

Məşğələ 9

Mikroorqanizmlərin ekologiyası. Xarici mühit amillərinin (torpaq, su, hava) mikroflorası. İnsan orqanizminin mikroflorası. Mikroorqanizmlərin genetikası.

Müzakirə olunan suallar:

1. Mikroorqanizmlərin ekologiyası.
- Mikroorqanizmlər arasında qarşılıqlı münasibətlərin növləri. Simbioz və onun formaları.
2. Mikroorqanizmlərin təbiətdə yayılması (autotoxton, alloxton mikrobiota), ətraf mühitdə mikroorqanizmlərin rolu.
3. Sanitar göstərici mikroorqanizmlər və onların təyini.
4. Torpağın mikroflorası, torpaq infeksiya mənbəyi kimi, onun sanitar-göstərici mikroorqanizmləri.
5. Torpağın sanitar mikrobioloji müayinəsi (a) bakteriyaların ümumi miqdarı, b) sanitar göstərici bakteriyaların titrinin təyini, c) patogen mikroorqanizmlərin təyini.
6. Suyun mikroflorası (polisaprob, mezosaprob və oligosaprob zonalar), su infeksiya mənbəyi kimi, sanitar-göstərici mikroorqanizmləri (bağırsaq çöpləri, enterokoklar, *C.perfrengens* və s.).
7. Suyun sanitar mikrobioloji müayinəsi a) ümumi mikrob ədədinin təyini, b) sanitar-göstərici mikroorqanizmlərin titri və indeksinin təyini: membran süzgəclər və iki fazlı brodil üsulu, c) patogen mikroorqanizmin təyini.
8. Havanın mikroflorası, hava infeksiyon xəstəliklərin ötürücüsü kimi. Havanın sanitar-göstərici mikroorqanizmləri (hemolitik stafilocok və streptokoklar).
9. Havanın sanitar mikrobioloji müayinə üsulları: a) sedimentasiya üsulu (Kox üsulu), b) aspirasiya üsulu (Krotov üsulu). Havanın ümumi mikrob ədədinin təyini. Havanın sanitar-göstərici mikroorqanizmlərinin təyini.
10. İnsan orqanizminin mikrobiotası (dəri, tənəffüs yolları, həzm traktı, sidik-cinsiyyət yolları və s.), onun əhəmiyyəti, mikrobiotanın keyfiyyət və kəmiyyət təyini üsulları. Steril orqanlar.
11. Disbioz və disbakterioz.
12. Mikroorqanizmlərin genetikası.
13. Bakteriyaların irsi aparatının təşkili (xromosom və plazmidlər).
14. Bakteriyalarda dəyişkənliyin növləri:
- Modifikasiya (qeyri-irsi) dəyişkənliyi (morfoloji, kultural, biokimyəvi).
- İrsi (genotipik) dəyişkənliklər:
a) mutasiyalar (spontan, induktiv; nöqtəvi (gen), xromosom mutasiyaları).
b) genetik rekombinasiyalar: transformasiya, transduksiya və koniyuqasiya.
15. Virusların genetikası. Modifikasiya, mutasiya, viruslar arasında genetik və qeyri-genetik qarşılıqlı münasibətlər.
16. Gen mühəndisliyi məqsəd və vəzifələri, praktik tətbiqi.
17. Molekulyar-genetik metodlar haqqında məlumat və onların diaqnostikada tətbiqi.

Sanitar – mikrobiologiya ətraf mühitin mikroflorasını öyrənən elmdir. Bu elm ətraf mühitin mikroflorasını öyrənməklə yanaşı mikroorqanizmlərin həyat fəaliyyəti nəticəsində baş verən və insan sağlamlığına mənfi təsir göstərə bilən prosesləri də öyrənir. İnsan yaşadığı mühitlə daim qarşılıqlı təmasda olduğu üçün, bu mühitdə baş verən bütün bioloji proseslər bu və ya digər formada onun sağlamlığına təsir göstərir. Ona görə də, həmin prosesləri və onların baş verməsinə səbəb olan bioloji varlıqları – mikroorqanizmləri öyrənmək və gigiyenik qiymət vermək səhiyyənin çox vacib məsələlərindən biridir.

Sanitar mikrobiologiya suyun, torpağın, havanın, qida maddələrinin sanitariya vəziyyətini öyrənmək və ona nəzarət etmək üçün xüsusi üsullar hazırlayır.

Torpağın mikroflorası və sanitar müayinəsi. Torpaq bakteriyaların, göbələklərin, ibtidailərin, bir sıra virusların və b. mikroorqanizmlərin yaşayış məskənidir. Bütün bu mikroorqanizmlər torpağın əmələ gəlməsində, onun öz-özünü təmizlənməsində, təbiətdə maddələr dövrəsinə (azot, karbon, kükürd və b.) və s. fəal iştirak edirlər.

Torpağın mikroflorasının keyfiyyət tərkibi çox müxtəlifdir. Bu flora müxtəlif növ bakteriyalardan, aktinomisetlərdən, spiroxetlərdən, arxibakteriyalardan, ibtidailərdən, göy-yaşıl yosunlardan, mikoplazmalardan, göbələklərdən və viruslardan təşkil olunmuşdur.

Yaxşı aerasiya olunan qumsal torpaqlarda aerob mikroorqanizmlər daha geniş yayılmışdır. Rütubətli gilli torpaqlarda isə aerasiya zəif getdiyinə görə, anaerobların yaşaması üçün daha əlverişli şərait olur. Ona görə də, belə torpaqlarda anaerob, xüsusilə spor əmələ gətirən anaerob mikroorqanizmlər daha çox müşahidə olunurlar. Üzvi maddələrlə zəngin olan qara torpaq zonanın torpaqlarında bakteriyaların, isti iqlimli zonaların torpaqlarında isə aktinomisetlərin miqdarı çox olur.

Torpağın 1 qramında mikroorqanizmlərin miqdarı bir neçə milyarda çata bilər. Peyin və digər üzvi kübrələrlə kübrələnmiş və şumlanmış torpaqlarda mikrobların miqdarı çox (4,8-5,2 mld), meşə və qumsal torpaqlarda isə az (1,2-0,9mld) olur.

Torpağın səthində və 1-2 sm dərinlikdə mikroorqanizmlərin miqdarı az olur. Onlar, əsasən, torpağın 10-12 sm dərinliyində çox olurlar. Daha dərin qatlara keçdikcə mikroorqanizmlərin miqdarı yenidən azalmağa başlayır və 4-5 m dərinlikdə olanlar çox az miqdarda təsadüf edirlər.

Torpağın səthində mikroorqanizmlərin az olmasına səbəb, onların, günəş şüalarının, xüsusilə ultrabənövşəyi şüaların və qurumanın təsirindən tez məhv olmalarıdır.

Torpaqda mikroorqanizmlərin miqdarına ilin fəsillərinin də təsiri vardır. Yaz və payız fəsillərində onların miqdarı çox, yay və qış fəsillərində isə az olur. Çünki, yayda bir tərəfdən temperaturun yüksəlməsi, torpağın qurumasına səbəb olur. Digər tərəfdən isə günəş şüalarının təsiri daha güclü olur. Bunların hər ikisi mikroorqanizmlərin həyat fəaliyyətinə təsir edərək, onların məhv olmasına səbəb olur. Yaz və payız aylarında isə həm temperatura və həm də rütubət optimal səviyyədə olduğuna görə mikroorqanizmlərin həyat-fəaliyyəti üçün yaxşı şərait yaranır.

İnsan nəcisinin tərkibində 60 növdən artıq mikroorqanizmlər aşkar edilmişdir. Bunların əsas hissəsini anaeroblar (96%-ə qədər) bifidobakteriyalar, laktobakteriyalar, peptokoklar, enterokoklar, protey, klostridiumlar, kandidalar və başqa mikroorqanizmlər təşkil edir.

Torpağın bioloji kontaminasiyası, yəni onun insan və heyvan ifrazatı ilə çirklənməsi, ən çox, kanalizasiya sistemi olmayan yaşayış məntəqələrində, üzvi tullantılar artıq miqdarda yığılıb qalmış müəssisələrin ətrafında, heyvandarlıq təsərrüfatlarının həyətlərində və onların ətraflarında daha yüksək olur. Belə sahələrin çirкли torpaqlarının koli-titri 0,5-0,00005 q olur. Yüksək dərəcədə çirklənmiş torpaqların hətta 0,5-1m dərin qatlarında belə, koli-titrin çox aşağı olduğu aşkar edilmişdir.

