

Məşğələ 2

Bakteriya hüceyrəsinin ultrastruktur. Qram və Neysser üsulları ilə boyama. Turşuya davamlı bakteriyalar və onların Sil-Nilsen üsulu ilə boyadılması. Sporlar və onların rənglənməsi (Ojesko üsulu). Kapsula, onun Gins üsulu ilə aşkar edilməsi. Flaqellalar. Mikrob hərəkətinin öyrənilməsi ("əzilən", "asılan" damla üsulları və vital boyama).

Müzakirə olunan suallar:

1. Bakterial hüceyrənin ultrastruktur. Hüceyrənin stabil (nukleoid, sitoplazma, ribosom, hüceyrə qışası-sitoplazmatik membran, hüceyrə divarı, selikli qat) və qeyri-stabil (kapsula, hüceyrədaxili əlavələr, flagella, plazmidi, pili, sporlar) komponentləri.
2. Bakteriyaların hüceyrə divarının quruluşu, Qram müsbət və Qram mənfi bakteriyalar.
3. Qram üsulu ilə rənglənmənin mərhələləri.
4. Volyutin dənəcikləri və onların Neysser üsulu ilə aşkar edilməsi.
5. Bakteriya hüceyrəsinin strukturu (turşuya davamlı bakteriyaların quruluş xüsusiyyətləri). Turşuya davamlı bakteriyaların Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənmə texnikası.
6. Sporlar, sporların əmələ gəlmə şəraiti və mərhələləri. Sporların Ojesko üsulu ilə boyama texnikası.
7. Kapsula, mikrokapsula. Kapsulalı bakteriyalar, kapsulanın kimyəvi tərkibi, quruluşu və əhəmiyyəti. Gins-Burri üsulu ilə kapsulanın aşkar edilməsi.
8. Hərəkətli bakteriyalar. Flaqellaların quruluşu, funksiyası, yerləşməsi. Pililər, onların əhəmiyyəti.
9. "Əzilən və asılan" damla üsulları ilə hazırlanmış preparatlarda mikrobların hərəkətinin öyrənilməsi. Vital boyanma üsulu.

Bakteriya hüceyrəsinin quruluşu və onun öyrənilmə üsulları. Hüceyrə-canlı materiyanın universal quruluş vahididir. Bakteriya hüceyrəsi binar bölünmə ilə çoxalma hesabına müəyyən zaman müddətində bioloji kütləsinin ikiqat artmasını təmin edir.

Bakteriyalar birhüceyrəli mikroorqanizmlər olub, əsas elementlərə (hüceyrə divarı, sitoplazma, nüvə maddəsi) görə digər hüceyrələrə bənzəyir.

Bakteriya hüceyrəsinin ultrastruktur elementləri. Prokariot hüceyrələrin tərkibində aşağıdakı quruluş (struktur) müəyyən edilir:

1. Hüceyrə divarı (hüceyrə divarının kimyəvi quruluşuna görə bakteriyalar Qram müsbət və Qram mənfi bakteriyalara bölünürlər).
2. Periplazmatik sahə.
3. Sitoplazmatik membran.
4. Sitoplazma, nukleotid, mezosomlar (eukariotlardakı mitoxondrinin analoqu), ribosomlar, əlavələr.
5. Bəzi bakteriyalarda kapsula, mikrokapsula, flaqellalar, plazmidlər, fibrillər, sporlar olur.

Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının qalınlığı 14-18nm təşkil edir. Sərt qat 2-3 peptidoqlikan qatından ibarətdir və onun tərkibində diaminopimelin turşusu vardır. Hüceyrə divarının tərkibində çoxlu miqdarda lipoproteinlər, fosfolipidlər, lipopolisaxaridlər, zülallar vardır. Lakin teyxoat turşusu yoxdur. Hüceyrə divarının plastik qatı lipoproteinlərin, lipopolisaxaridlərin və xarici membranın mürəkkəb mozaikasıdır.

Bakteriyalarda mikrokapsula, kapsula və selikli qat müşahidə edilir. Bunlar patogenlik amillərinə aid olunurlar. Mikrokapsula elektron mikrofotografiya vasitəsilə qısa mukopolisaxarid fibrillər şəklində aşkar edilir. Kapsula(selikli qat) bakteriyaların xarici örtüyü vəzifəsini yerinə yetirir, onları xarici mühitin qeyri əlverişli amillərindən qoruyur və Gins-Burri üsulu ilə rəngləmədən sonra işıq mikroskopunda aşkar edilir.

