

MƏŞĞƏLƏ-6

*Bakterioloji üsul. Aerob və anaerob bakteriyaların
təmiz kulturasının alınması*

(I gün, II gün, III gün).

Virus, rikketsiya və xlamidiyaların kultivasiyası.

Faqlar

Məşğələnin planı :

I.Davamiyyətin yoxlanılması və müəllimin giriş sözü

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

1.Mikroorqanizmlərin tənəffüsü.Tənəffüs tipləri

2.Prokariotların (bakteriya, rikketsiya, spiroxet, xlamidiya, mikoplazma, aktinomisetlər) çoxalma xüsusiyyətləri.

3.Bakterioloji (kultural) üsul: mahiyyəti və əhəmiyyəti. Kultivasiya şəraiti. Aerob mikroorqanizmlərin təmiz kulturasının alınma üsulları

4.Anaerob mikroorqanizmlərin təmiz kulturasının alınma üsulları

5.Bakteriyaların kultural xassələri

6. Koloniyalardan yaxmaların hazırlanması və Qram üsulu ilə boyadılması

7.Bakterial fermentlərin təsnifatı.

8.Virus, rikketsiya və xlamidiyaların kultivasiyası

9.Yoluxdurulmuş test sistemlərdə və ya patoloji materiallarda obliqat hüceyrədaxili mikroorqanizmlərin aşkar edilməsi: indikasiya (SPT, hemaqqlütinasiya, hemadsorbsiya, hüceyrədaxili əlavələr, rəng sınağı, piləklər üsulu və s.) və identifikasiya.

10.Bakterofaqlar, onların quruluşu və xassələri.

Bakterioloji(kultural) üsul, mahiyyəti və əhəmiyyəti

- *Kultural (bakterioloji) üsulun mahiyyəti müayinə edilən materialdan törədici bakteriyaların təmiz kulturasının əldə edilməsi və morfoloji, tinktorial, kultural, biokimyəvi, toksigen və antigen xüsusiyyətlərinə görə onların identifikasiyasından ibarətdir.*

Kultura və təmiz kultura

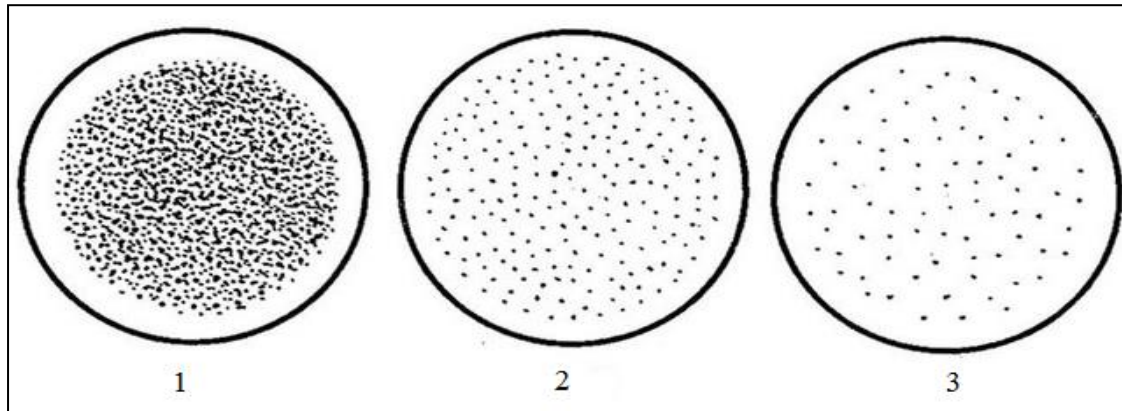
- ◎ *Qidalı mühitlərdə kultivasiya edilən mikroorqanizmlərin populyasiyası kultura adlanır.*
- ◎ *Mikroorqanizmlərin xüsusiyyətlərini öyrənmək, onların sistematik mövqeyini müəyyən etmək üçün mikrobların ayrı-ayrı növlərini təcrid etmək, təmiz kultura əldə etmək və onu identifikasiya etmək lazımdır. Ancaq bir növ mikroorqanizmdən ibarət kultura təmiz kultura adlanır.*

Aerob bakteriyaların təmiz kulturalarının alınması üsulları:

- ◎ *Mikroorqanizmlərin qidalı mühitin daxilində, yaxud səthində mexaniki ayrılması prinsipinə əsaslanan üsullardan daha çox istifadə edilir. Bu üsulların ümumi prinsipi müayinə ediləcək materialları qidalı mühitin dərinliyində, yaxud səthində mexaniki şəkildə ayıraraq onların təcrid olunmuş koloniyalar halında inkişafını təmin etməkdən ibarətdir.*
- ◎ *Belə hesab edilir ki, bir koloniya bir mikrob hüceyrəsindən inkişaf edir. Beləliklə, hər hansı bir mikrobun koloniyası adətən eyni növlü mikrob hüceyrələrindən ibarət olduğundan, onu təmiz kultura kimi qəbul etmək olar.*

Bərk qidalı mühitin səthində mikrob hüceyrələrinin ayrılması üsulu (Driqalski üsulu)

- ◎ Üsulun mahiyyəti tədqiq olunan materialın (inokulyatın) qidalı mühit olan bir neçə Petri kasasında şüşə spatel və ya ilgəklə aqar üzərində ardıcıl yayılmasından ibarətdir.
- ◎ Tədqiq olunan material içərisində ƏPA olan 3 ədəd nömrələnmiş Petri kasasına inokulyasiya edilir. Bunun üçün ilgəklə və ya şüşə paster pipetlə ƏPA üzərinə tədqiq olunan materialdan bir damcı əlavə edilir və şüşə spatellə yayılır. Spatel birinci kasadan çıxarılır, ağzı bağlanır və heç bir yerə toxundurmadan ikinci kasaya keçirilir, qidalı mühitin səthinə diqqətlə sürülür, sonra ardıcıl olaraq üçüncü kasaya keçirilir.
- ◎ İnkubasiyadan sonra inokulyasiya edilmiş kasalardakı qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir.

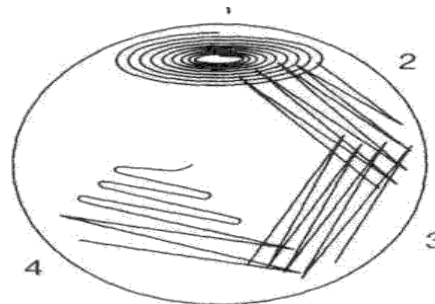


Sektorlarla inokulyasiya üsulu

- ◎ *Hazırda təmiz kultura (təcrid olunmuş koloniyalar) almaq məqsədilə 4 sektorlu inokulyasiya üsulundan daha çox istifadə edilir. Bunun üçün bakterioloji ilgək vasitəsilə götürülmüş material Petri kasasında olan bərk qidalı mühitin səthinə paralel cizgilərlə (ştrixlərlə) əkilir. Bu zaman kasadakı qidalı mühit nəzəri olaraq 4 sektora bölünür. İlgəklə birinci sektora ilkin inokulyasiya aparılır, ilgək yandırıldıqdan sonra ilkin inokulyasiya yerindən başlayaraq bir neçə paralel ştrixlər aparmaqla ikinci sektora, daha sonra eyni qayda ilə üçüncü və dördüncü sektorlara inokulyasiya edilir*
- ◎ *İnkubasiyadan sonra ilkin materialdakı mikroorqanizmlərin sayından asılı olaraq qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir və adətən sonuncu sektorlarda mikroorqanizmlər təcrid olunmuş koloniyalar halında inkişaf edir.*

Sektorlarla inokulyasiya üsulu

- ◎ 4 sektorlu inokulyasiya üsulundan istifadə etməklə həm də ilkin materialdakı mikroorqanizmlərin sayı haqqında təqribi məlumat almaq mümkündür. Belə ki, müəyyən bir mikroorqanizm ancaq birinci sektorda inkişaf edirsə onun inkişafı (+), birinci və ikinci sektorlarda inkişaf edirsə (++), birinci, ikinci və üçüncü sektorlarda inkişaf edirsə (+++), bütün sektorlarda inkişaf edirsə (++++), kimi qiymətləndirilir.
- ◎ Bakterioloji müayinələrin nəticəsini qeyd edərkən miqdarı ölçülə bilməyən materiallar (məsələn, tamponla götürülmüş materiallar) üçün mikroorqanizmlərin sayı (+) müsbətlərlə, miqdarı ölçülə bilən materiallar (məsələn, sidik, bəlgəm və s.) üçün - koloniya əmələ gətirən vahid (KƏV)/ml kimi göstərilir.



Klonların alınması

- ◎ *Mikroskop altında mikromanipulyatorun iynəsi vasitəsilə bir mikrob hüceyrəsi götürülür və steril qidalı mühitə daxil edilərək inkubasiya edilir.*
- ◎ *Bir mikrob hüceyrəsindən inkişaf edən kultura klon adlanır.*
- ◎ *Bu üsul daha çox genetik tədqiqatlarda istifadə edilir.*
- ◎ *Müəyyən bir mikroorqanizmin klonu onun ideal təmiz kulturası hesab edilir.*

Mikroorqanizmlərin bioloji xüsusiyyətlərindən istifadə edilməsi prinsipinə əsaslanan üsullar

- *Hərəkətli bakteriyaların təmiz kulturasının alınması*
- *Sporalı bakteriyaların təmiz kulturasının alınması*
- *Selektiv qidalı mühitlərdən istifadə etməklə təmiz kulturasının alınması*
- *Həssas laborator heyvanların yoluxdurulması vasitəsilə təmiz kulturasının alınması*

Anaerob bakteriyaların təmiz kulturalarının alınması üsulları:

- ◎ *Seyssler üsulu.* *Tədqiq olunan material bakterioloji ilgəklə bərk qidalı mühitin səthinə sektorlarla inokulyasiya edilir, anaerob şəraitdə 37°C temperaturda 24-72 saat ərzində inkubasiya edilir.*
- ◎ *İnkubasiyadan sonra qidalı mühitin səthində əmələ gəlmiş təcrid olunmuş koloniyalardan birini Kitt-Tarotsi mühitinə, yaxud anaeroblar üçün digər bir qidalı mühitə keçirib, yenidən inkubasiya etməklə anaerob bakteriyanın təmiz kulturasını əldə edirlər.*

Anaerob bakteriyaların təmiz kulturalarının alınması üsulları:

- ◎ Veynberg üsulu. Tədqiq olunan materialın bir neçə damcısı 0.9%-li natrium xlorid məhlulu olan sınaq şüşəsinə yeridilir, qarışdırılır, əridilərək soyudulmuş şəkərli aqar olan sınaq şüşəsinə keçirilir. Qarışdırıldıqdan sonra şəkərli aqar olan daha iki sınaq şüşəsinə ardıcıl inokulyasiya edilir və soyuq su altında tez soyudulur.
- ◎ 24-72 saat inkubasiyadan sonra aqarın dərinliyində əmələ gəlmiş təcrid olunmuş koloniyaları Kitt-Tarotsi mühitinə, yaxud anaeroblar üçün digər bir qidalı mühitə keçirib, yenidən inkubasiya etməklə anaerob bakteriyanın təmiz kulturasını əldə edirlər.

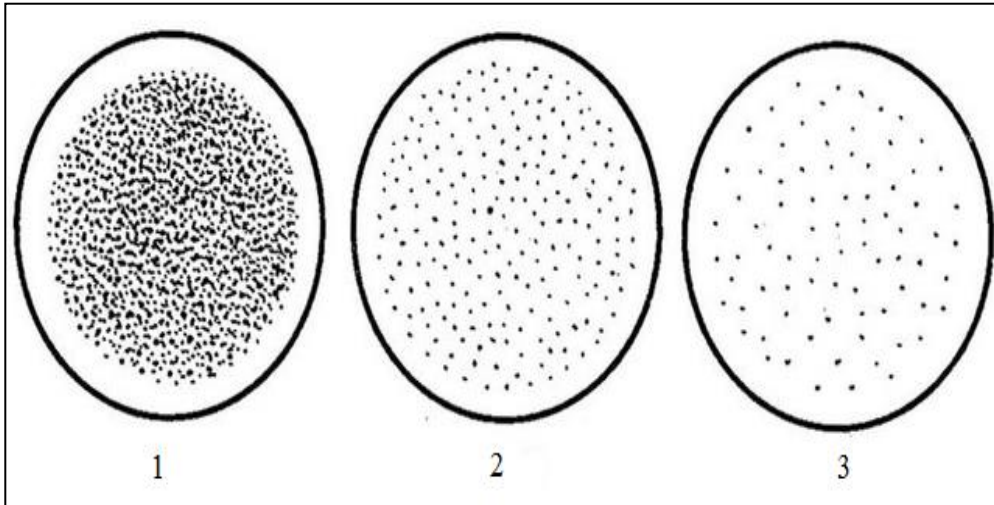
Digər prokariotların çoxalması

- *Spiroxtların və rikketsiyaların çoxalması* digər bakteriyalar kimi sadə bölünmə yolu ilə gedir. Rikketsiyalar ancaq sahib hüceyrələrin daxilində (nüvədə və ya sitoplazmada) çoxalırlar.
- *Xlamidiyaların çoxalması* sahib hüceyrələrin daxilində mürəkkəb inkişaf sikli ilə baş verir
- *Mikoplazmaların çoxalması*. Mikoplazmaların əsas reproduktiv formaları kürəvi, yaxud ovoid formalı elementar cisimlərdir. İnkişaf prosesində onlardan əmələ gələn sapvari törəmələrdən kürəvi cisimciklər formalaşır, Beləliklə, kürəvi cisimciklərdən ibarət zəncirlər əmələ gəlir. Sonra sapvari törəmələrin fraqmentasiyası nəticəsində elementar cisimlər formalaşır.
- *Aktinomisetlərin çoxalması* miselilərin fraqmentasiyası, yaxud hava miselilərində əmələ gələn sporalar vasitəsilə baş verir.

