik). Gapten bilan birikkan oqsil molekulasi kuzatuvchilik (tashib yuruvchi) vazifasini bajaradi va «shleper» deb ataladi (nem. «Shleper» kuzatadi).

Antigen maxsusligi antigen tarkibidagi oqsillarning birlamchi tuzilishiga, ya'ni aminokislotalarning xilma-xilligiga, ketma-ket kelishiga, aminokislotalarni yon zanjirga va ustki qismida joylashgan determinant guruhlarning soniga bog'liqdir.

Oqsil aminokislotalarining ustki qismida joylashgan bu determinant gruppalar oqsilga ma'lum bir shakl (konfiguratsiya), fazoviy qovushqoqlik va qutblilik xususiyatlarini beradi. Bitta elektron zaryadini o'zida tashib yuradi. Determinantlar soni shu oqsilning valentligini, sifatini (antigenligini), kuchini (immunogenligini) bildiradi. Masalan, odam qon zardobidagi albumin oqsili o'z tarkibida 6 ta determinant

gruppasini tutadi. Globulin oqsilining tarkibida esa 8 ta determinant gruppasi bor. Shuning uchun ham globulin oqsili albumin oqsiliga nisbatan kuchli antigenlik va immunogenlik xususiyatiga egadir.

**Bakteriyalarning antigenlari.** Mikroorganizmlarning antigenlari ularning kimyoviy va struktural tuzilishiga qarab turlicha bo'ladi. Bakteriyalarda xivchin antigeni (H-antigen), tana (somatik) O-antigeni, kapsulali bakteriyalarda kapsula (K-antigen) antigeni tafovut qilinadi. Bundan tashqari, ba'zi bir patogen bakteriyalarga xos bo'lgan Vi, M, W – antigenlar ham uchraydi. Mikrob antigenlaridan yana bir antigenni aytib o'tish zarur, masalan, kuydirgi qo'zg'atuvchisidan birinchi marotaba ajratib olingan «protektiv» (himoya) antigeni, bu antigen eng yuqori immunogenlik xususiyatiga egadir. Viruslarning antigenlari ham ularning strukturasi va kimyoviy tarkibiga bog'liq. Ko'pchilik viruslarda kapsid, nukleokapsid va superkapsid antigenlari tafovut qilinadi.

Mikroorganizmlarda umumiy avlodga, oilaga va maxsus turga va tipga xos antigenlar tafovut qilinadi.

Bakteriyalarning ekzotoksinlari va endotoksinlari ham kuchli antigenlik xususiyatiga egadir. Mikroorganizmlarning antigenlik xususiyatini o'rganish mikrobiologiya amaliyotida muhim ahamiyatga egadir, chunki undan yuqumli kasalliklar diagnostikasida va davolashda foydalaniladi.

Antigenlar organizm uchun genetik begona moddalar bo'lgani uchun organizmga tushganda, uning ichki turg'unlik holatini buzib, quyidagi immun reaksiyalarini keltirib chiqaradi.

1. Antitela ishlab chiqarish va organizmni gumoral immunitet bilan ta'minlash.
2. Darhol yuzaga chiqadigan allergik reaksiyalar.
3. Asta-sekin yuzaga chiqadigan allergik reaksiyalar.
4. Immunologik tolerantlik.
5. Immunologik xotira.

## **Antitelalar**

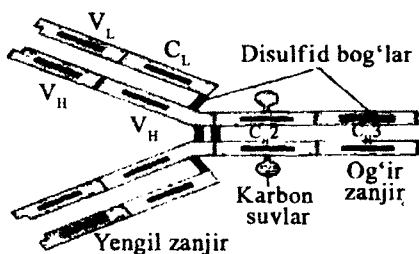
Antitelalar deb makroorganizmlarga antigenlar yuborilganda shu antigenlar ta'siri ostida hosil bo'ladigan maxsus oqsil globulinlarga aytiladi. Antitelalarning xususiyatlari o'zining paydo bo'lishida ishtirok qilgan antigenlar bilan maxsus birikishidir. Antitelalar immunoglobulinlar deb ham ataladi, ularning qon zardobidagi globulinlardan farqi, antigenlar bilan maxsus birikishidir. Xalqaro klassifikatsiya bo'yicha immunoglobulinlar 5 sinfga bo'lingan: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD.

Immunoglobulinlar molekulasida 2 ta og'ir va 2 ta yengil zanjirdan tarkib topgan. Og'ir – H (heav-inglizcha) va yengil L (leght-inglizcha) zanjirlar bir-biri bilan disulfid bog'lari bilan birikkandir (52-rasm). Masalan, immunoglobulin M 5 ta alohida yuqorida ko'rsatilgan struktural elementlardan tashkil topgan bo'lib, pentomer deb ataladi. Agar immunoglobulinlar molekulasiga papain ta'sir ettirilsa, ularning molekulasida papain ta'sirida 2 ta fragmentga (Fab-o'zgaruvchan va Fc-o'zgaruvchan) bo'linadi.

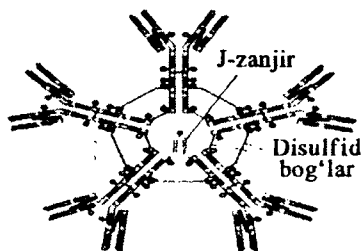
Antitelalarning maxsusligi ularning aktivlik markaziga bog'liqdir. Aktivlik markazi immunoglobulinlarning og'ir va yengil zanjirlarini Fab-bo'lakchasida qaror topgan bo'lib, shakli va tuzilishi jihatidan antigenning determinant gruppasining aksidir (qo'lqopni qo'lga, kalitni esa qulfga to'g'ri kelishiga o'xshash). Antitelalar antigenni biriktirib olishda asosan ularning aktivlik markazlari ishtirok etadi, bu birikish antitela va antigen molekularining o'zaro tortishish kuchiga bog'liqdir.

Ular maxsus birikishi esa antitelalarning og'ir va yengil zanjirlarining aktivlik markazi qismidagi oxirgi aminokislotalarning joylashuv tartibiga bog'liqdir.

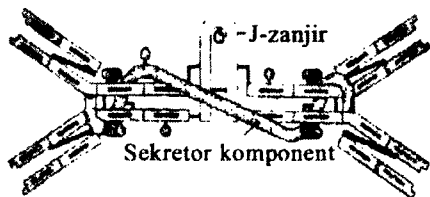
Antigen birinchi bor organizmga tushganda, organizm shu antigenga qarshi birinchi bo'lib IgM va 5-6 kundan boshlab IgG sintez qila boshlaydi. Bu immunoglobulin qon zardobidagi hamma immunoglobulinlarning 80% ini tashkil qiladi. IgG yo'ldosh orqali chaqaloqqa o'tadi.



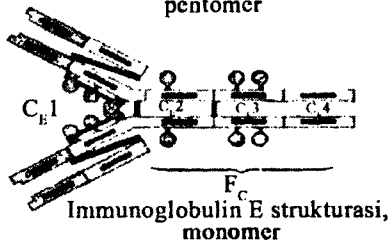
Immunoglobulin G strukturasi, monomer



Immunoglobulin IgM strukturasi, pentomer



Immunoglobulin A strukturasi, dimer

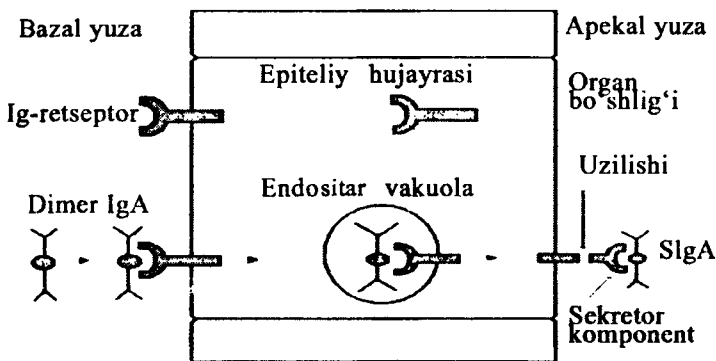


Immunoglobulin E strukturasi, monomer

52-rasm. Immunoglobulinlarning strukturasi

Immunoglobulin A miqdori jihatidan qon zardobida IgG dan keyinda turadi va ikki xil ko'rinishda uchraydi: qon zardobida va organizmda ishlab chiqariladigan turli xil suyuqliklarda (sekretlarda). Shuning uchun ham sekretor immunoglobulin deb ataladi. Sekretor IgA oshqozon va ichak yo'llarida, o'pkada, jinsiy organlarning shilliq qavatida uchraydi. Bu immunoglobulin dimer holatida bo'lib, sekretor komponenti orqali monomer bilan birikkandir va shuning evaziga proteolitik fermentlar ta'sirida erib ketmaydi. IgA ning organizmda vazifasi juda muhim bo'lib, organizmga patogen bakteriyalarning kirishiga to'sqinlik qiladi, boshqacha qilib aytganda, IgA organizmda himoyaning birinchi chizig'ini tashkil qiladi (53-rasm). Immunoglobulin E yoki reagen antitelalarning qon zardobida miqdori ko'p emas (52-rasm). Organizmda juda kam bo'lgan plazmatik hujayralar uni ishlab chiqaradi. IgE ning Fc bo'lagi sitofil (hujayrani sevishi) xususiyatiga ega, shuning uchun antigen bilan birikkanda semiz hujayralarga birikib oladi va semiz hujayralarni degranulyatsiyaga uchratishi mumkin. Buning natijasida semiz hujayralar vazoaktiv aminlarni ajratib chiqara boshlaydi, bu esa organizmda pichan isitmasi, bronxial astma va shunga o'xshash simptomlarni keltirib chiqaradi.

Immunoglobulin E asosiy fiziologik funksiyasi organizmning shilliq qavatlarida yuqorida ko'rsatilgan yallig'lanish jarayonlarini keltirib chiqarish bilan birga, organizmni patogen mikroorganizmlardan himoya qiladi, ya'ni patogen bakteriyalar IgA ning qarshiligini shilliq qavatlar orqali yengib o'tsa, bu holatda IgE ga duch kelishi mumkin. IgE semiz hujayralar bilan birikib, yallig'lanish jarayonini keltirib chiqaradi va shu bilan birgalikda, boshqa limfotsitlarni yallig'lanish o'chog'iga migratsiya



53-rasm. Immunoglobulin A, shilliq qavatlariga chiqish mexanizmi

bo'lishiga signal beradi. Yallig'lanish o'chog'iga qon zardobidagi IgG, limfotsit va makrofaglar yog'iladi va patogen agentni yo'qotadi. Shu bilan birgalikda, IgE asosan allergik kasalliklarni keltirib chiqarishda organizmda qatnashadi.

Immunoglobulin IgD funksiyasi yaxshi o'rganilmagan, oxirgi ma'lumotlarga qaraganda limfotsitlarning membrana retseptori vazifasini bajarishi mumkin.

Organizmdagi antitelalar miqdori ularning organizmda qancha muddat saqlanib turishiga, antigen miqdoriga va uning necha marta, qanday usulda yuborilganligiga bog'liq. Mana shu jarayonni organizmda genotip boshqarib turadi, shuning uchun ham bir xil antigenga har xil genotipga ega bo'lgan organizmlar turlicha javob beradi.

Antigen va antitelalarning organizmda maxsus birikishidan tashqari, antigen va antitelalarning birikishi (in vitro)ni probirkalarda ham kuzatish mumkin. Bunday maxsus immunologik reaksiyalarni serologik reaksiyalar deb ataladi. Bularga: agglyutinatsiya, pretsipitatsiya, lizis, komplementni bog'lash, gemagglyutinatsiya va boshqa reaksiyalar kiradi. Bu serologik reaksiyalar maxsus birikishi va o'ta yuqori sezuvchanlikka ega bo'lganligi sababli tibbiyotda yuqumli kasalliklarga tashxis qo'yishda va bakteriologik amaliyotda ajratib olingan kulturani saralashda ishlatiladi.

Hamma serologik reaksiyalar ikki fazada boradi. Birinchi fazasi maxsus, ya'ni antigenning determinant gruppasi bilan antitelalar aktiv markazlarining birikishi. Ikkinchi fazasi maxsus bo'lmay, bunday reaksiyalar turiga qarab cho'kmaga tushishi yoki antigenning erishi kuzatiladi. Agar antitelalar kam dispersli va korpuskulyar antigenlar (mikrob, spiroxetalar) bilan biriksa, bu holda izotonik suyuqlikda mustahkam birikma hosil qilib, probirka tagiga cho'kma (aglomerat) holda tushadi (54-rasm). Bu immunologik reaksiyani agglyutinatsiya hodisasi deb ataladi.

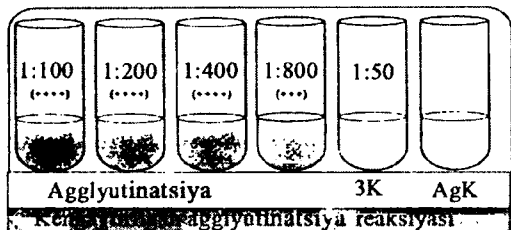
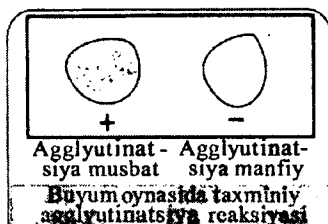
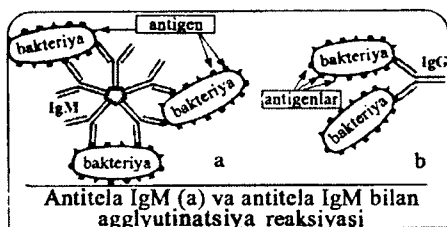
### **Agglyutinatsiya reaksiyasi**

Agglyutinatsiya reaksiyasida (lot.agglutinatio – yopishish) antitelalar yordamida mikrob, eritrotsit, leykotsit, trombosit, to'qima hujayralari va ustiga antigen adsorbsiya qilingan korpuskulyar zarrachalar elektrolitli (0,85% NaCl eritmasi) muhitda bir-biriga yopishib, cho'kmaga tushadi. Korpuskulyar antigen «agglyutinogen» deb ataladi. Agglyutinatsiya reaksiyasining mexanizmi «panjarani» eslatadi, bunda ikki valentli antitelaning bir faol markazi bir antigen bilan, antitelaning ikkinchi faol markazi ikkinchi antigen bilan birikishidan (54-rasm) birikma

(agglyutinatsiya) hosil bo'ladi. Bir-biriga yaqin mikroblar yopishsa, guruh agglyutinatsiya reaksiyasi kuzatiladi. Bu guruh, tur va variant antigenlari hisobiga ro'y beradi.

Maxsus, o'ziga xos immun zardobni bakteriya aralashmasiga qo'shilganda ular yopishadi, agglyutinatsiya hosil bo'lib, pilakchasimon yoki mayda donachalarga o'xshash cho'kmalar hosil bo'ladi. Agglyutinatsiya reaksiyasi monosistemi to'g'ridan-to'g'ri sodir bo'ladigan ikki komponentli bo'lib, antitela (agglyutinini) va korpuskulyar antigen (agglyutinogen) qatnashadi. Reaksiya antitela va antigenlar miqdorining ma'lum nisbatida va elektrolit (0,85% NaCl ning eritmasi) ishtirokida sodir bo'ladi. Agglyutinatsiya reaksiyasi maxsus, agglyutinatsiya beruvchi zardob, bakteriya bilan o'ziga xosdir. Ammo qardosh, yaqin mikroorganizmlar bilan ham kam miqdorda bo'lsa-da ham agglyutinatsiya berishi mumkin.

Somatik (O) xivchinli (H) va Vi antigenlar tutuvchi harakatchan bakteriyalar bilan immunizatsiya qilingan hayvonlar organizmida O-, H-, Vi-agglyutinini hosil bo'ladi. Agar turli bakteriyalarda guruh va turga xos antigenlar bo'lsa, ular bitta guruh antigenlarga qarshi antitelalar tutuvchi immun zardob bilan agglyutinatsiya berishi mumkin. Bu mikroorganizmlar identifikatsiyasini qiyinlashtiradi. Shunday holatlarda Kastellanning agglyutinini adsorbsiya qilish reaksiyasi o'tkaziladi. Bunda bir-biriga yaqin geterogen bakteriyalar immun zardobidan guruh, antitelalarni o'zlariga biriktirib oladilar, zardobda esa turga xos antitelalar



54-rasm. Agglyutinatsiya reaksiyalari, mexanizmi va natijalari



qoladi. Bitta antigen retseptoriga antitelalar tutuvchi zardoblar «monoretseptor» zardoblar deb ataladi. Ular bakteriya serovarlarini aniqlashda ishlatiladi.

Agglyutinatsiya reaksiyasi amaliyotda asosan yuqumli kasalliklarga serologik tashxis (qorin tifi, paratif A-B, brutsellyoz, tulyarimiya, rikketsioz kasalliklarida) qo'yishda va ajratib olingan mikroblar kulturalarini serologik identifikatsiya qilishda qo'llaniladi. Birinchi holatda izlanuvchi uchun antigen (diagnostikum) ma'lum, shuning uchun bemor qonidan noma'lum antitela izlaniladi (kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasi) va izlanilayotgan antitela titri aniqlanadi. Yuqumli kasalliklarga bu usulda tashxis qo'yishda, albatta, juft zardob qo'llaniladi. Birinchi marotaba qo'yilgandan so'ng ikkinchi marotaba 1-1,5 haftadan keyin qo'yiladi, agar bemorda izlanib topilgan AT titri, birinchi haftadagi titrdan 2 va undan ko'p barobar oshgan bo'lsa, titrning oshishiga qarab bemorga tashxis qo'yiladi, agar titr oshmasa (ko'pchilik hollarda emlanganlarda, kasal bo'lib o'tganlarda), tashxis qo'yilmaydi. Ajratib olingan kulturalarni serologik identifikatsiya qilishda polivalentli va monovalentli agglyutinatsiyaga uchratuvchi qon zardoblar (54-rasm) qo'llaniladi va reaksiyalar buyum oynachasida qo'yiladi.

#### **Metodik ko'rsatmalar**

Kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish. Bemorning qon zardobidan izlanilayotgan AT titrini aniqlash uchun qo'yilgan reaksiyaning sxemasi jadvalda keltirilgan. Dastlab zardobning asosiy eritmasi tayyorlanadi, bunda zardob titriga ko'ra: 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 nisbatda suyultiriladi, buning uchun 1 ml asosiy eritmadan olinib birinchiga, birinchi probirkadan ikkinchisiga, ikkinchidan uchinchisiga va h.k qator eritma suyultirilib, tayyorlanadi.

Hamma probirkalar teng hajmda bo'lishi uchun oxirgi probirkadan 1 ml suyultirilgan zardob olinib, dezinfeksiyalovchi eritmaga quyiladi. Kontrol probirkaga (antigen kontroli) natriy xloridning 1 ml izotonik eritmasi quyiladi. Suyultirilgan zardobli har bir probirkaga va kontrol probirkaga pipetka bilan 2-3 tomchidan (0,15 ml) 1 ml dan 3 mlrd mikroblar tanasi bo'lgan bakteriya (diagnostikum) suspenziyasi tomiziladi. Probirkalar yaxshilab silkitilib, 37°C da 2 soat termostatga qo'yiladi, so'ng uy haroratida bir sutka davomida saqlanadi.

Shundan so'ng xivchinli antigen bilan qo'yilgan reaksiyaning natijasi ko'riladi. 18-48 soatdan so'ng somatik antigen bilan qo'yilgan reaksiyalar natijasi aniqlanadi. Reaksiya natijasi qurollanmagan ko'z orqali yoki agglyutinoskop bilan tekshiriladi. Bunda probirkalar sekin-sekin silkitib ko'riladi. Agar natija musbat bo'lsa, cho'kmaga tushgan birikma ipir-

ipir bo'lib turadi (H-agglyutinatsiya), dona-dona bo'lishi mumkin (O-agglyutinatsiya).

27-jadval

**Kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish sxemasi**

№	Ingrediyentlar	Probirkalar					
		1	2	3	4	5	6
		Suyultirish					
		1:100	1:200	1:400	1:800	Kontrol (Ag)	Kontrol (zardob)
1	Natriy xloridning izotonik eritmasi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2	Qon zardobi (kasal-niki) 1:10 nisbatda suyultirilgan	0,5	-	-	-	-	0,5 (1:10)
3	Diagnostikum (1-2 mlrd. mikroeritmasi)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	-

Agglyutinatsiya reaksiyasining qay miqdorda borayotganini yoki darajasini aniqlashda to'rt (4) musbat belgi qo'yiladi. To'rt musbat (++++) belgili reaksiyada hamma antigenlar cho'kmaga tushib, suyuqlik tiniq bo'lib qoladi. Uch musbat (+++) belgili reaksiyada suyuqlik ozgina loyqalanib qolishi mumkin, cho'kma aniq ko'rinib turadi. Ikki musbat (++) reaksiyada esa antigenlarning yarmi cho'kmaga tushadi, suyuqlik yarim loyqalangan holda bo'ladi. To'rtta va uchta belgili reaksiyada musbat natija qayd qilinadi. Belgining ikkitasi aniqlansa, reaksiya manfiy deb qaraladi.

**Buyum oynasida agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.** Ajratilib olingan mikroorganizmlar qaysi turga va sero guruhlarga mansubligini aniqlash uchun agglyutinatsiya buyum oynasida qo'yiladi. Buning uchun ma'lum agglyutinatsiyaga uchratuvchi zardobdan Paster pipetkasi yordamida 1-2 tomchi buyum oynachasiga tomiziladi, kontrol uchun natriy xloridning izotonik eritmasi 1-2 tomchi olinadi va bakteriologik halqa (petlya) yordamida tekshirilayotgan mikroorganizmning kulturasini olinib, buyum oynasidagi maxsus zardob bilan aralashiriladi. Reaksiyaning natijasi 3-10 daqiqadan so'ng ko'riladi. Musbat agglyutinatsiya reaksiyasida buyum oynachasi ustida yaqqol ko'rinuvchi aglomerat zarrachalari hosil bo'ladi. Shu bilan bir qatorda, kontrol oynachada fiziologik suyuqlik bilan tekshirilayotgan antigen reaksiya bermaydi.

## **16-MAVZU. SEROLOGIK REAKSIYALAR: KOMPLEMENTNI BOG'LASH, BEVOSITA, BILVOSITA GEMAGGLYUTINATSIYA, IMMUNOFLYUORESSENT VA KUMBS REAKSIYALARI, QO'YILISHI VA AHAMIYATI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR), uning qo'yilish yo'llari va tibbiyotdagi ahamiyati.
2. Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (BGR), uning kelib chiqish mehanizmi va meditsinada qo'llanilishi.
3. Kumbs reaksiyasi va uning praktikada qo'llanilishi.

### **Namoyish qilish**

1. KBR ishlatiladigan ingridiyentlar, reaksiya qo'yish aks ettirilgan rangli rasm, sxemalar.
2. Musbat va manfiy natijali gemagglyutinatsiya reaksiyasi.
3. Kumbs reaksiyasi, reaksiya qo'yish aks ettirilgan rangli rasm va sxemalar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Komplementni bog'lash reaksiyasini qo'yish:
  - a) komplementning ishchi dozasini aniqlash;
  - b) gemolitik sistemani tayyorlash;
  - v) tekshirilayotgan zardobdagi spetsifik antitelalar borligini aniq antigen bilan aniqlash uchun KBR birinchi va ikkinchi fazasini qo'yish.
2. Kasal qon zardobidagi antigen yoki antitelani aniqlash uchun bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.

### **Metodik qo'llanmalar**

**Komplementni bog'lash reaksiyasini qo'yish.** KBR murakkab serologik reaksiyalar jumlasiga kiradi, bu reaksiyada antigen, antitela va komplementdan tashqari, reaksiya natijasini ko'rsatib beruvchi gemolitik sistema ham qo'llaniladi. KBR yuqori sezgirlikka ega bo'lganligi sababli keng ko'lamda yuqumli kasalliklarni diagnostikasida qo'llaniladi (Masalan, viruslar, rikketsiyalar va bakteriyalar keltirib chiqaradigan kasalliklarda). KBR ko'pincha bemorlardan ajratib olingan viruslarni aniqlash va turini belgilashda ishlatiladi.

KBR ikki fazani o'z ichiga oladi:

1. Antigen, antitela va komplementning birikish fazasi.
2. Gemolitik sistema fazasi.

Birinchi fazaning mohiyati shundan iboratki, (55-rasm) bu fazada antigen va antitela bir-biriga maxsus mos kelganida birikib, birikma hosil qiladi, natijada bu birikma o'ziga komplementni bog'lab oladi (komplement sarflanadi). Bu reaksiya probirkada qo'yilganida, uni

kuzatib bo'lmaydi. Shuning uchun ikkinchi fazadan, ya'ni gemolitik sistemadan foydalaniladi.

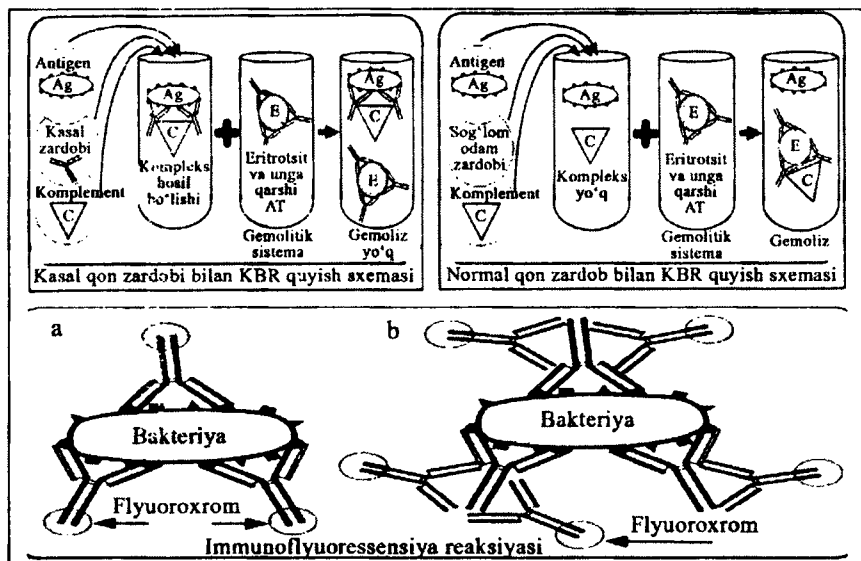
Gemolitik sistema reaksiyada indikatorlik vazifasini bajaradi. Gemolitik sistema, qo'y eritrotsitlaridan va ularga qarshi (antigemolitik) antitelalardan iboratdir, ya'ni gemolitik zardob. Bu gemolitik zardobni olish uchun qo'y eritrotsitlarini laboratoriya hayvonlariga (quyonga) bir necha marotaba yuboriladi va ulardan gemolitik zardob ajratib olinadi. Gemolitik zardob 56°C da suv hammomida inaktivatsiya qilinadi (56°C da qon zardobidagi komplement aktivligini yo'qotadi).

KBR boshqa serologik reaksiyalarga o'xshab ikki fazada boradi:

Antigen - antitela.

Komplementning adsorbsiya qilinishi.

Agar kasal qon zardobida shu reaksiyada ishlatilayotgan antigenga mos keladigan antitelalar bo'lsa, u vaqtda hosil bo'ladigan antigen-antitela birikmasi o'ziga komplementni biriktirib oladi, ya'ni bog'laydi. Unga gemolitik sistema qo'shilganda, eritrotsitlarning gemolizi ro'y bermaydi (55-rasm), chunki komplement bog'langan holatda bo'ladi (to'g'rirog'i sarf bo'ladi), ikkinchi gemolitik sistemaga (Ag + At) komplement qolmaydi. Shuning uchun gemoliz probirkada ro'y bermaydi. KBR musbat deb hisoblanadi.



55-rasm. Komplementni bog'lash (yuqorida) va immunflyuoressensiya reaksiyalari (pastda): a) bevosita; b) bilvosita usullari, sxematik ko'rinishi

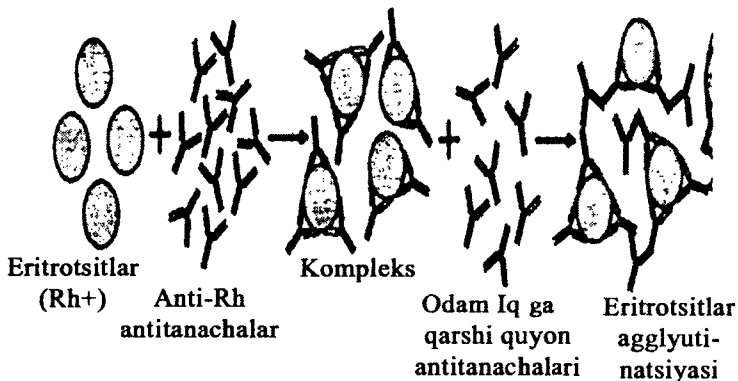
Ikkinchi holatda kasal qon zardobida antigenga mos keluvchi antitelalar bo'lmasa, antigen-antitela birikmasi hosil bo'lmaydi va komplement bog'lanmasdan (sarf bo'lmagan) erkin holatda qoladi. Gemolitik sistema qo'shilganida komplement shu sistema bilan birikadi, natijada eritrotsitlarning gemolizi ro'y beradi. Bu esa shu probirkada reaksiyani manfiy deb hisoblashga asos bo'ladi.

### **Kumbs reaksiyasi (KR)**

Bu reaksiya yordamida to'liq bo'lmagan, ya'ni bir valentli antitelalar aniqlanadi. Bu At korpuskulyar yoki eritma holidagi antigenlar bilan maxsus birikadi, bu reaksiyada makroskopik kuzatib bo'ladigan agglyutinatsiya, pretsipitatsiya yoki komplementni biriktirish fenomenlari kuzatilmaydi. To'liq bo'lmagan antitelalar o'zining bir valentligi tufayli (bir aktiv markazi bor), antigenning determinant joyini qoplab olib, boshqa Ag determinantlar bilan birika olmaydi. Shuning uchun ularni qurshab oluvchi (blokiryushiy) antitelalar deb ham ataladi.

KR usulida asosan maxsus antiglobulin qon zardoblar ishlatiladi. Bu zardoblarni olish uchun quyovni odam qon zardobining globulinlari bilan immunizatsiya qilinadi. Bu antiglobulin to'liq, ya'ni ikki valentli antitelalar gruppasiga kiradi. Agar tekshirilayotgan qon zardobida to'liq bo'lmagan antitelalar bo'lsa, ular antigen bilan birikib, uning ustki qismiga adsorbsiya bo'ladi. Shu hosil bo'lgan birikmaga diagnostik antiglobulinli qon zardobi qo'shilsa, undagi antitelalar, antigen-antitela kompleksi (antigen bilan birikkan to'liq bo'lmagan antitelalar) bilan maxsus birikadi. Natijada, makroskopik ko'rinmaydigan reaksiya to'liq va to'liq bo'lmagan antitelalarning birikishi yordamida gemagglyutinatsiya yuz beradi va reaksiya ko'rinadi.

Noto'liq At ni aniqlash uchun masalan, homilador ayollar zardobidagi eritrotsitlarning rezus – antigeniga qarshi hosil bo'lgan At aniqlash ikki bosqichda bo'ladi (56-rasm). Birinchi bosqichda ikki martadan suyultirilgan, tekshiriladigan zardobga rezus-antigeniga ega eritrotsitlar qo'shiladi va 37°C da termostatda bir soat saqlanadi va olinib, uch marotaba sentrifuga yordamida natriy xlorning izotonik eritmasida yuviladi. Ikkinchi bosqichda yaxshilab yuvilgan eritrotsitlarga (oldindan ishchi eritmada titrlangan) quyovning odam globulinlariga qarshi olingan zardobi qo'shiladi. 30 daqiqaga 37°C da termostatda qo'yilgandan so'ng gemagglyutinatsiya borligiga ko'ra (musbat reaksiya) natijasi hisobga olinadi. Reaksiyada quyidagi kontrollar qo'yiladi: 1) antiglobulinli zardob + oldindan sensibilizatsiya qilingan eritrotsitlar; 2) normal zardob +



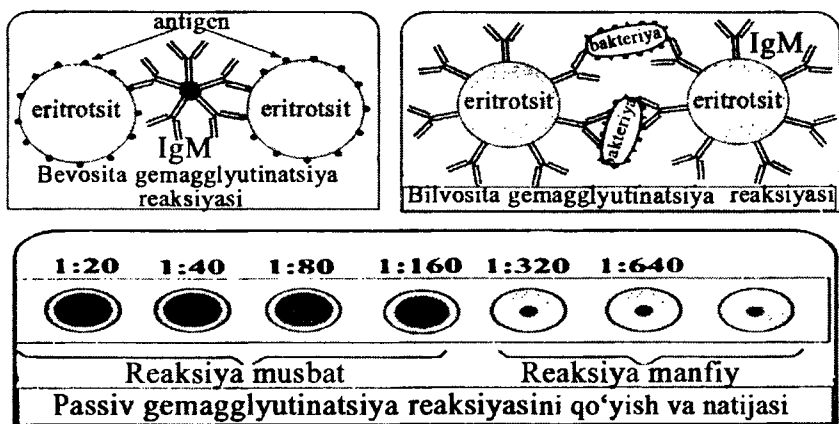
56-rasm. Kumbs reaksiyasi

eritrotsitlar + antiglobulinli zardob; 3) tekshiriladigan zardob + rezus manfiy eritrotsitlar + antiglobulinli zardob.

### Bevosita va bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (BGR)

Bevosita gemagglyutinatsiya reaksiyasining (BGR) mohiyati shundan iboratki, turli antigenlar bilan oldindan sensibillangan eritrotsitlarga immun zardob yoki tegishli antigenlarga ega bo'lgan kasal zardobi qo'shilsa, shu sensibillashgan eritrotsitlar bir-biriga yopishib agglyutinatsiyaga uchraydi. Shuni esdan chiqarmaslik kerakki, eritrotsitlar qaysi antigen bilan sensibilizatsiya qilinsa, shu antigenga maxsus bo'lgan antitelalar bilan reaksiyaga kirishadi (57-rasm).

Bevosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (passiv) sezgirligi va maxsusligi jihatidan boshqa serologik reaksiyalardan ustun turadi. Hozirgi kunda juda ko'plab modifikatsiyalari bakteriyalar, rikketsiyalar qo'zg'atadigan yuqumli kasalliklarning diagnostikasida keng qo'llaniladi. Bu reaksiyalarda qo'y, maymun, dengiz cho'chqasi, qushlardan (xo'roz, g'oz) va odamning I(O) guruh eritrotsitlaridan foydalaniladi. Antigen sifatida esa tozalangan mikroob, virus va boshqa mikroorganizmlarning antigenlari, ularning toksinlari va turli xil oqsil moddalari ishlatiladi. Antigenlar bilan sensibilizatsiya qilingan eritrotsitlar tibbiyot sanoatida eritrotsitar diagnostikumlar ko'rinishida chiqariladi. Bunday eritrotsitar diagnostikumlar yordamida bemor qon zardobidagi maxsus At titri aniqlanib, kasallikka serologik tashxis qo'yiladi (qorin tifi, iyersiyenozlarda, OITV, brutsellyoz va boshqa kasalliklarda). Bu usulni bilvosita (passiv) gemagglyutinatsiya reaksiyasi (45-rasm) deb ham ataladi.



57-rasm. Gemaglyutinatsiya reaksiyalari, mexanizmi va natijalari

Ko'pchilik hollarda eritrotsitlar antigen bilan emas, balki maxsus antitelalar bilan sensibilizatsiya qilinadi. Odatda, getrogen At lar eritrotsitlarga adsorbsiya bo'lmaydi, ularni eritrotsitlar membranasiga biriktirishda kimyoviy biriktiruvchi ( $SrCl_3$ , glyutar aldegid) moddalardan foydalaniladi. Bunday antitelali eritrotsitar diagnostikumlar ham sanoatda chiqariladi. Bunday eritrotsitar diagnostikumlar bilan antigenlarni aniqlash qayta bilvosita gemaglyutinatsiya reaksiyasi deb ataladi (57-rasm) va ko'pchilik kasalliklarda (gepatit B, C, OITV, vabo, ich burug', o'lat va boshqa) qo'llaniladi.

### Immunflyuoessent usul

Yuqumli kasallik agentlarini patologik materiallardan, infeksiya yuqqan ashyolardan, hayvon to'qimalaridan va hujayra kulturalaridan flyuoessensiya qiluvchi antitelalar (zardoblar) yordamida aniqlashdan yuqumli kasalliklarga diagnoz qo'yishda amaliyotda keng qo'llaniladi. Immunflyuoessent usul tezkor (ekspres) diagnoz qo'yish usuli bo'lib, sezgirligi va maxsusligi bilan boshqa serologik reaksiyalardan qolishmaydi.

Flyuoessensiya qiluvchi zardoblarni tayyorlash, ayrim flyuoroxromlarning (masalan, flyuoessensiyaning izotiotsianati) zardob oqsillarning immunologik maxsusligiga ta'sir qilmay, ular bilan kimyoviy birikishiga asoslangan. Immunflyuoessent usulni Kuns reaksiyalari deb ham ataladi. Immunflyuoessent reaksiyani bevosita va bilvosita usullari tafovut etiladi (55-rasm).

Kunsning bevosita immunflyuoessent usulida, flyuoessensiya qiluvchi antitelalar (flyuoroxrom bilan nishonlangan) mikroba antigenlari bilan birikib, kompleks hosil qiladi. Bu komplekslar lyuminescent mikroskop ostida ko'rilganda o'ziga xos yashil rangda nur tarqatadi (55a-rasm). Bu reaksiyaning kamchiligi shundan iboratki, har bir tekshiriluvchi mikroba yoki virusga qarshi flyuoessensiya qiluvchi maxsus zardoblarning keng to'plamini tayyorlash zarur.

Kunsning bilvosita usulida esa faqat birgina universal, tarkibida quyonga globulinlariga qarshi antitelalari bo'lgan flyuoessensiya qiluvchi antiglobulinli maxsus zardob ko'zda tutiladi. Diagnostik antizardob (AT) tarkibi quyonga globulinlari bo'lganligi uchun (chunki antigen quyonglarni immunlash yo'li orqali olinadi) ular flyuoessensiya qiluvchi antiglobulinli zardob bilan antigen sifatida maxsus birikadi (55b-rasm) va kompleks (izlanilayotgan mikroba + mikrobaqa qarshi AT + nishonlangan antiglobulin zardob) hosil qiladi. Hosil bo'lgan kompleks lyuminescent mikroskopda nur tarqatadi.

### **Komplementni bog'lash reaksiyasini qo'yish:**

KBR qo'yish uchun quyidagilar zarur:

Bemorning qonga zardobi;

Izlanilayotgan antitelaga maxsus bo'lgan ma'lum antigen;

Komplement. 3% qo'y eritrotsitlari. Gemolitik qonga zardobi;

Natriy xloridning izotonik suyuqligi. Probirkalar va pipetkalar.

**Komplement** titri va ishchi dozasi belgilash (28-jadval). Komplement tariqasida dengiz cho'chqasining yangi qonga zardobidan (24-48 davomida) yoki ishlab chiqilgan ampulardagi quruq komplementdan foydalaniladi. Reaksiya qo'yish oldidan komplement 1:10 nisbatda (kerakli miqdorda) suyultiriladi, (eritrotsitlarni gemolizga uchratuvchi komplementning eng kam miqdori). Shuningdek, antigenning antikomplementar xususiyatlari bo'lishi mumkinligini nazarda tutib, komplementning aniqlangan ishchi titriga 20-30 foiz qo'shimcha qo'shiladi. Masalan, komplementning ishchi titri 0,15 ml ga teng bo'lsa, uning ishchi titrini 0,2 ml qilib olinadi.

**Antigenlar.** KBR antigen bo'lib, ishlab chiqarish institutlarida o'ldirilgan bakteriyalarning emulsiyalari, shu emulsiyalardan tayyorlangan ekstraktlar va mikroba yoki virus hujayralaridan kimyoviy yo'l bilan ajratib olingan fraksiyalari xizmat qiladi. Ishlatiladigan antigenlarning antikomplementar xususiyatini aniqlash uchun komplement reaksiyada ishlatiladigan antigen ishtirokida qo'shimcha ravishda titrlanadi va antigenning ishchi dozasi aniqlanadi. Agar antigen komplement ishtirokida titrlanib, komplementning titri 30 foizga kamaysa, bu holda antigen ishlatishga layoqatsizdir. Antigenni titrlash uchun uch qator probirkalar olinadi va shu probirkalarning har biriga,



ya'ni qatoriga antigenning ikki marotaba oshirib borilgan eritmasidan 0,5 ml miqdorida olinadi. Birinchi qator probirkalarga teng miqdorda (0,5 ml) spetsifik qon zardobi qo'shiladi, bu qon zardobining suyultirilishi esa to'rt marotaba oshirib boriladi.

28-jadval

### Komplementni suyultirish sxemasi

Ingrediyentlar	Probirkalar									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Komplement 1:10 nisbatda suyultirilgan (ml).	0,05	1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	-
Natriy xloridning izotonik suyuqligi (ml).	0,95	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
Gemolitik sistema (37° termostatda 30 daqiqa saqlangan, ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Probirkalardagi aralashmalar yaxshilab silkitilib, 37°C termostatda 30 daqiqa davomida ushlab turiladi.										
Reaksiyalarning natijalari	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

**Ilova:** gemoliz (+), gemoliz (-)

Ikkinchi qatoridagi probirkalarga teng miqdorda va shu suyultirilgan miqdorda normal qon zardobi qo'shiladi (antigen spetsifikligini kontrol qilish uchun). Uchinchi qator probirkalarga 0,5 ml natriy xloridning izotonik suyuqligidan qo'shiladi. Hamma probirkalarga ikki marotaba suyultirilgan komplementdan 0,5 ml qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi va 37° termostatga 60 daqiqaga qo'yiladi. Antigen qo'shilmagan qon zardobi ikkinchi kontrol bo'lib xizmat qiladi. Probirkalar termostatdan olinib, hammasiga 1ml gemolitik sistema qo'shiladi va yana termostatga 30 daqiqaga qo'yiladi. Antigen birligi deb, uning eng yuqori suyultirilgan miqdori olinadi va shu suyultirilgan

miqdorida spetsifik qon zardobi ishtirokida eritrotsitlarni ikki musbat (++) belgigacha gemolizga uchratmaydigan miqdori olinadi. Antigenning ishchi fazasi esa uning kam suyultirilgan miqdori bo'lib, shu suyultirilgan miqdorda spetsifik qon zardobi bilan birga reaksiyada ishtirok etadi va eritrotsitlarning gemolizini normal qon zardobi va xlorid natriy suyuqligi yordamida ushlab qololmaydigan miqdoriga aytiladi.

**Gemolitik sistema** – Gemolitik qon zardob+ qo'y eritrotsitlari (1:1 nisbatda), gemolitik qon zardob, inaktivatsiya qilingan ( $56^{\circ}\text{C}$  30 daqiqa suv hammomida saqlangan) quyoning qon zardobi bo'lib (tarkibida gemoliz saqlaydi), qo'y eritrotsitlari bilan quyinni giper immunlash yo'li bilan olinadi. Gemolitik zardob 1:1200 titrda chiqariladi, shuning uchun 1:400 nisbatda suyultiriladi.

Qo'y eritrotsitlari suspenziyasi fibrinsizlashtirilgan qo'y qonidan tayyorlanadi, eritrotsitlar natriy xloridning izotonik eritmasida butunlay rangsizlanguncha tiniq holiga kelguncha sentrifuga yordamida yuviladi va undan natriy xloridning izotonik eritmasidagi 3 % suspenziyasi tayyorlanadi.

KBR ni qo'yish uchun ishchi doza sifatida gemolitik zardobning 3 marta yuqori titri olinadi. Asosiy tajribani o'tkazish. Barcha ingrediylar titri va ishchi dozalari aniqlangandan so'ng KBR asosiy tajribasi o'tkaziladi (29-jadval).

Tekshirilayotgan va kontrol qilinayotgan qon zardoblar oldindan  $56^{\circ}\text{C}$  30 daqiqa suv hammomida komplementi aktivsizlantiriladi.

KBR ning birinchi fazasida, ya'ni  $37^{\circ}\text{C}$  da 30 daqiqa davomida antigenning tekshirilayotgan zardob va komplement bilan birikishini taqozo etadi. Agar KBR sovuq sharoitda o'tkaziladigan bo'lsa, bu faza  $0-4^{\circ}\text{C}$  da 18-20 soat davomida o'tkaziladi, bu esa reaksiya sezgirligini oshiradi.

Har bir probirkaga 0,4 ml dan gemolitik sistema qo'shilgach, probirkalar silkitiladi va  $37^{\circ}\text{C}$  da 20-30 daqiqa davomida saqlanadi.

Probirkalarda gemoliz sodir bo'lgan yoki bo'lmaganligiga ko'ra tajriba natijasi aniqlanadi (29-jadval). Agar probirkadagi suyuqlik tiniq bo'lib, eritrotsitlar cho'kmaga tushsa ( $0-4^{\circ}\text{C}$  da 18-20 soat inkubatsiyada) va gemoliz butunlay bo'lmasa, reaksiya musbat, agar eritrotsitlarning barchasi erib, suyuqlik qizil rangga bo'yalsa, reaksiya manfiy hisoblanadi. Har ikkala inkubatsiya usullarida ham reaksiyaning natijasi to'rt musbat belgi qo'yish sistemasi bilan aniqlanadi:

(++++) – gemoliz yo'q,

(+++) – gemoliz 25%,

(++) – gemoliz 50%,

(+) – gemoliz 75%,

(+) – hamma eritrotsitlar gemolizga uchraydi.

Birinchi va ikkinchi ko'rinishlarda reaksiya musbat hisoblanadi.

## Komplementni bog'lash reaksiyasining asosiy tajribasi

Ingrediyentlar, ml	Probirkalar №						
	1	2	3	4	5	6	7
1:5 nisbatda suyultirilgan tekshiriladigan zardob	0.2	-	-	0.2	-	-	-
Musbat zardob	-	0.2	-	-	-	-	-
Manfiy zardob	-	-	0.2	-	-	-	-
Antigen	0.2	0.2	0.2	-	0.2	-	-
Natriy xloridning izotonik eritmasi	-	-	-	0.2	0.2	0.4	0.6
Komplementning ishehi dozasi	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-
37°C da 30 daqiqa inkubatsiya qilish yoki 0-4°C dagi sovuq sharoitda inkubatsiya qilish							
Gemolitik sistema	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
20-30 daqiqa davomida 37°C da inkubatsiya qilish							
Natijalar							

Kontrol sifatida (2 va 3 probirkalar) oldindan musbat va manfiy reaksiya beradigan zardoblar hisoblanadi; 4 va 5 probirkalar zardob va antigenning komplementga qarshi hususiyatini aniqlash uchun xizmat qiladi; 6 va 7 probirkalarda komplement va gemolitik sistemaning sifati tekshiriladi.

## Bilvosita gemaglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish

Laboratoriyada BGR qo'yish uchun standart eritrotsitli diagnostikumlardan foydalaniladi (30-jadval). BGR hozirgi vaqtda chuqurchali plastinkalarda, probirkalarda yoki ko'proq mikroplanshetkalarda qo'yiladi. Tajriba natijasi va uning darajasini aniqlash uchun to'rt musbat (++++) belgi qo'yish sistemasi ishlatiladi. Reaksiya natijasi 2 soat 37°C termostatda turganidan keyin tekshiriladi. Agar reaksiya yuqori musbatli, ya'ni (++++) bo'lsa, eritrotsitlar bir-biriga yopishib, probirka tubida zontik shaklini eslatuvchi cho'kma hosil bo'ladi. 3 musbatli (+++) reaksiyada esa zontik shaklini hosil bo'lishi bilan birga, eritrotsitlar shu zontikning o'rtasida tugmachaga o'xshab yig'ilib qoladi. 2 musbatli (++) reaksiyada esa tugma kattaroq bo'ladi. Agar reaksiya manfiy (-) bo'lsa, eritrotsitlar bir-biriga yopishmaydi va probirkalar o'rtasida tugmachaga o'xshash cho'kma hosil qiladi. To'rt va uchta (+) reaksiyalar musbat hisoblanadi. Reaksiya 2 kontrol bilan qo'yiladi, ya'ni diagnostikum va zardob.

## BGR ning qo'yilish sxemasi

Ingrediyentlar	Probirkalar							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	Suyultirish darajasi							
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	Kontrollar	
						Zard.	Diagn.	
Natriy xloridning izotonik eritmasi (ml)	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kasalning qon zardobi 1:10 (ml) (1,8 eritmasi – 0,2 zardob)	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-
Eritrotsitli diagnostikum (ml)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25

**Hlova:** 7-probirkadan 0,5 ml suyuqlik dez.eritmaga to'kiladi.

Probirkalar yaxshilab aralashtirilib, 37°C li termostatga 2 soat qo'yiladi, natijasi daftarga yoziladi.

**17-MAVZU. SEROLOGIK REAKSIYALAR: PRETSIPITATSIYA REAKSIYASI, IFA, IMMUNOBLOTING REAKSIYALARI VA BOSHQA SEROLOGIK REAKSIYALARNING QO'YILISHI VA AHAMIYATI**

**Mashg'ulot rejasi**

1. Pretsipitatsiya reaksiyasi (PR), uning qo'yilish yo'llari va tibbiyot amaliyotidagi ahamiyati.
2. Immunoferment analiz (IFA), uning kelib chiqish mexanizmi va meditsina amaliyotida qo'llanilishi.
3. Immunobloting reaksiyasi va uning amaliyotda qo'llanilishi.

**Namoyish qilish**

1. PR ishlatiladigan ingrediyentlar, reaksiya qo'yilishi aks ettirilgan rangli rasm, sxemalar.
2. IFA reaksiyalarining qo'yilishi aks ettirilgan rangli rasm, sxemalar.
3. Immunobloting reaksiyasi, reaksiya qo'yilishi aks ettirilgan rangli rasm va sxemalar.

## **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Halqasimon pretsipitatsiya (Askoli) reaksiyasini qo'yish.
2. Immunoferment (IFA) analiz reaksiyasini qo'yish.

### **Pretsipitatsiya reaksiyasi**

**Pretsipitatsiya reaksiyasida:** agglyutinatsiya reaksiyasidan farqli o'laroq, dispers kolloid holatidagi antigen (pretsipitinogen) bilan qo'shib, elektrolit (0,85% NaCl) ishtirokida pretsipitat (mayda cho'kma) hosil qiluvchi antitelalar (pretsipitinlar) ishtirok etadi. (58-rangli rasm). Antigen, ya'ni pretsipitinogen bo'lib, turli xil oqsil moddalar (hayvon, o'simlik va mikroorganizm oqsillari) va issiqlikka chidamli ba'zi bir mikroorganizmlarning antigenlari: kuydirgi va tulyaremiya kasalligining qo'zg'atuvchilari kiradi. Pretsipitatsiya reaksiyasi (PR) juda sezgir va maxsus usul bo'lib, bu reaksiya yordamida 1:10 gacha suyultirilgan antigen yoki gaptenni aniqlash mumkin. Pretsipitatsiya reaksiyasining yuqori darajada sezgirligi, ma'lum antizardoblar yordamida ko'pgina antigenlarni aniqlash imkoniyatini beradi. Buning uchun maxsus probirkalardagi standart suyultirilgan diagnostik zardoblarga ketma-ket suyultirilgan antigen asta-sekin probirka devoriga tomiziladi, bir necha daqiqa o'tgandan so'ng ikki muhit chegarasida antigen antitela birikmasi oq halqa ko'rinishida namoyon bo'ladi. Bunda pretsipitatsiya qiluvchi zardobning titri, deb maksimal suyultirilgan antigen ishlatilganda yaqqol namoyon bo'ladigan pretsipitatsiya reaksiyasi tushuniladi.

#### **PR quyidagi amaliy ishlarda qo'llaniladi:**

1. Yuqumli kasalliklar diagnostikasida (kuydirgi, tulyaremiya, toun va boshqalar).
2. Ba'zi bir bakteriyalarning turini yoki tipini aniqlashda.
3. Sud tibbiyot ekspertizasi amaliyotida. Masalan, qon dog'i, sperma qaysi turga mansubligini aniqlashda keng qo'llaniladi.
4. Sanitariya ekspertizasida esa qalbaki oziq-ovqat mahsulotlarini (sut, go'sht, baliq, asal va boshqalar) aniqlashda ishlatiladi.

Biologiyada esa turlar o'rtasida irsiy bog'lanish borligini (o'simliklar, mikroorganizmlar va hayvonlar) aniqlashda qo'llaniladi. PR ning hozirgi kunda ko'plab modifikatsiyalari ishlab chiqilgan. Asosan ikki yo'nalishda, elektrolit muhitda va gelda qo'yiladi. Elektrolit muhitida eng ko'p halqasimon PR qo'llaniladi. Bu juda sodda reaksiya bo'lib, oson qo'yilishi bilan ajralib turadi. Reaksiya ko'proq kuydirgi kasalligi diagnostikasida keng qo'llaniladi. Kuydirgi qo'zg'atuvchisini hujayra devorida ikki toifa antigeni uchraydi. Birinchi toifa antigenlari issiqlikka chidamsiz, yuqori haroratda parchalanib ketadi, ikkinchi toifa antigeni esa issiqlikka

chidamli hisoblanadi. Shu antigenni topishda PR qo'llaniladi. Shuning uchun bu reaksiyani termopretsipitatsiya reaksiyasi ham deb ataladi. Antigen sifatida kuydirgi kasalligidan halok bo'lgan hayvonning terisi, yungi va boshqa joyidan olingan materiallar ishlatiladi. Ular qaynatilib, filtratlar tayyorlanadi, uni maxsus PR uchun mo'ljallangan probirkalarga quyiladi.

Filtratning ustiga sekin-asta shoshmasdan probirkaning devoridan maxsus pretsipitatsiyaga uchratuvchi immun zardob qo'plab tushiriladi. Agar PR musbat bo'lsa, ikki suyuqlik chegarasida halqa, ya'ni pretsipitat paydo bo'ladi (58-rangli rasm), bu esa tegishli antigen borligidan darak beradi. Pretsipitatsiya zardobini titri eng yuqori antigen suyultirgani bilan ifoda qilinadi. Bu holda probirkada aniq PR ro'y beradi. Immun zardobining dispersligi antigennikidan kam bo'lgani uchun ularni tenglashtirish maqsadida antigen suyultiriladi. Bundan tashqari, geldagi (agardagi) pretsipitatsiya reaksiyasi ham bor. Agarli Petri kosachasida bir-biridan oralig'i teng bo'lgan chuqurchalar hosil qilinadi. Markaziy chuqurchaga tarkibida antitelalar bo'lgan zardob tomiziladi, qolganlariga esa tekshiriluvchi materiallar yoki antigenning har xil darajada suyultirilgani quyiladi. Agarda moddalar diffuziya bo'ladi va teng miqdorda bo'lgan joyda antigen va antitelalar uchrashadi va xira rangli chiziqlar, ya'ni pretsipitatsiya yoylari hosil bo'ladi (58-rangli rasm). Bu reaksiyadan difteriya qo'zg'atuvchisining zaharli shtammlarini aniqlashda foydalaniladi.

Preseptitatsiya reaksiyasining 20 dan ortiq turlari mavjud bo'lib, probirka ichida, kapillyarlarda, buyum oynachalarida, filtr qog'ozida, atsetat sellyulozali plyonkada, gelda qo'yiladigan PR larga bo'linadi. Shulardan biri flokkulyatsiya reaksiyasi. Bunda antitoksin tutuvchi zardobli probirkaga toksin qo'shilsa, birikma hosil bo'ladi va natijada probirkadagi suyuqlik xiralashadi. Flokkulatsiya reaksiyasi zardob ishlab chiqarishda antitoksik zardoblarning faollik darajasi yoki ta'sir kuchini aniqlashda ishlatiladi. Antitoksik zardoblar ta'sir kuchining o'lcham birligi sifatida xalqaro birlik (XB) qabul qilingan. Xalqaro birlik, bu ma'lum bir miqdordagi toksinni Dlm (dosis letalis minimalis – o'limga olib keluvchi eng kam miqdor) neytrallay oladigan antitoksik zardobning eng kam miqdoridir. Antitoksik zardoblar bir necha marta anatoksin bilan immunizatsiya qilingan hayvonlarning qon zardobidan ajratib olinadi. Olingan zardoblar tozalikka, apirogenlikka (hayvon organizmiga yuborilganda tana harorati ko'tarilmasligi kerak) tekshiriladi. Ularning titrlari in vivo (hayvonlarda) va in vitro (flokkulatsiya) usullari yordamida aniqlanadi.

Klinik immunologiyada ham PR keng qo'llaniladi. Qon zardobi har xil immunoglobulinlarning miqdorini aniqlashda pretsipitatsiya reaksiyasining gelda qo'yiladigan yana bir turi ishlatiladi. Bu usul Ouxterloni va Manchini geldagi immunodiffuziya reaksiyasi deb ataladi (65-rasm).

31-jadval

### PR ning probirkada qo'yilish sxemasi

Ingrediyentlar	Probirkalar				
	1	2	3	4	5
Suyultirilgan antigen	1:100	1:200	1:400	KAg	KAt
Natriy xloridning izotonik suyuqligi (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Tekshirilayotgan ekstrakt (antigen ml 1:50, (0,1; 4,9))	0,5	0,5	0,5	0,5	
Maxsus pretsipitatsiyaga uchratuvchi qon zardob 0,5 ml qoplab tomiziladi					
Diagnostik qon zardob	0,5	0,5	0,5	-	0,5

Reaksiya natijasi 5-10 daqiqa o'tganidan keyin ko'riladi.

**Kontrollar:** Tekshirilayotgan antigen- normal qon zardobi. Diagnostik qon zardobi – natriy xloridning izotonik suyuqligi.

### Immunoferment analiz usuli (IFA)

IFA ko'p jihatlari bilan RIAGA o'xshab ketadi, biroq undan qo'shimcha reagentlar – AG va AT, nishonlangan fermentlar (peroksidaza, ishqoriy fosfataza) qo'llanilishi bilan farqlanadi (59-rangli rasm). Immun kompleks hosil qilingandan so'ng ushbu sistemaga fermentlar bilan boyitilgan substrakt qo'shiladi, bunda muhit sarg'ish (peroksidaza ishtirokida) yoki sarg'ish-yashil (fosfataza ishtirokida) rangga kiradi. Oxirgi yillarda IFA ning turli modifikatsiyalari ishlab chiqilgan. Klinik immunologiya amaliyotida IFA ning qattiq fazali «sendvich» variantidan ko'proq foydalaniladi. IFA bu variantining bevosita va bilvosita usullari ishlab chiqilgan.

**IFA ning bevosita usuli.** Antigen adsorbsiya qilingan (polisterol planshetka) qattiq substratga izlanilayotgan antitela aralashmali zardob qo'shiladi. Agar izlanilayotgan At qon zardobida bo'lsa, Ag bilan maxsus birikadi. Ikkinchi bosqichida antigenga bog'lanmagan At lar ko'p

marotaba yuvish bilan chiqarib tashlanadi. Uchinchi bosqichda esa antigen bilan birikkan antitelaga qarshi ferment bilan nishonlangan antiglobulin (kon'yugat) qon zardobi qo'shiladi. To'rtinchi bosqichda antitela bilan birikkan ferment markyor miqdori aniqlanadi.

**IFA ning bilvosita usuli.** Bu reaksiyaning bevosita usuldan farqi antitela adsorbsiya qilingan (polisterol planshetka) izlanilayotgan Ag bo'lishi ehtimoli bor qon zardobi qo'shiladi. Agar izlanilayotgan zardobda antigen bo'lsa, antitela bilan birikadi va uning ustiga diagnostik qon zardobi qo'shiladi, inkubatsiya qilingandan keyin uni ko'p marotaba yuvib tashlanadi. Ikkinchi bosqichida maxsus antitelani ferment bilan nishonlangan varianti (kon'yugat) qo'shiladi. Agar izlanilayotgan zardobda antigen bo'lsa, ferment bilan nishonlangan kon'yugat antiglobulin antitela bilan birikadi va substrat xromogen qo'shilganda rangi o'zgaradi. Bog'langan kon'yugatning miqdori tekshirilayotgan namunadagi At yoki Ag miqdoriga to'g'ri proporsional bo'ladi.

### **Immunobloting reaksiyasi**

Immunobloting (ing. blot – dog') usuli yuqori darajada sezgirligi bilan ajralib turadi. Antigenni yoki antitelani aniqlashda bir-biriga mos keluvchi ma'lum zardobdan (yoki Ag) foydalanishga asoslangan. OITV infeksiyasi tashxisida qo'llaniladi. Dastlab elektroforezda virus antigenlari maxsus poliakril gel yordamida ajratib olinadi (amaliyotda maxsus olingan reagent qo'llaniladi). So'ngra pretsipitat chiziqlariga maxsus material (nitrotsellyuloza plyonkasi yoki aktivlashtirilgan qog'oz) biriktiriladi va elektroforez davom ettiriladi. Antigen shimdirilgan maxsus materiallar tasmasi amaliyotga chiqariladi. Ushbu tasmalarga bemor qon zardobi qo'shib inkubatsiyalanadi. Agarda Ag ga qarshi antitelalar bo'lsa, bu AT lar tasmada joylashgan o'zi uchun maxsus Ag bilan birikib, dog' hosil qiladi.

AT lar fermentlar va maxsus substrat bilan nishonlangan yoki o'zgaruvchi bo'yoq bilan birikkan bo'lganligi sababli hosil bo'lgan Ag+At kompleksi elektroforez plyonkasida ajralib turadi (60-rangli rasm).



**18-MAVZU. IMMUN ORGANLAR. T VA B LIMFOTSITLAR  
SISTEMASI VA ULARNING SUBPOPULYATSIYALARI, ULARNING  
ORGANIZMDAGI IMMUN REAKSIYALARDAGI AHAMIYATI.  
IMMUN TIZIMGA BAHO BERISH USULLARI**

**Mashg'ulot rejasi**

1. Immun tizimning T-sistemasini baholash usullari.
2. Immun tizimning B-sistemasini baholash usullari.
3. Organizmning maxsus sezuvchanligini baholash usullari.

**Namoyish qilish**

1. Makrofaglar migratsiyasini to'xtatish testi, olingan rasm va natijalar.
2. T-limfotsitlarning miqdori boshqaruvchi subpopulyatsiyalari-T-supressor va T-xelperlarni CD4 va CD8 antitelalar bilan oqib o'tuvchi sitoflyuorimetriya usulida aniqlashning sxema, rasmlari.
3. B-limfotsitlarning funksional aktivligini (LPS mitogeni bilan B- blast transformatsiya usuli va immunoglobulinlar G, M, A, E, D qon zardobidan, immunoglobulinlar sintezini in vitro) aniqlash sxemasi, rasmlari.

**Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Periferik qondan limfotsitlarning toza populyatsiyasini gradiyent zichlik orqali ajratib olish.
2. Periferik qondagi T-limfotsitlarning nisbiy va absolyut miqdorini aniqlash uchun, E-ROK va monoklonal antitelalar bilan (CD3, CD4, CD8) bilvosita rozetka hosil qilish usullarida qo'yilib tayyorlangan surtmalardan T-limfotsitlarni sanash va natijalash.
3. Periferik qondagi B - limfotsitlarni nisbiy va absolyut miqdorini aniqlash uchun, EM-ROK va monoklonal antitelalar bilan (CD19, CD20) bilvosita rozetka hosil qilish usullarida qo'yilib tayyorlangan surtmalardan B-limfotsitlarni sanash va natijalash.
4. Periferik qondagi TK-limfotsitlarni nisbiy va absolyut miqdorini aniqlash uchun monoklonal antitelalar bilan (CD16) bilvosita rozetka hosil qilish usullarida qo'yilib tayyorlangan surtmalardan TK-limfotsitlarni sanash va natijalash.
5. Radial immunodiffuziya usulida qon zardobi tarkibidagi asosiy (IgM, IgG, IgA) aniqlash.

**Metodik ko'rsatma**

Tirik mavjudotlarda immunitet evolyutsiyasi o'rtacha 500 million yildan beri shakllanib kelmoqda. Tabiatning bu mo'jizasi o'zining tabiiy uyg'unligi, maqsadga muvofiqligi bilan ajralib turadi. Turli yo'nalishda olib borilgan ilmiy izlanishlar bizga immunitetning qonuniyatlarini va uning funksional xususiyatlarini ochib berdi va "Tibbiyot immunologiya" sini shakllantirdi.

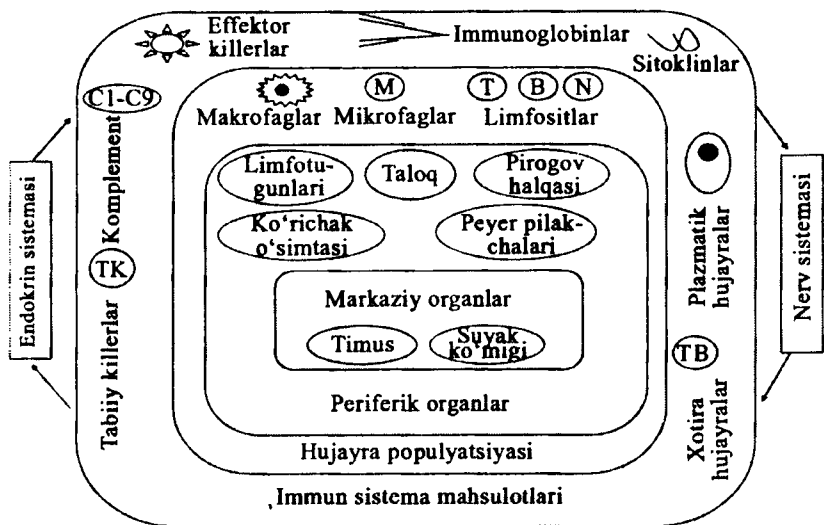
Yildan-yilga jadal rivojlanayotgan tibbiyotning bu yo‘nalishida ko‘plab kashfiyotlar qilinmoqda. Afsuski hozirgi kunga qadar biz uchun asosiy bo‘lgan immun sistema nima uchun kerak, degan savolga to‘liq javob olingani yo‘q. Mantiqiy qaraganda, immunitet bizni yuqumli kasallik agentlaridan – bakteriya, virus, sodda jonivor, zamburug‘lardan va organizm uchun begona bo‘lgan har qanday genetik omillardan himoya qiladi. Lekin nima uchun immunitetga o‘ta yuqori darajadagi maxsus aniqlash tizimi zarur, ya‘ni antigen begonaligini aniqlashdan tashqari, oqsil strukturasi va uning tarkibidagi aminokislotalar ham maxsus aniqlanishdan chetda qolmaydi. Immun sistemaning bu o‘ta maxsus “sezgirligi” shuning uchun zarur ekanki, immunitet, birinchi navbatda, organizmni “o‘ziniki” yoki to‘g‘rirog‘i “begona” bo‘lgan “o‘ziniki” dan himoya qilar ekan. Chunki bizning organizmimizda har kuni millionlab mutant hujayralar hosil bo‘ladi va bular ko‘plab defektli biomolekulalar sintez qilinishi oqibatida organizmdagi moddalar almashinuvini tormozlashi va eng xavflisi bu mutantlar o‘sma hujayralariga aylanishi mumkin.

Yuqoridagi aytilganlardan kelib chiqib, hozirgi kunda immun sistemaning asosiy vazifasi – organizmning ichki strukturasi tozaligini, ya‘ni gomeostazning doimiyligini saqlashdan iboratdir, deb tushuniladi.

Inson organizmi oldiga qo‘yilgan bu o‘ta murakkab vazifani immun sistema amalga oshiradi. Shuning uchun bu sistema organizmning hamma to‘qima, suyuqliklari va ularning tarkibi, hujayralarga kira olish xususiyatiga ega bo‘lishi zarur. Odam immun sistemasi limfatik va qon sistemasi birlashishidan tashkil topgan (61-rasm).

Markaziy organ-ayrisimon bez (timus), suyak ko‘migi va periferik organlar – taloq, limfatik tugun, Peyer pilakchasi va limfoid yig‘ilmalarda limfotsitlarning ko‘payishi va shakllanishi ro‘y berib turadi. O‘z navbatida, suyak ko‘migi o‘zak hujayralarning paydo bo‘lish manbasi bo‘lib, bu hujayralardan immunokompetent hamma hujayralar (T va B limfotsitlar, fagotsitlar, tabiiy killerlar va boshqa hujayralar) shakllanadi.

Taloq qonni, limfatik tugunlar esa to‘qima suyuqligi va limfani filtrlaydi. Shuning uchun organizm suyuqliklarida paydo bo‘lgan har qanday “begona” biomolekulalar darhol aniqlanadi va ular organlarda neytralizatsiya qilinadi. Bu jarayonda fagotsitlar, normal antitela, komplement, monooksidaza sistemasi fermentlari va boshqa faktorlar qatnashadi. Agar organizmga antigenlar ko‘p miqdorda tushsa, yana ular ko‘paysa, (infeksion agentlar, o‘sma hujayralari), nospetsifik himoya sistemasini kurashishga kuchi yetmasa, bu jarayonga organizmda maxsus himoya sistemasidagi yuqori maxsuslikka ega bo‘lgan limfotsit va



61-rasm. Immun sistemaning struktura va funksional tuzilishi

makrofaglar qo'shiladi, ularning javob reaksiyalari mahsuloti maxsus antitelalar, killer limfotsitlar, effektor limfotsitlar, sitokinlar va boshqa organizmning yallig'lanish reaksiyalari bo'lishi mumkin. Begona antigenlar organizmda tugatilgandan so'ng, immun javob sustlashadi, lekin limfoid xotira hujayralarda bu antigenlarni antigen xususiyatlari (determinanti) saqlanib qoladi. Agar shu antigen organizmga qaytadan tushsa, immun javob oldingi javobdan bir qancha kuchli va tez ro'y beradi.

Shunday qilib, maxsus javobda immun sistemaning asosiy hujayralari makrofag va limfotsitlar ekan.

Organizmdagi limfotsitlarning hamma populyatsiyasi T-, B va "nol" limfotsitlarga va bular o'z navbatida 3 ta hujayra asosidagi sistemasiga bo'linadi. Bunday bo'linishlar hujayralarning kelib chiqishi, funksional farqlari va retseptor apparatlari asosida qilingan.

**T-limfotsitlar sistemasi** timus va limfoid organlarning timusga aloqador zonasidan iborat bo'lib, ko'payotgan va shakllanayotgan T-limfotsitlar tutadi. Timus – bu sistemaning asosiy organi hisoblanadi. Timusda o'zak hujayralardan T-limfotsitlar shakllanadi. Timusda maxsus hujayralar (epitelial enaga, dendrit) va timus gormonlari ishtirokida bu limfotsitlar shakllanib, turli funksiyalar bajaruvchi T-limfotsitlar subpopulyatsiyasiga aylanadi.

Bularning ko'pchiligi T-xelper nomini olishgan (ing.so'z to help – yordam berish). Bu limfotsitlar B- limfotsitlarni antitela sekret qiluvchi va T -effektor hujayralar shakllanishiga yordam beradi. Ikkinchi guruh limfotsitlar T-supressor deb nomlanadi (ing.so'z to suppress – bosuvchi) immun javobni bosib turadi, ya'ni immun javobni antigenga qarshi kuchi va muddatini boshqaradi. Uchinchi guruh limfotsitlari T-killer (ing.so'z to kill-o'ldiruvchi) deb nomlangan. 4-guruh-T-effektorlar hisoblanadi. Bu limfotsitlar birlamchi (predshestvenniki) hujayralar bo'lib, timusda shakllanib, uni tashlab chiqadi va qon orqali organizmdagi hamma limfoid organlardagi timus zonasiga boradi va antigen ta'sirida effektor hujayralarga aylanadi. T-limfotsitlar va ularning subpopulyatsiyalari organizmda hujayra tipidagi immun javobni shakllantiradi. Timusni tashlab chiqqan T-limfotsitlar doimo uning ta'sirida bo'ladi, chunki timusda ishlab chiqarilayotgan bir qator boshqaruvchi peptidlarga nisbatan bu limfotsitlarda retseptorlar mavjud.

**B-limfotsitlar** – markaziy organi suyak ko'migi (SK) hisoblanadi. SK da B-limfotsitlar shakllanadi va qon bilan organizmdagi hamma limfoid organlardagi B-zonasiga boradi va bu yerda antigen ta'sirida antitela sintez qiluvchi plazmatik hujayralarga aylanadi. B-limfotsitlar organizmda gumoral immun javobni shakllantiradi.

**“Nol” limfotsitlar** – bunday nomlanishni T va B-limfotsitlarga nisbatan alternativ qilib olingan. Bular ham SKda shakllanadi va butun organizmdagi limfoid organ va to'qimalarga tarqaladi.

Ularning asosiy qismini tabiiy killerlar tashkil qiladi va organizmda juda muhim bo'lgan funksiyalarni (o'sma, virus bilan zararlangan hujayralarni o'ldiradi) bajaradi. Vaholanki, bu jarayon juda qisqa – 4 soat ichida amalga oshiriladi. Ikkinchi qator “nol” limfotsitlarga K-hujayralar kiradi, ularning birinchi tip hujayralaradan farqi, begona hujayralarni antitela yordamida topadi (membranasida antitelani, Fc fragmentiga nisbatan retseptor mavjud) va yo'q qiladi.

**Makrofaglar** – immun javobda qatnashuvchi asosiy hujayralardan biri hisoblanadi. Makrofaglar antigenni faqat fagotsit qilibgina qo'ymay, uning asosiy antigen xususiyatlarini aniqlab, bu o'ta muhim informatsiyani T-xelper va B – limfotsitlarga yetkazadi va immun javobni hujayralararo kooperatsiyalarida qatnashadi. Shuning uchun makrofaglarni antigen prezentant hujayralar (antigenni namoyish qiluvchi) deb ham ataladi.

Immun yallig'lanish reaksiyalarini ko'plab sitokinlar boshqaradi va qaysi hujayralar ishlab chiqarilishiga qarab interleykinlarga (IL 1 -16),

monokinlarga va limfokinlarga bo'linadi. Biologik aktivligiga qarab hamma sitokinlar 3 ta guruhga bo'linadi:

1. Yallig'lanish jarayonlarini boshqaruvchi – sitokinlar. Bularga IL-8, Pf-4 (trombotsitar faktor), MIP-1a (makrofagal yallig'lanish oqsili), MRS-1(makrofagal xemotoksik faktor), RD-GF (trombotsitar o'sish faktori), IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CSF, TGF- $\beta$  (transformatsiyalovchi o'sish faktori).

2. Asosiy sitokinlar – antigenspetsifik “hujayra” tipidagi immun javobni boshqaruvchi. IL-1, IL-6, INF- $\gamma$ , IL-12, TGF-  $\gamma$ , IL-10.

3. Asosiy sitokinlar – antigenspetsifik “gumoral” tipidagi immun javobni boshqaruvchi. IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, INF- $\gamma$ , TGF-  $\gamma$ .

Sitokinlar ta'siri organizmdagi fiziologik, patofiziologik reaksiyalar bilan uzviy bog'liqdir. Bu esa organizmning lokal va sistemali himoya mexanizmlarini modulyatsiya qiladi. Sitokinning asosiy vazifasi organizmning patogen agentga nisbatan immun, endokrin, nerv va yallig'lanish sistemalari ishini muvofiqlashtirishga qaratilgandir.

### **Immun tizimga baho berish usullari**

Tibbiyotda immunologiyaning fan sifatida shakllanishi odam immun tizimiga baho berishning maxsus usullari ishlab chiqilishi bilan uzviy bog'liqdir. Oxirgi yillarda Butun dunyo sog'liqni saqlash tashkiloti (BSST) immunologlar oldiga bir necha bor immun tizim faoliyatidagi buzilishlarni aniqlashda qator vazifalar qo'ygan. Buning natijasida aniq takliflar vujudga keldi va BSST ma'ruzalarida o'z aksini topdi.

Odam immun tizimining faoliyatini to'laqonli funksional baholash to'g'risida ma'lumot olish quyidagicha rejalashtirilib o'rganiladi: T-sistema va B-sistema limfotsitlar; tabiiy killerlar; organizm to'qima, kasallik qo'zg'atuvchilarni antigenlariga qaratilgan maxsus hujayra va gumoral reaksiyalar; rezistentlik faktorlari, inteleykinlar, interferonlar. Odam immun sistemasi faoliyatiga baho berish quyidagi gruppalariga bo'linadi:

- aylanib yuruvchi umumiy T-limfotsitlarni aniqlash (qo'y eritrotsitlari bilan E-rozetka hosil qilish, anti-T - zardob bilan sitotoksik test, oqib o'tuvchi sitoflyuorimetriya yoki immunomagnit marjon qo'llash orqali CD3, CD11 markerlarni registratsiya qilish);

- F GA va Kon-A yordamida T- limfotsitlarni mitogenlik aktivligini blast transformatsiya usulida aniqlash:

- T-limfotsitlarni miqdori boshqaruvchi subpopulyatsiyalari-T-supressor va T-xelperlarni (IgG va IgM immunoglobulinlarni eritrotsitlarga

adsorbsiya qilinib, rozetka hosil qilish, CD4 va CD8 antitelalar bilan oqib o'tuvchi sitoflyuorimetriya usuli) aniqlash;

- B- limfotsitlarning aktivligi va miqdorini aniqlash (EAC –ROK, antiglobulin antitela bilan immunoflyurestsentsiya, EM-ROK va , CD19 va CD20 antitelalar bilan oqib o'tuvchi sitoflyuorimetriya usuli);

- B -limfotsitlarning funksional aktivligini aniqlash (LPS mitogeni bilan V- blast transformatsiya usuli va immunoglobulinlar G, M, A, E, D qon zardobidan, immunoglobulinlar sintezini in vitro);

- killer reaksiyalari yordamida tabiiy killerlarning funksional aktivligini aniqlash;

- antigenga qarshi hujayra effektor reaksiyalari (migratsiyani ingibitsiya qiluvchi faktor, T-limfotsitlarni killer aktivligini, antigen bog'lovchi limfotsitlarni, antigen yordamida T-limfotsitlarni o'stirish orqali blast transformatsiya usulida aniqlash);

- o'ta sezgirlikning tez va sekin-asta yuzaga chiquvchi reaksiyalari intensivligiga baho berish;

- turli antigenlarga (to'qima va kasallik qo'zg'atuvchilari) qarshi antitelalarni aniqlash orqali gumoral effektor reaksiyalarni o'rganish;

- rezistentlik faktorlarini o'rganish (fagotsitoz, qon zardobini komplementar aktivligi, semiz hujayralarning funksional aktivligi, cozinofillar, bazofillar);

- sitokin va ularga nisbatan eruvchan retseptorlarni aniqlash (interleykinlar, interferonlar);

- immunogistologik tekshiruvlar;

- immunogenetik antizardob yoki zanjirli polimeraza reaksiyasi orqali tekshiruvlar (HLA);

- genotipik va fenotipik tiplarini, zardob oqsillari allotipini, immun sistemaning genotipik nuqsonlarini aniqlash.

Yuqorida keltirilgan yondashuvlar immun tizim faoliyatiga va uning funksional holatiga to'liq baho bera oladi. Ammo shuni aytish lozimki, keltirilgan usullarni to'liq qo'llab, odam immun tizimiga baho berish klinik amaliyotda deyarli mumkin emas. Shuning uchun Rossiya olimlari R.V. Petrov boshchiligida immunologik usullarni o'rganib chiqib, ularni bajarish murakkabliklarini hisobga olgan holda immun tizimga baho berish testlarini ikkita darajaga bo'lishgan.

I daraja – dastlabki baho, II darajada esa immun tizimga chuqurlashgan tekshirish orqali baho beriladi.

Immunologik tekshiruvlarning I darajasi immun tizimga quyidagi usullarda baho beradi:

- 1) periferik qondagi limfotsitlarning nisbiy va absolyut miqdoriga baho berish;

2) T va B limfotsitlarning nisbiy va absolyut miqdoriga E va EM – rozetka hosil qilish testlari orqali aniqlash;

3) qon zardobi tarkibidagi asosiy immunoglobulinlar klassi (G, M, A) miqdorini aniqlash;

4) neytrofillarning fagotsitar aktivligini o'rganish.

Agar I darajali dastlabki baho berishda immun tizimda kamchiliklar kuzatilsa, maxsus laboratoriyalarda II darajadagi immunologik tekshiruvlar o'tkaziladi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

T va B limfotsitlarga baho berishda tekshiruv obyekti limfotsitlar hisoblanadi. Shuning uchun limfotsitlarning toza populyatsiyasini ajratib olish muhim ahamiyatga ega.

Limfotsitlarni fikol-verografin zichligi gradiyentida ajratib olish.

1. Tekshirish uchun tirsak venasidan qon (2-5 ml), ivib qolmasligi uchun geparin (25 birl/ml) qo'shilgan probirkaga olinadi. Olingan geparinli qonni 199 muhitda 2-3 marotaba suyultirish mumkin.

2. Geparinli qon probirkaga olingan (1-1,5 ml) fikoll-verografin zichligi gradiyentiga (1,077) sekin-asta probirka devori bo'ylab qatlamlashtiriladi. Gradiyent zichlik bilan qon o'rtasidagi nisbat 1:3 teng bo'lishi kerak.

3. Probirka 1500 ayln/daq, 30 daqiqa sentrifuga qilinadi.

4. Halqa hosil qilib interfazada qolgan limfotsitlarni Paster pipetkasi bilan olinib, ikki marotaba 199 muhitida 800 ayln/daq. 10 daqiqa sentrifugada yuviladi.

Limfotsitlar Gorayeva kamerasida sanaladi va ularning konsentratsiyasi 1 ml da 2 mln. hujayraga yetkaziladi (62-rangli rasm).

Limfotsitlarni ishlatishdan oldin ularni yashash faoliyati o'rganiladi. Buning uchun limfotsit suspenziyasi Paster pipetkasida buyum oynasiga bir tomchi olinib, uning ustiga 1% tripan ko'ki eritmasi tomiziladi va ustiga yopqich oynacha qo'yilib, 2-3 daqiqadan keyin mikroskopda limfotsitlar 100 tagacha sanab chiqiladi (o'lgan limfotsitlar ko'k rangga bo'yaladi). Tirik limfotsitlar 95% kam bo'lmasligi kerak.

**T-limfotsitlarni qo'y eritrotsitlari bilan E-rozetka hosil qilish usuli yordamida aniqlash.**

1. 0,1 ml limfotsit aralashmasiga 0,1 ml 1% qo'y eritrotsitlari qo'shiladi, aralashma 5 daqiqa 37°C termostatga qo'yiladi, so'ng 800 ayln/daq., 5 daqiqa sentrifuga qilinadi va 0-4°C muzlatkichda 30-60 daqiqa saqlanadi.

2. Cho'kmaning ustki qismidagi suyuqlik Paster pipetkasi bilan sekin so'rilib tashlanadi, aralashma o'ta ehtiyotkorlik bilan probirkada aralashtiriladi va 2,5% sovutilgan glyutar-aldegid qo'shiladi, ya'ni oxirgi

konsentratsiyasi 0.6% bo'lgunga qadar. Xona temperaturasida 10 daqiqa saqlanadi.

3. Cho'kmadan preparat-surtma tayyorlanib, metil spirtida 10 daqiqa fiksatsiya qilinadi. Surtma Romanovkiy-Gimza usulida bo'yaladi.

4. Surtma yorug'lik mikroskopida (immersion) ko'riladi, 100-200 tagacha limfotsitlar sanaladi. Rozetka hosil qiluvchi T-limfotsit deb uchta va undan ortiq qo'y eritrotsitlarni o'ziga biriktirib olgan limfotsitlarga aytiladi (63-rangli rasm). Sog'lom odamlarda T-limfotsitlarning bu populyatsiyasi 50- 70 foizni tashkil qiladi.

#### **B- limfotsitlarni EAC-rozetka usulida aniqlash**

Bu usul odam qonidagi B-limfotsitlarni aniqlashdagi eng oddiy usullardan biri hisoblanadi. B-limfotsitlar membranasida komplementning C3 fraksiyasiga retseptor mavjud, reaksiya shu komplementni B-limfotsitlar tomonidan biriktirib olishga asoslangan. B-limfotsitlar C3 komplementni biriktirib olsa, reaksiya ko'zga ko'rinmaydi. Reaksiya ko'rinishi uchun komplement eritrotsitlarga adsorbtsiyalanadi.

Komplementning eritrotsitar antitela kompleksini tayyorlash.

a) odam eritrotsitlari (I-gruppa va rezus manfiy) uch marotaba 199 oziqli muhitda sentrifugada yuviladi(1000 ayn/daq.).

b) yuvilgan eritrotsitning 2,5% aralashmasidan 2 ml olinadi va subaglyutinatsiyagacha nisbatan suyultirilgan quyonning qon zardobi teng miqdorda qo'shiladi va 30 daqiqa 37°C termostatda saqlanadi.

v) aralashmaga 0,1 ml sichqonning normal qon zardobidan tomiziladi (komplement manbasi) va 30 daqiqa yana termostatda saqlanadi.

g) aralashma bir marotaba 199 oziqli muhit bilan 800 ayn/daq., 5 daqiqa sentrifugada yuviladi. Komplement biriktirilgan eritrotsitning 1 ml dagi miqdori  $100 \times 10^6$  ga yetkaziladi.

**EAC-rozetkani qo'yish.** 0.1 ml limfotsit aralashmasiga 0,1 ml 1% komplement biriktirilgan eritrotsitlar qo'shiladi, aralashma 5 daqiqa 37°C termostatga qo'yiladi, so'ngra 800 ayn/daq., 5 daqiqa sentrifuga qilinadi va 0-4°C muzlatkichda 30-60 daqiqa saqlanadi. Qolgan bosqichlari T-limfotsitlarni aniqlash kabi qo'yiladi. Komplement biriktirilgan eritrotsitlar komplementga retseptor bo'lgan B- limfotsitlarga tanlab birikib, rozetka hosil qiladi. Sog'lom odamlarda B-limfotsitlarning bu populyatsiyasi 15-25% tashkil qiladi.

Oxirgi yillarda limfotsitlar tarkibidagi maxsus antigen determinantlarga qarshi monoklonal antitelalar (mAT) ishlab chiqarilmoqda. Bulardan CD (klaster differensirovki) differensiyalanovchi monoklonal antitelalar kolleksiyasi bo'lib, limfotsitlar membranasidagi maxsus biomolekula markerlarni aniqlaydi. Bu mAT yordamida oqib o'tuvchi



sitoflyuorimetriya yoki flyuroxrom bilan nishonlangan AT bilan immunoflyuorissensiya usulida T va B limfotsitlar, ularning subpopulyatsiyalarini aniqlash yo'liga qo'yilgan. Lekin shuni aytish zarurki, yuqorida keltirilgan usullarni qo'llash uchun laboratoriyalarda maxsus apparaturalar va reaktivlar zarur. Oxirgi yillarda vatanimiz olimlari tomonidan monoklonal antitelalar yordamida bilvosita rozetka hosil qilish usuli yordamida T-, B va tabiiy killer hujayralariga baho berish yo'liga qo'yilgan.

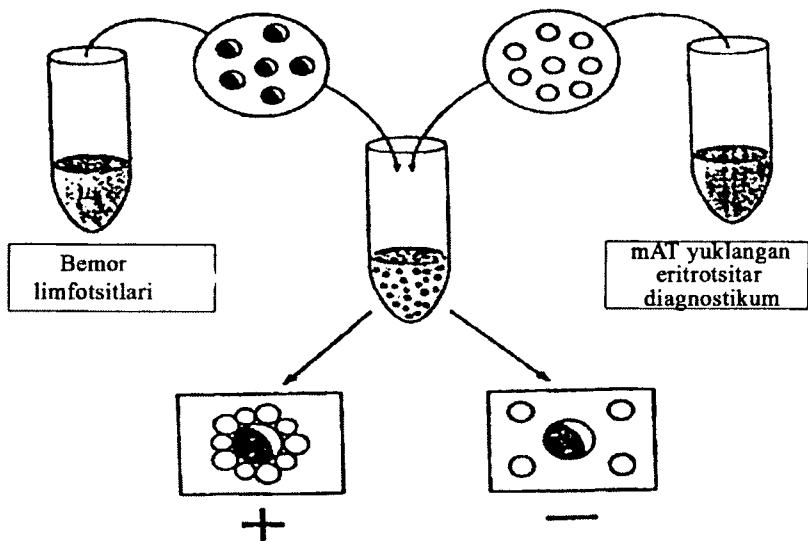
### **Immunokompetent hujayralarni monoklonal antitelalar bilan bilvosita rozetka hosil qilish usulida aniqlash.**

Usulning mohiyati shundan iboratki, limfotsitlar monoklonal antitela retseptori bo'lsa, yuzasida mAT bo'lgan eritrotsitlarni biriktirib, rozetka hosil qiladi. Bu usul o'zining oson qo'yilishi, yetarli maxsusligi bilan ajralib turadi va klinik laboratoriyalarda keng qo'llanib kelinmoqda. Hozirgi kunda ko'proq quyidagi immunkompetent limfotsit hujayralarning markerlari mAT lar bilan aniqlandi. CD3 – T-limfotsitlar, CD4 – xelper/induktorlar, CD8 – T supressor/tsitotoksik limfotsitlar, CD19 – B-limfotsitlar, CD16 – tabiiy killerlar. Qo'llanilayotgan usulda OOO Sorbent, Rossiya (Moskva) ishlab chiqargan monoklonal antitelalardan foydalanish mumkin.

### **Immunokompetent hujayralarni aniqlash uchun mAT li eritrotsitar diagnostikumlar tayyorlash.**

T-limfotsitlarni (CD3) eritrotsitar diagnostikumi quyidagi usullarda tayyorlandi. 1% odamni I (0) guruh Rh(-) eritrotsitlariga (0,1ml) 5mkl monoklonal antitela va ustiga 50 mkl 0,3% xlorid xrom eritmasi qo'shildi. Hosil bo'lgan suspenziya 5 daqiqa silkitib turilib, uch marotaba sentrifugada 1500 ayn/daq. fiziologik eritmada yuviladi. So'ngra suspenziya 5 daqiqa 1% albumin eritmasida (nospetsifik reaksiyalarning oldini olish uchun) inkubatsiya qilinib, 2 marotaba fiziologik eritmada sentrifugada 1500 ayn/daq. qayta yuviladi va eritrotsitar diagnostikumning ishchi konsentratsiyasi 2,5% yetkaziladi. Shunday usulda CD4 – xelper/induktorlar, CD8 – T supressor/sitotoksik limfotsitlar, CD19 –  $\beta$ -limfotsitlar, CD16 – tabiiy killerlar o'zlariga mos monoklonal antitelalar qo'llanilib tayyorlanadi.

Har bir limfotsitlarga baho berish quyidagicha amalga oshiriladi. Limfotsitlar ishchi suspenziyasi va har bir tayyorlangan monoklonal antitelali diagnostikumdan 0,1 ml olinib, aralashtirildi va 800 ayn/daq. sentrifuga qilinib, 1 soat muzlatkichda saqlanadi. Suspenziya sekin-sekin silkitib, resuspenziya qilinadi va rozetkalar stabil bo'lishi uchun 2,5% gulitar aldegid eritmasi tomizilib, cho'kmadan surtma tayyorlanadi.



64-rasm. Immunokompetent hujayralarni mAT yuklangan eritrotsitar diagnostikum bilan bilvosita rosetka hosil qilish usuli bilan aniqlashning sxematik ko'rinishi.

fiksatsiya qilinib, bo'yaladi va mikroskopda sanaladi. Bu usulda ham limfotsitlar o'z atrofida 3 yoki undan ko'p eritrotsitlarni biriktirib olsa, rosetka deb hisoblanadi. Umumiy limfotsitlar 100 dan 200 gacha sanaladi. Immunokompetent hujayralarni mAT yuklangan eritrotsitar diagnostikum bilan bilvosita rosetka hosil qilish usuli orqali aniqlash sxemasi 64-rasmda keltirilgan.

**Immunokompetent hujayralarning** absolyut ko'rsatkichlari quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi.

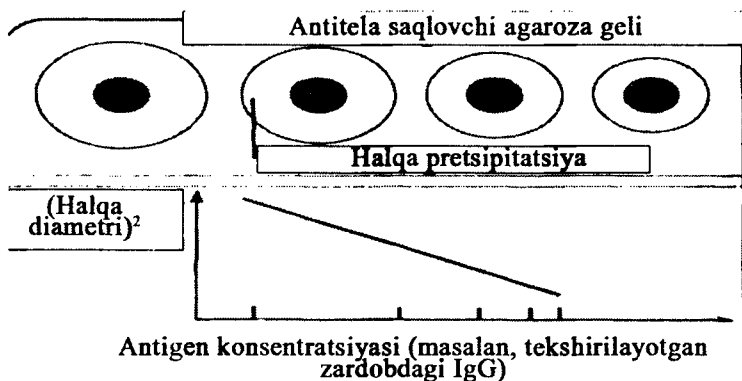
$$X = \frac{A \times B}{100}$$

Bu yerda: A- 1 mkl qondagi leykotsitlar miqdori

B- limfotsitlarning nisbiy miqdori, %

Masalan, 1 mkl qonda leykotsitlarning miqdori 6200, limfotsitlar 28%  
 $6200 \times 28 : 100 = 1736$  ya'ni 1 mkl qonda 1736 ta limfotsitlar bor ekan.

Shu formula orqali T va B limfotsitlarning absolyut miqdorini aniqlash mumkin, formuladagi leykotsitlar o'rniga limfotsitlarning absolyut miqdori va nisbiy miqdori o'rniga T yoki B limfotsitlarning nisbiy miqdori qo'yiladi. Masalan, T - limfotsitlar periferik qonda 57% topildi, uning

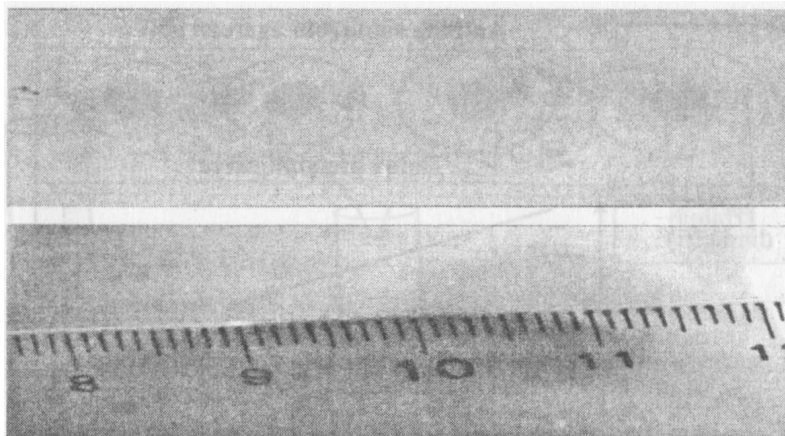


65-rasm. Radial immunodiffuziya usulida qon zardobi tarkibidagi immunoglobulinlarni aniqlash

absolyut miqdori  $1736 \times 57 : 100 = 989$  l mkl ga teng. Qolgan limfotsitlarning absolyut miqdori ham shunday usulda hisoblab topiladi.

**Radial immunodiffuziya usulida qon zardobi tarkibidagi asosiy IgM, IgG, IgA aniqlash.** 45-50°C gacha sovutilgan agarozali gelga ma'lum konsentratsiyada IgM, IgG yoki IgA ga qarshi immun zardob qo'shiladi va oyna yuzasiga quyiladi, qotgandan so'ng unda chuqurchalar qilinadi. Tekshirilayotgan zardob suyultirilib, har bir suyultirilgan namunalardan chuqurchalarga tomiziladi. Agarga shimilgan immunoglobulinlar globulinlarga qarshi antitelalar bilan pretsipitatsiya halqasini hosil qiladi (65-rasm). Pretsipitatsiya halqasining diametri qon zardobi tarkibidagi immunoglobulinlarning konsentratsiyasiga to'g'ri proporsional. Qon zardobidagi immunoglobulinlar ko'rsatkichi immun tizimdagi B-limfotsitlarning funksional aktivligini bildiradi.

**Teri-allergik sinamasini qo'yish va baholash.** Maxsus individual sensibilizatsiyani (sezuvchanlikni) aniqlash uchun sil, brutsellyoz va boshqa allergenlarni tirnab teriga kiritiladi (66a-rasm, yuqorida) va teri orasiga (66b-rasm, pastda) qo'yiladi. Masalan, Mantu reaksiyasini qo'yishda, tuberkulin shprisi bilan teri orasiga tuberkulinning ma'lum konsentratsiyasi yuboriladi. Reaksiya 24-48 soatdan so'ng qizarish darajasiga ko'ra aniqlanadi. Sinama yuborilgan joyda qizarish (papula) yoki infiltratning kattaligi 5 mm bo'lsa +, 1 sm gacha ++, 1 sm va undan katta +++ bo'lsa reaksiya musbat hisoblanadi hamda vezikulalar va limfangitlar borligi bilan ham aniqlanadi (66-rasm). Yuqumli va boshqa allergik kasalliklarda teri-allergiya sinamasi qo'yiladi. Allergik sinamalar



66-rasm. Skarifikatsion allergik teri sinamasi (yuqorida). Mantu reaksiyasi (bilakning ichki yuzasi teri orasiga tuberkulin yuborilgan (pastda).

ko'pincha bilakning ichki yuzasiga skarifikatsion (allergenni tirnab teriga kiritish) yo'l (66a-rasm, yuqorida) va teri orasiga (66b-rasm, pastda) qo'yiladi.

## **19-MAVZU. IMMUNOPROFILAKTIKA VA IMMUNOTERAPIYA**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Immunoprofilaktika va immunoterapiyaning hozirgi zamon asoslari.
2. Immunoprofilaktik va immunoterapevtik preparatlar.
3. Vaksinalar olinishi va qo'llanilishi.
4. Immunoprofilaktik va immunodiagnostik preparatlar, olinishi va ishlatilishi.
5. Immunoterapevtik preparatlar, olinishi va ishlatilishi.

### **Namoyish qilish**

1. Vaksinalar, anatoksinlar, immunoglobulinlar va immunozardoblar turlari bo'yicha naborlar. Ad'yuvantlar. Sxemalar, rasm va rangli albomlar, slaydlar, videoroliklar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Stafilokokk autovaksinasini tayyorlash.
2. Ma'lum toksin bilan antitoksinli zardob kuchini, toksinni antitoksin bilan neytrallashtirish (flokulyatsiya) reaksiyasi yordamida aniqlash.

Immunoprofilaktika deb, yuqumli kasalliklarni oldini olish maqsadida immun (vaksina, zardob) preparatlarni qo'llash usullariga aytiladi. Immunoterapiya deb, davolash maqsadida immun preparatlarni (AT, INF, sitokinlar va boshqa) qo'llash usullari tushuniladi. Insoniyat 100 yillar davomida emperik ravishda yuqumli kasalliklarga qarshi kurashib kelgan (chinchechak, o'lat, vabo). Immunoprofilaktikaning ilmiy asosini fanga L. Paster olib kirdi. U birinchi bo'lib mikroorganizmlarni turli faktorlar ta'sirida kuchsizlantirish (attenuatsii) mumkinligini kashf qildi va buni ilmiy darajada asoslab kuydirgi, qutirish kasallariga qarshi vaksina oldi. Butun immun sistemaga ta'sir qiluvchi qo'llaniladigan preparatlarni immunobiologik preparatlar deb yuritiladi. Bularga kelib chiqishi, tabiati va qo'llanilishi jihatidan quyidagi preparatlar kiradi:

1. Bakteriyalardan olinadigan immunoprofilaktik va immunoterapevtik preparatlar (masalan, vaksinalar, bakteriofaglar, eubiotiklar, anatoksinlar).

2. Immunoterapevtik preparatlar (masalan, immunoglobulinlar, antitoksinlar, sitokinlar).

3. Diagnostik immun preparatlar (masalan, antizardoblar) hamda diagnostik bakteriofaglar va allergenlar.

4. Immunomodulyatorlar (ko'plab sintetik preparatlar, tabiiy biostimulyatorlar).

Immunobiologik preparatlar odam organizmiga aktiv, passiv, maxsus va nomaxsus ta'sir qilishi mumkin.

Aktiv ta'siri deganimizda, preparatlar immun tizim reaksiyasini keltirib chiqara olishi tushuniladi. Bunday xususiyatga asosan tirik, o'ldirilgan mikroblardan tayyorlangan vaksinalar va anatoksinlar ega bo'ladi.

Passiv ta'siri deganimizda, preparatlarning effekti asosan immunokompetent hujayralarni effektor mahsulotlarini kuchaytirishga qaratiladi. Bunday ta'sirga sitokinlar va boshqa immunobiologik preparatlar egadir.

Maxsus ta'siri, ma'lum bir aniq yuqumli kasallikdan himoya qilishda qo'llaniladigan (masalan, silga, qizamiq, qoqshol anatoksin zardobi va boshqalar) preparatlar.

Nomaxsus ta'siri, ya'ni preparatlar tanlamasdan immun tizimni, immunokompetent hujayralarni aktivlashtirishi mumkin. Bunday ta'sirga immunomodulyatorlar va biostimulyator preparatlar egadir.