Qeyd etmək lazımdır ki, torpağa düşmüş insan və heyvan orqanizminin normal mikroflorası və patogen mikroorqanizmlər orada uzun müddət yaşaya bilmirlər. Onların bəziləri tez, bəziləri isə, davamlı olduqlarına görə nisbətən gec məhv olurlar. Yəni torpaq öz-özünə təmizlənir.

Patogen mikroorqanizmlər torpaqda yaşama xassəsinə görə 3 qrupa bölünürlər.

Birinci qrupa botulizm klostridiumları, bəzi dərin mikozların törədiciləri, aktinomisetlər və bir sıra mikotoksikozların törədiciləri daxildir. Bu mikroorqanizmlər torpağın daimi sakinləri hesab olunurlar. Çünki, onlar torpağa düşdükdən sonra, orada artıb çoxalma qabiliyyətləri olduğu üçün torpaqda uzun müddət yaşayırlar. Bu qrupa daxil olan mikroblardan botulizm klostridiumları daha böyük əhəmiyyətə malikdirlər. Çünki onlar, insan və heyvan ifrazatı ilə torpağa düşdükdən sonra spor formasına çevrilirlər. Onların sporaları çox davamlı olduğuna görə torpaqda uzun müddət diri qalır. Belə torpaqla çirklənmiş meyvə və tərəvəz məhsulları konservləşdirildikdə, anaerob şəraitdə aktivləşən botulizm törədicilərinin ifraz etdiyi toksin ağır zəhərlənmələrin baş verməsinə səbəb ola bilər.

İkinci qrupa spor əmələ gətirən patogen mikroorqanizmlərdən qara yara basilləri, tetanus və qazlı anaerob infeksiyaların törədiciləri olan klostridiumlar daxildir. Onlar da insan və heyvan orqanizmindən torpağa düşdükdən sonra spor halına keçir (bəzən hətta çoxalırlar), uzun müddət (on illərlə) torpaqda diri qalırlar. Təbiidir ki, tərkibində belə mikrobların sporları olan torpaq infeksiya mənbəyi kimi insan və heyvanların yoluxmasında müəyyən rol oynaya bilər.

Üçüncü qrupa salmonellalar, şigellalar, brüsellalar, fransisellalar, mikobakteriyalar, leptospirlər və bir çox digər mikroorqanizmlər daxildir ki, onlar spor əmələ gətirmədiklərinə və az davamlı olduqlarına görə, torpağa düşdükdən sonra tez bir zamanda (bir neçə ay müddətində) məhv olurlar.

Torpağın sanitar-mikrobioloji müayinəsi. Müayinə üçün torpaq nümunələri görülməzdən əvvəl, müayinə ediləcək torpaq sahəsi seçilir.

Hər biri 200-300 q olan nümunələrin hansı dərinlikdən götürülməsi müayinədən asılıdır. Suvarılan şumlanmış sahədə səthi qatdan (10-20 sm dərinlikdən), su təchizatı məqsədilə istifadə edilən yeraltı suların çirklənməsində torpağın rolunu aşkar etmək məqsədilə dərin qatlardan (0,5-2 m dərinlikdən) götürülür.

Torpaqda olan mikroorqanizmlərin ümumi miqdarını təyin etmək üçün iki üsuldən istifadə edilir.

Birinci üsul kapillyar mikroskopiyadır. Bu üsul çox obyektiv və dəqiq nəticələr verdiyinə baxmayaraq, çox mürəkkəbdir, çox zəhmət və xüsusi cihazlar tələb edir.

İkinci üsul bərk qidalı mühitlərə əkməkdir. Bu üsulda torpaq suspenziyasından ən azı iki durulaşdırılma hazırlanır. Sonra həmin durulaşmaların hər birindən 1ml götürüb steril Petri kasalarına tökülür. Onların üzərinə (hər durulaşmadan ən azı iki kasada) əridilmiş və 45⁰C-yə qədər soyudulmuş 7-10ml ət-peptonlu aqarı əlavə edilir. Kasaları ehtiyatla hərəkət etdirməklə torpaq suspenziyası aqarla yaxşı-yaxşı qarışdırılır. 28-30⁰C- temperaturda 72saat inkubasiya edildikdən sonra bitmiş koloniyalar sayılır. Koloniyaların miqdarını asan hesablamaq üçün kasalarda 50-dən 150-yə qədər koloniyaların əmələ gəlməsinə səbəb olan durulaşmadan istifadə edilir. Əgər kasalarda 150-dən artıq miqdarda koloniya bitibsə, onda, kasanın sahəsinin ¼ hissəsindəki koloniyalar sayılır və alınmış miqdar 4-ə vurulur. Bütün kasalarda bitmiş koloniyaların miqdarının orta rəqəminə və durulaşma nisbətində əsasən 1q torpaqda olan mikroorqanizmlərin ümumi miqdarı hesablanır.

Müayinə olunan torpaq nümunəsinin 1:10 nisbətində hazırlanmış suspenziyasından bir neçə (1:1000000 nisbətində qədər) durulaşmalar hazırlanılır.

Hazırlanmış 1:10 nisbətindəki suspenziyadan 10 ml götürüb, içərisində 50ml Kessler mühiti olan kolbaya, müvafiq durulaşmalardan isə 1 ml götürüb içərisində həmin mühitdən 9 ml olan sınaq şüşələrinə əkilir, 48 saat 37⁰C temperaturda inkubasiya edilir. Bu müddət keçdikdən sonra kolbada və sınaq şüşələrində bulanıqlığın və qazın əmələ gəlməsi, müayinə edilən torpaqda bağırsaq çöpləri qrupu bakteriyalarının olmasını göstərir. Bitmiş mikrobu identifikasiya etmək üçün oradan götürüb Endo mühitinə köçürülür, 37⁰C termostatda 1 gün inkubasiya edilir, sonra baxılır. Əkilmiş torpağın durulaşma dərəcəsinə əsasən müayinə olunan torpağın koli-titri və koli-indeksi hesablanır.

Membran filtrlər üsulu, təcili müayinə üsulu kimi tətbiq edilir. Bir başa əkmək üsulu çox çirklənmiş torpağın müayinəsi zamanı işlənir.

1:10 nisbətdə hazırlanmış torpaq suspenziyası 1:1000000 qədər durulaşdırılır, 0,1ml olmaqla hərəsindən Endo mühitinə əkilir. 1 gün termostatda saxladıqdan sonra baxılır və koli-titr, koli-indeks hesablanır.

Perfringens-titri təyini. Nəcislə torpağa düşmüş E.coli 4-5 aydan sonra məhv olur. Ona görə də bu müddətdən sonra E.coli sanitar göstərici kimi öz əhəmiyyətini itirir. Nəcislə torpağa düşmüş klostridilər isə spor hala keçərək uzun müddət orada qalır. Bunların indikatoru sayılan Cl.perfringens-in torpaqda tapılması həmin torpağın (ən azı 4-5 ay əvvəl) nəcislə çirklənməsinə və öz-özünə təmizləmə prosesinə sanitariya qiyməti verməyə imkan verir. Bu məqsədlə torpağın perfringens-titri hesablanır.

Perfringens-titri təyin etmək üçün 3 üsuldən istifadə edilir.

