Zakirova M.R., Egamova M.U.

OZIQ-OVQAT MIKROBIOLOGIYASI

«Oziq-ovqat mikrobiologiyasi» o'quv qo'llanmasi 5321000 - Oziq-ovqat texnologiyasi (mahsulot turlari bo'yicha), 5610100 – Xizmatlar sohasi (ovqatlanishni tashkil etish va servis) bakalavr ta'lim yo'nalishlari uchun mo'ljallangan.

O'quv qo'llanmada «Oziq-ovqat mikrobiologiyasi» fani laboratoriya va amaliy mashg'ulotlarida ishlash tartib qoidalari, mikroskop va uning turlari haqida, mikrobiologik ob'ektlar hamda preparatlarni sterilizatsiya qilish usullari, mikroorganizmlarni yetishtirish va ularning sonini hisoblash haqidagi ma'lumotlar o'z aksini topgan. Bundan tashqari sanoat binolarining, ichimlik suvi, tuproq va havoni sanitariya gigienik nazorat qilish masalalari ham qo'rib chiqilgan. Asosiy oziq-ovqat mahsulotlarining buzilishiga sabab bo'ladigan mikroorganizmlar haqida talabalar ega bo'lishi lozim bo'lgan nazariy bilimlar ham yoritib o'tilgan.

Tuzuvchilar:

Zakirova M.R. -TKTI "Oziq-ovqat mahsulotlari texnologiyasi" kafedrasi dotsenti, t.f.n.

Egamova M.U. -TKTI "Biotexnologiya" kafedrasi

Taqrizchilar:

Jo'rayeva U.M. -O'zMU, "Biologiya" fakulteti, "Mikrobiologiya va biotexnologiya" kafedrasi mudiri, b.f.n., dotsent

Xakimova Sh.I. -TKTI, "Oziq-ovqat mahsulotlari texnologiyasi" kafedrasi dotsenti, b.f.n.

MUNDARIJA

Kirish 6
Mikrobiologik laboratoriyada ishlash qoidalari 6
1. MIKROSKOPIYA 7
1.1. Yorug'lik mikroskoplarining tuzilishi. 7
1.2. Yorug'lik mikroskopining asosiy xarakteristikalari 11
1.3. Mikroskop bilan ishlash qoidalari 13
1.4. Qorong'u maydondagi mikroskopiya. 14
1.5. Faza – kontrast mikroskopiyasi 15
1.6. Lyuminessent mikroskopiya 16
1.7. Elektron mikroskopiya 17
2. MIKROBIOLOGIK LABORATORIYANI TASHKILLASHTIRISH VA JIHOZLASH 20
2.1. Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniluvchi sterilizatsiya usullari va vositalari 21
3. MIKROORGANIZMLAR PREPARATLARINI TAYYORLASh USULLARI 27
3.1. Fiksatsiyalangan bo'yalgan mikroorganizm preparatlarini tayyorlash 27
3.2. Mikrorganizmlarning tirik preparatlarini tayyorlash. 29
3.3. Preparat-izni tayyorlash 30
3.4. Mikrobiologik amaliyotda ishlatiladigan bo'yoqlar va pH-indikatorlar. 30
4. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH 34
4.1. Ozuqa muhitlari 36
4.2. Mikroorganizmlarni ozuqa muhitlariga ekish texnikasi 38
5. MITSELIAL ZAMBURUG'LAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISh 41
5.1. Zamburug'lar klassifikatsiyasi. Ba'zi namoyondalarining xarakteristikasi 41
6. ACHITQILAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH 54
6.1. Madaniy va yovvoyi achitqilar ba'zi turlarining xarakteristikasi 55
6.2. Achitqilar suspenziyasi tarkibida mavjud bo'lgan o'lik va kurtaklanayotgan hujayralarni aniqlash 61
6.3. Achitqi hujayralari tarkibida mavjud bo'lgan zahiradagi ozuqa moddalarining bo'yalishi 63
6.4. Achitqilarda sporalarning hosil bo'lishi 64
7. BAKTERIYALAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH 66
7.1. Bakteriya shakllari 66
7.2. Bakteriyalarni Gram usulida bo'yash 68
7.3. Bakteriyalar harakatchanligini aniqlash 70
7.4. Bakteriyalar sporalarini bo'yash 70
7.5. Bakteriyalardagi kapsulalarni aniqlash 72
8.BAKTERIYALARNING KULTURAL VA FIZIOLOGIK – BIOKIMYOVIY BELGILARINI ANIQLASh 73
8.1 Bakteriyalarning kultural belgilari. 73
8.2. Bakteriyalarning fiziologik-bioiokimyoviy belgilari 75
9 SUT BAKTERIYALARINING TOZA NAMUNASINI AJRATISH 81
9.1. Yig'uvchi namunani olish 81
9.2. Toza namunani ajratish 82
9.3. Ajratilgan namunaning tozaligini aniqlash 83
9.4. Sut bakteriyalari ajratilgan namunasini identifikatsiya qilish 84

10 MIKROORGANIZMLARNI MIQDORIY HISOBLASH USULLARI 88
10.1. Mikroorganizm hujayralarin Goryaev kamerasida hisoblash 88
10.2. Mikroskop ostida hujayralarni bevosita sanash (Vinogradskiy – Brid usuli) ..89
10.3. Mikroorganizmlar miqdorini usul bilan bevosita hisoblash 90
10.4. Oquvchan sitometriya usuli 92
10.5. Mikroorganizmlar miqdorini membranali filtrlash usulida aniqlash. 92
10.6. Mikroorganizmlar miqdorini koloniyalarini hisoblash usulida aniqlash (likopchali usul) 93
10.7. Tirik mikroorganizmlarni chegaraviy aralashmalar usulida hisoblash. 93
10.8. Biomassaning aniqlashning nefelometrik usuli 94
11. XONA HAVOSI MIKROFLORASINI TEKShIRISH 97
11.1. Sedimentatsion usul. 97
11.2. Aspiratsion usul. 98
12. SUVNI SANITAR-BAKTERIOLOGIK TEKSHIRISH 101
12.1. Probalarni tanlash va ularni analizga tayyorlash. 102
12.2. Suvdagi umumiy mikroblar sonini aniqlash 102
12.3. Suvdagi koliform bakteriyalar miqdorini aniqlash. 103
13. TUPROQNING SANITAR MIKROBIOLOGIK TEKSHIRUVI 109
13.1. Tuproqdagi mikroblar sonini aniqlash 111
13.2. Tuproq kolititrini aniqlash. 111
13.3. Tuproqning perfingens – titrini aniqlash 111
13.4. Tuproqdagi termofil mikroorganizmlar miqdorini aniqlash 112
13.5. Tuproqdagi protey tayoqchalarini aniqlash 112
14.OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARINING AYNIShIGA SABABCHI 114
BO'LADIGAN BAKTERIYALARNING XARAKTERISTIKASI. 114
14.1. *Micrococcus* turi. 114
14.2. *Enterococcus* turi 115
14.3. *Sarcina* turi 116
14.4. *Staphylococcus* turi 117
14.5. *Escherichia* turi 117
14.6. *Proteus* turi 119
14.7. *Pseudomonas* turi 120
14.8. *Bacillus* turi 121
14.9. *Clostridium* turi. 122
15. OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARINING MIKROBIOLOGIK TEKSHIRUVI. 126
15.1. Mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar miqdorini aniqlash (MAFANMM) 126
15.2. Oziq-ovqat mahsulotlarida ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari (ITGB)ni aniqlash. 129
15.3. Achitqi va mog'or miqdorini aniqlash. 131
ILOVALAR 132
ADABIYOTLAR RO'YXATI 139

Oziq-ovqat mikrobiologiyasi

Kirish

O'quv qo'llanmada mikrobiologik laboratoriyada amaliy ishlarni bajarish uchun tayyorlashda kerak bo'ladigan ma'lumotlar mavjud. Qo'llanmaning asosiy maqsadi talabalarni "Oziq-ovqat mikrobiologiyasi" fanini o'rganishda kerak bo'ladigan eng asosiy mikrobiologik usullar bilan tanishtirishdan iborat.

Qo'llanmaning har bir qismida o'rganilayotgan mavzularning nazariy qismi, tadqiqot maqsadi, tajriba metodikasi, o'z-o'zini tekshirish uchun *Nazorat savollari* mavjud.

Qo'llanmani o'qigan talabalar quyidagi nazariy bilimlar va amaliy ko'nikmalarga ega bo'ladilar:

- biologik mikroskopning tuzilishi va mikroskopik preparatlarni tayorlash texnikasini o'rganish;
- maxsus mikroskopik usullar bilan tanishish (**qorong'u maydonlar mikroskopiyasi, faza-kontrast va elektron mikroskopiya);
- mikrobiologik laboratoriya jihozlari va ozuqa muhitlarini sterilizatsiya qilish, idishlar, asbob-uskunalar bilan tanishish;
- oziq-ovqat mahsulotlarining sifatiga ta'sir qiluvchi mikroorganizmlarni muhim guruhlarining morfologiyasini o'rganish;
- tashqi muhit ob'ektlari va oziq-ovqat mahsulotlaridagi mikroorganizmlarning miqdorini hisoblash usullarini o'rganish.

Mikrobiologik ishlarni bajarish jarayonida sterillik sharoitlariga rioya qilish juda muhim. Shuning uchun qo'llanmaning dastlabki bo'limlari sterillashning mexanik usullari va dezinfeksiyaning kimyoviy vositalariga bag'ishlangan.

O'quv qo'llanmada bakteriya, achitqi va mitselial zamburug'lar morfologiyasiga katta o'rin ajratilgan. Oziq-ovqat mahsulotlarining aynishiga sabab bo'luvchi bakteriyalarning asosiy turlariga ta'rif berilgan. Oziq-ovqat mahsulotlarida rivojlanuvchi achitqi va mog'or zamburug'larining asosiy turlarini tuzilishi ko'rib chiqilgan. Bir necha laboratoriya praktikumlari xonalardagi havo, ichimlik suvi va oziq-ovqat mahsulotlarining mikrobiologik tekshirish jarayoniga bag'ishlangan. Shuningdek, suv mikroflorasi, ichimlik suviga qo'yiladigan sanitar talablar kabi masalalarga ham alohida e'tibor berilgan.

Ilovada mikrobiologik amaliyotda qo'llaniladigan asosiy ozuqa muhitlari retsepturasi keltirilgan.

Mikrobiologik laboratoriyada ishlash qoidalari

Mikrobiologik laboratoriyada ishlash qoidalari qat'iy tartib va tozalikni talab etadi. Shuning uchun laboratoriyada ishlash mobaynida talabalar quyidagi qoidalarga rioya etmoqlari lozim:

1) laboratoriyaga ustki kiyim, bosh kiyim bilan kirish, begona narsalarni olib kirish man etiladi;

2) laboratoriyaga ultrabinafsha lampalar bilan ishlov berish davrida kirish man etiladi;

3) mashg'ulotlardan avval paxtali matodan tikilgan xalat kiyish lozim;

4) laboratoriyadan xalatda chiqib, ustidan boshqa kiyimlar kiyish mumkin emas;

5) labortoriya stoliga shaxsiy buyum (sumka, papka va boshqa)larni qo'yish mumkin emas. Ular maxsus joylarda turishi kerak;

6) laboratoriyada ovqat yeyish, suv ichish, ortiqcha gapirish va yurish taqiqlanadi;

7) laboratoriya stolida ishga aloqador bo'lmagan narsalar turmasligi lozim;

8) spirt lampasi yoki gaz spirt lampasisi bilan ishlashda ehtiyotkorlik bilan harakat qilish kerak;

9) mikroorganizmlar sporalarining tarqalib ketmasligi uchun Petri likopchalari, probirkalar, ko'pincha allergik hususiyatga ega bo'lgan mog'or zamburug'lari solingan kolbalarni ochiq qoldirmaslik lozim;

10) ishlatilgan pipetkalar, buyum va qoplovchi idishlarni dezinfeksiyalovchi suyuqlikka solib qo'yish kerak;

11) mashg'ulotlarning oxirida ish joyini tartibga keltirish kerak: mikroskopni joyiga qo'yish, idishlarni yuvib qo'yish, ish stolini artib, uning tagiga taburetkani qo'yish lozim;

12) guruh navbatchisi talabalarning ish joylarini tekshirib chiqishi lozim.

1. MIKROSKOPIYA

Tayanch so'z va iboralar: yorug'lik mikroskopi; elektron mikroskop; asos; tubus ushlagich; tubus; okulyar; revolver; ob'ektiv; buyum stolchasi; kondensor; iris diafragma; ko'zgu; makrovint; mikrovint.

Ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan mikroorganizmlarning hujayralari faqatgina mikroskoplar yordamida o'rganiladi (grekcha micros – kichik, skopeo – ko'raman). Ushbu qurilmalar tekshirilayotgan ob'yektlarning yuzlab (yorug'lik mikroskoplari) va minglab (elektron mikroskoplar) marta kattalashtirilgan tasvirini ko'rish imkonini beradi.

1.1. Yorug'lik mikroskopining tuzilishi

Ishdan maqsad: talabalarni yorug'lik mikroskopining tuzilishi, uning xarakteristikalari va u bilan ishlash qoidalari bilan tanishtirish.

Mikroskop yorug'lik mikroskopi deb atalishiga sabab, u ob'yektni undan o'tayotgan yorug'lik nurida o'rganishni ta'minlaydi. Zamonaviy yorug'lik mikroskoplarining asosiy qismlari mexanik va optik qismlaridir (1.1-rasm).

Mexanik qismiga shtativ, tubus, revolver, mikromexanizm qutisi, buyum stoli, makrometrik va mikrometrik vintlar kiradi.

Shtativ ikki qismdan iborat – asos va tubus ulagich (kolonka). Mikroskop **asosi** to'g'ri to'rtburchak shaklda bo'lib, baravariga to'rtta tayanch maydonchalarga ega. Bu mikroskopning ish stolida mustahkam turishini ta'minlaydi.

Tubus ushlagich asos bilan birlashtiriladi va makro, mikrovintlar yordamida vertikal tekislikda harakatlanishi mumkin. Vintlar soat strelkasi bo'yicha aylantirilganida ushlagich pastga tushadi. Soat strelkasiga qarshi aylantirilganda preparatdan yuqoriga ko'tariladi. Tubus ushlagichning yuqori qismida monokulyar yoki binokulyar uchun mo'ljallangan uyali boshcha joylashgan. Boshcha vint bilan biriktiriladi.

Tubus – mikroskopning trubasi bo'lib, u asosiy optik qismlar – okulyar va ob'ektiv orasida ma'lum masofani saqlab turishga imkon beradi. Tubusning yuqori

qismiga okulyar o'rnatiladi. Mikroskoplarning zamonaviy modellarida egilgan tubus mavjud.



1.1-rasm. Mikroskopning tuzilishi.

1-asos; 2-tubus ushlagich; 3-tubus; 4-okulyar; 5-revolver; 6-ob'ektiv; 7-buyum stolchasi; 8-preparatni siqib turuvchi klemmalar; 9-kondensor; 10-kondensor kronshteyni; 11-kondensorni suruvchi buragich; 12-iris diafragma; 13-ko'zgu; 14-makrovint; 15-mikrovint; 16-mikrometrik fokuslash mexanizmiga ega quti; 17-tubusni va revolverni biriktirish boshchasi; 18- boshchani biriktirish vinti.

Revolver bir necha uyali botiq diskdan iborat. Uning uyalariga 3-4 ta ob'yektivlar kiritilishi mumkin. Revolver nasadkani aylantirib, tubus yorig'iga ixtiyoriy ob'yektivni ishchi holatda o'rnatsa bo'ladi.

Mikromexanizm korobkasi bir tarafdan kondensor kronshteynini, boshqa tarafdan tubus ushlagichni yo'naltirish vazifasini bajaradi. Korobkaning ichida tishli g'ildiraklar sistemasidan iborat bo'lgan mikroskopning fokuslash mexanizmi bor.

Buyum stolchasi o'zida preparat yoki tadqiqotning boshqa ob'ektini joylashtirishga mo'ljallangan. Stolcha kvadrat yoki aylana shaklida qo'zg'aluvchan yoki qo'zg'almas bo'lishi mumkin. Qo'zg'aluvchan oyoqcha gorizontal tekislikda ikkita yonidagi vintlari yordamida qo'zg'atilishi mumkin. Bu preparatni turli nuqtalardan kuzatish imkonini beradi. Ob'yektni turli nuqtalardan tekshirish uchun qo'zg'almas stolchada preparat qo'l bilan siljitiladi. Tagida buyum stolchasining markazida manbadan tushayotgan yorug'lik nurlari bilan yoritish uchun maxsus

teshik mavjud. Stolchada ikkita prujinali **klemmalar** bo'lib, ular preparatni mahkamlaydi. Mikroskopning ba'zi sitemalari preparat yuzasining tashqi qismini o'rganish va hujayralarni sanashda kerak bo'ladigan preparatni boshqaruvchi qurilmaga ega. Prepartni boshqaruvchi qurilma preparatning ikkita o'zaro perpendikulyar yo'nalishida harakatlanishini ta'minlaydi. Preparatni boshqaruvchi qurilmada lineykaning noniuslar sistemasi mavjud bo'lib, ular yordamida tekshiriluvchi ob'ektlar ixtiyoriy nuqtasiga koordinatalar berish mumkin.

Makrometrik vint (makrovint) ko'rilayotgan ob'ekt tasvirini tahminiy o'rnatish uchun kerak. Makrovint soat strelkasi bo'ylab aylanganida mikroskop tubusi pastga tushadi, teskari aylanganida – ko'tariladi.

Mikrometrik vint (mikrovint) ob'ekt tasvirini aniq o'rnatish uchun ishlatiladi. Mikrometrik vint mikroskopning eng nozik qismlaridan biri bo'lib, u bilan ishlaganda ehtiyotkorlik zarur: tubus o'z-o'zidan tushib ketmasligi uchun vintni tasvirni ko'rish maqsadida aylantirib yuborish kerak emas. Mikrovintinig to'liq aylanishida tubus 0,1 mm.ga suriladi.

Mikroskopning optik qismi asosiy optik qismlar (ob'ektiv va okulyar)dan va yordamchi yorituvchi tizim(ko'zgu va kondensor)dan iborat.

Ob'yektivlar (lotincha objektum – buyum) – mikroskopning eng muhim, qimmat va nozik qismi. Ular metall gardishga biriktirilgan linzalar sistemasidan iborat bo'lib, kattalashtirish darajasi va sonlar aperturasi ko'rsatilgan. Preparatga tekis tarafi bilan joylashgan tashqi linza frontal deb ataladi. Aynan shu linza kattalashgan tasvir hosil bo'lishini ta'minlaydi. Boshqa linzalar korreksion linzalar deb ataladi va tekshiriluvchi ob'ektni ko'rishida paydo bo'ladigan optik tasvirlarning kamchiliklarini kamaytirish uchun xizmat qiladi.

