



AZƏRBAYCAN TİBB UNIVERSİTETİ
TİBBİ MİKROBİOLOGİYA və İMMUNOLOGİYA KAFEDRASI

Məşğələ 3.

Bakteriyaların ultrastrukturunu. Turşuya davamlı bakteriyalar və onların Sil-Nilsen üsulu ilə boyadılması. Sporlar və onların Ojeşko üsulu ilə rənglənməsi. Hüceyrə daxili əlavələr və onların Neysser üsulları ilə boyadılması

FAKÜLTƏ: *Müalicə-profilaktika*
FƏNN: *Tibbi-mikrobiologiya - 1*

Müzakirə olunan suallar:

- Bakteriya hüceyrəsinin strukturu (turşuya davamlı bakteriyaların quruluş xüsusiyyətləri).
- Turşuya davamlı bakteriyaların Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənmə texnikası.
- Sil-Nilsen üsulunun vərəmin diaqnostikasında rolu.
- Sporlar, sporların əmələ gəlmə şəraiti və mərhələləri.
- Sporların Ojeşko üsulu ilə boyama texnikası.
- Volyutin dənəcikləri və onların Neysser üsulu ilə aşkar edilməsi.

Məşğələnin məqsədi:

- Tələbələrə turşuya davamlı bakteriyalar, onların Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənmə texnikası, Sil-Nilsen üsulunun diaqnostikada rolunu izah etmək. Onlara sporlar, spor əmələ gətirən bakteriyalar, sporların forması, yerləşməsi, əhəmiyyəti, əmələ gəlmə prosesi və Ojeşko üsulu ilə rənglənmə texnikasını öyrətmək, eləcə də volyutin dənəciklərinin Neysser üsulu ilə rənglənmə texnikasını izah etmək.

Turşuya davamlı bakteriyalar

Hüceyrə divarının keçiriciliyi zəif olduğundan turşu, spirt və qələvi ilə rəngsizləşməyə davamlılıq göstərirlər. Bu xüsusiyyət onların hüceyrə divarında aşağıdakı maddələrin olması ilə əlaqədardır:

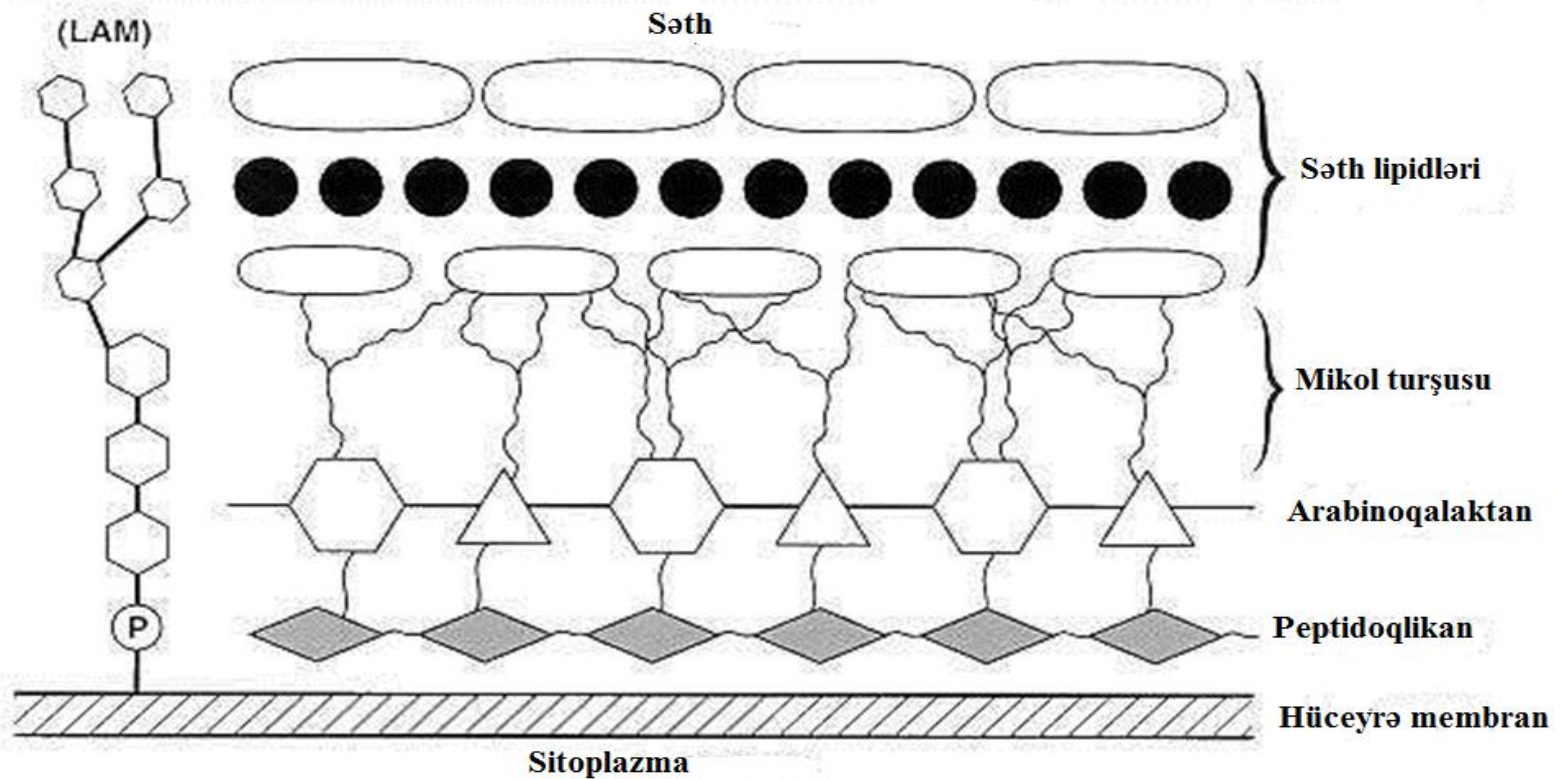
- Lipidlər
- Mikol turşusu (mumabənzər maddələr və s.)
- Oksiturşular və s.

✓ **Mycobacterium tuberculosis** (vərəm çöpləri)