Mikroorqanizmlərin ultrastrukturası mürəkkəb rəngləmə üsulları ilə öyrənilir. Bu üsulda rəng məhlulları ilə yanaşı bəzi rəngsizləşdirici maddələr də tətbiq olunur. Məsələn: Qram, Neysser, Sil Nilsen və s. üsularda.

Qram üsulu ilə rəngləmə. Qram üsulu mürəkkəb rəngləmə üsulu olub, universal üsul hesab edilir və rənglənməsinə görə də mikroorqanizmlər Qram müsbət və Qram mənfi bakteriyalara ayrılır. Bu üsulla bütün bakteriyalar rənglənilir.

Rəngləməni növbəti ardıcılıqla aparmaq lazımdır:

- 1) Yaxmanın üstünə filtr kağızı qoyulur və gensian violet əlavə edilib 2 dəq rənglənilir;
- 2) Filtr kağızı və rəng məhlulu atılır;
- 3) Lüqol məhlulu ilə rənglənilir (1dəq);
- 4) Lüqol məhlulu axıdılır, yaxmanın üzərinə bir neçə damla 96% -li etil spirti əlavə olunur. 30-40 saniyə yaxma ehtiyatla yırğalandırılır;
- 5) Yaxma su ilə yuyulur;
- 6) Sulu fuksin əlavə edib 2dəq gözlənilir;
- 7) Su ilə yuyulur və qurudulur.

Bütün bakteriyalar Qram üsuluna münasibətinə görə bölünür Qram müsbət (tünd bənövşəyi) və Qram mənfilərə (qırmızı rəngə boyanan).

Bu üsulu 1884-ci ildə Xristian Qram təklif etmişdir. Hər hansı bakteriyanın xüsusiyyətlərini öyrənərkən ən əvvəl onun Qram üsuluna münasibəti, yəni bu üsulla necə rənglənməsi qeyd olunur, çünki bu onun hüceyrə quruluşu ilə əlaqədardır.

Qram üsulu ilə mikrobun rənglənmə mexanizmi onun sitoplazma və hüceyrə divarının fiziki-kimyəvi tərkibindən asılıdır. Belə ki, Qram müsbət mikrobların sitoplazmasında ribonuklein turşusu (RNT) və zülal çox olur, hüceyrə divarının əsas maddəsi isə mukopeptitmureindən (murein və teyxoat turşusu) təşkil olunmuşdur (90%-ə qədər). Eyni zamanda Qram müsbət bakteriyaların hüceyrə divarının keçiriciliyi mikopektid çox olduğundan, Qram mənfilərə nisbətən zəifdir. Ona görə də gensian-violet və Lüqol məhlulu ilə rənglənmə zamanı mikrobun sitoplazmasında elə möhkəm kompleks birləşmə əmələ gəlir ki, hətta etil spirti təsirindən belə bu birləşmə parçalanmır və mikrob tünd-bənövşəyi rəngi saxlayır, əlavə rəng məhlulu kimi tökülmüş fuksin də mikrobun aldığı birinci rəngi dəyişdirə bilmir.

Qram müsbət bakteriyalara aiddir: stafilokokklar, streptokokklar, qara yara, vərəm, qazlı qanqrena, tetanus, difteriya çöpləri, göbələklər və s.

Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarında lipid və zülallar çox olur, teyxoat turşusu heç olmur, mikopektidlər 5-10% təşkil edir, birqatlı murein hüceyrə divarının dərinliyində olur, protoplazmada isə RNT Qram müsbətlərdəkinə nisbətən az olur. Ona görə də mikrobun sitoplazmasının gensian-violet və yodla əmələ gətirdiyi birləşmə zəif olur, spirt təsirindən parçalanır və bənövşəyi rəngi itir. Odur ki, mikrob əlavə kontrast rəng məhlulu olan fuksinlə qırmızı rəngə boyanır.

Qram mənfi bakteriyalara aiddir: qonokoklar, meningokoklar, bağırsaq çöpləri, qarın yatalağı, dizenteriya, taun çöpləri və s. Rəngləmənin nəticəsi yaxmanın hazırlanma texnikasından, mikrob kulturasının təmizliyindən və s. –dən asılıdır. Rəngləmənin müvəffəqiyyəti həm də bir sıra səbəblərdən və ən əvvəl spirtlə düzgün təsir edilməsindən asılıdır. Uzun müddət spirtlə təsir edəndə Qram müsbət bakteriyalarda rənglər yuyula bilər və əlavə fuksinlə rəngləyəndə qırmızı rəng ala bilər. Əgər qısa müddət spirtlə təsir edilərsə Qram mənfi bakteriyalar təyin olunmaya bilər.