1. Torpaq suspenziyasının Vilson-Bler mühitinə əkilməsi. Təcrübəni qoymaq üçün torpaq suspenziyasından, on qat durulaşma aparmaqla, 1:1000000 nisbətində qədər durulaşmalar hazırlanılır. Götürülmüş iki cərgə sınaq şüşələrinin (hər cərgədə 5-6 ədəd) hər birinə müvafiq durulaşmalardan 1ml tökülür. Suspenziyada olan vegetativ bakteriyaları məhv etmək məqsədilə birinci cərgədəki sınaq şüşələri, içərisindəki suspenziya ilə birlikdə 80⁰C-də 15dəq və ya 90⁰C-də 10dəq saxlanılır. Sonra hər iki cərgədəki sınaq şüşələrinə ex tempore hazırlanmış Vilson-Bler mühitindən 9-10ml əlavə edilir. Sınaq şüşələrini iki əlin arasında fırlatmaqla suspenziya qidalı mühitlə yaxşı-yaxşı qarışdırılır. Sonra, mühitdən sərbəst qazın çıxması və mühitin tez bərkiməsi üçün sınaq şüşələri soyuq suya salınır və bundan sonra 43⁰C temperaturda 24saat inkubasiya edilir.Klostridium perfringens çox sürətli artıb-çoxalaraq, bu mühitdə qara rəngli koloniyalar əmələ gətirdiyi üçün 2 saatdan sonra həmin koloniyaları saymaq olar. Lakin, 2-18saat müddətində, aqarın dərinliyində dairəvi qara rəngli koloniyalar və mühitdə yarıqların yaranmasına səbəb olan qazın əmələ gəlməsi aşkar edilir.
2. Son zamanlar ətraf mühit obyektlərində (eləcə də torpaqda), Klostridium perfringensi tez və asan aşkar etmək üçün sulfid-polimiksin- neomisin (SPN) mühiti geniş tətbiq edilir. Mühitin tərkibində olan antibiotiklər digər mikroorqanizmlərin inkişafını dayandırır. Bu

mühitdə 44-45°C temperaturda 10-12saat müddətində yalnız *Klostridium perfringens* inkişaf edir.

3. Torpaqda *Klostridium perfringens* aşkar etmək üçün zənginləşdirici mühitlərdən olan Kitt-Tarotsi mühitindən istifadə edilir. 1ml qızdırılmış və 1ml qızdırılmamış durulaşdırılmış torpaq suspenziyası maye və yarım maye zənginləşdirici mühitə əkilir. 18-24saat 37°C-də inkubasiya edildikdən sonra, həmin mühitlərdən götürüb Vilson-Bler və ya SPN mühitinə əkilir. Bir gündən sonra *Klostridium perfringens* üçün xarakter olan koloniyalar sayılır və buna əsasən *perfringens*-titr hesablanır.

Torpaqda salmonellaların və şigellaların təyin edilməsi. Torpağa salmonellalar insanın və heyvanın nəcisi ilə, şigellalar isə yalnız insanın nəcisi ilə düşür. Torpaqda bu mikrobların olması əsasən zənginləşdirici qidalı mühitə əkməklə aşkar edilir.

Zənginləşdirmə üsulu daha sadə olduğu üçün ondan hətta ekspedisiya zamanı da istifadə etmək olar. Bu məqsədlə, hazırlanmış torpaq suspenziyasının üzərinə maqneziumlu mühit əlavə edilir və 37°C-də 18-24saat saxlanılır. Sonra həmin mühitdən salmonella koloniyalarını aşkar etmək üçün bismut-sulfit mühitinə, şigellaları aşkar etmək üçün selenitli mühitə əkilir. 37°C-də bir gün inkubasiyadan sonra bitmiş koloniyalar identifikasiya edilir və müayinə olunan torpaqda patogen enterobakteriyaların olması barədə nəticə çıxarılır.

Suyun mikroflorası və sanitar müayinəsi. Su heyvan və bitki aləminin müxtəlif nümayəndələrinin təbii yaşama məskənidir. Çayların, göllərin, dənizlərin, okeanların suyunda bütün mikroorqanizmlərin: skotobakteriyaların, fotobakteriyaların, arxibakteriyaların, göbələklərin, aktinomisetlərin, ibtidailərin, virusların nümayəndələrinə rast gəlmək olar. Ekoloji baxımdan su mənbələrinin bütün mikroflorası iki qrupa bölünür:

1. Avtoxton flora, yəni daim suda yaşayan və orada artıb çoxalan mikroorqanizmlər.
2. Alloxtan flora. Bu mikroorqanizmlər suya xaricdən düşür, onun müxtəlif mənbələrdən çirklənməsi nəticəsində qarışırlar.

Su mühitinə uyğunlaşmış mikroorqanizmlərdən, sulara, daha tez-tez tapılanlara *Micrococcus candicans*, *Micrococcus roseus*, *Sarsina lutea*, *Bacterium aquatilis comuris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus cinsinin*, *Leptospira* növünün bəzi nümayəndələrini, *Serrasia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Chromobacterium* cinsinə mənsub olan bakteriyaları və b. göstərmək olar.

Saprobluq. Suyun, ona qarışmış patogen mikroorqanizmlərdən, insan və heyvan mənşəli üzvi maddələrdən azad olunması prosesi sanitariya baxımından çox böyük əhəmiyyətə malikdir. Bu proses suyun öz-özünə təmizlənməsi prosesi adlanır.

Su mənbələrində gedən öz-özünə təmizlənmə prosesinin gedişinə görə onların saprobluğu 3 cür olur: polisaprob, mezosaprob və oliqosaprob.

Polisaprob sahələr çox çirklənmiş sahələrdir. Bu sahələrdə tez parçalanan üzvi maddələrin miqdarı həddən artıq çox olur. Ona görə də, onlar, mikroorqanizmlər tərəfindən asan mənimsənilirlər. Polisaprob zonada oksigen çatışmadığına görə bioloji proseslər adətən anaerob şəraitdə gedir. Bu zonanın mikroflorası növ etibarilə bir qədər kasıbdır. Polisaprob zonada 1ml suda mikroorqanizmlərin sayı bir neçə milyona çata bilər.

Mezosaprob zona nisbətən az çirklənmiş sahələrdir. Bu zonada əsasən oksidləşdirici və nitrifikasiya prosesləri gedir. Mezosaprob zonada polisaprob zonaya nisbətən mikroorqanizmlərin miqdarı az olur. Bu sahədə suyun 1ml-də 100000-ə qədər mikrob tapıla bilər.

Oliqosaprob zona öz-özünə təmizlənmə başa çatmış sahələrdir. Bu sahədə üzvi maddələr tamamilə mineralaşdığına görə, mikrobların inkişafı üçün şərait olmur. Burada əsasən su mikrobları təsadüf edilir. Oliqosaprob zonada 1ml suda 10-dan 1000-ə qədər mikrob ola bilər.

Suyun sanitar-mikrobioloji müayinəsi. Suyun sanitar-mikrobioloji müayinəsinə onda olan mikroorqanizmlərin ümumi miqdarının təyin edilməsi, bağırsaq çöpləri qrupu bakteriyaların miqdarının, *E.coli*, enterokokkların, patogen mikroorqanizmlərin (*salmonella*, *şigella*, vəba *vibriyonu*, *leptospirələr* və s.) təyin edilməsi daxildir.

Suyun dərin yerlərindən nümunə götürmək üçün xüsusi alət – batometr işlədilir. İçməli sulardan nümunə götürmək üçün bir litr həcmli şüşə qablardan istifadə edilir.

Çirkab sularından da nümunə steril butulkalarda götürülür. Suyun çirklənmə dərəcəsiindən və müayinənin məqsədindən asılı olaraq çirkab sularından 500ml-dən 10ml-yə qədər nümunə götürülə bilər.

Laboratoriyada, qəbul olunmuş su nümunələri onların götürüldüyü andan 2 saatdan gec olmayaraq müayinə edilməlidir. Əgər bu, mümkün olmazsa onda, onları 5°C temperaturda 6 saata qədər saxlamaq olar. Artıq saxlandıqda həmin su nümunələrinin tərkibində olan su mikroflorası və eləcə də, bəzi patogen və şərti-patogen mikroorqanizmlər məhv olur, digərləri isə artıb çoxalır. Bu da, nəticələrin qeyri-təbii (səhv) olmasına səbəb olar.

Suda saprofit mikroorqanizmlərin miqdarının təyin edilməsində həmin suyun seriyalarla on qat durulaşdırılması və müvafiq durulmasının bərk qidalı mühitə əklməsi və bitmiş koloniyaların sayılması üsulundan istifadə edilir.

Qidalı mühitə əkməzdən əvvəl, götürülmüş su nümunəsi yaxşı-yaxşı qarışdırılır. Bunun üçün ştativə içərisində 9 ml steril su olan bir neçə sınaq şüşəsi qoyulur. Steril pipetka ilə müayinə olunan su nümunəsindən 1ml 1-ci sınaq şüşəsinə tökülür və qarışdırılır (sınaq şüşəsindəki sudan pipetkaya sorulur və yenidən oraya üfürülür). Sonra həmin qayda ilə 1-ci sınaq şüşəsindən 1 ml 2-ci sınaq şüşəsinə; 2-cidən 3-cü sınaq şüşəsinə və s. keçirilir. Suyun ehtimal edilən çirklənmə dərəcəsiindən asılı olaraq, su nümunəsini 1:1000000 nisbətində qədər durulaşdırmaq olar.