## Vaksinalar

**Vaksinalar** – immunobiologik preparatlar bo‘lib, aktiv immunoprofilaktik maqsadda qo‘llaniladi, ya‘ni aniq yuqumli kasallikka nisbatan organizmni berilmaslik xususiyatini shakllantiradi. Vaksina preparatlari BSB tomonidan yuqumli kasalliklarni oldini olishda ideal usul deb tan olingan. Vaksinalar quyidagi ko‘rinishlarda olinadi:

- bakteriya va viruslarning mukammal tanasidan (tirik va o‘ldirilgan);
- bakteriya va viruslarning alohida antigenlarini ajratib olish (ko‘proq protektiv antigenlar, Vi-Ag qorin tifida, HBs-Ag gepatit B virusida) orqali;
- mikroorganizmlar toksinlaridan (anatoksinlar, qoqshol, gazli gangrena, bo‘g‘ma);
- mikroorganizmlar Ag ni sun‘iy sintez qilish orqali;
- genli injeneriya usullarida olingan vaksinalar.

Tirik vaksinalar virulentlik xususiyati butunlay pasaytirilgan, lekin immunogenlik xususiyatlari saqlab qolingan mikroorganizmlardan tayyorlanadi (kuydirgi, brutsellyoz, poliomyelit, Ku –isitmasi, gripp, qizamiq, parotit va boshqalar).

**Divergent vaksinalar** tirik vaksinalar bo‘lib, patogen bakteriyalarga yaqin bo‘lgan boshqa avlod mikroorganizmlardan foydalaniladi. Bu bakteriyalarning antigenlari bir-biriga yaqin bo‘lib, emlanganda hosil bo‘lgan immunitet asosiy yuqumli kasallikdan ham himoya qiladi. Bunday vaksinalarga chinchechak vaksinasi (sigir chechagi virusidan), BSJ (sil qo‘zg‘atuvchisining qoramol tipidan tayyorlanadi) misol bo‘la oladi.

**Inaktivatsiya qilingan vaksinalar.** Hozirgi kunda mikroorganizmlardan turli usullarda tayyorlangan, o‘ldirilgan, mikroba metabolitlaridan, alohida antigenlardan, biosintetik va ximiyaviy usullarda olingan vaksinalar qo‘llaniladi. Inaktivatsiya qilingan vaksinalarni immunogenlik xususiyati past bo‘ladi, shuning uchun vaksinatsiyaning bir necha bor qilishga to‘g‘ri keladi. Shu bilan bir qatorda, bu vaksinalar tirik vaksinalarga nisbatan xavfsiz hisoblanadi va kamroq asoratlar beradi.

**Korpuskulyar vaksinalar.** Ular bakteriyalarni virulent shtammlaridan o‘ldirib (yuqori temperatura) yoki kimyoviy moddalar (masalan, formalin, atseton) ta’sirida tayyorlaniladi. Bunday vaksinalar mikroba va viruslarning to‘liq antigen naborini saqlaydi. Hozirgi kunda bakteriyalardan (o‘lat) va viruslardan olingan (qutirish) korpuskulyar vaksinalar qo‘llaniladi.

**Komponentli (sub‘edinichnie) vaksinalar.** Bu ham o‘ldirilgan vaksinalarning bir turi bo‘lib, mikroorganizmning asosi yoki maxsus

immunogen antigen komponentlaridan tayyorlanadi va organizmning kasallikka berilmaslik holatini shakllantiradi. Ularni tayyorlashda ko'plab ximik va fizik usullardan foydalaniladi. Shuning uchun bu vaksinalarni ximiyaviy vaksinalar deb ham ataladi. Hozirgi kunda komponentli vaksinalar pnevmokokka qarshi (asosi kapsula polisaxaridi), qorin tifiga (O-, H- Vi-Ag), kuydirgiga (polisaxarid va kapsula polipeptidi), gripnga (virus neyraminidaza va gemagglutinin) qarshi ishlab chiqilgan.

**Gen injeneriya usulda olingan (rekombinant) vaksinalar.** Hozirgi kunda bu vaksinalar gen injenerli usulning bir qancha variantlari va yondashuvlari asosida olinadi. Bu usullarga kiradi:

1. Bakteriya yoki viruslarning yuqori immunogenlikka ega bo'lgan antigen sintezida qatnashuvchi genlarini gen injeneriya usulida olinib, boshqa mikroorganizmlarga kiritish yo'li bilan (masalan, gepatit B virusini HBs-Ag achitqi zamburug'larni genomiga kiritib) olingan vaksinalar.

2. Virulent immunogen xususiyatini namoyon qiluvchi genlarning avirulent yoki kuchsiz virulent shtammlarga kiritish yo'li bilan (odam uchun patogen bo'lmagan salmonellalarga gepatit B virusini HBs-Ag, qoqshol ekzotoksinini sintezini amalga oshiruvchi genni) olinadi. Boshqa misol, sil qo'zg'atuvchisining genini BSJ vaksina shtammiga kiritish, ya'ni divergent vaksina aktivligini oshirib yuboradi. Bunday vaksinalarni vektorli vaksinalar ham deb ataladi.

3. Bakteriyalarning virulent xususiyatini namoyon qiluvchi genlarni olib tashlash va bu bakteriyalarning korpuskulyar vaksinalar sifatida qo'llash. Selektiv yo'l bilan virulent genlarni olib tashlash usulida chidamli kuchsizlantirilgan vaksinalarni (qorin tifi, ichburug', vabo, toksigeu ichak tayoqchasi) tayyorlash muammolarini yechib bermoqda.

**Sintetik vaksinalar.** Usulning mohiyati shundan iboratki, sintetik usulda patogen bakteriyalarni nuklein kislotasi yoki Ag-determinantini namoyon qiluvchi polepeptidlarni sintez qilib olishga asoslangan. Ustunligi o'ta xavfsiz, kamchiligi olingan nuklein kislotasi yoki Ag-determinantini namoyon qiluvchi polepeptidlar kuchsiz immunogen xususiyatga ega. Shuning uchun bunday vaksinalarni qo'llashda ad'yuvantlar ishlatiladi. Bu yo'nalishda keng ilmiy ishlar olib borilmoqda.

**Molekulyar vaksinalar (anatoksinlar).** Bunday preparatlar mikroba metabolitlaridan, ko'proq molekulyar bakterial ekzotoksinlardan formalin ta'sir ettirilib tayyorlaniladi. Ko'proq toksik yuqumli kasalliklarda (qoqshol, botulizm, bo'g'ma, gazli gangrena va stafilokokk) qo'llaniladi.

**Mono - va polivalent vaksinalar.** Ko'pchilik hollarda vaksina yoki anatoksin bitta qo'zg'atuvchiga qarshi qo'llaniladi, monovaksina (masalan, stafilakokk anatoksini, qizamiq vaksinasi). Agar bir yo'la ikkita qo'zg'atuvchilarga qarshi vaksinalar ishlatilsa, divaksinalar (ADS-vaksina bo'g'ma va qoqshol anatoksini), undan ortiq vaksinalar qo'llanilsa, trivaksina (AKDS-vaksina ko'kyo'tal bo'g'ma va qoqshol anatoksini) va tetrovaksina (qorin tifi, paratif A va B hamda qoqshol anatoksini) deb nomlanadi va amaliyotda qo'llaniladi.

Vaksinalar suyuq va quruq holda ishlab chiqariladi. Quritish asosan vaksinalarning liofilizatsiya usuli bilan amalga oshiriladi.

Barcha vaksina preparatlarining zararsizligi, immunogenligi va sterilligini (o'ldirilgan vaksinalar uchun) aniqlash yuzasidan davlat nazorati o'tkaziladi.

Agar ampulalar singan bo'lsa yoki preparatlarning fizik xususiyati va rangi o'zgargan bo'lsa, unda turli zarracha, cho'kmalar paydo bo'lsa bunday vaksinalar ishlatilmasligi lozim.

Vaksinaprofilaktika qilish usullari. Vaksina preparatlarini qo'llash quyidagi usullarda olib boriladi: per os (ichish) (poliomiyelit), teri ostiga, teri orasiga (AKDS, BSJ), parenteral (qizamiq), internazal (gripp) va ingalatsion.

Vaksinaprofilaktika davlat tomonidan nazorat qilinadi. O'zbekiston Respublikasida 2003-yil 1-yanvardan kuchga kirgan "O'zbekiston Respublikasida yuqumli kasalliklarning immunoprofilaktikasini tashkil qilish va o'tkazish to'g'risidagi Sanitariya qoida va me'yorlari" ishlab chiqilgan (32-jadval).

Yuqumli kasalliklarga qarshi immunizatsiya qilish davlatimiz tomonidan olib borilayotgan barkamol avlodni tarbiyalash siyosatining bir ko'rinishidir. Shuning uchun vaksinatsiya qilish har bir oila uchun oson, muammolarsiz va albatta bepul bo'lishi shart.

Chaqaloq tug'ruqxonada tug'ilishi bilan bolaga "Bolalar va o'smirlar shaxsiy daftarchasi" olib boriladi. Bu daftarchada majburiy immunizatsiya qilish vaqtlari ko'rsatiladi. Immunoprofilaktika ikki usulda olib boriladi: majburiy va epidemiologik ko'rsatmaga asosan.

Epidemiologik ko'rsatmaga ko'ra profilaktik kalendar emlashlar asosan bir necha yo'nalishlarda olib boriladi. Masalan, enzootik territoriyalarda (o'lat, tulyarimiya), maxsus laboratoriya xizmatchilariga (o'ta xavfli yuqumli kasalliklar), professional ishchilar va xizmatchilarga (kuydirgi, brutsellyoz), chet elga chiquvchilarga (sariq isitma) va ko'proq yuqumli kasalliklar ro'y berganda (bo'g'ma, qizamiq va bosh.) emlanmagan kontingent odamlarga qilinadi.



### Profilaktik emlashlar kalendar sxemasi

№	Vaksina oluvchilarning yoshi	Vaksina preparatlari nomi
1.	1-kun	VGB-1 (gepatit B-virusiga qarshi)
2.	2-5 kun	BSJ (silga qarshi) OPV-0 (shol-poliomiyelitga qarshi)
3.	2-oyda	AKDS-1 (ko'k yo'tal, bo'g'ma va qoqsholga qarshi) OPV-1 (shol-poliomiyelitga qarshi) VGB-2 (gepatit B-virusiga qarshi)
4.	3-oyda	AKDS-2 (ko'k yo'tal, bo'g'ma va qoqsholga qarshi) OPV-2 (shol-poliomiyelitga qarshi)
5.	4-oyda	AKDS-3 (ko'k yo'tal, bo'g'ma va qoqsholga qarshi) OPV-3 (shol-poliomiyelitga qarshi)
6.	9-oyda	Qizamiq - 1 VGB-2 (gepatit B-virusiga qarshi)
7.	16 oyda	AKDS-4 (ko'kyo'tal, bo'g'ma va qoqsholga qarshi) OPV-4 (shol-poliomiyelitga qarshi)
8.	1-sinf (7 yosh)	ADS-m-5 (bo'g'ma va qoqsholga qarshi) OPV-5 (shol-poliomiyelitga qarshi) BSJ R-1 (silga qarshi revaksinatsiya)
9.	8-sinf (14-15 yosh)	BSJ R-2 (silga qarshi revaksinatsiya)
10.	16 yoshda	ADS-m-6 (bo'g'ma va qoqsholga qarshi)
11.	26 yoshda	ADS-m-7 (bo'g'ma va qoqsholga qarshi)
12.	46 yoshda	ADS-m-8 (bo'g'ma va qoqsholga qarshi)

### Zardobli immun preparatlar

Bularga asosan immun zardoblar va immunoglobulinlar kiradi. Immun zardoblar amaliyotda davolash, profilaktik, diagnostik maqsadlarda ishlatiladi. Profilaktik va terapevtik maqsadda qo'llanilganda bu preparatlar inson organizmida passiv orttirilgan immunitetni hosil qiladi. Preparatlarning ta'sir qilish mexanizmi maxsus AT ni agglyutinatsiyalovchi, pretseptitsiyalovchi, komplement bog'lovchi, litik va neytralizatsiya qiluvchi xususiyatlariga asoslangan. Boshqacha qilib

aytganda, inson organizmiga tayyor effektor AT lar kiritiladi. Shuning uchun bu preparatlarni profilaktikada va terapiyada qo'llash mumkin. Immun zardoblar asosan organizmga parenteral yo'l bilan kiritiladi, ularning effekti uzoq (2-6 hafta) bo'lmaydi.

Davo-profilaktika zardoblari va immunoglobulinlar bir necha marta antigen yuborilgan (giperimmunizatsiya qilingan) otlar yoki emlangan, yuqumli kasallikni boshidan kechirgan kishilar qonidan tayyorlanadi.

Diagnostik zardoblar (antizardoblar) esa quyonlarni emlash yo'li bilan olinadi. Bu zardoblar agglyutinatsiya, pretsipitatsiya hosil qiluvchi va eritrotsitlarni erituvchi (gemolitik) zardoblarga bo'linadi. Ulardan serologik reaksiyalarda mikroorganizmlarni identifikatsiya qilishda foydalaniladi.

Organizmning u yoki boshqa bir yuqumli kasallikka va turli allergenlarga nisbatan sezuvchanligi oshib qolganligini aniqlash maqsadida qo'llaniluvchi preparatlar "allergen" lar deb ataladi. Allergen sifatida mikroorganizmlardan va boshqa tabiiy, sun'iy moddalardan ajratib olingan Ag-allergenlar qo'llaniladi. Organizmning allergik holatini (sezuvchanlikni oshganligini) allergik sinamalar orqali aniqlash mumkin. Ko'pchilik yuqumli kasalliklarda kasallik qo'zg'atuvchisiga nisbatan organizmning sezgirligi oshadi, shuning uchun allergik sinamalar yuqumli kasalliklar diagnostikasida ham (sil kasalligida Mantu, Pirke, brutsellezda Byurne, 66-rasm) qo'llaniladi.

### **Immunomodulyatorlar**

Oxirgi yillarda klinikada va klinik immunologiyada ko'plab immun tizimga aktiv ta'sir ko'rsatuvchi preparatlar qo'llanilmoqda (33-34-jadval). Immunomodulyatorlarning "ta'sir immun nuqtasi" mavjud, ya'ni bu preparatlar uchun nishon immunokompetent hujayralar hisoblanadi. Bu preparatlarni klinik ko'rsatmadan kelib chiqqan holda davolashda va profilaktikada qo'llash mumkin.

**Eubiotiklar** – odam normal mikroflorasidan olingan tirik mikroorganizmlar bo'lib, disbakterioz kasalliklarini davolashda keng qo'llaniladi. Asosan eubiotik sifatida ko'proq liofilizatsiya qilingan mikroorganizmlar ishlatiladi (Linex, bifikol, bifidumbakterin, bakterin, laktobakterin va boshqalar).

### Immunomodulyatorlarning asosiy gruppalari

Kelib chiqishi		Immunomodulyator preparatlar
Endogen	Sitokinlar	IL, IFN, kolonaaktivlashtiruvchi faktor, FNO, eritropoetin va boshq.
Ekzogen	Tabiiy birikmalar (mikroorganizmlar va ularning komponentlari) Sintetik yuqori va past molekulyar preparatlar	Bakteriya va virus vaksinalari, LPS, glikanlar, prodigazan, salmazan, pirogenal, ribomunil, imudon va boshq.  Polifosfatlar, polikarboksilatlar, polisulfatlar, levamizol, inozipleks, diutsefon va boshq.

### Klinik ahamiyati mavjud bo'lgan immunomodulyatorlar

Preparatlar	Asosiy ta'sir mexanizmi
Diutsefon	IL-2 sekretsiasini aktivlashtiradi
Levamizol	T-limfotsitlar va fagotsitlar funksiyasini korreksiyalash xususiyatiga ega
Izoprinozin	T-limfotsitlarni faollashtirish xususiyatiga ega
Miyelopeptid	B-limfotsitlarni faollashtirish xususiyatiga ega
Dibazol, metiluratsil, pentoksil, pirogenal, prodigazan, enterobakteriyalar-LPS, salmazan	Fagotsitlar, B-limfotsitlar xususiyatini leykopoez, monotsitlarning sitotoksik xususiyatini faollashtiradi
IL-4, IL-5, IL-6	B-limfotsitlarning shakllanishini faollashtiradi
T-aktivin, timozin, timotropin, timalin, immunomodulin	T-limfotsitlar funksiyasini korreksiyalaydi, IL-1, IL-2, IL-3 va limfoid hujayralar sintezi va sitotoksik aktivligini oshiradi
Polifosfatlar va polikarboksillar	Immunkompetent hujayralarni poliklonal faollashtiradi
IFN induktorlari	INF sintezini faollashtiradi
INF	100 dan ortiq effektlari aniqlangan

**Stafilokokk autovaksinasini tayyorlash bosqichlari.** O'ldirilgan autovaksina bemor organizmidan bevosita ajratib olingan qo'zg'atuvchi shtammidan tayyorlanadi:

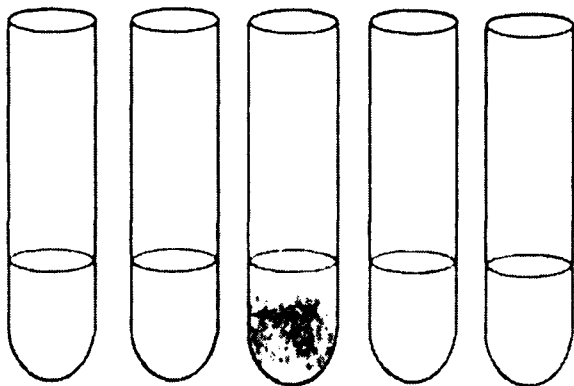
1. Stafilokokk qiyalantirilgan oziqli agarga ekiladi.
2. O'stirilgan kulturaning tozaligi (mikroskop ostida surtma tayyorlab) tekshiriladi.
3. Mikroob hujayrasining birlamchi suspenziyasi natriy xloridning 5 ml izotonik eritmasi bilan yuvib tayyorlanadi.
4. Bakteriya suspenziyasi 70–80°C da bir soat davomida suv hammomida qizdiriladi.
5. Qizdirilgan suspenziyani oziqli muhitga ekib, uning sterilligi tekshiriladi.

6. Optik standart yordamida vaksinalar standartlanadi: 1 ml qizdirilgan mikroob suspenziyasi natriy xloridning ma'lum miqdoridagi steril izotonik eritmasi bilan suyultiriladi, quyqaligi optik standart bilan solishtiriladi – 1 mlrd/1ml; bakteriya suspenziyasining qolgan qismiga natriy xloridning izotonik eritmasidan tegishli miqdorda qo'shilib suyultiriladi.

**Flokkulatsiya reaksiyasi.** Toksin yoki anatoksinning toksinga qarshi zardob bilan o'zaro birlashishi natijasida parcha-parcha flokkulat cho'kmasi hosil bo'ladi (67- rasm). Antigen va antitela ekvivalent nisbatda bo'lgan probirkada flokkulatsiya («initsial») erta sodir bo'ladi va yaqqol ko'rinadi.

Reaksiya 2 ta bosqichda qo'yiladi:

1. Standart qon zardobi yordamida toksinning 1 ml dagi Lf (Limes flocculationis) soni aniqlanadi. Lf toksini, uning miqdori, ya'ni («initsial») flokkulatsiya bera oladigan xalqaro birlik (XB) bilan aniqlanadi. Toksin kuchi aniqlangach, zardob kuchi aniqlanadi.



67-rasm. Flokkulatsiya reaksiyasi

## Flokkulatsiya reaksiyasini qo'yish sxemasi

Ingrediyentlar, ml	Probirkalar №						
	1	2	3	4	5	6	7
1 ml da 20 Lf bo'lgan toksin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Tekshirilayotgan qon zardobi	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	-	0.6
45° C da 30 daqiqa davomida termostatda saqlanadi							
«Initsial» flokkulatsiya natijalari	-	-	+	-	-	-	-

Kuchi ma'lum bo'lgan toksin va sinalayotgan antitoksik zardob 35-jadvalda ko'rsatilganidek, ma'lum hajmda probirkalarga quyiladi. Probirkalar cho'kma hosil bo'lguniga qadar suv hammomida 45°C da 30 daqiqa davomida qizdiriladi. Agar toksin miqdori zardobning xalqaro birligiga teng bo'lsa, shu probirkada initsial flokkulatsiya sodir bo'ladi. Masalan, agar flokkulatsiya 3-probirkada sodir bo'lgan bo'lsa, u holda 0,4 ml zardob 40 XB bo'ladi. Demak, 1 ml zardob  $40:0,4=100$  XB ga ega ekan.

#### **YUQUMLI KASALLIKLARGA MIKROBIOLOGIK, VIRUSOLOGIK, MIKOLOGIK VA PARAZITOLOGIK USULLAR BILAN DIAGNOZ QO'YISH HAMDA KLINIK MIKROBIOLOGIYA**

Mikrobiologiyaning xususiy bobida biz bakteriyali, virusli, zamburug'li va protozoyli infeksiyalarga laboratoriya yordamida diagnostik qo'yish bilan tanishib chiqamiz.

Bu esa bemor organizmidan ajratib olingan patogen mikroorganizmlarni yuqumli kasallik keltirib chiqarishdagi etiologik va patogenetik roli, organizmdagi klinik o'zgarishlar va immuno-allergik holatni aniqlashda, samarali ximiyaterapiya va immunologiya preparatlarini tanlashda muhim rol o'ynaydi.

Hozirgi kungacha patogen mikroorganizmlarni darhol ajratib olish va ularni patogen bo'lmagan mikroorganizmlardan identifikatsiya qilish oxirigacha ishlab chiqilmagan. Ma'lumki, mikrobiologik tekshiruvdan oldin, aniq diagnostik usulni tanlash, davolovchi shifokorni yuqumli kasallik bilan og'rigan bemorga vaqtinchalik qo'ygan diagnostik asoslanadi. Bakteriologik tekshiruv ko'p bosqichli bo'lib, ko'pchilik hollarda mikroorganizmlar juda sekin o'sadi, davolovchi shifokorlar esa bakteriologik tashxis natijasini kutmasdan qo'llanib kelinayotgan kimyoviy preparatlar bilan davolashni boshlaydi, lekin davolash jarayonida bakteriologik tashxis natijasi asosida davolashning samarali korreksiya qilishadi. Shu bilan bir qatorda, yuqumli kasalliklarni mikrobiologik tashxisiz zo'r berib antibiotiklar bilan davolash tufayli va boshqa sabablarga ko'ra organizm immunologik reaktivligining keskin susayishi kuzatiladi. Bunda shartli-patogen bakteriyalar va ayniqsa Candida avlodi zamburug'lari keltirib chiqargan kasalliklar alohida o'rin tutadi.

Bunday kasalliklar ko'pincha jarrohlik, terapevtik, bolalar va boshqa bo'limlarga joylashtirilgan bemorlarda hamda akusherlik klinikalarda yangi tug'ilgan bolalar o'rtasida ko'proq uchraydi.

Klinika bo'limlarida yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari hisoblangan shartli-patogen va ayrim patogen bakteriyalarni o'rganuvchi mikrobiologiya bo'limi – klinik mikrobiologiya deb ataladi.

Klinik mikrobiologiyaning asosiy vazifasi:

- kasallik qo'zg'atuvchilarini bemorlardan ajratib olish va identifikatsiya qilish, tashxisda immun usullardan foydalanish (AT, teri sinamalari);

- bakteriologik tashxis natijalariga asoslanib, effektiv ximiyaterapevtik preparatlarni aniqlash.

Talabalar bilan olib borilayotgan diagnostik mikrobiologik tekshiruvlarni davolovchi shifokorning amaliy faoliyatiga yaqinlashtirish va klinik mikrobiologiyaning xususiy masalalarini hal qilish maqsadida o'rganish zarur bo'lgan mikroorganizmlarni alohida guruhlariga bo'lindi. Patogen bakteriyalarni guruhlariga bo'lishda ularni mikrobiologik klassifikatsiyasi hisobga olinmasdan, asosan qo'zg'atuvchilarning qanday kasallik keltirib chiqarishi, patogenezini va epidemiologiyasi hisobga olindi va ular yiring paydo qiluvchi, jarohat yarali, havo-tomchi, qon orqali yuquvchi, ichak, o'ta xavfli zoonoz, transmissiv va tanosil yuqumli kasalliklarining qo'zg'atuvchilariga bo'lingan. Bu esa kasallikning avvalgi klinik diagnoziga ko'ra mikrobiologik tekshirish uchun qanday patologik materiallar olish kerakligini aniqlash va tez tashxis qo'yish imkonini beradi. Viruslar va zamburug'lar keltirib chiqaruvchi kasalliklar alohida bo'limlarda berildi.

Laboratoriyadan olingan bu ma'lumotlar, davolovchi shifokorlarga kasallikka aniq diagnoz qo'yishda, bemorlarni antibiotiklar hamda immun preparatlar bilan samarali davolashda juda ham zarur. Epidemiolog-shifokor esa yuqumli kasallik manbaini aniqlash maqsadida kasallikni epidemiologik jihatdan muhokama qilish, uning yuqish yo'llarini belgilash, mikroob tashib yuruvchilarni topishda va shu kabi turli maqsadlarda mikrobiologik hamda immunologik tekshiruv natijalaridan foydalanadi.

### **Mikrobiologik tekshirish uchun materiallar olish**

Yuqumli kasallik bilan og'rigan bemordan patologik materialni olish va o'z vaqtida bakteriologik laboratoriyaga yetkazish yuqumli kasalliklar bakteriologik diagnostikasida eng asosiy tashkiliy ishlardan biri hisoblanadi. Chunki yuqumli kasalliklarga mikrobiologik tez va samarali diagnoz qo'yish asosan bemordan patologik materialni to'g'ri olishga, o'z vaqtida laboratoriyaga yetkazib berishga bog'liqdir. Davolovchi shifokor kasallikning dastlabki klinik ko'rinishi, diagnozi va uning klinik bosqichlariga ko'ra material tanlaydi.

Yuqumli va boshqa mikroorganizmlar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning klinik bosqichiga ko'ra mikroorganizmlar o'pkada, tomoqda, burun-halqumda, limfa tugunlarida, qonda, ichakda, orqa miyada, siydikda, tanosil organlarida bo'lib, atrof-muhitga balg'am, najas, siydik va biologik suyuqliklar orqali ajraladi. Masalan, qorin tifi va paratiflarda bakteriyalar kasallik boshida qonda to'planadi, so'ngra

najas va siydik bilan ajraladi, rekonvaletsent davrida esa o't yo'llarida uchraydi, poliomiyeletida virus kasallikning birinchi bosqichida najas yoki burun-halqum suyuqligi bilan ajraladi, so'ng qisqa muddat qonda uchraydi, bakteriomiya, sepsisda esa mikroorganizmlar doimo qonda bo'ladi; yuqori nafas yo'llaridagi (respirator) infeksiyalarda bakteriya va viruslar odatda balg'am orqali, ichak kasalliklarida esa najas bilan ajraladi.

Laboratoriyadan olingan ma'lumotlarni baholashda tekshiriladigan material xarakteri muhim ahamiyat kasb etadi. Masalan, steril (sog'lom odamlarda) suyuqliklarda (qon, peritoneal, plevral, orqa miya suyuqligi, kateter yordamida qovuqdan olingan siydik) mikroorganizmlar odatda bo'lmaydi, agar ulardan ajratib olinsa, yuqumli kasalliklar borligidan darak beradi. Shu bilan birga, najas, balg'am, tomoq shilliq qavatlari, siydik va tanosil organlari yo'llari, teri va shilliq qavatlardan patogen mikroorganizmlar ajratib olinganda, bakteriologlar shu organlarda uchrovchi normal mikroorganizmlardan, albatta, ularni differensatsiya qilishi zarur. Lekin normal ba'zi hollarda shu organlarda uchrovchi shartli patogen mikroorganizmlar ham kasallik keltirib chiqaradi. Shuning uchun tegishli bo'shliq va organlardan ajratib olingan bakteriyalarning turini aniqlash bilan bir qatorda, ularning miqdoriy ko'rsatkichini ham aniqlash zarur. Masalan, ko'pchilik shartli patogen bakteriyalar (stafilokokklar, ichak bakteriyalari) 1 ml siydikda  $10^3$ -  $10^4$  uchraydi. Siydikda  $10^4$  darajadan yuqori bo'lishi shu bakteriyaning kasallik keltirib chiqarish ehtimolidan darak beradi.

Bemor, rekonvaletsent va bakteriya tashuvchi kishilardan tekshiriladigan material olishda shifokorlardan ma'lum qoidalarga amal qilish talab etiladi.

1. Bemorlardan patologik materiallarni antibiotiklar va boshqa ximiyaterapevtik preparatlarni qo'llashdan avval olish zarur.

2. Patologik materiallarni mumkin qadar atrof-muhitdagi mikroorganizmlar bilan ifloslantirmaslik uchun aseptika qoidalariga rioya qilish talab etiladi.

3. Patologik materiallarni olishda va laboratoriyaga jo'natishda zamonaviy talablar asosida HiMedia va boshqa kompaniyalar taklif qilgan steril material olish va ularni jo'natish vositalaridan foydalanish zarur.

4. Ko'pchilik yuqumli kasalliklarda patologik materialni bemordan olish va shu joyda, bemor o'rnida ekish (ko'k yo'tal, meningit, ichburug') yaxshi natija beradi va patogen qo'zg'atuvchilarni ajratib olish foiz ko'rsatkichini oshiradi.



Steril materiallar (qon va boshqalar) organizmdagi normal mikroflora vakillari bilan ifloslanmasligi uchun material olish va ekish tartib qoidalariga qat'iy rioya qilish zarur, chunki juda kichik xatolik ham tekshirish natijasiga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin.

Yiringli-yallig'lanish jarayonlarida material yaraning chuqur qismidan yallig'langan to'qimaga surkab olinadi; respirator kasalliklarda esa balg'amning yiringli, qonli bo'lagi, bronxlarning chayindi suvlari yoki biopsiyada olingan to'qima parchalari tekshiriladi. Siydik yo'llari kasalliklarida esa siydikning o'rta miqdori yig'iladi yoki qovuqdan kateter yordamida siydik olib tekshiriladi. Ichak infeksiyalarida najas steril bankalarga yig'iladi, me'daning chayindi suvlari va o't-safro zond orqali olinib, o'rganiladi. Ichak yuqumli kasalliklarida patologik material maxsus konservant qo'shilgan steril probirkalarga olinadi; tanosil kasalliklarida siydik yo'llaridan yoki jinsiy a'zodan, ayollarda sprinsovka qilingach (antiseptiklar qo'llanmagan holda) olinadi; tomoq va burun-halqumdan esa material maxsus tamponlar (HiMedia va boshqa kompaniyalar material olish va ularni jo'natish vositalari) yordamida olinib, steril probirkalarga solinadi yoki bemor o'rnida ekiladi. Steril materiallar (sog'lom odamlarda qon va boshqa mikrobsiz suyuqliklar) bemor to'shagi oldida ekilgani ma'qul. Serodiagnostika tekshiruvlari uchun barmoq yoki vena tomiridan qon olinib, laboratoriyada undan zardob ajratiladi.

Tekshiriladigan materialni mumkin qadar zudlik bilan bakteriologik, mikologik, virusologik yoki serologik laboratoriyalarga yuborish zarur. Materialni yuborish vaqti 2 soatdan oshmasligi kerak, agar yuborishning iloji bo'lmasa, ba'zi kasalliklarda 24 soat muzlatkichda saqlash mumkin. Material laboratoriya idishida yoki maxsus konteynerlarda (HiMedia va boshqa kompaniyalar material olish va ularni jo'natish vositalari) dastlabki o'z haroratini saqlagan holda (ko'kyo'tal, meningit qo'zg'atuvchisi 22° dan past haroratda o'ladi) yoki aksincha quruq muz yordamida sovutilgan holda (material xarakteriga ko'ra) laboratoriyaga jo'natiladi. Laboratoriyaga yuborilgan barcha materialda, albatta, tegishli yo'llanma bo'lishi shart. Unda bemor familiyasi, ismi, otasining ismi, material turi, olingan vaqti, kasallikning dastlabki klinik diagnozi ko'rsatilishi lozim.

### **Materialni laboratoriyaga yuborish va tekshirish usullari**

Laboratoriyaga yuborilgan materialning tekshiruv yo'nalishi va usullari davolovchi shifokorning kasallik qo'zg'atuvchilari – bakteriya, zamburug' yoki virus bo'lishi mumkin degan taxminiga, kasallikning dastlabki klinik diagnoziga asoslanib belgilanadi. Shunga muvofiq tegishli tekshiruv

usullari qo'llaniladi. Barcha klinik mikrobiologiya va immunologiya usullarini 4 guruhga bo'lish mumkin: 1) mikroskopik (bakterioskopik, virusoskopik); 2) mikrobiologik (bakteriologik, mikologik, virusologik); 3) biologik yoki biosinama; 4) immunologik (serodiagnostika, teri-allergiya sinamasi, immunologik holatni aniqlash uchun testlar). Yuqorida ko'rsatilgan usullar murakkabligi, tekshirish muddatlari, sezgirligi, o'ziga xosligi hamda yetarli ma'lumotlar berishi bilan bir-biridan farq qiladi.

**Mikroskopik usul.** Asosan tekshiriladigan materialdagi bakteriya, sodda jonivorlar va zamburug'larni aniqlash uchun qo'llaniladi. Virusoskopik tekshirish kamroq va ma'lum kasalliklarda diagnostik maqsadlarda olib boriladi. Jumladan, virus zarrachalari va ularning kiritmalarini topish orqali qutirish kasalligida Babesh-Negri, chechakda – Pashen va Gvarniyeri tanachalarini aniqlash orqali diagnoz qo'yiladi. Ko'pchilik virusologik kasalliklarda mikroskopik usul viruslarni indikatsiya qilishda ishlatiladi (masalan, grippda rinotsitoskopik tekshiruv usullari qo'llaniladi).

Mikroskopik usulning asosiy ijobiy xususiyati patologik materialda qanday qo'zg'atuvchilar borligini oldindan bilish va keyingi tekshiruv rejalarini shunga asoslab tuzish mumkin. Yana bir afzalligi shundaki, tekshiriladigan materialni ko'rish uchun 30-60 daqiqa yetarlidir. Shu bilan bir qatorda, mikroskopik usulning kamchiliklari ham mavjud, bunday kamchiliklaridan biri, mikroskop ostida ko'rilgan mikroblarni morfologik identifikatsiya qilishning murakkabligidir, ayrim hollarda esa ularni differensatsiya qilish imkoniyati mutlaqo bo'lmaydi (masalan, ichak tayoqchasi, salmonella yoki shigellalarda). Ayrim bakteriyali infeksiyalarda, mikozlarda va parazitlar keltirib chiqargan kasalliklarda mikroskopik tekshirishning diagnostikasi nihoyatda yuqori ahamiyatga ega bo'ladi va bu usul quyidagi: leptospiroz, qaytalama tif, birlamchi zaxm, so'zak, teridagi zamburug'li kasalliklar (dermatomikoz), kandidoz, chuqur zamburug'li mikoz, bezgak, leyshmaniyoz kasalliklarida yakunlovchi diagnoz qo'yish uchun asos bo'ladi.

Mikroskopik usulga bo'lgan ishonch, uning maxsusligini oshiruvchi nishonlangan mAT dan foydalanib, immunoflyuoressent tekshirish usulini qo'llanilganda yanada ortadi.

Hozirda immunoflyuoressent usul (IFU) patologik materialdagi turli mikroorganizmlarni aniqlashda, ayniqsa o'ta xavfli kasalliklarga tashxis qo'yishda keng qo'llanilmoqda.

**Mikrobiologik** (bakteriologik, mikologik, virusologik) usullar kasallik qo'zg'atuvchilarining sof kulturasi ajratib olish va keyinchalik ular morfologiyasini, o'sishini, biokimyoviy, antigenlik va boshqa

xususiyatlarini tekshirib, identifikatsiya qilishga asoslangan. Bakteriologik usul asosiy usullardan biri hisoblanadi.

Mikrobiologik diagnostika ikki yoki undan ortiq patogen yoki shartli-patogen bakteriyalar kulturasida ajratilgan holda juda murakkablashadi. Bakteriyaning sof kulturasida olinganda, uning patogen belgilarini laboratoriya hayvonlari yoki in vitro- da tekshirib ko'riladi va antibiotiklarga bo'lgan sezuvchanligi aniqlanadi.

**Mikologik** tekshiruvlar bakteriologik tekshiruvlarga nisbatan kamroq o'tkaziladi, chunki ularning mikroskopik diagnostikasi yetarli darajada ishonchlidir. Bakteriologik tekshiruvlar kandidoz kasalliklariga diagnostik qo'yishda ko'proq ishlatiladi. Bunda Candida zotiga kiruvchi achitqisimon zamburug'lar ajratib olinib, identifikatsiya qilinadi.

**Virusologik usul** viruslar qo'zg'atgan yuqumli kasalliklarga diagnostik qo'yishda ishonchli usul hisoblanadi va virusologik laboratoriyalarda olib boriladi. Ammo hujayra kulturalarini tayyorlash, tekshiriladigan materialga ishlov berish, ko'pincha ijobiy natijalar olmaslik va boshqa sabablar bu usuldan keng foydalanishga imkon bermaydi. Bundan tashqari, bu usul ayniqsa noma'lum («ko'r») passajlar qilinganda ko'p vaqtni talab etadi. Oxirgi yillarda virusli yuqumli kasalliklarga diagnostik qo'yishda zamonaviy usullardan polimeraza zanjirli reaksiya (PZR), immunofluorescent usullar (IFU) keng qo'llanilmoqda. Ko'pincha, virusologiya usulidan virusli yuqumli kasalliklarga retrospektiv diagnostik qo'yishda foydalaniladi.

Barcha mikrobiologik tekshiruvlar yetarli darajada ma'lumotlarga ega bo'lib, ayniqsa, qo'shimcha serologik natijalar bilan tasdiqlanganda (ajratib olingan kasallik qo'zg'atuvchilariga qarshi antitelalar aniqlanganda) yanada ishonchlidir. Lekin shuni alohida ta'kidlash lozimki, tibbiy mikrobiologiyaga o'ta sezgir serologik usullarni (radioimmun, immunferment, immunobloting) kiritilishi va qo'llanilishi yuqumli kasalliklar diagnostikasida yangi yo'nalishlarni ochib bermoqda. Shu bilan bir qatorda, bu serologik usullarda kasallik qo'zg'atuvchilariga diagnostik qo'yish mumkin, lekin qo'zg'atuvchilarning (bakterial infeksiyada) patogenlik va ximiyaterapevtik preparatlarga sezgirlik xususiyatlarini aniqlab bo'lmaydi. Shuning uchun bakteriologik usul hozirgi kunda ham o'z mohiyati va dolzarbligini yo'qotgan emas.

Bakteriyali yuqumli kasalliklar tarqalishini epidemiologik analiz qilish uchun bemor va boshqa manbalardan (suv, ovqat mahsulotlari va h.k.) ajratib olingan kulturalarning turlari aniqlanadi. Bu esa kulturalarning biovar, serovar, fagovarlarini aniqlashga hamda biokimyoviy, antigenlik xususiyatlari yoki faglariga sezuvchanlikni tekshirishga asoslanadi.

Bundan tashqari, bolalar, kattalar, shu qatorda tibbiyot va oziq-ovqat sohasida xizmat qiluvchi xodimlar orasida bakteriya tashuvchilarni aniqlash maqsadida ham mikrobiologik tekshiruvlar olib boriladi.

Mikrobiologik amaliyotda **biosinamalar** keng qo'llaniladi. Biosinamalar turli laboratoriya hayvonlarining ma'lum mikroorganizmlarga bo'lgan har xil beriluvchanligiga asoslangan. Bu usul mikroblarning sof kulturasi yoki tekshiriladigan materiallarni bir turdagi, bir yoshdagi, bir xil tana og'irligidagi hayvonlarga yuqtirib amalga oshiriladi. Birinchi holda, biosinama patogen mikroorganizmlarni differensatsiya qilish maqsadida qo'llaniladi. Ulardan ba'zilar hayvonlarda kasallik qo'zg'atadi yoki ularni halok etadi, boshqalari esa ta'sir ko'rsatmaydi (masalan, ichburug' qo'zg'atuvchilari quyonlarda keratokon'yuktivit keltirib chiqaradi, enteropatogen ichak tayoqchasi esa keltirib chiqarmaydi). Biosinama usuli virusli va rikketsiyoz yuqumli kasalliklarida, qo'zg'atuvchilarni bir-biridan farqlashda keng qo'llaniladi. Ikkinchi holda patologik materialdagi kasallik qo'zg'atuvchilari juda kam bo'lishi (o'lat, pnevmokokklarda) natijasida bakteriologik usulda qo'zg'atuvchini ajratib olib bo'lmaydi, bunday holatda qo'zg'atuvchi uchun sezgir laboratoriya hayvonlariga (oq sichqonlarga) yuqtirilib, ulardan keyin toza kulturasi ajratib olinadi. Bundan tashqari, patologik materialda izlanilayotgan mikroob boshqa mikroorganizmlar bilan aralashgan bo'lishi mumkin, bunday holda ham biosinamadan foydalaniladi. Ko'pchilik hollarda biosinama ajratib olingan sof kulturaning virulentlik xususiyatini, toksigenligini (bo'g'ma, vabo) aniqlashda ham qo'llaniladi.

**Immunologik usullar.** Bunga serodiagnostika, teri-allergik sinamalar, hujayraviy (T-sistemalar) va gumoral (B-sistemalar) immun tizimlarini baholash usullari kiradi.

**Serodiagnostika** bemor qon zardobidagi antigen va spetsifik antitelalar va kasallanish jarayonida ularning ortib borishini aniqlashga asoslangan. Serodiagnostikada ko'pchilik hollarda juft qon zardobdan foydalaniladi. Birinchi marotaba qo'yilgandan so'ng 1-2 hafta o'tkazilib, qayta qo'yiladi, agar aniqlanilayotgan AT titri birinchi qo'yilgandagi titridan ikki yoki undan ko'p marotaba oshsa, kasallik o'tkir shaklining serologik diagnozi tasdiqlanadi, agar titri oshmasa, bunday holat ko'pincha kasal bo'lib o'tganlarda, emlanganlarda kuzatiladi. Ba'zi hollarda antitelalarning to'planishi sust birmuncha uzoq davom etadi (zahmda, gepatit B virusi HBs-Ag ni aniqlashda), shuning uchun serologik javob ham kasallikning tuzalish (rekonvalentsensiya) davriga to'g'ri keladi. Bu esa ushbu usulning retrospektiv xarakterga ega ekanligini ko'rsatadi.

Virusli kasalliklarga laboratoriya yordamida diagnoz qo'yishda, odam organizmidan ko'pchilik viruslarni ajratib olishda va ularni identifikatsiya qilishda qiyinchiliklar sodir bo'lgan hollarda serologik tekshiruvlar muhim ahamiyat kasb etadi. Serologik tekshiruvlar yuqumli kasalliklarni epidemiologik jihatdan tahlil qilishda ko'proq qo'llaniladi. Shu maqsadda sog'lom kishilarda spetsifik antitelalarning mavjudligi aniqlanadi (retrospektiv), bu esa ularning shu yuqumli kasallikni boshdan kechirganliklarini yoki uning qo'zg'atuvchisi bilan aloqada bo'lganliklarini ko'rsatadi.

Oxirgi yillarda tibbiy mikrobiologiyaga o'ta sezgir serologik usullarning (radioimmun, immunferment, immunbloting) kiritilishi va qo'llanilishi yuqumli kasalliklar diagnostikasida yangi yo'nalishlarni ochib bermoqda.

**Teri allergik sinamalar** organizmning turli antigenlarga (allergenlarga) yuqori darajada sezuvchanlikning oshishi bir qancha kasalliklarda (sil, brutsellyoz, tulyaremiya va boshqalar) kuzatiladi. Shuning uchun bunday kasalliklarni infeksiyon-allergik kasalliklar deb ham nomlanadi. Agar sezgirligi oshgan bemorlarga mikroorganizmni kiritilsa, allergik reaksiya kelib chiqadi (Mantu, Pirke, Byurne sinamalari), diagnoz qo'yishda hamda atopiya va boshqa allergik holatlarni aniqlashda teri allergik sinamalar keng qo'llaniladi.

**Odam organizmining immunologik holatini aniqlash usullari** birinchi va ikkinchi darajali testlardan iborat bo'lib, ularda asosan T- va B-limfotsitlarning soni va funksional aktivligi aniqlanadi (18-mavzu).

Xususiyl, klinik mikrobiologiya va immunologiyani o'rgangandan so'ng talabalar olgan bilimlariga asosan, bakteriyali, zamburug'li va virusli kasalliklar etiologiyasi va patogenezida mikroorganizmlar roliga baho beradilar. Ular shuningdek, kasallikning kechish bosqichlariga ko'ra, mikrobiologik, virusologik va immunologik usullari bilan o'tkazilgan laboratoriya tekshiruvlari yetarli darajada aniq ma'lumotlar berishiga ishonch hosil qiladilar.

## **20-MAVZU. YIRINGLI-YALLIG'LANISH KASALLIKLARINI KELTIRIB CHIQRUVCHI MIKROORGANIZMLAR**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Stafilokokk va streptokokkli infeksiyalarning mikrobiologik diagnostika sxemasini o'rganish.
2. Stafilokokk va streptokokklar keltirib chiqargan kasalliklarning bakterioskopik va bakteriologik diagnostikasi.
3. Kasalxonada uchraydigan stafilokokk infeksiyasida kasallikning yuqish manbalarini aniqlash.

4. Ko'k yiring tayoqchasi keltirib chiqargan kasalliklarning bakterioskopik va bakteriologik diagnostikasi.

5. Spora hosil qilmaydigan anaerob bakteriyalar keltirib chiqargan yiringli-yallig'lanish kasalliklarning bakterioskopik va bakteriologik diagnostikasi.

6. Yiringli-yallig'lanish kasalliklarda diagnostika, profilaktika va davolashda qo'llaniladigan preparatlar.

### **Amaliy mashg'ulot**

1. Stafilokokk va streptokokklarning sof kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

2. Yiringdan tayyorlangan surtmalardagi stafilokokk va streptokokklar.

3. Stafilokokk va streptokokklarning qonli agarda o'sgan sof kulturasini, gemolitik stafilokokk va streptokokklarning qonli agarda o'sishi ( $\alpha$  va  $\beta$  gemolizlar).

4. Streptokokklar serogruppasini A, B, S, D zardoblari bilan pretsipitatsiya reaksiyasi yordamida aniqlash sxemalari.

5. Stafilokokklarni tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agarda letsitinaza aktivligini ko'rish.

6. Sepsisda bakteriologik tekshiruv bosqichlari.

7. O- streptolizin bilan antistreptolizin reaksiyasini qo'yish sxemalari.

8. Ko'k yiring tayoqchani sof kulturasini va undan tayyorlangan surtmalar.

9. Yiringli-yallig'lanish kasalliklarni keltirib chiqaruvchi spora hosil qilmaydigan anaerob (*Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Bacterioides* sp., *Veillonella* sp.) bakteriyalar kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

10. Stafilokokk faglarining xalqaro to'plami, stafilokokk avovaksinasi, stafilokokk anatoksini, Dik toksini, pretsipitatsiya reaksiyasini hosil qiluvchi streptokokk zardoblari, liofilizatsiya qilingan O- streptolizin. Antibiotiklar.

11. Davolash uchun qo'llaniladigan stafilofag, streptofaglar va boshqa preparatlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli (TSTA) va qonli agarlarga (QA) yiringdan ekilgan ekmalarda stafilokokklarni aniqlash:

- stafilokokklarni muhitdagi kultural xususiyatlariga qarab baho berish;
- TSTA da stafilokokklarni letsitinaza aktivligini aniqlash;
- QA da stafilokokklarni gemolitik xususiyatlarini aniqlash;
- shubhali koloniyalardan surtma tayyorlash. Gram usulida bo'yash va mikroskopda ko'rish;
- shubhali koloniyalardan stafilokokklarni toza kulturasini ajratib olish uchun qiyalantirilgan NA ga ekish;
- stafilokokklarni plazmakoagulaza aktivligini aniqlash maqsadida probirkadagi 1:10 suyultirilgan quyon plazmasiga kulturani aralashtirish;

2. Qonli agarga va qandli bulyonga ekilgan streptokokklarning kultural xususiyatlarini o'rganish:

- qonli agarda o'sgan streptokokklarning gemolitik xususiyatlarini o'rganish;

- bulyonda streptokokklarning o'sishi va o'sishi bo'yicha ularni bir-biridan farqlarini aniqlash;

- streptokokkning qonli va bulyonli kulturalaridan surtma tayyorlash, Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish;

- ko'k yiring hosil qiluvchi tayoqchani NA kultural xususiyatlarini o'rganish va pigment hosil qilishiga baho berish;

- ko'k yiring tayoqcha kulturasiidan surtma tayyorlash, bo'yash mikroskopda ko'rish;

O'rganilgan natijalarni bayonnoma ko'rinishida daftarga yozish.

Hozirgi kunda yiringli-yallig'lanish va jarohat yuqumli kasalliklarini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar jarrohlik, akusher-ginekologiya, pediatriya, bolalar klinikalari va boshqa bo'limlarda ko'p uchraydi. Ko'pincha ular kasalxona ichida tarqalgan bo'lib, gospital infeksiya xarakteriga ega bo'ladi.

Yiringli-yallig'lanish va jarohat yuqumli kasalliklarini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar qo'zg'atuvchilari har xil bakteriyalar bo'lib, ular turli tartibga, oilaga, zotga va turlarga kiradi. Ular orasida aerob va anaerob shakldagi grammusbat va grammanfiy tayoqchalar va kokklar uchraydi (36-jadval). 36-jadvalda keltirilgan bakteriyalar turli sistematik o'rinda turishiga qaramasdan, umumiy patogenetik, ya'ni yiringli-yallig'lanish jarayonini keltirib chiqarish xususiyatiga ega. Ular turli a'zolari: yuqori nafas yo'llari, ichak, siydik-tanosil a'zolari, teri qatlamlarini shikastlaydi, sepsisni qo'zg'atadi. Ulardan ba'zilari faqatgina yiringli va jarohat infeksiyalar qo'zg'atuvchilari bo'lmay, balki nozologik shakldagi kasallik qo'zg'atuvchilari hisoblanadi. Masalan, streptokokklar yiringli infeksiyalar hisoblangan streptodermiya, chipqonlar bilan bir qatorda, skarlatina, kataral angina, glomerulonefrit va saramasni qo'zg'atadi.

36-jadval

### Yiringli-yallig'lanish va jarohat yuqumli kasalliklarini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar

Aerob bakteriyalar	Spora hosil qilmaydigan anaerob bakteriyalar	Spora hosil qiladigan anaerob bakteriyalar
Staphylococcus sp. Streptococcus sp. Pseudomonas aeruginosa Yescherichia. coli va bosh.	Peptococcus sp. Peptostreptococcus sp Bacterioides sp.  Veillonella sp.	Cl. perfringens, Cl oedematiens Cl.sordellii, Cl. novyi, Cl.histoliticum, Cl. septicum, Cl.romosum, Cl. tertium, Cl.difficile, Cl. bifermentans. Cl. tetani

Stafilokokklar, streptokokklar, protey, ichak tayoqchasi va anaerob bakteriyalar ko‘pincha o‘zaro yoki boshqa mikroorganizmlar – viruslar, zamburug‘lar bilan birgalikda (jarrohlik operatsiyalar asoratlarida) aralash infeksiyalarni keltirib chiqaradi.

Yiring yoki ajralayotgan boshqa suyuqlik chegaralangan jarohatlarda (flegmona, absess, karbunkul, peritonit va boshq.) tekshirish uchun material hisoblanadi. Infeksiyaning tarqoq shakllarida esa (sepsis, septikopiyemiyada) venadan ekish uchun steril ravishda qon olinadi.

Anaerob bakteriyalar (bakteroidlar, peptokokklar, peptostreptokokklar va veylonellalar va spora hosil qiluvchi *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. sordellii*, *Cl. novyi*, *Cl. histolyticum*, *Cl. septicum*, *Cl. tetani*) qat‘iy anaerob sharoitlarda, material olishning muayyan qoidalariga amal qilingan holda oziqli muhitlarga ekiladi va anaerob sharoitlarda inkubatsiya qilinib, ajratib olinadi.

### **Stafilokokk yuqumli kasalliklarining bakteriologik diagnostikasi**

Stafilokokklar Micrococcaceaye oilasiga mansub bo‘lib, bu oilaga 3 ta avlod kiradi: 1. *Staphylococcus*. 2. *Micrococcus*. 3. *Stomatococcus*. Bulardan odam uchun *Staphylococcus* avlodi vakillari ichida patogenlari mavjud. Hozirgi kunda *Staphylococcus* avlodiga 20 dan ortiq turlar kiradi: *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. hominis*, *St. haemolyticus*, *St. warneri*, *St. capitis*, *St. saccharolyticus*, *St. auricularis*, *St. simulans*, *St. cohnii*, *St. xylois*, *St. lugdunensis* va boshqalar. Bulardan odamlarda asosan *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus* kasallik keltirib chiqaradi. Oxirgi yillarda *St. haemolyticus* ham kasallik keltirib chiqarayotganligi manbalarda yozilmoqda.

**Bakterioskopik tekshiruv** (2-sxema). Tekshiriladigan materialdan (qondan tashqari) birlamchi bakterioskopiya uchun surtma tayyorlab, Gram usuli bilan bo‘yab, mikroskop ostida ko‘riladi. Preparatlarda grammusbat, to‘da-to‘da bo‘lib, uzum shingili shaklida joylashgan kokklar (68-rangli rasm) ko‘rilgan paytda stafilokokk infeksiyasining dastlabki diagnozini qo‘yish mumkin.

**Bakteriologik tekshiruv. 1-kun.** Tekshiriladigan material – yiring, eksudat, balg‘am, qovuzloq yordamida, yakka-yakka koloniyalar olish uchun kosachadagi qonli, tuxum sarig‘i qo‘shilgan va sut qo‘shilgan tuzli agarga shtrix usulida ekiladi. Siydik, tomoqdan va burundan olingan suyuqlikdagi stafilokokklarni miqdoriy aniqlash maqsadida, muhitlarga sektor (Gold) usulida ekiladi. Sepsisga shubhalanilganda bemor qoni



ekib ko'riladi. Bilak venasidan shpris bilan 5-10 ml qon olinib, kolbadagi 50-100 ml qandli bulyonga ekiladi (1:10 nisbatda) va hamma ekmalar 37°C da termostatda saqlanadi.

**2-kun.** Oziq muhitlarda o'sgan koloniyalar tekshiriladi. Qonli agarda gemoliz bo'lgan yoki bo'lmaganligi aniqlanadi (68-rangli rasm). Tuxum sarig'li-tuzli agarda Staph. aureus tilla rangli, qabariq, yumaloq, xiraroq koloniyalar hosil qiladi. Pigment hosil qilishi tuz qo'shilgan tuzli agarda yanada ravshanroq ko'rinadi. Letsitinaza aktivligiga ega bo'lgan stafilokokk koloniyalari atrofida TQTA da sadaf rangli xiralashgan zonalar hosil (68-rangli rasm) bo'ladi. Shubhali koloniyalardan bir necha surtmalar tayyorlanib, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi va katalaza testi qo'yiladi. Katalaza Micrococcaceaye oilasi vakillarida musbat bo'ladi.

37-jadval

### Micrococcaceaye oilasi vakillarining bir-biridan farqlanishi

Belgilari	Staphylococcus	Micrococcus	Stomatococcus
Katalaza	+	+	+
Kapsulasi	-	-	+
5 % NaCL li muhitda o'sishi	+	+	-
Glyukozali muhitda anaerob sharoitda o'sishi	+	-	+
Klizostafinga Batsitratsinga (0,04 ED) sezgirli	-	+	+

**Stafilokokklarni materialdagi miqdorini aniqlash maqsadida,** muhitlarga ekilgan ekmalarda stafilokokklarga shubhali koloniyalar sanalib, 1ml tekshirilayotgan materialda stafilokokklarning miqdori hisoblab topiladi. Stafilokokklarning mikrokokk va stomatokokklardan farqlanishi jadvalda keltirilgan.

Shu kuni stafilokokklarning turini aniqlash uchun o'rganilgan shubhali koloniyalardan 2-3 ta koloniya olinib, qiyalantirilgan neytral agarli probirkalarga ekiladi va uning sof kulturasi ajratib olinadi.

Qon ekilgan qandli bulyon ham ko'zdan kechiriladi (ekilgan bulyon 10 kun davomida saqlanib turiladi), vaqti-vaqti bilan bakterioskopiya uchun surtma tayyorlanib, bo'yab ko'riladi va Petri kosachasidagi qonli agarga ekib turiladi. Ijobiy natija olinganda, stafilokokkning sof kulturasi ajratib olinib, qolgan bosqichlari ko'rsatilgan belgilar asosida

identifikatsiya qilinadi. Agar ijobiy natija olinmasa, 10 kundan so'ng javob beriladi.

**3-kuni** stafilokokk avlodi vakillari bir-birlaridan farqlanish xususiyatlarini aniqlash uchun differensial diagnostik muhitlarga ekmalar ekiladi (38-jadval).

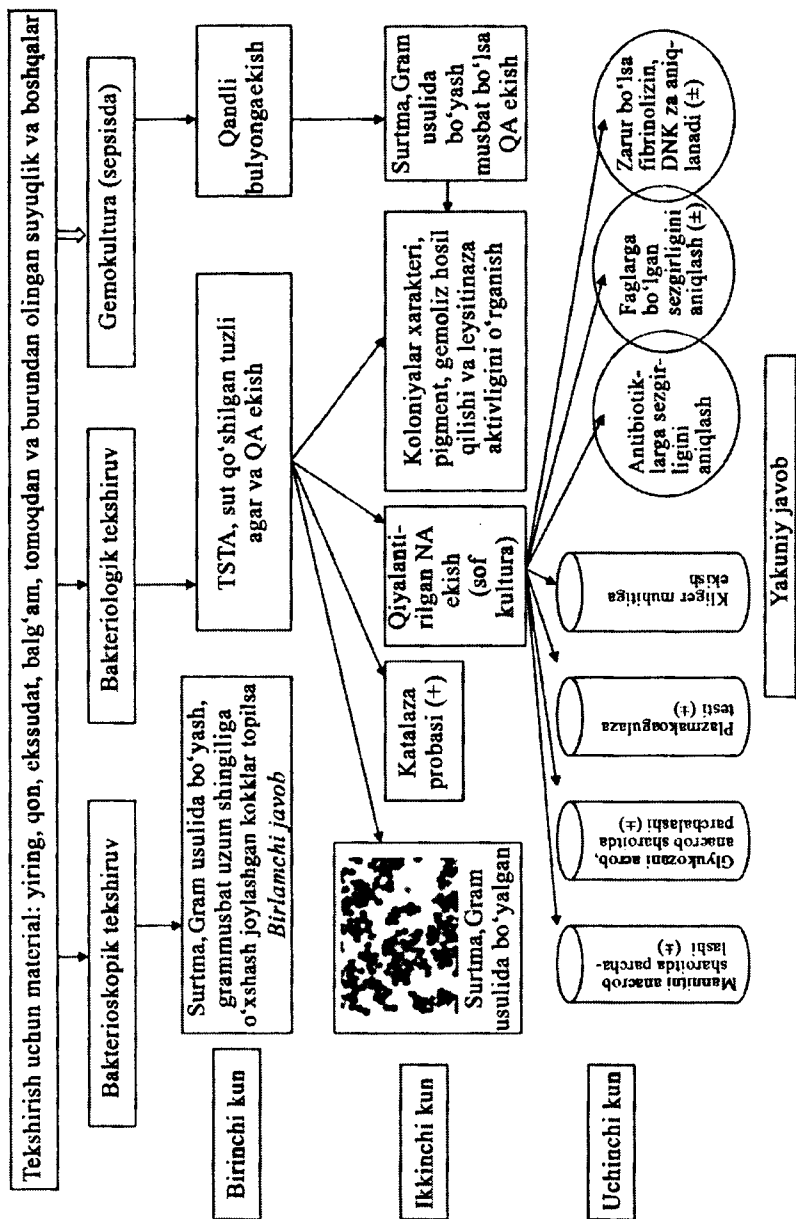
**Stafilokokk kulturasi**ning plazmokoagulaza aktivligini aniqlash. Buning uchun quyon qon plazmasidan foydalaniladi. 1:5 nisbatda suyultirilgan quyon plazmasidan 1,0 ml olinib, 2 ta steril probirkalarga quyiladi. Birinchi probirkani kontrol uchun (K), ikkinchi probirkani tajriba uchun (T) deb yozib qo'yiladi. Birinchi probirkaga tekshirilayotgan stafilokokk kulturasi qovuzloq yordamida material olinib, probirkadagi suyultirilgan plazmaga aralastiriladi. Ikkinchi tajriba probirkasiga bakteriya kulturasi aralastirilmaydi. Har ikkala probirka ham termostatga 6-8 soatga qo'yiladi. Tekshirilayotgan kultura plazmokoagulaza aktivligiga ega bo'lsa, quyon plazmasini ivitib, qotirib qo'yadi, kontrol probirkada plazma qotmaydi (29-rasm).

Ba'zi hollarda, plazmokoagulaza va letsitovitellaza bilan bir qatorda, boshqa fermentlar – fibrinolizin, gialuronidazalar va quyonda o'tkaziladigan dermonekrotik sinama qo'yib aniqlanadi.

38-jadval

**Stafilokokklarning differensial belgilari**

Belgilari	S. aureus	S.epidermidis	S. saprophyticus
5% NaCl li muhitda o'sishi	+	± (kuchsiz)	+
15°C	+	-	+
45°C da	+	+	±
o'sishi			
Mannitni anaerob sharoitda fermentatsiyalashi	+	-	±
Gialuronidaza	+	±	-
Koagulaza	+	-	-
Fibrinolizin	+	- (kuchsiz)	-
Gemolizin	+	- (kuchsiz)	-
Novobiotsinga sezgirligi	+	+	



2-sxema. Stafilotokk yuqumi kasalliklarini bakteriologik tekshirish

**Quyonda dermonekrotik sinamani qo'yish.** Buning uchun quyoning yon tomonidagi terisi tozalanadi va teri orasiga, optik standart bo'yicha 2 mlrd/ml hujayraga ega bo'lgan 0,2 ml tekshirilayotgan kultura suspenziyasi yuboriladi. Mikrobyuborilgan joyda avval infiltrat, 24-28 soatdan so'ng nekroz hosil bo'ladi, bu esa ijobiy natija hisoblanadi (49-rasm).

Gospital infeksiya manbaini aniqlash epidemiologik jihatdan muhim bo'lganligi uchun bemor va bakteriya tashuvchilardan stafilokokkning sof kultura ajratilib, stafilokokk tipini aniqlash uchun qo'llanadigan faglar to'plami yordamida fagotip aniqlanadi.

**Stafilokokk kulturasi fagotipini aniqlash.** Tekshirilayotgan sutkali stafilokokkning bulyonli kulturasi Petri kosachasidagi oziqli agarga gazon usulida ekiladi, termostatda bir oz quritiladi, so'ngra Petri kosachasi orqasi kvadratlariga bo'linadi, qo'llanilayotgan fag tiplari yoziladi va har bir kvadratga Paster pipetkasi bilan bir tomchidan ko'rsatilgan titrgacha suyultirilgan, yozilgan raqamga xos bo'lgan stafilokokkning 4 guruh fag tiplari tomiziladi. Bir sutka termostatda saqlangandan so'ng, qaysi kvadratlarda lizis bo'lganligi ko'zdan kechiriladi. Stafilokokk kulturasi fagotipi lizisni keltirib chiqaradigan fag tipi bilan aniqlanadi (40-rasm).

Stafilokokklarning antibiotiklarga sezuvchanligini aniqlash 10 - mavzuda ko'rsatilgan.

Yakuniy javobda ajratib olingan stafilokokk turi, kerak bo'lsa fagotiplari va uning antibiotiklarga sezgirliги va titri albatta ko'rsatiladi.

### **Streptokokk yuqumli kasalliklarining bakteriologik diagnostikasi**

Hozirgi kunda Streptococcaceae oilasiga 7 ta avlod kiritilgan, bulardan odam uchun patogenlariga quyidagilar kiradi: Streptococcus, Enterococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Pediacoccus va Lactococcus. Bulardan Streptococcus, Enterococcus eng muhim ahamiyatga ega hisoblanadi. Qolganlari asosan sporadik kasalliklar keltirib chiqaradi.

Streptokokklar klassifikatsiya qilinishida ularning turli xususiyatlari asos qilib olingan, lekin amaliyotda keng qo'llanilayotgan klassifikatsiya R.Lensfeld taklif qilgan klassifikatsiya hisoblanadi. Bu klassifikatsiya streptokokklarni hujayra devori polisaxarid antigeni tarkibiga ko'ra 20 ta serologik guruhlarga ajratadi. Ular lotin alifbosidagi A dan V gacha bo'lgan harflar bilan belgilanadi.

**Odamda asosiy kasallik keltirib chiqaruvchi Streptococcaceaye oilasi vakillari**

Keltirib chiqaruvchi kasalliklari	Qo'zg'atuvchilari	Tekshirish uchun material olish
Faringitlar	Streptokokklar A, S, G guruhi	Tomoqdan surtma, qon zardobi
Teri va yumshoq to'qima jarohati va jarohat infeksiyasi	Streptokokklar A, S, G guruhi va yashil streptokokklar	Jarohatdan surtma, yiring, ajralma
Tug'ruqdan keyingi infeksiya	Streptokokklar V, S va G guruhi	Endometriya to'qimasi yoki uning aspiratlari
Neonatal sepsis	Streptokokklar V va G guruhi	Qon
Bakteriyemiya	Streptokokklar A, V, S, G, D guruhi	Qon
Endokarditlar	Streptokokklar A, V, S, G guruhi va enterokokklar, Str.pneumoniaye, yashil streptokokklar	Qon, klapan biopatlari
Meningit	Streptokokklar A, V, S, G guruhi va Str.pneumoniaye	Orqa miya suyuqligi
Artritlar	Streptokokklar A, V, S, G, guruhi Str. pneumoniaye	Sinovial suyuqlik
Siydik tanosil sistema infeksiyasi	Streptokokklar V guruhi enterokokklar	Siydik, ajralmalar
Zotiljam (pnevmoniya)	Streptokokklar A, V guruhi va Str. pneumoniaye	Balg'am, bronx va traxeya yuvindisi, plevral suyuqlik
Sinusitlar	Streptokokklar A guruhi Str. pneumoniaye	Gaymor bo'shlig'idan olingan suyuqlik
O'rta quloq otiti	Str. pneumoniaye	Timpanotsentezdan
Revmatik atakalar	Streptokokklar A guruhi	Tomoqdan surtma va qon
O'tkir glomerulonefrit	Streptokokklar A guruhi	Tomoqdan surtma va qon

Patogen streptokokklarning ko'pchiligi A serologik guruhga mansub. Patogen turi Str. piogens. Qolgan guruhlaridan B gruppasi vakili Str. agalactiae. D guruhi vakili S. fecalis amaliyotda ahamiyatga ko'proq ega. Qolgan vakillari shartli patogen hisoblanadi (39-jadval). Streptokokklar keltirib chiqaruvchi kasalliklarni bakteriologik diagnostikasi sxemada keltirilgan.

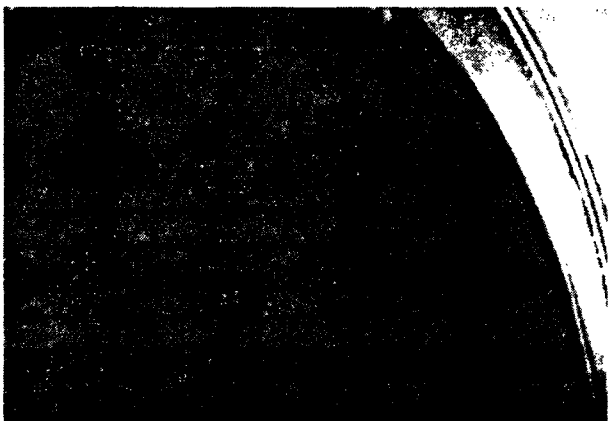
**Bakteriologik tekshiruv. 1-kun (3-sxema).** Tekshiriladigan material Petri kosachasidagi qonli, zardobli, qandli agarlarga ekiladi va material (tampon) qandli bulyonda qoldiriladi. 37°C da 24 soat davomida termostatda saqlanadi.

40-jadval

### Enterokokklarning piogen streptokokklardan farqi

Belgi va xususiyatlari	S. piogens	S. fecalis
Harakatchanligi	-	+
6,5 % NaCl muhitda o'sishi	-	+
0,1 % metilen ko'ki qo'shilgan muhitda o'sishi	-	+
10 °C da o'sishi	-	-
45 °C da o'sishi	-	+
O't saproli bulonda o'sishi	-	+
Mannitni parchalashi	-	+
Inulinni parchalashi	-	+
Sarbitni parchalashi	-	+
Gemolizin tutishi	α, β va boshq.	ba'zida β

**2-kun.** Qonli agarda Str. pyogens uch xil koloniyalar hosil qiladi: birinchi tipi kattaroq, yaltiroq, sal cho'ziluvchan, suv tomchisini eslatadi (yangi ajratib olingan izolyatlarida), ko'proq mayda, to'g'nog'ich boshchasidek keladigan xiraroq, qirralari notekis, sharsimon koloniyalar (yangi ajratib olingan M-Ag tutuvchi izolyatlariga xos) hosil qiladi. Qavariq, tiniq 0,1 - 0,3 mm diametri koloniyali izolyatlar virulent laboratoriya shtamlariga xos bo'ladi. Enterokokklar esa oziqli muhitlarga talabchan emas, qonli agarda 18-24 soatdan so'ng 0,4-1,0 mm diametri, kulrangga moyil koloniyalar hosil qiladi. Enterokokklar uchun selektiv-differensial Dif-3, Dif-5 muhitlari hisoblanadi. Dif-3, Dif-5 muhitlari tarkibida tellurit kaliy saqlaydi. Enterokokklar telluritni qaytargani uchun



69-rasm. *Str. fecalis*. Dif-3 muhitidagi koloniyalari

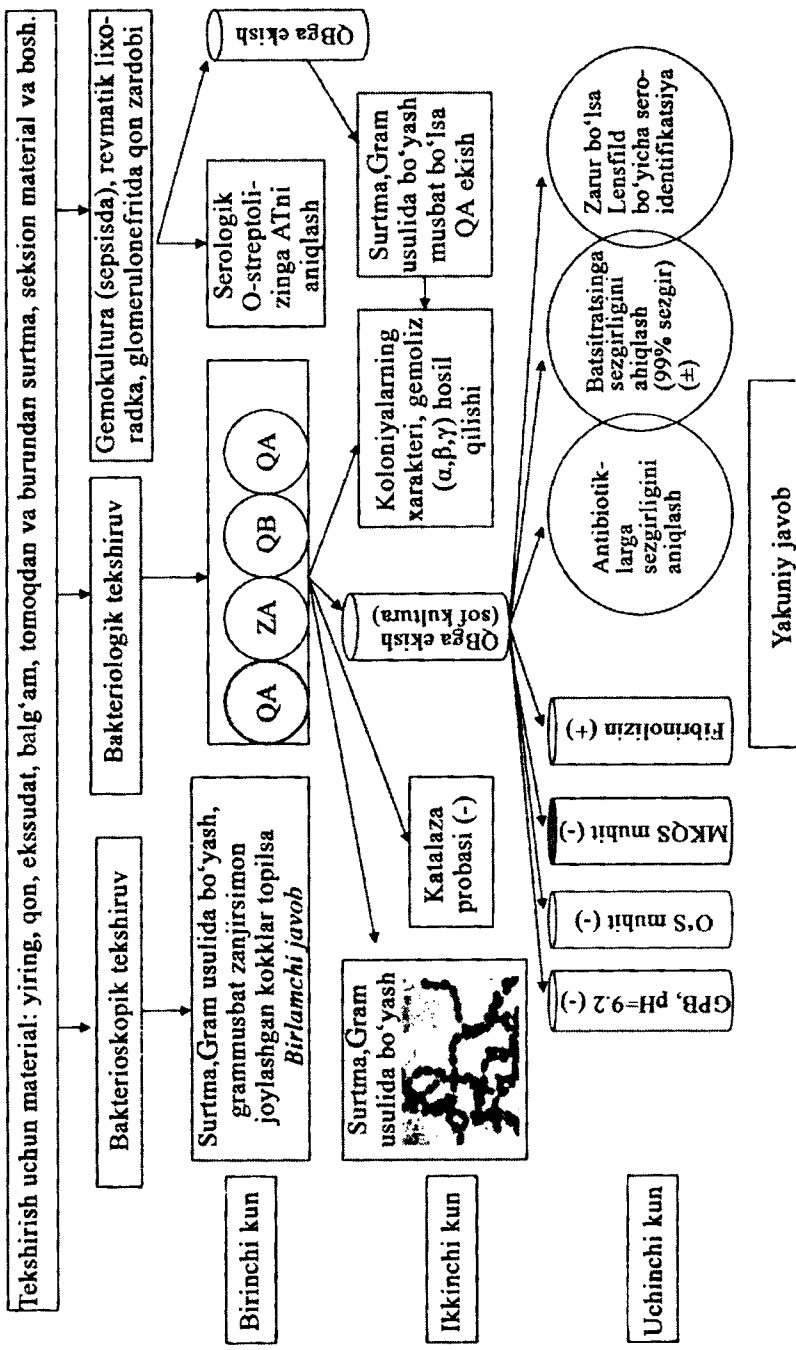


70-rasm. Streptokokklarni batsitringa sezgirligini aniqlash testi. A guruhga kiruvchi streptokokklar (o'ngda). B guruhga kiruvchi streptokokklar (chapda). Batsitratsin diski atrofida A guruhi streptokokklarning ko'payishi to'xtagan zona ko'rinib turibdi.

koloniyalari qora rangga kiradi (69-rasm). Streptokokklarning boshqa turlari telluritni qaytarmaydi va koloniyalari rangsiz bo'ladi.

Streptokokklar stafilokokklardan farqli ravishda bulyonda donachalar va parcha-parcha cho'kmalar hosil qiladi. *Str. pyogens* probirka devoriga yopishgan holda o'sadi, probirkadagi muhit esa tiniq bo'ladi, enterokokklar bulyonni loyqalatib o'sadi.

Streptokokklar gemolitik xususiyatlari bo'yicha ham bir-birlaridan farqlanadi. Qonli agardagi streptokokklar gemoliz qilishiga ko'ra 3 gruppaga: 1) nogemolitik; 2)  $\alpha$  - gemolitik yoki qisman yashil gemoliz



3-sxema. A guruh. Streptokokklarni bakteriologik tekshirish



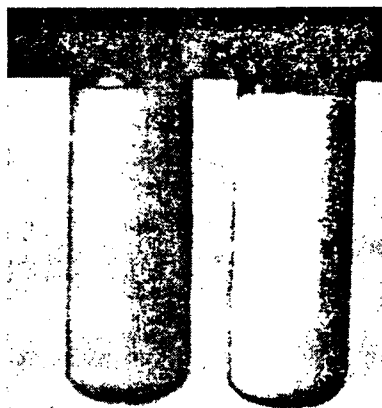
doirasini hosil qiluvchi; 3)  $\beta$ -gemolitik, koloniya atrofida to'liq, tiniq gemoliz doirasini hosil qiluvchilarga bo'linadi. *Str. pyogens* asosan  $\beta$ -gemoliz, koloniya atrofida yaqqol, tiniq va mikroba koloniyasi o'lchamidan bir necha marotaba katta bo'ladi. Enterokokklar to'liq bo'lmagan (5-15% izolyatlari) gemoliz berishi mumkin. Ko'pchilik streptokokklar  $\alpha$ -gemolitik deb ataladi, gemoliz zonasi yashil rangda bo'ladi, chunki ular gemoglobinni metgemoglobinga aylantiradi. Shuning uchun ularni yashil streptokokklar ham deb (*Str. viridans*) ataladi, yuqori nafas yo'llarida ko'p uchraydi. Birinchi kuni streptokokklarni stafilokokklardan farqlash uchun katalaza testi qo'yiladi (28-rasm). Streptokokklar katalaza manfiy hisoblanadi.

Koloniyaning bir qismidan surtma tayyorlab, gram usulida bo'yab, mikroskop ostida ko'riladi. Sof kulturasi ajratish uchun 2-3 ta shubhali koloniyadan olib, probirkalardagi qandli bulyonlarga ekiladi.

**3-kun.** Streptokokk avlodi vakillarini bir-birlaridan farqlanish xususiyatlarini aniqlash uchun differensial diagnostik muhitlarga ekmalar ekiladi (40-jadval) va identifikatsiya qilinadi.

Streptokokklarning batsitratsinga sezgirligini aniqlash. *Str. pyogenes* boshqa streptokokklardan farqlanib, uning 99% izolyatlari batsitratsinga sezgir hisoblanadi. Streptokokk kulturasi gazon usulida ekilib, kultura ustiga batsitratsin shimdirilgan qog'ozli disk qo'yiladi. Streptokokk sezgir bo'lsa, disk atrofida streptokokkning o'sishi tormozlanadi (70-rasm).

*Str. pyogens* ni enterokokklardan farqlashda jadvalda keltirilgan testlar qo'yiladi. O't-safro qo'shilgan muhit *Str. pyogens* ni o'sishini ingibitsiya qiladi, enterokokklar esa yaxshi o'sadi. 6,5% NaCl qo'shilgan muhitga *Str. pyogens* labil hisoblanadi, enterokokklar bunday xususiyatga ega emas. Bundan tashqari, sezgir testlardan yana biri lakmuslangan sutni enterokokklar tomonidan rangsizlantirishi. Enterokokklar ishqoriy xususiyatli sutni nordon tomonga suradi, buning natijasida lakmus reagenti 0.1% metilen ko'ki qo'shilgan sut oqarib rangsizlanadi. *Str. pyogens* sut rangini o'zgartirmaydi (71-rasm). Bakteriologik tekshiruvlarning yakunlovchi bosqichida ajratib olingan kulturaning



71-rasm. Lakmusli sutni enterokokklar ko'payganda rangsizlanishi (o'ngda)

antigenlik xususiyatiga asoslanib identifikatsiya qilinadi. Shu xususiyatiga ko'ra, barcha streptokokklar serologik gruppalariga (A, V, S, D va h.k) bo'linadi.

Streptokokklarning serogrupplarini tekshiriluvchi kulturadan olingan polisaxarid pretsipitogen S va zardoblar (asosan keng tarqalgan A, V, S va D serogruppa zardoblari) bilan pretsipitatsiya reaksiyasi qo'yib aniqlanadi. Odam uchun patogen bo'lgan ko'pchilik  $\beta$ -gemolitik streptokokklar A-serologik gruppaga kiradi. Proteindan tashkil topgan tiplarga xos antigenlarning miqdori  $\beta$ -gemolitik streptokokklar bir qancha serovarlarga bo'linadi, ulardan 47 tasi A gruppaga kiradi. Streptokokklar serovari agglyutinatsiya reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Keng miqyosda serologik tekshirishlar va streptokokklarning tipini aniqlash asosan epidemiologik jihatdan ahamiyatga ega bo'lgan tekshiruvlarda o'tkaziladi.

Ajratib olingan streptokokk kulturasi antibiotiklarga sezuvchanligi disk usuli bilan aniqlanadi.

Sepsisga shubhalanganda bemor qoni qandli bulyonga ekiladi va toza kulturasi ajratib (stafilokokklarga o'xshash) olinadi.

**Serodiagnostika.** Streptokokkli infeksiyalarning ba'zi nozologik turlarida KBR yoki pretsipitatsiya reaksiyalari yordamida bemor qonidagi spetsifik antitelalar aniqlanadi. O-streptolizina qarshi antitela asosan revmatizm diagnozini tasdiqlash uchun tekshiriladi. Reaksiya, agar bemor qonida O-streptolizina qarshi antitelalar bo'lsa, ularning aniqlash O-streptolizinning eritrotsitlarni eritish xususiyatini neytrallashiga asoslangan. Reaksiya standart, quritilgan O-streptolizin bilan qo'yiladi. Hozirgi kunda O-streptolizina qarshi antitelalarni aniqlashni IFU ishlab chiqarilgan.

**Dik reaksiyasi** skarlatinadan olingan streptokokklarning eritrogen toksiniga qarshi antitoksinli antitelani aniqlashda qo'llaniladi. Dik toksini bilakning old qismi sohasidagi teri orasiga yuboriladi va 24 soatdan so'ng mahalliy yallig'lanish reaksiyasiga asoslanib, natijasi o'rganiladi. Musbat Dik reaksiyasi skarlatinaga qarshi antitoksinli immunitet yo'qligidan darak beradi, aksincha reaksiya manfiy bo'lsa, immunitet borligi ma'lum bo'ladi, chunki yuborilgan toksin organizmda hosil bo'lgan antitoksin bilan neytrallanadi.

**Stafilokokk va streptokokk yuqumli kasalliklari diagnostikasi, profilaktikasi va davolashda ishlatiladigan preparatlar**

**Stafilokokk anatoksini** (tozalangan va shimdirilgan) nativ anatoksinni uch xlor sirka kislotasi bilan cho'ktirib, so'ngra etil spirti bilan qo'shimcha

tozalash va alyumin gidroksidiga shimdirish orqali olinadi. U yuqori immunogenlik xususiyatga egadir. Anatoksin stafilokokkli infeksiyalarining (yuqish xavfi bo'lgan kishilar – homilador ayollar va yangi tug'ilgan chaqaloqlar, ayrim korxonalarda xizmat qiluvchilar) oldini olish uchun emlashda hamda stafilokokk kasalliklarini davolash maqsadida qo'llaniladi.

**Stafilokokk vaktsinasi** tilla rangli koagulaza musbat stafilokokkning qizdirish yo'li bilan aktivligi yo'qotilgan suspenziyasidan iborat preparatdir. Bu preparat uzoq va sust kechuvchi stafilokokk kasalliklarini davolash maqsadida, aktiv emlashda qo'llaniladi. Ko'pincha autovaksina ham ishlatiladi.

**Stafilokokk antifagi** patogen stafilokokklar kulturasidan olingan, 100°C da qizdirilib, bakterial filtdan o'tkazilgan ekstrakt tarkibida temperaturaga chidamli bo'lgan stafilokokk antigenlarini saqlaydi. Stafilokokk kasalliklarini spetsifik davolashda foydalaniladi.

**Stafilokokkga qarshi odam immunoglobulini** stafilokokk antitoksinga ega bo'lgan qon zardobining gammaglobulin fraksiyasidan iborat preparatdir. U stafilokokk anatoksini bilan emlangan, yuqori titrda antitelalar tutgan donorlar yoki odamlar qonidan tayyorlanadi. Stafilokokk immunoglobulini stafilokokk kasalliklarini spetsifik davolashda qo'llaniladi.

**Suyuq holdagi stafilokokk bakteriofagi.** Stafilokokkning faglar yordamida eritib olingan filtratidan iborat. Stafilokokk kasalliklarini davolash maqsadida teri va muskullar orasiga yuboriladi yoki sirtidan qo'llaniladi.

Diagnoz qo'yishda qo'llaniluvchi stafilokokk faglari – stafilokokklar fagotipini aniqlashda tipga xos faglardan iborat bo'lgan to'plamdir.

**Dik toksini.** Piogen streptokokklardan toza holda ajratib olingan eritrogen toksin. Preparatning aktivligi teriga ta'sir ko'rsatuvchi dozalar bilan belgilanadi. Bolalarda toksinga qarshi immunitet mavjudligini aniqlash maqsadida, teri orasiga yuborib aniqlanadigan Dik sinamasi qo'llaniladi.

**Streptokokk bakteriofagi (suyuq).** Streptokokk fagolizatining filtrati. Sirtidan teri, muskul orasiga yuborilib, streptokokk kasalliklarini davolashda qo'llaniladi.

**Quruq holdagi O-streptolizin.** O-streptolizin aktiv ishlab chiqaruvchi streptokokk bulyonli kulturasining liofil usulda quritilgan filtrati. U serologik reaksiyalar qo'yishda streptokokk infeksiyalari bo'lgan bemor qon zardobida (ko'pincha revmatizmida) anti-O-streptolizinni aniqlashda qo'llaniladi.

Stafilokokk va streptokokklar bilan bir qatorda, yiringli yallig'lanish kasalliklarini grammanfiy tayoqchalar (*Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus* va bosh.) va spora hosil qilmaydigan anaerob (*Peptococcus* sp. *Peptostreptococcus* sp. *Bacterioides* sp. *Veillonella* sp.) bakteriyalar ham keltirib chiqaradi.

### **Ko'k yashil yiring tayoqchasi yuqumli kasalligi qo'zg'atuvchisining bakteriologik diagnostikasi**

Bu bakteriyalar *Pseudomonadaceae* oilasiga, *Pseudomonas* avlodiga kiradi. Bularning ko'pchiligi tashqi muhitda yashaydi, tibbiy ahamiyatga (*Ps. aeruginosa*, *Ps. mallei*, *Ps. pseudomallei*) molik. Bulardan *Ps. aeruginosa* eng ko'p kasallik keltirib chiqaradi. Ko'k yashil yiring tayoqchasi boshqa grammanfiy ichak guruhi bakteriyalaridan fiziologik xususiyatlari bilan farq qiladi, aniqrog'i ular uglevodlarni parchalaydi, lekin ulardan energiya sifatida foydalanmaydi, chunki uglevodlarni ular fermentatsiya qilmaydi, balki oksidlash orqali parchalaydi. Shuning uchun bu bakteriyalarni fermentatsiya qilmaydigan (nefermentiruyushiye) bakteriyalar deb ataladi. Bulardan farqlanib, ichak gruppasi bakteriyalari (hammasi grammanfiy) uglevodlarni fermentatsiya qiladi, oksidlab parchalamaydi. Bakteriyalarning bu xususiyatini Xyu-Leyfson testi orqali oson aniqlanadi. Xyu-Leyfson testi bakteriyalar uglevodlarni fermentatsiya yoki oksidlash yo'li bilan parchalashini aniqlab beradi. Buning uchun glyukozali baland ustunli muhitga tekshirilayotgan kultura ukol qilib ekiladi. Birinchi probirka anaerob sharoitda, ikkinchisi esa aerob sharoitda o'stiriladi. *Ps. aeruginosa* glyukozani faqat aerob sharoitda oksidlab (kislorod ishtirokida) parchalaydi, anaerob sharoitda parchalamaydi, ya'ni fermentatsiya qilmaydi. Ichak gruppasi bakteriyalari uglevodni fermentatsiya qilganligi uchun anaerob sharoitda ham parchalaydi. Bu test bu guruh bakteriyalarni bir-biridan farqlashda ishlatiladi.

***Pseudomonas aeruginosa* (ko'k yashil yiring tayoqchasi) bakteriya kulturasini ajratib olish.**

Ko'k yashil yiring tayoqchasi oziq muhitlarga talabchan emas, oddiy muhitlarda yaxshi o'sadi. O'sish diapazoni 2-42°C bo'ladi. Shuning uchun tashqi muhitda uzoq saqlanadi, odam organizmining yuqori temperaturasi ham ta'sir qilmaydi. O'ziga xos xususiyatlaridan yana biri oziqli muhitlarga bo'lgan minimal chegaralanganligi bo'lib, oziqli muhitlar umuman bo'lmay qolganda ham o'zining hayot faoliyatini yo'qotmaydi.

1-kun. Patologik materiallar (yiring, eksudat, balg'am, siydik, qon va bosh.) qonli va NA ga ekiladi. Qondan ajratib olish stafilokokk va streptokokklardan farq qilmaydi. Ekmalar 37°C da bir sutka davomida termostatga qo'yiladi.

2-kun. *Pseudomonas aeruginosa* qonli va NA yaxshi o'sadi, "shilliq" hosil qiladi, bu virulent izolyatlarining xususiyati hisoblanadi, natijada bulyon va koloniyalarning shilimshiq bo'lishiga olib keladi. *Ps. aeruginosa* tayoqchalari yumaloq, yassi, shilimshiq holdagi ko'k-yashil pigmentli koloniyalar (S-koloniya) hosil qiladi. Ba'zi hollarda *Ps. aeruginosa* qirralari to'lqinsimon, yuzasi notekis (margaritki) koloniyalar hosil qiladi. Pigment hosil qilishi muhim diagnostik ahamiyatga ega bo'lib, pigment muhit yuzasi bo'ylab agarga tarqaladi. Agarining rangi, bemorlardagi bog'lovchi materiallar shu pigment rangiga – ko'k yashil rangga kiradi, bakteriya nomi ham shundan kelib chiqqan.

Koloniyadan olib tayyorlangan nativ – «osilgan» yoki «ezilgan» tomchi preparatlar mikroskop ostida ko'rilganda harakatchan, biroz bukilgan, Gram usuli bo'yicha bo'yalgan surtmada grammanfiy tayoqchalar ko'rinadi. Ajratib olingan sof kulturalarning turini aniqlash uchun ularning biokimyoviy belgilari bo'yicha solishtirib ko'riladi. Biokimyoviy: xemoorganotrof, qat'iy aerob, katalaza musbat. Boshqa aeroblar singari sitoxromoksidaza sintez qiladi va oksidazani aniqlash, ichak guruhi bakteriyalaridan identifikatsiya qilishda asosiy test bo'lib xizmat qiladi. Saxarolitik xususiyati o'ta sust, faqat glyukozani oksidlashi mumkin. Lekin proteolitik aktivligi o'ta yuqori. Bakteriya jelatinani yemiradi, ivigan qon zardobini eritib yuboradi, kazeinni gidroliz qiladi va ko'pchilik shtammlari QA  $\beta$ -gemoliz beradi. *Ps. aeruginosa*ning patogen shtammlari oqsil tabiatli toksinlar (ekzotoksinlar) hosil qiladi. Jumladan, hujayraga ta'sir qilish xususiyatiga ega bo'lgan gistotoksin hamda odam leykotsitlarini erituvchi biologik sinama yordamida aniqlanishi mumkin bo'lgan – leykotsidinlardir.

*Ps. aeruginosa* o'z hayot faoliyatida piotsinlar-bakteriotsinlar sintez qiladi. Bu moddalar grammusbat, grammanfiy bakteriyalarga bakteriotsid, hamda sezilarli fungotsit ta'sirga ham egadir.

*Ps. aeruginosa* yakunlovchi tashxisi morfologik, kultural (xarakterli pigment hosil qilishi), biokimyoviy (oksidaza testi), uglevodlarni fermentlamaligi (glyukozani anaerob sharoitda parchalamaydi, Xyu-Leyfson testi) va jelatinani yemirishi va boshqa xususiyatlariga asoslanib beriladi va boshqa bakteriyalar singari antibiotiklarga sezgirligi aniqlanadi.

Yiringli yallig‘lanishlarni ichak guruhiga mansub bo‘lgan bakteriyalar (E.soli, Proteus sr. va bosh.) va spora hosil qilmaydigan anaerob bakteriyalar ham keltirib chiqaradi.

### **Spora hosil qilmaydigan anaerob bakteriyalar keltirib chiqargan yiringli – yallig‘lanish jarayonlarining mikrobiologik diagnostikasi**

Turli xil yiringli-yallig‘lanish jarayonlarining qo‘zg‘atuvchilari ko‘pincha spora hosil qilmaydigan, Bacteroides, Veillonella, Peptococcus, Peptostreptococcusga kiruvchi bakteriyalar ham hisoblanadi. Ular bir xil va aralash infeksiyalarni o‘zaro birgalikda, hamda aerob bakteriyalar – Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, E. coli va kokklar bilan ham kasallikka sabab bo‘ladi.

Ushbu kasalliklarga mikrobiologik diagnoz qo‘yishda bakteriologik tekshiruvlar asosan qat‘iy anaerob sharoitlarda olib boriladi, chunki juda oz miqdorda havodagi kislorod ham ushbu bakteriyalarning ko‘payishiga to‘sqinlik qiladi. Natijada, ular oziq muhitlarda o‘sa olmaydi.

Tekshiriluvchi materiallar (yiring, yara va shishlardan ajralayotgan suyuqliklar) shpris yordamida, havosi chiqarib yuborilib olinadi. So‘ngra shpris inert gazlar ( $N_2$ ,  $H_2$ ) bilan  $CO_2$  aralashmali probirkaning rezina probirkasiga o‘rnatilgan ignaga ulanadi va unga tekshiriluvchi material yuboriladi. Yuqorida keltirilgan usul maxsus laboratoriyalarda amalga oshirilishi mumkin, ko‘pchilik hollarda patologik material oddiy, gazsiz steril probirkalarda keltiriladi. Ko‘pchilik mutaxassislarning fikricha, bemordan olingan patologik material 1-2 soat ichida laboratoriyaga keltirilsa, maqsadga muvofiq bo‘ladi va anaeroblarni ajratib olish foiziga unchalik ta‘sir qilmaydi.

**Bakteriologik tekshirish.** Tekshiriluvchi materiallar oldindan tayyorlangan BQA (bakterioidlar uchun qonli agar) va QA larga ekiladi va anaerostatga qo‘yiladi. Anaerostatda maxsus anaerobioz sharoitini yaratish uchun uch gaz komponenti (80% azot, 10% vodorod, 10% uglevod oksidi) aralashmasi yoki tabiiy gaz bilan to‘ldirilishi mumkin. Oxirgi yillarda anaerostatda anaerobioz sharoitini yaratish uchun maxsus chiqarilayotgan gaz pakechalaridan foydalanilmoqda. (anaerob bakteriyalarni ajratib olish usullari umumiy bo‘limda keltirilgan).

**Bakterioidlar uchun qonli agar.** Tarkibi: tioglikol kislota-34 gr, agar-36 gr, odam sitratli qoni-50 ml, lizislangan qon-50 ml va gemin-15 gr.

Tayyorlash: 1 litr distillangan suvga tioglikol kislota, agar qo‘shilib qaynatiladi, filtrlanadi, avtoklavda  $112 \pm 1^\circ\text{C}$   $30 \pm 1$  daq. sterilizatsiya qilinadi. So‘ng sovutilib, unga odam sitratli qoni, lizislangan qon va gemin qo‘shiladi va yaxshilab aralashtirilib, steril Petri kosachalariga qalin qilib quyiladi. Bu muhit kislorod bilan to‘yinib qolmasligi uchun oldin tayyorlanib qo‘yilgan asosiy muhitga keyingi komponentlari (sitratli qon, lizislangan qon va gemin) ekishdan oldin qo‘shilib, keragicha tayyorlanadi.

Bundan tashqari, bu bakteriyalarni ajratib olishda klassik usullardan ham foydalanish mumkin. Ya‘ni tekshiriluvchi materiallar qaynatilib, tayyorlangan probirkalardagi Kitt-Tarotsi va yarim suyuq holdagi tioglikolli agarga ekiladi.

Uning tarkibiga achitqi ekstrakti, tripton, sistein, natriy xloridi, tioglikol kislotasi, metilen ko‘ki va 0,75 % li agar kiradi. Ekmalar eksikator yoki anaerostatlarga joylashtirilib, ularni kislorodsiz gazli aralashma, palladiyli katalizator bilan to‘ldiriladi va  $37^\circ\text{C}$  da 2-4 sutka davomida termostatga qo‘yiladi.

O‘sib chiqqan bakteriyalarning kultural va morfotinktorial xususiyatlari o‘rganiladi.

**Bacteroides** shartli patogen bakteriya bo‘lib, asosan yo‘g‘on ichak va ayollar genital organlari normal mikroflorasi tarkibida uchraydi.

Xarakterli turi *Bacteroides fragilis*, oziqli muhitlarga talabchan BQA muhitida kulrang, to‘q jiggar rang, qora koloniyalar hosil qiladi. Shakli – grammanfiy, polimorf tayoqcha (72a-rangli rasm), spora hosil qilmaydi, harakatchan, katalaza musbat.

**Veillonella** shartli patogen, ichakda, og‘iz bo‘shlig‘ida yashaydi. Xarakterli turlari 7 ta, ulardan eng ko‘p *Veillonella parvula*, *V.atypica*. *V.dispar* uchraydi. *Veillonella* qonli agarda yaxshi o‘sadi, koloniyalari mayda, rangsiz, gemolitik xususiyati yo‘q, grammanfiy, qisqa zanjirli kokklar, harakatsiz, kapsula va spora hosil qilmaydi (72g-rangli rasm).

**Peptostreptococcus** shartli patogen, ichakda, og‘iz bo‘shlig‘ida, yuqori nafas yo‘llarida va tanosil organlarida yashaydi. *Peptostreptococcus* larni 9 ta turi uchraydi. Xarakterli turi – *P. anaerobius*. Turli to‘qimalarda yiringli kasalliklarni keltirib chiqaradi. *Peptostreptococcus* qonli agarda yaxshi o‘sadi, sferik shakldagi kokk, o‘lchami 0,5-1,2 mkm, grammusbat, surtmada juft-juft, yig‘ilgan yoki zanjirsimon bo‘lib joylashadi, (72v-rangli rasm) harakatsiz, kapsula va spora hosil qilmaydi.

**Peptococcus** shartli patogen, ichakda, og‘iz bo‘shlig‘ida va urogenital a‘zolarida yashaydi. Faqat bitta turi uchraydi: *Peptococcus niger*, sferik

shakldagi kokk, o'lchami 0,5-1,3 mkm, grammusbat, surtmada juft-juft, yig'ilgan yoki qisqa zanjirsimon bo'lib joylashadi, (72b-rangli rasm) harakatsiz, kapsula va spora hosil qilmaydi. Kulturadan surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab, mikroskop ostida ko'riladi.

Bakterioskopiya kulturalarning bir yoki bir nechta turlarga mansubligini aniqlash imkonini beradi. Hujayralar morfologiyasi va Gram usulida bo'yalishi esa ularning taxminan qaysi zotga mansub ekanligini aniqlashda yordam beradi.

Ajratib olingan kulturalarni ularga xos bo'lgan differensial belgilari asosida qat'iy anaerob sharoitlarda o'stirib, identifikatsiya qilinadi. Antibiotiklarga sezgirliklari ham qat'iy anaerob sharoitlarda o'stirib o'rganiladi.

41-jadval

**Spora hosil qilmaydigan qat'iy anaerob bakteriyalarning differensial belgilari**

Belgilari	Bacteroides	Veillonella	Peptostrep-tococcus	Peptococcus
Bakteriya hujayrala- rining shakli va joylashishi	Mayda polimorf tayoq- chalar	Qisqa zanjirli kokklar	Zanjirsi- mon joy- lashgan kokklar	Qisqa zanjir- simon, yakka- yakka joylash- gan kokklar
Harakatchanligi	±	-	-	-
Sporalar	-	-	-	-
Gram usulida bo'yalishi	-	-	+	+
Karbon suvlarni parchalashi	+	-	+	x
Sutni ivitishi yoki peptonlanishi	-	+	-	+
H <sub>2</sub> S hosil qilishi	±	-	-	-
Indol hosil qilishi	±	-	-	-
Jelatinni suyultirishi	±	+	-	+
Nitratlarni tiklashi	±	-	-	-
Eritrotsitlar gemolizi	-	-	-	-
Toksin hosil qilishi	-	-	-	-

*Shartli belgilar:* + belgi borligi; - belgi yo'qligi; ± belgi doimiy emasligi; x-  
kuchsiz parchalashi.



## 21-MAVZU. JAROHAT ANAEROB INFEKSIYALAR: GAZLI GANGRENA, QOQSHOL QO'ZG'ATUVCHILARI

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Jarohat anaerob infeksiyalarning mikrobiologik diagnostika sxemasini o'rganish.

2. Jarohat anaerob infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasida qo'llaniladigan bakteriologik, bakterioskopik va serologik usullar.

3. Diagnostika, profilaktika va davolash preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Jarohat anaerob infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasida qo'llaniladigan oziq muhitlar, apparatlar.

2. Anaerob infeksiyalar, gazli gangrena, qoqshol qo'zg'atuvchilaridan tayyorlangan tayyor surtmalar.

3. Jarohat anaerob infeksiyalarning morfologiyasiga, kultural xususiyatlariga, mikrobiologik diagnostikasiga bag'ishlangan rangli rasmlar, sxemalar, videoroliklar.

4. Jarohatdan ajratib olingan suyuqlikdagi perfringens toksinini letsitovitellaza sinamasi yordamida aniqlash.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Jarohat anaerob infeksiyalariga (gazli gangrena) shubhalangan bemor yarasidan ajralgan suyuqlikni Kitt-Tarotsi muhitiga ekilgan ekmaning natijasini baholash.

- o'sish xarakterini tasvirlash;

- Gram va Ojeshko usulida bo'yab, preparatda morfologiyasini o'rganish;

- olingan natijalar asosida dastlabki xulosa chiqarish va o'tkaziladigan tekshiruv rejalarini tuzish.

2. Kitt-Tarotsi muhitiga ekilgan bog'lov materiali natijasini baholash.

- o'sish xarakterini tasvirlash;

- Gram usulida bo'yab, preparatda morfologiyasini o'rganish;

- bakteriologik laboratoriyada olingan bakterioskopik, bakteriologik, biokimyoviy va boshqa ma'lumotlar asosida jarohat anaerob infeksiyalar to'g'risida yakunlovchi xulosalar chiqarish.