Təmiz kulturanın alınması – II gün

- *Təmiz kulturanın alınmasının II mərhələsi inkişaf etmiş bakteriyaların kultural xüsusiyyətlərinin öyrənilməsilə başlayır.*
- *II gün inokulyasiya edilmiş Petri kasaları termostatdan çıxarılır. Bakteriyaların **kultural xüsusiyyətləri öyrənilir.***
- *Driqalski üsulu ilə inokulyasiya edilmiş kasalardakı qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir. Adətən ikinci, yaxud daha çox hallarda üçüncü kasadakı qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlər **təcrid olunmuş koloniyalar** halında inkişaf edir.*
- *4 sektorlu inokulyasiya edilmiş kasalarda inkubasiyadan sonra ilkin materialdakı mikroorqanizmlərin sayından asılı olaraq qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir və adətən sonuncu sektorlarda mikroorqanizmlər **təcrid olunmuş koloniyalar** halında inkişaf edir.*

*Bark qidalı mühitlərin səthində təcrid olunmuş
koloniyaların alınması*



Mikroorqanizmlərin kultural xassələri

➤ **Kultura** - optimal şəraitdə bakteriyaların formalaşdırdığı özünəməxsus populyasiyaya deyilir

➤ **Koloniya** - bərk qidalı mühitlərdə bakteriyaların əmələ gətirdiyi yığıntıya (populyasiyaya) deyilir.

➤ **Təmiz mikrob kulturası** dedikdə tək bir növə mənsub olan mikroorqanizmin bərk qidalı mühitdə əmələ gətirdiyi populyasiya nəzərdə tutulur.

➤ **Ştamm** - müxtəlif (yaxud eyni) mənbələrdən müəyyən vaxtlarda alınmış eyni növdən olan mikroorqanizmlərin təmiz kulturasıdır.



Mikroorqanizmlərin kultural xassələri

- *Kultural xüsusiyyətlər hər bir mikroorqanizm cinsi, yaxud növü üçün xarakter əlamət olduğundan **mikroorqanizmlərin identifikasiyasında** istifadə edilir.*
- *Bunun üçün bakteriyaların bərk və maye qidalı mühitlərdə inkişaf xarakteri öyrənilir.*

Bərk qidalı mühitlərdə bakteriyaların kultural əlamətləri

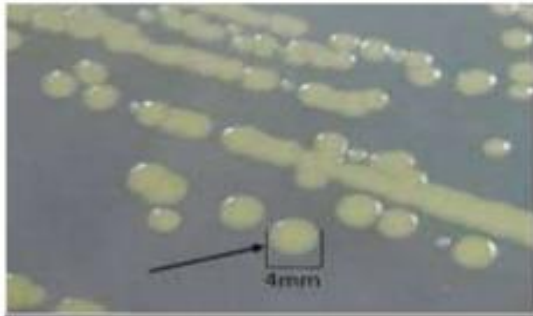
- *Bərk qidalı mühitlərdə bakteriyalar **koloniya** əmələ gətirir.*
- *Bərk qidalı mühit səthində, yaxud dərinliyində bir bakteriya hüceyrəsinin əmələ gətirdiyi populyasiya koloniya adlanır.*



Koloniya­ların morfo­logiyası

- *Koloniyanın morfo­logiyasını öyrənmək üçün aşağıdakı xüsusiyyətlər nəzərə alınır:*
 - *Ölçüsü*
 - *Forması*
 - *Rəngi*
 - *Struktur­u*
 - *Hündürlüyü*
 - *Kənarları*

Koloniyanın formaları:



dairəvi



nöqtəşəkilli



rizoid

Koloniýaların kənarları:



hamar



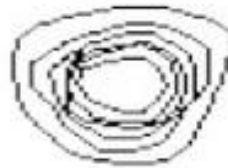
dalğavari



girintili-çixıntılı



sapşəkilli

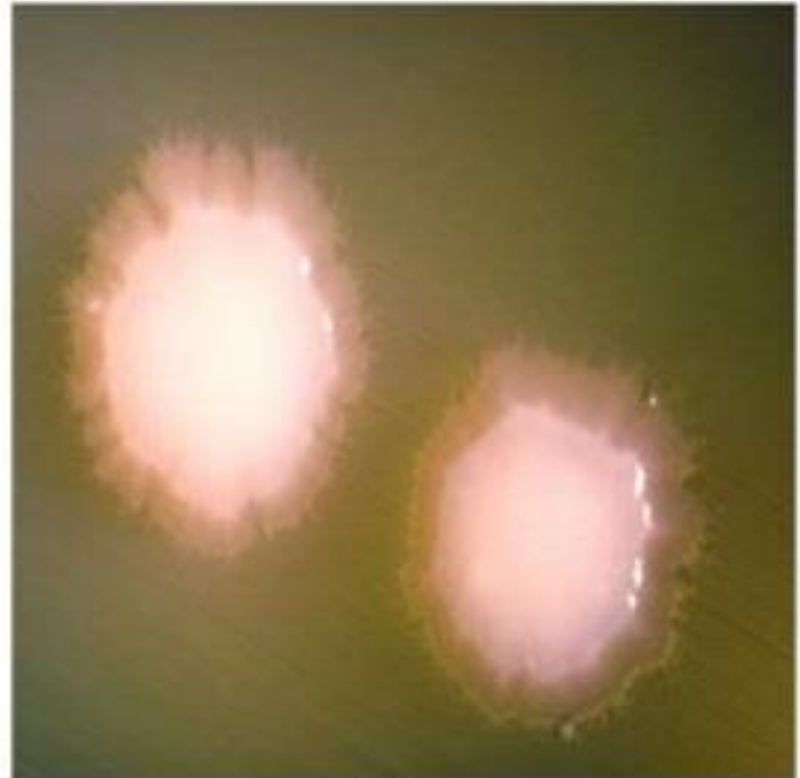


qıvrılmış(konsentrik)

Koloniyanın kənarları:



dalğavari



sapşəkilli

Koloniyların qidalı mühit səthindən qalxması:



yastı



qabarıq



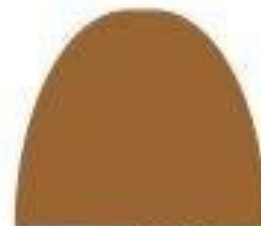
göbələk şəkilli



kraterəbənzər



konveks



yastıgəbənzər

Koloniyanın ölçüləri:

- ***Böyük (4-5 mm-dən çox)***
- ***Orta (2-4 mm)***
- ***Kiçik (1-2 mm)***
- ***Nöqtə şəkilli (1 mm-dən az)***

Koloniyların konsistensiyası

- *Bərk*
- *Yumşaq*
- *Yapışqan*
- *Mukoid*



bərk



yapışqan



mukoid

Koloniya­ların rəngi

- *Bəzi bakteriyalar qidalı mühitdə inkişaf etdikdə pigment əmələ gətirir*



Koloniyların şəffaflığı

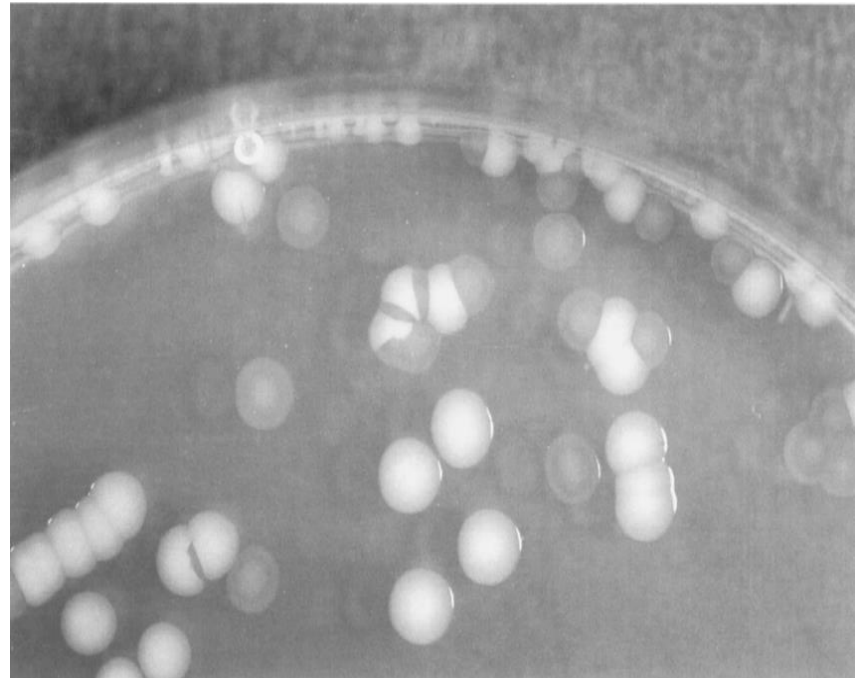
- *Şəffaflıq dərəcəsinə görə:*

-şəffaf

-yarımsəffaf

-bulanıq

koloniyalar ayırd edilir



Maye qidalı mühitlərdə bakteriyaların kultural əlamətləri:



Təmiz kulturanın alınması-IIgün

- *Təmiz kulturanın alınmasının II mərhələsində təcrid olunmuş koloniyalardan digər qidalı mühitlərə köçürülür və daha 1-2 gün inkubasiya edilir.*

Təmiz kulturanın alınması - III gün

- *Təmiz kulturanın alınmasının III mərhələsi əldə edilmiş kulturanın təmizliyi yoxlanılır.*
- *Bunun üçün çəp aqarın səthində inkişaf etmiş kulturadan hazırlanmış yaxma Qram üsulu ilə boyadıldıqdan sonra mikroskopiya edilir. Yaxmada eyni morfolojiyaya malik bakteriyaların olması kulturanın təmizliyini təsdiq edilir.*
- *Təmiz kultura əldə edildikdən sonra həmin kulturanın biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətləri öyrənilir.*
- *Bakterioloji müayinə üsulunun yekun mərhələsi əldə edilmiş təmiz kulturanın identifikasiyasından, yəni mikroorqanizmlərin cins və növünün təyin edilməsindən ibarətdir.*
- *Mikroorqanizmlərin identifikasiyası kultural, tinktorial, morfoloji, fermentativ, antigen və s. xüsusiyyətlər əsasında aparılır.*

Bakteriyaların biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi:

- *Bakteriyaların biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi fermentlərinin və metabolitlərin öyrənilməsinə əsaslanır*
- *Fermentativ xüsusiyyətlər mikroorqanizmlərin identifikasiyası üçün tətbiq olunan əsas taksonomik əlamətdir.*
- *Bu səbəbdən bakteriyaların identifikasiyası üçün saxarolitik, proteolitik və digər fermentlər təyin edilir.*

Mikrob fermentləri:

- *Mikroorqanizmlər genom səviyyəsində determinasiya olunan müxtəlif fermentlər sintez edirlər. Mikrob hüceyrəsində gedən bütün metabolik reaksiyaların əsasını təşkil edən fermentlər 6 sinifə aiddir:*
 1. *oksireduktazalar* (*oksidləşmə-reduksiya reaksiyaları kataliz edirlər*),
 2. *transferazalar* (*ayrı-ayrı atomları molekuldan molekula keçirir*),
 3. *hidrolazalar* (*suyun molekulalarını birləşdirməklə proteinlərin, karbohidratların, lipidlərin parçalanmasına səbəb olur*),
 4. *liqazalar* (*iki molekulu yeni kimyəvi rabitə əmələ gətirməklə birləşdirir*),
 5. *liazalar* (*qeyri-hidrolitik yolla kimyəvi qrupları ayırır*),
 6. *izomerazalar* (*karbohidrat metabolizmində iştirak edir*).
- *Fermentlər bakteriya daxilində yerləşən – **endofermentlər** və ətraf mühitə ifraz olunan – **ekzofermentlərə** ayrılır.*

Mikrob fermentləri:

- *Endofermentlər* hüceyrə hüduunda fəaliyyət göstərir, *ekzofermentlər* isə mikrob hüceyrəsindən xaricə ifraz edilməklə buradakı makromolekulları parçalayır və onların hüceyrə daxilinə keçməsinə asanlaşdırır.
- *Konstitutiv və induktiv fermentlər*
- *Metabolitik fermentlər* – oksireduktazalar, transferazalar, liazalar, liqazalar, hidrolazalar və izomerazalar
- *Aqressiya, yaxud patogenlik fermentləri* – hialuronidaza, neyraminidaza, lesitinaza və s.

