

Məşğələ-2

Bakteriyaların ultrastrukturunu. Hüceyrə divarının quruluşu. Qram üsulu. Turşuya davamlı bakteriyalar və Sil-Nilsen üsulu. Sporalar və Ojesko üsulu. Hüceyrə daxili əlavələr və Neysser üsulu. Flagella, mikrob hərəkətinin təyini (“əzilən”, “asılan” damla üsulları və vital boyama). Kapsula. Gins-Burri üsulu

Məşğələnin planı:

I.Müəllimin giriş sözü, davamiyyətin yoxlanması

II.Müzakirə olunan suallar və müvafiq slayd, cədvəl , ləvazimatların nümayişi

1.Bakterial hüceyrənin ultrastruktur. Hüceyrənin stabil və qeyri-stabil komponentləri.

2.Qram mənfi və qram müsbət bakteriyalar, onların hüceyrə divarının quruluşu. Qram üsulu ilə rənglənmənin mərhələləri.

3.Volyutin dənəcikləri, onların difteriyanın diaqnostikasında rolu və Neysser üsulu ilə aşkar edilməsi

4.Turşuya davamlı bakteriyaların strukturu, Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənmənin mərhələləri.

5.Sporlar, sporların əmələ gəlmə mərhələləri, Ojeşko üsulu ilə rənglənməsi.

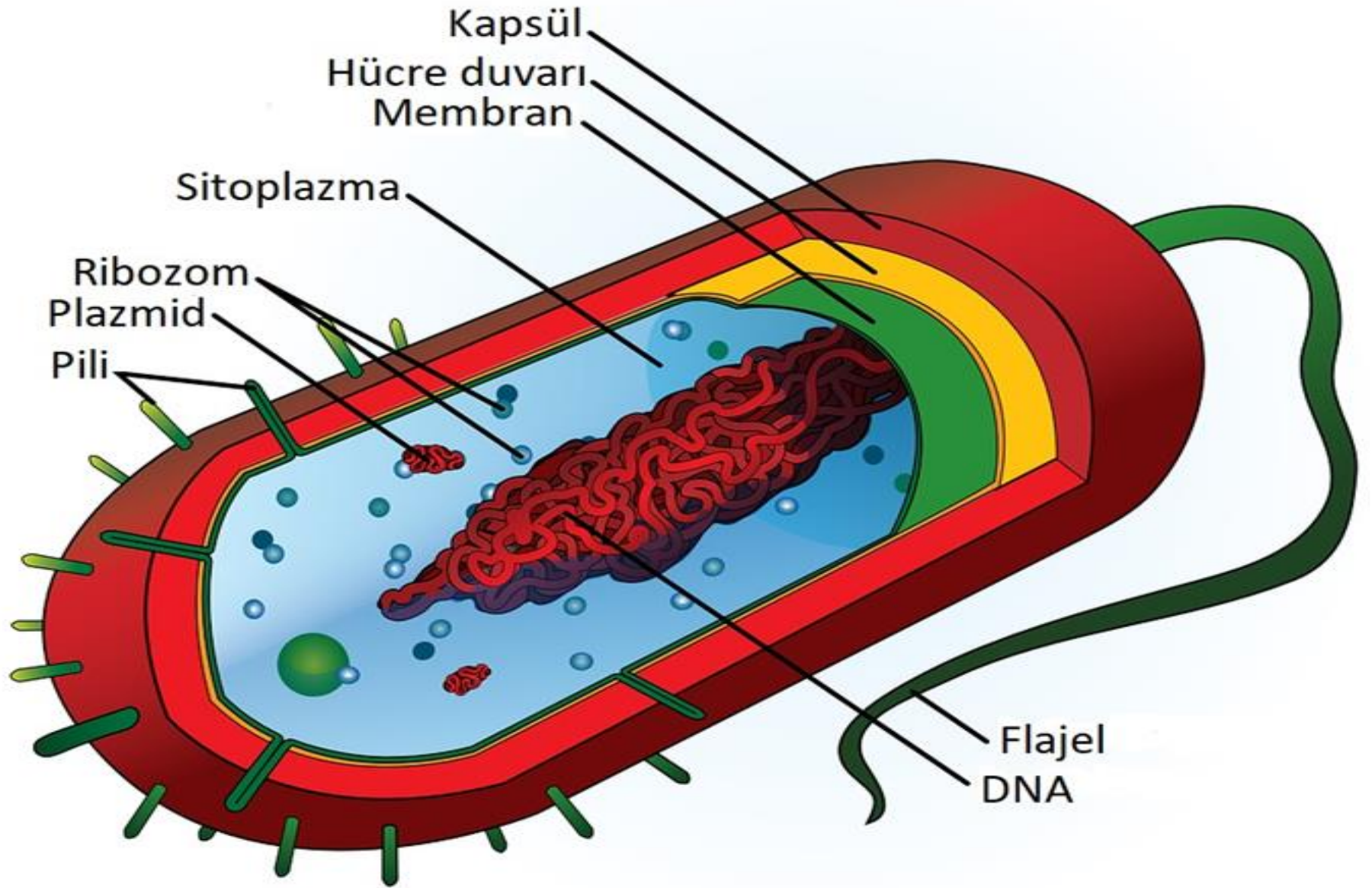
6.Bakteriya kapsulasının quruluşu, kimyəvi tərkibi, Gins-Burri üsulu ilə kapsulanın aşkar edilməsi

7.Flagellaların quruluşu, funksiyası, əzilən və asılan damla üsulları ilə hazırlanmış preparatlarda mikrobların hərəkətinin öyrənilməsi.

BAKTERIAL HÜCEYRƏNİN ULTRASTRUKTURU

Bakteriya hüceyrəsi:

- ◆ *mikroskopik ölçüdə olmasına baxmayaraq mürəkkəb quruluşa malikdir;*
- ◆ *bitki və heyvan hüceyrələrindən (eukariotlardan) fərqlənir;*
- ◆ *hüceyrənin quruluşu bütöv halda, ultranazik kəsiklərdə, elektron mikroskopu ilə və mikrokimyəvi üsullarla yaxşı öyrənilmişdir;*
- ◆ *hüceyrəsinin əsasını - 3 qatlı hüceyrə qışası ilə əhatə olunmuş sitoplazma və onda yerləşmiş nukleoid (nüvə maddəsi) təşkil edir.*



● *Bəzi hüceyrələrdə əlavə elementlər:*

- ◆ *mikrokapsula,*
- ◆ *kapsula,*
- ◆ *flagella,*
- ◆ *mikroxovlar (pili, fimbri) olur;*
- ◆ *sitoplazmasında müxtəlif tərkibli əlavələr (volyutin , kükürd, lipid dənəcikləri, vakuol və s.),*
- ◆ *əlverişsiz şəraitdə spor əmələ gətirirlər.*
- *3 qatlı hücerə qışasının:*
 - ◆ *daxili qatı - sitoplazmatik membrandan;*
 - ◆ *orta qatı - hüceyrə divarından;*
 - ◆ *xarici qatı - selik təbəqəsindən (kapsula və ya mikrokapsuladan) ibarət olur.*

● Nukleoid:

- ◆ *nüvə qılafına malik olmayan, DNT-dən (xromosomdan) ibarət nüvə maddəsidir;*
- ◆ *sitoplazmada dağınıq, kələfəbənzər şəkildə, mezasomla birləşmiş halda yerləşir;*
- ◆ *DNT (xromosom) - 10 mln nukleotid cütündən (A-T, Q-S) təşkil olunmuş və 1 həlqəvi zəncirdən ibarətdir;*
- ◆ *bəzi hüceyrələrdə 2-4 xromosomun olması məlumdur;*
- ◆ *bölünmə prosesində daha çox xromosoma rast gəlinir;*
- ◆ *bakteriyalarda DNT həmişə həlqəvi olmur;*
- ◆ *Borrelia burgdorferidə xətti şəkildə olur;*
- ◆ *bakteriyaların həyat fəaliyyətini tənzimləyən, irsi məlumatların saxlanılmasında və ötürülməsində iştirak edən əsas elementdir.*

● *Plazmidlər:*

- ◆ *sitoplazmada xromosomdan kənar yerləşir;*
- ◆ *103-106 nukleotid cütünə (A-T, Q-S) malik - DNT molekuludur;*
- ◆ *bakteriyalarda əsas həyati funksiyalarını yox, əlavə funksiyaları:*
 - *bakteriyaların əlverişsiz şəraitə uyğunlaşmasını,*
 - *antibiotiklərə,*
 - *kimyəvi maddələrə,*
 - *temperaturaya davamlılığı,*
 - *patogenlik amillərinin sintezini və s. təmin edir.*

● Sitoplazma:

- ◆ sitoplazmatik membranla əhatə olunmuşdur;
- ◆ hüceyrənin əsas kütləsini təşkil edir;
- ◆ maye konsistensiyalı, kolloid halındadır: sudan, zülallardan, karbohidratlardan, lipidlərdən, mineral birləşmələrdən ibarətdir;
- ◆ həyati vacib funksiyaların yerinə yetirilməsində qəlib (matriks) rolunu oynayır;
- ◆ eukariotların sitoplazmasından fərqli olaraq hərəkətsizdir, yüksək sıxlığa malikdir;
- ◆ içərisində - DNT (nukleoid), plazmid, ribosomlar, mezasomlar və hüceyrə əlavələri (qlikogen, qranuloza, piy damlaları - lipoproteidlər, kükürd, kalsium, mum dənəcikləri, zülal kristalları, vakuollar, volyutin dənələri və s.) yerləşir.

● Ribosomlar:

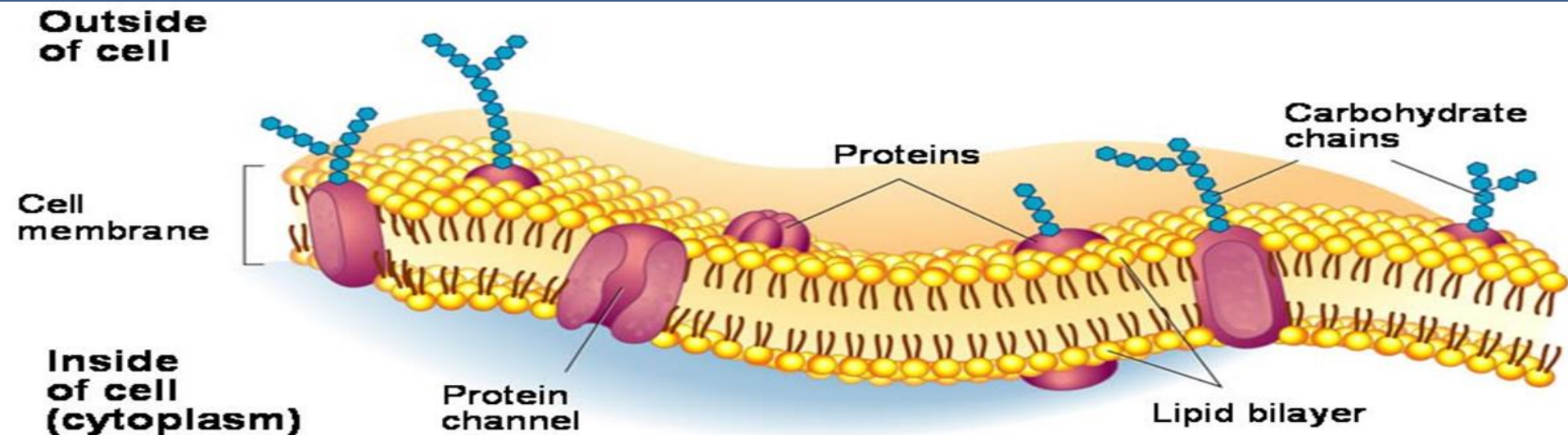
- ◆ *nukleoiddən sonra bakteriya hüceyrəsində həyat fəaliyyəti üçün ən vacib struktur elementlərindən biridir;*
- ◆ *zülal sintezini (translasiyanı) həyata keçirir;*
- ◆ *tərkibi - 60% RNT, 40% zülallardan ibarətdir;*
- ◆ *10-20 nm ölçüdə rbonukleoproteid (5000 - 50 000-ə qədər) dənələrdir.*

● Mezasomlar:

- ◆ *əksər bakteriyalarda rast gəlinir;*
- ◆ *hüceyrənin bəzi nahiyyələrində - sitoplazmatik membranın sitoplazmaya doğru çökməsi (invaginasiyası) nəticəsində əmələ gəlir.*
- ◆ *rolu axıra qədər öyrənilməmişdir;*
- ◆ *hüceyrələrin bölünməsində, spora əmələ gəlməsində və s. iştirak edir.*

● Sitoplazmatik membran:

- ◆ *sitoplazmanı əhatə edir;*
- ◆ *hüceyrə divarından daxildə yerləşir;*
- ◆ *lipid, zülal, polisaxaridlərdən ibarətdir;*
- ◆ *təqribən 5-7 nm qalınlığa malikdir;*
- ◆ *səthində:*
 - *hüceyrənin tənəffüs və qidalanma proseslərində (zülal, toksin, ferment, nuklein turşularının sintezində) iştirak edən fermentlər sistemi vardır;*
 - *hüceyrənin ətraf mühitdən aldığı signalları qəbul edən, qida və antibakterial maddələri tanıyan reseptorlar yerləşir.*



● Hüceyrə divarı:

- ◆ 15-20 nm, bəzən 40-50 nm qalınlığa malikdir;
- ◆ hüceyrənin quru qalığının 20-30%-ni təşkil edir;
- ◆ hüceyrəyə müəyyən forma verir;
- ◆ sitoplazmatik membranla birlikdə hüceyrədə olan yüksək osmos təzyiqinin “saxlanmasını” təmin edir;
- ◆ hüceyrənin bölünməsində, metabolitlərin nəql edilməsində iştirak edir;
- ◆ səthində bakteriofaqlar, bakteriosinlər və müxtəlif maddələr üçün reseptorlar vardır;
- ◆ quruluşuna görə mürəkkəb olub ayrı-ayrı mikrob hüceyrələrində kəskin fərqlənir;
- ◆ bu fərq Qram üsulu ilə rəngləmədə aşkar olunur;
- ◆ buna görə bakteriyalar 2 qrupa - **Qram müsbət və Qram mənfi** bakteriyalara bölünür.

■ Qram müsbət bakteriyalar:

◆ hüceyrə divarının əsas hissəsi çox qatlı quruluşa malik peptidoqlikan (qlikopeptid) və ya mureindən, az miqdarda polisaxarid, lipid, zülaldan ibarətdir;

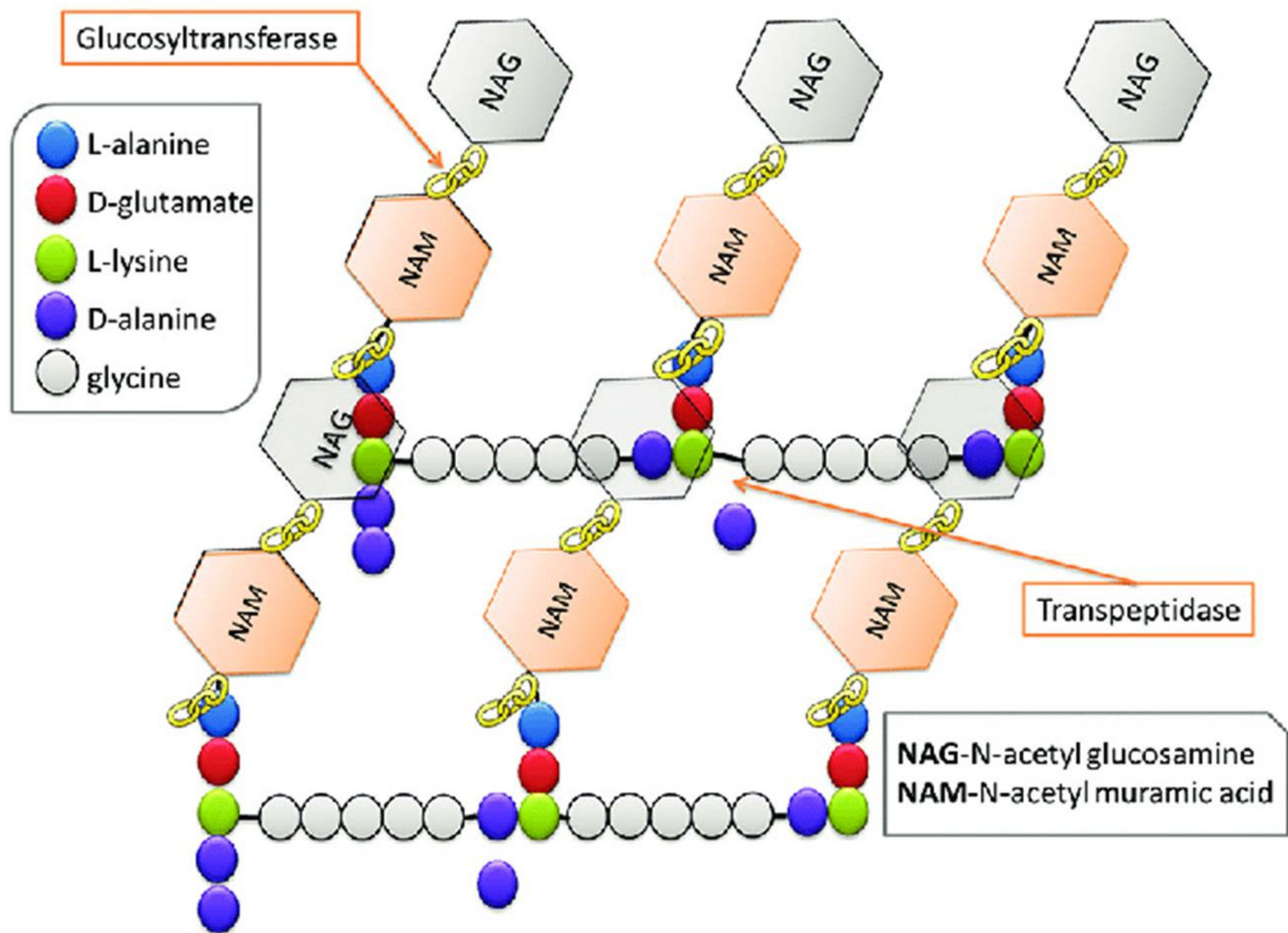
◆ peptidoqlikan - qram müsbət bakteriyalara xas olan teyxoat (yun. teichos-divar) turşusu ilə birləşmiş şəkildə olur.