Ob'ektivlar quruq va immersion bo'ladi. *Quruq ob'yektiv* deb ob'yektiv va frontal linza orasida havo bo'ladigan ob'yektivga aytiladi. Quruq ob'yektivlar ko'pincha katta fokus masofaga va 8 yoki 40 marotaba kattalashtirish xususiyatiga ega. *Immersion* ob'yektivda frontal linza va preparat orasida maxsus suyuq muhit bo'ladi. Shisha (1,52) va havo (1,0) ning sindirish ko'rsatkichlari turlicha bo'lganligi sababli yorug'lik nurlarining bir qismi sinadi va kuzatuvchining

ko'ziga tushadi. Buning natijasida tasvir noaniq bo'lib, maydaroq strukturalar ko'rinmaydi. Yorug'lik oqimi sochilishinig oldini olish maqsadida preparat va ob'ektiv frontal linzasi orasi sindirish ko'rsatkichi shishaning sindirish koeffitsientiga yaqin sindirish ko'rsatkichga ega bo'lgan modda bilan to'ldiriladi. Bunday moddalarga glitserin (1,47) kedr moyi (1,51), kastor (1,49), anis (1,55) moylari va boshqalar kiradi. Immersion ob'ektivlar gardishida quyidagi belgilashlar mavjud: I – *immersion* (immersiya), HI – *homogen immersion* (bir jinsli immersiya) IO – *oil immersion* MI – moyli immersiya. Hozirgi vaqtda immersion suyuqlik sifatida ko'pincha sun'iy mahsulotlar ishlatilib, ular optik xossalari bo'yicha kedr moyiga mos keladi.

Ob'ektivlar kattalashtirish darajasiga qarab ajratiladi. Ob'ektivlarning kattalashtirish ko'rsatkichi ularning gardishda ko'rsatilgan (8x, 40x, 60x, 90x). Bundan tashqari, har bir ob'ektiv ishchi masofasining ma'lum bir kattaligi bilan xarakterlanadi. Immersion ob'ektiv uchun bu masofa mos ravishda 0,12 mm ni tashkil etsa, 8 va 40 marta kattalashtiruvchi quruq ob'ektivlar uchun 13,8 va 0,6 mm ni tashkil etadi.

Okulyar (lotincha *okularis* – ko'z) ikkita linza - ko'z (yuqori) va maydon (quyi) linzalardan iborat bo'lib, ular metall gardishga kiritilgan. Okulyar ob'ektiv berayotgan tasvirni kattalashtirishga xizmat qiladi. Okulyarning kattalashtirish darajasi uning gardishida ko'rsatilgan. 4 martadan 20 martagacha kattalashtiruvchi okulyarlar mavjud.

Mikroskop bilan uzoq davr ishlaganda binokulyar nasadkadan foydalanish lozim. Nasadka qutilari kuzatuvchi ko'zlari oralig'i masofasiga bog'liq holda 55-75 mm oralig'ida surilishi mumkin. Binokulyar nasadkalar o'zining xususiy kattalashtirish qobiliyati (1,5 barobar) va korreksion linzalarga egadirlar.

Kondensor (lotincha *condenso* – zichlashtiryapman, quyuqlashtiryapman) 2-3 ta qisqa fokusli linzalardan iborat. U ko'zgudan kelayotgan nurlarni yig'ib, ob'ektga yo'naltiradi. Buyum stolchasi ostida joylashgan dasta yordamida kondensor vertikal tekislikda harakatlanishi mumkin. Bu esa o'z navbatida kondensor ko'tarilganda mikroskopning yoritilganligini oshiradi va tushirilganda

kamaytiradi. Kondensordagi yorug'lik intensivligini sozlash uchun gulsafsar (yaproqli) diafragma qo'llaniladi. U po'lat o'roqsimon plastinkalardan iborat. To'liq ochilgan diafragmada bo'yalgan preparatlarni, diafragma tirqishi kichikligida esa bo'yalmagan preparatlarni ko'rish tavsiya etiladi. Kondensor ostida kamroq kattalashtiruvchi (8 yoki 9 marta) ob'ektivlar bilan ishlashda qo'llaniladigan to'g'incha joylashtirilgan **ochiluvchi linza** mavjud.

Ko'zgu ikkita nur qaytaruvchi tekislikka (tekis va botiq) ega. U shtativ asosiga mahkamlanib oson buraladi. Sun'iy yorug'likda ko'zguning botiq tarafidan, tabiiy yorug'likda tekis tarafidan foydalanish tavsiya etiladi.

Yoritkich yorug'likning sun'iy manbasi vazifasini bajaradi. U shtativga mahkamlangan past voltli qizdiruvchi lampa va kamaytiruvchi transformatordan iborat. Transformatorda lampaning qizdirishini boshqaruvchi reostat dastasi va yoritgichni yoqish uchun xizmat qiluvchi tumbler mavjud.

Ko'p zamonaviy mikroskoplarda yoritkich asosga biriktirilgan.

1.2. Yorug'lik mikroskopining asosiy xarakteristikalari

Ob'ektivning *son aperturasi A* (lotinchada aperture – tirqish) uning yorug'likning yig'ish xususiyatini xarakterlaydi va quyidagicha formula bilan aniqlanadi:

$$A=n \sin 1/2\alpha,$$

Bu yerda, n – buyum shishasidan ob'ektivning frontal linzasi va buyum shishasi orasidan o'tayotgan yorug'lik nurining sindirish ko'rsatkichi; α - bir tomoni optik o'q bilan, boshqa tomoni ob'ektivdan chiqayotgan effektiv nurlarning ob'ektivning ishlayotgan tirqish chegarasini biriktiruvchi chiziq bilan hosil qilingan; $1/2\alpha$ - ob'ektivning kirish tirqishi burchagining yarmi.

Yorug'lik nurining sindirish ko'rsatkichi n maksimal bo'lishi muhimdir. Yuqorida aytib o'tilganidek, uni kattalashtirish uchun ob'ektivning frontal linzasi va buyum shishasi orasiga shishaning sindirish ko'rsatkichiga yaqin sindirish ko'rsatkichli modda kiritiladi. $\sin 1/2\alpha$ ning qiymatini oshirish uchun kondensorni

maksimal darajada ko'tarish kerak. Kondensor pastga tushirilsa, uning bu xususiyati buziladi.

Ob'ektivning son aperturasi va kattalashtirish xususiyati uning gardishida ko'rsatilgan: 8x0,2; 40x0,65; 90x1,25.

Mikroskopning *kattalashtirish qobiliyati (D)* okulyarning kattalashtirishi (K) va ob'ektivning kattalashtirishi (V) ning ko'paytmasiga teng:

$$D=KV.$$

Nazariy jihatdan mikroskop 2000 va undan ortiq marotaba kattalashtirishi mumkin. Lekin mikroskopning foydali va foydasiz kattalashtirishini farqlash lozim. Ob'yektni chegaraviy ko'rish burchagi ostidan ko'rishga imkon beruvchi kattalashtirish foydali kattalashtirishdir. Oddiy yorug'lik mikroskoplarining foydali kattalashtirish chegarasi 1400 gacha. Foydali kattalashtirishning chegaralarini oshirishda yorug'likning to'lqin tabiatiga bog'liq bo'lgan difraksiya va boshqa hodisalar vujudga keladi. Xususan, 40x kattalashtirish darajasi va 0,65 son aperturasiga ega ob'yektivning foydali kattalashtirishi 325-650 ni tashkil etadi. Bunday kattalashtirish bu ob'yektiv ko'ra olishi mumkin bo'lgan barcha strukturalarni ajratish imkonini beradi.

Shuning uchun foydali kattalashtirish chegarasida ko'rish uchun 40x ob'yektiv bilan ishlashda 15x okulyarni tanlash kerak. Kuchliroq okulyarlarning qo'llanishi kichikroq detallarni ko'rish imkonini bermaydi.

Agar ob'yektiv 90x kattalashtirish xususiyatiga ega bo'lsa (son aperturasi A=1,25), u holda u uchun foydali kattalashtirish 1250 ga teng. Demak, ushbu holda ham foydali kattalashtirish chegaralaridan chiqib ketmaslik uchun 15x dan ortiq kattalashtiruvchi okulyarlarni olmaslik kerak.

Mikroskopning *ajratish qobiliyati.* Agar mikroskopning kattalashtirish qobiliyati ob'ektiv va okulyarga bog'liq bo'lsa, ajratish qobiliyati asosan ob'ektiv va kondensor bilan aniqlanadi. Ajratish qobiliyatini quyidagi formula orqali hisoblasa bo'ladi:

$$d = \lambda /2A,$$

bu yerda λ – inson ko'zi bilan qabul qiluvchi yorug'lik to'lqin uzunligi (0,4-0,7 *mkm* o'rtacha – 0,55 *mkm*); *A*-ob'yektivning son operturasi.

Yorug'lik mikroskopining maksimal ajratish qobiliyati 0,2 *mkm* ni tashkil etadi, *d* ning absolyut qiymati qanchalik kichik bo'lsa, mikroskopning ajratish qobiliyati shunchalik yaxshi bo'ladi.

1.3. Mikroskop bilan ishlash qoidalari

1. Mikroskopning shtativ kolonkasidan bir qo'l bilan ushlanadi. Boshqa qo'l bilan uning asosidan ushlanadi. Mikroskopning boshqa detallaridan ushlab ko'tarish mumkin emas.

2. Ish stolida mikroskopning kolonkasi kuzatuvchiga qarab turishi kerak. Ish boshlashdan avval barmoqlar bilan linzalarga tegmasdan yumshoq quruq lattada mikroskop optik qismlarining changi artiladi.

3. Revolver yordamida kerakli ob'yektiv o'rnatiladi. Fiksatorning revolver ichidagi o'ziga xos tovushi ob'yektivning markazlashgan holda o'rnatilganligidan darak beradi. Ob'yektivning kattalashtirishi qanchalik kam bo'lsa, fokus masofa shunchalik katta bo'lishini esda tutish lozim. 8x ob'yektiv bilan ishlashda preparat va ob'ektiv orasidagi masofa 9mm. ni, 40x ob'yektiv bilan ishlashda - 0,6 mm. ni, 90x ob'yektiv bilan ishlashda – 0,15 mm. ni tashkil etadi.

4. Buyum stolchasiga buyum shishasi qo'yilib, u klemmalar bilan mahkamlanadi.

5. Mikroskop tubusi makrovint yordamida ehtiyotkorlik bilan tushiriladi. Ob'yektivga yonidan qarab, uni preparatga ishchi masofadan kamroq bo'lgan masofaga yaqinlashtiriladi (preparatga tegib ketish mumkin emas). Keyin okulyarga qarab turib, makrovint sekin aylantiriladi va ko'rish maydonida o'rganilayotgan buyum tasviri paydo bo'lguniga qadar tubus ko'tariladi.

6. Mikrometrik vintni aylantirib, buyumning tasviri aniq bo'lishi uchun ob'yektiv fokuslanadi.

7. Immersion ob'yektiv bilan ishlashda buyum stolchasiga bir tomchi kedr moyi surtiladi va ob'yektivga yonidan qarab turib, tubusni makrometrik vint bilan

shunday tushiriladiki, bunda ob'yektivning frontal linzasi moyga botib tursin. Keyin okulyarga qarab turib, makrovint sekin aylantiriladi va tubus tasvir paydo bo'lgunga qadar ko'tariladi. Aniq fokuslash uchun mikrometrik vintni bitta aylanish chegarasida buraladi.

D i q q a t! Mikrometrik vint yordamida preparat tasvirini izlash taqiqlanadi!

8. Preparat bir necha ko'rish maydonlarida tekshiriladi. Bunda buyum stolchasi yon vintlar yordamida surib turiladi yoki preparat buyum stolchasida qo'l bilan siljitib turiladi.

Preparatning mikroorganizmlar yaxshiroq ko'rinuvchi qismi topilib, mikroskopik tasvir chizib olinadi.

9. Ob'ektivlarni almashtirishda ko'rilayotgan ob'ektning yoritilish intensivligini nazorat qilish lozim. Yoritishning kerakli darajasiga kondensorni tushirib, yoki ko'tarib erishiladi.

10. Ish tugaganidan keyin tubus ko'tariladi, preparat buyum stolchasidan olinadi, immersion ob'yektivning frontal linzasidagi moy benzin bilan ho'llangan filtr qog'ozda artiladi. Revolver yordamida 8x kattalashtirish qobiliyatiga ega ob'yektiv o'rnatiladi, buyum stolchasiga toza doka qo'yilib, tubus tushiriladi.

1.4. Qorong'u maydondagi mikroskopiya.

Qorong'u maydondagi mikroskopiya ob'yektivning ajratish qobiliyatini taxminan 10 marta oshirib, oddiy mikroskop ko'ra olmaydigan ob'ektlarni ham ko'rishga imkon beradi. Qorong'u maydon mikroskopiyasi ob'yektni ob'yektivga tushmay qolib ko'zga ko'rinmaydigan yorug'likning qiya tushuvchi nurlari bilan yoritishga asoslangan (Tindal hodisasi). Shuning uchun ko'rish maydoni qop-qorong'u bo'lib ko'rinadi. Agar preparatda qandaydir zarrachalar, masalan mikroblar bo'lsa, ma'lum burchak ostida yo'naltirilgan nurlar difraksiyasi natijasida ularning yuzasidan qaytadi va o'zining boshlang'ich yo'nalishini o'zgartirib, ob'ektivga tushadi. Yorug'lik nurlari ob'ektivdan kelganligi sababli, kuzatuvchi qora fonda mikrob hujayralari yoki boshqa zarrachalar konturining taratuvchi tasvirini ko'radi. Qorong'u maydonga yorug'lik mikroskopining oddiy

kondensorini o'rnini bosadigan maxsus kondensorni qo'llash bilan erishiladi. Lekin qorong'u maydon effekti kondensor aperturasi ob'ekt aperturasidan 0,2 – 0,4 birlikka bo'lgandagina kuzatiladi.

Qorong'u maydon mikroskopiyasi mikroorganizmlarning tirik hujayralarini tekshirishda qo'llaniladi. U mikroblar harakatchanligi, ba'zi bir kasalliklar (leptospiroz)ning qo'zg'atuvchilarini aniqlash uchun kerak. Lekin ko'rishning qorong'u maydonida mikrob hujayrasining shakli va ichki tuzilishini yaxshi o'rganib bo'lmaydi.

Achitqi hujayralarni ko'rishda sitoplazma o'zidan kam va bir tekisda yorug'lik chiqaradi. Uning fonida qora vakuolilar, liposomalarning yaltiroq granulalari aniq ajralib turadi. O'layotgan hujayralarning protoplasti sutsimon oq rangga ega.

1.5. Faza – kontrast mikroskopiyasi

Faza – kontrast mikroskopiya tirik ob'yektlarni bo'yamasdan va fiksatsiya qilmasdan ko'rish imkonini beradi. Inson ko'zi yorug'lik nuri to'lqin uzunligi (rangi)ning va amplitudasi (intensivlik, kontrastlik) ning o'zgarishini sezadi. Lekin faza farqlarini bila olmaydi. Faza – kontrast mikroskopiyasi bir xil to'lqin uzunlik va amplitudaga ega nurlarni o'tkazadigan, lekin fazalarini siljitadigan shaffof ob'yektlarni kuzatish uchun ishlab chiqilgan. Siljish kattaligi qalinlikka va strukturalarning sindirish ko'rsatkichiga bog'liq. Faza-kontrast qurilmasi yordamida shaffof ob'yektlar orqali o'tayotgan yorug'lik to'lqinlarining faza o'zgarishlari amplituda o'zgarishlariga aylanadi. Bunda ko'rilayotgan ob'yektlarning turli qismlari ko'zga aniq ko'rinadi.

Tadqiqotlarni olib borish uchun yorug'lik mikroskopiga faza-kontrast qurilmasi qo'shiladi. Bunda asosan yordamchi mikroskop, maxsus fazali mikroskoplar va xalqali diafragmalar to'plamiga ega kondensordan iborat KF-4 modeli ko'p ishlatiladi.

Yordamchi mikroskop oddiy mikroskop okulyarini almashtirgan holda o'rnatiladi. Fazaviy kontrast olish uchun ob'yektivga maxsus fazali plastinka

kiritilib, u bir tarafiga nodir metallar tuzlari sepilgan yupqa diskdan iborat. Ushbu plastinka o'tayotgan yorug'lik to'lqini fazasini 1/4λ ga o'zgartiradi. Bu esa o'z navbatida faza farqlarining amplitudaviy farqlarga aylanishiga sababchi bo'ladi. Fazaviy ob'yektivlar gardishida indekslar belgilangan: F10, F20, F40 va F90. Xalqali diafragmalar kondensor ostidagi revolver diskida o'rnatilgan va ularni diskni burish bilan tez o'zgartish mumkin. Xalqali diafragma preparat tekisligiga kondensor orqali faqat yorug'lik xalqasini o'tkazishi mumkin. Faza-kontrast effekti faza plastinkasi va xalqa diafragmasi proeksiyalari bir-biriga aniq keltirilgandagina kuzatiladi.

1.6. Lyuminessent mikroskopiya

Lyuminessent mikroskopiyaning qo'llanilishi ba'zi biologik ob'yektlarning inson ko'zi ko'rmaydigan qisqa to'lqinli nurlar (ko'k-binafsha-460 nm, yoki ultrabinafsha 300-400 nm. to'lqin uzunlikka ega) bilan nurlantirilganida yorug'lik ajratish qobiliyatiga asoslangan. Bu hodisa shunday tushuntiriladi: tushayotgan yorug'lik energiyasining bir qismi yutiladi va yoritilayotgan ob'yekt o'zidan nurlantirayotgan yorug'lik nurlari to'lqin uzunligidan kattaroq to'lqin uzunligidagi nurlar chiqaradi. Bunda hujayralar sariq-yashil va zarg'aldoq rangdagi nur chiqaradi (fluoresensiya). Bu xususiy yoki birlamchi lyuminesensiya hisoblanadi.

Birlamchi nur chiqarish qobiliyatiga o'simlik va suv o'tlari xlorofill tufayli egadirlar. Shuningdek, bunday qobiliyat pigment ishlab chiqaruvchi ba'zi bakteriyalarda kuzatiladi. Mikroorganizmlarning ko'p hujayralari sust birlamchi lyuminisensiya xususiyatiga egadirlar.

Xususiy lyuminissensiyaga ega bo'lmagan ob'yektlarning ikkilamchi (yoki orttirilgan) lyuminessensiyasiga ularni maxsus bo'yoqlar – fluoroxromlar bilan bo'yash bilan erishish mumkin. Eng ko'p ishlatiladigan fluoroxromlar akridin va tiazoll guruhlariga kiradi (zarg'aldoq va sariq akridin, auramin, uranin, rodamin, tioflovin, primulin, fluoressin va boshqalar). Xususan zarg'aldoq akridin sitoplazmani yashil-sariqqa, metaxromatinni yorqin qizilga, vakuolini pushtiga, yadroni och yashil rangga bo'yaydi.

Lyuminessent mikroskopiya qorong'u xonada maxsus lyuminessent mikroskop, masalan, ML-2 yordamida amalga oshiriladi.

Lyuminessent mikroskoplarda ultrabinafsha nurlanish manbai sifatida maxsus kvars lampalari qo'llaniladi. Ob'yektga tushguniga qadar lampa nurlari ultrabinafsha spektrining λ=360-380 nm. to'lqin uzunligidan boshlanadigan ma'lum bir qism nurlarni o'tkazuvchi qator yorug'lik filtrlaridan o'tadi.