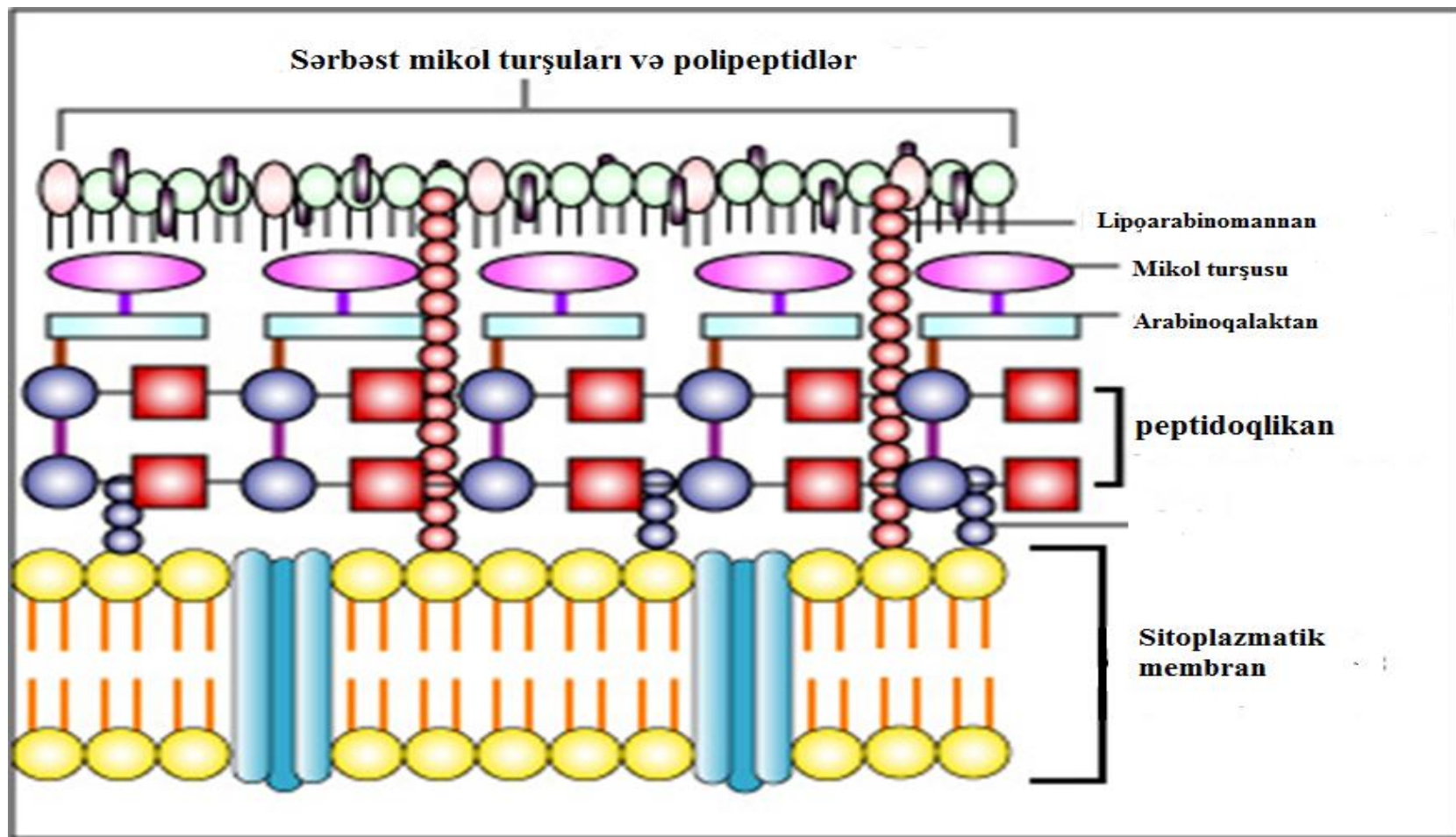
✓ **M.leprae** (cüzam çöpləri)

✓ **Actinomyces cinsinin** bəzi növləri

Turşuyadavamlı bakteriyaların hüceyrə divarının quruluş sxemi



Turşuyadavamlı bakteriyaların hüceyrə divarının quruluşu



Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləmə texnikası

Fiksasiya edilmiş yaxmanın üzərinə filtr kağızı qoyub karbol fuksin məhlulu əlavə edilir, alov üzərində buxar əmələ gələnə kimi qızdırılır, hər dəfə soyudularaq bu proses 2-3 dəfə təkrar edilir (soyuq rəng məhlulunu qaynar şüşə üzərinə əlavə edildikdə çatlamaması üçün).

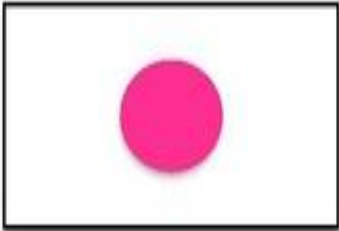
Filtr kağızı atılır, yaxma soyudulur, yuyulur və 5%-li sulfat turşusu, yaxud 3%-li xlorid turşusu məhluluna 3 dəfə salınmaqla (və ya 1-2 san. müddətində saxlamaqla) rəngsizləşdirilir.

Diqqətlə su ilə yuyulur və 3-5 dəq müddətində metilen abısı ilə rənglənilir. Sonra yenidən yuyulub qurudulur və mikroskopiya edilir. Turşuya davamlılar turşu ilə rəngsizləşdikləri üçün qırmızı-çəhrayı, davamsızlar isə rəngi itirdikləri üçün göy rəngə boyanır.

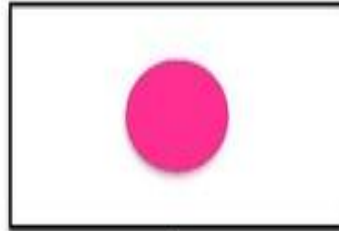
Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləmənin mərhələləri

Reaktivlər	Turşuya davamlı bakteriya	Rəng	Turşuya davamsız bakteriya	Rəng
İlk boya (karbol fuksin)		Qırmızı		Qırmızı
Rənsizləşdirici (turşu, spirt)		Qırmızı		Rəngsiz
Metilen abısı		Qırmızı		Mavi

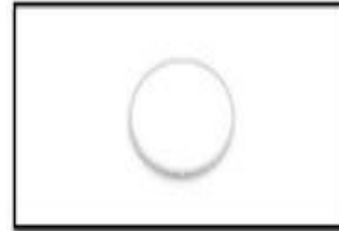
1. Apply primary stain of carbolfuscin for 30 seconds



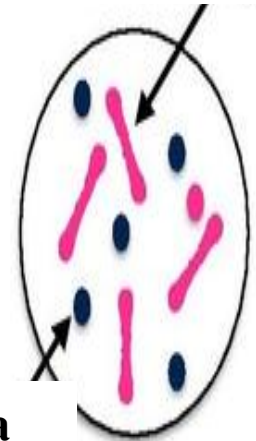
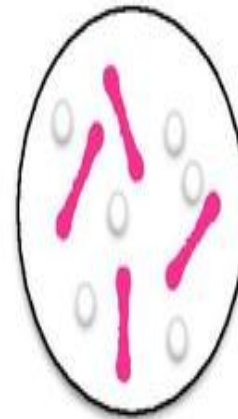
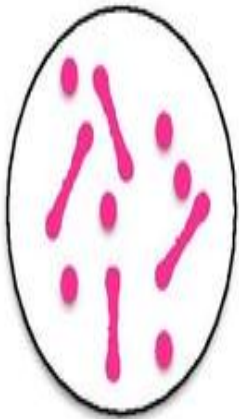
2. Heat fix cells to the slide using flame