◆ teyxoat turşusu - fosfat rabitələrlə birləşmiş qliserin və ribit qalıqlarından təşkil olunmuş polimerdir: qliserinteyxoat və ribitteyxoat tərkibdə olur.

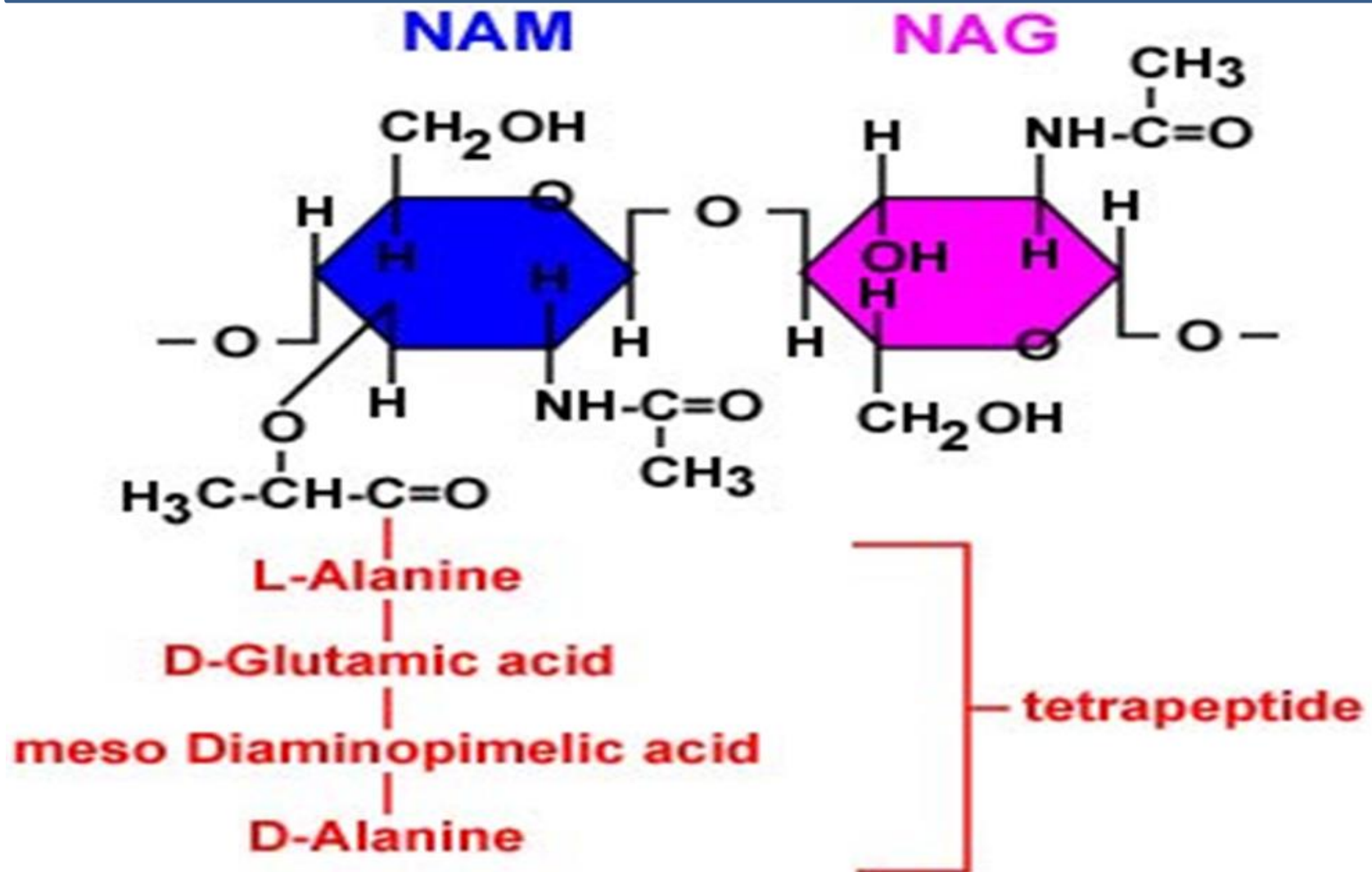
● Peptidoqlikan qatı - adından məlum olduğu kimi peptid (zülal) və qlikandan (polisaxarid) ibarətdir:

- qlikan molekulu N-asetilqlükozamin və N-asetilmuramin turşularının təkrar olunan qalıqları olub, qlükozid rabitələrlə birləşməsindən əmələ gəlir;

- sayı 40-a çatır, hüceyrə divarının 40-90%-ni təşkil edir.



Peptidoglikan monomerinin quruluşu



Qram mənfi bakteriyalar:

♦ **hüceyrə divarı** - qram müsbət bakteriyaların hüceyrə divarından fərqlənir;

♦ *hüceyrə divarı 3 qatdan:*

- xarici lipopolisaxarid,
- orta lipoprotein,
- daxili peptidoqlikandan təşkil olunmuşdur.

● **Xarici qat:**

♦ *2 təbəqəli struktura malikdir;*

♦ *daxili təbəqəsi fosfolipiddən ibarət olub, peptidoqlikanın səthində yerləşmiş lipoproteinlə birləşir;*

♦ *xarici təbəqəsi lipopolisaxarid, fosfolipid və zülaldan ibarət mozaik struktura malikdir.*

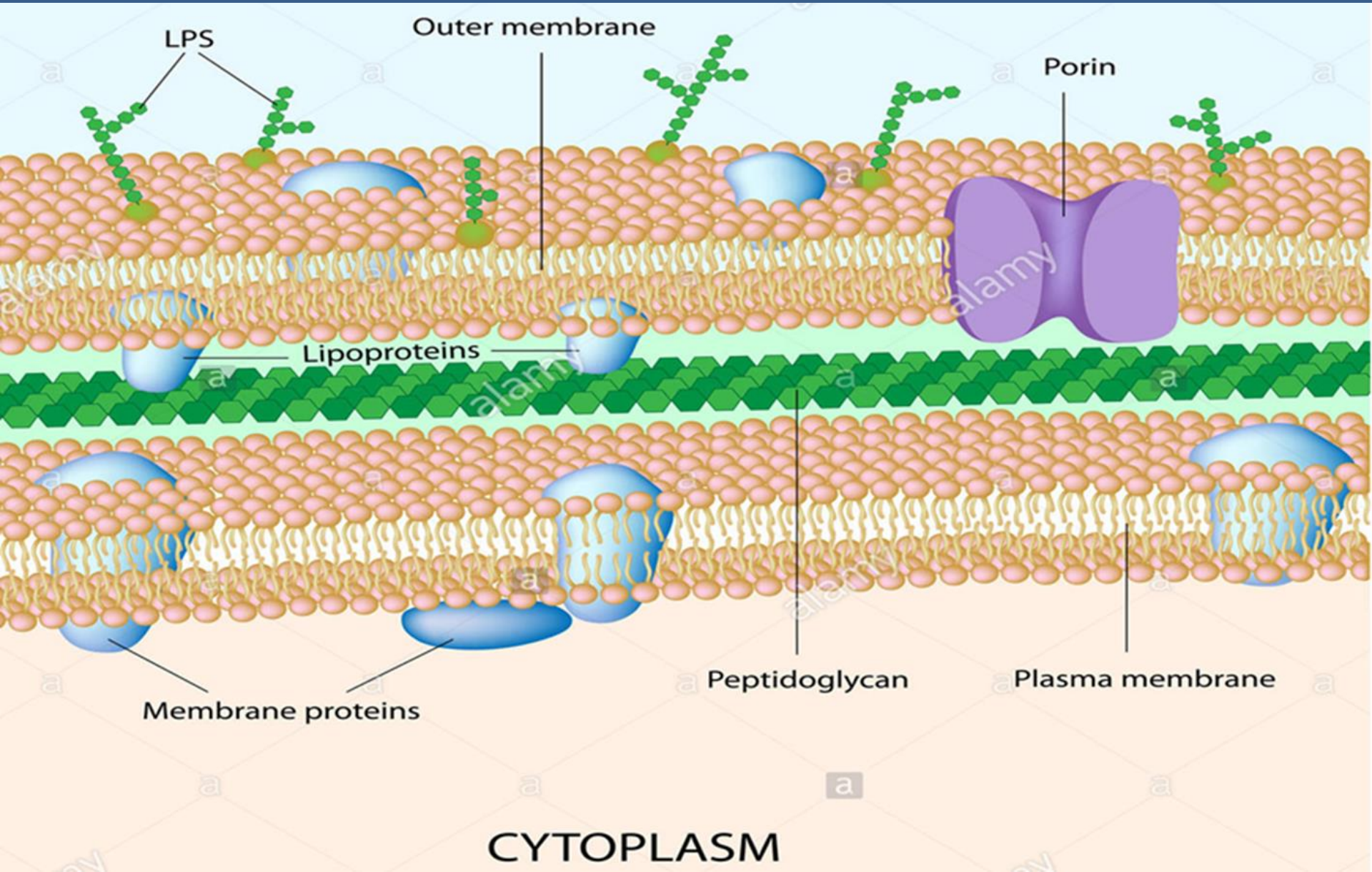
♦ **lipopolisaxarid (LPS)** - 3 fragmentdən ibarətdir:

lipid A - qlikolipd kompleksindən ibarət olub, termo-stabildir, endotoksiki xassəsi vardır;

özək hissə - 2 şəkərdən (ketodezoksioktanion və heptozadan) ibarət olub, ümumi antigenliyə malik-dir;

O-spesifik hissə - polisaxariddir, oliqosaxaridlərin təkrarlanan ardıcılıqlarından ibarət olub, yüksək dəyişkənliyə malikdir.

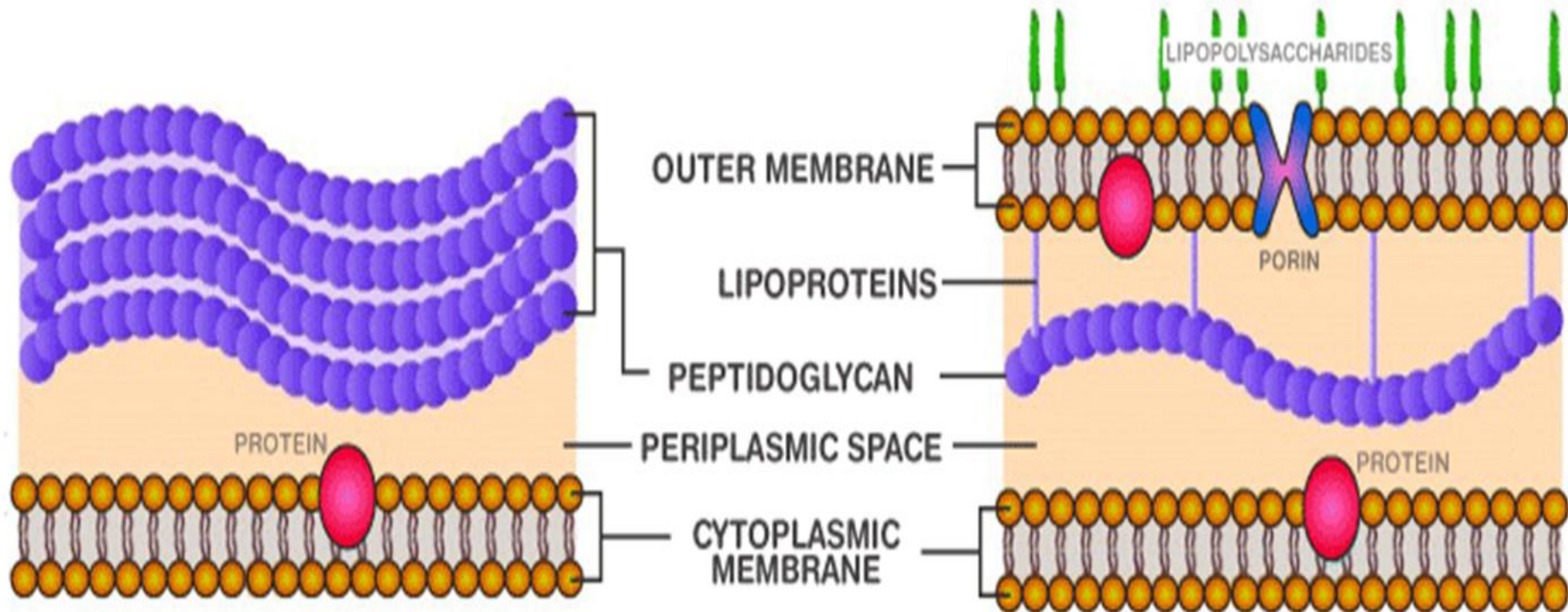
Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının quruluşu



Qram müsbət və Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarındakı fərqlər

Qram müsbət bakteriyalarda hüceyrə divarı quru kütlənin 50%-ni (40-80%) təşkil edir, hüceyrə divarı qalındır

Qram mənfi bakteriyalarda hüceyrə divarı quru kütlənin 5-10%-ni təşkil edir, daha nazikdir



Mürəkkəb və ya differensial rəngləmə üsulları

■ *Mürəkkəb rəngləmə üsulları:*

- ♦ *mikroorqanizmlərin hüceyrə quruluşunu öyrənmək və onları bir-birindən differensiasiya etmək üçün istifadə edilir;*
- ♦ *bu üsullarda bir neçə rəng məhlullarından və eyni zamanda rəngablardan spirt, aseton, turşular (xlorid, sulfat, sirkə turşuları), duzlar və s. istifadə edilir;*
- ♦ *diagnostikada daha çox istifadə edilən mürəkkəb rəngləmə üsulları:*

Qram üsulu, Sil-Nilsen üsulu, Neyyser üsulu, Ojeşko üsulu, Ginz-Burri üsulu, Romanovski-Gimza üsulu, Leffler üsulu, Morozov üsulu və s.

■ Qram üsulu:

- ◆ *mürəkkəb rəngləmə üsullarından ən əhəmiyyətli və geniş tətbiq olunan universal üsuldur;*
- ◆ *rənglənmələrinə görə bakteriyalar 2 qrupa - Qram müsbət və Qram mənfiyə ayrılır;*
- ◆ *Hans Xristian Qram (1884) tərəfindən kəşf olunmuş və onun şərəfinə adlandırılmışdır;*
- ◆ *hər hansı bakteriyanın morfoloji və quruluş xüsusiyyətlərini öyrənərkən əvvəlcə onun bu üsula münasibəti, yəni bu üsulla necə rənglənməsi öyrənilir.*

● Rəngləmə 4 mərhələdən ibarətdir:

1. Yaxma hazırlanır və qurudulur, fiksə edilir, üzərinə süzgəc kağızı qoyulur və 1 neçə damla gensian fiolet məhlulu damızdırılır, 1-2 dəq gözlənilir, sonra süzgəc kağızı götürülüb atılır, yaxmanın üzərində qalmış rəngin qalığı axıdılır.

2. Yumadan yaxmanın üzərinə 1 neçə damla Lükol məhlulu əlavə edilir, 1 dəq qədər və ya bənövşəyi rəng qaralana qədər saxlanılır, sonra məhlulun artığı axıdılır.