Lyuminisensiyaning hosil qilishni osonroq usuli ko'rinuvchi yorug'lik nurining qisqa to'lqin qismi - λ=460 nm dan boshlanuvchi ko'k-binafsha nurlarni ishlatishdir. Bu holda kuzatuvlarni nafaqat maxsus lyuminessent mikroskopda, balki oddiy mikroskopda nurlar yo'liga ko'k rangdagi shisha yoki suyuq yorug'lik filtri o'rnatib o'tkazish ham mumkin. Ortiqcha ko'k nurlarni mikroskop okulyariga o'rnatilgan sariq yorug'lik filtri yordamida olib tashlasa bo'ladi. Natijada preparatda qora fonda lyuminisensiyalanuvchi ob'ektlar ko'rinadi.

Lyuminessent mikroskopiya ob'yektlarning oddiy mikroskopda ko'rib bo'lmaydigan morfologik xususiyatlarni ko'rish imkonini beradi. Bundan tashqari, u mikroblarni nurlanish xarakteriga qarab aniqlashga, hujayraning turli fiziologik holatlarida strukturasining o'zgarishini bilishga yordam beradi. Bu usul yordamida bakteriyalarning antigen strukturasini o'rganish va yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilarini lyuminessent bo'yoqlar bilan belgilangan immun zardoblarni qo'llash yo'li bilan aniqlash mumkin.

1.7. Elektron mikroskopiya

Elektron mikroskopda yorug'lik nurlari o'rniga harakatlanayotgan elektronlarning oqimi qo'llaniladi. Bu qurilmaning ajratish qobiliyatini 100 martadan ko'p miqdorga orttiradi. Zamonaviy elektron mikroskoplarning yuqori ajrata olish qobiliyati yorug'lik mikroskopida ko'rinmaydigan ob'yektlarni ko'rish va o'rganishga imkon beradi: viruslar, bakteriofaglar, mikroplazmalar, prokariot va eukariot hujayralarning nozik tuzilishi ularning makro va mikrostrukturali elementlari.

Elektron mikroskop bir necha murakkab qurilmalardan iborat:

TKTI AXBOROT RESURS MARKAZI
05602

1. Elektron pushka, elektronlar dastasini fokuslovchi qurilmalar, kondensorli linza, ob'yekt kamerasi (buyum stolchasi, ob'ektiv, oraliq va proeksion linzalar); fluoressent ekran, fotokamera o'rnatilgan kolonna;

2. Kolonnada yuqori vakuum yaratuvchi vakuum qurilma;

3. Boshqaruv pulti;

4. Kolonna ortidagi metall shkafda joylashgan elektr manba uchun qurilma;

5. Yordamchi qurilmalar.

Elektron mikroskopning yorituvchi sistemasi elektron pushka va kondensorli linzadan iborat. Elektronlar dastasini fokuslovchi linzalar sifatida elektromagnit maydon ishlatiladi (shishadan elektronlar o'ta olmaganligi sababli shisha linzalarni qo'llab bo'lmaydi). Havo elektronlarning harakatiga to'sqinlik qiladi. Shuning uchun mikroskop ichida vakuum holatini ushlab turish kerak.

Preparatlarni elektron mikroskopga tayyorlash texnikasi yorug'lik mikroskopiyasidagidan boshqacha bo'ladi. Elektron mikroskopda ko'riladigan preparatlar elektronlar o'tishi mumkin bo'lgan juda yupqa taglikda tayyorlanadi. Taglik sifatida qalinligi taxminan 1 mkm bo'lgan kollodiy, kvars yoki boshqa materiallardan tayyorlangan plyonkalar ishlatiladi. Plyonkalar juda yupqa va nozik bo'lgani sababli ularni maxsus mayda yacheykali to'rlarga o'rnatiladi. Preparat va taglikning umumiy qalinligi 0,25 mkm dan oshmasligi kerak. Tekshirilayotgan ob'yektlarning kontrastligini oshirish maqsadida ularga chuqur vakuum holatida xrom, oltin, platina, palladiy kabi moddalarning juda yupqa qatlami sepiladi yoki turli kontrast moddalar ishlatiladi (uranilasetat, uranilnitrat, fosfor-volfram kislotasi). Ko'rilayotgan ob'yekt kondensor va ob'yektiv linzasi orasida joylashgan buyum stolchasiga qo'yiladi. Tekshirilayotgan ob'yektdan o'tgan elektronlar dastasi sochiladi va ob'yektiv linzasining sindiruvchi elektromagnit maydonida fokuslanadi. Bunda ob'ektning ko'rish shishasidan ko'rinuvchi 40-50 ming marta kattalashtirilgan haqiqiy tasviri hosil bo'ladi. Keyin elektronlar oqimi proeksion linzaning elektromagnit maydoniga tushadi. Ushbu linza o'tayotgan elektronlar oqimini yig'adi va ularni flyuoressent ekranda fokuslaydi. Bunda ob'yektning 200-300 ming marotaba kattalashtirilgan tasviri hosil bo'ladi.

Flyuoressent ekran tagida fotokamera joylashgan. Maxsus dastak yordamida ekranni ko'tarib turib elektronlar dastasi fotoplastinkaga tushiriladi va ob'yekt tasviri olinadi.

Nazorat savollari

1. Mikrobiologik laboratoriyada ishlashning asosiy qoidalari nimalardan iborat?
2. Mikroskop mexanik qismining asosiy elementlarini ayting.
3. Mikroskop optik qismining asosiy elementlarini ayting.
4. Mikroskopning son aperturasi deb nimaga aytiladi?
5. Quruq ob'ektivlar immersion ob'ektivlardan nimasi bilan farqlanadi?
6. Makro va mikrovintlarning vazifasi nimadan iborat?
7. Revolver nima uchun kerak?
8. Mikroskopning kattalashtirish qobiliyati qanday aniqlanadi?
9. Preparatning yoritilganlik darajasini qanday aniqlash mumkin?
10. Yorug'lik mikroskopining asosiy xarakteristikalarini ayting.
11. Qorong'u maydondagi mikroskopiyaning mohiyati nimadan iborat?
12. Faza-kontrast mikroskopining ishlash prinsipini tushuntiring
13. Lyuminessent mikroskopning ishlash prinsipini tushuntiring
14. Elektron mikroskop bilan ishlash qoidalari nimalardan iborat?

2. MIKROBIOLOGIK LABORATORIYANI TASHKILLASHTIRISH VA JIHOZLASH

Tayanch so'z va iboralar: avtoklav, termostat, quruq isituvchi shkaf, muzlatgich, texnik tarozi, pH-metr, bakterologik ilgaklar va ninalar, Drigalskiy shpatel, qaychi, pinset, shtativ.

Ishdan maqsad: talabalarni mikroskopik laboratoriya jihozlari, ozuqa muhitlarini sterillash usullari va vositalari, idishlar bilan tanishtirish.

Mikrobiologik laboratoriyada quyidagi xonalar mavjud bo'lishi kerak:

•Tadqiqotlar o'tkaziladigan laboratoriya xonalari;

•Yuqori sterillikni talab qiluvchi ishlar bajariladigan oyna bilan to'silgan boks;

• Idishlarni yuvish uchun jihozlangan yuvish xonasi;

• Ozuqa muhitlari, idishlarni sterillashga tayyorlash, reaktivlarni tayyorlash uchun mo'ljallangan preparatlar xonasi;

•Avtoklavlar o'rnatilgan sterillash bo'limi.

Laboratoriyaning barcha xonalari tabiiy va sun'iy yorug'lik bilan yaxshi ta'minlangan bo'lishi kerak. Stollar va polning yuzasi yaxshi tozalanadigan materiallar bilan qoplangan bo'lishi lozim (plastik, linoleum); boksda, avtoklav va yuvish xonalarida devorlar va pollar maxsus plitalar bilan qoplanadi. Laboratoriya xonalarida havoni sterillash maqsadida bakteritsid lampalar o'rnatiladi (BUV-15, BUV-30 va boshqalar).

Jihozlar: avtoklavlar, termostatlar, quruq isituvchi shkaflar, mikroskoplar, muzlatgichlar, texnik tarozilar, xonalarni mikrobiologik analiz qiluvchi apparat, mikroorganizm koloniyalarini sanovchi qurilma, anaerob bakteriyalarni ko'paytiruvchi anaerostat, pH-metr.

Idishlar va moslamalar: bakterologik ilgaklar va ninalar, Drigalskiy shpatellari, qaychilar, pinsetlar, shtativlar, laboratoriya idishlari (Petri likopchalari, probirkalar, pipetkalar – asosan 1,0 va 0,1 sm^3 uchun, buyum va qoplovchi shishalar, bo'yoq va eritmalar uchun flakonlar) paxta, doka, filtr qog'oz.

2.1. Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniluvchi sterilizatsiya usullari va vositalari

Sterillash (lotincha *sterilis* – bepusht) mikrobiologik amaliyot va oziq-ovqat ishlab chiqarishda materiallardagi barcha vegetativ hujayralar va ularning sporalarini yo'qotishni anglatadi. Sterillash mikrobiologik amaliyotda eng muhim va kerakli tadbirlardan biri hisoblanadi.

Sterillashning quyidagi usullari mavjud:

Termik sterillash

- Olovda qizdirish (flambirlash);
- Qaynatish;
- Quruq issiqlik;
- Bosim ostidagi to'yingan bug';

Sovuq sterillash

- Filtrlash;
- Nurlantirish;

Dezinfeksiya

Termik sterillash

Flambirlash – mayda buyumlarni spirt lampasi yoki spirt lampasi olovida qizdirish yo'li bilan sterilizatsiya qilish (buyum shishalari, bakterologik ilgaklar, ninalar, pinsetlar, lansetlar va h.k.z.). Shuningdek, olovda turli ozuqa muhitlarini quyishda ishlatiladigan kolba va probirkalarning og'zi ham kuydiriladi.

Qaynatish metall asboblar, ninalar, rezina trubkalarni sterillashda ishlatiladi. Asboblar maxsus qopqoqli metall sterilizatorlarda 30-40 daqiqa davomida qaynatiladi. Lekin uzoq qaynatish jarayoni ham ob'ektning sterilligini to'liq ta'minlab bera olmaydi. Chunki qator anaerob klostridiyalarning sporalari 3 soat qaynatilsa ham nobud bo'lmaydi.

Quruq issiqlik bilan sterillash. Shisha idishlarni (pipetkalar, probirkalar, kolbalar, Petri likopchalar va h.k.z.) quruq issiqlik shkaflarida 160 °C dan 180 °C

haroratda 1 – 1,5 soat mobaynida ushlanadi. Bunday sharoitda vegetativ hujayralar va mikroorganizmlar sporalari halok bo'ladi.

Sterilizatsiyadan avval idishlar yuvilib, quritiladi. Probirkalar va kolbalar paxta-dokali tiqinlar bilan berkitiladi. Probirkalar qog'ozga 10-20 dona qilib o'raladi. Kolbalarga ularni changdan asrovchi qog'oz qopqoqlar yopiladi. Pipetkalarning og'izga kiritiladigan tomonlariga paxtali tamponlar tiqiladi. Pipetkalar maxsus shisha yoki metall penallarga joylashtiriladi yoki qog'ozga o'raladi. Ish mobaynida pipetkalar penaldan faqat tampon kiritilgan yuqori qismidan ushlab olinadi. Petri likopchalari qog'ozga o'raladi (har biri alohida yoki 2-3 tadan). Sterillashga tayorlangan idishlar quritiuvchi shkafga juda zich joylashtirilmaydi. Chunki ularning bir xil qizishi ta'minlanishi kerak. Sterilizatsiya tugashi bilan shkaf o'chirib qo'yiladi. Lekin u harorati 100-70 ^{0}C gacha tushguniga qadar ochilmaydi. Shkaf tez ochib yuborilsa, idishlar darz ketishi mumkin. Sterillikni saqlash uchun idishlar bevosita ishdan oldin ochiladi.

Bosim ostidagi to'yingan bug' bilan sterillash. Ushbu usul eng keng tarqalgan va samarador usul bo'lib, u suvning qaynatish natijasida hosil bo'lgan bug'ning yopiq joyda yig'ilib, bosimini orttirishga asoslangan. Bosim ortganda bug'ning harorati ortadi (2.1-jadval).

2.1-jadval.

Manometr ko'rsatkichlari va to'yingan bug' haroratining mosligi

Manometr ko'rsatkichi, MPa	To'yingan bug'ning temperaturasi, ^{0}C	Manometr ko'rsatkichi, MPa	To'yingan bug'ning temperaturasi, ^{0}C
0,00	100	0,15	128
0,05	112	0,20	134
0,10	121	0,30	144

Sterillash maxsus germetik yopilgan ikkita devorli apparat – avtoklavda o'tkaziladi. Avtoklavning ishlash prinsipi bosim orttirilganida suvning qaynash haroratining oshishiga asoslangan. Bug' hosil bo'lishi uchun avtoklavdagi suv elektr energiya yordamida isitiladi. Avtoklavning asosiy qismlari quyidagilar:

kojux, suv-bug'li kamera, sterillash kamerasi, rezina qoplamali qopqoq. Qo'shimcha ravishda avtoklavga quyidagi elementlar qo'shiladi: sifon trubkali va kranga ega manometr, suv-bug' kamerasidagi suv miqdorini nazorat qiluvchi suv o'lchovchi shisha nay, avtoklavda bosim haddan tashqari oshib ketishini oldini oluvchi himoya klapani, sterillashning boshida havoni chiqarib yuborish, sterillash kamerasidan kondensatni chiqarib yuborish uchun mo'ljallangan havo va chiqarish klapanlari.

Avtoklavlarda ozuqa muhitlari, fiziologik eritmalar, rezina buyumlar, rezina tiqinli shisha idishlar sterillanadi. Sterillash tartibi (harorat va sterillash davomiyligi) ozuqa muhitining tarkibi, pH ning miqdori bilan aniqlanadi. Tarkibida shakar, sut, vitamnlar bo'lgan muhitlar 0,05 MPa bosim ostida 15-20 daqiqa, go'sht-pepton muhitlar 0,1 MPa bosim ostida 20-30 daqiqa sterillanadi. Sterillash davri kerakli bosim o'rnatilgan vaqtdan boshlab hisoblanadi.

pH ning kichik qiymatlarida ozuqaviy muhitlar tarkibiga kiruvchi ba'zi moddalar sterillash davomida gidrolizga uchraydi. Buning oldini olish uchun ba'zi komponentlar (aminokaslotalar, vitaminlar) eritmasi alohida sterillanib, muhitga sterillashdan so'ng qo'shiladi.

Oquvchi bug' bilan sterillash (bo'lib sterillash) – ushbu usul 100 ^{0}Cdan yuqori haroratlar ta'sir etganida o'z tarkibini o'zgaruvchi ozuqa muhitlarni bepusht qilish uchun qo'llaniladi. Bo'lib sterillashning mohiyati shundan iboratki, muhitni qizdirish 15-30 daqiqadan 100 ^{0}C haroratda uch kun ketma ket amalga oshiriladi. Dastlabki qizdirishdan so'ng vegetativ hujayralar halok bo'ladi. Lekin ba'zi sporalar tirik qolib, keyin o'sib chiqadi. Haroratga chidagan sporalarning vegetativ formalari takroriy qizdirishda halok bo'ladi. Bo'lib sterillash ochiq tushiruvchi kran holatida Kox apparati yoki avtoklavda amalga oshiriladi.

Tindallashtirish – yuqori haroratlarda oson parchalanadigan materiallar (zardoblar, vitaminlar, ba'zi antibiotiklar)ni bo'lib sterillash. Sterillash ob'ektni 60^{0} dan 65 ^{0}C gacha bo'lgan haroratda 60 daqiqa 5-6 kun ketma-ket yoki 70-80 ^{0}C da 3 kun ketma-ket amalga oshiriladi.

Sovuq sterillash

Bakterial filtrlar orqali filtrlash. Agar yuqori harorat sterillanuvchi metall sifatini keskin o'zgartirishi mumkin bo'lsa, u holda mayda teshikli filtrlar orqali filtrlash amalga oshiriladi. Bundan tashqari, filtrli sterillash bakterial toksinlar va mikroorganizmlar faoliyatining boshqa mahsulotlarini tozalash uchun qo'llaniladi.

Filtrlarning 2 asosiy xili mavjud – *chuqur* va *membrana filtri.*

Chuqur filtrlar tolali materiallardan iborat. Zarrachalar ulardagi adsorbsiya va filtr materialida mexanik ushlanib qolishi natijasida o'ta olmaydi. Bakterial filtrlar turli materiallardan, turli diametrli teshiklar bilan tayyorlanadi. Bu hususiyatlar qadoqda ko'rsatilgan bo'ladi. Filtrlab sterillash uchun Zeytsning plastinkali asbest filtrlari, kaolin va kvars qumidan tayyorlangan Shamberlan shamlari, infuzor tuproq va asbestdan tayyorlangan Berkefeld shamlari ishlatiladi.

Membrana filtrlari uzluksiz strukturaga ega bo'lib, ular nitrokletchatkadan iborat va ularning zarralarini ushlab qolish qobiliyati teshiklar kattaligi bilan aniqlanadi. Membrana filtrlari teshiklar kattaligiga qarab (350-1200 nm) 1 dan 5 gacha nomerlar bilan belgilangan bo'ladi.

Filtrlash orqali sterillash vakuum yoki suv nasosini qo'llash bilan vakuum ostida bajariladi. Ishni boshlashdan avval filtrlar Bunzen kolbasi bilan ulangan maxsus ulagichga o'rnatiladi. Filtrlaydigan qurilma avtoklavda 0,15 MPa bosim ostida 30-40 daqiqa sterillanadi. Membrana va asbest filtrlar bir marotaba ishlatiladi. Shamberlan va Berkefeld shamlari filtrlash tugaganidan so'ng teskari yo'nalishda distillangan suv tortilib yuviladi va qaytadan ishlatish uchun tozalanadi.

Nurlanish bilan sterillash. Ultrabinafsha nurlar bilan sterillash xonadagi havoda mavjud bo'lgan mikroorganizmlarni nobud qilishi uchun oziqa mahsulotlarini qadoqlashdan avval ularni sterillash uchun qo'llaniladi. Bunday sterillash turli quvvatga ega bo'lgan (to'lqin uzunligi 253-265 nm) bakteritsid lampalar yordamida amalga oshiriladi. Ionizatsion nurlanish oziq-ovqat ishlab chiqarishda ishlatiladigan ba'zi qadoqlovchi materiallarni sterillashda qo'llaniladi.

Dezinfeksiya

Mikroorganizmlarni kimyoviy modda yordamida nobud qilish *dezinfeksiya* deb ataladi (lotincha *infectia* – infeksiya va fransuzcha *des* – inkor qo'shimchasi). Kimyoviy moddalar tashqi muhit ob'ektlarida patogen mikroorganizmlarni yo'qotish uchun ishlatiladi. Bular – ish joyi, xonalar, ish kiyimlari, qo'llar, texnologik jihoz va asboblar;

Dezinfeksiya maqsadida qo'llaniladigan moddalarga qator talablar qo'yiladi:

- Ular suvda yaxshi erishi kerak;
- Qisqa vaqt davomida bakteritsid xususiyatlarini namoyon qilishi kerak;
- Inson va hayvonlarga toksik ta'sir etmasligi kerak;
- Zarasizlantirilayotgan ob'ektlarning buzilishiga sabab bo'lmasligi kerak.

