

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI  
SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

Z. J. Shapulatova

# “MIKROBIOLOGIYA”

FANIDAN  
USLUBIY QO'LLANMA  
(amaliy, aboratoriya mashg'ulotlari)

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI  
SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

Z. J. Shapulatova

# “MIKROBIOLOGIYA”

FANIDAN  
USLUBIY QO'LLANMA  
(amaliy, laboratoriya mashg'ulotlari)

Ushbu uslubiy qo'llanma "Mikrobiologiya" fanidan (amaliy, laboratoriya ma'lumotlari) 610100 veterinariya bakalavr yo'nalishi uchun dastur va rida o'qituvchi Z. I. Shupulato'va tomonidan yozilgan.

#### **Taqrizchilar:**

M.P. Panmanov Samarqand viloyati Hayvonlar kasalliklari va parazitologiya kafedrasini professori

M.T. Isoqov Samarqand viloyati veterinariya laboratoriyasi direktori, veterinariya fanlari nomzodi

610100 Veterinariya bakalavr yo'nalishi talabalari uchun

"Mikrobiologiya" fanidan uslubiy qo'llanma (amaliy, laboratoriya ma'lumotlari) institut Markaziy o'quv va uslubiy kengashining 2009 yil 1 sonli yig'ilishida tasdiqlangan va uslubiy qo'llanma sifatida chop etishga tavsiya etilgan.

### So'z boshi

Uslubiy qo'llanma umumiy va xususiy mikrobiologiya bo'limlaridan iborat. Umumiy mikrobiologiya bo'limida laboratoriyada ishlash qoidalari, jihozlari; mikroorganizmlar fiziologiyasi, ularning patogenligini aniqlash, serologik reaksiyalarni qo'yish usullari, veterinariyada qo'llanadigan biopreparatlar, ulami nazorat qilish; xususiy mikrobiologiya bo'limida mikroblarni qiyoslash usullari, laboratoriya diagnostikasi keltirilgan. Mustaqil ish uchun ham mavzular berilgan.

Veterinariya, zootexniya va qorako'lchilik bo'limi talabalari, magistrlar, laboratoriya mutaxassislari, veterinariya vrachlari amaliyotda foydalanishlari mumkin.

Ushbu uslubiy qo'llanma talabalarni mikrobiologiya fanidan olgan nazariy bilimlarini mustahkamlab, o'quv materialni mustaqil o'zlashtirish, mikrobiologik tekshirish uslublarini amalda o'rganishga imkon beradi. Laboratoriya tekshirish usullari qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalarda uchraydigan yuqumli kasalliklarni erda aniqlash, ularning shakllarini farqlash, qo'zg'atuvchisining xususiyatlarini aniqlash, ularning oldini olish va qarshi kurashishda xo'jaliklarga katta amaliy yordam beradi.

Laboratoriyada mikrobiologik tekshirish usullarini samarasi, aniq diagnoz qo'yishning muvoffaqiyati aslida patologik materialni to'g'ri olish, o'z vaqtida laboratoriyaga etkazish, saqlash qoidalariga rioya qilish kabilarga bog'liq. Har bir kasallikning o'ziga xos patogenezini ba mikrobnining topilmiga alohida e'tibor berish juda katta ahamiyatga ega.

Mashg'ulotlar mavzusi dastur asosida ketma ketlikka rioya qilingan holda berilgan. Uslubiy jihatdan har bir mashg'ulot quyidagicha ishlangan: mavzu nomi, mashg'ulotning maqsadi, material va jihozlar, uslubiy ko'rsatma, nazorat savollari. Masg'ulotlar leksiya materiallari bilan uzviy bog'langanligi tufayli talabalar hayvonlarning yuqumli kasalliklariga mikrobiologik diagnoz qo'yish usullarini engil o'zlashtiradilar.

## Amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy ko'rsatma

Talabalar ma'lum mavzuda amaliy mashg'ulotlarni bajarishlari uchun avval o'sha mavzu bo'yicha nazariy bilim va yaxshi tushunchaga ega bo'lishlari kerak. O'qituvchi talabalarni patologik material bilan aniq, toza va ehtiyotlik bilan ishlashga o'rgatadi. Laboratoriyaning muhiti, xonaning ideal tozaligi talabalarda mas'uliyat hissini, o'ziga talabchanlikni tarbiyalaydi, kuchaytiradi. Birinchi amaliy darsda talabalarni kafedra, laboratoriyaning ish tartibi va qoidalari bilan tanishtirish lozim: laboratoriyaga xalatda kirib o'zining ish joyini e'gallab; ish stolida barcha kerakli predmetlar bormi, mikroskop ish holatidami tekshiradilar va kamchiliklarni darhol o'qituvchiga aytadilar; amaliy darslarda nihoyatda finchlik saqlanishi kerak, maqsadsiz bir joydan ikkinchisiga ko'chish mumkin emas; ruxsatsiz laboratoriyadan tashqariga birorta materialni probirka, bo'yoq, pipetka va h.k. chiqarish man etiladi; shaxsiy buyumlarni (kitob, sumka) maxsus ajratilgan joyda qoldirib, o'zida dafdar, rangli flomaster va ruchka qolishi kerak. Zararli materialni tekshirganda, tirik kulturalar bilan ishlaganda faqat kerakli asboblardan foydalaniladi (pinsetlar, bakteriologik ilmoq, shpatel va h.k.). Ishlatilgandan so'ng bu asboblalar alangada cho'g' holiga keltirib, qaynatib, yoki boshqa usullar bilan dezinfeksiya qilib zararsizlantiriladi. Bexosdan bakteriya kulturasi, zararli material bilan ifloslangan predmetlar darhol dezinfeksiyalanishi kerak.

O'qituvchi talabalar bilan savol-javoblar o'tkazib, mavzuga tushuncha beradi. Talabalarga aniq topshiriq va vazifalar berib, ularni bajarish uslublari bilan tanishtiradi. Ba'zan mavzuga bog'liq holda uslublarni o'qituvchining o'zi talabalarga bajarib ko'rsatadi. Talabalar ko'rib, kichik guruhlariga bo'linib mashg'ulotlarda berilgan vazifalarni mustaqil ravishda o'zlari bajaradilar. O'qituvchi vazifani bajarish jarayonini nazorat qilib, kerak bo'lganda yordam beradi, talaba xatoga yo'l qo'ysa tezda uni tuzatib tushuncha beradi. Natijalarini o'qituvchi preparatni mikroskopda ko'rib nazorat qiladi, ish to'g'ri bajarilgan bo'lsa, uni daftarga yozib, chizib olishlariga ruxsat beradi. Talabalar jadval va rangli plakat, tarqatma kartochkalardan ham foydalanib, bajarayotgan ishlarini qiyoslay olishlari, sinchiklab kuzatishlari, bir vaqtda tartib bilan ketma-ketlikni saqlagan holda ishlashga o'rganishlari kerak. Laboratoriyada talabalarga ajratilgan stoldagi asbob, uskuna, anjom, eritma, kultura bo'yoqlar bilan tanishib, ularni ishlatishni o'zlashtiradilar.

Darsdan keyin har bir talaba ish joylarini tartibga keltirib, qo'llarini yaxshilab yuvib, dezinfeksiyalaydilar. O'qituvchi va talabalar shaxsiy gigiyena hamda texnika xavfsizligi qoidalariga rioya qilishlari shart.

Dars oxirida o'qituvchi talabalar bajargan ishni baholab, xato, kamchilik va yutuqlarini muhokama qiladi. Shu tarzda darsni mustahkamlab boradi. Xususiy mikrobiologiyani o'rganishda yuqumsiz kasallikdan o'lgan yoki so'yilgan hayvonlardan olingan material bilan ta'minlanadi. Material keltirilganda talabalar u qoidaga binoan olinganmi, to'g'ri hujjatlashtirilganmi baholab, keyingina tekshirishga tushadilar. Albatta bir ikkita darslarni to'liq bakteriologik tekshirish, barcha laboratoriya hujjatlarini rasmiylashtirish bilan o'tkazilsa yanada yaxshi bo'ladi.

## BO'LIM I UMUMIY MIKROBIOLOGIYA

### 1. Amaliy mashg'ulot №1

**Mavzu: Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va uning tuzilishi, jihozlanishi, maqsadi. Biologik mikroskop, uning tuzilishi va ishlash qoidalari.**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyasi, uning asosiy jihozlari va unda ishlash qoidalari bilan tanishtirish. Mikroskopning tuzilishi va u bilan ishlash qoidalarini o'rganish.

**Material va jihozlar:** Har xil modeldagi biologik mikroskop; immersion moy, bo'yalgan tayyor har xil mikrob preparatlari to'plami.

#### **Uslubiy ko'rsatmalar.**

O'qituvchi talabalarga bakteriologik laboratoriyada o'zini tutish va ishlash tartibini, texnika xavfsizligi va shaxsiy profilaktika qoidalariga amal qilish kerakligini tushuntiradi, talaba :

1. Biologik mikroskopning tuzilishi bilan tanishib, rasmini daftarga chizadi va asosiy qismlari nomini yozadi.

2. Preparatni mikroskopda ko'rish usullarini o'rganib, mustaqil ravishda immersion oby'ektivda bo'yalgan tayyor biologik preparatlarni ko'radi.