3. Decolorize with acid alcohol for 15-20 seconds



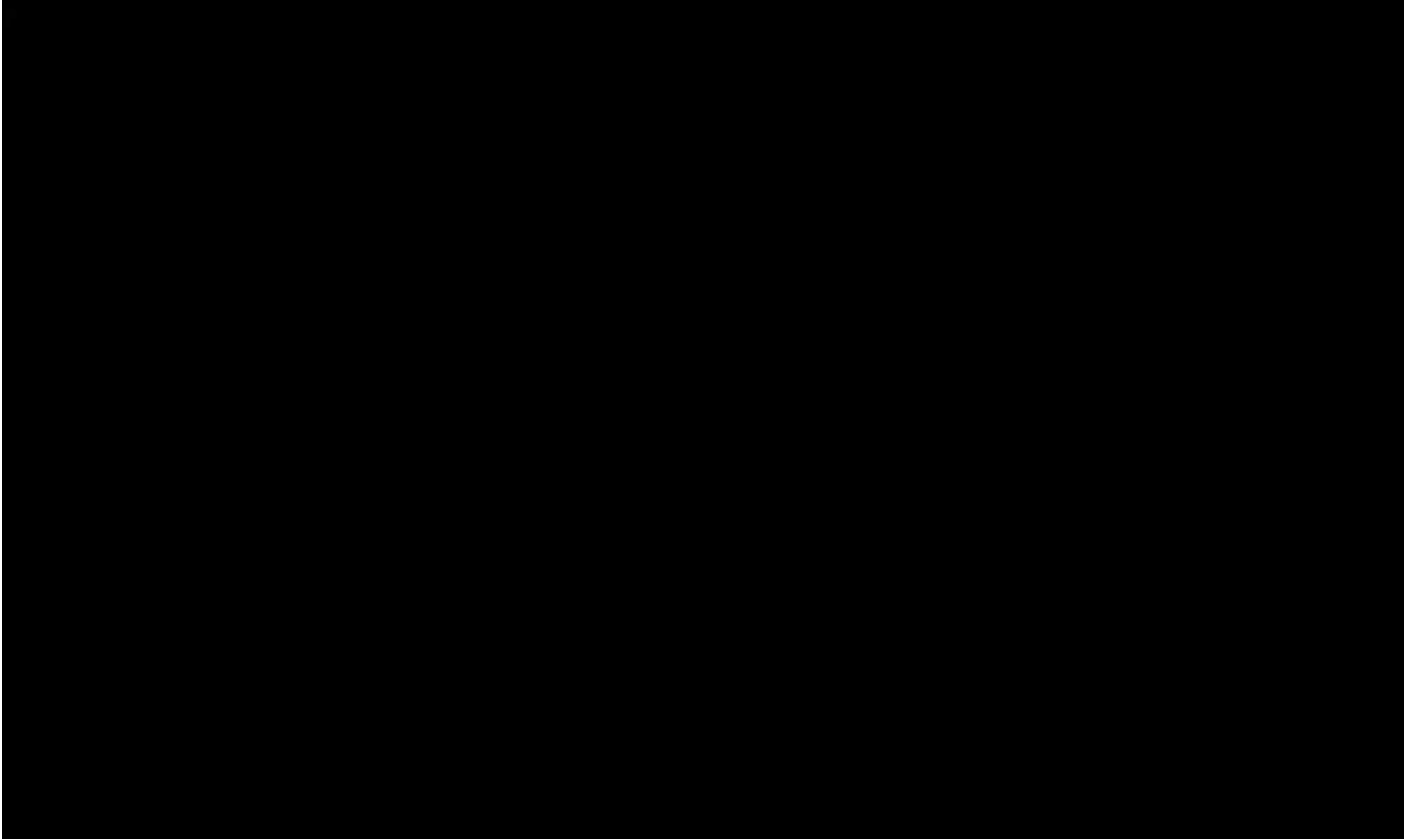
4. Apply counterstain of methylene blue for 30 seconds then rinse excess stain



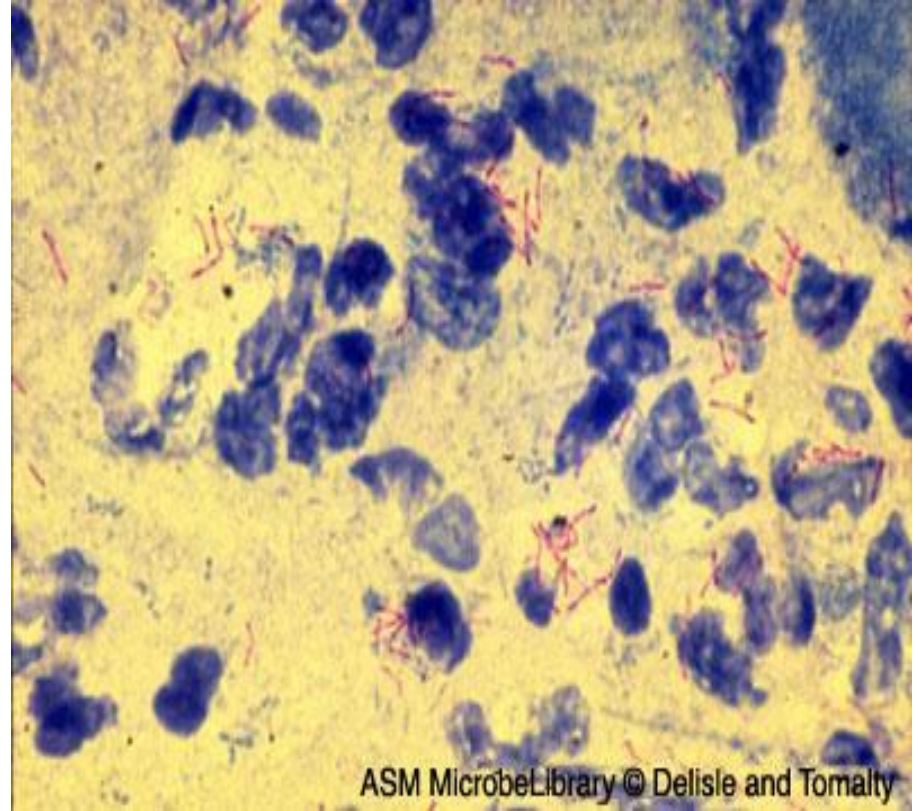
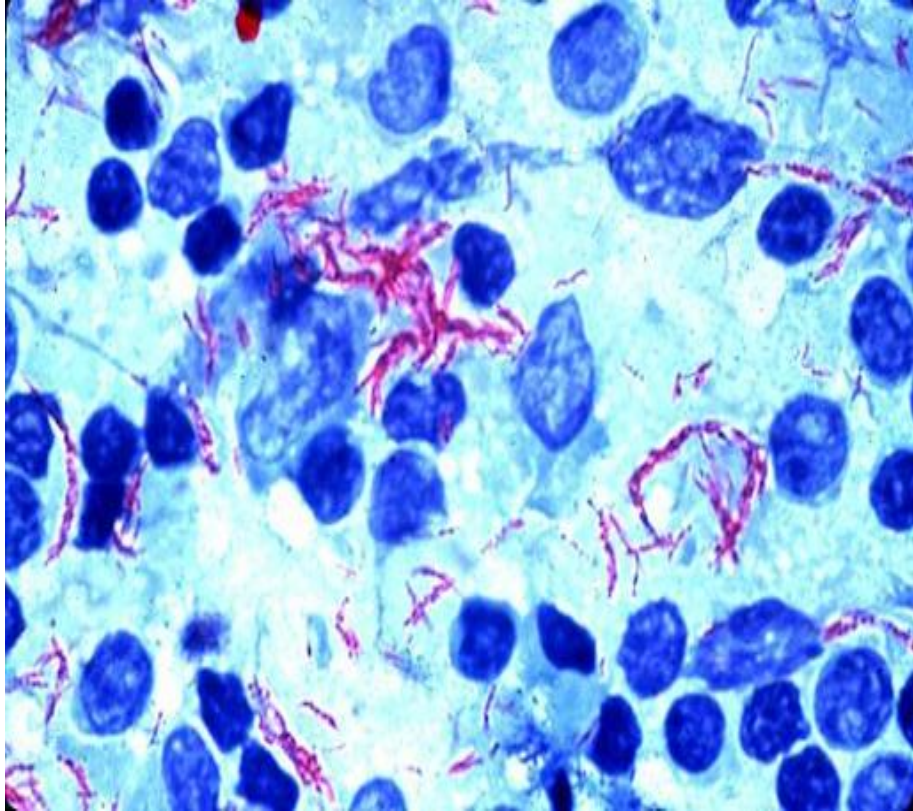
Turşuya davamlı bakteriya

**Turşuya
davamsız
bakteriya**

Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləmənin texnikası



Turşuya davamlı bakteriyalar



Turşuya davamlı bakteriyalar **qırmızı** rəngdə,
Turşuya davamsızlar **göy** rəngdə görünür

Bakteriyalarda spor və spor əmələ gəlmə

▪ **Təyini:** **SPOR** - ətraf mühitin əlverişsiz şəraitində bakteriya hüceyrəsində irsi informasiyanın saxlanılmasını təmin edən sükunət formasıdır.