Dezinfeksiyalovchi moddalar bir necha guruhlarga ajratiladi:

1) Xlorli birikmalar (xlorli ohak, natriy gipoxlorit, xloramin, pantotsid, xlordezinsulfoxlorantin va boshq.);
2) Yod va brom asosidagi birikmalar (yodopirin, dibromantin);
3) Oksidlovchilar (vodorod peroksidi, kaliy permanganat va boshq.);
4) Fenol va uning birikmalari (fenol, lizol, kreolin, geksaxlorofen);
5) Og'ir metallarning tuzlari (natriy mertiolyat, sulema).

Antimikrob ta'siriga shuningdek kislotalar va ularning tuzlari (borat kislota, salitsil kislota), ishqorlar, spirtlar (etanolning 70% li eritmasi), aldegidlar (formaldegid) ega.

Shuningdek bakteritsid sovunlar ham mavjud: fenolli, "Gigiena". Ularning tarkibida 3-5% li geksoxlorofen mavjud.

Nazorat savollari

1. Sterillashning qanday usullarini bilasiz?
2. Sterillashning qaysi usullari termik usulga kiradi?
3. Laboratoriya idishlari sterillashda qanday qilib tayyorlanadi?
4. Sterillash tartibini qanday faktorlar aniqlaydi?

5. Termik sterillash usullarini sanab o`ting.
6. Qaysi hollarda sterillashning "sovuq" usullari qo'llaniladi?
7. Dezinfeksialovchi moddalarga qanday talablar qo'yiladi?
8. Dezinfeksiya uchun qanday moddalar qo'llaniladi?

3. MIKROORGANIZMLAR PREPARATLARINI TAYYORLASH USULLARI

Tayanch so'z va iboralar: mikroorganizmlarning toza namunalari, mikroorganizmlarning fiksatsiyalangan-bo'yalgan va tirik preparatlari, preparat-surtma.

Ishdan maqsad: mikroorganizmlarning toza namunalari bilan ishlash, hamda tasavvur hosil qilish, mikroorganizmlarning fiksatsiyalangan-bo'yalgan va tirik preparatlari va preparat-surtma olishni o'rganish.

Mikrobiologiya amaliyotida mikroorganizmlar morfologiyasi, biokimyosi va fiziologiyasini ularning toza namunalari qo'llab o'rganiladi. Toza kultura deb bitta hujayraning avlodi bo'lgan mikroorganizmlar populyatsiyasiga aytiladi.

Toza kulturalar bilan ishlashda ularni boshqa mikroorganizmalardan himoyalovchi ma'lum sharoitlarni saqlash kerak. Barcha operatsiyalar yonib turuvchi spirt lampasi zonasida bajariladi. Mayda buyumlar (buyum oynasi, pinsetlar, qaychilar, bakteriologik ilgaklar va ignalar) spirt lampasi olovida sterillanadi-flambirlanadi (nemischa flame – olov). Zich muhitda o'stirilgan mikroorganizmlar bakteriologik ilgak yoki igna yordamida probirkadan olinadi. Suyuq ko'rinishidagi mikroorganizmlarni olish uchun sterillangan pipetka yoki bakteriologik ilgak ishlatiladi.

3.1. Fiksatsiyalangan bo'yalgan mikroorganizm preparatlarini tayyorlash

Fiksatsiya qilishdan maqsad: mikroorganizm hujayralarini nobud qilish va ular bo'yalganida va suv bilan yuvilganida buyum ounasi yuzasidan yuvilib ketmasligini ta'minlash; hujayralarning rangini yaxshilash. Chunki o'lgan hujayralar bo'yoqlarni yaxshiroq qabul qiladi.

Probirkada ozuqaviy agarda o'stirilgan mikroorganizmlardan namuna olishda fiksatsiyalangan bo'yalgan preparatni tayyorlash tartibi:

1. Spirt lampasi yoqiladi;

2. Toza buyum oynasi olinadi va spirt lampasi olovidan bir necha bor o'tkazib, flambirlanadi;

3. Buyum oynasi stolda sovutiladi va unga flakondan bir tomchi suv tomiziladi;

4. Namuna solingan probirka chap qo'lning bosh va ko'rsatkich barmoqlari bilan ushlanib, probirkaning ichidagi modda ko'rinadigan qilib ozgina burchak ostida ushlanadi.

5. O'ng qo'lga bakteriologik ilgak ushlanib, sim qizargunicha spirt lampasi olovida qizdiriladi va ushlagichning simga tegib turuvchi joyi kuydiriladi.

6. O'ng qo'lning beshinchi va to'rtinchi barmoqlari bilan kaftga paxtali tiqin zich ushlanib, probirkadan olinadi va shunday holatda tashqaridagi narsalarga tekkizmay ushlab turiladi.

D i q q a t! Mikroorganizmlar bilan kontaminatsiya (lotincha *contaminatio* – tekkizish) sodir bo'lmasligi uchun tiqinni stolga yoki boshqa yuzalarga qo'yib bo'lmaydi.

7. Ochiq probirkaning chetlari spirt lampasi olovida kuydiriladi

8. Ilgak probirkaga botirilib, devorlariga tekkizilib sovitiladi va ozuqa muhiti yuzasidan ozgina namuna olinadi.

D i q q a t! Ozuqa agari yuzasini ilgak bilan buzib bo'lmaydi.

9. Probirkaning chetlari spirt lampasi olovida yana kuydiriladi va olov ustidan olib o'tilib, tiqin bilan yopiladi. Namuna solingan probirka shtativga qo'yiladi.

10. Probirkadan ilgak bilan olingan material buyum shishasidagi suv tomchisiga qo'shiladi va shundan keyin ehtiyotkorlik bilan aralashtirilib, oyna yuzasida yupqa qatlam hosil qilinadi.

11. Ilgakda qolgan mikroorganizmlar hujayralari spirt lampasi olovida yondiriladi. Shundan so'ng ilgak joyiga qo'yiladi.

12. Mikroorganizmlar suspenziyasi spirt lampasi olovining issiq havo oqimida quritiladi va 3-4 marta olov ustidan o'tkazilib, fiksatsiya qilinadi (quritilmagan surtmalarni fiksatsiya qilish mumkin emas).

13. Sovitilgan buyum oynasi ko'prikchaga qo'yilib, ko'k metilen bilan 2-3 daqiqa davomida bo'yaladi. Vaqt qum soatga qarab belgilanadi.

14. Bo'yoq suv bilan yuviladi, preparat buyum oynasiga ehtiyotkorlik bilan quyilib, filtr qog'oz bilan quritiladi.

15. Bo'yalgan preparatga 1 tomchi kedr moyi surtiladi. Buyum oynasi buyum stolchasiga qo'yilib, makrovint yordamida immersion ob'ektiv (90x) moyga botiriladi va aniqlik o'rnatish uchun mikrovintdan foydalanib, mikroskopdagi tasvir topiladi.

D i q q a t! Mikrovintni preparatdagi mikroblar tasvirini topish uchun ishlatib bo'lmaydi.

3.2. Mikrorganizmlarning tirik preparatlarini tayyorlash

Tirik preparatlar mikroblarning harakatchanligi, sporalarning o'sishi, bo'linish usullari va hokazolarni tadqiq qilish uchun qo'llaniladi. Mikroorganizmlarning tirik preparatlarini tayorlashning 2 ta asosiy usuli mavjud – "ezilgan tomchi" va "osilgan tomchi".

"Ezilgan tomchi" preparati. Toza buyum oynasiga flakondan bir tomchi suv surtiladi. Unga probirkadan ilgak bilan olingan tekshirilayotgan namuna tomizilib, oynaga surtib yubormasdan sekin aralashtiriladi. Suyuq muhitda o'stirilgan namuna (mikroorganizm suspenziyasi) buyum oynasiga pipetka yordamida surtiladi.

Mikroorganizmlar suspenziyasi ustidan qoplovchi oyna yopiladi. Uning tagida tekshirishga halaqit berishi mumkin bo'lgan havo pufakchalari bo'lmasligi lozim. Oyna orasidan chiqib ketgan ortiqcha suyuqlik filtr qog'ozi yordamida olinadi.

Qoplovchi oynaga 1 tomchi kedr moyi tomizilib, preparat kondensori tushirilgan immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Aktiv harakatlanayotgan bakteriyalar ko'z maydonidan suzib o'tadilar, yo'nalishini o'zgartiradilar, aylanma harakatni sodir etadilar.

"Osilgan tomchi" preparati. Bunday preparatni tayyorlash uchun markazida botiq qismi bor maxsus buyum oynasi va oddiy qoplovchi oyna kerak bo'ladi. Buyum oynasi chuqur qismining chegaralari vazelin bilan moylanadi. Mikroorganizmlarning suyuq namunasi (suspenziya) qoplovchi oynaning markaziga surtiladi. Buyum oynasi chuqur qismi bilan pastga qaratiladi va qoplovchi oynadagi suspenziya tomchisi chuqur qismining markaziga to'g'ri keladigan qilib qo'yiladi.

Buyum oynasi qoplovchi oynaga bostiriladi, bunda oynalar yopishib qoladi. Preparat ko'tarilib, qoplovchi oynani yuqorida bo'ladigan qilib o'giriladi. Bunda tomchi uzoq vaqt davomida qurib qolmaydigan germetik kamera hosil bo'ladi. To'g'ri tayyorlangan preparatda tomchi qoplovchi oynadan erkin osilib, chuqurchaning tagi yoki chegaralariga tegmasligi lozim. Qoplovchi oyna ustiga bir tomchi immersion moy surtilib, 90x ob'ektiv orqali qorong'ilashtirilgan maydonda (toraytirilgan diafragma va tushirilgan kondensorda ko'riladi.

3.3. Tamg`a preparati tayyorlash

*Tamg`a preparati* mikroorganizmlar hujayralarining substrat yoki oziq-ovqat mahsuloti yuzasida tabiiy joylashishini o'rganish uchun ishlatiladi. Toza buyum oynasi flambirlanadi va tekshiriluvchi ob'ekt (go'sht, baliq, pishloq va boshq)ning yuzasiga qo'yiladi. Tamg`a preparati spirt lampasi olovi ustida ushlab turiladi va Gram usulida ko'k metilenga bo'yaladi. Preparatga kedr moyi surtiladi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi.

3.4. Mikrobiologik amaliyotda ishlatiladigan bo'yoqlar va pH-indikatorlar

Bo'yalmagan mikroorganizmlar (zamburug'lardan tashqari) yorug'lik mikroskopida ularning kam kontrastliligi tufayli mikroskopda ko'rinmaydi. Mikrobiologik amaliyotda bo'yash mikroblarning shakli, o'lchamlari, strukturasi va o'zaro joylashishini aniqlashda qo'llaniladi. Fiksatsiya qilingan preparatlarni bo'yash usullari *oddiy* va *murakkab*ga bo'linadi. Mikroorganizmalarni oddiy

bo'yash usullarida asosiy va nordon anilin bo'yoqlari ishlatiladi. Asosiy bo'yoqlarda xromofor (rang beruvchi ion) bo'lib kation, nordonlarda – anion xizmat qiladi. Asosiy bo'yoqlar hujayraning yadro komponentalari bilan ko'proq birikadilar. Nordon bo'yoqlar hujayraning sitoplazma komponentalarini yaxshi bo'yaydi.

Asosiy bo'yoqlarga quyidagilar kiradi:

- Qizil bo'yoqlar – neytral qizil, asosiy fuksin, sioranin, tionin, pironin, gematoksilin;
- Ko'k bo'yoqlar – metil ko'ki, "Viktoriya";
- Binafsha rang bo'yoqlar – kristall binafsharang, binafsharang gensian;
- Yashil bo'yoqlar – yashil yanus, malaxit yashil, metil yashil;
- Qora bo'yoqlar – indulin;

Nordon bo'yoqlarga quyidagilar kiradi:

- Qizil va pushti – nordon fuksin, eozin, eritrozin;
- Sariq – kongo, pikrin kislotasi, fluoressin;
- Qora – nigrozin

Bo'yashning oddiy usullarida mikroblarning strukturasini, shuningdek ko'pincha ularning bo'yoqlarga bo'lgan sezgirligini aniqlab bo'lmaydi. Bu maqsadlarga erishi uchun bo'yashning murakkab usuli qo'llaniladi. Murakkab usullarga Gram usuli (7.2-bo'limga qarang), Sil-Nelsen usuli bilan kislotaga chidamlilikni aniqlash, Leffler usuli (6.3-bo'limga qarang) bilan polifasfatlar urug'larini aniqlash, bakteriyalar sporalarini Sil–Nelsen yoki Peshkov (7.4-bo'limga qarang) usuli bilan aniqlash, kapsulalarni Gins-Burri usuli (7.5-bo'limga qarang) bilan aniqlash va boshqalar kiradi.

pH indikatorlari organik moddalar bo'lib, ular muhit aktiv kislotalik xususiyatining o'zgarishida uning rangini o'zgartiradilar. Hayotiy faoliyati davrida mikroorganizmlarning o'zlari rivojlanayotgan muhitining kislota-ishqor mutanosibligini o'zgartiradilar. Indikatorlar bu o'zgarishlarni qayd qilish uchun ishlatiladi. Bir muhitda bo'yalgan, boshqa muhitda rangsiz bo'lgan indikatorlar *bir*

rangli indikatorlar deb, intervalning 2 xil tomonida turli rangga ega indikatorlarini *2 rangli* deb ataladi.

Mikrobiologiyada ko'pincha 3.1- jadvalda keltirilgan indikatorlar qo'llaniladi.

3.1 jadval

Ikki rangli indikatorlar

Indikator	Rang o'zgarishi sodir bo'ladigan pH	Rangning o'zgarishi
Timol ko'k (nordon)	1,2–2,8	Qizil→sariq
Bromfenol ko'k	3,0–4,6	Sariq →ko'k
Bromkrezolgryun	3,8–5,4	Sariq →ko'k
Metil qizil	4,4–6,0	Qizil→sariq
Bromkrezol qirmizi	5,2–6,8	Sariq→qirmizmi
Bromtimol ko'k	6,0–7,6	Sariq →ko'k
Fenol qizil	6,8–8,4	Sariq →qizil
Krezol qizil	7,2–8,8	Sariq →qizil
Timol ko'k (ishqorli)	8,0–9,6	Sariq →ko'k

Masalan, mikroorganizmlarni aniqlashda ularning saxarolitik xususiyatlarini aniqlash uchun Gissning "rangli qatori" qo'llaniladi. Giss muhitlari 1% li peptonli suvga 0,5 – 1% li uglevod va Andrede indikatori (nordon fuksin) va ko'k bromtimol qo'shish bilan tayyorlanadi. Muhitning boshlang'ich rangi (fermentativ aktivlikning yo'qligi) – Andrede indikatori bilan och sariq va ko'k bromtimol bilan ko'k-yashil bo'ladi. Giss muhiti ekilgan probirkalar optimal haroratda 24 ^{0}C davomida inkubatsiya qilinadi. Mikroorganizmlar uglevodni parchalaganlarida kislota hosil bo'lib, bular hisobiga muhitning rangi o'zgaradi. Andrede indikatorili muhit pushti-qizil, ko'k bromtimolli muhit – sariq bo'lib qoladi.

Nazorat savollari.

1. Preparatni tayyorlash uchun mikroorganizmlarning toza namunasini olishda qanday sharoitlar yaratish kerak?
2. Preparatni fiksatsiya qilishdan maqsad nima?
3. Mikroorganizmlarning tirik preparatlarni tayyorlash usullarini ayting
4. Tamg'a preparati tayyorlashni tushuntirib bering.

5. Mikroorganizm preparatlarni oddiy va murakkab bo'yash usullarini ayting

6. Mikroorganizmlarni bo'yashda qanday bo'yoqlar qo'llaniladi?

7. Mikrobiologik amaliyotda qanday pH – indikatorlari qo'llaniladi?

KUTUBXONA
TKTI
№ 5|H

4. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH

Tayanch so'z va iboralar: kultivatsiya, kultura, Anaerostat, sintetik va tabiiy ozuqa muhitlari, elektiv yoki tanlangan, differensial-diagnostik, suyuq, yarim suyuq, zich va quruq muhitlar.

Ishdan maqsad: mikroorganizmlarni o'stirishda qo'llaniladigan ozuqa muhitlarining turli xillari bilan tanishtirish; talabalarni mikroorganizmlarni ekish va qayta ekish bilan tanishtirish;

Mikroorganizmlarni ozuqa muhitlarida o'stirish, ***kultivatsiya qilish*** (lotingcha *cultus* – o'stirish) deb ataladi. Bu jarayonda rivojlangan mikroblar esa – ***kultura*** deb ataladi. Uning quyidagi turlari bor: faqat bir turdagi hujayraning avlodi bo'lgan *toza kultura*; bir turdagi hujayralar yoki bir biriga yaqin mikroorganizmlar hujayralari ko'p bo'lgan *yig'ilgan kultura* va bir necha organizmlar to'planmasidan iborat *aralash kulturalar* mavjud;

Qandaydir tekshirilayotgan material (suv, mahsulot, tuproq namunalari va boshq.)ning steril oziqlantiruvchi muhitga kiritilishi *ekish* deb ataladi. O'stirib bo'lingan kulturani steril muhitga olinishi *qayta ekish* deb, ko'p marotaba qayta ekishlarda – *passirlash* (lotincha *passis* – qaytalanish) deb ataladi.

Mikroorganizmlarni kultivatsiya qilishda ularning o'sishi uchun optimal sharoitlar yaratib berish muhimdir. O'sish tezligiga ta'sir etuvchi asosiy omillar bu – harorat, muhit pH miqdori, kislorodning mavjudligi yoki bo'lmasligi, muhitning tarkibi va xossalaridir.

Mikroorganizmlar o'zlari uchun qulay bo'lgan haroratda termostatlar yoki termostat xonalarda o'stiriladi. Bu jarayon *inkubatsiya* yoki *inkubirlash* (lot. *incubatio* – qushlarni o'stirish) deb ataladi. Xususan, mezofil mikroorganizmlar 25 dan 30 ^{0}C gacha, termofil mikroorganizmlar – 40 dan 45 ^{0}C gacha, ichak tayoqchasi bakteriyalari guruhi – 37 ^{0}C haroratda o'stiriladi.

Mikroorganizmlar muhit o'zgarishiga juda sezgirdirlar. Shuning uchun sterillashgacha muhitning pH kattaligini to'g'rilab qo'yish kerak. Bunda pH miqdori sterillashdan so'ng bir muncha kamayib qolishini inobatga olish kerak.

Laboratoriya sharoitlarida mikroorganizmlar shisha idishlarda kultivatsiya qilinadi. Bular: kolbalar, probirkalar, Petri likopchalari, matraslar (tekis shisha idishlar). Kultivatsiya jarayoni suyuq muhitda (bulonlar), sutda yoki zich ozuqa muhitlarida amalga oshiriladi.