**Veterinariya bakteriologiya laboratoriyasi** bu – Davlat veterinariya xizmati korxonasi bo'lib, uning faoliyati chorvachilikni rivojlantirishga, hayvonlar yuqumli kasalliklarining oldini olish va ularni yo'q qilishni ta'minlashga, shuningdek xalqni hayvonlar va odamlar uchun umumiy bo'lgan kasalliklardan himoya qilishga qaratilgan. Ish masshtabi bo'yicha veterinariya laboratoriyasi tizimi quyidagicha: tuman, tumanlaro, (zonal), viloyat va respublika veterinariya laboratoriyalari.

Veterinariya laboratoriyasining asosiy vazifasi – qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalar, mo'ynali hayvonlar, baliq, asalari va h.k. lar kasalliklariga diagnoz qo'yish, hamda go'sht, sut, va boshqa hayvon va o'simliklardan olinadigan oziq ovqat mahsulotlari, oziqalarni ekspertiza qilishdan iborat. Laboratoriyalarda shuningdek ilmiy ishlar bajariladi.

Veterinariya laboratoriyasida qabul qilish, bakteriologiya, virusologiya, toksikologiya, serologiya, patanatomiya, veterinariya-sanitariya ekspertizasi, parazitologiya, radiologiya bo'limlari bo'ladi. Bundan tashqari alohida sterilizatsiya, yuvish, termostat, avtoklav, jasadni yorish, oziqa muhit tayyorlash xonalari, aseptik sharoit yaratilgan maxsus boks. laboratoriya hayvonlari (oq sichqon, dengiz cho'chqalari, oq kalamush, quyon, donor

qo'ylar va h.k.) uchun vivariya, va alohida biosinov xonasi bo'lishi kerak. Bundan tashqari ma'muriyat va mutaxassislar uchun xonalar ajratilgan bo'lishi kerak. Laboratoriya ishchi xonalari yorug', keng, baland bo'lib, poli linoleum yoki kafellangan, devoriga plastika yoki kafel urilgan, stol 80 sm balandlikda usti plastika, linoleum, oyna bilan qoplangan yoki maxsus oq bo'yoq bilan bo'yalgan, hamda, barcha kerakli jihoz, asbob – uskunalar, reaktiv va h.k.lar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak. Issiq, sovuq suv, kanalizasiya, sovun, sochiq va dezinfeksiyalovchi eritmalar bo'lishi zarur.

**Mikrobiologiya laboratoriyasining jihozlari.** Laboratoriyada ishlash uchun quyidagi asbob, apparatlar kerak: biologik mikroskop qo'shimcha moslamalari bilan (yoritgich, fazli – kontrastli qurilma, qorong'i maydonli kondensator va h.k.), lyuminissentli mikroskoplar, termostatlar, sterilizasiya uchun apparatura (quritgich sbkaf, avtoklav, Kox apparati), pII – metr, distillangan suv olish uchun apparat (distillyator), sentrifugal. texnik va analitik tarozilar, filtrlash uchun apparatura (Zeyts filtri va h.k.), suv hammomi, mikroanaerostat, sovutgichlar, paxta – dokali tiqinlar tayyorlash uchun apparat, asboblardan to'plami (bakterial ilmoq, shpatel, igna, pinset va h.k.lar), laboratoriya idishlari (probirka, kolba, Petri kosachalari, matraslar, flakonlar, ampulalar, paster va o'lchamli pipetkalar) va boshqalar.

Laboratoriyada preparatlarni bo'yash uchun maxsus joy ajratilgan bo'lib, unda bakterial bo'yoqlar, spirt, kislotalar eritmaları, filtr qog'ozi va boshqalar joylashtiriladi. Har bir ish joyi gazli gorelka yoki spirt lampasi, dezinfeksiyalovchi eritmaları bor bankalar bilan ta'minlanishi zarur. Kundalik ish uchun laboratoriyada zarur oziq muhitlar, kimyoviy reaktivlar, diagnostik preparatlar va boshqa laboratoriya materiallari bo'lishi kerak.

**Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari.** Laboratoriyada steril (nihoyatda toza) muhit yaratish va tozalikka hamda tartibga qat'iy rioya qilish zarur. Xususan mikrobiologiya laboratoriyasida ish boshlashdan oldin talabalarni u yerdagi tartib – qoida bilan batafsil tanishtirish kerak.

