

İctimai-səhiyyə *MƏŞĞƏLƏ-6*

Bakteriyaların (aerob və anaerob və s.)
kultivasiyası. Bakterioloji üsul. Bakteriyaların
təmiz kulturasının alınması (I gün, II gün, III
gün). Mikroorqanizmlərin müasir identifikasiya
üsulları.

Məşğələnin planı :

I. Davamiyyətin yoxlanılması və müəllimin giriş sözü

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

1. Mikroorqanizmlərin kultivasiyası”, “kultura”, “klon”, “koloniya” və “ştamm” anlayışları.

2. Bakteriyaların kultivasiya prinsipləri.

3. Aerob və anaerobların qidalı mühitlərə inokulyasiya (əkilmə) üsulları.

4. Kultural üsul: mahiyyəti və əhəmiyyəti, kultivasiya şəraiti (temperatur, aerasiya və müddət).

5. Aerob mikroorqanizmlərin təmiz kulturasının alınma üsulları (Driqalski, ştrixlə, Şukeviç üsulları, elektiv qidalı mühitlərin tətbiqi).

6. Anaerob mikroorqanizmlərin kultivasiyası və təmiz kulturasının alınma üsulları (Seysler və Veynberq üsulları).

7. Bakteriyaların kultural xassələri - koloniyaların makroskopik və mikroskopik müayinəsi (ölçüsü, forması, rəngi, şəffaflığı, konsistensiyası, yerləşməsi, səthi, kənarları və strukturu).

8. Mikroorqanizmlərin həyat fəaliyyəti məhsulları: fermentlər və piqmentlər, aromatik maddələr və onların əhəmiyyəti.

9. Bakterial fermentlərin təsnifatı, bakteriyaların identifikasiyasında fermentlərin rolu.

10. Karbohidratları parçalayan fermentlər və onların təyini (Hiss və Kliqlər mühitləri).

11. Proteolitik fermentlər və onların təyini (jelatin, zərdab və süddə inkişaf, indol, ammoniak və hidrogen-sulfidin təyini) və oksidləşmə-reduksiya fermentləri (oksidaza, katalaza, dekarboksilaza).

12. Aqressiya fermentləri və onların təyini (hialuronidaza, lesitinaza, fibrinolizin, plazmakoaqulaza).

13. Müasir identifikasiya üsulları (mikrotest sistemlər, Vitek analizatoru)

Bakteriyaların kultivasiyası

Bakteriyaların - metabolizm, qidalanma, tənəffüs, böyümə və çoxalma xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi, onların kultivasiyasında optimal şəraitin yaradılması üçün əsas olmuşdur.

Obliqat parazitlər (rikketsiyalar, xlamidiyalar, viruslar və s.) *istisna olmaqla* - əksər mikroblar süni qidalı mühitlərdə kultivasiya edilir.

Mikrobları in vitro kultivasiya etmək üçün - qidalı mühitlərdən istifadə olunur.

Qidalı mühit - tərkibində mikroorqanizmlərin inkişafı üçün lazım olan bütün qida maddələri olan və müəyyən şəraitə malik mühitdir.

İnkişaf üçün - tək cə qidalı mühitin olması kifayət deyil, hər bir mikrob növü üçün xüsusi kultivasiya şəraiti (temperatur, aerasiya, işıq rejimi, mühitin pH, kultivasiya müddəti və s.) də tələb olunur.

Mikroblar - optimal kultivasiya şəraitində çoxalaraq özünəməxsus populyasiya - ***kultura*** formalaşdırır. Alınmış kultura - yalnız bir növ mikrobdan ibarət olarsa, bu - ***təmiz kultura*** adlanır.

Təmiz kultura alındıqdan sonra - mikrobların morfoloqiyası, tinktorial xassəsi, biokimyəvi və bioloji xüsusiyyətləri öyrənilir.

Bundan başqa - alınmış təmiz kulturadan, həm də bir sıra bioloji preparatlar (vaksinlər, probiotiklər və s.) almaq mümkün olur.

Bakteriyaların təmiz kulturasının alınmasına əsaslanan - *bakterioloji kultural üsul* törədicilərin bir sıra xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi ilə onların *identifikasiya* (tanınması) və *differentiasiyasında* (fərqləndirilməsi) mühüm diaqnostik əhəmiyyət kəsb edir.

Bakterioloji üsul

Mikrobioloji diaqnostikada əsas üsul olub - patoloji materialların müvafiq qidalı mühitlərə inokulyasiyası və kultivasiyası nəticəsində mikroorqanizmlərin təmiz kultu-rasının alınmasından, onun növə qədər identifikasiya və differensiasiyasından ibarətdir.

- *Təmiz kultura* - bir növ mikrobun qidalı mühitdə inki-şaf edərək əmələ gətirdiyi populyasiyadır.

- *Növ* - fenotipik və genotipik cəhətdən oxşar fərdlərin məcmuyidir.

Təmiz kultura almaq üçün - bərk qidalı mühitin səthində inkişaf etmiş mikrobların əmələ gətirdiyi koloniyadan ilgəklə götürülür və çəp aqara inokulyasiya edilir.

- **Koloniya** - bir növdən olan, 1 yaxud bir neçə hüceyrənin bərk qidalı mühitin səthində çoxalaraq əmələ gətirdikləri və izolə halda yerləşmiş mikrob populyasiyası və ya toplusuna deyilir.

- ***Müxtəlif növ bakteriya koloniyaları*** - bir-birindən morfolojiyalarına və kultural xassələrinə (inkişaflarına, əmələ gətirdikləri pigmentin rənginə və s. əlamətlərinə) görə fərqlənirlər.

Bəzən elmi-tədqiqat işlərində - ideal təmiz kultura əldə etmək üçün - mikrob klonu alınır.

- **Klon** 1 mikrob hüceyrəsinin bərk qidalı mühitdə əmələ gətirdiyi təmiz kulturadır.

Bir çox növlər - bir-birindən bioloji xüsusiyyətinə görə fərqlənir və biovarlara (biotiplərə) bölünür.

● ***Biovarlar:***

biokimyəvi xüsusiyyətinə görə fərqlənərsə - ***xemovar***,
antigen xüsusiyyətinə görə fərqlənərsə - ***serovar***,
faqa görə fərqlənərsə - ***faqovar*** adlanır.

Eyni növdən olan və müxtəlif mənbələrdən və ya müxtəlif vaxtlarda, eyni mənbədən alınan mikrob kulturası - ***ştam*** adlanır.

■ *Bakteriyaların morfoloji və tinktorial xassələri* - mikroskopik üsuldən istifadə edilməklə öyrənilir.

■ *Kultural xassələri* - qidalı mühitlərə təlabatı, kultivasiya şəraiti, bərk və maye qidalı mühitlərdə inkişafı ilə xarakterizə olunur.

● *Bakteriyaların cins və növə qədər identifikasiyasında* - onların əmələ gətirdikləri müxtəlif pigmentlərin də rolu vardır.

● *Pigmentlər* - suda həll olma xüsusiyyətlərindən asılı olaraq koloniyaları və ya qidalı mühiti rəngləyir: məs., *S.marcescens* və *S.aureus* - qırmızı və qızılı pigmentlər koloniyalarını, *P.aeruginosa* - göy-yaşıl pigmenti suda həll olduğu görə, həm də qidalı mühiti rəngləyir.

- ***Biokimyəvi*** xassələri - onların əmələ gətirdiyi konstitu-tiv və induktiv fermentlərin differensial-diaqnostik mühit-lərdə təyininə əsaslanır, daha çox saxarolitik və proteolitik fermentləri öyrənilir.

- ***Biovarlarını (xemovar, serovar, faqovar)*** - müəyyən etmək üçün əlavə tədqiqatlar aparılır və uyğun markerləri - fermentləri, antigenləri, faqlara həssaslığı öyrənilir.

Patoloji materialların seçilməsi və götürülməsi

■ *Mikrobioloji diaqnostikanın I mərhələsi* - xəstəliyin pa-togenezinə və klinikasından asılı olaraq tədqiqat üçün materialın düzgün seçilməsi və götürülməsidir.

■ *Patoloji material* - aseptik qaydalara uyğun olaraq steril qablarda götürülür, tez bir müddətdə laboratoriyaya çatdırılır.

■ *Bəzən patoloji material* - xəstənin çarpayısı yanında dərhal qidalı mühitlərə inokulyasiya edilir, bəzi hallarda material müəyyən müddətdə əlverişli şəraitdə saxlanılır.

■ *Müxtəlif patoloji materiallar* (qan, irin, sidik, bəlgəm, likvor, nəcis, qusuntu kütləsi, mədə yuyuntusu və s.), bi-opsiya və autopsiya materialları götürülür.

Patoloji materialların və kulturanın qidalı mühitlərə inokulyasiyası

Petri kasasındakı aqara inokulyasiya:

bakterial ilgəklə inokulyasiya.

şpatellə inokulyasiya.

tamponla inokulyasiya.

qazonla inokulyasiya

aqarın dərinliyinə inokulyasiya.

Petri kasasından çəp aqara inokulyasiya.

Çəp aqardan çəp aqara inokulyasiya.

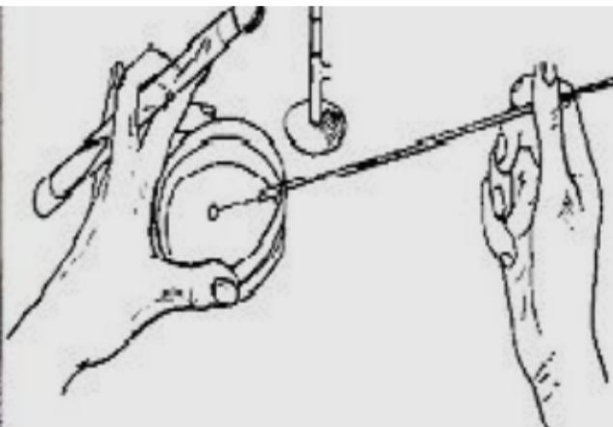
Maye qidalı mühitə inokulyasiya.

Düz və ya sütunlu aqara inokulyasiya.

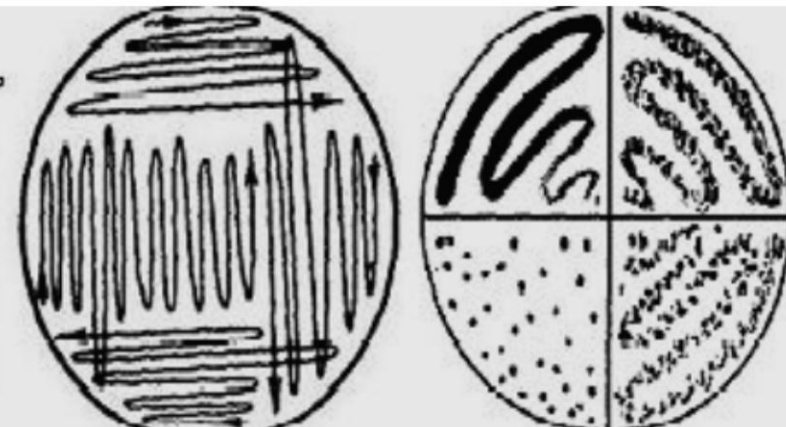




a



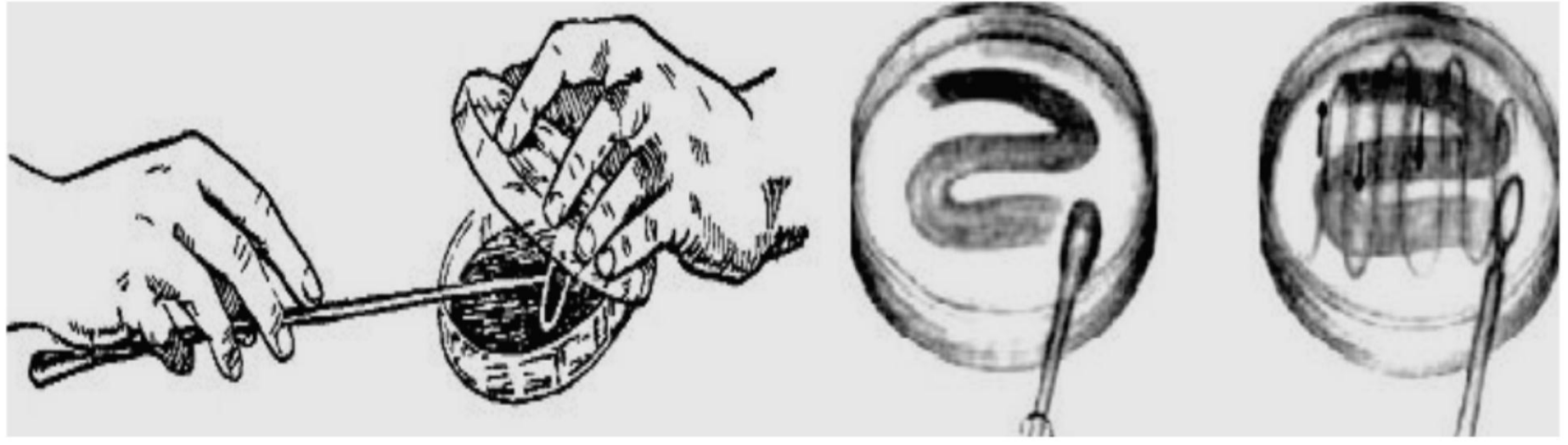
b



c

Petri kasasındaki qidalı mühitə inokulyasiya:

***a) steril qidalı mühit; b) qidalı mühitə ilgəklə - ziqzaqvari (b)
və sektorlara (c) inokulyasiya***



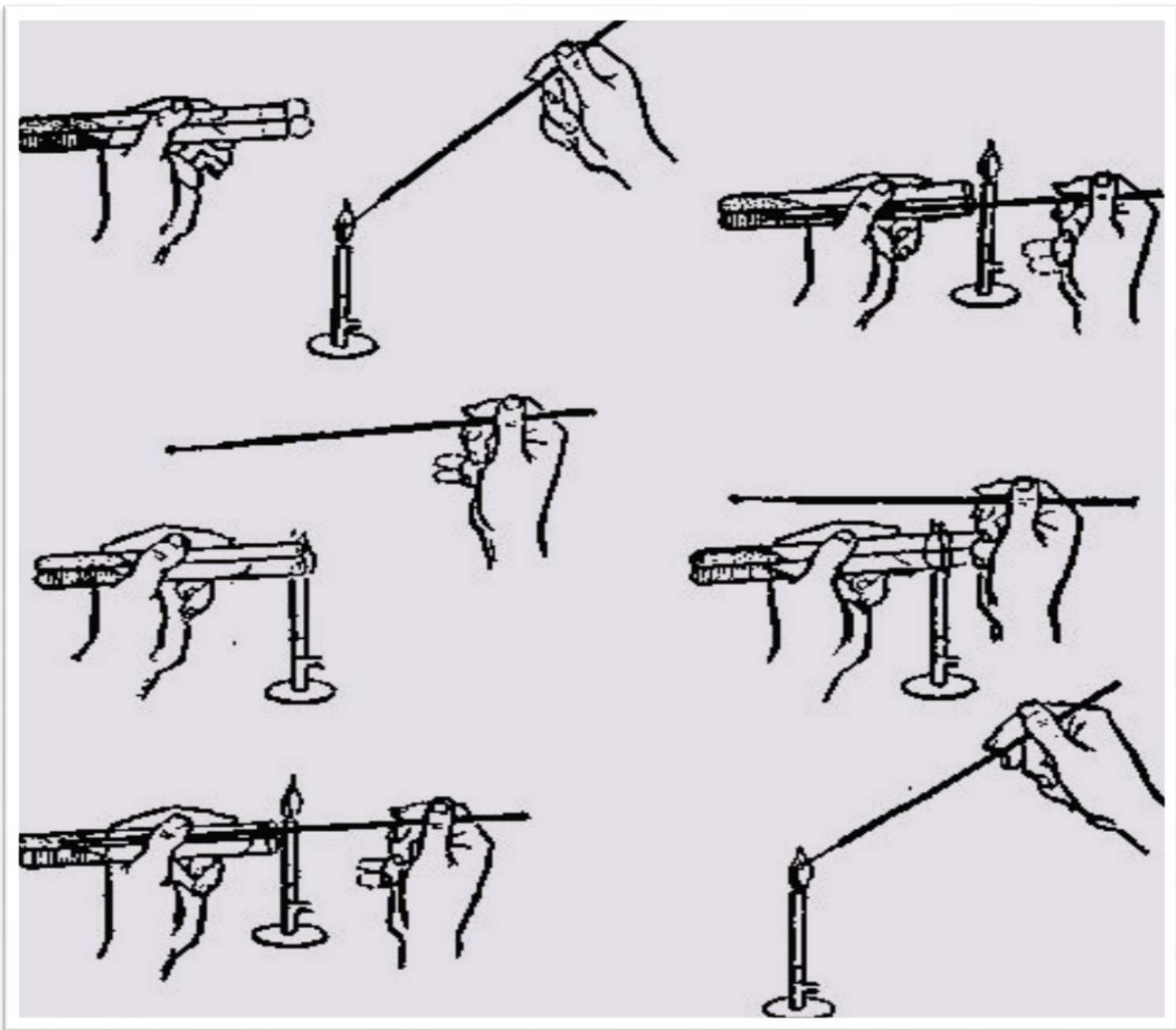
a

b

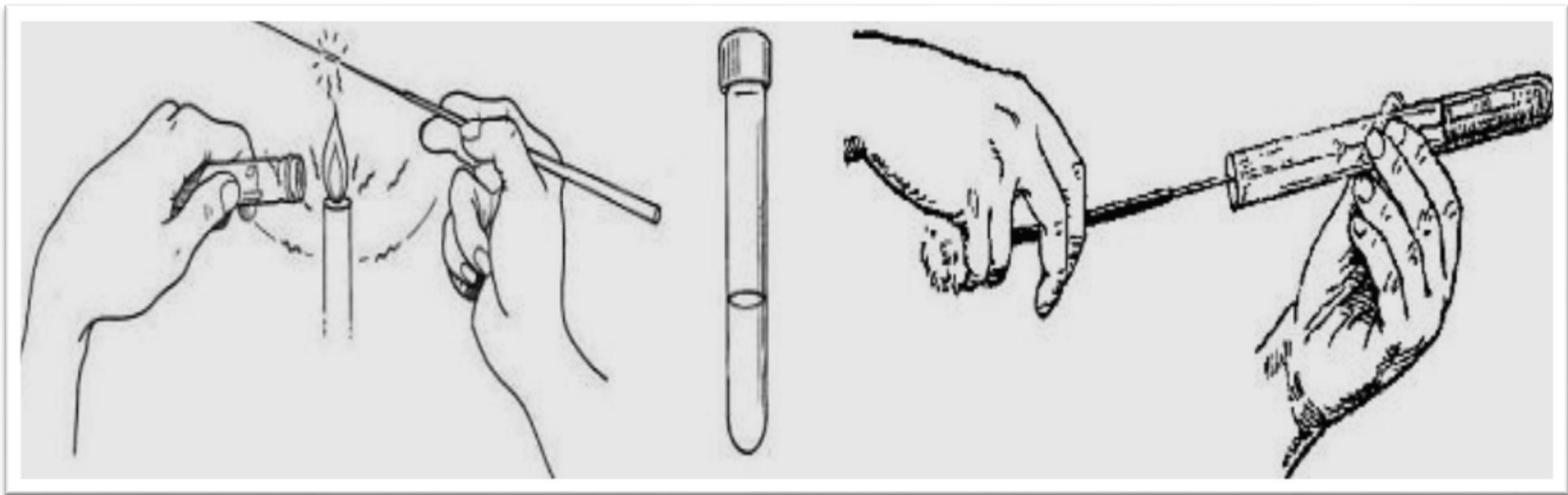
Petri kasasındaki qidalı mühitə inokulyasiya:

a) şpatellə inokulyasiya;

b) b) patoloji material götürülmüş - tamponla inokulyasiya



Çəp aqardan çəp aqara inokulyasiya

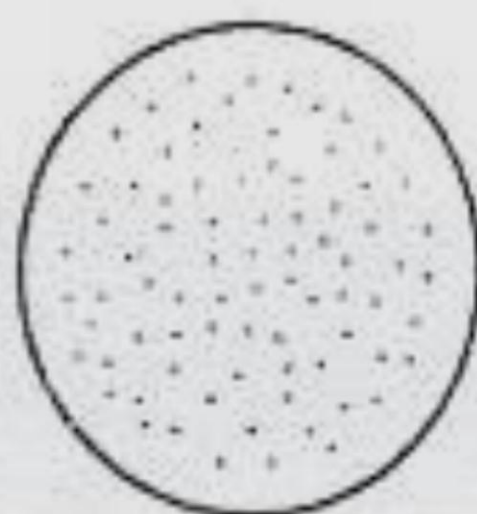
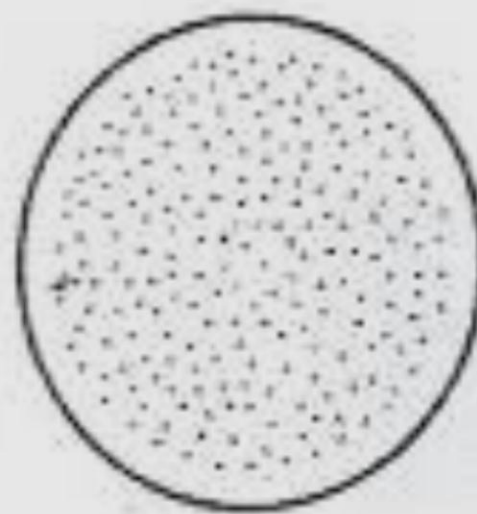


İynələmə üsulu: sütunvari aqarın dərinliyinə inokulyasiya

Təmiz kulturanın alınması üsulları

- *Durulaşdırma üsulu və ya Kox üsulu*
- *Seyrəltmə üsulu*
- *Bakterial ilgəklə*
- *Elektiv qidalı mühitlərdən istifadə etməklə*
- *İnhibitorlardan istifadə etməklə*
- *Mühitin pH-nı və kultivasiya temperaturunu*
- *Bioloji üsuldən*

Bəzən - mikrobusun inkişaf etmə xüsusiyyətiindən istifadə edilərək təmiz kultura alınır: proteylərin təmiz kulturasını almaq üçün - *Şukeviç üsulundan* istifadə edilir, bunun üçün - patoloji material ilgəklə çəp aqarın dibindəki kondensasiya suyuna inokulyasiya edilir.



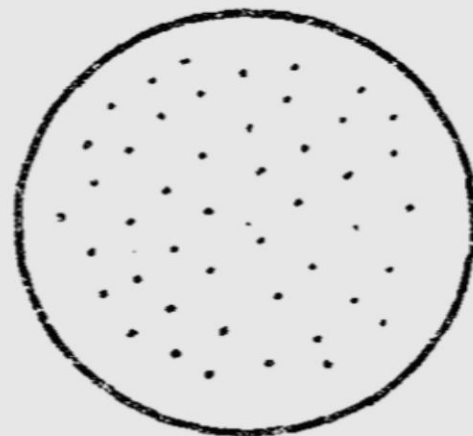
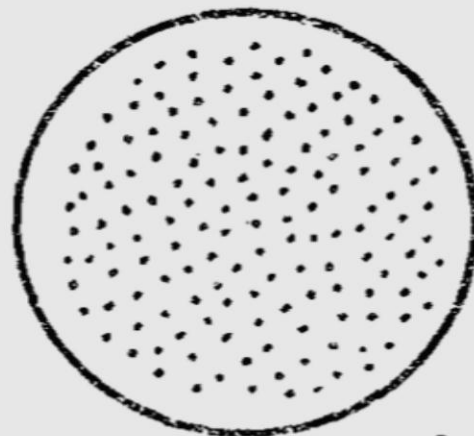
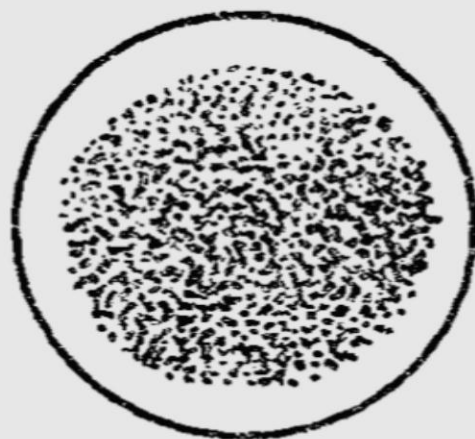
3



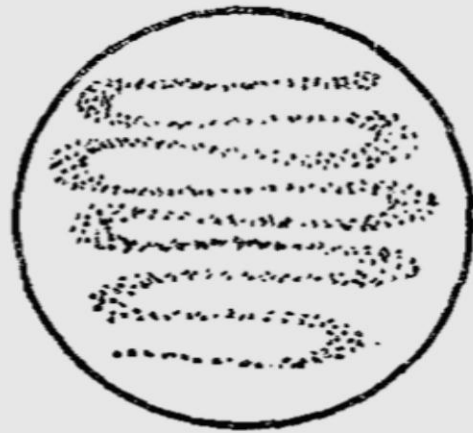
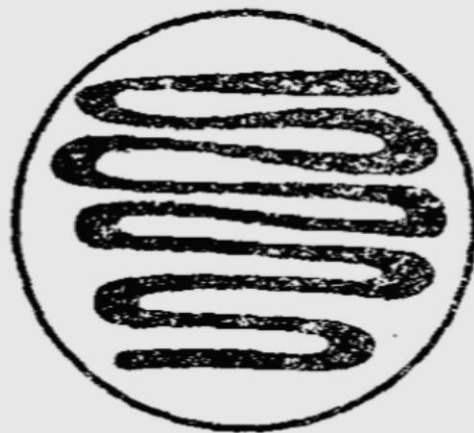
a



b



b



2

Mikrobların ifrazat məhsulları - pigmentləri və aromatik maddələri



Aerob və fakultativ anaerob bakteriyaların təmiz kulturasının alınması

1-ci gün - izolə halda koloniyanın alınmasından ibarətdir;
xəstənin patoloji materialı (irin, yara möhtəviyyatı, bəlgəm və s.) - laboratoriyaya təqdim olunduqdan sonra, ondan - yaxma hazırlanır, Qram və ya digər üsullarla rənglənilir və mikroskopiya edilir;

sonra material - fizioloji məhlulda və ya distillə suda suspenziyalaşdırılır, ilgək və ya pipetka ilə 1 damla götürülür, mexaniki seyrəltməklə (məs., Driqalski üsulu) qidalı mühitlərə inokulyasiya olunur;

termostatda - 37⁰C-də 18-24 saat inkubasiya edilir.

Aerobların təmiz kulturasının alınması

2-ci gün - kasalarda inkişaf etmiş koloniyaların öyrənilməsindən ibarətdir.

Petri kasaları termostatdan çıxarılıb baxılır: əsasən III kasada inkişaf etmiş və izolə halda yerləşmiş koloniyaların kultural xassələri öyrənilir.

Kultural xassələrə:

mikrobların bərk qidalı mühitlərin səthində əmələ gətirdikləri - koloniyaların morfolojiyası (formaları, ölçüləri, konsistensiyası və s. əlamətləri),
duru qidalı mühitlərdə - inkişaf xüsusiyyətləri (bulanıqlıq, ərp, çöküntü əmələ gətirmələri və s.)
aiddir;

Aerobların təmiz kulturasının alınması

3-ci gün - çəp aqarda alınmış təmiz kulturanın xassələrinin öyrənilməsindən ibarətdir;

alınmış təmiz kultura vizual olaraq baxılır:

- yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilib, mikrosko-piya edilir;

- morfologiyası və tinktorial xassəsi, sporasının, kapsulasının və hərəkətli olub-olmaması müəyyən edilir;

biokimyəvi, antigen, toksigenlik xassələri, faqa həssasığı öyrənilir;

taksonomik vəziyyəti cinsi, növü, tipi təyin edilir.

4-ci gün - tədqiqatların nəticələri hesablanır və analiz olunur:

müayinə olunan patoloji materialdan alınmış kulturanın öyrənilmiş xassələri (morfoloji, kultural, biokimyəvi, antigen və s.) məlum növün və variantların xassələri ilə müqayisə olunur;

aerob bakteriyanın hansı növə aid olduğu haqda - son nəticə çıxarılır və cavab yazılır;

Çoxlu miqdar aerob və anaerob bakteriya kulturalarının biokimyəvi xassələri - daha çox xüsusi mikrotest sistem və mikrobioloji analizatorlarda öyrənilir.

Hal-hazırda -daha geniş yayılmış və çox istifadə edilən sistemlər -Microscan və Vitek tipli sistemlərdir.



Driqalski üsulu ilə təmiz kulturanın alınması

Anaeroblarnın təmiz kulturasının alınması

Əvvəlcə anaerob şərait yaradılır: onların kultivasiya olunduğu qidalı mühitlərdən və inkişaf etdiyi atmosferdən oksigen tam və ya hissəvi çıxarılır.

Fiziki, kimyəvi və bioloji üsullardan istifadə edilir.

- *Fiziki üsulla anaerob şərait:*

temperaturanın köməkliyi ilə yaradılır: Kitt-Tarotsi mü-hiti su hamamında 80⁰C-də 20-30 dəq qızdırılır;

mexaniki yolla yaradılır:

- mikroanaerostatlardan və anaerob bokslardan istifadə olunur - oradan oksigenli atmosfer sorulur və ya sıxışdırılıb çıxarılır;

- bərk qidalı mühitin dərinliyində - kultivasiya edilməklə (oksigenin daxil olmasının qarşısını almaqla) yaradılır.

● *Kimyəvi üsulla anaerob şərait:*

◆ reduksiyaedici maddələr (qlükoza, tioqlikol turşusu, natrium tioqlikolyat, askorbin turşusu, sistein, qaraciyər tikəsi və s.) istifadə olunur;

◆ oksigeni adsorbsiya edən və ya “udan” maddələr (nat-rium karbonat, qələvi pirhalol və s.) istifadə olunur;

◆ reduksiyaedicilər - qidalı mühitlərə əlavə edilir: bu za-man qlükoza və qaraciyər tikəsi, Kitt-Tarotsi mühitində olan, həll olmuş oksigeni reduksiya edir;

◆ son zamanlar - QazPak sistemindən daha çox istifadə olunur: bu içərisində oksigeni udan müxtəlif maddələr (sitrat turşusu, natrium karbonat, natrium borohidrat) olan paketdən və hermetik bağlanan şüşə kameradan ibarətdir.