Alim Sinev Qram üsulunu bir qədər dəyişmiş, ona modifikasiya vermişdir. Bu modifikasiyanın mahiyyəti gensian-violet məhlulunun filtr kağızına hopdurulub qurudulmuş gensian-violetlə əvəz etməkdən ibarətdir. Bunun üçün yaxmanın üzərinə əvvəlcədən gensian-violet hopdurulmuş və qurudulmuş filtr kağızı qoyulur və üzərinə 2-3 damla su damızdırılır. Qalan işlər Qram üsulundakı kimi aparılır. Sinev üsulunda həm yaxma yaxşı rənglənilir, həm də çöküntü olmur.

Nüvə (nukleoid) – bakteriya hüceyrəsinin çox nazik kəsiyini elektron mikroskopla tədqiq etdikdə mərkəzdə nukleoid adlanan, açıq rəngli dənəvər və ya kələf şəklində yerləşmiş nüvə maddəsi görünür ki, bu da (DNT) dezoksiribonuklein turşusu saplarından təşkil olunmuşdur. Ali hüceyrələrin nüvəsindən fərqli olaraq, nukleoid nüvə membranı ilə əhatə olunmamışdır. Nüvə maddəsini aşkar etmək üçün o, Gimza üsulu ilə rənglənilir (qırmızı-bənövşəyi rəngdə) və eləcə də, elektron mikroskopu ilə aşkar edilir.

Sitoplazma – homogen və ya dənəvər quruluşda olub, hüceyrənin əsas kütləsini təşkil edir. Bakteriya hüceyrəsinin sioplazmasında bir sıra elementlər olur: qlikogen, qranuloza, piy damlaları, piqment toplantıları, oksalat kristalları, volyutin dənəcikləri və s. Bunlardan ən çox diaqnostik

əhəmiyyətə malik olanı volyutin dənəcikləridir ki, bunlar da bəzən Babeş-Ernst dənəcikləri adı ilə qeyd olunur. Bu dənəciklərin işığı sındırma qabiliyyəti hətta rənglənməmiş halda da yüksəkdir.

İlk dəfə bu dənəcikləri Babeş kəşf etmişdir. Volyutin dənəcikləri çoxlu miqdarda metafosfat və s. fosfor birləşmələrindən ibarətdir. Bu dənəciklər maddələr mübadiləsində iştirak etmir və daim mikrob hüceyrəsinin daxilində təsadüf olunurlar. Ona görə də, bu dənəciklər ehtiyat qida maddələri hesab olunurlar. Volyutin dənəcikləri ilk dəfə Spirillum volutyans adlanan mikrobun sitoplazmasında tapıldığından öz adını da buradan almışdır. Sonralar isə difteriya çöplərində volyutin dənəcikləri tapılmışdır.

Volyutin dənəcikləri sitoplazmadan fərqli olaraq qələvi reaksiyalı olduğundan asetat abısının rəngini, yəni tünd-göy rəngi götürür, ona görə də bu dənəciklər metaxromatik dənəciklər hesab olunur. Hüceyrənin sitoplazması isə turş reaksiyalı olduğundan qələvi xassəli rənglə, yəni vezuvin və ya xrizoidinlə sarı-qəhvəyi rəngə boyanır. Metaxromatik volyutin dənəcikləri Neysser üsulu ilə rənglənilir.

Volyutin dənəciklərinin rəngləmə üsulu. İşin gedişi. Volyutin nuklein turşularının istehsalıdır, özü də ehtiyat qida maddələridir. Ehtiyat elementlərin içində - yağlar, qlikogen, volyutin xüsusi yer tutur. Volyutin dənəciklərinin hüceyrədə olması, xüsusilə yerləşməsinə görə, bakterioskopik üsulla difteriya xəstəliyinin təxmini diaqnozu təyin edilir. Neysser üsulu ilə volyutin dənəciklərini təyin edəndə ən dəqiq nəticə almaq mümkündür.

Üsulun aparılması:

1. Yaxma Neysserin sirkə turşulu metilen abısı (2-3 dəq) ilə rənglənilir
2. Yuyulur
3. Lüqol məhlulu ilə rənglənilir (30 san)
4. Lüqol məhlulu atılır, vezuvin və ya xrizoidin ilə rənglənilir (7 dəq)
5. Yaxma yuyulur və qurudulur
6. Mikroskopiya edilir.