Odatda mikroorganizmlarning toza namunalari agarda yoki suyuq muhitida probirkalarda o'stiriladi. Agar probirkalarda o'stirish uchun zich muhit kerak bo'lsa, sterillashga tayyorlashda esa erigan muhitni probirka hajmining 1/3 – ¼ qismga solinadi.

Sterillashdan so'ng qotmagan muhitli probirkalarni yon boshlagan holda taxlanadi. Qotgan muhitli probirkalar *kosyaklar* deb ataladi.

Suyuq muhitlarda aerob bakteriyalarni o'stirish uchun probirkalarning 1/3 qismi suyuq ozuqa bilan to'ldiriladi, anaeroblar uchun esa– 2/3 qismi to'ldiriladi. Mikroorganizmlar suyuq muhitda o'sishining o'ziga xos belgilari bir jinsli xiralashish, yuzasida pardaning hosil bo'lishi, ma'lum xildagi cho'kindining hosil bo'lishi va boshqalardir.

½ hajmi zich muhit bilan to'ldirilgan probirkalar *ustunchalar* deb ataladi. Ular namunani *ukol* bilan ekishda ishlatiladi.

Mikrooorganizmlarni kolbalarda o'stirish uchun faqat suyuq ozuqa muhitlari, Petri likopchalarida o'stirish uchun zich muhitlar qo'llaniladi.

Petri likopchalarida ko'pincha aerob va fakultativ-anaerob mikroorganizmlar kultivatsiya qilinadi. Ular zich ozuqa muhiti yuzasidan ma'lum xildagi koloniyalarni hosil qiladi.

Anaerob bakteriyalarni kultivatsiya qilish uchun maxsus asbob – anaerostatlar (4.1- rasm) qo'llaniladi.



4.1 rasm. Anaerostat

Anaerostat vakuumli rezina gardishga ega qopqoq bilan yopiladigan silindrdan iborat. Anaerostat qopqog'ida vakuummetr va 2 ta kran mavjud. Bitta kran havo tortadigan nasosga, boshqasi gazli (N_2, CO_2, H_2) ballonlarga ulangan. Likopcha va probirkalar joylanganidan keyin vakuumli nasos yordamida anerostatdagi havo chiqarib yuboriladi. Keyin kran maxsus vint bilan berkitilib, anaerostat vakuumli nasosdan ajratilib, termostatga olinadi.

4.1. Ozuqa muhitlari

Oziq-ovqat mahsulotlaridagi mikroorganizmlarni aniqlash, miqdorini sanash, ajratish va xossalarini o'rganish uchun tarkibi va vazifasi jihatdan turlicha bo'lgan ozuqa muhitlari ishlatiladi. Har bir ozuqa muhitlari quyidagi talablarga javob berishi kerak: tarkibida mikroorganizmlarni oziqlantirish uchun barcha kerakli moddalar yengil birikadigan shaklda bo'lishi, optimal namlik, qovushqoq va pH ga ega bo'lishi, izotonik va iloji boricha shaffof bo'lishi kerak. Har bir ozuqa muhiti o'zining tarkibiga qarab ma'lum bir usulda sterillanadi.

Tarkibiga ko'ra *sintetik* va *tabiiy* ozuqa muhitlari farqlanadi.

Sintetik muhitlar ma'lum kimyoviy toza birikmalarning ma'lum dozasining suvdagi eritmalaridan iborat, ya'ni, ularning tarkibi avvaldan ma'lum. Lekin faqat oz miqdordagi ozuqaga talabchan bo'lmagan mikroorganizmlargagina sintetik ozuqa muhitlari ishlatiladi.

Natural yoki *tabiiy* muhitlar o'simlik yoki hayvonot kelib chiqishiga ega bo'lgan mahsulotlardan iborat bo'lib, murakkab noaniq kimyoviy tarkibga ega. Ularga go'sht peptonli bulon va agar, solod suslosi va solod-agar,

yog'sizlantirilgan va gidrolizlangan sut, turli sabzavotlar qaynatmalari va boshqalar kiradi.

Maqsadiga ko'ra ozuqa muhitlari asosiy, effektiv va differensial-diagnostik xillarga bo'linadi.

Asosiy muhitlar deb ko'p bakteriyalarni o'stirish uchun qo'llaniladigan muhitlarga aytiladi. Ularga go'sht-peptonli agar (GPA), go'sht, baliq mahsulotlari, kazeinning triptik gidrolizatlari kiradi. Bunday muhitlar murakkab ozuqa muhitlarini tayyorlash uchun asos bo'lib xizmat qiladi. Ularga don, shakar, sut va boshqa ingridientlar kiradi.

Elektiv yoki *tanlangan* muhitlar mikrobiologik amaliyotga S.N.Vinogradskiy va M.Beyerink tomonidan kiritilgan. Bu muhitlar ma'lum turdagi (yoki ma'lum guruhdagi) mikroorganizmlarni turli mikroflorali ob'ektlardan olish va yig'ish uchun mo'ljallangan. Yondosh mikroorganizmlar bunday muhitlarda o'smaydi yoki ular juda sekin rivojlanadi. Elektiv muhitlar bilan ishlash ushbu mikroorganizmlarning ko'pgina boshqa turlaridan farqlanuvchi biologik xususiyatlarga asoslangan.

Differensial-diagnostik muhitlar bir turdagi yoki guruhdagi mikroorganizmlarni aniqlab, boshqalaridan ajratish (differensiallash)ga imkon beradi. Ularning tarkibi berilgan turdagi mikroorganizmlarning xarakterli xususiyatlarini aniq topishga imkon berishi kerak. Bunga erishish uchun muhitlarga mahsus bo'yoq-indikatorlar kiritilib, ular aniqlanayotgan mikroorganizmlar koloniyasini ma'lum rangga bo'yaydi. Xususan, ichak tayoqchasi guruhi bakteriyalarini aniqlash uchun Endo, Kessler, Eykmana, Ploskirev, Levin va boshqalarning differensiallaydigan muhitlari ishlatiladi.

Fizikaviy hossalariga ko'ra muhitlar suyuq, yarim suyuq, zich va quruq muhitlarga bo'linadi.

Suyuq muhitlar (bulonlar) mikroorganizmlarning biomassasi yoki ular metabolizmi mahsulotlarini yig'ish, shuningdek, mikroorganizmlarning fiziologik-biokimyoviy xususiyatlarini aniqlash uchun ishlatiladi.

Yarimsuyuq muhitlar tarkibida 0,08 dan 0,7% gacha agar mavjud.

Zich muhitlar suyuq muhitlarga jelatin yoki agar (1,5-2%) qo'shib tayyorlanadi. Bu ikki modda issiq suvda eriganida kolloid eritma hosil qilib, u soviganida zich gel hosil bo'ladi. Gelsimon muhitlarni isitib, yana eritsa bo'ladi. Zich muhitlar mikroorganizmlarning toza namunalarini aniqlashda diagnostik maqsadlarda (muhitda o'sgan koloniyalarning ta'rifini berish), mikroorganizmlarni miqdoriy aniqlashda, antagonistik, proteolik faollikni aniqlashda ishlatiladi.

Quruq ozuqa muhitlari maxsus korxonalar tomonidan ishlab chiqariladi va mikrobiologik maqsadlarda suv qo'shilib, sterillab ishlatiladi.

4.2. Mikroorganizmlarni ozuqa muhitlariga ekish texnikasi

Mikroorganizmlar bilan ishlashda maxsus bakteriologik ilgaklar, ignalar, shpatellar, pipetkalar qo'llaniladi. Ekish doim spirt lampasi olovi zonasida amalga oshiriladi. Toza namuna bilan ishlayotgan kishi yonida keskin harakat qilishi, yurish, yo'talish mumkin emas. Chunki havoning harakati namunali probirkaga begona mikroorganizmlarning tushishiga sababchi bo'ladi. Shuning uchun mikroorganizmlarni ekish va qayta ekish boksda bajariladi. Boksning asosiy xonasiga faqat boksda ishlaganda kiyiladigan xalatlar mavjud bo'lgan tambur orqali kiritiladi. Boksning barcha jihozlari, devorlari va poli doimiy ravishda dezinfeksialovchi vositalar bilan artib turiladi. Ish boshlashdan avval boks bakteritsid lampalar vositasida 1,0-1,5 soat davomida sterillanadi.

Suyuq ozuqa muhitga ekish – ekish ilgak yoki gradiurovkalangan pipetka yordamida amalga oshiriladi. Ekiladigan material bakteriologik ilgak bilan probirkaga solinadi va ozuqa muhitining yuqori qatlamida yengil silkitiladi. Yoki ekish materiali suyuq muhit bilan yuvilib, probirka devorlariga surtiladi.

Steril pipetka namuna solingan probirkaga solinib, ma'lum miqdor material olinib, yangi ozuqa muhiti solingan probirkaga o'tkaziladi. Bunda suyuqlik probirka devorlariga surtiladi, yoki pipetka muhit ichiga kiritilib, ichidagi material chiqariladi.

Agar qiya qilib solingan probirkaga shtrix usuli bilan ekish. Kultura hamda ozuqa agari solingan probirkalar chap qo'lda egilgan holatda ushlanadi.

O'ng qo'lga bakteriologik igna olinib, u spirt lampasi olovida qizargunicha ushlanadi, keyin igna ushlagich olov orqali olib o'tiladi. O'ng qo'lning beshinchi barmog'i bilan ikkita probirkadagi tiqinlar olib tashlanadi, probirkalarning chetlari kuydiriladi. Ilgak kulturali probirkaga kiritiladi, chetlariga tekkizilib, sovitiladi va mikroblar namunasidan ozgina miqdori olinadi. Ekish materiali surtilgan ilgak steril muhitga solinib, deyarli tubigacha tushiriladi. U yerda kondensatsion namlikning ozgina miqdori yig'ilib qoladi. Agarga yengil tegib, zigzagsimon chiziq o'tkaziladi. Bunda ilgak ozuqa muhiti yuzasidan uzilmaydi. Ekishdan so'ng ilgak probirkadan olinadi va ekish materiali qoldiqlari bilan birga kuydiriladi. Keyin probirkalarning chetlari va tiqinlarning ichki taraflari kuydiriladi. Shundan so'ng probirkalar yopiladi. Probirkalarning tashqi yuzasida ekish sanasi va kulturaning nomi yoziladi.

Ukol bilan ekish. Flambirlangan bakteriologik igna bilan tekshiriluvchi namuna olinadi. Ozuqa muhitining ustunchasi solingan probirkani o'ng qo'lga olinadi. Teskari o'giriladi, uning tiqini 5-barmoq bilan kaftga tekkizilib olinadi. Probirkani ko'z darajasiga ko'tarib, zich muhitning tagigacha ignada teshiladi. Keyin igna olinadi, probirka tiqin bilan yopilib, ustiga yoziladi. So'ng uni termostatga o'stirish uchun joylanadi.

Petri likopchasida muhit yuzasiga ekish. Petri likopchasiga erigan agar quyiladi, u qotgunicha kutiladi va termostatda quritiladi. Ekish bakteriologik ilgak yoki Drigalskiy shpateli (uchburchak ko'rinishidagi shisha tayoqcha) yordamida amalga oshiriladi. Petri likopchasining qopqog'i ilgakqa kiradigan darajada ochiladi. Ilgak ozuqa muhitini timdalab yubormasligi uchun gorizontal holda tushirilib, mikrobli namuna agarning butun yuzasi bo'ylab zigzagsimon harakat bilan (shtrix) muhitdan uzmasdan suriladi. Bu izolyatsiyalangan agarni olishga imkon beradi.

"Gazon" usuli bilan ekish shpatel bilan amalga oshiriladi. Buning uchun chap qo'l bilan Petri likopchasi ozgina ochiladi, ilgak yoki pipetka bilan ekiluvchi material ozuqa agar yuzasiga surtiladi. Keyin shpatel spirt lampasi olovidan o'tkaziladi, qopqoqning ichki tarafiga tekkizilib sovutiladi va material muhitning

butun yuzasiga surtiladi. Ekuvchi materialning inkubatsiyasidan so'ng likopchada bir tekis o'sgan namuna "gazoni" paydo bo'ladi.

Petri likopchasiga chuqur ekish. Ekishga tayyorlangan tekshiriluvchi materialning ma'lum miqdorini (1,0 yoki 0,1 sm^3) pipetka bilan bo'sh Petri likobchasiga solinadi. Erigan va 45 ^0C gacha sovigan ozuqa muhiti solingan probirka yoki kolbaning tiqini olinadi, chetlari spirt lampasi olovida kuydiriladi va qopqoqni ozgina ochib, likopcha tubiga quyiladi

Ekilgan materialli probirka va likopchalar berilgan mikroorganizm uchun optimal haroratli termostatga quyiladi. Qoidaga ko'ra mezofil bakteriyalar 37±1^0C da, termofil bakteriyalar 40-55 ^0Cda, achitqi va mog'or bakteriyalar 30±1^0C da o'stiriladi.

Nazorat savollari

1. Toza, yig'ilgan va aralash kulturalar deb nimaga aytiladi?
2. Ozuqa muhitlar komponentalari va tarkibiga ko'ra qanday klassifikatsiya qilinadi?
3. Qanday muhitlar ba'zi mikroblarning o'sishini orttirib, ba'zilarining kamaytirish imkonini beradi.
4. Mikroorganizmlar ozuqa muhitlariga ekilishi qanday usul bilan amalga oshiriladi?
5. Petri likopchasida muhit yuzasiga ekish qanday amalga oshiriladi?
6. Petri likopchasiga chuqur ekish qanday amalga oshiriladi?
7. Agar qiya qilib solingan probirkaga shtrix usuli bilan ekish qanday amalga oshiriladi?
8. Aerob va anaerob bakteriyalarni kultivatsiya qilish qanday amalga oshiriladi?

5. MITSELIAL ZAMBURUG'LAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH

Tayanch so'z va iboralar: saprofit, patogen, mikotoksinlar, gifa,mitseliy, *Mycota (Fungi)* guruhi, *Myxomycota* – shilimshiq zamburug'lar, *Eumycota* – haqiqiy zamburug'lar, septa, yuksak zamburug'lar, tuban zamburug'lar.

Ishdan maqsad: eng ko'p tarqalgan mitselial zamburug'lar – oziq-ovqat mahsulotlarini aynituvchi qo'zg'atuvchilar morfologiyasi bilan tanishish.

Mog'or zamburug'larining ko'plari saprofitlardir, lekin ular orasida inson, hayvon va o'simliklar kasalliklarini keltirib chiqaruvchi patogen turlari ham mavjud. Ko'p mitselial zamburug'lar oziq-ovqat mahsulotlarining yuzasida yoki ichida ko'payib, ularning aynishiga olib keladi. Bundan tashqari ba'zi zamburug'lar o'zlarining hayotiy faoliyatlari davrida metabolizmning zaharli mahsulotlari – mikotoksinlarni ishlab chiqaradi. Mikotoksinlarning oziq-ovqat mahsulotlarida to'planishi gepotogen, teratogen yoki kanserogen ta'sirga olib kelishi mumkin. Mog'orning zich substratlarida turli rangdagi dumaloq, paxmaygan, to'rsimon kabi koloniyalar hosil qiladilar: qora, jigarrang. kulrang-havorang, sariqroq, yashil yoki oq rang. Mog'or koloniyalari ko'p miqdordagi shoxlangan *gifalar* deb ataluvchi iplardan iborat, ularning qalinligi 1 mkmdan 15 mkmgacha, uzunligi 100 mmgacha borishi mumkin. Gifalar shoxlanib, bir-biriga chirmashib, zamburug' tanasi – *mitseliyni* hosil qiladi. Gifalarning ko'pchiligi havoda mitseliy hosil qilib rivojlanadi; gifalarning bir qismi substratga kirib ketib substratli mitseliy hosil qiladi. Mog'or zamburug'lari koloniyalarining rangi sporalar qanday rangga bo'yalganiga bog'liq; mitseliy gifalari rangsiz bo'ladi.

5.1. Zamburug'lar klassifikatsiyasi. Ba'zi amoyondalarining xarakteristikasi

Hozirgi vaqtda zamburug'lar eukariot turi, *Mycota (Fungi)* guruhiga kirib, unga ikkita bo'lim kiradi: *Myxomycota* – shilimshiq zamburug'lari va *Eumycota* – haqiqiy zamburug'lar kiradi. *Eumycota* bo'limi tuzilishi va rivojlanish bosqichlariga ko'ra 7 ta sinfga bo'linadi: anamorf (jinssiz) va teleomorf (jinsli). 4

sinf tuban zamburug'larga: *Chytridiomycetes, Hyphochytridiomycetes, Oomycetes, Zygomycetes* va 3 tasi yuqori zamburug'larga kiradi: *Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes.*

Tuban zamburug'lar ularni boshqa zamburug'lardan ajratuvchi ikkita xususiyatga egadirlar. Birinchidan, ular ko'ndalang to'siq bilan bo'linmagan bir hujayrali mitseliyga ega. Ushbu to'siq *septirlanmagan* (grekcha *septum* – to'siq deb ataladi). Shuning uchun mitseliy bir hujayrali va ko'p yadroli hisoblanadi. Ikkinchidan, tuban zamburug'lar sporasi (sporangiosporalar) doim alohida hujayralar – sporangiyalarda endogen (grekcha *endon* – ichida) ravishda hosil bo'lib, ular meva hosil qiluvchi gifalar – sporangiy tashuvchilarda joylashgan.

Yuksak zamburug'lar yaxshi rivojlangan ko'p hujayrali (*septirlangan*) mitseliyga ega, ularning gifalari to'siq bilan ajratilgan. Ular vegetativ yo'l bilan ekzosporalar – *konidiy* yordamida va jinsiy yo'l bilan *askosporalar* va *bazidiosporalar* hosil qilish bilan ko'payadi.

Tuban zamburug'lar

1. ***Chytridiomycetes*** **sinfi** (xitridiomitsetlar), ko'pincha mitseliy hosil qilmaydi, tanasi quruq protoplast (plazmodiy)dan iborat bo'lib, u sporangiyga aylanish jarayonida qobiq bilan qoplanadi. Sporangiylar ichida harakatchan zoosporalar hosil bo'ladi. Ko'p xitridiomitsetlar o'simliklarda parazit sifatida yashaydi. O'simliklarning zararlangan hujayralarida ular harakatsiz hujayralar – qalin qobiqqa ega *sistalarni* hosil qiladi.

Xitridiomitsetlarning muhim namoyondalaridan biri kartoshka saratonining qo'zg'atuvchisi - ***Synchytrium endobioticum.*** Zararlangan sabzavotlarning ko'zlari atrofida g'adir-budir o'simtalar – "o'sma"lar hosil bo'ladi. O'simtalarda zamburug' sistalarining massasi joylashgan. O'simtalar ezilsa, sistalar tuproqqa tushadi va u yerda qishni o'tkazadi. Bahorda sistalar o'sib, yosh o'simliklarni zararlaydigan harakatchan zoosporalarga aylanadi.