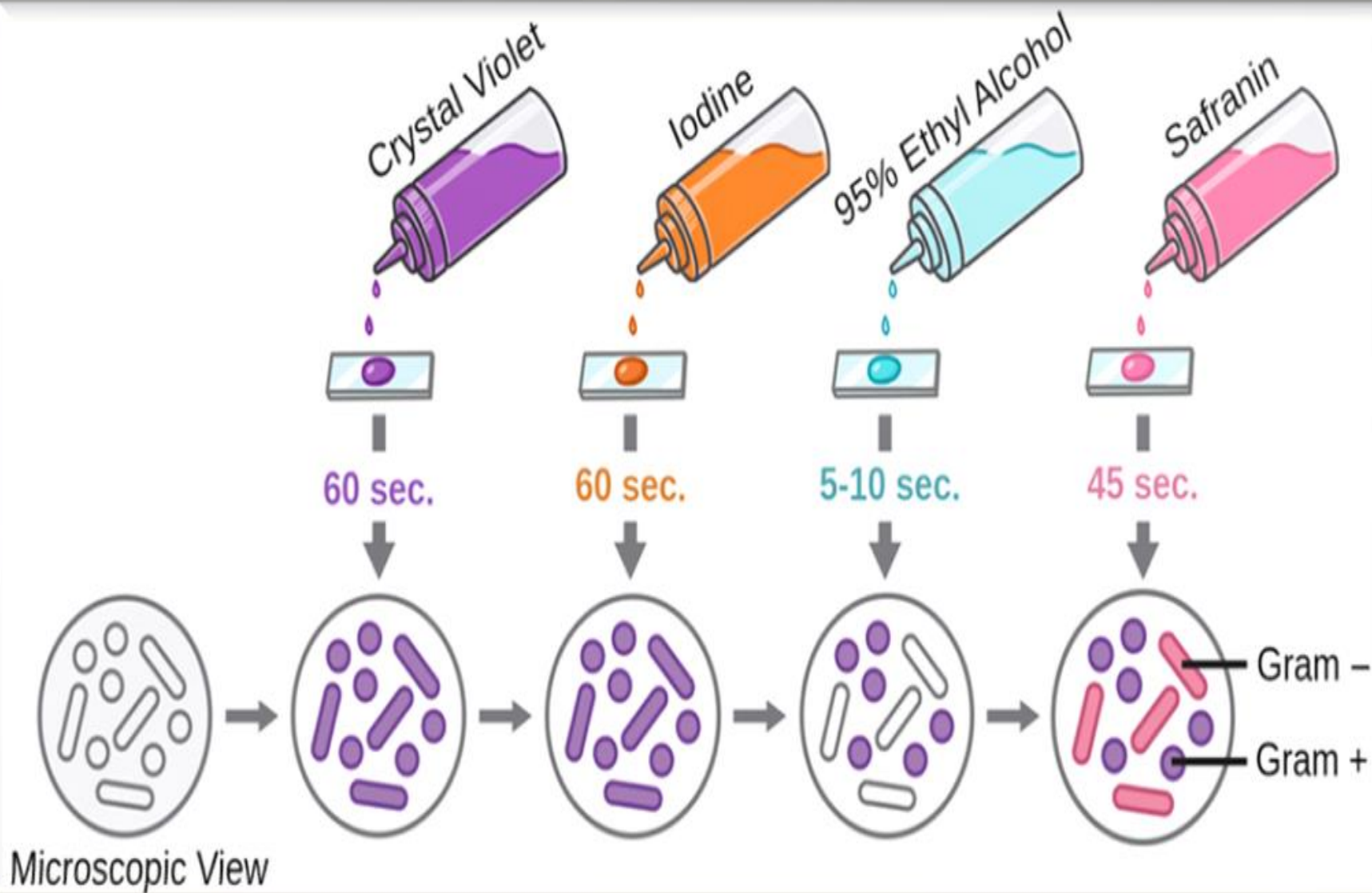
3. Yumadanyaxmanın üzərinə rəngsizləşdirmək məqsədi ilə 1 neçə damla 96%-li spirt əlavə edilir, 30-40 saniyə və ya bənövşəyi rəng çıxana qədər gözləyir, sonra yaxma su ilə yuyulur.

4. Yuyulmuş yaxmanın üzərinə bir neçə damla Pfeyffer fuksini (sulu fuksin) əlavə edilir, 1-2 dəq gözlənilir, sonra su ilə yuyulur, otaq temperaturunda və ya süzgəc kağızları arasında qurudulur;

♦ qurudulmuş preparatın üzərinə - 1 damla immersion yağı əlavə edib işıq mikroskopunda, immersion obyektivlə (90x, 100x) baxılır:

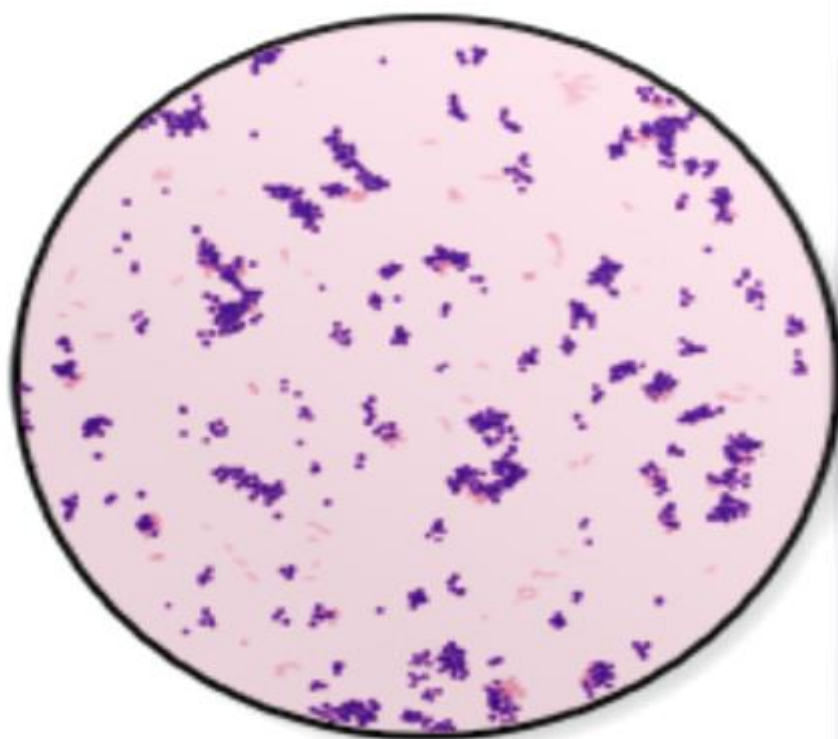
- bənövşəyi boyananlar - gram müsbət bakteriyalar,

- qırmızı boyananlar - gram mənfi bakteriyalar adlanır.





Gram-negative



Gram-positive

■ Neysser üsulu:

- ◆ *difteriya xəstəliyi törədicisinin (C.diphtheria) sitoplazmasında yerləşmiş volyutin dənəcikləri rənglənir;*
- ◆ *volyutin dənəciklərini rəngləməklə həqiqi difteriya çöplərini, insan orqanizminin normal mikroflorasında olan və yuxarı tənəffüs yollarında rast gəlinən yalançı difteriya çöplərindən (C.pseudodiphthericum, C.urealyticum, C.pseudotuberculosis, C.xerosis, C.ulcerans) fərqləndirmək olur;*
- ◆ *həqiqi difteriya çöplərində volyutin dənəcikləri çöplərin uclarında (bir və ya hər iki uclarda) yerləşir;*
- ◆ *yalançı difteriya çöplərində volyutin dənəcikləri olmur, olanda - çöplərin ortasında səpələnmiş vəziyyətdə yerləşir.*

● Rəngləmə 3 mərhələdən ibarətdir:

1. Yaxma hazırlanır və qurudulur, fiksə edilir, üzərinə 1 ne-çə damla Neysserin asetat abısı (sirkə turşusu + metilen abısı) əlavə edilir, 3-5 dəq sonra su ilə yuyulur.

2. Üzərinə 1 neçə damla Lükol məhlulu əlavə edilir, 30-60 saniyəyə qədər saxlanılır, sonra məhlul axıdılır.

3. Yumadan üzərinə bir-neçə damla xrizoidin və ya ve-zuvin məhlulu əlavə edilir, 1-2 dəq sonra yuyulur və quru-dulur.

◆ qurudulmuş preparatın üzərinə 1 damla immersion yağı əlavə edib işıq mikroskopunda, immersion obyektivlə (90x, 100x) baxılır;

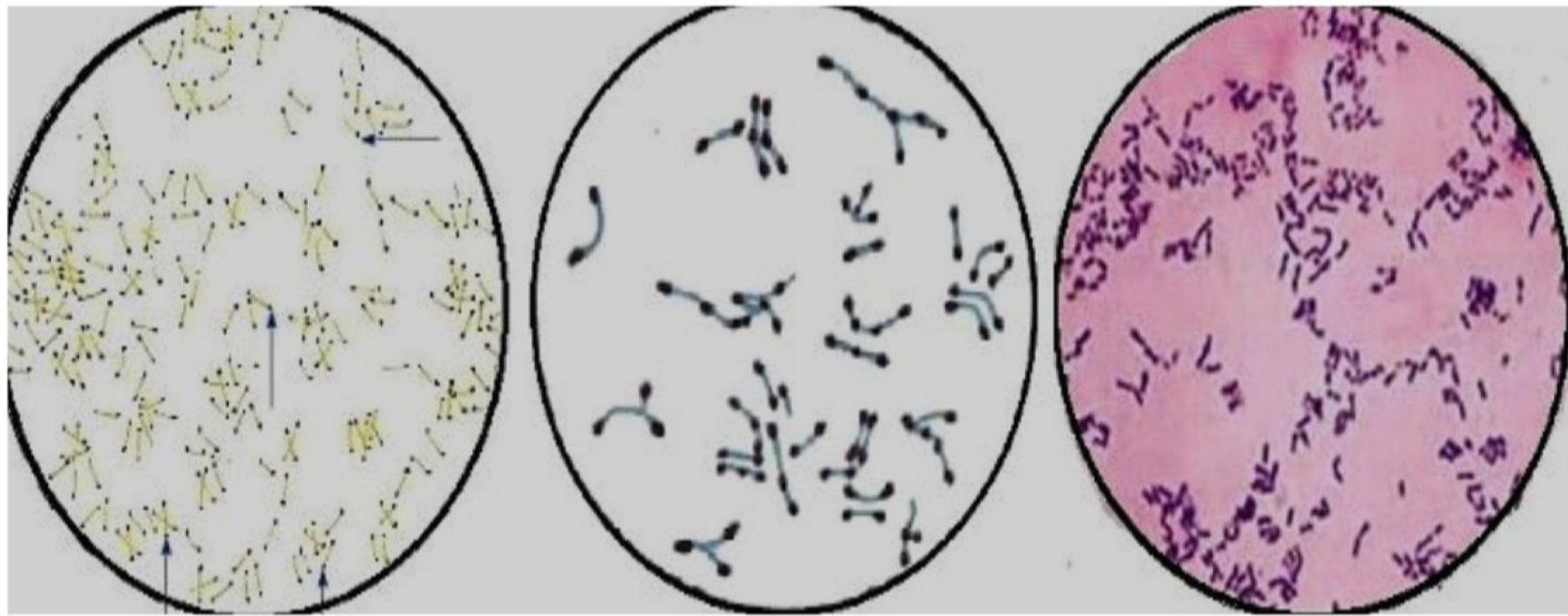
◆ volyutin dənəcikləri - qələvi xassəli olduğu üçün asetat abısı ilə tünd göy rəngdə boyanır;

◆ sitoplazma - turş xassəli olduğu üçün xrizoidin və ya vezuvinlə sarı qəhvəyi rəngdə boyanır;

◆ mikroskopiya:

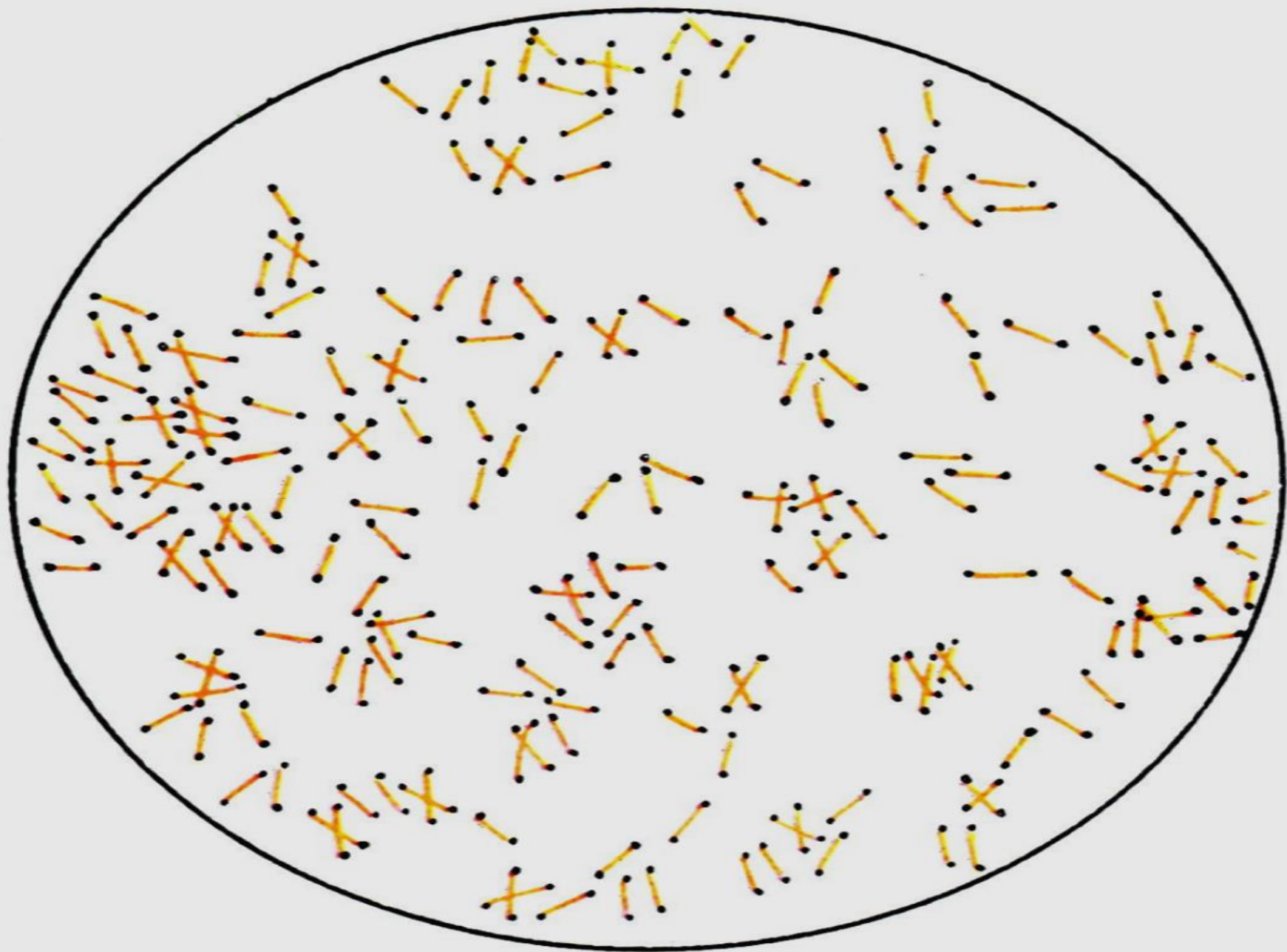
- həqiqi difteriya çöpləri sarı-qəhvəyi rəngdə boyanmış və “beş barmaq”, “X, Y, V, T” və s. formada yerləşmiş halda,

- volyutin dənəcikləri çöplərin hər 2 ucunda və ya 1 ucunda - qara rəngdə (kibrit çöplərinə oxşar) görünür.



Təmiz kulturadan hazırlanmış yaxmalar:

- 1) *Neysser və*
- 2) *Leffler üsulları ilə C.diphtheriae və onda olan volyutin dənəciklərinin rənglənməsi,*
- 3) *Qram üsulu ilə rəngləmə*



Turşuyadavamlı bakteriyalar

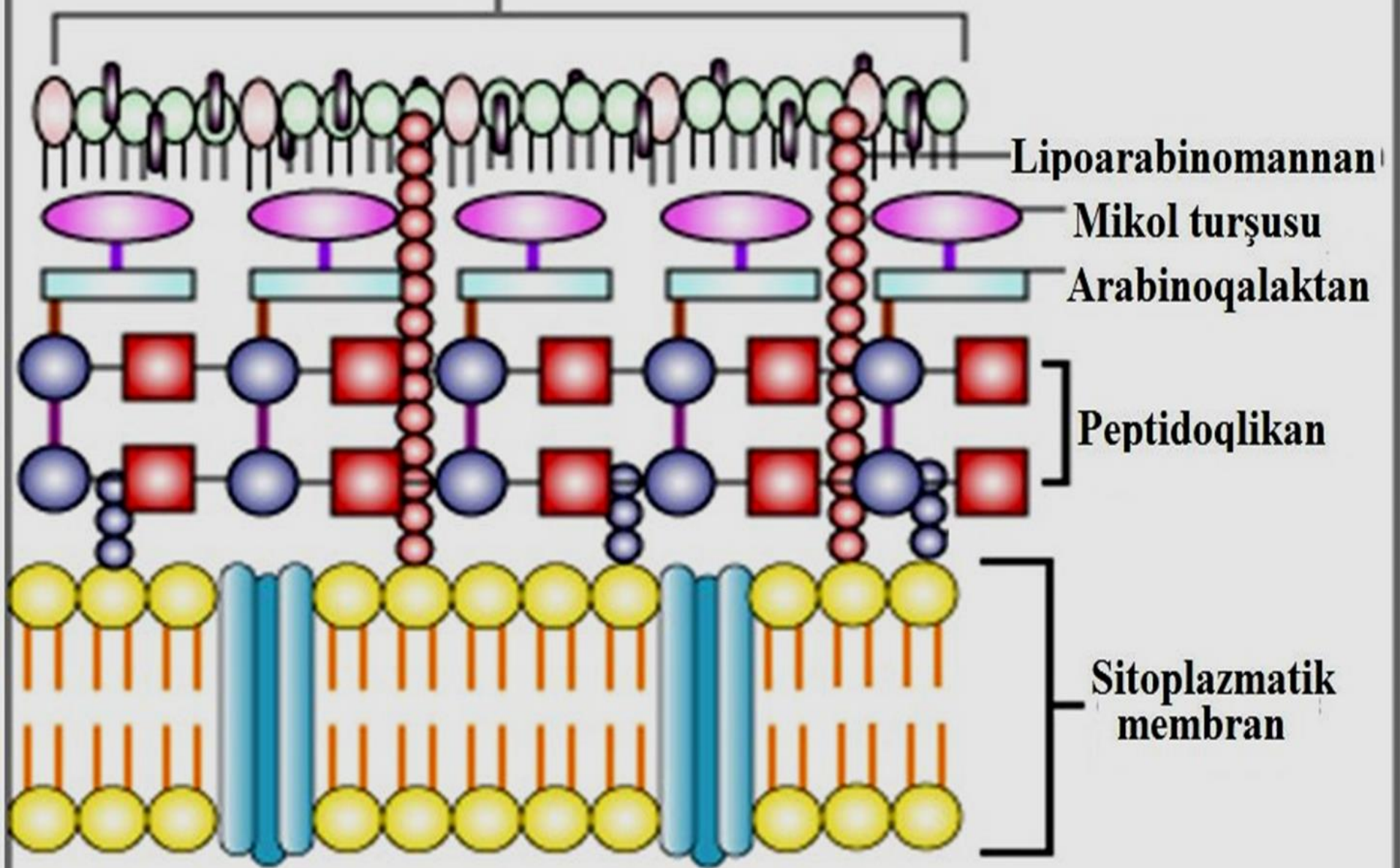
● Bəzi qram müsbət bakteriyaların hüceyrə divarında:

- ◆ *lipidlərin, mumabənzər maddələrin, oksiturşuların, fosfatidlərin miqdarı daha çox (30-40%) olur;*
- ◆ *bu cür hidrofob quruluş hesabına hüceyrə divarı müxtəlif komponentlər, o cümlədən dərman preparatları üçün pis keçiriciliyə malik olur;*
- ◆ *bu bakteriyaların hüceyrə divarının keçiriciliyi bəzi qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının keçiriciliyindən 100-1000 dəfələrlə zəifdir;*
- ◆ *belə bakteriyalar - ətraf mühit amillərinin mənfi təsirlərinə qarşı davamlı olur.*

● Rəngləmə prosesi zamanı:

- ◆ *daxil olmuş rəng məhlulu - bu bakteriyaların hüceyrə divarından çıxmır;*
- ◆ *digər qram müsbət bakteriyalardan fərqli olaraq hətta turşunun təsirindən də rənsizləşmir;*
- ◆ *buna görə də belə bakteriyalar turşuya davamlı bakteriyalar adlandırılır.*

Sərbəst mikol turşusu və polipeptidlər



■ Sil-Nilsen üsulu:

- ◆ *ilk dəfə alman mikrobioloqu F.Sil və patoloqanatom F.Nilsen (1884) tərəfindən - təklif edilmiş və onların adı ilə adlandırılmışdır;*
- ◆ *bəzi qram müsbət bakteriyaları - vərəm, mikobakteriozlar, cüzamın törədiciləri, bəzi aktinomisetləri rəngləmək üçün istifadə olunur;*
- ◆ *hüceyrə divarında maddələrin (lipidlərin, mumabənzər oksiturşuların, fosfatidlərin və s.) miqdarı çoxluq təşkil etdiyi üçün - zəif rəng məhlulları ilə pis rənglənilir;*
- ◆ *rənglənməni asanlaşdırmaq üçün - F.Silin təklif etdiyi qatı rəng məhlulundan - Sil fuksinindən istifadə olunur.*

• Rəngləmə 3 mərhələdən ibarətdir:

1.Yaxma hazırlanır - qurudulur, fiksə edilir, üzərinə süzgəc kağızı qoyulur və 1 neçə damla Sil fuksini əlavə edilir;

◆ buxar əmələ gələnə qədər alov üzərində 3-4 saniyə qızdırılır;

◆ buxar əmələ gəlməsini görmək üçün yaxma kənara çəkilir, həm də şüşə soyudulur və yenə qızdırılır;

◆ əgər rəng məhlulu buxarlanıb azalarsa süzgəc kağızının üzərinə yenə 1 neçə damla rəng məhlulu əlavə edilə bilər;

◆ qızdırılma əməliyyatı 3-4 dəfə (10-15 saniyə) təkrarlanır;

◆ sonra süzgəc kağızı atılır, yaxma su ilə yuyulur.

2. Rəngsizləşdirmək məqsədi ilə preparat 5-10 saniyə 5%-li H_2SO_4 məhlulu olan qaba salınır;

◆ sonra bir neçə dəfə - su ilə yuyulur.

3. Preparatın üzərinə - 1 neçə damla metilen abısı məhlulu əlavə edilir;

◆ 3-5 dəq sonra - su ilə yulur və qurudulur;

◆ üzərinə - bir damla immersion yağı əlavə edilir və işıq mikroskopunda immersion obyektivlə baxılır;

◆ mikroskopda:

- turşuya davamlı bakteriyalar - tünd qırmızı rəngdə,

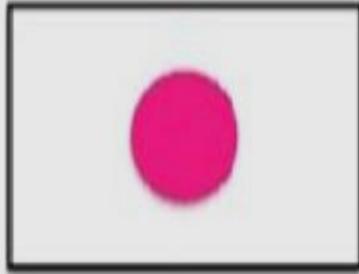
- turşuya davamsızlar - açıq-qöy rəngdə görünür.

I

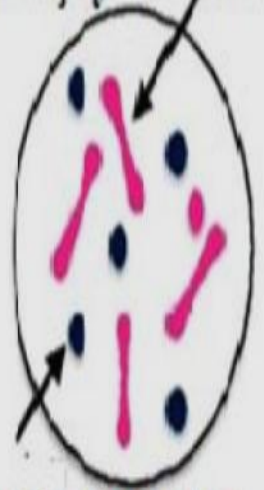
II

III

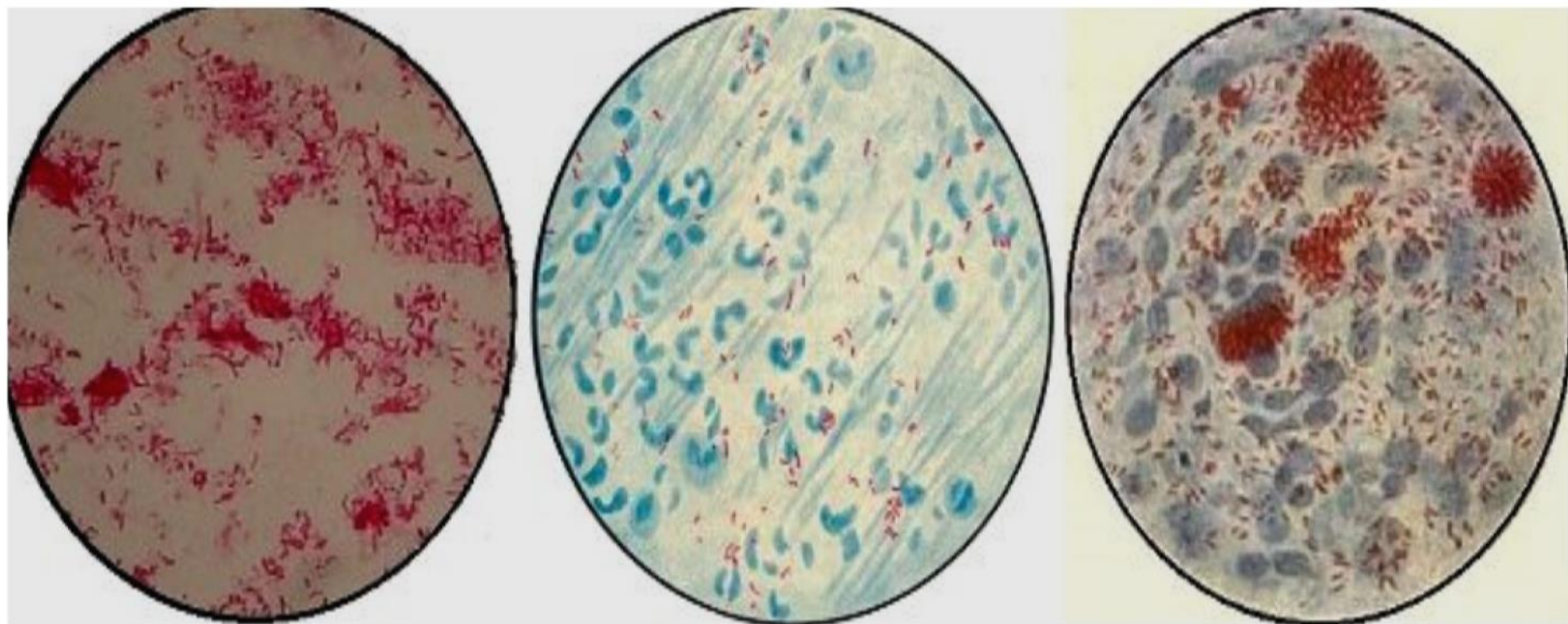
IV



Turşuya dayamlılar



Turşuya davamsızlar

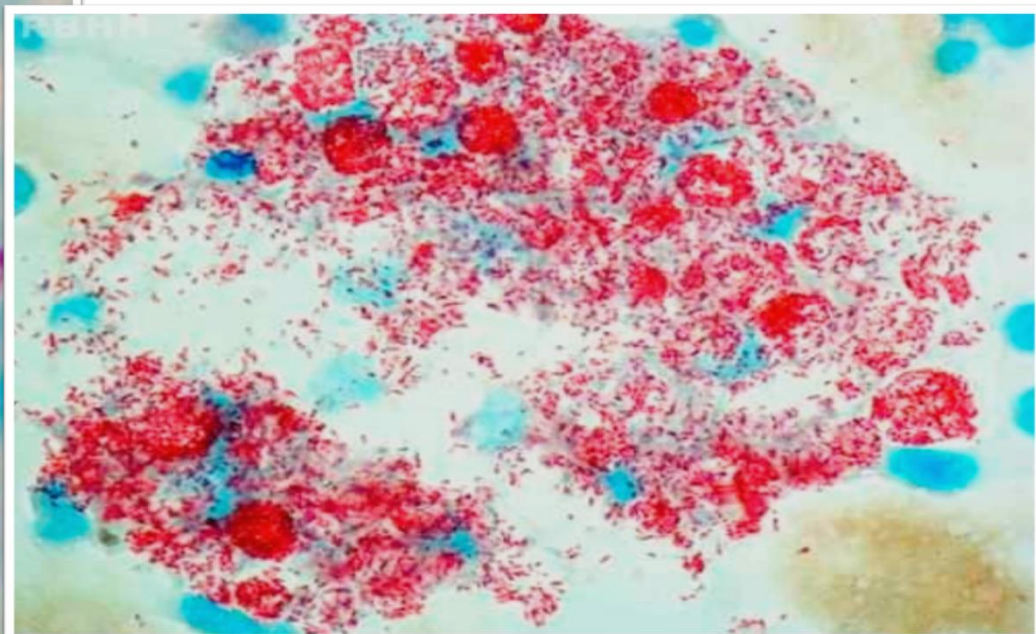
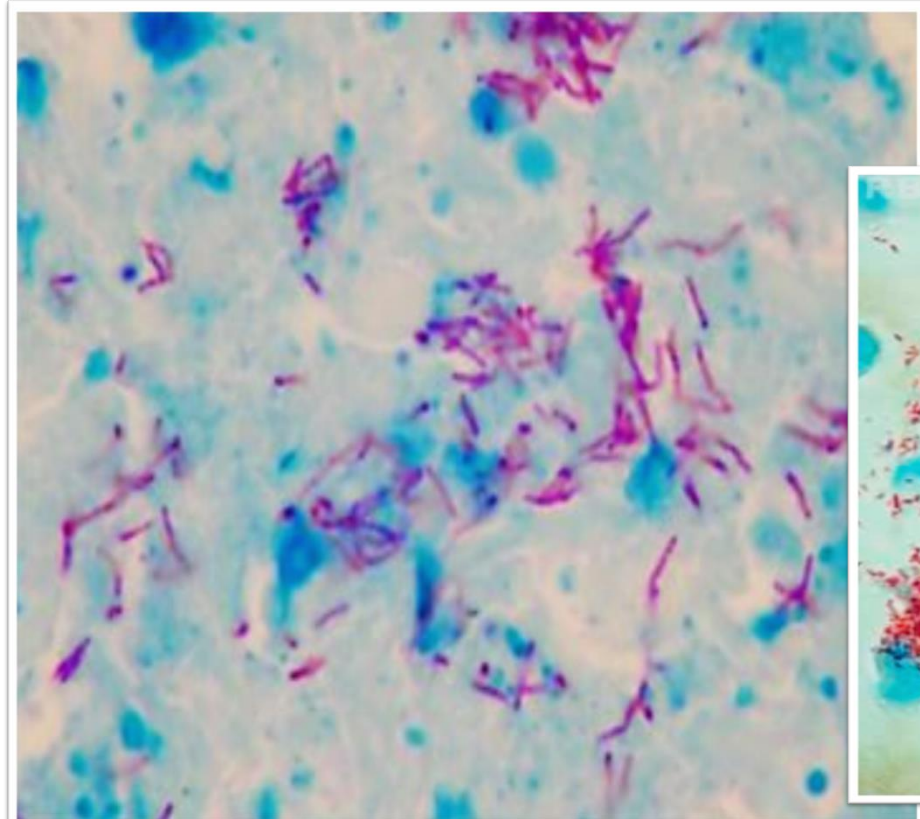
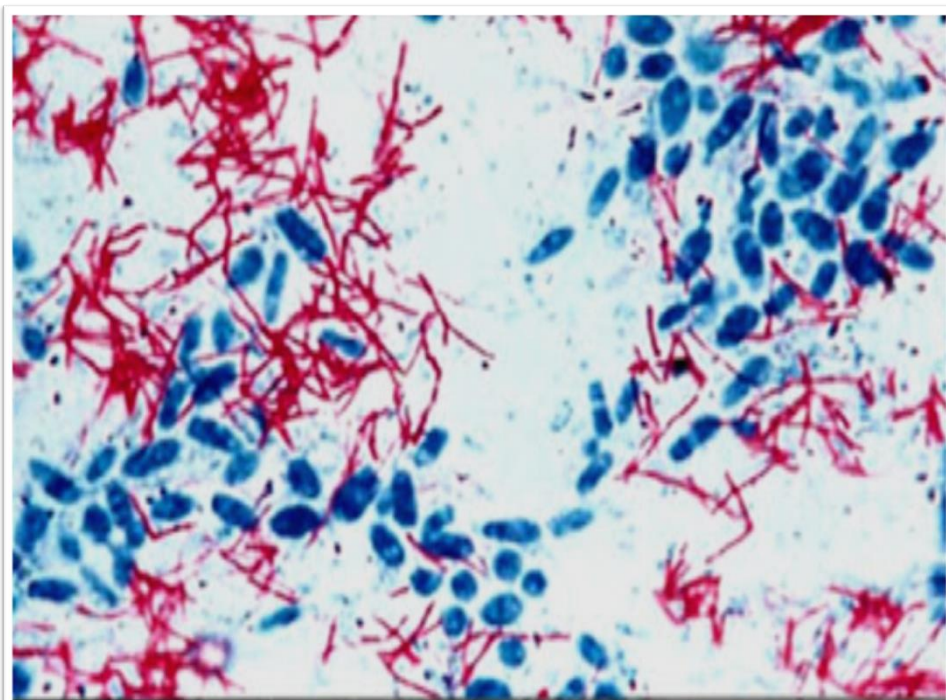
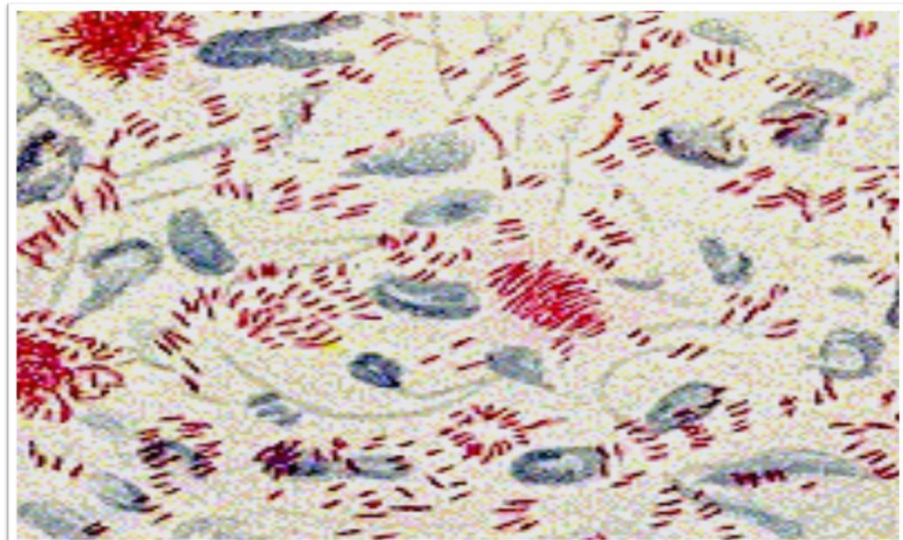


Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləmə:

1-təmiz kulturadan hazır-lanmış yaxmada vərəm çöpləri (M.tuberculosis);