Hüceyrənin sitoplazması turş reaksiyalı olduğundan qələvi xassəli vezuvinlə sarı rəngə boyanır. Volyutin dənəcikləri asetat abısını möhkəm fiksasiya edir və tünd göy, az qala qara rəngə boyanır.

Hüceyrə divarı – möhkəm törəmə olub, bakteriya hüceyrəsinə müəyyən foorma verir və altındakı sitoplazma membranı ilə birlikdə hüceyrədə yüksək osmotik təzyiqin “saxlanması” təmin edir. O, hüceyrənin bölünmə prosesində, metabolitlərin nəql edilməsində iştirak edir və bakteriofaqlar, bakteriosinlər və digər müxtəlif maddələr üçün reseptorlara malikdirlər. Ən qalın hüceyrə divarı Qram müsbət bakteriyalara məxsusdur. Belə ki, Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarı 15-20 nm olduğu halda, Qram müsbətlərdə o, 50 nm və ondan da çox olur. Qram müsbət bakteriyaların hüceyrə divarında az miqdarda polisaxaridlər, lipidlər və zülallar olur. Bu bakteriyaların hüceyrə divarının əsas komponentini çoxqatlı peptidoqlikan (murein, mukopeptid) təşkil edir. Hüceyrə divarı kütləsinin 40-90% peptidoqlikandan ibarətdir. Qram müsbət bakteriyaların hüceyrə divarının peptidoqlikanıyla teyxoat turşusu (yun. Teichos-divar) kovalent birləşmə əmələ gətirir. Teyxoat turşusunun molekulları, fosfat körpülərlə birləşmiş qliserol və ribitol zəncirinin 8-50 qalıqlarından ibarətdir.

Bakteriyalara forma və möhkəmliyi kobud lifl, köndələn yerləşmiş peptid birləşməli, çoxqatlı peptidoqlikan verir.

Peptidoqlikan qlikanın paralel yerləşmiş molekullarından təşkil olunmuşdur. Qlikan N-asetilqlükozamin və N-asetilmuramin turşuları qalıqlarının təkrar olunan və qlikozid əlaqəsilə birləşməsindən təşkil olunmuşdur. Bu əlaqələri lizosim – asetilmuramidaza qırır. Qlikan molekulları dörd amin turşularından (tetrapeptid) təşkil olunmuş köndələn peptid rabitə ilə N-asetilmuramin turşusu vasitəsilə birləşirlər. Ona görə də, bu polimerin adı peptidoqlikan adlanır.

Qram mənfi bakteriyalarda peptidoqlikanın peptid rabitəsinin əsasını bir-birilə növbələşən L- və D- amin turşularından ibarət olan tetrapeptid təşkil edir, məsələn: L-alanin – D-qlutamin turşusu – mezo-diaminopimelin turşusu – D-alanin. E.coli-də (Qram mənfi bakteriya) peptid zəncir, bir zəncirin D-alanini digər zəncirin mezodiaminopimelin turşusu vasitəsilə bir-birinə birləşir. Qram mənfi bakteriyalarda peptidoqlikanın peptid hissəsinin tərkibi və quruluşu sabitdir və bu Qram müsbət bakteriyaların peptidoqlikanından fərqlənir. Qram müsbət bakteriyalarda amin turşuların həm tərkibi və həm də düzülüşü bir-birindən fərqlənə bilər. Qram müsbət bakteriyalarda peptidoqlikanın

tetrapeptidləri bir-birilə qlisinin (pentaqlisin) 5 qalıqından ibarət olan polipeptid zəncirilə birləşir. Mezo-diaminopimelin turşusu əvəzinə, onlar çox vaxt lizinə malik olurlar.

Qlikanın elementləri (asetilqlükozamin və asetilmuramin turşusu) və tetrapeptidin amin turşuları (mezo-diaminopimelin və D-qlütamin turşuları, D-alanin) bakteriyaları fərqləndirən əlamətdir. Çünki, bunlar insanlarda və heyvanlarda olmur.

Bir sıra bakteriyaların hüceyrə divarında və sitoplazmasında lipidlər: Mum və oksit turşuların miqdarı çox olur (35-40%) ki, bu da onların spirtə və turşuya qarşı davamlı olmasına səbəb olur. Belə bakteriyalar turşuya davamlı olub, onun təsirindən rəngsizləşmir, ona görə də diaqnostikada başqa mikroblardan fərqləndirmək üçün bu xüsusiyyətin mühüm əhəmiyyəti vardır. Vərəm çöpləri (*Mycobacterium tuberculosis*), cüzam çöpləri (*Mycobacterium leprae*) və aktinomisetlərin bir qrupu turşuya davamlı bakteriyalara aiddir. Bu mikroblar adi rəng məhlulları ilə rənglənmir, onlar yalnız karbol fuksini qızdırılmış şəkildə qəbul edirlər. Rəng məhlullarının qatılığı və rəngləmə zamanı preparatın qızdırılması, bakteriya hüceyrəsi ilə rəng məhlulu arasında qarşılıqlı təsiri gücləndirir. Karbol turşusu isə hüceyrə divarını yumşaldır və rəngin yaxşı keçməsinə təmin edir.