▪ **Funksiyası** - müdafiə

- ətraf mühitin əlverişsiz fiziki-kimyəvi faktorlarından
- qidalı mühitin çatışmazlığı

▪ **Quruluşu** - DNT çox qatlı qişalarla, peptidoqlikan (korteks)

Bakteriyalarda spor və spor əmələ gəlmə

▪ Əmələ gəlmə yeri:

- ətraf mühit (insan orqanizmindən kənarda)
- süni qidalı mühitdə

▪ Temperatura davamlılıq faktorları:

- praktik olaraq sərbəst suyun olmaması
- kalsiumun konsentrasiyasının artması
- dipikalin turşusunun çox olması
- zülalın xüsusi quruluşa malik olması
- korteksin peptidoqlikanının xüsusi quruluşu

Bakteriya sporları

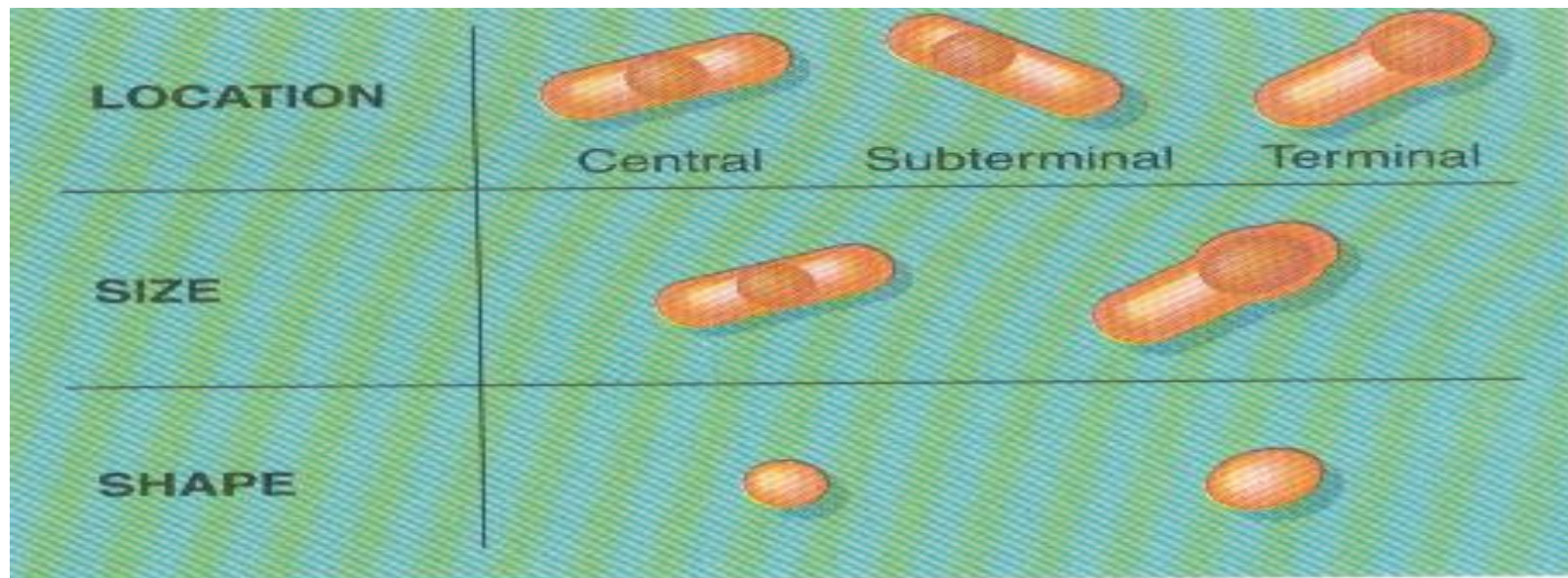
- Əlverişsiz şəraitdə növün qorunub saxlanması forması
- Sporulyasiya təqribən 20-24 saat davam edir
- Metabolik aktivliyi çox zəifdir
- Keçiriciliyi çox zəifdir
- Turşuya, qələviyə, spirtə temperatur təsirinə davamlıdırlar
- Yalnız Qram müsbət çöpvari bakteriyalarda (klostridi və basillər) rəsadüf edilir
- Bir bakteriyadan bir spor əmələ gəlir (sporulasiya)
- Bir spordan bir bakteriya əmələ gəlir (germinasiya)
- Sporlar ətraf mühitdə uzun müddət qalma xüsusiyyətinə malikdir
- İnsan orqanizmində yalnız vegetativ formada olur və yalnız bu forma xəstəlik törədə bilir

Bakteriyalarda sporların yerləşmə formaları

sentral – qarayara törədicisində (*B.antracis*)

terminal – tetanus törədicisində (*C.tetani*)

subterminal – botulizm (*C.botulinum*) və qazlı qanqrena (*C.perfringens*)



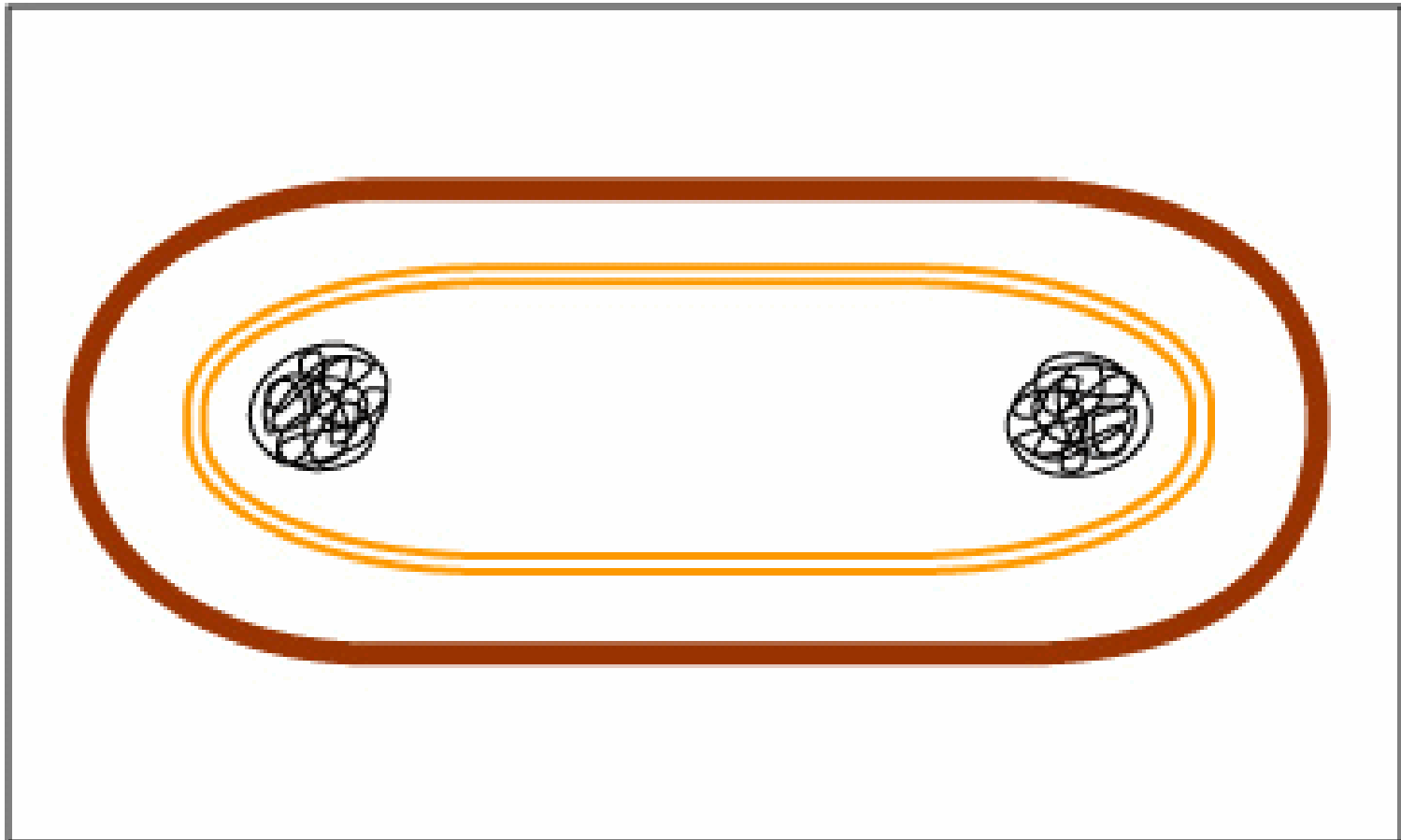
(a)