Müvafiq durulaşmalardan (ən azı iki durulaşmadan) iki kasadakı qidalı (ƏPA) mühitə əklir.

Əkmək üçün hər durulaşmadan (ən azı iki durulaşmadan) iki Petri kasasının hər birinə 1 ml tökülür. Onun üzərinə əridilmiş və 45-50°C-yə qədər soyudulmuş 10-12 ml ƏPA əlavə edilir. Sonra kasaları ehtiyatla tərpətməklə su qidalı mühitə qarışdırılır. Aqar bərkidikdən sonra kasalar termostata qoyulur. Saprofit bakteriyaların bəzilərinin 37°C-də 2 saat ərzində, bəzilərinin isə 20-22°C-də 48saat müddətində bitdiklərini nəzərə alaraq, kasaların bir hissəsini 37°C-də 24saat, digər hissəsinin isə 20-22°C-də 48saat inkubasiya etdikdən sonra bitmiş koloniyalar sayılır. Bunun üçün Petri kasası, dibi yuxarıda qalmaq şərti ilə tünd (qara) rəngli kağız üzərinə qoyulur. Koloniyalar 300-dən az olduqda adi gözlə ya da 2-5 dəfə böyüdən lupa vasitəsilə sayılır. Sayılmış hər koloniya, təkrar sayılmasın deyər xüsusi karandaş vasitəsilə qeyd edilir.

Kasalarda 300-dən artıq koloniyalar bitdikdə və təcrübəni yenidən təkrar etmək mümkün olmadıqda, koloniyaları saymaq üçün xüsusi cihazdan–Volf-Hügel kamerasından istifadə edilir. Bu kamera kvadratlara bölünmüş və xüsusi oturacağa bərkidilmiş şüşə lövhədən ibarətdir.

Bağırsaq çöpləri qrupuna daxil olan bakteriyaların təyin edilməsi. Bu qrupa Enterobacteriaceae fəsiləsinin Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella və başqa cinsləri daxildir. Suda bu bakteriyaları iki üsulla: membran filtrlər və titrləmə, qıcırma üsulları ilə təyin etmək olar.

Membran filtrlər üsulu ilə suyun müayinəsi.

Koli-titr və koli-indeksin təyin edilməsi. Bu üsulun mahiyyəti ondan ibarətdir ki, su membran filtrlərdən süzüləndə onun tərkibində olan bakteriyalar filtrin səthində və məsamələrinə qalır. Sonra həmin filtrləri bərk qidalı mühitlərin üzərinə qoyduqda bakteriyalar inkişaf edib koloniyalar əmələ gətirir ki, onları da saymaq olar.

Membran filtrlər üsulu daha təkmilləşmiş və asan üsuldur. O, ucuz başa gəlir və az zəhmət tələb edir. Lakin bu üsulla təyin edilən bakteriyaların miqdarı titrləmə üsulu ilə təyin edilən miqdara nisbətən az olur. Membran filtrlər üsulu ilə 1 litr (1dm³) suda olan bağırsaq çöplərinin miqdarı – koli-indeks təyin edilir. Koli-titri təyin etmək üçün 1 bağırsaq çöplü tapılan suyun millilitrlərlə ən az miqdarından istifadə edilir.

Müayinə olunan su, çirklənmə dərəcəsiindən asılı olaraq, 100; 10; 1 ml (təmiz suları), 0,1; 0,001 ml (çirli suları) həcmdə müayinə olunur. Əgər müayinə olunan suyun həcmi 1ml və ondan az olarsa, onda, həmin həcmi üzərinə 10ml steril su kəməri suyu əlavə edilir və bundan sonra o, filtdən keçirilir. Bu zaman hər bir durulaşma üçün ayrıca filtr işlədilir. Hər bir həcm ən azı 2 filtdən keçirilir.

Filtrasiya qurtardıqdan sonra filtrlər steril pinset vasitəsilə götürülür və Petri kasasında Endo qidalı mühitin üzərinə qoyulur (üst səthi yuxarı). Bir Petri kasasına 4 membran filtr qoymaq olar. Bundan sonra kasalar 37°C temperaturda termostata qoyulur və 18-24 saat saxlanılır.

Hesablama aparmaq üçün üzərində 30-dan çox koloniya olmayan filtrlərdən istifadə olunur.

Endo mühitində bağırsaq çöplərinin koloniyaları metal parıltılı tünd-qırmızı yaxud, açıq-qırmızı rəngli olurlar. Bu koloniyalardan yaxma hazırlayıb mikroskopiya etdikdə, Qram mənfi çöplər müşahidə olunur.

Suyun təzə nəcislə çirklənməsini aşkar etmək üçün Eykman mühitinə əkilmiş su nümunələrinin 37°C temperaturda 18-24 saat müddətində qaz və bulanıq əmələ gəlmiş üç həcmdən ilgəklə götürülür və bor turşulu laktozalı elektiv mühitə əkilir. Əkinlər 43°C- temperaturda bir gün saxlanılır. Mühitin, qaz əmələ gəlməklə bulanması suyun təzə nəcislə çirkləndiyini göstərir. Çünki, insan və heyvan bağırsağ çöpləri 43°C- temperaturda inkişaf etmək xassəsinə malikdirlər.

Müayinənin nəticələri koli-indekslə yəni, bir litr suda olan bağırsağ çöplərinin miqdarı ilə və koli-titrə göstərilir.

DÜİST-ə əsasən içməli suyun koli-titri 300sm³ –dən (300ml-dən) az, koli-indeksi isə 3-dən çox olmamalıdır.

Havanın mikroflorası və sanitar müayinəsi. İnsan, heyvan və digər canlıların həyat fəaliyyəti nəticəsində, bəzi təbii hadisə və amillər nəticəsində yer səthindən və sudan atmosfer havasına qalxan mikroorqanizmlər havanın mikroflorasını təşkil edir. Bu mikrofloranın kəmiyyət və keyfiyyət tərkibi torpağın və suyun xassələrindən, yaşayış məskənlərindən, həmin sahənin ümumi sanitariya vəziyyətindən, mövsümdən, iqlimdən, günəş radiasiyasından, temperaturdan, atmosfer çöküntülərindən, hava cərəyanlarından və s. asılıdır. Bu amillərin təsiri nəticəsində havanın mikroflorası həm miqdar və həm də, tərkib etibarilə dəyişir. Deməli havanın mikroflorası sabit qalmır.

Qeyd etmək lazımdır ki, yer səthindən və sudan havaya qalxan mikroblardan başqa, havanın daimi sakinləri olan “həqiqi” mikroflora da mövcuddur. Havada olan bəzi uçucu maddələr hava mikrobları üçün qidalandırıcı mühit ola bilər. Bu fikirlər bəzi mitselial, çöpşəkilli və mayayabənzər mikroorqanizmlərin havada artıb-çoxalma qabiliyyətinə malik olmaları ilə isbat olunur. Havada günəş şüalarının təsirinə davamlı pigmentli mikrobların daha çox olması havanın xüsusi mikrofloraya malik olması hipotezini bir daha təsdiq edir.

Havanın üst qatlarında mikroblar daha çox buludlarda toplanırlar.

Atmosfer havasının yer səthinə yaxın qatlarında mikroblarla çirklənməsi şəhərlərdə, xüsusilə küçə hərəkətləri daha intensiv olan dövrlərdə daha yüksək olur. Yaşayış məntəqələrindən uzaqlaşdıqca havada mikroorqanizmlərin də miqdarı azalar. Məsələn, Tayqanın meşə havasında mikrobların miqdarı o qədər az olur ki, içərisində qidalı mühit olan Petri kasasının qapağı açıq 8 gün steril qalır. Okeanlar və dənizlər üzərində atmosfer havasında mikrobların miqdarı həm az olur və həm də dəniz suyunda yaşayan mikroblardan təşkil olunmuş xüsusi mikrofloradan ibarət olur. Belə ki, dəniz səthində 1m³ havada 5-ə qədər mikrob hüceyrəsinin olması aşkar olunmuşdur. Qütb ölkələri üzərində hava daha təmiz olur. İçərisində qidalı mühit olan Petri kasası ağzı açıq bir neçə saat steril qalır.