Mikroorqanizmlərin fermentativ fəallığının öyrənilməsi:

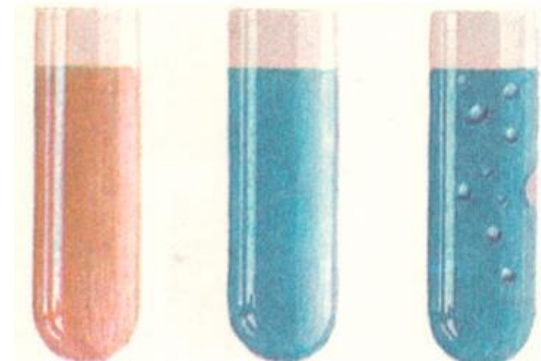
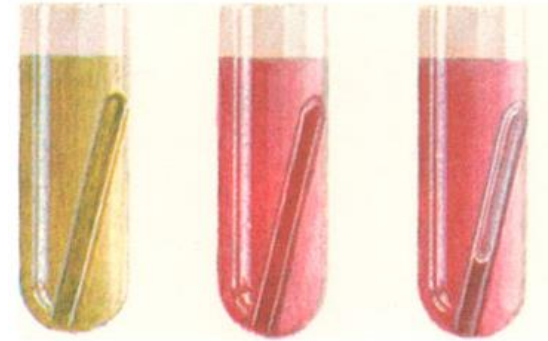
- *Fermentativ xüsusiyyətlər mikroorqanizmlərin identifikasiyası üçün tətbiq olunan əsas taksonomik əlamətdir.*
- *Bakteriyaların identifikasiyası üçün karbohidratları parçalayan, proteolitik və digər fermentlər təyin edilir.*
- *Bundan əlavə, bəzi hallarda bakteriyaların patogenlik fermentləri təyin edilir.*

Mikroorqanizmlərin karbohidratları fermentasiya etmək qabiliyyətinin öyrənilməsi

- *Bunun üçün Hissin “əlvan” sıra mühitlərindən istifadə etmək olar. Bu mühitlər içərisində maye, yaxud yarımmaye qidalı mühitlər olan sınaq şüşələri sırasından ibarətdir. Hər bir sınaq şüşəsindəki qidalı mühitin tərkibində bir karbohidrat olur. Bütün sınaq şüşələrinə karbohidratların parçalanması nəticəsində əmələ gəlmiş turş mühitin təsirindən rəngini dəyişən indikator əlavə edilir.*
- *Beləliklə, müayinə edilən kultura hansı karbohidratı parçalayırsa, ona müvafiq sınaq şüşəsində rəng dəyişikliyi müşahidə edilir, karbohidrat parçalanmayan sınaq şüşələri isə əvvəlki rəngini saxlayır (əlvan sıra).*

Hissin “əlvən” sıra mühitləri:

- *Bəzi bakteriyalar karbohidratları ancaq turşu əmələ gətirməklə, bəziləri isə həm turşu, həm də qaz əmələ gətirməklə parçalayırlar ki, bunu da identifikasiyada nəzərə almaq lazım gəlir.*
- *Qaz əmələ gəlməsini müəyyən etmək üçün əlvən sıra mühitlərinin olduğu maye qidalı mühitin daxilində bir ucu qapalı ağzı aşağı çevrilmiş şüşə boru olur. Qaz əmələ gəldiyi təqdirdə o, borunun dibində toplanır.*
- *Yarımmaye Hiss mühitlərində qaz əmələ gəlmə mühitdə qaz qabarcıqlarının olmasına əsasən müəyyən edilir*



Hissin “əlvan” sıra mühitləri

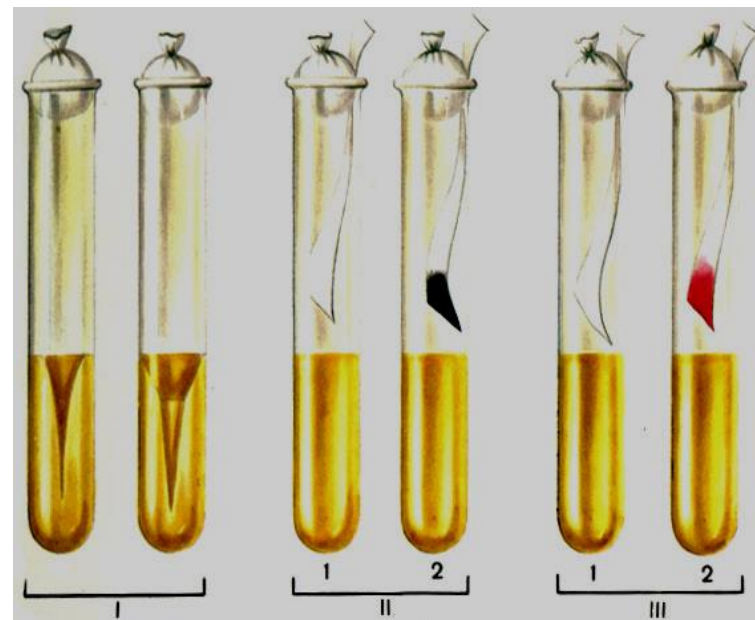
- *Saxarolitik xüsusiyyətləri* müəyyən etmək üçün bakterioloji müayinənin 3-cü günü bakteriyaların əldə edilmiş təmiz kulturası ilə “əlvan” sıra mühitlərinə inokulyasiya edilir, 37°C temperaturda 18-24 saat və ya daha uzun müddət ərzində inkubasiya edilir.
- Bakteriyalar karbohidratları turş məhsulların əmələ gəlməsinə qədər fermentasiya etdiyi halda, mühitin rənginin dəyişməsi müşahidə edilir: karbohidratın turşu və qaza qədər parşalanması zamanı, rəngin dəyişməsi ilə yanaşı üzgəclərdə qaz qabarcığı əmələ gəlir. Yarım maye mühitlərdən istifadə edildiyi təqdirdə mühitin dərinliyində qaz qabarcıqlarının əmələ gəlməsi müşahidə edilir. Fermentasiya baş vermədikdə mühitin rəngi dəyişmir. Bakteriyalar yalnız Hiss mühitinə daxil olan hər növ üçün müəyyən karbohidratları fermentasiya etdiyi üçün olduqca əlvan rənglər müşahidə edilir, ona görə də karbohidratlı və indikatorlu mühitlər “əlvan” sıra adlanır.

*Mikroorqanizmlərin zülalları parçalama qabiliyyətinin
(proteolitik xüsusiyyətlərin) öyrənilməsi:*

Proteolitik fəallığı müəyyən etmək üçün bakteriya kulturasının jelatini parçalama və zülalların son parçalanma məhsulları olan ammoniyak, indol, hidrogen sulfid və s. əmələ gətirməsi öyrənilir.

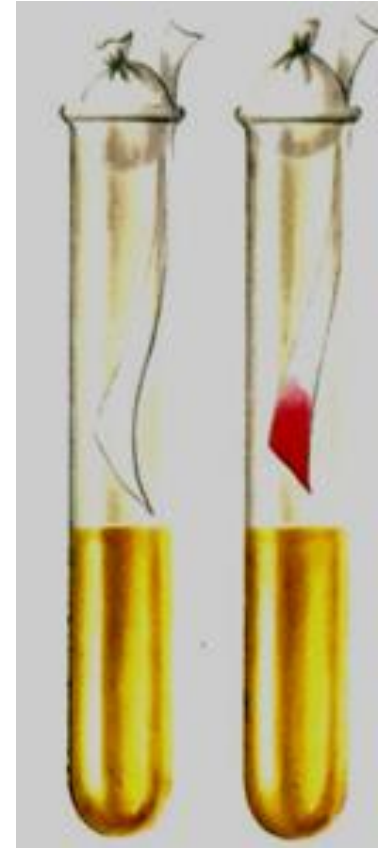
Proteolitik fermentlərin müəyyən edilməsi

- *Proteolitik fermentləri müəyyən etmək üçün bakteriya kulturasını 10-20%-li jelatin sütununa iynə ilə və pepton suyuna inokulyasiya edirlər. İnokulyatları 20-22°C temperaturda bir neçə gün ərzində inkubasiya edirlər. Proteolitik fermentlər olduqda bakteriyalar jelatini mismar və ya tərsinə çevrilmiş şam ağacını xatırladan formalar şəklində əridir.*
- *Pepton suyu inokulyatlarında peptonun parçalanma məhsullarını 37°C temperaturda 2-3 gün ərzində inkubasiya etdikdən sonra ammoniyak, indol, hidrogen sulfid və s. reaksiyaların qoyulması ilə müəyyən edirlər.*



İndolun müəyyən edilməsi:

- *Erlix üsulu:* *bakteriya kulturası olan sınaq şüşəsinə 2-3 ml efir əlavə edilir, qarışdırılır və bir neçə damcı Erlix reaktivi (para-dimetil-amid-benzaldehydin xlorid turşusu ilə spirt məhlulu) əlavə edilir. İndol əmələ gələrsə qarışıq çəhrayı boyanır.*
- *Morel üsulu:* *oksalat turşusu hopdurulmuş süzgəc kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin. İnkubasiyadan sonra kağızın aşağı hissəsinin çəhrayı rəng alması indolun əmələ gəlməsini göstərir.*

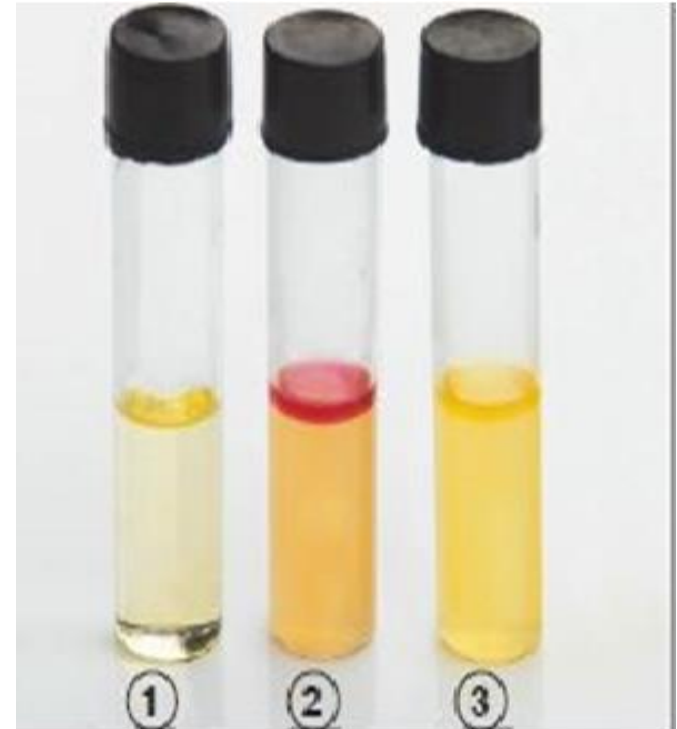


Kovac reaktivi ilə indolun müəyyən edilməsi:

• *İndol əmələ gətirməni təyin etmək üçün bakteriya maye triptofanlı qidalı mühitə kultivasiya olunub 1 gecə 37°C inkubasiya edilir.*

• *1-2 damla Kovac reaktivi (para dimetil amino benzaldehyd) əlavə edilir.*

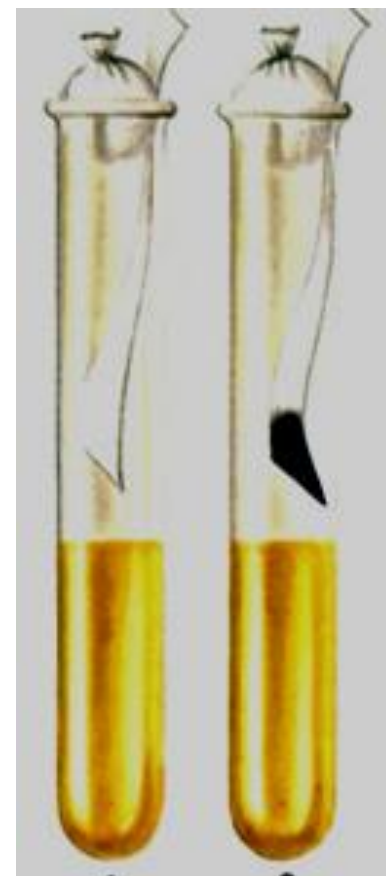
• *Qidalı mühitin səthində qırmızı həlqənin əmələ gəlməsi pozitiv reaksiyanı göstərir.*



1. *Kontrol*
2. *Escherichia coli (ATCC25922)*
3. *Enterobacter aerogenes (ATCC 13048)*

Hidrogen-sulfidin təyini

- *Qurğuşun asetat hopdurulmuş süzgəc kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin.*
- *İnkubasiyadan sonra kağızın aşağı hissəsinin qaralması (qurğuşun sulfidin əmələ gəlməsi hesabına) H_2S əmələ gəlməsini göstərir.*
- *Digər bir üsulda bakteriya kulturasını tərkibində dəmir sulfat, natrium tiosulfat, natrium sulfid olan qidalı mühit sütununa iynə ilə inokulyasiya edirlər. H_2S əmələ gəldikdə aqarın qaralması baş verir.*