Jarohat anaerob infeksiyalarning qo'zg'atuvchilari BACILLACEAE oilasi, CLOSTRIDIUM urug'iga mansub bo'lib, tabiatda keng tarqalgan, odam va hayvonlar yo'g'on ichagida uchraydi. Tashqi muhitga najas bilan tushadi, ular spora hosil qiladi, sporasi ko'proq terminal va subterminal joylashadi. Shuning uchun ularning ko'rinishi duksimon bo'ladi (lot. klostridium- duk), nomi ham shundan kelib chiqqan. Jarohat anaerob infeksiyalarning qo'zg'atuvchilari Clostridium avlodiga kiradi. Bu zotga Cl. perfringens, Cl. novyi, Cl. septicum, Cl. sordellii, Cl.

histolyticum, C. difficile, C. tetani C. botulinum lar kiradi. Bulardan Cl. perfringens, Cl. novyi, Cl. septicum, Cl. sordellii, Cl. histolyticum, C. difficile gazli gangrena kasalliklarini, Cl. tetani qoqshol kasalligini va C. botulinum ovqatdan zaharlanish toksikoinfeksiyani keltirib chiqaradi.

### **Gazli gangrena jarohat anaerob infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi**

Asosan kasallikning 90% ni Cl. perfringens keltirib chiqaradi (42-jadval) Qolgan turlari ichida Cl. novyi, Cl. septicum ba'zi kasalliklarda rol o'ynaydi. Qo'zg'atuvchi jarohatga tarkibida klostridiy sporalari bo'lgan tuproq yoki chang tushganda yuqadi. Kasallikni faqat bitta gazli gangrena qo'zg'atuvchilari keltirib chiqarishi kamdan-kam hollarda uchraydi. Asosan, anaerob jarohat infeksiyalarida klostridiylar bilan birgalikda, stafilokokklar, ko'k-yiring tayoqchasi, protey va boshqa klostridiy bo'lmagan anaerob bakteriyalar ham ishtirok etib, kasallik kechishini birmuncha og'irlashtiradi.

**Bakterioskopik tekshiruv.** Shish suyuqliklari yoki nekroz to'qimasidan olib tayyorlangan surtmalarni Gram va Gins usullarida bo'yab, mikroskop ostida ko'rish yo'li orqali o'tkaziladi. Preparatlarda yirik (1 – 1,5 x 3–10 mkm) grammusbat tayoqchalarning borligi (72a-rangli rasm), hamda ulardan bir qismining (Cl. perfringens) kapsula hosil qilishi dastlabki diagnoz qo'yish imkonini beradi.

**Bakteriologik tekshirish. 1-kun.** Tekshiriluvchi material Kitt-Tarotsi solingan ikkita probirkaga, sut solingan ikkita probirkaga va temir sulfitli agarga (Vilson-Bler muhiti) ekiladi. Kitt-Tarotsi muhiti va sut solingan ikki probirkaning biri yot bakteriyalarning vegetativ shakllarini yo'qotish uchun 80°C da 20 daqiqa davomida suv hammomida qizdiriladi.

**2-kun.** Sutga ekilganda 3-4 soatdan so'ng tarkibida ko'piksimon gaz pufakchalari va ajralayotgan tiniq sut zardobidan iborat bulutsimon quyqa hosil bo'ladi. Kelgusi sutkalarda Kitt-Tarotsi muhitida loyqalanish va gaz hosil bo'ladi, Vilson – Bler muhitli agarda esa biroz kechroq agar ustunchasining pastki qismida qora koloniyalar paydo bo'ladi va probirkadagi ustunchali muhit qorayadi (  $\text{Na}_2\text{S}$  va  $\text{FeCl}_3$  dan temir sulfid va  $\text{CO}_2$  hosil bo'ladi), muhit chetlari kesilib, yoriladi (73b-rangli rasm).

Klostridiylarning boshqa tur kulturalarini ajratishda nihoyatda qat'iy anaerob sharoitlar yaratish talab qilinadi.

Barcha ajratib olingan kulturalardan surtmalar tayyorlanib, Gram usulida bo'yaladi va mikroskop ostida ko'riladi.

Gazli gangrena qo'zg'atuvchisi Cl-perfrengens ning asosiy biologik belgi va xususiyatlari

Morfologiyasi	o'sishi	fermentativ xususiyati	toksin	antigen tuzilishi	patogenezi	immunitet	lab.diag.
Gr (+), to'g'ri tayovoqcha, spora hosil qiladi, subterminal joylashadi. Harakatsiz. Kapsula hosil qiladi.	Qat'iy anaerob. pH 7.2-7.4 bo'lgan ozuq muhitlarida R- va M koloniyalar hosil qilib o'sadi. Vilson- Bler muhitida esa 1-3 soatda qora koloniyalar hosil qilib o'sadi. Qonli agarda oldin silliq, keyinchalik g'adir-budur koloniyalar hosil qilib o'sadi.	Qandlarni kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi. Jelatinani suyultiradi. Sutni tez ivoqtiradi. Nitratni nitritga qaytaradi, indol hosil qiladi.	ekzotoksin ajratadi: 1. $\beta - \alpha$ gemo-lizin 2. $\beta$ -nekrotoksin 3. Neyrotoksin 4. Enterotoksin	A, V, S, D, Ye, F serologik variantlarga bo'linadi. A-odam ichagi qonga tushsa NMga kiradi. D- enterotoksiyemiya odam va hayvonlarda, E-nekrotik enterit va V va S guruhlari asosan hayvonlarda kasallik keltirib chiqaradi. F turi yaxshi o'rganilmagan.	Jarohat bilan tushgan mikroob sporasi yaraning chuqur qismida vegetativ formaga aylanadi va turli xil toksinlar va fermentlar ishlab chiqaradi. Bu moddalar muskul va to'qimalarni parchalaydi va chirtitadi.	Kuchli immunitet bo'lmaydi. Antitoksik telalar organik zardob qo'llaniladi. «Diaferm-3» Kislord terapiya usulidan ham foydalaniladi. Maxsus profilaktikasi yo'q	Bakterioskopik Bakteriologik Serologik Biologik Davolash va profilaktikasi Polivalent antitoksik zardob qo'llaniladi. «Diaferm-3» Kislord terapiya usulidan ham foydalaniladi. Maxsus profilaktikasi yo'q

Ijoby natijalarda yirik, grammusbat Cl. perfringens tayoqchalari surtmada ko'riladi.

Sof kulturalarni ajratib olish uchun Petri kosachasidagi qand, qon va tuxum sarig'i qo'shilgan agarlarga ekilib, 37°C da 2-3 kun davomida qat'iy anaerob sharoitda o'stiriladi. O'sgan koloniyalar probirkalardagi Kitt-Tarotsi muhitlariga qayta ekiladi.

Sof kultura qo'zg'atuvchilari biokimyoviy belgilar asosida identifikatsiya qilinadi.

**Toksigenligini bioprobada aniqlash.** Kitt-Tarotsi muhitida o'stirilgan, tekshiriluvchi kulturaning toksigenlik xususiyatini aniqlash uchun muhit sentrifugada aylantiriladi, cho'kmaning ustki qismidagi suyuqlik olinib, dengiz cho'chqachalariga yoki oq sichqonlar qorin bo'shlig'iga yuboriladi, ijoby natijada toksinlar ta'sirida ular halok bo'ladi. Shu maqsadda patologik materiallarni oq sichqonlar yoki dengiz cho'chqachalarining muskullari orasiga yoki qorin bo'shlig'iga yuborib tekshirish mumkin. In'yeksiya qilingan hayvonlarda anaerob infeksiyaning yuqorida tasvirlab o'tilgan manzarasi paydo bo'ladi.

Letsitinazani aniqlash. Ajratib olingan kultura tarkibidagi Cl. perfringens toksinini tezda aniqlash uchun uning letsitinaza aktivligi tekshiriladi. Buning uchun tekshirilayotgan kultura olinib, tuxum sarig'i qo'shilgan Petri kosachasidagi muhit yarmiga ekiladi, qolgan yarmiga ekilgan kulturaga maxsus antizardob ehtiyotlik bilan qavatlantiriladi. Birinchi yarmiga ekilgan zonada  $\alpha$  - toksin (letsitinaza) hosil bo'lsa, ko'zga ko'rinadigan bulutsimon pretsipitat hosil bo'ladi, ikkinchi yarmida esa antitoksin zardob  $\alpha$  - toksinni ingibitsiya qilganligi uchun pretsipitat hosil bo'lmaydi.

Barcha turdagi klostridiylarning toksinlari turli antigenlik xususiyatlariga ega. Shuning uchun ularni serologik usulda identifikatsiya qilish laboratoriya hayvonlarida neytrallash reaksiyasiga asoslangan holda olib boriladi.

Neytralizatsiya reaksiyasi orqali gazli gangrena qo'zg'atuvchilari turini aniqlash. Buning uchun qo'zg'atuvchilarining bulyonli kulturasi filtrati probirkalarga quyilib, turga xos antitoksik antiperfringens, antinovi, antiseptikum va hokazo zardoblar qo'shiladi. Uy temperaturasidagi termostatda 30–40 daqiqa saqlanadi, so'ngra hayvon venasiga yuboriladi. Qo'zg'atuvchi turiga mos keladigan zardob qaysi hayvonga yuborilgan bo'lsa, o'sha hayvon tirik qoladi. Toksin neytrallanmagan hayvonlar 30 daqiqadan 4 soatgacha vaqt ichida halok bo'ladi.

## Patogen anaeroblar – gazli gangrena qo'zg'atuvchilarining xarakteristikasi

Mikrob turlari	Harakatchanligi	Hayvonlar ustidagi tajribalar	Kultural xususiyatlari		Suida o'sishi	Uglevodlarni fermentatsiya qilishi					
			Qonli agarda	Ustunchali agarda		gl'yukoza	laktioza	mannit	saxaroz	maltoza	glitserin
Cl. perfringens	-	Klassik gazli gangrena	R-forma, sershira kulrangnamo koloniyalar, gemoliz zonasi bo'ladi. Koloniyalar rangi keyin o'zgarib, yashilsimon bo'lib qoladi,	Xarakterli disklar, paxta bo'lgi ko'rinishida	Zo'r berib ivitadi	gl'yukoza	laktioza	mannit	saxaroz	maltoza	glitserin
Cl. novyi	+	Liqildoqsimon-serozli shish	Chetlari kertilgan va gemoliz zonasi bo'lgan g'adirbudur kulrang koloniyalar	O'rtasi zich bo'lib turgan paxta bo'lgi ko'rinishida	Asta-sekin ivitadi						
Cl. septicum	-	Serozli qonli shish	Nozik to'rga o'xshab o'sadi, gemoliz zonasi bo'ladi.	Paxta bo'lgi ko'rinishida	Bu ham shunday						
Cl. histolyticum	+	To'qima-ning erishi kuzatiladi	Mayda-mayda silliq koloniyalar, gemoliz zonasi bo'lmaydi	Noto'g'ri shaklli zich paxmoq koloniyalar	Peptonlargacha tez parchalaydi						

## Qoqsholning bakteriologik diagnostikasi

Qoqshol qo'zg'atuvchisi Cl. tetani (73v-rangli rasm) odam organizmiga shikastlangan teri yuzasi va jarohat, yara orqali, ayollarda abort qilinganda, yangi tug'ilgan bolalarda esa kindik yaralari orqali o'tishi mumkin.

Ayollarda qoqsholga shubhalangan hollarda ularning jinsiy a'zolari shilliq qavatidan va abortdan so'ng bachadondan ajralayotgan ajralma olib tekshiriladi.

Infeksiyaning klinik manzarasi tipik bo'lganligi uchun qoqsholda laboratoriya tekshiruvini kamdan-kam o'tkazilib, asosan profilaktik va shubhali hollarda olib boriladi.

Shubhali hollarda jarohatdan chiqqan yiring, muskul to'qimasidan kesib olingan bo'lakchalar, ayollarda qoqsholga shubhalangan hollarda ularning jinsiy a'zolari shilliq qavatidan va abortdan so'ng bachadondan ajralayotgan ajralmalar va murdani yorib olingan material tekshirib ko'riladi. Tekshirish yo'li gazli gangrenada o'tkaziladigan tekshirish bilan bir xil.

Tez diagnoz qo'yish uchun flyuroxrom bilan nishonlangan antizardob yordamida immunoflyuorensensiya reaksiyasi va tekshirilayotgan materialda qoqshol toksinini topish uchun bioproba qo'yiladi.

**Biosinama qo'yish.** Biosinama qoqshol kasalligining laboratoriya diagnozini aniqlashda asosiy usul hisoblanadi va tekshiriluvchi materialda qoqshol mikrobinning toksinini aniqlash uchun ishlatiladi. Buning uchun material hovonchada ezilib, fiziologik eritma qo'shiladi, 1 soat mobaynida saqlanib qo'yiladi, filtrlanadi. Filtrat ikkita oq sichqon orqa oyog'ining sonidagi muskullar orasiga yuboriladi; yana ikkita boshqa (kontrol) sichqonga filtrat qoqsholga qarshi antitoksik zardob bilan birga yuboriladi. Tekshirilayotgan materialda toksin bo'lsa, tajriba sichqonlari yuqoriga ko'tarilib boruvchi tipik qoqshol manzarasi bilan 2-4 sutka davomida o'lib qoladi. Anatoksin ta'sirida toksinning neytrallanish reaksiyasi bo'lib o'tishi sababli kontrol sichqonlar tirik qoladi.

Bakteriologik tekshiruv. 1 - kun. Tekshiriluvchi material Kitt-Tarotsi muhitiga ekilib, anaerob sharoitlarda 37°C da 3-4 sutka davomida o'stiriladi.

2-kun. Cl. tetani bakteriyalarning cho'kma holda o'sganligi kuzatiladi. Materialdan surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi. So'ngra ular Petri kosachasidagi qand, qon qo'shilgan agarga va probirkadagi qand qo'shilgan oziqli agar ustunchasiga qayta ekiladi. Ekmalar anaerob sharoitlarda inkubatsiya qilinadi.

**Patogen anaeroblar – qoqshol qo'zg'atuvchisining xarakteristikasi**

Morfologiyasi	o'sishi	fermentativ xususiyati	toksin	antigen tuzilishi	patogenezi	immunitet	lab. Diag.
Gr (+), to'g'ri tayoqcha, hujayra o'rtasi va chetlarida kiritmalar joylashgan. Sporasi bakteriya uchida terminal joylashadi. Peritrix, kapsula hosil qilmaydi.	Qat'iy anaerob. pH 7.0-7.9 bo'lgan qandli, qonli agarda nozik parda, ayrimlari R-ko-loniyalar hosil qilib o'sadi. Agar ustunchasiga ekanimizda yashmiqqa o'xshash R-ko-loniyalar hosil qiladi. Kitt-Tarotsi muhitida bir xil quyqa hosil qilib o'sadi.	Qandlarni parchalamaydi. Nitratlarni nitritlarga qaytaradi. Jelatinani sekin suyultiradi. Sutni astasekin ivitadi. Fibrinlarni eritadi.	Juda kuchli ekzotoksin ajratadi: 1. tetanolizin 2. tetanospazmin Kasallik patogenezida asosiy rolni tetsanospazmin o'ynaydi. TS sinaplardagi tormozlovchi neyromediatorlar ajralishini to'xtatib qo'yadi. Natijada, har qanday impulslar KT muskullarni kuchli qisqartiradi.	O-, K-, H-antigenlariga ega. 10 ta serotipni mavjud. O-antigeni bo'yicha serotiplarga bo'linadi.	Ot va qoramollar kasallanadi. Kasallik manbai hayvon va odamlar. Shikastlangan teri orqali yuqadi. Nerv sistemasini zararlaydi. O'lim holati 35-70%ni tashkil qiladi.	Anti-toksik kuchsiz immunitet hosil bo'ladi.	Bakterioskopik Bakteriologik Serologik Biologik <b>Davolash va profilaktikasi</b> Qoqsholga qarshi antitoksin, maxsus immuno-globulin. Vaksinalar: AKDS va ADS-M Davolash-antitoksik qon zardobi, otlarni emlab olinadi.

3-kun. Qoqshol tayoqchalari qonli agar sathida nozik, tiniq, atrofida biroz gemoliz halqasi bo'lgan koloniyalarni hosil qiladi. Bakterioskopik tekshiruv yana o'tkaziladi.

Shubhali koloniyalardan sof kultura ajratib olish uchun ular probirkalardagi Kitt-Tarotsi muhitlariga qayta ekiladi va vazelin moyi ostida yoki inert gazlar aralashmasi to'ldirilgan anaerostatlarda saqlanadi, identifikatsiya qilinadi. Biosinama qo'yish mumkin. Olingan natijalar asosida yakuniy javob beriladi.

#### **Profilaktika va davolash preparatlari**

Antitoksinli zardoblar – antiperfringens, antinovi, antiseptikum va bosh. Bular suyuq yoki quritilgan holda, otlarni tegishli anatoksinlar bilan ko'p marta emlab antitoksinli zardobni fermentativ gidroliz (Diaferm-3) usuli bilan tozalab va konsentratsiya qilib bo'lingach olinadi. Jarohat anaerob infeksiyalar (gazli gangrena) profilaktikasida va spetsifik davolashda qo'llaniladi.

Adsorbsiya (shimdirilgan) qilingan qoqshol anatoksini. Qoqshol toksinini formalin bilan zararsizlantirish, so'ngra tozalash, konsentratsiyalash va alyuminiy gidrat oksidiga shimdirish yo'li bilan olingan.

Assotsiatsiyalashgan (birlashtirilgan) ko'kyo'tal-bo'g'ma-qoqshol vaksinasi va boshqa preparatlar tarkibiga kiradi. Qoqsholga qarshi aktiv emlash uchun qo'llaniladi.

Qoqsholga qarshi zardob qoqshol toksini bilan giperimmunizatsiya qilingan otlar qonidan olingan. Diaferm-3 usuli bilan tozalangan va konsentratsiyalangan. Aktivligi xalqaro birlik bilan belgilanadi. Qoqshol profilaktikasi va davolashda qo'llaniladi.

Qoqsholga qarshi odam immunoglobulini, tozalangan, adsorbsiyalangan qoqshol anatoksini bilan qayta emlangan donor kishilar qon zardobining gamma-globulin fraksiyasidan olingan. Teri qavatlari shikastlanganda qoqsholga qarshi zudlik bilan immunitet hosil qilishda ishlatiladi. Qoqshol anatoksini bilan birgalikda, kasallikning boshlanish davrida davolash uchun ham qo'llanadi.

## **22-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: PNEVMOKOKK, MENINGOKOKK, KLEBSIYELLA, LEGIONELLALAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Turli xil bakteriyalar keltirib chiqargan o'tkir nafas yo'llari infeksiyalari va zotiljamning mikrobiologik diagnostikasi.

2. Streptokokk pnevmoniya, klebsiyella pnevmoniya keltirib chiqargan zotiljamning bakteriologik diagnostikasi.



3. Meningokokk va legionellalar keltirib chiqargan kasalliklarning bakteriologik diagnostikasi.

4. Ushbu kasalliklar diagnostikasida, profilaktikasida va davolashda qo'llaniladigan preparatlar.

#### **Namoyish qilish**

1. Zotiljam qo'zg'atuvchilari bo'lmish streptokokk va klebsiyellalar sof kulturasidan va patologik materialdan tayyorlangan surtmalar.

2. Endo va qonli agardagi klebsiyella pnevmoniya va streptokokklarning koloniyalari.

3. Meningokokklarning orqa miya suyuqligidan tayyorlangan va metilen ko'ki, Gram usullarda bo'yalgan tayyor surtmalari.

4. Legionellalar toza kulturasidan tayyorlangan surtmalar va diagnostik sxemalar.

5. Meningokokk, legionellalar, klebsiyella, pnevmoniya va streptokokklarni ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar.

6. Mavzuga bag'ishlangan slaydlar, albom, rangli rasm, slayd va chizmalar.

7. Diagnostika, profilaktika va davolashda qo'llaniladigan preparatlar.

8. KKAga "yo'tal plastinkasi" usulida ekish.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1 Oziqli Endo muhitidagi klebsiyella va qonli agardagi streptokokklar kulturasini natijalash:

- tekshirilayotgan kulturada klebsiyellalar kultural xususiyatini o'rganish;
- tekshirilayotgan kulturada klebsiyella morfologiyasini o'rganish maqsadida Gram va Gins usullarida surtma tayyorlash, mikroskopda ko'rish;
- tekshirilayotgan kulturada qonli agarda streptokokk pnevmoniyaning kultural xususiyatini o'rganish.

2. Burun-halqumdan shokoladli agarga ekilgan ckmadan neyссерiya avlodiga mansub kokklarni topish va ulardan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

3. Meningokokk infeksiyasiga tashuvchanlikni aniqlash maqsadida burun-halqumdan bosma surtma tayyorlash, Gram usulida bo'yash, mikroskopda ko'rish.

4. Mavzudagi qo'zg'atuvchilarni tayyor surtmalarini mikroskopda ko'rish va bakterioskopik va bakteriologik tekshiruvlar natijasida laboratoriyadan olingan (talabalar tegishli analiz natijalari bilan to'ldirilgan blankalar oladilar) ma'lumotlar asosida mavzudagi infeksiya qo'zg'atuvchilari haqida xulosa chiqarish.

## Havo-tomchi infeksiyalarining qo'zg'atuvchilari

Havo-tomchi yo'li bilan tarqaluvchi infeksiya qo'zg'atuvchilariga bakteriyalar, rikketsiyalar, xlamidiyalar, mikoplazmalar va viruslar kiradi. Bu qo'zg'atuvchilarning odamlarga yuqishi asosan yuqori nafas yo'llari orqali kechadi (45-jadval). Lekin ularning ko'pchiligi faqat havo yo'li orqali yuqmasdan, balki kontakt va maishiy ro'zg'or buyumlari, bolalar o'yinchoqlari orqali ham yuqishi mumkin (*Corynebacterium diphtheria*, *Mycobacterium tuberculosis*, parotit va bosh.)

45-jadval

### Havo-tomchi infeksiyalarini qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar

Kasallik qo'zg'atuvchilari	Keltirib chiqargan kasalliklari
<b>Bakteriyalar</b>	
Str. pneumoniaye	Zotiljam, yuqori nafas yo'llari kasalliklari
<b>Klebsiella pneumoniaye</b>	Zotiljam, yuqori nafas yo'llari kasalliklari
<i>Bordetella pertussis</i>	Ko'kyo'tal
<i>Bordetella parapertussis</i>	Ko'kyo'tal
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	Yuqori nafas yo'llari kasalliklari, bo'g'ma
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	O'pka sili
<i>Neisseria meningitidis</i>	Yuqori nafas yo'llari kasalliklari, nazofaringit
<i>Actinomyces bovis</i>	O'pka aktinomikozi
<b>Rikketsiyalar va xlamidiyalar</b>	
<i>Coxiella burnetii</i>	15% hollarda zotiljam
<i>Chlamidia psittaci</i>	Zotiljam
<b>Mikoplazmalar</b>	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Zotiljam
<b>Viruslar</b>	
Gripp viruslari	Gripp kasalligini keltirib chiqaradi
Paragripp viruslari	O'RK (o'tkir nafas yo'llari kasalliklari)
Chinchechak, suvchechak virusi	Chechak va suvchechak kasalliklari
Qizamiq virusi	Qizamiq kasalligi
Parotit virusi	Tepki kasalligi
Adenoviruslar	O'RK, zotiljam, o'rta quloqning yallig'lanishi.
Rinoviruslar	Renit, bronxit va O'RK

Yuqorida keltirilgan mikroorganizmlar turli oila, zot va turlarga kiradi. Ular bir-birlaridan morfologiyasi, o'sishi, biokimyoviy xususiyatlari, antigen tuzilishi bilan alohida farqlanadi.

Ularning ko'pchiligi (Str. pneumoniaye, Klebsiella pneumoniaye, Chlamidia psittaci, Mycoplasma pneumoniaye), asosan pnevmoniyani; boshqalari esa (Mycobacterium tuberculosis, Bordetella pertussis) yuqori nafas yo'llari infeksiyalari bilan bir qatorda, boshqa organlarda ham kasalliklar chaqiradi

Turli mikroorganizmlar tomonidan qo'zg'atilgan yuqori nafas yo'li infeksiyalarining klinik belgilariga ko'ra, ularga o'tkir nafas yo'li kasalligi yoki zotiljam deb diagnoz qo'yiladi. Ularning qo'zg'atuvchilarini esa mikrobiologik tekshiruvlar yordamidagina aniqlash mumkin.

Biz bu bo'limda bakterial havo yo'li infeksiyalari qo'zg'atuvchilari bilan tanishib chiqamiz.

### **Pnevmonokoklar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi**

Str. pneumoniaye Streptococcaceaye oilasiga kiradi. Bular og'ir turdagi zotiljam hamda ko'zning shox pardasida tarqaluvchi yara, ba'zi hollarda esa sepsis va yiringli yallig'lanish jarayonlarini (otit, rinit, meningit va boshqalar) ham qo'zg'atadi. Kasallik manbasi kasal odam va tashib yuruvchilar (20-50% maktabgacha yoshdagi bolalar va 20-25% kattalar). Ko'proq kasallik organizmning rezistentligi pasayib ketganda ( qand kasalligi, OITV va bosh.) kuzatiladi. Str. pneumoniaye kapsula antigeni bo'yicha 84 serovarlarga bo'linadi. 1, 2 va 3 tiplari odamda kasallik keltirib chiqaradi.

Tekshirish uchun material: balg'am, yiringli plevra suyuqligi va boshqalar (4-rangli sxema).

Tekshirish usullari:

1. Mikroskopik. 2. Biologik. 3. Bakteriologik. 4. Serologik.

**1-kun.** Balg'am steril Petri kosachasiga quyiladi va yiringli tugunchalardan olinib, buyum oynasiga qo'yiladi. Ikkinchi buyum oynachasi bilan ezg'ilib, surtma tayyorlanadi va quritilib, qotirilib Gram va Gins usullarida bo'yaladi. Mikroskopda ko'riladi. Agar surtmada grammusbat lansetsimon kapsulali diplokokklar topilsa (4-rangli sxema), dastlabki diagnoz qo'yish imkonini beradi. Tekshirish uchun olingan materialni qonli va zardobli agarlarga ekiladi. Qolgan tampondagi materialni qandli bulyonga solib qo'yiladi. Ekilgan ekmalar termostatga 37° C 18-20 soatga qo'yiladi. Ko'pchilik hollarda materialdagi boshqa

mikroorganizmlar pnevmokokklarni sun'iy oziq muhitlarda ko'payishiga ta'sir ko'rsatadi. Shuning uchun pnevmokokklarni ajratib olishda biologik sinama qo'yiladi. Pnevmonokokklar oq sichqon organizmida juda tez ko'payadi.

**Biosinama qo'yish texnikasi.** Ozroq balg'am (3-5 ml) steril bulyon bilan eritiladi va shu eritmadan 0,5 ml oq sichqonlarning qorin bo'shlig'iga yuboriladi. 5-6 soatdan keyin sichqon kasallanadi, qorin bo'shlig'ida yig'ilgan eksudatdan steril shpris bilan olinib, bakterioskopiya uchun surtmalar tayyorlanadi va Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi, ijobiy natija bo'lsa, eksudat oziq muhitlarga ekiladi va ekmalar termostatga 37° C 18-20 soatga qo'yiladi.

2-kun. Ekmalar termostatdan olinib ko'riladi. Pnevmonokokklar QA da mayda, nozik, biroq ko'kintir rangdagi  $\alpha$ -gemoliz halqa bilan o'ralgan koloniyalar hosil bo'ladi. Morfologik va tinktorial xususiyatlarini o'rganish uchun esa shubhali koloniyadan surtma tayyorlanadi, so'ngra sof kultura ajratish maqsadida qiyalantirilgan qonli agarga yoki zardobli bulyonga ekiladi va ekmalar termostatga 37° C 18-20 soatga qo'yiladi. Birinchi kuni bulyonga solib qo'yilgan tampondan surtma tayyorlanadi, Gram usulida bo'yab ko'riladi.

3-kun. Ekmalar ko'zdan kechiriladi va kulturaning sofligi aniqlanadi – surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi, lansetsimon diplokokklar topilsa, quyidagi xususiyatlari bo'yicha oziq muhitlarga ekilib, identifikatsiya qilinadi:

1. Inulinli muhitga;
2. O't-safroli muhitga;
3. Optoxinga sezgirligini aniqlash;
4. Kapsulaning bo'rtish reaksiyasi.

**Inulin sinamasini qo'yish.** Tekshirilayotgan kultura inulin qo'shilgan lakmus nastoykali muhitga ekiladi va termostatga qo'yiladi. 18-20 soatdan keyin pnevmokokk bo'lsa, muhit qizaradi (boshqa streptokokklar muhit rangini o'zgartirmaydi).

Optoxinga sezgirligini aniqlash. Tekshirilayotgan kultura 10% qonli agarga gazon usulida ekiladi va ekma yuzasiga optoxin shimdirilgan disk qo'yiladi. Boshqa streptokokklardan farqli tomoni pnevmokokk optoxinga sezgir bo'ladi (4-rangli sxema).

O't-safroga sezgirligini aniqlash. Ikkita agglyutinatsiya uchun mo'ljallangan probirkalarga 1 ml dan tekshirilayotgan bulyonli kulturadan olinadi. Birinchi probirkaga quyvon o't-safrosi (40%) bir necha

tomchi tomiziladi, ikkinchi probirka kontrol bo'ladi. Ekmalar termostatga qo'yiladi. 18-20 soatdan keyin birinchi probirkadagi loyqa bulyon (o't-safro pnevmokokklarni eritib yuboradi) tiniqlashib qoladi, kontrolda o'zgarish kuzatilmaydi.

46-jadval

**Str. pneumoniaye va boshqa piogen streptokokklarning differensial belgilari**

Gemoliz xarakteri	Gemoliz xarakteri	Inulinni parchalashi	40% o't-safro eritmasida erishi	Optoxinga sezgirligi
Str. pneumoniaye	$\alpha$	+	+	+
Str. pyogenes va bosh.	$\beta$ va $\alpha$	-	-	-

**Tez diagnoz qo'yish usullari.** Buning uchun biosinamadan (oq sichqonning qorin bo'shlig'idan olingan eksudat) foydalaniladi.

Neyfeld bo'yicha kapsulaning bo'rtish reaksiyasi. Buyum oynasiga 3 tomchi eksudat olinadi. Har bir tomchiga pnevmokokkga qarshi anti qon zardob qo'shiladi: birinchi tomchiga I tipi, ikkinchisiga II va uchinchisiga III tipi. Shundan keyin har bir aralashmaga bir tomchidan metilen ko'ki qo'shiladi va yaxshilab qovuzloq bilan aralastiriladi. So'ng har bir aralashma alohida yopqich oyna bilan yopilib, mikroskopda immersion sistemada ko'riladi. Musbat reaksiyada pnevmokokk tipiga mos kelgan ezilgan tomchi preparatda pnevmokokk kapsulasining bo'rtganligi (nabuxaniya) ko'rinadi.

**Mikroagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.** Pnevmonokokk tipini mikroagglyutinatsiya reaksiyasi orqali ham aniqlash mumkin. Buyum oynasiga 4 tomchi eksudat olinadi. Har bir tomchiga pnevmokokkga qarshi agglyutinatsiyaga uchratuvchi qon zardob qo'shiladi: birinchi tomchiga I tipi, ikkinchisiga II va uchinchisiga III tipi, 4-tomchi kontrol bo'ladi. I va II tip qon zardoblari 1:10 va III tipi esa 1:5 nisbatda oldindan suyultirilgan bo'lishi kerak. Musbat reaksiyada pnevmokokk tipiga mos kelgan aralashmada agglyutinatsiya reaksiyasi kuzatiladi.

Ajratib olingan kultura antibiotiklarga sezgirligi aniqlanadi va yakuniy javob beriladi.

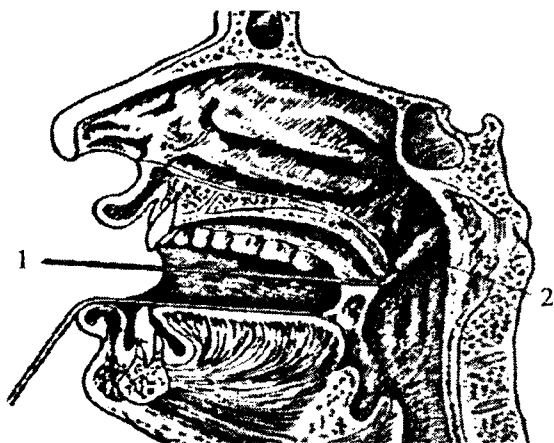
## Meningokokklar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi

Meningokokk infeksiyasining qo'zg'atuvchisi (serebrospinal meningit, nazofaringit, meningokokkemiya) - *Neisseria meningitidis*, *Neisseria avlodiga*, *Neisseriaceae* oilasiga kiradi. Ushbu infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasida asosan bakteriologik usuldan foydalaniladi, chunki bakterioskopiya usulida meningokokklarni ajratib bo'lmaydi. Kasallikning ekspress diagnostikasida immunflyuoresent usul qo'llaniladi. Meningokokklarning tabiiy manbasi odamning burun-halqumi hisoblanadi. Meningokokklar polisaxarid kapsula antigeni bo'yicha 13 seroguruhlariga bo'linadi, bulardan A serogruppasi epidemiya ko'rinishida kasallik chaqiradi, B va C tiplari sporadik kasallik keltirib chiqaradi.

### Mikrobiologik usul

Epidemik serebrospinal meningitda bemor va bakteriya tashuvchilar halqumidan, orqa miya suyuqligidan meningokokklar topiladi.

Olingan materialni laboratoriyaga yuborishda uni sovuqdan va qurishdan saqlash lozim, chunki meningokokklar bu omillar ta'siriga nihoyatda chidamsiz. Bemordan likvorni orqa miya kanalidan aseptika qoidalariga amal qilinib, punksiya qilish yo'li bilan 2-5 ml miqdorda olinadi va 2 qismga bo'linadi; bir qismi sentrifuga qilinadi va hosil bo'lgan cho'kma bakterioskopik tekshiriladi, ikkinchi qismiga esa yarim suyuq holatdagi oziq muhit qo'shib, 37°C da mikroblarni ko'paytirish uchun termostatga qo'yiladi.



74-rasm. Burin halqumdan meningit va ko'kyo'tal kasalliklarida patologik materialni olish usuli. 1-shpatel; 2-material olish uchun tampon

Bakteriya tashuvchilarning halqumidan tekshirish uchun material maxsus tampon (uning 3/4 qismi 45° gacha bukiladi) yordamida halqumning yuqori qismidan (74-rasm) olinadi. Buning uchun steril shpatelni chap qo'lga olib, tilni ildizi tomonga bosish zarur, o'n qo'ldagi steril tamponning egilgan qismi yuqoriga qilinib, yumshoq tanglay osti bilan burun-halqumga kiritiladi va yengil harakat bilan shilliq olinadi.

Tekshirish usullari:

1. Mikroskopik. 2. Biologik. 3. Bakteriologik. 4. Serologik.

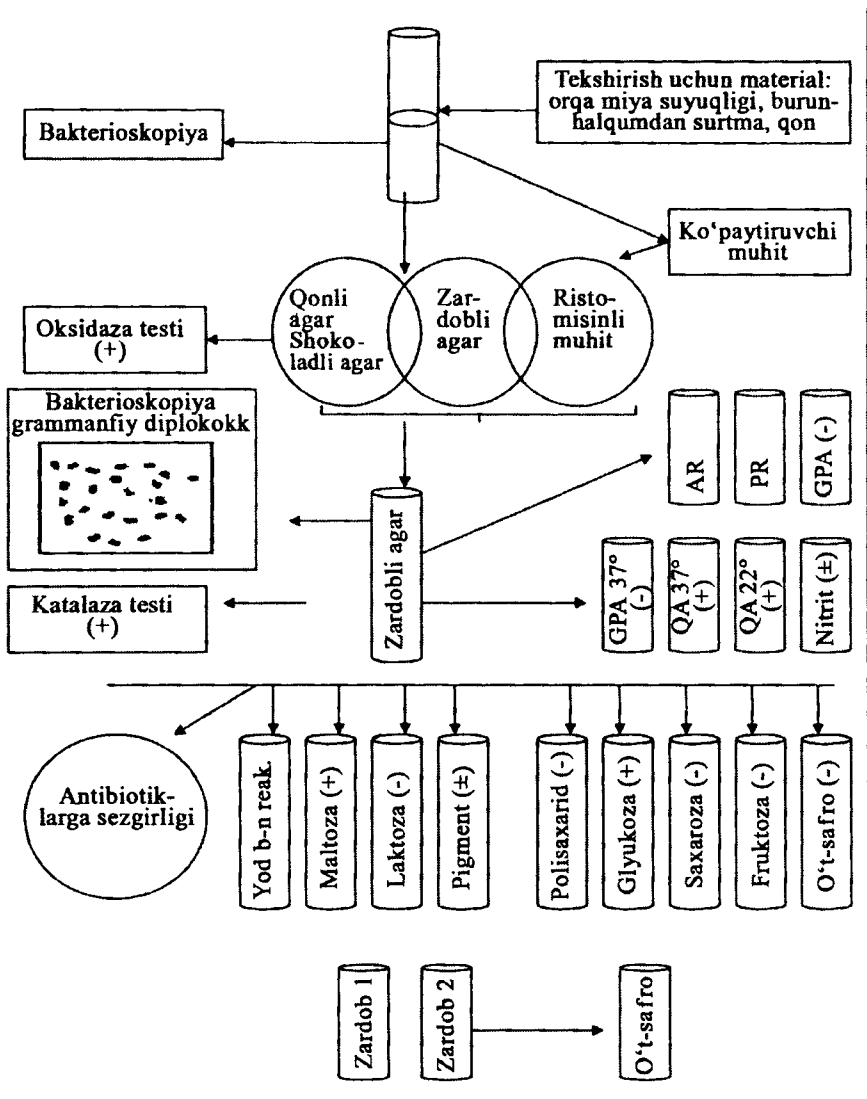
**1-kun. Bakterioskopik tekshiruv** (5-sxema). Likvor cho'kmasidan tayyorlangan surtmalar Gram usulida yoki metilen ko'ki bilan bo'yalib, mikroskop ostida ko'riladi. Ko'pincha yiring bo'lgan xarakterli holatda leykotsitlar ichida joylashgan haqiqiy grammanfiy diplokokklarning ko'rinishi meningokokk infeksiyasi haqida dastlabki xulosa chiqarish imkonini beradi.

Bakteriya tashuvchilarniig halqumidan olingan materialdan surtmalar tayyorlab ko'rilganda meningokokklar bilan bir qatorda, grammusbat stafilokokklar va streptokokklarni hamda patogen bo'lmagan neyссерiyalar – branxamellalar va boshqa bakteriyalarni ham uchratish mumkin. Ularni surtmadagi morfologik xususiyatlariga ko'ra differensatsiya qilib bo'lmaydi.

**Bakteriologik tekshiruv** meningokokklarning o'sishiga imkon beruvchi, tarkibida qon, qon zardobi yoki assit suyuqliklari bo'lgan oziq muhitga tekshiriladigan material qovuzloq yordamida Petri kosachalariga ekiladi. Bundan tashqari, tarkibiga tekshiriluvchi materialdagi grammusbat kokklarning o'sishini to'xtatuvchi va shu bilan birga, meningokokklarning sof kulturasini ajratib olish imkonini beruvchi, ristomitsin antibiotigi (150 TB/ml) qo'shilgan muhit ham qo'llaniladi.

Tekshiriluvchi material ekilib, so'ngra bu muhitlar 48 soat davomida 37°C da termostatda saqlanadi.

**2-kun.** Meningokokk koloniyalari 48 soatdan so'ng hosil bo'ladi. Boshqa kokklar koloniyasidan meningokokk koloniyalari tiniq, ko'kimtir yaltiroq, chetlari tekis, kattaligi to'g'nog'ich boshchasidek bo'lishi bilan farqlanadi. Shokolodli agarda meningokokk koloniyalari kulrang bo'lib, dala sichqoni rangini eslatadi. Meningokokk koloniyalarini o'rganish bilan bir qatorda, oksidaza aniqlanadi. Koloniyalar yig'ilib qolgan joyga bir tomchi dimetif-parafenildiamin tomiziladi. Agar oksidaza musbat bo'lsa, koloniya pushti rangga kiradi. Buning uchun dimetil-parafenildiamin shimdirilgan qog'oz disklar ham ishlatilishi mumkin.



5-sxema. Meningokokklar keltirib chiqargan infeksiyalarni mikrobiologik tekshirish usullari



Bakterial meningit keltirib chiqaruvchi qo'zg'atuvchilarni tekshirishning 24 soatdan keyingi biologik xususiyatlari

Shubhalangan mikroorganizmlar	Muhitlarda o'sishi		Morfolo-giyasi	ShA da koloniyalar atrofining o'zgarishi	Koloni-yalarni 3% KON bilan ishlov berish*	Gram usulida bo'yash	Fermentatsiyasi		
	ZA	ShA					Oksidaza	Katalaza	Ureaza
N. meningitidis	+	+	Kapsulali polimorf diplokokk	-	+	+	-	+	-
H. infuenzaye	-	+	Mayda polimorf tayoqcha	-	+	-	-	+	+
Str.pneumoniaye	+	+	Kapsulali lanset-simon diplokokk	Yashil, sariq	-	+	-	-	-
Str.viridans	+	+	Zanjirsimon kokklar	Yashil	-	+	-	-	-
Listria monocytogens	+	+	Qator yoki burchak hosil qilib joylashgan mayda tayoqcha	Yashil-simon, jigar rang	-	+	-	+	-

**Eslatma:** ZA-zardobli agar; ShA- shokolodli agar; \*- 3% KON eritmasidan bir tomchi olinib, ustiga qovuzloq bilan mikrob koloniyasi aralashtiriladi, agar hosil bo'lgan massa qovuzloq bilan olganda cho'zilib chiqsa, grammanfiy bakteriyalar borligidan darak beradi. Grammusbat bakteriyalar bo'linib-bo'linib ketgan massa hosil qiladi.

O'rganilgan koloniyalardan sof kultura ajratib olish uchun qiyalantirilgan zardobli agarga ekiladi.

**3-kun.** Ajratib olingan sof kultura identifikatsiyasi burun-halqumda yashaydigan saprofit neyссерiyalardan va meningit kasalligini keltirib chiqaruvchi boshqa bakteriyalardan differensatsiya qilish va ularning bir qator belgilari asosida o'tkaziladi (5-sxemada va 47-jadvalda ko'rsatilgan xususiyatlar bo'yicha o'rganiladi). Jumladan, meningokokk faqatgina tabiiy oqsil qo'shilgan muhitdagina o'sadi, boshqa neyссерiyalar esa oddiy muhitlarda o'sib, pigment hosil qiladilar; qon zardobi qo'shilgan Giss muhitida esa meningokokklar glyukoza va maltozalarni kislota hosil qilib parchalaydi. Shu bilan bir qatorda, ajratib olingan sof kulturani antibiotiklarga sezgirliги ham o'rganiladi. Meningokokklarni boshqa o'xshash kokklardan farqlari 47-jadvalda keltirilgan.

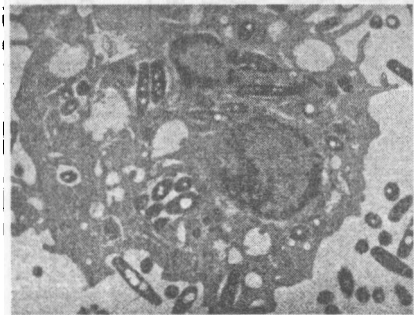
Yuqorida keltirilgan xususiyatlari va serologik reaksiya (PGAR) asosida yakuniy diagnoz qo'yiladi.

### **Legionellalar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi**

Legionellalar hozirgi kunda Legionellaceaye oilasiga va Legionella avlodiga kiritilgan va bu avlodga 30 dan ortiq tur va serovarlar kiradi. Odamlarda asosiy kasallikni Legionella pneumophila keltirib chiqaradi.

AQSH da har yili legionellalar bilan 25000 ga yaqin kishi kasallanadi. Rossiyada esa 1 yilda 100 ta sporadik holat kuzatiladi. Legionellalarning bunday kam aniqlanishiga asosiy sabab, ko'pchilik olimlarning fikricha, legionellalar diagnostikasining murakkabligi va laboratoriyalarda zamonaviy asbob-uskunalar yetishmasligi hisoblanadi.

Legionellalar boshqa bakteriyalardan quyidagi xususiyatlari bilan farq qiladi:



1. Ular spora hosil qilish xususiyatiga ega emas.

2. Ularning o'sishi, ko'payishi uchun maxsus omillar zarur.

3. O'stirish sharoitiga o'ta talabchan (maxsus muhitlar va sharoitlar o'stirish yoki o'stirish vaqtini cho'zishni talab qiladi).

Mikrobiologik usul, asosan, bakteriologik va serologik usullarni o'z ichiga oladi.

75-rasm. Legionella pneumophila alveolar makroflaglar sitoplazmasida.

Legionellalarni klinik materialdan (balg'am va qondan) ajratib olish amaliy jihatdan mumkin emas. Ko'proq qo'zg'atuvchi biopatlarda yoki murda materialidan (o'pka, taloq, jigarda) topish mumkin (75-rasm). Tekshiriluvchi material transport qilinuvchi muhitlarda (buferli, fiziologik) tashilmaydi. Olingan material 1 soat ichida oziq muhitlarga ekilishi zarur. Patologik materialdagi boshqa mikroblar kontaminatsiyasini hisobga olib, o'stirishda polimiksin yoki vankomitsin qo'shilgan achitqi zamburug'i ekstrakti, sistein, temir pirofosfat tutuvchi ko'mirli agar qo'llaniladi. Bundan tashqari, biosinamada dengiz cho'chqachasiga yuqtirish va bosqichli ravishda sof kulturani ajratib olish ham mumkin. Oxirgi yillarda legionellalarni ajratib olishda tovuq embrioni va amyobalardan foydalanilmoqda. Legionellalar diagnostikasi 6-rangli sxemada keltirilgan.

Legionellalar oziq muhitlarda 3-5 kunda o'sib chiqadi. Koloniyalar 3-4 mm diametrda, tekis qirrali, yuzasi silliq, rangi kulrang, shishasimon. Suyuq muhitlarda o'smaydi. Bakterioskopik usulda oziq muhitda o'sgan koloniyalaridan surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab ko'riladi, surtmada grammanfiy, mayda, betartib joylashgan tayoqchalar uchraydi. Harakatchan, spora va kapsula hosil qilmaydi. Legionellalarni tur ichida identifikatsiya qilish, ularni uzun to'lqinli (360nm) UF nurlatishda flyuorescent nur tarqatishiga asoslangan.

48-jadval

### Legionellalar avlodining bioximik belgilari

Belgilari	Legionella pneumophila	Legionella bozemanii	Legionella Micdadei	Legionella dumoffii	Legionella gormanii
Na gippurat gidroliz qilishi	+	-	-	-	-
Oksidaza	+	-	+	-	-
Katalaza	+	+	+	+	+
Jelatina yemirishi	+	+	+	+	+
B- laktamaza	+	+	-	+	+
NO3 NO2	-	-	-	-	?
Ureaza	-	-	-	-	-
Kraxmalni parchalashi	+	+	+	+	?

Yuqorida keltirilgan xususiyatlari va serologik reaksiya (PGAR, KBR, IFU) asosida yakuniy diagnoz qo'yiladi.

Ekspress-diagnostikada tekshirilayotgan patologik materialdagi legionellalar AG ni DNK gibridizatsiya usulida yoki legionellalarni eruvchan AG ni siydikdan topishda immunoflyuorensensiya usulidan foydalanish mumkin.

Bemor qonidan AT aniqlash (AT 2-3 haftasida paydo bo'ladi) PGAR, KBR, IFU va koaglyutinatsiya reaksiyasi bilan ko'proq epidemiologik ahamiyatga ega.

### **Klebsiyellalar nafas yo'llarida keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi**

Klebsiyellalar Enterobacteriaceae oilasiga va Klebsiella avlodiga kiradi. Yuqori nafas yo'lini shikastlovchi klebsiyellalarga Klebsiella pneumoniaye – zotiljam qo'zg'atuvchisi, K. ozayenaye qo'lansa hidli tumov yoki ozena kasalligining qo'zg'atuvchisi va K. rinoscleromatis – rinoskleroma yoki skleroma qo'zg'atuvchilari kiradi.

#### **Uslubiy ko'rsatmalar**

#### **Bakterioskopik tekshiruv.**

**1-kun.** Birlamchi bakterioskopik usul uchun surtmalar balg'am, burundan shilliq olinadi, Gram va Burri-Gins usullari bo'yicha bo'yaladi. Surtmalarda grammanfiy, kapsulali bakteriyalarning aniqlanishi (7-sxema) dastlabki diagnoz qo'yish imkonini beradi. Skleromalarda burundan olingan granulematoz to'qimalar gistologik tarzda tekshirilganda tarkibida klebsiyellalar tutgan o'ziga xos juda katta Mikulich hujayralar borligi aniqlanadi.

**Bakteriologik tekshiruv.** Begona mikrofloralarning o'sishini to'xtatish uchun tarkibiga penitsillin qo'shilgan oziqli agar yoki laktoza va bromtimol ko'ki solingan differensial-diagnostik muhitlarga (Endo, Ploskerova) material ekiladi va termostatga 18-24 soatga 37°C ga qo'yiladi. Oziqli agarda klebsiyellalar yaltiroq bo'rtgan, shilliq koloniyalar hosil qiladi.

Differensial bromtimolli muhitda laktozani parchalamaydigan, skleroma va ozena klebsiyellalari muhit rangiga xos havo rangdagi, bromkrezollisida esa binafsha rangdagi koloniyalar hosil bo'ladi.

Klebsiella pneumoniaye laktoza musbat bo'lganligi sababli sariq rangdagi koloniyalarni hosil qiladi. Endo muhitida esa yuqoridagi turlari och pushti, Klebsiella pneumoniaye esa qizil koloniya hosil qiladi.

## Klebsiyellalarni bir-birlaridan differensatsiya qilinishi

Belgilari	K. pneu- moniaeye	K. ozaenac	K. rinoscle romatis
Glyukozani parchalashi	KG	X	-
Laktozani parchalashi	K	(+)	-
Dulsitni parchalashi	X	-	-
Fogcs Proskauer reaksiyasi	+	-	-
sitratni o'zlashtirishi	+	X	-
Mochevinani parchalashi	+	X	-
Lizindekarboksilaza hosil qilishi	+	X	-
Metil qizil bilan qo'yilgan reaksiya	-	+	+
Malonatni o'zlashtirishi	+	-	+

Shartli belgilar: KG – kislota gaz fermentatsiyada hosil qilishi; K – kislota hosil qilib parchalashi; (+)- sust fermentatsiya; X – ba'zi shtammlari.

**2-kuni** shubhali koloniyalardan surtma tayyorlanadi, Gram, Burri-Gins usullari bo'yicha bo'yaladi va sof kultura ajratib olish uchun qiyalantirilgan agarga va Kliger muhitiga bir necha koloniyalar olib ekiladi. Qiyalantirilgan Kliger muhitiga oldin qovuzloq bilan ukol qilib, keyin shtrix holatda ekiladi.

**3-kuni** ularning agar va Kliger muhitidagi o'sish xarakteri o'rganiladi.

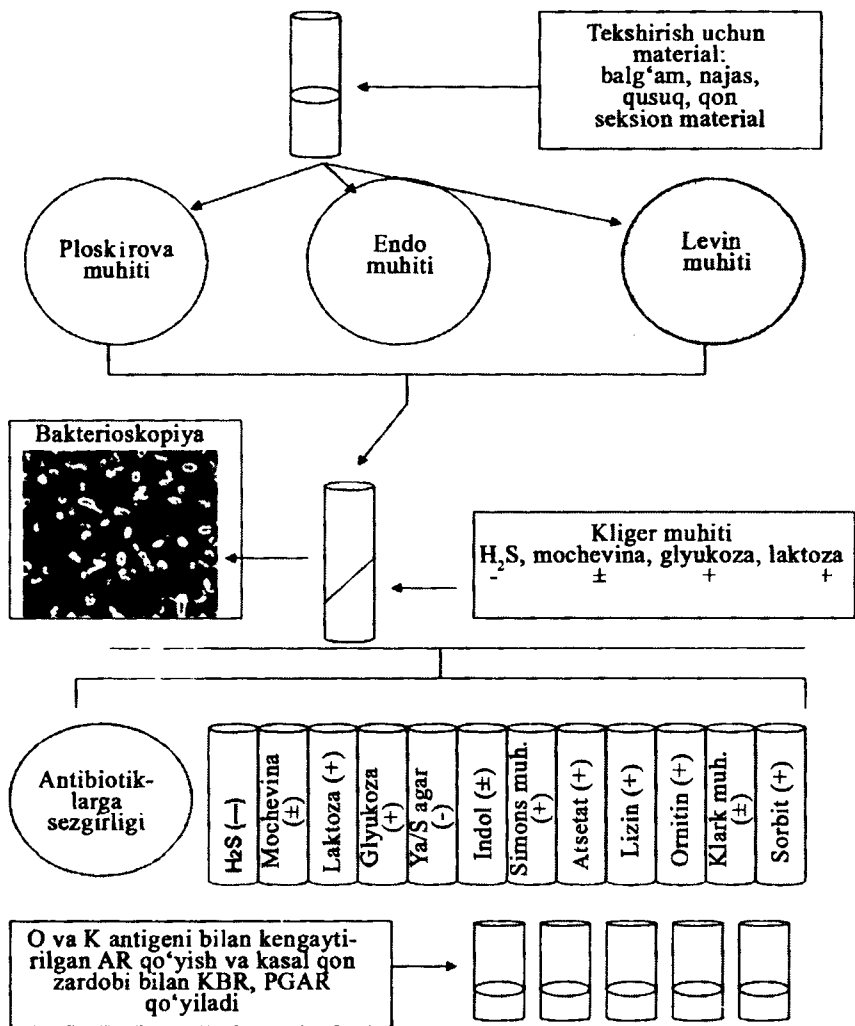
Laktoza manfiy bakteriyalar muhit ustunchasini sariq rangga, laktoza pozitivlari esa butun muhitni sariq rangga bo'yaydi va ko'pincha glyukoza parchalanishi sababli gaz hosil bo'lishi natijasida muhitni yorib yuboradi.

Ajratib olingan kulturani identifikatsiya qilishda, ularning kapsula hosil qilishi, harakatsizligi va boshqa belgilari hisobga olinadi (49-jadval).

Ajratilgan kulturaning serovarini aniqlash uchun esa agglyutinatsiya reaksiyasi yoki tipga xos, kapsulaga qarshi zardob yordamida immunoflyuoressensiya usuli qo'llaniladi.

Serodiagnostika. Bemorlar zardobi bilan komplementni bog'lovchi yoki passiv gemaglyutinatsiya reaksiyasi (skleromaning kimyoviy diagnostikumidan foydalangan holda) qo'yiladi.

Klebsiyellalarni morfotinktorial, kultural, biokimyoviy va antigen xususiyatlari asosida yakuniy xulosa qilinadi.



7-sxema. Klebsiyellalar yuqori nafas yo'llarida keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik tekshiruv usuli

## 23-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: BO'G'MA (DIFTERIYA), KO'KYO'TAL VA PARAKOKLYUSH QO'ZG'ATUVCHILARINING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Bo'g'maning mikrobiologik diagnostikasi sxemalarini o'rganish.
2. Bo'g'mada bakterioskopik va bakteriologik tekshiruvlar.
3. Ko'kyo'tal va parakoklyush qo'zg'atuvchilarining diagnostika sxemalarini o'rganish.
4. Ko'kyo'tal va parakoklyush qo'zg'atuvchilarini bakterioskopik, bakteriologik va serologik tekshiruvlar.
5. Bo'g'ma, ko'kyo'tal va parakoklyush qo'zg'atuvchilarni davolashda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik preparatlar.

### **Namoyish qilish**

1. Bo'g'maning sof kulturasidan tayyorlangan, Neysser va Gram usullarida bo'yalgan surtmalar.
2. Bo'g'maning sof kulturasidan ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar (telluritli, qon zardobi qo'shilgan va Pizu muhitlari).
3. Difteriya kulturalarining agardagi pretsipitatsiya reaksiyada toksigenlik xususiyatini aniqlash.
4. Ko'kyo'tal va parakoklyush qo'zg'atuvchilarining kulturasidan tayyorlangan surtmalar.
5. Ko'kyo'tal va parakoklyush qo'zg'atuvchilarining kulturasini ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar (KKA, Sut qo'shilgan qonli agar, Borde -Jangu muhiti).
6. Bo'g'ma va ko'kyo'tal, parakoklyushlar aks ettirilgan rangli rasm, albom va sxemalar.
7. Bo'g'ma va ko'kyo'tal, parakoklyushlarni davolashda, oldini olishda va diagnostikasida qo'llaniladigan preparatlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. KKAga "yo'tal plastinkasi" usulida ekilgan ekma natijasini baholash. Kultural va morfologik xususiyatlariga baho berish.
2. Bo'g'ma diagnostikasi: burun-halqumdan steril tampon bilan surtma olish, Gram va Neysser usullarida bo'yash, mikroskopda difteroidlarni topish.
3. Bo'g'maga shubha qilingan kishilar yoki bakteriya tashuvchilar tomog'idan olingan materiallardan tayyorlangan surtmalarni mikroskop ostida ko'rish; bo'yash natijalariga asoslanib, dastlabki javobni berish. Bakterioskopik diagnozni tasdiqlash uchun keyingi tekshiruvlar yo'nalishini belgilash.
4. Bo'g'ma diagnostikasi: zardobli agarga ekilgan ekma natijasini baholash. Kultural va morfologik xususiyatlariga baho berish.
5. Ajratib olingan kulturalarni identifikatsiya qilish asosida bakterioskopik va bakteriologik tekshiruv natijalarini solishtirib, yakunlovchi mikrobiologik diagnoz qo'yish.

## **Bo'g'ma (difteriya) qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi**

Bo'g'ma (difteriya) qo'zg'atuvchisi – *Corynebacterium diphtheriae* Actinomycetales tartibiga aloqador bo'lib, biror-bir oilaga kirmaydigan *Corynebacterium* zotiga kiradi.

Difteriya tayoqchalaridan tashqari, bu zotga normal mikroflora vakillaridan bo'lgan psevdodifteriya tayoqchasi *S. xerosis* hamda difteroidlar – *S. pseudodiphtheriticum* va boshqalar kiradi. Korinebakteriyalar uchun umumiy belgilarga quyidagilar kiradi: tuzilishining polimorfligi; spora hosil qilmasligi; kislorod bo'lganda yaxshi o'sishi; xivchinlarining yo'qligi.

Difteriya qo'zg'atuvchisining asosiy biologik belgilaridan biri, uning kasallik patogenezini belgilovchi toksin ishlab chiqarish xususiyatidir, bu xususiyat bilan u boshqa difteroidlardan farqlanadi. Kasallikda mahalliy patologik jarayon, odatda, tomoqda joylashadi, bo'g'ma qo'zg'atuvchisi terida, ko'zda, jinsiy organlarda ham difteriya kasalligini keltirib chiqarishi mumkin (76-rangli rasm). Laboratoriya diagnostikasi bakterioskopik va bakteriologik tekshiruvlar bo'yicha olib boriladi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

Difteriyada tekshirish uchun material olinishida qo'zg'atuvchining qaysi organlarda jarayonni keltirib chiqarganiga bog'liq. Shu bilan bir qatorda, tomoq difteriyasi eng ko'p uchraydi. Tekshirish uchun material 2 ta steril paxtali tampon bilan olinib, biridan surtma tayyorlash, ikkinchisidan ekish uchun foydalaniladi. Material ovqatlanmasdan oldin yoki ovqatlangandan keyin 2 soat o'tkazib olinadi. Antibiotiklar bilan davolanmasdan turib material olinsa, ajratib olish foizi yuqori bo'ladi. Olingan material 2 soat ichida laboratoriyaga yetkazilishi va ekilishi kerak, agar buning iloji bo'lmasa, tampon 5% glitserin yoki fiziologik eritma bilan ho'llab olinadi.

**1-kun.** Olingan material darhol birinchi tampon bilan buyum oynasiga bir necha surtmalar tayyorlanadi, surtmalar quritilib, qotirilib Neysser va Gram usullari bilan bo'yaladi. Bo'g'ma surtmada yengil egilgan tayoqchalar bo'lib, o'lchami 3-6 mkm. Tayoqchanning ikki uchida volyutin donachalari (Babesh-Ernest) joylashgan bo'lib, tayoqchaga fo'g'nog'ich shaklini beradi. Bundan tashqari, bo'g'ma qo'zg'atuvchilari surtmada xarakterli «X» va «V» harfi shaklida yoki iyeroglif ko'rinishida joylashadi (76-rangli rasm, 8-rangli sxema). Shu bilan bir qatorda, bo'g'ma qo'zg'atuvchisi o'ta polimorfizm xususiyatiga ega. Surtmada



tipik shakllari bilan bir qatorda, kokksimon, uchlari yo'g'onlashgan kolbasimon, ipsimon va shoxlangan shakllari ham uchraydi.

Difteroid va psevdodifteriya tayoqchalarida volyutin donachalari bo'lmaydi yoki ular tayoqchalar uchida emas, balki tanachasi bo'ylab joylashadi. Bundan tashqari, bu bakteriyalar surtmada to'da-to'da, qator-qator (chastakol) bo'lib joylashishi mumkin.

Lyuminessent mikroskopik usul tekshirish samaradorligini oshirish imkonini beradi. Bunda bo'g'ma tayoqchalarini psevdodifteriya tayoqchalaridan ulardagi volyutin donachalarining korifosfin-flyuroxrom bilan bo'yalgandan so'ng jigarrang qizil rangda nurlanishidan farqlash mumkin. Bu bakteriya sitoplazmalari yashil yoki sariq rangda nurlanadi. Ammo bo'g'ma tayoqchalari o'zining morfologiyasini tez-tez o'zgartirib turadi, jumladan, tomoq difteriyasini antibiotiklar bilan davolaganda, bu esa kasallikka morfologik xususiyatlari bo'yicha diagnoz qo'yishni qiyinlashtiradi. Shuning uchun kasallik qo'zg'atuvchisini aniq identifikatsiya qilish maqsadida bakteriologik tekshiruv o'tkaziladi.

**Bakteriologik tekshiruv.** Tekshiriluvchi materialdan sof kultura ajratib olish uchun material maxsus elektiv – ivitilgan qon zardobli agarga va Klauberg muhitiga (tellurit natriyli oziqli agarga glitserin va fibrinsizlantirilgan qon qo'shilgan) ekiladi (8-rangli sxema). Bu muhitlarda kokklar va tomoqda uchraydigan boshqa mikrofloralarning o'sishi to'xtatilib, bo'g'ma bakteriyalarining o'sishi uchun esa imkon yaratiladi. Ekmalar termostatga 37°C ga 18-48 soat qo'yiladi.

**2-kun.** Bo'g'ma tayoqchalari zardob qo'shilgan GPA da yumaloq, mayda, markazi zichlashgan koloniyalarni hosil qiladi. Koloniyalar baravar o'sganda, muhit yuzasi saxtiyon terisini eslatadi. Bu muhitda o'sgan koloniyalardan surtma tayyorlanib, Gram, Neysser usullarida bo'yaladi, surtmada tipik bo'g'ma tayoqchalari topiladi.

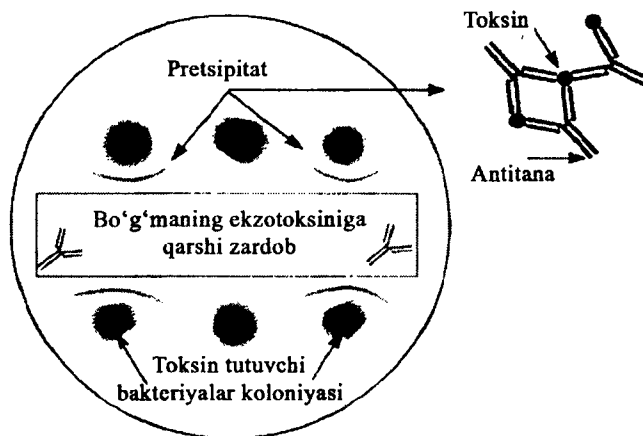
Telluritli muhitda (bu muhit bo'g'ma ko'payishini ham sekinlashtiradi, 24 soat ichida koloniyalari o'smasligi mumkin, shuning uchun 48 soatga termostatda qoldiriladi) bo'g'ma bakteriyalari, telluritni metall telluritgacha qaytaradi va muhitda koloniyalari qora jigarrang bo'lishi mumkin. Bu muhitda bo'g'ma qo'zg'atuvchisi kultural xususiyati bo'yicha 3 biovari tafovut qilinadi: gravis biovari kulrang, qora rangdagi yuzasi radial markazdan periferiyaga ketgan chiziqchali, ko'rinishi "Marvarid" guliga o'xshash (R-koloniya); mitis tipi esa mayda, yumaloq, bo'rtgan yuzasi silliq, qirralari tekis (S-koloniya), intermedius mayda, quruq, qora kulrang chetlari notekis (RS yoki SR yaqin). Oxirgi yillarda bo'g'maning to'rtinchi biovari (bilfantis) ham tafovut qilinmoqda. Bu biovar mitis tipiga yaqin turadi (76-rangli rasm). Telluritli muhitda o'sgan

koloniyalardan odatda surtma tayyorlab, bo'yab o'rganilmaydi, chunki tellurit bakteriyalar morfologiyasiga ham ta'sir etib, ularni o'zgartirishi mumkin. Sof kulturasini ajratib olish uchun zardob qo'shilgan GPA ga ekiladi (zardob qo'shilgan muhitlarda qo'zg'atuvchi o'zining morfologik va boshqa xususiyatlarini tiklab oladi) va termostatga qo'yiladi.

**3-kun.** Ajratib olingan kulturalar o'ziga o'xshash, ammo patogen bo'lmagan korinobakteriyalardan morfologik xususiyatlari, saxaroza, glyukoza, kraxmallarni parchalashi, sistinaza fermenti, toksigenlik va antigenlik xususiyatlari bo'yicha farqlanadi (50-jadval).

Bo'g'ma bakteriyalarining toksin ishlab chiqarish xususiyatlarini aniqlash diagnostikada eng muhim xususiyatlardan biri hisoblanadi, chunki bo'g'ma qo'zg'atuvchisini tabiatda ikki xil shtammi uchraydi. Birinchisi, toksigen – odamda bo'g'ma kasalligini keltirib chiqaradi, ikkinchi tip shtammi esa toksigen bo'lmaydi va amaliy ahamiyati yo'q. Shuning uchun bo'g'maning toksigenligi aniqlanadi va shu asosda tashxis qo'yiladi. Oxirgi yillarda bo'g'maning toksigenlik xususiyatini aniqlashning bir qancha usullari taklif qilingan (laboratoriya hayvonlarida, hujayra kulturasida va gelda diffuziya pretsipitatsiya reaksiyasi). Amaliyotda ko'proq gelda diffuziya pretsipitatsiya reaksiyasi qo'llaniladi.

**Bo'g'ma qo'zg'atuvchisining toksigenligini aniqlash.** Buning uchun Petri kosachasidagi (tarkibiga 15 – 20% ot zardobi, 0,3% maltoza va 0,03% sistin qo'shilgan) oziq muhit sathiga, 5000 AE/ml tutuvchi bo'g'maga qarshi antitoksinli zardob shimdirilgan 1,5 x 6 sm kattalikdagi filtr lenta qo'yiladi.



77-rasm. Bo'g'maning toksigenligini gelda pretsipitatsiya reaksiyasi orqali aniqlash.

Kosachalar 30 daqiqa 37°C da termostatda turgandan so'ng tekshiriluvchi kulturadan qovuzloq bilan olinib, filtr qog'oziga perpendikulyar ravishda 0,6 - 0,8 sm masofada pilakcha ko'rinishida ekiladi (tekshirilayotgan kulturadan kamida 4-5 koloniya olib ekishi kerak). Ikkinchi tomoniga kontrol sifatida ma'lum bo'lgan toksigen shtammi ekiladi. Ekmalar 37°C da termostatga kelgusi kungacha qoldiriladi.

50-jadval

**Bo'g'ma tayoqchalari va ularga o'xshash korinobakteriyalarning biologik xususiyatlari**

Korinobakteriya vakillari	Volyutin donachalari	Gemoliz	Parchalashi			Toksigenligi	Sistinaza	Ureaza	Maxsus qon zardob bilan AR qo'yish	Odamda difteriya keltirib chiqarishi
			Saxaroza	Glyukoza	Kraxmal					
S. diphtheriae	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
S. xerosis	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
S. pseudodiphtheriticum	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Toksigen xususiyatga ega bo'lgan kulturalar o'sganda, ajralib chiqqan toksin va filtr qog'ozdagi antitoksin agarga shimiladi, ular uchrashgan zonada pretsipitat, ya'ni oziq muhitda ko'zga ko'rinadigan oq chiziqchalar (mo'ylovchalar) hosil bo'ladi (77-rasm). Toksigen bo'lmagan shtamlarida pretsipitat hosil bo'lmaydi.

Bo'g'maning identifikatsiyasida qo'shimcha ravishda sistinaza, ureaza sinamallari va agglyutinatsiya qiluvchi bo'g'ma zardobi bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi.

**Sistinazani aniqlash** uchun (Pizu sinamasi) sistin qo'shilgan probirkadagi ZA ustunchasiga tekshiriluvchi kultura sanchib ekiladi. Ekma 37°C da kelasi kungacha termostatga qo'yiladi. Chin bo'g'ma tayoqchalari sanchib ekilgan yo'nalishda qo'rg'oshin sulfid hosil bo'lishi natijasida muhit qorayadi, muhit sathidan 1 sm pastroqda qoramtir «bulutcha» paydo bo'ladi.

*Corynebacterium diphtheriae* qo'zg'atuvchisi boshqa difteroidlardan farqlanib, toksigenlik xususiyatga, sistin aktivligiga ega va maxsus qon zardobi bilan AR musbat bo'ladi. Bundan tashqari, qo'shimcha fermentativ xususiyatlari va epidemiologik jihatdan zarur bo'lsa, fagotiplari o'rganilib, yakuniy javob beriladi.

51-jadval

***Corynebacterium diphtheriae* biovarlarining bir-birlaridan farqlari**

Xususiyatlari	Biovarlar		
	gravis	mitis	Intermedius
Fermentatsiyasi:			
glyukoza	+	+	+
saxaroza	+	-	-
kraxmal	+	-	-
glikogen	+	-	-
sistin aktivligi	+	+	+
Gemoliz qilishi	+	+	+
Telluritli muhitda o'sishi	Katta, quruq, kulrang qora, o'rtasi ko'tarilgan yassi, yuzasi g'adir-budur (R-koloniya)	Mayda, yumaloq, bo'rtgan yuzasi silliq, qirralari (S-koloniya) tekis	Mayda, quruq, qora kulrang, chetlari notekis (RS yoki SR yaqin)
Bulyonda o'sishi	Loyqatadi, plyonka hosil qiladi, cho'kmaga mayda yoki katta-katta bo'lakcha bo'lib probirkani tagiga tushadi	Loyqatadi, keyinchalik bulyon tiniqlashadi va mayda bo'lakcha bo'lib probirka tagiga tushadi	Bir xil ko'rinishda loyqatadi va poroshoksimon bo'lib cho'kmaga tushadi

**Koklyush va parakoklyush (ko'kyo'tallarni) qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi**

Ko'kyo'tal qo'zg'atuvchisi – *Bordetella avlodiga* (biror bir oilaga kiritilmagan) mansub bo'lib, bularga 3 ta tur kiradi: *Bordetella pertussis*; *Bordetella parapertussis*; *Bordetella bronchoseptica*. *Bordetellalar* yosh bolalarning yuqumli kasalligida muhim rol o'ynaydi.

Asosiy kasallik yuqori nafas yo'llarining yallig'lanishi va to'xtovsiz yo'tal bilan boruvchi ko'kyo'tal kasalligini *Bordetella pertussis* keltirib

chiqaradi. *Bordetella parapertusis* esa odamlarda parakoklyush (koklyushga o'xshash) kasalligini keltirib chiqaradi. *Bordetella bronchoseptica* asosan it, mushuk, qayonlar burun-halqumida koklyushni eslatuvchi respirator kasalliklar keltirib chiqaradi. Ba'zi hollarda odamlarda ham respirator kasallik keltirib chiqarishi mumkin.

*Bordetellalarning* asosiy, o'ziga xos xususiyatlari: mayda, grammanfiy kokkobakteriya, xemoorganotrof, oksidlash metabolizmi ustun turadi, qat'iy aerob. Xarakterli xususiyatlaridan biri ular tashqi muhitga o'ta chidamsiz hisoblanadi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

**Bakterioskopik tekshiruv** (9-rangli sxema). *Bordetella pertussis* ni tezda aniqlash va identifikatsiya qilish uchun immun-flyuoressent usuldan foydalaniladi. Tekshiriluvchi material steril paxtali tampon yordamida bemor bolaning burun-halqumidan olinadi. Kichik yoshli bolalardan esa material ingichka egiluvchan simlardan tayyorlangan maxsus tamponlar yordamida burundan olinadi.

Tampondan ikkita surtma tayyorlanadi, ular havoda quritilib, alangada qotiriladi. Birinchi surtmaga flyuoressensiya qiluvchi ko'kyo'talga qarshi zardob bilan, ikkinchisiga esa parako'kyo'tal (parakoklyush) zardobi bilan ishlov beriladi. Preparatlar lyuminessent mikroskop ostida ko'riladi; bu holda kamida 50 ta ko'rish maydoni tekshiriladi. Ijobiy hollarda *B.pertussis*ra xos qora rangdagi hujayralar, ular atrofida esa nurlanuvchi hoshiya kuzatiladi.

**Bakteriologik tekshiruv. 1-kun.** Bu tekshiruv ko'kyo'talning laboratoriya diagnostikasida asosiy usul hisoblanadi. Ekish uchun material burun-halqumdan tampon yoki «kosachalarga yo'talish» usuli (yuqorida ko'rsatilganidek) bilan olinadi. Buning uchun bemor bolalarda yo'tal boshlangan vaqtda oziq muhitli ochiq holdagi Petri kosachasini og'izga yaqin keltirib, 6-8 marotaba yo'talgunga qadar ushlab turiladi. Materialni to'g'ri va barvaqt olish, ko'kyo'tal mikroblarini kasallikning boshlanish davrida yuqori foizlarda bemorlardan ajratib olish imkonini beradi.

Tampon bilan olingan materialni ko'mir qo'shilgan kazeinli agar (KKA), sut qo'shilgan qonli agar yoki kartoshka - glitserinli, qonli agarga (Borde-Jangu muhitga) ekiladi. Yot mikrofloraning o'sishini to'xtatish uchun oziq muhitlarga penitsillin qo'shiladi. Ekish uchun muhitga tampon bilan bir necha sektor qilinadi, so'ng tampon aylantirilib, muhit yuzasiga shtrix qilib ekib chiqiladi. Ekmalar termostatga 37°C 2-5 kun qo'yiladi.

**2-kun.** *B.pertussis* koloniyalari ko'rsatilgan muhitlarda odatda 48-72 soatdan so'ng, parako'kyo'tal koloniyalarda esa birmuncha barvaqt –

24-48 soatdan so'ng paydo bo'ladi. Shuning uchun bir kunlik inkubatsiya koklyush bakteriyalarining o'sishiga yetarli bo'lmaydi. Bordetellalar koloniyasini ko'rishda stereoskopik binokulyar mikroskopdan foydalaniladi.

**3-kun.** Bordetellalar stereoskopik binokulyar mikroskopda ko'rilganda juda mayda (0,5-1 mm ga yaqin diametrl) Borde-Jangu muhitida gumbazsimon nam, yaltiroq, simob yoki shudring tomchisini eslatadigan va marvariddek tovlanadigan koloniyalar hosil qiladi. KKA da esa rangi bir oz kulrang bo'lishi mumkin. Parako'kyo'tal koloniyalar birmuncha yirik bo'ladi.

Oxirgi yillarda koklyushni ajratib olish juda qiyinchilik bilan amalga oshirilmoqda, chunki bemor bolalarni shifokorlarga ko'rsatmasdan, otionalari uyda antibiotiklar bilan davolashadi. Shuning uchun shifoxonaga tushgan bemorlardan B.pertussis ni ajratib olish foizi juda past. Ekmalarda metodik ko'rsatmalarda yozilgan qo'zg'atuvchilarning ko'plab koloniyalari topilmaydi. Shuni e'tiborga olgan holda ekmalar juda ahamiyat berilib ko'zdan kechiriladi, agar birorta shubhali koloniya topilsa, muhitning material ekilmagan joyiga qovuzloq bilan surkab ekib, koloniyalarini ko'paytirib olish mumkin yoki qiyalantirilgan KKA dan sof kultura ajratib olishda foydalaniladi. KKA da esa rangi bir oz kulrang bo'lishi mumkin. Parako'kyo'tal koloniyalar birmuncha yirik bo'ladi.

Borde-Jangu va sutli-qonli agarlarda ular katta bo'lmagan gemoliz halqasini hosil qiladi. Shubhali o'sgan koloniyalardan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yab, mikroskop ostida ko'riladi. Surtmalarda ovoid (tuxum) shakldagi grammanfiy tayoqchalar ko'rilganda (9-rangli sxema), ko'kyo'tal va parako'kyo'tal zardoblar bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. So'ngra shubhali koloniyalardan bordetellalarning sof kulturasi ajratib olib, kelgusida o'rganish uchun probirkalardagi differensial muhitlarga ekiladi (53-jadval).

**4-kun.** B. pertussis boshqa bordetellalardan farq qilib, oddiy oziqli agarda o'smaydi va maxsus oziq muhitlarda o'sganda rangini o'zgartirmaydi.

**Ureazani aniqlash.** Buning uchun agglyutinatsion (mayda) probirkalarga 0,3 ml 2% li mochevina eritmasi, qovuzloqda mikroob kulturasi aralashtiriladi va 2-3 tomchi fenoltaleinning 0,1% spirtli eritmasi aralashtiriladi. Agar reaksiya musbat bo'lsa, 20-30 daqiqadan so'ng malina rangiga bo'yaladi, bu esa mochevinani ureaza parchalaganligini ko'rsatadi.

**Tirozin sinamasini qo'yish.** 0,1% tirozin qo'shilgan qiyalantirilgan GPA tekshirilayotgan kultura ekiladi va termostatga kelgusi kungacha

qoldiriladi. Parakoklyush bu muhitda o'sadi, muhit jigarrangga kiradi, ko'kyo'tal qo'zg'atuvchisi tirozinli muhitda o'smaydi.

52-jadval

### Bordetellalarning differensial (farqlovchi) belgilari

Belgilari	B. pertussis	B. parapertussis	B. broncho-septica
Harakatchanligi	-	-	+
sitratni o'zlashtirishi	-	-	+
Ureaza hosil qilishi	-	+	+
Nitratlarni reduksi-yaga uchratishi	-	-	+
GPA o'sishi	-	+	+
Borde-Jangu muhitida:			
24-48 soatda o'sishi;	-	+	+
72-96 soatda o'sishi	+		
Gistaminga sichqon sezgirligi oshishi	+	-	-
Maxsus termolabil AG:			
1-faktor	+	-	-
12-faktor	-	-	+
14-faktor	-	+	-

Bordetellalarning serologik jihatdan o'ziga xosligini, turlarga ajralishini va serovarlarini aniqlash uchun buyum oynasida tur maxsuslikka ega zardoblar yordamida agglyutinatsiya reaksiyasi quyiladi. Bunda 7-antigen (omil) avlod, 1-antigen faktor (omil) B. pertussis, 14-antigen B. parapertussis va 12-antigen – B. bronchiseptica ga tegishlidir.

Bakteriologik tekshiruv eng kamida 5 kun davom etadi.

Ko'kyo'talning bakteriologik diagnostikasida bordetellalarning Hayemophilus zotiga kiruvchi gemoglobinofil bakteriya Hayemophilus influenzaye dan differensatsiya qilishga to'g'ri keladi. Inflyuents nafas yo'lining shilliq qavatlarida uchrab, ayrim yallig'lantiruvchi kasalliklarni keltirib chiqaradi. H. influenzaye bordetellalardan farqlanib, faqat qonli oziq muhitlar – qonli agar, tarkibida X faktori (gemin) va V faktori (koenzim degidrogenaza) bo'lgan Levintalning «shokolad» agarlaridagina o'sadi. Ajratib olingan kulturalarni morfologik, kultural, biokimyoviy va serologik xususiyatlarini o'rganish asosida identifikatsiya qilinadi.

**Serodiagnostika.** Agglyutinatsiya va KBR asosan retrospektiv diagnozni aniqlash uchun va ko'kyo'talning notipik formalarini differensatsiya

qilishda qo'llaniladi. Bemorlar qonida agglyutininlar kasallikning 3-4-haftasida, 1:20 va undan yuqori titrlarda paydo bo'ladi. Oxirgi yillarda immunoferment usuli (IFU) ishlab chiqilgan. Diagnostik titri 1:20 va undan ortiq hisoblanadi. Serologik diagnostikada shunga ahamiyat berish zarurki, bolalar ko'kyo'talga qarshi ommaviy vaksinatsiya qilinganda (emlanganda) antitelalar qonda topilishi mumkin. Shuning uchun AT titrining kasallik dinamikasida ma'lum darajada ortishi diagnostik ahamiyatga ega bo'ladi. Shuni hisobga olgan holda 4-5 kundan so'ng reaksiya yana qayta qo'yiladi, agar birinchi marotaba qo'yilganda AT titri ikki barobar yoki undan yuqori bo'lsa, diagnoz qo'yish mumkin.

### **Diagnostika, profilaktika va davo preparatlari**

**Shik toksini bo'g'ma bakteriyalarining sof holdagi ekzotoksinidan** iborat. U bolalarda bo'g'maga qarshi antitoksinli immunitetni aniqlash uchun teri orasiga yuboriladi. Agar bolalarda immunitet bo'lsa (antitoksik), kiritilgan joyda reaksiya kuzatilmaydi, bo'lmasa qizarib, reaksiya ro'y beradi.

**Adsorbsiya qilingan, tozalangan bo'g'ma anatoksini (AD)** formalin bilan zararsizlantirilgan, qizdirilib, so'ngra tozalangan va alyumin gidrat oksidida adsorbsiya va konsentratsiya qilingan (quyultirilgan) difteriya ekzotoksinidir. Bo'g'maga qarshi aktiv emlashda qo'llaniladi. Adsorbsiya qilingan bo'g'ma – qoqshol (stolbnyak) anatoksinlari ADC va AKDC tarkibiga kiradi.

**Bo'g'maga qarshi antitoksinli zardob.** Bo'g'ma anatoksini bilan bir necha marta emlangan ot qonidan olinib, diaferm – 3 usuli bilan tozalanadi va konsentratsiyalanadi. Zardob faolligi xalqaro birlik bilan belgilanadi. Bo'g'mani davolashda va profilaktika qilishda qo'llaniladi.

**Bo'g'maga qarshi agglyutinatsiya qiluvchi zardob** (polivalentli va tiplarga xos). Bo'g'ma bakteriyalarini difteroidlardan farqlashda qo'llaniladi.

**AKDC vaksinasi.** Shimdirilgan (adsorbsiya qilingan) ko'kyo'tal-bo'g'ma va qoqshol vaksinasi. Bu formalin yoki mertiolat ta'sirida o'ldirilgan ko'kyo'tal bakteriyalari, alyumin gidroksidga shimdirilgan, tozalangan. konsentratsiya qilingan bo'g'ma va qoqshol anatoksinlari aralashmasidan iborat. Bolalarni ko'kyo'talga, bo'g'maga va qoqsholga qarshi birgalikda emlash uchun qo'llaniladi.

**Odamning normal immunoglobulini.** Bu odamning yo'ldoshi yoki vena qonidan olingan. Tarkibida ko'pchilik yuqumli kasalliklar qo'zg'atuvchilari, jumladan ko'kyo'tal qo'zgatuvchilariga qarshi spetsifik antitelalar bor. Ko'kyo'talni davolashda va passiv profilaktikada qo'llaniladi.

Agglyutinatsiya hosil qiluvchi, adsorbsiya qilingan (omilli) zardoblar. Ko'kyo'tal bakteriyalarini serologik differensatsiya qilishda qo'llaniladi.



## 24-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: TUBERKULOZ, MOXOV VA AKTINOMIKOZ QO'ZG'ATUVCHILARINING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Silning mikrobiologik diagnostikasi, sxemalarini o'rganish.
2. Silda bakterioskopik va bakteriologik tekshiruvlar.
3. Moxov va aktinomikoz qo'zg'atuvchilarining diagnostika, sxemalarini o'rganish.
4. Moxov va aktinomikozda bakterioskopik, bakteriologik va serologik tekshiruvlar.
5. Sil, moxov va aktinomikozlarni davolashda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik preparatlar.

### **Namoyish qilish**

1. Sil qo'zg'atuvchisining sof kulturasidan tayyorlangan, Sil – Nilsen usulida bo'yalgan surtmalar.
2. Sil qo'zg'atuvchisining sof kulturasini ajratib olishda qo'llaniladigan, Hi Media Laboratories Pvt ltd kompaniya taqdim etgan laboratoriya, texnik vositalar va oziq muhitlar: klinik materialni olish (polipropilli bir marta qo'llaniladigan paxtali steril tamponlar) vositalari; materialni yig'ish va laboratoriyaga yetkazib berishda qo'llaniluvchi vositalar termasi; oziq muhitlar va ularni tayyorlash usullari.
3. Moxov va aktinomitsitlar qo'zg'atuvchilarining sof kulturasidan tayyorlangan surtmalar.
4. Aktinomitsitlarning kulturasini ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar va ularni tayyorlash usullari.
5. Sil, moxov va aktinomikozlar aks ettirilgan rangli rasm, videofilm, albom va sxemalar.
6. Sil, moxov va aktinomikozlarni davolashda, oldini olishda va diagnostikada qo'llaniladigan preparatlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Sil mikobakteriyalari morfologiyasini o'rganish maqsadida silga shubha qilingan bemordan olingan balg'amdan preparat tayyorlash, Sil-Nilsen usulida bo'yash, mikroskop ostida ko'rish. Xulosa chiqarib, bakterioskopik diagnozni tasdiqlash uchun bakteriologik tekshiruv rejalarini tuzish.
2. Sil kasalligida bakteriologik tekshiruv sxemasini o'rganish: tekshiriluvchi kulturani Levenshteyn–Iensen muhitida o'sish xarakterini, niatsin sinamasi natijalarini, sil mikobakteriyalarining antibiotiklar va ximiyaterapevtik preparatlarga bo'lgan sezuvchanligini aniqlashning zamonaviy usullari. Silga qarshi preparatlarning turli konsentratsiyasi qo'shilgan Levenshteyn–Iensen muhitida mikobakteriyalarning o'sa olishi yoki o'sa olmasliklari. O'tkazilgan tekshirishlar asosida yakunlovchi xulosa chiqarish.

3. *Actinomyces zotiga* taxmin qilinib, (Saburo muhitida) ajratib olingan kulturaning morfologiyasi, kultural va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish natijasida olingan laboratoriya ma'lumotlariga ko'ra xulosa chiqarish.

4. Kolienterit va iyersiniozlarning bakteriologik diagnostikasi – birinchi bosqich: kolienterit va iyersiniozlarga shubha qilingan bemor najasini Endo va Levin muhitlariga ekish.

### **Sil kasalligining mikrobiologik diagnostikasi**

Sil kasalligi ko'plab mamlakatlarning sog'liqni saqlash tizimida asosiy muammolardan biri bo'lib qolmoqda va o'lim ko'rsatkichi yuqoriligi saqlanib kelmoqda. Sil kasalligi qo'zg'atuvchisi *Mycobacteriaceae* oilasiga va *Mycobacterium* avlodiga mansub bo'lgan, kislotaga va spirtlarga chidamli, aerob, harakatsiz, to'g'ri yoki biroz egilgan tayoqchasimon bakteriyalardir.

Mikobakteriyalar tarkibida 60% gacha yog'lar va mum tutadi. Shuning uchun bu bakteriyalar Gram usulida bo'yalmaydi, ular maxsus usullarda bo'yaladi. Tip xususiyatini namoyon qiluvchi turi *Mycobacterium tuberculosis* hisoblanadi. Mikobakteriyalar tabiatda juda keng tarqalgan, ba'zi ma'lumotlarga qaraganda ularning 200 dan ortiq parazit va saprofit turlari ma'lum. Hozirgi kunda 30 ta turi yaxshi identifikatsiya qilingan. Mikobakteriyalarning hozirgi kunda keng tarqalgan klassifikatsiyasi ularning ikkita xususiyatiga asoslanadi: koloniya rangiga va o'sish tezligiga. Shu asosda ularni (Ranon) 5 gruppaga bo'lishadi. Birinchi gruppasiga patogen mikobakteriyalar (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. leprae*, *M. leprae murium*) va qolgan 4 gruppasiga esa atipik mikobakteriyalar kiritilgan. Odamlarda sil kasalligini asosan *M. tuberculosis* keltirib chiqaradi, *M. bovis* qora mollarda kasallik keltirib chiqaradi va odamlar uchun ham patogen hisoblanadi. *M. leprae* esa moxov kasalligini keltirib chiqaradi.

Kasallik asosan havo-tomchi yo'li orqali, ayrim hollarda me'da-ichak yo'li bilan ham yuqishi mumkin. Inson uchun patogen bo'lgan mikobakteriyalar 53-jadvalda keltirilgan.

Silning mikrobiologik diagnostikasida qo'llaniladigan asosiy usullar 10-rangli sxemada keltirilgan.

#### **Uslubiy ko'rsatmalar**

Tekshirish uchun material: balg'am, eksudat, yiring, me'da, bronxlardan yuvib olingan chayindi suvlar, likvor, siydik. Konservatsiya qilish va birga uchraydigan mikrofloralarning o'sishini to'xtatish uchun patologik materialga laboratoriyaga yuborishdan oldin natriy fosfatning 10 % li eritmasi qo'shiladi.

## Sekin o'sadigan patogen mikobakteriyalarning biologik belgisi

Xususiyati	M. tuberculosis	M. bovis	M. microti	M. leprae	M. avium	M. scrofulaceum
Manbasi	Odam	Hayvonlar	Kemiruvchi	Odam	Qushlar	Tash. muhit
Odam uchun patogenligi	+++	++	±	+++	+	+
Kasallik ko'rinishi	Sil	Sil	Teri granulomasi	Moxov	Silga o'xshash	Limfadenitlar
Odamdan-odamga yuqishi mumkinligi	Yuqadi	Judakam hollarda	Yuqmaydi	Yuqadi	Yuqmaydi	Yuqmaydi
Koloniyasining ko'rinishi	R-koloniya	Maydatinig®	S-koloniya		S-koloniya	S-koloniya
Ureaza aktivligi	+	+	+		-	+
Nitratlarni tiklashi	+	-	-		-	±
Katalaza	-	-	±		±	+
Niatsinni akkumlatsiyasi	+	-	-		-	-

**Bakterioskopik tekshiruv** (10-rangli sxema) sil kasalligi diagnostikasida asosiy usullardan biri hisoblanadi. Balg'am Petri kosachasiga solinib, qora fon ustiga qo'yiladi. Qovuzloq yoki ajratib oluvchi maxsus shpatellar bilan yiringli bo'lakchalar olinib, buyum oynachasining bir chekkasiga yaqinroq qo'yib, ikkinchi oynacha bilan ezib, surtma tayyorlanadi. Laboratoriyaga keltirilgan likvorni muzlatkichga qo'yib tindiriladi, sil mikobakteriyalari va hujayra elementlaridan tashkil topgan nozik fibrin pardasidan olib surtma tayyorlanadi.

Siydik sentrifuga qilinadi, hosil bo'lgan cho'kmadan surtma tayyorlanadi.

Siydikdan tayyorlangan preparatlar, sil mikobakteriyasini, sog'lom odam siydigida uchrashi mumkin bo'lgan *M. smegmatis* dan differensatsiya qilish uchun faqat kislota bilangina emas, balki spirt bilan ham ishlov berib rangsizlantiriladi. Surtmalar Sil-Nilsen usulida bo'yalib, mikroskop ostida preparatdagi 100 tagacha bo'lgan ko'rish maydonchalaridagi mikroblar tekshiriladi. Sil mikobakteriyalari to'q qizil rangga bo'yalib, yakka yoki kichik to'dachalar holida joylashadi (9-sxemaga qaralsin).

Surtmadan sil qo'zg'atuvchisini topish ancha murakkablik tug'diradi, chunki bu usul bilan topish uchun qo'zg'atuvchi 1 ml balg'amda  $10^5$  dan kam bo'lmasligi kerak, undan kam bo'lsa, aniqlash ehtimoli kamayadi, chunki bitta buyum oynasida tayyorlangan surtma maydoni, immersion sistemada ko'rilganda 10 000 ko'rish maydonini tashkil qiladi. Agar 1 ml mikroblar soni kam bo'lsa, biz ko'rayotgan 100-200 ko'rish maydonidan mikroskopda sil qo'zg'atuvchisini aniqlash mumkin bo'lmay qoladi. Shu sababli tekshiriluvchi materialda sil mikobakteriyalari nihoyatda kam uchraganda «boyitish» usulidan foydalaniladi. Bu usul asosini – gomogenizatsiya va flotatsiya usullari tashkil qiladi.

**Gomogenizatsiya** (maydalash, eritish) usuli bir kecha-kunduz davomida yig'ilgan balg'am miqdori steril kolbaga solinadi va gomogenizatsiya qilish uchun unga teng miqdorda 1 % natriy ishqori (yoki antiformin) qo'shib, kolba rezina probka bilan mahkam yopiladi. 10-15 daqiqa davomida chayqatiladi, sentrifuga va kislota bilan neytralizatsiya qilingandan so'ng, cho'kmadan surtma tayyorlanadi va Sil-Nilsen usuli bilan bo'yaladi.

**Flotatsiya usuli.** Balg'am gomogenizatsiya qilinadi va  $55^{\circ}\text{C}$  da 30 daqiqa davomida suv hammomida qizdiriladi. So'ngra 1-2 ml ksilol, distillangan suv solinib, 10 daqiqa davomida qaytadan chayqatiladi va 20 daqiqa uy haroratida qoldiriladi. Natijada, yuza sathida suzib chiqqan ksilol tomchilariga mikroblar birlashgan ko'pik hosil bo'ladi.

Pipetka yoki qovuzloq bilan ko'piksimon qismi olinib, bir necha buyum oynasiga surtib, undan surtma tayyorlanadi. Surtma efir bilan moysizlantiriladi, so'ngra qizdirib, fiksatsiya qilinadi va Sil-Nilsen usuli bilan bo'yaladi.

Lyuminessent mikroskopiya usulini qo'llash patologik materialda sil mikobakteriyalarini ko'p hollarda topish imkonini beradi.

Mikroskopik tekshiruv usuli taxminiy bo'lib, tekshiriluvchi materialda kislotaga chidamli bakteriyalarni aniqlashga yordam beradi. Ammo ularning qaysi tur va tipga tegishli ekanligini aniqlay olmaydi.

**Bakteriologik tekshiruv** silga diagnoz qo'yishda asosiy usullardan hisoblanadi. Ekish uchun oldindan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  bilan ishlov berilgan tekshiriluvchi materialdan foydalaniladi; ishlov berilmagan material ekishdan oldin 10% li sulfat kislota yoki 4-6% li NaOH eritmasi bilan bir necha daqiqa birga uchraydigan mikroblardan ozod qilish uchun ishlov beriladi, so'ngra kuchli chayqatib, sentrifugalanadi. Hozirgi kunda boshqa mikroblarni kontaminatsiyasi uchun Xay mediya kompaniyasi taklif qilgan "Mikopren"preparatidan foydalaniladi.

Mikopren o'z tarkibida mikolitik xususiyatga ega bo'lgan va balg'amni tez suyultirib yuboruvchi N-atsetil- L- sistein (NALC) tutadi. Boshqa bakteriyalarni dekontaminatsiyasini preparatga qo'shilgan NaOH bajaradi, preparat tarkibidagi fosfatli bufer ishqor ta'sirini minimumga keltiradi va shu bilan bir qatorda, materialni sentrifuga qilganda, mikobakteriyalarning cho'kish effektivligini oshiradi.

Preparat bilan ishlov berilgan tekshiriluvchi material maxsus Xay mediya kompaniyasi taklif qilgan flakondagi qiyalantirilgan Levenshteyn-Yensen (muhit tayyor holda chiqariladi, 1 qutichada 25 flakon bo'ladi) yoki boshqa muhitlarga ekiladi (11-rangli sxema).

Levenshteyn-Yensen muhiti yangi tuxum suspenziyasi, kartoshka uni, glitserin, asparagin, kaliy digidrofosfat, magniy sulfati va sitrati, malaxit ko'klari qo'shib tayyorlanadi. Finn-II muhiti bizning mamlakatimizda mikobakteriyalarni ajratib olishda ikkinchi standart muhit hisoblanadi. Levenshteyn-Yensen muhiti asosida tayyorlanadi, undan farqi L-asparagin o'rniga glutaminat natriy va tuzlar shunday olinganki, muhitning oxirgi pH = 6,3-6,8 teng bo'ladi va Levenshteyn-Yensen muhitiga nisbatan ancha yuqori stabillikka ega. Ekilgan flakonlar bir necha soat vertikal holatda (ekilgan material bir me'yorda agar yuzasiga tarqalishi uchun) saqlanadi va 37°C da 3-4 kun gorizontol holatda, so'ng qolgan muddatga termostatda vertikal holatda saqlanadi. Mikobakteriyalarining birinchi generatsiyalari, ayniqsa, sekin o'sadi.

Ushbu mikobakteriya kulturalari granulatsiyalangan, notekis och-krem rangda bo'lib, g'adir-budur, quruq parda ko'rinishida bo'ladi (11-rangli sxema).

Ajratib olingan sil mikobakteriyasini identifikatsiya qilishda va uni potentsial-patogen mikobakteriyalardan differensatsiya qilishda morfologik va tinktorial xususiyatlari (78-rasm), oziq muhitlardagi o'sish muddatlari va xarakteri, biokimyoviy belgilari va laboratoriya hayvonlari

uchun virulentlik xususiyatlari hisobga olinadi. Ko'pincha, biokimyoviy belgilaridan tekshiriluvchi kulturalarning nikotin kislotani sintez qilishi (Kononin niatsin sinamasi) aniqlanadi. Bu muhim xususiyatlardan biri bo'lib, uning yordamida nikotin kislotasini yaxshi sintez qiluvchi *Mycobacterium tuberculosis* ni bu kislotani kam miqdorda hosil qiluvchi *M. bovis* tayoqchalaridan farqlash mumkin.

**Niatsinni aniqlash.** Buning uchun suyuq muhitdagi mikobakteriyaning kulturasiga 1 ml KCN va 1 ml % li xloramin eritmaları qo'shiladi. Agar niatsin topilsa, bir necha daqiqadan so'ng tiniq, sarg'ish rang paydo bo'ladi. KCN neytrallanishi uchun probirkadagi natijalar ko'rilgach, uning tarkibiga 10% li natriy gidrokarbonatidan 3-5 ml qo'shiladi.

Sil bakteriyalariga tez diagnoz qo'yish uchun Prays mikrokultura usuli qo'llaniladi.

**Prays mikrokultura usulini qo'yish.** Bir necha buyum oynachasida (bir chekkasiga yaqin) tekshiriluvchi materialdan qalin surtma tayyorlanadi. Surtma qurigach, unga bir necha daqiqa davomida 2-6% li sulfat kislota eritmasi bilan ishlov beriladi va neytralizatsiya qilinadi. So'ngra buyum oynachalari flakondagi 1:4-1:8-suyultirilgan, gemolizlangan sitratli qonga solinadi va termostatga qo'yiladi. 7-14 kundan so'ng buyum oynachalari olinib, preparat fiksatsiya qilinadi, Sil-Nilsen usulida bo'yab, mikroskop ostida ko'riladi (11-rangli sxema).

Virulent shtammlari, ko'rinishi arqon yoki o'rilgan sochga o'xshash (kord-faktor) mikrokulturalar hosil qiladi.

Sil mikobakteriyalarining antibiotik va ximiyaterapevtik preparatlarga bo'lgan sezuvchanligi ketma-ket suyultirish usuli orqali aniqlanadi.

Shu maqsadda birinchi va ikkinchi tartibdagi bakteriyaga qarshi preparatlarning turli konsentratsiyasi 5, 10, 50 mkg/ml streptomitsin: 5, 10, 50 mkg/ml PASK; 1,5, 10, 25 mkg/ml tubazid; 30 mkg/ml sikloserin va etionamidlar qo'shilgan probirkalardagi Levenshteyn - Yensen muhitiga 0,1 ml sil mikobakteriya suspenziyasi ekiladi. Natijalar inkubatsiyaning 12-21-kuni ko'riladi. Sil mikobakteriyalari chidamliligining klinik chegaralari: streptomitsin - 5 mkg/ml, PASK - 10 mkg/ml, tubazid - 1 mkg/ml, sikloserin va etionamid - 30 mkg/ml. Hozirgi kunda sil qo'zg'atuvchilarini ximiyaviy preparatlarga sezgiriligini o'rganish uchun preparatlar to'plami tutuvchi qiyalantirilgan Levenshteyn-Yensen muhiti chiqariladi (11-rangli sxema). Tekshirilayotgan kulturalar flakondagi preparat tutuvchi muhitlarga

ekiladi. Preparat ta'siri tekshirilayotgan kultura chidamliligining klinik chegarasidan yuqori bo'lsa, sil tayoqchalari o'smaydi, ta'siri past bo'lsa, o'sishi davom etadi.