● **Bioloji üsulla anaerob şərait:**

ciddi aerob və anaerob bakteriyaların - birlikdə kultiva-siyası nəticəsində yaradılır;

◆ **Fortner üsulu:** içərisində hər 2 mikrobus inkişafı üçün optimal qidalı mühit olan Petri kasası götürülür və şərti olaraq 2 yerə bölünür:

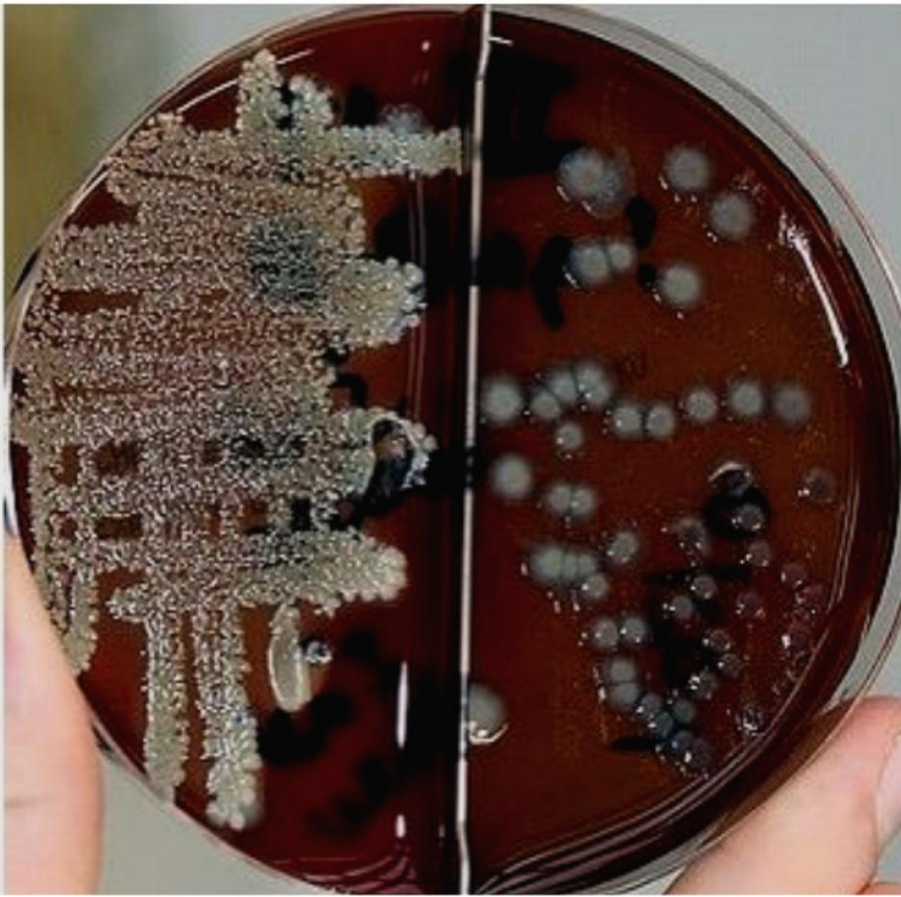
- bir hissəyə - aerob bakteriya kulturasından (məs., *P.aeruginosa*, *S.marcescens*), digər hissəyə isə müayinə ediləcək anaerob bakteriya kulturası və ya şübhəli patoloji material ştrixvari inokulyasiya edilir;

- kasanın qapaqları arasına sahəyə əridilmiş parafin tökülür və termostatda inkubasiya edilir,

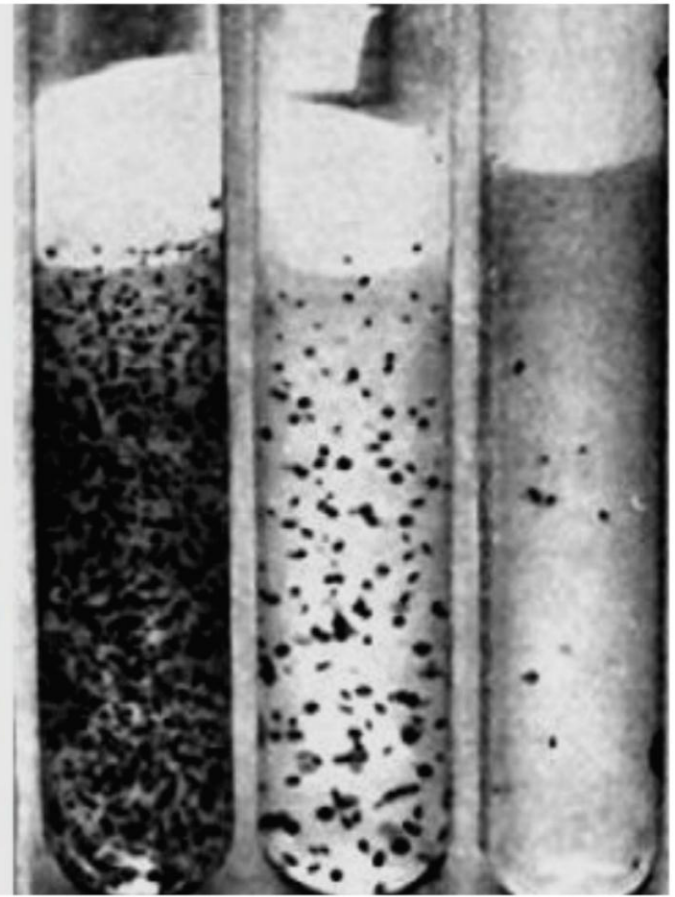
- **aerob mikroblar** inkişaf edərək, kasanın içərisindəki **oksigeni** tam mənimsədikdən sonra anaerob bakteriyalar inkişaf edir.



1



2



3

Anaerobların (klostridilərin) təmiz kulturasının alınması:

- 1 - Kitt-Torotsi mühitində Clostridium perfringens kulturası;*
- 2 - Seysler mühitində Clostridium perfringens koloniyaları;*
- 3 - Vinyal-Veyon borusunda Clostridium perfringens koloniyaları*

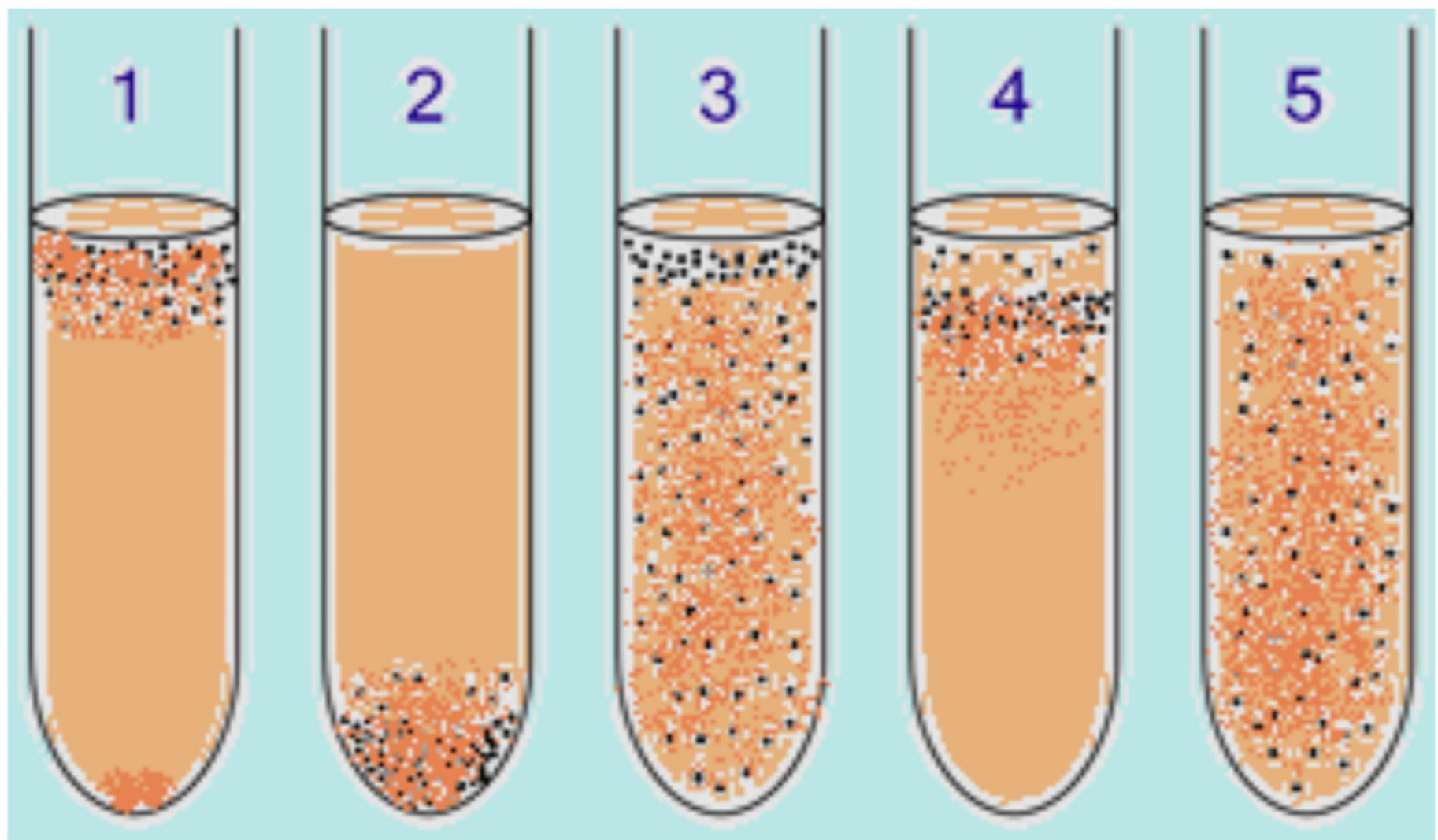
1

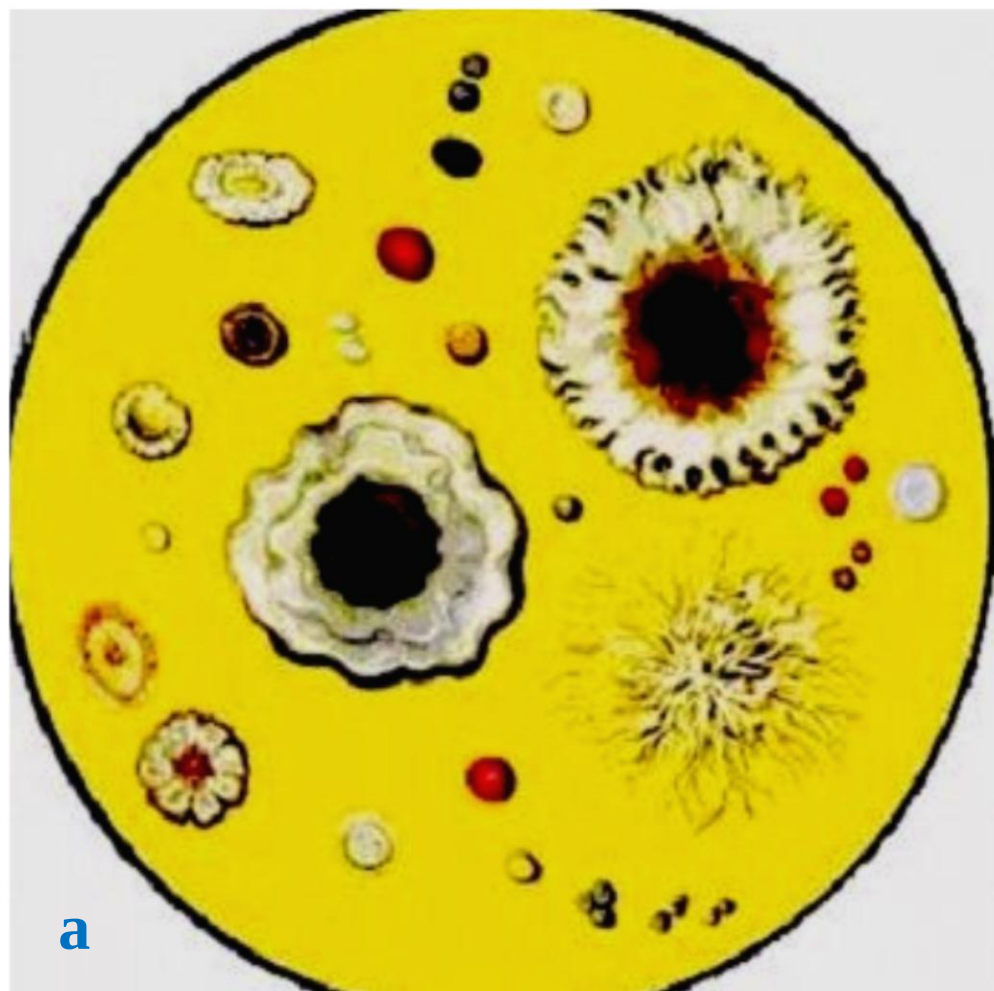
2

3

4

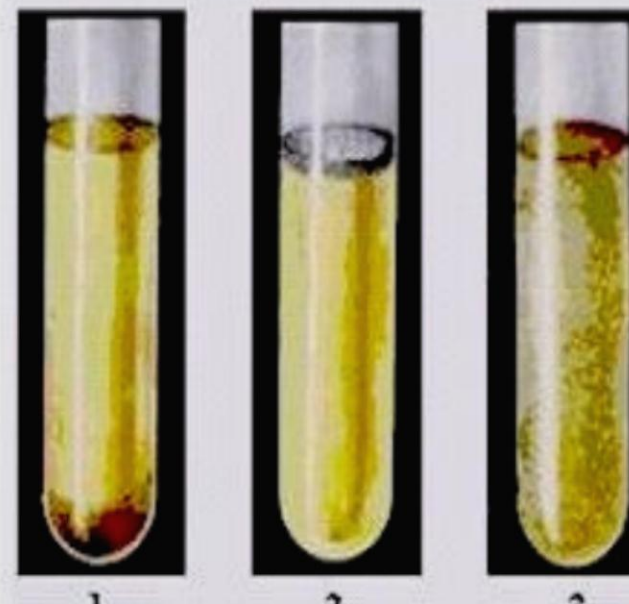
5





a

b



Bərk və maye mühitlərdə kultural xassələr:

- a) *mikrobların bərk qidalı mühitdə əmələ gətirdikləri müxtəlif formalı və rəngli kolo-niyalar;*
- b) *mikrobların maye mühitdə inkişafı,*
1-dibdə çöküntü; 2-səthdə ərp; 3-diffuz bulanıqlıq

Mikroorqanizmlər- qidalı mühitlərdə özünəməxsus formada inkişaf edirlər:

Mikrob koloniyaları:

koloniyaların formaları;

koloniyaların qabarıqlığı (relyefi);

koloniyaların ölçüləri;

koloniyaların kənarının forması;

koloniyaların konsistensiyası;