Turşuya davamlı bakteriyaların rənglənməsi. Turşuya davamlı mikroorqanizmlər qeyri-üzvi turşulara, spirtə və qələviyə güclü davamlığa malikdirlər. Bu, hüceyrə divarında və sitoplazmada nisbətən çoxlu miqdarda lipidlərin olması (müxtəlif maddələr) ilə əlaqədardır. Belə bakteriyalar adi boyalarla çox pis rənglənilirlər, ona görə rənglərin qatılaşdırılmış məhlulundan istifadə edirlər, eyni zamanda preparatı qızdırırlar.

Sonrakı qısa müddət turşu ilə təsir etdikdə boyanmış mikrob hüceyrələri rəngi itirmir. Bu hal başqa, belə xüsusiyyəti olmayan bakteriyalardan turşuya davamlı bakteriyaları fərqləndirməyə kömək edir. Göstərilən xüsusiyyətləri nəzərə alaraq, onları Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləyirlər (şəkil 8).

Rəngləməni göstərilən ardıcılıqla aparmaq lazımdır:

1. Fiksasiya edilmiş yaxmanın üzərinə filtr kağızı qoyub karbol fuksin məhlulu əlavə edilir, buxar əmələ gəlməyə kimi 3-5 dəfə alov üzərində qızdırılır (buxarlananda kınara çəkməklə)
2. Filtr kağızı atılır, yaxma soyudulur və 5% -li sulfat turşusu, yaxud 3%-li xlorid turşusu ilə (10-15 san) rəngsizləşdirilir
3. Diqqətlə su ilə yuyulur
4. Metilin abısı ilə rənglənilir (3-5 dəq)
5. Su ilə yuyulur, qurudulur və mikroskopiyaya edilir. Turşuya davamlılar qırmızı-çəhrayı, davamsızlar göy rəngdə görünür.

Vərəm və cüzam çöplərini bir-birindən fərqləndirmək üçün isə Semyonoviç-Marsinovski üsulundan istifadə edilir:

- 1) Fiksasiya olunmuş yaxmanın üzərinə Silin fenol fuksini əlavə edib 2 dəq gözlənilir, sonra su ilə yuyulur;
- 2) Preparat metilen abısının qələvi məhlulu ilə 3-5dəq rənglənilir, sonra su ilə yuyulur, qurudulur, mikroskopun immersion obyektivi ilə tədqiq edilir. Bu zaman cüzam çöpləri qırmızı rəngə boyanır, vərəm çöpləri isə rənglənmir.

Sporalar. Bir sıra çöpvari bakteriyalar əlverişsiz şəraitə düşdükdə (qida çatışmadıqda, quraqlıqda, rütubət olmadıqda və s.) çoxqatlı divarla əhatə olunmuş endosporlar əmələ gətirmək xüsusiyyətinə malikdir. Spora əmələ gəlmə prosesi 18-20 saata başa gəlir və beləliklə də spora bakteriyanın davamlı formasına keçərək (tərkibində suyun az və kalsiumun çox olması ilə əlaqədar olaraq) onun uzun müddət yaşamasını və həyat fəaliyyətini saxlamasını təmin edir. Yenidən əlverişli şərait yarandıqda, (məsələn, yaranın dərinliyinə düşdükdə, qidalı mühitə düşdükdə və s.) sporalar 6-8 saat ərzində vegetativ formaya keçir və xəstəlik törətmə qabiliyyətini bərpa edir. Beləliklə, bir sporadan bir bakteriya və ya bir bakteriyadan bir spora əmələ gəlir, buna əsaslanaraq demək olar ki, spora bakteriyalarda çoxalma orqanı hesab olunmur.

Sporalar oval və ya dairəvi formada olub çöpdə üç vəziyyətdə yerləşə bilər: sentral-mərkəzdə (qarayara çöplərində), terminal-ucda (tetanus çöplərində), subterminal-ucda yaxın (botulinus çöplərində).