2. ***Hyphochytridiomycetes*** **sinfi** (gifoxitridiomitsetlar) – ko'payishning jinsiy bosqichi bo'lmagan bir hujayrali zamburug'lar. Bu sinfning ko'p turlari

yashil va qo'ng'ir suv o'tlari, madaniy o'simliklarning hujayralari ichidagi parazitlardir. Hususan, *Plasmodiophora rassica* turi karamguldoshlar kasalligini (kila) qo'zg'atuvchisi *Spongospora subterranea* esa, kartoshka kasalligini (g`ovakli parsha) qo'zg'atuvchisidir.

3. ***Oomycetes*** **sinfi** (oomitsetlar) – suv va yerdagi shakllarni o'z ichiga oladi. Jinssiz yo'l bilan zoosporalar yordamida, shuningdek jinsiy yo'l bilan oosporalar hosil qilib ko'payadi. Bu sinf zamburug'lari yaxshi rivojlangan mitseliyga ega. Oomitsetlarga fitoftoroz qo'zg'atuvchisi – *Phytophthora infestans* turi kirib, u kartoshka, pomidor, va baqlajonni zaharlaydi. Qisqa shoxlangan sporangiy tashuvchilarda limonsimon sporangiylar rivojlanib, ular yetilganidan so'ng tuproqqa tushadi. Ularda gifalarga kirib ketuvchi zoosporalar hosil bo'ladi.

4. ***Zygomycetes*** **sinfi** (zigomitsetlar) – tabiatda keng tarqalgan yer zamburug'lari. Ularga *Mucor, Rizopus, Thamnidium* turidagi zamburug'lar kiradi.

Mucor **turi**. Mukor zamburug'lari avval oq, keyin kulrang bo'ladigan paxmaygan, to'rsimon mitseliyga ega. Asosiy mitseliydan juda ko'p meva hosil qiluvchi gifalar – sporangiy tashuvchilar ko'tarilib, ularning uchlari yirik sporangiylar hosil qilib shishgan. Tashqaridan sporangiylar kalsiy oksalati kristallaridan iborat ingichka tikanlar bilan qoplangan.

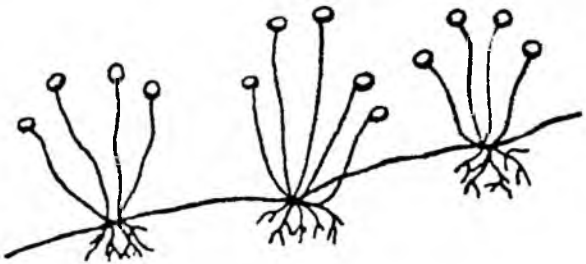


5.1-rasm. Mucor mucedo

Sporangiylarda jinssiz yo'l bilan juda ko'p *sporangiosporalar* hosil bo'ladi. Mukor zamburug'lari nam bug'doy, solod (undirilgan arpa), yer ostida o'suvchi sabzavotlar, oziq-ovqat mahsulotlari yuzasida yaxshi ko'payadi.

Mucor mucedo (5.1-rasm) uzunligi 4 sm gacha boradigan sariq-kulrang rangdagi shoxlanmaydigan sporangiy tashuvchilariga ega koloniyalar hosil qiladi. Sporangiylar kulrang, ba'zida jigarrang – qora bo'ladi.

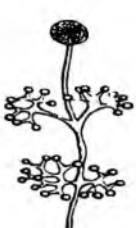
***Rhizopus* turi.** Rezopus turidagi zamburug'lar kulrang-jigarrang namatsimon mitseliy hosil qiladi. Mukor zamburug'laridan *stolonlar* deb ataluvchi yoysimon egilgan kurtaklari bilan farqlanadi. Substratga stolonlar *rizoid* deb ataluvchi gifalarning ingichka o'simtalari bilan biriktirilgan. Rizoidlarning ustida 3-5 ta (ba'zida 10 ta) sporangiy tashuvchilar dastasi (butalar) joylashgan. Sporangiylar sharsimon, avval rangsiz, yetilganidan so'ng qora bo'ladi. *Rizopus nigricans* (5.2-rasm) turidagi zamburug'lar mevalar, ildizli o'simliklarni zararlaydi.



5.2-rasm. Rizopus nigricans

***Thamnidium* turi.** Tamnidium turidagi zamburug'lar uchlarida yirik sporangiylar joylashgan uzun to'g'ri turuvchi sporangiy tashuvchili kulrang-oq rangdagi mitseliyga ega. Sporangiy tashuvchilarida ozgina miqdordagi sporangiosporalari mavjud bo'lgan mayda *sporangiolalar* hosil bo'ladigan yondosh shoxlar o'sib chiqadi.

Thamnidium elegans (5.3-rasm). Past haroratlarda yaxshi o'sadi, go'sht va go'sht mahsulotlarini muzlatgichda saqlanganida zararlaydi.



5.3-rasm. Thamnidium elegans

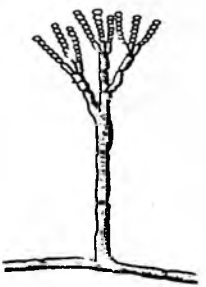
Yuksak zamburug'lar

5. *Ascomycetes* **sinfi** (askomitsetlar – grekcha ask – sumka). Ushbu sinf zamburug'lari yaxshi rivojlangan ko'p hujayrali mitseliylarga ega. Jinsiy jarayonda askomitsetlar askosporali

asklarni hosil qiladi. Ko'p askomitsetlar ekzosporalar – konidiylar yordamida jinssiz yo'l bilan ko'payishi mumkin. Sporalar saqlashning bu shakli nomukammal deb ataladi. Askomitsetlarning eng ko'p tarqalgan namoyondalari *Penicillium* va *Aspergillus* turidagi zamburug'lar.

***Penicillium* turi.** Ko'p hujayrali zamburug'larning bu guruhi ularning tashqi muhit sharoitlariga chidamli bo'lgani uchun tabiatda keng tarqalgan. Penitsillium turidag zamburug'lar substratning ustida kulrang, havorang yoki yashil rangdagi barqutsimon koloniyalar hosil qiladi. Penitsillarning konidiy tashuvchilar ko'p hujayrali, shoxlangan. Shoxlarning uchlarida cho'ziq hujayralar – konidiy zanjirlariga ega *sterigmalar* joylashgan. Bunda meva hosil qiluvchi gifalarning uchlari popukni eslatadigan (*Penicillium* – popuk). Konidiylar silliq yoki tikanli, dumaloq, turli ranglarga bo'yalgan.

Penicillium glaucum (5.4-rasm) – yashil penitsill to'g'ri popuksimon shoxlangan konidiy tashuvchilariga ega kulrang-yashil koloniyalar. Konidiylar zanjirlarining ko'pi bir-biriga zich tegib turadi. Bu tur ko'pincha non, sariyog', pishloqlar, konditer va makaron mahsulotlari, muzlatgichda saqlanadigan go'shtlarda va boshqa oziq-ovqat mahsulotlarida ko'payadi.



5.4-rasm. *Penicillium glaucum*

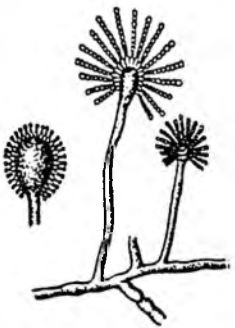
Penicillium roqueforti va *Penicillium camamberti* turidagi zamburug'lar mog'orli pishloqlar: rokfor, bri, kamamber, dor-blyu va boshqalarni ishlab chiqarishda qo'llaniladi. Ular bu pishloqlarga xos maxsus ta'm va zamburug' hidini beradi.

P. chrysogenum va *P. Notatum* turlari antibiotik penitsillin olish uchun qo'llaniladi.

Aspergillus turi. Aspergillarning konidiy tashuvchilari septirlanmagan, ularning qalinlashgan uchlari sterigmalar bilan tugallanadi. Sterigmalardan konidiylar zanjirlari ajralib chiqadi. Aspergillarning konidiylari yetilganida turli rangga kiradi, bu hol zamburug'lar turlarining nomida ifodalanadi va boshqa belgilari kabi ularning hususiyatlarini bildiradi.

Aspergillus niger (qora aspergill – 5.5-rasm) boshlang'ich bosqichda oppoq mitseliy hosil qilib, unda yetilish davomida jigarrang-qora boshchali konidiy tashuvchilar hosil bo'ladi. Shuning uchun zamburug' koloniyalari qora rangga kiradi.

Aspergillus glaucum (yashil aspergill) qisqa konidiy tashuvchili barqutsimon sariq-yashil rangdagi koloniyalar hosil qiladi.



5.5-rasm. *Aspergillus niger*

Qora (*A. niger, A. awamori*), jigarrang (*A. terreus*), sariq-yashil (*A. orysae, A. flavus*) aspergillar ichida turli fermentlar, organik kislotalar, antibiotiklarning turli faol mahsulotlari ajratilgan. Ba'zi aspergillar nafas yo'llari, teri, og'iz bo'shlig'ining shilliq qavati kasalliklarini keltirib chiqaradi. *A. Flavus* zaharli moddalar – aflo toksinlarini hosil qiladi.

Claviceps turi. Bu turning eng asosiy namoyondalari *Claviceps purpurea* – fitopatogen zamburug'lar bo'lib, u arpa, ba'zida bug'doy va javdarni gullash davrida kasallantiradi hamda qora cho'zilgan boshoq hosil bo'ladi, (5.6-rasm). Bu kasallik bilan kasallangan o'simliklar gullarida to'q binafsharang shoxchalar ko'rinishiga ega *sklerotsiyalar* yaxshi bilinib turadi. Hosil yig'ilganda sklerotsiyalar tuproqqa tushadi va u yerda qishni o'tkazadi. Bahorda sklerotsiyalar o'sib, ipsimon oyoqchalarda joylashgan boshchalar ko'rinishidagi meva tanachalarini hosil qiladi. Stroma boshchasining ichida jinsiy jarayon sodir bo'ladigan bo'shliqlar bor. Bu jarayon askogonning, anteridiyning, shuningdek plazmogamiya va kariogomiya shakllanishini o'z ichiga oladi. Jarayon sakkiztadan ipsimon askosporalari bor sumkalar (asklar)ning hosil bo'lishi bilan tugallanadi.

Yetilgan askosporalar bug'doydoshlarning gullash davrida ularga sochilib sporaga ega mitseliylarni hosil qiladi. Zararlanishidan bir necha kun keyin zamburug'ning konidial bosqichi rivojlanadi. Zamburug' konidiysining hashoratlar tomonidan tarqatilishida konidiylar botib turadigan «asal xidli shudring» katta ahamiyatga ega. Gulning tugunchasida javdarning pishishi davrida mitseliy zichlashadi va urug'lar o'rniga shoxchalar (sklerotsitlar) shakllanadi. Yuqori namlikda sklerotsitlar «asal xidli shudring» paydo bo'lganidan bir hafta keyin, quruq havoda – 2 hafta keyin hosil bo'ladi.



5.6-rasm. Kasallangan boshoq va o'sib chiqqan sklerotsit.

Kasallanish don hosilini kamaytiradi. Bundan tashqari sklerotsiyning donga tushishi inson va hayvonlarning kuchli zaharlanishiga olib kelishi mumkin (toksikozlar). Yuqori biologik faollikka ega kasallik toksinlari va ularning hosilalari ko'p o'rganilgan. Toksinlar asosan alkaloidlardan iborat bo'lib, ular ergotin va lizergin kislotalarining hosilalari hisoblanadi. Kasallik shoxchalari tushgan undan tayyorlangan nonni yeyish holsizlik, bosh aylanishi, tomir tortishishga sabab bo'ladi ("ergotizm" deb ataluvchi zaharlanish). Kasallangan shoxchalarning dondagi miqdori 0,05 % dan oshmasligi kerak.

6. *Basidiomycetes* sinfi (bazidiomitsetlar). Yuqori darajada rivojlangan ko'p hujayrali zamburug'larning guruhida 30 mingta tur bor. Bu sinf zamburug'larining o'ziga xosligi maxsus organ – bazidiyaning mavjudligidir. Unda jinsiy jarayon natijasida bazidiosporalar rivojlanadi. Bazidiomitsetlarga quyidagi zamburug'lar kiradi:

•Qalpoqchali zamburug'lar (trubkasimon, plastinkali, ignali) qalpoqcha ko'rinishidagi bir yillik mevali tanasi bo'lib, u oyoqchaga birikkan;

•Daraxtlar poyasida o'suvchi va yog'ochni parchalovchi trut zamburug'lari;

•Binolarning taxta qismlarida ko'payuvchi uy zamburug'lari. Bu zamburug'larning rivojlanishida yog'och sekin-asta parchalanadi, chiriydi;

•Dala, bog' o'simliklarini zararlovchi parazitik zamburug'lar. Ularning eng muhim namoyandalari qora kuya zamburug'i (*Ustilaginales* tartibi) va zang zamburug'lari (*Uredinales* tartibi).

Qora kuya zamburug'i asosan don o'simliklarini zaralantirib, qora kuya deb ataluvchi kasallikni keltirib chiqaradi.

Qattiq, changli va pufakli qora kuya zamburug'i ajratiladi. Hozirgi davrda bug'doy, arpa, javdarning qattiq (ho'l) qora kuyasi tarqalgan bo'lib, uning qo'zg'atuvchilari *Tilletia caries, Tilletia hordei* ekanligi ma'lum. Qora kuya sporalari donlar o'sib chiqqunicha urug'da rivojlana boshlaydi. Mitseliy donning o'simtasiga kirib, o'simlik bilan birga o'sib chiqadi. Gullash davriga kelib zamburug' mitseliysi gul tugunchasiga kirib, sutli yetilish fazasida donning ichki qismi qora kuya sporalari yoki teleosporalar bilan to'ladi. Boshoqda donning o'rniga qora xlamidosporalar bilan to'ldirilgan dumaloq qopchalar hosil bo'ladi. Kasallangan boshoq to'q tusda bo'lib, yoqilgan payraxaga o'xshaydi – "qora kuya" nomi shundan kelib chiqqan (5.7-rasm).



5.7-rasm. Don o'simliklarining chang qora kuyasi

Hosil yig'ish davrida va donlar ezilganida qopchalar buziladi va sporalar sog'lom donlar yuzasiga tushadi. Don sporalarda trimetilamin borligi sababli selyodka balig'i tuzlamasi hidiga ega bo'lib qoladi. Qattiq qora kuya sporalari gigroskopik, namlanganida oson surtiladi. Qattiq qora kuya bilan kasallangan dondan tayyorlangan un to'q rangga kiradi, yomon hid va ta'mga ega bo'ladi, so'lak bezlariga yomon ta'sir qiladi va ichaklar faoliyatining buzilishiga olib kelishi mumkin.

7. *Deuteromycetes* **sinfi** (deyteromitsetlar – nomukammal zamburug'lar). Bu sinfga *ekzosporalar* konidiy yoki artosporalar (oidiy) yordamida jinssiz yo'l bilan ko'payuvchi ko'p hujayrali zamburug'lar kiradi. Ba'zidi konidial spora hosil qilish bo'lmay, faqat sklerotsiyalar hosil bo'ladi.

Deyteromitsetlar tabiatda keng tarqalgan, ularning ko'plari madaniy o'simliklarda va oziq-ovqat mahsulotlarida ko'payib, ularning aynishiga sababchi bo'ladi.

Cladosporium **turi** – shingilsimon mog'or, substrat yuzasida yashil zaytun rangidagi mayin koloniyalar hosil qiladi. Mitseliy ko'p hujayrali, kam shoxlangan. Kladosporium blastosporalar hosil qiladi. Ular konidogen hujyralar uchlarida shishlar hosil qilib, keyin undan to'siq bilan ajralib oladi. Substratga tegib turuvchi koloniyalarning orqa qismi qora rangga ega. *Cladosporium herbarum* muzlatgichda saqlanayotgan go'sht, sariyog', pishloqning yuzasida rivojlanadi (5.8-rasm).

***Endomyces* turi** gifalari alohida hujayralar – oidiylarga bo'linadigan oq mayin mitseliy hosil qiladilar. Ular shuningdek artrosporalar deb ataladi (5.9-rasm). Bu tur namoyandasi sut mog'ori *Endomyces lactis* (sinonimi *Geotrichum candidium*) bo'lib, sut-qatiq mahsulotlari, pishloqlar, sariyog' yuzasida rivojlanadi. Sut mog'orining mitseliysi hech qachon qoraymaydi va rangli mevalar qilmaydi. Sut mog'ori faol proteaza va lipazalarga ega. Shuning uchun u sut mahsulotlarida rivojlanganida ular achchiq ta'm va yomon hidga ega bo'ladilar.



5.8-rasm. *Cladosporium herbarum* **a – konidiylar; b – konidiy tashuvchilar**



5.9-rasm. *Endomyces lactis* **(sinonimi** *Geotrichum candidium***)**

***Fusarium* turi** oq yoki yorqin koloniyalar hosil qiladi. Fuzarium ikki turdagi konidiylarga ega: makrokonidiylar - o'roqsimon bo'lib, ular qisqa konidiy tashuvchilarda rivojlanadi, va mikrokonidiylar-maydaroq, oval, rangsiz (5.10 rasm). Mikrokonidiylar o'ziga xos o'roqsimon shaklga ega. Ularning bir yoki bir necha ko'ndalang to'siqlari bor. Mikrokonidiylar mayda, rangsiz, bir hujayrali yoki bir-ikkita to'siqlarga ega. Bu turdagi zamburug'lar ichida meva va sabzavotlar kasalligi-"fuzarioza"ni keltirib chiqaruvchi parazitik turlar ko'p. Eng ko'p tarqalgan turi *Fusarium avenaceum*. Ba'zi turlari mikotoksinlarni yig'adi.



5.10-rasm. Fusarium avenaceum ***a*** **– makrokonidiylar,** ***b*****-mitseliy**



5.11-rasm. *Botrytis cinerea* ***a*****-konidiylar,** ***b*****-konidiy tashuvchilar**

***Botrytis* turi.** Botritis substratda kulrang yoki jigarrang zaytun rangidagi yoyiluvchi parda ko'rinishida rivojlanadi. Ba'zida sklerotsiylar zich o'ralgan gifalardan iborat mitseliy to'planmalari hosil qilib, ular zahira moddalarga boy va zamburug'ning noqulay sharoitlarda saqlanishiga xizmat qiladi. Ular jigarrang va

qora rangda bo'lib, ko'z bilan ko'rsa bo'ladi. *Botrytis* daraxtga o'xshab shoxlangan konidiy tashuvchilarga ega bo'lib, ularning uchlarida qisqa, konidiy shingillariga ega zich joylashgan sterigmalar bor (5.11-rasm). Konidiylar- ellipssimon, ba'zida sharsimon, rangsiz. *Botrytis cinerea* (grekcha *botrytis* – shingil, *cinerea* – kulrang) olma, nok va boshqa mevalar kasalliklarini keltirib chiqaradi. Kasallangan mevalar yuzasi paxmoq kulrang parda bilan qoplanadi, o'simlik to'qimasi qo'ng'ir rangga kiradi, zamburug'ning faol pektinazalari ta'sirida yumshab qoladi.