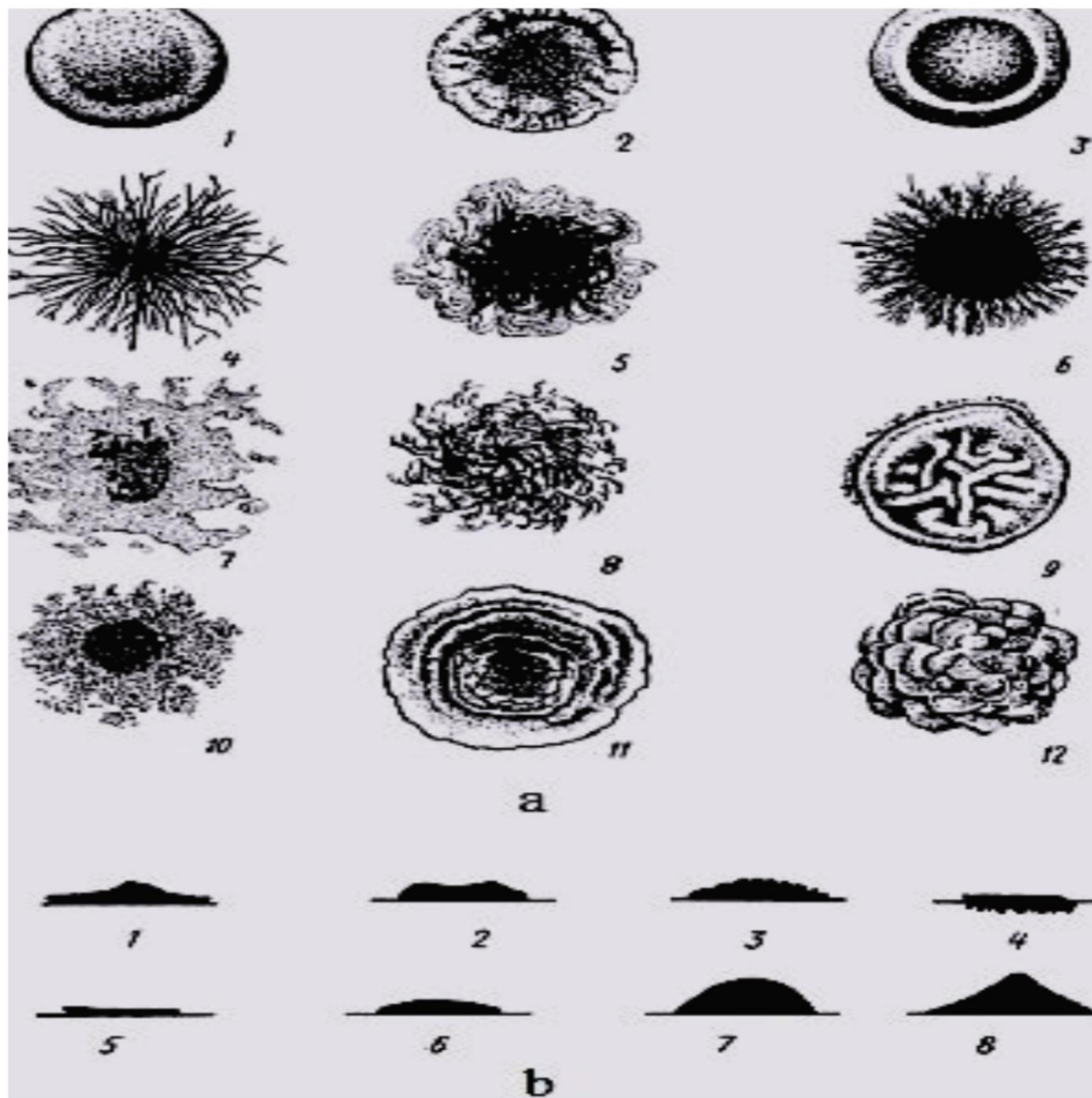
koloniyaların strukturu və ya quruluşu;

koloniyaların rəngi

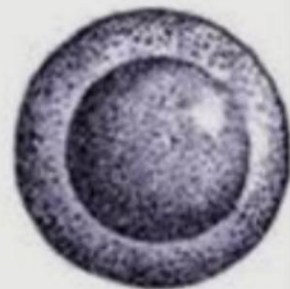
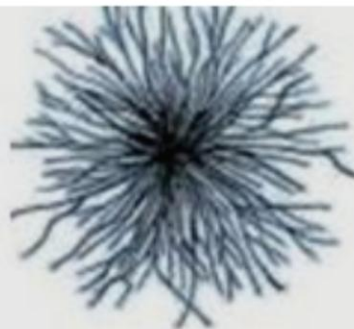
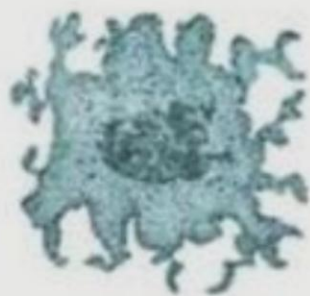
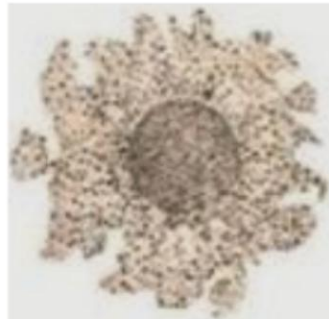
Formalarına görə koloniyalar:

**dairəvi - səthi, kənarı hamar, düz, qabarıq, basıq, val
şəklində,**

**amöbvari, yarpağa bənzər, rozetə bənzər, ulduza
oxşar, gülə oxşar, səthi qırıqlı, kələ-kötür,
sarmaşığa, ağac kökünə bənzər**



Müxtəlif formalı koloniyalar: a) 1-hamar; 2-kənarları haşiyəli hamar; 3-kənarları vala bənzər hamar; 4-6-saçaqlı törəmələrlə; 7-amöbə bənzər; 8-sapvəri törəmələrlə; 9-qırıqlı; 10-kənarları girintili-çuxıntılı; 11-konsentrik; 12-mürəkkəb formalı koloniya; b) Koloniyaların profildən görünüşü: 1-əyilmiş; 2-kraterə oxşar; 3-kələ-kötür; 4-substrata inkişaf; 5-yastı; 6-qabarıq; 7-damlaya oxşar; 8-konusa oxşar forma



● Ölçülərinə görə koloniyalar:

◆ **iri** - diametri 4-5 mm-dən çox (məsələn, spora əmələ gətirən bəzi bakteriyaların basillər və klostridilərin koloniyaları);

◆ **orta** - diametri 2-4 mm (məsələn, stafilokokların, bağırsaq çöplərinin və s.);

◆ **kiçik** - diametri 1-2 mm (məsələn, streptokokların, brüsellaların və s.);

◆ **cırıtdan** - diametri 1 mm-ə qədər (məsələn, pnevmonokokların və s.) olur.



Kənarının formasını görə koloniyalar:

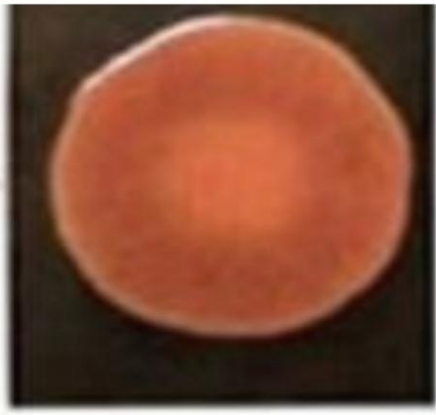
düz - hamar (S-koloniya, ing. smooth-hamar);

qeyri-düzgün - dalğavari, mişardişli, saçaqılı, şir yalına ox-şar, haşiyəli dəsmala oxşar formada (R-koloniyalar, ing. rough-qırıqlı) olur;

S- və R-koloniyaların əmələ gəlmə mexanizmi - mikrob hüceyrələrinin bölünüb yerləşməsi ilə əlaqədardır:

- hüceyrələr bölünüb, yan-yana yerləşərək, bir-birinə toxunuşlu vəziyyətdə olarsa - S-koloniyalar əmələ gəlir;

- hüceyrələr bölünərkən sitoplazmatik körpücüklərlə bir-birinə birləşərək zəncirvari və ya bir-birinin üzərində topa, qalaq halında yerləşdikdə R-koloniya formalaşır.



● *Koloniyaların konsistensiyası:*

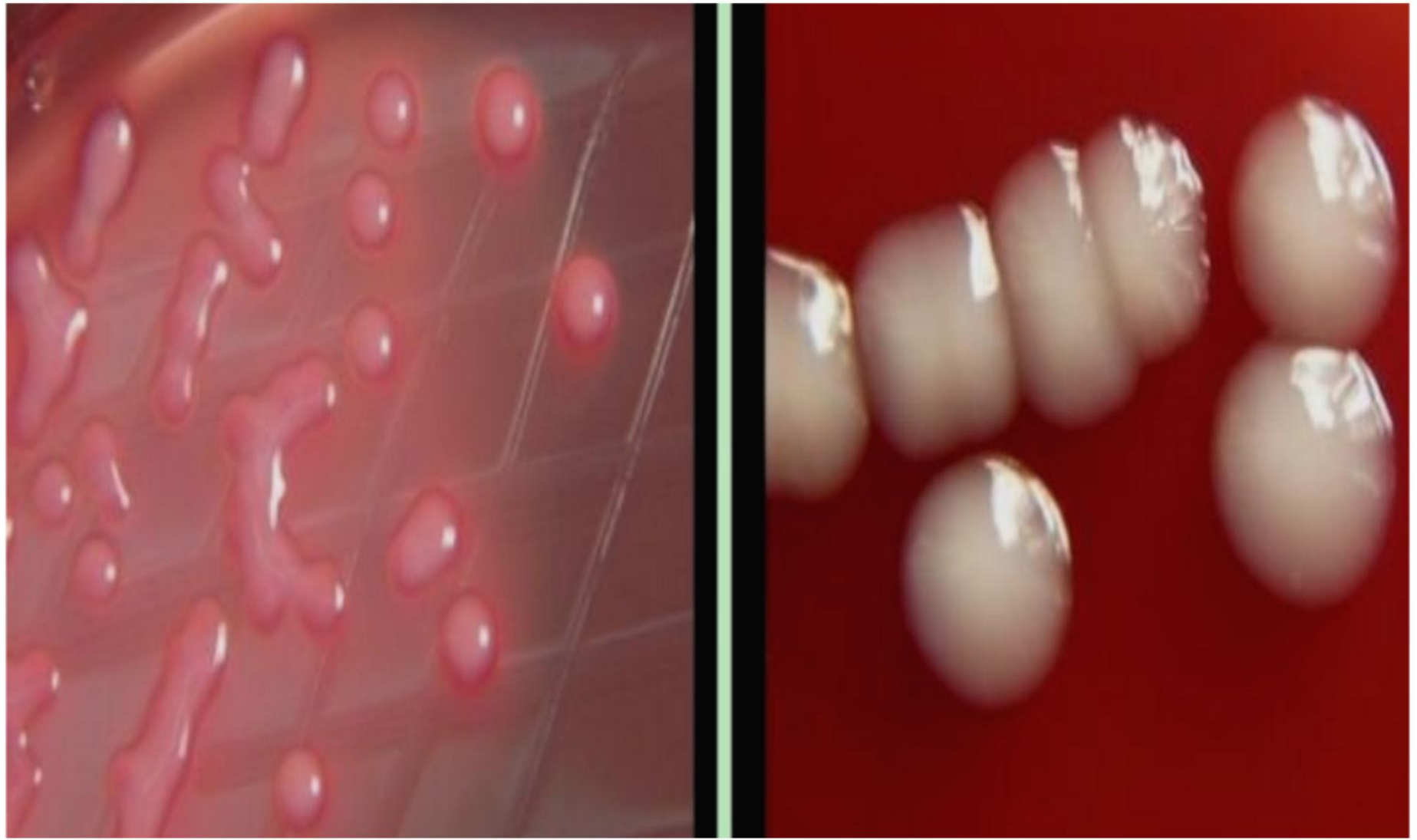
bakterial ilgəyi ona toxundurmaqla və ya ondan götürməklə öyrənilir;

qaymağa və ya pastaya oxşar olub - mühitdən asan götürülən;

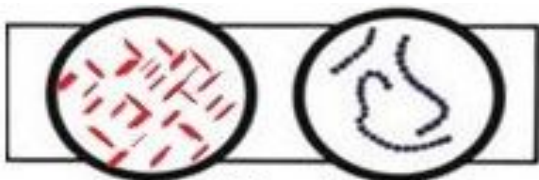
selikli, yapışqanvari olub - ilgəyə yapışib dartılan;

quru, kövrək - ilgək toxunanda dağılan;

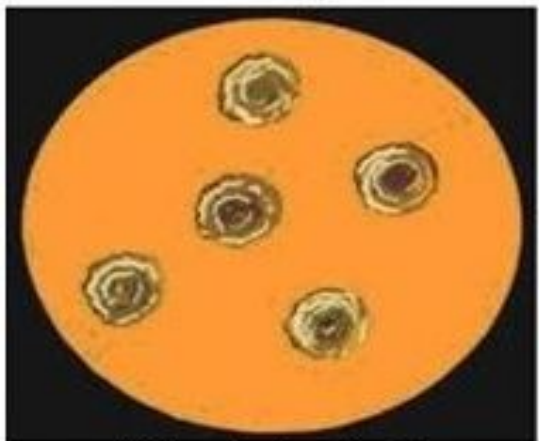
lifli və ya dəriyə oxşar - götürdükdə ərp, şəklində qopan halda olan



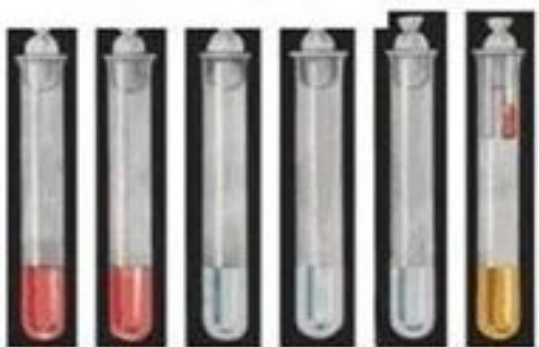
Klebsiellaların selikli koloniyaları



Morfoloji və tinktorial
xüsusiyyəti



Kultural xüsusiyyəti



Biokimyəvi xüsusiyyəti



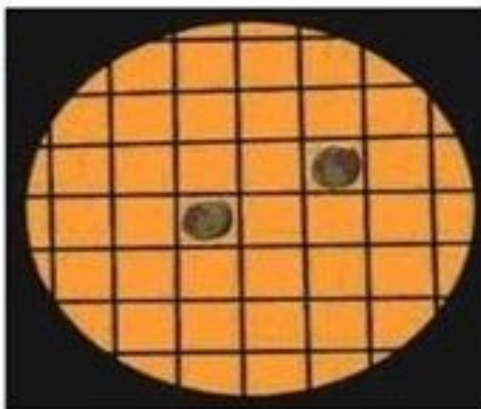
Antigen xüsusiyyəti



Təmiz
kultura



Toksin əmələ gətirməsi



Faqotipinin təyini



Antibiotiklərə həssaslığı

Bakteriyaların
təmiz
kulturasının
identifikasiyası

● *Koloniya­ların rəngi:*

◆ *ifraz etdikləri piqmentin rəngi ilə* - müəyyənləşdirilir;

◆ *piqment əmələ gətirməyən koloniyalar* - rəngsiz, bozumtul, boz-maviyəçalar olur;

◆ *piqment əmələ gətirən koloniyalar* - ağ, qızılı, qırmızı, göy, sarı, yaşıl, qara, qəhvəyi və s. rənglərdə olur.

◆ *təmiz kultura:*

- çəp aqarın səthində inkişaf etdikdə quru, nəmli, sürü-şən, qırıqlı, bozumtul, rəngsiz;

- əmələ gətirdikləri piqmentdən asılı olaraq - rəngli ola bilər.



Koloniyların kultural xassələri öyrənildikdən sonra -
şübhəli koloniyların təmizliyi yoxlanılır;

bunun üçün - ilgəklə koloniyadan götürülür, yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilib mikroskopda baxılır, yaxmada - hamısı eyni formada, eyni ölçüdə, eyni boyanmış bakteriyalar görsənərsə, deməli koloniya təmizdir, yəni eyni növdən ibarətdir;

həmin koloniyadan və ya ona oxşarından - ilgəklə götürülür, sınaq borusunda olan çəp aqarın səthinə ştrixvari inokulyasiya edilir, termostatda - 37⁰C-də, 24-48 saat müddətində inkubasiya olunur.



Anaeroblarnın təmiz kulturasının alınması

1-ci gün - müayinə materialında olan anaerob bakteriaların, Kitt-Tarotsi mühitində kultivasiya edilərək çoxaldılmasından ibarətdir.