**Biosinama.** Bu usul tekshiriluvchi material yuborilgan hayvon a'zolaridan sil mikobakteriyasining sof kulturasini birinchi diagnoz qo'yishdayoq ajratib olish hamda ularning virulentlik xususiyatini aniqlashda qo'llaniladi.

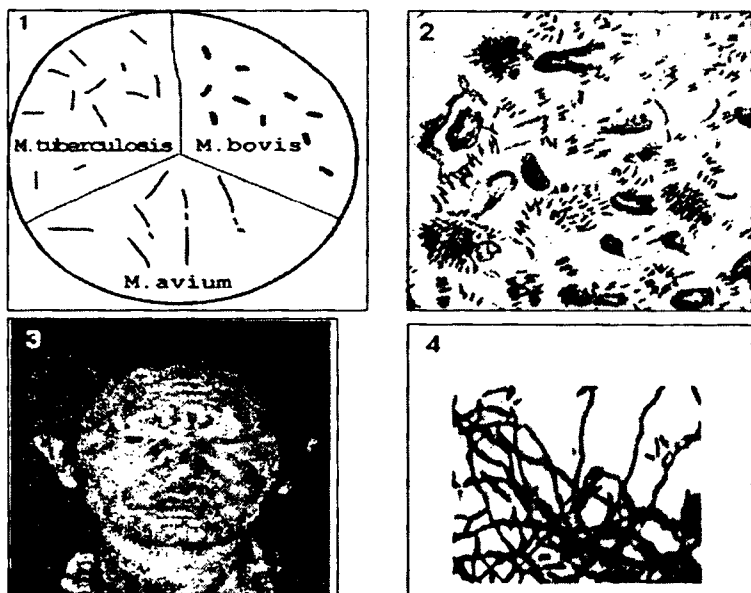
Tekshiriluvchi materialga yot mikrofloradan qutilish maqsadida sulfat kislota bilan ishlov beriladi, neytrallanadi, tuberkulin reaksiyasi manfiy bo'lgan dengiz cho'chqachalariga 2-3 ml miqdorda teri ostiga yuboriladi. Agar ular 4 oydan so'ng halok bo'lmasa, u holda o'ldiriladi, yoriladi va organlari makro va mikroskopik usul bilan tekshirilib, oziq muhitlarga ekiladi. *M.tuberculosis* dengiz cho'chqachalari uchun yuqori patogenlik xususiyatiga ega, quyonlarga esa kam patogendir. *M.bovis* esa dengiz cho'chqachalari va quyonlarga nisbatan patogen emas.

Serodiagnostika. KBR va PGAR lari qo'llaniladi. Musbat natijalar organizmda sil kasalligi avj olgan paytda hamda sil mikobakteriyalari organizmda bo'lgan taqdirda va BSJ bilan emlanganda qayd etiladi.

**Teri-allergik sinama.** Tuberkulin – sil mikobakteriyasidan olingan sof oqsil fraksiyasidan iborat bo'lib, odamlardagi allergik holatni xarakterlash uchun kasallik yuqqan yoki yuqmaganligini aniqlash, silning yuqqanligini, kechish jarayonini bilish, emlashning samaradorligini aniqlashda, silga qarshi revaksinatsiya (qayta emlash) o'tkazishda kontingentlarni tanlash maqsadlarida qo'llaniladi. Tuberkulin teri orasiga qat'iy belgilangan dozada yuboriladi. Reaksiya natijalari 24-48 soatdan so'ng hosil bo'lgan qizarish (giperemiya) va papulalar asosida aniqlanadi ( 66-rasmga qaralsin).

**M.lepraye.** Moxov (prokaza) surunkali yuqumli kasallik bo'lib, asosan terining yopqich qavati – endoderma va periferik nerv sistemasini jarohatlanishi bilan boradi.

Moxovning mikrobiologik diagnostikasi asosan bakterioskopik va gistologik kesmalarni bo'yab ko'rishga asoslangan. *M.lepraye* oziq muhitlarda o'smaydi, lekin oxirgi yillarda ba'zi bir ma'lumotlarda moxovning bakteriologik usulda ajratib olinganligi e'lon qilinmoqda. Laboratoriya hayvonlari ham *M. lepraye* ga sezgir emas, eksperimental kasallik keltirib chiqarib bo'lmaydi. 1974-yilda Smoppca o'z muallifdoshlari bilan armadil bronenoslarda moxov kasalligini eksperimental keltirib chiqarganligini e'lon qildi. 40 % hayvonlarda moxovning tarqalgan shakli kelib chiqqan va uning to'qimalardagi



78-rasm. 1. Sil qo'zg'atuvchilarining toza kulturasi; 2 – Leproz do'mboqchadan olinib Sil-Nilsen usulida bo'yalgan surtma; 3 – Moxovning lepromatoz shakli; 4 – A. bovis toza kulturasi (Gram usulida bo'yalgan).

miqdori odam to'qimalarida uchrashi ekvivalentidan 100 marotaba ko'p bo'lgan.

**Moxovning mikroskopik diagnostikasi.** Ko'pchilik mutaxassislarining fikricha, mikroskopik usulda moxov mikobakteriyalari topilmasa, davolovchi shifokor kasallikning klinik manzarasiga qarab diagnoz qo'yishi mumkin (78-rasm). Ammo laboratoriya tekshiruvida moxov mikobakteriyasining topilishi diagnoz aniq bo'lishini ta'minlaydi.

Moxovning lepromatoz xilida boshqa turlariga nisbatan mikobakteriyalar ko'proq topiladi. Yuqori nafas yo'llari, masalan, burun shilliq qavatidan olingan surtmalardan preparat tayyorlanadi. Buning uchun burun bo'shlig'i yaxshilab tozalanadi, buni bemorning o'zi bajarsa ham bo'ladi. So'ngra avvaldan tayyorlab qo'yilgan doka tampon o'ralgan tayoqchalar bilan burunning ichki devoridan surtmalar olinadi va bir nechta buyum oynasiga qalinligi bir xil qilib surtiladi. Burundan odatdagi ajrab turgan shilimshiqni olish yaramaydi. Ularda moxov mikobakteriyasi juda kam yoki umuman bo'lmasligi mumkin. Surtmalarni olishda juda ehtiyot bo'lish va burun devorini shikastlab qo'ymaslik kerak. Aks holda surtmaga qon aralashib, mikobakteriyalarni topish mushkullashadi.



Moxov mikobakteriyalarini topishda zararlangan teri tuki piyozining suyuqligidan tayyorlangan surtmalarni mikroskop ostida tekshirish yaxshi natija beradi. Terining zararlangan qismidan to'qima suyuqligini olishdan avval shu joy spirt yoki efir bilan yaxshilab artib tozalanadi. Bunda birinchidan, aseptikaga rioya qilinsa, ikkinchidan, teridagi kislotalarga chidamli ba'zi saprofit mikobakteriyalardan tozalanadi.

Mo'ljallangan teri sathini chap qo'l barmoqlari bilan qisib turib, sterillangan o'tkir jarrohlik pichog'i (skalpel) bilan uzunligi 5 mm, chuqurligini 2,5-3 mm qilib tilinadi. So'ngra ajralgan suyuqlikni skalpelda qirib olib, buyum oynasida bir necha surtmalar tayyorlanadi.

Qisib tutilgan barmoqlar qo'yib yuborilganda tilingan joydan, odatda, bir oz qon chiqib turadi, bu tilish to'g'ri bajarilganidan dalolat beradi. To'qima suyuqligi qosh, peshona, quloq supراسi, bel va dumba sohasida joylashgan lepromalardan olinadi. Yaraga aylangan lepromalardan ham surtmalar tayyorlash mumkin. Surtmalar Sil-Nilsen usulida bo'yaladi. Ammo moxov mikobakteriyalari sil mikobakteriyalariga nisbatan kislotalarga chidamsiz bo'lib, preparatni rangsizlantirishda ehtiyot bo'lish kerak. Bo'yalgan surtmalarda moxov mikobakteriyalari qizil yoki pushti rangda bo'lib, to'da-to'da (78-rasm), ba'zan esa yakka-yakka holda joylashadi. Sil mikobakteriyalari burchak yoki rim harfi shaklida ko'rinsa, moxov mikobakteriyalari parallel tayoqchalar shaklida biroz uzunroq bo'lib ko'rinadi.

Surtmada moxov mikobakteriyalarini topish asosan tekshirilayotgan materialdagi moxov bakteriyalarining miqdoriga bog'liq. Ularni topish uchun tekshiriladigan 1 ml materialda kamida 10.000-100.000 mikobakteriya bo'lishi kerak. Buning uchun bitta surtmada 60-100 ta ko'rish maydonini ko'zdan kechirib chiqish kerak. 1-2 dona mikobakteriyalarni topish diagnozni tasdiqlay olmaydi. Ko'rish maydonidagi mikobakteriyalar sonini sxema bo'yicha quyidagicha belgilanadi: 0-mikobakteriyalar yo'q, + shubhali, ko'rish maydonida 1-2 ta bor, ++ ko'rish maydonida anchagina, + + + ko'rish maydonida juda ko'p.

Tekshirishni bir necha marta takrorlagan ma'qul. Ishlatilgan asboblardan va buyum oynalari avval alangada, so'ng avtoklavda sterillanadi.

### **Aktinomikozning mikrobiologik diagnostikasi**

Aktinomikoz qo'zg'atuvchilari *Actinomyces bovis*, *Actinomyces israelii* lardir. Ular o'pka, ba'zan boshqa a'zo va to'qimalarni shikastlovchi kasalliklarni avj oldiradi.

Aktinomikozning laboratoriya diagnostikasida asosan bakterioskopik va bakteriologik tekshiruv usullari qo'llaniladi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

Tekshirish uchun material: ajralayotgan yiring, balg'am, siydik, punktat va shikastlangan o'choqlarning yopiq va chuqur qismidan olingan to'qima biopatlari.

**Mikroskopik tekshiruv.** Patologik materialdagi shubhali qattiq bo'lakchalar 10–20% li gidrokarbonat natriy eritmasi tomchisiga qo'shilib, biroz qizdiriladi va «ezilgan» tomchi preparati tayyorlanadi, so'ngra 8 va 40 obyektivi yordamida mikroskop ostida ko'riladi. Musbat hollarda preparatlarda aktinomitsetlar atrofi zich ipsimon, nursimon hujayralar bilan o'ralgan donachali druzlar shaklida ko'rinadi. Druzlar bilan birga, notekis bo'yalgan shoxsimon alohida joylashgan grammusbat bakteriyalar ham uchraydi (78-rasm).

**Bakteriologik tekshiruv.** Aktinomitsetlar fakultativ aerob va anaerob bakteriyalar hisoblanadi. Anaerob usulda o'stirilganda muhitda CO<sub>2</sub> miqdorining ko'p bo'lishini talab qiladi. Xemoorganotrof bo'lib, uglevodlarni fermentatsiyaga uchratadi va uksus, chumoli, yantar va sut kislotalari hosil qiladi. 35-37°C da yaxshi o'sadi. Tekshirilayotgan patologik material Saburo, Chapeka, Qonli agar va Saxarozali agarlarga ekiladi va termostatga qo'yiladi, anaerob sharoitda ham o'stirish mumkin. 7-10 kundan keyin ko'zga ko'rinuvchi koloniyalari shakllanadi. Mikrokoloniyalar tarqalgan strukturaga ega bo'lishi yoki donador markazdan periferiyaga shoxlanuvchi ipchalarning tarqalishi xarakterli belgilar bo'lib hisoblanadi. Yetilgan koloniyalar yassi, g'adir-budur, notekis yoki pardali bo'lishi mumkin. Koloniyalarning substrakt mitselalari yaxshi rivojlangan, shuning uchun qovuzloq bilan olinganda, kultura qovuzloqqa chiqmaydi, agar bilan qo'shilib chiqadi. Koloniyalar xarakteri va hujayralar morfologiyasi ko'pincha tekshiriluvchi kulturani *Actinomyces* zotiga kiritish imkonini beradi.

Kulturalarni turigacha identifikatsiya qilish ularning biokimyoviy va antigenlik xususiyatlari asosida olib boriladi (54-jadval).

Immunflyuoesent usul bilan tekshirish tez va spetsifik natijalar beradi.

**Serodiyagnostika:** KBR bemor qoni zardobi va ko'p valentli aktinolatdan iborat antigen bilan qo'yiladi. 80% bemorlarda musbat reaksiya kuzatiladi.

## Aktinomitsset avlodi vakillarining differensial belgilari

Belgilari	A. bovis,	A. israyelii	A. viscosus	A. naves-hundii
Aerob sharoitda o'sishi	+	-	+	+
Mikrokoloniyasi:				
o'rgimchaksimon	-	+	+	+
silliq	+	-	-	-
Kraxmal gidrolizi	+	-	-	-
Katalaza	-	-	+	-
Ureaza	-	-	+	+
Arabinoza	-	+	-	-
Inozit	-	+	+	+
Ksiloz	-	+	-	-
Mannit	-	+	-	-

**Teri allergik sinamasi** aktinomitssetlardan olingan ekstrakt bilan qo'yiladi.

**Sil, moxov va aktinomikozlarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davo preparatlari.**

**Quruq sof tuberkulin.** Mikobakteriyalarning bulyondagi kulturalar filtratidan oqsillarni cho'ktiruvchi kimyoviy moddalarning qo'shilishi, so'ngra tozalanishi natijasida olingan preparatdir. Teri allergik sinamasini (Mantu reaksiyasi) qo'yishda qo'llaniladi.

**BSJ vaksinasi** fransuz olimlari Kalmett va Garenlar tomonidan olingan bo'lib, sil mikobakteriyalarining nopatogen shtammini liofil tarzda quritib olingan tirik kulturasidir. U silning maxsus profilaktikasi uchun teri orasiga (tug'ruqxonada 2- 5 kunlari 0,05 mg yoki 0,1 ml ) yuboriladi.

Silni davolash uchun qo'llaniladigan antibiotik va ximiyaterapevtik preparatlar. Birinchi tartibdagi silga qarshi asosiy preparatlarga: streptomitsin, PASK va GINK, tubazid, ftivazid, menazidlar; ikkinchi tartibdagi preparatlarga - sikloserin, kanamitsin, etionamidlar kiradi. Bemorlarni davolashda kasallikning klinik xarakteristikasi va sil mikobakteriyalarining dori preparatlariga sezuvchanligini hisobga olgan holda, odatda, birinchi va ikkinchi tartibdagi preparatlar birgalikda qo'llaniladi.

**Aktinolizat.** Aktinomitsetlarning o‘z-o‘zidan erigan shtammlarining bulyonli kulturasi filtratidir. Maxsus immunoterapiyada va KBR uchun antigen sifatida qo‘llaniladi.

O‘ldirilgan polivalent **aktinomitset vaksinasi** aktinomitsetlarning spora hosil qiluvchi shtammlaridan tayyorlanadi va davolash maqsadida qo‘llaniladi. Antibiotik va ximiyaterapevtik preparatlar quyidagilar: tetratsiklin, streptomitsin, levomitsetin, ristomitsin, kanamitsin, sulfanilamidlar.

### **Ichak infeksiyalari qo‘zg‘atuvchilari**

Ichak infeksiyalari qo‘zg‘atuvchilari Enterobacteriaceae oilasiga kiradi. Bu oilaga hozirgi kunda 20 dan ko‘proq avlodlar kiritilgan va 100 dan ortiq turlari ma‘lum. Bu bakteriyalar vakillari tabiatda eng ko‘p tarqalgan bakteriyalar hisoblanadi. Ularning ba‘zi avlodlari odam va hayvonlarda ichak infeksiyalari qo‘zg‘atuvchilari (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Iersinia*) hisoblanca, ba‘zilari esa shartli patogen (*Proteus*, *Citobacter*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Morganella*, *Serratia*, *Ewingella*), qolgan turlari (*Budvica*, *Leminorella*, *Cedecaye*, *Kluyvera*, *Koserella*, *Rohnella*) saprofitdir.

Enterobakteriyalarning asosan hammasi grammanfiy tayoqchalar bo‘lib, ko‘pchilik vakillarida peritrix xivchinlari mavjud (harakatchan), kapsula hosil qilmaydi (klebsiyella, iyersiniyalardan tashqari), sporasi yo‘q. Enterobakteriyalar aerob va fakultativ anaerob, ko‘pchilik vakillari oziq muhitlarga talabchan emas, oddiy muhitlarda yaxshi o‘sadi. Xemoorganotrof, uglevodlarni fermentatsiya yo‘li bilan parchalab, o‘zlashtiradi. Shuning uchun bu gruppaga bakteriyalarni klassifikatsiyada “fermentatsiya” qiluvchi bakteriyalar guruhiga kiritilgan. Bu bakteriyalarda katalaza musbat, oksidaza manfiy hisoblanadi.

Ichak yuqumli infeksiyalari qo‘zg‘atuvchilarini aniqlash katta diagnostik va epidemiologik ahamiyatga egadir.

Bu kasallikning klinik diagnozini tasdiqlab, bakteriya tashuvchilarni, yuqish manbalari va o‘tish yo‘llarini aniqlash, epidemiyaga qarshi o‘z vaqtida choralar ko‘rish imkonini beradi. Kasallik qo‘zg‘atuvchining turini aniqlashda bakteriologik tekshiruv asosiy (ba‘zi ichak infeksiyalarida qorin tifi, paratiflar, ichburug‘ va boshq. esa yagona) usul hisoblanadi.

Chunki ichak kasalliklarining klinik kechishi har doim ham aniq diagnoz qo‘yish imkonini bermaydi.

### Enterobacteriaceae oilasi bakteriyalarining yuqumli kasalliklar keltirib chiqarishi

Kasalliklar	Qo'zg'atuvchilari		Tekshirish uchun material
	Ko'p tarqalgan	Kam tarqalgan	
Ich ketish (diareya)	<i>E.coli, Salmonella, Shigella</i>	<i>Iersinia</i> turlari	Najas, to'g'ri ichakdan surtma va qon zardobi (serodiagnostikaga)
Qorin tifi va paratiflar	<i>S.typhi, S.para typhi A., B</i>	-	Najas, qon va suyak ko'migi
O'lat	<i>Iersinia pestis</i>	-	Bubondan yiring, qon, balg'am
Septitsemiya	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> turlari	Qon
Bakteriyemiya	<i>S.typhi, Klebsiella, Enterobacter</i> turlari	<i>I. pestis va Shigella, Proteus, Serratia</i>	Qon
Meningit	<i>E.coli,</i>	<i>S.typhi, Serratia Salmonella,</i> turlari	Orqa miya suyuqligi
Siydik yo'llari infeksiyasi	<i>E.coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter</i>	<i>Serratia</i> turlari	Siydik
Jarohat infeksiyasi	<i>E.coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter</i>	<i>Serratia</i> turlari	Yiringli ajralmalar
Yuqori nafas yo'llari kasalliklari	<i>Klebsiella, Serratia, Enterobacter</i> turlari va <i>E.coli</i>	<i>S.typhi, Salmonella, Proteus, Iersinia</i> turlari	Balg'am, plevral suyuqlik, qon
Osteomiyelit va artritlar	<i>Salmonella, Iersinia</i> turlari	<i>Serratia</i> turlari	Sinovial suyuqlik
Mezental limfodenitlar	<i>Iersinia</i> turlari	-	Mezental limfo tugunlaridan bioptat

## 25-MAVZU. ICHAK INFEKSIYALARI: ICHAK TAYOQCHASI VA IYERSINIYALAR KELTIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Ichak yuqumli infeksiyalari qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.
2. Enteropatogen E.coli infeksiyalari qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemacini o'rganish.
3. Iersiniozlar qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemasini o'rganish.
4. Enteropatogen E.coli va iyersiniozlarning serologik diagnostikasi.
5. Enteropatogen E.coli va iyersiniozlarda qo'llaniladigan diagnostika, profilaktika va davo preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Enteropatogen E.coli va iyersiniozlarning toza kulturasidan tayyorlangan surtmalar.
2. Enteropatogen E.coli va iyersiniozlarning toza kulturasini differensial oziq muhitlarda ajratib olingan kulturalari.
3. Enteropatogen E.coli va iyersiniozlarni biokimyoviy xususiyatlarini namoyon etuvchi kalta va uzun Giss qatorlari.
4. Agglyutinatsiya qiluvchi E.coli va iyersiniozlarni poli va mono retseptorli zardoblari, profilaktik va davolash preparatlari.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Enteropatogen E.coli diagnostikasi: kolientritga shubha qilingan bemor materiali ekilgan Endo muhitidagi o'sish natijasini baholash:
  - a) E.coli ning kultural xususiyati, o'sish xarakteriga baho berish;
  - b) surtmalar tayyorlab, Gram usulida bo'yab, mikroskop ostida ko'rish;
  - v) shubhali koloniyalardan olib, buyum oynasida polivalentli OK-antizardoblar (OKA, OKB, OKS, OKD va OKE) bilan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.
  - g) sof kultura ajratib olish uchun shubhali koloniyalardan Kliger muhitiga ekish;
2. Ichak iyersiniozi diagnostikasi: ichak iyersinioziga shubha qilingan bemor qonidan spetsifik antitelalarni aniqlash maqsadida iyersinioz eritrotsitar diagnostikumi bilan BGAR ni qo'yish.
3. Qorin tifi va paratiflar diagnostikasi: birinchi bosqich – qorin tifi va paratiflarga shubha qilingan bemor najasini Endo, Levin va qonini Rapaport muhitlariga ekish.

## Enteropatogen E.coli keltirib chiqaruvchi kasalliklar diagnostikasi

1 E.coli odam yo'g'on ichagining normal mikroflorasi hisoblanadi, lekin hozirda uning ko'plab serologik tiplari odam uchun patogen hisoblanadi. 57-jadvalda uning kasallik keltirib chiqaruvchi serologik tiplari keltirilgan. E.coli ning enterotoksigen serovariantlari odamda vaboga o'xshash diareya va toksikoinfeksiyalarni keltirib chiqaradi. Bu bakteriyalar termolabil va termostabil enterotoksin ishlab chiqaradi. Toksin ishlab chiqarishini mo'tadil faglar boshqaradi.

E.coli ning enteropatogen serovariantlari asosan bolalarda diareya keltirib chiqaradi. Hamma serovarlari plazmid tutadi, bu plazmidlar ichak mikrovorsinkalarining epiteliy hujayralariga birikib (adgeziya), maxsus oqsil strukturalarini sintez qiladi. Bu serovariantlari enteroinvazivlardan farq qilib, epiteliy hujayralariga kirmaydi. Kasallik bolalarda og'ir o'tadi.

2 E.coli ning enteroinvaziv serovariantlari odamda ichburuqqa o'xshash kasallik keltirib chiqaradi. Bular ichburuqqa o'xshab ichakning epiteliy hujayralariga kirib ko'payadi.

3 E.coli ning enterogemorragik serovariantlari esa odamlarda og'ir o'tuvchi gemorragik kolitni keltirib chiqaradi. Bu kasalliklarning mikrobiologik diagnostikasi faqatgina bakteriologik usullarda aniqlanadi. Bakterioskopik va serologik usullar qo'llanilmaydi.

### Bakteriologik tekshiruv

1-kun. Kasallardan patologik material (najas, siydik, qon, qusuq, seksion material va boshq.) maxsus boyituvchi, ko'paytiruvchi muhitli (glitserinli aralashma, selenitli muhit) tamponli probirkalarga yig'iladi, probirkalar albatta rezina qalpoqcha bilan mahkam berkitilgan bo'lib, laboratoriyaga jo'natiladi (12-rangli sxema). Material tamponni o'zi bilan yoki qovuzloq bilan Endo, Ploskirev, Levin muhitlaridan biriga ekiladi va termostatga 37°C da kelasi kungacha qoldiriladi.

2-kun. Material ekilgan muhitlar termostatdan olinib, ko'zdan kechiriladi. Endo muhitida ichak tayoqchalari laktozani parchalashiga qarab ikki xil rangda koloniyalar hosil qiladi. Laktozapositiv (laktozani parchalaydi) koloniyasi to'q qizil rangda (asosan normal E.coli) va laktozanegativ (laktozani parchalamaydi) koloniyasi rangsiz oq pushti rangda bo'ladi. Asosan enteropatogen ichak tayoqchalari ikkinchi tipdagi koloniyalar hosil qiladi.

**E.coli ning odamlarda kasallik keltirib chiqaruvchi serovarlari**

Jarohatlanishi	Serogruppalari		
	O - antigen	H - antigen	K - antigen
Ichakda Enterotoksigen (E.T.E.S)	O6, O8, O11, O15, O27, O63, O78, O80, O85, O114, O115, O126, O128 as, O139, O148, O153, O159, O166, O167	H4, H7, H9, H11, H12, H19, H20, H21, H28, H40.	
Enteropatogen (E.P.E.S)	O18, O26, O44, O55, O86, O111av, O112, O114, O119, O125as, O127, O128av, O142, O158	H2, H6, H7, H11, H12, H14, H18	
Enteroinvaziv (E.E.E.S)	O28as, O29, O112as, O115, O124, O135, O136, O143, O144, O152, O164, O167,		
Enterogemorragik (Ye.G.E.S)	O26, O111, O157	H6, H7, H8, H11	
Siydik tanosil yo'llarida kasallik keltirib chiqaruvchi (E.coli)	O1, O2, O4, O6, O7, O8, O11, O18, O22, O25, O62, O75	-	K1, K2, K5, K12, K13.
Bakteriyemiya keltirib chiqaruvchi (E.coli)	O1, O2, O4, O6, O7, O8, O9, O11, O18, O22, O25, O62, O75,	-	K1, K2, K5, K12, K23,
Meningit keltirib chiqaruvchi (E.coli)	O1, O6, O7, O16, O18, O83	-	K1

57-jadval

**E.coli ning asosiy biokimyoviy xususiyatlari**

Simmons sitrati	-	Kristensen sitrati	±	Inozit	±
Ureaza	-	Atseton hosil qilishi	-	Ksiloz	±
Natriy malonat	-	Jelatina gidrolizi	-	Laktoza	±
H <sub>2</sub> S	-	Arginin degidrolaza	±	Mannit	±
Fenilalanin	-	Ornitin dekarboksilaza	±	Ramnoza	±
Natriy atsetat	-	Adonit	±	Rafinoza	±
Harakatchanligi	±	Arabinoza	±	Salitsin	±
Lizin dekarboksilaza	±	Glyukoza	±	Saxaroza	±
Metilen qizil b-n reak.	+	Dulsit	±	Sorbit	±



Shubhali koloniyalardan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yab ko'riladi. Surtmada grammanfiy tartibsiz joylashgan tayoqchalar (ichak tayoqchasi, ichburug', qorin tifi qo'zg'atuvchilaridan morfologik jihatdan farq qilmaydi) topiladi. Kelgusi diagnostik rejalarni chamalash (oriyentatsiya) maqsadida, shubhali koloniyalar bilan buyum oynasida polivalentli OK – antizardob bilan chamali agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Agglyutinatsiya reaksiyasi kamida 10 ta shubhali koloniyalar bilan qo'yiladi, musbat natija bo'lsa, dastlabki chamali javob beriladi. Toza kultura ajratib olish uchun bir nechta agglyutinatsiya musbat koloniyalardan uch qandli Kliger muhitiga ekiladi va termostatga qo'yiladi.

**3-kun.** Kliger muhiti ko'zdan kechiriladi. Bu muhitda normal ichak tayoqchalari uglevodlarni (glyukoza, laktoza va saxaroza) kislotaga va gaz hosil qilib parchalaydi, muhit rangi somon rangiga kiradi, ko'p gaz hosil qilganligi uchun agar ustunchalari yorilib ketadi. Vodород sulfid va mochevinani parchalamaydi. Bunday kulturalar bilan chamali polivalentli zardob bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi, manfiy bo'lsa tekshirish to'xtatiladi. Enteropatogen ichak tayoqchalari ko'pincha laktozani, saxarozani parchalamaydi, glyukozani esa kislotaga hosil qilib parchalaydi. Bular bilan ham chamali polivalentli OK zardob bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi, agar musbat bo'lsa, alohida (OKA, OKV va h.k) seroidentifikatsiya qilinadi. Musbat natija olingan holda, probirkalarda tegishli OK zardoblar bilan kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi.

**Kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.** Buning uchun ikki qatorda agglyutinatsiya bergan OKA yoki OKV qon zardoblar 1:1600 marotabagacha suyultiriladi (12- rangli sxema). Birinchi qatordagi probirkalarga tekshiriluvchi E.coli ning tirik kultura suspenziyalari, ikkinchi qatorga esa shu kulturaning suv hammomida oldindan bir soat davomida qizdirilgan kulturalari (2-mlrd.li kulturadan 2-3 tomchi tomiziladi) qo'shiladi. Chunki ichak guruhi bakteriyalarida O-Ag ni yuzasidan K-kapsula antigeni o'rab turadi, bunday kulturalar bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yilsa, reaksiya manfiy bo'lishi mumkin, K-Ag tashqi yuzaga tomonda O-Ag ni to'sib qo'yadi. O-Ag termostabil, K-Ag esa termolabil bo'lib, 70-80°C parchalanib ketadi. Bunday qizdirilgan kultura bilan O-Ag ni aniqlash mumkin. Reaksiya musbat bo'lsa, kengaytirilgan Giss muhitlarida biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish uchun ekiladi va antibiotiklarga sezgirliги o'rganiladi.

**4-kuni** hamma olingan natijalar o'rganilib, kerak bo'lgan taqdirda qo'shimcha biokimyoviy xususiyatlari ko'rib chiqiladi (57-jadval) va yakuniy javob beriladi.

## Iersinozlar mikrobiologik diagnostikasi

Iersinozlar Iersinia avlodiga mansub bo'lib, tashqi muhitda keng tarqalgan, tabiiy holatda ular ko'proq hayvonlarda, jumladan kemiruvchilarda va odamlarda kasallik keltirib chiqaradi. Shuning uchun ularning birinchi manbasi tabiatda hayvonlar, kemiruvchilar (zoonoz kasalliklar) hisoblanadi, odamlar ikkilamchi manba bo'lishi mumkin. Bular xemoorganotrof, oksidaza manfiy va katalaza musbat bakteriyalardir. Bulardan *I. pestis* – o'lat, *I. pseudotuberculosis* – psevdotuberkulyoz va *I. enterocolitica* – enterokolit kasalliklarini keltirib chiqaradi.

***I. enterocolitica*** tabiatda juda keng tarqalgan, ularni tabiiy sharoitda ajratib olish (hashoratlar, moyuskalar, sovuq qonlilar, qushlar, kemiruvchilar, it, mushuk, xonaki va yovvoyi hayvonlar) mumkin. Odamlarda asosan kuz-qish oylarida kasallik gastroenterit ko'rinishida o'tadi. *I. enterocolitica* ning O-Ag bo'yicha 34 ta serovarlari uchraydi. Odamlarda asosan O3 va O9 serovarlari va kam hollarda O5-O8 serovarlari kasallik keltirib chiqaradi.

***I. pseudotuberculosis*** ning tabiiy manbasi asosan xonaki va yovvoyi hayvonlar hisoblanadi. Kasallik odamlarda o'tkir mezinterial adenit ko'rinishida o'tadi, ko'proq appenditsit sindromlari kuzatiladi.

58-judval

### Iersinozlarning differensial belgilari

Belgi va xususiyatlari	<i>I. pestis</i>	<i>I. pseudotuberculosis</i>	<i>I. enterocolitica</i>
Harakatchanligi	-	+	+
Indol hosil qilishi	-	-	±
Atseton hosil qilishi	-	-	±
Simmons sitrati	-	-	-
Ureaza aktivligi	-	+	+
Ornitin dekarboksilaza	-	-	+
Melibiozani parchalashi	±	+	-
Ramnozani parchalashi	-	+	-
Rafinozani parchalashi	-	±	-
Mukatni parchalashi	-	-	-
Saxarozani parchalashi	-	-	+
Sorbitni parchalashi	-	-	+

## Bakteriologik tekshiruv

**1-kun.** Kasallardan patologik material (najas, siydik, qon, qusuq, seksion material va bosh.) maxsus boyituvchi, ko'paytiruvchi muhitli (glitserinli aralashma) tamponli probirkalarga yig'iladi, probirkalar, albatta, rezina qalpoqcha bilan mahkam berkitilgan bo'lib, laboratoriyaga jo'natiladi. Material tamponning o'zi yoki qovuzloq bilan Endo, Levin muhitlarining biriga ekiladi va termostatga 37°C da kelasi kungacha qoldiriladi.

**2-kun.** Material ekilgan muhitlar termostatdan olinib, ko'zdan kechiriladi. Endo muhitida *I. enterocolitica* laktozani parchalamaydi, shuning uchun rangsiz oq pushti rangda *S*-koloniya hosil qiladi. *I. pseudotuberculosis* esa Endo muhitida rangsiz oq-pushti rangdagi *R*-koloniya hosil qiladi.

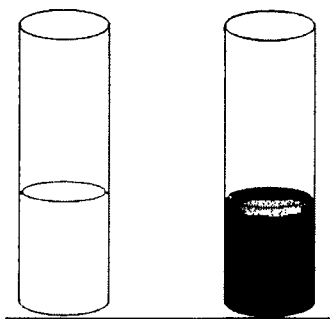
Shubhali koloniyalardan surtma tayyorlab, Gram usulida bo'yab ko'riladi. Surtmada grammanfiy tartibsiz joylashgan ovoid bipolyar bo'yalgan tayoqchalar topiladi.

Toza kultura ajratib olish uchun bir nechta shubhali koloniyalardan uch qandli Kliger muhitiga ekiladi va termostatga qo'yiladi.

**3-kun.** Kliger muhiti ko'zdan kechiriladi. Bu muhitda har ikkalasi ham uglevodlardan glyukozani kislotaga hosil qilib parchalaydi va ureaza musbat bo'ladi. Iersiniozlarni bir-biridan identifikatsiya qilish uchun bioximik xususiyatlari (59-jadval) o'rganiladi. *I. enterocolitica* ni *pseudotuberkulyoz*dan farqlashda Foges-Proskauer reaksiyasi (atseton hosil qilishi) turli temperaturali rejimda qo'yiladi. *I. enterocolitica* 25°C da o'sganda Foges-Proskauer reaksiyasi musbat, 37°C esa manfiy bo'ladi. *I. pseudotuberculosis* har qanday temperatura rejimida ham atseton hosil qilmaydi. Reaksiyada *I. enterocolitica* muhitdagi glyukozani atseton (atsetilmetilkarbinol) hosil qilib parchalaydi va muhit tarkibidagi 6-naftol bilan birikib, muhitni qizil rangga kiritadi (79-rasm).

Qo'zg'atuvchilarni oxirigacha identifikatsiya qilish uchun O- va H agglutinatsiyaga uchratuvchi qon zardoblari bilan agglutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Qon tarkibidagi ATni aniqlash uchun serologik reaksiyalar (AR, BGAR va IFU).

Qon tarkibidagi AT ni *I. enterocolitica* eritrotsitar diagnostikumi yordamida



79-rasm. Foges-Proskauer reaksiyasi *enterocolitica* kulturesi bilan. 37°C da (chapda) manfiy va 25°C da o'sganda (o'ngda) musbat.

BGAR aniqlash (80-rangli rasm). Reaksiya probirkalarda yoki mikroplanshetkalarda qo'yiladi. Tekshirilayotgan qon zardobni probirkalarda (1:50 dan 1:800 gacha) suyultirilib, har bir suyultirilgan zardob ustiga 0,1 ml eritrotsitar diagnostikum tomiziladi va termostatga 2 soatga qo'yiladi va natijasi ko'riladi. Reaksiyaning diagnostik titri 1:400 va undan oshiq bo'lishi kerak.

**Eslatma:** QZ-qon zardob; ED-eritrotsitar diagnostikum; DK-diagnostikum kontroli.

Rasmdan ko'rinib turibdiki, kasalning qon zardobidan I.enterocolitica ni O3 serologik varianti BGAR da diagnostik (1:800) titrni berdi, ya'ni bemor I.enterocolitica ni O3 serologik varianti bilan og'rikan ekan.

## **26-MAVZU. QORIN TIFI VA PARATIF A VA V QO'ZG'ATUVCHILARI KELTIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Qorin tifi va paratif yuqumli infeksiyalari qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

2. Qorin tifi va paratif yuqumli infeksiyalari qo'zg'atuvchilarining serologik diagnostikasi.

5. Qorin tifi va paratif yuqumli infeksiyalarida qo'llaniladigan diagnostika, profilaktika va davo preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Qorin tifi va paratif yuqumli infeksiyalari qo'zg'atuvchilarining toza kulturasi tayyorlangan surtmalar.

2. Qorin tifi va paratif qo'zg'atuvchilarining toza kulturasi (differensial oziq muhitlardan ajratib olingan).

3. Qorin tifi va paratif qo'zg'atuvchilarining biokimyoviy xususiyatlarini namoyon etuvchi kalta va uzun Giss qatorlari.

4. Agglyutinatsiya qiluvchi qorin tifi va paratif qo'zg'atuvchilarining poli va mono retseptorli zardoblari, profilaktik va davolash preparatlari.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Enteropatogen E.coli diagnostikasining davomi: polivalentli va tipga xos zardoblar bilan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish; biokimyoviy xususiyatini aniqlash uchun "olachipor" qatorga ekish; tirik va qizdirilgan E.coli kulturasi bilan kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.

2. Qorin tifi va paratiflar diagnostikasi.

3. Gemokulturani ajratish. Ikkinchi bosqich: a) bemor qoni ekilgan Rapaport muhitini natijalash; b) muhitda o'sish belgilarini aniqlash; v) Gram usulida bo'yab ko'rish;

g) differensial muhitlarga ekish.

4. Koprokulturaning ajratish. Ikkinchi bosqich: a) Endo va vismut sulfid agarli muhitlardagi o'sish xarakterini o'rganish; b) Endo muhitida o'sgan rangsiz koloniyalarni uch qandli Kliger muhitiga ekish.

5. Qorin tifi va paratif qo'zg'atuvchilarining serodiagnostikasi. Vidal reaksiyasini qo'yish.

6. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar diagnostikasi. Birinchi bosqich: a) salmonellyoz qo'zg'atuvchilari bo'lishi ehtimoli bor go'sht qiymasidan Endo va vismut sulfid agarga ekish; Proteus qo'zg'atuvchilari ehtimoli bor bo'lgan kartoshka bo'tqasidan qiyalantirilgan GPA ga "Shukevich" usulida ekish.

Qorin tifi va paratiflar Salmonella avlodiga va bunga bitta tur Salmonella enterica (enteritidis) kiradi. Bu turga hozirgi kunda 7 ta kenja turlar (Sal. choleraesuis, Sal.salamaye, Sal.arizonaye, Sal.diarizonaye, Sal.houtenaye, Sal.indica, Sal.bangori) kiritilgan. Issiq qonli hayvonlar uchun patogenlari Sal. choleraesuis, Sal. salamaye hisoblanadi. Kenja tur Sal.sholeraesuis hozirgi kunda biz uchun ma'lum bo'lgan 2324 serovarlardan 1367 tasini o'z ichiga oladi. Talabalarning oson tushunishi uchun biz materialni ko'rsatib berishda (noto'g'ri bo'lsa ham) qorin tifi va paratiflarning eski tasnifidan foydalandik, ya'ni Sal.typhi turi deb ko'rsatdik, ammo hozirgi tasnifi bo'yicha qorin tifi Salmonella enterica turiga, choleraesuis kenja turiga va typhi serovariga kiradi.

Qorin tifi va paratiflar bir-birlaridan antigen va biokimyoviy xususiyatlari bo'yicha farqlanadi.

59-jadval

### Salmonellalarning serologik tasnifi

Serogrup-palari	№	Serotiplar	O-antigen	H-antigen	
				I faza	II faza
A	1	S.paratyphi A	1 2 12	a	-
B	1	S.paratyphi B	1 4 5 12	b	1,2
	2	S.typhimurium	1 4 5 12	l	1,2
C	1	S.paratyphi C	6 7 Vi	C	1,5
	2	S.choleraesuis	6 7 -	C	1,5
D	1	S.typhi	9 vi 12	a	-
	2	S.enteritidis	1 9 12	s, m	-
E	1	S.london	3 10	l, v	1,6
	2	S.anatum	- -	e, h	1,6
F	1	S.aberdeen	11	i	1,2

Qorin tifi va paratif kasalliklarining mikrobiologik diagnostikasi bakteriologik va serologik tekshiruvlar asosida olib boriladi. Birlamchi material bakterioskopik tekshirilmaydi, chunki najasdan tayyorlangan surtmalarda salmonellalarni ichak tayoqchalaridan ajratib bo'lmaydi, boshqa materiallarda esa (qon, o't-safro) kasallik qo'zg'atuvchilari juda kam uchrab, surtmada ularni topib bo'lmaydi. Tif va paratif kasalliklarining patogenezini inobatga olib, kasallikning birinchi bakteremiya davrida, qondan qo'zg'atuvchilar ajratib olinadi (gemokultura olinishi), ikkinchi haftasidan boshlab esa ular najasdan (koprokultura), siydikdan (urinokultura) yoki jigar o'tidan (rekonvaletsent davrda) ajratib olinadi.

Qorin tifi va paratiflarda bemor qon zardobida AT kasallikning birinchi haftasi oxirida, ikkinchi haftasi boshlarida to'planadi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

Bakteriologik tekshiruv (13-rangli sxema). Gemokulturani ajratib olish.

**1-kun.** Kasallikning dastlabki kunida (harorat yuqori ko'tarilgan davrda) bemorning bilak venasidan 5-10 ml qon olinib, maxsus kolbachadagi 50-100 ml Rapoport muhitiga aseptika qoidalariga qat'iy rioya qilgan holda ekiladi. Ekishda olingan qon bilan muhit o'rtasidagi nisbat 1:10 bo'lishi zarur, chunki bu muvozanat qon tomonga og'sa, qon tarkibidagi normal AT bakteriotsid ta'sir ko'rsatadi.

**2-kuni** bakteriyalar o'sishi natijasida muhit loyqalanadi, rangi o'zgaradi. Paratif bakteriyalari o'sganda bu o'zgarishlar bilan bir qatorda, muhit ichiga tashlab qo'yilgan shisha naychalar ichida gaz pufakchalari ham paydo bo'ladi. Ya'ni paratiflar muhitdagi glyukozani kislota va gaz hosil qilib parchalaganligini ko'rsatadi, qorin tifi glyukozani kislotagacha, gaz hosil qilmasdan parchalaydi. Rapoport muhitidan surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab ko'riladi va "ezilgan" tomchi usulida harakatchanligi aniqlanadi. Surtmada grammanfiy va harakatchan tayoqchalar topilsa, dastlabki javob berish imkoniyatini beradi. So'ngra Rapoport muhitida o'sgan kulturadan sof kultura ajratib olish uchun Ressel, Endo yoki Ploskirev muhitlariga ekiladi (Ressel muhiti o'rniga Kliger muhitini qo'llash mumkin).

**Ressel muhiti tarkibiga:** oziqli agar, 1% li laktoza, 0,1% li glyukoza va Andrede indikatorlari kiradi. Muhit probirkalarda shunday tayyorlanadiki, uning pastki qismi ustuncha tik, yuqori qismi esa qiyalantirilgan holda bo'lishi shart. Tekshiriluvchi kultura dastlab muhitning tik qismiga sanchib, so'ngra qiyalantirilgan qismi sathiga surkab ekiladi.

Uglevodlar parchalanganda muhit rangi ko'karadi; agarning yorilishi gaz hosil bo'lganligidan, butun muhitning ko'karishi esa laktoza parchalanganidan

darak beradi. Agar muhitning rangi faqatgina tik qismidagina qizarsa, glyukozaning parchalanganligini bildiradi, chunki uning miqdori laktozaga nisbatan 10 marta kam.

Ressel muhiti o'rniga uch qanddan (uglevodlardan) iborat (Kliger) muhitdan ham foydalanish mumkin (uning tarkibiga glyukoza, laktoza, saxaroza, mochevina, ba'zi bir tuzlar va indikator – vodorod sulfitni aniqlovchi va fenol qizili kiradi).

**3-kuni** Ressel muhitida glyukozaning parchalanganligi kuzatiladi va buyum oynachasida taxminiy polivalentli (A, B, S, D, E) qon zardobi bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Olingan ma'lumotlar asosida ikkinchi dastlabki javob beriladi.

Tekshirishni davom ettirish uchun Endo muhitidan bir nechta rangsiz koloniya olinib, Ressel yoki qiyalantirilgan oziqli (GP) agarlarga ekiladi (agar Ressel muhitida ajratib olingan kultura sof va qolgan tekshiruvlar uchun yetarli bo'lsa, Endo muhitidan yana Ressel muhitiga ekish shart emas) va avval gruppalashtirilgan zardoblar, so'ngra esa adsorbsiya qilingan monoretseptorli salmonellalarning O-zardobi va H-zardobini birinchi va ikkinchi fazalaridan agglyutinatsiya reaksiyasini buyum oynachalarida qo'yish uchun foydalaniladi. Ressel yoki qiyalantirilgan oziqli agarlarda o'sgan sof kulturalar olinib, «olachipor» qatorlarga ekiladi. Bundan tashqari, shu kuni ajratib olingan kultura antibiotiklarga, fagotiplarga sezgirligi va zarur bo'lgan taqdirda boshqa kengaytirilgan bioximik testlarni o'rganish uchun ham ekiladi (13-rangli sxema).

**4-kun.** Yakuniy javob «olachipor» qatordagi o'zgarishlar (13-rangli sxema) va agglyutinatsiya reaksiyasi natijalari asosida beriladi. Agar Endo muhitidan ajratib olingan kultura o'rganilsa, yakuniy javob bir kunga suriladi.

Qorin tifi bakteriyalarini ksiloza va arabinozalarning parchalash xususiyatlariga ko'ra 3 ta fermentativ tiplarga (biovar) ajratish mumkin: 1) ksiloza musbat, arabinoza manfiy; 2) ksiloza manfiy, arabinoza manfiy; 3) ksiloza musbat, arabinoza musbatlarga.

Ksiloza arabinozalarni parchalash xususiyatlarini aniqlashdan, epidemiologik maqsadlarda qorin tifi qo'zg'atuvchisini markirovka (belgilashda) qilishda foydalanish mumkin.

Fagotipni aniqlash. Standart Vi-faglar to'plami yordamida *S. typhi* ning 78 tacha tipi aniqlanadi.

Bunda zarur shartlardan biri kulturalarda Vi-antigenining mavjudligidir. *S. scottmuelleri* kulturalari II fagotip va kenja tiplarga ajraladi.

**Koprokulturaning olinishi.** Bunda tekshiriluvchi najas differensial-diagnostik muhitlardan biriga ekiladi (Endo, vismut sulfit agar yoki Ploskirev). Ekish uchun qovuzloqda olingan najasni probirkadagi natriy xlorid eritmasiga aralastirilib, suspenziya tayyorlanadi. Yirik donachalar cho'kkanidan so'ng suspenziya olinib, kosachadagi agarli muhitning yarmiga ekiladi. Agar material shisha tayoqcha bilan probirkada glitserin aralashmasida olib kelingan bo'lsa, shisha tayoqcha bilan ham oziqli muhitga ekish mumkin.

Alohida koloniyalarni olish uchun material shpatel yordamida kosachadagi muhitning avval birinchi yarmiga, so'ngra ikkinchi yarmiga surkab ekiladi. Bir vaqtning o'zida najas mikroblarni ko'paytirish imkonini beruvchi Myuller yoki selenitli muhitlarga ekiladi. Bu muhitlarda kasallik qo'zg'atuvchi mikroblarni tekshiriluvchi materialda juda kam miqdorda uchragan hollarda ham ajratib olish mumkin. Ekmalar 18-20 soat davomida 37°C li termostatga qo'yiladi.

Myuller muhitining tarkibi: 4,5 g kimyoviy sof bo'r, 90 ml oziqli bulyon, 2 ml Lyugol eritmasi va 10 ml 50% li natriy giposulfid eritmalaridan iborat. Bu muhitlar 8-10 ml dan probirkalarga quyiladi. Muhit tarkibidagi yod bilan giposulfid birikib, tetratsionat natriyni hosil qiladi va ichak tayoqchalarining o'sishini to'xtatsa-da, salmonellalarning o'sishiga to'sqinlik qilmaydi.

Selenitli muhit 0,5% pepton, 0,7% natriy digidrofosfat, 0,3% natriy gidrofosfat, 0,4% laktozaning distillangan suvdagi asosiy eritmasidan tayyorlanadi. 50 ml steril holdagi asosiy muhitga qo'llanishdan oldin 2 ml 10% li selenit natriyning nordon eritmasi qo'shiladi va tayyorlangan muhitni 5-7 ml dan probirkalarga quyiladi. Nordon selenit natriy salmonellalar o'sishini kuchaytirib, boshqa mikroblarning o'sishini to'xtatadi.

Ikkinchi kuni kosachalardagi muhitlarda o'sgan koloniyalar xarakteri o'rganiladi. Endo muhitida (2-4 mm) tiniq och pushti, Ploskirev muhitida rangsiz, zichlashgan, xiraroq, vismut sulfid agarda esa qora jigarrang metall (faqat salmonellalar vismutni metallgacha qaytaradi) singari yaltiroq (blesk) koloniyalar hosil qiladi. Koloniyalar tagida va atrofida muhit qorayib qoladi. Paratif A da bunday xususiyat kuzatilmaydi. Paratif B muhitda o'sganda esa koloniya atrofida shilliq valik hosil (R-koloniya) bo'ladi. Bu muhitda o'sgan xarakterli 2-3 ta koloniyalar Ressel, Kliger muhitlariga va probirkalardagi qiyalantirilgan agarga ekiladi. Kosachalardagi muhitlarda shubhali koloniyalar bo'lmasa, tif yoki paratif bakteriyalarning alohida koloniyalarini ajratib olish uchun Myuller yoki selenitli muhitdan olib, kosachalardagi Endo muhitiga qaytadan ekiladi.



Javobni jadallashtirish uchun buyum oynachalarida rangsiz va tiflar uchun xarakterli koloniyalardan olingan material bilan taxminiy agglyutinatsiya reaksiyalari qo'yiladi. Qolgan bosqichlarida gemokulturani identifikatsiya qilishdagi kabi tekshiruv olib boriladi.

**Serodiagnostika.** Amaliy laboratoriyada ko'pincha Vidal agglyutinatsiya reaksiyasi qo'llaniladi. Bu bemorlar qon zardobida, kasallikning birinchi haftasi oxirlari va ikkinchi haftasining boshlarida paydo bo'ladigan maxsus AT larni aniqlash va antitelalarning oshish dinamikasi, ularning saqlanish muddatlarini o'rganishga asoslangan.

Reaksiya bir vaqtning o'zida 4 ta antigenlar: O- va H-qorin tifi, A- va B-paratif diagnostikumlari bilan qo'yiladi.

Qorin tifi monodiagnostikumlari kasallik bosqichlarini aniqlashda qo'llaniladi, chunki O- va H-Ag qarshi hosil bo'lgan AT lar miqdori kasallikning turli davrlarida o'zgarib turadi. O-Ag qarshi hosil bo'lgan antitelalar kasallik avjida ko'payib, sog'ayish davrida yo'qolib ketadi.

H-Ag qarshi hosil bo'lgan AT esa kasallikning oxirida paydo bo'lib, sog'aygandan so'ng ham uzoq vaqt saqlanadi.

Qorin tifi va paratifga qarshi emlangan odamlarda ham Vidal reaksiyasi musbat bo'lib, birmuncha yuqori titrlarda kuzatiladi.

Shuning uchun «yuqumli Vidal» reaksiyasini «emlash oqibatidagi» reaksiyadan faqat bemorlarni kasallik jarayonida qon zardobidagi AT lar titri ortishidan farqlash mumkin. Emlanganlarda AT titri dinamikada oshmaydi.

Vidal reaksiyasi 4 qator probirkalarda qo'yilib, har bir qatorda 7 tadan probirka bo'ladi, ularning 5 tasi tajriba va 2 tasi kontrol probirkalar hisoblanadi. Tekshiriluvchi qon zardobining suyultirish usuli 13-rangli sxemada ko'rsatilgan. Har bir diagnostikumning kontroli uchun probirkalarga 1 ml dan natriy xloridning izotonik eritmasi quyilib, unga 2 tomchidan diagnostikum qo'shiladi. 1 ml zardob solingan (diagnostikumsiz) kontrol probirkada cho'kmalar bo'lmasligi kerak.

Spontan (o'z-o'zidan) agglyutinatsiya sodir bo'lgan hollarda reaksiya natijasi inobatga olinmaydi. Vidal reaksiyasining diagnostik titri 1:200 ga tengdir.

Rekonvaletsentlar va bakteriya tashuvchilarni serologik tekshiruvdan o'tkazishda passiv Vi gemagglyutinatsiya reaksiyasidan keng foydalaniladi, buning yordamida odamlarning qon zardobidagi Vi antitelalar aniqlanadi. Bunda antigen sifatida eritrotsitli Vi-diagnostikum qo'llanib, u formalin bilan ishlov berilgan va qorin tifi mikroblarining Vi-antigeni bilan sensibilizatsiya qilingan I (O) gruppada odam eritrotsitlari suspenziyasidan iboratdir.

Tekshiriluvchi zardoblar 1:10 dan 1:1280 gacha suyultiriladi. Musbat reaksiya natijasida eritrotsitlar probirkalar tagiga cho'kib, chetlari notekis ko'rinishda (zontik) joylashadi, cho'kma ustidagi suyuqlik esa tiniq holda qoladi. Manfiy reaksiyada esa kontroldagidek, eritrotsitlar probirka ostiga cho'kib, atroflari tekis disk («tugmachalar») holida joylashadi.

Passiv gemagglyutinatsiyaning 1:40 va undan yuqori bo'lgan titrlari diagnostik ahamiyatga egadir. Zardobi eritrotsitli Vi-diagnostikum bilan PGARda musbat natija bergan barcha shaxslar qorin tifi bakteriyasi tashuvchilari sifatida shubhalanilib, bir necha marotaba bakteriologik tekshiruvdan o'tkaziladi.

## **27-MAVZU. OVQATDAN ZAHARLANISHINI KELTIRIB CHIQUARUVCHI MIKROORGANIZMLAR: SALMONELLALAR, BOTULIZM, PROTEY VA BOSHQA BAKTERIYALAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

2. Botulizm toksikoinfeksiya qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

5. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlarda qo'llaniladigan diagnostika, profilaktika va davo preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi infeksiyalar qo'zg'atuvchilarining toza kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

2. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi infeksiyalar toza kulturasida differensial oziq muhitlar.

3. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi infeksiyalar qo'zg'atuvchilarining biokimyoviy xususiyatlarini namoyon etuvchi muhitlar.

4. Agglyutinatsiya qiluvchi poli- va mono retseptorli zardoblar, profilaktik va davolash preparatlari.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Enteropatogen E.coli diagnostikasining davomi: "olachipor" qatorga ekilgan ekmani natijalash; tirik va qizdirilgan E.coli kulturasida kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini natijalash va yakuniy javob berish.

2. Qorin tifi va paratiflar diagnostikasi, gemokulturani ajratish – uchinchi bosqich: a) Ressel muhitidagi ekmalarni natijalash; b) Polivalentli agglyutinatsiyaga uchratuvchi qon zardobi bilan buyum oynasida agglyutinatsiya reaksiyalarini qo'yish; v) bioximik xususiyatlarini o'rganish uchun "olachipor" muhitga ekish.

4. Koprokulturaning ajratish – uchinchi bosqich: a) Ressel muhitidagi ekmalarni natijalash; b) bioximik xususiyatlarini o‘rganish uchun “olachipor” muhitga ekish.

5. Go’sht qiymasidan Endo va vismut sulfid agarga ekilgan ekmani natijalash: a) vismut-sulfid agardagi ekma natijasini baholash (kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari); b) salmonellalar tipiga mansubligini aniqlash maqsadida buyum oynachasida agglyutinatsiyalovchi zardob bilan agglyutinatsiya reaksiyasini qo‘yish (*Salm.thyphimurium*, *anatum* va boshq.).

6. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi protey diagnostikasi. Shukevich usulida ekilgan ekmani natijalash, kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari bo‘yicha.

7. Dizenteriyaning mikrobiologik diagnostikasi – birinchi bosqich: tekshirish uchun material – bemor najasini probirkadagi selenitli, kosachadagi Endo va Ploskirev muhitlariga ekish.

Ovqat orqali zaharlanishlar ikki xil ko‘rinishda bo‘lishi mumkin. Birinchi ko‘rinishi mikroorganizmlarga taalluqli bo‘lmagan, ximiyaviy, biologik omillar keltirib chiqaradi. Bu kasalliklar tibbiyotning maxsus bo‘limlarida o‘tiladi. Ikkinchi xil zaharlanishlarda mikroorganizmlar sababchi bo‘ladi. Bu kasalliklarni ham kasallik patogenezini, kelib chiqishiga qarab ikkiga bo‘lish mumkin.

1. Ovqat intoksikatsiyasi.

2. Ovqat toksikoinfeksiyalari.

Ovqat intoksikatsiyasini, asosan, stafilokokklar, botulizm tayoqchalari, zamburug‘ va boshqalar keltirib chiqarishi mumkin. Bu tipdagi zaharlanishlar kelib chiqishida mikroorganizm toksinlari asosiy rol o‘ynaydi. Odam mikroblari ko‘payib, toksinlari yig‘ilib qolgan oziq-ovqatlarni iste‘mol qilganda kasallikka chalinadi.

Ovqat toksikoinfeksiyalarida esa mikroorganizmlarning ovqatlarda yig‘ilib qolgan toksinlaridan tashqari, ularning o‘zi ham organizmlarda ko‘payishi mumkin. Bularga juda ko‘p mikroorganizmlar kiradi.

Toksikoinfeksiyalarining eng ko‘p tarqalgan qo‘zg‘atuvchilari salmonellalardir. Ularga *Salmonella typhimurium*, *S.enteritidis*, *S.choleryesuis*, *S.heidelberg*, *S.anatum*, *S.derby* lar kiradi. Bu kasalliklarni ko‘pchilik hollarda *E.coli*, *Proteus*, ba‘zi enterobakteriya vakillari, enterokokklar va boshqa mikroorganizmlar keltirib chiqaradi.

Ovqat toksikoinfeksiyalarining patogenezini va klinik manzarasini me‘dacha yo‘liga mikroblar bilan zararlangan oziq-ovqat mahsulotlarining (go’sht, baliq, sut va boshq.) yetarlicha termik jihatdan ishlov berilmagan holda ko‘p miqdorda tushishi orqali kuzatiladi. Bunda tirik bakteriya hujayralari qulay sharoitda tezlik bilan ko‘payadi. Shu bilan bir vaqtda,

ichakda kasallik qo'zg'atuvchilarining o'lishi va bakterial hujayraning parchalanishi ko'p miqdorda endotoksin ajralishiga sabab bo'ladi. Bu esa ingichka ichakning intramural neyroretseptor apparatiga, qorin bo'shlig'ining periferik tomirlariga ta'sir qiladi va bu ichak devorida neyrodistrofik o'zgarishga va hujayralarning jarohatlanishiga olib keladi. Ovqat toksikoinfeksiyalarida me'da-ichak yo'llari, ko'pincha qo'zg'atuvchilardan tezlikda, ayrim hollarda esa kasal boshlangandan bir necha soat o'tgach, ozod bo'ladi. Biroq, qator hollarda, salmonellalar ichakda uzoq vaqt, bir necha hafta va hatto oylar davomida saqlanib qolib, bakteriya tashuvchining najasi bilan ajralib turadi. Bu kasalliklarda, odatda, bakteriyemiya sodir bo'lmaydi.

Laboratoriya diagnostikasi bakteriologik usul bilan o'tkaziladi. Tekshirish uchun kasalning najasi, qusug'i, me'da chayindi suvlari bilan birga, ovqat qoldiqlari va uni tayyorlash uchun ishlatilgan mahsulotlar olinadi. Bu esa infeksiya manbaini topish uchun muhimdir.

Bakteriyali ovqat toksikozlari bilan zaharlanish me'da-ichak yo'liga ovqat bilan birga, bakteriya toksinlari tushganda sodir bo'ladi. Bulardan *Staph.aureus*, *Cl.perfringens* lar enterotoksini, ayniqsa *Cl.botulinum* ning neyro-toksini juda xavfli hisoblanadi. Ovqat bilan zaharlanishda ovqat tarkibida tirik qo'zg'atuvchilarning bo'lishi shart emas, chunki kasallik ularning toksini bilan ham vujudga kelishi mumkin.

Ovqatdan zaharlanishning mikrobiologik diagnostikasi toksinlarni aniqlash hamda toksin hosil qiluvchi qo'zg'atuvchilarning sof kulturasini bemordan olingan materiallar va ovqat qoldiqlaridan ajratib olish yo'li orqali o'tkaziladi.

### **Ovqat toksikoinfeksiyalari**

Tekshirish uchun material: kasal najasi, qusug'i, me'da chayindisi va infeksiya manbai bo'lgan ovqat mahsulotlari qoldiqlari.

**Bakteriologik tekshiruv.** *Salmonella*, *shigella* hamda *esherixiyalarning* sof kulturasini olish uchun tekshirilayotgan material differensial-diagnostik oziq muhitlarga (*Endo*, *Ploskirev* va boshqalar) ekiladi. Proteyni ajratib olish uchun esa "Shukevich" usulidan foydalaniladi. Ekmalar 20-24 soat 37°C li termostatda ushlab turilgandan keyin differensial muhitda o'sgan bakteriyalarning kultural, tinktorial xususiyatlari, qiyalantirilgan oziqli agardagi protey uchun xarakterli «o'rmalab» o'sishi asosida xulosa chiqariladi. Taxmin qilingan mikroob koloniyalari sof kultura olish uchun qiyalantirilgan (*Ressel*, *Kliger*) GP agarga ekiladi va shu bilan bir vaqtda, buyum oynachasida agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Qolgan bosqichlari qaysi qo'zg'atuvchi ajratib olinganligiga bog'liq bo'lib,

bioximik, antigen va boshqa xususiyatlari bo'yicha identifikatsiya qilinadi. Masalan, ovqat toksikoinfeksiyalarini salmonellalar keltirib chiqargan bo'lsa, ajratib olingan salmonellalar sof kulturasi qaysi serovarlarga mansub ekanligini aniqlash uchun seroidentifikatsiya qilinadi. Avval polivalentli guruhga mansub qon zardoblar va monoretseptorli O zardoblar, so'ng H zardoblarning birinchi va ikkinchi fazalari bilan aniqlanadi. Olingan natijalar asosida salmonellalarning sof kulturalari bilan ma'lum monoretseptor zardoblar yordamida probirkalarda agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi va kultura ekilgan «olachipor» qatorlar natijalari ko'riladi, yakuniy xulosa va javob beriladi. Bemor organizmidan va ovqat mahsulotidan salmonellalarning aynan bir xil serovari ajratib olinsa, ovqat toksikoinfeksiyasi va kasallik manbai to'g'risida yakuniy xulosani chiqarish mumkin. Bir qator salmonellalarning muhim biokimyoviy belgilari va antigen tuzilishi 61-jadvalda keltirilgan.

Kondensat suvni qiyalantirilgan agarga ("Shukevich" usulida) material ekilganda kulturaning o'rmalab o'sishi kuzatilsa, undan qovuzloq bilan harakatchanlikni aniqlash uchun «ezilgan» tomchi preparati va surtma tayyorlanadi. Surtma Gram usuli bilan bo'yaladi va mikroskop ostida ko'riladi.

60-jadval

**Salmonellalarning biokimyoviy xususiyatlari va antigen tuzilishi**

O-Ag guruhi	Serovar turlari	Parchalashi					Hosil bo'lishi		Antigenlari		
		Glyukozani	laktozani	mannitni	saxarozani	dultsitni	indol	H <sub>2</sub> S	O-Ag	H-Ag	
										I faza	II faza
B	S. typhimurium	+	-	+	±	+	-	+	1,4 5,2	I	1,2
	S. derby	+	-	+	+	+	-	+	1,4 12	f, g	-
	S. heidelberg	+	-	+	+	+	-	+	4,5 12	r	-
S	S. choleraesuis	+	-	+	+	±	-	±	6,7	c	1,5
	S. newport	+	+	+	+	+	-	+	6,8	e, h	1,2
D	S. enteritidis	+	-	+	+	±	±	+	1,9 12	g, m	-
E	S. anatum	+	=	+	+	+	=	+	3,10	e, h	1,6

Ajratib olingan sof kultura «ola-chipor» qatorga ekilgandan so'ng biokimyoviy belgilari asosida proteyning turi va boshqa belgilari aniqlanadi (61-jadval).

61-jadval

**Proteus avlodi vakillarining bir-birlaridan farqlanishi**

Belgi xususiyatlari		P. mirabilis	P. myxofaciens	P. penneri	R. vulgaris
Par- cha- lashi	Maltozani	-	+	+	+
	Saxarozani	± (ko'proq -)	+	+	+
	Ksilozani	+	-	+	+
	Jelatinani eritishi	+	-	-	+
Hosil qilishi	H <sub>2</sub> S	+	-	-	+
	Indol	-	-	-	+
	Atseton	±	+	-	-
	Ornitin	+	-	-	-
	Dekarboksilaza				
Sitratni o'zlashtirishi		±	-	+	± ko'proq(-)

**Ovqat intoksikatsiyasi.** Tekshirish uchun material: kasalning qusug'i, me'da chayindisi va ovqat qoldiqlari (ko'p hollarda krem, qaymoq, muzqaymoq) hamda go'sht mahsulotlarida stafilokokklar yaxshi rivojlanadi. Stafilokokk enterotoksinlari natriy xloridning izotonik eritmasi bilan ajratib olinib, ular mavjudligi, serologik xususiyati A, B, S antitoksinli zardoblar bilan pretsipitatsiya reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Biologik sinamadan ham foydalanish mumkin. Buning uchun tekshirilayotgan material, ya'ni enterotoksin emizikli mushukchalarga beriladi, ularda 30-60 daqiqadan so'ng qusish, ich ketish boshlanadi. Stafilokokk kulturasini sof holda ajratib olish uchun tekshirilayotgan va tirik bakteriyalarni o'zida saqlovchi material, tuxum sarig'i qo'shilgan tuzli agar solingan kosachaga ekiladi va olingan kultura identifikatsiya qilinadi.

Ommaviy stafilokokkli intoksikatsiyalarni epidemiologik tahlil qilish uchun stafilokokk faglari to'plami yordamida turli manbalardan ajratib olingan kulturalar fagotipi aniqlanadi.

**Cl.perfringens** ning enterotoksinini aniqlash uchun go'sht, baliq konservalari va boshqa mahsulotlar tekshiriladi. Bu moddalar natriy

xloridning izotonik eritmasi bilan ekstraksiya qilinib, sentrifugalanadi va cho'kmaning ustki qismi oq sichqonlarning qorin pardasiga yoki dengiz cho'chqachalarining terisi orasiga yuboriladi.

Hayvonlarning 3-4 soat davomida halok bo'lishi yoki yuborilgan joyda nekroz hosil qilishi toksin borligidan darak beradi. Uni identifikatsiya qilish uchun Cl.perfringensning antitoksinli zardoblar bilan neytrallash reaksiyasi qo'yiladi.

Cl.perfringens va Cl.botulinumlarning sof kulturasi olish uchun anaerob bakteriyalarni aniqlaydigan usullardan foydalaniladi (21-mavzu).

Botulizmni aniqlash uchun material qoldiq ovqatlar (go'sht, baliq konservalari va boshqa mahsulotlar) va kasaldan olingan material (qusuq, qon, oshqozon yuvindisi, seksion material tekshiriladi. Qonni tekshirishda asosan unda toksinning borligi oq sichqonlarga (2 ml), dengiz cho'chqachalariga (5-8 ml) yuborib aniqlanadi. Kasal najasi undagi bakteriyani topish uchun bakteriologik tekshiriladi, qolgan hollarda materialdagi bakteriya va uning toksinini aniqlash usuli qo'llaniladi.

Botulin toksinini aniqlashda, bemorning qon zardobi, siydigi, najasi, me'da chayindisi, ovqat qoldiqlari yoki gumon qilingan mahsulotlardan (kolbasa, go'sht, baliq, meva, sabzavotlardan tayyorlangan konserva va boshqalar) foydalaniladi.

Kasal qoni zardobida botulin toksinini aniqlash uchun monovalentli antitoksinli botulinga qarshi zardoblarning A, B, E tiplari bilan ishlangan eritrotsitlar orqali PGAR reaksiyasi qo'yiladi. Kontrol sifatida qonning normal zardobi olinadi. Ovqat mahsulotlarida botulin toksinini va Cl.botulinumning toksigenligini aniqlash uchun oq sichqonlarda toksinni neytrallash reaksiyasi qo'yiladi. Toksin serotiplarini aniqlash uchun monovalent zardoblarning A, B, E tiplari bilan reaksiya qo'yiladi.

Agar gomolitik antitoksinli zardob toksinni neytrallasa, sichqonlar o'lmay qoladi.

## **28-MAVZU. DIZENTERIYA (ICHBURUG') VA VABO QO'ZG'ATUVCHILARI KELTIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Dizenteriya (ichburug') qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

2. Vabo qo'zg'atuvchilarining mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

5. Dizenteriya (ichburug‘) va vaboda qo‘llaniladigan diagnostika, profilaktika va davo preparatlari.

#### **Amaliy mashg‘ulot**

1. Dizenteriya (ichburug‘) va vabo qo‘zg‘atuvchilarining toza kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

2. Dizenteriya (ichburug‘) va vaboni keltirib chiqaruvchi qo‘zg‘atuvchilar toza kulturasini ajratib olishda qo‘llaniladigan differensial oziq muhitlar.

3. Dizenteriya (ichburug‘) va vabo qo‘zg‘atuvchilarining biokimyoviy xususiyatlarini namoyon etuvchi muhitlar va testlar.

4. Dizenteriya (ichburug‘) va vabo serodiagnostikasida, seroidentifikatsiyasida (agglyutinatsiya qiluvchi poli- va monoretseptorli zardoblar), profilaktikasida va davolashda qo‘llanuvchi preparatlar.

5. Vabo kasalligida materialni olish va uni laboratoriyaga yetkazish uchun ishlatiladigan maxsus patronlar.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Enteropatogen E.coli diagnostikasining davomi: “ola-chipor” qatorga ekilgan ekmani natijalash; tirik va qizdirilgan E.coli kulturasini bilan kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasini natijalash va yakuniy javob berish.

2. Qorin tifi va paratiflar diagnostikasi, gemokulturani ajratish – uchinchi bosqich: a) Ressel muhitidagi ekmalarni natijalash; b) Polivalentli agglyutinatsiyaga uchratuvchi qon zardobi bilan buyum oynasida agglyutinatsiya reaksiyalarini qo‘yish; v) bioximik xususiyatlarini o‘rganish uchun “olachipor” muhitga ekish.

4. Koprokulturani ajratish – uchinchi bosqich: a) Ressel muhitidagi ekmalarni natijalash; b) bioximik xususiyatlarini o‘rganish uchun “ola chipor” muhitga ekish.

5. Go‘sh tuzidan Endo va vismut sulfid agarga ekilgan ekmani natijalash: a) vismut-sulfid agardagi ekma natijasini baholash (kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari); b) salmonellalar tipiga mansubligini aniqlash maqsadida buyum oynachasida agglyutinatsiyalovchi zardob bilan agglyutinatsiya reaksiyasini qo‘yish (Salm.thyphimurium, anatum va boshq.).

6. Ovqatdan zaharlanishni keltirib chiqaruvchi protey diagnostikasi. Shukevich usulida ekilgan ekmani natijalash, kultural, morfologik, tinktorial xususiyatlari bo‘yicha.

7. Dizenteriyaning mikrobiologik diagnostikasi – ikkinchi bosqich: Ploskirev muhitiga ekilgan bemor materialiga baho berish:

a) o‘shish xarakteriga;

b) surtma tayyorlab, Gram usulida bo‘yash va morfologiyasini ko‘rish;

v) sof kultura ajratib olish maqsadida Ploskirev muhitidan shubhali koloniyalarni qiyalantirilgan Ressel, Kliger va GPA ga ekish;

g) qo‘zg‘atuvchining antigen mansubligini tipga xos monovalent zardoblar bilan buyum oynachasida AR bilan aniqlash.



8. Vaboga shubha qilingan bemordan olingan material 1% li peptonli suvga ekilgan. Ekmani natijalash;

a) o'sish xarakterini;

b) surtma tayyorlab Gram usulida bo'yash, morfologik va tinktorial xususiyatlarini aniqlash;

v) "ezilgan" tomchi usulida preparat tayyorlash va vibrionning harakatchanligini aniqlash;

g) qo'zg'atuvchining antigen mansubligini O-1 qon zardob bilan buyum oynachasida AR bilan aniqlash;

d) sof kultura ajratib olish maqsadida 1% li peptonli suvdan qiyalantirilgan ishqoriy agarga ekish.

### Dizenteriya (ichburug') qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi

Dizenteriya (ichburug') kasalligini Shigella avlodiga mansub bo'lgan mikroorganizmlar keltirib chiqaradi. Shigellalarning zamonaviy klassifikatsiyasi 62-jadvalda keltirilgan.

62-jadval

### Shigella avlodiga mansub bo'lgan mikroorganizmlarning xalqaro klassifikatsiyasi

Kenja guruh	Tur	Serovar	Kenja serovar	Qisqartirilgan antigen formulasi
A	Sh. dysenteriae	1-10	-	-
B	Sh. flexneri	1	1a	I : 4
			1b	I : 6
		2	2a	II : 3,4
			2b	II : 7,8
		3	3a	III : 6,7,8
			3b	III : 3,4,6
		4	4a	IV : 3,4
			4b	IV : 6
		5	5a,5b	V : 7,8
		6	-	VI;
	X-variant*	-	-7,8	
	Y-variant**	-	-3,4	
C	Sh. boydii	1-15	-	-
D	Sh. sonnei	-	-	-

\*-avlodga mansubligi to'liq aniqlanmagan.

\*\* -tipga mansub antigenidan ayrilgan (guruhga mansub Ag bilan identifikatsiya qilinadi).

**Bakteriologik tekshiruv 1-kuni** (14-rangli sxema). Bemorning tekshirilayotgan najasida yiring yoki shilliq aralash qon bo'lakchalari uchragan hollarda ular qovuzloq bilan olinib, natriy xloridning izotonik eritmasida chayilib, so'ngra Ploskirev yoki Endo muhiti sathiga qo'yilib, shpatel bilan surkab ekiladi. Ekmalar 37°C termostatga qo'yiladi. Ekilgan materialning qolgan qismi ko'paytiruvchi selenit muhitiga ekib qo'yiladi.

**2-kuni.** Ploskirev yoki Endo muhitlarida o'sgan dizenteriya qo'zg'atuvchisining kultural xususiyatlari o'rganiladi. Dizenteriya qo'zg'atuvchisi Ploskirev muhitida rangsiz tiniq koloniyalar hosil qiladi. Lekin Sh. sonnei boshqalardan farq qilib, bu muhitlarda o'lchami katta, yassi, tiniq bo'lmagan qirralari notekis (uzum bargini eslatadi) R-formadagi koloniya hosil qiladi. Bulyonni bir xil ko'rinishda loyqatib o'sadi.

63-jadval

### Shigellalarning asosiy biokimyoviy xususiyatlari

Simmons sitrati	-	Kristensen sitrati	-	Inozit	-
Ureaza	-	Atseton hosil qilishi	-	Laktoza	-
Natriy malonat	-	Jelatina gidrolizi	-	Sorbit	±
H <sub>2</sub> S	-	Indol hosil qilishi	±	Mannit	±
Fenilalanin	-	Ornitin dekarboksilaza	±	Ramnoza	±
Natriy atsetat	-	Adonit	-	Rafinoza	-
Lizin dekarboksilaza	-	Glyukoza	+	Salitsin	-
Metilen qizil b-n reak.	+	Dulsit	±	Saxaroza	-

**3-kuni.** Shubhali koloniyalardan olinib, Ressel, Kligler muhitiga yoki "ola-chipor" qatorga ekiladi. Koloniyaning qolgan qismidan, enteropatogen ichak tayoqchasi, salmonellalarga qarshi zardoblar bilan (qorin tifi yoki enteropatogen ichak tayoqchasini inkor etish uchun) buyum oynachasida taxminiy agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yishda foydalaniladi.

**4-kuni** fermentativ xususiyatlarni o'rganish (64-jadval). Fermentativ jihatdan eng passivi Sh.dysenteriae turi hisoblanadi. Bu turi faqat glyukozani gaz hosil qilmasdan, kislotagacha parchalaydi. Hamma serotiplari mannit manfiy hisoblanadi.

Sh. flexner turi laktoza, dulsit va ksilozani parchalamaydi, lekin maltoza, saxaroza va ramnozani kechikib, 6-10 sutkalarda parchalashi mumkin. Bularning deyarli hammasi indol hosil qiladi (6-seroguruhi Nyukasl deb yuritiladi). Ba'zida glyukozani parchalaganda oz miqdorda gaz hosil qilishi ham mumkin.

Sh.boydii turi ham bioximiyaviy jihatdan Sh.flexneri ga yaqin turadi. Shigellalarga xos bo'lgan xususiyatdan tashqari, bular maltoza, saxaroza va ramnozani 24 soat mobaynida fermentatsiyaga uchratadi.

Sh.sonnei bularning ichida eng bioximik jihatdan aktivi hisoblanadi. Xarakterli xususiyati: 5-6 sutkada saxarozani ham, laktozani ham parchalaydi.

Olingan sof kultura bilan buyum oynasida polivalent va monovalent agglyutinatsiyaga uchratuvchi qon zardoblar bilan agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi va serologik hamda yuqoridagi fermentativ xususiyatlari natijalariga asoslanib, yakunlovchi javob beriladi.

**Serodiagnostika** dizenteriyaning noaniq shakllari diagnozini retrospektiv asoslashda hamda kasallik qo'zg'atuvchisi turini aniqlashda qo'llaniladi.

Agglyutinatsiya reaksiyasi Vidal va PGAR reaksiyalariga o'xshash (Fleksner, Zonne eritrotsit diagnostikumlari bilan) qo'yiladi.

Fleksner shigellalari tomonidan qo'zg'atilgan dizenteriyada diagnostik titr 1:200, Zonne shigellalari bilan esa – 1:100 titr musbat hisoblanadi.

### **Vaboning mikrobiologik diagnostikasi**

Oilasi - Vibrionaceaye. Avlod – Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas Photobacterium.

Vibrio avlodiga – hozirgi kunda 25 ta tur kiritilgan, bulardan odam uchun patogen turi Vibrio cholerae, qolganlaridan 9 ta turi shartli patogen hisoblanadi, diareya keltirib chiqarishi mumkin. Bularga quyidagi turlari kiradi: V.parahayemolyticus, V.vilnificus, V.algenolyticus, V.mimicus va boshqalar.

Vibrio cholerae turiga 4 ta biovar kiradi:

Vibrio cholerae – klassik vabo qo'zg'atuvchisi;

Vibrio cholerae El-tor – 1906-yili Gotshlext pandemiya davrida topgan.

Vibrio cholerae-proteus – O1 dan tashqari hamma guruhlarni o'z ichiga oladi.

Vibrio cholerae-albensis – nur tarqatuvchi vibrion deb ham ataladi.

1993-yilda Janubiy-sharqiy Osiyoda tarqalgan vabo kasalligini oldin patogen bo'lmagan Vibrio cholerae ning 139 serovari keltirib chiqardi (Bengal tipi). Hozirgi kunda u butun dunyoga tarqalgan va vabo qo'zg'atuvchisi hisoblanadi.

Vabo organizmning umumiy zaharlanishi va gastroenterit bilan kechuvchi o'tkir yuqumli, o'ta xavfli kasallikdir. Vaboda zudlik bilan

diagnoz qo'yish juda muhimdir. Tashxis bakteriologik tasdiqlanishi va shunga ko'ra epidemiyaga qarshi samarali choralar ko'rilishi zarur. Vaboning laboratoriya diagnostikasi bakterioskopik va bakteriologik tekshiruvlar bilan o'tkaziladi. Diaqnoz qo'yishning qiyinligi shundaki, vabo vibriionlari biovarlariga o'xshashi vibriionlar tabiatda keng tarqalgan va odam uchun zararsiz bo'lgan vibriionlarni (Mechnikov, Finkler, Prior va boshqa vibriionlari) haqiqiy vabo vibriionlaridan ajrata bilish o'ta muhimdir.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

**Bakterioskopik tekshiruv (15-sxema). 1 kuni.** Tekshirilayotgan materialdan (najas, qusuq) surtmalar tayyorlab, Gram usuli yoki fuksinning suvdagi eritmasi bilan bo'yaladi. Bundan tashqari, bo'yalmagan (nativ) materialdan "osilgan" tomchi usulida preparat tayyorlab, oddiy yoki fazo-kontrast mikroskop ostida vibriionlarning harakati aniqlanadi. Surtmalarda grammanfiy, biroz bukilgan tayoqchalarning (uzunligi 1,5-3 mkm gacha) va «osilgan» tomchida vibriionlarning harakati aniqlanadi. Surtmalarda grammanfiy, biroz bukilgan tayoqchalarning (uzunligi 1,5-3 mkm gacha) va «osilgan» tomchida aktiv harakatchan vibriionlarning topilishi dastlabki diaqnozni qo'yishga imkon beradi.

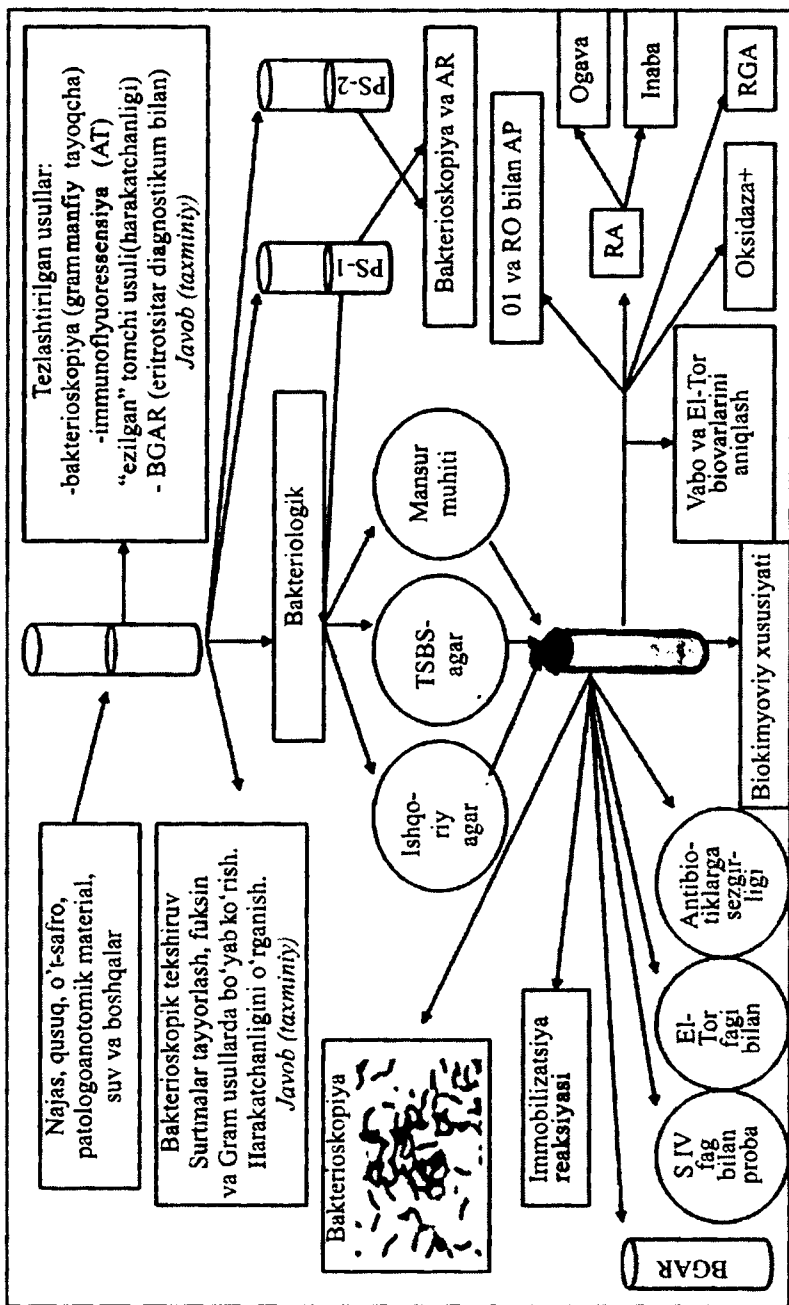
Vabo kasalligi o'ta xavfli yuqumli kasalliklarga kirganligi sababli, uni aniqlash va bakteriologik diaqnoz qo'yish, kasallikning tarqalib ketishini oldini olishda muhim epidemiologik ahamiyatga ega.

### **Vabo vibriionlarini tezkorlik bilan aniqlash usullari**

1. **Immobilizatsiya reaksiyasi** (vibriionlarni vabo O1 qon zardobi bilan harakatsizlantirish). Buyum oynasi sathiga najasdan yoki peptonli suvning pardasidan olingan material tomiziladi, ikkinchi tomoniga fiziologik eritma olinadi. Birinchi va ikkinchi tomchilar ustiga vaboning O1 qon zardobi (1:100 suyultirilgan) tomiziladi va qovuzloq bilan aralashtirilib "ezilgan" yoki "osilgan" tomchi preparati tayyorlanib, qorong'ilatilgan yoki fazo-kontrast moslamali mikroskopda ko'riladi. Agar taxmin to'g'ri bo'lsa, 3-5 daqiqadan keyin vibriion harakatsizlanadi.

2. **Immunflyuoressent usul.** Tekshirilayotgan materialga (najas, qusuq) flyuoressensiya qiluvchi vaboga qarshi zardob bilan ishlov beriladi va lyuminessent mikroskop ostida tekshiriladi. Preparatda vabo vibriioni bo'lsa (hatto bir nechta bo'lsa ham) hujayra atrofini gardishga o'xshab o'rab, tiniq, yashil nur taratib turgan vabo vibriionining ko'rinishi taxminni tasdiqlaydi.

Ijbiy natijani tekshirish boshlangandan 2-6 soat o'tgach, ya'ni vibriionlar 1 ml da  $10^6$  darajasigacha ko'paygandan so'ng ham olish mumkin. Buning uchun material 1 % peptonli suvdan olinadi.



15-sxema. Vaboning bakteriologik diagnostikasi

**BGAR qo'yish.** Peptonli suvni yuzasidan olinib, probirkalardan bittasiga quyuladi, ikkinchi probirkaga esa fiziologik eritma kontrol sifatida olinadi. Har ikkala probirkaga ham vaboning eritrotsitar diagnostikumi 3-4 tomchidan tomiziladi, agar reaksiya musbat bo'lsa, eritrotsitlar yopishib, probirka tagiga zontik ko'rinishda cho'kadi, kontrol probirkada tugmacha ko'rinishida bo'ladi.

**Bakteriologik tekshiruv. Birinchi bosqichda** material har xil suyuq va qattiq muhitlarga, xususan flakondagi ishqoriy peptonli suvga (1% peptonli suv, 0,5% natriy xlorid, 0,01%  $KNO_3$  va 0,2%  $Ka_2SO_4$ ; pH – 9,0) va kosachadagi oziqli (Ishqoriy agar, TSVS-agar, Mansur muhiti) agarlarga ekiladi. Peptonli suvga ekilganlarini 5-6 soat, kosachadagilarini 10-12 soat davomida termostatda 37°C da o'stiriladi. Laboratoriyada ish to'xtovsiz smena bilan olib boriladi.

**Ikkinchi bosqich.** 5-6 soatdan keyin peptonli suvning yuzida vabo vibrioni yupqa parda hosil qilib o'sadi. Hosil bo'lgan pardadan yoki yuza qavatidan surtmalar va «ezilgan», «osilgan» tomchi preparatlari tayyorlanadi. Agar surtmada vaboga o'xshash vibrion topilsa, shu materialning o'zidan buyum oynachasida vaboga qarshi spetsifik O1 zardob bilan (1:100 suyultirilgan) agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Morfologik va tinktorial xususiyatlari vaboga o'xshasa va agglyutinatsiya reaksiyasi O1 qon zardob bilan musbat bo'lsa, peptonli suvning bir qismini nitrozaindol sinamasini o'tkazish uchun boshqa probirkaga quyib olinadi va ustiga bir necha tomchi sulfat kislotasi quyiladi. Agar natija ijobiy bo'lsa, vabo vibrioni ta'sirida ajralgan indol va nitratlardan nitrozaindol hosil bo'lishi natijasida pushti rang paydo bo'ladi.

Tekshirish natijasidan qat'iy nazar material ikkinchi peptonli suvga ekiladi. O1 zardob bilan agglyutinatsiya beruvchi grammanfiy vibrionlarning aniqlanishi dastlabki javobni tasdiqlash imkonini beradi.

Olingan natijalardan qat'iy nazar 15-sxemada ko'rsatilganidek, tekshirish davom ettiriladi.

Sof kulturani ajratib olish va uni identifikatsiya qilish uchun (10 - 12 soat) ishqoriy agarda va boshqa muhitlarda o'sgan 5-6 ta bir tipdagi koloniyalardan foydalaniladi. Vabo vibrioni IA da katta bo'lmagan disksimon tiniq S-koloniyalar hosil qiladi. Agar oziqli muhitdan yorug'lik nuri o'tkazilsa, vabo vibrioni koloniyalari ko'kimtir tovlanib turadi. Tiosulfat, sitrat, o't kislotasi tuzlari va saxaroza tutuvchi (TSVS) muhitda vabo vibrionlari saxarozani fermentatsiya qilgani uchun muhitdagi koloniyalari sariq rangga kiradi. Analizni tezlatish uchun koloniyalardan tayyorlangan bakteriya suspenziyasi bilan kengaytirilgan

agglyutinatsiya reaksiyasi qo'yiladi. Buning uchun probirkalarda agglyutinatsiya beruvchi O-zardobni peptonli suv bilan titrigacha (0,5 ml hajmda) suyultiriladi. So'ngra har bir probirkaga 1-2 tomchidan bakteriya suspenziyasi tomiziladi. Agglyutinatsiya reaksiyasi natijasi 3-4 soat 37°C li termostatda saqlangandan keyin aniqlanadi. Vaboning sof kulturasi ajratib olish uchun shubhalangan koloniyalardan yarim uglevodli muhitlarga ekiladi.

**Uchinchi bosqich.** Yarim uglevodli muhitda o'sgan vabo vibrioni kulturasi oxirgi identifikatsiyasi uning vabo fagiga sezuvchanligi, gemolitik xususiyatlari, biokimyoviy aktivligi va vaboga qarshi O-zardob, tipik agglyutinatsiya beruvchi Inaba va Ogava zardoblari bilan agglyutinatsiya berishiga ko'ra o'tkaziladi (64-jadval). Shunday qilib, kulturaning identifikatsiyasi 3 bosqichda o'tkaziladi: 1) ularning Vibrio avlodiga kirishligi; 2) ularning O1 qon zardobi bilan agglyutinatsiya reaksiyasini berishi, spetsifik faglariga sezuvchanligi; 3) kulturalarning turga xos uglevodlar fermentatsiyasi, proteolitik, gemolitik va boshqa belgilari aniqlanadi.

Tur va tip maxsuslikka ega bo'lgan O1 va Ogava, Inaba qon zardoblari bilan kengaytirilgan AR qo'yish. Reaksiya 1 ml hajmda qo'yiladi. Qon zardoblari 1:50 dan ko'rsatilgan titrgacha suyultiriladi. Har bir suyultirilgan probirkadagi zardobga mikroba kulturasi (2 mlrd.li) 2 tomchidan tomiziladi. Kontrol uchun qon zardobi va mikroba kulturasi olinadi. Natija 18-20 soatdan so'ng aniqlanadi. Musbat reaksiya zardobda ko'rsatilgan titr yarmidan kam bo'lmasa hisoblanadi.

Uglevodlarni fermentatsiya qilishi, proteolitik, gemolitik va boshqa xususiyatlari 64-jadvalda keltirilgan.

Qo'zg'atuvchining asosiy biologik belgilarini kompleks o'rganilgandan so'ng, 36-48 soat o'tgach, vabo vibrionlarini ajratib olish va differensatsiya qilish to'g'risidagi yakuniy xulosa chiqariladi.

Bakteriologik tekshiruvlar natijasini baholashdagi qiyinchiliklarga vabo vibrionlarining noaniq, birinchi navbatda O1-zardob bilan agglyutinatsiya bermaydigan (NAG – vibrionlar) vibrionlarni ajratishda duch kelish mumkin. NAG – vibrionlari spetsifik vabo faglarining biri bilan birga erib ketib (lizis), vabo vibrionlariga o'xshash xususiyatlarga ega bo'lishi mumkin.

**Serodiagnostika.** Serologik tekshirishlar qo'shimcha tekshirish hisoblanib, vaboning retrospektiv diagnostikasi, vibrion tashuvchilarni aniqlash, infeksiyadan so'ng va emlangandan so'ng immunitetni baholash

uchun qo'llaniladi. Buning uchun, odatda, agglyutinatsiya reaksiyasi yoki PGAR va IFU hamda vibriotsid antitelalar va antitoksinlar lizis reaksiyasi yordamida in vitro sharoitida aniqlanadi.

64-jadval

### Vabo vibriolarini differensatsiya qilish uchun testlar

Testlar		Vibrio cholerae	Vibrio cholerae El-tor	Serovar 139 (Bengal)	NAG vibriolar
Proteolitik xususiyati	Laktoza	-	-	-	-
	Glyukoza	+	+	±	±
	Saxaroza	+	+	-	-
	Mannoza	+	+	-	-
	Arabinoza	-	-	±	±
	Sorbit	-	-	±	±
Uglevodlar fermentatsiyasi	jelatinani yemirishi	+	+	±	±
	nitratni nitritgacha tiklashi	+	+	±	±
	sutni ivitishi	+	+	±	±
O1 qon zardob bilan AR		+	+	-	-
Ogava va Inaba qon zardoblari bilan AR		+	+	-	-
Faglar bilan lizis:					
S (IV fag) fagi bilan lizis					
El-Tor fagi bilan lizis		+	-	-	+
		-	-	-	-
Foges-Proskauer reaksiyasi		-	+	±	±
T Tovuq eritrotsitlari bilan aggl.		-	+	±	±
Qo'y eritrotsitlari gemolizi		-	+	±	±
Polimiksinga sezgirligi		+	-	-	-
Geksaminli test		-	+	±	±

### Ichak yuqumli kasalliklarida qo'llanadigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari

**Enteropatogen ichak tayoqchalariga qarshi agglyutinatsiya hosil qiluvchi OV-zardoblar:** OV-kolizardob 026:V6; OV-kolizardob 0111:V4; OV-kolizardob 055:V5 va boshqalar. Bular esherixiyalarning tegishli serogruppa antigenlari bilan quyonlarni emlash yo'li orqali olingan.



Enteropatogen esherixiyalarni identifikatsiya qilish uchun agglyutinatsiya reaksiyasi qo'llaniladi.

**Shigellalarni identifikatsiya qilishda qo'llaniladigan adsorbsiya qilingan, agglyutinatsiya hosil qiluvchi zardoblar.** Gruppalashtirilgan va bir valentli zardoblar. Bular dizenteriya shigellalari: Fleksner, Boyd va Zonnelarning ma'lum turlari va serovarlari bilan quyonlarni emlab, so'ngra ortiqcha antitelalarni adsorbsiya qilish yo'li orqali tayyorlangan.

**Gruppalashtirilgan, adsorbsiya qilingan va bir retseptorli salmonellyozli O- va H- agglyutinatsiya beruvchi zardoblar.** Bular ham xuddi oldingi ko'rsatilgan usullar bo'yicha olingan. Salmonella serogruppalari va serovarlari agglyutinatsiya reaksiyasi bilan aniqlashda qo'llaniladi.

**Salmonellyoz O- va H- monodiagnostikumlari.** Bular salmonella aralashmalarini qizdirish yo'li bilan o'ldirib (O-diagnostikumlar) yoki formalin bilan ishlov berib (H-diagnostikumlar) tayyorlanadi. Qorin tifi va paratiflar serodiagnostikasida (Vidal reaksiyasi) qo'llaniladi.

**Vaboga qarshi agglyutinatsiya beruvchi O-zardob, Ogava va Inaba tipik zardoblar.** Vabo vibriionlari bilan emlangan quyon qon zardobidan tayyorlanadi. Agglyutinatsiya reaksiyasidan vabo O1 vibriionlarining turlarini aniqlashda va serologik farqlashda ishlatiladi.

**Adsorbsiya qilingan, agglyutinatsiya beruvchi Zonne zardobidan** ovqat toksikoinfeksiyasida ajratib olingan Zonne shigellalarini identifikatsiya qilishda ishlatiladi.

**Botulizm qo'zg'atuvchilariga qarshi zardoblar.** Ular botulin anatoksinlari bilan giperimmunizatsiya qilingan otlar qonidan olinadi. Diaferm-3 usuli bilan tozalanib, konsentratsiyalanadi. Davolash-profilaktika maqsadlari uchun bu mikroblarga qarshi zardobning A, B, E, F tiplari tayyorlanadi. Ko'rsatilgan tiplarning monovalent zardoblari tekshirilayotgan materialdan toksin serotiplarini sichqonlarda neytrallash reaksiyasi yordamida aniqlash uchun ishlatiladi.

**Eritrotsitar diagnostikumlar.** Shigellalar, qorin tifi (Vi-eritrotsitar), iyerseniozlar va vaboning serologik diagnostikasida qo'llaniladi.

**Tif-paratif-qoqshol adsorbsiya qilingan kimyoviy vaksina.** Qorin tifi, paratif A va B larning qo'zg'atuvchilaridan ajratib olingan to'la qimmatli antigenlar hamda qoqshol anatoksinlaridan tashkil topgan bo'lib, alyuminiy gidroksidiga adsorbsiya qilingan. Qorin tifi va qoqsholning maxsus profilaktikasida qo'llaniladi.

**Qurtilgan, spirtli dizenteriya vaktsinasi.** Tarkibida Fleksner va Zonne shigellalari bor. Surunkali dizenteriya kasalliklarini davolashda qo'llaniladi.

**Sekta (tetra) anatoksinli qorin tifi vaksinasi.** Tarkibida (qorin tifi bakteriyalarining O- va Vi-antigenlari, qoqshol, gazli gangrena va botulizm kasalliklari qo'zg'atuvchilarining sof holdagi anatoksinini tutadi.

**Vabo vaksinasi.** Vabo vibrionlarining o'ldirilgan aralashmasi. Vaboga qarshi aktiv emlashda qo'llaniladi. El-Tor hamda klassik vabo vibrionlarining Inaba va Ogava serotiplaridan tayyorlanadi.

**Xolerogen-anatoksin.** Suyuq oziq muhitda o'stirilgan va o'ldirilgan vabo vibrionlarining aralashmasi. Preparat keraksiz moddalardan tozalanib, quruq holda ishlab chiqariladi. Vaboning maxsus profilaktikasida qo'llaniladi.

**Qorin tifining ko'p valentli bakteriofagi.** Tabletkada holda bo'lib, kislotaga chidamli qobiq bilan qoplangan. Qorin tifi kasalligini oldini olishda qo'llaniladi.

**Dizenteriyaning ko'p valentli bakteriofagi.** Tarkibida Fleksner va Zonne shigellalarini erituvchi faglar saqlaydi. Bular ham kislotaga chidamli, qobiq bilan o'ralgan, tabletkada holda chiqariladi. Kasallikni davolash va oldini olishda qo'llaniladi.

**Koli-protey bakteriofagi** tarkibida enteropatogen esherixiyalar va proteylarning keng tarqalgan serogruppalarini erituvchi faglar bor. Suyuq holda chiqariladi. Kasallikni oldini olishda va davolashda qo'llaniladi.

**Vabo fagi.** Tipik vabo faglari vabo vibrionlari turlarini aniqlashda qo'llaniladi. Polivalentli vabo bakteriofagidan davo-profilaktika maqsadlarida foydalaniladi.

**Stafilokokk bakteriofaglari** (xalqaro to'plam). Ovqat intoksikatsiyasini epidemiologik analiz qilish maqsadida stafilokokklar fagotipini aniqlash uchun qo'llaniladi

**Kolibakterin.** Tarkibida E. coli M17 shtamining quritilgan holdagi tirik hujayralarini saqlaydi. bu qator ichak patogen bakteriyalarga qarshi kuchli antagonistik xususiyatga ega. Preparat ko'pincha bolalarda disbakterioz va dizenteriya kasalliklarini davolashda qo'llanadi.