1. Laboratoriyada oq xalat va qalpoq kiyib ishlash kerak. Xalatsiz kirish qat'iy man etiladi. Xalatda laboratoriya hududidan tashqariga chiqish mumkin emas.

2. Laboratoriyada har qaysi ish joyi talabga javob beradigan bo'lishi kerak. Daftar, ruchka, qalamdan, boshqa narsa laboratoriyaga kiritilmaydi.

3. Laboratoriyada chekish va ovqat yeyish, ichish taqiqlanadi.

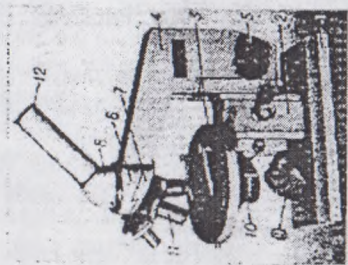
4. Ish boshlashdan avval hamma narsa (asboblardan, idishlar, gaz, (spirtli) lampa) shu jumladan mikroskop tayyorligiga ishonch hosil qilish zarur. Kamchilik, nosozliklar bo'lsa o'qituvchiga aytish kerak.

5. Gaz gorelkasi yoki spirt lampasini faqat gugurt bilan yoqish kerak.

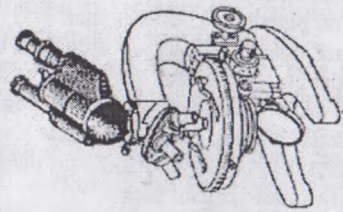
6. Elektr tarmoqlari simlariga metal yoki boshqa predmetlar bilan tegish mumkin emas.



# Mikroskop turlari



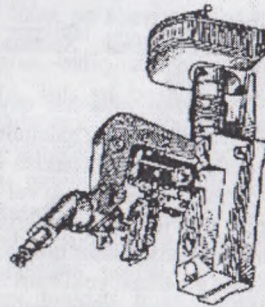
Rasm 1. Biologik mikroskop "Biolam"



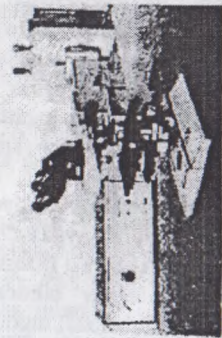
Rasm 2. Binokulyar o'rnatma AU-12



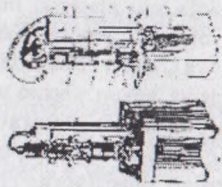
Rasm 3. MBI-1 mikroskopi va yordimgich OI-7



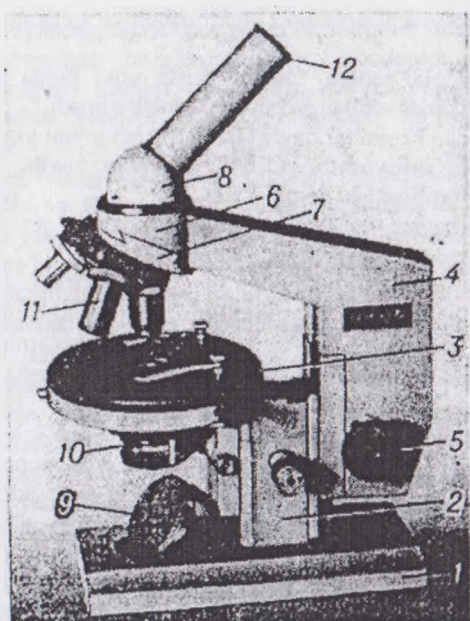
Rasm 4. ML-2 lyuminescent mikroskopi



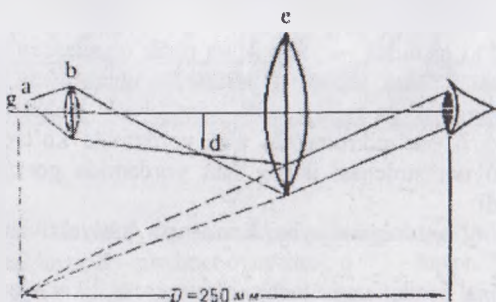
Rasm 5. I-2 tipli "Lyumom" lyuminescent mikroskopi



Rasm 6. Elektron mikroskop



Rasm 7. "Biolam" biologik mikroskopining tuzilishi  
 1-asosi; 2-mikrovint; 3-predmet stolchasi; 4-tubus  
 tutqich; 5- makrovint; 6-boshchasi; 7-revolver;  
 8- ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9-ko'zgu;  
 10-kondensor; 11-ob'yektiv; 12-okulyar.