Spora əmələ gətirən anaerob bakteriyalara (klostridilərə) şübhə olduqda müayinə materialı və Kitt-Tarotsi mühiti ayrı-ayrılıqda su hamamında 80°C -də 20-30 dəq qızdırılır; sonra üzərinə 0,5-1 sm qalınlığında steril vazelin yağı tökülür, termostatda (37°C)



Anaeroblarnın təmiz kulturasının alınması

2-ci gün - Kitt-Tarotsi mühitində inkişaf etmiş kulturanın öyrənilməsindən ibarətdir;

mühitdə baş vermiş dəyişikliklər - mühitin rənginin dəyişilməsi, qaraciyər tikəsinin dağılması, sınaq borusunun dibində çöküntünün əmələ gəlməsi, qaz qabarcıqlarının olması və s. öyrənilir.

dəyişikliklərin olması - mühitdə *anaeroblarnın* olmasını göstərir;

material qızdırıldıqdan sonra inokulyasiya edilibsə, onda inkişaf etmiş anaerob bakteriyaların - *klostridilər* olduğu güman edilir.

Kitt-Tarotsi mühitində - *anaerob bakteriyaların* inkişaf etdiyi məlum olduqdan sonra *təmiz kulturası* alınır.

Anaerobların təmiz kulturasının alınması

3-cü gün - Seysler və ya Veynberq üsulları ilə alınmış koloniyalar öyrənilir.

Kasalar anaerostatdan çıxarılıb baxılır:

3-cü kasada inkişaf etmiş hemoliz zonası olan koloniyaların kultural xassələri (onların ölçüləri, kənarı və səthinin forması, konsistensiyası, rəngi) öyrənilir;

şübhəli koloniyalar seçilir, onlardan yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilir və mikroskopda baxılır;

Vinyal-Veyon boruları termostatdan çıxarılıb baxılır:

4 və ya 5-ci borularda aqarın müxtəlif dərinliyində çəyirdəyə oxşar koloniyalar görünür;

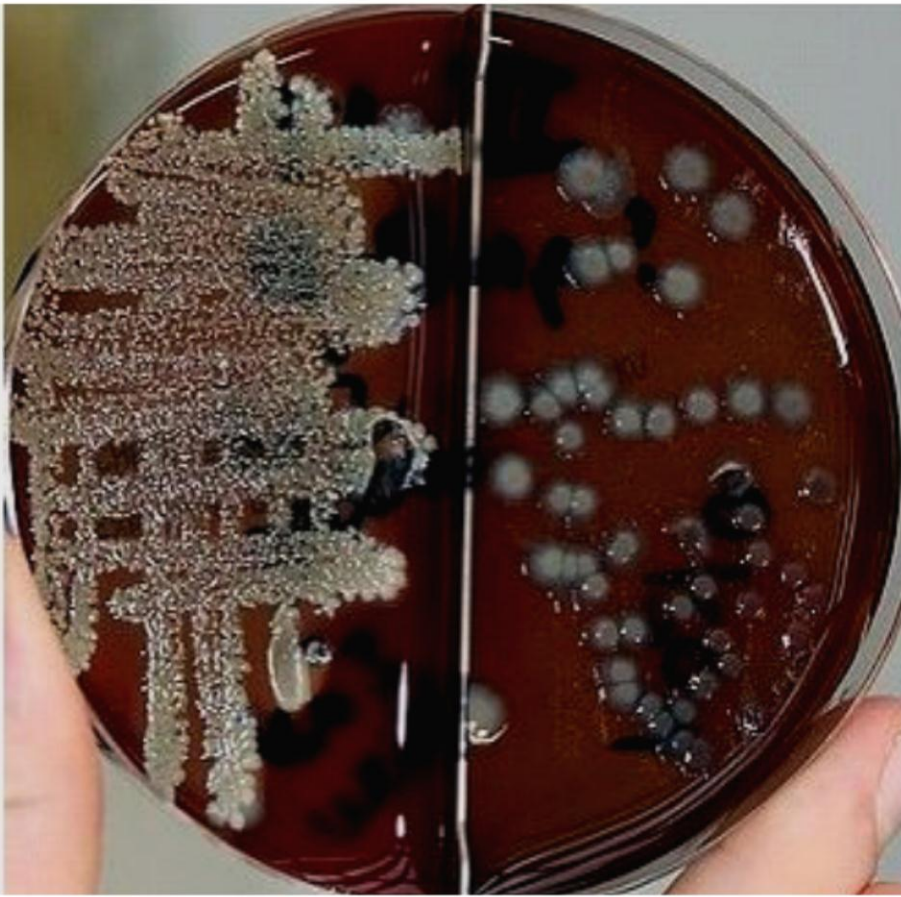
Seysler və Veynberg üsullarından istifadə edilir.

● *Seysler üsulu ilə təmiz kultura almaq üçün* - içərisində qanlı-şəkərli aqar (Seysler mühiti) olan 3 Petri kasası götürülür və nömrələnir:

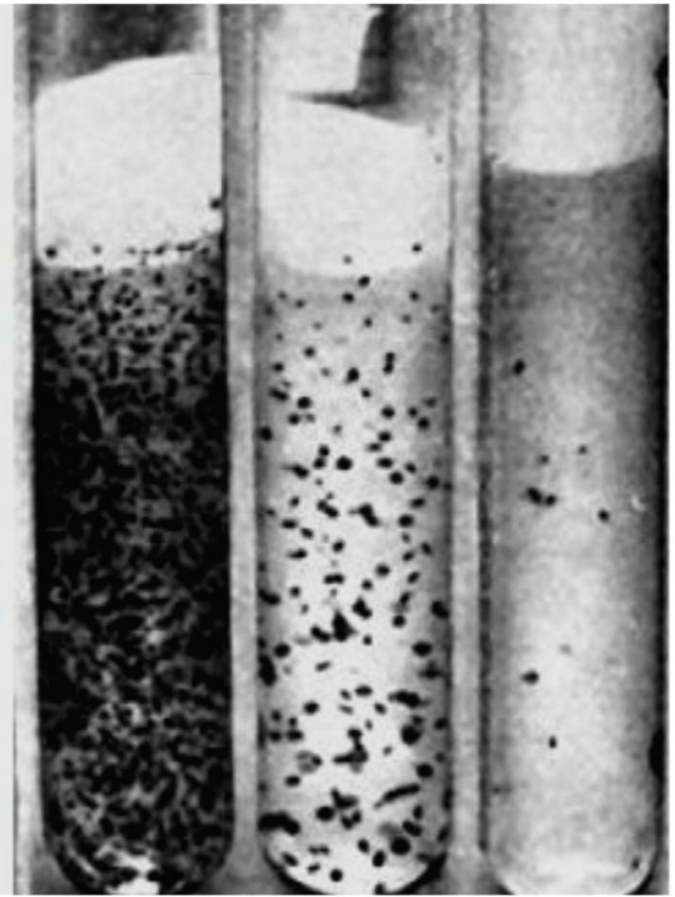
Paster pipetkası ilə götürülmüş bulyon kulturasından 1 damla - I kasadakı qidalı mühitin səthinə qoyulur;
damla - steril şpatellə qidalı mühitin səthinə yayılır;
sonra - şpatel heç yerə toxunulmadan ehtiyatla kasadan çıxarılır, II kasadakı mühitin və III kasadakı mühitin səthinə sürtülür; sonra Petri kasaları tərsinə çevrilir, üzərində qeydlər aparılır və anaerostatın içərisinə qoyulur; anaerostatın qapağı bağlanır, içərisindən hava vakuum nasosu ilə sorulur və termostatda inkubasiya edilir.



1



2



3

Anaerobların (klostridilərin) təmiz kulturasının alınması: 1 - Kitt-Torotsi mühitində Clostridium perfringens kulturası; 2 - Seysler mühitində Clostridium perfringens koloniyaları; 3 - Vinyal-Veyon borusunda Clostridium perfringens koloniyaları

Veynbergq üsulu ilə təmiz kultura almaq üçün - anaerob

bakteriyalar aqarın dərinliyində kultivasiya olunur:

İçərisində şəkərli aqar olan 4-5 ədəd Vin-yal-Veyon borusu götürülür;

su hamamında - 80°C -də 20-30 dəq qızdırılır;

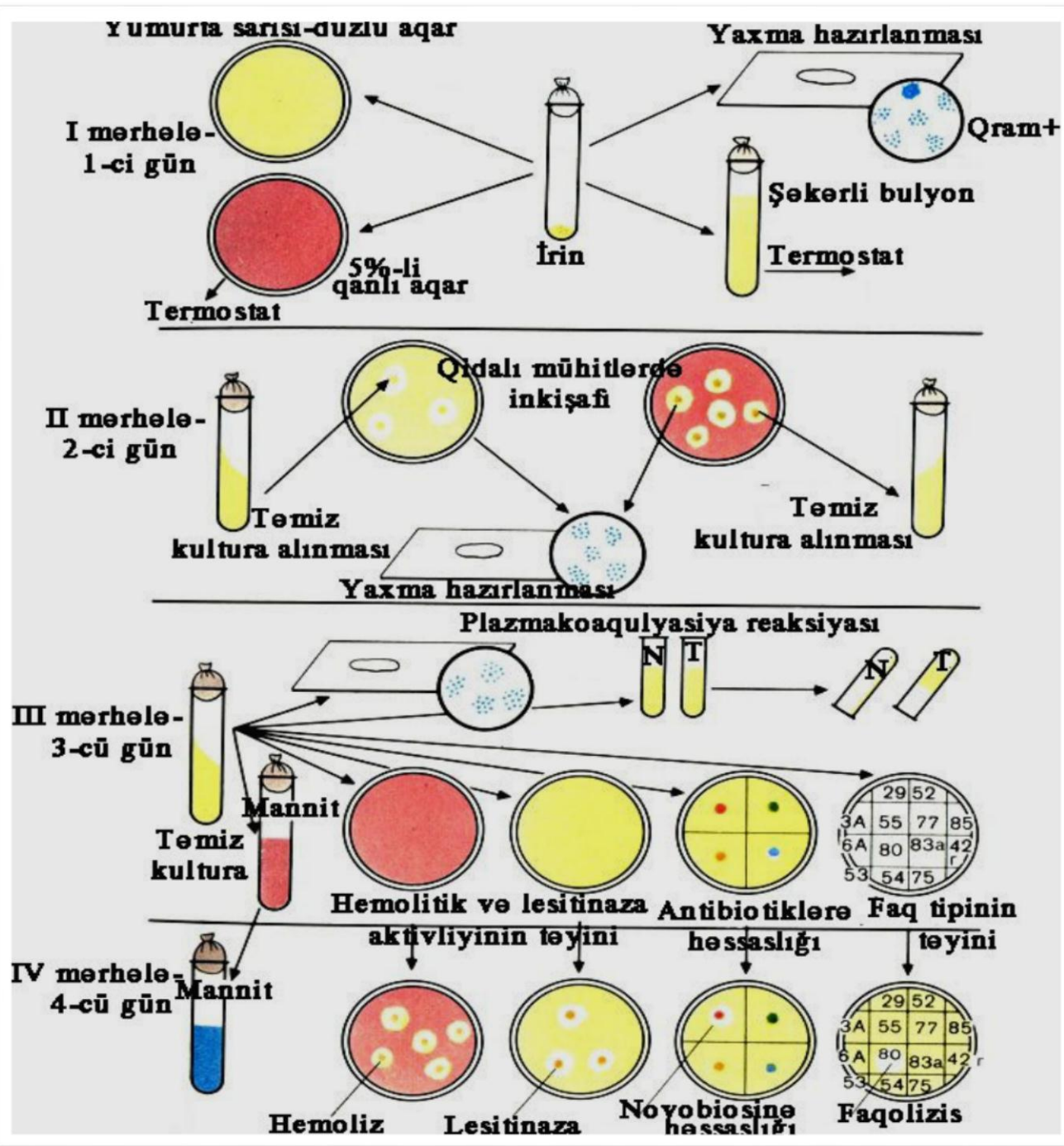
aqar əridikdə - onun içərisindən həll olmuş oksigen çıxır, sonra aqar $40-45^{\circ}\text{C}$ -yə qədər soyudulur;

Paster pipetkası ilə Kitt-Tarotsi mühitindəki kulturedən 1 damla götürülür və 1-ci borudakı mühitə əlavə edilir;

boru ovuclarının içərisində fırladılmaqla kultura, aqarda qarışdırılır və 1 damla qarışıq götürülərək - 2-ci boruya əlavə edilir və eyni qayda ilə qarışdırılır, sonra - damla bu qayda ilə 3-ə, 4-ə, 5-ə əlavə edilərək qarışdırılır və durulaşdırılır (Veyenberq durulaşması);

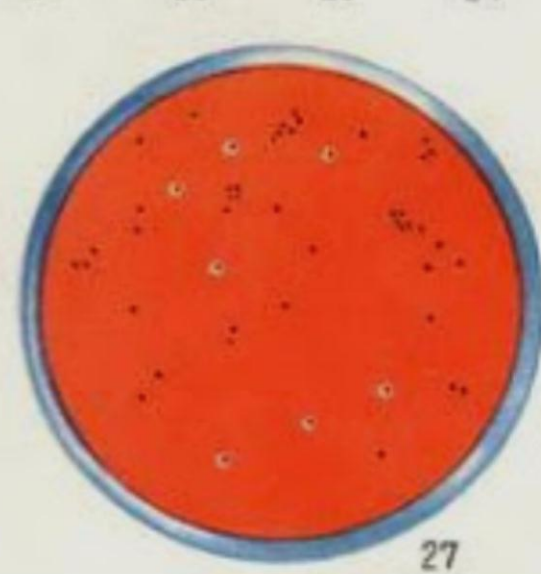
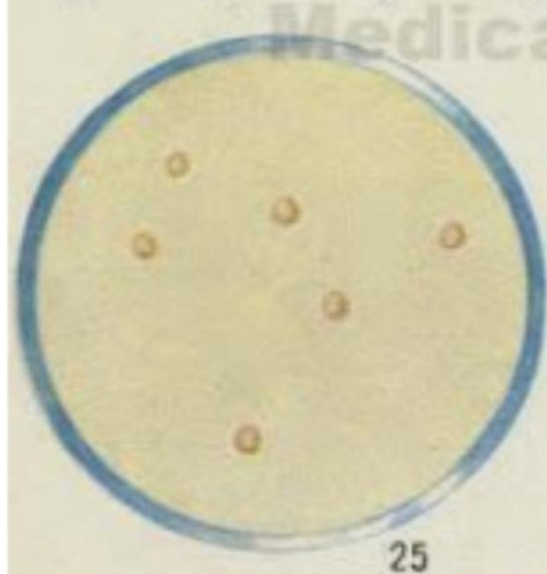
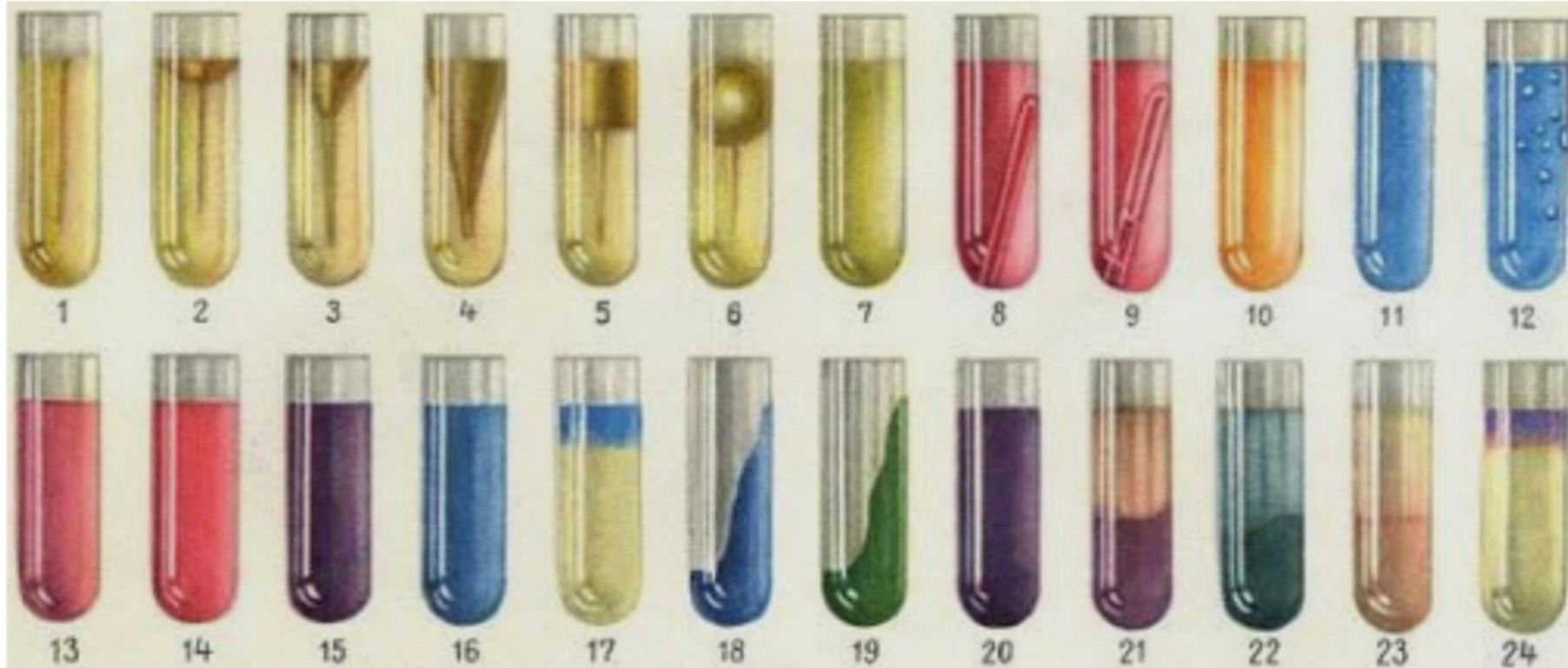
borulardakı aqarın tez bir zamanda bərkiməsi üçün - onlar bir-neçə dəqiqə ərzində buz olan qabda və ya axar soyuq su altında saxlanılır;