Ammonyakın təyini

- *Lakmus kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin.*
- *İnkubasiyadan sonra kağızın göyərməsi ammonyakın əmələ gəlməsini göstərir.*

Katalazanın müəyyən edilməsi

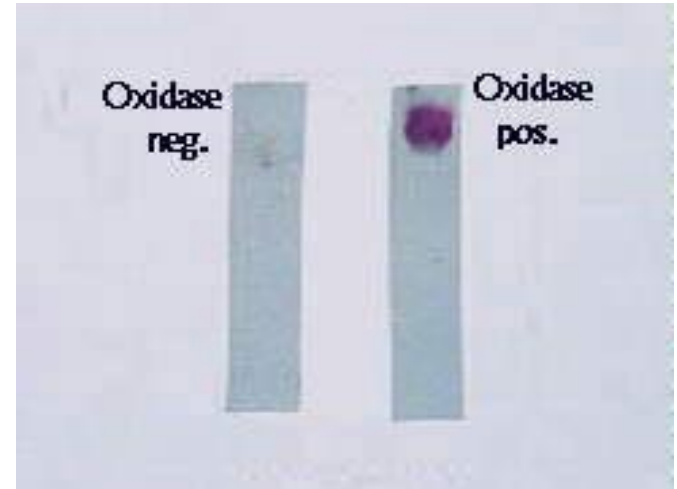
- *Əşya şüşəsi səthinə bir damla 1-3% hidrogen peroksid məhlulu qoyulur və bakteriya kulturası əlavə edilir. Katalaza hidrogen peroksidi oksigen və suya parçalayır.*
- *Qaz qabarcıqlarının ayrılması katalaza fermentinin olmasını göstərir.*



Müsbət katalaza testi

Oksidaza sınağı

- Testin prinsipi. Bəzi bakteriyalar sitoxromoksidaza, ya da indofenoloksidaza əmələ gətirir. Bu fermentlər elektronların hidrogen donorlarından oksigenə verilməsini təmin edir.
- Oksidaza testi rəngsiz boya olan fenildiamin dihidroxlordin (oksigenin süni akseptoru) oksidaza təsirindən göy rəngli indofenola çevrilməsinə əsaslanır.
- Testin aparılması. Steril applikator, yaxud ilgəklə kulturadan götürüb indikatorlu kağız zolağın, yaxud diskin üzərinə sürülür.
- Müsbət nəticə olduqda 10-30 san. ərzində göy, yaxud bənövşəyi rəng əmələ gəlir.



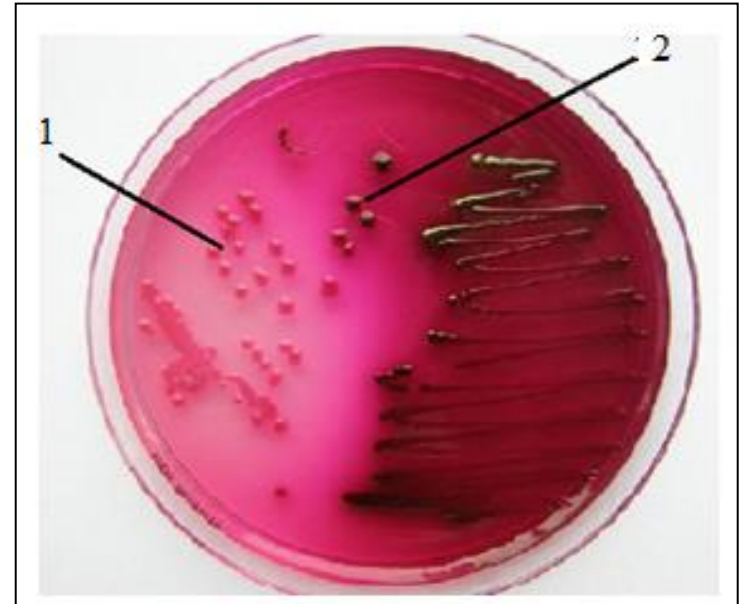
Test Aeromonas, Plesiomonas, Pseudomonas, Campylobacter, Pasteurella, Neisseria cinsli gram mənfi bakteriyaların ilkin identifikasiyasında istifadə edilir

Differensial qidalı mühitlərin tətbiqi

- *Məlum olduğu kimi differensial qidalı mühitlər mikroorqanizmləri bir-birindən differensiasiya etməyə (fərqləndirməyə), bəzən hətta onu identifikasiya etməyə imkan verir.*
- *Belə mühitlərdə mikroorqanizmlərin fərqləndirilməsi başlıca olaraq onların fermentativ xüsusiyyətlərinə əsaslanır.*
- *Laboratoriya şəraitində Hiss mühitlərindən əlavə Endo mühiti, MacConkey, eozin və metilen abısı (EMB) mühitləri və s. də tətbiq edilir.*

Endo mühiti

- *Tərkibində 1% laktoza və indikator (natrium tiosulfitlə rəngsizləşdirilmiş əsasi fuksin) vardır.*
- *İstifadə üçün hazırlanmış Endo aqarı cəhrayı rəngdə olur.*
- *Laktozanı parçalayan bakteriyalar bu mühitdə metal parlaqlığına malik qırmızı koloniyalar əmələ gətirir (laktozanın turşuya parçalanması hesabına),*
- *laktozanı parçalamayanlar isə rəngsiz koloniyalar halında inkişaf edir.*

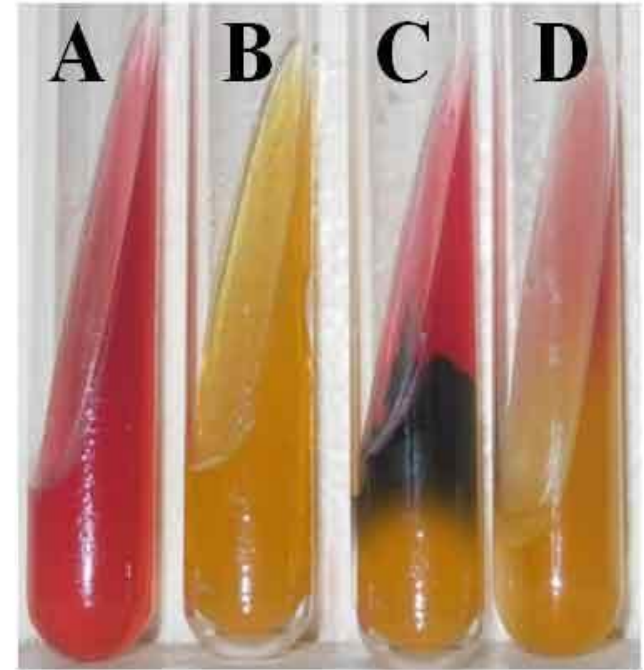


koloniyalar

1- laktoza neqativ; 2- laktoza pozitiv

TSİ (triple sugar iron) aqar

- *Tərkibi:*
- *1% laktoza*
- *1% saxaroza*
- *0,1% qlükoza (parçalayırsa aqar sütunu sarı rəngə çevrilir)*
- *Fe-sulfat - H₂S əmələ gəlməni yoxlamaq üçün (əmələ gətirirsə qaralır)*
- *pH-indikator-fenol qırmızı*



- A) *Psuedomonas aeruginosa*: Gluc (-), Lac/Suc (-), H₂S (-)
B) *Escherichia coli*: Gluc (+), Lac/Suc (+), H₂S (-)
C) *Salmonella typhimurium*: Gluc (+), Lac/Suc (-), H₂S (+)
D) *Shigella boydii*: Gluc (+), Lac/Suc (-), H₂S (-)

Mikroorqanizmlərin müasir avtomatik identifikasiya sistemləri

- **Vitek-2 Compact** analizatoru – 5-8 saat müddətində mikroorqanizmlərin (bakteriyaların və mayayabənzər göbələklərin) identifikasiyasını və onların antimikrob preparatlara qarşı həssaslığının müəyyən edilməsini təmin edən tam avtomatik sistemdir.
- *İdentifikasiya mikroorqanizmlərin biokimyəvi xüsusiyyətlərinin avtomatik təyin edilməsi ilə aparılır, tam identifikasiya mümkün olmadığı təqdirdə kompyuter proqramı təhlili əsasında identifikasiya edilən mikroorqanizmin hansı mikroorqanizm ola bilməsi ehtimalı (faizlə) göstərilir.*

Mikroorqanizmlərin müasir avtomatik identifikasiya sistemləri

- *Bu və digər avtomatik identifikasiya sistemləri identifikasiya ediləcək mikroorqanizmlərin ideal təmiz kulturasının alınmasını tələb edir.*
- *Əldə edilmiş təmiz kultura (inokulyat) cihazın kassetinə yerləşdirilir, bundan sonra cihazın inkubasiya etməsi və nəticələri müəyyənləşdirməsi üçün müəyyən müddət vaxt tələb olunur.*
- *Analizin sonunda inokulyatdakı mikroorqanizmin cins və növ mənsubiyyəti, eləcə də hansı antimikrob preparata həssas, yaxud rezistent olması göstərilir.*
- *Analizator eləcə də antimikrob preparatın minimal inhibisiya konsentrasiyası (MİK) və rezistentlik mexanizmləri haqqında nəticə çıxarmağa imkan verir.*

**BioMerieux (ABŞ) firmasının Vitek-2 Compact
avtomatik mikrobioloji analizatoru**



*Virus, rikketsiya və xlamidiyaların
kultivasiyası. Virusların indikasiya və
identifikasiya üsulları. Faqlar, alınması,
titrlənməsi, tətbiqi.*

Virus, rikketsiya və xlamidiyalar - obliqat hüceyrədaxili parazitlər kimi

Virus, rikketsiya və xlamidiyalar obliqat hüceyrədaxili parazitlər olduqları üçün ancaq sahib hüceyrələrin daxilində çoxalır və süni qidalı mühitlərdə kultivasiya olunmur

Rikketsiyaların çoxalması sahib hüceyrələrin daxilində (nüvədə və ya sitoplazmada) digər bakteriyalar kimi sadə bölünmə yolu ilə gedir.

Xlamidiyaların çoxalması sahib hüceyrələrin daxilində mürəkkəb inkişaf sikli ilə baş verir

Virusların çoxalması sahib hüceyrələrin daxilində xüsusi üsulla - reproduksiya ilə gedir.

Virusların çoxalması - reproduksiya

Virus orqanizmə daxil olduqdan sonra heç də bütün hüceyrələrdə çoxala bilmir, yəni hər bir virus növü üçün həssas olan hüceyrələr vardır.

Virusların həssas hüceyrələrlə qarşılıqlı təsiri bir neçə mərhələdə gedir.

Reproduksiyanın mərhələləri

Virionun adsorbsiyası

Virusun sahib hüceyrəyə daxil olması (endositoz – viropeksis, hüceyrə qışasının virus qışası ilə birləşməsi)

Virusun «soyunması», dezinteqrasiyası, yaxud deproteinasıya

Virus nuklein turşularının replikasiyası və virus zülallarının sintezi

Virusun formalaşması

Virusların hüceyrədən xaric olması (sahib hüceyrənin parçalanması, «tumurcuqlanma»)

DNT və RNT tərkibli viruslarda reproduksiyanın xüsusiyyətləri:

DNT tərkibli viruslarda:

virus DNT mRNT virus zülallarının sintezi

Müsbət saplı RNT tərkibli viruslarda:

virus RNT virus zülallarının sintezi

Mənfi saplı RNT tərkibli viruslarda:

virus RNT mRNT virus zülallarının sintezi

Retroviruslarda:

virus RNT komplementar DNT mRNT
virus zülallarının sintezi

Virusların sahib hüceyrə ilə qarşılıqlı təsirinin tipləri:

Produktiv infeksiya - *reproduksiya*

Abortiv infeksiya – *natamam reproduksiya*

İntegrativ infeksiya – *inteqrasiya (virogeniya)*

Virusların kultivasiyasının əsas prinsipləri:

***Laborator heyvanların orqanizmində
Toyuq embrionlarında
Hüceyrə (toxuma) kulturalarında***

Laborator heyvanların orqanizmində virusların kultivasiyası

Virusoloji tədqiqatlarda əsasən yenidə doğulmuş laborator heyvanlardan (ağ siçanlar, siçovullar, ada dovşanları, meymunlar, dağ siçanları və s.) istifadə edilir.

Laborator heyvanların müxtəlif üsullarla yoluxdurulması (dərialtı, əzələ daxili, damardaxili, intranazal, qarındaxili və s.) onların virus tropizmi nəzərə alınmaqla aparılır.

Hazırda virusların indikasiyası üçün bu modelin tətbiqi heyvanların bir çox insan viruslarına yoluxmaması, onların yad mikroblarla kontaminasiyası, iqtisadi və etik səbəblərdən məhdudlaşdırılıb.

Toyuq embrionlarında virusların kultivasiyası

Virusların kultivasiyası üçün əlverişli model olan toyuq embrionları çoxlu miqdarda virusların əldə edilə bilməsi, obyektin steril olması, sadə iş texnikası və s. ilə fərqlənir.

Bu məqsədlə quşçuluq təsərrüfatlarında və ya adi termostatda yetişdirilən 6-12 günlük toyuq embrionları istifadə edilir.