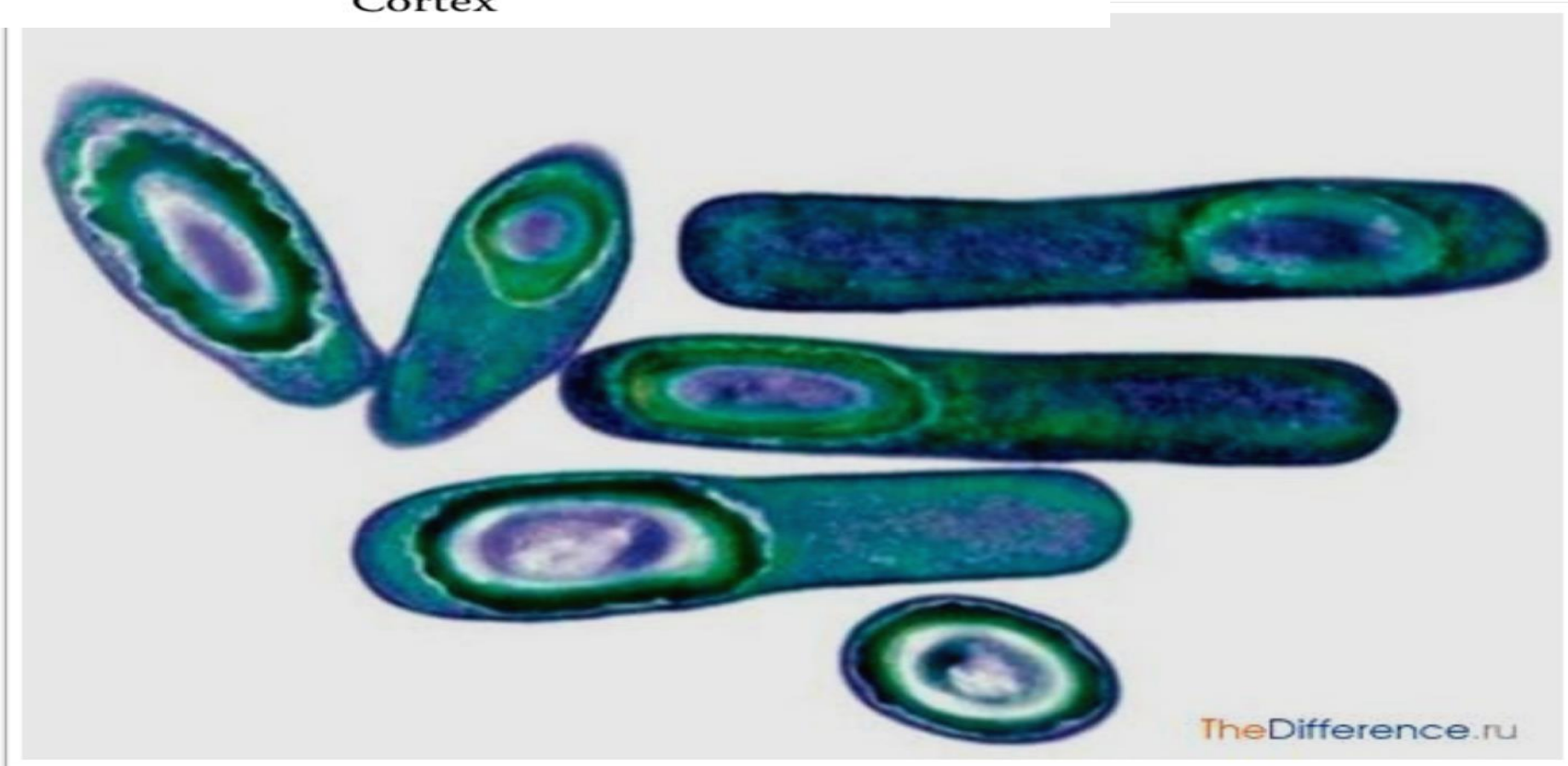
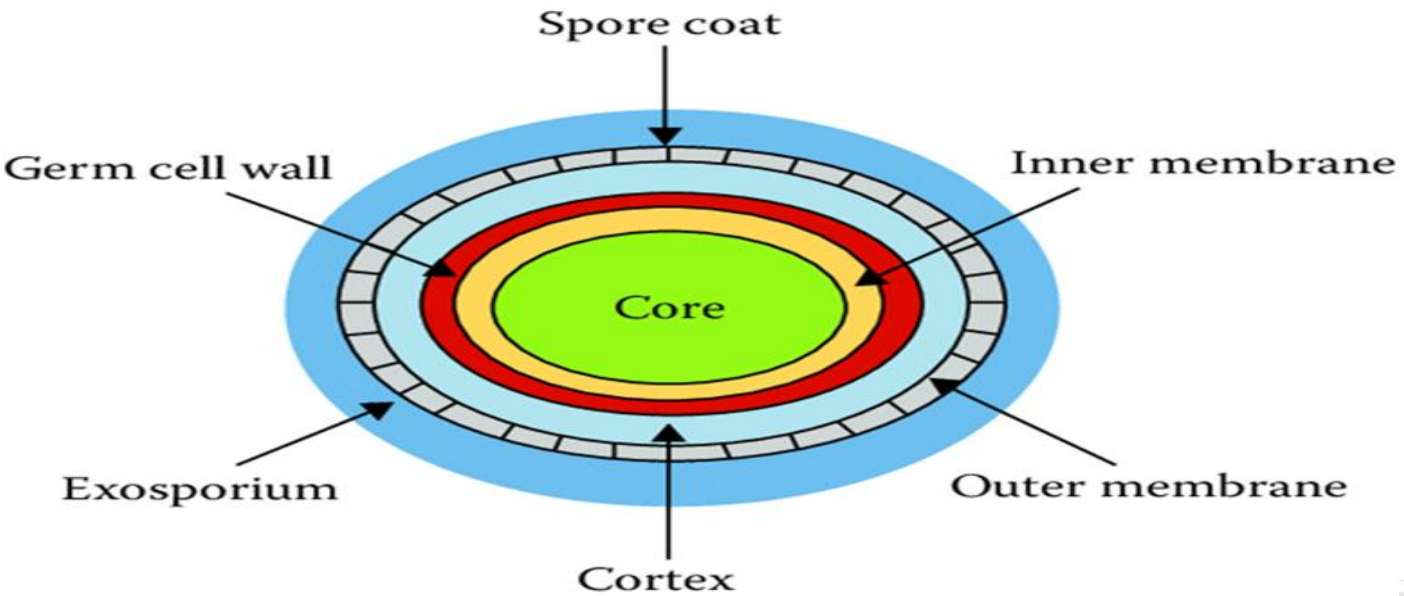
2-bəlgəmdən hazırlanmış yaxmada vərəm çöpləri;

3-yara möhtəviyyatından hazırlanmış yaxmada cüzam çöpləri (M.leprae)



■ Spora:

- ◆ *qram müsbət çöpşəkilli bakteriyalara (basillər və klostridilər) xasdır;*
- ◆ *bakteriya hüceyrəsi əlverişsiz şəraitə düşdükdə əmələ gətirir;*
- ◆ *nadir hallarda - saprofit koklarda (Sarsina lutea, S.ur-ea) və qıvrımvarilərdə (Desulfovibrio desulfuricans) müşahidə olunur;*
- ◆ *xəstəlik törədən spora əmələ gətirən bakteriyalar insan və heyvan orqanizmlərinin toxumalarında spora əmələ gətirmir;*
- ◆ *vegetativ formalardan fərqli olaraq sporalar bakteriyaların qeyri fəal formalarıdır, növün saxlanılmasını təmin edirlər;*
- ◆ *spora əmələ gəlmə - ətraf mühitin (əsasən torpaqda) əlverişsiz şəraitində (quruma, qida maddələrinin çatışmazlığı, müvafiq temperatura olmadıqda və s.), həm də laborator şəraitdə (mühitdə qida maddələri tükəndiyi hallarda) baş verir.*





Spherical Center



Oval Center



Oval Sub terminal



Oval Sub terminal



Spherical Sub terminal



Oval terminal

Endospore Types

● Spora əmələ gəlmə prosesi:

◆ *bir-neçə mərhələdən ibarətdir - təqribən 20-24 saat davam edir.*

I mərhələdə:

◆ *hüceyrədə nukleoidin ətrafında protoplazmanın sıxlaşması və membran invaginasiyası başlayır;*

◆ *bu hissə sporanın özəyi adlanır;*

◆ *özək hissədə xromosom və zülal sintezini, enerji hasilatını təmin edən sistemlər yerləşir;*

◆ *bu zaman vegetativ hüceyrədə, həm də bir çox fermentlərin aktivliyi azalır;*

◆ *bəzi fermentlər (dipikolinsintetaza və s.) sintez olunur, özəyin tərkibində suyun miqdarı minimuma çatır;*

◆ *kalsium duzları - xüsusən dipikolin turşusunun kalsium duzunun və lipidlərin miqdarı (5-15%) artır;*

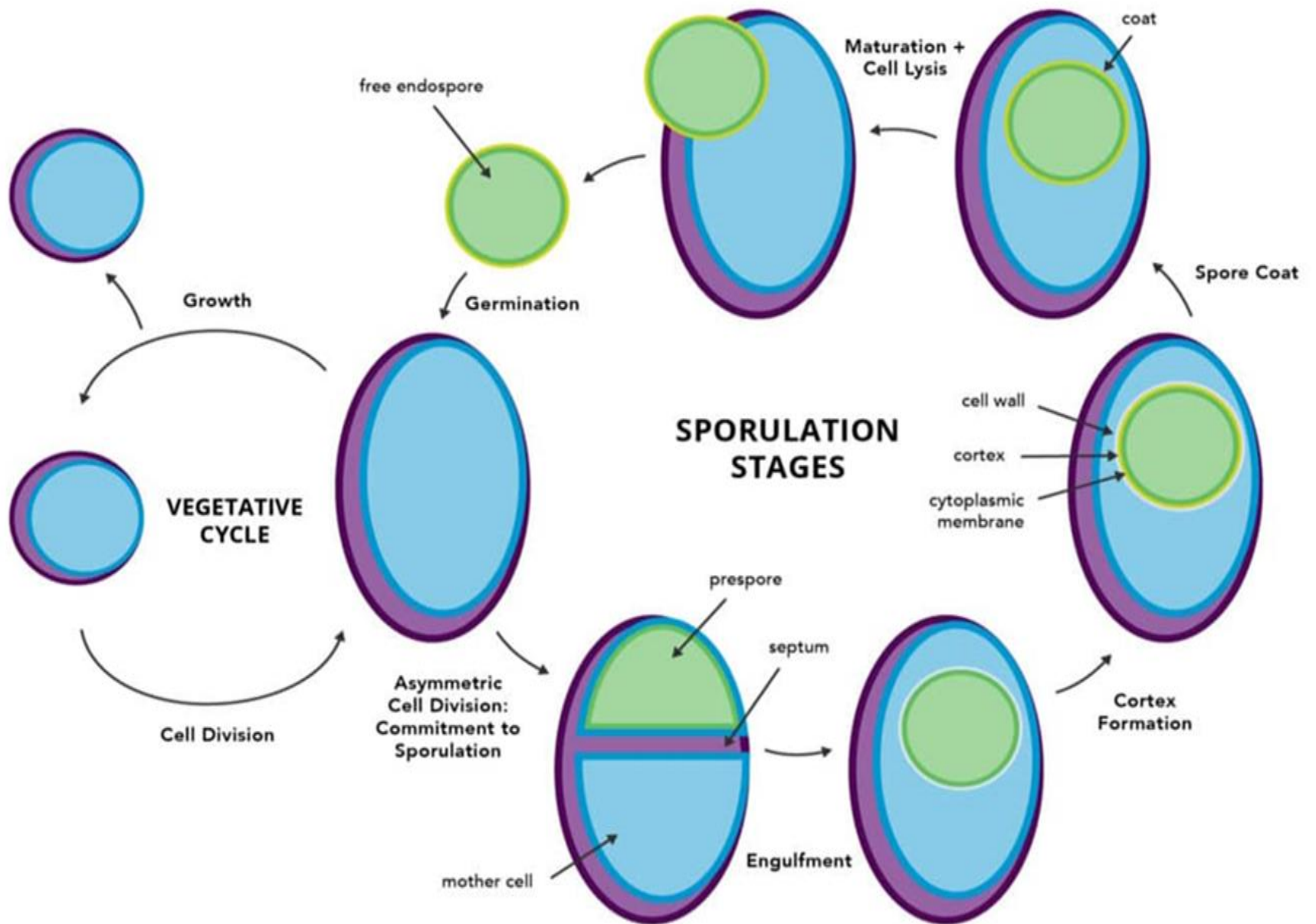
◆ *sitoplazmatik membranın ikiqat büküş əmələ gətirməsi nəticəsində - özək hissəsi əhatələnir və büküşlər tədricən qapanır;*

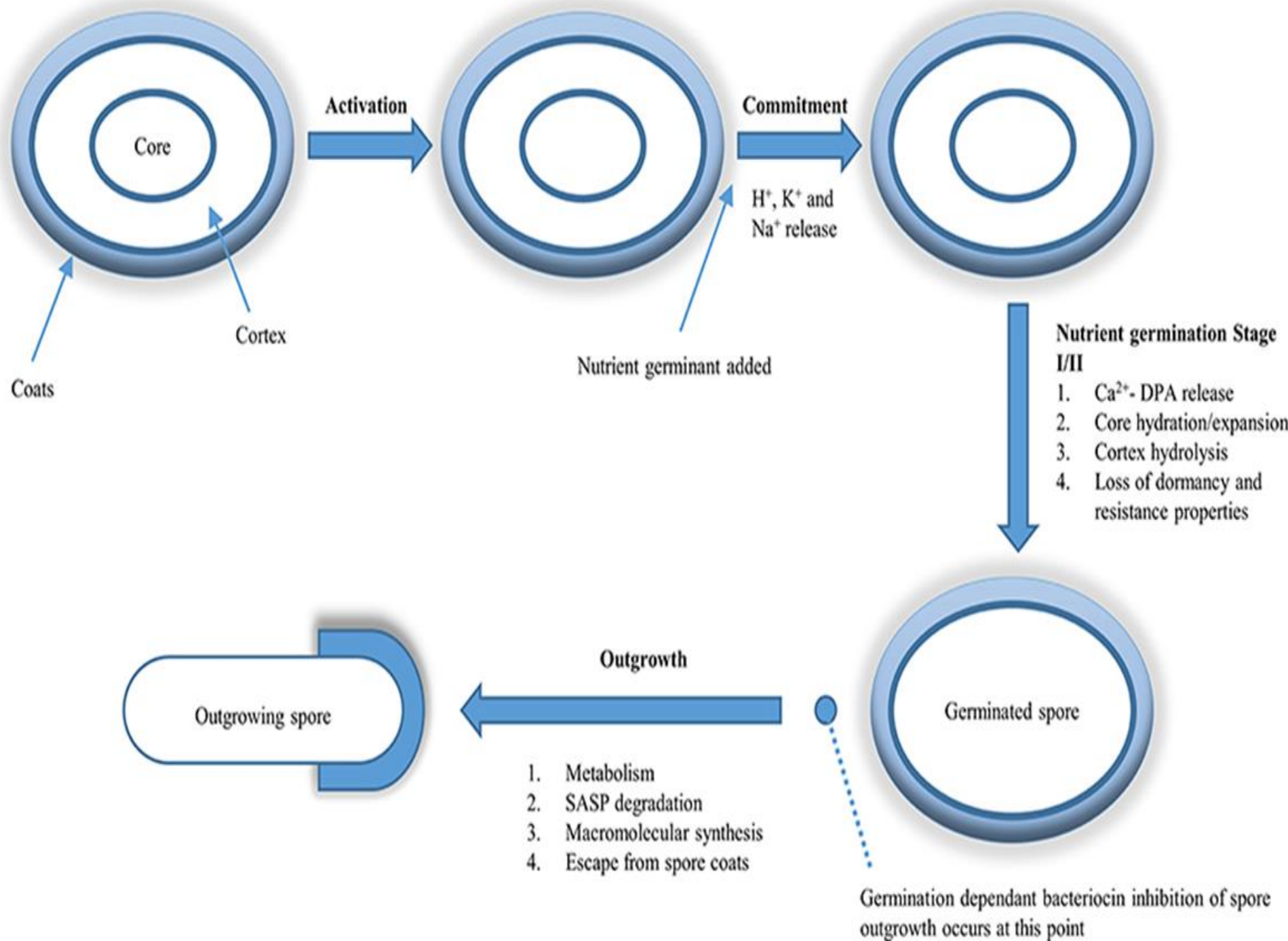
◆ *beləliklə - özək hissə ikiqat sitoplazmatik membranla əhatə olunur və prospora adlanır.*

II mərhələdə:

◆ *qatlar arasında bir-neçə qatlı peptidoqlikan sintez olunur və bununla da sporanın xarici qatı korteks qatı formalaşır.*

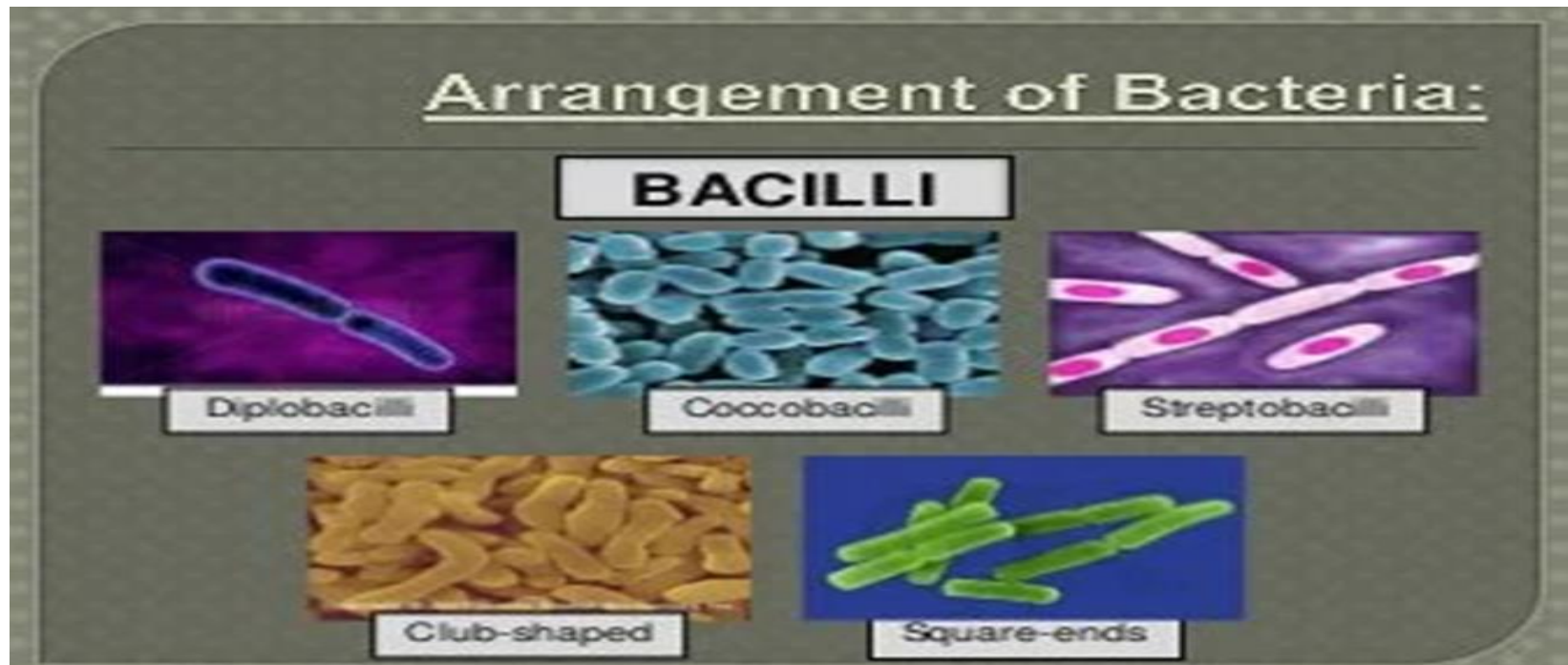
SPORULATION STAGES





avtoklavda 1-2 atm təzyiqli buxarla 115-1250C-də, Paster sobasında 150-1700C-də quru isti ilə öldürmək olur. spora əmələ gətirən xəstəlik törədən bakteriyalara:

- basillər (qara yaranın törədicisi - B.anthraxis),*
- klostridilər (tetanus, botulizm, qazlı qanqrena törədiciləri - C.tetani, C.botulinum, C.perfringens, C.novyi, C.septicum və s.) aiddir.*



■ Ojeşko üsulu:

- ◆ *bakteriya sporalarını rəngləmək üçün istifadə olunur;*
- ◆ *spora bir neçə möhkəm qatdan ibarət olduğu üçün pis keçiriciliyə malikdir;*
- ◆ *bu üsulla rəngləməklə spora əmələ gətirən bakteriyaları digərlərindən və biri-birindən differensasiya etmək, diaqnostikada geniş tətbiq olunur;*
- ◆ *bu üsul turşuyadavamlı bakteriyaların rənglənməsinə oxşayır, lakin ondan bir az fərqlənir;*
- ◆ *sporanın rənglənməsini asanlaşdırmaq üçün əvvəlcə ona rəngablarla (məsələn, xlorid turşusu) təsir edilir və xarici qişası yumşaldılır, bu zaman rəng məhlulünün daxilə keçməsi asanlaşır.*

● Rəngləmə 4 mərhələdən ibarətdir:

1. Yaxma hazırlanır - qurudulur, lakin fiksə edilmir, üzərinə 1 neçə damla 0,5%-li HCI məhlulu əlavə edilir;

◆ alov üzərində məhlul buxarlanana qədər qızdırılır (1-2 dəq), sonra su ilə ehtiyatla yuyulur;

◆ yaxma qurudulur, alovdan keçirməklə fiksasiya edilir.

2. Sonrakı proses Sil-Nilsen üsulunda olduğu kimi aparılır:

◆ yaxmanın üzərinə süzgəc kağızı qoyulur;

◆ üzərinə 1 neçə damla Sil fiksini əlavə edilir və buxar əmələ gələnə qədər alov üzərində (3-4 saniyə) qızdırılır;

◆ qızdırılma əməliyyatı 3-4 dəfə təkrarlanır;

◆ sonra süzgəc kağızı atılır yaxma su ilə yuyulur.

3. Rəngsizləşdirmək məqsədi ilə preparat 5-10 saniyə müddətinə içərisində 5%-li H₂SO₄ məhlulu olan qaba salınır (və ya üzərinə əlavə edilir);

◆ sonra preparat bir neçə dəfə su ilə yuyulur.

4. Preparatın üzərinə 1 neçə damla metilen abısı məhlulu əlavə edilir;

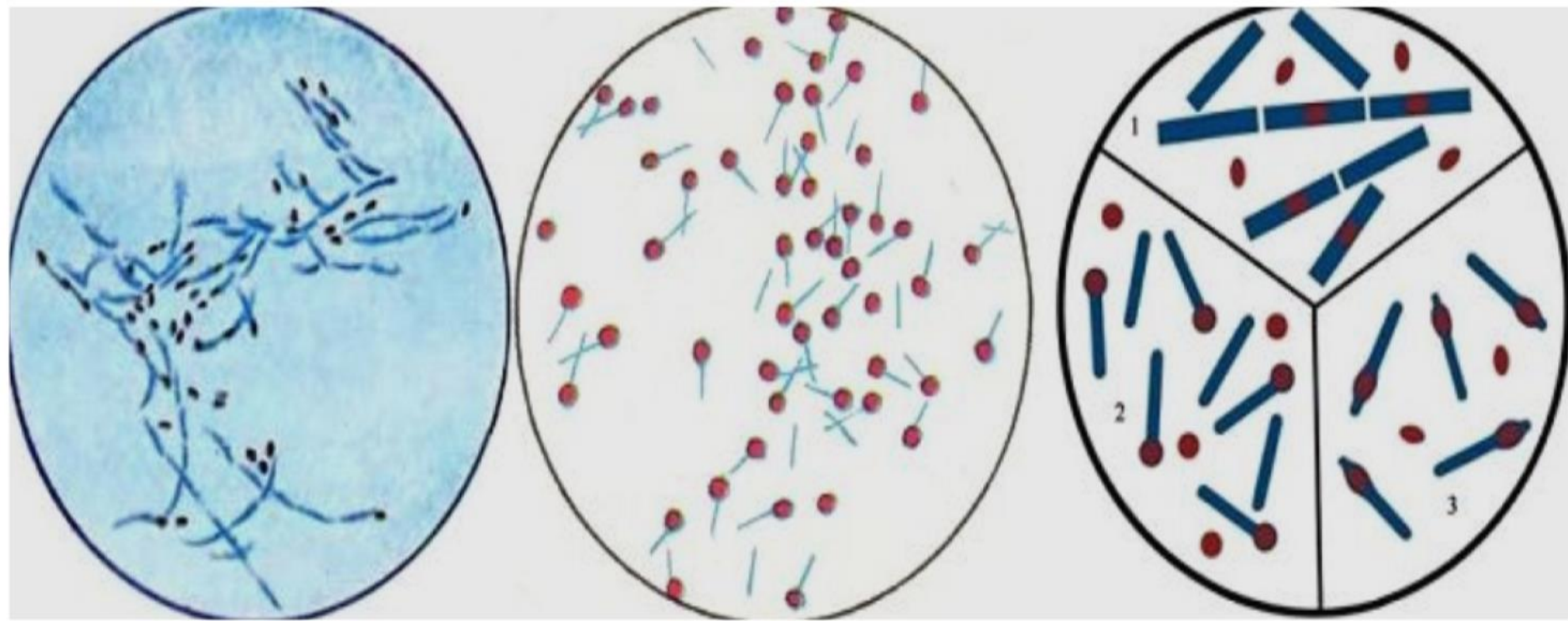
◆ 3-5 dəq sonra yuyulur, qurudulur və 1 damla immersion yağı əlavə edilir;

◆ işıq mikroskopunda immersion obyektivlə baxılır;

◆ mikroskopda:

- sporalar - qırmızı,

- vegetativ hüceyrələr - göy rəngdə görünür.

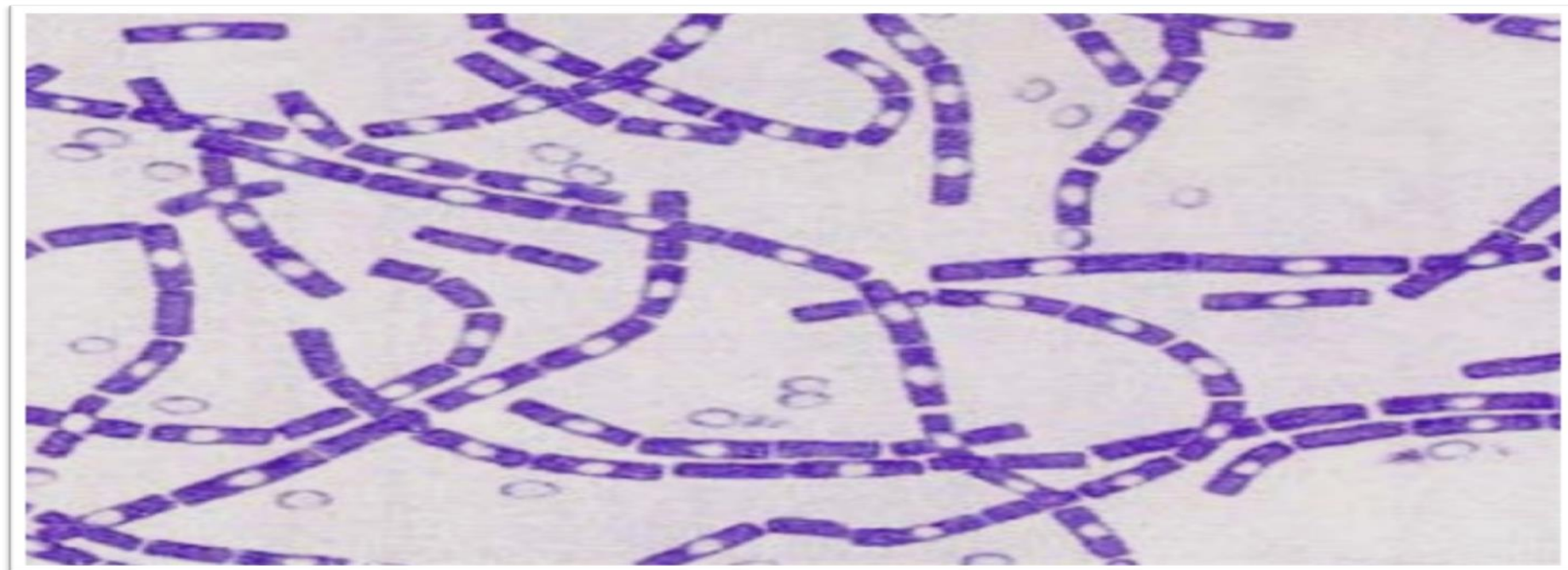
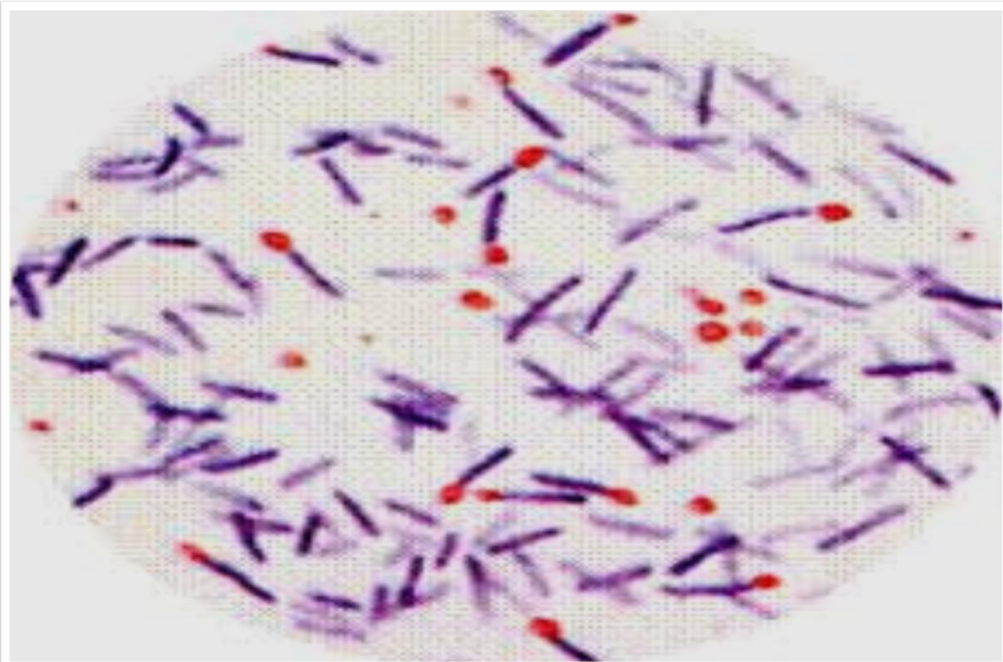
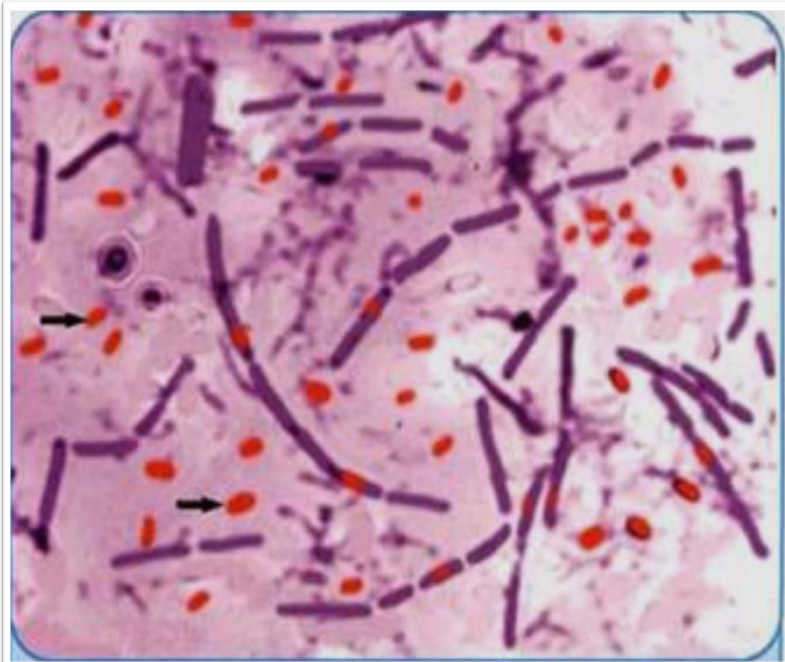


Ojeşko üsuli ilə rəngləmə:

1) təmiz kulturadan hazırlanmış yaxmada Bacillus anthracis və

2) Clostridium tetani sporaları;

3) sporaların hüceyrədə yerləşmə qaydaları: 1-mərkəzi yerləşmiş B.anthraxis, 2-terminal yerləşmiş C.tetani, 3-subterminal yerləşmiş C.botulinum sporaları



■ **Flagella** - bütün bakteriyalara xas hüceyrə elementi olmayıb, yalnız bəzi qram müsbət (botulizm, tetanus, qazlı qanqrena törədicilərinin bəzi növləri və s.) və qram mənfi (bağırsaq çöpləri, qarın yatalağı, paratif bakteriyalar, vəba vibrionları, kampilobakteriya, helikobakteriya, göy-yaşıl irin çöpləri, protey və s.) bakteriyalarda olur;

◆ elektron mikroskopu ilə flagellaların quruluşu daha yaxşı öyrənilmişdir;

◆ onlar nazik, uzun, elastik, sapşəkilli törəmə olub, sitoplazmatik membranda olan bazal cisimdən başlayır və hüceyrə divarından xaricə çıxır;

◆ eni - 20-50 nm, uzunluğu - 10-15 mkm-dən, 80-90 mkm-ə qədər (spirillərdə) çata bilir;

Flagellalara görə bakteriyalar hərəkətli və hərəkətsiz olmaqla 2 qrupa bölünür;

♦ *hərəkətli bakteriyalar maye mühitdə sürünən və üzən formada hərəkətə malik olurlar:*

-sürünən bakteriyalar hüceyrənin dalğavari hərəkəti nəticəsində çox yavaş hərəkət edirlər;

- üzən bakteriyalar mühitdə flagellalar ilə sərbəst hərəkət edirlər;

♦ ***flagellalar*** - müxtəlif bakteriyalarda sayına və yerləşməsinə görə bir-birindən fərqlənir və differensial-diaqnostik əhəmiyyət daşıyır.