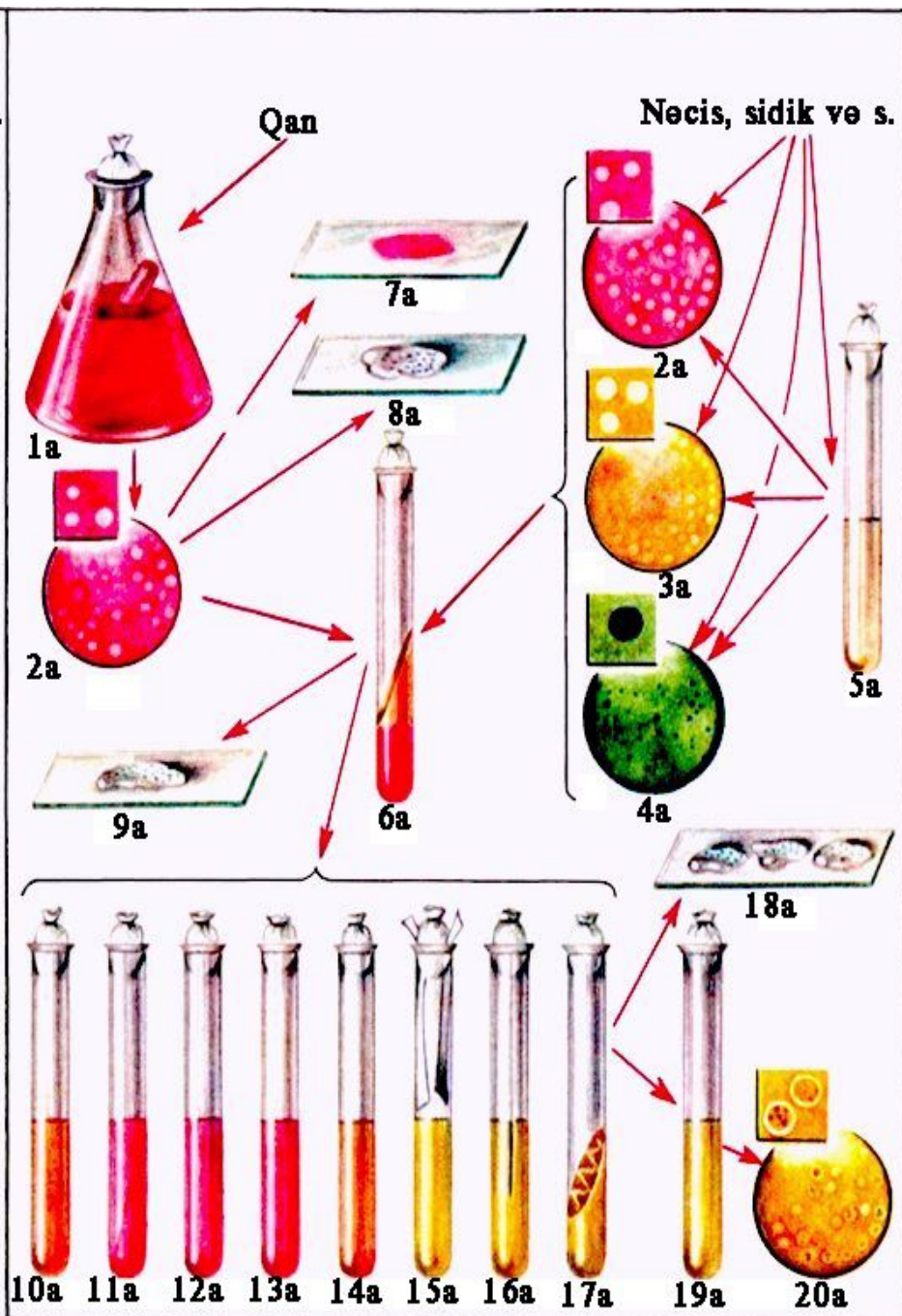
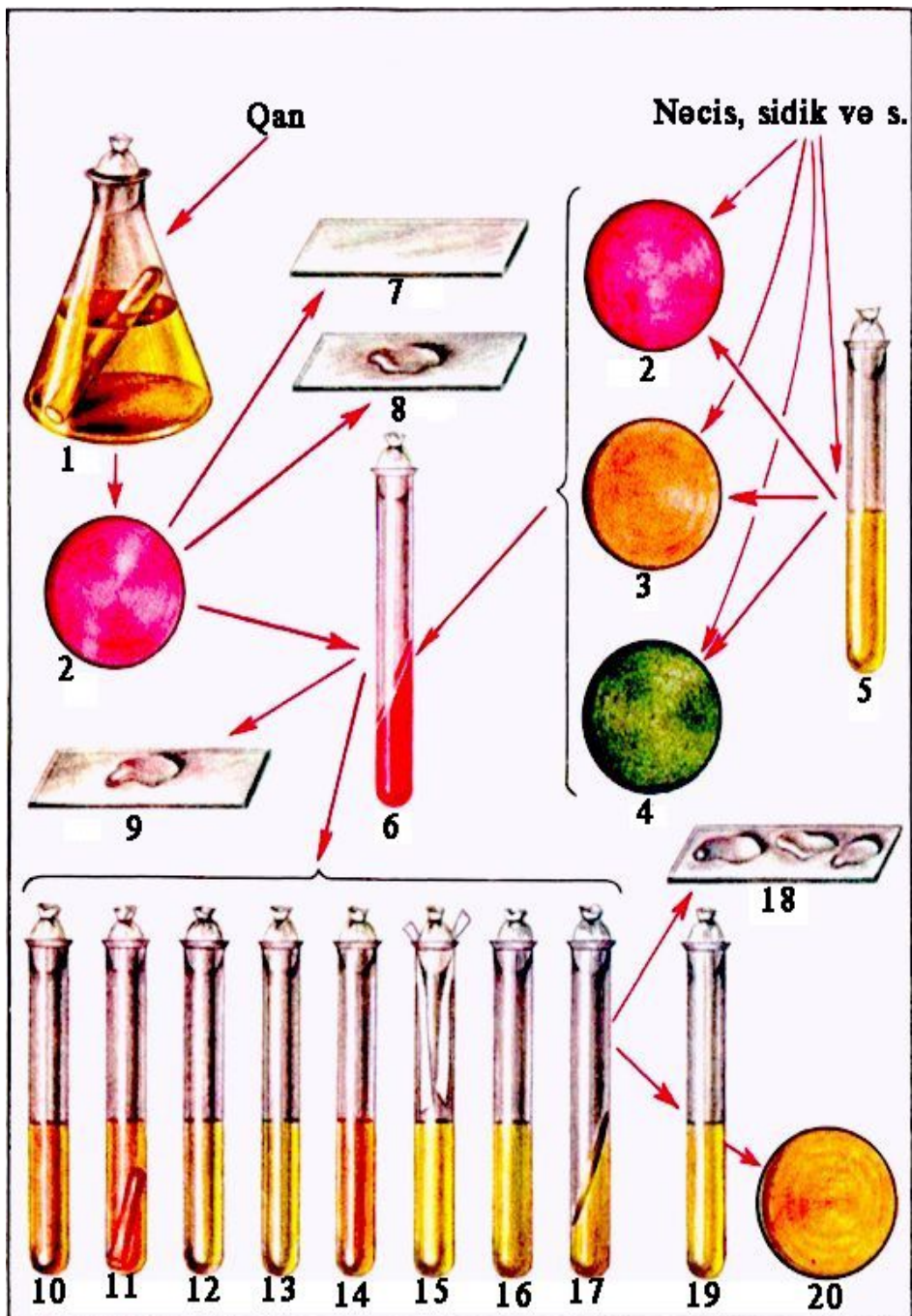
məqsəd - hüceyrələrin aqarın dərinliyində və müxtəlif yerlərində qalması, orada inkişaf edib izolə halda koloniya əmələ gətirməsidir, sonra Vinyal-Veyon boruları - termostata qoyulur və 37⁰C-də 24-72 saat inkubasiya olunur.



***Bakteriyaları differensiasiya etmək üçün* - əsas fermentativ aktivlikləri öyrənilir**

- oksidaza sınağı qoyulur;
- qlükozanın aerob və anaerob şəraitdə parçalaması təyin edilir;
- saxarolitik aktivliyi təyin edilir;
- proteolitik aktivliyi:
- ammonyak,
- hidrogen sulfid,
- indol təyin edilir:
- hemolitik xassəsi öyrənilir;
- antigen xüsusiyyətləri öyrənilir;
- toksigenliyi və virulentliyi öyrənilir
- antibiotiklərə qarşı həssaslığı təyin edilir.







Oksidaza və katalaza sınaqları

Katalaza fermentinin təyini:

aşya şüşəsi üzərinə - bir-neçə damla 1-3%-li hidrogen-peroksid (H_2O_2) məhlulu tökülür;

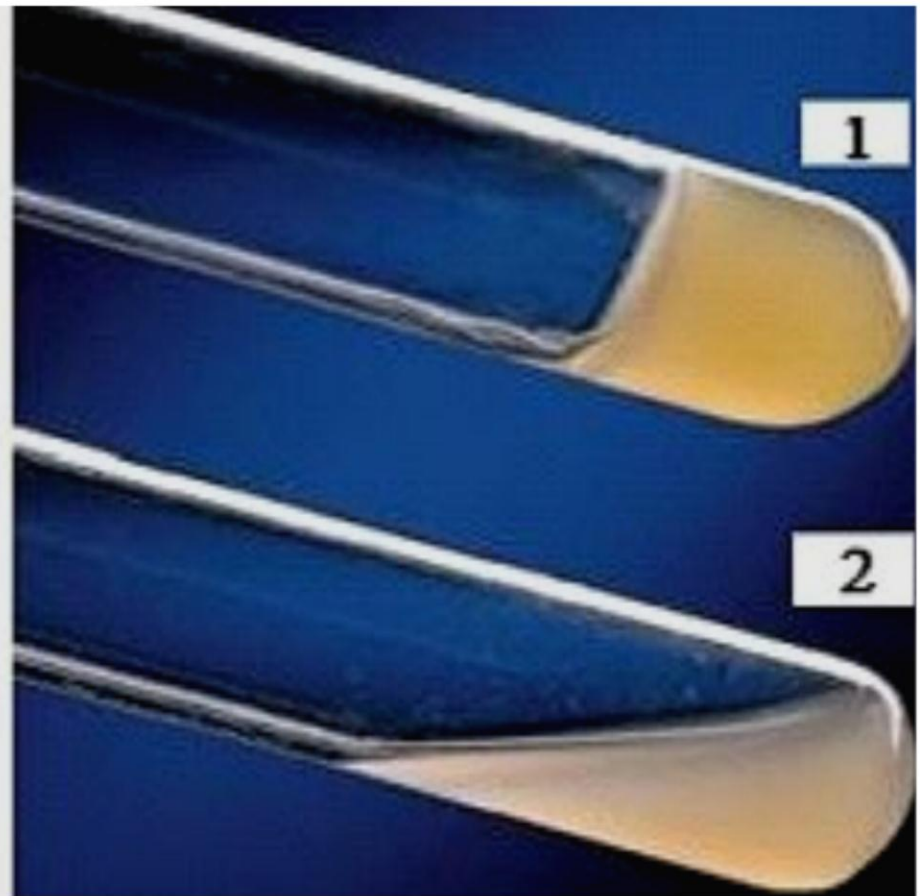
üzərinə ilgəklə götürülmüş müayinə kulturası əlavə edilir;

damlada qaz qabarcıqları və köpüklənmənin əmələ gəlməsi, kulturada olan bakteriyanın katalaza fermenti əmələ gətirdiyini göstərir;

katalaza fermenti - hidrogen-peroksidi oksigen və suya ($\text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$) parçalayır.



a



b

*Fermentativ aktivliyinin təyini: a) katalaza sınağı (+);
b) plazmokoagulazanın təyini: 1) +, 2) -*

Saxarolitik aktivliyin təyini
(Hissin – “əlvən” sırasında):

Hissin qısa “əlvən” sırası - 1%-li peptonlu su, qlükoza, laktoza, maltoza, saxaroza, mannit, Andrede və ya brom-timol indikatoru və 3 cm uzunluqda, bir ucu bağlı şüşə borucuqdan ibarətdir;

alınmış təmiz kultura - ilgəklə “əlvən” sıraya inokulyasiya edilir;

termostatda - 37⁰C-də 18-24 saat inkubasiya olunur;

1 sutkadan sonra nəticə qeyd olunur:

- **bakteriya şəkəri turşuya qədər parçaladıqda** - mühitin rəngi indikatorlardan asılı olaraq qırmızı və ya göy rəngdə olur, həm də qaza qədər parçalanıbsa, onda mühitin rənginin dəyişilməsi ilə yanaşı, borucuqda qaz qabarcıqları da olur.