Lakin toyuq embrionları latent virus və bakteriyal infeksiyalarla kontaminasiya oluna bilər.

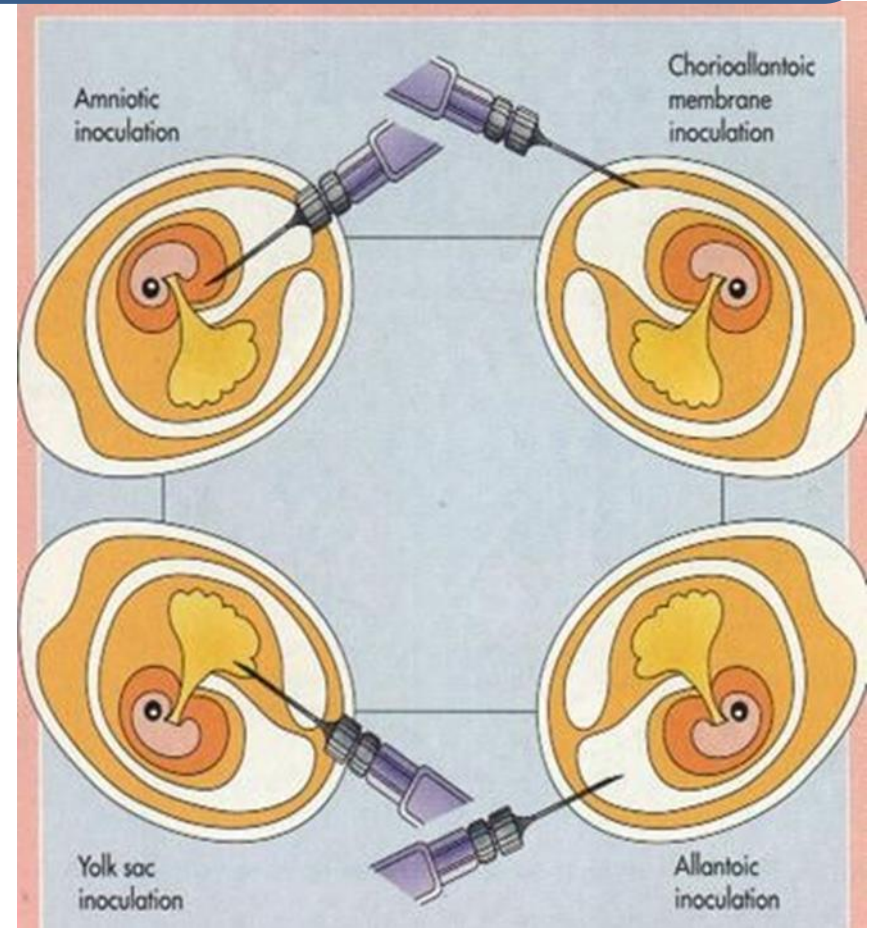
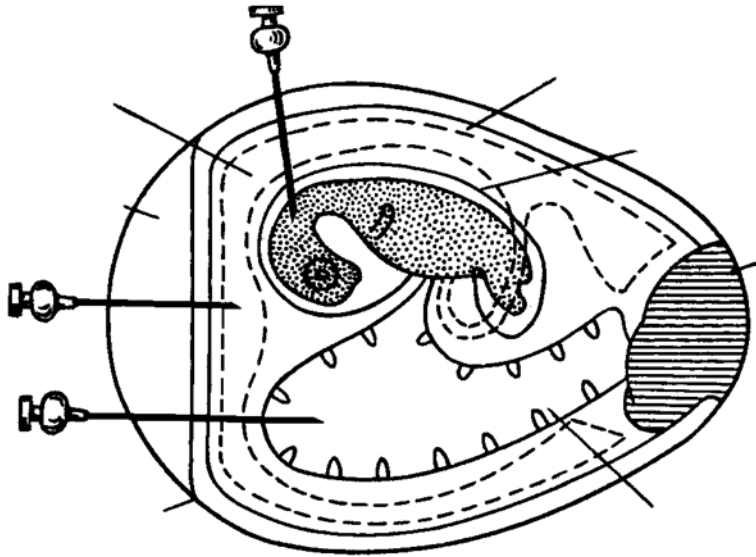
Toyuq embrionlarının yoluxdurulması

Soyuducuda 10 gündən artıq olmayaraq saxlanılan iri, təmiz (yuyulmamış), mayalanmış ağ toyuq yumurtaları seçilir. Yoluxdurmadan öncə ovoskopla embrionun canlı olması müəyyən edilir. Canlı embrionlar hərəkətlidir, ürəyin döyünməsi görünür.

Yoluxdurmadan öncə yumurtanın qabığı 70% etil spirti ilə silinir, alovdan keçirilir, yod məhlulu ilə silinir, sonra təkrar spirtlə silinib, alovdan keçirilir.

Öyrənilən virusun bioloji xüsusiyyətlərindən asılı olaraq müayinə olunan material xorion-allantois qişasına, allantois və amnion boşluqlarına və ya sarılıq kisəsinə yeridilə bilər.

Toyuq embrionlarının yoluxdurulması texnikası



Toyuq embrionlarının yoluxdurulması

Allantois boşluğuna yoluxdurmaq üçün hava kamerası üzərində (onun sərhədləri əvvəlcədən qələmlə qeyd olunur) yumurta qabığında qayçı, və ya lansetlə kiçik dəlik açılır. Hava kamerasının sərhəddindən 2-3 mm aşağıdakı dərinliyə şpris vasitəsilə 0.1-0.2 ml virus tərkibli material yeridilir.

Qabıqdakı dəlik əridilmiş parafinlə örtülür.

Yoluxdurulmuş embrionların təşrihi inkubasiyadan 48-72 saat sonra virusun maksimal toplanması müddətində aparılır.

Yoluxdurulmuş embrionların təşrihi

Spirit və 2%-li yod məhlulu ilə işləndikdən sonra hava kamerasının karandaşla qeyd olunmuş sərhəddindən bir qədər yuxarıda qabıq qayçı ilə kəsilir, bu zaman yumurta elə əyilir ki, qabığı boşluğa düşməsin.

Yumurtanın qabığı atılır, ehtiyatla onun pərdəsi çıxarılır və zədə ocaqlarının (hemorragiyaların, ağımtıl ocaqların) olub-olmaması qeyd edilərək yoluxma yeri ətrafındakı xorion-allantois qişa gözdən keçirilir.

Yoluxdurulmuş toyuq embrionunda virusların indikasiya üsulları:

*Yoluxdurulmuş toyuq embrionunda virusların
inkişaf etməsi aşağıdakılara görə təyin edilir:*

Embrionun ölümü,

*Xorionallantois qişasında bəzi virusların əmələ
gətirdiyi nekroz sahələri (ospinlər),*

*Amnion və allantois mayeləri ilə
hemaqqlütinasiya reaksiyası,*

Xorion-allantois qışada baş verən dəyişikliklər

Xorion-allantois qışada dəyişikliklərin öyrənilməsi zamanı o, qayçı ilə kəsilir və onun möhtəviyyatı Petri kasasına tökülür.

Xorion-allantois qışa qabığının içində qalır. Onu pinset vasitəsilə çıxarır, fizioloji məhlul olan Petri kasasına yerləşdirilir, yuyulur və qaranlıq fonda ocaqlı zədələnmələrin xarakteri öyrənilir.

Allantois və amnion mayelərinin əldə edilməsi

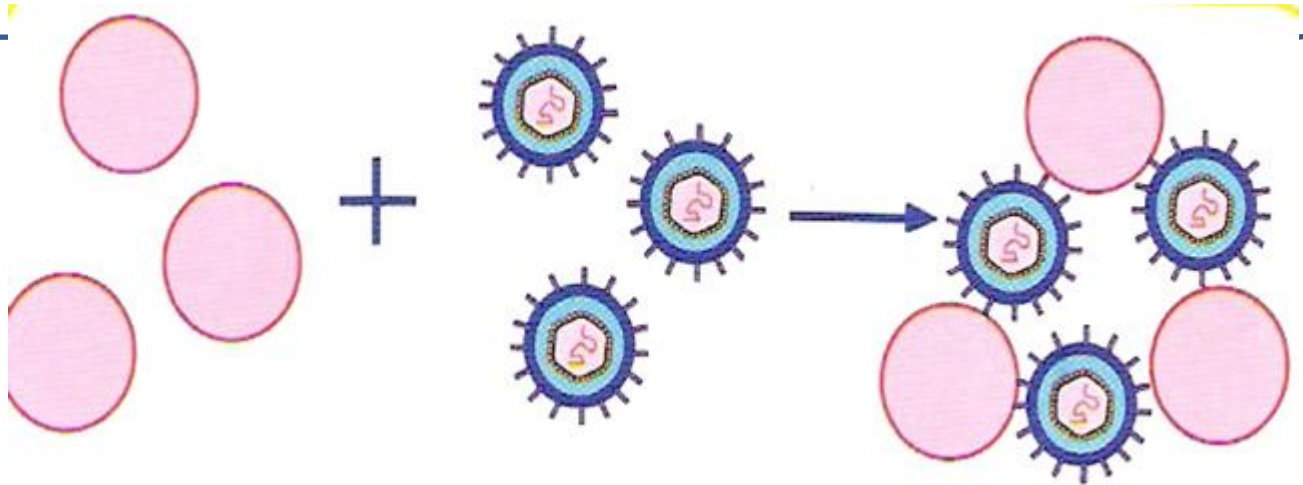
Paster pipeti ilə xorion-allantois qısa damarlar olmayan yerdən dəşilir və allantois mayesi sorulur, şəkərli və ya ət-pepton bulyonuna inokulyasiya yolu ilə sterilliyə nəzarət edilir, hemaqqlütinasiya reaksiyasında virusun olması yoxlanılır və -40C temperaturda dondurulmuş vəziyyətdə saxlanılır.

Amnion mayesini əldə etmək üçün allantois maye sorulur, sonra amnion qısa pinsetlə tutulur, yavaşca qaldırılır və paster pipeti ilə amnion mayesi sorulur.

Amnion və allantois mayeləri ilə hemaqqlütinasiya reaksiyası

Yoluxmuş embrionun allantois və amnion mayələrində virusun olması hemaqqlütinasiya reaksiyası vasitəsilə müəyyən edilir.

Bu reaksiya bəzi virusların hemaqqlütinin adlandırılan antigenlərinin müxtəlif heyvanların eritrositlərini aqqlütinasiya etmək qabiliyyətinə əsaslanır və virusların indikasiyasında istifadə edilir.



Hemaqqlütinyasiya reaksiyasının texnikası

Amnion və allantois mayesi sınaq şüşələrinə və ya pleksiqlas lövhələrin çuxurlarına 0.5 ml olmaqla tökülür (kontrol üçün yoluxmamış embrionun eyni mayesindən 0.5 ml götürülür).

Sonra yuyulmuş toyuq eritrositlərinin 1%-li suspenziyasından 0,2 ml əlavə edilir və otaq temperaturunda saxlanılır.

Reaksiyanın nəticələri eritrositlər çökdükdən 40 dəq sonra qeyd edilir; (++++) - kəskin hemaqqlütinasiya – sınaq şüşəsinin dibində yapışmış eritrositlərdən ibarət nazik pərdə;

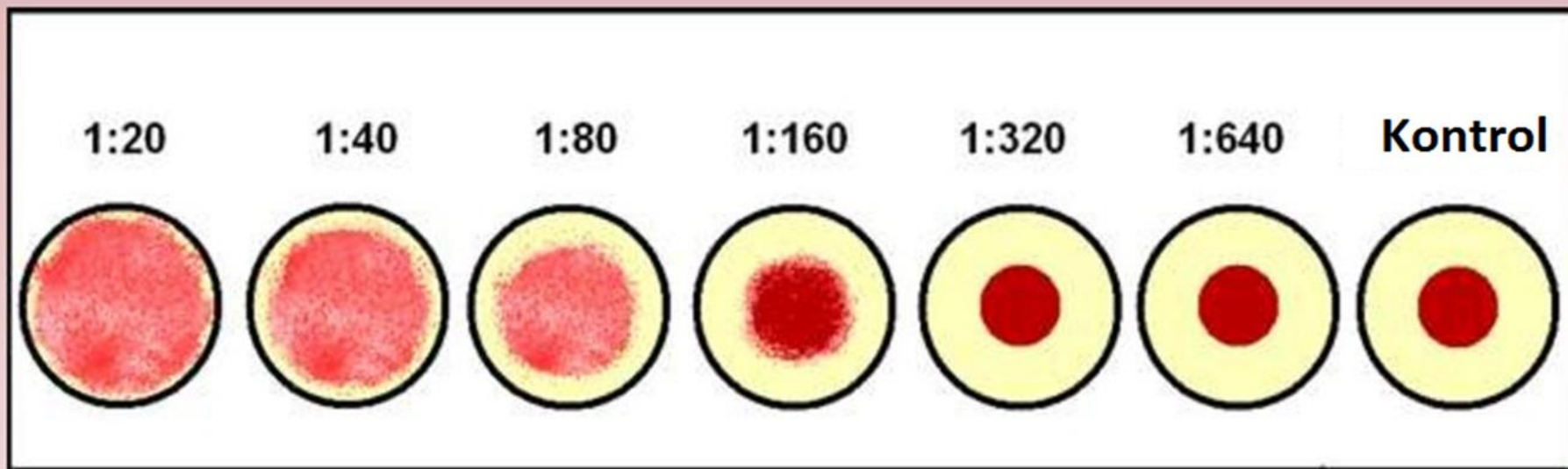
(+++)- pərdədə məsamələrin olması;

(++) - yapışmış eritrositlərdən ibarət qırçınlı kənarları olan pərdənin olması;

(+) - aqqlütinasiya olunmuş eritrositlərin topalarından ibarət zona ilə əhatə olunmuş eritrositlərin lopalar şəklində çöküntüsü; -- eritrositlərin kontroldan fərqlənməyən, kəskin çevrəyə alınmış çöküntüsü.