Rasm 8. Mikroskopning optik sxemasi:  
 a-ob'yekt; b-ob'yektiv linzasi;  
 d-ob'yektning teskari ko'rinishi;  
 e-okulyarning yuqondagi linzasi;  
 g-ob'yektning ko'zgakorinadigan tasviri;

7. Talabalar o'qituvchi ruxsatisiz elektr asbob va apparaturalarni ishlatishi mumkin emas.

8. Yuqumli material stolga, xalatga tegsa yoki polga tushsa, shu joy dezinfeksiyalovchi eritma bilan yaxshilab tozalab olinadi.

9. Ish tugagandan keyin har qaysi talaba o'z ish joyini yig'ishtirishi, keyin xalatini va qalpog'ini yechib, qo'lini yaxshilab yuvib, quritib, so'ngra laboratoriyadan chiqib ketishi kerak.

10. Mikroorganizmlar kulturasini saqlash, kuzatish va ularni yo'qotish maxsus ko'rsatmaga muvofiq amalga oshiriladi.

Mikrobiologik tekshirish usullariga quyidagilar kiradi: 1) mikroskopiya, 2) kasallik qo'zg'atuvchisining sof kulturasini ajratish hamda uning kultural va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish, 3) mikroblarning patogenligini aniqlash (laboratoriya hayvonlarida biosinov qo'yish), 4) serologik diagnostika.

Mikroskopik tekshirishda mikroorganizmlarning morfologiyasi, tinktorial xususiyatlari (har xil bo'yoqlar va bo'yash usullariga munosabati), kapsula, sporali bor yo'qligi, harakati aniqlanadi. Bu maqsadda mikroskoplar ishlatiladi. Laboratoriyada bir necha xil mikroskoplardan (biologik, lyuminissent, elektron, proton) foydalaniladi va mikroskopiyaning maxsus usullari (fazokonstrast, qorong'u maydonli) qo'llanadi (rasm 1 – 6).

**Biologik mikroskop.** Mikrobiologiya amaliyotida MBR -1, MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, "Biolam" va hokazolardan ko'p foydalaniladi.

Ular ob'yektni 2000 va undan ko'p martagacha kattalashtiradi. Mikroskopning: 1-asosi; 2- mikrometrik fokusirovka (vinti); 3- predmet stolchasi; 4- tubus tutqichi; 5- makrometrik vinti; 6-boshchasi; 7- revolver; 8- ko'rish o'rnatmasi uchun moslama; 9 - ko'zgu; 10- kondensor; 11- ob'yektiv; 12- okulyari bo'ladi (rasm 7).

Mikroskop ikki qismdan – mexanik va optik qismlardan iborat. *Mexanik qismiga* mikroskop asosi, tubus va tubusini tutib turuvchi qismi, predmet stolchasi, makrometrik va mikrometrik vint kiradi. Tubusni tutib turuvchi qismi makrometrik va mikrometrik vint yordamida ko'tariladi va pastga tushiriladi. Buyum stolchasi ikkita vint yordamida gorizontaal tekislikda harakatlantiriladi.

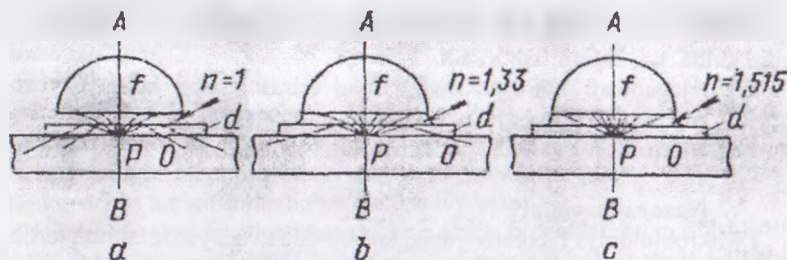
Mikroskopning *optik qismi* oyna, kondensor, ob'yektivlar va okulyardan iborat.

Mikroskopning *oynasi* unga tushayotgan yorug'likni aks ettiradi va uni preparatni yoritish uchun kondensorga yo'naltiradi. Oynasi harakatlanadigan qilib o'rnatilgan, bir tomoni yassi, undan istalgan yorug'lik manbasi va istalgan kattalashtirishda foydalaniladi. Ikkinchi botiq tomoni kichik kattalashtirishlarda kondensorsiz ishlashga mo'ljallangan.

Kondensor oynadan kelayotgan yorug'lik nurlarini to'plab, preparatning sathiga yo'naltiradigan linzalardan iborat. Kondensor tagida diafragma bo'lib, u yorug'lik kuchini boshqaradi. Ko'rish maydoni yorug'ligini kamaytirish uchun kondensor pastga tushiriladi, ko'paytirish uchun esa ko'tarish kerak.