Atmosferin yer səthinə yaxın hissəsində mikroorqanizmlərin miqdarı mövsümdən və hətta günün saatlarından asılı olaraq dəyişir. Belə ki, qışda havada mikrobların miqdarı az, yayda isə çox olur. Çünki, qışda atmosfer çöküntüləri (qar, yağış) havanı “yuyur”. Bu zaman toz hissəciklərilə birlikdə mikroorqanizmlər də torpağa çökür. Bundan başqa, torpağın səthini qar örtükdə, təbiidir ki, belə torpaqdan havaya nə toz və nə də mikrob qalxa bilməz. Yay aylarında isə torpaq quruyur və onun üzərində olan mikroorqanizmlər toz hissəciklərilə bərabər havaya qalxır. Müəyyən edilmişdir ki, havada mikroorqanizmlərin miqdarı gündüz saat 2 radələrində ən çox, gecə saat 2-də isə ən az olur.

Binaların havası açıq atmosfer havasına nisbətən mikroorqanizmlərlə daha çox çirklənmiş olur. Sanitar-texniki cəhətdən nasaz olan binaların 1m³ havasında 45000-60000 mikrob ola bilər. Qapalı binaların havasında əsasən insanlardan (xüsusilə xəstələrdən) ifraz olunan patogen mikroorqanizmlər daha çox olur.

Qeyd olunduğu kimi, havanın mikroflorası sabit deyil. O, torpaq mikroorqanizmlərindən əmələ gəldiyi üçün torpağın mikroflorası kimi dəyişikliyə uğrayır.

Havanın sanitar mikrobioloji müayinəsi. Qapalı binaların-xəstəxanaların, doğum evlərinin, uşaq bağçalarının, kinoteatrların, məktəblərin, əskər kazarmaların, idman zallarının, yaşayış binalarının və s. havasının sanitariya vəziyyətini qiymətləndirdikdə, qarşıya qoyulan məqsəddən asılı olaraq həmin sahənin havasında olan mikroorqanizmlərin ümumi miqdarı, sanitar-göstərici sayılan mikrobların (stafilokokların, alfa və betta hemolitik streptokokların) və tələb olunduqda müxtəlif patogen mikroorqanizmlərin miqdarı təyin olunur.

Xəstəxanalarda cərrahi əməliyyatlar aparılan otaqların, cərrahiyyə əməliyyatından sonra xəstələrin yatdığı palataların, sargı otaqlarının, doğum evlərində doğuş gedən otaqların, körpələrin və zahı qadınların yatdıqları otaqların müayinəsi zamanı şərti patogen bakteriyalar (göy-yaşıl irin

çöpləri, klebsiellalar, Proteus cinsinə daxil olan bakteriyalar və bir sıra digər Qram mənfi bakteriyalar) və xəstəxanadaxili infeksiyaların əmələ gəlməsinə səbəb olan mikroorqanizmlər də aşkar edilir.

Havanın sanitar-mikrobioloji müayinə üsulları. Havanın sanitar-mikrobioloji müayinəsi bir neçə mərhələdə aparılır. Bunlara hava nümunələrinin götürülməsi; onların işlənməsi, daşınması, saxlanması, mikrobların konsentrasiyasının artırılması; mikroorqanizmlərin əldə edilməsi və əldə edilən kulturaların identifikasiyası daxildir.

Hava nümunələrini götürmək üçün əsas iki üsuldən: sedimentasiya (çökdürmə) və aspirasiya (sorma) üsullarından istifadə edilir.

Sedimentasiya üsulu ilə hava nümunələri əsasən qapalı binalarda götürülür. Bu zaman otağın hər 20 m³ sahəsindən bir nümunə götürülməsi məsləhət görülür. Əgər sahə çox böyükdürsə, onda, diaqonal üzrə 4 küncdən (divarlardan 0,5 m aralı) və 1 mərkəzdən döşəmədən 1,6-1,8 m yüksəklikdən (xəstəxanalarda çarpayı yüksəkliyindən) nümunə götürülür.

Qeyd etmək lazımdır ki, R.Kox tərəfindən təklif edilmiş sedimentasiya üsulu ən qədim üsuldur. O, sadə və aparılması əlverişli olduğuna baxmayaraq, nisbətən qeyri-dəqiqdir.

Bu üsulun mahiyyəti ağzı açıq Petri kasasındakı qidalı mühitin sahəsinə havadakı toz hissəcikləri və aerozolla birlikdə mikroorqanizmlər ağırlıq qüvvəsinə (qarvitasia qanununun) əsasən çökməsindən ibarətdir. Havada mikroorqanizmlər çox olduqda kasalar 5 dəq, az olduqda isə 30-40 dəq ağzı açıq saxlanılır. Sonra qapağı bağlanılır və 37⁰C temperaturda 24 saat saxlanılır. Termostatdan götürüldükdən sonra, piqmentli mikroblar piqment əmələ gətirsin deyərək 48 saat otaq temperaturunda səpilmiş işıqda saxlanılır. Bundan sonra bitmiş koloniyalar identifikasiya edilir və onların miqdarı hesablanır.

Havada mikroorqanizmlərin ümumi miqdarını təyin etdikdə ətli-peptonlu aqarından, streptokokları təyin etdikdə Qarro və ya Turjesko mühitlərindən, stafilokokları təyin etdikdə yumurta sarılı - duzlu mühitlərdən, hər hansı patogen bakteriyaları təyin etdikdə isə həmin bakteriyalar üçün elektiv olan qidalı mühitlərdən istifadə edilir.

Aspirasiya (sorma) üsulu. Bu üsuldən həm qapalı binaların havasının və həm də açıq atmosfer havasının sanitar-mikrobioloji müayinəsində istifadə olunur.

Aspirasiya üsulu havada olan mikroorqanizmlərin bərk qidalı mühitlərin səthinə, yaxud mikrobtutucu mayelərə (ətli-peptonlu bulyonu, natrium xloridin izotonik məhlulu, buffer məhlulu və s.) məcburi çökməsinə əsaslanır. Bu məqsədlə sanitariya xidməti təcrübəsində bir sıra cihazlardan istifadə edilir. Belə cihazlara Krotov aparatını, Kiktenko aparatını, Anderson cihazını göstərmək olar.

Sanitar-Epidemioloji Stansiyalarda ən çox Krotov aparatından istifadə edilir. Bu aparatın iş prinsipi hava şırnağının bərk qidalı mühitin səthinə dəyməsinə və nəticədə həmin hava şırnağının tərkibində olan toz hissəcikləri və aerozolla birlikdə mikrobların da qidalı mühitə dəyib yapışmasına əsaslanır. Krotov aparatının qapağında paz şəkilli yarıq vardır. Həmin yarığın altında yerləşmiş fırlanan diskin (masacığının) üzərinə içərisində bərk qidalı mühit olan Petri kasası ağzı açıq qoyulur. Aparat elektrik cərəyanı ilə işləyir. Aparat işə saldıqda həmin paz şəkilli yarıqdan hava şırnağı aparata sorulur və o, qidalı mühitin səthinə çırpılır. Bu zaman onun tərkibində olan mikroblar qidalı mühitin üzərinə yapışır. Disklə bərabər kasanın fırlanması (1 dövr/san) mikroorqanizmlərin mühitin səthində bərabər səviyyədə yayılmasını təmin edir. Bu aparatdan 20-25 l/dəq sürətlə hava sorulur. Adətən aparat 5dəq işlədilir.

Havanın çirklənmə dərəcəsiindən asılı olaraq bu müddət dəyişə bilər.

Əgər aparat 20 l/dəq sürətilə 5 dəq işləmişdirsə belə halda ondan 100 litr hava keçmişdir. Deməli qidalı mühitin səthinə yapışan mikrobların miqdarı 100l havada olan mikrobların miqdarına bərabərdir.

Nümunə götürüldükdən sonra kasaların ağzı qapaqla örtülür və 37⁰C temperaturda termostadda 48 saat inkubasiya edilir. Sonra termostaddan götürülür və sedimentasiya üsulunda olduğu kimi bitmiş koloniyalar identifikasiya edilir və miqdarı hesablanır.