Spora əmələ gətirən bakteriyalara basillus deyilir. Bəzən sporun diametri bakteriya hüceyrəsinin diametrindən böyük olur və bakteriyaya dükcə forması verir. Bunlara klostridium deyilir. Məsələn, *Cl.perfringens*.

İnsan və heyvan orqanizmində spora əmələ gəlmir. Sporaların xarici divarı bərk olduğundan və onların tərkibində çoxlu miqdarda lipid və az miqdarda su olduğundan onlar turşuya qarşı davamlı olub, çox pis rənglənilirlər, ona görə də rənglənmədən əvvəl xarici divar yumşaldılmalıdır.

Bakteriyaların bəzi növləri hüceyrədaxili (endogen) sporlar əmələ gətirirlər. Vegetativ hüceyrədən fərqli olaraq sporların tərkibində sərbəst suyun miqdarı azdır. Əksinə lipidlərin və kalsiumun yüksək miqdarda olması qeyd edilir. Yetkin spora çətinliklə rəngləri mənimsəyir, çünki xarici divarın keçiriciliyi azdır. Spora əmələ gətirən kulturanı Qram üsulu ilə boyadıqda bakterial hüceyrənin vegetativ hissəsi rəngləri mənimsəyir, ancaq, spora rəngsiz qalır.

Sporaları rəngləmək üçün tətbiq edilən rəngləmə üsulları prinsip etibarlı ilə turşuyadavamlı mikrobların rənglənməsinə bənzəyir. Yalnız əsas fəqr onaddır ki, sporanın asan rənglənməsi üçün ona qabaqcadan bir sıra rəngablarla – kimyəvi maddələrlə təsir edilir, bu zaman sporanın xarici divarı yumşalır və rəng məhlulunun daxilə keçməsi asanlaşır. Sporalar vərəm çöplərinə nisbətən az turşuya davamlıdır. Sporalı mikrobdan hazırlanmış preparata əvvəlcə aşağıdakı maddələr əlavə edilməklə aşıləşdırılır: ammoniyak, sirkə turşusu, duz turşusu və s. Sonra üzərinə rəng məhlulu əlavə edib qızdırılır və bundan sonra rənglənmə davam etdirilir. Sporalar Ojesko, Kleyn, Peşkov və s. üsullarla rənglənilir.

Sporaların Ojesko üsulu ilə boyanması:

1. Qurudulub, fiksasiya olunmamış yaxma üzərinə 0,5%-li duz turşusu tökülür və alovda buxar əmələ gələnə qədər qızdırılır (1-2 dəq)
2. Turşu axıdılır, soyudulur
3. Su ilə yuyulur, qurudulur
4. Alovda fiksasiya edilir
5. Sonra isə Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənilir

Sporlar qırmızı rəngdə, vegetativ formaları göy rəngdə görünür.

Kapsula. Bəzi patogen bakteriyalar insan və heyvan orqanizmində faqositlərin təsirindən qorunmaq üçün hüceyrə divarının xaricində qalın qışa ilə əhatə olunur. Həmin bu selikli qışa kapsula adlanır. Məsələn, qara yara çöpləri, qazlı qanqrena, taun çöpləri, pnevmokokklar və s. Elə bakteriyalar da məlumdur ki, bunlar həm qidalı mühitlərdə və həm də orqanizmdə kapsula əmələ gətirirlər (özena, rinoskleroma, pnevmoniya çöpləri). Bəzi bakteriyalarda kapsula polisaxarid təbiətli (pnevmokokklarda), bəzilərinə isə protein təbiətli olur (qara yara çöplərində).

Kapsula mikrob hüceyrəsini qurumadan və digər əlverişsiz təsirlərdən qorumaqla yanaşı, hüceyrəyə çoxlu miqdarda suyun keçməsinin də qarşısını alır. Kapsulanın aşkara çıxarılmasının mühüm diaqnostik əhəmiyyəti vardır. Orqan və toxuma mayesindən hazırlanmış yaxmanı sadə üsulla rənglədikdə kapsula ya rəngsiz qalır (məsələn, sulu fuksinlə), ya da açıq çəhrayı rəngdə görünür (köhnə metilen abısı ilə).

Kapsulanın aşkara çıxarılması üçün bir sıra xüsusi rəngləmə üsulları təklif edilmişdir. Olt üsulu, Hentun üsulu, Hiss üsulu, Ginz-Burri üsulu və s. Bunlardan ən çox istifadə olunanı Ginz-Burri üsuludur.