**Bifidumbakterin.** Tarkibi B. bifidum tirik hujayralarining liofil usuli bilan quritilgan aralashmalaridan iborat. Preparat bolalarda dizenteriya va qo'zg'atuvchisi noma'lum bo'lgan surunkali ichak infeksiyalarini davolashda qo'llaniladi.

**Bifikol.** Bu E. coli M17 shtammi va B. bifidum tirik bakteriyalarining quritilgan aralashmasidan iborat bo'lib, yuqorida ko'rsatilgan hollarda qo'llaniladi. Bundan tashqari, ichak infeksiyalarini davolashda ximiyaterapevtik preparatlar va antibiotiklardan tetratsiklin, morfotsiklin, sigmamitsindan foydalaniladi.

## **29-MAVZU. O‘TA XAVFLI INFEKSIYALAR: KUYDIRGI (SIBIR YARASI) VA O‘LAT QO‘ZG‘ATUVCHILARI KELTIRIB CHIQUARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

### **Mashg‘ulot rejasi**

1. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklarini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlarning mikrobiologik diagnostika sxema­larini o‘rganish.

2. Zoonoz yuqumli kasalliklarda bakteriologik, serologik, biologik va allergik tekshirishlar.

3. Zoonoz yuqumli kasalliklarda qo‘llaniladigan diagnostika, profilaktika va davo preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklarini keltirib chiqaruvchi qo‘zg‘atuvchilarining sof kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

2. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklari keltirib chiqaruvchi infeksiyalar­ning sof kulturasini ajratib olishda qo‘llaniladigan differensial oziq muhitlar.

3. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklari keltirib chiqaruvchi infeksiyalar qo‘zg‘atuvchilarining biokimyoviy xususiyatlarini namoyon etuvchi muhitlar va testlar.

4. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklari serodiagnostikasi, seroidentifikatsiyasi (agglyutinatsiya qiluvchi poli va mono retseptorli zardoblar), profilaktikasi va davolashda qo‘llaniluvchi preparatlar.

5. Kuydirgi (sibir yarasi) va o‘lat kasalliklarida materialni olish va uni laboratoriyaga yetkazish uchun ishlatiladigan maxsus idishlar.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Dizenteriyaning mikrobiologik diagnostikasi – uchinchi bosqich: biokimyoviy xususiyatlarini o‘rganish va olingan natijalar asosida yakuniy javob berish.

2. Kuydirgi kasalligi qo‘zg‘atuvchisining morfologiyasini o‘rganish uchun antrakoidning agarli kulturasidan surtma tayyorlash Gram va Sil-Nilsen usullarida bo‘yash, mikroskopda ko‘rish.

3. Askoli termopretsipitatsiya reaksiyasini qo‘yish.

4. O‘lat qo‘zg‘atuvchisining sof kulturasidan va nativ materialdan tayyorlangan. Gram va metilen ko‘kida bo‘yalgan tayyor preparatlarni mikroskopda ko‘rish.

## **Zoonoz infeksiya qo‘zg‘atuvchilari**

Zoonoz (zoonosis – yunoncha so‘z bo‘lib, zoo- hayvon; nosis-kasallik) yuqumli kasallik qo‘zg‘atuvchilari tabiiy sharoitda hayvonlarda kasallik keltirib chiqaradi, odamlar ham bu kasalliklarga beriluvchan hisoblanadi. Bu qo‘zg‘atuvchilar har xil oila, avlodlarga mansubdir: tounni Yersinia

pestis, tulyaremiyani – *Francisella tularensis*, brutsellyozni – *Brucella abortus*, *Br.melitensis*, *Br.suis*, kuydirgini – *Bas. anthracis* keltirib chiqaradi. Bundan tashqari, zoonoz kasallik qo'zg'atuvchilariga leptospirozlar, sariq isitma (jeltaya lixoradka), yashur (manqa) kabi ko'plab kasallik qo'zg'atuvchilari kiradi. Tabiiy sharoitda kasallik manbasi hayvonlar hisoblanadi va hayvonlar o'rtasida epizootiya kuzatiladi. Odamdan odamga kasallik o'tmaydi, ma'lum sharoitlarni hisobga olmaganda (masalan, o'latning o'pka shaklida, sariq isitmada), odam kasallik manbasi bo'lishi mumkin. Ko'rsatilgan bakteriyalar kuchli virulentligi bilan farq qiladi va o'ta xavfli yuqumli kasallikni avj oldiradi. Shuning uchun ushbu bakteriyalar bilan bog'liq bo'lgan bakteriologik ishlar xavfsizlik qoidalariga rioya qilgan holda maxsus laboratoriyalarda olib boriladi.

Zoonoz yuqumli kasalliklarining laboratoriya diagnostikasida bakterioskopik, bakteriologik, serologik usullar, hamda biologik sinamalar qo'llaniladi. Bundan tashqari, teri-allergik sinama ham qo'yiladi.

### **Kuydirgi kasalligining mikrobiologik diagnostikasi**

Kuydirgi qo'zg'atuvchisi Bacillaceaye oilasiga *Bacillus* avlodiga mansub bo'lib, *Bac.anthraxis* deb nomlanadi. Bu avlodning ko'pchilik vakillari odamlarda gospital yuqumli kasalliklarni keltirib chiqarishi mumkin: (pnevmoniya, septitsemiya, endokardit) *Bac.subtilis*, *Bac.cereus*, *Bac.megaterium*, *Bac.alvei*. Ularning asosiy xususiyatlari:

1. Hammasi to'g'ri katta tayoqcha bo'lib, grammusbat hisoblanadi.
2. Aerob sharoitda spora hosil qilish xususiyatiga ega, sporasi markaziy joylashadi.
3. Bu avlod vakillaridan faqat *Bac.anthraxis* odamda kuydirgi kasalligini keltirib chiqaradi.

Kuydirgi kasalligining laboratoriya diagnostikasida quyidagi usullar qo'llaniladi: bakterioskopik; bakteriologik; biologik va serologik.

Bulardan eng ishonchli usul bu tekshirilayotgan materialdan *Bac.anthraxis* ning sof kulturasini ajratib olishdir. Kuydirgining laboratoriya diagnostikasida Askoli termopretsipitatsiya reaksiyasi va teri allergik sinamasi ham ahamiyatga ega.

#### **Uslubiy ko'rsatmalar**

**Bakterioskopik tekshiruv (16-rangli sxema).** Olingan materiallardan surtma tayyorlanib, Nikiforova aralashmasida 20 daqiqa qotiriladi. Surtmalar Gram usulida bo'yaladi. Kapsulani aniqlash maqsadida surtma Burri-Gins usulida bo'yaladi. Mikroskop ostida *Bac.anthraxis* yirik (1-2

x 6-10 mkm) grammusbat, alohida yoki zanjirsimon joylashgan, harakatsiz tayoqchalar ko‘rinishida bo‘lib, nativ preparatda yoki maxsus oqsilli muhitlarda o‘sganda kapsulasini ko‘rish mumkin. Bac. anthracis kapsula hosil qilganda bir necha tayoqchalar umumiy bitta kapsulaga o‘ralgan bo‘lishi mumkin.

Kuydirgi kasalligiga tez diagnoz qo‘yish uchun patologik materiallardan tayyorlangan surtmalar immunoflyuoressensiya usulida ham tekshiriladi. Buning uchun maxsus flyuroxrom bilan nishonlangan kuydirgiga qarshi zardoblar bilan surtmalarga ishlov beriladi va surtma lyumenitsent mikroskopda ko‘rilganda Bac.anthraxis tayoqchalari sariq, yashil tovlanib turadi (16-sxema). Olingan bakterioskopik usullar asosida dastlabki taxminiy diagnoz qo‘yiladi.

**Bakteriologik tekshiruv. Birinchi bosqich** – tekshirilayotgan material GPA, GPB va ZQA (zardobli qonli agar) ga ekiladi va termostatga 37°C da 18-20 soat qo‘yiladi.

**Ikkinchi bosqich** – ekmlar termostatdan olinib, Bac. anthracisning suyuq va zich muhitlarda o‘shish xususiyatlari o‘rganiladi. Bac.anthraxis ning virulentli shtammlari agarda R-koloniya hosil qiladi. Koloniyalar mikroskopning kichik obyektividan qaralganda “sher yoli” yoki “meduza bosh”iga o‘xshash ko‘rinishda bo‘ladi. Avirulent shtammlari S-koloniya hosil qilishi mumkin. Kuydirgi qo‘zg‘atuvchisi GPB parcha-parcha cho‘kma hosil qilib o‘sadi. Qonli agarda o‘sganda koloniyalari atrofida gemoliz kuzatilmaydi. Bulyonda o‘sgan kulturasi “osilgan” tomchi preparati tayyorlanib, harakatchanligi o‘rganiladi. Bac.anthraxis harakatchan emas. Qo‘zg‘atuvchining sof kulturasi ajratib olish maqsadida, shubhali koloniyalardan qiyalantirilgan GPA ekiladi va bulyonli kulturadan “marvarid shodasi” sinamasi (tezkor usul) qo‘yiladi. Buning uchun Xottenger bulyoniga inaktivatsiya qilingan 30 % li ot qon zardobi qo‘shiladi va har 1 ml bulyonga 0,5 XB dan pentsillin qo‘shiladi. Bulyon 2-3 ml dan probirkalarga quyilib, har biriga 2 tomchidan tekshirilayotgan bulyonli kulturadan qo‘shiladi. Ekma 3 soat 37°C termostatda saqlanadi. Har bir probirkalardan bir nechta surtmalar tayyorlanadi va havoda quritilib, Kornua suyuqligida (6 qism etil spirti + 3 qism xloroform + 1 qism uksus kislotasi) suyuqlik to‘liq parlanib ketguncha qotiriladi. Surtma metilen ko‘ki bilan bo‘yaladi va mikroskopda ko‘riladi. Surtmada kuydirgi qo‘zg‘atuvchisi “marvarid shodasini” eslatib, sferoplastlarga aylanadi (16-rangli sxema). Bu holat Bac.anthraxis ni patogen bo‘lmagan batsillalardan ajratish imkonini beradi.

**Uchinchi bosqich** – termostatdan qo‘zg‘atuvchining sof kulturasi olinadi va 16-rangli sxemada keltirilgan sinamalar qo‘yiladi.

**To'rtinchi bosqich** – qo'yilgan sinamalar termostatdan olinib, natijalanadi (65-jadval). *Bac.anthraxis* saprofit batsillalardan identifikatsiya qilinadi va yakuniy javob beriladi.

**Biologik sinama.** Tekshirilayotgan material dengiz cho'chqachasi, oq sichqonlar yoki quyonlarga (oq sichqonlarga 0,1-0,2 ml orqamiya sohasiga; dengiz cho'chqachasi va quyonlarga 0,2-0,5 ml qorin sohasiga) kiritiladi. Material yuqtirilgan hayvonlar (oq sichqonlar 1-2 va dengiz cho'chqachasi, quyonlar 2-4 kunda) o'ladi. Kiritilgan joyida shish va qon quyilish kuzatiladi. Hayvon yorilganda ichki organlari dimiqqan, kattalashgan bo'ladi, bu o'zgarishlar ko'proq taloqda uchraydi. *Bac.anthraxis* H zaharining ta'siri natijasida qon ivib qolmaydi, quyuq, qoramtir rangda bo'ladi (qo'zg'atuvchining nomi anthrax – ko'mir shundan kelib chiqqan). Hayvonlarning ichki a'zolaridan tamg'a surtmalar tayyorlanadi, qo'zg'atuvchining sof kulturasi ajratib olish uchun oziq muhitlarga ekiladi.

**Serodiagnostika** kasal bo'lganlarni va rekonvaletsentlarni aniqlashda qo'llaniladi. Qo'zg'atuvchini flyuoressentlar bilan nishonlangan AT yordamida ham (aralash kulturalarda) aniqlash mumkin. Bundan tashqari, serodiagnostikada KBR, BGAR, IFA va PZR ham keng qo'llanilmoqda.

65-jadval

**Kuydirgi qo'zg'atuvchisi va boshqa batsillalarning differensial belgilari**

Belgilari	<i>Bac. anthracis</i>	<i>Bac.cereus</i>	<i>Bac. subtilis</i>
Harakatchanligi	-	+	+
Qo'y eritrotsitlari lizisi	-	+	-
Jelatinani suyultirishi	To'ntarib qo'yilgan archani eslatadi	Ukol bo'ylab tez suyultiradi, gorizontal o'simtalar hosil qiladi	Yuzasida suyultirib parda hosil qiladi
QA (gemolitik xususiyati)	-	+	+
Lakmusli zardobda o'sishi	Qizartiradi	ko'kartiradi	Ko'kartiradi
Dengiz cho'chqachasi va quyon uchun patogenligi	+	-	-

Foges-Proskauer reaksiyasi	+	-	+
Ureaza hosil qilishi	-	±	-
Arabinoza	-	-	+k
Ksiloza	-	-	+k
Penitsillinga sezgirligi	+	-	-
Kuydirgi fagiga sezgirligi	+	-	-

Serodiagnostikada termopretsipitatsiya Askoli reaksiyasi muhim ahamiyatga ega bo'lib, bakteriologik usullar natija bermagan taqdirda ham qo'zg'atuvchini aniqlash mumkin. Askoli termopretsipitatsiya reaksiyasining mohiyati shundan iboratki, kuydirgi qo'zg'atuvchisi o'z tarkibida O-somatik (polisaxarid) Ag tutadi. Bu antigen qo'zg'atuvchi kapsula Ag idan farq qilib, yuqori haroratga chidamli. Shuning uchun bu antigen tashqi muhitda

66-jadval

#### Termopretsipitatsiya Askoli reaksiyasini qo'yish (bayonnoma shakli)

Ingrediyentlar, ml	Tajriba sinamasi	Kontrol probirkalar №			
		1	2	3	4
Kuydirgining pretsipitatsiya beruvchi zardobi	0,3	-	0,3	0,3	0,3
Quyoning normal zardobi	-	0,3	-	-	-
Ingrediyentlar probirka devori bo'ylab asta-sekin tomiziladi					
Tekshiriluvchi termoeekstrakt	0,3	0,3	-	-	-
Kuydirgi mikrobi-ning standart antigeni	-	-	0,3	-	-
Kontrol normal termoeekstrakt	-	-	-	0,3	-
Natriy xloridning izotonik eritmasi	-	-	-	-	0,3
Natijalar					

(hayvonlar terisi, juni, momig'ida) uzoq vaqt saqlanadi. Bu materiallar qaynatilganda, qaynatma ekstraktida polisaxarid Ag saqlanib qoladi va maxsus pretsipitatsiyaga uchratuvchi zardob qo'shilganda, pretsipitatsiya reaksiyasi ro'y beradi.

**Teri allergik sinama.** Bilakning ichki tarafidagi teri orasiga 0,1 ml antraksin yuboriladi. Natija 24 soatdan so'ng ko'riladi, musbat reaksiyada yuborilgan joyda qizarish va infiltrat hosil bo'ladi.

### **O'lat (toun) kasalligining mikrobiologik diagnostikasi**

O'lat (toun) kasalligining qo'zg'atuvchisi Enterobacteriaceae oilasiga Iersinia avlodiga kiradi. Bu avlodning vakillari I.pestis o'lat, I.pseudotuberculosis – psevdotuberkulyoz va I.enterocolitica – enterokolit kasalliklarini keltirib chiqaradi. Yuqoridagi oxirgi ikkita qo'zg'atuvchilarni ichak yuqumli kasalliklar bo'limida atroflicha ko'rib chiqilgan.

I.pestis o'lat qo'zg'atuvchisi tabiiy sharoitda zoonoz kasallik bo'lib, asosan kemiruvchilarda kasallik keltirib chiqaradi va ular orasida tarqaluvchi yuqumli epizootiyalarga sabab bo'ladi. Odamlarga yuqish yo'liga qarab, o'latning bubonli, birlamchi o'pka, ikkilamchi o'pka va septik klinik shakllari uchraydi. Birlamchi holatlarda asosan o'latning bubon shakli odamlarda kuzatiladi va kasallikni endemik o'choqlarda yovvoyi kemiruvchilardan bo'g'imoyoqlilar, burgalar (transmissiv) yuqtiradi. Shaharda esa kasallik manbasi kalamushlar bo'lishi mumkin. Qo'zg'atuvchi odamlarga kontakt (hayvonlar terisini shilish davrida) yo'li yoki kemiruvchilarning ektoparazitlari (burgalar) orqali yuqishi mumkin. Kasallik boshlanganda odamlar ham kasallik manbasi bo'lib qoladi. O'latning hubonli shakli septik shakliga o'tishi mumkin va ikkilamchi o'pka shaklini keltirib chiqaradi. Buning natijasida, qo'zg'atuvchi odamlar o'rtasida tez havo-tomchi yo'li bilan tarqaladi va birlamchi o'pka shaklini keltirib chiqarib, epidemiyaga sabab bo'ladi. O'lat qo'zg'atuvchisini bemor odamlardan ajratish juda muhimdir, chunki dastlabki tashxisni tez bakteriologik tasdiqlash epidemiyaga qarshi o'z vaqtida samarali choralarni ko'rish imkonini beradi.

O'lat qo'zg'atuvchisining yana bir xarakterli xususiyati, tashqi muhit onillariga o'ta chidamliligidir. Past haroratda u faqat saqlanib qolmasdan, ko'payish xususiyatiga ham egadir. Masalan, hayvon murdalarida (o'rtacha 0°) o'lat qo'g'atuvchisi virulentligini 5-6 oy saqlashi mumkin. Boshqa ko'plab bakteriyalarning o'rtacha o'sish harorati 37° C bo'lsa-da, o'lat qo'g'atuvchisining o'rtacha ko'payish harorati 25-30° C



ga to'g'ri keladi, ularning bu xususiyatidan identifikatsiyada va ajratib olishda qo'llaniladi.

O'latning mikrobiologik diagnostikasida asosan bakterioskopik, bakteriologik, biologik usullar qo'llaniladi. Oxirgi yillarda diagnostikada o'lat bakteriyasini o'ta tez aniqlash usullari (IFA, PZR) ishlab chiqilgan.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

**Bakterioskopik tekshiruv (17-sxema).** Tekshirilayotgan materialdan surtma tayyorlanib, Gram usuli va metilen ko'kining suvli eritmasi bilan bo'yaladi. O'lat qo'zg'atuvchisi surtmada ovoid (tuxumsimon) ko'rinishdagi tayoqcha bo'lib, bipolyar (ikki cheti) bo'yaladi. Bunday bo'yalish, asosan, odamlardan va hayvonlardan yoki yosh bulyonli kulturasi olib tayyorlangan nativ surtmalarga xos bo'ladi. Zich muhitlarda o'sganda o'lat qo'zg'atuvchisi bipolyar bo'yalishini va ovoid shaklini yo'qotishi mumkin.

O'lat kasalligiga tez diagnoz qo'yish uchun patologik materialdan tayyorlangan surtma immunoflyuoressensiya usulida ham tekshiriladi. Buning uchun maxsus flyuroxrom bilan nishonlangan o'latga qarshi zardob bilan surtmalarga ishlov beriladi va surtma lyumenitsent mikroskopda ko'rilganda *I.pestis* tayoqchalari sariq - yashil tovlanib turadi.

Bakterioskopik usulda o'latga xarakterli bo'lgan tayoqchalarning patologik materiallardan topilishi va immunoflyuoressensiya usulining ijobiy bo'lishi o'latga taxminiy diagnoz qo'yish imkonini beradi.

### **Bakteriologik tekshiruv**

**Birinchi bosqich.** Tekshiriluvchi material (GPA, Marten, Xotinger va GPB) oziqli muhitlarga ekiladi va termostatda 25-28°C da o'stiriladi (17-sxema).

**Ikkinchi bosqich.** O'lat qo'zg'atuvchisining kultural xususiyatlari dastlab 10-12 soatdan keyin o'rganiladi. Bu muddat ichida GPA da o'lat bakteriyalarining yosh koloniyalari mayda shisha siniqlarini (bitoye steklo) eslatib, keyinchalik birlashib, qirralari notekis "to'qilgan ro'molcha" ga o'xshash koloniyalar paydo qiladi (R-koloniya). Bunday koloniyalarni asosan o'latning virulentli shtammlari hosil qiladi. Virulentligi susaygan va avirulent shtammlari S-shakldagi koloniyalar hosil qilishi mumkin.

O'lat qo'zg'atuvchilari bulyonda ham xarakterli o'sadi. Bulyonda o'sganda uning yuzasida parda hosil qiladi va bu pardalardan bulyonning pastiga qarab ipchalar osilib turadi, stalaktitlarni eslatadi.

Agar tekshiriluvchi material boshqa bakteriyalar bilan ifloslangan bo'lsa, ekmlar 15°C da o'stiriladi. O'lat qo'zg'atuvchisi boshqa bakteriyalardan oldinroq bu haroratda o'sa oladi.

Bulyonda o‘sgan kulturasidan “osilgan” tomchi preparati tayyorlanib, harakatchanligi o‘rganiladi, I.pestis harakatchan emas. Qo‘zg‘atuvchining sof kulturasi ajratib olish maqsadida shubhali koloniyalardan qiyalantirilgan GPA ekiladi. Diaqnoz qo‘yishni tezlashtirish maqsadida bakteriofag sinamasi qo‘yiladi.

**Bakteriofag sinamasi.** Uchta oziq muhitli kosacha olinadi. Birinchi kosachaga kultura o‘lat bakteriofagi bilan aralashtirib, ikkinchi kosachaga oldin kultura shpatel bilan ekilib, so‘ng o‘lat bakteriofagi tomizilib yo‘lakcha qilinadi. Uchinchi kosachaga esa bakteriofagsiz kultura ekiladi. Ekmalar termostatga 28°C ga qo‘yiladi.

12-14 soatdan so‘ng ekmalar olinib natijalanadi. Agar shubhalanilayotgan kulturada o‘lat qo‘zg‘atuvchisi bo‘lsa, birinchi kosachada o‘latning negativ koloniyalari (koloniya qurib qoladi), ikkinchi kosachada steril yo‘lakcha va uchinchi kosachada esa tipik o‘lat qo‘zg‘atuvchisi koloniyalari hosil bo‘ladi.

**Uchinchi bosqich.** Termostatdan qo‘zg‘atuvchining sof kulturasi olinadi. Qiyalantirilgan GPA o‘lat qo‘zg‘atuvchisi nozik oqish kulrang parda hosil qilib o‘sadi. Ajratib olingan sof kultura bilan 17-sxemada keltirilgan sinamalar qo‘yiladi.

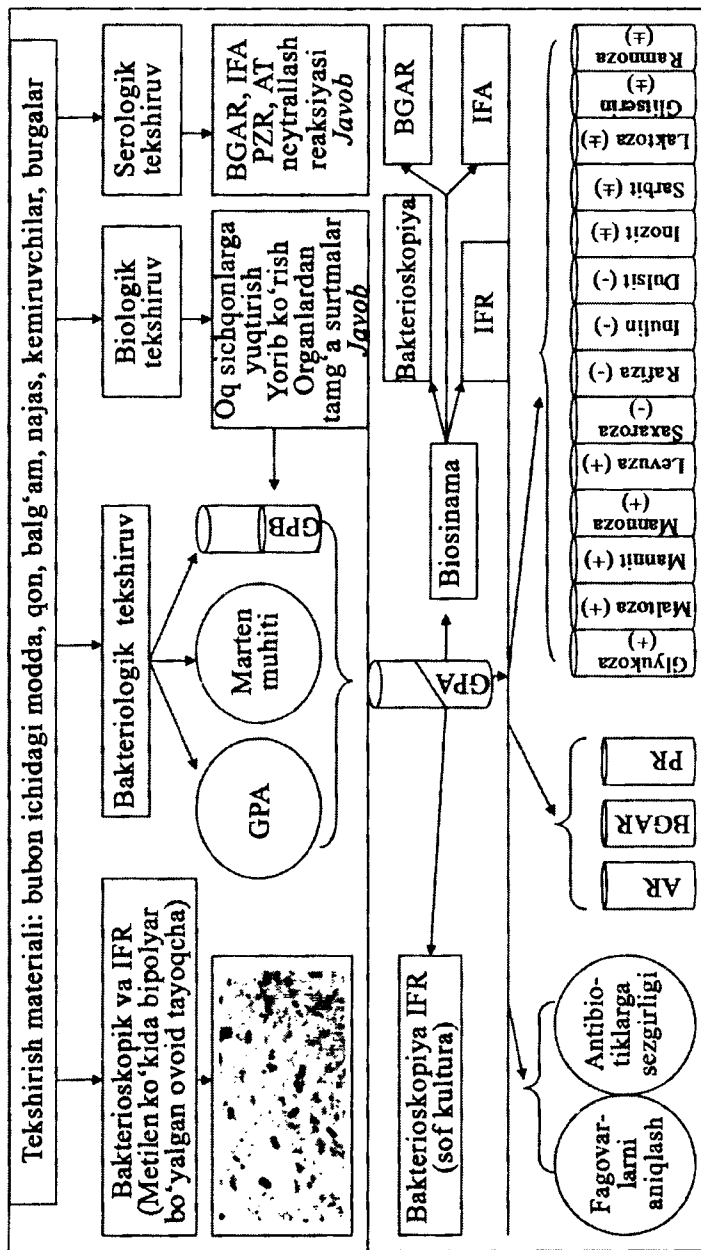
**To‘rtinchi bosqich.** Qo‘yilgan sinamalar termostatdan olinib, natijalanadi. I.pestis boshqa iyerseniozlardan identifikatsiya qilinadi va yakuniy javob beriladi.

**Biosinama.** Bu usul begona mikroflora bilan ifloslangan materialdan sof kultura ajratib olish uchun ishlatiladi. O‘ta sezgir laboratoriya hayvonlari oq sichqon va kalamushlar hisoblanadi. Ular bo‘lmasa, dengiz cho‘chqachasi qo‘llaniladi. Albatta, tekshiriluvchi material hayvonning terisiga surkalishi va teri orasiga kiritilishi zarur. Materialda begona mikroorganizmlar bo‘lmagan taqdirda, material hayvonning qorin pardasiga yuboriladi.

Hayvonlar o‘lgandan so‘ng (materialni yuborish turiga qarab 3-7 kun) yorib ko‘riladi, organlaridagi patologik o‘zgarishlar aniqlanadi. Organlardan tamg‘a surtmalar tayyorlanib, Gram usulida va metilen ko‘ki bilan bo‘yab, mikroskopda ko‘riladi va oziq muhitlarga ekilib, 17-sxema bo‘yicha bakteriofag tekshiruv o‘tkaziladi.

O‘lat qo‘zg‘atuvchisi diaqnostikasidagi tezkor usullar.

1. Immunoflyuoresent usul qo‘zg‘atuvchini turli patologik materiallarda, atrof-muhit obyektlarida, ektoparazitlarda borligini 2 soat ichida aniqlash imkonini beradi. Bu maqsadda, turga xos o‘latga qarshi antitelalar flyuoresent moddalar bilan nishonlanadi. Materialda o‘lat



17-sxema. O'lat kasalligi qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi

qo'zg'atuvchisi bo'lsa, nishonlangan AT unga birikib, lyuminessent mikroskopda yashil nur tarqatadi.

2. Tekshirilayotgan materialda o'lat qo'zg'atuvchisi borligini qo'zg'atuvchining AT si yuklatilgan eritrotsitar diagnostikumlar bilan PGAR orqali ham aniqlash mumkin. Bundan tashqari, oxirgi yillarda antitelalarning neytralizatsiya reaksiyasi (ANR), IFA va I. pestis ning o'sishini tezlashtiruvchi oziq muhitlardan diagnostikada keng foydalanilmoqda.

### **30-MAVZU. O'TA XAVFLI INFEKSIYALAR: BRUTSELLYOZ VA TULYAREMIYA QO'ZG'ATUVCHILARI KELTIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Brutsellyoz va tulyaremiya kasalliklarini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlarning mikrobiologik diagnostika sxemalarini o'rganish.

2. Brutsellyoz va tulyaremiya kasalliklarida bakteriologik, serologik, biologik va allergik tekshirishlar.

#### **Namoyish qilish**

1. Brutsellyoz va tulyaremiya kasalliklarini keltirib chiqaruvchi qo'zg'atuvchilarining toza kulturasidan tayyorlangan surtmalar.

2 Brutsellyoz va tulyaremiya kasalliklari keltirib chiqaruvchi infeksiyalarning toza kulturasini ajratib olishda qo'llaniladigan differensial oziq muhitlar.

3. Brutsellyoz va tulyaremiya kasalliklar serodiagnostikasida va seroidentifikatsiyasida, profilaktikasida va davolashda qo'llaniluvchi preparatlar.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Brutsellyozning serologik diagnostikasi – tekshirish uchun material: brutsellyozga shubha qilingan bemor qon zardobi. Xeddelson va Rayt reaksiyalarini qo'yish.

2. Tulyaremiyaning serologik diagnostikasi – tekshirish uchun material: tulyaremiyaga shubha qilingan bemor qon zardobi. Kengaytirilgan agglutinatsiya reaksiyasini qo'yish va natijalash.

### **Tulyaremiya kasalligining mikrobiologik diagnostikasi**

Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi Francisella tularensis oxirgi klassifikatsiya bo'yicha qiyin o'suvchi, aerob, grammanfiy tayoqcha va kokkobatsillalar guruhiga kiritilgan. Bu guruhga Francisella, Brucella, Bordetella, Legionella avlodlari kiritilgan. Bularning bir guruhga kiritilishining asosiy sababi, bu bakteriyalarning barchasi sun'iy o'stirilganda ma'lum o'stirish omillariga muhoj. Oddiy sharoitlarda o'smaydi, ularni o'stirishda maxsus

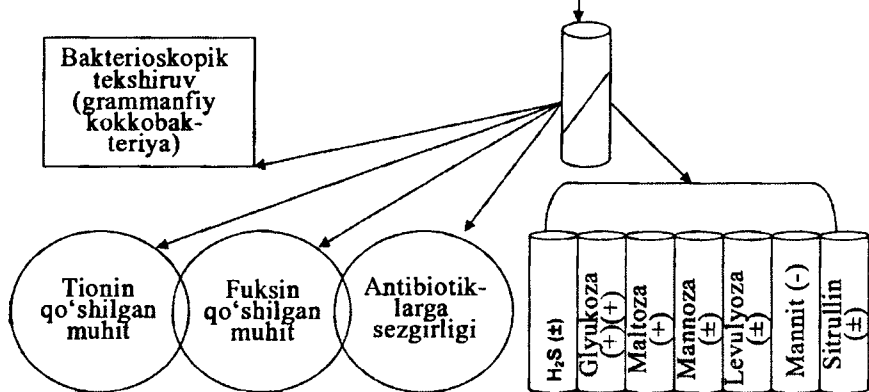
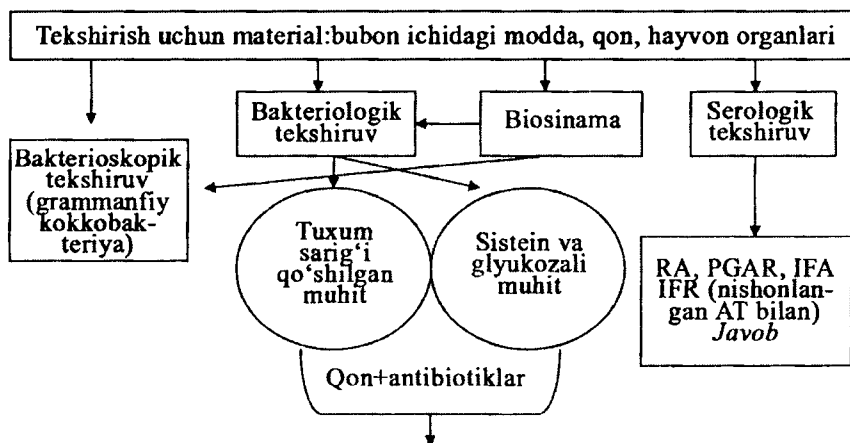
oziq muhitlar va sharoitlar kerak bo'ladi. Ularning nomlanishi ham (injiq prixotlivie) shundan kelib chiqqan.

Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi tabiiy sharoitda kemiruvchilarda uchrab, ularda o'limga olib boruvchi yuqumli kasalliklarni keltirib chiqaradi. Qo'zg'atuvchi ekologogeografik jihatdan differentsatsiya qilinadi. A-tipi (Nearctica) ko'plab kemiruvchi va qon so'ruvchilarda uchrab, odam va quyonlar uchun o'ta virulentli hisoblanadi, ular glitserinni fermentatsiyaga uchratadi va sitrullinureidaza saqlaydi. Bu tip asosan Shimoliy Amerikada tarqalgan. Odam uchun o'ta patogen, davolanmasa o'lim 6% bo'lishi mumkin. B-tipi (Palaeartica) asosan suv hayvonlarida uchraydi, odam va quyonlar uchun kuchsiz virulentli hisoblanadi, glitserinni fermentatsiyaga uchratmaydi va sitrullinureidaza saqlamaydi. Bu tip asosan Yevropa va Osiyoda uchraydi. Variant japonica Yaponiyada uchraydi. Variant mediasiatica O'rta Osiyoda, Ill va Amudaryo deltalarida uchraydi, glitserinni fermentatsiyaga uchratadi va sitrullinureidaza saqlaydi va odamlar, quyonlar uchun o'rtacha virulentlikka ega.

Odamlarda tulyaremiya qo'zg'atuvchisini aniqlash uchun teri-allergik sinama va serologik usullar qo'llaniladi. Bakteriologik diagnostika maxsus laboratoriyalarda tekshiriluvchi materialni laboratoriya hayvonlariga yuqtirish usuli bilan o'tkaziladi, chunki kasaldan olingan qon va boshqa materiallardan qo'zg'atuvchini ajratib olish o'ta murakkab hisoblanadi. Diagnostikada bakterioskopik, bakteriologik va serologik usullardan foydalaniladi.

### **Uslubiy ko'rsatmalar**

Bakterioskopik tekshiruv (18-sxema). Tekshirilayotgan materialdan surtma tayyorlanib, Gram usuli va metilen ko'kinging suvli eritmasi bilan bo'yaladi. Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi mayda (0,1-0,5 mkm), harakatsiz nozik kapsula bilan o'ralgan tayoqcha. Ajratib olingan kulturalarda kokksimon formasi ko'proq uchrasa, organlardan olingan surtmalarda esa tayoqchasimon yoki kokkabakteriya formasi ustunlik qiladi. Anilin bo'yoqlarini yaxshi qabul qilmaydi, shuning uchun yaxshi bo'yalmaydi, grammanfiy. Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi polimorf bo'lib, antibiotiklar ta'sirida va eski kulturalarida shaklini o'zgartirishi, bipolyar bo'yalishi va ipsimon shakllari ham uchraydi. Tulyaremiya kasalligiga tez diagnoz qo'yish uchun patologik materiallardan tayyorlangan surtmalar immunoflyuoressensiya usulida ham tekshiriladi. Buning uchun maxsus flyuroxrom bilan nishonlangan tulyaremiyaga qarshi AT lar bilan surtmalarga ishlov beriladi va surtma lyumenitsent mikroskopida ko'riladi. Bakterioskopik usulda tulyaremiyaga xarakterli bo'lgan tayoqchalarning patologik materiallardan topilishi va immuno-



18-sxema. Tulyaremiya kasalligi qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi

flyuoressensiya usulining ijobiy bo'lishi tulyaremiyaga taxminiy diagnoz qo'yish imkonini beradi.

### **Bakteriologik tekshiruv va biosinama**

**Birinchi bosqich.** Tulyaremiya qo'zg'atuvchisini laboratoriya sharoitida ajratib olish o'ta murakkabligi va patologik materiallardan deyarli ajratib olish mumkin bo'lmashligini hisobga olib, sof kultura olishda biosinamadan foydalaniladi. Tulyaremiya bakteriyasiga oq sichqonlar va dengiz cho'chqachalari o'ta sezgir bo'lib, tekshiriluvchi materialda qo'zg'atuvchining juda oz miqdori bo'lishi ham sinamada teri orasiga yuborilsa, ular kasallanishi mumkin. O'lgan hayvonlar yorilib tekshiriladi va undan olingan materiallar ham parallel ravishda oziq muhitlarga sof kulturasini ajratib olish uchun ekiladi. Tulyaremiya bakteriyasi qat'iy

aerob va oziq muhitlarga o'ta talabchan, shuning uchun ularni ajratib olishda murakkab tarkibli to'qima ekstraktlari, qon, ivitilgan tuxum sarig'i, sistin, glitserin va boshqa bakteriyalar o'sib ketishiga qarshi antibiotiklar qo'shilgan muhitlar qo'llaniladi. Ekilgan ekmalar termostatda 36-37°C da o'stiriladi.

**Ikkinchi bosqich.** Tulyaremiya qo'zg'atuvchisini kultural xususiyatlari o'ziga xos bo'lib, zich muhitlarda virulent shtammlari silliq, och havo rang, mayda, S- shakldagi dissotsiyalangan koloniyalar hosil qiladi.

Muhitlarda o'sgan tulyaremiyaga shubha qilingan koloniyalardan surtma tayyorlanib, Gram usulida bo'yab, mikroskopda ko'riladi va sof kulturasini ajratib olish uchun qiyalantirilgan maxsus agarli muhitlarga ekiladi.

**Uchinchi bosqich.** Sof kultura (18-sxema) bakteriya hujayrasining shakli, o'sish xarakteri, biokimyoviy antigenlik xususiyatlariga qarab identifikatsiya qilinadi. Tulyaremiya bakteriyalari xususiyatlari tarkibiga kamroq oqsil moddalari bo'lgan, maxsus zich muhitlarda aniqlanadi. Tulyaremiya qo'zg'atuvchisi brutsellalardan glyukoza, maltoza va mannozani kislotagacha parchalashi bilan farq qiladi.

**To'rtinchi bosqich.** Qo'yilgan sinamalar natijalanadi. Tulyaremiya bakteriyasi identifikatsiya qilinib, yakuniy javob beriladi.

**Serodiagnostikasi.** Tulyaremiya bakteriyalari virulentlik va immunogenlik xususiyatlari bilan bog'liq qobiq va somatik O-antigenga ega. Bemor qon zarobidagi Francisella tularensis ga unga qarshi antitelalar tulyaremiya diagnostikumi yordamida kengaytirilgan agglyutinatsiya reaksiyasi yordamida aniqlanadi. AR diagnostik titri 1:100 va undan yuqori bo'ladi. Kasallikning birinchi haftasida AR bilan ijobiy natija 12,5%, 4-haftasida esa bu natija 93,2% tashkil qiladi. PGAR agglyutinatsiya reaksiyasi nisbatan sezgir hisoblanadi. Kasallikning avjida zardobda antitelalar titri 1:1280- 1:2560 va undan yuqori bo'lishi mumkin. Bu reaksiyalarni, albatta, kasallik dinamikasida juft qon zardob bilan qo'yish zarur va AT titrini oshib borishiga qarab tashxis qo'yiladi. Hozirgi kunda tulyaremiya bakteriyalarini aniqlashning o'ta sezgir usullari (IFA, PZR, IFR nishonlangan AT) ishlab chiqilgan bo'lib, bu usullar jadallashtirilgan diagnostikada qo'llaniladi. Shu bilan bir qatorda, jadallashtirilgan diagnostikada qon-tomchi agglyutinatsiya reaksiyasi ham qo'llanilib kelinadi. Buning uchun bemorning barmog'idan olingan qon buyum oynachasiga tomiziladi, ustiga bir tomchi distillangan suv tomiziladi (eritrotsitlarni lizis qilish uchun), bir tomchi tulyaremiya diagnostikumi tomizilib, shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Agar qonda AT ning diagnostik titri 1:100 va undan ortiq bo'lsa, u holda tomchida

darhol agglyutinatsiya ro'y beradi, shuningdek titr yuqorida ko'rsatilgandan kam bo'lsa, agglyutinatsiya 2-3 daqiqadan keyin ro'y beradi.

Teri allergik sinamasi. Antigen sifatida tulyarin – 70°C da o'ldirilgan bakteriya suspenziyasi ishlatiladi. Preparat teri orasiga 0,1 ml (100 mln mikroob tanasi) miqdorda kiritiladi. Natija 24-48-72 soatdan keyin tekshiriladi. Sinamalar o'ta sezgir bo'lib, kasallikning 3-5 kunidan boshlab musbat natija beradi, lekin natijalar kasaldan tuzalgan va emlanganlarda ham musbat bo'ladi. Shuning uchun reaksiyani baholashda ehtiyotkorlik talab qilinadi.

### **Brutsellyoz kasalligining mikrobiologik diagnostikasi**

Brutsellyoz kasalligining qo'zg'atuvchilari *Brucella* avlodiga mansub bo'lib, bu avlodga quyidagi turlar kiradi:

1. *Br.melitensis* – qo'y, echki kabi hayvonlarda brutsellyoz keltirib chiqaradi, 3 biovari bor.

2. *Br.abortis* – shoxdor qora mollarda brutsellyoz ketirib chiqaradi, 9 biovari bor.

3. *Br.suis* – cho'chqalarda brutsellyoz keltirib chiqaradi, 5 biovari bor.

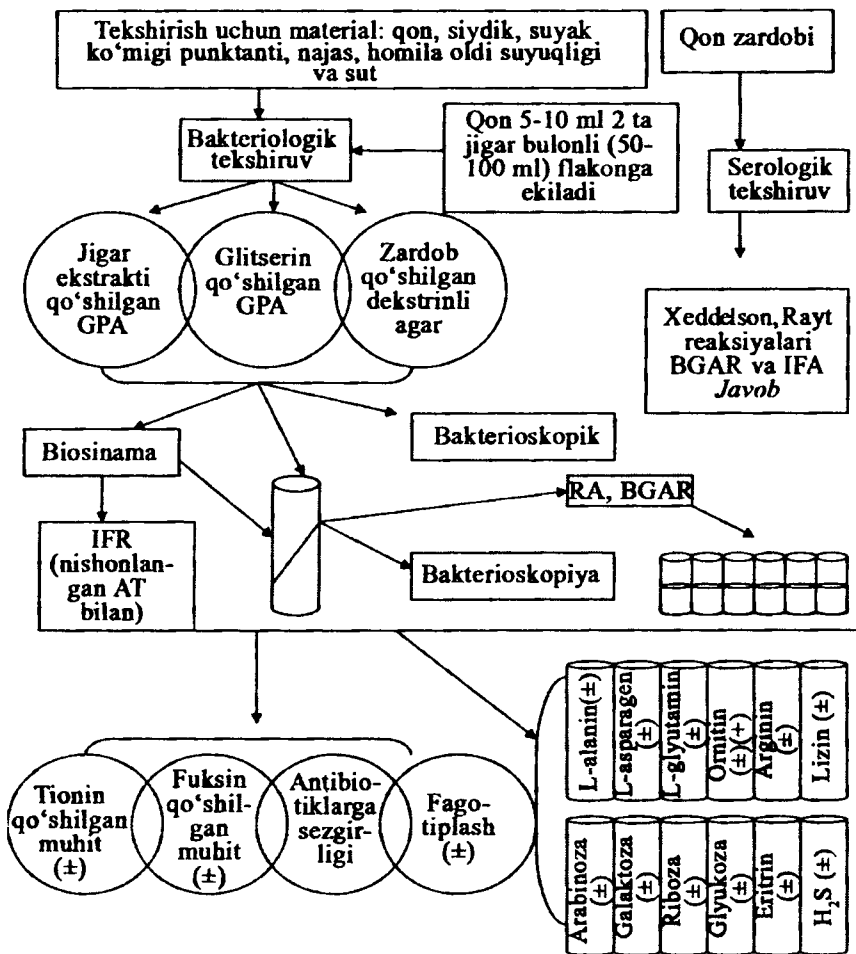
4. *Br.rangiferi* – bug'ularda, *Br.neotamaye* – kemiruvchilarda, *Br. ovis* – parrandalarda va *Br.canis* – itlarda. Bulardan eng ko'p kasallikni odamlarda yuqoridagi uchta turi keltirib chiqaradi. Bizning sharoitimizda ko'proq *Br.melitensis* va *Br.abortis* kasalliklarga sabab bo'ladi. Brutsellyoz kasalligi kasb kasalliklariga kiradi, asosan kasallik bilan chorvachilikda ishlovchi kishilar kasallanishadi. Tulyaremiyaga o'xshab brutsellalarni ham ajratib olish juda qiyin. Shuning uchun mikrobiologik diagnostikasida biologik va serologik usullar (Xeddelson, Rayt reaksiyalari BGAR va IFA) keng qo'llaniladi. Ayrim vaqtlarda maxsus laboratoriyalarda brutsellalar kulturalarini ajratib olishga harakat qilinadi.

#### **Uslubiy ko'rsatma**

Bakteriologik usul (19-sxema). Gemokultura olish uchun bemor bilagidan 5-10 ml qon olinib, 50-100 ml dan iborat jigar bulyonli ikkita flakonga ekiladi. Birinchi flakon oddiy aerob sharoitda *Br.melitensis* ajratib olish uchun, ikkinchi flakon 10% CO<sub>2</sub> qo'yilgan atmosferada *Br.abortis* o'stiriladi.

Brutsellalar birinchi generatsiyasida juda sekin boradi, ular termostatda 2-5 kunda o'sadi. Brutsellalar zich agarlarda mayda, rangsiz tovlanib turuvchi koloniyalarni, bulyonda esa loyqa shilimshiq cho'kma hosil qilib





19-sxema. Brutsellyoz kasalligi qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi

o'sadi. Gram usuli bilan bo'yalgan surtmalarda brutsellalar mayda (0,3-0,5 mkm) grammanfiy kokksimon yoki kokkobakteriya ko'rinishida bo'ladi, ular harakatsiz, spora hosil qilmaydi, ma'lum sharoitlarda kapsula hosil qilishi mumkin.

Brutsellalarni identifikatsiya qilish uchun ajratib olingan toza kulturasida 19-sxemada ko'rsatilgan testlar orqali o'tkaziladi.

Brutsellalarning fermentativ xususiyatlari kuchsiz rivojlangan, ular uglevodlarni deyarli fermentatsiya qilmaydi. Jigar ekstraktli muhitlarda

H<sub>2</sub>S hosil qiladi. Brutsellalarning differensial xususiyatlari 67-jadvalda keltirilgan.

67-jadval.

**Brucella avlodi vakillarini differensial xususiyatlari**

Belgilari	Br. melitensis biotiplari				Br. abortus biotiplari									Br. suis biotiplari			
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4
Aminokislotalar																	
L-alanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±	-	-
L-asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	-	-	-
L-glyutamin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	±	±	±
Mochevina sikli substrati																	
DLOrnitin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
LArginin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
ILizin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
Uglevodlar fermentatsiyasi																	
LArabinoza	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
DGalaktoza	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
DRiboza	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N <sub>2</sub> S hosil qilishi	-	-	-	+	+	+	+	-	±	±	-	+	+	-	-	-	-
Fuksinga sezgirligi																	
1:50 000	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
1:100 000	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Taninga sezgirligi																	
1:25 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
1:50 000	+	+	+	?	?	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Birinchi o'sishida CO <sub>2</sub> muhtojligi	-	-	-	±	+	±	±	±	±	±	+	±	-	-	-	-	-

**Serodiagnostikasi.** Klinik amaliyotda asosiy diagnostik usul Rayt reaksiyasi hisoblanadi. Rayt reaksiyasi kengaytirilgan agglyutinatsiya

reaksiyasi bo'lib, Vidal reaksiyasiga o'xshab qo'yiladi. Reaksiya birinchi haftadan boshlab musbat bo'ladi. Eng yuqori titri 1-2 oylarda kuzatiladi. Diagnostikum sifatida brutsellalarning metilen ko'k bilan bo'yalgan korpuskulyar diagnostikumidan (uchala qo'zg'atuvchilardan birga tayyorlaniladi) foydalanish mumkin. Reaksiyaning diagnostik titri 1:200 va undan ortiq bo'lishi kerak. Rayt reaksiyasidan oldin, albatta, taxminiy Xeddelson agglyutinatsiya reaksiyasi qo'llaniladi. Reaksiya kasalning suyultirilmagan zardobi va konsentratsiyalangan "antigen –diagnostikum:" bilan qo'yiladi.

Xeddelson agglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish. 9x12 sm kattalikdagi moydan tozalangan kvadrat oynacha 5 ta katakchalarga bo'linadi, unga mikropipetka bilan ingrediyentlar qo'shiladi. Katakchalardagi ingrediyentlar zardobning eng kam miqdoridan boshlab shisha tayoqcha bilan aralashiriladi. Natija musbat bo'lsa, birinchi minutdan boshlab oynachada agglyutinatsiya ro'y beradi. Agar agglyutinatsiya tez ro'y bermasa, oynacha ehtiyotlik bilan spirtovka alangasida ozroq qizdiriladi. Agglyutinatsiya zardobning 0,02 va 0,01 ml miqdorida ro'y bersa, musbat hisoblanadi. Lekin Xeddelson reaksiyasi o'ta maxsus emas, ba'zi kasalliklarda, yuqori harorat ko'tarilganda ham musbat bo'lishi mumkin. Shuning uchun bu reaksiya taxminiy hisoblanadi.

Oxirgi yillarda brutsellyoz diagnostikasida BGAR keng qo'llanilmoqda, bu reaksiyada brutsellyozning eritrotsitar diagnostikumi qo'llaniladi. Reaksiyani qo'yish usuli boshqa BGARga o'xshash (serologik reaksiyalarga qaralsin) bo'ladi.

Kasallikning o'tkir fazasida bemor qonidan IgM ni immunoferment usuli bilan aniqlash diagnostik qimmatga ega.

Bulardan tashqari, brutsellyoz diagnostikasida immunoflyuorensensiya, opsonofagotsitar reaksiya. KBR keng qo'llaniladi. Bu reaksiyalar yetarlicha darajada sezgir va maxsusdir. Brutsellyoz kasalligi ke'pchilik holatlarda surunkali shaklga o'tishi natijasida yuqorida keltirilgan usullar bilan aniqlashda musbat natijalarning kamayib ketishi kuzatiladi. Shu bilan bir qatorda, organizmning qo'zg'atuvchiga nisbatan sezgirligining oshishi va qonda to'liq bo'lmagan ATning ko'payishi kuzatiladi. Shuning uchun teri allergik reaksiyasi va Kumbs reaksiyasi katta diagnostik ahamiyatga ega bo'lmoqda.

Teri-allergik sinama (Byurne reaksiyasi). Bilakning kafti tarafi sohasidagi teri orasiga 0,1 ml brutsellin yuboriladi. Agar organizmda brutsellyozga nisbatan allergik holat bo'lsa, 6-8 soatdan so'ng kiritilgan joyda teri qizaradi, shish va og'riq paydo bo'ladi. Natija 24 soatdan keyin aniqlanadi. Reaksiya sezgir bo'lib, faqat kasal va kasaldan halos

bo'lganlarda emas, balki emlanganlarda ham musbat bo'ladi. Shuning uchun diagnostik baho berishda bu xususiyatlarga ahamiyat beriladi.

### **O'ta xavfli yuqumli kasalliklarning diagnostikasi, profilaktikasi va davolanishida qo'llaniluvchi preparatlar**

**Brutsellez diagnostikumi.** Bu metilen ko'ki bilan bo'yalgan, o'ldirilgan brutsellalar suspenziyasidir. Brutsellezga serologik diagnoz qo'yishda, Rayt, Xeddelson agglyutinatsiya reaksiyalarini o'tkazishda qo'llaniladi.

**Tulyaremiya diagnostikumi.** Bu tulyaremiyaning o'ldirilgan bakteriya suspenziyasi bo'lib, agglyutinatsiya reaksiyasi yordamida tulyaremiyaga serologik reaksiya qo'yishda qo'llaniladi.

**Pretpitatsiya beruvchi kuydirgi kassalligining zardobi.** Quyonlarni kuydirgi batsillasi bilan giperemlab, qonidan olinadi. Askoli termopretpitatsiyasini qo'yishda foydalaniladi.

**Toun bakteriofagi.** Y.pestisni identifikatsiya qilish uchun ishlatiladi.

**Kuydirgi batsillasining bakteriofagidan** Bac.anthraxisni identifikatsiya qilishda foydalaniladi.

**Brutsellin.** Qizdirib o'ldirilgan, *Brucella melitensis*, *Br. abortus* *Br. suis* larning 3 haftalik bulyonli kulturasi filtrati. U Byurne teri-allergik sinamasini qo'yishda ishlatiladi.

**Tulyarin.** Qizdirib o'ldirilgan tulyaremiya bakteriyasining (vaksina shtammining) suspenziyasidir. Teri-allergik sinamasini qo'yishda foydalaniladi.

**Antraksin.** Kuydirgi batsillasini gidroliz qilib ajratib olingan oqsil-polisaxarid-nukleinli kompleks. Teri-allergik sinamasini qo'yishda qo'llaniladi.

**Touning tirik, quritilgan vaksinasi.** EV vaksina shtammining tirik, quritilgan Y.pestis kulturasi. Toun profilaktikasida qo'llaniladi.

**Tulyaremiyaning tirik, quritilgan, teriga yuboriladigan vaksinasi.** Francisella tularensis vaksina shtammining quritilgan, tirik kulturasi. Tulyaremiya profilaktikasida ishlatiladi.

**Brutsellezning teriga yuboriladigan, quritilgan, tirik profilaktika uchun ishlatiladigan vaksinasi.** Br.abortus vaksina shtammining suspenziyasi. Brutsellez profilaktikasida ishlatiladi.

**Brutsellezni davolashda qo'llaniladigan vaksina.** Qizdirib o'ldirilgan brutsellalar suspenziyasi. Davolash maqsadida ishlatiladi, organizmning shu mikrobgga nisbatan sezuvchanligini (sensibilizatsiyasini) yo'qotadi.

**Kuydirgi kasalligining tirik STI vaksinasi.** Bu birinchi marta Sanitariya-texnika institutida olingan, shuning uchun shu nom bilan STI vaksinasi

deyiladi. Kuydirgi batsillalari tirik sporalarining quritilgan suspenziyasidir. Kuydirgi kasalligi profilaktikasida ishlatiladi.

### **31-MAVZU. TERI-TANOSIL YUQUMLI KASALLIK QO'ZG'ATUVCHILARI ZAXM, SO'ZAK, MIKOPLAZMA, XLAMIDIYA VA BOSHQALAR. ULARNING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Teri-tanosil yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilari va ular keltirib chiqaruvchi kasalliklar.

2. So'zak uretritlarida bakterioskopik, bakteriologik, serologik tekshirishlar.

3. Zaxm kasalligi va uning mikrobiologik diagnostikasi.

4. Mikoplazma, xlamidiyalar keltirib chiqaruvchi urogenital kasalliklar va ularning mikrobiologik diagnostikasi.

Namoyish qilish

1. So'zak uretriti kasalligi bilan og'rigan bemor yiringidan tayyorlangan, Gram usulida, metilen ko'kida bo'yalgan surtmalar.

2. So'zak qo'zg'atuvchisining sof kulturasi ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar va biokimyoviy qatorlar.

3. Yumshoq shankr yarasidagi suyuqlikdan tayyorlangan Gram va metilen ko'ki bilan bo'yalgan surtmalar.

4. Oziqli agarda (Eshboyev.E.D) mikoplazmalarning o'sishi yoki ularning rangli rasmlari.

5. Qattiq shankrdan ajralgan suyuqlikdan tayyorlangan, Romanovskiy – Gimza va Burri usullarida bo'yalgan surtmalar.

6. Romanovskiy –Gimza usulida bo'yalgan xlamidiyalar, trixomonadalar surtmalari.

7. Teri-tanosil yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilari serodiagnostikasi, profilaktikasi va davolashda qo'llaniluvchi preparatlar.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. So'zak uretriti bilan og'rigan bemorning yiringli ajralmasidan surtma tayyorlash, Gram usuli va metilen ko'ki bilan bo'yash, surtmadan gonokokklarni topish.

2. Zaxmning serodiagnostikasi. Vasserman reaksiyasini qo'yish va reaksiya natijasiga ko'ra xulosa chiqarish.

Tanosil yuqumli kasalliklari asosan ko'pchilik hollarda odamlarga jinsiy aloqa paytida yuqadi. Yaqingacha faqat zaxm, so'zak, yumshoq shankr, venerik limfogradulema va donovoz tanosil kasalliklari deb yuritilgan. Jahon sog'liqni saqlash tashkilotining ma'lumotiga qaraganda, oxirgi 10 yil ichida, jinsiy yo'l bilan yuqadigan kasalliklar soni 20 dan oshib ketdi (68-jadval). Ushbu bo'limda biz asosan klinik

amaliyotda eng ko'p uchraydigan venerik kasalliklarning mikrobiologik diagnostikasi bilan tanishib chiqamiz.

### So'zak (gonoreya, tripper) kasalligining mikrobiologik diagnostikasi

So'zak qo'zg'atuvchisi Neisseriaceaye oilasiga Neisseria avlodiga mansub bo'lib, Neisseria gonorrhoeaye deb ataladi. Bu mikroorganizmlar aerob, grammanfiy, sferik shakldagi kokklar bo'lib, surtmada juft-juft bo'lib joylashadi va botiq tomoni bir-biriga qaragan loviyani (kofe urug'ini) eslatadi, harakatsiz, spora hosil qilmaydi, nozik kapsulasi uchraydi. Aerob, xemoorganotrof, katalaza, sitoxromoksidaza va oksidaza musbat. Neisseria gonorrhoeaye oziq muhitlarga talabchan, odiy muhitlarda o'smaydi. Neisseria gonorrhoeaye odamlarda so'zak va yangi tug'ilgan chaqaloqlarda blennoreya, faringit, proktit, chanoq sonasi peritoniti, kam hollarda septik monoartikulyar artrit, endokardit kasalliklarini keltirib chiqaradi. Kasallik manbasi odamlar (antroponoz) bo'lib, asosan jinsiy aloqa va maishiy buyumlar orqali yuqishi kuzatiladi.

68-jadval

#### Tanosil kasalliklari qo'zg'atuvchilari

Qo'zg'atuvchilar	Kasalliklar nomi	Qo'zg'atuvchilar	Kasalliklar nomi
Bakteriyalar		Mycoplasma genitalium	Uretritlar
Neisseria gonorrhoeaye	So'zak	Chlamidia trachomatis	Venerik limfo-granulematoz
Hayemophilus ducreyi	Yumshoq shankr		
Treponema pallidum	Zaxm	Sodda jonivorlar	
Treponema pertenu	Frambeziya	Trichomonas vaginalis	Uretritlar
Treponema bejel	Endimik zaxm	Viruslar	
Treponema carateum	Pinta	Gerpes viruslar	Genital gerpes
Mycoplasma hominis	Uretritlar	OITS virusi	OITS
Ureaplasma urealyticum	Uretritlar		

Bakterioskopik tekshiruv (19-sxema). So'zak uretriti deb diagnoz qo'yish uchun tanosil a'zolaridan olingan ajralmalarda gonokokklar bor-likligi tekshirib ko'riladi. Ajralmalardan surtmani, odatda, faqat

davolovchi vrach oladi. Surtma olish va undan preparat tayyorlash texnikasini puxta bilish siydik -tanosil a'zolari kasalliklari etiologiyasida muhim ahamiyatga ega.

Erkaklarning tanosil a'zolaridan surtma olish uchun uretradan chiqqan sarg'ish-gugurt rangli yiringli suyuqlik tekshirish manbai hisoblanadi. Kasallikning o'tkir shaklida siydik chiqarish kanalidan ajraladigan suyuqlik ko'p, surunkalida esa kam va shilimshiq bo'ladi.

Ayollarning tanosil a'zolaridan odatda uretrasi, bachadon bo'yni va ba'zan to'g'ri ichak shilliq qavatidan surtma olinadi.

So'zakdan ko'z kasallanganda (blennoreya) kon'yuktivitning yiringli suyuqligidan surtma tayyorlab tekshiriladi. Tayyorlangan surtmalar spirtovka alangasida yoki spirtida fiksatsiya qilinadi. Gonokokklar anilin bo'yoqlar bilan yaxshi bo'yaladi.

**Bo'yash usullari.** Oddiy bo'yash usuli –bunda 1% li metilen ko'kning suvdagi eritmasi, 1% li brilliant yashili ishlatiladi. Fiksatsiya qilingan surtmaga metilen ko'kning 1% eritmasi tomizilib, 1-1,5 daqiqa kutiladi va suv bilan yuvib tashlanib, havoda quritiladi va mikroskopda immersion sistemada ko'zdan kechiriladi. Bo'yalgan preparatda hujayra protoplazmasi ko'kish oqimtir, yadrosi ko'k rangda ko'rinadi. Bu usulning afzalligi oddiy va tez bajarilishidir, laboratoriya uchun qulay. Lekin diagnozni tasdiqlashda va boshqa yiring hosil qiluvchi kokklardan farqlashda Gram usuli ustunlikka ega, shuning uchun Gram usuli differensial diagnostikada hal qiluvchi hisoblanadi.

Tayyorlangan preparatlar murakkab bo'lgan Gram usulida ham bo'yaladi.

Bo'yalgan preparatda gonokokklar loviya shaklida bo'lib, botiq tomoni bilan bir-biriga qarab turadi. Har qaysi juft kokklar o'rtasida bo'linish mobaynida hosil bo'ladigan botiq tirqish bo'ladi. Gonokokk bo'linganda ikkinchi bo'linayotgan diplokokkning tirqishiga perpendikulyar joylashib turadi. Gonokokklarning leykotsitlar ichida joylashishi so'zakda tugallanmagan fagotsitoz jarayonining rivojlanganligidan dalolat beradi.

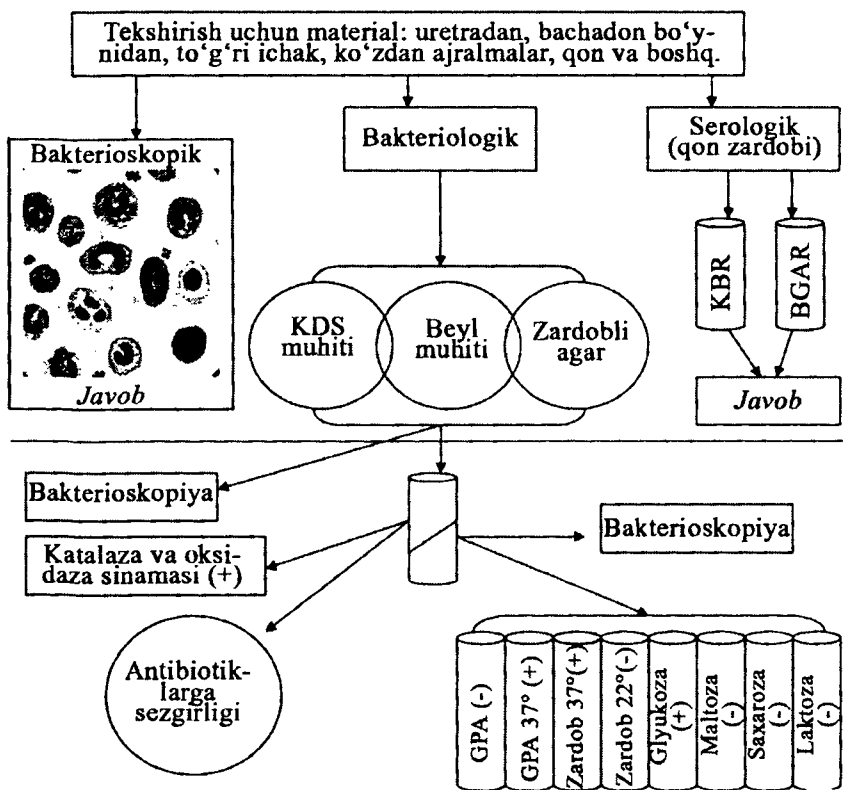
So'zakning mikroskopik diagnostikasida quyidagilarni nazarda tutish lozim: leykotsitoz hodisasi; gonokokklarning leykotsitlar ichida joylashishi; shakli va o'lchami bir xil, ya'ni monomorfligi; gonokokklar oralig'idagi tirqishdan xayolan chiziq o'tkazganda, ular burchak hosil qilib kesishishi; gonokokklar zanjir va to'p-to'p bo'lib joylashmasligi va boshq.

Gonokokksiz uretritlarda surtmaning aksariyat hollarda ko'rinishi quyidagicha bo'ladi: leykotsitoz (25-35), mikroblar kattaligi har xil,

mikroblar leykotsitdan tashqarida, ba'zan ichida, grammusbat kokklar, gram- manfiy tayoqchalar uchraydi.

Bakteriologik tekshiruv (20-sxema) **Birinchi bosqich** – tekshiriluvchi material oziqli muhitlarga ekiladi (KDS-muhiti, tarkibi – quyon go'shti yoki buqa yuragi ekstrakti va zardob qo'shilgan GPA) va termostatga 37°C da 18-20 soat qo'yiladi.

**Ikkinchi bosqich** – ekmalar termostatdan olinib, zich muhitlarda *Neisseria gonorrhoeae* o'sish xususiyatlari o'rganiladi. *Neisseria gonorrhoeae* ning virulentli shtammlari agarda S-koloniya hosil qiladi. Koloniyalar yumaloq, shudring tomchisiga o'xshash ko'rinishda bo'ladi. Avirulent shtammlari R-koloniya hosil qilishi mumkin. Qo'zg'atuvchining sof kulturasini ajratib olish maqsadida, shubhali koloniyalardan qiyalantirilgan zardob qo'shilgan GPA ekiladi va termostatga 37°C da 18-20 soat qo'yiladi.



20-sxema. So'zakning mikrobiologik diagnostikasi



**Uchinchi bosqich** – termostatdan qo‘zg‘atuvchining sof kulturasi olinadi va 20-sxemada keltirilgan sinamalar qo‘yiladi.

**To‘rtinchi bosqich** – qo‘yilgan sinamalar termostatdan olinib, natijalanadi. Neisseria gonorrhoeae saprofit va boshqa kokklardan identifikatsiya qilinadi va yakuniy javob beriladi.

Serologik diagnostikasi. Amaliyotda keng qo‘llanilmaydi. Diagnostik maqsadda ba‘zi hollarda Borde-Jangu (KBR) reaksiyasi standart sxema bo‘yicha qo‘yiladi. Kasallikning 3-4 haftasida musbat bo‘ladi. Kasallikning o‘tkir shaklida 35%, surunkali shaklida 65% bemorlarda aniqlanadi. Hozirgi davrda BGAR va IFA ham qo‘llanilmoqda.

### **Zaxmning mikrobiologik diagnostikasi**

Zaxm qo‘zg‘atuvchisi Spiroketalar oilasiga Treponema avlodiga mansub va bu avlodga patogen Treponema pallidum, Treponema pertenue, Treponema bejel, Treponema carateum va ko‘plab saprofit treponemalar kiradi. Ularning tuzilishi protoplazmatik silindrdan iborat bo‘lib, ularning bir uchida subterminal joylashgan disklardan boshlanib protoplazmatik silindr atrofida o‘q fibrillalar o‘rab, ikkinchi uchidagi shunday disklarga birikadi. Treponemalar o‘ta harakatchan, ularda asosan uch xil harakat shakli kuzatiladi: o‘z o‘qi atrofida aylanma harakat, egilgan-bukilgan va vintsimon (shtopor). Sporasi yo‘q, kapsula hosil qilmaydi, grammanfiy, anilin bo‘yoqlari bilan Gram usulida bo‘yalmaydi. Romanovskiy – Gimza usulida bo‘yalganda oq- pushti rangga kiradi (pallidum–oqish), nomi ham shundan kelib chiqqan.

Zaxm qo‘zg‘atuvchisining yana bir o‘ziga xos xususiyati, oziqli muhitlarda ko‘paytirilganda o‘zining virulentlik xususiyatini yo‘qotib qo‘yishidir. Shuning uchun diagnostikada bakteriologik usul qo‘llanilmaydi. Zaxm kasalligida asosan bakterioskopik va serologik usullar qo‘llaniladi.

Bakterioskopik tekshiruv (21-rangli sxema). Zaxmning birlamchi va ikkilamchi bosqichlarida bakterioskopik usuldan foydalaniladi. Zaxmning qaysi bosqichida bo‘lmasin, tekshirish materialini to‘g‘ri olishga e‘tibor berish lozim.

Birlamchi zaxmda treponemalar biriktiruvchi to‘qima tolalari oraliqlarida, zararlangan joyning periferiyasida, limfatik tugun va qon tomirlari atrofida ko‘p yig‘iladi.

Ikkilamchi zaxmda esa treponemalar hali bitib ulgurmagan shankr, eroziyalangan papula, serbar kondilomalarning to‘qima oraliq kanallarida, og‘iz bo‘shlig‘ida joylashadi. Material olishda qattiq shankr,

eroziya, papula, serbar kondiloma yuzasi dastlab fiziologik eritmaga ho'llangan paxta yoki doka tampon bilan, keyin quruq paxta bilan artib tozalanadi. Agar yaralar qora po'st bilan qoplangan bo'lsa, u holda uni avaylab namlab, so'ngra ehtiyotlik bilan ko'chirib olib tashlanadi.

To'qima suyuqligini siqib chiqarish usuli. Shifokor (rezina qo'lqop bilan ishlash zarur) yoki bemorning o'zi chap qo'li bilan bosh va ko'rsatkich barmoqlari yordamida yoki pinset bilan yaraning ikki chetini sekin siqa boshlaydi, agar qon chiqsa, uni artib tiniq to'qima suyuqligi chiqqunga qadar kutib turiladi. Siqish mobaynida bir necha soniya to'xtab, keyin yana massajga o'xshatib siqilsa, to'qima suyuqligi yaxshi ajraladi. To'qima suyuqligi Paster pipetkasi yordamida olinib, surtmalar tayyorlanadi.

Tirnash usuli. Bu siqib chiqarish usuliga nisbatan kam ishlatilsa-da, ba'zan yaxshi natija beradi. Bachadon bo'ynidagi, og'iz bo'shlig'idagi eroziyalardan, shuningdek serbar kondilomalardan suyuqlik olishda bu usuldan foydalaniladi. Yara fiziologik eritmaga ho'llangan paxta yoki doka tampon bilan, keyin quruq paxta bilan artib quritiladi, so'ng o'tmas skalpel, pinset yoki buyum oynasi qirradi bilan 20-30 soniya davomida bir tomonlama sekin tiraladi. 40-60 soniyadan keyin tiralgan joydan to'qima suyuqligi ajralib chiqadi.

Kuydirish usuli. Bunda tekshiriladigan morfologik element yuzasi qizdirilgan platina bilan kuydiriladi, kuygan joyda pufakcha paydo bo'ladi. Pufakchadan olingan suyuqlik tekshiriladi.

Eng qulay usul bu mikroskopning qorong'ulashtirilgan sathida oqish treponemalarni tirik holda ko'rish. Treponemalar bo'yab tekshirilganda (Romanovskiy-Gimza, Burri va Morozov usullari) tekshiruvchi treponemalarni tirik ko'ra olmaydi. Preparatlarda treponemalarni topish ko'rsatkichi 7-10 % dan oshmaydi. Bu yuqoridagi usullarning kamchiligidan dalolat beradi.

Treponemalarni tirik holda ko'rilganda esa, ularni odam organizmida uchraydigan boshqa saprofit treponemalardan farq qilish mumkin.

Treponemalarni tirik holda "ezilgan" va "osilgan" tomchi usullarida ko'rib bo'lmaydi, chunki ularning ko'ndalang kesim sathi o'ta kichik bo'lib, nur sindirish xususiyati laboratoriya mikroskoplarida ko'rinmaydi, vaholanki yoritqichdan kelayotgan nur yo'lida shu nurni sindirishi mumkin bo'lgan o'lchamli mikrobyotsa, nur qisman yutilib, natijada, mikroorganizmlar ko'zga ko'rinadi. Zaxm qo'zg'atuvchining ko'ndalang kesimi o'ta kichik bo'lganligi sababli nur yutilmaydi va treponemalar yuqorida keltirilgan usullarda ko'rinmaydi. Qorong'ulashtirilgan maydonda ko'rilganda, yoritqich nurlari yonboshdan tushiriladi va

ularning bir qismi obyektivga yetmaydi, ya'ni ko'rish maydoni qorong'i bo'lib ko'rinadi. Agar mana shu yorug'lik yo'lida, mikroorganizmlar va mexanik zarralar bo'lsa, bularda singan yorug'lik nurlari obyektivga tushib, unda akslanadi, natijada harakatdagi nur sohib turuvchi tasvir hosil bo'ladi (21-rangli sxema). Bunday hodisalar tabiatda ham uchrab turadi. Masalan, berk binolarning teshik tirqishidan, derazadan tushadigan quyosh nurlari chang zarrachalarini yoritib, bizga ularni ko'rsatib beradi (Tindal fenomeni).

Zaxmning bakterioskopik tekshiruvda ko'rsatilgan usullarning bajarilishi boshqa bo'limlarda bajarilgan usullardan farq qilmaydi.

**Zaxmning serologik diagnostikasi.** Ko'pchilik hollarda zaxm qo'zg'atuvchisini bakterioskopik aniqlash mumkin bo'lmaydi yoki juda qiyin bo'lishi mumkin. Shuning uchun zaxm diagnostikasida serologik usul qo'llaniladi. Zaxm kasalligida ham boshqa kasalliklarga o'xshash organizm qo'zg'atuvchiga qarshi kurashadi va qonda ko'plab unga qarshi himoya antitelalari hosil bo'ladi. Kasallarning qon zardobidan bu antitelalarni aniqlash serologik usulning mohiyati hisoblanadi.

Zaxmning serologik diagnostikasida ikki tipdagi antigenlar qo'llaniladi. Antigenlarning birinchi tipi **treponemasiz** antigen bo'lib, tarkibi zaxm kasalligida organizmda to'qimalar va oqish treponemalarning parchalanishi natijasida hosil bo'lgan mikrobnning lipid va to'qima fosfolipid antigenlariga o'xshash analogi bo'lib, ularga qarshi hosil bo'lgan AT bilan (buqaning yuragidan tayyorlanadi) spetsifik birika oladi.

Antigenning ikkinchi tipi **treponemali** antigen bo'lib, laboratoriya sharoitida ultratovush yordamida tozalangan treponema shtammi yoki ulardan ajratib olingan rekombinat Ag hisoblanadi.

Laboratoriya sharoitida antigenga bemor qon zardobi qo'shiladi. Agar kasal qonida bu antigenlarga qarshi AT bo'lsa, antigen+antitela reaksiyasi ro'y beradi, uning natijalari turli serologik usullarda aniqlanishi mumkin. Zaxmda serologik usullar quyidagi holatlarda qo'llaniladi.

1. Ma'lum guruh aholini ommaviy tekshirish jarayonida (homilador ayollarni, qon va organlar topshiruvchi donorlarni, harbiy xizmatchilarni, ba'zi bir mutaxassisliklar; vrachlar, oziq-ovqat tayyorlash, sotish sohasidagi ishchilar, qamoq muddatini o'to'vchilar va albatta stasionarga davolanish maqsadida yotmoqchi bo'lganlar) oson va qimmat bo'lmagan, tez bajariluvchi usul qo'llaniladi. Bu usullar profilaktik maqsadda olib boriladi.

2. Ikkinchi holatda esa serologik reaksiyalar bemorga diagnoz qo'yish maqsadida (zaxmning klinikasi bor bemorlar, genital a'zolarida yarasi

bor kishilar, bemorlar bilan jinsiy aloqada bo'lganlar, ikkilamchi zaxm bilan yaqindan aloqada bo'lganlar, zaxm bilan kasallangan ayollardan tug'ilgan bolalar, boshqa tanosil kasalliklar bilan og'rigan va diagnozi tasdiqlanganlar) har ikkala (treponemasiz, treponemali) antigen bilan birgalikda olib boriladi.

Profilaktik maqsadda olib borilganda quyidagi serologik usullar plazmadagi reagentlarni (AT) aniqlashda qo'llaniladi: mikropretsipitatsiya reaksiyasi (MPR) va komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR). Bu reaksiyalarning ijobiy xususiyati tez bajarilishi, arzonligi va murakkab reagentlarning zarur bo'lmasligi hisoblanadi. Ammo bemor organizmida hosil bo'layotgan antilipid antitelalar, faqat zaxm kasalligida emas, balki boshqa treponematoz, o'tkir va surunkali ko'plab kasalliklarda ham paydo bo'ladi. Antilipid AT lar qattiq shankr hosil bo'lgandan so'ng 7-14 kundan keyin yoki infeksiya yuqqandan 4-5 hafta keyin paydo bo'ladi. Treponemasiz testlarning kamchiligi:

- yolg'on-manfiy natija (bemor qon zardobida AT juda ko'p bo'lsa-da zardobni suyultirmaslik natijasida prozona fenomeni kuzatiladi, bu holat zaxmning ilk davrida yoki OITS bilan kasallanganda kuzatiladi);

- zaxmning keyingi bosqichlarida reaksiya o'z sezgirligini yo'qotishi.

Antilipid AT lar bemor organizmida uzoq saqlanmaydi va kasallik dinamikasida, davolash davrida yo'qolib boradi. Shuning uchun bu AT larni aniqlash zaxmga taxminiy diagnoz qo'yishda va bemorlarni davolash samaradorligini aniqlashda qo'llaniladi.

Zaxmning maxsus serologik diagnostikasida treponema testlari qo'llaniladi. Yuqorida keltirilgan usullar bilan bir qatorda, quyidagi serologik reaksiyalar ishlatiladi:

- komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR);

**OTIR musbat**

**Treponemaga qarshi IgG musbat. RIF,IFA,BGAR**

**Treponemaga qarshi IgM musbat. Ig M - IFA/IgM - immunobloting**

**Reagentlar (IgM + IgG) musbat MP, KBR**

**limfadenit**

**poliadenit**

**Yashirin davri**

**shankr**

**Birlamchi toshma (rozeola)**

haf.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

22-sxema. Zaxmda serologik reaksiyalarning musbat natija berish davrlari

- immunoflyuoressensiya reaksiyasi (IFR turli modifikatsiyasi);
- passiv gemagglyutinatsiya reaksiyasi (PGAR);
- immunoferment analiz (IFA) rekombinatli IFA;
- oqish treponemalarning immoblizatsiya reaksiyasi (OTIR);
- immunobloting.

Treponemali testlar maxsus va o'ta sezgirligi tufayli zaxm kasalligi diagnostini tasdiqlashda asosiy usullardan hisoblanadi.

**Vasserman reaksiyasi** komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) (reaksiyaning mohiyati va mexanizmlari haqida immunologiya bo'limiga qaralsin) bo'lib, bu reaksiya nihoyatda sezgir va o'ziga xos bo'lganligi uchun zaxmning diagnostikasida treponemasiz va treponemali antigenlar bilan qo'yiladi. Reaksiya uch tipdagi antigenlar qo'llanilgan holda olib boriladi: 1) tarkibida ultratovush bilan tozalangan yoki rekombinat treponema antigeni (treponemali); 2) maxsus bo'lmagan (treponemasiz) - kardiolididli antigen; 3) maxsus bo'lmagan (treponemasiz) - xolesterinli (buqa yuragi muskullaridan olingan lipidlarning spirtli eritmasi) antigen.

Tekshiriladigan zardob 1:4 nisbatda suyultirilib, 4 probirkaga ml dan quyiladi (69-jadval).

69-jadval

### Vasserman reaksiyasini qo'yish

Ingrediyentlar, ml	Probirkalar raqami			
	1	2	3	Nazorat
Tekshiriladigan noaktiv zardob	0,1	0,1	0,1	0,1
Natriy xloridning izotonik eritmasi	0,4	0,4	0,4	0,9
1- titrgacha suyultirilgan antigen	0,5	-	-	-
2- titrgacha suyultirilgan antigen	-	0,5	-	-
3- titrgacha suyultirilgan antigen	-	-	0,5	-
Komplement (ishchi dozada)	1,0	1,0	1,0	1,0
Termostatda 45 daqiqa saqlanadi				
Gemolitik sistema	1,0	1,0	1,0	1,0
Nazorat (kontrol) da gemoliz bo'lishiga qarab termostatga 40-60 daqiqa qo'yiladi. Gemolizga qarab reaksiya natijasi belgilanadi				
Natija	(+) ++	+++	++++	-

*Shartli belgilar:* ++++ to'liq gemolizning to'xtashi; - gemoliz

Bilvosita immunoflyuoessensiya reaksiyasi BIFR (FTA-test flueressent treponemal antibody) yoki RIF juda spetsifik bo'lib, bunda to'qima treponemalarning suspenziyasi antigen tariqasida ishlatiladi. Bemor qon zardobi 1:200 nisbatda suyultiriladi, aktivligi kamaytiriladi. Yog'sizlantirilgan buyum oynasiga bir tomchi antigen tomiziladi, quritilib 5 daqiqa mobaynida toza atsetonda fiksatsiya qilinadi. Keyin preparatga bemor qon zardobi tomiziladi va 30 daqiqadan so'ng yuviladi. Quritilgan preparatlar odam globuliniga qarshi flyuoessentli zardob bilan qaytadan ishlanadi. Analiz oxirida preparatni lyumenetsent mikroskopda ko'zdan kechiriladi va treponemalarning yog'dulanish darajasi belgilanadi. Mabodo bemorning qon zardobi tarkibida treponemaga qarshi antitelalar mavjud bo'lsa, treponemalar yog'dulanadi va ularning soniga qarab reaksiya javobi o'qiladi.

### **Oqish treponemalarning immobilizatsiya reaksiyasi (OTIR).**

Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki, treponemalarning to'qima kulturasiga (treponemalar avvaldan maxsus yuqtirilib, erkak quyonning moyagidan ajratib olinadi, Nokols shtammi) bemor qon zardobi va komplement qo'shilsa, bemor qon zardobida AT bo'lsa, treponemalar harakatlanishdan to'xtaydi. Reaksiyani qo'yish uchun quyonning moyagidan ajratib olingan treponema probirkaga olinadi va uning ustiga tekshirilayotgan zardob, yangi komplement qo'shiladi. Keyin parallel holda kontrol uchun 2 ta probirka olinadi. Ularning biriga tekshirilayotgan qon zardobi o'rniga sog'lom odam qon zardobi olinadi, ikkinchisiga esa yangi komplement o'rniga noaktiv, ya'ni aktivligi yo'qotilgan komplement qo'shiladi. Probirkalar anaerostatga (kislordsiz muhit) solinib, 35°C li haroratdagi termostatga qo'yiladi. So'ngra hamma probirkalardan "ezilgan" tomchi preparati tayyorlab, mikroskopda qorong'ulashtirilgan maydonda ko'riladi. Oldin nazorat (kontrol) natija o'qiladi. Oqish treponemalarning harakatchan va harakatsiz ekanligi foizlarda aniqlanadi. Quyidagi formuladan foydalaniladi:

$$X = \frac{A - B}{A} \cdot 100$$

A – harakatchan oqish treponemalar soni

B – harakatsiz oqish treponemalar soni

Masalan, sanalganda harakatchan treponemalar 32 ta, harakatsiz treponemalar 25 ta

$$X = \frac{32 - 25}{32} \cdot 100 = 22$$

OTIR natijasi quyidagicha baholanadi: 20% dan kam bo'lsa, manfiy (-), 21 dan 30% gacha shubhali; 31-50% gacha o'rtacha musbat va 50% dan yuqorisi musbat natija hisoblanadi.

### **Siydik-tanosil a'zolari mikoplazmozining mikrobiologik diagnostikasi**

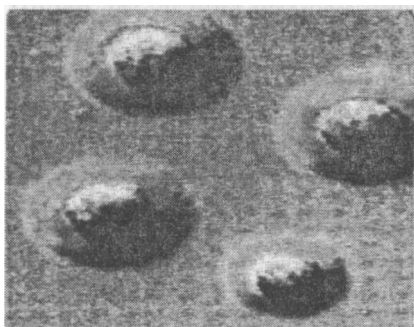
Mikoplazmalar juda mayda mikroorganizmlar bo'lib, ularning hujayra devori bo'lmaydi. Mikoplazmalar oval, cho'zinchoq va sferik shaklda bo'lib, kattaligi 0,2-0,3 mkm. Mikoplazmalarining T-shtamlari o'zidan "ureaza" fermentini ajratish xususiyatiga ega. U mochevinani ammiak hamda CO<sub>2</sub> ga parchalaydi. Bunday xususiyat barcha mikoplazmalar ichida T-shtammiga xos. Shuning uchun hozirgi kunda bu shtamm alohida Ureaplasma avlodiga kiradi va Ureaplasma urealyticum deb nomlanadi.

Tadqiqotchilar siydik-tanosil a'zolari kasalliklari bilan og'riq ayollarning 40-50% ida, gonokokksiz ureatritga chalingan erkaklarning 51,2% ida ureaplazmalar borligini kuzatishgan. Ureaplazmalarni bakterioskopik usulda aniqlab bo'lmaydi. Shuning uchun bakteriologik va serologik usullar qo'llaniladi. Bakteriologik usulning ikki xili mavjud. Birinchisi, ureaplazmalarining klinik namunalarda aniqlashning eng oddiy usuli, suyuq muhitdagi ureazaga qo'yiladigan rangli testdir. Ikkinchisi esa zich agarli muhitda ureaplazmalarining sof kulturasini ajratib olishga asoslangan.

#### **Ureaplazmalarni aniqlash uchun rangli mochevinali test qo'yish.**

Steril suyuq oziq muhit 2 ml dan doka paxta tiqinli Vasserman probirkalariga quyiladi. Siydik kanalining 3-5 sm ichidan olingan patologik material ehtiyotlik bilan muhitga ekiladi va termostatga 37°C ga 24-48 soat qo'yiladi. Suyuq oziq muhitda ureaplazmalar mochevinani parchalashi tufayli muhit reaksiyasi o'zgarib, nordondan ishqoriy tomonga siljiydi, indikator (brom timol) ning rangi sariq rangdan yashilgacha, titri juda yuqori bo'lganda ko'k ranggacha o'zgaradi.

**Suyuq oziq muhit tayyorlash.** 0,5 l hajmli, tubi yumaloq, issiqqa chidamli kolbaga qoramol yuragining gidrolizati bilan kazein gidrolizatidan 18 ml dan quyiladi va aralashma yaxshilab chayqatiladi, unga 10% NaOH qo'shilib pH=5,5 gacha yetkaziladi; ustiga yangi tayyorlangan distillangan suvdan 500 ml ga yetgunga qadar qo'shiladi va ko'pik hosil qilmasdan bir tekis qaynatiladi. Qaynatish oxirlab qolganda unga 4,0 g pepton (kristall violetsiz) va 0,4% li bromtimol ko'kidan 5,7 ml qo'shiladi. Qo'shilgan pepton batamom erib



81-rasm. Zich muhitda mikoplazma koloniyalari

bo'lgach, ustiga 500 ml distillangan suv quyiladi. Hosil bo'lgan eritma yaxshilab aralastiriladi va qaynaguncha qizdiriladi, so'ngra bir necha qavat doka filtrdan o'tkazilib, bir litrli issiqqa chidamli kolbaga solinadi. Eritma biroz sovigach, unga 0,064 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , quruq xamir achitqisidan 2 g qo'shiladi; pH ni  $6,0 \pm 0,5$  gacha yetkazilib, keyin  $121^\circ\text{C}$  temperaturadagi avtoklavda 15 daqiqa sterillanadi. Keyin eritma  $37 - 38^\circ\text{C}$  gacha sovutiladi. So'ngra 40 ml ot qoni zardobi, 2 ml 10% mochevina, 2% li

sistein gidrokslorid, 1.000.000 TB penitsillin qo'shiladi va tayyor bo'lgan muhit bir tekis aralastiriladi. Eritmani pH ko'rsatkichi  $6,0 \pm 0,5$  bo'lishi kerak. Kandida tipidagi achitqi zamburug'larining o'sishini to'xtatib qo'yish uchun suyuq oziq muhitga nistatin 50 TB/ml, amfoteritsin B -5TB/ml, amfogleyukamin -10 TB/ml kabi eritmalardan biri qo'shiladi. Ureaplazmalarining toza kulturasini olish uchun suyuq muhitga 25 mg/ml linkomitsin gidrokslorid qo'shiladi.

To'g'ri tayyorlangan muhit-sariq limon rangida bo'ladi, uni bir oydan ortiq vaqt saqlash mumkin.

Ureaplazmalarni zich oziqli muhitlarda o'stirib olish. Buning uchun tekshirilayotgan material maxsus oziqli agarlarga ekiladi, bundan tashqari suyuq muhitda musbat natija bergan sinamalarni zich muhitga ekish yaxshi natija beradi. Buning uchun rangi o'zgargan suyuq muhit solingan probirkani tagidan Paster pipetkasi yordamida 1 tomchi olib zich muhit yuzasiga tomiziladi va bakteriologik qovuzloq bilan silliq qilib agar yuzasiga ekiladi. Ureaplazmalarining koloniyasi 48-72 soat o'tgach o'sib chiqadi.

**Zich oziq muhit tayyorlash.** 0,5 l hajmli, haroratga chidamli kolbaga qoramol yuragining gidrolizati bilan kazein gidrolizatidan 12 ml dan quyiladi va aralashma yaxshilab chayqatiladi, unga 10% NaOH qo'shib pH=5,5 gacha yetkaziladi; ustiga agar-agardan 3,6 g va 200 ml gacha distillangan suv qo'shiladi va 10 daqiqa bir tekis qaynatiladi. Qaynatish oxirlab qolganda unga 2,62 g pepton qo'shiladi. Qo'shilgan pepton batamom erib bo'lgach, ustiga 300 ml belgisigacha distillangan suv quyiladi. Hosil bo'lgan asosni doka-paxtali filtrdan o'tkazilib, 0,5 l hajmli kolbaga solinadi va 0,35 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,43 g marganes sulfat, 1 g quruq xamir achitqisidan qo'shiladi. NaOH va KOH yordamida pH ni  $6,0 \pm 0,5$  gacha me'yoriga yetkazilib, keyin asos  $121^\circ\text{C}$  temperaturadagi avtoklavda 15 daqiqa sterillanadi.



Belgilangan vaqt tugagach, agarli oziqli muhitga aseptik holatda quyidagi qo'shimchalar solinadi: bunda muhit harorati +50°C atrofida bo'lishi kerak 40 ml ot qoni zardobi, 2 ml 10% mochevina, 2% li L-sistein gidroxlorid -1 ml, penitsillin 1 g, amfoteritsin B 1 ml. So'ngra muhit aralastiriladi, pH ko'rsatkichi 6,0 ±0,5 yetkaziladi va shu zahoti steril Petri kosachalariga quyib chiqiladi. Muhit silliq bo'lib qotgandan keyin qurib qolmaslik uchun to'ntarilgan holatda selofan xaltalarga solib, muzlatkichlarda saqlanadi.

Inkubatsiyaning uchinchi kuni koloniyalar mikroskopning yorug' sathidan kichik obyektivda ko'riladi. Ureaplazma koloniyalarining o'lchami 20 mkm dan 200-250 mkm gacha, ba'zan 300-350 mkm gacha yetadi. Ureaplazmalarining koloniyasi xuddi "ko'zni" yoki "tuxum quymog'i" ni eslatadi (81-rasm). Koloniyalarning yuzasi biroz burishgan, o'rtasi botiq, yaxlit holda agarda ko'rinib turadi va usti yupqa agar qatlami bilan qoplangan bo'ladi.

### **Siydik-tanosil a'zolari xlamidiozining mikrobiologik diagnostikasi**

Siydik-tanosil a'zolari xlamidioziga xlamidiyalar sabab bo'ladi. Ular mayda grammanfiy kokkabakteriyalar bo'lib, morfologik, biologik xossalari jihatidan ikki xil yashash shakliga ega, ya'ni elementar va initsial (retikulyar) tanachalar sifatida ifodalanadi. Xlamidiyalar 24-48 soatlik rivojlanish bosqichini bosib o'tib, odatda hujayralar ichida obligat yashab ko'payishga va hujayradan tashqarida hayot faoliyatini saqlab qolishga moslashgan. Mayda o'ta infeksiyon elektron-qattiq nukleoidga ega bo'lgan, kattaligi 0,2-0,3 mkm elementar tanachalar hujayralar yuzasiga o'rnashib, fagotsitoz tufayli xo'jayin hujayrasiga kirib oladi (82-rangli rasm), keyin hujayralarda o'zi xo'jayinlik qila boshlaydi. Xlamidiyalar bilan zararlangan bunday hujayralar sitoplazmasining yuza membranasida mayda tanachalar atrofida vakuolalar paydo bo'ladi. Mayda tanachalar diametri 0,5-7,0 mkm keladigan katta tanachaga aylanib qoladi, ular qattiq elektron nukleoidga ega emas. Xuddi mana shu davrda ularning tarkibida ribosoma va polisomalari soni ortadi. Yuqorida keltirilgan holat bemorning hujayra vakuolalari ichida sodir bo'ladi va shu tariqa initsial tanachalar to'planib boradi. Xlamidiyalar boshqa prokariotlardan farq qilib, ularning ko'payishi va metabolizmi uchun zarur bo'lgan energiyani o'zlari ishlab chiqarmaydi, balki tayyor holda xo'jayin hujayrasidan oladi. Shuning uchun xlamidiyalarni energetik parazitlar deb ham atashadi.

Xlamidiyalar uch turni o'z ichiga oladi: Xlamydia trachomatis, Xlamydia pneumoniaye odamda, Xlamydia pssittaci sut emizuvchi hayvonlar va qushlarda kasallik keltirib chiqaradi.

Xlamidiyalar oziq muhitlarda o'smaydi, laboratoriya sharoitida ularni hujayra kulturasida va tovuq embrionida o'stiriladi.

Xlamidiyalarning mikrobiologik diagnozi ko'proq sitologik (bakterioskopik) va serologik reaksiyalarga asoslangan.

70-jadval

### Xlamidiya avlodi vakillarining klassifikatsiyasi

Turlari	Keltirib chiqaruvchi kasalliklari	Serovarlari
Xlamydia trachomatis	Traxoma va paratraxoma Urogenital xlamidioz va chaqaloqlarda zotiljam Venerik limfo-granulematoz	A, V, V <sub>a</sub> , S D, F, G, H, I, I, J, K L <sub>1</sub> , L <sub>2</sub> , L <sub>3</sub>
Xlamydia pssittaci	Ornitoz qushlarda (birlamchi jarohatlar hayvonlarda)	13
Xlamydia pneumoniaye	Zotiljam, O'RK, aterosklerozlar, sarkaridoz, bronxial astma	RWAR, AR, KA. va CWL

**Sitologik (bakterioskopik) usul** siydik-tanosil a'zolari xlamidiozi diagnostikasida eng oddiy va keng qo'llaniladigan usul. Xlamidioz bilan kasallangan bemorga surtma topshirishdan oldin 2-2,5 soat siymaslik tavsiya qilinadi. Bundan tashqari, oldindan bir oy mobaynida bemor doksitsiklin, tetratsiklin, eritromitsin, rifampitsin va aminoglikozidlar qabul qilmagan bo'lishi kerak. Material uretradan olinadi, ajralma juda kam bo'lsa yoki umuman bo'lmasa, u holda uretra massaj qilinadi, keyin Folkman qoshiqchasi bilan 3-5 sm ichkaridan qon chiqarmay ajratma olinadi va uni yog'sizlantirilgan buyum oynasiga bir tekis qilib surtiladi. Preparat avval xona haroratida quritiladi, keyin 96°C etil spirtida yoki metanolda 5-10 daqiqa fiksatsiya qilinadi. Preparatlar quritilib bo'yash uchun shisha ko'prikchalarga bir tekis qilib taxlanadi va 1:10 nisbatda tayyorlangan Romanovskiy-Gimza usulida bo'yaladi. Bo'yalgan preparatda xlamidiya elementar tanachalari pushti, retikulyar tanachalari esa havo rangdan ko'k ranggacha bo'yaladi. Hujayra (silindrik) yadrosi to'q qizil, sitoplazmasi esa och havo rangga kiradi. Xlamidiya tanachalari

hujayra sitoplazmasining yadroga yaqin qismida joylashadi, ko'pincha yarim oy shaklida yadroga biroz kirib turadi. Bunday kiritmalar tashqi tomondan bir tekis bo'yalgan bo'lib, xo'jayin hujayrasini deyarli shikastlamaydi. Bu usul yordamida xlamidiya infeksiyasiga diagnoz qo'yishda 40% gacha hollarda patologik agent topiladi.

**Monoklonal antitelalar qo'llab immunoflyuoressensiya usuli yordamida xlamidiyalarni aniqlash.**

Siydik kanalining 3-5 sm ichidan olingan patalogik material buyum oynasiga yupqa qilib bir tekis surtiladi, keyin 96°C etil spirtida yoki metanolda 5-10 daqiqa fiksatsiya qilinadi va xona haroratida quritiladi.

Preparatlarni bo'yash uchun quyidagi tartibdagi reagentlar qo'llaniladi: flyuoretsein-izotitsianat moddasi, Evans bo'yog'ini saqlovchi liofillangan monoklonal antitela, distillangan suvda eritilgan 0,1% natriy azot eritmasi. Xuddi shu reagentdan 30 mkm mikroavtomatik pipetka yordamida olib, patologik material joylashtirilgan 8 mm aylana shakldagi buyum oynasi sathiga tomiziladi. So'ngra reagentli buyum oynasi nam kamerada, xona haroratida 15 daqiqa inkubatsiya qilinadi; buyum oynasi distillangan suvda 10 soniya yuviladi va xona haroratida quritiladi. Keyin buyum oynasiga avtomatik pipetka yordamida 20 mkm buferlangan glitserin tomiziladi. Preparat yuzini 22X40-60 mm № 1 o'lchamli yopqich oyna bilan yopib, lyuminessent mikroskopda ko'zdan kechiriladi. Filtr sistemasi bo'lgan bunday mikroskop preparatda flyuoressein-izotitsianatining nurlanishiga mo'ljallangan. Preparat 400-500 marta kattalashtirilib ko'riladi. Bu usul bilan hatto xo'jayin hujayrasi tashqarisida joylashgan xlamidiya elementar tanachalarini ham aniqlash mumkin. Elementar tanachalarning chetlari tekis, yumaloq shaklda, tiniq yashil rangda bo'lib ko'rinadi. Retikulyar tanachalar esa elementar tanachalardan 2-3 barobar kattaroq bo'lib, yumaloq, yashil rangda tovlanadi. Ko'rish maydonida bitta preparatning har xil joyida 10-12 ta va undan ortiq xlamidiya tanachalari topilsa, natija musbat hisoblanadi.

### **32-MAVZU. TRANSMISSIV INFEKSIYALAR: RIKKETSIOZLAR, BORRELIYALAR, LEPTOSPIROZLAR. ULARNING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Transmissiv yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilari va ular keltirib chiqaruvchi kasalliklar.
2. Qaytalama tif va rikketsiozlarning mikrobiologik diagnostikasi.
3. Borreliyalar keltirib chiqargan kasalliklar va ularning mikrobiologik

diagnostikasi.

4. Leptospirozlar keltirib chiqaruvchi kasalliklar va ularning mikrobiologik diagnostikasi.

5. Shu kasalliklarda diagnostika, profilaktika va davolash uchun qo'llaniladigan preparatlar.

#### **Namoyish qilish**

1. Qaytalama tif va rikketsiozlarning kulturasidan tayyorlangan va Romanovskiy - Gimza, Zdrovovskiy usullarida bo'yalgan surtmalar.

2. Qaytalama tifda bemor qonidan olingan borreliyalarning Romanovskiy-Gimza usulida bo'yalgan surtmasi.

3. Leptospirozlar kulturalaridan tayyorlangan, Romanovskiy -Gimza usulida bo'yalgan surtmalar.

4. Rikketsiozlar, borreliyalalar, leptospirozlarning zamonaviy diagnostik sxemalari va ularning rangli rasmlari.

5. Transmissiv yuqumli kasalliklarning serodiagnostikasi, profilaktikasi va davolashda qo'llaniluvchi preparatlar.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Qaytalama tifning mikroskopik diagnostikasi. Bemor qonidan "qalin" tomchi usulida tayyorlangan va Romanovskiy-Gimza usulida bo'yalgan tayyor preparatdan qaytalama tif qo'zg'atuvchilarini topish.

2. Quruq korpuskulyar, o'ldirilgan rikketsiozlardan surtma tayyorlash. Romanovskiy-Gimza usulida bo'yash va mikroskopda ko'rib, mikroskopik tekshiruv bo'yicha xulosa chiqarish.

3. Rikketsiozlarning serodiagnostikasi. a) epidemik toshmal tifga shubhalangan kasal qon zardobi bilan agglyutinatsiya reaksiyasini (Veyl-Feliks) qo'yish. b) Ku-isitmasiga shubhalangan kasal qon zardobi bilan eritrotsitar diagnostikum yordamida bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.

Bo'g'imoyoqlilar (bit va kanalar) orqali o'tadigan transmissiv yuqumli kasalliklar qo'zg'atuvchilari turli oila va tartiblarga kiradi.

### **Rikketsiozlarning mikrobiologik diagnostikasi**

**Rikketsiyalar tabiatda eng ko'p tarqalgan** mikroorganizmlarga kiradi. Ularning 50 dan ortiq turi turli bo'g'imoyoqlilar ichagi va so'lak bezlaridan topilgan. Odam organizmida kasallik qo'zg'atadigan rikketsiyalar ancha kam. Ular turli bo'g'imoyoqlilar organizmida yashab qolmay, odam va boshqa sut emizuvchilar organizmiga tushadi va u yerda o'ziga xos patologik jarayonni yuzaga keltiradi.