1 2 3
a



1 2 3
b

Proteolitik aktivliyin təyini:

♦**təmiz kulturadan** - Kolle qələminin iynə ucluğu ilə sü-tunvari jelatinə (10-20%-li) inokulyasiya edilir;

jelatinli mühit - bir-neçə gün otaq temperaturunda (20-22⁰C) saxlandıqdan sonra baxılır;

jelatinaza fermentinə malik olan bakteriyalar - jelatini müxtəlif formalarda (corab, mismar, qıf, tərsinə çevrilmiş küknar ağacı və s.) əridir;

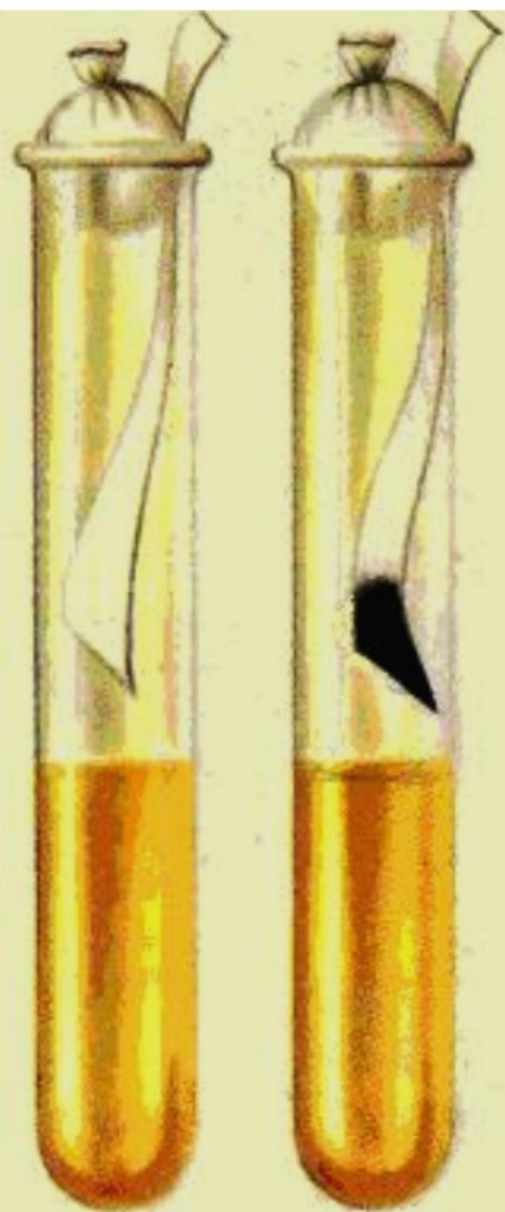
ielatini: stafilokoklar - corab, qarayara basilləri - tərsinə çevrilmiş küknar ağacı, vəba vibrionları - mismar şəklində əridirlər.



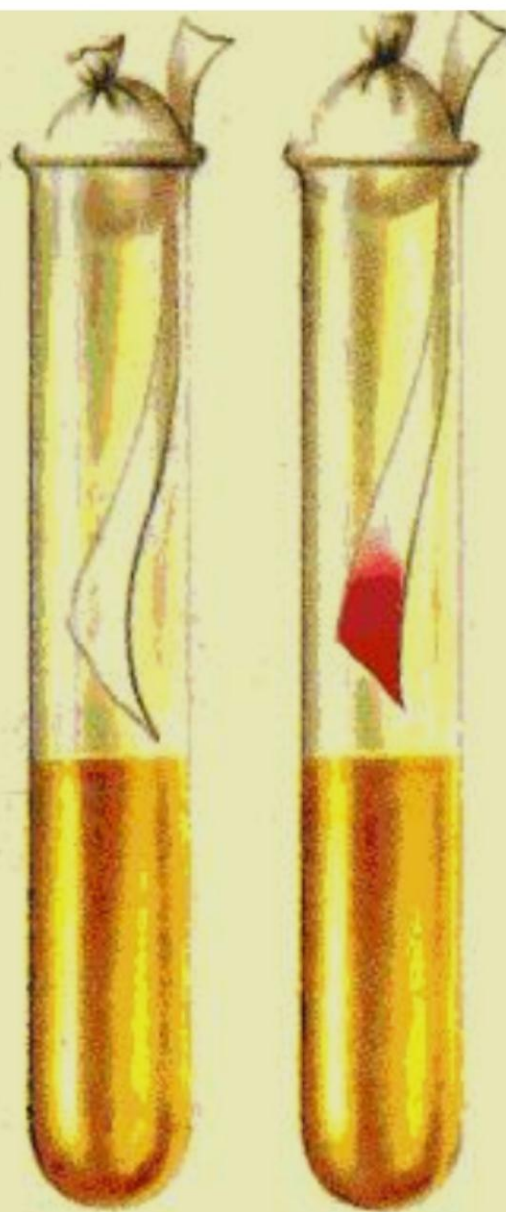
Laxtalanmış qan zərdabında - inokulyasiyadan sonra inkişaf etmiş koloniyaların ətrafında ərinmiş çuxurcuğun olması, həmin bakteriyaların proteolitik aktivliyə malik olmasını göstərir.

Süddə - inokulyasiyadan sonra inkişaf etmiş bakteriyalar kazein zülalını peptona qədər parçalayaraq onu sarımtıl rəngdə süd zərdabına (süd peptonlaşır) çevirir.

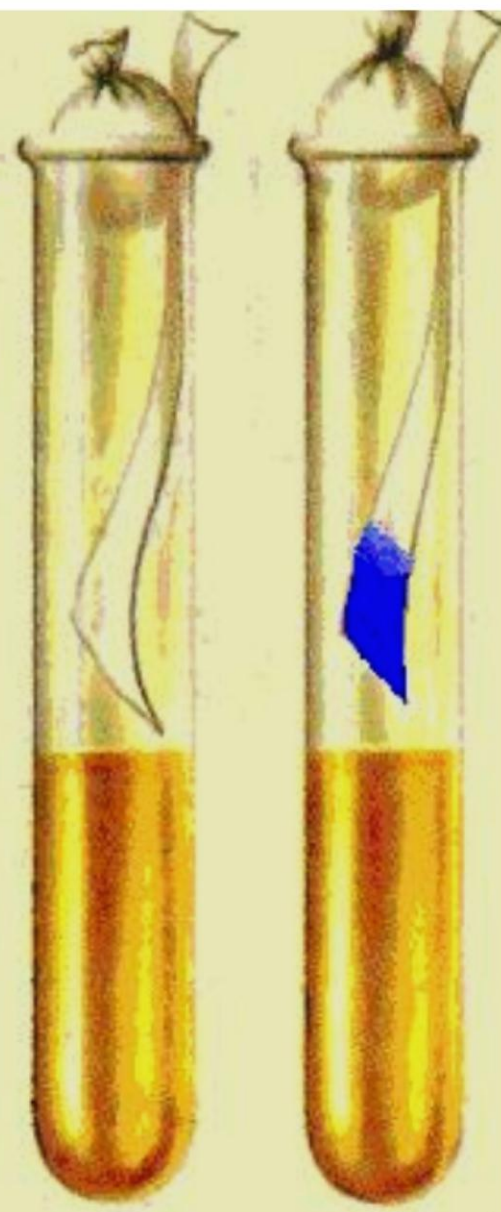
Lakmuslu süddə - inokulyasiyadan sonra inkişaf etmiş bakteriyalar kazein zülalını parçalayaraq turş məhsullar əmələ gətirdikdə o, qırmızı rəngə, qələvili məhsullar əmələ gətirdikdə göy rəngə boyanır.



1 2
II



1 2
III



1 2
IV

Bakteriyaların zülalları parçalayaraq - ammonyak, hidrogen sulfid, indol və s. əmələ gətirmələrinin təyini daha çox diaqnostik əhəmiyyətə malikdir;

müayinə kulturası - ilgəklə sınaq borusunda olan ət-peptonlu bulyona (ƏPB) inokulyasiya edilir;

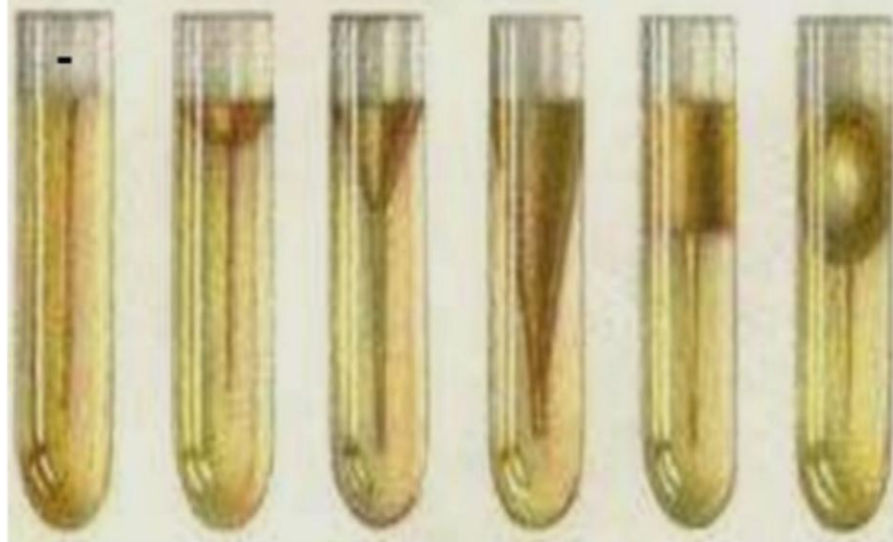
termostatda - 37⁰C-də 24-48 saat inkubasiya olunur.

Ammonyak - əmələ gəlməsini öyrənmək üçün 4-5 sm uzunluqda lakmus kağızı istifadə edilir:

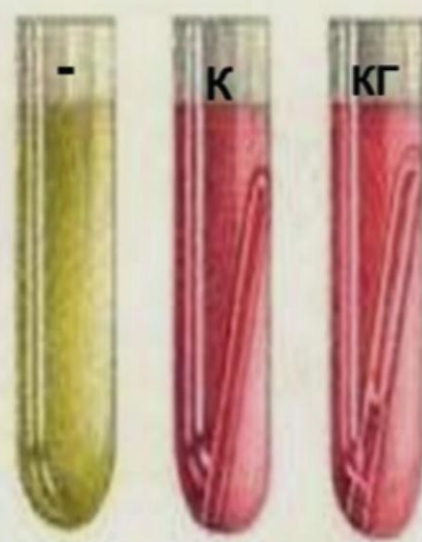
kultura - ƏPB-a inokulyasiya edildikdən sonra lakmus kağızı tıxacla birlikdə boruya daxil edilir və borunun ağzı bağlanılır;

termostatda - 37⁰C-də 24-48 saat inkubasiyadan sonra nəticəyə baxılır: lakmus kağızının göyərməsi - mikrobu zülalı parçalayaraq ammonyak əmələ gətirməsini göstərir.

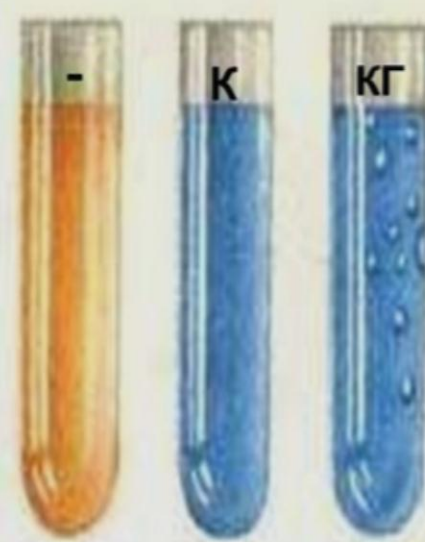
Биохимические свойства бактерий



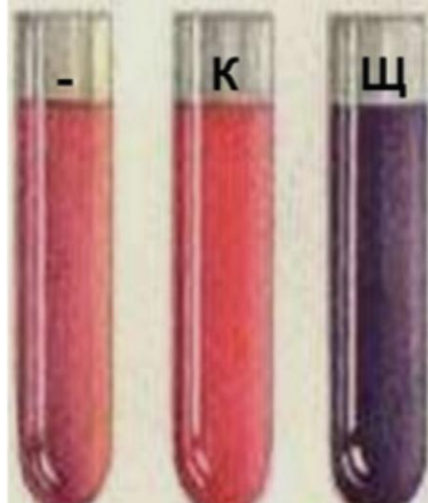
Формы расщепления желатины



Жидкая среда с углеводом и индикатором Андреде



Полужидкая среда с углеводом и индикатором ВР



Лакмусовая сыворотка по Зейтцу



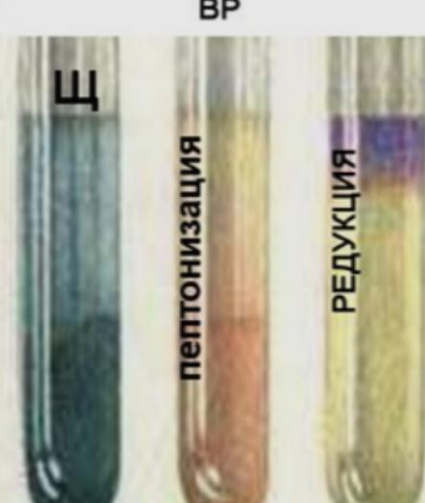
Молоко с метиленовым синим



Среда Симонса



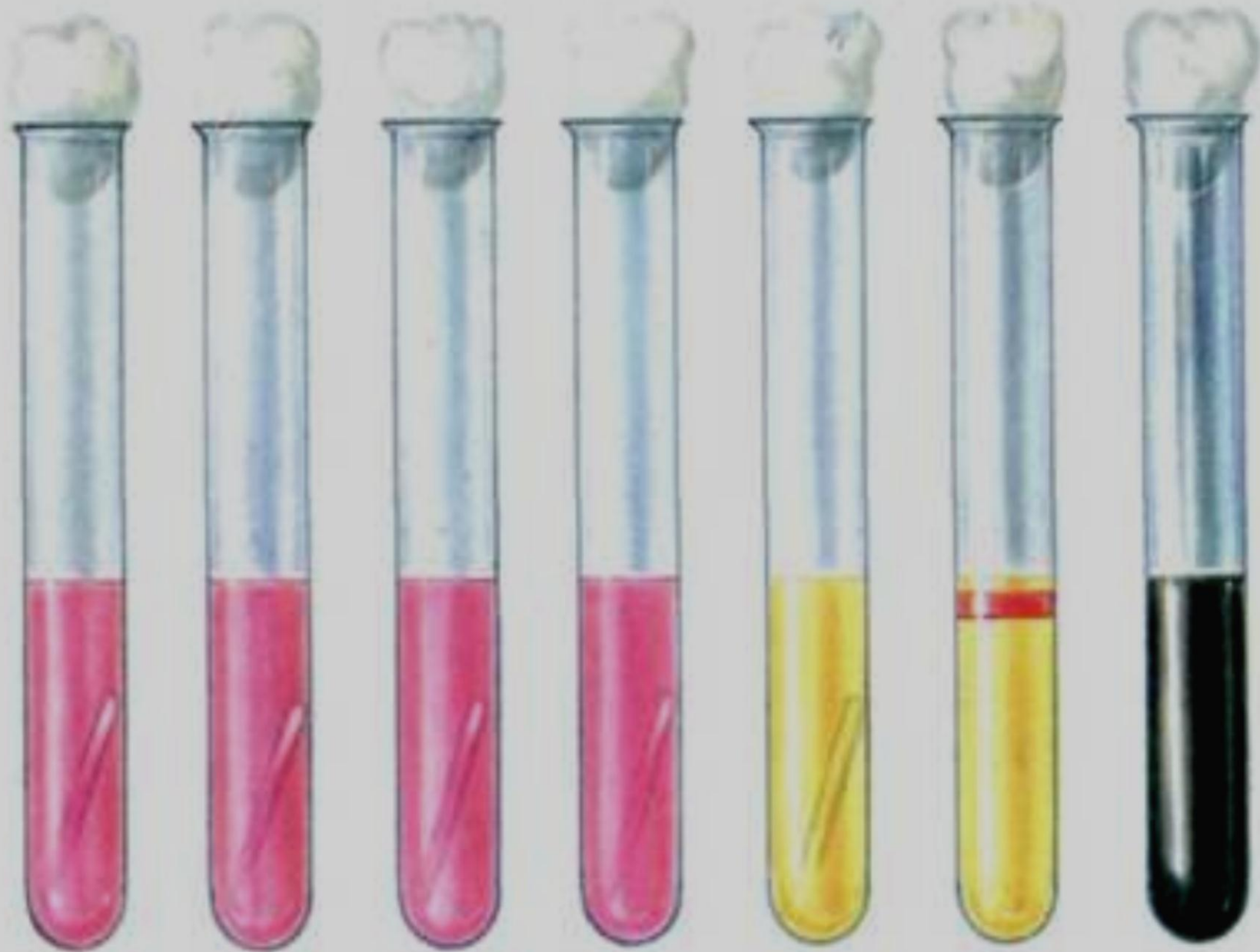
Лакмусовое молоко



Hidrogen sulfid (H_2S) - əmələ gəlməsini öyrənmək üçün 20%-li qurğuşun-asetatda isladılmış və qurudulmuş 4-5 sm uzunluqda süzgəc kağızından istifadə edilir:

♦ kultura - ƏPB-a inokulyasiya edildikdən sonra süzgəc kağızı tıxacla birlikdə boruya daxil edilir və borunun ağzı bağlanılır;

♦ termostatda - 37°C-də 24-48 saat inkubasiyadan sonra nəticəyə baxılır: süzgəc kağızının qaralması mikrobun zülalı parçalayaraq hidrogen sulfid əmələ gətirməsini göstərir.



a

б

в

г

İndol - əmələ gəlməsini öyrənmək üçün 3 üsuldan (Morel, Erlix və Kovaç üsulları) istifadə olunur:

▪ **Morel üsulundan** daha çox istifadə edilir:

12%-li oksalat turşusunda isladılmış və qurudulmuş 4-5 sm uzunluqda süzgəc kağızından istifadə edilir;

kultura - ƏPB-a inokulyasiya edildikdən sonra süzgəc kağızı tıxacla birlikdə boruya daxil edilir və borunun ağzı bağlanılır;

termostatda - 37⁰C-də 24-48 saat inkubasiyadan sonra nəticəyə baxılır: süzgəc kağızının qızarması - mikrobu zülalı parçalayaraq indol əmələ gətirməsini göstərir.

negative Indole

positive Indole



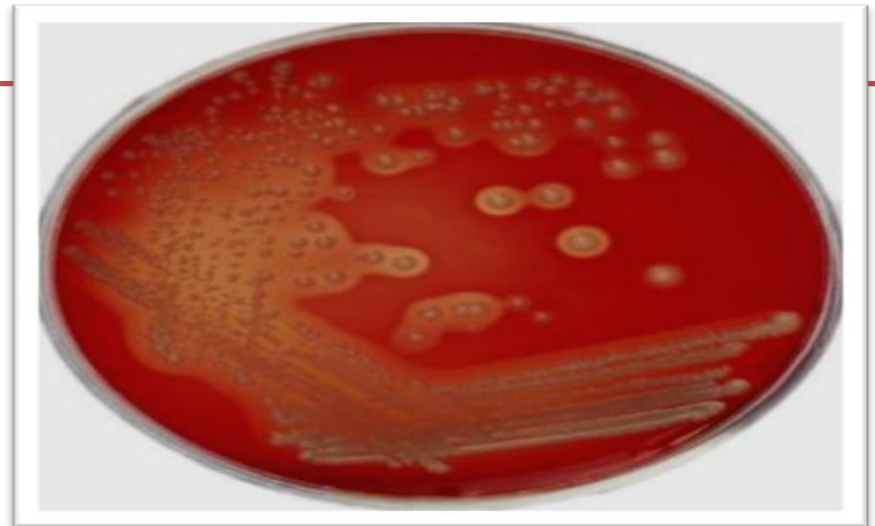
Hemolitik xassəsinin öyrənilməsi:

təmiz kultura - qanlı mühitlərə inokulyasiya edilir;
termostatda - 37°C-də 24-48 saat inkubasiyadan sonra nəticəyə baxılır;

qanlı bulyonun - şəffaflaşması,

qanlı aqarda - inkişaf etmiş koloniyaların ətrafında şəffaf hemoliz zonasının əmələ gəlməsi, kulturanın hemolizin (β -hemolizin) əmələ gətirməsini göstərir;

bakteriyalar hemoqlobini - methemoqlobinə çevirdikdə bulyon yaşıllaşır və ya aqarda koloniyaların ətrafında yaşılmıtlı hemoliz (α -hemolizin) zonası əmələ gəlir.



Antigen xüsusiyyətlərini - öyrənmək üçün seroloji reaksiyalardan istifadə edilir

Toksigenliyi və virulentliyini - öyrənmək üçün laborator heyvanlar yoluxdurulur

Antibiotiklərə həssaslığı - bərk və maye qidalı mühitlərdə disk-diffuziya (keyfiyyət üsulu) və durulaşdırma (kəmiyyət üsulu) üsulları ilə öyrənilir.

Saxarolitik xassənin təyini

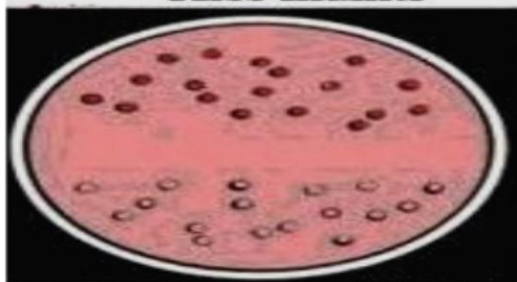


1 2 3



1 - kontrol
2 - turşu
3 - turşu və qaz
əmələ gəlməsi

Hiss mühiti



Endo mühiti



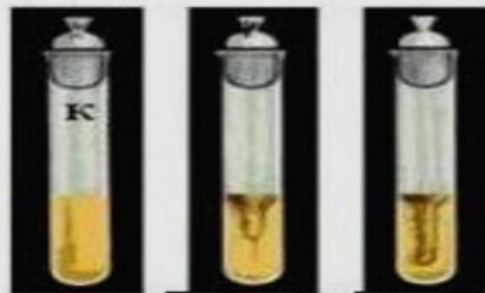
Ressel mühiti

Proteolitik xassənin təyini

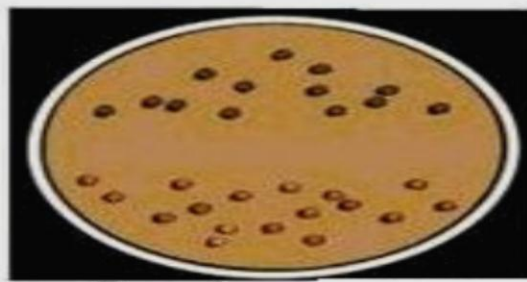


1 2 3

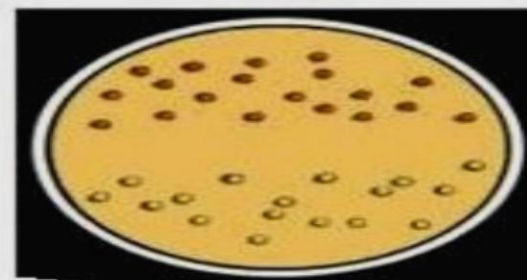
1 - kontrol
2 - H_2S
3 - indol
əmələ
gəlməsi



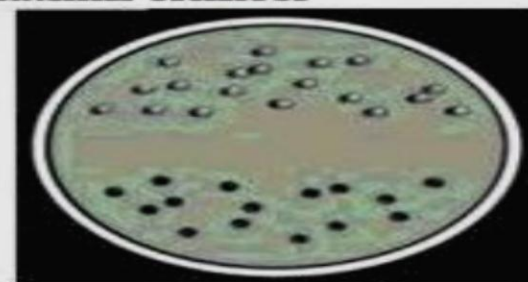
Jelatinin əriməsi



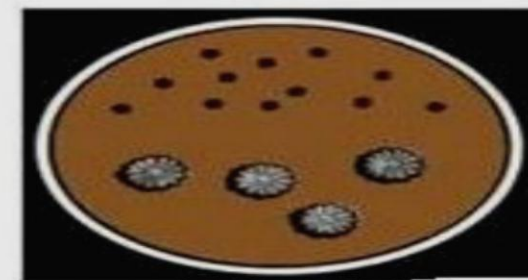
Levin mühiti



Ploskirov mühiti



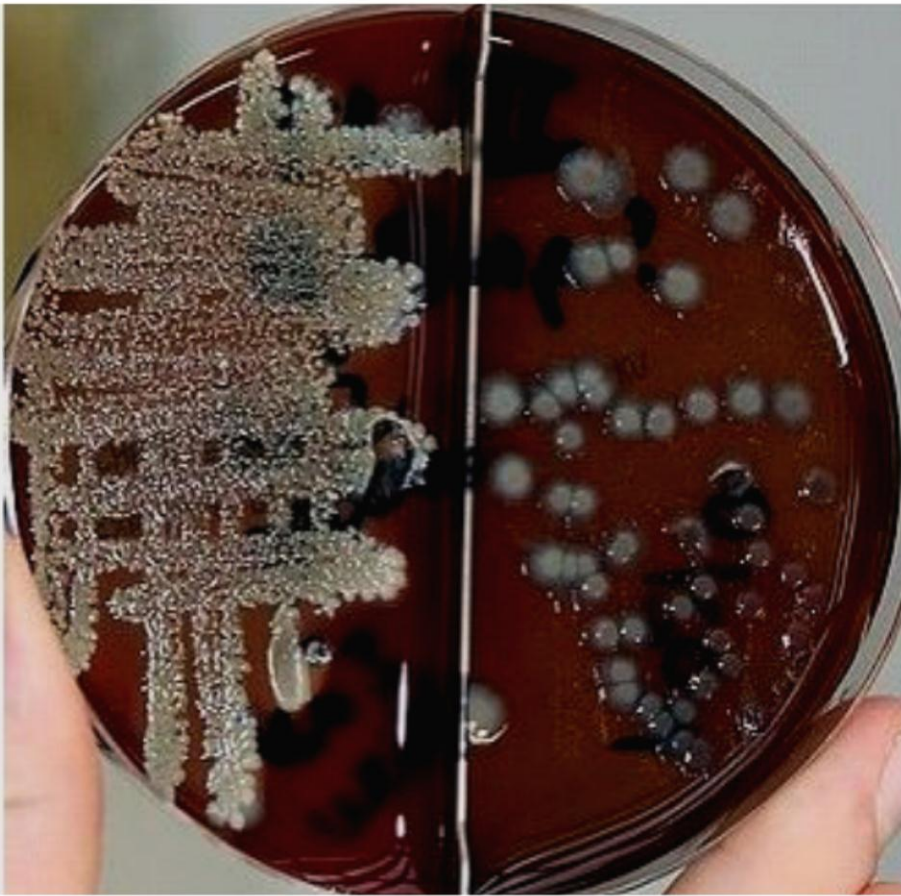
Bismut-sulfit aqar



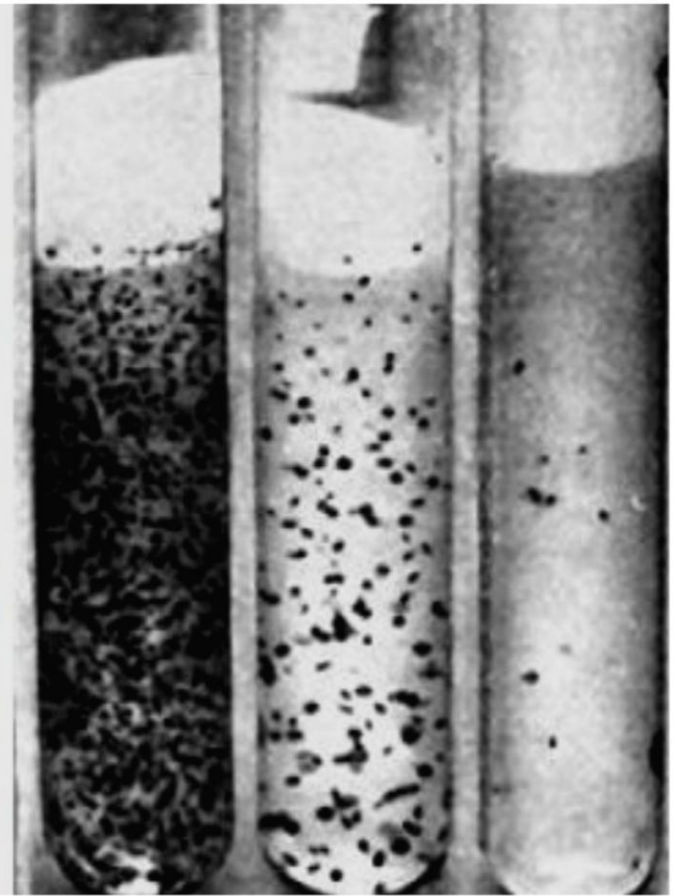
Klauberq mühiti



1



2



3

Anaerobların (klostridilərin) təmiz kulturasının alınması:

- 1 - Kitt-Torotsi mühitində Clostridium perfringens kulturası;*
- 2 - Seysler mühitində Clostridium perfringens koloniyaları;*
- 3 - Vinyal-Veyon borusunda Clostridium perfringens koloniyaları*

♦ ***koloniyalar*** - Paster pipetkasının ucunu aqara daxil et-məklə götürülür, yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilir və mikroskopda baxılır:

- qram müsbət boyanmış iri ölçülü, oxşar bakteriya hü-ceyrələri görünür;

- hüceyrələrin forması, ölçüsü, yerləşmə qaydası, spora və kapsulasının olub-olmaması müəyyən edilir;

sonra həmin koloniyadan və ya ona oxşar koloniyadan ilgəklə götürülür;

əvvəlcədən qızdırılmış Kitt-Tarotsi mühitinə inokulyasiya edilir;

mühitin üzərinə - 0,5-1 sm qalınlığında steril vazelin yağı tökülür;

termostatda - 24-72 saat inkubasiya olunur.

4-cü gün - Kitt-Tarotsi mühitində alınmış təmiz kulturanın xüsusiyyətlərinin öyrənilməsindən ibarətdir;

alınmış təmiz kultura vizual olaraq baxılır:

- mühit bulanıb,
- qaraciyər tikəsi dağılıb,
- qaz qabarcıqları vardır,
- sınaq borusunun dibində çöküntü əmələ gəlib;

belə inkişafın olması mühitdə anaerobların olmasını göstərir;

kulturadan bakterial ilgəklə və ya Paster pipetkəsi ilə götürülür - yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilib, mikroskopda baxılır:

- qram müsbət boyanmış iri ölçülü, oxşar bakteriya hüceyrələri görünür;

- hüceyrələrin forması, ölçüsü, yerləşmə qaydası, spora və kapsulasının olub-olmaması müəyyən edilir;

eyni rəngdə, ölçüdə və formada hüceyrələrin olması - kulturanın təmiz olması deməkdir.

Təmiz kultura identifikasiya olunur:

morfoloji, tinktorial, kultural xassələri öyrənilməklə yanaşı, fermentativ, antigen, toksigenlik xassələri, faqa həssaslıqları və növə məxsus bütün əlamətlər öyrənilir;

sonra onun taksonomik vəziyyəti - cinsi, növü, tipi müəyyənləşdirilir. tədqiqatların nəticələri hesablanır və analiz olunur:

morfoloji, kultural, biokimyəvi, antigen və s. xassələr məlum növün və variantların xassələri ilə müqayisə olunur;

anaerob bakteriyanın - hansı növə aid olduğu haqda son nəticə çıxarılır və cavab yazılır.

**DİQQƏTİNİZƏ GÖRƏ
TƏŞƏKKÜR
EDİRƏM!**