Gins-Burri üsulu ilə kapsulanın aşkar edilməsi:

1. Əşya şüşəsinin bir kənarına bir damla (1:9) durulaşdırılmış tuş və kapsulalı kulturadan əlavə edilir, nazik yaxma hazırlanır, yəni başqa əşya şüşəsinin kənarı ilə 45⁰-li bucaq altında həmin damla əşya şüşəsinin səthinə yayılır (qan yaxması kimi)
2. Yaxma havada qurudulur və kimyəvi üsulla (Nikiforov qarışığı. Süleymani məhlulu və s.) fiksasiya edilir
3. Sonra üzərinə Pfeyfer fuksini əlavə edib 3dəq gözlənilir, yuyulur, qurudulur və mikroskopiya edilir.

Bəzən yaxma qarışıq fiksasiya üsulundan istifadə edilərək fiksasiya olunur, belə ki, üzərində 2-3 damla spirt töküb alovda yandırılır. Sonra yaxma soyudulur və üzərinə Pfeyfer fuksini əlavə edib 3-5dəq gözlənilir, yaxma yuyulur, qurudulur və immersion obyektivlə tədqiq olunur. Bu zaman görüş sahəsi qara, mikroblar çəhrayı-moruğu rəngdə, mikrobun ətrafında olan kapsula isə şəffaf, rəngsiz görünür. Bəzən yaxma düzgün qurudulmadıqda və fiksasiya edilmədikdə kapsula əmələ

gətirməyən rənglənmiş mikrobun da ətrafındakı rəngsiz sahə yalançı kapsula kimi görünür.

Mikroorqanizmlərin diri halda tədqiq edilməsi. Mikroorqanizmlərin formasını, hərəkətliliyini təyin etmək üçün onları diri halda tədqiq edirlər. Bu zaman nativ və boyadılmış preparatlar “əzilən” və “asılan” damla şəklində hazırlanır və müayinələr aparılır.

Bakteriyaların böyük bir qrupu hərəkət edir (kürəvilər istisna olunmaqla). Bu, bakteriyalarda hərəkət orqanı olan flaqella (trixa) hesabına baş verir. Flagellalar bakteriyanın özündən zərif və uzun olur.

Flaqellaların miqdarına və yerləşməsinə görə bakteriyalar aşağıdakı qruplara ayrılır:

- 1) Monotrixlər – bunların yalnız bir flaqellası olur. Məsələn, vəba vibrionları;
- 2) Lofotrixlər – bunlarda trixalar dəstə şəklində çöpün bir qütündən çıxır. Məsələn, göy süd çöpləri;
- 3) Amfitrixlər – trixalar hər iki qütbdən dəstə şəklində çıxır. Məsələn, volyutin dənəciyi olan spirillər;
- 4) Peritrixlər – bunlarda flaqella mikrob hüceyrəsinin hər tərəfindən çıxır. Məsələn, qarın yatalağı və bağırısaq çöpləri.

Bu bakteriyaların içərisində ən aktiv hərəkətli monotrixlərdir. Flagellalar o qədər zərif olur ki, onları adi mikroskopiya üsulu ilə görmək olmur. Flagellanın miqdarını və yerləşməsinə öyrənmək üçün onlar rəngab vasitəsilə işlənməklə nisbətən şişirdilir, ölçüsü böyüdüldür, sonra rənglənir və mikroskopla tədqiq edilir (Qrey üsulu, Löffler üsulu və s.).

Diri halda Vital boyama. Mikroorqanizm suspenziyası 0,001%-li metilen abısı yaxud neytral rot (qırmızı) məhlulu damlasına əlavə edilir. Sonra “əzilən” və ya “asılan” damla preparatı hazırlanılır və mikroskopiya edilir.

“Əzilən” damla preparatının hazırlanması. Əgər kultura bərk qidalı mühitdə becərilibsə, yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsinin mərkəzinə bir damla natrium xloridin izotonik məhlulu qoyulur (ya da 100000 dəfə durulaşdırılmış metilen abısından istifadə edilir). Sonra bakterial ilgək kulturaya toxundurulur və ilgəkdə olan bakteriyalar şüşənin üzərinə qoyulmuş damlada qarışdırılır. Mikroorqanizmləri izotonik məhlulda əvvəlcədən də durulaşdırmaq olar və ondan bir damla götürüb əşya şüşəsi üzərinə qoymaq olar. Müayinə olunacaq damlanın üzərinə örtük şüşəsi elə qoyulur ki, onun altında hava qabarcıqları əmələ gəlməsin, bunun üçün örtük şüşəsinin üstündən azca basmaq lazımdır. Götürülən damlanın böyüklüyü elə olmalıdır ki, o, iki şüşə arasındakı boşluğu doldursun və örtük şüşənin kənarlarından xaricə çıxmasın. x40 və ya x90 obyektivdən istifadə edərək mikroskopiya edilir. Qaranlıq görüş sahəli mikroskopla (yəni ultra mikroskopla), faza- kontrastlı qurğulardan istifadə etdikdə daha yaxşı nəticələr alınır. Preparatlar tez quruyurlar, ona görə də onlara dərhal baxmaq lazımdır.