Ob'yektiv – mikroskopning eng muhim qismi. U ob'yektni haqiqiy kattalashtiruvchi va teskari tasvirni tuzuvchi linzalar sistemasidan iborat. Tashqi, asosiy yoki frontal linza preparatga yo'naltirilgan. Bundan tashqari, yuqorisida yana bir nechta(3-4 tadan 10-12 tagacha) korreksion linzalari dor. Ular tasvirni tiniqligini ta'minlaydi. Frontal linzaning kattalashtirishi qancha ko'p bo'lsa, korreksion linzalar shuncha ko'p talab qilinadi.

Quruq va immersion (suvli, yog'li) ob'yektivlar bo'ladi. Quruq ob'yektivni ishlatganda ob'yektiv frontal linzasi bilan preparat orasida havo qatlami bo'ladi. Preparat oynasidan o'tayotgan yorug'lik nurlari havo qatlamiga tushadi sinib, qaytadi va ob'yektivga to'liq tushmaydi. Bunday ob'yektivlarning frontal linzalari 10, 20, 40 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Immersion ob'yektivlarning frontal linzalari 80, 90, 100 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Ularning fokus masofasi va diametri kichik bo'ladi. Kerakli yorug'likni hosil qilish uchun yorug'lik nurlarini tarqalishini oldini olish lozim, ya'ni preparatga immersion yog'i tomiziladi, uning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi (1,515) preparat oynasining yorug'likni sindirish ko'rsatkichiga yaqin (1,52) bo'lgani uchun yorug'lik nurlari tarqalmaydi (rasm 9).



Rasm. 9. Optik mikroskopning ob'yektivi.

$f$  – frontal linza;  $d$  – predmet oynachasi;  $n = 1$  – havoning;  $n = 1,33$  – suvning;  $n = 1,515$  – immersion moyning sindirish ko'rsatkichlari.

Okulyar tubusning yuqori qismiga qo'yiladi, ular 7x, 10x, 15x marta kattalashtiradi va yuqorida optik, pastda to'plovchi linzalari bo'ladi. Okulyar faqat ob'yektiv bergan tasvirni kattalashtiradi. Monokulyar (bitta okulyarlik) va binokulyar mikroskoplar bor (rasm -1, 2).

Mikroskopda tasvir quyidagicha paydo bo'ladi (rasm 8). Kondensor yordamida to'plangan yorug'lik nurlari ob'yektga tushadi unda aksini topadi, ob'yektiv linzasida sinib ob'yektning haqiqiy kattalashgan teskari tasvirini paydo qiladi. Keyin okulyarning yuqoridagi linzasi qo'shimcha kattalashtirgach ob'yektning mavhum tasviri hosil bo'lib, u kuzatuvchi ko'ziga kondensor va ko'zgu orasidagi tekislikda joylashgan haqiqiy tasvir bo'lib ko'rinadi.

Mikroskopning umumiy kattalashtirishi ob'yektivdagi yozilgan songa okulyardagi yozilgan sonni ko'paytirish yo'li bilan aniqlanadi. Masalan, immersion ob'yektivi 90x va okulyar 10x bo'lgan mikroskopning kattalashtirishi:  $90 \times 10 = 900$  marta bo'ladi. Kundalik amaliyotda, odatda ob'yekt 650-900 marta kattalashtirib kuzatiladi.

**Mikroskop bilan ishlash qoidalari.** Mikroskop bilan ishlashga kirishganda kondensorning holati tekshiriladi: u buyum stolchasi sathigacha ko'tarilgan, diafragma ochiq bo'lishi kerak. Mikroskop tubusini ko'tarib 8 yoki 10 chi ob'yektivlar o'rnatiladi. Okulyarga qarab, ko'zgu yordamida ko'rish maydoni to'liq yoritiladi.

Bo'yalmagan preparatlarni mikroskopda ko'rib diafragmaning tirqishi torayib yoki kondesorni tushirib, preparat yuzasiga yaqinlashtirish yo'li bilan ko'rish maydoni qorong'ilashtiriladi.

Preparatlarni immersion ob'yektivda ko'rishda tayyor bo'yalgan surtmaga bir tomchi immersion moy tomizib, preparat buyum stolchasiga qo'yiladi, so'ngra revolvorni burab, immersion ob'yektivni (90x) o'rnatib, makrovint yordamida ehtiyotlik bilan pastga tushirib, frontal linzasini moy tomchisiga tegizish kerak. Shundan keyin okulyarga qarab preparat ko'ringunicha tubusni ko'tarish kerak. Ko'zni mikroskopdan olmay mikrometrik vint yordamida tasvir tiniqlashtiriladi.