Kontrol sınaq şüşələrdə olmadığı halda, təcrübə sınaq şüşələrində hemaqqlütinasiyanın olması tədqiq edilən mayədə virusun olduğunu göstərir.

Hemaqqlütinyasiya reaksiyasının texnikası

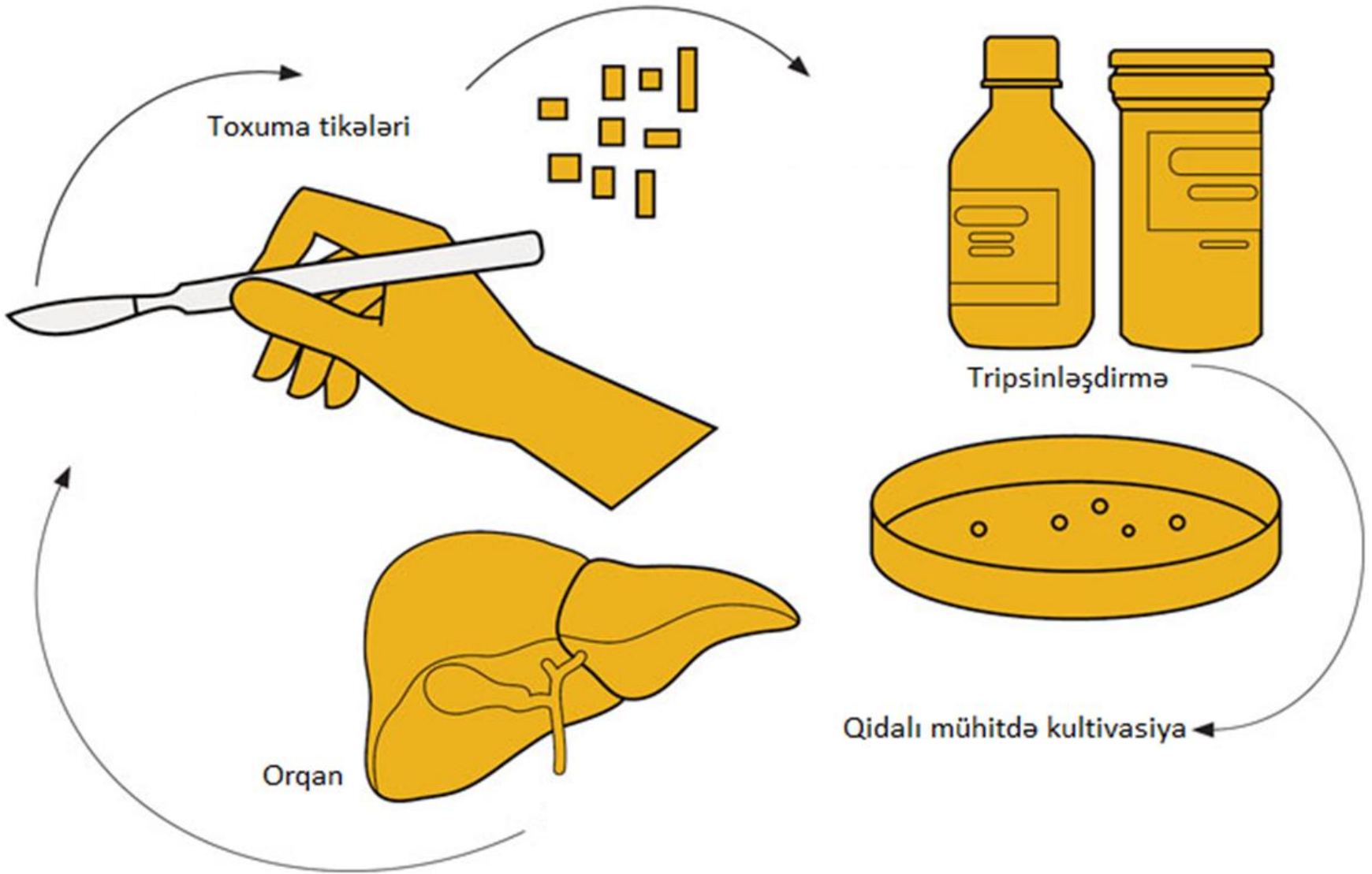


Hüceyrə (toxuma) kulturalarında virusların kultivasiyası

Hüceyrə (toxuma) kulturası qidalı mühitlərdə həyat fəaliyyətlərini saxlayan və çoxalan orqan və ya toxumanın bir parçası və ya ayrı-ayrı hüceyrələrindən ibarətdir.

Bu məqsədlə insan, heyvan, quş və digər bioloji obyektlərin müxtəlif orqan və toxumalarından alınan hüceyrələr xüsusi laboratoriya şəraitində süni qidalı mühitlərdə kultivasiya edilir.

Hüceyrə kulturasının əldə edilməsi



Hüceyrə (toxuma) kulturalarında **virusların kultivasiyası**

Hüceyrə (toxuma) kulturaları:

Birqatlı

Suspenziyalaşdırılmış

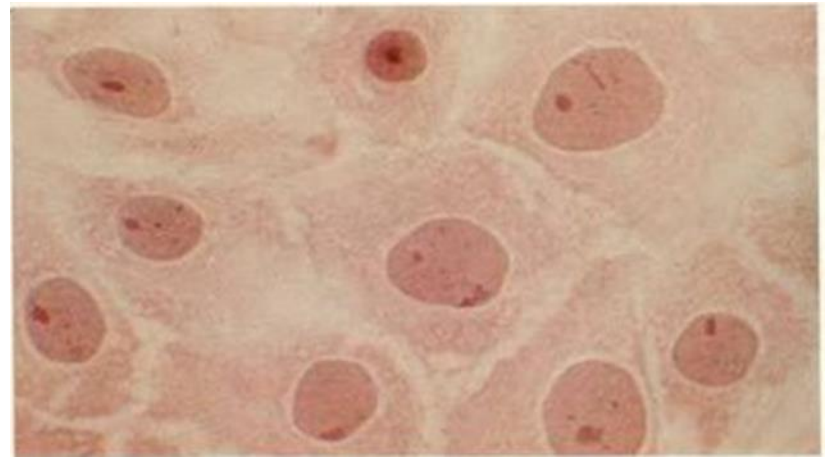
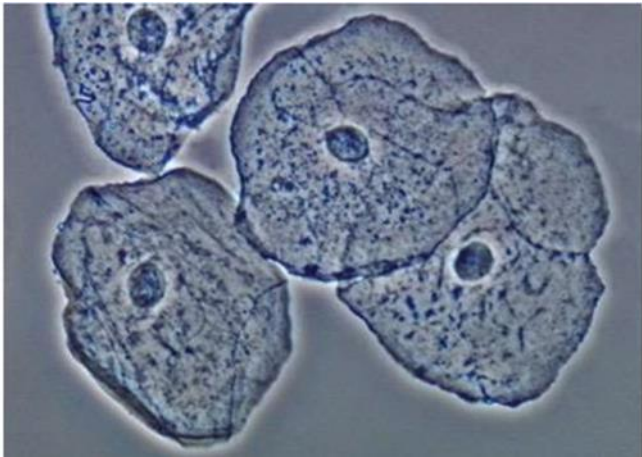
Orqan kulturaları

İlkin hüceyrə kulturaları

İlkin hüceyrə kulturaları bilavasitə heyvan və ya insan toxumasından hüceyrəarası maddənin proteolitik fermentlərlə (tripsin, kollagenaza) parçalanması yolu ilə əldə edilir.

Qidalı mühitdə dezaqreqasiya olunmuş hüceyrələr bir qat formalaşdıraraq kultural qabın səthinə yapışib çoxala bilir.

Tripsin və ya versenin köməyi ilə hüceyrələri bir qabdan alaraq digərinə köçürmək mümkündür. İlkin kulturalar formalaşmış, yüksək differensiasiyalı hüceyrələrdən alındığına görə, onların bölünmə və çoxalma qabiliyyəti məhduddur, onları ancaq 5-10 dəfə passaj etmək (köçürmək) mümkündür.



İlkin hüceyrə kulturaları

İlkin hüceyrə kulturaları heyvan və insanın hər hansı bir embrion toxumasından hazırlanır, çünki embrion hüceyrələri daha yaxşı böyüyür və çoxalır.

Çox hallarda hüceyrə kulturalarını bir neçə toxuma qarışığından, məsələn, dəri, sümük və əzələ toxumasından hazırlayırlar.

Bu qayda ilə insan embrionunun fibroblastları (İEF) və toyuq fibroblastları (TF), insanın böyrək hüceyrələri (İBH) və s. əldə edilir. Hüceyrə kulturalarının alınması üçün insanın embrional toxuması (hamiləlik dayandırıldıqda), həmçinin 8-12 günlük toyuq embrionlarından istifadə edirlər.

Hüceyrələrin kultivasiyası müxtəlif forma və ölçüdə olan şüşə və ya plastmas qablarda və bütün mərhələlərdə aseptika qaydalarına ciddi riayət edilməklə aparılır.

Köçürülən hüceyrə kulturaları

Köçürülən (fasiləsiz, sabit, daimi) hüceyrə kulturaları qeyri-məhdud sayda passaj edilməyə tab gətirmək qabiliyyətindədir.

Onlar differensasiyanı itirmiş və artım məhdudiyyəti olmayan şiş hüceyrələrindən əldə edirlər.

Köçürülən hüceyrə kulturaları insanın müxtəlif normal və şiş toxumalarından əldə edilmişdir: amnionun (A-0, A-1, FL), böyrəklərin (Rh, PPC), uşaqlıq boynunun karsinomasından (HeLa), qırtlaq xərçəngindən (Hep-2), ağciyər xərçəngi olan xəstənin sümük iliyindən (Detroit-6), insan embrionunun rabdomiosarkomasından (RD) və s.



Diploid (yarımköçürülən) hüceyrə xətti

Diploid (yarımköçürülən) hüceyrə xətti – 75%-dən çox hüceyrəsi əsas növün normal hüceyrələrinin kariotipinə malik olan hüceyrə xəttidir.

Onların bəziləri 50-80 və daha çox bölünmə ərzində diploid statusunu saxlaya bilir.

Hüceyrələrin diploid kulturasını əldə etmək üçün insan və heyvanın embrional toxumasından alınmış fibroblast hüceyrələrdən istifadə edirlər.



Hüceyrə kulturaları üçün qidalı mühitlər

Bu mühitlərin tərkibində amin turşuların, vitaminlərin, boy amillərinin tam dəsti mövcuddur.

Quru mühitlər və ayrı-ayrı komponentlərlə yanaşı hazır maye mühitlər (199, İqla, laktalbumin hidrolizat, quru mühitlər və konsentratlar) da istehsal edilir.

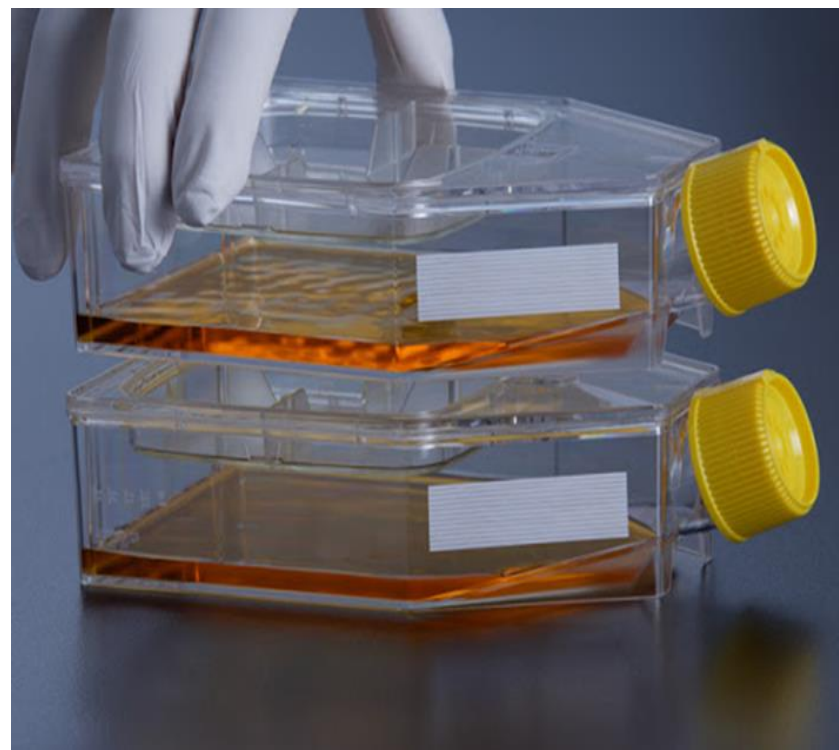
Kultural mühitlər inkişaf və konservasiya mühitlərinə ayrılır. Hüceyrə kulturalarının kultivasiyası üçün heyvan və insan zərdabı (məsələn, öküz zərdabı, fetal inək zərdabı və s.) ilə zənginləşdirilmiş inkişaf mühitləri tətbiq edilir. Qidalı mühitdə zərdabların miqdarı adətən 2-30% təşkil edir, hüceyrə kulturasının xüsusiyyətlərindən və mühitin tərkibindən asılıdır.