İnsan orqanizminin mikroflorası və öyrənilmə üsulları. İnsan orqanizmində çox müxtəlif növ mikroblara təsadüf olunur ki, bunlardan da ən çox epidemioloji əhəmiyyətə malik olanları bağırsaqla, dəridə, selikli qişalarda, əsnəkdə, burunda olan mikroblardır. İnsan orqanizmində 500 növ mikroorqanizm məskən salmışdır. Bunlar orqanizmdə kolonizasiya olur ki, bu da onun mikroflorasını təşkil edir. Bu mikroblar bir-birilə və makroorqanizmlə tarazlıqda yaşayır. Sağlam şəxsin bədəninin xarici örtüyündə çoxlu miqdarda mikrob olur. Lakin əsas kütləyə ağız boşluğunda və yoğun bağırsaqla rast gəlinir. Bu mikroblar daimi (həmişə) və təsadüfi (tranzitor) olur.

Normada orqanizmdə steril sayılan orqanlar da mövcuddur (ürək, ağ ciyər, sidik kisəsi, uşaqlıq, beyin, qan və s.).

Bir adamın dərisində 1ml-də qədər mikrob olur, bunların əksəriyyəti də fakultativ anaeroblardır (stafilokok, streptokok, kandida və s.). Dəridə zədələnmə baş verdikdə, onlar buradan keçəcək irinli xəstəliklər törədirlər. Təmiz dəri bakterisid xassəlidir.

1ml ağız suyunda 10^8 bakteriya olur. Anaerob bakteriyalara aeroblardan 100 dəfə çox rast gəlinir: bakterosidlər, bifidobakteriyalar, streptokoklar, trixomonas, kandida və s. Bunlar ağızın müxtəlif yerlərində müxtəlif cür yerləşirlər: aktinomisetlər dildə, ağız suyunda, diş diblərində; streptokoklar ağız suyunda, dişlərdə və s. İnsan bir gündə 2l ağız suyu udur və deməli mikrobları udur, lakin lizosim və İgA bu mikrobların qida borusunda adgeziyasına mane olur.

Mədə şirəsi mikrobların əksəriyyətini tələf edir, yalnız tırşuya davamlılar sağ qalırlar: maya göbələyi, sarsinlər helikobakteriyalar.

Nazik bağırsağın 1ml mayesində 10^5 - 10^8 mikrob olur (klostridilər, laktobakteriyalar, bifidobakteriyalar, enterokoklar və s.). Nazik bağırsağın şirəsi əksər mikrobları öldürür və onlarda olan endotoksin xaricə çıxaraq xəstəlik törədirlər (qarın yatalağı, vəba və b.).

Yoğun bağırsaq mikroblarla ən zəngin olan yerdir. Hər gün yaşlı adam gündə 18 trilyon mikrob ifraz edir. 1 q nəcisdə 10^{12} mikrob olur. Bunların 95%-ni anaeroblar təşkil edir. Bağırsağın epitelində spiroxetlər daha yaxşı çoxalırlar. Candida, psevdomonas, stafilokokk və s. nisbətən az olur. Normal floranın antoqonist təsiri, İgA-nın təsirindən orada əlavə mikroblar yaşaya bilmir. Körpə uşaqlarda isə laktoferrin təsirindən, digər mikroblar az yaşayırlar.

Sidik kisəsi, böyrəklər, sidik axarları steril hesab edilir. Hər 2 cinsin sidik yollarının epitelidə normada stafilokoklar, neyссерiyalar və s. olur. Anaeroblar daha çox olur. Qram müsbət mikroblar çox olur. Aybaşı vaxtı isə Qram mənfilər artır: Mycoplasma hominis, Gardnerella vaginalis və s.

Orqanizmin müqaviməti azaldıqda normal floranın nümayəndələri irinli – iltihabi proseslərin baş verməsinə səbəb olur. Orqanizmdə normal mikrofloranın kəmiyyət və keyfiyyətə dəyişməsi nəticəsində baş verən mütənasiblik pozğunluğuna disbakterioz deyilir ki, bu zaman da orqanizmdə davamlı şamlar əmələ gəlir və bunlar da müxtəlif cür fəsadların baş verməsinə səbəb olur. Orqanizmdəki mikrobları təyin etmək üçün aşağıdakı kimi əkmələr aparılır.

Dəri səthinin sanitar-bakterioloji müayinəsində bakterioloji üsuldən istifadə edilir, belə ki, dəri yuyuntusunda E.coli-nin olmasını təyin etmək üçün bu, Endo mühitində və Eykman mühitlərində əkilir, 37°C temperaturda 1 sutka saxlanılır, sonra Eykman mühitindən də Endo mühitinə köçürülür. Endo mühitində metal parıltılı tünd qırmızı koloniyaların əmələ gəlməsi dərinin fekal çirklənməsini göstərir.

Nəcisin əkilməsi. Steril ilgəklə azacıq miqdarda nəcis götürülür (nəmunə təzə ifraz olunan nəcisdən götürülməlidir), əvvəlcə Endo mühitinin səthində məhdud sahədə, sonra isə paralel cizgilərlə mühitin qalan səthində yayılır. Həmin ilgəklə eyni zamanda həm də ətli-peptonlu aqarın səthində əkmə aparılmalıdır. Bir-birindən aralı olan tək-tək koloniyaları, həmçinin ardıcıl olaraq içərisində bərk qidalı mühit olan üç kasada əkməklə də almaq olar.

Əkmələr aparılmış Petri kasaları 37°C-də bir sutka termostatda qaldıqdan sonra Endo mühiti səthində E.coli metal kimi parıldayan qırmızı koloniyalar əmələ gətirir. ƏPA səthində isə bağırsaq mikroflorasına aid olan digər aerob mikroblar inkişaf edir.

Əsnəyin selikli qışasından götürülmüş seliyn əkilməsi. Steril pambıq tamponla əsnəyin selikli qışasından götürülmüş selik, içərisində qanlı, yaxud şəkərli mühit olan kasalara əkilir. Əvvəlcə tampon mühit səthinə bir neçə yerdən sürülür, sonra isə tək-tək koloniya alınması üçün tamponla mühit səthinə sürülmüş material ilgəklə bütün mühit səthinə yayılır. Əkin 37°C temperaturda becərilir. (Bütün bunlar kliniki mikrobiologiya bəhsində geniş şərh edilmişdir.

Mikroorqanizmlərin genetikası. Mikroorqanizmlərin dəyişkənliyin mexanizmi infeksiya prosesin təbiətini düzgün başa düşülməsi, optimal üsulların seçilməsi, yoluxucu xəstəliklərin səbəbi və müalicəsi üçün zəruridir. Mikrobların genetikasına və dəyişkənliyinə aid olan problemlər canlı aləmin inkişaf qanunlarına əsaslanaraq izah edilir.

İrsiyyətin gedişində bioloji növə xas olan bütün genetik əlamətlər saxlanılır. Bundan fərqli olaraq canlının yaşadığı müəyyən şəraitdə xarici mühitin təsiri nəticəsində orqanizmdə baş verən əlamətlər fenotipik xarakter daşıyır. Beləliklə, genotip anlayışı fenotipə nisbətən daha geniş anlayışdır.

Mikroorqanizmlərin irsi xüsusiyyətlərinin dəyişilməsi hüceyrə DNT-si dəyişməsi ilə sıx əlaqədardır ki, bu da müxtəlif fiziki, kimyəvi və bioloji amillərin təsiri altında ancaq müəyyən şəraitdə müşahidə edilə bilər. Mikroblarda nəzərə çarpan dəyişkənliklər bir neçə yerə bölünür:

1. Qeyri-irsi dəyişkənlik (modifikasiya). Belə dəyişkənlik xarici mühitin təsiri altında baş verməklə müvəqqəti xarakter daşıyır və mikrobu fenotipik xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır, irsən keçmir.
2. İrsi dəyişkənlik. Bu tip dəyişkənlik hüceyrənin genetik quruluşunun dəyişilməsi nəticəsində baş verdiyindən və müntəzəm olaraq mikrobu sonrakı nəsillərinə keçdiyindən genotipik dəyişkənlik adlanır.
3. Mutasiya. Yenidən qazanılmış əlamətlərin irsən möhkəmləndirilməsinə mutasiya deyilir. Mənşəyinə görə mutasiya spontan və induktiv olmaqla 2 cür olur. Spontan mutasiyanın yaranmasına səbəb olan amilin (mutagenin) müəyyən edilməsi çox çətin olur, hətta mümkün olmur. Xarici amilin təsiri nəticəsində yaranan induktiv mutasiya eksperimental yolla müəyyən fiziki, yaxud kimyəvi mutagenin təsiri altında əldə edilir.