Rickettsiaceae oilasiga odam organizmida kasallik keltirib chiqaradigan 3 ta avlod: Rickettsia, Rocha Limaye, Coxiella kiradi. Bu oilaga mansub rikketsiyalar kokksimon yoki tayoqchasimon, ko'pincha

shakli o'zgaruvchan (polimorf) bo'lib, xivchinsiz, hujayra devorining tuzilishi grammanfiy bakteriyalarning hujayra devoriga o'xshab ketadi. Rikketsiyalar qat'iy hujayra ichi parazitlari bo'lganligi bois, sun'iy oziq muhitlarda o'smaydi.

71-jadval

**Odamda kasallik keltirib chiqaruvchi rikketsiya va rikketsiozlar klassifikatsiyasi**

Tur nomlari	Tashuvchi bo'g'imoyoqlilar	Odamlardagi kasalliklari
<b>Ricketsia avlodi, toshmali tif guruhi</b>		
Ricketsia prowazekii Ricketsia typhi	Pediculus humanus Kalamush burga va bitlari	Epidemik toshmali tif, Brill-Tsinssera kasalligi, Endemik toshmali tif
<b>Kanalar orqali yuqadigan dog'li isitmalar</b>		
Ricketsia rickettsi Ricketsia sibirica	Iksod kanalari Iksod kanalari	Dog'li isitmalar Toshmali tif shimoliy Osiyoda, O'rta Osiyo davlatlarida.
Ricketsia conarii Ricketsia australis	It kanalari Iksod kanalari	Marsel, o'rta dengiz isitmasi Shimoliy Avstraliya rikketsiozi
Ricketsia akari	Allodermanyssus sanguineus	Chechakka o'xshash vezikulyar rikketsioz
<b>Sutsugamush guruhi</b>		
Ricketsia tsutsugamushi	Trombicula akamushi	Sutsugamush istimasi
<b>Coxiella avlodi Ku-isitmasi guruhi</b>		
Coxiella burnetii	Iksod kanalari	Ku-isitmasi
<b>Rochalimayea avlodi. Paraksizmal isitmalar</b>		
Rochalimayea quintana	Pediculus humanus	Okop, transheya istimasi
Rochalimayea henselae	Mushuk tirnashi va tishlashi orqali yuqadi	Mushuk tirnashi kasalligi Mollar granulyomasi

Rikketsioz qo'zg'atuvchilarini kasal odamlardan, o'lganlardan, tashib o'tuvchilardan (endemik rikketsiozlarda) va kemiruvchilardan ajratib olish mumkin. Hamma odamlardagi kasallik holatlarda ham tekshirish uchun material isitma davrda tirsak venasidan olingan qon hisoblanadi.

Rikketsioz qo'zg'atuvchilari oziq muhitlarda ko'paymaydi, ular asosan tovuq embrionida va hujayra kulturalarida ko'paytiriladi. Shuning uchun klinik sharoitlarda asosiy diagnostik usullari bakterioskopik, biologik va serologik hisoblanadi.

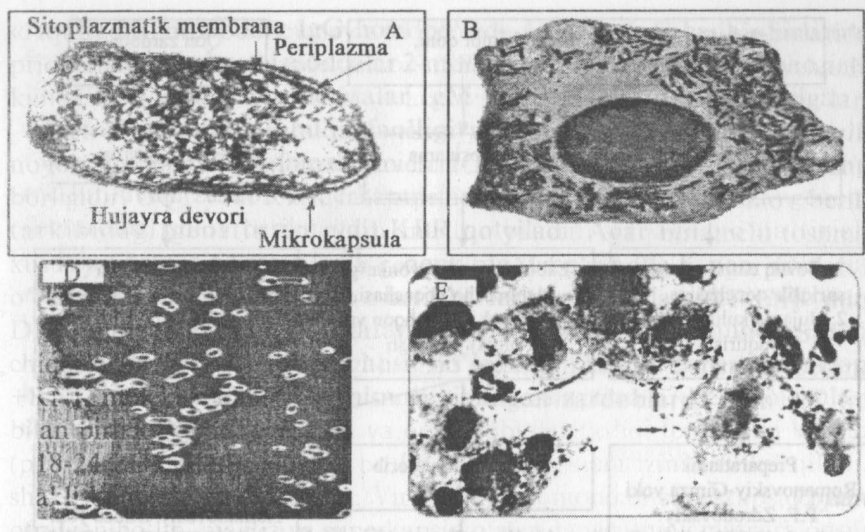
**Bakterioskopik usul** ko'pchilik rikketsiozlarda asosiy usullar qatoriga kiradi. Tekshirish uchun qon yuqori isitma davrida barmoqdan olinib, "qalin" tomchi surtmasi tayyorlanadi va Romanovskiy-Gimza, Kastanede yoki P.F. Zdrodovskiy modifikatsiyasi usullari bilan bo'yab ko'riladi. Surtmada *Rickettsia prowazekii* asosan sitoplazmada uchrasa, *Rickettsia typhi* esa hujayra yadrosida yig'ilib qoladi.

**Biologik sinama (Muzer-Neyl sinamasi).** Tekshiriluvchi material laboratoriya hayvonlariga yuqtiriladi, ko'pincha dengiz cho'chqachalariga. Epidemik rikketsiozlarda erkak hayvonlarni qo'llash maqsadga muvofiq hisoblanadi. Chunki ularda periorxit rivojlanadi va moyak pardasining mezoteliysida qo'zg'atuvchilar yig'ilib qoladi (Muzer hujayralari). Vezikulyar chechakka o'xshash rikketsiozlar va Sutsugamushi isitmasi qo'zg'atuvchilarini oq sichqonlarga yuqtirib (0,5 ml qon) o'rganish mumkin. Ku—isitmasida esa dengiz cho'chqachalarini testikulasiga (moyagiga) to'g'ridan-to'g'ri 0,3-0,5 ml qon yuborilib o'rganiladi. Lekin Provatsek rikketsiozlarini ajratib olishda bu usullar qo'l kelmaydi. Toshmali tif qo'zg'atuvchisini ajratib olishda kiyim bitiga yuqtiriladi. Rikketsiyalar bitning ichagida aktiv ko'payadi.

Amaliyotda endemik rikketsiozlar qo'zg'atuvchisi Provatsek rikketsiozlaridan farqlashda qo'llaniladi.

Kasal yuqtirilgan hayvonlar yorib ko'riladi va ularning organlaridan preparatlar tayyorlanadi, Romanovskiy-Gimza yoki P.F. Zdrodovskiy usullarda bo'yab ko'riladi. Infeksiya bosqichiga, hujayra kulturasi, hayvonlarni turiga ko'ra rikketsiyalarning har xil morfologik tiplari hujayralar sitoplazmasida va yadrosida topiladi (83-rasm). Immuno-flyuoressent usulidan foydalanish rikketsiyalarni aniqlashni birmuncha yengillashtiradi.

**Serodiagnostika** rikketsiozlarning zamonaviy diagnostikasi asosini tashkil etadi. Ishonarli natijalar kasallikning birinchi haftasi oxirlarida bo'lishi mumkin. Rikketsiozlarning serodiagnostikasida quyidagi usullar keng qo'llaniladi.



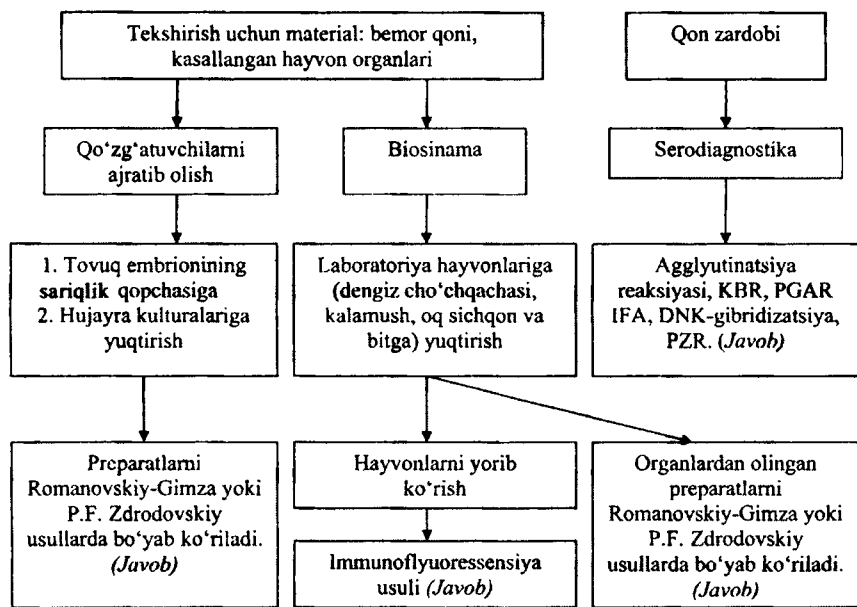
83-rasm. Rikketsiyalar A-rikketsiyalarni elektron mikroskopda ko'rinishi: B-R. tipni (hujayra kulturasiga yuqtirilgan rikketsiyalar sitoplazmada ko'paygan: D-immunoflyuorissensiya usulida rikketsiyalarning ko'rinishi: E – hujayra ichida ko'paygan rikketsiyalarni fazolikontrast mikroskopda ko'rinishi

**Veyl-Feliks reaksiyasi** kengaytirilgan AG reaksiyasi bo'lib, ko'pchilik rikketsiozlarning diagnostikasida va identifikatsiyasida qo'llaniladi. Mohiyatiga ko'ra, ko'pchilik rikketsiozlar bilan kasallangan bemorlar qon zardobi *Proteus vulgaris*ning OX shtammlarini (asosan OX<sub>19</sub>, OX<sub>2</sub>) agglyutinatsiyaga uchratish xususiyatiga ega. Rikketsiya Provatssek faqat OX<sub>19</sub> shtamm bilan agglyutinatsiya beradi. Rikketsiyalarning bunday xususiyati *Proteus* bakteriyalari bilan struktura (Ag) jihatidan o'xshashligini bildiradi.

Agglyutinatsiya reaksiyalari parallel ravishda *Proteus* diagnostikumi va qo'zg'atuvchilarning maxsus diagnostikumlari bilan birga qo'yiladi. Qo'yish texnikasi boshqa kasalliklarda qo'yilgan agglyutinatsiya reaksiyalaridan farq qilmaydi.

KBR sezgir usullardan hisoblanadi va rikketsiyalar diagnostikasida keng qo'llaniladi. Antigen sifatida rikketsiyalarni korpuskulyar va eruvchan antigenlari qo'llaniladi. KBR spetsifik bo'lganligi uchun rikketsiozlarni bir-biridan farqlash mumkin.

PGAR da eruvchan rikketsioz antigenlari eritrotsitlar sathiga shimdirilib, tayyorlangan diagnostikumlardan foydalaniladi.



23-sxema. Rikketsiozlarda mikrobiologik tekshirish usullari

Tekshiriladigan zardoblarni 1:800 va 1:6400 gacha suyultirish mumkin. Ammo KBR dan farqli o'laroq, PGAR yordamida guruh ichidagi rikketsiozlarni differensatsiya qilib bo'lmaydi. Biroq PGAR infeksiya fazasini aniqlashga yordam beradi, chunki bu antitelalar infeksiya jarayonida yuqori titrda to'planib, rekonvaletsentlik davrida pasayib ketadi. Bemor tuzalgandan 6 oy o'tgach, umuman qonda topilmaydi. Agar reaksiya KBR bilan bir vaqtda qo'yilsa, u holda kechayotgan kasallikni avval o'tkazilgan (anamnestik) kasallikdan farqlash mumkin.

**Birlamchi epidemik toshmalı tıfni retsidiv (Brill-Tsinsser) sporadik toshmalı tıfdan farqlash.** Bu kasallik qo'zg'atuvchisi har ikkala kasallikda ham *Rickettsia prowazekii*. Kasallik davrida rikketsiyalar tinch shaklga o'tib olishi va kasallikdan so'ng uzoq yillar organizmda saqlanishi, so'ng yana kasallikni keltirib chiqarishi mumkin. Bu bir xil kasallikning ikki xil shaklini faqat serologik usulda farqlash mumkin. Immunologiya bo'limidan bizga ma'lumki, organizmga birlamchi antigen (mikrob) tushganda gumoral sistemada birinchi bo'lib IgM sintezlanadi va kasallikning o'tkir davrida ko'p yig'iladi. IgM paydo bo'lgandan 5-6 kundan keyin esa IgG sintezlanadi. Agar shu antigen (mikrob) qayta organizmga kirsam (ularga qarshi xotira hujayralari hosil bo'lgan taqdirda),



asosan tez va effektiv IgG hosil bo'ladi. IgM va IgG lar bir-birlaridan ba'zi bir parchalovchi moddalar 2-merkaptotanol, sisteinga sezuvchanligi bilan farq qiladi. Bu moddalar IgM molekulasidagi disulfid bog'larni uzadi va immunoglobulin faolligi yo'qolib, antigenlar bilan birika olmaydi. Birlamchi toshmalni Brill-Tsinsser kasalligidan farqlash uchun tekshiriluvchi zardob 2-merkaptotanol yoki sistein bilan ishlov berilib (kontrollda ishlov berilmaydi) KBR qo'yiladi. Agar birlamchi toshmalni tif bilan bemor og'rigan bo'lsa, qonda IgM ko'p bo'ladi, agar zardob 2-merkaptotanol bilan ishlov berilib reaksiya qo'yilsa, AT titri ishlov berilmagan zardobga nisbatan 4 marotaba kamayadi. Brill-Sinsser kasalligida esa asosan IgG hosil bo'lganligi sababli 2-merkaptotanol bilan ishlov berilgan va ishlov berilmagan zardoblarda ham AT titri deyarli bir xil bo'ladi.

72-jadval

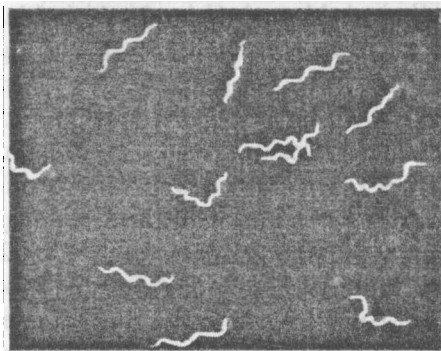
**Birlamchi toshmalni tifni Brill- Sinsser kasalligidan farqlashda KBR natijalari**

Tekshiriluvchi zardob		Zardobning suyultirishi									
		1:8	1:16	1:32	64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	
1-bemor	2-merkaptotanol qo'shilgan	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
	2-merkaptotanol qo'shilmagan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Natija	Bemor birlamchi qaytalama tif bilan og'rigan									
2-bemor	2-merkaptotanol qo'shilgan	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	2-merkaptotanol qo'shilmagan	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	Natija	Bemor ikkilamchi (Brill- sinsser) qaytalama tif bilan og'rigan									

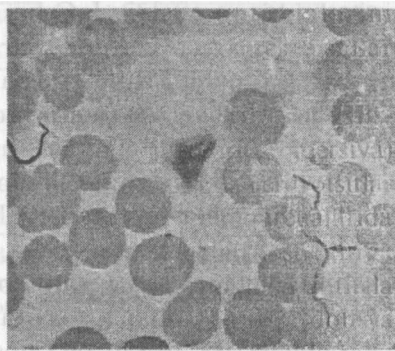
**Qaytalama tifning mikrobiologik diagnostikasi**

Qaytalama terlama transmissiv yuqumli kasallik. Bit orqali yuqadigan epidemik va kana orqali yuqadigan endemik qaytalama terlama farq qilinadi, isitma xuruji va tinchlanish (apireksiya) davri bilan kechadi.

Epidemik qaytalama terlama yoki borrelioz qo'zg'atuvchilari *Borrelia* avlodiga mansub spiroxetalar oilasiga kiradi, spiralsimon bakteriyalar



84-rasm. Borrelialarni qorong'ilashtirilgan maydonda ko'rinishi



85-rasm. Qaytalama tif bilan og'rigan bemor qonidan tayyorlanib, Romanovski - Gimza usulida bo'yalgan surtmada borreliozlarning ko'rinishi

har xil kattalikda, 3–10 tagacha buramalari bor. Bular *B.recurrentis* patogenlari bit orqali, *B.duttonii*, *B.persica*, *B.caucasica*, *B.hispanica*, *B.latyschewilar* kana orqali odamlarga yuqadi. Ular keltirib chiqargan kasalliklar borreliozlar ham deb yuritiladi.

Borrelialar treponemalardan farq qilib, laboratoriya sharoitida ko'payadi, ular anaerob sharoitda bir bo'lak to'qima bo'lagi qo'shilgan assit suyuqligi, qon zardobli muhitlarda va tovuq embrionida yaxshi ko'payadi. Ularning virulentligi bir necha yillargacha saqlanishi mumkin. Lekin amaliyotda bu usul deyarli qo'llanilmaydi.

*B.recurrentis* (Obermeyer speroxetasi) epidemik (bit yuqtiruvchi) qaytalama tif kasalligini keltirib chiqaradi.

Qolgan turlari keltirib chiqaruvchi kasalliklarni odamga kana'lar yuqtiradi va endemik qaytalama tif kasalliklari (borreliozlar) deb nomlanadi.

#### Uslubiy ko'rsatma (24-cxema).

**Bakterioskopik usul** borreliozlarda asosiy usullar qatoriga kiradi.

Tekshirish uchun qon yuqori isitma davrida (boshlanish davrida qo'zg'atuvchi ko'p bo'ladi) barmoqdan olinib, "qalin" tomchi surtmasi tayyorlanadi va Romanovskiy-Gimza usullari yoki fuksin, metilen ko'ki bilan bo'yab ko'riladi. Isitma xuruji oldidan qo'zg'atuvchi qonda shunchalik ko'p bo'ladiki, bir-birlari bilan o'ralib to'qilgan kigizga o'xshab qolishi mumkin. Qorong'ilashtirilgan maydonda qondan tayyorlangan nativ preparat ko'rilganda borrelialarning tipik harakatlarini ko'rish mumkin. Qo'zg'atuvchini yana Burri usulida ham topish

mumkin, bunda qo'zg'atuvchi qora fonda kumush tolalarga o'xshab ko'rinadi (84-rasm). Bakterioskopik usul apiraksiya davrida o'z mohiyatini yo'qotadi, lekin tekshirilayotgan qon sentrifuga qilinib, uning cho'kmasidan ba'zida borrelalarni topish mumkin.

*B.recurrentis* Romanovskiy-Gimza usulda bo'yalganda surtmada ingichka, egilgan, 8-12 mkm uzunlikdagi ipchalarga o'xshab, 4-12 buramalarga ega bo'ladi (85-rasm). Ular fuksin bilan qizil, qalin tomchi preparatlarida esa binafsha-pushti rangga bo'yaladi.

**Biologik sinama.** Kasal qoni dengiz cho'chqachalariga yuqtiriladi. Agar natija musbat bo'lsa, 5-6 kundan so'ng hayvonlar qonida ko'p miqdorda borreliylar paydo bo'ladi. Biologik sinama epidemik qaytalama tifni endemik qaytalama tifdan farq qilishda ham qo'llaniladi. Epidemik qaytalama tif bilan hayvonlar kasallanmaydi.

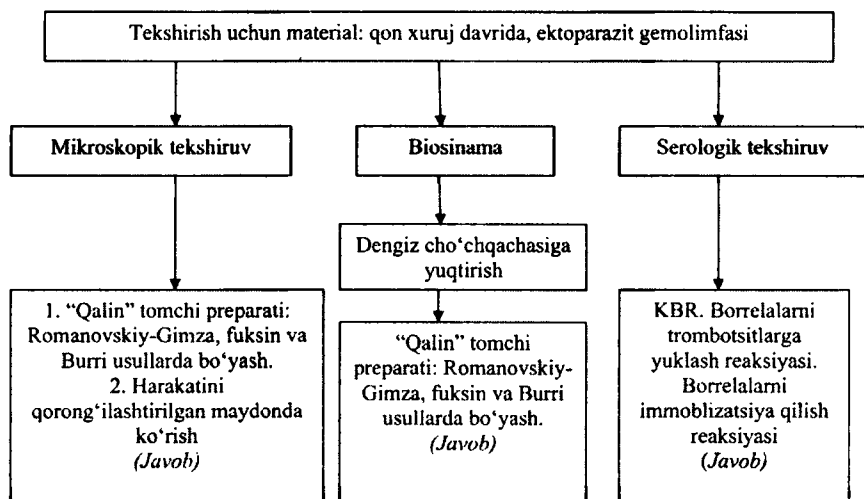
**Serologik usul.** Apiraksiya davrida serologik sinamalar qo'yiladi.

**Borrelalarni immoblizatsiya qilish reaksiyasi.** Apiraksiya davrida bemor qon zardobidan bir tomchi buyum oynasiga olinadi va unga borrelalar kulturasi aralashtiriladi, yopqich oyna bilan "ezilgan" tomchi preparati tayyorlab, qorong'ilashtirilgan maydonda harakati o'rganiladi. Agar bemor qonida spetsifik AT bo'lsa, borrelalar harakati 30-60 daqiqada to'xtab, o'lib qoladi.

**Borrelalarni trombositlarga yuklash (Rikkenberg-Brusin) reaksiyasi.** Bemor qon zardobi olinib, teng hajmdagi sitratli dengiz cho'chqachasi qon bilan aralashtiriladi. Shu aralashmaga teng hajmda borrelalar kulturasi qo'shiladi va o'tkir uchli probirkalarga solinib, 15 daqiqa 37°C termostatda saqlanadi. So'ng pipetka bilan bir tomchi olinib, buyum oynasiga tomiziladi va yopqich oyna bilan yopib qorong'ilashtirilgan maydonda mikroskopda ko'riladi. Bemor qonida AT bo'lsa, dengiz cho'chqachalar trombositlari borrelalar yuzasiga yopishib, ularning harakatlarini to'xtatib qo'yadi.

## **Leptospirozlarning mikrobiologik diagnostikasi**

Leptospiralalar zoonoz yuqumli kasalliklar qo'zg'atuvchilari hisoblanadi. Qo'zg'atuvchisi *Leptospira interrogans*. Bular 18 seroguruhga va 180 ta serovarlarga bo'linadi. Bundan tashqari, tabiiy sharoitda ko'plab saprofit leptospiralalar ham uchraydi. Leptospiralarni tabiiy xo'jayinlari yovvoyi va uy hayvonlari, kemiruvchilar hisoblanadi. Odamlarda bu qo'zg'atuvchilar leptospiroz kasalliklarini keltirib chiqaradi. Qo'zg'atuvchilar ko'proq suv orqali organizmga tushadi (cho'milganda, ichganda va boshq.), bundan tashqari, hayvonlarni



24-sxema. Borreliozlarni mikrobiologik tekshirish usullari

boqqanda ham yuqishi mumkin. Kasallik turli ko'rinishdagi klinik shakllarda (sariqlik bilan yoki sariqsiz) o'tadi.

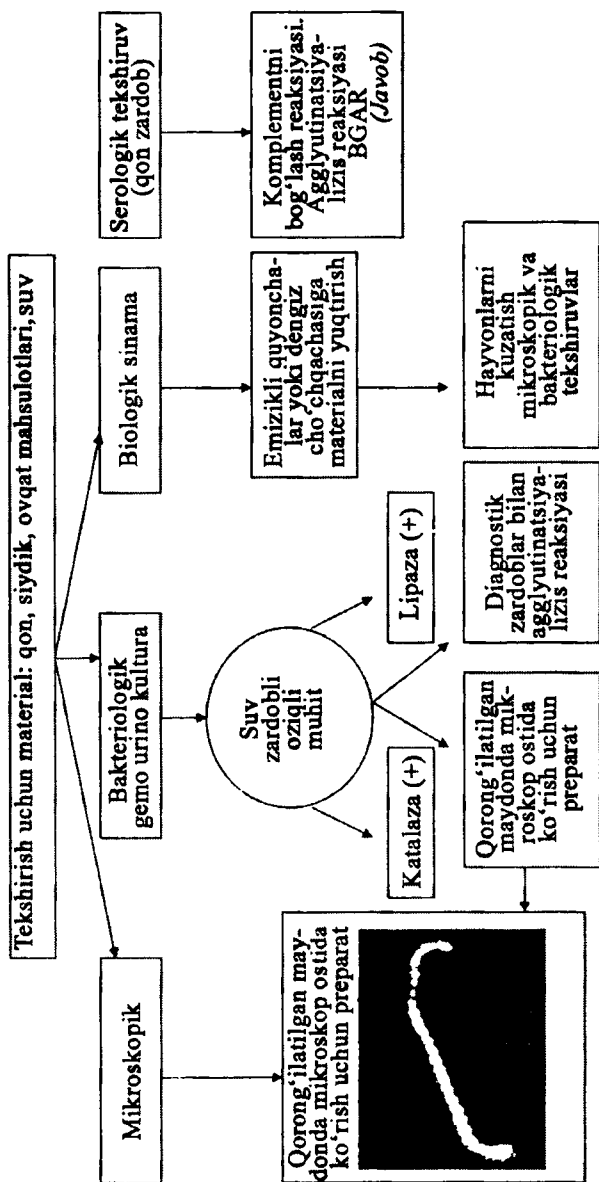
Mikrobiologik tekshiruvda material sifatida kasallikning turli davrlarida qon, likvor va siydikdan foydalaniladi. Kasallikning 5-kunida qondan bakterioskopik va bakteriologik tekshiruv, biologik sinama, 10 kundan boshlab siydikdan bakterioskopiya, 1-haftaning oxirida serologik tekshirishlar (AR va lizis reaksiyasi) o'tkaziladi.

### Uslubiy ko'rsatmalar

#### Bakterioskopik tekshiruv (25-sxema).

Tekshiriluvchi materialdan "ezilgan" tomchi surtmasi tayyorlanadi va uni qorang'ilashtirilgan maydonda mikroskopda ko'riladi. Natija musbat bo'lsa, 6-9 mkm uzunlikda bo'lgan birlamchi va ikkilamchi o'ramli (23-sxemadagi rasmga qaralsin) harakatchan kumushsimon leptospiralalar ko'rinadi. Bu o'ramlar leptospiralarga S shaklini beruvchi uchlari qayrilgan, ilmoq ko'rinishga ega bo'ladi. Tirik leptospiralalar aktiv (to'g'ri yo'nalishda) harakatda bo'ladi. Ular oldinga, bir joyda aylanib, hamda aylana bo'ylab o'z joyini o'zgartirib harakat qilish xususiyatiga ega. Lekin leptospiralalar bo'yoqlarni qabul qilmasligi sababli ularni faqat nativ preparatlarda o'rganiladi.

Qonni, likvorni mikroskop ostida ko'rish (meningit holatlarida) kasallikka barvaqt diagnoz qo'yish imkonini beradi. Ammo manfiy natijalar, kasallikning leptospiroz emasligini butunlay tasdiqlay olmaydi.



25-sxema. Leptospirzlarning mikrobiologik tekshirish usullari

**Bakteriologik tekshiruv.** *Leptospira* obligat anaerob bo‘lib, 5-10% quyon zardobi qo‘shilgan suyuq va qattiq muhitlarda yaxshi o‘sadi. Ba‘zi bir muhitlarga fosfatli buferi, pepton qo‘shiladi. Tekshiriluvchi material bemor karavoti oldida 3-5 ta probirkalarga ekiladi va ustiga steril vazelin moyi tomiziladi (havodan kislorod tushishini chegaralash uchun). So‘ng 28°C li termostatda 2 oy davomida saqlanadi. Agar leptospira ko‘paysa, muhit tiniq holda qoladi. Har 5-6 kun ichida muhit olinib, preparat tayyorlanib, qorong‘ilatilgan maydonda mikroskop ostida ko‘riladi. Ajratib olingan kulturalar serogruppasi diagnostik zardoblar to‘plami bilan agglyutinatsiya reaksiyasi yordamida identifikatsiya qilinadi.

**Biosinama.** Yuqumli material emizikli quyonchalar yoki dengiz cho‘chqachasi yoki tilla rangli olmaxon bolalarining qorin pardasiga yoki teri orasiga yuboriladi. Agar hayvon kasallansa yoki o‘lsa, uning qonidan, siydigidan, yorilganda olingan materiallardan preparatlar tayyorlanadi. Ular qorong‘ilatilgan maydonda mikroskop ostida ko‘riladi va leptospiraning sof kulturasi ajratib olish uchun oziq muhitlarga ekiladi.

**Serodiagnostika.** Turli serograppa va serovarlarga mansub bo‘lgan leptospiralarning tirik etalon kulturalari bilan agglyutinatsiya-lizis reaksiyasi qo‘yiladi. Reaksiya natijasi “ezilgan” tomchi preparatini qorong‘ilatilgan maydonda mikroskop ostida ko‘rish orqali aniqlanadi. Reaksiya musbat bo‘lgan taqdirda agglyutinatsiya hosil bo‘lib, leptospiralar erib ketadi. Zardob birlamchi suyultirilganda leptospiralar to‘liq eriydi, ba‘zan bir qismi ham erishi mumkin yoki dona-donacha bo‘lib shishadi. Zardobning keyingi suyultirilganida esa leptospira agglyutinatsiyasi va kichkina “o‘rgimchaklarga” o‘xshash aglomeratlar hosil bo‘ladi. Reaksiyaning diagnostik titri 1:100 ga teng. Kasallikning 15-30 kunida antitelalarni eng yuqori titri 1:800-1:2 000 bo‘lishi mumkin. Kasallikni boshidan kechirgan qator kishilarda AT titri uzoq yillar saqlanib qoladi. Shuning uchun diagnostikada, albatta, juft zardobdan foydalanish zarur (birinchi marotaba qo‘yilgandan so‘ng qayta bir yoki ikki haftadan keyin) va AT lar titrini oshib borishiga qarab diagnoz qo‘yish mumkin.

#### **Diagnostika, profilaktika va davo preparatlari**

**Quruq korpuskulyar rikketsioz antigenlari.** Tovuq embrionida o‘stirilgan va begona aralashmalardan tozalanib, o‘ldirilgan rikketsiya suspenziyasi. Serologik reaksiyalarda antigen sifatida ishlatiladi.

**Quruq eruvchan rikketsioz antigenlari.** Reaksiya kulturalarini ekstraksiya qilib va efir bilan ishlov berib olingan. KBR, PGAR larni qo‘yishda foydalaniladi.

### **Quruq, tirik kombinatsiya qilingan toshmali tif E-vaksina.**

Tovuq embrionida o'stirilgan va begona aralashmalardan tozalangan, tirik Provatsek rikketsiya (E-vaksina shtammi) kulturalarni ushbu rikketsiyalar virulent shtammidan olingan eruvchan antigeni bilan bo'lgan aralashmasi. Toshmali tifga qarshi emlashda qo'llaniladi.

**Leptospiroz antigeni** – leptospira asosiy serovarlarining 7-10 kunlik kulturalari. Leptospirozlarning serodiagnostikasida ishlatiladi.

**Leptospiroz vaksinasi** – MDH davlati territoriyalarida tarqalgan asosiy serovarlaridan tashkil topgan, qizdirib o'ldirilgan va fenol bilan konservatsiya qilingan kulturalari. Leptospirozlarning profilaktikasida, infeksiyaning endemik o'choqlarida ishlatiladi.

**Leptospiroz immunoglobulini** leptospirozni davolashda va profilaktikasida qo'llaniladi.

## **VIRUSLAR KELITIRIB CHIQUARUVCHI YUQUMLI KASALLIKLARNING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

Yildan-yilga viruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklar ko'payib bormoqda. Hozirgi kunda 1000 dan ortiq viruslar kashf qilingan. Ularning 50% i odamlar uchun patogen hisoblanadi. Viruslar klassifikatsiya bo'yicha 20 oilaga bo'lingan. Bulardan 13 – RNK va 7 – DNK saqllovchi viruslar oilasi mavjud.

Odamlarda uchrovchi umumiy yuqumli kasalliklarning 85-90% ini viruslar keltirib chiqaradi. Hamma viruslar keltirib chiqaruvchi infeksiyalarni 6 guruhga bo'lish mumkin:

1. O'RVI (o'tkir respirator virusli infeksiyalar) - bu kasalliklarni 130 dan ortiq viruslar keltirib chiqaradi, bulardan eng ko'p gripp, paragripp, adeno-, rino-, RS, reovirus kabilar keng tarqalgandir;

2. Neyrotrop viruslar – bularga qutirish, poliomyelit, ECHO va Koksaki viruslari va arbovirus, togovirus, bunyanvirus, arenavirus vakillari kiradi.

3. Ichak virusli yuqumli kasalliklarini qo'zg'atuvchilari – bularga RNK va DNK saqllovchi viruslar (poliomyelit, ECHO, Koksaki, gepatit A, E, kam hollarda pikarnoviruslar bolalarda enteritlarni keltirib chiqaradi) kiradi.

4. Dermotrop viruslar – bularga herpes, ospa (chechak), suvchechak viruslari kiradi.

5. Gepatotrop viruslar – gepatit viruslari (A, B, C, D, E, F va boshq.) kiradi.

6. Immunotrop viruslar – bularga retroviruslar (OITV 1, 2 tiplari va bosh) kiradi.

Viruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning laboratoriya diagnostikasida virusologik, serologik, virusoskopik va biologik usullar qo'llaniladi. Bularning ichida virusologik usul eng asosiy hisoblanadi, lekin viruslarni ajratib olish juda katta mehnat talab qiladi, chunki tekshirilayotgan materiallar maxsus laboratoriyalarda hujayra kulturalari va tovuq embrionlariga yuqtirilib, ajratib olinadi.

Viruslarning hujayra kulturalariga har xil sezuvchanlik xususiyatlarini hisobga olib, bir vaqtning o'zida bir qancha viruslar yuqtiriladi. Ayrim viruslar laboratoriya hayvonlariga yuqtirish yo'li bilan aniqlanadi.

Laboratoriya sharoitida ajratib olingan viruslarni identifikatsiya qilishda ularning hujayralarga ko'rsatgan sitopatik ta'siri va quyidagi serologik reaksiyalar yordamida (neytrallashtirish, GRT, KBR, PGAR, agardagi pretsipitatsiya reaksiyasi va boshq.) olib boriladi. Tekshirilayotgan viruslarni antigen tuzilishiga, qarab u yoki bu reaksiyalar qo'llaniladi. Viruslarni ajratish va identifikatsiya qilish 7-10 kundan 30 kungacha va undan ortiq vaqt talab qiladi. Ko'pchilik viruslarni hujayra kulturalariga moslashishi uchun 2-3 marotaba passaj qilinadi. Shuning uchun tekshirishni tezlashtirish uchun, ayrim vaqtlarda tekshiriluvchi materialdan virusni tez topish va taxminiy diagnozni qo'yish uchun immunoflyuoressent usul eng qulay hisoblanadi.

Virus yuqumli kasalliklarda serodiagnostika ko'pchilik hollarda retrospektiv ahamiyatga ega bo'lib, asosiy diagnozni tasdiqlash uchun xizmat qiladi. Diagnostik maqsadda qo'llanilganda, albatta, juft qon zardobdan foydalaniladi. Kasallikning turli davrlarida AT larning titri oshib borishi mazkur diagnozni tasdiqlash imkonini beradi.

Oxirgi yillarda viruslar keltirib chiqaruvchi yuqumli kasalliklarning diagnostikasiga o'ta sezgir zamonaviy usullar (IFA, DNK-gibridizatsiyasi, PZR, immunobloting va boshq.) kirib keldi, bu usullar viruslar keltirib chiqaruvchi yuqumli kasalliklarga o'ta tez diagnoz qo'yish imkoniyatlarini bermoqda.

Virusologik va serologik tekshirishlar ahamiyati shundan iboratki, faqat shu yo'l bilan olingan natijalarga ko'ra, virus yuqumli kasalliklarining tarqalishini epidemiologik tahlil qilib, kasallik manbai va yuqish yo'llari aniqlanib, ularga qarshi profilaktik tadbirlar ishlab chiqiladi.

### **O'tkir respirator virusli infeksiyalar qo'zg'atuvchilari**

Respirator virusli yuqumli kasalliklar qo'zg'atuvchilarga RNK yoki DNK tutuvchi bir qancha virus oilalari kiradi (73-jadval).



## Virusli o'tkir respirator yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari

Viruslar nomi		Qo'zg'atadigan kasalliklari
DNK- viruslar	Adenoviruslar oilasi (Adenoviridaye)	Rinit, laringit, traxeobronxitlar, O'RK, zotiljam, o'rta quloqning yallig'lanishi, o'tkir kon'yuktivit
	Herpesviridaye oilasi I tip uchuq virusi II tip uchuq virusi	Yosh bolalarda o'tkir gingivostomatit, gerpetik ekzema, kerotokon'yuktivit, gerpetik isitma
	Suvchechak va o'rab oluvchi temiratki virusi	Chaqaloqlar uchug'i (qon orqali tarqalgan va jinsiy organlar uchug'i) Bolalarda suvchechak, kattalarda o'rab oluvchi temiratki
RNK-viruslar	Orthomyxoviridaye oilasi Gripp A viruslari	Gripp (epidemiya, pandimiyalar, sporadik hollari)
	Gripp B va C viruslari	Gripp (sporadik hollari, epidemiyalar)
	Paramyxoviridaye oilasi Paragripp viruslari, Nyukasl, respirator sinsital virus (RSV)	O'tkir respirator kasalliklar (O'RK)
	Tepki virusi Qizamiq virusi	Tepki Qizamiq
	Coronaviridaye –oilasi Korona viruslar	O'tkir respirator kasalliklar (O'RK)
	Picarnoviridaye oilasi Rinoviruslar A <sub>10</sub> , A <sub>21</sub> , A <sub>24</sub> , A <sub>25</sub> , A <sub>4</sub> , A <sub>5</sub> Koksaki viruslari va boshqalar	Rinitlar, bronxitlar, o'tkir respirator kasalliklar (O'RK)
	ECHO <sub>20</sub> virusi va boshqalar	Gerpangin va o'tkir respirator kasalliklar (O'RK)
	Reoviridaye oilasi Rioviruslar	O'tkir respirator kasalliklar (O'RK), zotiljam, bronxitlar

Ular organizmga faqat yuqori nafas yo'llarining shilliq qavati orqali kirish xususiyatlari va laboratoriya diagnostika prinsiplarining umumiyliigi tufayli bir guruhga kiritilgan.

74-jadvalda keltirilgan viruslar asosan yuqori nafas yo'llarini shikastlaydi. Biroq ulardan ayrimlari kishi organizmining boshqa to'qima

va organlarini ham shikastlashi mumkin. Qator viruslar, masalan, tepki faqat soʻlak bezlarini, oʻgʻil bolalarda moyak toʻqimalarini va boshqa organlarni, qizilcha virusi esa limfa tugunlari sistemasini, homilador ayollarda homilani, gerpes viruslar teri va jinsiy organlarni ham shikastlaydi.

Yuqori nafas yoʻllarining (respirator) virusli, virus + bakteriya, virus + mikoplazma bilan birgalikda aralash infeksiyalar juda xarakterliki, laboratoriya diagnostikasida bu xususiyatni hisobga olish zarur. Shuning uchun burun-halqumdan olingan surtma va chayindilar, oʻpka shikastlanganda esa balgʻam va bronxlar chayindisi tekshiriluvchi material hisoblanadi.

Uchuq va suvchechak kasalligida viruslar ogʻiz boʻshligʻining shilliq qavati, teri va jinsiy organlardagi toshmalarda boʻladi. Virusemiya yuqorida yozilgan viruslar qoʻzgʻatgan yuqumli kasalliklarning eng ogʻir shakllarida, shuningdek qizamiq, tepki, qizilcha, suvchechak kabi bolalar yuqumli kasalliklarida kuzatiladi.

Oʻtkir respirator kasalliklar (OʻRK) laboratoriya diagnostikasida tezkor (ekspres) usullar, chunonchi: immunoflyuoressensiya, rinotsitoskopiya, DNK-gibridizatsiya va PZR nihoyatda keng qoʻllaniladi va 2-3 soat davomida taxminiy diagnoz qoʻyish imkonini beradi. Gripp va OʻRK larda serologik diagnostika retrospektiv xarakterga ega boʻladi, chunki antitelalar rekonvalissent davrida (kasallik tuzalgandan 2-3 haftadan keyin) koʻpayadi. Serodiagnostika uchun GART, KBR, IFA, immunobloting va virusni neytrallash reaksiyalaridan foydalaniladi.

### **33-MAVZU. OʻTKIR RESPIRATOR VIRUSLI INFEKSIYALAR: ORTO-VA PARAMIKSOVIRUSLAR OILASIGA KIRUVCHI VIRUSLARNING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashgʻulot rejasi**

1. Oʻtkir respirator virusli kasalliklar diagnostika sxemasini oʻrganish.
2. Diagnostikaning tezkor usullari.
3. Ortomiksoviruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning virusologik diagnostikasi.
4. Paramiksoviruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning virusologik diagnostikasi.
5. Gripp, paragripp va boshqa respirator virusli infeksiyalar serodiagnostikasi.
6. Gripp, paragripp va boshqa respirator virusli infeksiyalarda qoʻllaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

## **Namoyish qilish**

1. Gripp, paragripp va boshqa respirator virusli infeksiyalar ekspress diagnostikasining immunflyuoressent usuli.

2. O'tkir respirator virusli kasalliklar qo'zg'atuvchilari va ularning reproduksiyalari aks ettirilgan rangli rasm va albomlar.

3. Gripp, paragripp va boshqa respirator virusli infeksiyalarda qo'llaniluvchi vaksina, immunoglobulin, davolovchi zardob, diagnostikum, bir va ko'p valentli zardoblar.

## **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Virus yuqtirilgan tovuq embrionining alentois suyuqligidan olib, gripp virusini indikatsiyasi uchun gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish.

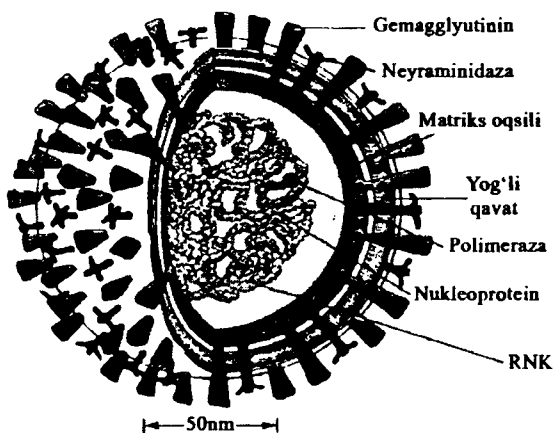
2. Ajratib olingan gripp virusini GART yordamida identifikatsiya qilish. Xulosa chiqarish.

3. Respirator kasallik keltirib chiqaruvchi viruslar bilan shikastlangan hujayra kulturalaridagi (virusning SPT) o'zgarishlarni aniqlash.

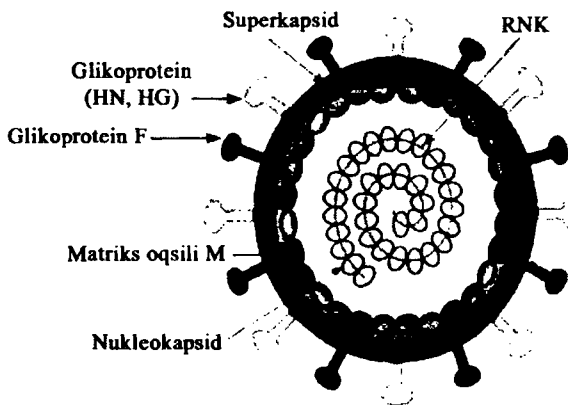
## **Gripp, paragripp va adenovirus infeksiyalarining virusologik diagnostikasi**

Gripp virusi Orthomyxoviridaye oilasiga kiradi va uchta tipi: A, B, C tafovut qilinadi. Bulardan A tipi asosan epidemiya va pandemiya ko'rinishda o'tadi. Gripp viruslari odamda, qushlarda va hayvonlarda kasallik keltirib chiqaradi. Gripp virusining o'ziga xos xususiyatlaridan biri tabiiy sharoitda o'z yuza (gemagglyutinini H va neyraminidaza N) antigenlarini o'zgartirib turishidir.

Har doim shu yuza antigenlarining o'zgarishi virusning yangi variantini paydo bo'lishiga olib keladi. Virus har 10-15 yilda to'liq o'zining antigen (shift usulda) strukturasi o'zgartiradi va gripp virusining yangi serologik tipi paydo bo'ladi va kasallikning dunyodagi yangi pandemiyasi boshlanadi. 2000-yildan keyin gripp virusining H2N5 parranda grippi yer yuzidagi insoniyat sog'lig'iga katta xavf soldi. 2009-yildan boshlab gripp virusining H1N1 cho'chqa tipi yana qaytib keldi (1976-yilda pandemiya bergan) va yer yuzida yangi kasallikning pandemiyasini keltirib chiqarmoqda. Gripp kasalligi aksariyat hollarda odamlarda yengil o'tadi va 3-5 kun ichida odamlar sog'ayib ketadi, lekin oxirgi yillarda gripp kasalligining toksik shakllari va parranda grippi (H2N5) tiplari juda klinik jihatdan og'ir o'tmoqda va ko'pchilik holatlarda o'lim bilan tugamoqda. Gripp virusining optimal ajratib olish modeli bu 10-12 kunlik tovuq embrionining amnion yoki allantois bo'shlig'iga yuqtirish hisoblanadi. Laboratoriya hayvonlaridan gripp virusiga Afrika yumronqozlari va oq sichqonlar sezgir hisoblanadi. Gripp virusining retrospektiv diagnostikasida ko'proq serologik usullar qo'llaniladi. Gripp virusining sxematik strukturasi 86-rasmda keltirilgan.



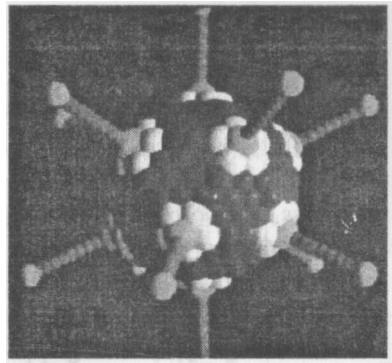
86-rasm. Gripp virusining sxematik strukturasi



87-rasm. Paramiksoviruslarning sxematik strukturasi

**Paramiksoviruslar** Paramyxoviridaye oilasi va bu oilaga 4 ta avlod vakillari kiradi: Paramyxovirus avlodi – paragripp qo'zg'atuvchilari 1 -3 tipi; Rubulavirus avlodi epidemik parotit kasalligi viruslari 2 va 4 tiplari; Morbillavirus avlodi qizamiq kasalligi virusi; Pneumovirus-RS virus. Paragripp virusi RNK saqlovchi virus bo'lib, segmentlanmagan – RNK molekulasini tutadi. Superkapsid tarkibida gemaglyutinin (H), neyraminidaza (N) antigenlari va F-oqsil uchraydi (87-rasm). F-oqsil hujayra membranasiga birikishni va zararlangan simplast hujayralarning hosil bo'lishida qatnashadi. Virus replikatsiyasi doimo hujayra sitoplazmasida ro'y beradi. Viruslar gemadsorbsiya, gemolitik, neyraminidaza va simplast hosil qiluvchi xususiyatlarga ega.

**Paragripp viruslari (PV)** odamlarda yuqori nafas yo'llarining shilliq qavatlarida paragripp kasalligini (para – oldida, yunoncha) keltirib chiqaradi. Kasallik ko'proq bolalarda va bolalar muassasalarida kuzatiladi. Bolalarda kasallik laringotraxeobronxit ko'rinishda kechib, yolg'on krup deb ham ataladi (1,2 tiplari chaqiradi). Virusning 3-tipi bir yoshgacha bolalarda bronxit va zotiljam kasalliklarini keltirib chiqaradi.



88-rasm. Adenoviruslarning sxematik ko'rinishi

**Epidparotit virusi (teпки).** O'tkir yuqumli infeksiyon kasallik bo'lib, asosan quloq oldi bezini jarohatlab, ko'pincha birdan (epidemik vspishka) epidemiya berishi mumkin. Epidparotit virusining bitta serovari uchraydi.

**Qizamiq virusi (QV).** Virus dastlab yuqori nafas yo'lidagi epiteliyal hujayralarga kiradi va shilliq qavat, burun-halqum, traxeya va bronxlarning epiteliyal hujayralarida ko'payadi, so'ngra qonga tushadi. Virus qon kapillyarlarining endoteliyal hujayralarini shikastlaydi. Bu hujayralar nekrozga uchrashi natijasida terida toshmalar paydo bo'ladi. Ayrim hollarda virus markaziy nerv sistemasiga borib, ensefalomiyelitni keltirib chiqaradi. Virus **tovuq embrionida ko'paymaydi**. Uni odam va maymun embrionining buyragidan tayyorlangan birlamchi hujayra kulturalarida ko'paytiriladi. Bundan tashqari, odam amnioni va undiriluvchi hujayra kulturalarida (Hela, KB, Vero va boshqalar) sitopatik ta'sir ko'rsatib ko'payadi. Natijada, simplastlar, ya'ni ko'p yadroli hujayralar hosil bo'ladi. Virus kirgan hujayra sitoplazmasida atsidoofil, yadrosida bazofil kiritmalar vujudga keladi. Boshqa paramiksoviruslardan farq qilib, QV tarkibida **neyraminidaza** uchramaydi.

**Adenoviruslar** (yunoncha adeno – bez) o'tkir infeksiyon jarayonni keltirib chiqaradi, asosan yuqori nafas yo'llari, ko'z, ichak va limfoid to'qimalarni jarohatlaydi.

Adenoviruslarning 34 ta serovarlari uchraydi, oddiy tuzilishga ega, virion ikki ipli chiziqli infeksiyon DNK tutadi. Virusda superkapsid uchramaydi, shuning uchun tashqi muhit omillariga (efir, spirt) o'ta chidamli (88-rasm).

Laboratoriya sharoitida adenoviruslar odamlardan olingan epiteliyal hujayra kulturalarida intensiv ko'payadi. Virus replikatsiyasi yadroda ro'y beradi. Virusning sitopatik effekti yuqtirilgandan so'ng 1-7 kunlari

namoyon bo'ladi va hujayralar yumaloqlashuvi, ularning bir-birlari bilan birikishi oqibatida uzum shingiliga o'xshab yig'ilib qoladi. Hujayra yadrosida DNK tutuvchi spetsifik kiritmalar paydo bo'ladi. Adenoviruslar tovuq embrioni va laboratoriya hayvonlari uchun patogen emas. Ba'zi bir serovarlari onkogen xususiyatga ega.

O'tkir respirator virusli yuqumli kasalliklarning diagnostikasida ekspress, virusologik va serologik usullar qo'llaniladi.

### **Metodik ko'rsatmalar**

Ekspress usullar. Bu usullar bilan gripp va boshqa respirator kasalliklar qo'zg'atuvchilariga 2-3 soat mobaynida taxminiy diagnoz qo'yiladi.

**Rinotsitoskopik usul** – gripp va boshqa respirator virusli kasalliklarning laboratoriya diagnostikasida qo'zg'atuvchini tez aniqlash uchun qo'llaniladigan ekspress usuldir. Kasal burnining pastki chig'anog'i yuzasidan (qirg'oqlari silliqlangan oynacha yoki pleksiglas plastinkasi yordamida) tamg'a – surtma olinadi.

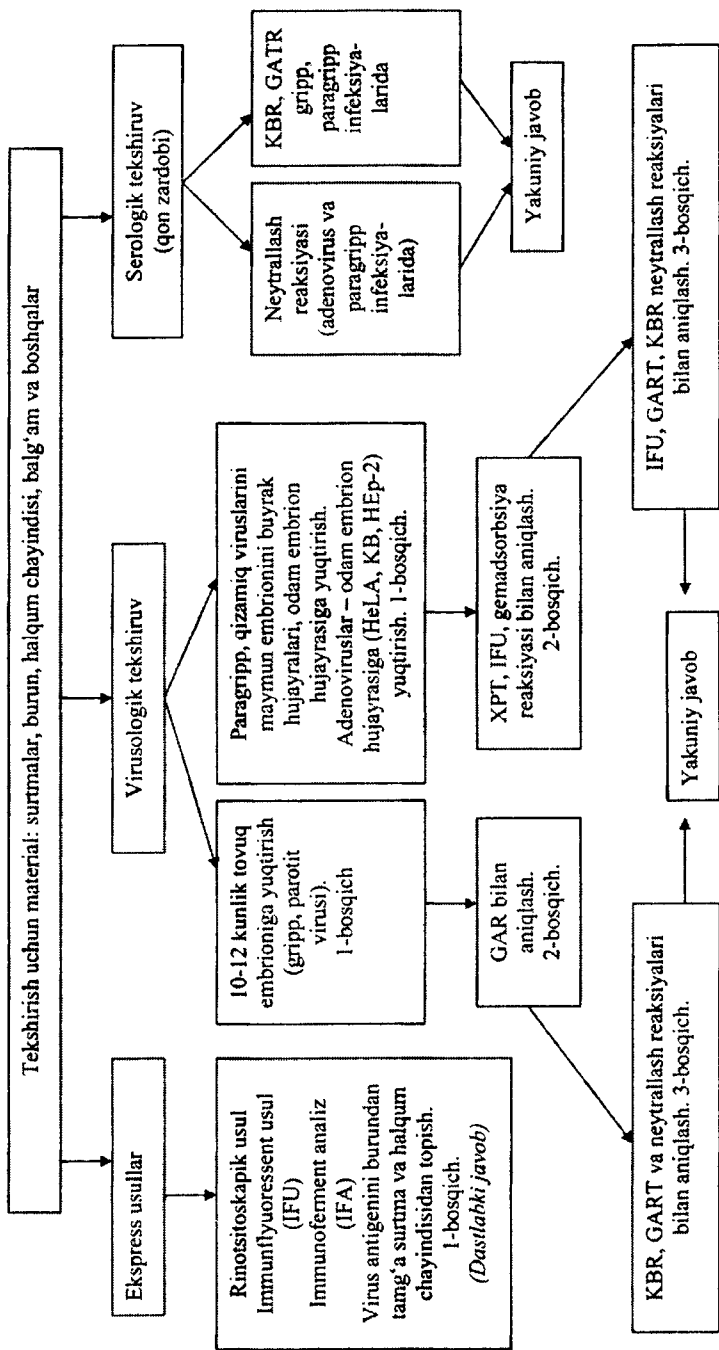
Tamg'a – surtma quritilib, fiksatsiya qilinadi va Romanovskiy-Gimza yoki fuksin, metilen ko'kida bo'yaladi. Silindrik epiteliy hamda degeneratsiya bo'lgan makrofaglar sitoplazmasida, leykotsitlarda qizil rangli keng konturli kiritmalar joylashgan bo'ladi.

Gripp kasalligi virusining diagnostikasida rinotsitoskopik tekshirish spetsifik usul bo'lmasa ham, grippning adenovirus kasalliklaridan ajratishga yordam beradi. Bunda hujayraning strukturasi buziladi, natijada yadro ichida kiritmalar paydo bo'ladi. Boshqa viruslardan farq qilib, adenoviruslar reproduksiyasida epiteliy hujayralarida xarakterli sitopatik o'zgarishlar ro'y beradi, ya'ni hujayralar yumaloqlashib, qatlamning chetida g'ujum holida (uzum shingilini eslatadi) to'planadi va oyna (probirka) sathidan kulturaning tez ko'chishi kuzatiladi. Paragripp viruslari esa hujayralarning bir-birlariga birlashtirishi oqibatida ko'p yadroli simblast hujayralari hosil bo'ladi. Respirator viruslar fibroblast hujayralarida sust rivojlanadi va bunda hujayra tez shishadi, natijada ularning yadrolari parchalanadi. Adenoviruslar uchun epiteliy va fibroblastlar hujayralari yadro ichida kiritmalar paydo qilishi xarakterlidir.

### **Ekspress –diagnostika (26-sxema).**

Bevosita (to'g'ridan-to'g'ri) immunoflyuoressensiya (Kuns) reaksiyasi BIFR (RIF) juda spetsifik bo'lib, bunda zararlangan hujayralardan virus antigenlarini nishonlangan flyuoressentli antitelalar yordamida aniqlash mexanizmi yotadi.

Tekshirish uchun material bo'lib, bemorning tomoq, burun, halqum chayindilari va shu chayindilar bilan yuqtirilgan hujayra kulturalari



26-sxema. Respirator virusli kasalliklarning laboratoriya diagnostikasi

xizmat qiladi. Preparat tayyorlash uchun olingan chayindi sentrifugada (bir daqiqada 2000-3000 marta) 10 daqiqa aylantiriladi. Cho'kmadan bir nechta yog'sizlantirilgan buyum oynachalariga surtmalar tayyorlanadi va quritilib 5 daqiqa davomida toza atsetonda fiksatsiya qilinadi. Keyin xuddi shu preparatlar nishonlangan flyuoessentli antitelalar (maxsus chiqarilgan: grippning A1, A2; paragrippning 2 va 3 tip viruslari; respirator sinsitial virusga qarshi, adenoviruslarga qarshi ko'p valentli zardob) bilan ishlanadi. Agar bilvosita usul qo'llanilsa, surtmaga oldin yuqorida keltirilgan viruslarga qarshi spetsifik AT qo'shib, keyin yuvib tashlanadi va nishonlangan flyuoessentli odam antiglobulinli qon zardoblari bilan ishlov beriladi. Analiz oxirida preparatlarni lyumenissent mikroskopda ko'zdan kechiriladi. Preparatda viruslar bo'lsa, lyumenissent mikroskopda yog'dulanadi va maxsus nur sochayotgan virus zarralariga e'tibor beriladi: yog'dulanayotgan adenoviruslar hujayra yadrosida ko'rinsa, gripp va paragripp viruslari sitoplazmada yig'ilib qolgan bo'ladi. Hujayralardagi virus zarralari va ularning soniga qarab, reaksiya javobi o'qiladi.

**Virusologik tekshiruv.** O'tkir respirator virusli kasalliklarda tekshirish uchun material burun, halqum chayindisi, balg'am va boshqalar bo'lishi mumkin (26-sxema). Patologik material hujayra yoki tovuq embrioniga yuqtirishdan oldin ularning tarkibidagi boshqa mikroorganizmlarni yo'qotish uchun antibiotiklar bilan ishlov berilib (penitsillin, streptomitsin 1000 TB ml) sentrifuga qilinadi. Virusologik ishlar hammasi bokslarda o'ta steril sharoitlarda olib boriladi. Cho'kma ustidagi suyuqlik pipetka yordamida so'rib olinib, har bir viruslar uchun maqbul bo'lgan hujayra kulturalariga (gripp virusi tovuq embrionining amniotik va allantois bo'shlig'iga, maymun, odam embrionlarining buyragidan tayyorlangan birlamchi hujayra kulturalariga; paragripp virusi maymun, odam embrionining buyragidan va odam embrionining fibroblastlaridan tayyorlangan to'qima kulturalariga; parotit – tepki virusi tovuq embrionining amniotik bo'shlig'iga va yangi ajratib olingan virus shtammlari odam embrionining buyragidan tayyorlangan birlamchi hujayra kulturalariga; qizamiq virusi odam embrioni va maymun buyragidan tayyorlangan birlamchi hujayra kulturalariga) yuqtiriladi, bundan tashqari, odam amnioni va undiriluvchi hujayra kulturalari (Hela, KB, Vero va boshqalar) ham qo'llaniladi; RS-virus maymun buyragidan tayyorlangan birlamchi hujayra va undiriluvchi o'sma hujayra kulturalariga (Hela, Hep-2, KB); adenoviruslar esa odam embrioni buyragidan tayyorlangan birlamchi va undiriluvchi Hela,



Hep-2 hujayra kulturalariga yuqtiriladi. Virus yuqtirilgan tovuq embrionlari va hujayra kulturalari 37 °C da termostatda saqlanadi.

**O'tkir respirator kasallik keltirib chiqaruvchi viruslarni indikatsiya va identifikatsiya qilish usullari.** O'tkir respirator kasallik keltirib chiqaruvchi viruslarni indikatsiya (indikatsiya – virus borligini aniqlash) qilishda HPT, gemadsorbsiya, GAR va immunoflyuoessensiya usullaridan foydalaniladi. Immunoflyuoessent usul boshqa usullardan farq qilib (HPT, gemadsorbsiya, GAR), viruslar materialda juda kam miqdorda bo'lganda ham aniqlash imkonini berishi mumkin. Immunoflyuoessent usul bilan faqat viruslarni topish emas, balki paragripp viruslari, RSV, adenovirus va mikoplazmalar, yuqtirilgan hujayra kulturalarida viruslarni identifikatsiya qilish ham mumkin. Bundan tashqari, viruslar hujayra kulturalarida yig'ilib qolgandan so'ng, KBR da adenoviruslarni, GATR, KBR va spetsifik zardoblar bilan neytrallash reaksiyalarida paragripp, tepki, qizamiq viruslarini bir-biridan farqlash mumkin.

Gripp viruslarini ajratish, passaj qilish va titrlash uchun ular rivojlanayotgan tovuq embrionlarida o'stiriladi.

Gripp virusining amniotik yoki allantois suyuqligida mavjud yoki mavjud emasligini GAR yordamida aniqlanadi. Gripp A virusi tovuq, dengiz cho'chqachasi, odamning I (O) qon gruppasi eritrotsitlari bilan, B viruslari esa faqat tovuq eritrotsitlari bilan agglyutinatsiya beradi.

Gemagglyutinatsiya reaksiyasi bilan viruslarni titrlash uchun eritrotsitlarning 1 % suspenziyasi olinadi. Virus titri ++ (1 ta ABB-bitta agglyutinatsiya beruvchi birlik) dan kam bo'lmagan eritrotsitlarning agglyutinatsiyasini beruvchi eng ko'p suyultirilgan eritmasiga aytiladi.

Epidemiya yoki epidemiya oraliq'i davrlarida kasaldan ajratib olingan gripp virusining shtammlari ularning serologik tipini aniqlash uchun o'rganiladi. Virus tiplari GATR yordamida spetsifik zardoblar to'plami bilan aniqlanadi. Reaksiya natijasi gemagglyutinatsiyaning tormozlanishi bilan belgilanadi. Virus (A, B yoki C) KBR yordamida differentsiatsiya qilinadi. A virusining kenja tipi  $H_0N_1$ ,  $H_1N_1$ ,  $H_2N_2$ ,  $H_3N_2$ , va boshqa antigenlar, gomologik tipga xos zardoblar to'plami yordamida GATR da differentsiatsiya qilinadi.

H-va N-antigenlarni identifikatsiya qilish uchun gemagglyutininga va neyraminidazaga qarshi olingan maxsus monoretseptor zardoblardan foydalaniladi. Bunda H-antigenni GATR yoki immunpretseptatsiya reaksiyasi yordamida gelda, N-antigenni esa neyraminidazani neytrallovchi reaksiya va geldagi immunopretseptatsiya reaksiyasi yordamida identifikatsiya qilinadi (74-jadval). 74-jadvalda ko'rsatilgan GATR natijalari shuni ko'rsatadiki, tekshiriluvchi virusning

gemagglitinatsiya qilish aktivligi, H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> tipiga xos zardob bilan 1:10-1:160 nisbatda (uning titrgacha) neytrallanadi, ya'ni tekshirilayotgan virus A (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) kenja tipiga aloqador bo'ladi.

74-jadval

Gripp virusining tiplarini aniqlash uchun qo'yiladigan GART

Suyultirilgan diagnostik zardob	Tajribadagi					Kontroldagi		
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Zardob	Virus	Eritr.
1- H <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
2- H <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
3- H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Virusning ishchi dozasi (1/32) har bir qatorga	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-	0.2	-
Tovuq eritrotsitlarini 1 % suspenziyasi	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Xona haroratida 60 daqiqa saqlanadi								
Olingan natija	+	+	+	+	+	-	+	-
1	+	-	-	-	-	-	+	-
2	+	+	+	+	+	-	+	-
GAR +/- 3	+	+	+	+	+	-	+	-

**Serodiagnostika.** Gripp va boshqa respirator viruslarni turli serologik tiplari etalon shtammlar to'plamidan tashkil topgan standart diagnostikumlar bilan KBR va GATR yordamida aniqlanadi. KBR reaksiyasi GATR dan sezgir bo'lib, virus serotipining barcha shtammlariga xos aynan bir tipdagi antitelalarni aniqlash imkonini beradi (75-jadval).

75-jadvaldan ham ko'rinib turibdiki, bemorning juft qon zardobi va gripp, O'RK viruslari diagnostikumlari bilan KBR qo'yilganda gripp A virusining kenja H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> tipi bilan musbat natija berdi, yana ikkinchi marotaba qo'yilganda, shu virus antigeniga qarshi AT uch marotaba oshganligi aniqlandi. Antitelaning titri oshib borishi bemorning gripp virusining kenja H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> tipi bilan kasallanganidan dalolat beradi.

**Gripp va O'RK viruslari serodiagnostikasida kasalning juft zardoblari bilan  
qo'yilgan KBR natijalari**

Diagnostikum	Tekshirish soni	Zardobni suyultirish ko'rsatkichi					Zardob kontroli
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
Gripp A virusi (H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> )	1	+	+	-	-	-	-
	2	+	+	+	+	-	-
Gripp B virusi	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
Adenovirus (polivalentli)	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
RSV (respirator sinsitial virus)	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-

Juft zardoblarda antitelalar titrining to'rt martaga (epidemiya davrida) va o'ziga xos klinik belgilari bo'lgan kasallar zardobida ikki martaga ko'payishi diagnostik jihatdan muhim ahamiyatga ega.

**Gripp va paragripp serodiagnostikasida kasalning juft zardobi bilan  
qo'yilgan KBK natijalari**

Diagnostikum	Tekshirish soni	Zardobni suyultirish ko'rsatkichi					Zardob kontroli
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
Gripp A virusi (H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> )	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
Gripp B virus	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
Paragripp I tipi	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	-	-	-
Paragripp II tipi	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
Paragripp III tipi	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-

Biroq, antitelalar titrining ko'paymasligi gripp infeksiyasi yo'qligini bildirmaydi. GATR virusning bir xil serotip va tip ostidagi antigenlar turini aniqlash uchun ishlatiladi.

### **Diagnostika, profilaktika va davolash preparatlari**

$H_0N_1$ ,  $H_1N_1$ ,  $H_2N_2$ ,  $H_3N_2$ , **B va C tipga xos gripp zardoblari** GATR va KBR reaksiyalarida gripp virusi serotiplarini aniqlash uchun qo'llaniladi.

**Tipga xos paragripp zardoblari** paragripp viruslarini differensatsiya qilish va serotiplarini aniqlashda ishlatiladi.

**Qurilgan tipga xos (gripp va paragripp) diagnostikumlar** ma'lum yuqumli kasalliklar serodiagnostikasida ishlatiladi.

**Tirik gripp vaktsinasi.** Gripp virusi asosiy serotiplarining vaktsina shtammlari yuqtirilgan tovuq embrionlarining allantois suyuqligidan tayyorlanadi, vaktsinaning bir turi burundan, boshqasi og'iz orqali yuboriladi.

**Influyvak subbirlik gripp vaktsinasi** uch valentli inaktivatsiya qilingan gripp vaktsinasi. Tarkibi tovuq embrionida o'stirilgan va inaktivatsiya qilingan gripp A va B virusining superkapsid (gemagglutinin, neyraminidaza) antigenlaridan tarkib topgan. Gripp vaktsinasini AG tarkibi BSSB tomonidan berilgan ko'rsatma asosida yangilanib turiladi. Vaktsina bir marotaba kattalar va o'smirlar uchun 0,5 ml, 6 oydan 3 yoshgacha bo'lgan bolalar uchun 0,25 ml; 3 yoshdan 14 yoshgacha bolalar uchun 0,5 ml yuboriladi. Oldin vaktsinatsiya qilinmagan bolalarga vaktsina 2 marotaba 4 hafta interval bilan revaktsinatsiya qilishga ko'rsatma beriladi.

**Tirik qizamiq vaktsinasi** qizamiq virusining virulent shtammlarini kuchsizlantirib (attenuirovannaya) olingan (RF L16). Bir marotaba (8 oylik chaqaloqlarga kalendar bo'yicha) teri ostiga yuborib emlanadi.

**Tirik parotit vaktsinasi** parotit virusining virulent shtammlarini kuchsizlantirib (attenuirovannaya) olingan. Bir marotaba (1 yoshdan boshlab kalendar bo'yicha) teri ostiga yuborib emlanadi.

**Davo-profilaktika uchun qo'llaniladigan ko'p valentli gripp zardobi** gripp virusining turli serotiplari bilan otlarni giperemlash natijasida olinadi. Qurilgan holda antibiotiklar va sulfanilamidlar bilan birga tayyorlanadi. Gripping oldini olish va kasallikning boshlanish davrida davolash uchun burun orqali yuboriladi.

**Grippga qarshi donor immunoglobulini** A va B tipli tirik gripp vaktsinasi bilan emlangan donორlarning qon zardobidan tayyorlanadi. Epidemik o'choqlarda gripp profilaktikasida va davosida qo'llaniladi.

**Odam leykotsitar interferoni** bu turga xos oqsil bo'lib, kultural mahitdagi odam leykotsitlari tomonidan virus-interferonogen ta'siriga

javoban sintez qilinadi. Gripp va boshqa virusli respirator kasalliklar profilaktikasida va ularni davolashda qo'llaniladi.

**Tipospetsifik adenovirus zardoblari** neytrallash va GATR da adenoviruslarni serologik tiplarga ajratishda qo'llaniladi.

### **34-MAVZU. O'TKIR NEYROTROP VIRUSLI INFEKSIYALAR: POLIOMIYELIT, KOKSAKI, ECHO VA QUTIRISH VIRUSLARINING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. O'tkir neyrotrop virusli kasalliklar diagnostika sxemasini o'rganish.
2. Diagnostikaning tezkor usullari.
3. Poliomyelit, Koksaki, ECHO viruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning virusologik diagnostikasi.
4. Qutirish virusi keltirib chiqaruvchi kasallikning virusologik diagnostikasi.
5. Neyrotrop virus kasalliklarining serodiagnostikasi.
6. Poliomyelit, Koksaki, ECHO, qutirish va boshqa neyrovirusli infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

#### **Namoyish qilish**

1. Poliomyelit, Koksaki, ECHO va boshqa neyrotrop virusli infeksiyalar ekspress diagnostikasida immunflyuoressent usullar.
2. O'tkir neyrotrop virusli infeksiyalar kasalliklari qo'zg'atuvchilari va ularning reproduksiyalari aks ettirilgan rangli rasm va albomlar.
3. Babesh –Negri tanachalari.
4. Neyrotrop virusli infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Enteroviruslar keltirib chiqargan kasalliklarga virusologik diagnoz qo'yish usullari:
  - a) Maxsus immun zardoblar bilan o'tkazilgan neytrallash reaksiyasi yordamida enteroviruslarni identifikatsiya qilish va natijalari asosida xulosa chiqarish;
  - b) Koksaki va ECHO viruslarini aniqlash uchun bemorlarni juft qon zardoblari bilan KBR qo'yish, natijalash, xulosa chiqarish.
  - v) Enteroviruslarning etalon shtammlariga nisbatan bemorning juft zardoblari bilan virus neytrallovchi antitelalarni titrlash usuli orqali qo'yilgan reaksiyalarni natijalash, xulosa chiqarish.

## Nejrotrop virusli infeksiya qo'zg'atuvchilari

Nejrotrop virusli infeksiyalar asosan bir-biridan ko'p belgilari bilan farq qiluvchi va tarkibida RNK bo'lgan turli oilaga mansub viruslar qo'zg'atadi (77-jadval). Ularga togaviruslar, rabdoviruslar, arenaviruslar hamda pikarnoviruslar oilasiga va enteroviruslar avlodiga mansub bo'lgan poliomiyelet, Koksaki va ECHO viruslari kiradi. Bular ingichka ichak limfa tugunlarida ko'payib (reproduksiya bo'lib), najas orqali tashqariga chiqadi. Shuning uchun bular keltirib chiqaradigan kasalliklar ichak yuqumli kasalliklariga kiritilgan. Biroq qo'zg'atgan kasalliklarining (poliomiyelet, seroz meningit, meningoensefalit va boshqalar) patogenetik va klinik belgilariga ko'ra, ularni nejrotrop viruslarga qo'shish mumkin. Ba'zan tarkibida DNK bo'lgan, masalan 1-va 2-tiplarga kiruvchi gerpesviruslar ham markaziy nerv sistemasini zararlashi mumkin.

77-jadval

### O'tkir nejrotrop virusli yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari

	Viruslar nomi	Qo'zg'atadigan kasalliklari
RNK-viruslar	Picarnoviridaye oilasi Enteroviruslar: 1, 2, 3, polioviruslar tipi ECHO <sup>4,5,9,11,14</sup> va boshqa viruslar Koksaki A <sub>7</sub> , A <sub>9</sub> viruslari Koksaki B <sub>1-6</sub> viruslari	Shol kuzatilmaydigan poliomiyelet (aseptik meningit) Shol kuzatiladigan poliomiyelet Aseptik meningit, meoperikardit Aseptik meningit, meoperikardit Ensefalomiyelokardit (bolalarda), orxit
	Togoviridaye oilasi Arboviruslar: Kana ensefaliti virusi Yapon ensefaliti virusi Omsk gemorragik isitmasi virusi	Ensefalit, aseptik meningit Ensefalit, aseptik meningit Qon oqishi va MNS ni shikastlovchi gemorragik isitma Yapon va kana ensefaliti Qon oqishi va MNS ni shikastlovchi gemorragik isitma
	Flaviviridaye oilasi Bunyaviridaye oilasi	Qon oqishi va MNS ni shikastlovchi gemorragik isitma
	Qrim gemorragik isitmasi virusi Arenaviridaye oilasi Limfotsitar xoriomeningit virusi	Aseptik meningit yoki ensefalomiyelit
	Rhabdoviridaye oilasi Qutirish virusi	Bosh va orqa miya neyronlari shikastlangan entsefalomiyelit

Neyrovirus kasalliklarining laboratoriya diagnostikasida kasallikning davri muhim ahamiyatga ega. Virusni birinchi 5-6 kecha-kunduz davomida deyarli hamma holatlarda qonda (virusemiya bosqichi), nevrologik belgilar namoyon bo'lgandan so'ng likvorda aniqlash mumkin.

### **Poliomiyelit, Koksaki va ECHO viruslari qo'zg'atgan kasalliklarning virusologik va serologik diagnostikasi**

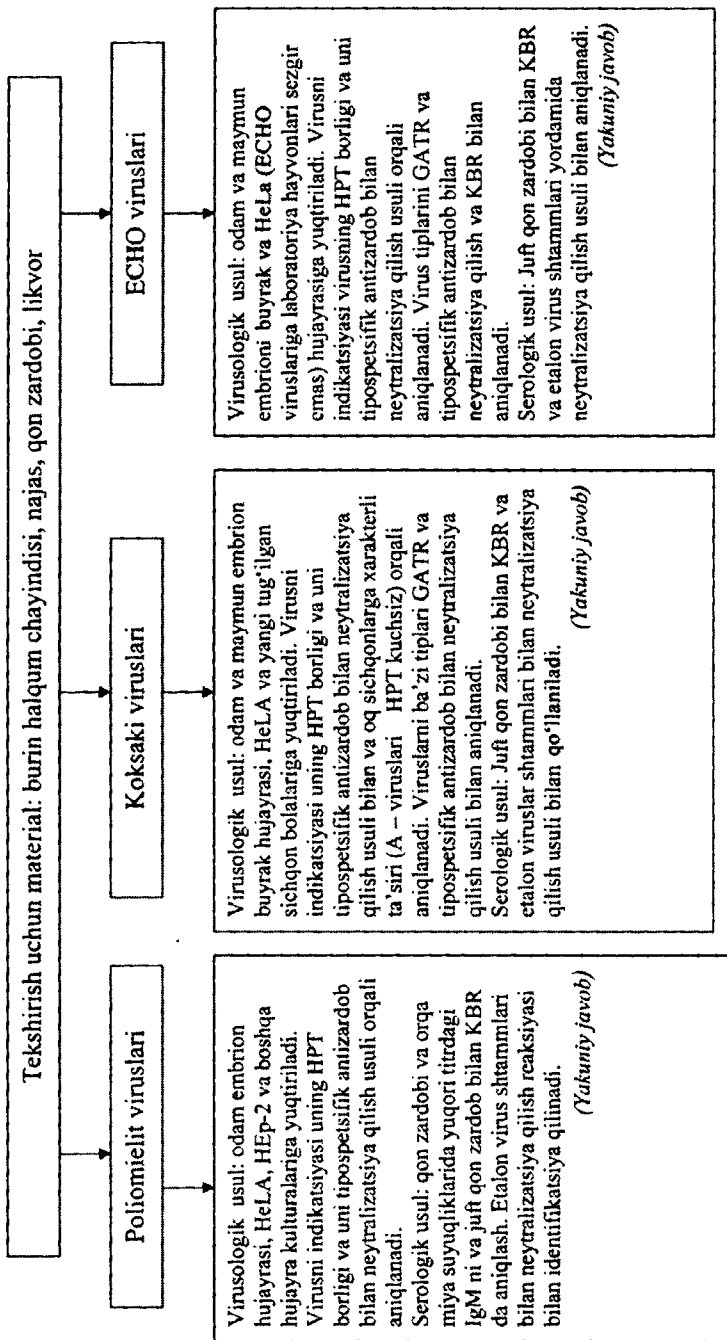
**Enteroviruslar.** Picarnoviridaye oilasi, Enterovirus avlodi. Bularga hozirgi kunda quyidagi viruslar kiradi: poliomiyelit virusi (1-3 tipi); Koksaki viruslar gruppasi –Koksaki A viruslari (24 serovar), Koksaki B viruslari (6 serovar); ECHO viruslari (34 serovar) va 5 ta klassifikatsiya qilinmagan odam (68-72) enteroviruslari.

Enteroviruslarning asosiy xususiyatlari: o'lchami 22- 30 nm; genomi – bir ipli (+) fragmentlanmagan RNKdan iborat; superkapsidi yo'q; simmetriya tipi – kubsimon, 60 ta kapsomeri bor; tarkibida yog'lar yo'q; efirga, o't-safro, kislota, ishqorlarga va (3-10 pH diapazonda) tashqi muhitga chidamli; maxsus hujayra kulturasida o'sadi.

#### **Metodik ko'rsatmalar (26-cxema).**

Tekshirish uchun material: najas, tomoq chayindisi, likvor. Enteroviruslar kasallikning dastlabki kunlarida (3-kun) halqum, burundagi ajralmalarda uchraydi va 10-kunidan boshlab najas orqali ajraladi.

**Virusologik tekshiruv.** Patologik material hujayra kulturasiga yuqtirishdan oldin, uning tarkibidagi boshqa mikroorganizmlarni yo'qotish uchun antibiotiklar bilan (penitsillin, streptomitsinning Xenks eritmasidagi aralashmasi 1000 TB ml) 4°C da bir sutka davomida saqlanadi. So'ngra kontrol sifatida ularning sterilligi tekshiriladi. Agar najas suspenziyasida bakteriyalar bo'lmasa, u hujayra kulturasiga yuqtiriladi. Agar bakteriyalar materialda saqlanib qolingan bo'lsa, u yana antibiotiklar bilan qayta ishlanib, keyin yuqtiriladi. Patologik material bir vaqtning o'zida 2-3 ta probirkadagi birlamchi hujayra kulturasiga (odam embrionining yoki maymun buyragi hujayrasi) va undiriluvchi hujayra (HeLA qatori, odam amnioni va boshqa) kulturalariga yuqtiriladi, chunki enteroviruslarning bir turi birlamchi, boshqalari undiruvchi hujayralarda yaxshi ko'payadi. Material yuqtirilgan hujayra kulturalari 35°C da 2-3 kun saqlanadi va viruslarning borligi indikatsiya qilinadi, odatda virus yuqtirilgan hujayralar to'la yoki qisman degenratsiyaga uchraydi. Bunda HPT ning intensivligi ko'p sabablarga, jumladan virusning miqdoriga, uning turiga, hujayra kulturasi holatiga va boshqa xususiyatlarga bog'liq. Agar virusning HPT sust yoki umuman



27-sxema. Enteroviruslar keltirib chiqargan kasalliklarning laboratoriya diagnostikasi



namoyon bo'lsa, u holda 2-3 marotaba qayta yuqtiriladi. Natija manfiy bo'lsa, tekshirish to'xtatiladi, agar ijobiy bo'lsa, ajratib olingan hujayraga patogen ta'sir ko'rsatgan agent identifikatsiya qilinadi. Tekshirilayotgan virusning avval o'sha hujayra kulturasidagi titri aniqlanadi. Neytrallash reaksiyasi uchun mazkur virusdan 100 HPT<sub>50</sub> (1 HPT<sub>50</sub> – bu virusning kamida 50% hujayra kulturasini degenratsiyaga uchratadigan miqdori) birlik olinadi.

**Enteroviruslarning identifikatsiyasi.** Ajratib olingan viruslarni identifikatsiya qilishda neytrallash reaksiyasi (NR), GATR qo'llaniladi. Bu maqsadda diagnostik, polivalentli standart zardoblardan foydalaniladi. So'ngra o'ziga xos monovalentli zardoblar bilan virus tiplari yoki serovarlari aniqlanadi. Ko'rsatilgan uch guruh viruslar Koksaki yoki ECHO viruslariga tegishli ekanligini har biriga xos polivalent zardoblar bilan NR da aniqlanadi. Agar Koksakining polivalent zardob bilan tekshirilayotgan virus neytrallansa, keyingi bosqichda shu virusning monovalent zardoblari bilan virus tiplari yoki serovarlari aniqlanadi (78, 79, 80, 81-jadvallar).

Enteroviruslarning ba'zi tiplari ECHO (3, 6, 7), Koksaki A (20, 21), Koksaki B (1, 5) serotiplari gemaggluinatsiya qilish qobiliyatiga ega bo'lganligi sababli ularning identifikatsiya qilishda GART dan foydalaniladi.

Koksaki viruslarini A va B tiplarga ajratishda biologik usul qo'llaniladi. Buning uchun ajratib olingan viruslar yangi tug'ilgan oq sichqon bolalariga yuqtiriladi. Koksaki A virusi bu sichqon bolalarida 3-5 kundan so'ng sust rivojlanadigan shol keltirib chiqaradi. Bu viruslarni identifikatsiya qilish uchun shu sichqonlarda Koksaki A virusining serotiplariga qarshi olingan monovalent diagnostik zardoblar bilan NR qo'yiladi.

78-jadval

**Poliomiyelit virusining I-III tiplariga qarshi olingan monovalent immun zardoblar bilan bemordan ajratib olingan viruslarni neytrallash natijalari**

Polivalent virus- larga qarshi olingan zardob tiplari	Hisobga olish kunlari						Zardob kontroli	Ajratilgan virusning tipi
	1	2	3	4	5	6		
I	-	-	-	-	-	-	-	I
II	-	-	+	+++	+++	+++	-	-
III	-	-	+++	+++	+++	+++	-	-
Virus kontroli	-	+	+++	+++	++++	++++		

Shartli belgilar: ++++ hujayralarning probirka devoridan ko'chgan holdagi to'liq degenratsiyasi; +++ hujayralarning probirka devoridan qisman ko'chgan holdagi degenratsiyasi; ++ hujayralarning 50% dan oshmagan holdagi degenratsiyasi; + ayrim hujayralarning degenratsiyasi; HPT ning yo'qligi.

79-jadval

**Koksaki viruslariga qarshi olingan monovalent immun zardoblar bilan bemordan ajratib olingan viruslarni neytrallash natijalari**

Polivalent virus-larga qarshi olingan zardob tiplari	Hisobga olish kunlari						Zardob kontroli	Ajratilgan virusning tipi
	1	2	3	4	5	6		
V <sub>1</sub>	-	+	++	+++	++++	++++	-	Koksaki B <sub>3</sub>
V <sub>2</sub>	-	-	+++	++++	++++	++++	-	
V <sub>3</sub>	-	++	-	-	-	-	-	
V <sub>4</sub>	-	+	++	+++	++++	++++	-	
V <sub>5</sub>	-	++	++	+++	++++	++++	-	
V <sub>6</sub>	-	+	++	+++	++++	++++	-	
Virus kontroli	-	+	+++	+++	++++	++++	-	

*Shartli belgilar yuqorida keltirilgan.*

**Enteroviruslarning serodiagnostikasi**

Enteroviruslar keltirib chiqaruvchi (poliomiyelit, Koksaki, ECHO) kasalliklarda qonda komplement bog'lovchi antitelalar paydo bo'ladi (ayniqsa, kasallikning o'tkir davrida) va qonda IgM miqdori oshib ketadi. Lekin serologik usul ko'pchilik hollarda retrospektiv bo'lib, javob bemor tuzalgandan yoki o'lgandan so'ng beriladi. Enteroviruslarning serodiagnostikasida ko'proq KBR qo'llaniladi.

Reaksiyani natijalashda aniqlangan AT ning titrini kasallik davomida oshib borishiga (kasallik davomida kamida 4 marotaba oshishi zarur) ahamiyat beriladi. Shuning uchun reaksiya kamida 2 marotaba qo'yiladi. Kasallikning boshida olingan zardob xolodilnikda saqlanadi va 3-4 haftadan keyin olingan zardob bilan birga reaksiya qo'yiladi.

Serodiagnostikada faqat kasallikka diagnoz qo'yilmasdan, balki kasallikni qaysi virus keltirib chiqarganligini ham aniqlash mumkin. Buning uchun viruslarning etalon shtammlaridan foydalanilib, neytralizatsiya reaksiyasi orqali aniqlanadi. Viruslarning etalon shtammlarini tanlashda epidemiologik holat va kasallikning belgilariga qaraladi. Etalon virus 100

HPT miqdorida olinadi. Juft zardoblar 1:8 dan 1/1024 gacha 4 koeffitsent bilan suyultiriladi (81-jadval). Koksaki, ECHO viruslarining gemaggyunatsiya qilish qobiliyatiga ega bo'lgan serotiplari bilan qo'zg'atilgan kasalliklar serodiagnostikasi GART orqali o'tkaziladi.

80-jadval

**ECHO virusining 9-16 tiplariga qarshi olingan monovalent immün zardoblar bilan bemordan ajratib olingan viruslarni neytrallash natijalari**

Polivalent virus-larga qarshi olingan zardob tiplari	Hisobga olish kunlari						Zardob kontroli	Ajratilgan virusning tipi
	1	2	3	4	5	6		
9	-	+	++	+++	++++	++++	-	ECHO 12
11	-	++	+++	++++	++++	++++	-	
12	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	+	++	+++	++++	++++	-	
14	-	++	++	+++	++++	++++	-	
15	-	+	++	+++	++++	++++	-	
16	-	+	++	+++	++++	++++	-	
Virus kontroli	-	+	+++	+++	++++	++++	-	

Shartli belgilar 384-betda keltirilgan.

81-jadval

**Bemor juft zardoblari va Koksaki B<sub>2</sub> - B<sub>5</sub> virus etalon shtamlari bilan neytrallash reaksiyasi natijalari**

Zardob olingan kunlar	Virus	Hisobga olish kuni						Zardob kontroli	Antitelalar titri	Titriming o'sish karrasi
		1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			
3	Koksaki V <sub>2</sub>	-	++++	++++	++++	-	++++	-	1:8	
20	Koksaki V <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	++++	-	1:128	128
3	Koksaki V <sub>5</sub>	-	-	++++	++++	++++	++++	-	1:16	0
20	Koksaki V <sub>5</sub>	-	-	++++	++++	++++	++++	-	116	0

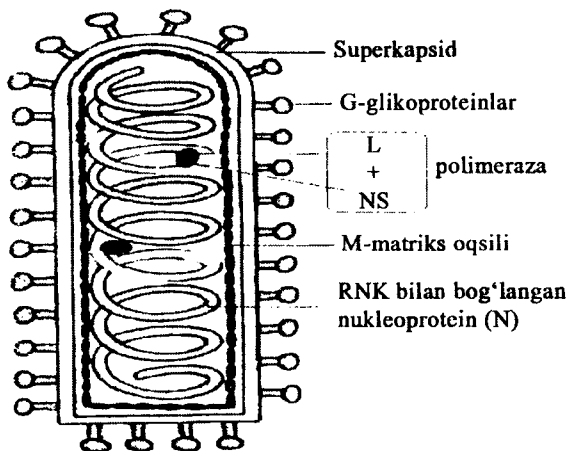
Shartli belgilar 384-betda keltirilgan.

## Qutirish kasalligining laboratoriya diagnostikasi

Bu o'tkir, yuqumli MNS ning kasalligi bo'lib, bosh va orqa miya neyronlarini degenratsiyasi bilan kechadi va 100% o'lim bilan tugaydi. Qutirish kasalligining virusi Rhabdoviridae oilasi va Lyssavirus avlodiga mansub bo'lib, o'lchami 75x180 nm, o'qsimon shaklga ega. Tarkibida bir ipli – RNK tutadi, murakkab tuzilishga ega. Virusning bitta antigen varianti, fiksatsiyalangan (virus fixe) va ko'cha (daydi) virus ko'rinishida uchraydi. Fiksatsiyalangan tipini quyonlar bosh miyasiga ko'p marotaba passaj qilish yo'li bilan L. Paster olgan, bu virus periferik neyronlarni jarohatlamaydi. Ko'cha virusi kasallik keltirib chiqaradi. Qutirish virusining sxematik ko'rinishi 89-rasmda keltirilgan.

Qutirish kasalligining virusologik diagnostikasida virusoskopik, biologik va serologik usullar qo'llaniladi. Tekshirish uchun material – kasal (odam, it, mushuk va boshq.) so'lagi, seksion material (miya to'qimasi, so'lak bezlari).

Virusoskopik usul asosiy hisoblanadi, seksion materialdan gistologik surtmalar tayyorlanib, bo'yab mikroskopda Babesh-Negri tanachalarini topish yo'li bilan aniqlanadi. Virus Ammonoy shoxlari, miyachada ko'plab uchraydi. Babesh-Negri eozinafilli tanachalar bo'lib, o'lchami 5-10 mkm, tuxumsimon shaklda, tarkibi yig'ilib qolgan virus nukleokapsidlaridan iborat. Babesh-Negri tanachalari ko'proq hujayra yadrosi atrofida topiladi (90-rasm). Ularning topilishi qutirish diagnozini so'zsiz tasdiqlaydi, topilmasligi esa kasallikning yo'qligini bildirmaydi.



89-rasm. Qutirish virusining sxematik ko'rinishi

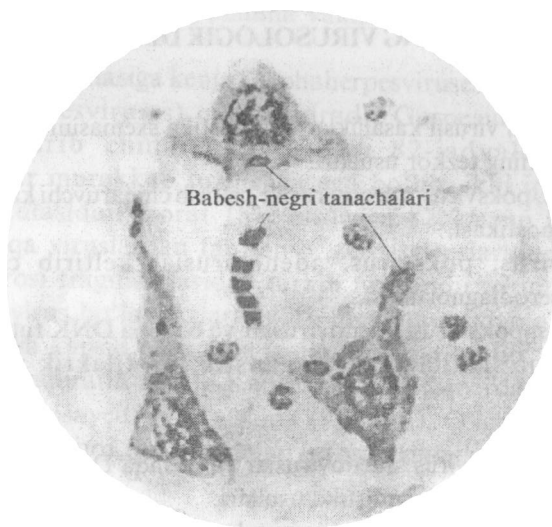
Seksiyon materialdan olingan tamg'a surtmalarni bevosita va bilvosita IFR bilan aniqlash yaxshi yo'lga qo'yilgan.

Virusni ajratib olishda kasal (odam, it, mushuk va boshq.) so'lagi, seksion material sichqon yoki quyonlarning miyasiga yuqtirish yo'li ham qo'llaniladi. Hayvonlarda paralichlar kuzatiladi va bu o'lim bilan tugaydi. Hayvonlarning seksion materialidan olingan tamg'a va kesma surtmalardan Babesh-Negri tanachalari topiladi. Emlangan odam va hayvonlar organizmida virusga qarshi AT paydo bo'ladi, ularni KBR, NR va IFU lari bilan aniqlash mumkin.

### **Togoviridaye, Bunyaviridaye, Flaviviridaye va Arenaviridaye oilasi viruslari keltirib chiqaruvchi kasalliklar diagnostikasi**

Bu viruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarni tabiiy o'choqli kasalliklar jumlasiga ham kiritiladi. Bular arboviruslar deb ham (arthopoda (lotincha) – bo'g'imoyoqlilar, borne (inglizcha) – o'tkazuvchi) yuritiladi. Laboratoriya diagnostikasida boshqa virusli kasalliklarga o'xshash virusologik, biologik va serologik usullar qo'llaniladi.

Virusologik usulda bemordan qon, siydik, ensefalit klinikasida orqa miya suyuqligi va seksion material olinadi. Lekin shuni eslatib qo'yish shartki, bu viruslar bilan ishlash o'ta xavfli bo'lib, maxsus laboratoriyalarda olib borilishi kerak.



90-rasm. Nerv hujayralarida sitoplazmatik kiritmalar (Babesh-Negri tanachalari, qutirish kasalligida)

**Virusologik usul.** Material ko'proq tovuq embrioniga, tovuq embrionining fibroblast hujayralariga, arenaviruslarda odam amnion hujayralariga va filoviruslarda maymun hujayra kulturalariga yuqtiriladi.

**Biologik usul** asosiy universal usullardan hisoblanadi. Material 1-3 kunlik sichqon bolalarining miyasiga yuqtiriladi va bu sichqonlarda ensefalit rivojlanib, o'lim bilan tugaydi. Kasallik belgilari boshlanishi bilan sichqonlarda bir necha marotaba qaytadan miyasiga passaj qilinadi, buning natijasida viruslarning yuqori titri sichqon miyasida yig'ilib qoladi. Bu viruslardan antigen olishda foydalaniladi. Har ikkala usulda ham viruslarning identifikatsiyasi immun zardoblar to'plami bilan GATR va KBR larda amalga oshiriladi. Oxirgi identifikatsiyada NR qo'llaniladi. Oxirgi yillarda viruslarni tez aniqlashda vositali va bilvositali IFR va IFU qo'llanilmoqda.

**Serologik usul.** Virusspetsifik antitelalar juft qon zardobidan KBR, GATR va NR yordamida aniqlanadi va antitelalar titrining oshib borishi asosida diagnoz qo'yiladi. Virus yuqqandan 6-7 kundan keyin qonda, antigemagglyutininlar, 2-hafta oxirlarida komplement bog'lovchi va 3-4- haftalarda virus neytrallovchi antitelalar paydo bo'ladi.

### **35-MAVZU. GERPESVIRUSLAR, POKSVIRUSLAR, ADENOVIRUSLAR KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLARNING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. DNK tutuvchi virusli kasalliklar diagnostika sxemasini o'rganish.
2. Diagnostikaning tezkor usullari.
3. Gerpesvirus, poksvirus, adenoviruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning virusologik diagnostikasi.
4. Gerpesvirus, poksvirus, adenoviruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklarning serodiagnostikasi.
6. Gerpesvirus, poksvirus, adenoviruslar va boshqa DNK tutuvchi virusli infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

#### **Namoyish qilish**

1. Gerpesvirus, poksvirus, adenoviruslar va boshqa DNK tutuvchi virusli infeksiyalarning ekspress diagnostika usullari.
2. Gerpesvirus, poksvirus, adenovirus kasalliklari qo'zg'atuvchilari va ularning reproduksiyalari aks ettirilgan rangli rasm va albomlar.
3. Gvarniyeri va Pashen tanachalari aks ettirilgan rasmlar.

4. Gerpesvirus, poksvirus, adenovirus infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. DNK li viruslar keltirib chiqargan kasalliklarga virusologik diagnoz qo'yish usullari:

- a) Virusoskopik usulda gerpes viruslarini aniqlash;
- b) Tayyor surtmalardan chinchechak virusi uchun xarakterli bo'lgan Gvarniyeri va Pashen tanachalarini topish va xulosa qilish;
- v) Gerpes va adenoviruslarni aniqlash uchun bemorlarga juft qon zardoblari bilan KBR qo'yish, natijalash, xulosa chiqarish;
- g) Gerpes va adenoviruslar tiplarini aniqlash uchun GATR usuli bilan qo'yilgan reaksiyalarni natijalash, xulosa chiqarish.

### **DNK saqlovchi (dermotrop) viruslar(gerpesviruslar, poksviruslar, adenoviruslar, papovaviruslar, parvoviruslar) keltirib chiqaruvchi infeksiyalarning virusologik diagnostikasi**

DNK saqlovchi viruslar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, bularga 7 ta oila (Herpesviridaye, Poxviridaye, Adenoviridaye, Papavaviridaye, Parvoviridaye, Hepadnaviridaye, Circinoviridaye) kiritilgan.

DNK saqlovchi viruslarning asosiy xususiyatlaridan biri ular xo'jayin hujayralari genomiga integratsiya bo'lib olishi mumkin va sekin rivojlanuvchi (persistiruyushix) infeksiyalarni keltirib chiqaradi.

Poksviruslardan tashqari hamma vakillarining replikatsiyasi hujayra yadrosida kechadi.

**Gerpesviruslar** oilasiga kenja (Alphaherpesviruses, Betaherpesviruses va Gammaherpesviruses) oilalar kiradi. Gerpesviruslarning asosi, kasallik keltirib chiqaruvchi tiplari 82-jadvalda keltirilgan. Gerpesviruslar murakkab tuzilishga ega bo'lib, ikki ipli ancha katta DNK molekulasidan iborat 18% qisqa va 82% uzun komponentlar tutadi. Boshqa viruslardan farqlanib, gerpesviruslarning superkapsidi hujayra yadrosi fragmentlaridan tarkib topgandir, chunki yangi hosil bo'layotgan virus bo'lakchalari yadro membranasidan ajralib chiqadi. Superkapsid va kapsid oralig'ida ipsimon qobiq bo'lib, virus kapsidini superkapsiddan ajratib turadi. Kapsidi 162 kapsomerdan tashkil topgan bo'lib, shakli ikosayedr ko'rinishida (91-rasm). O'lchami 150-200 nm. Gerpesviruslar tashqi muhit omillariga va organik erituvchilarga o'ta chidamsiz.

**DNK li viruslar keltirib chiqaruvchi yuqumli kasallik  
qo'zg'atuvchilari**

	Viruslar nomi	Qo'zg'atadigan kasalliklari
DNK- viruslar	Herpesviridaye oilasi 1-tip uchuq virusi (OGV)	Yosh bolalarda o'tkir gingivostomatit, gerpetik ekzema keratokonyuktivit, gerpetik isitma, lab, burun uchug'i.
	2-tip uchuq virusi (OGV)	Chaqaloqlar uchug'i (qon orqali tarqalgan va jinsiy organlarda uchuq). meningoensefalit.
	Virus (varicella zoster 3- tipi)	Bolalarda suvchechak, kattalarda o'rab oluvchi temiratki
	SMV (5-tipi)	Latent va perinatal SMV infeksiya
	Epstayn-Barr virusi (4-tipi)	Yuqumli mononukleoz
	Odam herpes virusi (6-tip)	B-limfotsitlar limfomasi
	Odam herpes virusi (7-tip)	Latent infeksiya
	Odam herpes virusi (8-tip)	Kaposhi sarkomasi (keltirib chiqarishi taxmin qilinmoqda)
	Poxviridaye oilasi	
	Chinchechak virusi	Chinchechak kasalligi
Sigir chechagi (ospavaksina)	Lokal chechak ko'rinishdagi jarohatlar, kam hollarda tarqalgan populyoz toshmalar.	
Adenoviruslar oilasi		
(Adenoviridaye) serovarlari:		
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 21	Pastki nafas yo'llarining yuqumli kasalliklari (zotiljam, bronxiolitlar), O'RK.	
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14	Faringokonyuktivitlar	
2, 3, 5, 40, 41	Gastroentritlar	
2, 3, 5, 7, 8, 19, 21	Konyuktivitlar	
8, 19, 32	Epidemik keratokonyuktivitlar	
11,21	Gemorragik sistitlar	
2, 6, 7, 12,32	Meningoensefalitlar	
Papavaviridaye oilasi		
Papilloma viruslar serovarlari:		
1, 4	Oyoq papillomasi (so'gal)	
2	Oddiy papilloma (so'gal)	
3	O'spirinlar papillomasi (so'gal)	
10	Genital papilloma (so'gal)	
16. 30 va boshq.	Bachadon bo'yni, gartan o'smasi (kartsinoma)	



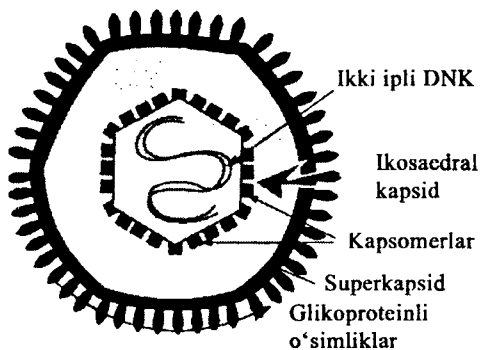
Parvoviridaye oilasi Parvoviruslar B19 shtamm	Aplastik kriz (o'roqsimon hujayrali anemiya), Erythema infectiosum dog' kasalligi (pyatnaya bolezni) eritematoz toshmalar toshishi kuzatiladi, chaqaloqlar istisqosi (vodyanka)
Hepadnaviridaye oilasi Gepatit B virusi	Gepatit B yuqumli kasalligi

Gerpesviruslar tovuq embrioni xorionallantois qobig'ida yaxshi ko'payib, nekrotik yallig'lanish o'chog'ini hosil qiladi. Bundan tashqari, odam embrioni o'pka, buyrak to'qimalaridan tayyorlangan hujayra kulturalarida ham yaxshi ko'payadi. Virusning HPT natijasida hujayra ichida kiritmalar va ko'p yadroli simplast hujayralari hosil bo'ladi.