Hüceyrə kulturaları üçün qidalı mühitlər

Mühitlərə fenol qırmızı indikator əlavə edir, turş mühitdə o, narıncı-sarı, qələvi mühitdə isə moruğu (tünd qırmızı) rəngdə olur.



Kultivasiya qabları

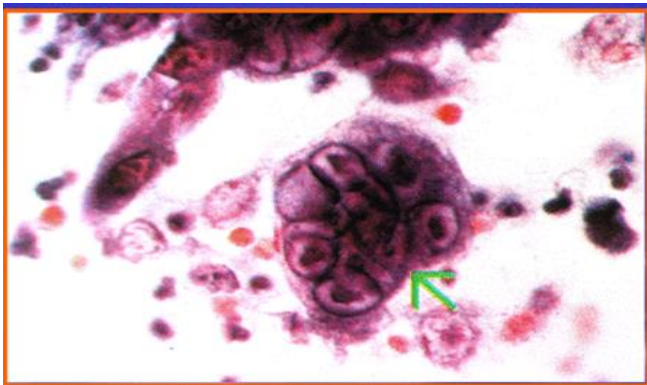


Hüceyrə kulturalarında virusların indikasiya üsulları:

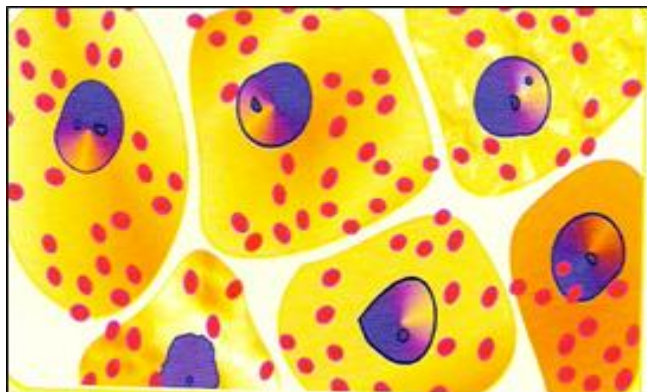
Hüceyrə kulturalarını viruslu materialla yoluxdurduqdan sonra virusların çoxalması heç də həmişə müşahidə edilmir.

Hüceyrə kulturalarında virusların çoxalmasını aşkar etmək (indikasiya etmək) üçün orada baş verən dəyişikliklər nəzərə alınır.

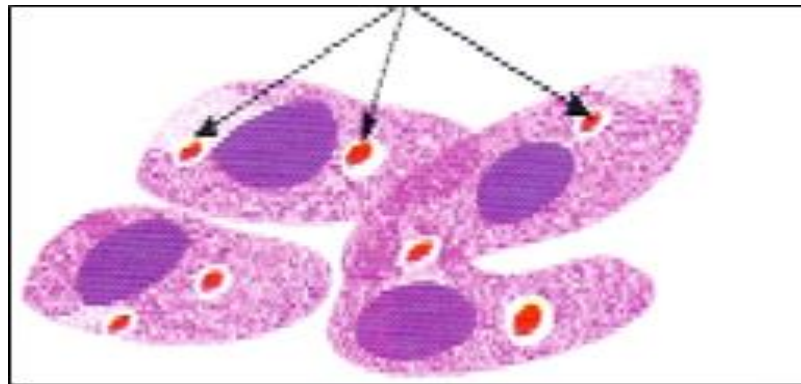
Hüceyrə kulturalarında virusların indikasiya üsulları:



Sitopatik təsir (SPT)



*hemadsorbsiya
fenomeni*



*hüceyrədaxili əlavələr
(cisimciklər)*



«neqativ koloniyalar»

Sitopatik təsir (SPT)

Hüceyrə kulturasında reproduksiya zamanı bəzi viruslar onların degenerasiyasına, yəni sitopatik təsirə (SPT) səbəb olur.

SPT virusla yoluxmadan sonra toxuma kulturası müxtəlif vaxtlarda mikroskop altında öyrənilməklə, dinamikada qiymətləndirilir. SPT aşkar edilməsi virusların indikasiyası və identifikasiyası üsullarından biridir.

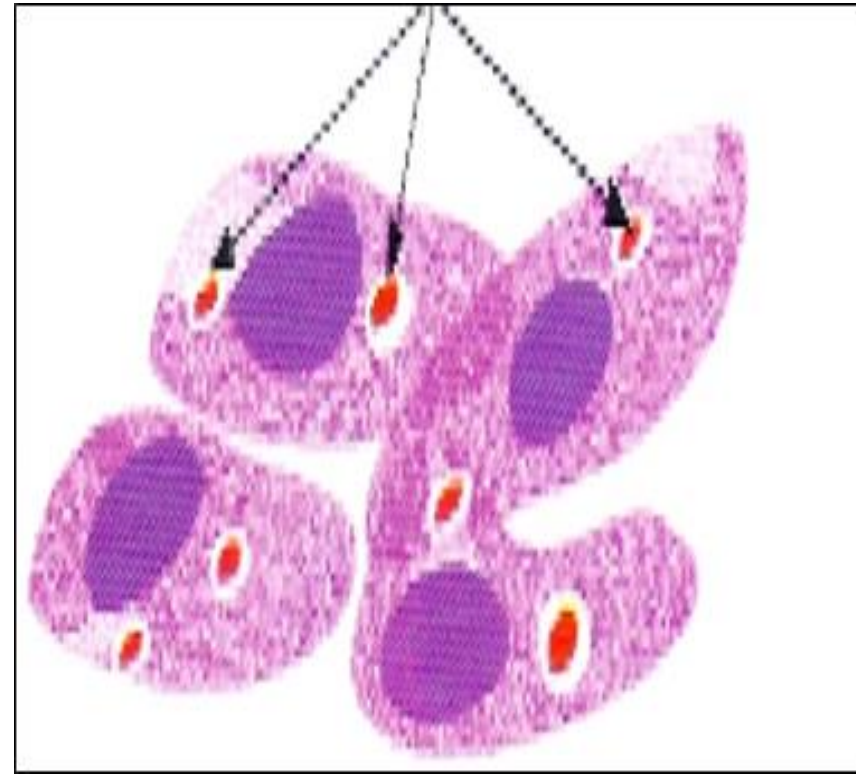
Müxtəlif viruslar üçün müxtəlif SPT xasdır.

Bəzi virusları yoluxmuş hüceyrələrin sitoplazması və nüvəsində əmələ gətirdikləri əlavələrə görə aşkar və identifikasiya etmək mümkündür.

Əlavələrin forması müxtəlifdir, ölçüləri isə 0.25 mkm-dən 25 mkm-ə qədər dəyişir.

Onlar virus hissəciklərinin toplaşma yerlərini ifadə edir, Gimza üsulu ilə və flüoroxromla boyanmış preparatlarda aşkar edilir.

Hüceyrədaxili əlavələr (cisimciklər)

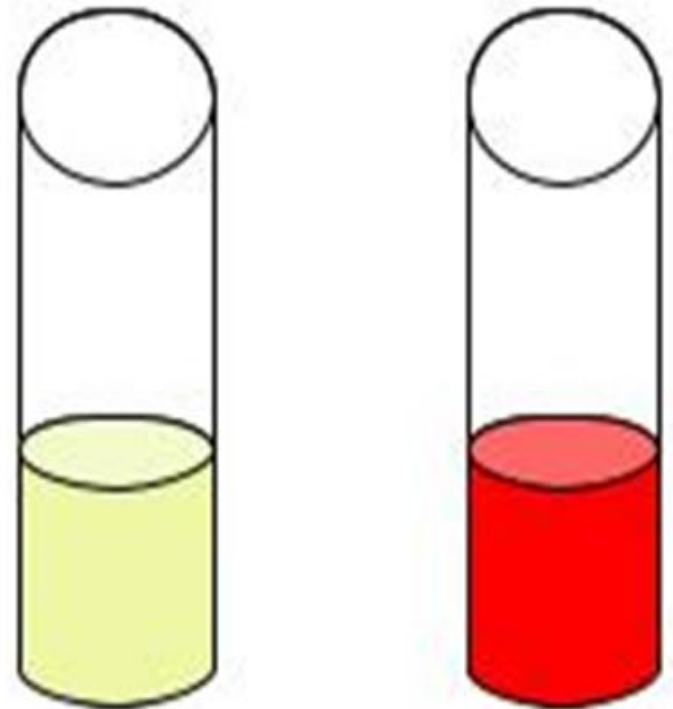


Hüceyrə kulturalarında virusların inkişafını «rəng sınağı» vasitəsilə indikasiya etmək olar. Bunun üçün indiqatorlu (məsələn, metil qırmızısı) qidalı mühitdə kultivasiya edilən hüceyrə kulturasından istifadə edilir.

Virus inkişaf edərkən hüceyrələr məhv olur, ona görə də mühitin ilkin rəngi dəyişməz qalır.

Virus inkişaf etmədiyi təqdirdə hüceyrələrin metabolitik məhsullarının təsiri nəticəsində mühitin rənginin dəyişməsi müşahidə olunur.

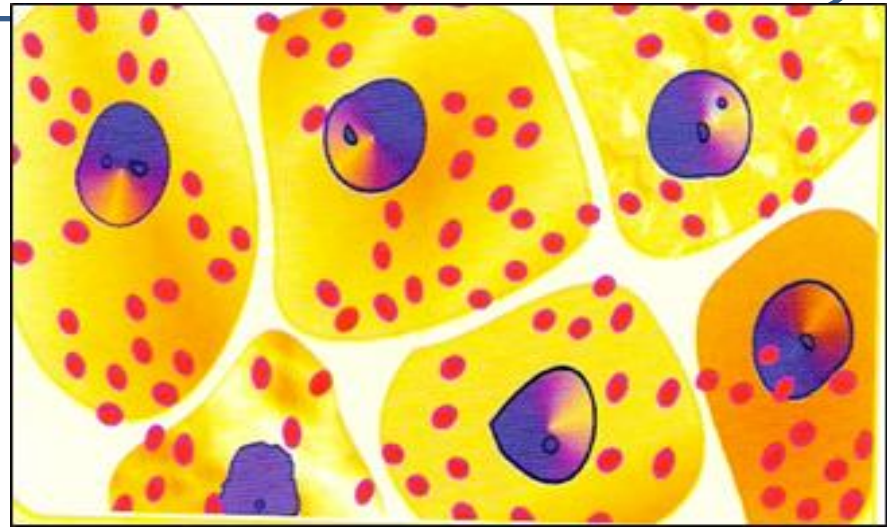
«Rəng sınağı»



Hemadsorbsiya fenomeni

Hüceyrə kulturalarında virusların indikasiyasının daha bir üsulu hemadsorbsiya fenomenidir. Bəzi virusların çoxaldığı hüceyrələr müəyyən eritrositləri öz səthlərinə yapışdırır. Buna səbəb həmin virusların (paramiksoviruslar, ortomiksoviruslar və s.) səthində hemaqqlütünlərin olmasıdır.

Viruslar daxilində çoxaldığı hüceyrələrin səthinə çıxaraq eritrositlərlə birləşir, nəticədə hemadsorbsiya fenomeni baş verir. Beləliklə, bu fenomen hemaqqlütinasiya reaksiyasının bir variantıdır.



«Neqativ koloniyalar»

Hüceyrə kulturalarında bəzi virusların inkişafı müvafiq nahiyyədə hüceyrələrin məhvi ilə nəticələnir ki, bu sahələri («neqativ koloniyaları») aşkar etməklə virusları indikasiya etmək mümkündür.

Hüceyrə kulturasını yoluxdurduqdan sonra onun üzərinə aqar təbəqəsinin əlavə edilməsi virusların reproduksiya ocaqlarını məhdudlaşdırır.

Nəticədə onların əmələ gətirdikləri nekroz ocaqları bir-birindən təcrid olunmuş şəkildə təzahür edir.



İnterferensiya fenomeni

Bəzi hallarda, xüsusən kultivasiya edilərkən SPT törətməyən virusları indikasiya etmək üçün interferensiya fenomenindən istifadə edilir. Interferensiyanın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, bir növ virusla yoluxmuş hüceyrə digər viruslara qarşı rezistent olur.