Trichothecium* turi** yoyiluvchi mitseliyga ega, substrat yuzasida konidiy tashuvchilar va konidiy tashuvchilardan iborat unsimon parda hosil bo'ladi. Konidiy tashuvchilar to'g'ri, to'siqlari kam. Konidiylar cho'ziq, konidiy tashuvchilar tepasida bittadan hosil bo'ladi yoki tez parchalanib ketadigan boshchani hosil qiladi (5.12-rasm). ***Trichothecium roseum sariq-pushti rangdagi paxmoq koloniyalar hosil qiladi.

***Alternaria* turi** (5.13-rasm). Avval yashil zaytun, keyin jigarrang-qora rangdagi to'rsimon koloniyalar hosil qiladi. Mitseliydan qisqa konidiy tashuvchilar tarqalib, ularda noksimon yoki uchli ko'p hujayrali konidiylar joylashgan. Zamburug' koloniya ostidagi substratni qora rangga bo'yovchi pigment ajratadi. Ushbu turdagi zamburug'lar sariyog' va pishloqda ko'payib, ularni yuzasida qora dog'lar hosil qiladi. Bu turning ko'p namoyondalari o'simliklarda alternarioz (qora chirish) kasalligini keltirib chiqaradi.



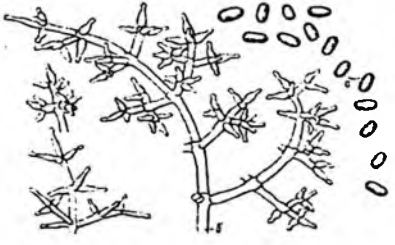
5.12-rasm. *Trichothecium roseum* a-konidiylarning rivojlanishi, b-konidiy tashuvchilar: v-konidiyli mitseliy



5.13-rasm. *Alternaria radicina* a-konidiylar: b-mitseliy

***Trichoderma* turi** (5.14-rasm). Mog'or bo'lingan yuzali koloniyalar ko'rinishida o'sadi. Mitseliy sudraluvchi, rangsiz, yoshi kattalashishi bilan to'q yashil rangga kiradi. Konidiy tashuvchilar shoxlangan, mitseliy ustida ko'tarilgan. Ularning uchlarida uchli sterigmalar joylashadi. Sterigmalarda konidiylarning boshchalari bo'lib, har birida 20 ta dona bo'ladi. *Trichoderma lignorum* zumrad yashil rangga ega. Konidiy tashuvchilar mitseliyda yondosh shoxlar bo'lib, o'sib chiqadi.

***Phoma* turi** (5.15- rasm). Substrat yuzasida avval oq to'rsimon mitseliy xosil qilib, keyin u to'q rangga kiradi va unda piknidiylarning qora dog'lari xosil bo'ladi. Sharsimon piknidiylar substratga botgan, kichikroq dumaloq teshigi bor. Piknidiy qobig'i to'q jigarrang, deyarli qora. Konidiy tashuvchilar shoxlanmagan, konidiylar oval yoki tuxumsimon. *Phoma* ildiz mevalar kasalligi *fomozni* keltirib chiqaradi. Masalan, *Phoma betae* lavlagi ichining chirishini, *Phoma rostrupii* sabzining fomoz chirishini keltirib chiqaradi. Ba'zida *Phoma* sariyog' bo'lagi ichida qora dog'lar ko'rinishida uchraydi.



5.14- rasm *Trichoderma lignorum;* a – konidiylar; b – konidiy tashuvchi.

***Catenularia* turi** (5.16-rasm). Mayda, sekin o'suvchi jigarrang shokolad rangidagi koloniyalar hosil qiladi. Konidiylar yaltiroq, sariq-jigarrang bo'lib, yengil mitseliyning uchlaridagi gifalardan uzun zanjirlar ko'rinishida tarqalgan. *Catenularia fuliginea* ko'pincha shakarli quyuqlantirilgan sutda shokolad rangidagi to'planmalar yoki "tugmachalar" hosil qiladi.



5.15- rasm. *Phoma betae*



5.16- rasm. *Satenularia fuliginea*

Monilia turi. Bu tur achitqilardan mitselial zamburug'larga o'tuvchi tur hisoblanadi. Avval koloniyalar achitqi koloniyalariga o'xshash bo'lib, keyinroq hujayralar uzayadi va yengil iplar tarqaluvchi haqiqiy mitseliy hosil qiladi. Mitseliy endogen, zich dastalar ko'rinishida yuzaga chiqadi. *Monilia* turining ko'p namoyondalari urug'li va danakli o'simliklarni zararlantiradi. *Monilia fructigena* olma, nok, behi va boshqa daraxtlar mevalarini chiritadi. *Monilia sinerea* olcha, olxo'rida rivojlanib, kulrang chirishni keltirib chiqaradi.

Monilia nigra qattiq pishloqlar ustida ichiga kirib ketuvchi qora dog'lar hosil qiladi. *Monilia roseum* sariyog' ustida ko'payib, pushti dog'lar hosil qiladi.

Nazorat savollari.

1. Tuban zamburug'lar yuqori zamburug'lardan qanday belgilariga ko'ra farqlanadi?
2. Yuksak va tuban zamburug'lar sinflarini ayting.
3. Tuban zamburug'lar namoyondalarini ayting.
4. *Askomitsetlar* sinfi zamburug'lari namoyondalarini ayting.
5. *Bazidiomitsetlar* sinfi zamburug'lari namoyondalarini ayting.
6. *Deyteromitsetlar* sinfi zamburug'lari namoyondalarini ayting.
7. Oziq-ovqat sanoatida mog'or zamburug'lari qanday ahamiyatga ega?

6. ACHITQILAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH

Tayanch so'z va iboralar: *Saccharomycetaceae*, *Schizosaccharomycetaceae*, *Saccharomycodaceae*, jinsiy sporalar, aska (xalta)lar, madaniy va yovvoyi achitqilar, qari va yetilgan achitqilar.

Ishdan maqsad: pivo pishirish va non yopishda ishlatiladigan madaniy achitqilar morfologiyasi va oziq-ovqat mahsulotlarining aynishiga sabab bo'ladigan yovvoyi achitqilar bilan tanishish.

Achitqilar eukariotlar guruhiga kirib, bir hujayrali mikroskopik zamburug'lar hisoblanadi. Jinsiy jarayon xarakteri yoki uning yo'qligiga qarab achitqilar yuqori zamburug'larning uch guruhiga tegishli bo'lishi mumkin: askomitsetlar, bazidiomitsetlar va deyteromitsetlar.

Askomitsetlar (*Ascomycetes*) guruhiga achitqilarning uchta guruhi kiradi: *Saccharomycetaceae*, *Schizosaccharomycetaceae* va *Saccharomycodaceae*. Bu guruhning xarakterli belgilari jinsiy sporalarga va aska (xalta)larda ikkita, to'rtta yoki sakkizta askosporalarning bo'lishidir.

Oziq-ovqat va mikrobiologik ishlab chiqarishda *Saccharomycodaceae* oilasiga mansub *Saccharomyces* turidagi achitqilar ishlatiladi. Saxoromitsetlar spirt, vino, pivo, kvas, non, non achitqisini tayyorlashda qo'llaniladi. Pivo pishirishda Saccharomyces cerevisiae, non pishirishda - *Saccharomyces cerevisiae* va *Candida milleri* (avval *Saccharomyces minor*) turidagi achitqilar ishlatiladi.

Saccharomycodaceae oilasiga mansub ba'zi achitqilar (*Nadsonia, Saenko* turlari) xeres va shampan vinolarini ishlab chiqarishda ishtirok etadilar. Achitqilarning boshqa barcha turlari begona ("yovvoyi") bo'lib, biotexnologik jarayonni turli bosqichlarida kontaminatsiya qilinadi.

Deyteromitset (*Deuteromycetes)*lar guruhining nomukammal achitqilari – bular ma'lum askomitsetlar yoki bazidomitset zamburug'ning anamorflari yoki jinsiy bosqichi aniqlanmagan yoki yo'q bo'lgan turlardir. Bu guruhda askomitsetlar affinitet belgilariga ega *Sandidaceae* oilasini va ikki oila – *Cryptococcaceae* (ballistosporalarni hosil qilmaydi) va bazidiomitset affinitet

belgilariga ega *Sporobolomycetaceae* (ballistosporalarni hosil qiladi)ni ajratadilar. *Candida* va *Trichosporon* turidagi achitqilar psevdomitseliy hosil qila oladilar.

6.1. Madaniy va yovvoyi achitqilar ba'zi turlarining xarakteristikasi

Achitqilar bir hujayrali eukariot mikroorganizmlar bo'lib, kurtaklanish, sporalar hosil qilish va binar bo'linish orqali ko'payadilar. Oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan achitqilar o'lchami eniga 3-6 mkm gacha, bo'yiga 8-12 mkm bo'ladi.

Achitqilar morfologiyasini o'rganish uchun ular quruq moddalari konsentratsiyasi 8-10% bo'lgan solod (undirilgan arpa) suslosida yoki glyukozali pepton muhitida 25-28 ^{0}C haroratda 2-3 sutka davomida o'stiriladi.

Turli xildagi achitqilar vegetativ hujayralarining shakli xilma-xildir. Achitqi hujayralarining shakli va o'lchami ularning turi, yoshi, ozuqa muhiti, kultivatsiya usuliga bog'liq. Achitqi hujayralari dumaloq, oval, tuxumsimon, ozgina slindrik, limonsimon (apikulyat) shaklga ega bo'lishi mumkin. Nomukammal achitqilarda hujayralar aniqroq shaklga ega: strelkasimon (*Brettanomyces* turi), uchburchak (*Trigonopsis* turi), o'roqsimon (*Selenotila* turi), kolbasimon (*Schizoblastosporion* turi). *Candida* va *Trichosporon* turidagi achitqilarda dumaloq va oval hujayralar bilan bir qatorda preparatlarda psevdomitseliyning uzun hujayralari ham uchraydi.

Madaniy achitqilar

Saccharomyces cerevisiae turi (6.1- rasm).

Morfologik belgilar. Ushbu turdagi achitqilarning hujayralari (5-6) x (9x14) mkm o'lchamga ega bo'lib, oval, yumaloq, tuxumsimon va biroz uzunchoq shakldadir. Achitqi hujayrasining sitologik xususiyatlari uning yoshiga qarab sezilarli o'zgarishi mumkin. Yangi yosh hujayra uning o'sish jarayonida sporadan rivojlanishi yoki vegetativ ravishda kurtaklanishda hosil bo'lishi mumkin.

Achitqilarning y o sh aktiv hujayralari (12-18 soatli namuna) mikroskopda ko'rilganda yupqa shaffof qobiq va sof gomogen sitoplazma, katta bo'lmagan vakuoliga ega. Ba'zida sitoplazmada 1-2 dona polifosfatlar uchraydi. Yosh

achitqilar inntensiv ravishda ko'payadi. Bunda kurtaklanuvchi hujayralarning ulushi 70-80 %ni tashkil qilishi mumkin.



6.1- rasm. *Saccharomyces cerevisiae* turidagi achitqilar, a-yosh hujayralar, b-yetilgan hujayralar, v- qari hujayralar

Y e t i l g a n achitqilar (24-48 soatli namuna) dona-dona urug'li bir jinsli bo'lmagan yoki geterogen sitoplazmaga ega. Vakuoliga ega hujayralar soni ko'payadi, ba'zida ikki va undan ortiq vakuolyali hujayralar uchraydi. Achitqilarning ko'payish jarayoni sekinlashadi; kurtaklanayotgan hujayralarning foiz miqdori o'rtacha 10-15% ni tashkil etadi. Hujayraning ichida yarimyopiq diafragmada maxsus bo'yashsiz ham ko'rinadigan yog'li qo'shimchalar hosil bo'ladi. Yetilgan achitqilarda 2-4% gacha o'lik hujayralar uchraydi. Ular tirikligida achitqilar suspenziyasini ko'k metilenning eritmasi bilan bo'yash uslubida aniqlanadi. Ko'k metilen sitoplazmaga faqat o'lik hujayralar qobiqlari orqali kirib boradi. Buning natijasida ular havorangga bo'yaladi. Tirik hujayralar esa rangsiz bo'lib qoladi. Zahiradagi moddalar – lipidlar, glikogen ulushi hujayra o'sishi bilan ko'payadi. Achitqilarning yetilgan namunasiga hujayralarda glikogenning katta miqdori bo'lishi xosdir. U vakuolyada rezerv modda sifatida yig'ilib, hujayra qarishi mobaynida sarflanadi. Achitqilarni uglevodlarga boy muhitlarda aeratsiyasiz kultivatsiya qilishda glikogenli hujayralarning miqdori 65-70 %ni tashkil etib, bu achitqilarni ancha "semiz"ligi va yetilganligidan darak beradi. Glikogen achitqi preparatlari tirikligida yod eritmasi bilan bo'yash usuli bilan

aniqlanadi. Glikogen bilan bir qatorda yetilgan achitqilarda yana bir rezerv modda – metaxromatin (volyutin) yig'ilib, bu achitqilarning fiksatsiya qilingan preparatini ko'k metilen bilan bo'yashda binafsha rangga kiradi.

Q a r i achitqilar (48 soat va undan ortiq) mikroskopda yaxshi ko'rinuvchi qalinlashgan qobiqqa ega. Sitoplazma dona-dona urug'simon, geterogen, vakuolilar yirik, bitta hujayrada bir nechta. Qari namuna populyatsiyasida lipidlari mavjud bo'lgan hujayralar bor. Lipidlar dumaloq va yorug'likni keskin sindiradi. Qari namunaning o'ziga xos belgilaridan biri unda o'lik hujayralarning ko'p miqdorda bo'lishidir.

Kultivatsiya sharoitlari o'zgarganda yani, aerob jarayondan anaerob jarayonga o'tishda, muhit tarkibining va moddalar konsentratsiyasining o'zgarishida, shuningdek kuchli fiziologik ta'sirlarda muhim sitologik o'zgarishlar vujudga keladi.

Aerob sharoitlarda achitqi intensiv ravishda ko'payadi. Hujayralar ancha mayda va bir jinsli bo'lib, ularda mitoxondriyalar aktiv bo'linadi, ularning soni sezilarli darajada ortadi.

Anaerob bijg'ish sharoitlarida mitoxondriyalar birlashadilar, hujayralarda ko'proq glikogen yig'iladi va u yirik granulalar ko'rinishida bo'ladi.

Kultural belgilar. Suslo – agardagi koloniyalar oq, dumaloq shaklda, chegaralari tekis va markazi bo'rtgan, silliq, xira – yaltiroq yuzali, diametri 0,5-1,0 sm gacha. Suyuq solod suslosida o'stirilganida, bu turdagi achitqilar sariq-oq rangdagi cho'kma hosil qiladi.

Sandida milleri turi (avvallari *Saccharomyces minor*). Bu turdagi achitqilar javdar xamir uchun xosdir.

Morfologik belgilar. Hujayralar mayda, dumaloq, diametri 1,5-3,0 mkm, o'ziga xos kurtaklanishga ega: kurtaklar hujayraning bir uchida joylashgan. Achitqilarni suyuq muhitda o'stirishda hujayraning ikkala uchida kurtaklar hosil bo'ladi yoki bir uchida ikkitadan kurtak hosil bo'ladi.

Kultural belgilar. Suslo – agarda mayda kulrang – oq chegaralari tekis, markazi ko'tarilgan, 0,4-0,8 sm diametrga ega. Koloniyalar yuzi silliq, yaltiroq.

Solod suslosida chayqatganda oson aralashadigan kulrang-oq cho'kma hosil bo'ladi.

Oziq-ovqat mahsulotlarining aynishiga sabab bo'luvchi achitqilar

Biotexnologik jarayonda madaniy achitqilar bilan bir qatorda "yovvoyi" achitqilar deb ataluvchi achitqilar ham uchraydi. Ular ham madaniy achitqilar kabi substrat ozuqa moddalari uchun kurashib, tayyor mahsulotning aynishi yoki organoleptik ko'rsatkichlarning yomonlashishiga sabab bo'lishi mumkin. Ko'pincha "yovvoyi" achitqilar orasida achitqilari va *Saccharomyces, Kloecera, Sandida, Torulopsis, Pichia, Hansenula, Brettanomyces, Rhodotorula* boshqalar uchraydi.

Saccharomyces pastorianus turi (6.2. a - rasm) – hujayralar ellipssimon yoki silindrik, kam hollarda oval shaklda. Pivoning asosiy bijg'ishida madaniy achitqilar bilan birgalikda cho'kindi hosil qilmaydi, ular ko'payganda pivo xiralashadi, rangi ocharishi qiyin bo'ladi, yoqimsiz hid chiqaradi, mazasi nordon bo'lib qoladi.

Saccharomyces turbidans turi (6.2. b - rasm) – hujayralar oval yoki ellips shaklida, ko'pincha 4-5 ta hujayrdan iborat zanjirlarga birlashadi. Pivoda kuchli xiralikka, mazaning buzilishiga sabab bo'ladi.

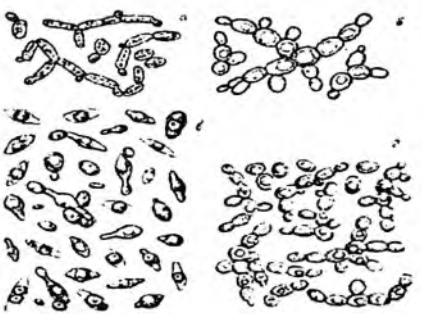
Kloecera apiculata turi (6.2. v - rasm) – hujayralar mayda, limonsimon, 1 yoki 2 ta qutbi uchli, alohida-alohida, ba'zida juft bo'lib joylashadilar. Qarish mobaynida cho'zilgan charx ko'rinishini oladilar. Hujayralarning o'lchami (5-8)x(2-4) mkm. Pivoda rivojlanganda uchuvchi kislotalar, efirlar, vodorod sulfid yig'ilib, u mahsulotlarga yomon hid beradi.

Saccharomyces bayanus turi (6.2. g - rasm) – hujayralar yirik, oval shaklda. Pivo, sidr, vino materiallarida uchraydi. Ular tayyor mahsulotga efirlar, diasetil, sirkai kislotasi, oltingugurt mavjud uchuvchi kislotalar hosil bo'lishi natijasida yomon maza va badbo'y hid beradi.

Saccharomyces validus turi (6.2. d - rasm) – hujyralar oval yoki juda cho'zilgan, juft yoki kichik to'plar bo'lib joylashadi. Pivoning xiralashishiga yomon hidga ega bo'lishi sabab bo'ladi.

Hansenula anomalia turi (6.2. e - rasm) – hujayralar dumaloq, ellipssimon, ba'zida kolbasasimon yoki gurzisimon. *Hansenula* turidagi achitqilar spirtlar va efirlarning katta miqdorini hosil qilib, pivoga o'tkir hid beradi. Madaniy achitqilarning rivojlanishini to'xtatadi.