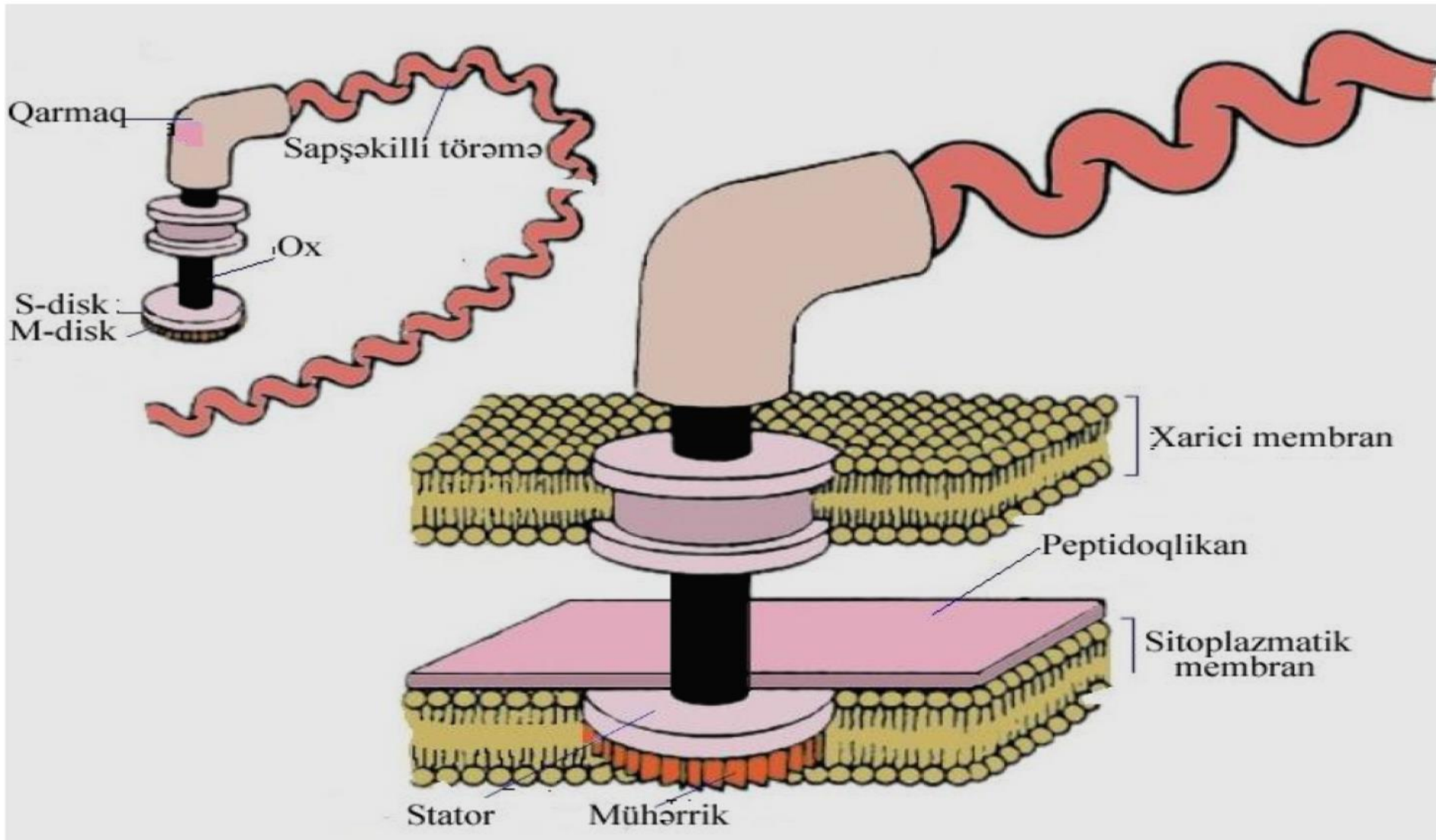
♦ *tərkibi - bir neçə min flagellin adlanan zülal molekullarından ibarətdir;*

♦ *aktin və miozin zülalları kimi təqəllüs xüsusiyyətinə malik olan bu zülal - güclü antigen (H-antigen) olmaqla orqanizmdə müvafiq anticisimlərin (immunqlobulinlələrin) əmələ gəlməsini induksiya edir;*

♦ *kövrək törəmələr olduğundan müxtəlif təsirlərdən asanlıqla qırılır;*

♦ *flagellalar - 3 əsas hissədən ibarətdir:*

- bazal cisim,
- qarmaq,
- sapşəkilli törəmə.



Bakteriya flagellasının quruluş sxemi

●**Monotrixlər** (yun. mono-tək, trichos-tük) - hüceyrənin 1 ucunda 1 flagella olur, sürətli hərəkətə (60 mkm/san) malikdir.

●**Lofotrixlər** (yun. lophos-dəstə+trichos-tük) - hüceyrənin 1 ucunda, 1 dəstə flagella olur, aktiv hərəkətə malikdir.

●**Amfitrixlər** (yun. amphi-ikitərəfli+trichos-tük)- hüceyrənin hər iki ucunda bir flagella və ya dəstə şəkildə flagellalar olur, zəif hərəkətə malikdir.

●**Peritrixlər** (yun. peri-ətraf+trichos-tük) - hüceyrələrin bütün səthində flagellalar olur, nisbətən zəif hərəkətə malikdir.



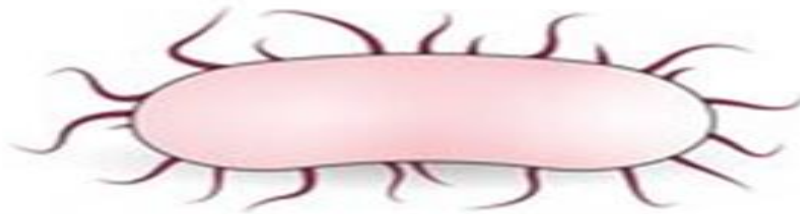
Monotrichous



Amphitrichous



Lophotrichous



Peritrichous

Types Of Bacteria

Bakteriyalarda flagellaların yerləşməsi:

1-monotrix,

2-amfitrix,

3-lofotrix,

4-peritrix

“Əzilən” və “asılan” damla üsulları

- *Diagnostik laboratoriyalarda xəstəlik törədən mikrobların diri halda öyrənməsindən, onların hərəkətli olub-olmaması, yəni dolayısı yolla onlarda flagellaların olub-olmaması təsdiq olunur.*
- *Hərəkətliliyin öyrənilməsi differensial-diagnostik əhəmiyyətə malik olub, mikrobların identifikasiyasında tətbiq edilir.*
- *Bunun üçün “əzilən” və “asılan” damla üsullarından istifadə olunur.*

Əzilən damla üsulu

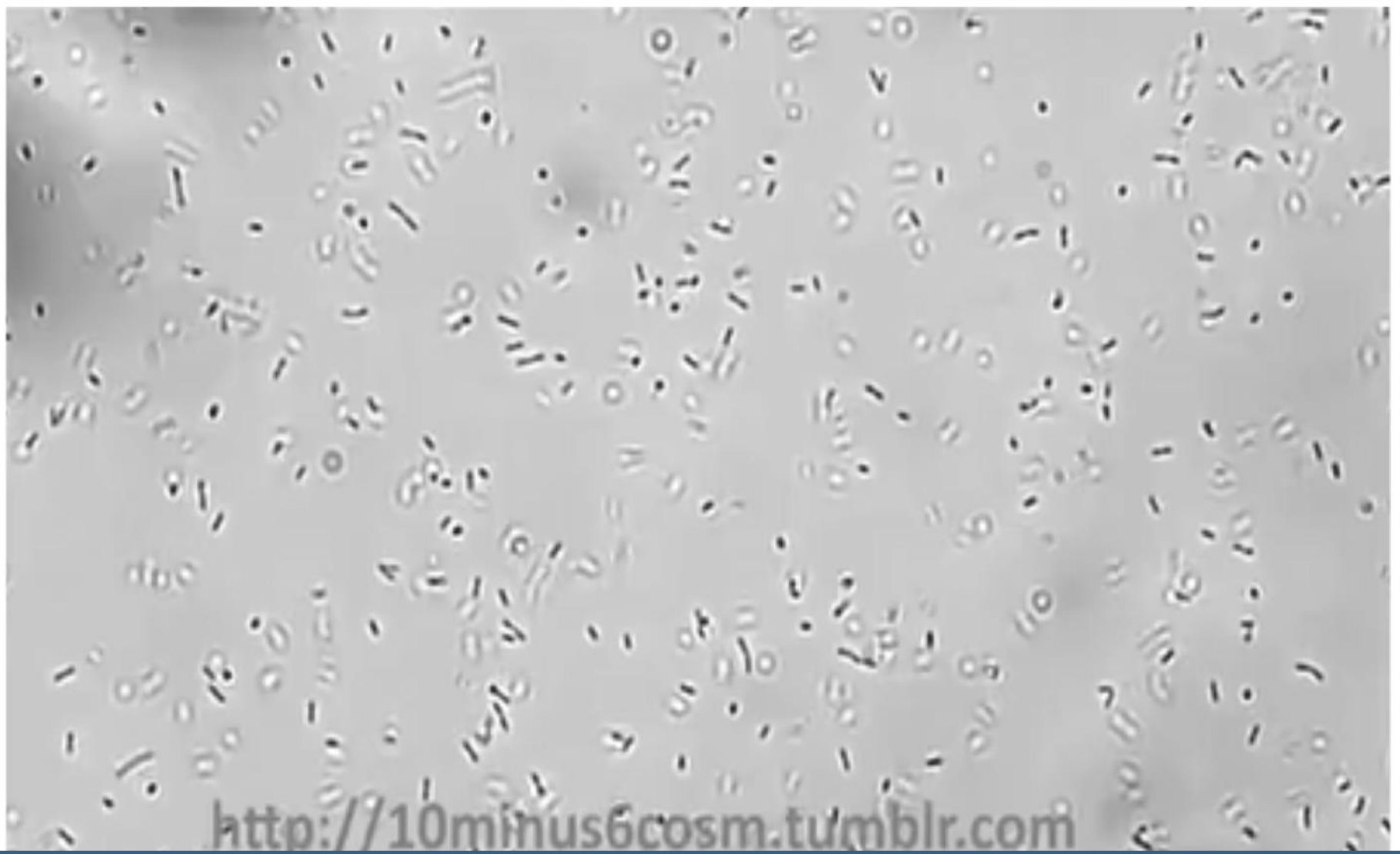
■ *Bu üsulla preparat hazırlamaq üçün:*

- ◆ *əşya şüşəsinin mərkəzinə - müəyinə ediləcək mikrobu 18-20 saatlıq kulturasından hazırlanmış suspenziyadan və ya bulyon kulturasından 1 damla qoyulur;*
- ◆ *damla örtük şüşəsi ilə örtülür damla əzilir, yəni **əzilən damla** preparatı alınır;*
- ◆ *örtük şüşəsi damlanın üzərinə elə qoyulmalıdır ki, onda hava qabarcıqları qalmasın və damla yayılıb örtük şüşəsinin kənarına çıxmasın;*
- ◆ *preparatın çatışmayan cəhəti damlanın işıq şüasının təsirindən tez qurumasıdır.*

Asılan damla üsulunda

■ *Bu üsulla preparat hazırlamaq üçün:*

- ◆ *ortasında çuxurcuğu olan xüsusi əşya şüşəsindən istifadə olunur;*
- ◆ *müayinə ediləcək material örtük şüşəsinin üzərinə qoyulur;*
- ◆ *çuxurcüğün kənarına vazelin yağı sürtülür, əşya şüşəsi çevrilir və damla, mərkəzdə olmaq şərtlə örtük şüşəsinin üzərinə qoyulur;*
- ◆ *sonra əşya şüşəsi ehtiyatla və cəld hərəkətlə çevrilir, bu zaman damla çuxurun ortasında örtük şüşəsindən asılı vəziyyətdə olur;*
- ◆ *yəni - "asılan damla" preparatı alınır.*



“Əzilən və asılan” damla preparatının mikroskopik görüntüsü

Xovlar (pili, fimbriya)

- *Əksər bakteriyaların səthi mikroxovlarla, yaxud fimbrilərlə (lat. fimbria-saçaq), yaxud pililərlə (lat. pilus-tükcük) örtülmüş olur;*
 - ◆ *bunla həm hərəkətli, həm də hərəkətsiz bakteriyalarda rast (10-1000 ədəd) gəlinir;*
 - ◆ *flagellalara nisbətən çox qısa (3-10 nm x 0,3-10 mkm), sapvari törəmələrdir;*
 - ◆ *tərkibi spiralvari pilin adlı zülaldan ibarət olub, hüceyrənin səthində hərtərəfli vəziyyətdə yerləşir.*
 - ◆ *flagellalar kimi pililər də bakteriyalara xas olan əsas elementlərdən sayılmır.*

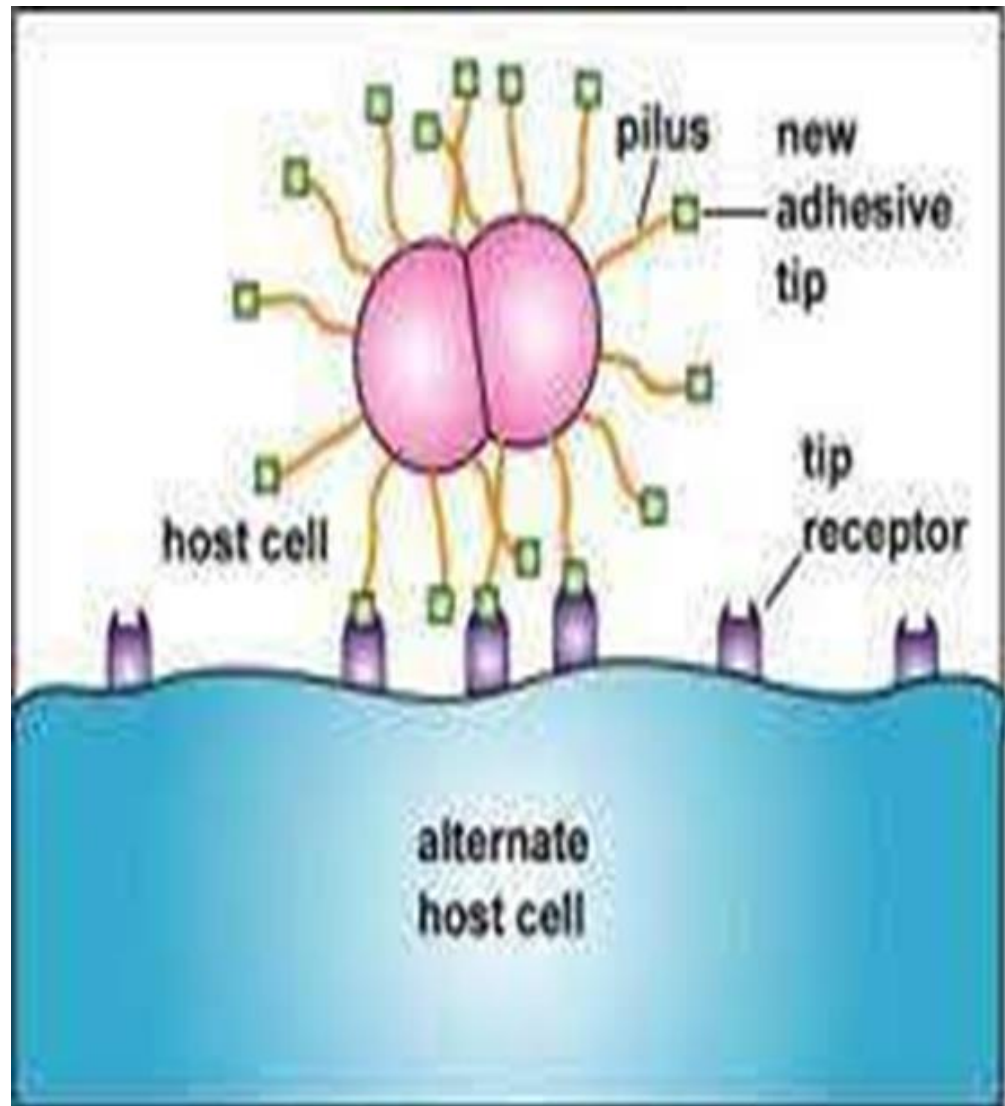
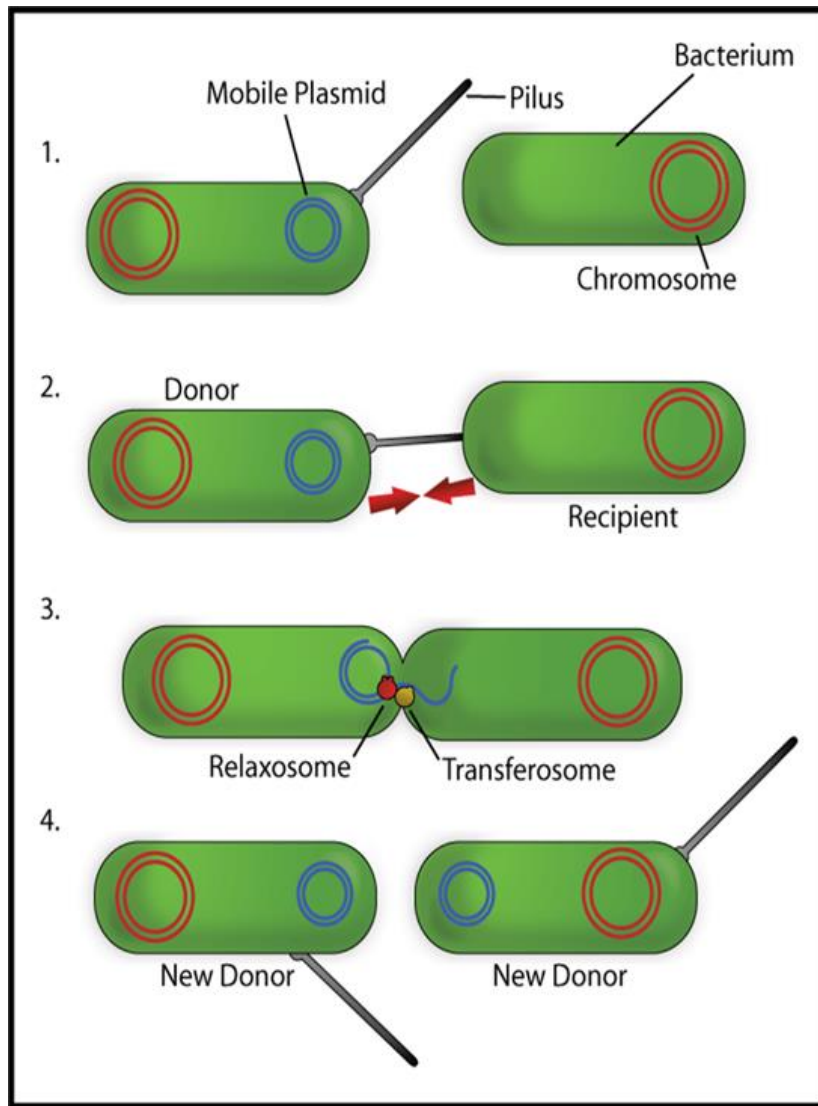
♦ *bir çox qram mənfi bakteriyalarda (qonokok və meningokoklarda, dizenteriya törədicilərində, göy-yaşıl irin çöplərində, hemofil bakteriyalarda və s.) rast gəlinir;*