Dəyişkənlik 3 formada müşahidə olunur: modifikasiya, mutasiya və rekombinasiya.

Modifikasiya müxtəlif amillərin təsiri altında baş verən və irsən keçməyən fenotipik, yaxud qeyri-irsi dəyişkənlikdir. Dəyişikliyin bu formasında mikroorqanizmlərin irsi aparatı sabit qalır. Ona görə də əmələ gəlmiş yeni əlamətlər və ya xassələr nəsil-dən-nəslə ötürülmür. Modifikasiya dəyişikliyinə bakteriyalarda qeyri-sabit L-formaların, dərman preparatlarına davamlı formaların və s. əmələ gəlməsini, hərəkətiliyin və kapsul əmələ gətirmək qabiliyyətinin itməsini və başqa xassələrin dəyişməsinə misal göstərmək olar. Bu növ dəyişkənlik, adətən, tək-tək hüceyrələrdə deyil, bakteriya populyasiyasının çoxlu miqdarda hüceyrələrində baş verir. Çox vaxt dəyişikliyin əmələ gəlməsinə səbəb olan amil aradan götürüldükdə, qazanılmış yeni əlamətlər yox olur və irsi əlamətlər bərpa olunur.

Modifikasiya dəyişikliyinə aid təcrübə qoymaq üçün fenolun *Proteus vulgaris*-in hərəkətinə göstərdiyi təsirdən istifadə etmək olar.

Bu məqsədlə iki sınaq şüşəsi götürülür. Onların hər birinə 5-7 ml ətli-peptonlu bulyon tökülür. Sınaq şüşələrinin birinə bir neçə damla 1%-li fenol məhlulu əlavə edilir. Sonra hər iki sınaq şüşəsindəki qidalı mühitə *Proteus vulgaris*-in hərəkətli kulturası əkilir. 37°C temperaturda 18-24 saat inkubasiya etdikdən sonra, hər iki sınaq şüşəsində bitmiş kulturadan “əzilən” damla preparatı hazırlanır və mikroskopiyaya edilir, bu zaman fenol əlavə edilmiş qidalı mühitdə bitmiş bakteriyaların hərəkətinin itdiyi, fenolsuz mühitdə bitmiş bakteriyaların hərəkətli olduğu aşkar olur. Bu dəyişikliyin mutasiya, yaxud modifikasiya dəyişikliyi olmasını isbat etmək üçün, həmin hərəkətin itirmiş kulturadan yenidən təmiz ətli-peptonlu bulyona əkilir. 37°C-də 18-24 saat saxladıqdan sonra bitmiş kulturanın hərəkəti yoxlanılır. Bu zaman bakteriyaların hərəkətinin bərpa olunması müşahidə olunur. Deməli, itmiş əlamətlərin reversiya olunması dəyişikliyin modifikasiya xarakterə malik olmasını sübut edir.

Mutasiya genotip dəyişikliyi. Bu zaman mikrobu hüceyrəsinin irsi aparatı olan nuklein turşusunun (DNT) müəyyən sahəsində azot əsaslarının düzülüşündə dəyişikliklər baş verir. Bunun nəticəsində də hüceyrədə yeni əlamətlər və xassələr əmələ gəlir. Bu əlamətlər bir və ya bir neçə genin dəyişikliyi ilə əlaqədar olduğu üçün sabit qalır, irsən – nəsil-dən-nəslə ötürülür.

Mutasiya mikrobu populyasiyasının tək-tək nümayəndələrində baş verən təsadüfi (sıçrayışla) hadisədir. Mutasiya zamanı mikrobu hüceyrəsində çox müxtəlif yeni əlamətlər meydana çıxı bilər. Belə əlamətlərə aşağıdakıları göstərmək olar:

1. Bakteriya hüceyrəsinin morfoloji quruluşunun, yəni kapsulun, flagellaların, hüceyrə divarının və s. dəyişilməsi;
2. Koloniyaların formalarının, antigenlik, virulentlik və b. xassələrinin dəyişilməsi;
3. Biokimyəvi əlamətlərin, yəni metabolizm prosesində iştirak edən fermentlər əmələ gətirmək xassələrinin dəyişilməsi;
4. Dərman maddələrinə, xüsusilə antibiotiklərə və faqlara olan həssaslığın dəyişilməsi və s.

Mutasiya zamanı genlər arasında uyğunsuzluq yaranarsa, belə hüceyrələr, yaxud fərdlər yaşamaq qabiliyyətinə malik olmur məhv olur. Genlər arasında uyğunluq, yaxud tarazlıq pozulmadıqda məlumat yaşayır və yeni növün əmələ gəlməsinə səbəb olur.

Spontan mutasiyaların əmələ gəlmə tezliyini aşkar etmək üçün flüktuasiya sınağından istifadə etmək olur.

Flüktuasiya sınağı. Əvvəllər, heç bir mutagenin təsirinə məruz qalmayan bakteriya populyasiyasında spontan mutasiyaların tezliyini təyin etmək üçün Luri və Delbrükün flüktuasiya sınağından istifadə edilirdi. Bu təcrübədə streptomisinə həssas (Str^s) E.soli kulturasında streptomisinə rezistent (Str^r) spontan mutasiyaların əmələ gəlmə tezliyini aşkar etmək üçün Str^s kulturadan içərisində 10ml ətli-peptonlu bulyon olan bir sınaq şüşəsinə və 1ml həmin bulyon olan 10 sınaq şüşəsinə əkilir. Kulturanı elə əkmək lazımdır ki, hər sınaq şüşəsinə 100-1000 bakteriya əkilmiş olsun.

Əkilmiş mühitlər $37^{\circ}C$ temperaturda 18-20 saat inkubasiya edildikdən sonra termostatdan götürülür və bitmiş kulturadan içərisində ətli-peptonlu aqar və 100V streptomisin olan kasalara əkilir. Belə ki, içərisində E.soli-nin bulyon kulturası olan sınaq şüşəsindən 10 kasaya (hər birinə 0,1ml), qalan 10 sınaq şüşəsinin hər birindən (0,1 miqdarında) isə ayrı-ayrı kasalara əkilir. Əkilmiş kasalar 18-24 saat $37^{\circ}C$ -də inkubasiya edildikdən sonra nəticə yoxlanılır. Aqarda yalnız 100V streptomisin təsirinə rezistent olan bakteriya hüceyrələri inkişaf edib koloniya əmələ gətirir.

Bütün kasalarda eyni miqdarda koloniyalar bitərsə, bu, streptomisinə davamlı hüceyrələrin antibiotikin kulturaya 14saat müddətində təsiri nəticəsində əmələ gəldiyini göstərir. Bu proses kulturanın streptomisinə davamlılığının adaptasiya mexanizmi ilə izah edilir.

Lakin 10 sınaq şüşəsindən əkilmiş kasalarda bitmiş koloniyaların miqdarının müxtəlif olması müayinə edilən mikrob populyasiyasında qidalı mühitə əklməzdən əvvəl Str^r mutantların olduğunu göstərir. Müxtəlif kulturalarda mutant hüceyrələrin müxtəlif miqdarda olması (flüktuasiyası), onların əmələ gəlmə tezliyi ilə əlaqədardır. Aqara əklməzdən əvvəl hansı kulturada mutasiya çox baş veribsə, həmin kulturada da bakteriyaların miqdarı çox olur və əksinə. İçərisində 10ml bulyon olan sınaq şüşəsinə əkilmiş kulturada isə flüktuasiya müşahidə edilmir. Çünki əmələ gəlmə tezliyindəm asılı olmayaraq mutantlar bulyonda bərabər səviyyədə yayıldıqlarına görə kasalarda da bərabər miqdarda müşahidə edilərdi.