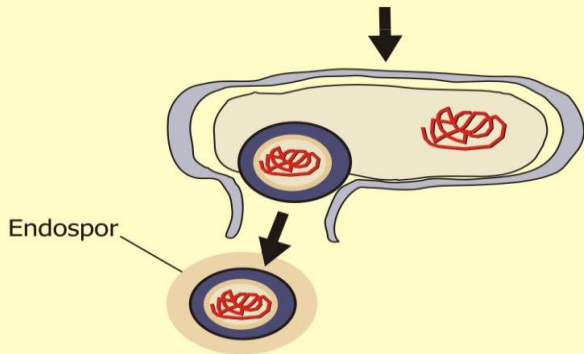
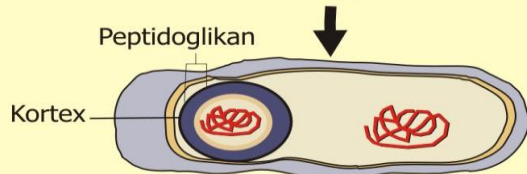
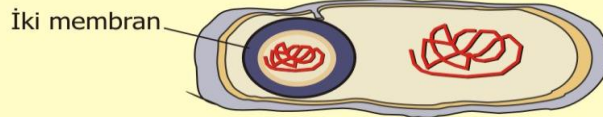
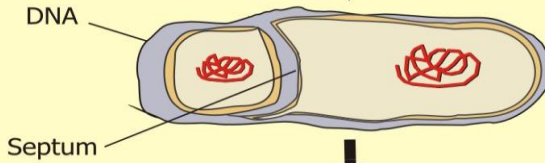
Sporulyasiya

- Əlverişsiz şəraitdə, ətraf mühitdə (torpaq və s.) baş verir
- Təqribən 20-24 saat davam edir
- Protoplasma nukleoid olan hissəyə sıxlaşır. Bu hissə **sporanın özəyi** adlanır.
- Fermentlərin aktivliyi artır.
- Unikal fermentlər- **dipikolinsintetaza (5-10%)**.
- Özəyin tərkibində **dipikolin turşusunun kalsium duzu** əmələ gəlir
- Özək peptidoqlikandan ibarət **spora divarı** adlanan qısa ilə əhatə olunur və **prospora** adlanır.
- Bu qatlar arasına peptidoqlikan ibarət qabıq qatı - **korteks** formalaşır.
- Korteks qatının üzərində keratinə bənzər zülallardan ibarət **örtük qatı** formalaşır
- Sporanın ən səthi qıçası **ekzosporium** tərkibində lipoprotein və az miqdarda karbohidratlar var.