Ish tugagandan keyin makrovint bilan tubusni sekin ko'tarib, revolver neytral holatga keltiriladi, linzadagi moyni yumshoq mato bo'lakchasi bilan tozalab mikroskop g'illofiga solib qo'yiladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasini tashkil etish va u yerda ishlash tartibi.
2. Mikroskoplarning vazifasi va mikrobiologiya amaliyotida ulardan foydalanish.
3. Biologik mikroskopning tuzilishi.
4. Biologik mikroskop bilan ishlash qoidalari. Preparat mikroskopda qanday kuzatiladi?
5. Bo'yalgan va bo'yalmagan preparatlarni mikroskopda ko'rish usuli.

## 2. Amaliy mashg'ulot №2

**Mavzu: Bakteriologik bo'yoqlar. Preparat tayyorlash texnikasi, oddiy bo'yash usuli. Bakteriyalarning asosiy shakllari.**

**Mashg'ulotning maqsadi:** Bakteriologik bo'yoqlar bilan tanishish va ular eritmasini tayyorlash usullarini o'rganish. Bakteriyali preparat tayyorlashni, oddiy bo'yash usulini o'rganish. Bakteriyaning asosiy shakllarini o'rganish.

**Material va jihozlar:** Shishalarda quruq bo'yoqlar: asosli va kislotali fuksin, gensianviolet, metilen ko'ki, safranin, brilliant yashili, bo'yoqlarning tayyor eritmasi to'plami, immersion moy, distillangan suv, biologik mikroskop, bakteriologik ilmoq, spirt lampasi, buyum oynalari va filtr qog'oz, kyuvetalar, Petri kosachasi, pipetkasi va probirkalarda turli shakldagi bakteriyalarning sof kulturalari. Etil spirti, fenol (kristall holda), gliserin (probirkada), forfor hovoncha to'qmoq bilan, menzurka, etil spirti, ishlatilgan predmet oynachalarini solish uchun maxsus idishda 3-5 % li fenol eritmasi, ishlatilgan pipetkalar uchun maxsus idishda 3-5% li fenol eritmasi, moy qalam. Temaga oid ko'rgazmali plakatlar.

### Uslubiy ko'rsatmalar

O'qituvchi mavzuni tushuntiradi, talabalar:

1. Mikrobiologiya amaliyotida ko'p ishlatiladigan bo'yoqlar bilan tanishadilar.
2. Mikrob kulturasidan bakteriyali preparat tayyorlab, oddiy usulda bo'yashadi.
3. Tayyor preparatni mikroskopda ko'rib, bakteriyalar shaklini daftarga chizib olishadi.

**Bakteriologik bo'yoqlar.** Mikroblar tirik yoki o'lgan holatida mikroskopda ko'riladi. Mikroorganizmlarning morfologiyasi va tinktorial xususiyatlarini o'rganish uchun maxsus bo'yalgan preparatlar tayyorlanadi. Buning uchun har xil anilin bo'yo'qlardan foydalaniladi.

Mikrobiologiya amaliyotida quyidagi anilin bo'yoqlar ko'p ishlatiladi: asosli - fuksin, metil qizili, neytral qizili - eritmada qizil rangda bo'ladi; karbolli kristallviolet, metilviolet, gensianviolet, tayyor suyuq Gimza (azur - eozin) bo'yog'i - binafsha rangda; metilen ko'ki, brilliant va malaxit yashili. Quruq kukunsimon yoki kristall holdagi anilin bo'yoqlardan ularning spirtli yoki suvdagi eritmaları tayyorlanadi. Bo'yoqning spirtli eritmaları qorongida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Eritmalarning bo'yash xossasini oshirish uchun ularga har xil kimyoviy moddalar (fenol, o'yuvchi kaliy) qo'shiladi yoki bo'yashdan oldin preparatlarga ular ( xlorid, sulfat yoki xrom kislotalarining

kuchsiz eritmaları) bilan ishlov beriladi. Shuningdek bu maqsadda bo'yoq quyilgan preparat qizdiriladi, preparatga qizdirilgan, issiq bo'yoq eritmasi quyiladi. Tez buziladigan, uzoq saqlanmaydigan bo'yoq eritmaları faqat ishlatishdan oldin 1 – 2 %li eritmalar ko'rinishida tayyorlanadi.