Rekombinasiya dəyişkənliyi genetik aparatın bir hüceyrədən başqa hüceyrəyə keçməsi nəticəsində baş verir. Genetik aparat bir hüceyrədən başqa hüceyrəyə üç yolla keçirilir; transformasiya, transduksiya və konyuqasiya.

Transformasiya. Bu zaman donor hüceyrənin genetik aparatı (DNT) resipient hüceyrəyə vasitəsiz keçirilir.

Transduksiya. Bu zaman genetik material donor hüceyrədən resipient hüceyrəyə mülayim bakteriofaglar vasitəsilə ötürülür.

Konyuqasiya iki hüceyrənin bir-biri ilə birləşməsi və genetik materialın bir hüceyrədən digərinə bilavasitə keçməsindən ibarətdir.

Transformasiya təcrübəsinin qoyulması. Bac.subtilis-in streptomisinə həssas (Str^s) ştamminin (resipient) ətli-peptonlu bulyonda bitmiş 1ml kulturası üzərinə 1mkq miqdarda həmin mikrobun streptomisinə rezistent (Str^r) ştammindən (donor) alınmış 1mkq DNT əlavə edilir. Termostatda $37^{\circ}C$ temperaturda 30 dəq inkubasiya edildikdən sonra onun üzərinə resipient hüceyrələrinə daxil olmayan və sərbəst qalan DNT-ni parçalamaq üçün tərkibində 0,1 mq/ml DNT-aza olan maqnezium-xlorid məhlulundan 0,5 ml əlavə olunur. 5 dəq termostatda $37^{\circ}C$ -də saxlandıqdan sonra, əmələ gəlmiş streptomisinə davamlı rekombinat (transformat) hüceyrələrin miqdarını təyin etmək üçün həmin qarışıqdan 0,1ml götürüb, Petri kasasına tökülmüş selektiv qidalı mühitə əkilir. Bu selektiv qidalı mühitin tərkibi 100 ml/V streptomisindən və ət-pepton aqarından ibarətdir.

Kontrol üçün DNT əlavə edilməmiş və 10^{-5} - 10^{-6} dəfə durulaşdırılmış resipient kulturadan iki qidalı mühitə əkilir. Bunlardan birinə streptomisin əlavə edilir, o birinə isə yox. Hər üç kasa $37^{\circ}C$ -də bir gün inkubasiya edildikdən sonra təcrübənin nəticəsi yoxlanılır və bitmiş koloniyalara əsasən xüsusi düsturla transformasiya tezliyi hesablanılır. Məsələn, resipient ştammin 10^{-5} dəfə durulaşdırılmış kulturasından 0,1ml əkilmiş kasada 170 koloniya, durulaşdırılmamış kulturadan 0,1ml əkilmiş kasada isə rekombinat ştammin 68 koloniyası bitmişdir. Fərz edək ki, hər koloniya bir hüceyrədən əmələ gəlmişdir. Onda, əkilmiş 0,1ml resipient kulturasında diri hüceyrələrin miqdarı 170×10^5 olar. 1ml-də isə onların miqdarı 170×10^6 , yaxud $1,7 \times 10^8$ -ə bərabər olar. DNT ilə təmasda olan kulturanın 0,1ml-də rekombinat hüceyrələrin miqdarı 68, 1ml-də isə 680, yaxud $6,8 \times 10^2$ olar. Deməli, bu təcrübədə transformasiyanın tezliyi

$$\frac{6,8 \times 10^2}{1,7 \times 10^8} = 4,0 \times 10^{-6} \quad \text{olur.}$$

Transduksiya təcrübəsinin qoyulması. Bir sınaq şüşəsinə laktozanın parçalanmasına rəhbərlik edən genin (beta-qalaktozidaza operonunu), yəni laktozanı parçalaya bilməyən E.coli –nin 3 saatlıq bulyon kulturası, ikinci sınaq şüşəsinə isə, genomunda genlərin bir hissəsi E.coli-nin beta-qalaktozidaza operonu ilə əvəz olunmuş bakteriofaq tökülür. Bu bakteriofaqlar defektli olduqları üçün bakteriyaları lizisə uğrada bilmir və lambda-dgal formada işarə edilir.

E.coli kulturası resipient, lambda-dgal faq isə transduksiyaedici vəzifəsini yerinə yetirir.

Təcrübəni qoymaq üçün E.coli-nin 3 saatlıq bulyon kulturasından 1ml götürüb, steril sınaq şüşəsinə tökürlər. onun üzərinə 1ml 10^{-6} - 10^{-7} faq/ml konsentrasiyada bakteriofaq (lambda-gdal) əlavə edilir. 37°C -də 1 saat saxlanılır, tərid olunmuş seyrək koloniyalar alınsın deyə o, onqat durulaşdırma üsulu ilə 1:1000000 nisbətində kimi durulaşdırılır. Sonra həmin durulaşdırmalardan (ən azı 3 durulaşmadan) və kontrol kimi resipient kulturadan (bakteriofaq əlavə edilməmiş kulturadan) Endo mühitinə əkib, 37°C -də 18-24 saat inkubasiya edilir. Bu müddət ərzində bitmiş koloniyaların miqdarına əsasən transduksiya tezliyi hesablanılır. Məsələn, 10^{-6} dəfə durulaşdırılmış qarışıqın 0,1 ml-i əkilmiş kasalarda 138, 170 və 160 koloniya əmələ gəlmişdir. Eyni zamanda birinci kasada 3, ikinci kasada 2 və üçüncü kasada isə 1 qırmızı rəngli (laktozanı parçalayan) koloniya bitmişdir. Deməli, transduksiya tezliyi

$$\frac{(3+2+1) \times 10 \times 10^6}{(138+170+160) \times 10 \times 10^6} = 6/468 = 1,3 \times 10^{-2} \quad \text{olur}$$

Konyuqasiya təcrübəsinin qoyulması. Leysinin sintezinə nəzarət edən genin E.coli-nin donor ştammindən (E.coli K12 Hfr , Leu^+ , Str^s) həmin bakteriyanın resipient ştammina (E.coli K12 F⁻ , Leu^- , Str^r) konyuqasiya vasitəsilə ötürülməsi təcrübəsinə qoymaq üçün resipientin 3 saatlıq bulyon kulturasının 2ml-i üzərinə həmin miqdarda donor kulturası əlavə edilir. 37°C -də 30dəq saxlandıqdan sonra qarışıq 1:100 -1:1000 nisbətlərində durulaşdırılır. Sonra hər durulaşmadan 0,1 ml tərkibində amin turşu (leysin) olmayan ancaq 100-200ml/V streptomisin olan selektiv minimal mühiti tökülmüş Petri kasasına əkilir. Kontrol məqsədilə həmin mühitin ayrı-ayrı sahələrinə həm resipient, həm də donor kulturası əkilir. Bu qidalı mühidə nə resipient (leysinə aüksotrof olduğuna görə) kulturası, nə də donor (streptomisinə həssas olduğu üçün) kulturası bitmir, yalnız əmələ gələn rekombinat hüceyrələr bitir.

Bundan başqa, donor kulturasından streptomisin əlavə olunmayan selektiv mühitə, resipient kulturasından isə tərkibində streptomisin olan ət-pepton aqarına əkilir. Bu qidalı mühidlərdə mikrobların inkişafı, təcrübədən əvvəl həmin kulturalarda olan diri hüceyrələrin miqdarı haqqında mülahizə yürütməyə imkan verir.

Əkilmiş bütün kasalar 37°C temperaturda bir gün saxlandıqdan sonra bitmiş koloniyaların miqdarı hesablanılır. Rekombinat hüceyrələrin miqdarının resipient hüceyrələrin miqdarına nisbətində əsasən rekombinasiya (konyuqasiya) tezliyi müəyyən edilir. Məsələn, 1:100 nisbətində durulaşdırılmış qarışıq kulturadan (donor-resipient) 0,1ml əkilmiş kasada 150 rekombinat koloniyası, 1:1000000 nisbətində durulaşdırılmış resipient kulturasından 0,1ml əkilmiş kasada isə 75 koloniya bitmişdir. Onda rekombinasiya tezliyi

$$\frac{150 \times 10 \times 100}{75 \times 10 \times 10^6} = \frac{1,5 \times 10^5}{7,5 \times 10^8} = 2,0 \times 10^{-4} \quad \text{olar.}$$