Sporulyasiya prosesi

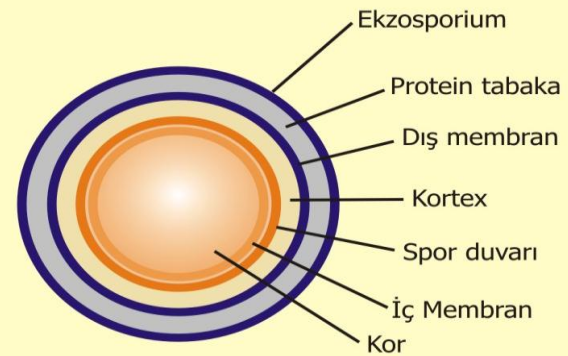


Sporulyasiya prosesi

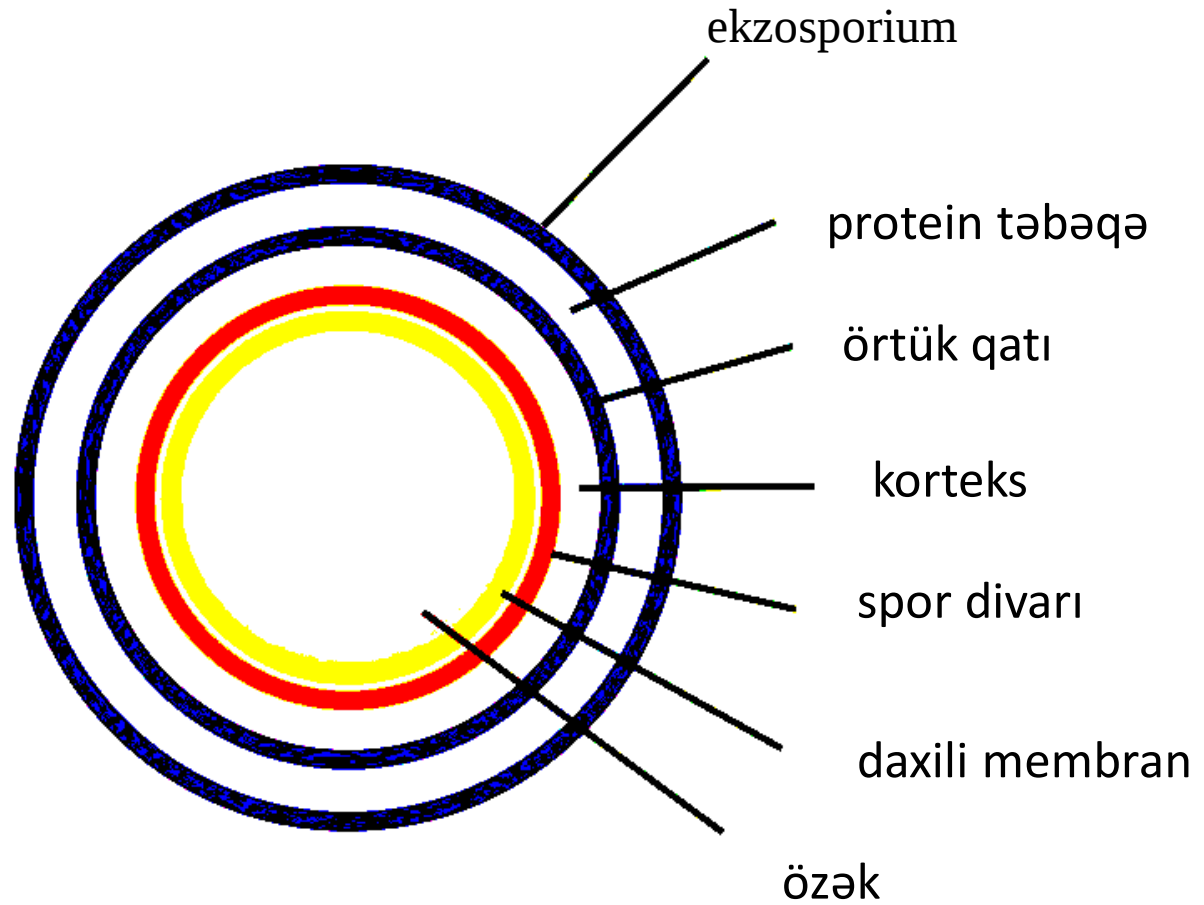


Serbest endospor

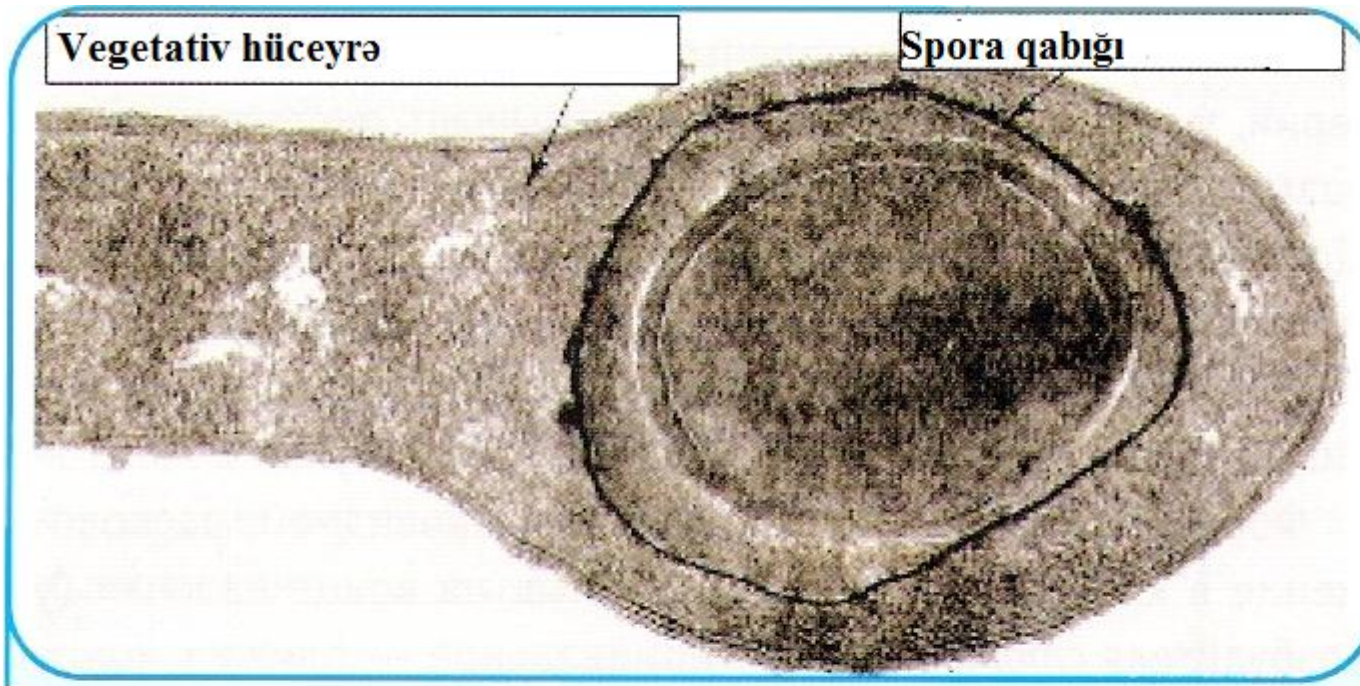
Spor yapısı



Sporun ultrastrukturu

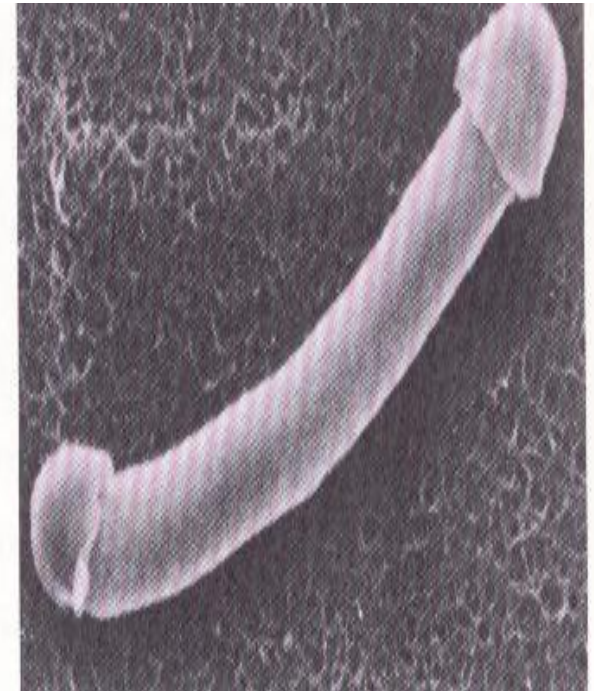
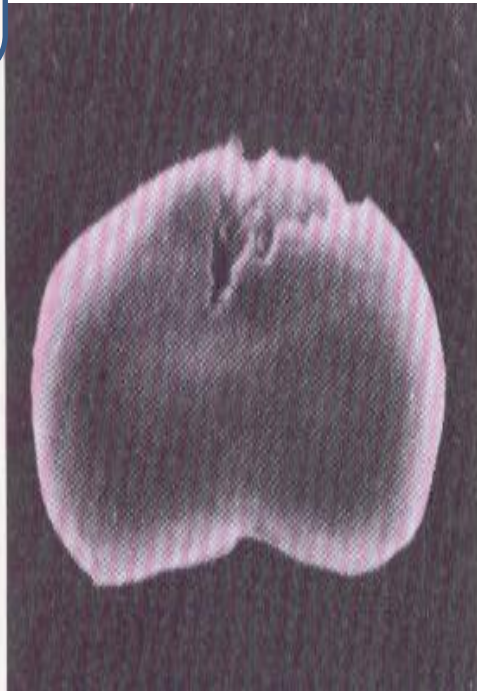


Bakteriya sporu (elektron mikroskopik görünüş)

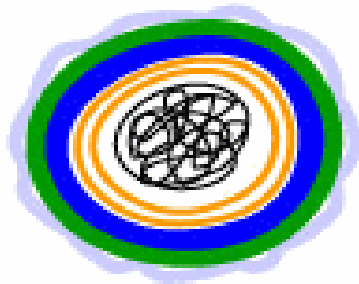


Germinasiya

Əlverişli şəraitdə (insan orqanizmində) sporalar vegetativ formaya çevrilir. Bu proses germinasiya adlanır və 3-5 saat davam edir. İlk növbədə korteks qatı lizosim tərəfindən parçalanır, vegetativ forma xaric olur. Sonra hüceyrənin böyümə və bölünməsi prosesi gedir.



Germinasiya prosesi



Ojeşko üsulu ilə sporun rənglənmə texnikası

Hazır (qurudulub fiksasiya olunmamış) yaxmanın üzərinə 0,5%-li xlorid turşusu (HCl) tökülür və alovda buxar əmələ gələnə qədər qızdırılır (2-3 dəq.). Bu proses zamanı əşya şüşəsi soyuduqdan sonra turşu əlavə edilir.

Turşu axıdılır, soyudulur, su ilə **ehtiyatla yuyulur**, qurudulur, alovda **fiksasiya** edilir.

Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənilir. Sporlar **qırmızı**, vegetativ formalar isə **göy** rəngə boyanır. Karbol turşusu sporun qışasını zəiflətdiyi üçün onun tinktorial xüsusiyyətlərini artırır və hər iki forma qırmızı rəngə boyanır. Vegetativ formalar sulfat turşusu ilə rəngsizləşdiyinə görə metilen abısının rəngini götürüb, göy rəngə boyanır.

Bacillus anthracis (sadə və Ojeşko üsulu ilə rənglənməsi)

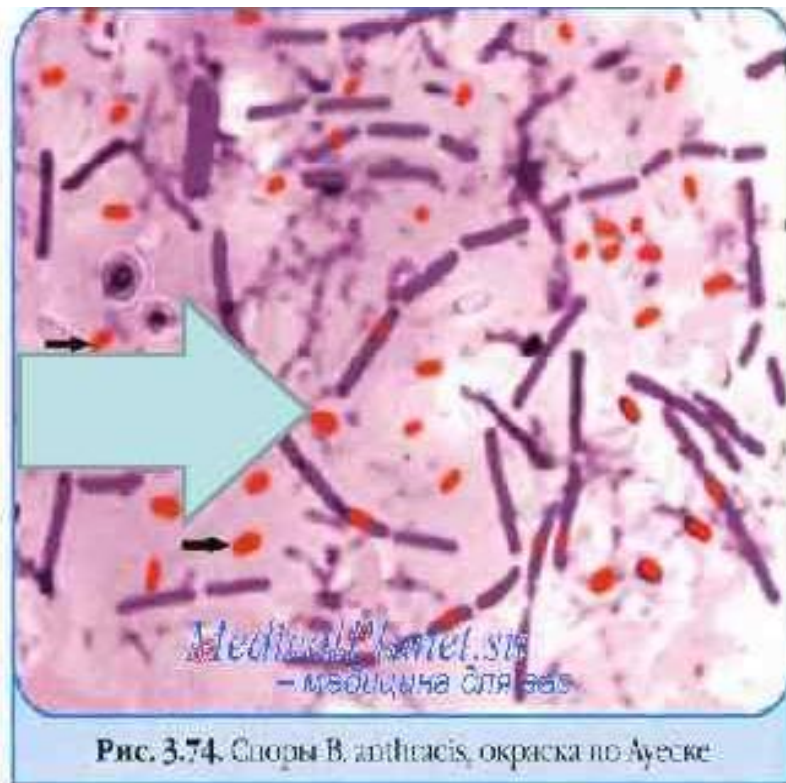
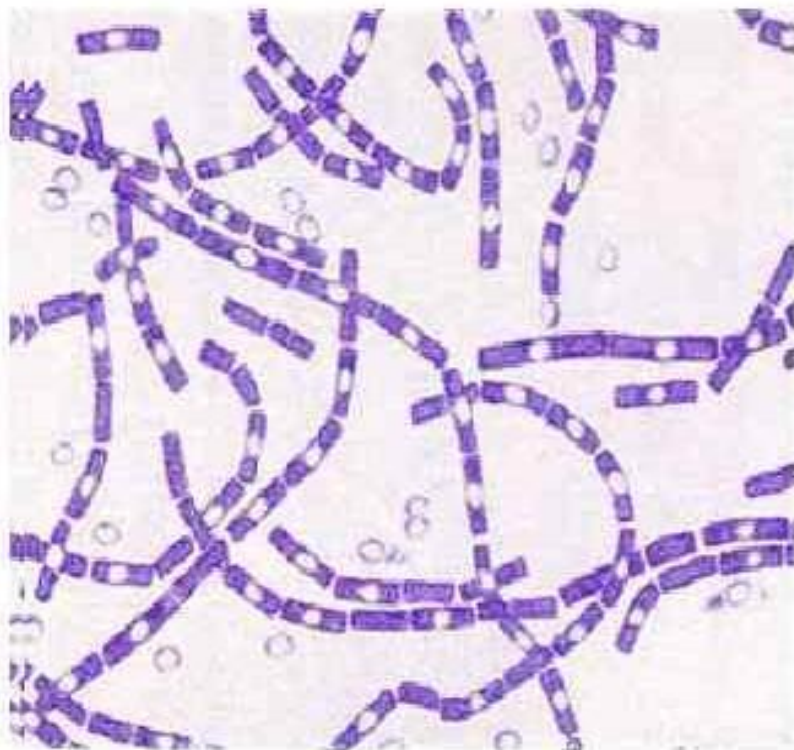
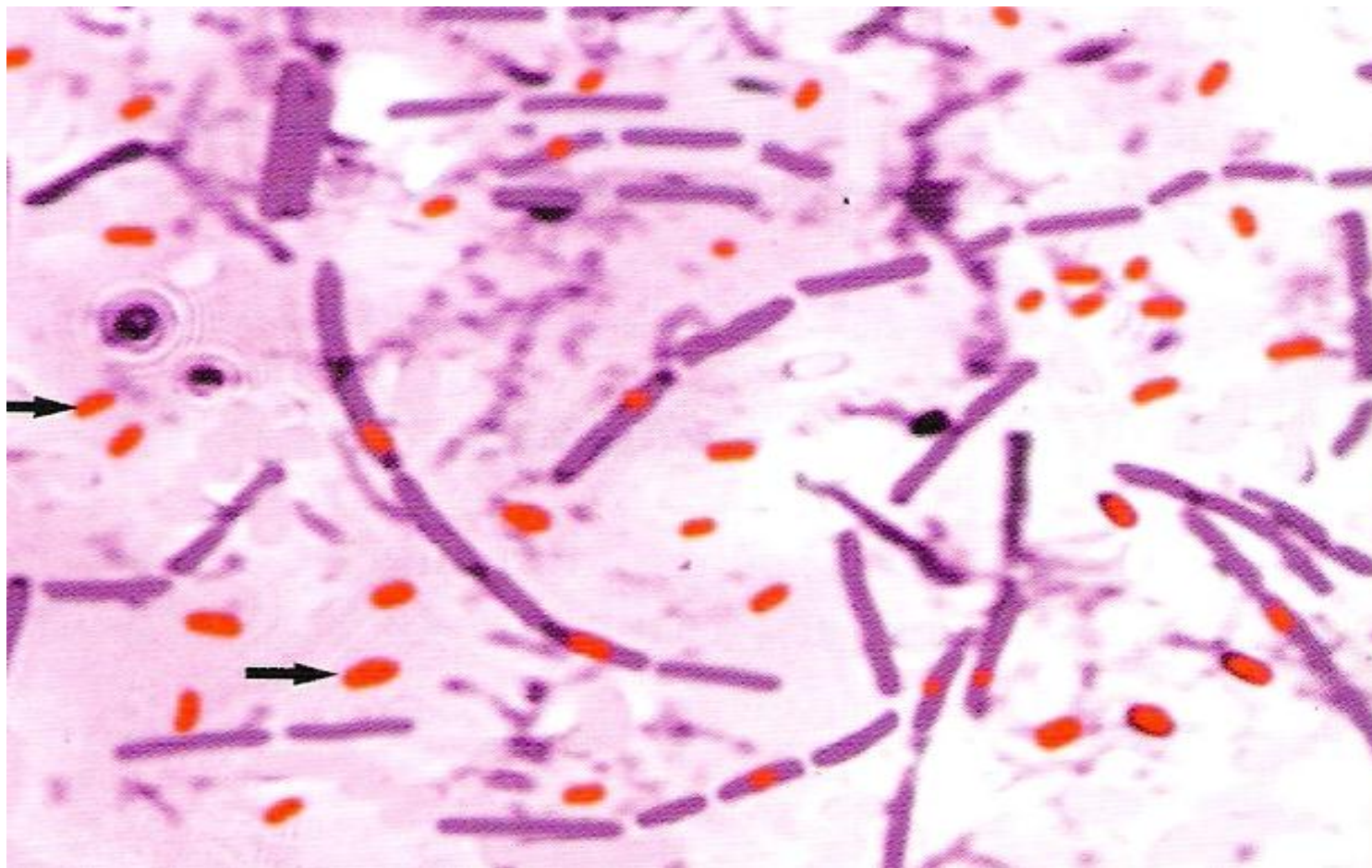