♦ *funksiyalarına görə bir neçə tip olur:*

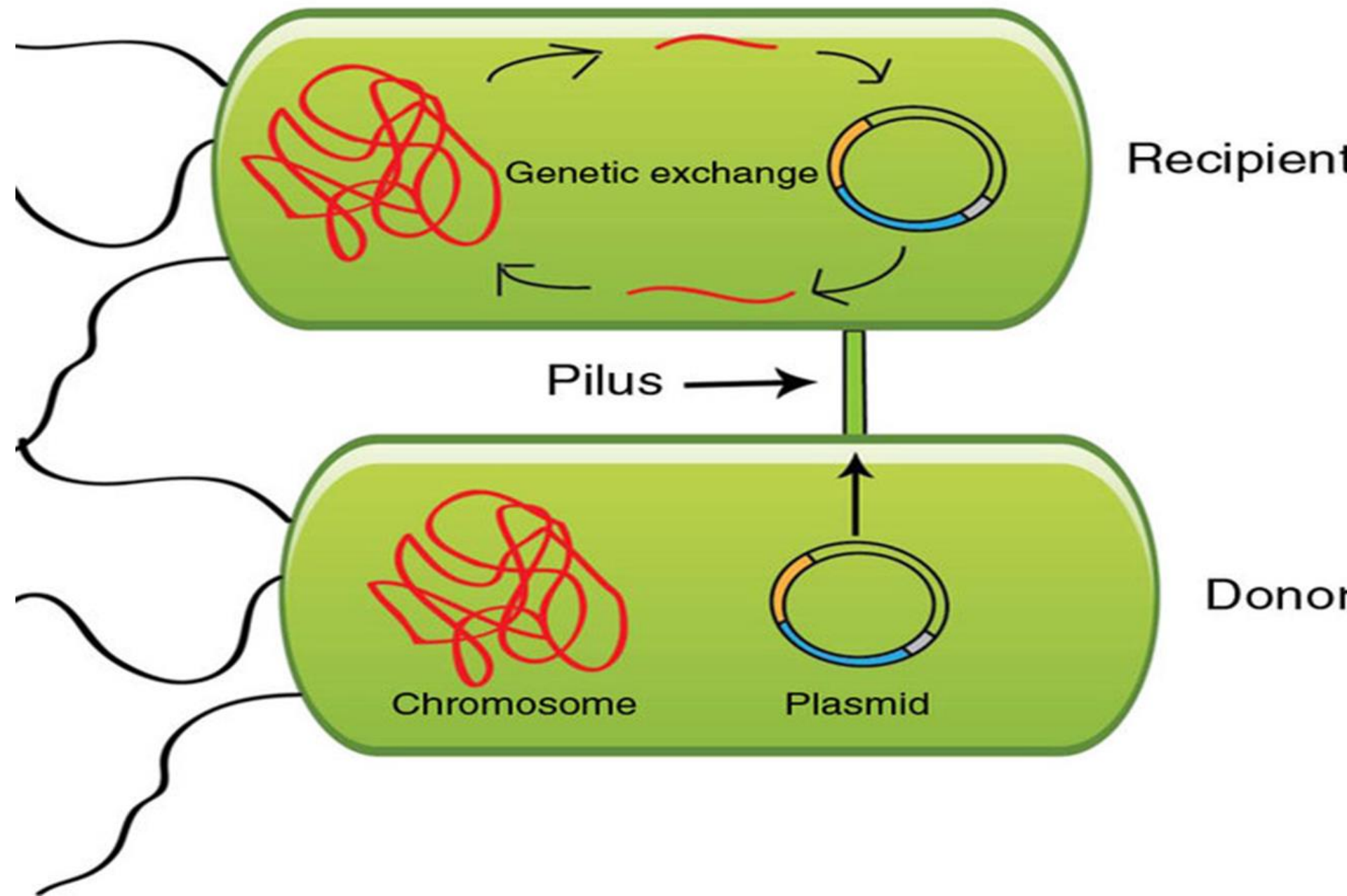
adheziv pililər - *sahib hüceyrələrin selikli qışalarına yapışmanı təmin edir*

konyuqativ və ya cinsi pililər (F-pili) - *irsi materialın bir hüceyrədən digərinə ötürülməsində iştirak edən (1- 3 ədəd)*

reseptor pililər - *bəzi viruslar üçün reseptor rolunu oynaya bilir*



Conjugation



Kapsula

Kapsula - mürəkkəb polisaxarid və polipeptid tərkibli selik təbəqəsindən ibarətdir, bakteriya hüceyrəsini xaricdən əhatə edir.

Kapsula əmələ gətirməsinə görə bakteriyalar 2 yerə bölünür:

daimi kapsul əmələ gətirənlər

Klebsiellalar

K.pneumoniae, K.ozaenae, K.rinoscleromatis, K.oxytoca və s.

yalnız orqanizm daxilində kapsul əmələ gətirənlər

Pnevmonokok – *S.pneumoniae*,

taun törədicisi - *Yersinia pestis*,

qarayara törədicisi - *Bacillus anthracis*,

qazlı qanqrenanın törədicisi - *Clostridium perfringens* və s.

- ◆ *bəzən - kapsulanın kimyəvi tərkibi dəyişkən ola bilir;*
- ◆ *streptokokların bəzi növlərində (Str.pneumoniae) kapsulanın tərkibi qlükoza və fruktoza polimerlərindən ibarət polisaxarid; bəzilərdə hialuron turşusundan (Str.pyogenes) ibarətdir;*
- ◆ *qara yaranın törədicisində (B.anthraxis) - D-qlutamin polimerindən ibarət polipeptiddən ibarətdir;*
- ◆ *klebsiellalarda (K.pneumoniae, K.ozaenae, K.rinoscleromatis, K.oxytoca) - polisaxarid tərkibli;*
- ◆ *differensial-diaqnostik əhəmiyyətə malikdir;*
- ◆ *rəng məhlullarını pis qəbul etdiyinə görə rənglənmir;*
- ◆ *onları aşkar etmək üçün xüsusi rəngləmə üsulu Gins-Burri üsulundan istifadə edilir.*

Ginz-Burri üsulu ilə rəngləmə

- Ginz-Burri üsulu - kapsulanı aşkar etmək üçün istifadə olunur;*
- ◆ *kapsulanın aşkar edilməsi - bakteriyaların differensiasiyasında və virulentliklərinin təyinində əhəmiyyət kəsb edir;*
 - ◆ *kimyəvi tərkibi mürəkkəb maddələrdən təşkil olunduğu üçün anilin rəngləri ilə çətin boyanır;*
 - ◆ *neqativ rəngləmə üsulundan istifadə etməklə aşkar etmək daha məqsədə uyğundur;*
 - ◆ *bunun üçün əvvəlcə Burri üsulu ilə neqativ preparat hazırlanır.*

Burri üsulu ilə neqativ preparat hazırlamaq üçün:

♦ *əşya şüşəsi üzərinə - 1:10 durulaşdırılmış 1 damla qara tuş (və ya niqrozin, konqo qırmızısı), 1 damla müayinə materialı qoyulur və qarışdırılır;*

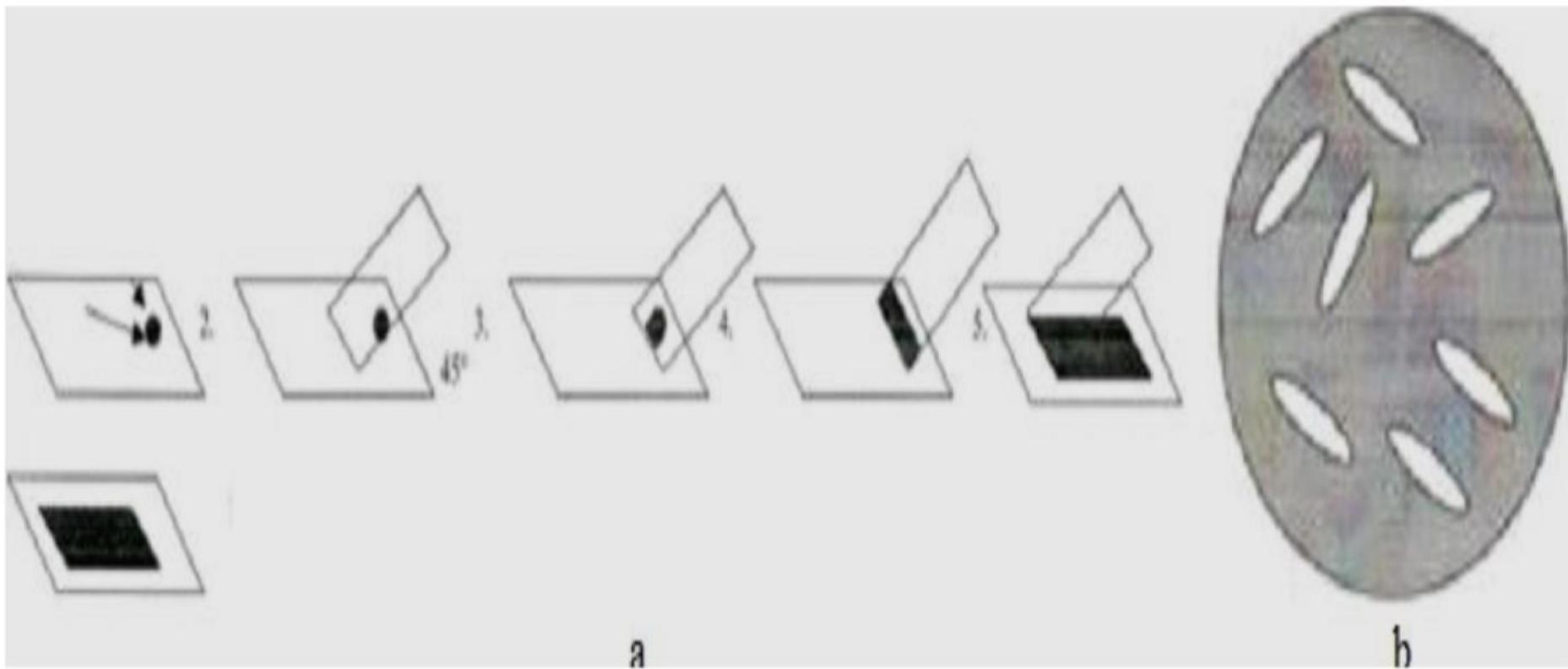
♦ *qarışıq - nazik qan yaxması hazırlandığı kimi əşya şüşəsi üzərinə yaxılır;*

♦ *yaxma - havada qurudulur, üzərinə 1 damla immersion yağı əlavə edilir və immersion obyektivlə baxılır.*

♦ **mikroskopda:**

- qara fonda - mikrob hüceyrələri rəngsiz halda görünür,

♦ buna görə Burri üsulu - “neqativ” üsul da adlandırılır.



Burri üsulu ilə neqativ preparatın hazırlanması:

a) hazırlanma mərhələləri;

b) mikroskopda rəngsiz bakteriyaların qara fonda görünüşü

Ginz-Burri üsulu ilə rəngləmə

1. *Burri üsulu ilə hazırlanmış preparat* - kimyəvi-fiziki üsulla (etil spirti + alov) fiksasiya olunur;

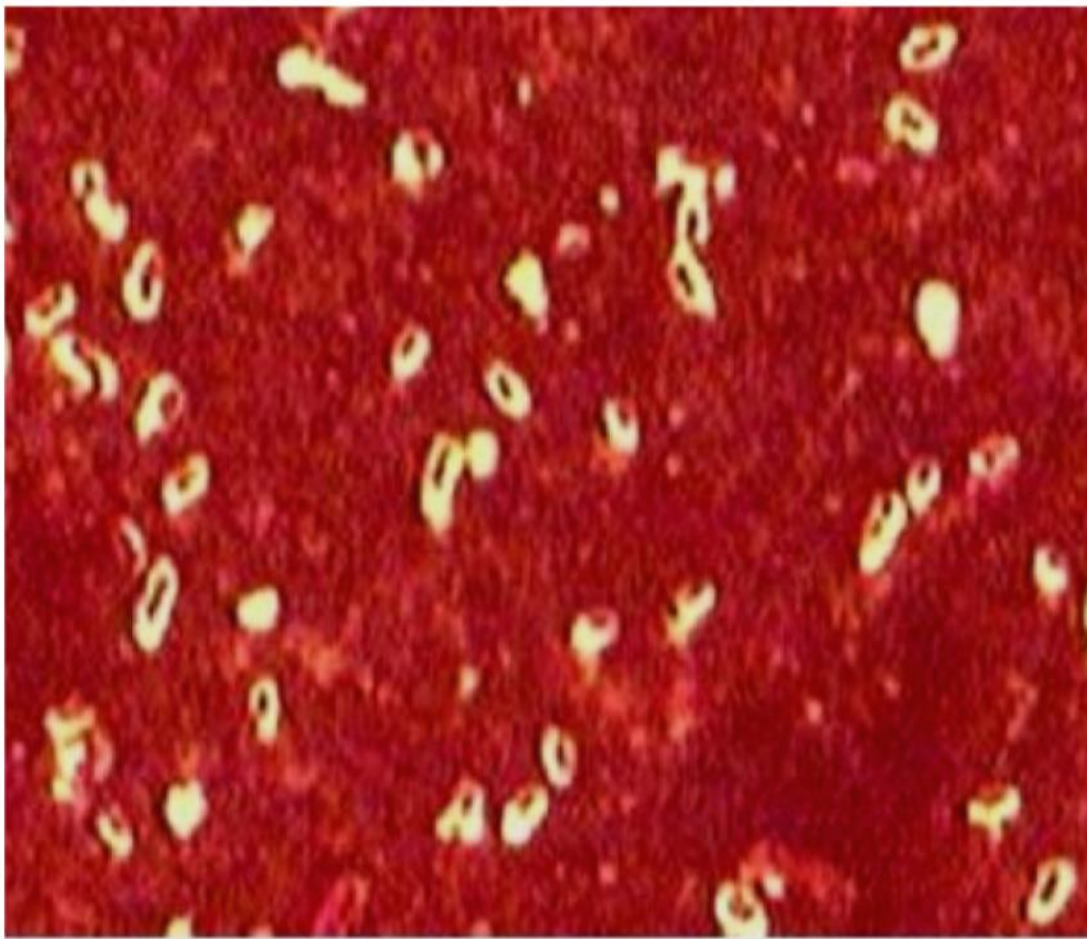
2. sonra yuyulur - *üzərinə bir neçə damla Sil fuksini əlavə edilir;*

3. 3-5 dəq sonra yuyulur və qurudulur;

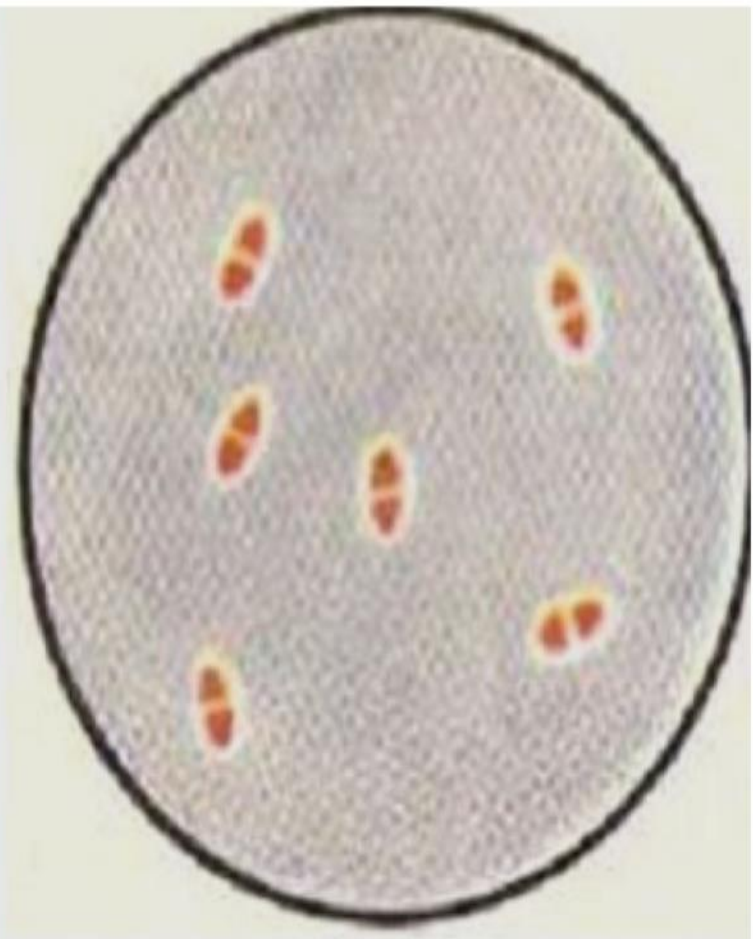
4. *üzərinə - 1 damla immersion yağ əlavə edilir və immersion obyektivlə baxılır;*

♦ *mikroskopda:*

- qara-qırmızı fonda qırmızı rəngə boyanmış bakteriyalar və onların ətrafında şəffaf kapsula görünür.



a



b

Bakteriyalarda kapsula:
a) klebsiellalar (K.pneumoniae);
b) pnevmokoklar (Str.pneumoniae)