**Alfagerpesviruslar** yuqori sitopatik aktivlikka ega bo'lib, ko'plab xo'jayin organizmlar uchun patogen hisoblanadi. Odam uchun patogen turlari Simplexvirus (gerpes viruslarning 1 va 2-tipi va B gerpes virus) va Varicellovirus (gerpes viruslarning 3-tipi) avlodiga kiritilgan.

**Betagerpesviruslar** kuchsizroq sitopatik xususiyatga ega bo'lib, kamroq xo'jayin organizmlarga patogen hisoblanadi. Odam uchun patogen tiplari Cytomegalovirus (gerpes viruslarning 5-tipi) va Roseolovirus (gerpes viruslarning 6A, 6B, 7, 8-tiplari) avlodiga kiritilgan.

**Gammagerpesviruslar** ham kamroq organizmlarga patogen hisoblanadi, ularning boshqa gerpesviruslardan farqi, limfoid hujayralarda ko'payadi. Odam uchun patogen tiplari Lymphocryptovirus (gerpes viruslarning 4-tipi) avlodiga kiritilgan. Epstein-Barr virus ham deb yuritiladi.



91-rasm. Gerpes virusining sxematik tuzilishi

**Poksviruslar** oilasiga (pox – chechak ing. so‘z) bo‘g‘imoyoqli, parrandalar va sut emizuvchilar uchun patogen viruslar kiritilgan. Poksviruslar shakli g‘ishtsimon bo‘lib, o‘lchami 250-390 nm ga teng, bakteriyalar strukturasini eslatadi. Virion mag‘iz qismidan, uni o‘rab turgan 5 nm qalinlikdagi yupqa membrana va bir tekisda joylashgan silindrik strukturadan iborat. Tashqi tomondan esa (oqsil tana) oval strukturali o‘rab turuvchi qobiqdan iborat (92-rasm).

Poksviruslar reproduksiyasi faqat sitoplazmada kechadi (92-rasm). Odam uchun 4 avlod vakillari patogen hisoblanadi, bularga quyidagilar kiradi:

Ortopoxvirus avlodiga: odam chin chechagi va sigir chechagi (ospavaksina) viruslari kiradi.

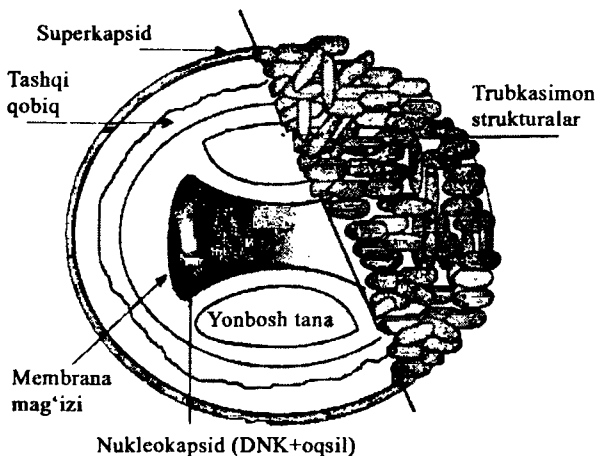
Parapoxvirus avlodiga: “sut sog‘uvchilar tugunchasi” virusi (virus “uzelkov doyarok”), katta shoxdor hayvonlarning psevdoshechak viruslari kiradi.

Molluscipoxvirus avlodiga: kontagioz mollyuska virusi kiradi.

Yatapoxvirus avlodiga: tana va Yaba chechak viruslari (maymun chechagi virusi) kiradi.

Chinchechak kasalligi o‘ta xavfli yuqumli kasalliklar guruhiga kiradi.

Chinchechak virusi tovuq embrionida yaxshi ko‘payib, 48-72 soatdan so‘ng xorion-allantoist qobig‘ida mayda oqimtir va sog‘lom qobiqdan yaqqol ajralib turuvchi jarohatlar hosil qiladi. Bundan tashqari, virus birlamchi odam, maymun, qo‘y va boshqa hayvonlar undiriluvchi hujayra kulturalarida yaxshi ko‘payadi. Virusning HPT natijasida hujayra



92-rasm. Ortopoksviruslar strukturasini

yumaloqlashadi va kattalashadi, keyinchalik kultura shisha yuzasidan ajraladi.

Vaksina qo'llanilgunga qadar avvallari chinchechak kasalligi bir yilda 1,5 mln. kishining o'limiga sabab bo'lgan. 1974-yilda Hindistonda 31262 ta kasallik qayd qilingan. Oxirgi marotaba kasallik 1977-yilda Somalida topilgan va bir necha yildan keyin 1980-yillarda Butun dunyo sog'liqni saqlash tashkiloti (VOZ) yer yuzida chinchechak kasalligi tugatilganligini e'lon qildi. Hozirgi kungacha chinchechak kasalligi qayd qilingani yo'q.

**Papovaviruslar** oilasiga turli ko'rinisdagi papilloma (so'gal) va polioma kasalliklarini sut emizuvchilar va odamlarda keltirib chiqaruvchi viruslar Papillomavirus va Polyomavirus avlodlariga kiritilgan. Bu oila vakillari strukturasiidagi xarakterli xususiyat, ularning kapsidi yalang'och bo'lishi (superkapsidi yo'q) hisoblanadi. Viruslar o'lchami 45 nm bo'lib, ikosayedral simmetriyaga ega, tarkibida bir ipli halqasimon DNK va oqsil gistonlar tutadi.

Papovaviruslarning yana bir xarakterli xususiyati ularda globulyar nukleosomalardan tarkib topgan mini (kichik) xromosomalarning uchrashidir. Bular hujayra xromosomasini eslatadi. Bu oila vakillari odam, dengiz cho'chqachasi va tovuq eritrotsitlarini agglutinatsiyaga uchratish xususiyatiga ega hisoblanadi. Odamlarda kasallikning produktiv, abortiv va integrativ shakllari uchraydi. Papovaviruslar xo'jayin hujayralari DNKni transkripsiyaga uchratishi va onkogen xususiyatni ham namoyish qilishi mumkin. Papovaviruslar diagnostikasida birdan-bir yo'l virusni jarohatda, papillomada (so'galda) topishga asoslangan. Bunda virus kerotinlashgan hujayra qatlamida to'liq virion ko'rinishida uchraydi. Hozirgacha virusni o'stirib olish yo'lga qo'yilmagan. Serologik usullar ham diagnostikada qo'llanilmaydi. Ohirgi yillarda o'tkir uchli kondilomaning diagnostikasida DNK gibrizatsiya usuli qo'llanilmoqda.

**Adenoviruslar** oilasi (AD-adenoid – de). Bu oilaga ikki avlod viruslari (birinchi avlodga sut emizuvchilarda kasallik keltirib chiqaruvchi Vastadenovirus – 80 turi mavjud va ikkinchi avlodga parrandalarda kasallik keltirib chiqaruvchi Aviadenovirus – 14 turi mavjud) kiritilgan.

Adenoviruslar ham yalang'och kapsidli viruslar turkumiga kiradi (88-rasm). Virionning o'rtacha o'lchami 60-90 nm bo'lib, kapsidi 252 kapsomer tutadi, ko'p qirrali ikosayedral simmetriyaga ega, tarkibida 240 gekson va 12 ta vertikal pentondan va unga birikkan nozik ipchalardan tarkib topgan. Genomi ikki ipli, chiziqli DNK dan iborat bo'lib, oqsillar bilan birikib, virusning zichlashgan mag'izini tashkil qiladi. Virus geksonlari viruslarning tipmaksuslik antigen rolini bajaradi, bundan tashqari, virusdan ajralganda toksik effektini keltirib chiqaradi. Penton

virusni kam va umumiy oila uchun reaktiv eruvchan AG hisoblanadi. Tozalangan iplari virusning asosiy tipga xos maxsus antigeni bo'lib, unga qarshi tipga xos antitelalar hosil bo'ladi. Penton va ipchalar viruslarning gemagglyutinatsiya xususiyatini keltirib chiqaradi. Virusning antigen xususiyati ularning klassifikatsiyasiga asos bo'lgan. Hamma adenoviruslar bir tipdagi komplement bog'lovchi antigen tutadi va ularni KBR orqali aniqlash imkonini beradi. Turlarni aniqlashda (oldin serovarlar deyilgan) NR qo'llaniladi.

### **Metodik ko'rsatma**

#### **Gerpesviruslarning laboratoriya diagnostikasi.**

Ko'pchilik hollarda kasallikning xarakterli ko'rinishi diagnostikani yengillashtiradi. Lekin kasallikning yashirin, sust o'tuvchi shakllarida, ayniqsa, genital gerpeslarda diagnoz qo'yish qiyinlashishi mumkin.

**Virusoskopik usul.** Kasallikning ko'pchilik shakllarida eng oddiy va qulay usul virusoskopik usul hisoblanadi. Uchuqdan va jarohatlangan joydan bosma-qirma surtma olinib, bo'yab ko'rilganda gigant ko'p yadroli kiritmali hujayralarni (Tsanka-probasi) topilishi gerpesviruslar borligidan darak beradi. Gerpetik ensefalitga shubha qilinganda, miya biopstatlaridan monoklonal antitela yordamida bilvosita immunoflyuorensensiya usulida virus topish mumkin.

**Virusologik usul** ko'proq homilador ayollarda genital gerpes borligiga shubha qilinganda va birlamchi virus yuqqanda qo'llaniladi. Har ikkala virus (OGV1 va OGV2) ham hujayra kulturalarida yaxshi ko'payadi, asosan ko'proq xorionallantois hujayralari qo'llaniladi. Xarakterli HPT hujayra yadrosida kiritmalar (maxsus antigeni) va ko'p yadroli gigant hujayralar hosil bo'ladi.

**Biologik usul.** Laboratoriya sharoitida vezikulalardan olingan suyuqliklar quyon, dengiz cho'chqachasi, kalamush ko'z pardasiga yuqtirilsa, ko'zning muguz pardasini shikastlaydi va keratit kelib chiqadi, miyasiga yuqtirilsa, ensefalit keltirib chiqaradi. Lekin virusning organizmdan topilishi kasallikni aniqlash mezoni hisoblanmaydi, chunki sog'lom odamlarning 80-90% ida viruslar uchraydi. Tabiiy sharoitda va laboratoriya hayvonlari suvchechak viruslari bilan og'rimaydi.

Serologik diagnoz qo'yishda KBR va neytralizatsiya reaksiyalari qo'llaniladi.

### **Chinchechak virusining laboratoriya diagnostikasi**

**Virusoskopik usul** – kasallikning o'tkir davrida vezikula va pustulalardan tayyorlangan bocma-surtmalarni elektron mikroskopda ko'rish eng qulay usul hisoblanadi. Agar elektron mikroskop bo'lmasa,

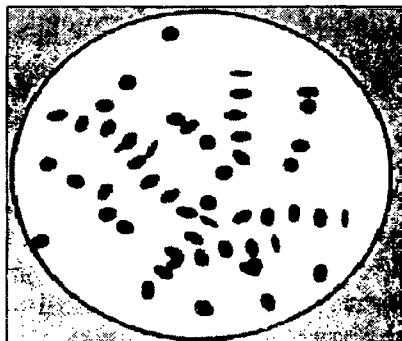
yorug'lik mikroskopida ham tekshirish mumkin. Tayyorlangan surtmalar Morozov usulida bo'yab ko'rilganda, virus zarralari (Pashen tanachasi) hujayra sitoplazmasida yakka-yakka yoki kalta zanjirchalar ko'rinishida, (93-rasm) to'q jigarrang, dumaloq tuzilmalar holida bo'ladi. Flyuroxromlar, masalan, pirmulin bilan bo'yalganda elementar zarralar ultrabinafsha, yorug'likda mikroskop bilan tekshirilganda och havo rangda tovlanib turadi. Bundan tashqari, surtmalardan maxsus virus Ag topish uchun flyuroxrom bilan nishonlangan AT yordamida bilvosita flyuoressensiya usulidan ham foydalaniladi. Bu usul bo'yicha ko'rilganda, virus tanachalari sarg'ish-yashil monomorf tuzilmalar holatida ko'zga tashlanadi.

**Virusologik usul.** Patologik material (vezikula va pustulalar suyuqlig'i, soskop) 11-12 kunlik tovuq embrionining xorionallantois pardasiga yoki HeLa, HEP-1, HEP-2 hujayralar kulturasiga yuqtiriladi va chinchechak virusi ajratib olinadi, bunday hujayralar kulturasida virus sitopatik ta'sir etadi. Virusni identifikatsiya qilishda maxsus zardoblar yordamida KBR, GATR, gemadsorbsiya reaksiyasini tormozlash va immunoflyuorissensiya usullari qo'llaniladi.

**Serologik usul.** Asosan juft qon zardob bilan komplementni bog'lash reaksiyasi va GATR, tovuq embrioni va hujayra kulturalarida NR dan foydalaniladi. Ko'pchilik hollarda maxsus virus antigeni vezikula va pustulalar suyuqligida gelda pretsipitatsiya reaksiyasi hamda eritrotsitar diagnostikum bilan BGAR orqali aniqlanadi.

**Biologik usul.** Vezikula va pustulalardan olingan patologik material quyonlarning ko'z muguz pardasiga tirnab yuqtiriladi. Quyon ko'z muguz pardasida keratit kuzatiladi va gistologik qirmalar tayyorlanib, Romanovskiy-Gimza usulida bo'yab, mikroskopda atsidofilli ovalsimon Gvarneri tanachalari yadro atrofida (34-rasm) topiladi.

Suvchechak virusini chinchechak virusidan farqlashda, boshqa usullar bilan bir qatorda, biologik, virusologik usullar ham qo'llaniladi. Suvchechak virusi quyonlarda keratokonyuktivit keltirib chiqarmaydi. Bundan tashqari, suvchechak virusi tovuq embrionida ko'paymaydi, hujayra kulturalarida ko'payganda ularning reproduksiyasi



93-rasm. Elementar Pashen tanachasi (Morozov usulida kumush bilan bo'yalgan).

yadroda kechadi va hujayra yadrosida virusni HPT natijasida kiritmalar hosil bo'ladi.

**Adenoviruslarning laboratoriya diagnostikasi.** Adenoviruslar turli ko'rinishdagi kasalliklarni keltirib chiqaradi. Shuning uchun ularning laboratoriya diagnostikasida patologik material olish kasallik turlariga bog'liq bo'ladi. Yuqori nafas yo'llarining respirator adenovirusli kasalliklarida patologik material balg'am, og'iz va burun chayindisi, genital organlar kasalliklarida siydik, ensefalit va tarqalgan (desseminirovannie) shakllarida likvor, qon, murdalardan o'pka, traxeya, bronxlar, ichak bo'lakchalari tekshiriladi. Adenovirusli infeksiyalarning laboratoriya diagnostikasida virusoskopik, virusologik va serologik usullar qo'llaniladi.

**Virusoskopik** usulda patologik materialdan burun-halqum shilliq pardasining hujayralarida virus spetsifik antigenini aniqlashda ekspress-diagnostik immunoflyuorissensiya usullari qo'llaniladi.

**Virusologik usulda** patologik materiallar odam embrionining birlamchi tripsinlangan hujayra kulturalarida va HeLa, HEP-1, HEP-2 hujayralarida ko'paytiriladi. Adenoviruslar bu hujayra kulturalarida virus serovarlariga qarab 24-96 soatda ko'payadi va turli ko'rinishdagi sitopatik ta'sirlar ko'rsatadi. Ba'zi serovarlari to'liq (monosloyda) degenratsiya keltirib chiqarsa, boshqalari o'choqli markaziy yoki periferik o'zgarishlar hosil qiladi. Ba'zi hollarda adenoviruslar ko'payayotgan hujayralar yadrosida mayda 22-24 nm o'lchamli virionlar topiladi, ular ikosayedral simmetriyaga egadir. Bu viruslar nuqsonli bo'lib, hozirgi kunda parvoviruslarga kiritilgan, o'zlari adenoviruslarsiz ko'paymaydi. Bularning hujayrada ko'payishi uchun, albatta, adenoviruslar (hamkor) ishtirok etishlari zarur. Ajratib olingan adenoviruslarni maxsus qon zardoblar qo'llanilib, serologik reaksiyalar yordamida (KBR, NR) identifikatsiya qilinadi.

**Serologik usul.** Bemor qon zardobidan adenoviruslarning spetsifik AT ni topish uchun standart maxsus adenoviruslar antigeni bilan KBR, NR GATR qo'yiladi. Juft qon zardob bilan qo'yilgan reaksiyada AT titrining 4 karra oshishi adenoviruslar diagnostikasini tasdiqlaydi.

## 36-MAVZU: GEPATIT VIRUSLARI VA ULARNING LABORATORIYA DIAGNOSTIKASI

### **Mashg'ulot rejasi**

1. Virusli gepatit kasalliklari diagnostika sxemasini o'rganish.
2. Diagnostikaning tezkor (ekspres) usullari.
3. Viruslar keltirib chiqaruvchi gepatit kasalliklarining serologik diagnostikasi.
6. Viruslar keltirib chiqaruvchi gepatit kasalliklarida qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

### **Namoyish qilish**

1. Gepatit kasalliklarida qo'llaniladigan diagnostik ekspres testlar.
2. Gepatit kasalliklarida qo'llaniladigan immunferment jamlama(nabor)lar va qo'yish usullari.
3. Gepatit viruslari strukturasi va reproduksiyasini namoyon qiluvchi rangli rasm va albomlar.
4. Gepatit infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari.

### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Gepatit B bilan og'rigan bemor qon zardobidagi HBs-Ag , unga qarshi antitelalar shimdirilgan eritrotsitar diagnostikum bilan BGAR qo'yish va natijalash.
2. Gepatit viruslarining serodiagnostika natijalari bo'yicha xulosa qilish.

## **Gepatotrop viruslar**

Virusli gepatitlar – polietiologik, antropoz, jigarining shikastlanishi bilan kechuvchi va turli yo'llar bilan yuquvchi infeksiyon kasalliklar hisoblanadi. Gepatit kasalliklarida viruslar asosan jigar to'qimalarining diffuzli yallig'lanishini keltirib chiqaradi va buning natijasida organizmda astenovegetativ o'zgarishlar va umumiy zaharlanish alomatlari ro'y berib, kasallikning klinik simptomlarini keltirib chiqaradi. Gepatit kasalligini keltirib chiqaruvchi viruslar tarkibiga RNK- va DNK - bo'lgan, turli oila virus vakillari kiradi. Ular organizmga turli yo'llar bilan kirishlari mumkin, lekin hammasi jigar hujayralarini spetsifik jarohatlashi va gepatit keltirib chiqarishi sababli gepatit viruslari guruhlariga kiritilgan. Hozirgi kunda 8 ta tip viruslar gepatit kasalligini odamlarda keltirib chiqaradi. Bular lotin alfavitining bosh harflari bilan (A,B,C,D,E,F,G, TTV) nomlanadi. Gepatit F virusi borligini ko'pchilik tadqiqotchilar inkor qilishadi, TTV (ing. Transfusion transmitted virus – transfuziya yo'li bilan yuquvchi virus) 1997-yilda kashf qilingan va bu virusga to'liq xarakteristika hozirgi kungacha berilmagan.

Ijtimoiy xususiyati va iqtisodiy jihatdan keltirayotgan ziyoni bo'yicha virusli gepatit kasalliklari sog'liqni saqlash tizimida eng dolzarb kasalliklar guruhiga kiritilgan. Yer yuzida har yili gepatit A bilan 1 mln. kishi kasallanadi, gepatit B virusini tashib yuruvchilar esa 1 mlrd. dan oshib ketgan. Hozirgi kunda gepatit viruslarining 5 ta tipi yaxshi o'rganilgan. Epidemiologik jihatdan o'ziga xos xususiyatlari hisobga olinib, gepatit viruslari 2 ta guruhga bo'lingan:

a) parenteral yo'l bilan yuquvchi (B,C, D, F, G, TTV) gepatit viruslari. Viruslar asosan transfuzion (qon quyish), ineksiya, perinatal va jinsiy yo'l bilan yuqishi kuzatiladi. Har qanday holatda virus orqali zararlangan qon bilan kontaktda bo'lish kasallikni keltirib chiqarishi mumkin. Yuqorida qayd etilgan viruslar keltirib chiqargan gepatit jarayonlari kasallikning surunkali shaklda kechishi va virus tashib yuruvchilarning shakllanishi bilan xarakterlanadi;

b) enteral (najas, og'iz orqali) yo'l bilan yuquvchi (A, E va F) gepatit viruslari. Qo'zg'atuvchilar odamlarga oziq-ovqatlar, suv va kontakt yo'li bilan yuqadi. Bu kasalliklarning xarakterli xususiyati ularning (kuz, qish) mavsumiy ko'p uchrashi va asosan bolalar, o'spirinlar kasallanishidir. Yuqorida qayd etilgan gepatit viruslari keltirib chiqargan bu kasalliklar doimo o'tkir o'tishi va surunkali shaklga o'tmasligi bilan ajralib turadi.

Gepatit kasalligini keltirib chiqaruvchi (A, E, C, D, F, G, TTV) viruslar tarkibida RNK-tutadi. Faqat gepatit B virusi DNK-tutuvchi viruslarga kiradi.

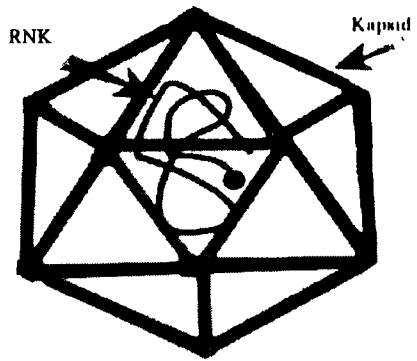
83-jadval

### Gepatit viruslarining qiyosiy xarakteristikasi

Xususiyatlari	A(HVFA)	B(HVB)	C(HVC)	D(HVD)	E(HVE)
Taksonomik o'rni	Picarno- viridaye	Hepadna- viridaye	Flavivi- ridaye	Togavi- ridaye	Calicivi- ridaye
NK-tipi	+RNK	DNK	+RNK	RNK	+RNK
Kasallik manbasi	odam	odam	odam	odam	odam
Yuqish yo'llari	alimantar	parentral	parentral	parentral	alimantar
Kasallikning surunkali shaklga o'tishi	o'tmaydi	o'tadi	o'tadi	o'tadi	o'tmaydi
Tashxisi:					
Ekspress	+	+	+	+	+
Virusologik	-	-	-	-	-
Serologik	+	+	+	+	+



**Gepatit A virusi.** Hozirgi kunda gepatit A virusi Hepatovirus avlodi va Picarnoviridaye oilasiga kiritilgan (eski nomlanishi enteroviruslarning 72 tipi). Virus tarkibida segmentlanmagan +RNK (infeksion) tutadi, RNK oqsil qobiq bilan o'ralgan, bularda superkapsid uchramaydi, oddiy viruslar guruhiga kiradi. O'lchami o'ta kichik 25-27 nm. Nukleokapsidi kubik simmetriya shaklida (94-rasm). Virusning faqat bitta antigeni GA-Ag tafovut qilinadi. Virus hujayra kulturalarida ko'paymaydi, faqat lekotsitar va organ kulturalarida ko'paytirish mumkin. Bundan tashqari, laboratoriya hayvonlari ham gepatit A virusiga beriluvchan emas. Lekin primatlarda ko'paytirish mumkin, diagnostikada qo'llanilmaydi.



94-rasm. Gepatit A virusining sxematik ko'rinishi

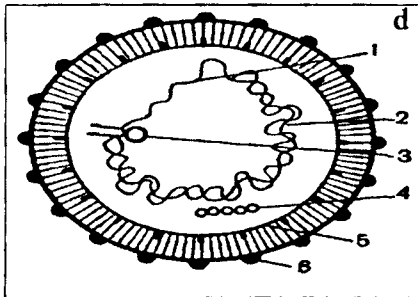
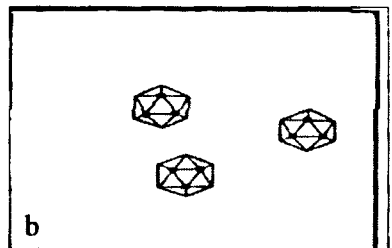
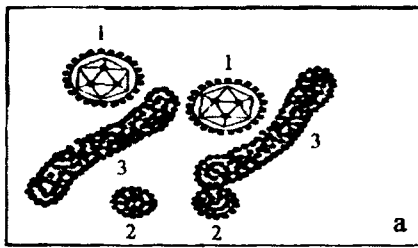
Bemor organizmida gepatit virusini Gepatit haftali A GA-Ag qarshi AT (IgM va IgG) sintez bo'ladi.

**Gepatit B virusi.** Hozirgi kunda gepatit B virusi Orthohepadnavirus avlodiga va Hepadnaviridaye oilasiga kiritilgan. Gepatit B virusi virioni sferik shaklda bo'lib, o'lchami 42 nm ga teng, superkapsidi mavjud. Virus genomi ikki ipli DNK bo'lib, halqasimon ko'rinishda. DNK ning musbat ipli defektli bo'lib, to'liq emas. Virus tarkibida virus replikatsiyasi uchun zarur bo'lgan DNK – polimeraza mavjud. Bemor qon zardobida virusning 3 ta morfologik shakli uchrashi mumkin (95-rasm). Eng ko'p sferik shakldagi, 22 nm o'lchamdagi, kamroq ipsimon, 50-230 nm o'lchamdagi va faqat 7% hollarda to'liq strukturali (kapsid va superkapsidli) Deyna bo'lakchasi uchraydi. Deyn bo'lakchasi infeksiyon xususiyatga ega, qolgan 2 ta shakli infeksiyon xususiyatga ega emas, chunki ularning tarkibi faqat superkapsiddan tarkib topgan.

Virus tarkibida virusning 4 ta (HBc-Ag, HBe-Ag, HBs-Ag va HBx-Ag) antigenlari uchraydi.

**HBc-Ag.** Gepatit B virusining nukleokapsid (mag'iz) antigeni. Deyn bo'lakchasida uchraydi, alohida qonga ajralib chiqmaydi. Virus bilan zararlangan gepatit hujayralarida topilishi mumkin.

**HBe-Ag.** Deyn bo'lakchasi tarkibiga kirmaydi, lekin u bilan bog'langan bo'ladi. Bemor qonida kasallikning inkubatsion davrida paydo bo'ladi. HBe-Ag vazifasi hozirgacha noma'lum, lekin eng sezgir diagnostik ko'rsatkich hisoblanadi.



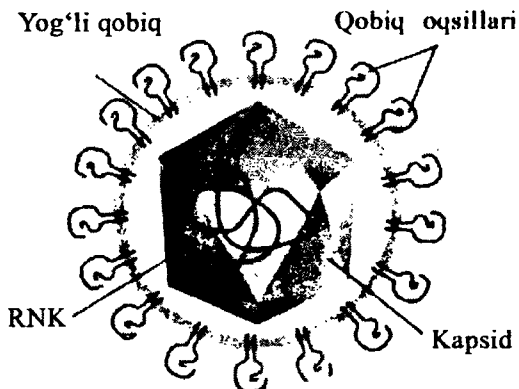
95-rasm. Gepatit B virus strukturasi (sxema). A – Deyn bo'lakchasi (1), HBs- Ag tutuvchi (2,3) bo'lakchalar; b-tashqi qobig'i detergentlar bilan olib tashlangan virionning mag'izi; v-virus strukturasi; 1 – DNKning bir ipli qismi; 2-DNK ning ikki ipli qismi; 3-DNK polimeraza; 4-HBe-Ag; 5-HBc- Ag; 6- HBs-Ag

HBs-Ag. Gepatit B virusining asosiy Ag hisoblanadi. U superkapsid tarkibida uchraydi. Qonda ko'proq uning nuqsonli 1 va 2-morfologik tiplari uchraydi. Ularning hosil bo'lishi virus metabolitik sikli replikasiyasining asorati hisoblanadi. HBs-Ag virus yuqqandan keyin 1,5 oy o'tgach, qonda paydo bo'ladi va infeksiya yuqqan kishilar qonida doimo uchraydi. HBs-Ag kuchli immunogen xususiyatga ega bo'lib, unga qarshi hosil bo'lgan AT uzoq yillar organizmda topiladi. Shuning uchun HBs-Ag ning rekonbinat mahsulotlaridan hozirgi davrda vaksina sifatida foydalanilmoqda.

HBx-Ag. Yaxshi o'rganilgan emas, ba'zi fikrlarga qaraganda, gepatotsit hujayralarining xavfli o'sma hujayralariga transformatsiya bo'lishiga olib kelishi mumkin.

**Gepatit D (delta) virusi.** Delta virus bir ipli halqasimon RNK saqlovchi virus bo'lib, Togaviridaye oilasiga va Deltavirus avlodiga kiradi. Uni faqat gepatit B bilan kasallangan bemorlardan ajratib olinadi. Delta virusning ko'payishi uchun albatta gepatit B virusi bo'lishi shart, agar gepatit B virusi (hamkor) bo'lmasa, bu virus ko'paya olmaydi. Virion sferik shaklda 35-37 nm. Virusning superkapsidida oz miqdorda gepatit B virusining HBs-Ag uchraydi. Kasallik manbasi odamlar, virus parenteral yo'l bilan, ba'zan qon quyish orqali yuqadi.

**Gepatit C virusi.** Virus hozirgi kunda Flaviviridaye oilasiga kiritilgan. Tashqi tomondan ko'rinishi kichik sferik shaklda (35-50 nm) bo'lib, tashqi qobig'ida superkapsidi mavjud (96-rasm).



96-rasm. Gepatit C virusi (sxemasi)

Virus genomi bir ipli fragmentlanmagan (+) ipli RNK. Tarkibida 8 tadan kam bo'lmagan genlar tutadi. 3 ta geni struktura oqsillari sintezida qatnashadi, qolgan genlar strukturaga taalluqli bo'lmagan oqsillarni sintezlaydi. Virus genomi o'ta variabel, o'zgaruvchan. Virusning 6 ta serovari uchraydi, har bir serovari ma'lum mamlakatlarda qayd qilinadi. Masalan, C1 tipi AQSh da uchrasa, C3 tipi Yaponiyada aniqlanadi.

Gepatit C virusi tarkibida struktura oqsillari uchraydi, bulardan tashqi qobiq oqsili – E1, 2 (E2) 3 (E3) virus hayot faoliyatida o'ta muhim ahamiyatga ega. Ulardan E1 va E2 oqsillar birikib, tashqi oqsil kompleksini hosil qiladi va virusning sezgir hujayra bilan birikishi va unga kirishini ta'minlaydi.

Virus genomining eng ajoyib xususiyatlaridan biri uning tarkibida tez va ko'plab mutatsiyaga uchrovchi bo'lakchasining borligidir. Bular doimo virus genomida mutatsiyalar kelib chiqishiga olib keladi. Bu mutatsiyalar natijasida gen komponentlarining almashinuvi kuzatiladi va virus qobig'i oqsillarining doimo o'zgarib turishini ta'minlaydi. Ya'ni tashqi qobiq antigeni hisoblangan E1 va E2 antigenlar o'zgaradi, yangi virus variantlarining hosil bo'lishiga olib keladi. Bemor organizmida virus antigenlariga qarshi AT hosil bo'ladi, lekin virus o'zining tashqi antigen determinantlarini doimo o'zgartirib turganligi sababli hosil bo'lgan AT lar viruslarni neytralizatsiya qila olmaydi. Virus organizmning immun nazoratidan chetda qoladi. Virusning ko'plab yangi antigen variantlari hosil bo'lishi natijasida immun sistema hujayralari yuqori tezlikda ishlaydi va tezda faoliyatlari sustlashib qoladi, bu esa kasallikning surunkali uzoq davom (15-20 yil) etishiga va pirovard oqibatda jigar sirrozi yoki o'smasiga

olib keladi. Kasallik 60-80% surunkali shaklga o'tishi mumkin. Virus ko'pchilik hollarda makrofaglarda ham topilishi mumkin. Virus yuqqandan chamasi 3 oylardan keyin qonda spetsifik AT topiladi.

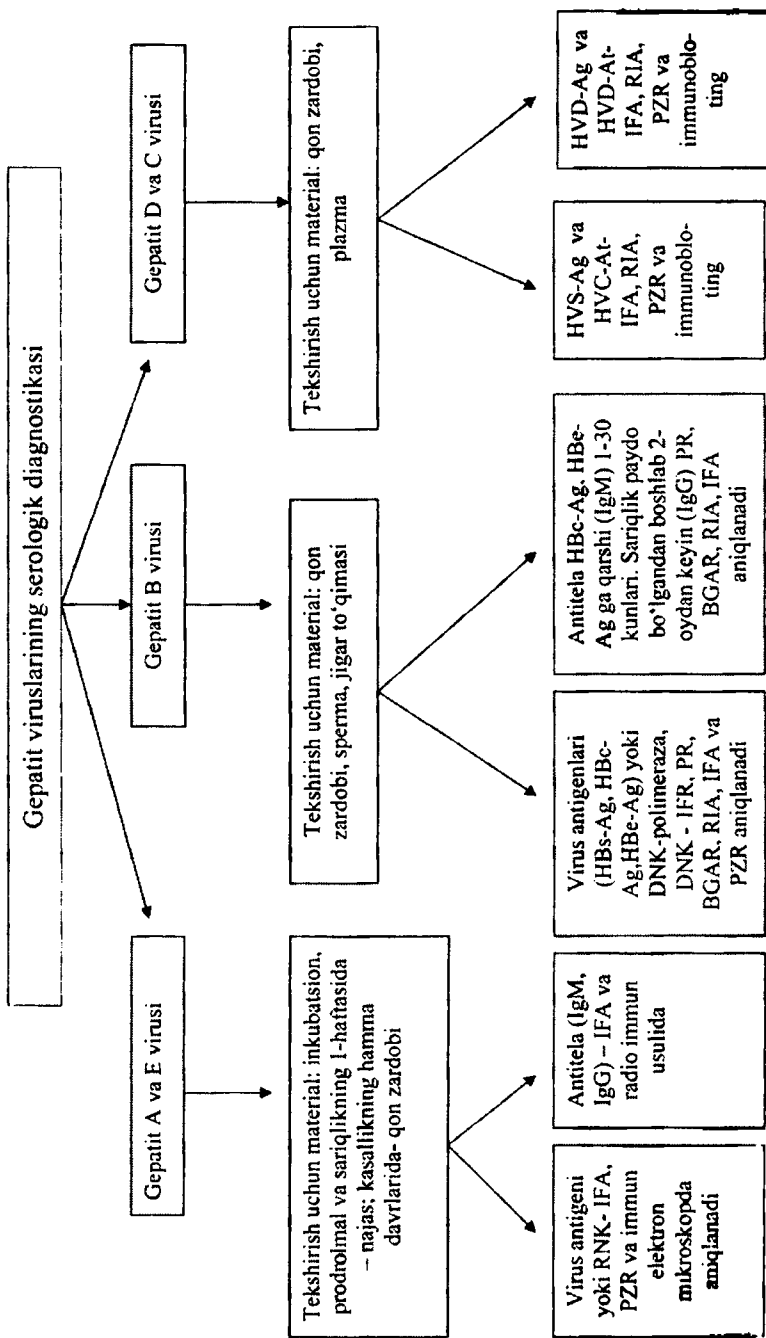
**Gepatit E virusi** jigarning o'tkir yallig'lanishini keltirib chiqaradi, intoksikatsiya kuzatiladi, kam hollarda sariqlik namoyon bo'ladi. Virus Calicivirus avlodiga va Caliciviridaye oilasiga mansub. Virion sferik shaklda, diametri 27-38 nm. Virus genomi segmentlanmagan +RNK molekulasidan iborat. Kasallik manbasi tabiatda odamlar hisoblanadi. Epidemiologik jihatdan Gepatit A ga o'xshab ketadi. Kasallik "epidemik birdan boshlanish" (vspishka) tarzida kuzatiladi. Gepatit E surunkali shaklga o'tmaydi, sog'ayib ketgandan so'ng turg'un immunitet qoladi. Virus yuqqandan so'ng 10-12 kundan keyin virus spetsifik AT hosil bo'ladi.

**Gepatit G virusi.** Virusning taksonomik o'rni haligacha to'liq aniqlangan emas. Hozirgi kunda shartli ravishda Flaviviridaye oilasiga kiritilgan. Virion sferik shaklda va tarkibida segmentlanmagan +RNK molekulasini tutadi. Antigen to'plami bo'yicha 3 ta tiplari uchraydi. Gepatit G virusi nuqsonli virus deb qaralmoqda, uning reproduksiyasi uchun Gepatit C virusining bo'lishi zarur, degan taxminlar qilinmoqda. Kasallik manbasi kasal odam va surunkali gepatit G virusi bilan og'rigan bemorlar, virus tashuvchilar hisoblanadi. Virus yuqqandan so'ng 10-12 kundan keyin virus spetsifik AT (IgM) hosil bo'ladi.

### **Metodik ko'rsatmalar**

Gepatit B bilan og'rigan kasallar qon zardobida, virus yuqqandan so'ng 3-5 haftadan so'ng virus HBs-Ag paydo bo'ladi va uni aniqlash mumkin. Bu antigenning qondan topilishi organizmda gepatit virusi borligini bildiradi. HBs-Ag ning dinamikada yo'qolib ketishi bemorning sog'ayib ketganidan darak beradi yoki uzoq muddat uchrab turishi kasallikning surunkali formaga o'tganligini bildiradi. Kasallikning o'tkir davrida HBs-Ag qarshi AT deyarli aniqlanmaydi. Bemor tuzalish davrida HBs-Ag qarshi AT hosil bo'ladi va uzoq vaqt saqlanib qoladi. Virusning HBs-Ag (kor) qonda topilmaydi, faqat jigar to'qimasidan olingan biopstatdan topilishi mumkin. AT HBs-Ag ga qarshi kasallikning o'tkir davrida IgM, keyinchalik IgG ko'rinishida paydo bo'ladi, lekin uzoq saqlanmaydi. Virus HBe-Ag va unga qarshi AT esa qondan topiladi, ularning qondan topilishi kasallikning o'tkir kechayotganligidan darak beradi.

Surunkali gepatit B bilan og'rigan bemorlar qon zardobidan HBe-Ag topilishi kasallikning yana avjlanganligini bildiradi. Gepatit B virusini yuqorida keltirilgan antigen va ularga qarshi hosil bo'lgan antitelalarni (sxema) aniqlash virus diagnostikasining asosini tashkil qiladi.



28-sxema. Gepatit viruslarining serologik diagnostikasi

Hozirgi kunda gepatit B virusining antigen va antitelalarini aniqlashda pretsipitatsiya reaksiyasi asosida bir qator ekspress usullar ishlab chiqilgan.

**Bilvosita gemagglutinatsiya reaksiya yordamida gepatit B virusini HBs-Ag ni bemor qon zardobidan aniqlash.** Bu maqsadda standart (komersiya) eritrotsitar diagnostikumlardan (HBs-Ag ga qarshi AT lar bilan eritrotsitlar shimdirilgan) foydalaniladi. Maxsus polisterol plastinka chuqurchalarida bemor qon zardobi avtomatik mikropipetkalar yordamida diagnostik titrga mo'ljallab suyultiriladi. So'ngra har bir chuqurchaga bir hajmda antitela yuklatilgan eritrosit suspenziyasi tomiziladi. Albatta, parallel zardob va diagnostikum kontroli qo'yiladi. Planshetka xona temperaturasida yoki 37°C da 2 soat termostatda saqlanadi va natija ko'riladi. Natijani ko'rishda planshetka silkitilmaydi, chunki silkitish reaksiyaning (80-rangli rasm) natijasiga salbiy ta'sir ko'rsatadi.

### **37-MAVZU. "ORTTIRILGAN IMMUN TANQISLIGI VIRUSI" (OITV) GA XARAKTERISTIKA VA LABORATORIYA DIAGNOSTIKASI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Retroviruslar keltirib chiqaruvchi kasalliklar diagnostika sxemasini o'rganish.

2. Diagnostikada qo'llaniladigan immunologik (IFA, immunobloting) usullar.

3. OITV keltirib chiqaruvchi kasalliklarning virusologik, serologik diagnostikasi.

4. OITV infeksiyalarda qo'llaniladigan diagnostik va davolash preparatlari.

#### **Namoyish qilish**

1. OITV infeksiyalarining hozirgi zamon diagnostik usullari.

2. Retroviruslar va OITV kasalliklari qo'zg'atuvchilari va ularning reproduksiyalari aks ettirilgan rangli rasm va albomlar.

3. OITV infeksiyalarida qo'llaniladigan diagnostik va davolash preparatlari.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Retroviruslar keltirib chiqargan kasalliklarga virusologik diagnoz qo'yish usullari:

a) OITV infeksiyasi bilan kasallangan bemor qon zardobi bilan IFA reaksiyasini qo'yish.

b) IFA reaksiyasini natijalash va xulosa chiqarish.

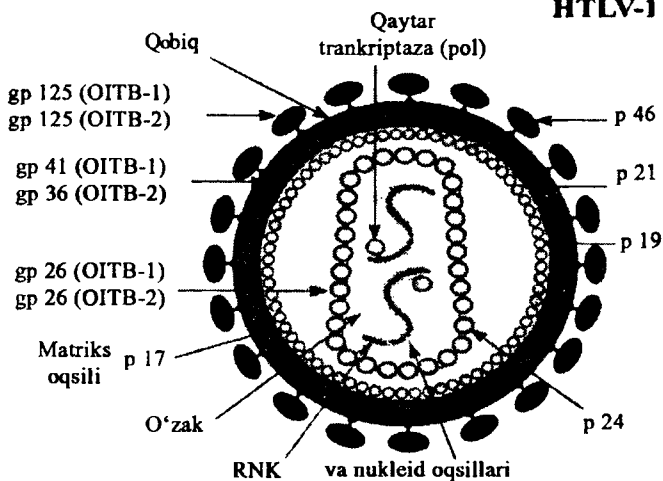
OITV odamlarda o'ta xavfli orttirilgan immun tanqisligi sindromi (OITS) kasalligini keltirib chiqaradi. Xorijiy adabiyotlarda OITSni

«Acquired immunodeficiency syndrom» – (AIDS), ruschada «Sindrom priobretennogo immunodefitsita» (SPID) deb yuritiladi. OITV hozirgi kunda Retroviridaye oilasiga va Lentivirinaye kenja oilasiga kiritilgan.

Retroviruslarning xarakterli xususiyati ularning genomi tarkibida juda noyob bo'lgan orqaga qaytaruvchi (OQT) transkriptaza fermentining borligidir. OQT yoki RNK taalluqli DNK polimeraza (revertaza) genom tarkibidagi genetik to'plam ma'lumotlarni orqaga yo'naltirish xususiyatiga egadir, me'yorda genetik ma'lumotlar DNK dan RNK ga o'tkaziladi. Retroviruslarda esa OQT fermenti yordamida RNK dan DNK molekulasini sintezlanadi. Viruslarni nomlash ham shundan kelib chiqqan (ing. so'z retro-orqaga). Virus genomi ikki ipli segmentlanmagan +RNK molekulasini bo'lib, virusning ichki oqsil (p6 va p7 kD) molekulasini bilan birikkan bo'ladi. RNK va oqsil qobiqlar tashqi tomondan kapsid (p18-24 kD) bilan o'ralgan bo'lib, virusning mag'izini tashkil qiladi, shakli konussimon (97-rasm). Virus tashqi tomondan superkapsid bilan o'ralgan bo'lib, mag'iz va superkapsid o'rtasida virusning matritsa oqsili (p17 kD) mavjuddir. Virus superkapsidi ikki qavatdan iborat bo'lib (bisloy), ularga virusning glikoproteinli tikanaklari botib, kirib turadi. Har bir glikoproteinli tikanaklar 41 va 125gp kD oqsillardan tarkib topgandir. 125gp tikanakning tashqi yuzasida joylashgan bo'lib, hujayralar tarkibidagi CD4 molekulari bilan maxsus birikadi va virusning sezgir hujayra yuzasiga adsorbsiyasini ta'minlaydi. 41 glikoprotein

OITB-1

HTLV-1



97-rasm. Odam immun tanqislik virusining sxematik strukturasi

qobiqning ichida joylashgan bo'lib, "biriktirib ketuvchi" (belok sliyaniya) oqsil hisoblanadi, virusning hujayraga kirishini boshqaradi. Yuqorida keltirilgan oqsil, glikoproteinlar va fermentlar virusning antigen xususiyatini namoyon qiladi. Lekin OITVning asosiy antigeni yuza (41 va 125gp kD) glikoproteinlar va mag'iz (p24) oqsili hisoblanadi.

OITV organizmga jinsiy aloqa, parenteral muolajalar (nosteril igna, shpris va boshqa asbob-uskunalarni qo'llash), qon va uning o'rnini bosuvchi dorilarni qo'llash, a'zo va to'qimalarni ko'chirib o'tkazish (transplantatsiya) vaqtida yuqadi. OITV bilan og'rikan bemorlarning ko'pchiligini gomo- va biseksuallar (o'z jinsi va boshqa jinsdagilar bilan jinsiy aloqa qiluvchilar), fohishalar, narkomanlar (giyohvandlar) tashkil qiladi.

Organizimga kirgan OITV uchun nishon hujayralar asosan membranasida CD4 molekula tutuvchi hujayralar hisoblanadi. Bu hujayralarning asosini T-xelper hujayralari tashkil qiladi (98-rangli rasm). Bundan tashqari, monotsit va makrofaglar, nerv hujayralari membranasida ham bunday CD4 retseptorlar kamroq uchraydi. OITV organizmning himoya sistemasidan ustalik bilan o'zini himoya qiladi, chunki virusning RNK molekulasida hujayrada OQT fermenti yordamida DNK ga aylanadi va hujayra genomiga integratsiya (kirib olish) bo'lib oladi. Bundan tashqari, OQT fermentining xatoliklari tufayli virus genomida ko'plab struktura o'zgarishlari kelib chiqadi, bu esa virus antigenlarining doim o'zgarib turishiga olib keladi. Shuning uchun virus Ag ga qarshi hosil bo'lgan AT lar viruslarni ingibitsiya qila olmaydi. Organizmda T-xelper hujayralarning tez kamayib ketish mexanizmi asosan virusning HPTga asoslangan. OITV virusi hujayra apoptozini (hujayraning programmalashtirilgan o'limi), autoimmun reaksiyalarni aktivlashtiradi, sintsitiye hujayralar hosil qiladi (ko'p yadroli hujayralar) va limfoid old hujayralarni zararlaydi.

Yuqorida keltirilgan sabablar asosida T-xelper(CD4) hujayralari miqdor jihatidan juda kamayib ketadi, bu esa organizmda chuqur ikkilamchi immun tanqislik holatini keltirib chiqaradi. Organizm himoyasiz bo'lib qoladi, buning natijasida opportunistik mikroorganizmlar (normal immun himoyada kasallik keltirib chiqarmaydi) kasallik keltirib chiqarishi va o'smalar hosil bo'lishi aktivlashadi (Kaposhi sarkomasi, teri kartsinomasi, B-hujayralar limfomasi). Bundan tashqari, OITV makrofaglar ishtirokida butun organizmga tarqaladi va MNS ni ham jarohatlaydi. Bu esa organizmda turli kasalliklarning avj olishiga sabab bo'ladi va OITS ni keltirib chiqaradi.



## **Metodik ko'rsatma**

OITS virusining laboratoriya diagnostikasi epidemiologik jihatdan juda muhim bo'lib, hozirgi kunda kasallikning tarqalishini oldini olishdagi eng asosiy xususiyatlardan biri hisoblanadi, chunki hozirgi kungacha virusga qarshi effektiv vaksina olingani yo'q. Kasallikka erta va o'z vaqtida diagnoz qo'yish uning tarqalishini oldini oladi. Hozirgi kunda OITS virusi diagnostikasidagi eng effektiv usul bemor qon zardobi tarkibidagi virusspetsifik antitela va antigenlarni kasallikning turli davrlarida serologik aniqlash hisoblanadi. OITS virusining 41gp, 125gp va 24 gp antigenlariga qarshi AT lar kasallikning serokonversiya davridan, birlamchi klinik ko'rinishi va keyingi infeksiyaning rivojlanish bosqichlarida ham aniqlanadi. Diagnostikada asosan IFA va immunobloting (vesterblot) usullari qo'llaniladi.

**Immunoferment usulida OITV antitelasini kasal qon zardobi tarkibida aniqlash.**

Usulni qo'llashda maxsus avtomatik mikropipetka dozatorlardan foydalaniladi. IFA immunosorbent polisterol 96 chuqurchali planshetkalarda yoki striplarda qo'yiladi. Test sistema tarkibidagi ingrediyentlar uslubiy qo'llanmaga asosan suyultiriladi.

Ish tartibi.

1. Immunosorbent chuqurchalarga OITV 1-kon'yugatidan ishchi dozasi 0,25 mkl tomiziladi. So'ngra planshetka chuqurchasiga 0,75 mkl nazorat namunasidan ( K+, K- ) qo'shiladi. Nazorat namunalarini ishlatish qo'llanilayotgan striplarning soniga bog'liq bo'lganligi uchun quyidagi sxemani qo'llash mumkin:

1 stripda -1 chuqurcha K+, 2 chuqurcha K-;

2 stripda - 2 chuqurcha K+, 2 chuqurcha K-;

3 va undan ortiq -2 chuqurcha K+. 3 chuqurcha K-.

Masalan, agar IFA 2 ta stripda qo'yilayotgan bo'lsa, stripni A-1 va A-2 chuqurchalariga mikrodozator yordamida 0,75 mkl K+ va 2 ta chuqurchaga B-1 va B-2 ga esa 0,75 mkl K- nazorat namunalaridan tomiziladi.

Qolgan chuqurchalarga 0,75 mkl tekshirilayotgan qon zardob namunasidan tomiziladi. Chuqurchadagi ingrediyentlar yaxshilab aralashtiriladi (planshetka qirrasini sekin-sekin urish bilan). Planshet qopqog'i berkitilib, 37°C da 60 daqiqa saqlanadi.

2. Planshetdagi ingrediyentlar voshet (planshetning yuvish moslamasi) yordamida olinib, dezinfeksiyalovchi suyuqlik bor idishga to'kiladi, planshet 4 marotaba yuvuvchi ishchi eritma bilan yuviladi. Har bir

yuvishda 40 soniya eritma ushlab turiladi va dezinfeksiyalovchi suyuqlik bor idishga to'kiladi.

3. Hamma strip chuqurchalariga 100 mkl kon'yugat-2 ni ishchi dozasiida mikropipetka yordamida tomiziladi. Planshet qopqog'i berkitilib, 37°C da 30 daqiqa saqlanadi.

4. Planshetdagi ingrediyentlar vosher (planshetning yuvish moslamasi) yordamida olinib, dezinfeksiyalovchi suyuqlik bor idishga to'kiladi, planshet 4 marotaba yuvuvchi ishchi eritmada yuviladi (2 p. o'xshash).

5. Hamma strip chuqurchalariga 100 mkl SS (substrat aralashmasi, bufer eritma) tomiziladi. Planshet qopqog'i berkitilib, qorong'i joyda 20 - 24°C 25-30 daqiqa saqlanadi.

6. Planshetdagi reaksiyani to'xtatish uchun hamma chuqurchalarga 100 mkl dan stop – reagent qo'shiladi va 1- 2 daqiqadan keyin natija aniqlanadi.

**Reaksiya natijasini aniqlash.** Reaksiya natijalarini to'lqin uzunligi 450 nm bo'lgan spektrofotometda va 620-680 nm referens-yorug'lik filtrda aniqlash mumkin. Reaksiyani ro'y berganligini aytish mumkin, qachonki K+ chuqurchadagi aniqlangan optik zichlik (OZ) 1,0 dan kam bo'lmasa va K- namunali chuqurchadagi OZ o'rtacha ko'rsatkichi 0,15 dan oshmasa. Masalan, tekshirilayotgan namuna natijasi bitta 450 nm to'lqin uzunligida aniqlansa, bu holda reaksiyani musbat deb hisoblash mumkin, qachonki K+ chuqurchadagi aniqlangan optik zichlik (OZ) 1,0 dan kam bo'lmasa va K- namunali chuqurchadagi OZ o'rtacha ko'rsatkichi 0,2 oshmasa (K- namunaning OZ ning o'rtacha ko'rsatkichi 0,2 teng).

**OP krit.=OPK-(o'r.)+0,2**

Vizual baholashda substrat aralashma bilan inkubatsiyalanish vaqtida chuqurchadagi eritmaning bo'yalishi kuzatiladi. Bo'yalishning intensivlik darajasi bog'langan belgili antitelalar miqdoriga to'g'ri proporsional.

Shuni aytib o'tish zarurki, immunoferment va immunobloting usullari o'zining o'ta sezgirligi va maxsusligi bilan ajralib turadi, ularning natijasi 4-6 soatda aniqlanishi mumkin (Immunobloting reaksiyasining qo'yish talablari 17-mashg'ulotda keltirilgan). Shu bilan bir qatorda, virus AT larini aniqlash OITS infeksiyali chaqaloqlarda umuman ijobiy natija bermaydi, chunki kasal onadan yo'ldosh orqali o'tgan IgG chaqaloq qon zardobida 1 yilgacha saqlanishi mumkin. Shuning uchun chaqaloqlarning OITS virusi bilan zararlanganini faqat alternativ usullarda aniqlanadi, ya'ni virusni ajratib olish in vitro yoki virus genomi materialini PZR yordamida aniqlashga asoslangan. Bu usullarda OITS virusi bilan zararlangan bir haftalik chaqaloqlarda 35-55% natija musbat bo'lsa, 3-6 oyliklarda 90-100% bo'ladi.

OITS kasalligida yuqorida keltirilgan asosiy usullardan tashqari, immun tizimga ham baho beriladi. OITS kasalligida periferik qondagi T-xelper hujayralarning nisbiy va absolyut miqdorlari me'yordan ishonarli kamayib ketadi va limfotsitlarning funksional xususiyatlarida ham chuqur o'zgarishlar kuzatiladi.

OITS kasalligida qo'llanadigan davolash preparatlari. Hozirgi kungacha OITV ga qarshi etiotrop davolash va profilaktik vaksinalar ishlab chiqilmagan. Hozirgi kunda qo'llanilayotgan preparatlar bemorning umrini cho'zishga qaratilgan, bularga quyidagi dori preparatlari kiradi:

a) Zidovulin, azidotimidin, zalsitabin, didanozin, stavudin – OQTF funksiyasini sustlashtiradi.

b) Immunomodulyatorlar va IFN lar.

### **38-MAVZU. KASALXONA ICHIDA TARQALUVCHI YUQUMLI KASALLIK QO'ZG'ATUVCHILARI. ZAMBURUG'LAR KELTIRIB CHIQRUVCHI KASALLIKLAR. LABORATORIYA TASHIXISI**

#### **Mashg'ulot rejasi**

1. Kasalxona ichida tarqaluvchi yuqumli kasallik qo'zg'atuvchilarining diagnostika sxemasini o'rganish.

2. Kasalxona ichida tarqaluvchi grammusbat kokklar va ularning mikrobiologik diagnostikasi.

3. Kasalxona ichida tarqaluvchi grammanfiy bakteriyalar va ularning mikrobiologik diagnostikasi.

4. Kasalxona ichida tarqaluvchi patogen zamburug'lar va ularning mikrobiologik diagnostikasi.

#### **Namoyish qilish**

1. Kasalxona ichida tarqaluvchi grammusbat kokklar, grammanfiy bakteriyalar va patogen zamburug'larning kulturasidan tayyorlangan, bo'yalgan surtmalar.

2. Kasalxona ichida tarqaluvchi grammusbat kokklar, grammanfiy bakteriyalar va patogen zamburug'larni ajratib olishda qo'llaniladigan oziq muhitlar.

#### **Laboratoriya ishini bajarish uchun topshiriq**

1. Kasalxona ichida tarqaluvchi stafilokokk va streptokokk infeksiyalarining bakteriologik diagnostika sxemasini o'rganish va ularni saralash.

2. Kasalxona ichida tarqaluvchi ichak infeksiyalarining bakteriologik diagnostika sxemasini o'rganish va ularni saralash.

3. Kasalxona ichida tarqaluvchi mikoqli (zamburug') infeksiyalarining bakteriologik diagnostika sxemasini o'rganish va ularni saralash.

Klinik amaliyotda antibiotiklarning keng qo'llanilishi yuqumli kasalliklarning epidemiologiyasi strukturasi yangi o'zgarishlar keltirib chiqardi. Kuchli virulent qo'zg'atuvchilarning (Shigella, Staphylococcus, Salmonella va bosh.) kasallik keltirib chiqarish ko'rsatkichlari kamayib ketdi. Shu bilan bir qatorda, preparatlarga o'ta chidamli bo'lgan shartli patogen bakteriyalarning ulushi keskin oshib bormoqda. Bu bakteriyalarni shartli ravishda uch guruhga bo'lish mumkin:

I – antibiotiklarga chidamligi oshgan grammusbat bakteriyalar (stafilokokk va streptokokklar va boshq. bak.)

II – birlamchi antibiotiklarga chidamliligi shakllangan grammanfiy bakteriyalar.

III – antibiotiklarga tabiiy chidamliligi bo'lgan zamburug'lar.

Bu guruh mikroorganizmlarning ko'pchiligi odam uchun saprofit hisoblanadi. Ularning kasallik keltirib chiqarish xususiyati ma'lum sharoitlarda amalga oshadi: tashqi muhitning noqulay omillari ta'sirida; organizmning immun tizimi faoliyatining sustlashishi; rentgen va radioaktiv nurlanishlar; immundepressantlar qabul qilish; uzoq davom etuvchi infeksiya yoki somatik kasalliklar; uzoq vaqt antibiotiklarni qabul qilish. Kasalxonada tarqaluvchi yuqumli kasalliklarning (KTYuK) asosiy manbasi 85-jadvalda keltirilgan.

84-jadval

#### Kasalxona ichida tarqaluvchi yuqumli kasalliklarning asosiy manbasi

Kasallik manbasi	Kasallik manbasining KTYuK lar tarqalishidagi roli
Bemorlar	Asosiy manba: turli nazologik ko'rinishdagi KTYuK turli statsionarlarda tarqalishiga sabab bo'ladi.
Tashib yuruvchilar	KTYuK dan stafilokokk va gepatitlar (B, C va D), salmonellyoz, shigellyoz infeksiyalari tarqalishida katta ahamiyatga ega.
Tibbiy xodimlar	Ko'proq simptomsiz "gospital" shtammlarni tashib yuruvchilar, (asosan, respirator yuqumli kasalliklarni) (pnevmonsistoz, zotiljam, bronxit va O'RVK). Ba'zida tashib yuruvchilar ko'rsatkichi 50% ga yetishi mumkin.
Kasallarni parvarishiga jalb qilinganlar	Katta ahamiyatga ega emas, ular streptokokk, stafilokokk, entero-va kampilobakteriya, SMV, venerik kasallik qo'zg'atuvchilari va boshq. tarqatishi mumkin
Kasallarni ko'rishga kelganlar	Ahamiyati juda chegaralangan. Ular streptokokk, stafilokokk va enterobakteriyalarni tashib yuruvchilar bo'lishi mumkin yoki O'RVK bilan og'rigan bo'lishi mumkin.

Bu guruh mikroorganizmlar ko'p hollarda "kasalxonada ichida tarqaluvchi yuqumli kasalliklar" etiologiyasida asosiy rolni o'ynaydi. Bu nom bilan har qanday mikroblarni tushunish mumkin, ya'ni kasalxonaga davolanish uchun kelgan va yotqizilgan bemorlarda kasallik keltirib chiqarishi mumkin.

KTYuK spektori juda keng bo'lib, bularga bakteriyalar, viruslar, zamburug'lar va sodda jonivorlar kiradi. Kasalxonada ichida tarqaluvchi bakterial yuqumli kasalliklarning asosiy qo'zg'atuvchilariga stafilokokklar, pnevmokokklar, grammanfiy enterobakteriyalar, psevdomonadalar va anaeroblar kiradi. Bulardan eng asosiy rolni stafilokokklar (60%), grammanfiy bakteriyalar, respirator viruslar va kandida avlodiga mansub zamburug'lar o'ynaydi. Bu qo'zg'atuvchilarning vakillari o'ta virulentli, chidamli "gospital" shtammlar hosil qiladi. KTYuK ning tarqalishida turli omillar qatnashishi mumkin, bulardan asosiylari 86-jadvalda keltirilgan.

85-jadval

#### KTYuK ning tarqalishiga sabab bo'lgan omillar

Tashqi omillar	Kelib-ketuvchilar	Statsionarda qo'llaniluvchi invaziv tibbiy muolajalar	Tibbiyot xodimlari
Apparatura va instrumentlar	Teri, shilliq qavatlar	Siydik qopchasiga katetr qo'yish (uzoq vaqt)	Patogen bakteriyalarni doimo tashib yurish
O'ziq-ovqatlar va suv	Oshqozon-ichak trakti	Intubatsiya qilish	Vaqtinchalik bakteriyalarni tashib yurish
Havo	Siydik tanosil organlari	Anatomik barerlarning jarrohlik muolajasida butunligining buzilishi	Kasal yoki infeksiya yuqqan xodimlar
Dorivor preparatlar	Nafas yo'llari	Endoskopiya	

Bemorda kasalxonada, tibbiy aralashuvda yoki davolash profilaktik muassasalarida davolangandan keyin ma'lum vaqt (yuqumli kasallikning inkubatsion davri) mobaynida kelib chiqadigan va aniqlanadigan yuqumli kasalliklar «yatrogen» kasalliklar (KTYuK) deyiladi.

Opportunistik infeksiyalar uchun inkubatsion davr o'rtacha 2-4 kuni tashkil qiladi, obligat parazitlar uchun esa variabel (o'zgaruvchan) bo'lishi mumkin va infeksiya xarakteriga bog'liq. Nozokominal yuqumli kasalliklarning kelib chiqishiga moyillik qiluvchi holatlar va asosiy etiologik agentlar 86-jadvalda keltirilgan.

KTYuK yildan-yilga oshib bormoqda va bu kasalliklar, ayniqsa, bolalar statsionarlarida dolzarb muammolarga aylanmoqda. Shuning uchun har bir shifokor odam patologiyasidagi shartli patogen mikroorganizmlar va nozokominal yuqumli kasalliklar haqida aniq tasavvurga ega bo'lishlari zarur.

86-jadval

**KTYuK kelib chiqishiga moyillik qiluvchi holatlar va ularning asosiy etiologik agentlari**

Moyillik qiluvchi holatlar	Asosiy qo'zg'atuvchilar
Siydik yo'lida kateter bo'lishi	Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Proteus sp.
Begona kiritmalar (tanachavenaga qo'yilgan kateter, kanyula, protezlar)	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Propionibacterium acnes, Candida va Aspergillus turlari
Operativ, jarrohlik aralashuvlari	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Bacteroides turlari, Clostridium perfringens, Pseudomonas aeruginosa va boshqa anaerob fakultativlar.
Kuyish	Pseudomonas aeruginosa
Splenektomiya (taloqni olib tashlash)	Streptococcus pneumoniae
Qandli diabet	Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans va fikomitsitlar
Qon hosil bo'lishning buzilishi	Creptococcus neoformans, suvchechak virusi, SMV, Listeria monocytogens
Alkogolizm	Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogens
Glikokortikoidlarni qabul qilish	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis, turli virus va zamburug'lar.

**KTYuK ning mikrobiologik diagnostikasi**

Nozokominal yuqumli kasalliklarni erta aniqlash ularni davolashga yordam beradi. Qisman yatrogen infeksiyaning belgilari: davolanayotgan bemorda sababsiz, birdaniga tana harorati ko'tarilishi mumkin. Agar

KTYuK ga shubha qilinsa, mikrobiologik tekshiruv o'tkaziladi. Nozokominal yuqumli kasalliklar diagnostikasini qo'shimcha kasalliklar qiyinlashtirishi mumkin. Tekshirish uchun patologik materiallarni olish va bakteriologik tekshiruv o'tkazishda quyidagilarga ahamiyat berish zarur:

1) tekshirish materiallari aseptik qoidalarga rioya qilingan holda steril maxsus konteynerlarga olinadi, chunki potensial qo'zg'atuvchi har qanday bakteriya bo'lishi mumkin;

2) olingan patologik materialni maksimal tez laboratoriyaga yetkazish;

3) proba (material) har doim olinishi kerak.

Nozokominal yuqumli kasalliklar diagnostikasida asosan bakteriologik, virusologik, mikologik va serologik usullar qo'llaniladi. Bu usullar oldingi bo'limlarda keltirilgan, diagnostika usullari deyarli farq qilmaydi. Shu bilan bir qatorda, shartli patogen bakteriyalarning diagnostikasida ularning namunalardagi miqdoriy ko'rsatkichlariga ham ahamiyat beriladi.

### **Zamburug'lar keltirib chiqaruvchi kasalliklar**

Zamburug'lar tabiatda eng ko'p tarqalgan mikroorganizmlar bo'lib, ularning asosiy vakillari saprofit hayot kechiradi. Ularda fotosintetik pigmentlar bo'lmaydi, ular geterotrof, aniqrog'i xemoorganogeterotrof, vitaminlarga muhtoj, aerob sharoitda yashaydi, o'zlari uchun energiyani oksidlanish va qaytarilish reaksiyalari orqali organik moddalardan o'zlashtirib oladi. Tabiatda tarqalgan bir necha ming zamburug'lardan 100 ga yaqini odamlar uchun patogen hisoblanadi. Zamburug'lar eukariotik organizmlar bo'lib, boshqa mikroorganizmlardan asosiy xususiyatlari (shakllangan yadrosi, sitoplazmada organellalar va tarkibida xitin, sellyuloza borligi, xlorofill va hujayra devorida peptidoglikanning yo'qligi, spora hosil qilib, jinsiy ko'payishi, oqsil va lipidlar tarkibi) bilan farq qiladi.

Zamburug'lar grammusbat bakteriyalar bo'lib, vegetativ hujayralari kislotaga chidamsiz hisoblanadi. Zamburug'lar ko'rinishi bo'yicha Gifal (mog'or) va achitqisimonlarga bo'linadi.

Gifal (mog'or) zamburug'lar tarqalgan nozik chirmashgan iplar hosil qiladi, bu ipchalarini mitseliylar ham deb ataladi. Giflarning diametri 2 dan 100 mkm gacha bo'lishi mumkin. Mitseliylarning oziq muhitga botib turgan (substratli) qismi vegetativ hujayra bo'lib, oziqlanishni ta'minlaydi. Oziq muhit ustidagi qismini havo mitseliylari deb ataladi, ular zamburug'ning ko'payishiga javobgar hisoblanadi.

Yuqori rivojlangan zamburug'lar ko'p hujayrali bo'lib, ularning mitseliylari ichki to'siqlar – septalar bilan bo'lingan bo'ladi (99-rasm).

Tuban rivojlangan (nizshix) zamburug'lar giflarida septalar bo'lmaydi. Ular ko'p yadroli hujayralar bo'lib, senotsitlar (yunoncha koenos–bir butun) deb ataladi.

**Achitqi (drojji) zamburug'lar.** Odatda, hujayralar cho'zinchoq, tuxumsimon, noksimon ko'rinishda bo'lib, bir hujayrali zamburug'lar guruhini tashkil qiladi. Bular jinsiy yo'l bilan ko'payishiga qarab yuqori rivojlangan zamburug'lar ichida – askomitset va bazidomitsetlarga bo'linadi. Jinsiy yo'ldan tashqari zamburug'lar kurtak hosil qilib va bo'linib ko'payishi mumkin. Ular psevdogiflar (yolg'on) va psevdomitseliylar hosil qilib, uzunchoq, zanjirsimon (sardelek) hujayralar hosil etadi. Ba'zi zamburug'lar drojjilarga o'xshaydi (100-rasm), lekin jinsiy yo'l bilan ko'paymaydi, ular kurtaklanib ko'payadi, bularni achitqisimon zamburug'lar deb ataladi. Tibbiyot amaliyotida bu achitqisimon zamburug'larni (drojjilar) achitqi zamburug'lari deb tushuniladi.

Ko'pchilik zamburug'larning xarakterli xususiyati o'stirish sharoitiga qarab gifal, mitseliylar va drojjsimon o'sish ekanligidir (demorfizm). Masalan, infeksiyalangan organizmda ular achitqisimon (achitqisimon faza), oziq muhitlarda esa gif va mitseliylar hosil qiladi. Zamburug'larning bunday reaksiyasi temperatura holatiga bog'liq. Xona temperaturasida ular mitseliylar hosil qilishsa, 37°C da (tana temperaturasida) drojjsimon hujayralar hosil qiladi.

Zamburug'larning ko'payishi. Zamburug'lar jinsiy va jinssiz (vegetativ) usullarda ko'payadi.

Zamburug'lar jinsiy yo'l bilan ko'payganda gameta va jinsiy spora hosil qiladi. Zamburug'larning jinsiy shaklini "teleomorfa" deb ataladi. Zamburug'lar jinsiz ko'payganda (vegetativ) ma'lum shakllarga kiradi, bularni "anamorfa"lar deyiladi. Bunday (vegetativ) zamburug'lar kurtaklanib, fragmentlanib va jinssiz sporali bo'lib ko'payadi. Zamburug' sporalari (sporangiospora) mitseliylarning ichida yumaloq ko'rinishda (sporangiya) yetiladi va giflarning uchida (konidiye) shakllanib, konidiye tashuvchi deb ham ataladi (99-rasm).

Zamburug'lar konidiye tiplariga qarab farqlanadi: artrokonidiyalar – (artospora) bir tekislikda septalangan va uzilib turuvchi giflardan tarkib topadi; blastokonidiyalar ona hujayradan qiz hujayra kurtaklanib ko'payadi. Bir hujayrali katta bo'lmagan konidiye mikrokonidiye, ko'p hujayrali katta konidiye makrokonidiyelar deb ataladi. Jinssiz ko'payuvchi zamburug'larga xlamidokonidiye yoki xlamidosporali (qalin hujayra



devorli va kichik hujayralar kompleksi) va sklerotsiya (qattiq pardali hujayra massasi) kiradi, ular noqulay sharoitlarda zamburug'larning tinch turuvchi shakli bo'lib, tabiatda saqlanib turishini ta'minlaydi.

**Zamburug' tiplari.** Jinsiy yo'l bilan ko'payuvchi uch guruh zamburug'larga (yuqori rivojlangan) – zigomitsetlar, askomitsetlar va bazidomitsetlar kiradi. Faqat jinssiz yo'l bilan ko'payuvchi (tuban zamburug'lar) alohida shartli guruhga deytromitsitlar kiritilgan. Tibbiyot uchun ahamiyat kasb etuvchi zamburug'lar 87-jadvalda keltirilgan.

**Zigomitsetlar** – tuban zamburug'larga kiradi (mitseliylari septalanmagan). Ularning vakillari ko'proq tuproqda, suvda va havoda uchraydi. Ba'zida zigomikoz (mukoramikoz) o'pkada, bosh miyada va boshqa organlarda kasallik chaqiradi. Zigomitsetlar jinssiz ko'payishda sharsimon sporangiye xaltachalarini hosil qiladi, ularning ichida juda ko'plab sporangiosporalar bo'ladi. Zigomitsetlarning jinsiy ko'payishi zigosporalar yordamida amalga oshadi.

**Askomitsetlar** – (sumkachali zamburug'lar) mitseliylari septalangan (bir hujayrali achitqi zamburug'lardan tashqari). Ular o'z nomlarini urug' tashuvchi organlari – sumka yoki «aska» nomidan olishgan. Ularning tarkibida 4 yoki 8 gaploid jinsiy spora (askospor) tutadi. Ko'pchilik *Aspergillus* va *Penicillium* avlodi vakillari anamorf xususiyatga ega, ya'ni faqat jinssiz sporalar (konidiy) yordamida jinssiz yo'l bilan ko'payadi. *Aspergillus* avlodi vakillarining urug', konidiye tashuvchi giflari yo'g'onlashgan bo'lib, stregmalar, fialidiyalarda zanjirsimon konidiye bo'ladi (99-rasm). *Penicillium* avlodi vakillarida esa panjasimon bo'lib (kistevik), urug' tashuvchi konidiyelar yo'g'onlashib, maydaroq strukturalarga – stregmalar, fialidiyalarga va ularda konidiyelar zanjirsimon bo'lib joylashadi.

Askomitsetlarga *Saccharomyces* avlodi vakillari va telemorflardan *Candida* spp. (achitqi zamburug'lari) kiradi. Achitqi zamburug'lari – bir hujayrali, haqiqiy mitseliy hosil qilish xususiyatini yo'qotgan, ovalsimon diametr o'lchami 3-15 mkm bo'lgan hujayralardir (100-rasm). Ular kurtaklanib, binar bo'linish yoki jinsiy yo'l bilan askospor hosil qilib ko'payadi. Achitqi zamburug'larning vakillari odamlarda kasallik keltirib chiqaradi. Patogen turlari soxta mitseliylar hosil qiladi.

Ko'pchilik askomitsetlar antibiotiklar sintez qiladi, tibbiyotda biotexnologiyada qo'llaniladi.

**Bazidomitsetlar** – qalpoqchali (shlyapochnie) zamburug'lar septalangan mitseliylar tutadi. Ular jinsiy spora – bazidosporalar hosil qilib, ularning oxiridan qiz hujayra mitseliy ajralib chiqadi.

## Tibbiyot uchun ahamiyat kasb etuvchi patogen zamburug'lar

Taksonlari	Asosiy avlodlari	Odamlarda kasallik keltirib chiqarishi
<b>ZIGOMITSETLAR (Tip Zygomycota, sinf Zygomycetes)</b>		
Tartib Mucorales	Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella	Zigamikozlar
Tartib Entomophthorales	Basidiobolus, Conidiobolus	
<b>ASKOMITSETLAR ( Tip Ascomycota)</b>		
Sinf Ascomycetes		
Tartib Saccharomycetales	Achitqi: Saccharomyces, Pichia (telemorflar Candida spp)	Mikotik ko'plab kasalliklar
Tartib Onygenatis	Arthroderma (telemorflar Trichophyton, Microsporum spp.)	Dermatomikozlar
Tartib Eurotiales	Telemorflar ba'zi Aspergillus va Penicillium spp.	Asperlillyoz, penitsellyoz, gialogifomikoz
Tartib Microascales	Pseudallescheria boydii (telemorflar Scedosporium apiospermum)	Mitsutoma, gialogifomikoz
Sinf Archiascomycetes		
Tartib Pneumocystidales	Pneumocystis carinii	Zotiljam
<b>BAZIDOMITSETLAR (Tip Basidiomycota, sinf Basidiomycetes)</b>		
Tartib Agaricales	Amanita, Agaricus	Zamburug'lar bilan zaharlanish
Tartib Tremellales	Achitqi: Filobasidiella (telemorflar Cryptococcus neoformans)	Kriptokokkoz
<b>DEYTROMITSETLAR (Tip Deiteromycota)</b>		
Tartib Cryptococcales	Tuban achitqi zamburug'lari: Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia	Ko'plab mikozlar
Tartib Moniales, Monialiceaye	Epidermophyton, Coccioides, Paracoccioides, Sporthrix, Aspergillus	Ko'plab mikozlar
Tartib Moniales, Dematiaceaye	Phialophora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella,	Xromoblastmikoz,

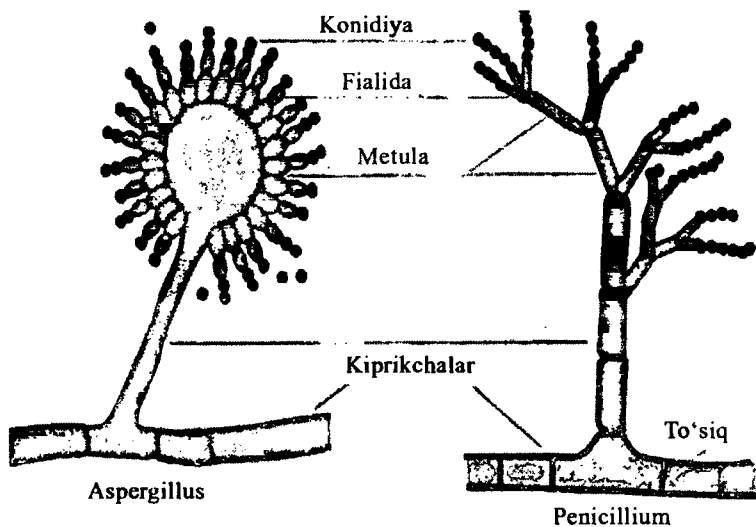
Tartib Sphayeropsidales	Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria Phoma	mitsetoma, feogifomikoz  Feogifomikoz
----------------------------	---	---

Deytromitsetlar – (tuban zamburug‘lar) zamburug‘larning shartli tiplari bo‘lib, hamma jinssiz yo‘l bilan ko‘payuvchi zamburug‘lar shu guruhga kiritilgan. Shartli guruh deyilishiga sabab, ular ma‘lum davrda jinsiy yo‘l bilan ko‘payishga o‘tishi mumkin. Agar shu ko‘payish usuli aniqlansa, zamburug‘ boshqa ma‘lum tiplarga kiritiladi.

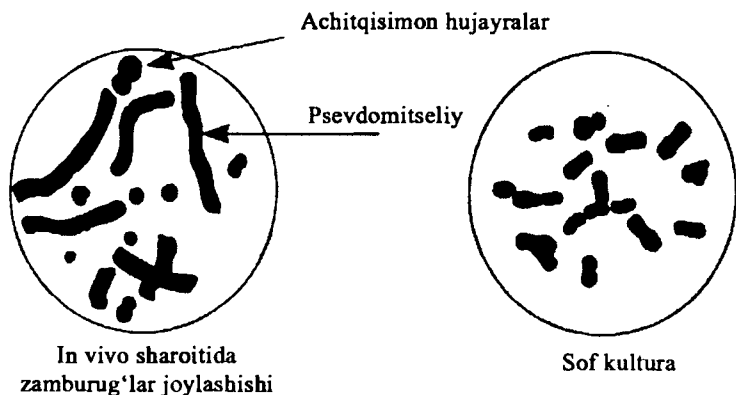
Deytromitsetlar septalangan mitseliylar hosil qilib, faqat jinssiz yo‘l bilan konidiy hosil qilib ko‘payadi. Deytromitsetlarga bir qancha tuban achitqi zamburug‘lari kiradi. Masalan, Candida avlodi vakillari, teri shilliq qavatlar, jinsiy organlarda kandidomikoz kasalliklarini keltirib chiqaradi. Ular uzunchoq yoki yumaloq, diametri 2-5 mkm, kurtaklanib ko‘payadi, psevdogiflar (zanjirsimon yoki hujayralar cho‘zilgan) hosil qiladi. Candida albicans ga xlamidosporalar hosil qilish xarakterlidir (100-rasm).

#### Mikozlarning laboratoriya diagnostikasi

Mikozlarning mikrobiologik diagnostikasi, asosan mikroskopik kultural, serologik va boshqa tekshirish yo‘llari bilan amalga oshiriladi.



99-rasm. Zamburug‘lar morfologiyasi va strukturasi



100-rasm. Achitqi zamburug'larining morfologik ko'rinishi

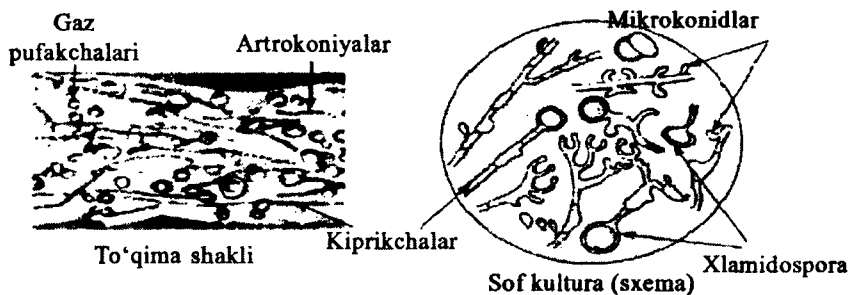
Mikroskopik usul eng qulay hisoblanadi, asosan tibbiy amaliyotda bu usul keng qo'llaniladi. Lekin mikroskopik usulda kasallik qo'zg'atuvchisini turgacha identifikatsiya qilib bo'lmaydi. Ajratib olingan zamburug'ning sof kulturasi identifikatsiya va differensatsiya qilish uning morfologik, kultural va bioximik xususiyatlariga va ayrim hollarda antigen tuzilishiga ko'ra olib boriladi. Biologik sinamalar ko'p hollarda natija bermaydi. Serologik usullar ham barcha mikozlar uchun ishlab chiqilmagan.

#### **Dermatomikoz va kandidomikozlarning mikrobiologik diagnostikasi**

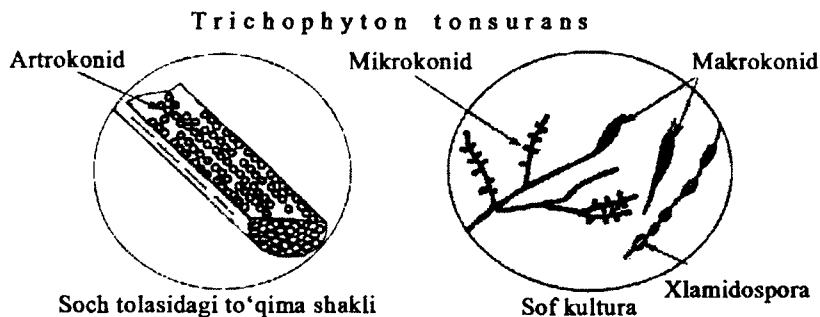
Dermatomikozlarni asosan Trichophyton, Microsporum avlodlariga mansub bo'lgan va bir necha Epidermophyton turlari va kam hollarda Candida lar keltirib chiqaradi.

**Favus (sin.parsha – kal)** – surunkali antropanoz kasallik bo'lib, qo'zg'atuvchisi Trichophyton schoenleinii. Asosan bolalar kasallanadi. Kasallikda teri, tirnoq va soch zararlanadi. Xarakterli xususiyati jarohatlangan sohada sariq yig'ilma po'st (spora, mitseliy, epidermis hujayralari va yog' yig'ilib qolishi – skutula) hosil bo'ladi.

Tekshirish uchun material zararlangan xira, jilvasiz soch tolasi va zararlangan teri sathining periferiyasidagi skutulasidan olinadi. Ma'lumki, favusda soch tolasining bor bo'yi emas, balki ba'zi qismlari shikastlanadi, shu sababli ham u sinmaydi. Bosh terisi kuchli yallig'langanda soch tolasi butunlay sug'urilib chiqadi. Tekshirish chog'ida zararlangan uzun sochlarning mikroskopik manzarasida yumaloq zanjirchalar va uyumlar ko'rinishida har xil kattalikdagi, ko'p qirrali polimorf sporalar ko'zga tashlanadi. Soch ichida yupqa septalangan mitseliy ipchalari bilan bir



101-rasm. *Trichophyton schoenleinii* (favus parsha)



102-rasm. *Trichophyton tonsurans*

vaqtda, havo pufakchalari va yog' tomchilari ham (101-rasm) bo'ladi. Silliq teri va tirnoq tangachalarida tarmoqlangan mitseliy, yumaloq sporalardan iborat zanjirchalar va ularning uyumlari topiladi. Skutuladan tayyorlangan preparatda uyum-uyum betartib, ba'zan kalta zanjirchalar shaklida joylashgan polimorf sporalarning qisqa to'plamlari uchraydi, ular atrofida, odatda, tarmoqlangan mitseliylar bo'ladi. Bu o'rinda shuni aytib o'tish kerakki, agar skutulalar qalin bo'lsa, ularni maydalash lozim, aks holda mikroskopda tekshirishga yaroqsiz qalin preparat hosil bo'ladi. Odatda, skutulalar o'yuvchi kaliy ishqorida ko'proq saqlab turiladi.

**Trixfitiya** kasalligi o'tkir va surunkali shaklda o'tadi.

*Trichophyton* avlodiga mansub zamburug'lar favusdan tashqari teri, soch va tirnoqlarda yuza va chuqur trixfitiya kasalliklarini keltirib chiqaradi. Qo'zg'atuvchilari: *Trichophyton tonsurans*; *Trichophyton violaceum*; *Trichophyton interdigitalis*; *Trichophyton rubrum*. Bulardan *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum* lar antropanoz kasallik, faqat odamlar, ko'proq bolalar kasallanadi (102-rasm). Teri, tana (temiratki) va sochning zararlanishi kuzatiladi. *Trichophyton violaceum*

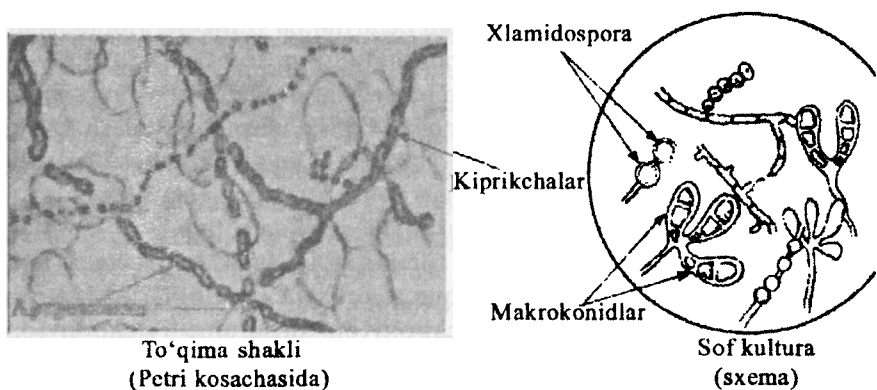
ham antropozoz kasallik bo'lib, tovon va tirnoq plastinkalari trixofitiasini keltirib chiqaradi. Sochni zararlamaydi. *Trichophyton rubrum* – tarqalgan teri mikozi tirnoq va sochlarni ham zararlaydi. Qizil trixofitlar keltirib chiqaradi (rubromikoz).

*Microsporum* avlodi vakillaridan *Microsporum audouinii* hamda *Microsporum frrugineum* teri, soch va ba'zan tirnoqlarni shikastlaydi.

Yuqori kantagioz kasallik hisoblanib, ko'proq kasallik bolalarda kuzatiladi. Soch tolalari shikastlanishini, mikroskop ostida kuzatilganda, soch tolasi atrofini mozaika ko'rinishida antrokonidiylar o'rab (mufti-ektotriks tipi) oladi.

*Epidermophyton* avlodi vakillaridan *Epidermophyton floccusum* chov va teri burmalarini, ba'zan barmoq va tirnoq plastinkalarini shikastlaydi.

**Teri temiratkisi** (*Trichophyton* va *Microsporum* vakillari keltirib chiqaradi) kasalligida material bemor terisidagi po'st tashlab turadigan oqimtir dog'lardan olinadi. Dog'larning har yer-har yeridan periferiyasi tomon skapelda bir necha buyum oynasiga qirma olinadi. Qirmani mutaxassis skapelni 35-45° burchak ostida (teriga nisbatan) og'dirgan holda, ortiqcha bosmasdan, yengil harakat bilan oladi. Olingan materialga 30% li o'yuvchi kaliy yoki o'yuvchi natriy eritmasi tomiziladi va alangada qaynashga yetkazilmay qizdiriladi. So'ngra preparat ustiga yopqich oyna yopiladi va uni mikroskopning avval kichik, keyin katta quruq 40 x obyektlarida ko'zdan kechiriladi. Temiratki qo'zg'atuvchisi surtmada kalta, lekin yo'g'on, qayrilgan mitseliy iplari va to'p-to'p, shakli yumaloq qo'sh konturli sporalari bilan ifodalanadi. Mitseliylarning uzunligi 8-12 mkm ni tashkil etadi.



103-rasm. *Epidermophyton floccusum*

**Eritrazmada** (Epidermophyton, Trichophyton) qo'zg'atuvchi epidermisning yuza qavatini, aksariyat, terining tabiiy burmalari yuza qavatini shikastlaydi. Eritrazmada son-yorg'oq burmalari, chov, qo'ltiq, orqa teshik (anus) sohasi va ayollarda ko'krak bezi ostida pushti-qizil, chegarasi aniq dog'lar paydo bo'lib, ular vaqti-vaqti bilan po'st tashlab turadi. Odatda, terining shu shikastlangan sohasidan skalpel bilan qirma material olinadi. Preparatni tayyorlash uchun unga muz sirka kislotasi tomiziladi va u bug'lanib ketguncha alangada qizdiriladi. Keyin 2% li metilen ko'ki eritmasi bilan 2-3 daqiqa bo'yaladi. Uni mikroskopning immersion sistemasida qaralsa, eni 0,8-1,0, uzunligi 5-15 mkm keladigan donador, biroz qayrilgan, korinobakteriyalarning ipsimon shakllariga o'xshash bo'ladi. Zamburug'larni turlariga qarab ba'zida zanjir bo'lib mitseliylari joylashadi. Bo'yalganda mitseliy zangori rangga, sporasi esa to'q, ko'kimtir-zangori rangga bo'yaladi. Terining shikastlangan joyiga lyuminsent lampadan nur tushirilsa, u qizg'ish bo'lib tovlanadi.

**Oyoq panja epidermofitiyasi, asosan qo'zg'atuvchilari** Trichophyton, interdigitalis; Trichophyton rubrum va Epidermophyton floccosum keltirib chiqaradi (103-rasm). Oyoq panja epidermofitiyasida dastlab material tovon gumbazidan olinadi. Skarifikatora yoki skalpelda tovon gumbazi yaxshilab qirib tozalanadi, keyin tekshirish uchun qirma olinadi. Barmoq oralari burmalaridan ham qirma surtma olinadi. Pufakchalardan material olinganda uning bir cheti pinset bilan ushlab qirqiladi va po'stidan preparat tayyorlanadi. Tirnoqlar epidermofitiyasi va rubrofitiyada o'tkir skalpel bilan zararlangan tirnoqlar yuzasi qirib olinadi, tirnoqlarning birmuncha chuqur qatlamlaridan esa plastinkalar kesib olinadi. Tekshirishdan oldin qalin po'st va tirnoq plastinkalari skalpelda maydalanadi. So'ngra ishqor eritmalarida (30% li o'yuvchi kaliy yoki o'yuvchi natriy) bir sutka mobaynida yumshatib tindiriladi. Ba'zida tekshirishni tezlatish maqsadida, tirnoq solingan probirkaga ishqor quyilib, spirt alangasida qaynatiladi.

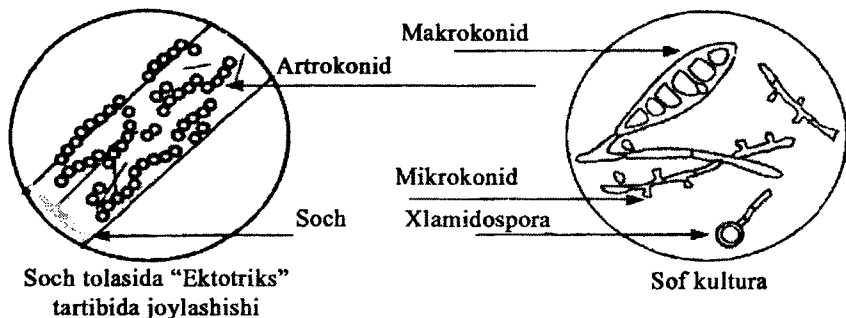
Tayyorlangan preparatlarni mikroskopning kichik obyektivida ham (obyektiv 7x va 8x) zamburug' elementlarini qayd qilish mumkin, biroq, kichik obyektivda zararlangan tangacha va po'stlarning qorong'i joylardagi mitseliy iplari va konturlari yaxshi ko'rinmaydi. Shuning uchun kichik obyektivda zamburug' elementlari aniqlab olinib, katta obyektivda qolgan elementlari (40x) belgilanadi. Surtmada septa (bo'g'im) larga bo'lingan mitseliy, zanjir ko'rinishida poligonal qo'sh konturli sporelar aniq ko'rinib turadi. Mitseliy iplari bir-birlariga ulanib boradigan qator uzun bo'g'inlardan tuzilgan bo'ladi. Ular ba'zan butun ko'rish maydonini egallab yotadi. Ba'zan xolesterinning parchalanish

mahsulotlari, zamburug'larning mitseliylari ko'rinishida ko'zga tashlanishi mumkin. Ularni soxta (psevdo) mitseliy deyiladi. Bunday paytlarda soxta mitseliylarni zamburug'lar bilan almashtirmaslik uchun preparatni yana spirt alangasida qizdirish zarur, bunda soxta mitseliylar butunlay yo'qolib ketadi.

Yuza trixofitiyada tekshirish uchun material sochdan, silliq teri va tirnoqlardan tayyorlanadi. Sochdan material olishda bemorning boshi yaxshilab yoritiladi. Soch kalta qilib qirg'ilganda, shikastlangan sohani topish va ko'rish oson kechadi. Zararlangan soch ildiz qinlari bilan birgalikda olinadi. Ammo shikastlangan sochni pinset bilan tortmaslik kerak, aks holda kasal sochlar teri yuzasida sinib qolib, uning ichidagi qismi tekshirilmay qolib ketaveradi.

Yuza trixofitiyada kasallik qo'zg'atuvchisi mitseliy iplari va sporalar ko'rinishida zararlangan soch ichida (entriks) tasmaga o'xshab joylashadi. Uning mana shu jihati boshning sochli qismi trixofitiyasi differensial belgisi bo'lib, u kasallik epidemiologiyasini o'rganishda muhim ahamiyatga ega. Zararlangan sochning rangi xira, kulrang-sarg'ish, tanasi esa qayrilgan (ilmoq, vergul va S shaklda), mo'rt bo'ladi. Silliq teri va tirnoqdan olib tayyorlangan surtmalarda zamburug'larning tasmasimon joylashgan sporalari bilan bir qatorda, mitseliy iplari bo'ladi. Mikrosporiyada zararlangan soch tolalarini zamburug' sporalari o'rab oladi (mufti) va tasmalar hosil qiladi (104-rasm).

Sochning rangi gungurt – kulrang bo'lib qoladi. Soch ichida joylashgan ingichka mitseliy iplari, odatda, ko'rinmaydi. Ularni aniqlash uchun qoplagich oynani ehtiyotlik bilan siljitib yoki bosib sporalar to'plamini soch qobig'idan qo'zg'atiladi. Shunda yemirilgan soch ichidagi soch bo'ylab yotgan mitseliy iplarini ko'rish mumkin.



104-rasm. Microsporum cookie



Dermatomikozlarni mikroskopik manzarasiga qarab zamburug' turini aniqlash ancha mushkul, shuning uchun laboratoriya xodimi analiz natijasini berganda faqat zamburug'lar bor-yo'qligini ko'rsatadi. Zamburug'larning turi esa ularni maxsus oziq muhitlarda undirish usuli bilan aniqlanadi.

**Mikologik usul.** Olingan patologik material oziqli muhitlarga (Suslo –agar, Saburo va bosh.) ekiladi, 25°C da 1-3 hafta o'stiriladi. Toza kulturasi qo'zg'atuvchining septalangan mitseliy ipchalarining uchlari yo'g'onlashgan, tarmoqlangan (kiyik shoxiga o'xshash – farshda) va arterospora, xlamidosporalar (Microsporum ) bilan bir qatorda, makro-mikrokonidiylar (Trichophyton ) uchraydi.

Serologik usulda qo'zg'atuvchiga qarshi AT KBR, PGAR, PR, IFR va IFA aniqlanadi.

Allergik va biologik usullar ba'zi hollardagina qo'llaniladi.

### **Chuqur (sistemai) mikozlarning laboratoriya diagnostikasi**

Chuqur (sistemali) mikozlarning qo'zg'atuvchilari asosan tuproqda, chiriyotgan chiqindilarda, ba'zida parranda axlatida uchraydi. Zamburug'lar organizmga aerogen yo'l bilan kiradi. Zararlangan odamlarda, odatda, kasallik belgilari kuzatilmaydi. Ba'zi kishilarda kasallik o'pkani va boshqa a'zolari zararlab, og'ir o'tadi. Ko'pchilik qo'zg'atuvchilar dimorf shakldagi zamburug'lar bo'lib, infeksiyalangan organizmda ular achitqisimon shaklni (achitqisimon faza), oziqli muhitlarda esa gif va mitseliylar hosil qiladi. Odamlarda quyidagi kasalliklarni keltirib chiqaradi:

**Kriptokokkoz** – qo'zg'atuvchisi *Cryptococcus neoformans*, kam uchraydigan kasallik, asosan o'pka, MNS va terini shikastlaydi. Qo'zg'atuvchi tuproqda, ko'plab mevalarda va sabzavotlarda, pichan va havoda uchraydi. Odamlarga havo-tomchi, chang orqali yuqadi, ba'zida aleментар yo'l bilan ham yuqishi mumkin. To'qima formasi: makrofaglarda, to'qimada yumaloq hujayralar diametri 3-25 mkm, bitta kichik kurtagi bo'ladi. Yaqqol ko'zga tashlanadigan polisaxaridli kapsulasi bo'ladi. Toza kulturasi – oziqli muhitlarda yaxshi o'sadi (Saburo muhitida qavariq smetanaga o'xshash yuzasi yaltiroq koloniyalar hosil qiladi), surtma qilib ko'rilganda oval shakldagi drojjisimon diametri 4-8 mkm hujayralar ko'rinishida bo'ladi. Immuntanqis kasalliklarida ko'plab uchraydi.

**Gistoplazmoz** – qo'zg'atuvchisi *Histoplasma capsulatum*, retikuloendotelial sistemani jarohatlaydi. O'pkada, oshqozon-ichak sistemasida, halqum va burunda granulemalar hosil qiladi. Qo'zg'atuvchi sporasi havo, chang yo'li bilan odamlarga yuqadi. Kasal odam kasallik manbasi bo'lmaydi.

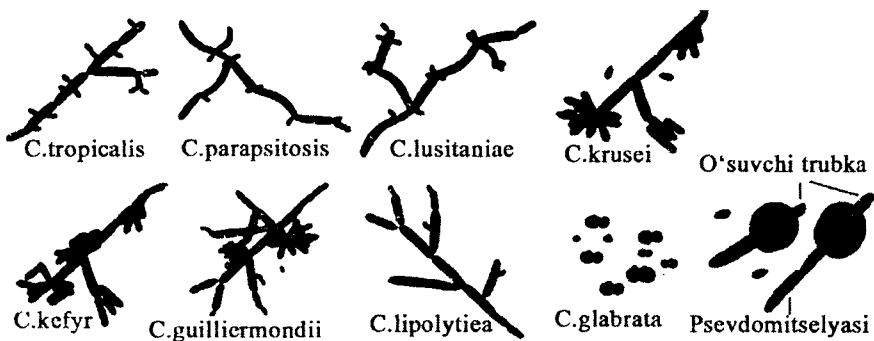
*Histoplasma capsulatum* - makroflaglarda, gistotsitlarda va to'qimada drojjisimon shaklida, Saburo muhitida ko'payganda 20-25°C mitseliy shaklida, 37°C ko'payganda drojjisimon shaklda bo'ladi. Kapsulasi bo'lmaydi.

To'qima shakli: kichik, sal cho'zinchoq, yumaloqlashgan formada, diametri 2-5 mkm, uzunchoq uchidan kurtaklanib ko'payadi.

Toza kulturasida – tarmoqlangan, septalangan mitseliy iplari tutadi. Ularda mikrokonidiy va makrokonidiylar uchraydi. Makrokonidiylari katta noksimon shaklida bo'lib, ulardan tikanaklar chiqib turadi, diametri 8-20 mkm ga teng. Mikrokonidiylari osilib turgan tomchini eslatadi, diametri 2-6 mkm.

**Blastomikoz** (Shimoliy Amerika blastomikozi, Gilkrist kasalligi) – qo'zg'atuvchisi *Blastomyces dermatitidis*. Kasallik surunkali shaklda o'tadi, vitseral shakli o'pkada infiltrat va kaverna hosil qiladi, suyakni, jigar, taloq va jinsiy a'zolari shikastlaydi. Teri formasida qon va yiring saqlovchi papula-papulyoz elementlari kuzatiladi. Tuproqda va chiriyotgan o'simlik qoldiqlarida tarqalgan. Havo, chang yo'li bilan sporasi odamlarga yuqadi. Bular ham Saburo muhitida ko'payganda 20-25°C mitseliy shaklda, 37°C ko'payganda drojjisimon shaklda bo'ladi. Kapsulasi bo'lmaydi.