“Asılan” damla preparatının hazırlanması. Preparat örtük şüşəsi üzərində hazırlanılır. Şüşənin ortasına bir damla bakteriya suspenziyası qoyulur. Sonra ortasında çuxur(yuvacıq) olan və çuxurun ətrafına əvvəlcədən vazelin sürülmüş əşya şüşəsini örtük şüşəsinin üzərinə elə qoyurlar ki, damla çuxurun divarlarına və dibinə toxunmadan onun içərisində(ortasında) qalsın. Nəticədə şüşələr bir-birinə yapışır. Sonra cəld hərəkətlə örtük şüşə üstə qalmaqla preparat çevrilir. Nəticədə havasız bağlı kamera əmələ gəlir və həmin kamerada damla uzun müddət qurumur. Düzgün hazırlanmış preparatda damla çuxurun üzərində sərbəst asılı halda qalır və çuxurun nə divarlarına, nə də dibinə toxunmur. Örtük şüşədən mikroskopiya edilir. Əvvəlcə damlanın kənarları mikroskopun kiçik böyüdücüsü və yığılmış (deşiyi kiçildilmiş) diafraqma vasitəsilə tapılır. Sonra böyük obyektivlə müşahidə aparılır.

Mikroorqanizmlərin hərəkətliliyinin öyrənilməsi zamanı həqiqi hərəkəti Broun hərəkətindən fərqləndirmək lazımdır. Broun hərəkəti mayədə hərəkət edən molekulların zərbələri nəticəsində əmələ gəlir. Bir çox hərəkət edən mikroorqanizmlər çox sürətlə hərəkət edirlər. Bu da hərəkətin dəqiq təyin edilməsini çətinləşdirir. Mikroorqanizmlərin suspenziyasına metilsellülozanın əlavə edilməsi onların hərəkətini zəiflədir və flaqellaların hərəkətini görmək mümkün olur.

Yadda saxlamaq lazımdır ki, diri halda öyrənilən preparatlar mikroskopiyaadan sonra içərisində dezinfeksiyaedici məhlul olan qablara salınmalıdır.

Bizim təcrübədə “əzilən” damla hazırlamaq üçün 100000 dəfə durulaşdırılmış metilen abısından da istifadə olunur. Belə ki, əşya şüşəsi üzərinə durulaşdırılmış metilen abısından bir damla qoyub, ona bir günlük hərəkətli mikrob emulsiyası qarışdırılır, üzəri örtük şüşəsilə örtülür və üzərinə

bir damla yağ qoyub immersion obyektivlə tədqiq edilir. Bu zaman fon açıq mavi rəngdə, hərəkətli mikroblar isə nisbətən tünd –abı (göy) rəngdə görünürlər.

Bəzən mikrobların çoxalmasını, spora əmələ gəlməsini, müxtəlif kimyəvi və fiziki faktorların onlara təsirini və s. öyrənmək üçün də onları diri halda tədqiq etmək lazım gəlir (vital boyama). Bunun üçün zəif zəhərli və ya neytral boyalardan istifadə olunur. Vital boyama üsulunda metilen abısının, neytral-rot məhlulunun və s. 10000, 100000 dəfə durulaşdırılmasından istifadə edilir.

Mikrobları diri halda öyrənmək üçün neqativ üsul sayılan Burri üsulunun da mühüm əhəmiyyəti vardır. Bu üsulda qara tuş distillə edilmiş su ilə 10 dəfə durulaşdırılır. Tuş əvəzinə niqrozin, konqorot da işlətmək olar.

Burri üsulu ilə yaxma hazırlamaq üçün yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsinin bir kənarına 1 damla durulaşdırılmış tuş qoyub ona mikrob emulsiyası qarışdırılır. Nazik qan yaxması hazırlanan şəkildə qarışıq yayılır, qurudulur və yaxmanın üzərinə bir damla yağ salıb immersion obyektivlə tədqiq edilir. Fon qara, mikroblar şəffaf görünür, Burri üsulu ilə hazırlanmış preparatlar da dezinfeksiyaedici məhlulların içərisinə salınmalıdır.