Рис. 3.74. Споры *B. anthracis*, окраска по Огешко

Ojeşko üsulu ilə rənglənmiş yaxmanın mikroskopik görüntüsü



Volyutin dənələri

- Mikroorqanizmlərdə polifosfat qranullar şəklində sitoplazmatik əlavələrdir. İlk dəfə **Spirillum volutans** (adı oradan götürülmüşdür) bakteriyasında təsvir edilmişdir
- Volyutin fosfatların daxili ehtiyat maddəsi olub, mühitdə fosfor çatışmadıqda hüceyrə onun hesabına bir neçə dəfə bölünür
- Bir çox bakteriyalar bəzi qida komponentləri çatışmadıqda volyutin toplayırlar. Maya göbələkləri, korinebakteriyalar, mikobakteriyalar adətən böyümənin son mərhələlərində əlavələr əmələ gətirirlər.

Volyutin dənələri

➤ Polifosfat qranullar-metaxromatik dənələr (Babeş-Ernest cisimcikləri) korinebakteriyalarda (*Corynebacterium diphtheria*, *Gardnrella vaginalis* və s.) aşkar edilir və bu bakteriyaların tanınma əlamətidir.

➤ Neysser üsulu ilə təyin edilir.

➤ Elektron mikroskopiyada volyutin dənələri ölçüsü 0,1-1 mkm olan bərk qranul şəklində görünür.

Neysser üsulu ilə rəngləmənin texnikası

*Yaxma Neysserin sirkə turşulu metilen abısı ilə rənglənilir. **2-3-dəq.** saxlanıldıqdan sonra yuyulur*

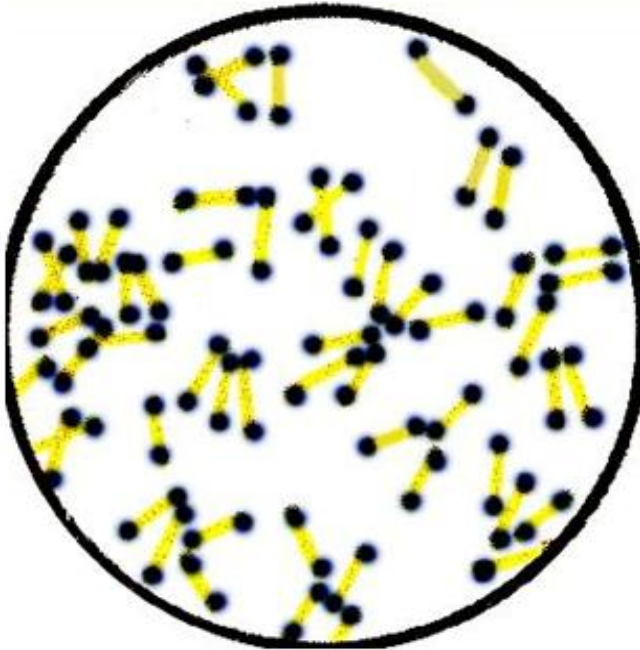
*Lüqol məhlulu əlavə edilib **30 san-1 dəq.** saxlanılır*

*Lüqol məhlulu atılır, vezuvin və ya xrizoidin ilə rənglənilir. Yaxma **5-7 dəq.** saxlanıldıqdan sonra yuyulur, qurudulur, mikroskopiya edilir.*

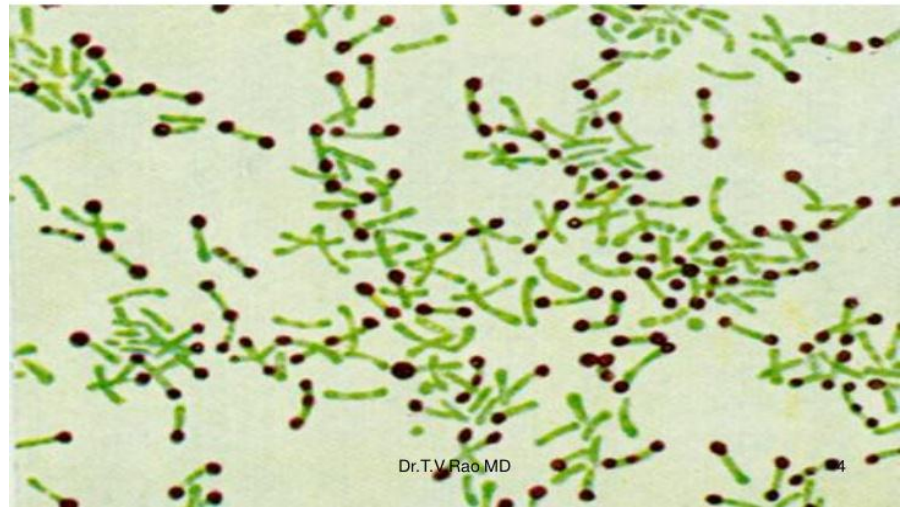
Neysser üsulu ilə rəngləmənin nəticəsi

*Volyutin dənələri qələvi reaksiyalı olduğundan asetat abısının rəngini qəbul edərək **tünd göy** rəngə boyanır.*

*Sitoplazma turş reaksiyalı olduğundan **vezuvinin** rəngini götürür və **sarı rəngə** boyanır*

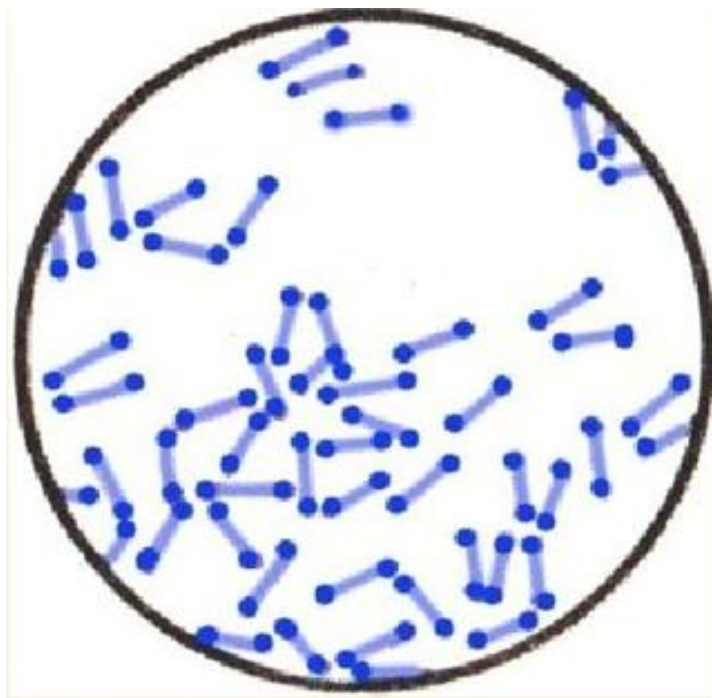


Corynebacterium diphtheria



Neysser üsulu ilə rəngləmə

Volyutin dənələri



*Leffler üsulu (metilen
abısı) ilə rəngləmə*