**Diagnostikasi.** Tekshirish uchun yiring, balg'am, biopstatlar, teri qirmasi olinadi. Tayyorlangan preparat ishqor eritmalarida (30% li o'yuvchi kaliy yoki o'yuvchi natriy) ishlov berilib, gemotaksilin va eozin yoki Gram usullarda bo'yaladi. Mikroskopda katta ikki konturli noksimon, qalin qobiq bilan o'ralgan va bitta kurtakli hujayralar uchraydi. Oziq muhitlardan Saburo muhitida kulrang-sariq koloniyalar hosil qilib yaxshi o'sadi. Serologik usulda KBR qo'yiladi.



105-rasm. Kandida avlodiga mansub zamburug'larning morfologiyasi (sxema)

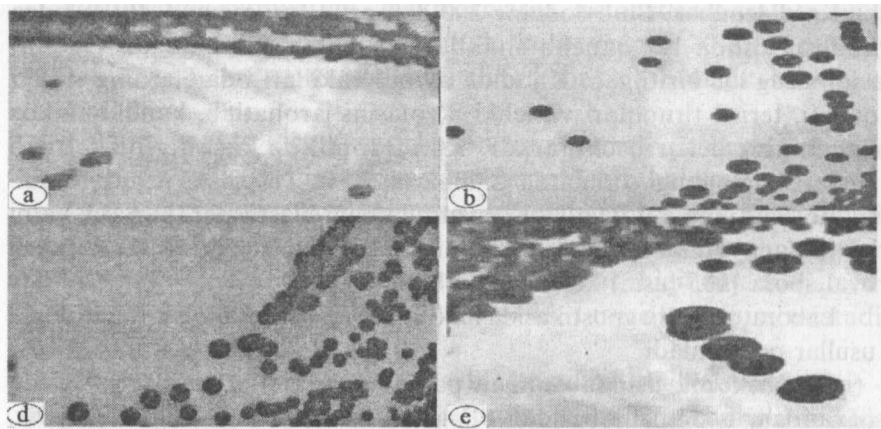
**Kandidamikoz.** Bu avlodning 200 dan ortiq turi mavjud. Bu avlodga hozirgi kunda bir qancha shakllangan va shakllanmagan (tuban) zamburug'lar kiritilgan. Kandida avlodi vakillari odamlarning shilliq qavati, terisi, tirnoqlari va ichki a'zolarini jarohatlab, kandidomikoz kasalligini keltirib chiqaradi. Kandidomikoz kasalligini keltirib chiqarishda oldingi o'rinlarda *C. albicans* va *C. Tropicalis* nehlb turadi. *C. albicans* ning xarakterli xususiyati ulardagi blastospor (kurtak), ya'ni kurtaklanayotgan hujayra va xlomidospor qalin devorli, ikki konturli oval spora (105-rasm) ko'rinishida bo'ladi.

Laboratoriya diagnostikasida mikroskopik, bakteriologik va serologik usullar qo'llaniladi.

Mikroskopik usulda olingan patologik materialdan (og'iz shilliq qavatidan, bodomcha bezidan olingan surtma, yiring, balg'am, siydik, najas, qon, teri va tirnoqdan qirmalar) surtmalar tayyorlanib, nativ va gram usullarda bo'yab ko'riladi. Bunday preparatlarda kandidalar ko'pincha tut yoki uzum shingilini eslatib, g'uj-g'uj tuxumsimon, yumaloq yoki cho'zinchoq achitqisimon hujayralar topiladi. Bu hujayralar yumaloq ko'rinishidan tashqari yo'g'on, kalta yoki uzun iplar shaklida bo'lishi ham mumkin, bularni soxta psevdo mitseliylari deyiladi. Bo'yab ko'rilganda (Romanovskiy usulida) kandidalar pushti-binafsha rangga, qo'shimchalar qizg'ish rangga bo'yaladi. Gram usulida bo'yalganda zamburug'lar to'q binafsha rang oladi yoki tekis bo'yalmaydi, hujayraning chekka qismi binafsha rang, o'rtasi esa och binafsha rang bo'ladi. *C. albicans* mikroskopda tekshirilganda, achitqi zamburug'lariga o'xshab ketadi, lekin ulardan farqlanib, spora hosil qilmaydi. Mikroskop ostida qaralganda 2-4 x 5-7 mkm shakli oval yoki yumaloq blastosporalari ko'rinadi, bir tomonlama yoki ikki tomonlama kurtaklanayotgan qiz hujayralar ko'zga tashlanadi. Soxta mitseliylari ensiz, kattaligi 1,5-2,5 mkm. Shuni aytib o'tish kerakki, ko'rish maydonida 1, 2 dona zamburug' hujayralarining bo'lishi hali kandidoz diagnozini bildirmaydi. Bunday holat sog'lom odamlarda ham uchraydi. Faqat 10-25 dona zamburug'lar bir ko'rish maydonida topilsa, aktiv kandidoz infeksiyasi haqida xulosa chiqarish mumkin.

**Bakteriologik usul.** Patologik material Saburo, Suslo-agar, 2% glyukoza qo'shilgan GPA, glyukoza qo'shilgan GPB ga va hozirgi kunda HIMEDIA kompaniyasi taklif qilgan xromogen agarga ekiladi. Ekmalar termostatda 22-37°C 24-48 soat saqlanadi.

Saburo va Suslo muhitida *C. albicans* oqimtir-krem rangli, yaltiroq, bir tomchi mayonezni eslatuvchi koloniyalar hosil qiladi.



106-rasm. Xromogenli agarda *Candida* zamburug'larining xarakterli, farqlanib o'sishi: a) *Candida albicans*; b) *Candida tropicalis*; v) *Candida crusei*; g) *Candida glabrata*.

Xromogen agarning tarkibi (gramm/litr):

Pepton (maxsus) - 15,0

Drojji ekstrakti - 4,0

Kaliy gidrofosfat - 1,0

Xromogen aralashma - 7,22

Xloramfenikol - 0,50

Agar-agar - 15,0

Tayyorlangandan keyingi rN (25°C da)  $6,3 \pm 0,2$ .

Tayyorlash: 42,72 g poroshok tortib olinib, 1000 ml distillangan suvga to'liq eriguncha aralastirib qaynatiladi (avtoklav qilinmaydi), 50 °C ga sovutib, Petri kosachalariga quyiladi.

*Candida* zamburug'lari uchun xromogen agar selektiv muhit bo'lib, ular yaxshi o'sadi va bu agarda ularni kultural xususiyatlari bo'yicha birlamchi identifikatsiya qilish imkonini beradi (106-rasm). *C. albicans* boshqa achitqi zamburug'laridan farqlanib, β-N-atsetilgalaktosaminidaza ishlab chiqaradi. Oziq muhit tarkibidagi xromogen yoki flyuoressin nur tarqatuvchi geksoamidaz substratlari ferment ta'sirida koloniya rangini o'zgartiradi.

Muhit tarkibidagi pepton va drojji ekstrakti zamburug'larining yaxshi o'sishini ta'minlaydi. Xloramfenikol boshqa bakteriyalar o'sishiga to'sqinlik qiladi. *C. albicans* bu muhitda silliq yashil, *C. tropicalis* – ko'kimtir metal rangli, *C. glabrata* - oqintir krem rangli, *C. krusei* esa purpur rangli koloniyalar hosil qiladi (106-rasm).

Kandida zamburug'larining toza kulturasi ajratib olingandan so'ng ularning patogen turlari achitqi zamburug'laridan bioximik, kultural xususiyatlari bo'yicha identifikatsiya qilinadi.

**Kartoshkali va guruch suvi qo'shilgan bulyonda kandida zamburug'larining xlomidiosporalarini aniqlash.** Kartoshkali va guruch suvi qo'shilgan bulyonga ekilganda 24 soatdan keyin *C. albicans* boshqa zamburug'lardan farqlanib, xlomidiosporalar hosil qiladi.

Saxarolitik xususiyatlari bo'yicha ham ular bir-birlaridan farqlanadi. *C. albicans* va *C. tropicalis* saxarozani parchalaydi, qolgan turlari parchalamaydi.

Serologik usul. Bemor qon zardobidan AT larni AR, KBR, PR va IFA aniqlanadi.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Arifov S., Eshboyev E. Teri va tanosil kasalliklari. –T., 1997-y.
2. Борисов Л.Б. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии.( профессор Н.А. Зокировнинг ўзбек тилига таржимаси) 1992 й.
3. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е издание. – М., « Медицина» 1982 г.
4. Борисов Л.Б и др. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология – учебник. – М., « Медицина» 1994г.
5. Букринская А.Г. Вирусология. –М., 1986 г.
6. Воробьев А.А. Быков А.С. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. –М., МИА, 2003 г.
7. Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология – учебник. –М., МИА, 2004 г.
8. Дуцка И.А., Вассер С.П. Грибы: Справочник миколога и грибника. Киев, 1987г.
9. Караулов А.В. Клиническая иммунология, –М., 1999 г.
10. Коротяев А.М., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология – учебник. –Санкт Петербург, 1998 г.
11. Ройт А. Основы иммунологии (перевод с английского). –М., 1991 г.
12. Muhamedov I.M va boshqalar. Microbiologia, virusologia va immunologia. Darslik, –T., 2002-y.
13. Muhamedov I.M va boshqalar Microbiologia, virusologia va immunologia. Darslik. –Тошкент: 2006 й.
14. Мухамедов И.М., Воробьев А.А., Ньматов А.С., Нуралиев Н.А., Баженова С.С. Учебное пособие по общей микробиологии, –Т., 2008г.
15. Мюмер Э., Лефлер.В. Микология, –М., 1995 г.
16. Поздеев О.К. Медицинская микробиология –учебник. –М., ГОЭТАРМЕД, 2006.
17. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. ГЭОТАР Медицина, –Москва. 1999 г.
18. Петров Р.В. Иммунология. Учебник. –Москва. 1983.
19. Хайтов Р.М. Иммунология, –М., 1996 г.
20. Robert F. Boyd. Basic Medical Microbiology. «LIPPINCOTT WILLIAMS @ WILKINS». 1995. Printed in the United States of America.

QISQARTIRILGAN SO'ZLAR RO'YXATI: .....	3
KIRISH .....	5

### **I BOB. UMUMIY MIKROBIOLOGIYA**

<b>1-MAVZU. MIKROBIOLOGIK LABORATORIYALAR VA ULARNING JIHOZLARI. BAKTERIYALARNING MORFOLOGIYASI</b> .....	6
Bakteriologik, virusologik va serologik laboratoriyalarning tashkil qilinish prinsiplari .....	7
Bakteriologik laboratoriyalarda ishlash qoidalari .....	8
Laboratoriyalarda bakteriyalarni o'stirish, oziq-muhitlarni, anjomlarni sterillash va boshqa maqsadlarda qo'llaniladigan asboblari .....	9
Mikroskop va mikroskopiya qilish usullari .....	12
Metodik ko'rsatmalar .....	17
Mikroorganizmlar morfologiyasi .....	17
Bakteriyalarning morfologiyasi va tuzilishi .....	19
<b>2-MAVZU. BAKTERIYALAR MORFOLOGIYASI VA TUZILISHI.</b>	
GRAM USULIDA BO'YASH .....	22
Uslubiy ko'rsatmalar .....	23
Mikroblarning o'lchamini o'rganish. ....	24
Bakteriya hujayrasining ultra-strukturasi .....	26
Bakteriyalarning harakatchanligi, xivchinlari .....	27
Bakteriyalarni murakkab bo'yash usullari .....	29
<b>3-MAVZU. BAKTERIYALARNING TUZILISHI VA MURAKKAB BO'YASH USULLARI</b> .....	30
Uslubiy ko'rsatmalar .....	31
Bakteriyalarning kapsulasi .....	32
Bakteriyalarning kiritmalari, volyutin donachalari. ....	33
Bakteriyalarning sporasi .....	34
<b>4-MAVZU. SPIROXETA, RIKKETSIIYA, XLAMIDIYA, MIKOPLAZMA VA AKTINOMITSETLAR MORFOLOGIYASI, STRUKTURASI, ULARNI O'RGANISH</b> .....	35
Spirosetlar .....	36
<b>5-MAVZU. MIKROORGANIZMLAR FIZIOLOGIYASI.</b>	
OZIQ MUHITLAR TASNIFI. OZIQ MUHITLARNI TAYYORLASH PRINSIPLARI VA EKISH USULLARI .....	40
Oziqli muhitlar .....	41
Patologik materiallarni oziqli muhitlarga ekish texnikasi .....	48
<b>6-MAVZU. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH VA SOF KULTURA AJRATIB OLISH USULLARI. AEROB BAKTERIYALARNING SOF KULTURASINI AJRATIB OLISH USULLARI</b> .....	53

Aerob bakteriyalarning toza kultura ajratib olish bosqichlari. ....	54
<b>7-MAVZU. ANAEROB BAKTERIYALARNING SOF KULTURASINI AJRATISH. MIKROORGANIZMLARNING HAYOT FAOLIYATI MAHSULOTLARINI (PIGMENTLAR, FERMENTLAR, TOKSINLAR VA BOSHQ.) IDENTIFIKATSIYADA QO'LLANILISHI</b> .....	60
Uslubiy ko'rsatmalar .....	60
Anaerob bakteriyalarning sof kulturasini ajratish .....	62
Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini differensial-diagnostik maqsadda o'rganish .....	62
<b>8-MAVZU. UMUMIY VIRUSOLOGIYA. VIRUSLARNI KO'PAYTIRISH USULLARI. VIRUSLI YUQUMLI KASALLIKLARGA TASHXIS QO'YISH. BAKTERIOFAGLAR</b> ...	68
Viruslar morfologiyasi va ultra-struktura tuzilishi .....	69
Virusologiyada qo'llaniladigan tekshiruv usullari .....	74
Hujayra kulturalari .....	77
Viruslarni undirib olishda tovuq embrionidan foydalanish .....	82
Viruslarni ko'paytirishda laboratoriya hayvonlaridan foydalanish .....	83
Viruslarni identifikatsiya (tiplarini aniqlash) qilish .....	86
Bakteriya viruslari (Bakteriofaglar) .....	88
<b>9-MAVZU. MIKROORGANIZMLARGA TASHQI MUHIT OMILLARINING TA'SIRI. STERILLASHNING SIFATINI, DEZINFEKSIYA VA ANTISEPTIK MODDALARNING TA'SIRINI O'RGANISH USULLARI</b> .....	93
Tashqi muhit omillarining mikroorganizmlarga ta'siri .....	94
<b>10-MAVZU. XIMIYATERAPEVTIK MODDALAR VA ANTIBIOTIKLAR. MIKROORGANIZMLARNING ANTIBIOTIKLARGA SEZGIRLIGINI ANIQLASH</b> .....	102
Antibiotiklar .....	104
Bakteriyalarning antibiotiklarga sezgirliğini aniqlashning yangi usullari	113
<b>11-MAVZU. MIKROORGANIZMLAR EKOLOGIYASI. TUPROQ, SUV, HAVO MIKROFLORASI. ATROF-MUHIT OBYEKTLARINI SANITARIYA-BAKTERIOLOGIYA JIHATDAN BAHOLASH</b> ...	114
Mikroorganizmlar ekologiyasi .....	114
Havo mikroflorasi .....	118
Atrof-muhit obyektlarini sanitariya-bakteriologiya jihatdan baholash .....	119
Tuproqni sanitar-mikrobiologik tekshirish .....	124
Havoni sanitar-mikrobiologik tekshirish .....	131
<b>12-MAVZU. ODAM ORGANIZMI NORMAL MIKROFLORASI. BOLALARDA MIKROFLORA SHAKLLANISHI VA ULARNI O'RGANISH USULLARI</b> .....	134
Odanning normal mikroflorasi. ....	135
Ichak mikroflorasi, uning bolalarda shakllanishi va disbakterioz .....	136



Qin (vaginal) mikroflorasi, uning qiz bolalarda shakllanishi va undagi disbiotik holatlar .....	140
Ichak va vaginal mikrobiosenozining sifat va miqdoriy tarkibini o'rganish usullari .....	144
<b>13-MAVZU. BAKTERIYALAR GENETIKASI, YUQUMLI KASALLIKLAR VA ULARNING KECHISH JARAYONLARI ....</b>	<b>148</b>
Bakteriyalar irsiy materialining tuzilishi .....	149
Bakteriyalardagi o'zgaruvchanlik turlari .....	151
Yuqumli kasalliklar va ularning kechish jarayonlari. ....	154
Yuqumli kasallik qo'zg'atuvchisi va ularning xususiyatlari .....	154
Yuqumli kasalliklar diagnostikasida zamonaviy molekulyar genetik usullar .....	159
Laboratoriya hayvonlariga mikroorganizmlarni eksperimental yuqtirish	162
Patogen bakteriyalar virulentligi va toksinlar kuchini baholash usullari ..	164

## **II BOB. IMMUNOLOGIYA**

<b>14-MAVZU. IMMUNITET HAQIDA TUSHUNCHA. IMMUNITET TURLARI. ORGANIZMNING MAXSUS VA NOMAXSUS HIMOYA OMILLARI .....</b>	<b>166</b>
Immunitet va organizmning himoyalaniş omillari .....	166
Organizmning nomaxsus himoyalanişini .....	168
So'lak tarkibidagi lizotsim fermentini tajribada qog'ozli disk usulida aniqlash. ....	172
Odam periferik qonidagi neytrofillarning fogsitar aktivligini (NFA) aniqlash .....	174
<b>15-MAVZU. ANTIGEN VA ANTITELALAR. SEROLOGIK REAKSIYALAR HAQIDA TUSHUNCHA. AGGLYUTINATSIYA REAKSIYASI, QO'YILISHI, AHAMIYATI .....</b>	<b>176</b>
Antigenlar .....	176
Antitelalar .....	178
Agglyutinatsiya reaksiyasi .....	181
<b>16-MAVZU. SEROLOGIK REAKSIYALAR: KOMPLEMENTNI BOG'LASH, BEVOSITA, BILVOSITA GEMAGGLYUTINATSIYA, IMMUNOFLYUORESSENT VA KUMBS REAKSIYALARI, QO'YILISHI VA AHAMIYATI .....</b>	<b>185</b>
Kumbs reaksiyasi (KR).....	187
Bevosita va bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (BGR).....	188
Immunflyuorescent usul. ....	189
Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yish .....	193
<b>17-MAVZU. SEROLOGIK REAKSIYALAR: PRETSIPITATSIYA REAKSIYASI, IFA, IMMUNOBLOTING REAKSIYALARI VA BOSHQA SEROLOGIK REAKSIYALARNING QO'YILISHI VA AHAMIYATI .....</b>	<b>194</b>
Pretsipitatsiya reaksiyasi .....	195

Immunoferment analiz usuli (IFA) .....	197
Immunobloting reaksiyasi. ....	198
<b>18-MAVZU. IMMUN ORGANLAR. T VA V LIMFOTSITLAR SISTEMASI VA ULARNING SUBPOPULYATSIYALARI, ULARNING ORGANIZMDAGI IMMUN REAKSIYALARDAGI AHAMIYATI. IMMUN TIZIMGA BAHO BERISH USULLARI ..</b>	<b>199</b>
Immun tizimga baho berish usullari. ....	203
<b>19-MAVZU. IMMUNOPROFILAKTIKA VA IMMUNOTERAPIYA</b>	<b>210</b>
Vaksinalar .....	212
Zardobli immun preparatlar. ....	215
Immunomodulyatorlar .....	216

### ***III BOB. XUSUSIY MIKROBIOLOGIYA***

<b>YUQUMLI KASALLIKLARGA MIKROBIOLOGIK, VIRUSOLOGIK, MIKOLOGIK VA PARAZITOLOGIK USULLAR BILAN DIAGNOZ. QO'YISH HAMDA KLINIK MIKROBIOLOGIYA .....</b>	<b>220</b>
Mikrobiologik tekshirish uchun materiallar olish .....	221
Materialni laboratoriyaga yuborish va tekshirish usullari .....	223
<b>20-MAVZU. YIRINGLI-YALLIG'LANISH KASALLIKLARINI KELTIRIB CHIQARUVCHI MIKROORGANIZMLAR .....</b>	<b>227</b>
Stafilokokk yuqumli kasalliklarining bakteriologik diagnostikasi .....	230
Streptokokk yuqumli kasalliklarining bakteriologik diagnostikasi .....	234
Ko'k yashil yiring tayoqchasi yuqumli kasalligi qo'zg'atuvchisining bakteriologik diagnostikasi. ....	242
Spora hosil qilmaydigan anaerob bakteriyalar keltirib chiqargan yiringli – yallig'lanish jarayonlarining mikrobiologik diagnostikasi .....	244
<b>21-MAVZU. JAROHAT ANAEROB INFEKSIYALAR: GAZLI GANGRENA, QOQSHOL QO'ZG'ATUVCHILARI .....</b>	<b>247</b>
Gazli gangrena jarohat anaerob infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi .....	248
Qoqsholning bakteriologik diagnostikasi .....	252
<b>22-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: PNEVMOKOKK, MENINGOKOKK, KLEBSIYELLA, LEGIONELLALAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>254</b>
Havo-tomchi infeksiyalarning qo'zg'atuvchilari .....	256
Pnevmokokklar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi .....	257
Meningokokklar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi .....	260
Legionellalar keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi .....	264
Klebsiyellalar nafas yo'llarida keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik diagnostikasi .....	266

23-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: BO'G'MA (DIFTERIYA), KO'KYO'TAL VA PARAKOKLYUSH QO'ZG'ATUVCHILARINING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	269
Bo'g'ma (difteriya) qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi .....	270
Koklyush va parakoklyush (ko'kyo'tallarni) qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi .....	274
24-MAVZU. HAVO-TOMCHI INFEKSIYALARI: TUBERKULYOZ, MOXOV VA AKTINOMIKOZ QO'ZG'ATUVCHILARINING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	279
Sil kasalligining mikrobiologik diagnostikasi.....	280
Aktinomikozning mikrobiologik diagnostikasi .....	287
Ichak infeksiyalari qo'zg'atuvchilari .....	290
25-MAVZU. ICHAK INFEKSIYALARI: ICHAK TAYOQCHASI VA IYERSINIYALAR KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	292
Enteropatogen E.coli keltirib chiqaruvchi kasalliklar diagnostikasi .....	293
Iersinozlar mikrobiologik diagnostikasi.....	296
26-MAVZU. QORIN TIFI VA PARATIF A VA V QO'ZG'ATUVCHILARI KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	298
27-MAVZU. OVQATDAN ZAHARLANISHNI KELITIRIB CHIQARUVCHI MIKROORGANIZMLAR: SALMONELLALAR, BOTULIZM, PROTEY VA BOSHQA BAKTERIYALAR, MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	304
Ovqat toksikoinfeksiyalari. ....	306
28-MAVZU. DIZENTERIYA (ICHBURUG') VA VABO QO'ZG'ATUVCHILARI KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	309
Vaboning mikrobiologik diagnostikasi .....	313
Ichak yuqumli kasalliklarida qo'llanadigan diagnostik, profilaktik va davolash preparatlari. ....	318
29-MAVZU. O'TA XAVFLI INFEKSIYALAR: KUYDIRGI (SIBIR YARASI) VA O'LAT QO'ZG'ATUVCHILARI KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	321
Zoonoz infeksiya qo'zg'atuvchilari .....	321
Kuydirgi kasalligining mikrobiologik diagnostikasi.....	322
O'lat (toun) kasalligining mikrobiologik diagnostikasi .....	326
30-MAVZU. O'TA XAVFLI INFEKSIYALAR: BRUTSELLYOZ VA TULYAREMIYA QO'ZG'ATUVCHILARI KELITIRIB CHIQARGAN KASALLIKLAR MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....	330
Tulyaremiya kasalligining mikrobiologik diagnostikasi .....	330
Brutsellyoz kasalligining mikrobiologik diagnostikasi .....	334

O'ta xavfli yuqumli kasalliklarning diagnostikasi, profilaktikasi va davolanishida qo'llaniluvchi preparatlar .....	338
<b>31-MAVZU. TERI-TANOSIL YUQUMLI KASALLIK QO'ZG'ATUVCHILARI ZAXM, SO'ZAK, MIKOPLAZMA, XLAMIDIYA VA BOSHQALAR. ULARNING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>339</b>
So'zak (gonoreya, tripper) kasalligining mikrobiologik diagnostikasi .....	340
Zaxmning mikrobiologik diagnostikasi .....	343
Siydik-tanosil a'zolari mikoplazmozining mikrobiologik diagnostikasi ...	349
Siydik-tanosil a'zolari xlamidozining mikrobiologik diagnostikasi .....	351
<b>32-MAVZU. TRANSMISSIV INFEKSIYALAR: RIKKETSIOZLAR, BORRELIYALAR, LEPTOSPIROZLAR. ULARNING MIKROBIOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>353</b>
Rikketsiozlarning mikrobiologik diagnostikasi .....	354
Qaytalama tifning mikrobiologik diagnostikasi .....	359
Leptospirozlarning mikrobiologik diagnostikasi .....	361
<b>VIRUSLAR KELITIRIB CHIQRUVCHI YUQUMLI KASALLIKLARNING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>365</b>
O'tkir respirator virusli infeksiyalar qo'zg'atuvchilari .....	366
<b>33-MAVZU. O'TKIR RESPIRATOR VIRUSLI INFEKSIYALAR: ORTO- VA PARAMIKSOVIRUSLAR OILASIGA KIRUVCHII VIRUSLARINING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>368</b>
<b>34-MAVZU. O'TKIR NEYROTROP VIRUSLI INFEKSIYALAR: POLIOMIYELIT, KOKSAKI, ECHO VA QUTIRISH VIRUSLARINING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>379</b>
Neyrotrop virus infeksiyasi qo'zg'atuvchilari .....	380
Poliomiyelit, Koksaki va ECHO viruslari qo'zg'atgan kasalliklarning virusologik va serologik diagnostikasi .....	381
Qutirish kasalligining laboratoriya diagnostikasi .....	386
Togoviridaye, Bunyaviridaye, Flaviviridaye va Arenaviridaye oilasi viruslari keltirib chiqaruvchi kasalliklar diagnostikasi .....	387
<b>35-MAVZU. GERPEVIRUSLAR, POKSVIRUSLAR, ADENOVIRUSLAR KELITIRIB CHIQRARGAN KASALLIKLARNING VIRUSOLOGIK DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>388</b>
DNK saqlovchi (dermotrop) viruslar(gerpesviruslar, poksviruslar, adenoviruslar, papovaviruslar, parvoviruslar) keltirib chiqaruvchi infeksiyalarning virusologik diagnostikasi .....	389
Chinchechak virusining laboratoriya diagnostikasi .....	394
<b>36-MAVZU: GEPATIT VIRUSLARI VA ULARNING LABORATORIYA DIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>397</b>
Gepatotrop viruslar .....	397
<b>37-MAVZU. "ORTTIRILGAN IMMUN TANQISLIGI VIRUSI" (OITV) GA XARAKTERISTIKA VA LABORATORIYA</b>	

DIAGNOSTIKASI .....	404
38-MAVZU. KASALXONA ICHIDA TARQALUVCHI YUQUMLI KASALLIK QO'ZG'ATUVCHILARI. ZAMBURUG'LAR KELTIRIB CHIQRUVCHI KASALLIKLAR. LABORATORIYA TASHXISI .....	409
KTYuK ning mikrobiologik diagnostikasi .....	412
Zamburug'lar keltirib chiqaruvchi kasalliklar .....	413
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR .....	428

*O'quv-uslubiy nashr*

SH.R.ALIYEV, I.M.MUHAMEDOV, Z.A.NURUZOVA,  
SH.A.XO'JAYEVA, A.M.DAVUROV, F.X.RASULOV

**MIKROBIOLOGIYADAN  
LABORATORIYA MASHG'ULOTLARIGA  
DOIR QO'LLANMA**

Muharrir  
Gavhar MIRZAYEVA

Musahhih  
Nilufar JABBOROVA

Badiiy muharrir  
Uyg'un SOLIHOV

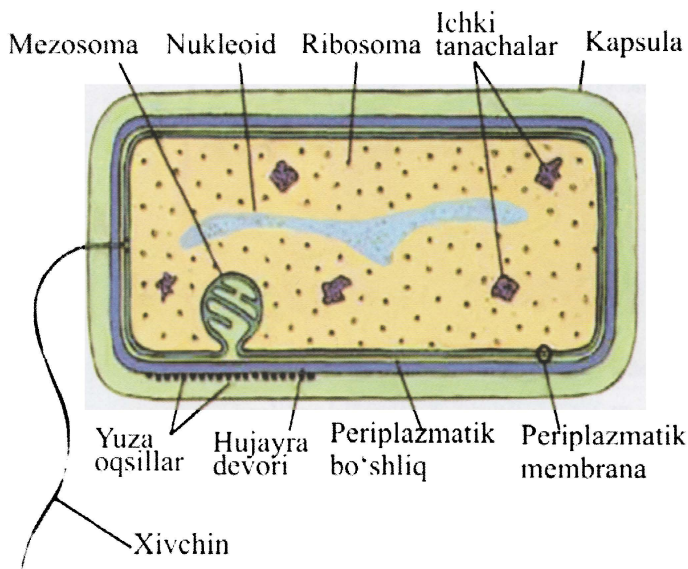
Kompyuterda sahifalovchi  
Feruza BOTIROVA

Bosishga 27.02.2013-y.da ruxsat etildi. Bichimi 60x90 1\16.  
Bosma tobog'i 27.25+vkl.1,5. Shartli bosma tobog'i 27,25+vkl. 1,5.  
Garnitura «LexTimes Cyr+Uzb». Ofset qog'oz.  
Adadi 700 nusxa. Buyurtma № 55.  
Bahosi kelishilgan narxda.

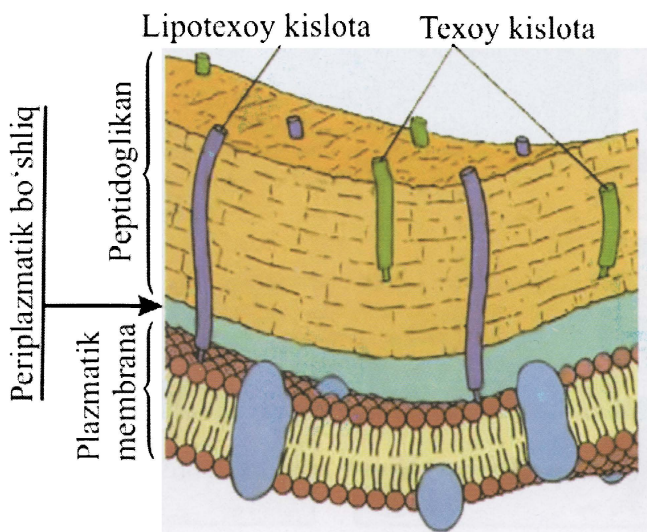
«Yangi asr avlodi» NMMda tayyorlandi.  
Litsenziya raqami: AI № 198. 2011-yil 28.08 da berilgan.  
«Yoshlar matbuoti» bosmaxonasida bosildi.  
100113. Toshkent, Chilonzor-8, Qatortol ko'chasi, 60.

***Murojaat uchun telefonlar:***

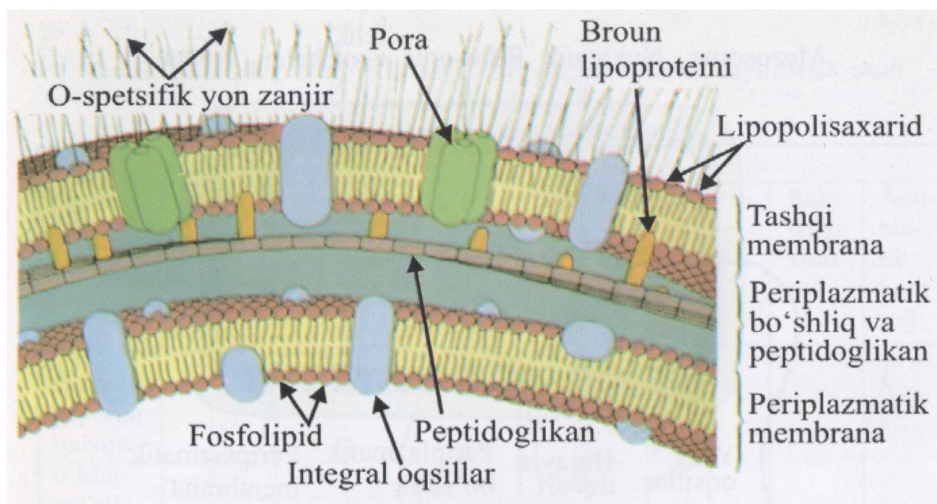
Nashr bo'limi – 278-36-89; Marketing bo'limi – 128-78-43  
faks – 273-00-14; web-saytimiz: [www.yangiasr.uz](http://www.yangiasr.uz)  
internet-do'kon: [www.yangidavr.uz](http://www.yangidavr.uz) e-mail: [yangiasravlodi@mail.ru](mailto:yangiasravlodi@mail.ru)



12-rasm. Bakteriya hujayrasining strukturasi








13-rasm. Grammusbat bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi



14-rasm. Grammanfiy bakteriyalar hujayra devorining tuzilishi

### Gram usuli bilan bo'yash

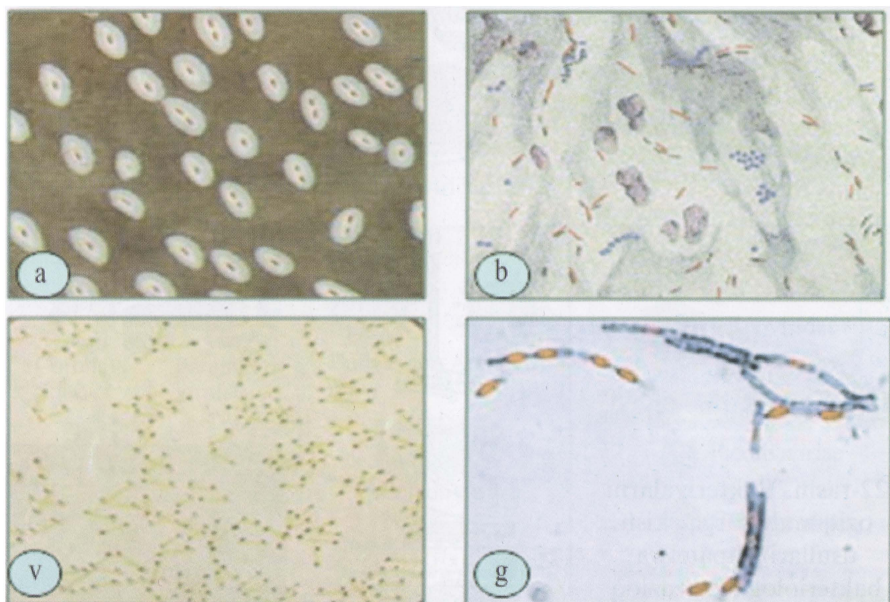
	▶ Fiksatsiyalangan surtma gensian binafsha bilan 2 daqiqa bo'yaladi.
	▶ Lyugol eritmasi tomizilib, 1 daqiqa ushlab turiladi.
	▶ Etil spirti tomizilib, 20-30 soniya ushlab turiladi.
	▶ Preparat suv bilan yuvilib, qaytadan fuksinning suvli eritmasi bilan 1-2 daqiqa bo'yaladi.
	▶ Grammusbat bakteriyalar to'q binafsha, grammanfiylar esa qizil rangga bo'yaladi.

16-rasm. Bakteriyalarning murakkab bo'yash usuli

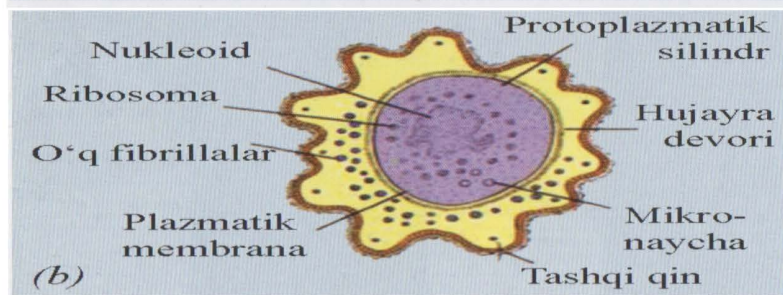


Yupqa devorli grammanfiy bakteriyalar		Qalin devorli grammusbat bakteriyalar	
Meningokokklar		Pnevmonokokklar	
Gonokokklar		Streptokokklar	
Veylonellalar		Stafilokokklar	
Tayoqchalar		Tayoqchalar	
Vibrionlar		Batsillalar	
Kampilobakteriyalar		Klostridiyalar	
Spirillalar		Korinobakteriyalar	
Spiroketalar		Mikobakteriyalar	
Rikketsiyalar		Bifidobakteriyalar	
Xlamidiyalar		Aktinomitsetlar	

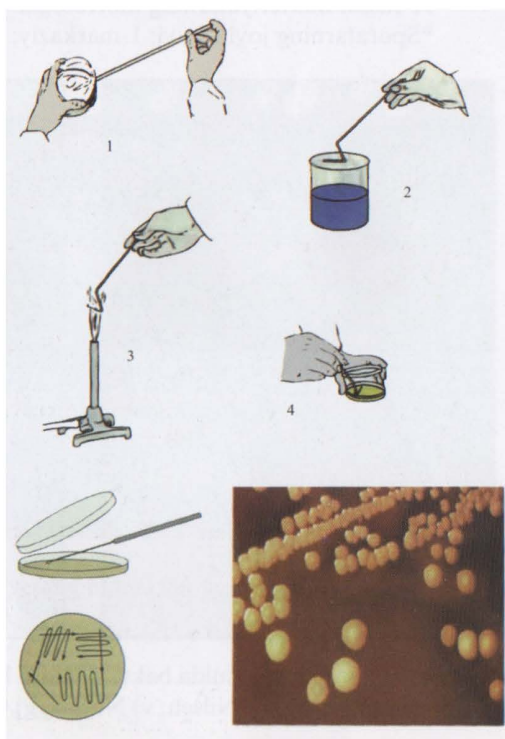
17-rasm. Bakteriyalarning morfologik va tinktorial xususiyatlari.  
 \*Sporalarning joylashuvi: 1-markaziy; 2-subterminal; 3-terminal



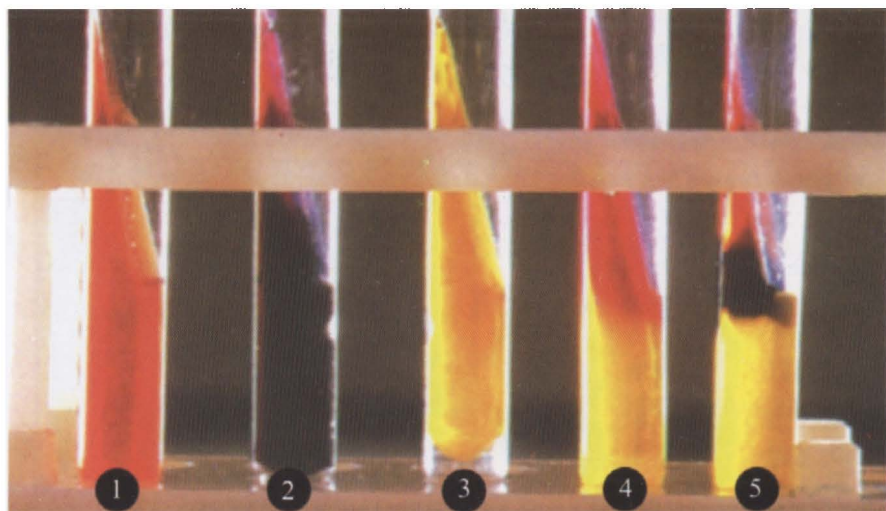
18-rasm. Murakkab usulda bakteriyalarni bo'yash. a) Ginsi-Burri; b) Sil-Nilsen; v) Neyser; g) Ojeshko



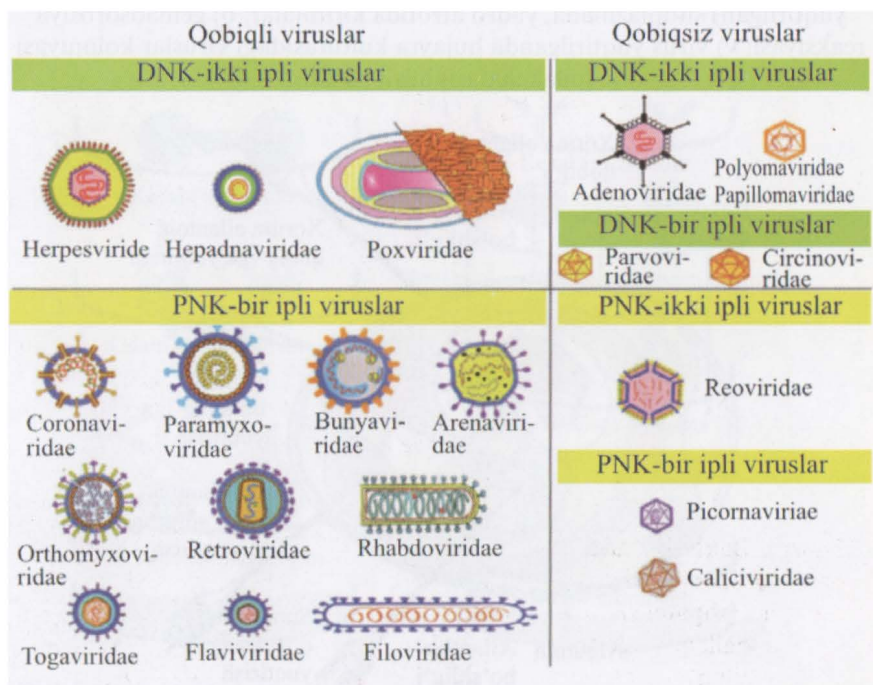
20-rasm. Spiroxetalarning struktura tuzilishi: a) tashqi tomondan ko'rinishi; b) ko'ndalang kesimi



22-rasm. Bakteriyalarni oziq muhitlarga ekish usullari (shpatel va bakteriologik qovuzloq bilan)

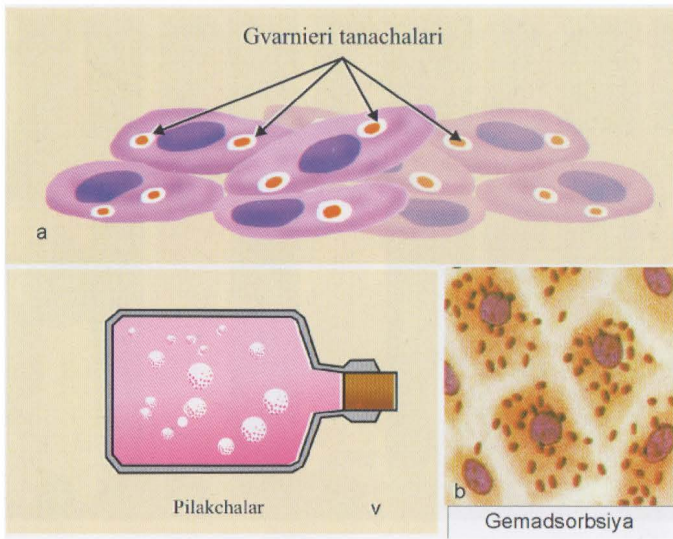


27-rasm. Uch qandli Kliger muhitida ichak bakteriyalarining fermentativ xususiyatlari: 1-kontrol; 2-Sol.typhimurium; 3-E.coli; 4-Sh.fltxneri Sol.typhi

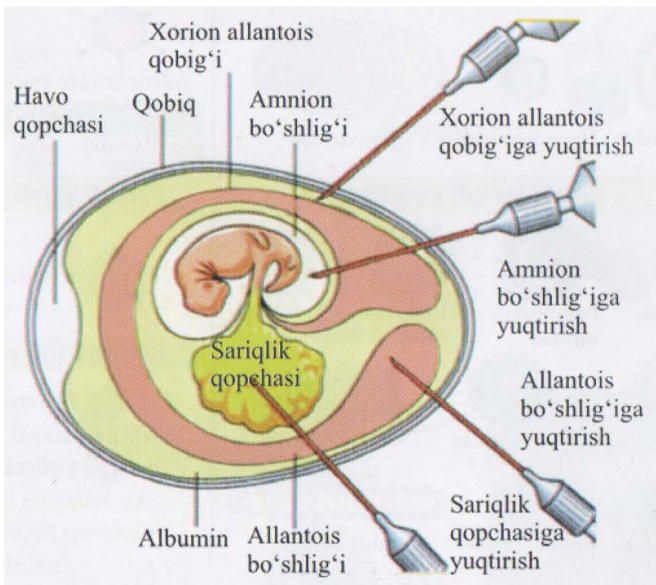


32-rasm. Odamlarda asosiy kasallik keltirib chiqaruvchi viruslar morfologiyasi va o'lehamlari

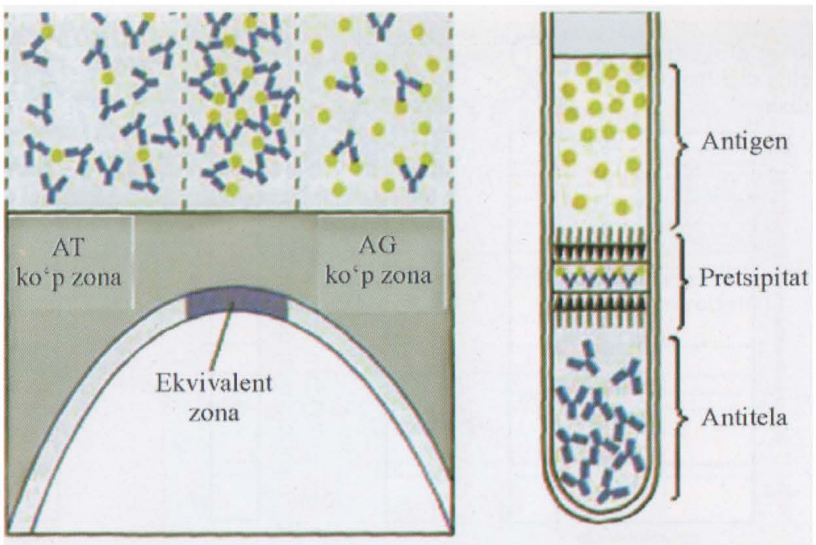




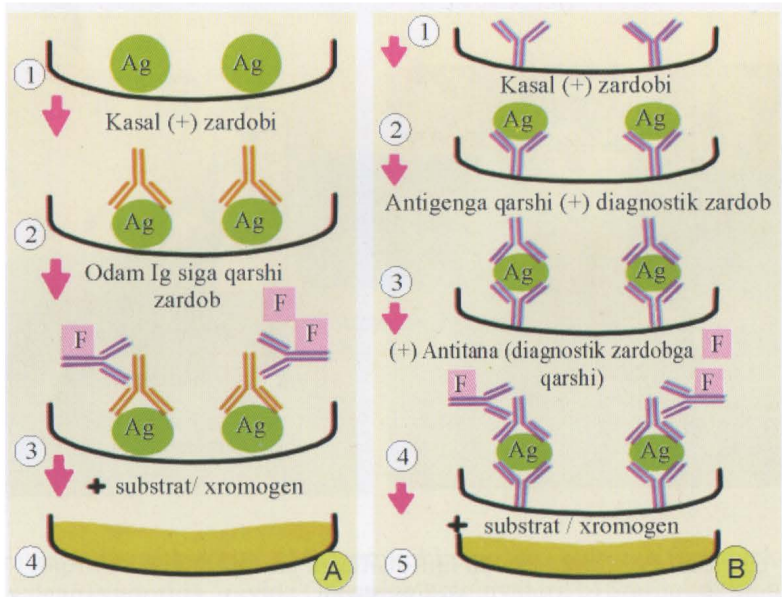
34-rasm. Viruslarning hujayraga sitopatik ta'siri: a) Quyon ko'z muzuz pardasidan olingan gistologik kesma preparat (chinchekak virusi yuqtirilgan) sitoplazmada, yadro atrofida kiritmalar; b) gemadsorbsiya reaksiyasi; v) virus yuqtirilganda hujayra kulturasidagi viruslar koloniyasi (pilakchalari) hosil bo'lishi



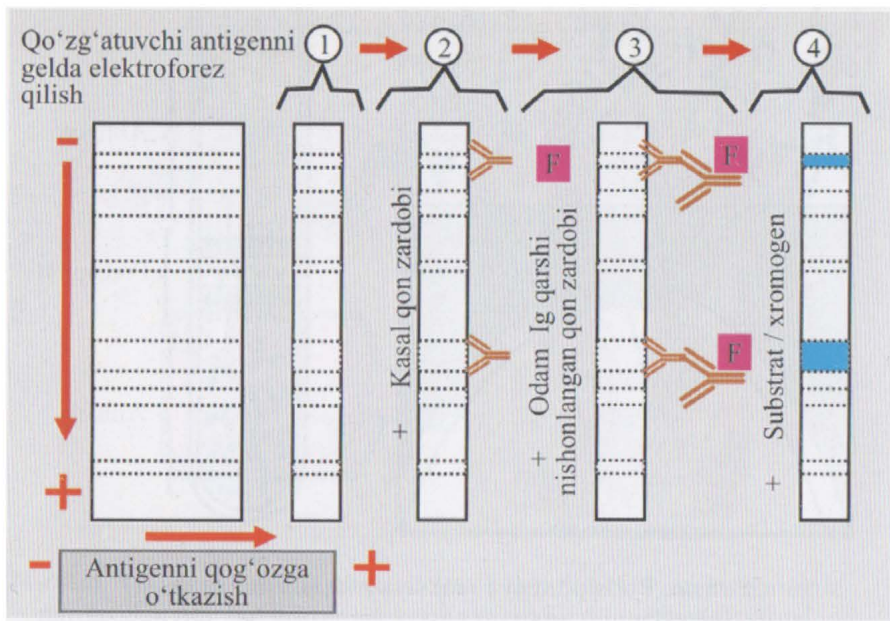
36-rasm. Tovuq embrionining (8-10 kunlik) sxematik ko'rinishi



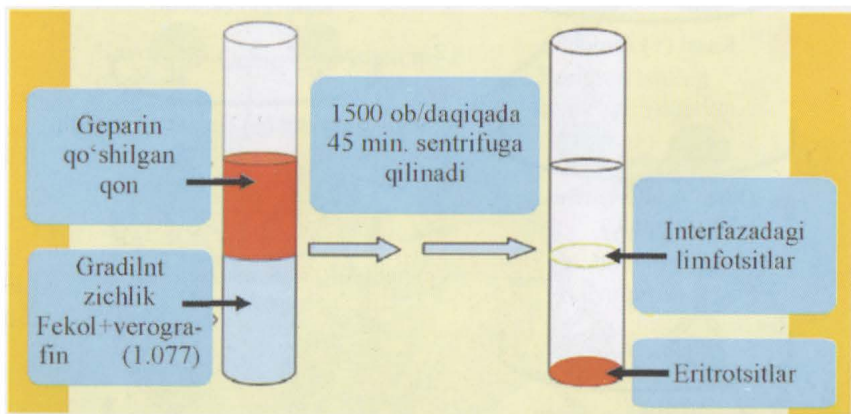
58-rasm. Pretsipitatsiya reaksiya mexanizmi (sxemasi)



59-rasm. Immunoferment analiz (IFA), sxematik mexanizmi: a) bevosita; b) bilvosita usullari.

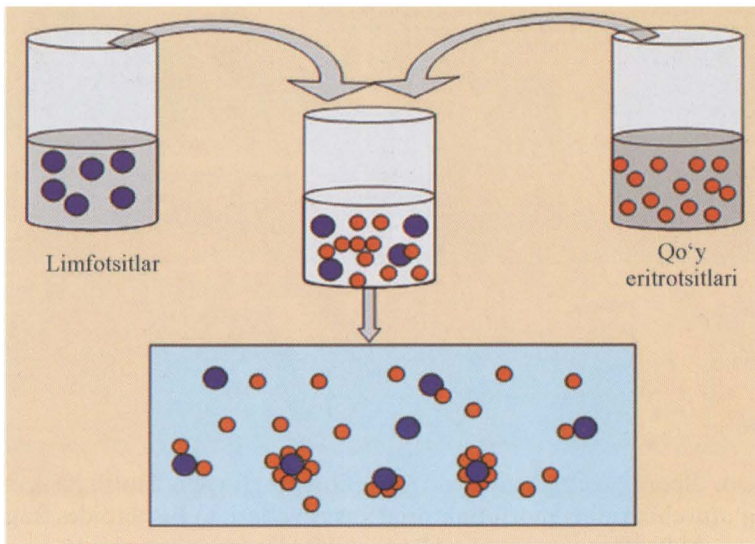


60-rasm. Immunobloting reaksiyasini o'tkazish sxemasi



62-rasm. Periferik qondan limfotsitlarni gradiyent zichlik orqali ajratib olish

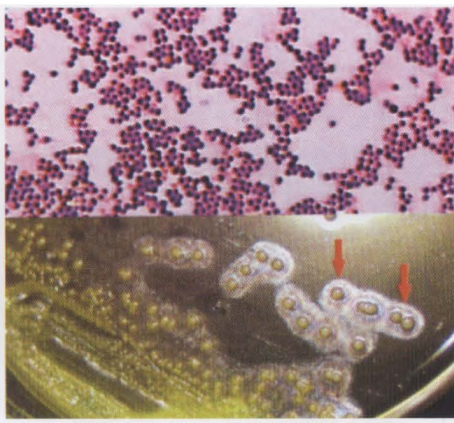
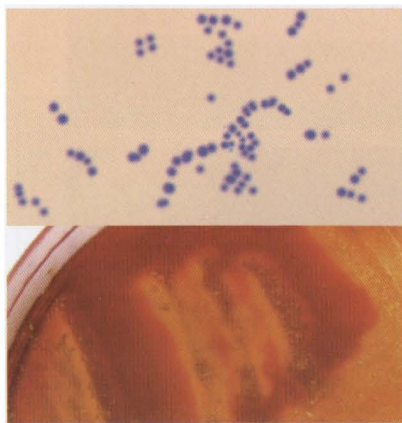




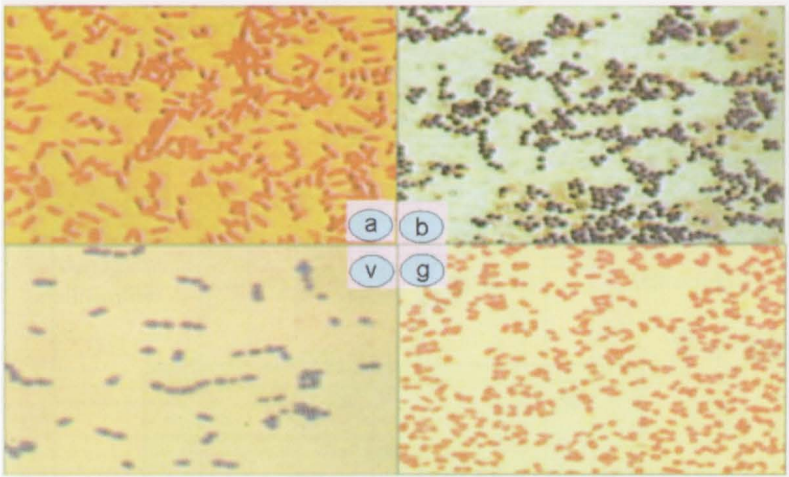
63-rasm. T-limfotsitlarning periferik qondagi miqdorini (E-ROK usulida, sxema) aniqlash

**a**

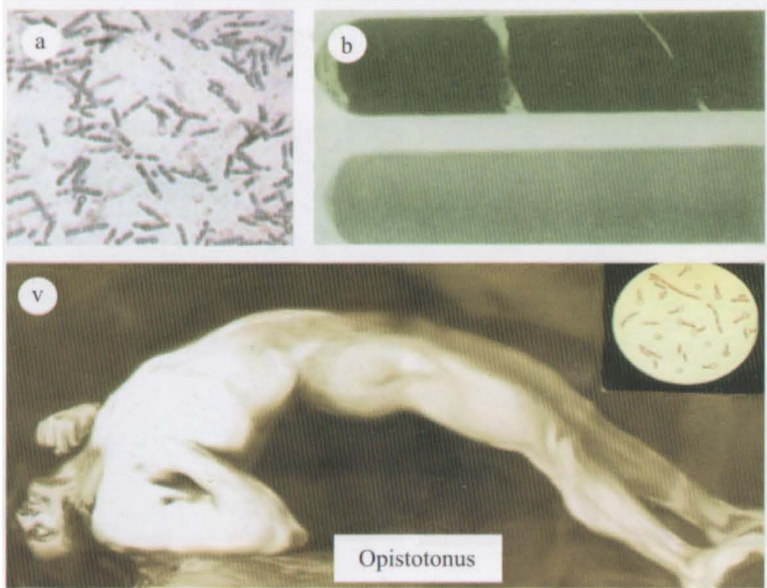
**b**



68-rasm. Patogen kokklar. a) Streptokokkning toza kulturasi (metilin ko'kida bo'yalgan) yuqorida, quyida QA uning koloniyalari; b) Stafilokokkning toza kulturasi (Gram usulida bo'yalgan) yuqorida, quyida TSTA ning koloniyalari (letsitovitilaza musbat koloniyalar strelka bilan ko'rsatilgan)

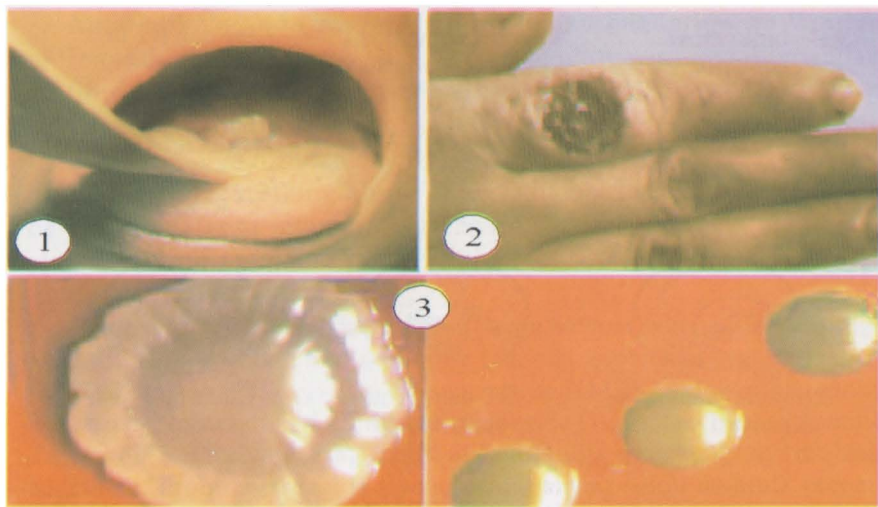


72-rasm. Spora hosil qilmaydigan anaerob yiringli-yallig'lanish jarayonlari qo'zg'atuvchilarining morfotinktorial xususiyatlari: a) *Bacteroides fragilis*; b) *Peptococcus niger*; v) *Peptostreptococcus anayerobius*; g) *Veillonella parvula*

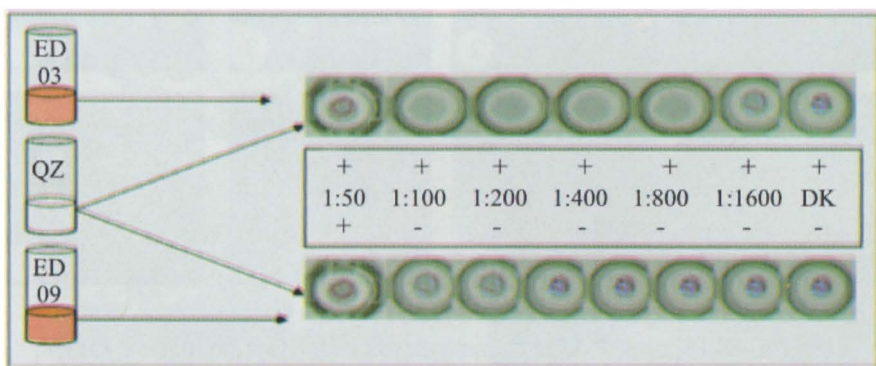


73-rasm. Anaerob jarohat kasallik qo'zg'atuvchilari. a) *Cl. perfringens* ni toza kulturasi, Gram usulida bo'yalgan; b) Vilson - Bler muhitli agarda *Cl. perfringens* o'stirilgan, muhit qoraygan, chetlari kesilib, yorilgan (yuqorisida); v) qoqsholning klassik ko'rinishi

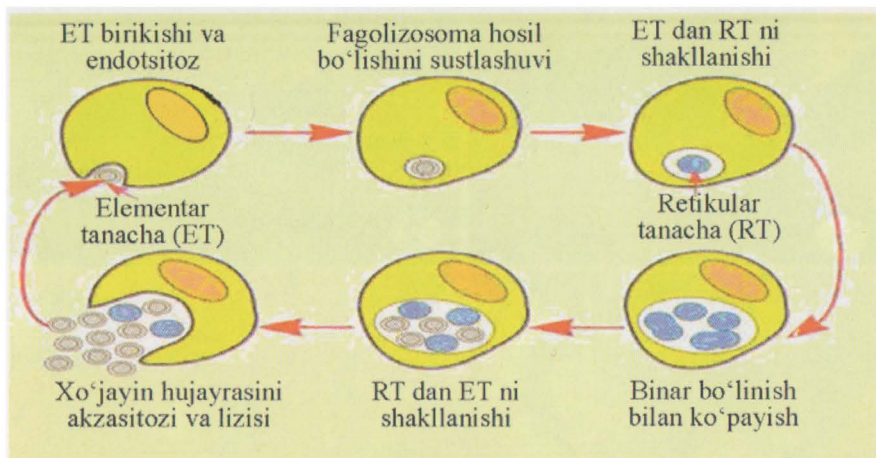




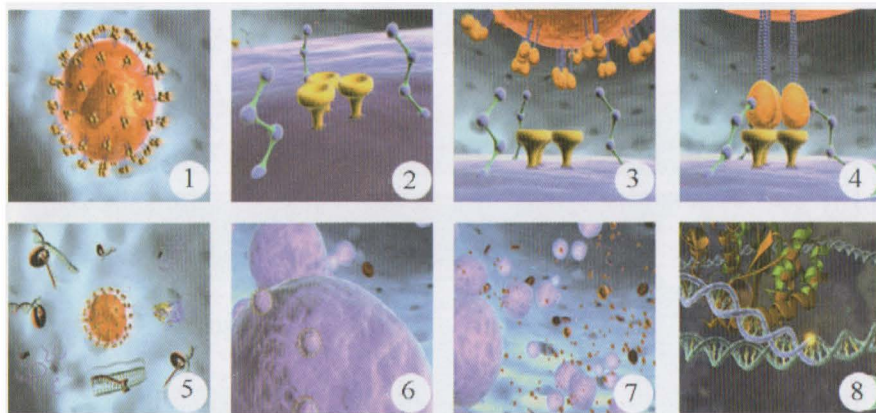
76-rasm. Bo'g'ma qo'zg'atuvchisining klinik va bakteriologik xususiyatlari:  
 1. Bo'g'maning tomoq formasi; 2. Bo'g'maning qo'l teri nekrotik formasi; 3.  
 Bo'g'maning gravis biovari (chapda, ko'rinishi marvarid gulini eslatadi)  
 mitis biovari (o'ngda, yuzasi silliq, yumaloq, qirralari tekis).



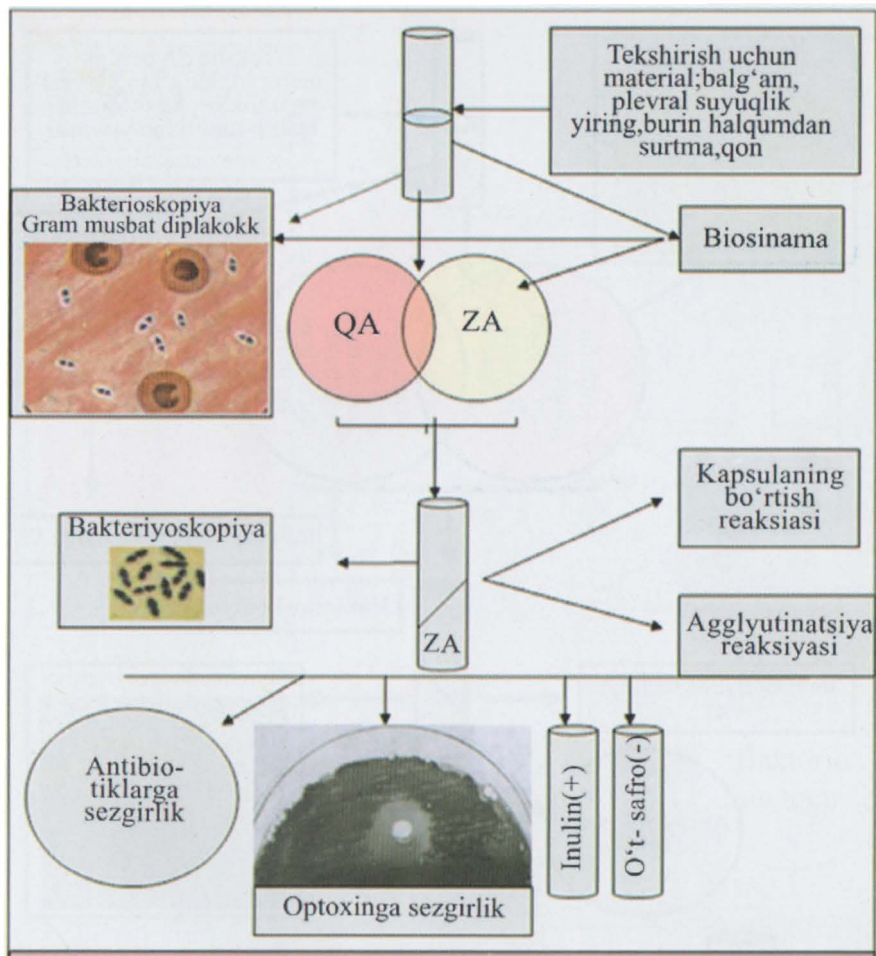
80-rasm. I. Intercolitica ning eritrotsitlar diagnostikumi bilan BGAR  
 qo'yish



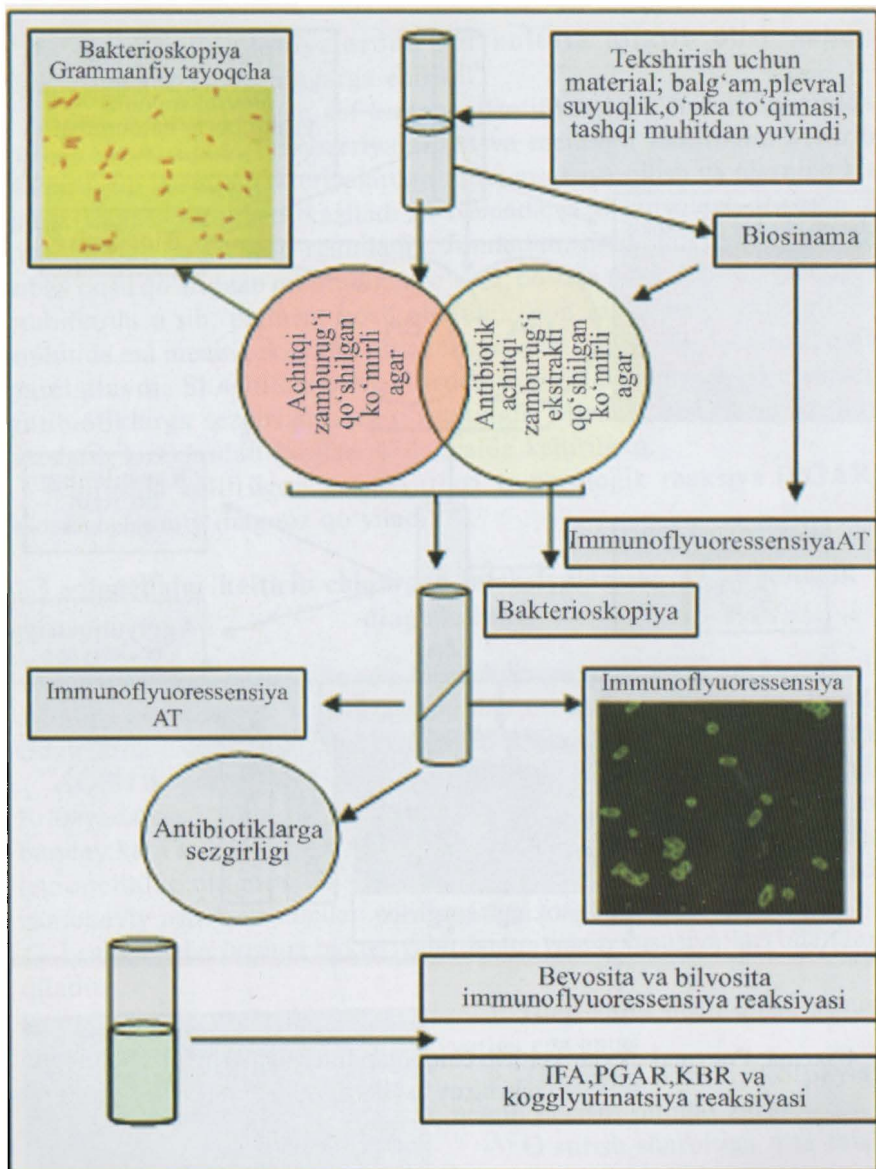
82-rasm. *C. trachomatis* ning replikativ davri (sxema)



98-rasm. OITV ning T-xelper hujayralarda ko'payish sxemasi: 1. OITV; 2. T-xelper limfotsitlarning SD4 retseptorlari; 3. OITV ning T-xelperlarga yaqinlashuvi; 4. OITV ning ST4 retseptorlarga birikishi; 5. OITV ni hujayrada ko'payishi; 6. OITV ning hujayradan chiqishi; 7. OITV ning qondagi ko'rinishi; 8. OITV genomining hujayra genomiga integratsiya bo'lishi

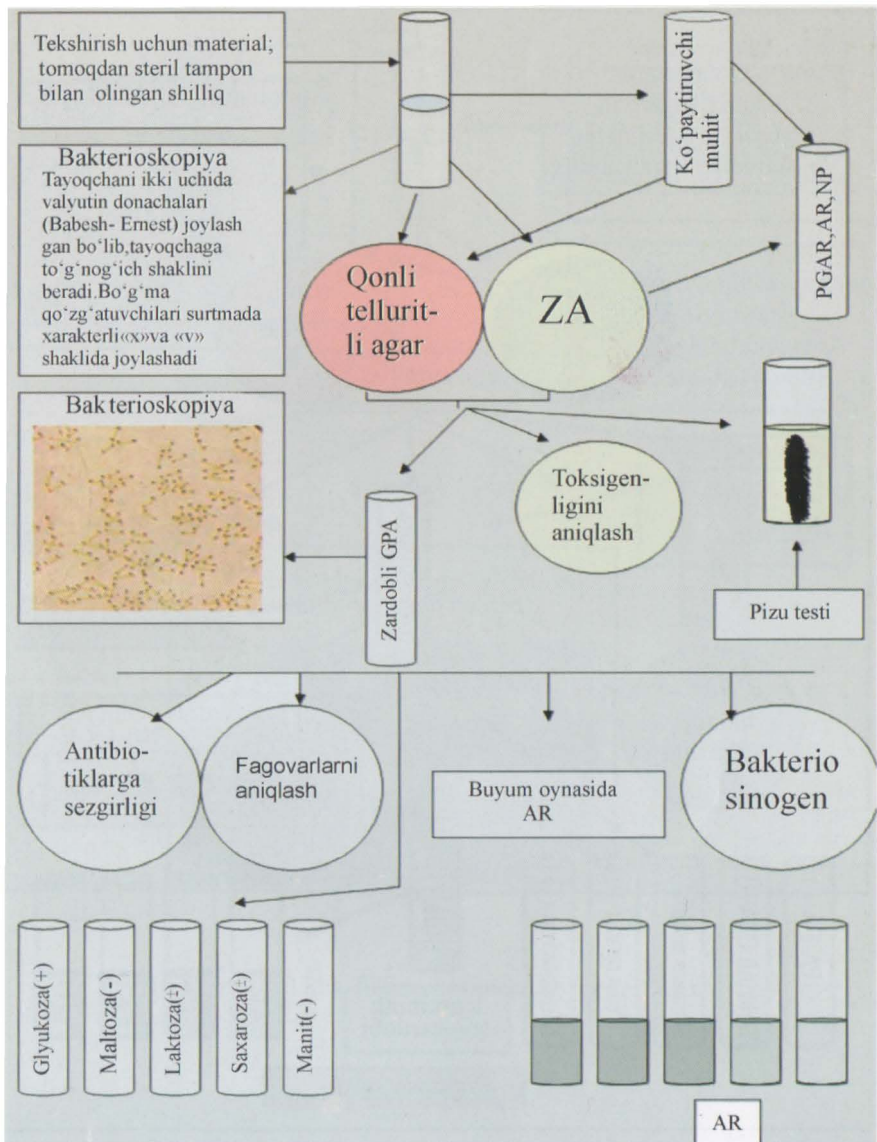


4-sxema. Pnevmonokoklar keltirib chiqargan infeksiyalarni mikrobiologik tekshiruv usullari

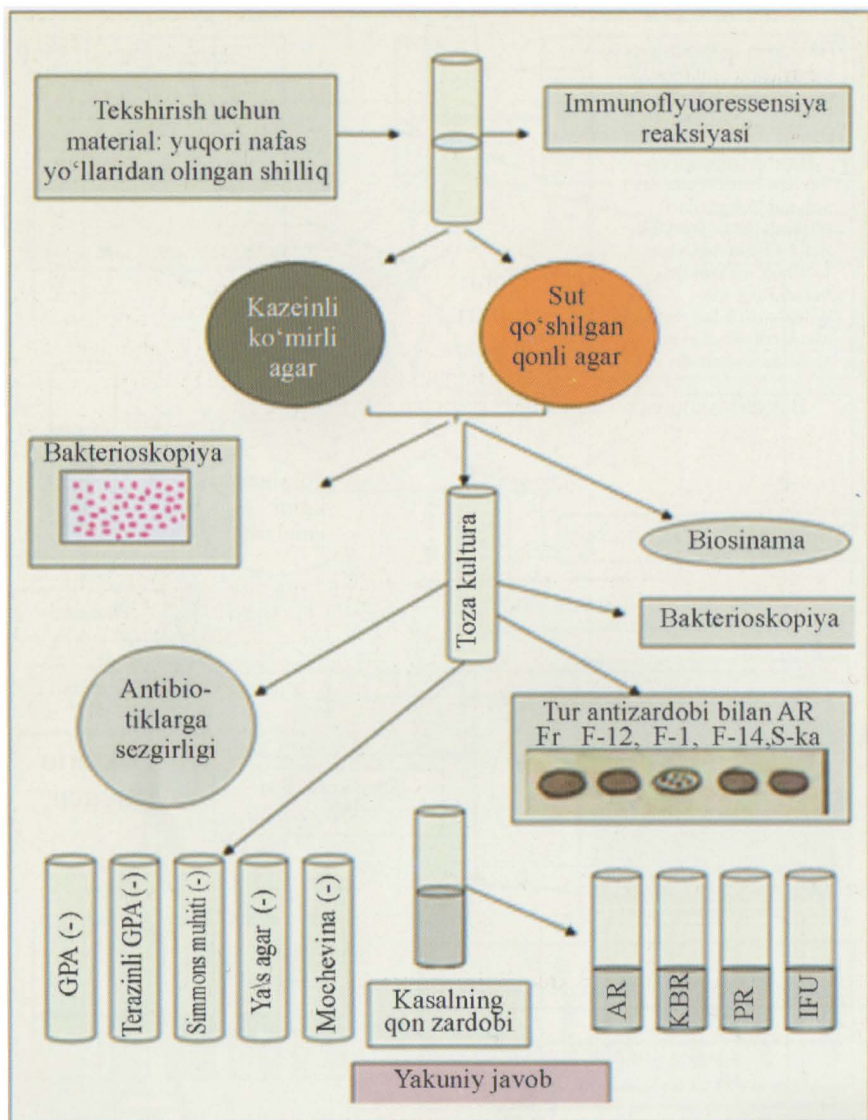


6-sxema. Legionellalar keltirib chiqargan infeksiyalarni mikrobiologik tekshiruv

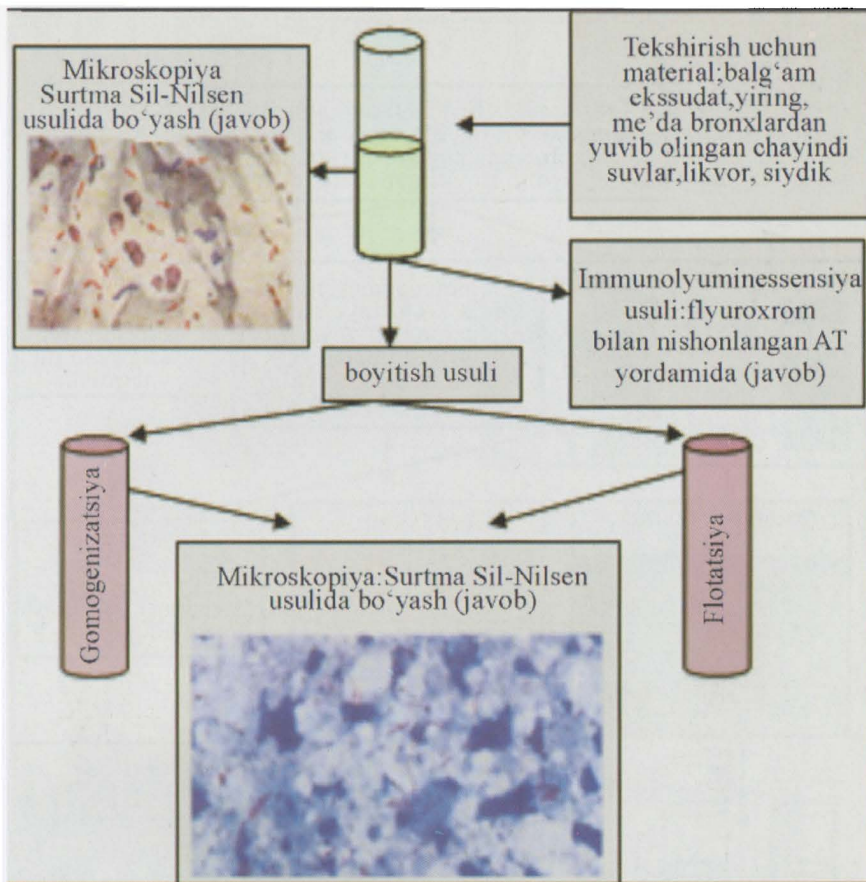




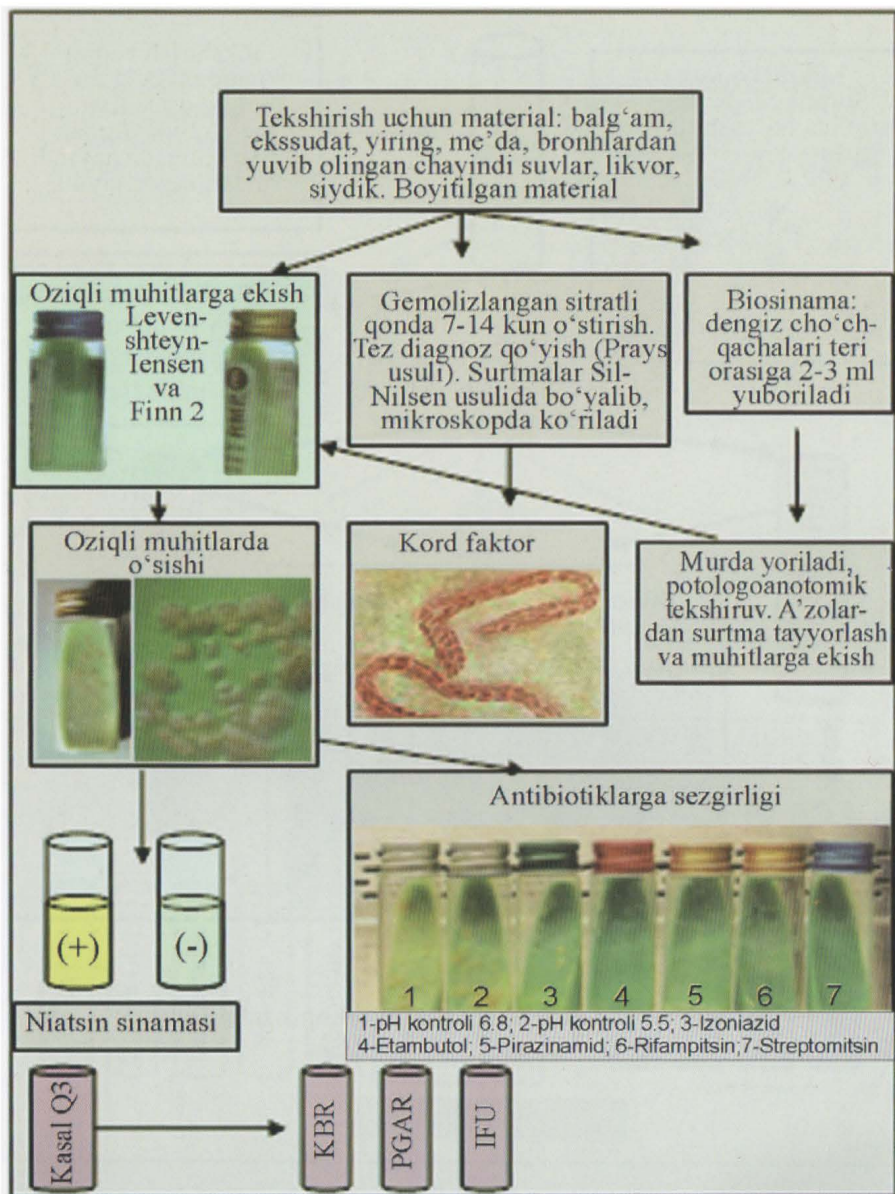
8-sxema. Bo'g'ma qo'zg'atuvchisi keltirib chiqargan infeksiyalarning mikrobiologik tekshiruv usullari



9-sxema. Ko'kyo'tal qo'zg'atuvchisi keltirib chiqargan kasalliklarni mikrobiologik tekshiruv usullari

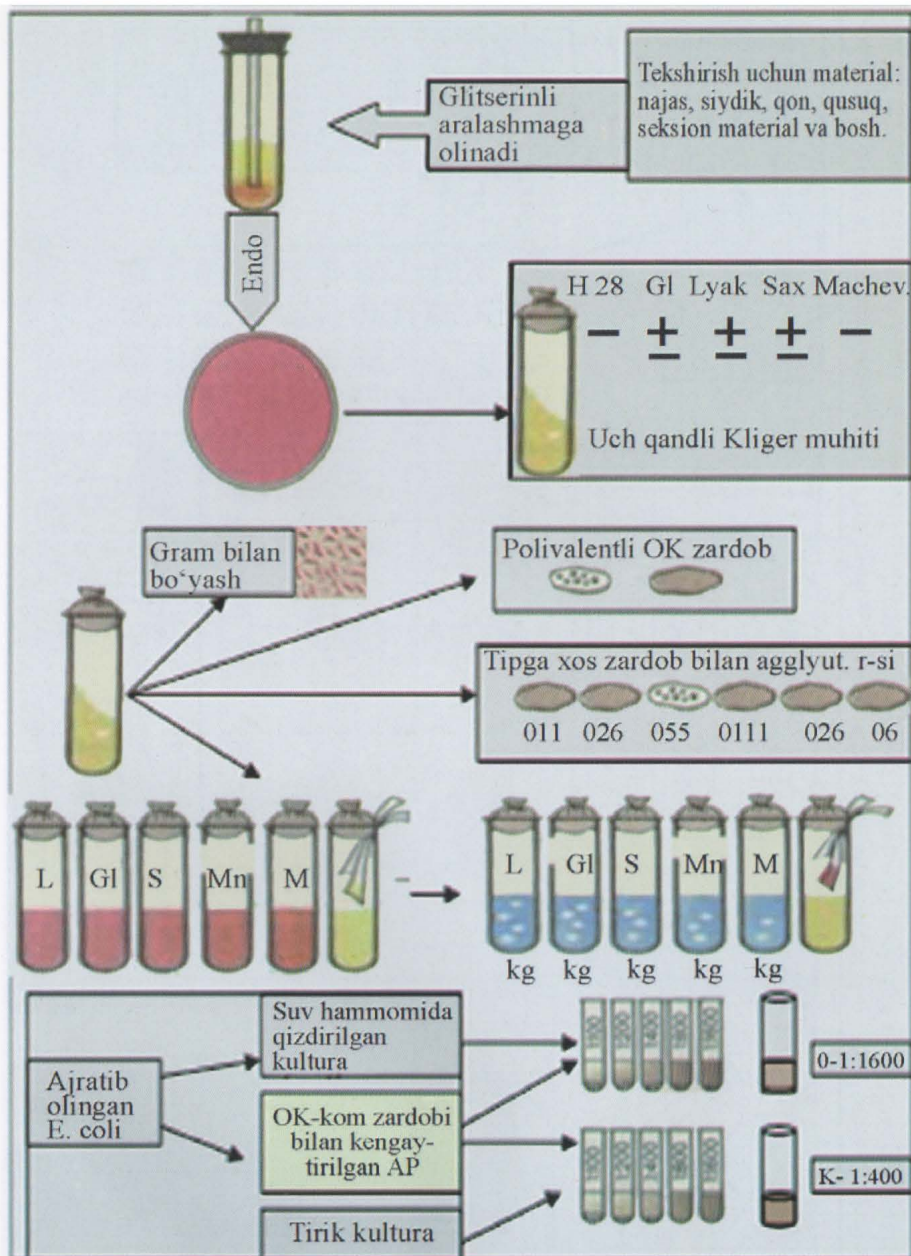


10-sxema. Sil kasalligida bakterioskopik tekshiruv



11-sxema. Sil kasalligida bakteriologik tekshiruv

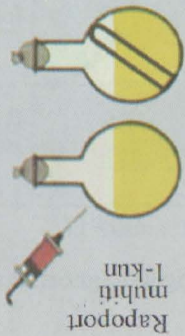




12-sxema. Enteropatogen E.colining mikrobiologik diagnostikasi

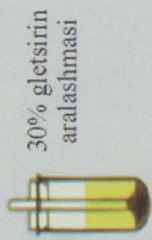
I

Tekshirish uchun material: qon

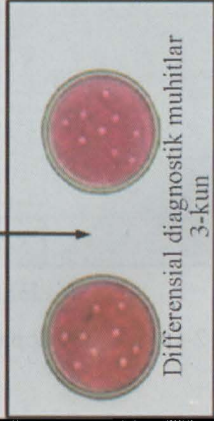
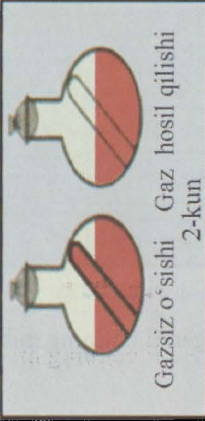


II

Tekshirish uchun material: najas, siydik, o't

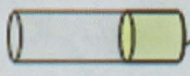


Differensial diagnostik muhitlar  
(Endo, Ploskiryev, vismut sulfid agar)

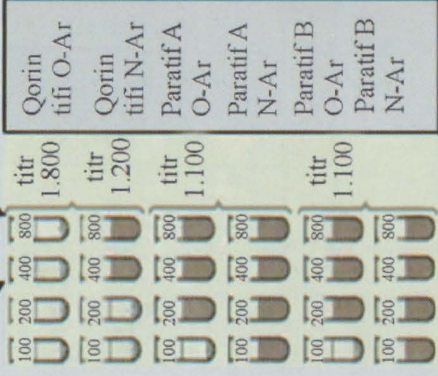


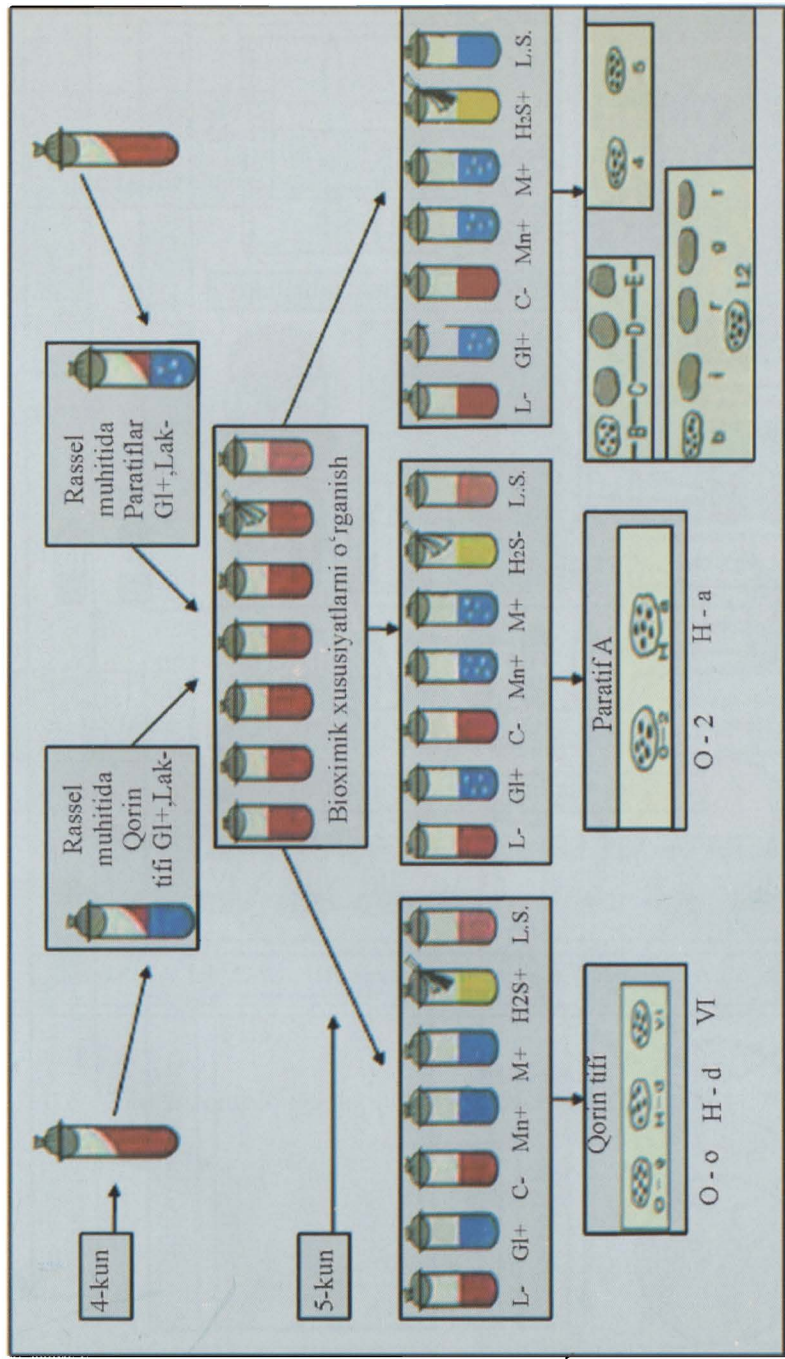
III

Tekshirish uchun material: qon zardobi



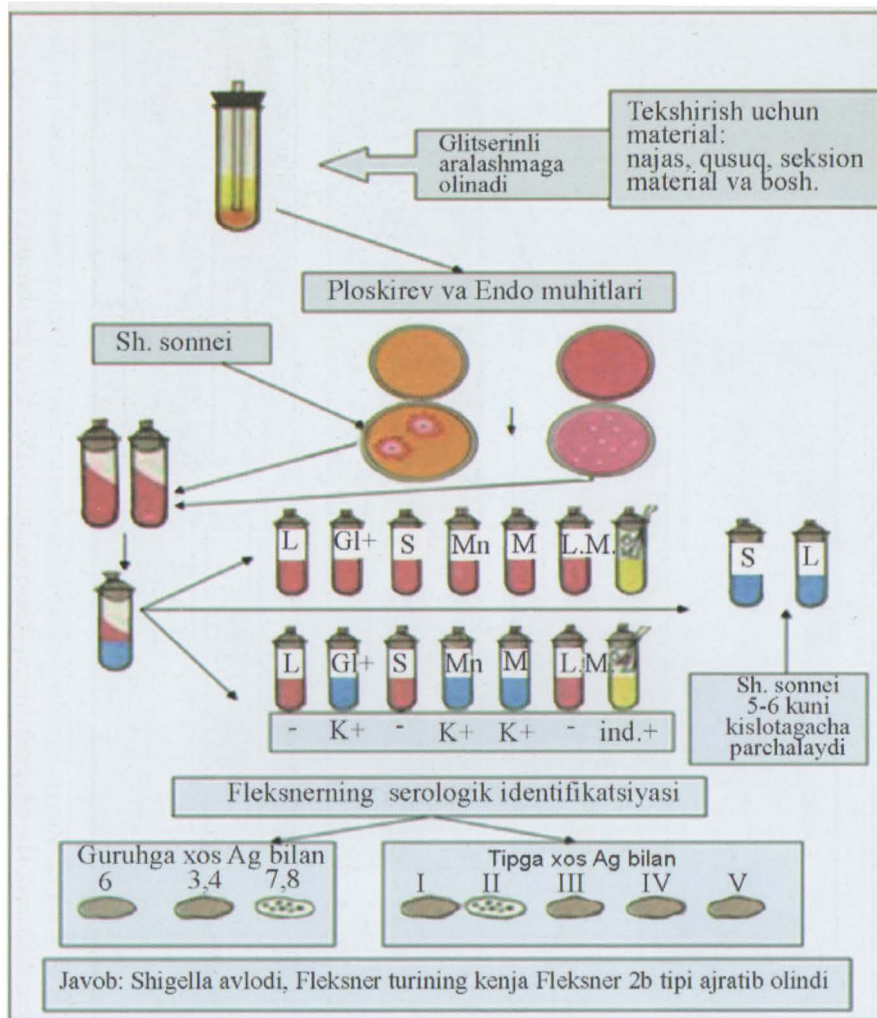
Kasallikni ikkinchi haftasida  
Vidal reaksiyasi  
qo'yish



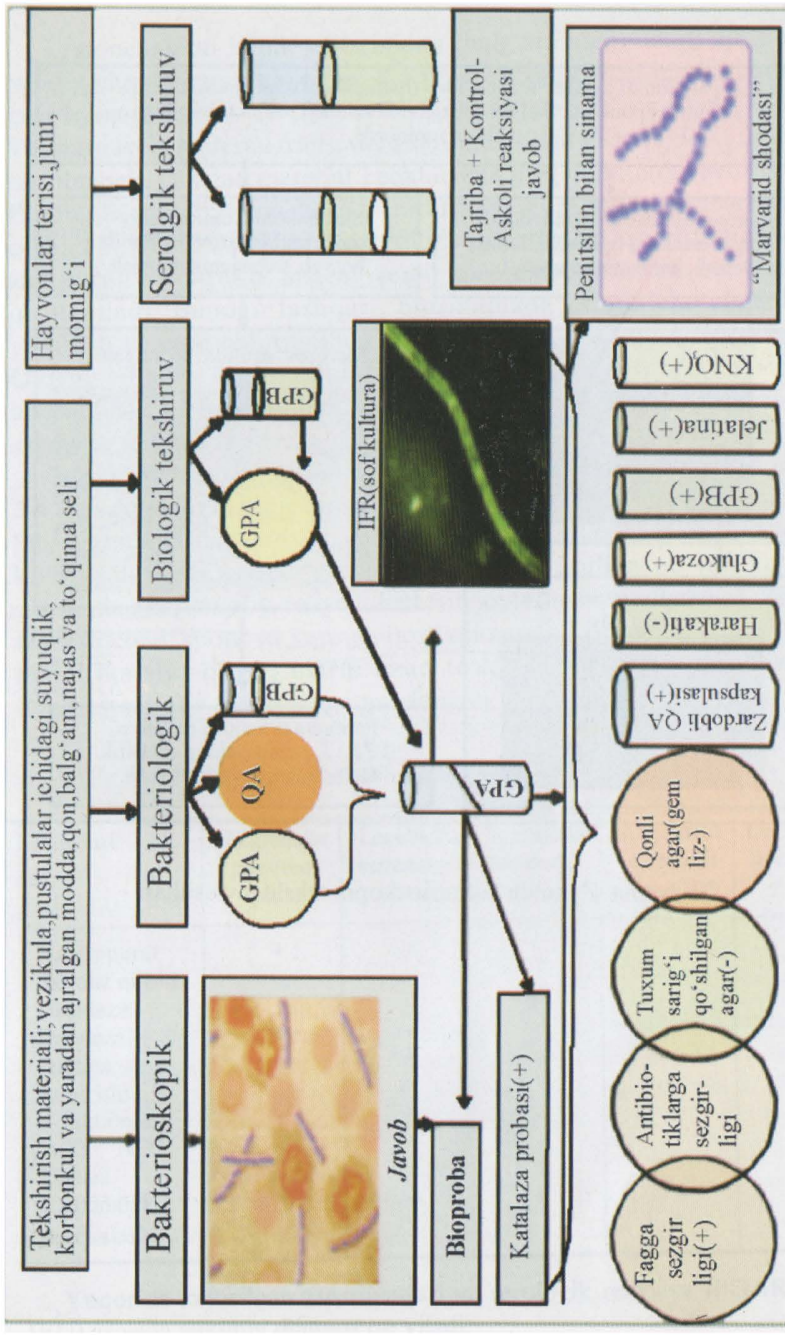


13-sxema. Qorin tifi va paratif A va V qo'zg'atuvchilarining turli kasallik davrlaridagi bakteriologik tekshirish usullari sxemasi. I – davr tekshiruvi (gemokultura); II – davr tekshiruvi (kaprokultura); III – davr tekshiruvi (Vidal reaksiyasi)

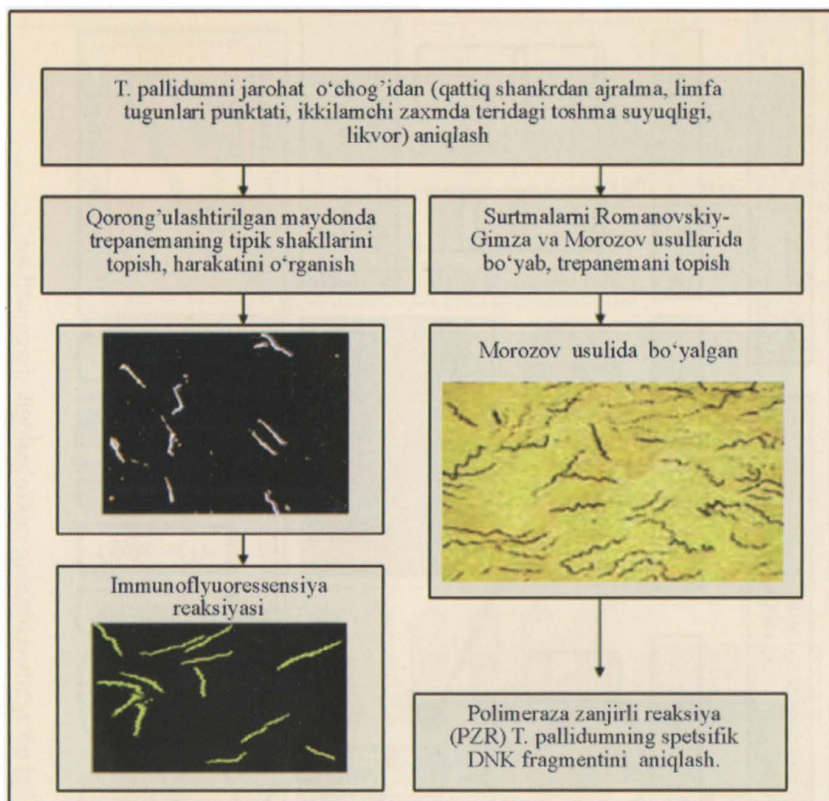




14-sxema. Dizenteriyaning bakteriologik diagnostikasi.



16-sxema. Kuydirgi kasalligi qo'zg'atuvchisining mikrobiologik diagnostikasi



21-sxema. Zaxmda bakterioskopik tekshiruv usullari





**Shavkat Ro'zimatovich  
Aliyev**

Toshkent tibbiyot  
akademiyasi  
mikrobiologiya kafedrası  
dotsenti, tibbiyot fanlari  
nomzodi



**Ilamon Muhamedovich  
Muhamedov**

Toshkent tibbiyot  
akademiyasi mikrobiologiya  
kafedrası professori, tibbiyot  
fanlari doktori



**Zuhra Abduqodirovna  
Nuruzova**

Toshkent tibbiyot akademiyasi  
mikrobiologiya kafedrası mudiri,  
professor, tibbiyot  
fanlari doktori



**Shahnoza Abdusamatovna  
Xo'jayeva**

Toshkent tibbiyot  
akademiyasi mikrobiologiya  
kafedrası katta o'qituvchisi,  
tibbiyot fanlari  
nomzodi



**Abdusalol Mamasobirovich  
Davurov**

Respublika teri-tanosil  
kasalliklari ilmiy tekshirish  
instituti bakteriologik  
laboratoriya mudiri, tibbiyot  
fanlari nomzodi



**Foziljon Xasanovich  
Rasulov**

Toshkent tibbiyot  
akademiyasi Farg'ona filiali  
prorektori, tibbiyot fanlari  
nomzodi