**Spirтли suvli eritmalar.** *Karbollı fuksin (Sil fuksini).* Avval to'yingan spirтли eritma tayyorlanadi: 100 ml 96<sup>o</sup> spirtga 5 – 10 g asosli fuksin olinadi. Spirтли eritmalar yaxshi to'yinishi uchun bo'yoqlar batamom erib ketguncha termostatda saqlanadi (vaqt-vaqti bilan silkitib turiladi). Bir sutkadan keyin eritma tayyor bo'ladi. Uni shisha idishlarda tiqini zich berkitilgan holda saqlash kerak. Shisha idish tagida ozgina bo'yoq cho'kmasi bo'lishi eritmaning to'yinganlik ko'rsatkichi hisoblanadi. Toza spirтли eritma bo'yash uchun yaroqsiz bo'ladi, shuning uchun uning spirтли suvli eritmaları tayyorlanadi: 10 – 20 ml fuksinning to'yingan spirтли eritmasiga 100 ml tarkibida 5% fenoli bor distillangan suv qo'shiladi. Karbollı fuksinning tayyor suv-spirтли eritmasi qog'oz filtr orqali filtrlanadi. Chunki eritmada cho'kma bo'lmasa surtma bir tekis yaxshi bo'yaladi. Sil fuksinini qator hollarda ishlatishdan oldin yana bir marta distillangan suv bilan (1:10) suyultiriladi va uning ishchi eritmasi (Pfeffer fuksini) hosil bo'ladi.

Ishchi eritmaları uchi rezinalı pipetka o'rnatilgan va bo'yoqning nomini yozib yopishtirib qo'yilgan shisha idishlariga quyib foydalaniladi.

*Karbollı kristallviolet, metilviolet, gensianviolet.* Kristallviolet, metilviolet bo'yog'i eritmaları tez cho'kmaga tushadi va preparatni mikroskopda ko'rganda ular xalaqit beradi. Ko'pincha gensianviolet bo'yog'i ishlatiladi, unda preparat bir tekis bo'yaladi. Uning spirтли suvli eritmasini tayyorlash uchun 1 g quruq gensianviolet farfor havonchada 10 ml spirt, bir nechta tomchi gliserin va 2% fenol (kristall holda) bilan yaxshi ezib aralashtiriladi va 100 ml distillangan suv qo'shiladi. Eritmani saqlaganda cho'kma paydo bo'lishining oldini olish uchun filtr qog'oz varaqlariga bo'yoqning to'yingan spirтли eritmasi shimdiriladi, havoda quritib, kichik o'lchamlarda qir qiladi, qorong'i idishda saqlanadi.

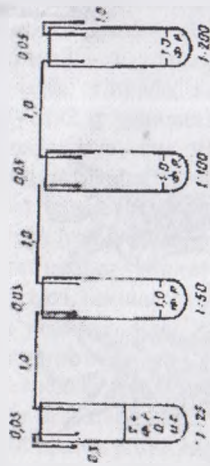
Bo'yashda preparatga qir qilgan gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan quruq filtr qog'oz bo'lagini qo'yib ustidan bir nechta tomchi distillangan suv tomdiriladi, 2 – 3 daqiqa turadi.

*Metilen ko'ki eritmasi* (ishqorlı Leffler ko'ki). Eritmani tayyorlash uchun 3 g bo'yoq 100 ml 96<sup>o</sup> spirtida uzoq vaqt (3 – 4 oy) eritiladi, so'ngra 30 ml to'yingan eritma 100 ml (tarkibida 1ml 1% li o'yuvchi kaliy bo'lgan) distillangan suvda suyultiriladi. Filtrlanadi.

**Suvli eritmalar.** *2%li safranin:* 2 g quruq bo'yoqqa 100 ml qaynoq distillangan suv quyib, filtrlanadi va shu zahoti bo'yash uchun ishlatiladi.

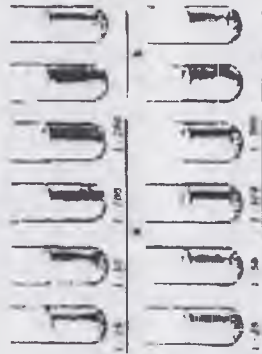
*1%li malaxit yashili eritmasi:* 1 g kristall holidagi bo'yoq 100 ml qaynoq distillangan suvda eritiladi, uni filtrlab, sovutib bo'yash uchun ishlatiladi.

# Agglyutinasiya reaksiyasi



Rasm 56. AR qo'yish sxemasi.

gumonli Tajrib		nazorat nazorat	



Rasm 57. Probirkalarda ARni hisobga olish (Brusellyoz, qoramol).  
 a-gumonli AR, 1:50; b-nazorat;  
 d-ijobiy AR 1:100-1:200;  
 e-nazorat