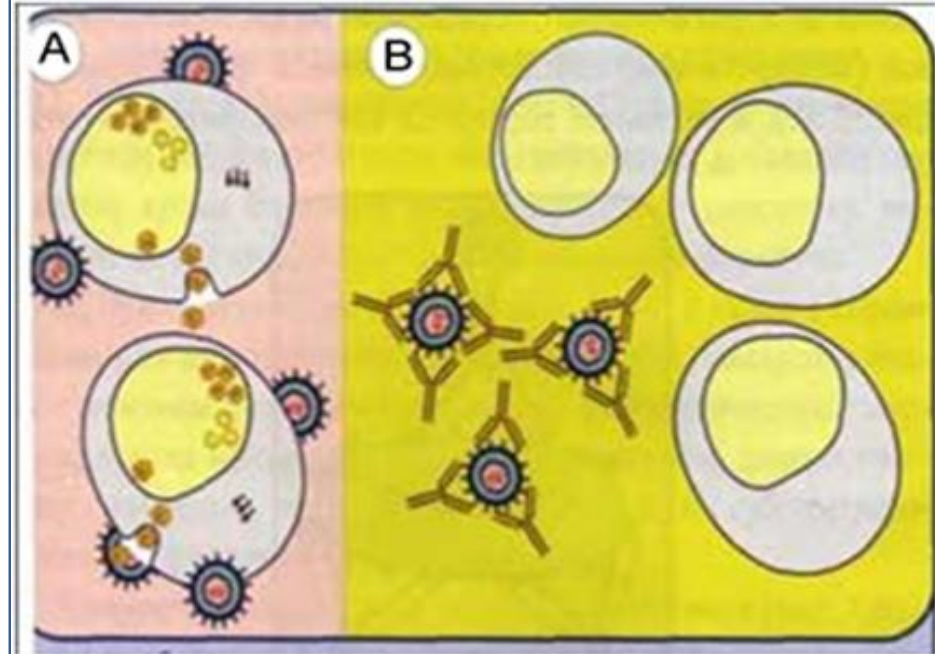
Məs., məxmərək virusu müxtəlif hüceyrə kulturalarında kultivasiya olunmasına baxmayaraq SPT törətmir. İlk toxuma kulturalarında bu virusu interferensiya fenomeninə görə aşkar etmək olur.

Bunun üçün məxmərək virusu ilə yoluxdurulmuş hüceyrə kulturası SPT əmələ gətirən indikator virusla, məsələn, vezikulyar stomatit virusu ilə də yoluxdurulur. Məxmərək virusunun hüceyrə kulturasında çoxalması indikator virusun replikasiyasına mane olduğundan SPT müşahidə edilmir. Lakin məxmərək virusu hüceyrə kulturasında inkişaf etmədikdə indikator virus çoxalmağa başlayır və bu, SPT ilə təzahür edir.

Virusların identifikasiyası. Bioloji neytrallaşma reaksiyası

Virusların neytrallaşma reaksiyası (bioloji neytrallaşma reaksiyası) virusları identifikasiya etməyə imkan verir.

Müvafiq anticisimlərin təsirindən viruslar həssas laborator heyvanlarda xəstəlik törətmir, hüceyrə və toxuma kulturalarına sitopatik təsir göstərmir, eləcə də toyuq embrionlarında çoxalmırlar



Bakteriofaqlar

Bakteriyaların və digər mikroorqanizmlərin daxilində inkişaf edərək çoxalır və müəyyən şəraitdə onların məhvində (lizisinə) səbəb olurlar.

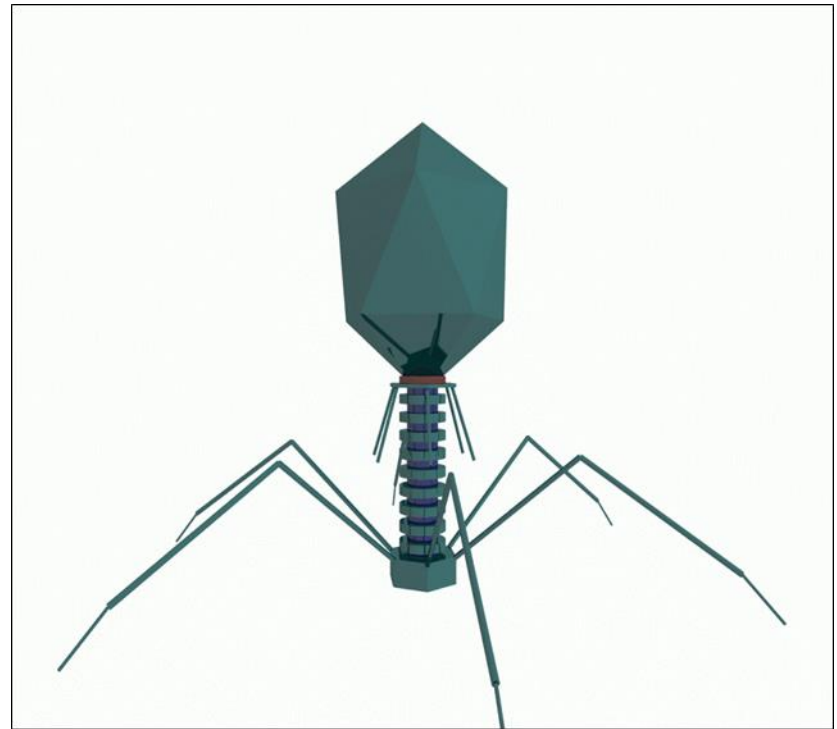
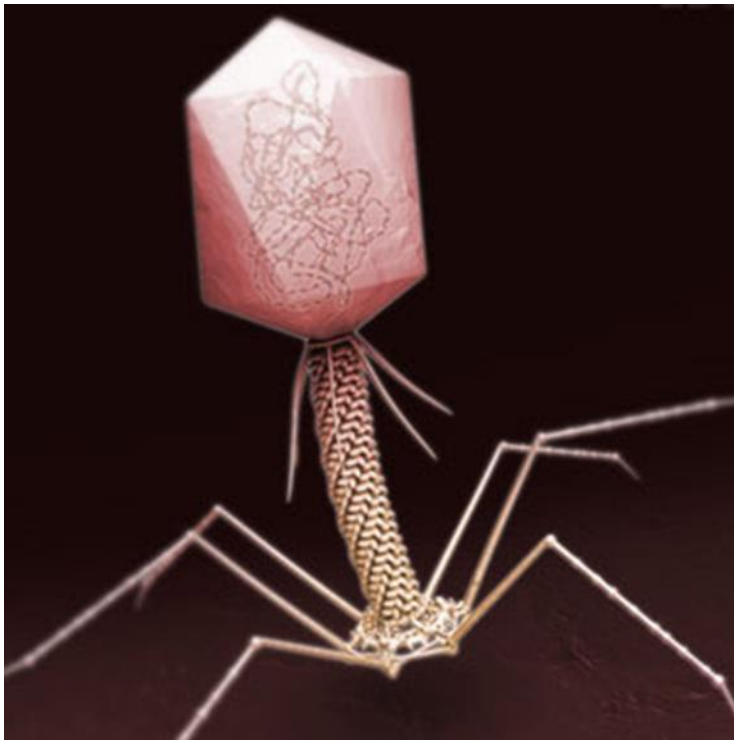
1917-ci ildə fransız alimi F.D'Erell dizenteriyalı xəstədən əldə edilmiş törədicinin kulturasının bu xəstənin nəcisindən alınmış filtratın təsirindən lizisə uğramasını müşahidə etmişdir.

D'Erell lizisedici amilin bakterial filtrlərdən süzülə bilən virus olması qənaətinə gəlmişdir. D'Erell bu virusu bakteriofaq («bakteriyanı yeyən»), hadisəni isə bakteriofagiya fenomeni adlandırmışdır.

Bakteriofaqların quruluşu

Faqların ölçüləri digər viruslara müvafiqdir və 20-800 nm arasında təbəddüd edir. Onlar morfologiyasına görə sapşəkilli, kubşəkilli, spermatozoidşəkilli ola bilər.

Bakteriofaqların quruluş sxemi



Bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsirinin xarakteri

Bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsirinin xarakterinə görə virulentli və mülayim faqlar ayırd edilir.

Virulentli faqlar bakteriya hüceyrəsinə daxil olaraq çoxalır və nəticədə bakteriya hüceyrəsi parçalanır – lizisə uğrayır.

Virulentli faqın bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsiri

- 1.Faqların bakteriya hüceyrəsinə adsorbsiyası*
- 2.Faq nuklein turşusunun bakteriya hüceyrəsinin daxilinə keçməsi*
- 3.Faq nuklein turşusunun reproduksiyası və faq zülallarının sintezi*
- 4.Faq hissəciyinin formalaşması*
- 5.Faqın bakteriya hüceyrəsindən çıxması*

Mülayim faqın bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsiri

Mülayim faq bakteriya hüceyrəsinə daxil olduqdan sonra onun nuklein turşusu bakteriya hüceyrəsinin xromosomu ilə integrasiyalaşır. Bu zaman bakteriya hüceyrəsi məhv olmur.

*Bakteriya xromosomu ilə birləşmiş vəziyyətdə olan faq nuklein turşusu **profaq** adlanır.*

Bakteriya hüceyrəsinin faqla (profaqla) belə simbiozu lizogeniya, tərkibində profaq saxlayan hüceyrə isə lizogen bakteriya adlanır.

Qüsurlu faqlar

Tərkibində bakteriyaların müəyyən bir əlamətini təmin edən geni daşıyan qüsurlu faqlarla lizogeniya baş verdiyi təqdirdə lizogen bakteriya yeni bir xüsusiyyət qazanır.

Qüsurlu faqlar yetkin faq hissəcikləri əmələ gətirmək qabiliyyəti olmayan mülayim faqlardır.

Bu yolla bakteriyalar toksin əmələ gətirmə xüsusiyyəti kəsb edə bilər, eləcə də yeni morfoloji, antigen və s. xüsusiyyətlər kəsb edə bilər. Buna faq konversiyası, yaxud lizogen konversiya deyilir.

Transduksiyaedici faqlar kimi onlar gen mühəndisliyində istifadə edilir

Bakteriofaqların əldə edilməsi

tədqiq olunan material (su, nəcis, yara möhtəviyatı) suspenziyalaşdırılır və filtrasiya olunur. Filtrat və homoloji test-kultura qidalı bulyona inokulyasiya edilir və 37°C-də 18-24 saat inkubasiya olunur.

inkubasiya edilmiş material sentrifüqalaşdırma və süzülməklə bakteriyalardan azad edilir.

filtrat test-kultura ilə birgə qidalı aqar olan kasalara əkilir, inkubasiya olunur. Bakterial kulturanın inkişafı fonunda aqarda dəyirmi ləkələr (neqativ koloniyalar) əmələ gəlir.

neqativ koloniyalardan alınan material qidalı bulyon olan sınaq şüşəsinə yerləşdirilir, test-kultura əlavə edilir, inkubasiya edilir. Bakteriyalarda çoxalan faqlar onların lizisinə səbəb olur və sınaq şüşəsində çoxsaylı faqlardan ibarət faqolizat əldə olunur.

faqolizat tamamilə bakteriyalardan azad olunur.

Bakteriyaların faqa həssaslığının “axan damla” üsulu ilə təyini

Faqa həssaslığın təyin edilməsi onların təsirinin ciddi spesifikliyinə əsaslanır.

Məlum (diaqnostik) faqlardan istifadə etməklə naməlum mikrob kulturasını identifikasiya etmək mümkündür.

Müayinə ediləcək bakteriyanın kulturası Petri kasasında olan bərk qidalı mühitin səthinə çox qalın (qazonla) inokulyasiya edilir. Sonra aqarın səthinə bir damla məlum faq suspenziyası qoyur, kasanın bir tərəfini qaldırmaqla damcının axmasına şərait yaradılır.

İnkubasiyadan sonra faq əlavə edilmiş sahədə inkişafın olmaması həmin bakteriyanın məlum faqa həssaslığını göstərir .



Faqotiplərin təyin edilməsi (faqotipaj)

İnfeksiya mənbəyini aşkar etmək üçün bakteriyanın faqotiplərini təyin edirlər. Arxa hissəsi əvvəlcədən kvadratlara ayrılmış Petri kasasında olan bərk qidalı mühitin səthinə müayinə ediləcək bakteriyanın kulturası çox qalın (qazonla) inokulyasiya edilir. Sonra aqarın səthinə hər bir kvadrata müxtəlif tipospesifik faqlarlardan bir damla əlavə edilir. İnkubasiyadan sonra faqotipə müvafiq kvadratlarda bakteriyaların lizisi müşahidə edilir.



Faqların praktikada tətbiqi

*Faqların spesifikliyi **faqodiagnosticskanın** əsasında durur.*

- Məlum (diagnostik) faqlardan istifadə etməklə naməlum mikrob kulturasını identifikasiya etmək mümkündür*
- Faqotiplərin təyini, yaxud faqotipaj infeksiya mənbəyini təyin etmək üçün istifadə edilir.*

***Faqoprofilaktika və faqoterapiya** - faqların həssas bakteriya hüceyrələrini xəstənin orqanizmində məhv etməsi xüsusiyyətinə əsaslanmışdır. Bu məqsədlə faqlar dərman preparatları şəklində hazırlanır*



**Diqqətinizə görə
təşəkkürlər**