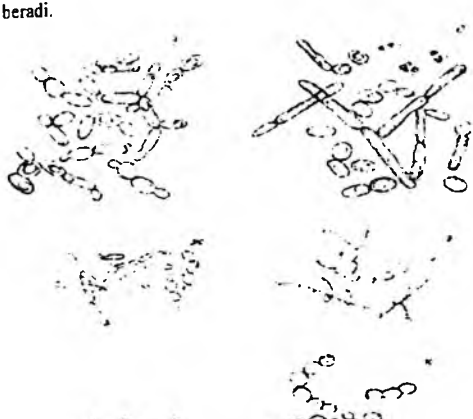
Pichia farinosa (6.2. j - rasm) hujayralar dumaloq, oval, yakka yoki juft bo'lib birlashgan. Hujayralarning o'lchami (4,0-7,5)x(3-6) mkm. Bu turdagi achitqilar, shuningdek *P. Membranifaciens* pivo yuzasida oq parda hosil qiladi. Pivoda aldegidlar, efirlar, uchuvchi kislotalar yig'adi. Ular o'z navbatida unga meva yoki dorilarning mazasini beradi. Pivo qadoqlanayotganida havo kirishi natijasida ko'payib, uning xiralashishiga sababchi bo'ladi.



6.2-rasm (a-g) Yovvoyi achitqilarning ba'zi namoyondalari (T.P. Slyusarenko, 1984). *a – Saccharomyces pastorianus; b – Saccharomyces turbidans; v – Kloecera apiculata; g – Saccharomyces bayanus*

Brettanomyces bruxellensis turi (6.2. z - rasm) – hujayralar turli shaklga ega: oval, juda cho'zilgan, tayoqchasimon, ba'zida o'tkir uchli. *V. Brettanomyces bruxellensis* suslo va pivoni kontaminatsiya etadilar. Bu achitqilarning rivojlanishi

pivoda begona meva hidlari va xiralashish paydo bo'lishi bilan kechadi. Boshqa turlar (*B. anomalus, B. Intermedius*) pasterizatsiya qilingan pivoni aynitib, unga yomon hid beradi.



6.2-rasm (d-k) Yovvoyi achitqilarning ba'zi namoyondalari (T.P. Slyusarenko, 1984): *d – Saccharomyces validus; e – Hansenula anomalia; j – Pichia farinose; z – Brettanomyces bruxellensis; i – Candida mycoderma; k – Torulopsis colliculosa*

Candida turi. Bu turning asosiy namoyondalari – ***C. Mycoderma*** (6.2. I - rasm), ***C. utilis, C. krusei, C. Guillermondii*** – oval yoki uzaygan silindrik ko'rinishga ega. Hujayralarning o'lchami (4-16)x(2-5) mkm. Bu turdagi achitqilar sporalar hosil qilmaydi va asporogen bo'ladi. Bu turning ko'p namoyondalari vino, pivo, non achitqisini tayyorlashda zararkunanda bo'lib hisoblanadi. Suslo yoki pivoning yuzasida ko'pincha oq va kulrang quruq parda hosil qiladilar. Pivoning xiralashishi, yomon ta'm va hidga ega bo'lishiga sababchi bo'ladilar.

Non achitqisi tayyorlash jarayonida *Candida* turidagi achitqilar madaniy achitqilar bilan bir qatorda substratning ozuqaviy moddalari uchun kurashadilar, tayyor achitqilarning maltoz faolligini kamaytiradilar.

Torulopsis turi. Torulopsis turidagi achitqi hujayralari mayda, dumaloq yoki oval, o'lchamlari (5–8)×(2–5). Bu turdagi achitqilar ko'pincha kefir zamburug'laridan olinadi (*Torulopsis kefiri*). ***Torulopsis colliculosa*** turdagi (6.2. k -rasm) achitqilar pivo va achitqi ishlab chiqarishda zararkunanda hisoblanadi.

Rhodotorula roseum turi – hujayralar dumaloq yoki oval, yakka, juft-juft, psevdomitseliy hosil qilmaydilar. Ularning o'lchami (5–8)×(2,5–5,0) mkm. Ozuqa agarida ***R. roseum*** pushti rangdagi yaltiroq dumaloq koloniyalarni hosil qiladi. Ko'payish jarayonida oziq-ovqat mahsulotlarining yuzasida pigmentatsiya hosil bo'lishiga sababchi bo'ladi.

6.2. Achitqilar suspenziyasi tarkibida mavjud bo'lgan o'lik va kurtaklanayotgan hujayralarni aniqlash

Ushbu achitqilarning morfologik holati mikroskopda ko'rish orqali aniqlanadi. Bu maqsadda kurtaklanayotgan va o'lik hujayralarni sanash amalga oshirildi.

O'lik hujayralar miqdorini aniqlash. O'lik hujayralarning miqdori – pivo va non achitqilari sifatining muhim ko'rsatkichidir. Yaxshi sifatli achitqilarda o'lik hujayralar miqdori 5% dan ortiq bo'lmasligi kerak. O'lik hujayralar miqdorining oshishi achitqilar ko'payishi jarayonidagi noxush faktorlardan darak beradi. O'lik hujayralarning ko'p miqdorda bo'lishi texnologik jarayonning buzilishiga sababchi bo'ladi: sekin bijg'ish, begona mikroorganizmlarning ko'payishi.

Bo'yalmagan ozuqa muhitlarida kultivatsiya qilinuvchi achitqilarning o'lik hujayralari miqdorini aniqlashda ularni ko'k metilen bilan bo'yash qulay. Buning uchun bo'yoqning distillangan suvdagi eritmasi 1:10000 miqdorda tayyorlanadi. Preparat quyidagicha tayyorlanadi: buyum oynasiga tekshiriluvchi namunadan 1 tomchi tomiziladi va qoplovchi oyna bilan yopiladi. Qoplovchi oynaga 1 tomchi immersion moy surtilib, 90x ob'ektiv orqali mikroskopda ko'riladi. O'lik hujayralar havo rangga bo'yalib, tiriklari rangsiz bo'lib qoladi. Tayyorlangan preparatning 10 ta ko'rish maydonida o'lik hujayralar soni hisoblanadi (V).

Kurtaklanayotgan hujayralar miqdorini aniqlash. Buyum oynasiga tekshirilayotgan achitqi suspenziyasidan bir tomchi tomizilib, unga ko'k metilen bo'yog' qo'shiladi. So'ng aralashtirib, qoplovchi oyna bilan yopiladi. 60x yoki 90x ob'ektiv orqali ko'riladi. Preparatning ko'rish maydonidagi umumiy son 30-40 dan oshmasligi lozim. Har bir ko'rish maydonida kurtaklanuvchi hujayralar soni (S) va hujayralarning umumiy soni (A) hisoblanadi. Kurtak deb kattaligi ona hujayra kattaligining ½ qismidan kichik hujayraga aytiladi. O'lchami ona hujayra o'lchamining 1/3 qismidan kam bo'lgan kurtakli hujayrani bitta hujayra deb hisoblanadi. Achitqilarning faol ko'payish jarayonida kurtaklanayotgan hujayralar soni 50% dan ortadi. Kurtaklanayotgan hujayralarning kam bo'lishi achitqi ko'payishi faolligining pastligidan darak beradi. Hujayralarning umumiy miqdori va kurtaklanayotgan hujayralar sonini hisoblash kamida 10 ta ko'rish maydonida amalga oshiriladi.

Tajriba natijalari 6.1-jadvalga kiritilib, tekshirilayotgan achitqi suspenziyasidagi o'lik va kurtaklanayotgan hujayralar miqdori aniqlanadi.

Hujayralar soni	Ko'rish maydonlari										A,V,S larning o'rtacha arifmetik qiymati
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A-umumiy											
V-o'lik											
S-kurtaklanayotgan											

Tekshirilayotgan achitqi suspenziyasidagi o'lik hujayralar soni:

$$X = V/A\ 100, \%.$$

Tekshirilayotgan achitqi suspenziyasidagi kurtaklanayotgan hujayralar soni:

$$Y = S/A\ 100, \%.$$

6.3. Achitqi hujayralari tarkibida mavjud bo'lgan zahiradagi ozuqa moddalarining bo'yalishi

Glikogenni bo'yash. Yosh achitqilar namunalarida zahiradagi ozuqa moddasi – glikogen katta miqdorda yig'ilib qoladi. Normal "semiz" achitqilarda 70% dan 75% gacha hujayralar tarkibida glikogen mavjud bo'ladi. Sanoatdagi achitqilar tarkibida glikogenli hujayralarning kam bo'lishi achitqi hujayralarining qariligi yoki ularga oziqlanish yetishmovchiligidan darak beradi.

Glikogenni aniqlash uchun buyum oynasiga pipetka bilan achitqi suspenziyasidan bir tomchi tomiziladi, ozroq yod eritmasi qo'shiladi. Suspenziya qoplovchi oyna bilan yopiladi, unga bir tomchi kedr moyi surtiladi va preparat immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Glikogen qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi, achitqi hujayralari rangsiz bo'ladi.

Lipidlarni bo'yash. Achitqilarning qari namunalarida ko'pincha lipidlarning katta miqdori to'planib qoladi. *Saxaromitset* achitqilarida lipidlar sintezi uglevodli ozuqaning ko'pligida, intensiv aeratsiyada va ozuqa muhitida azot yo'qligi sharoitida mavjud bo'lishi mumkin. Lipidlar, shuningdek, muhitda ingibitorlar mavjud bo'lganida sintezlanadi.

1-usul. Lipidlarni bo'yash uchun buyum oynasiga pipetka bilan achitqi suspenziyasidan bir tomchi surtiladi, unga bir tomchi Sudan III bo'yog'ining spirtli eritmasidan surtiladi va qoplovchi oyna bilan yopiladi. Oynaning ustiga tayoqcha bilan kedr moyi surtiladi va 90x ob'ektiv orqali mikroskopda ko'riladi. Moy tomchilari sariq rangda, achitqi hujayralari rangsiz bo'ladi.

2-usul. Buyum oynasiga 40% li formalin eritmasining kichik tomchisi surtiladi. Ilgak bilan tomchiga achitqi namunasi kiritiladi. Formalin hujayralarni o'ldiradi va qobiqni o'tuvchanroq qilib qo'yadi. 5 daqiqadan so'ng ko'k metilen, yana 10 daqiqadan so'ng Sudan III dan bir tomchi qo'shiladi. Preparat qoplovchi oyna bilan yopiladi. Ortiqcha suyuqlik filtr qog'ozi bilan olib tashlanadi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Sitoplazma ko'k rangga, moy tomchilari pushti-zarg'aldoq rangga bo'yaladi.

Polifosfatlarni Leffler usulida bo'yash. Polifosfatlar ko'pincha metaxromatin urug'lari yoki volyutin urug'lari deb ataladi. Polifosfatlarni aniqlash uchun achitqilarning fiksatsiyalangan preparati tayyorlanib, u metilen ko'kiga bo'yaladi. Vakuolilarda polifosfatlar qizil-binafsha rangga bo'yaladi. Achitqi hujayralarining sitoplazmasi havo rangga kiradi.

6.4. Achitqilarda sporalarning hosil bo'lishi

Noqulay sharoitlarda askosporogen achitqilar askosporalarni hosil qilishi mumkin. Sporalar hosil bo'lishi uchun ma'lum sharoitlar mavjud bo'lishi kerak:

- Namunaning yosh bo'lishi (1-2 sutka davomida to'yintirilgan muhitda o'stirish);
- Och muhitlarga (Gorodkova muhiti) faol rivojlanuvchi achitqilarni ekish;
- Och muhitlarda optimal harorat (20-25 ^{0}C) dan past haroratda 2-4 hafta davomida inkubatsiya qilib, har hafta mikroskopda ko'rish.

Achitqi hujayrasida yoki askada bittadan sakkiztagacha askosporalar hosil bo'ladi.

Achitqi sporalarini bo'yash. Sporalarni bo'yash uchun *Saccharomyces cerevisiae* turidagi achitqilarning oldindan Gorodkova muhitida 2 hafta mobaynida o'stirilgan namunalari olinadi. Fiksatsiyalangan preparat tayyorlanadi, unga Sil karbol fuksini quyiladi va 2-3 daqiqa davomida bug' hosil bo'lgunicha spirt lampasi olovida qizdiriladi. Keyin preparatni 2% li sut kislotasi yoki 1% li konsentratsiyalangan sulfat kislotasi bor 95% li etanolga solib, rangsizlantiriladi. Preparat suv bilan yuviladi va 3-5 daqiqa davomida ko'k metilenning 1% li eritmasida qayta bo'yaladi, keyin yana suv bilan yuvib, filtr qog'ozda quritiladi. Preparatga immersion moy surtiladi va 90x ob'ektiv orqali ko'riladi.

Yetilgan askosporalar qizil rangga, vegetativ hujayralar ko'k rangga bo'yaladi.

Askosporalarni hosil qiluvchi *Gorodkova muhitining* tarkibi quyidagicha: 1 litr vodoprovod suvida (gramm): pepton-10, natriy xlor-5,0; glyukoza-1,0; agar-50.

Muhitning pH ni 7,3 qilib o'rnatiladi va 0,1 MPa bosim ostida 15 daqiqa sterillanadi.

Nazorat savollari

1. Achitqilarning qanday turlari pivo, vino, non ishlab chiqarishda qo'llaniladi?
2. Achitqilarning qanday turlari pivo ishlab chiqarishda zararkunanda hisoblanadi?
3. Yosh, qari va o'lik achitqi hujayralarning qanday morfologik belgilari bor?
4. Oziq-ovqat mahsulotlarining aynishiga sabab bo'luvchi achitqilarga qaysilar kiradi?
5. Kurtaklanayotgan hujayralar miqdori qanday aniqlanadi?
6. Achitqi hujayralari sitoplazmasida zahiradagi qanday ozuqa moddalari mavjud? Ularni qanday qilib aniqlasa bo'ladi?
7. Glikogen va lipidlar qanday bo'yaladi?
8. Qanday sharoitlarda achitqilar sporalarni hosil qiladilar?

7. BAKTERIYALAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH

Tayanch so'z va iboralar: morfologiya, mikrokokk, diplokokk, tetrokokk, stafilokokk, streptokokk, sarcina, *Bactrium*, *Bacilla*, Gram musbat, Gram manfiy

Ishdan maqsad: bakteriyalar morfologiyasi bilan tanishish.

Bakteriyalar turini aniqlash (identefikatsiya qilish)da ko'p belgilar, shuningdek, morfologik (grekcha *morphus* – shakl) belgilar yig'indisidan foydalaniladi. Ularga hujayralarning shakli va o'lchami, Gram usuli bo'yicha bo'yash, harakatchanlik (xivchinlarning bo'lishi yoki yo'qligi), endospora va kapsulalarni hosil qilish qobiliyati kiradi.

7.1. Bakteriya shakllari

Tashqi ko'rinishiga qarab bakteriyalarning 3ta asosiy shakli ajratiladi: sharsimon (kokklar), tayoqchasimon (silindrik) va buralgan (7.1-rasm). Bakteriyalarning buralgan shakllari ichida yuqumli kasalliklarni qo'zg'atuvchilari uchraydi. Shuning uchun ular tibbiy mikrobiologiyaning o'rganish ob'ektlariga kiradi.

Sharsimon bakteriyalar to'g'ri shar ko'rinishiga ega. Lekin ularning ba'zilari shakliga ko'ra sham, lanset, loviya, kofe urug'ini eslatadi. Hujayralarning joylashishiga ko'ra (bo'linishdan keyin) kokklar quyidagilarga bo'linadi:

Mikrokokklar (grekcha *micros* – kichik) – yakka yoki tartibsiz joylashgan hujayralar.

Diplokokklar (grekcha *diplos* – ikkilangan) – juft-juft bo'lib joylashadi. Chunki hujayralar bo'linganidan keyin tarqalib ketmaydi (laktokokklar).

Streptokokklar (grekcha *streptos* – buralgan, o'rilgan) – dumaloq yoki cho'zilgan shaklda bo'lib, ular hujayralarning bo'linishi natijasida bir tekislikda zanjir hosil qiladi va orasidagi bog'larni saqlaydi.

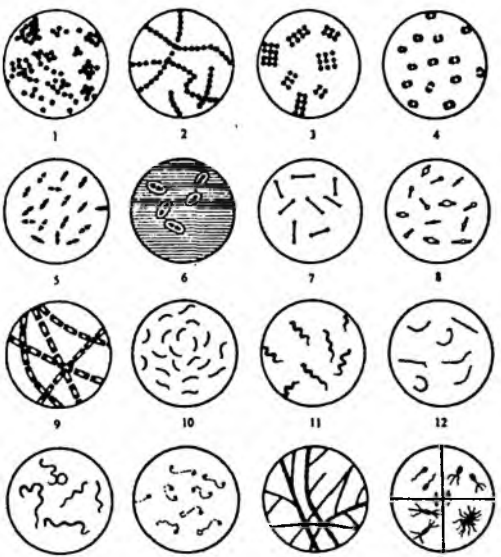
Tetrokokklar (grekcha *tetra* – to'rt) – to'rtta kokkning o'zaro birikishi

Sarsinlar (grekcha *sarcino* – birlashtiraman) – bo'linish natijasida paydo bo'lgan 8 ta yoki undan ortiq hujayralarning 3 ta o'zaro perpendikulyar tekislikda joylashuvchi kokklar to'plami

Stafilokokklar (grekcha *staphyle* – uzum shodasi) – turli tekisliklarda bo'linish natijasida hujayralarning uzum shodasiga o'xshab yig'ilishi.

Gonokokklar (gonoreyaning qo'zg'atuvchilari) kofe urug'i shakliga ega bo'lib, juft va bir-biriga botiq tomonlari bilan qaragan.

Pnevmokokk va meningokokklar – shakliga ko'ra sham shulasini eslatadi va juft-juft bo'lib keng asoslari bilan ichkariga qarab joylashgan.



7.1-rasm. Bakteriyalarning asosiy shakllari (Vorobev va boshq., 1994):

1 – stafilokokklar; 2 – streptokokklar; 3 – sarsina; 4 – gonokokklar; 5 – pnevmokokklar; 6 –pnevmokokklar kapsulasi; 7 – difteriyaning korinebakteriyalari; 8 – klostridiyalar; 9 – batsillalar; 10 – vibrionlar; 11 – spirillalar; 12 – treponemalar; 13 – borreliyalar; 14 – leptospiralar; 15 – aktinomitsetlar; 16 – xivchinlarning joylashishi: a – monotrixlar; b – lofotrixlar; v – amfitrixlar; g – peritrixlar

Tayoqchasimon bakteriyalar turli uzunlik va diametrga, silindrik shaklga ega, hujayra uchlarining shakli va hujayralarning o'zaro joylashishiga ko'ra farqlanadi. Tayoqchalaming uchlari kesilgan (o'lat tayoqchasi), uchli (fuzobakteriyalar), dumaloq (ichak tayoqchasi), uchlari kengaygan (difteriyaning korinbakteriyalari).

Tayoqchalar yakka-yakka, juft, zanjir, panjara, rozetka bo'lib joylashishi mukin. Tayoqchasimon bakteriyalar ichida endosporalar hosil qiluvchi batsilla 8 (lotincha *bacillus* – tayoqcha) va klostridiyalar (grekcha *closter* – charx), spora hosil qilmaydigan (psevdomonadalar, ichak tayoqchalari, salmonellalar, protey tayoqchalari va boshq.) uchraydi.

Korinobakteriyalar turiga tegishli difteriya qo'zg'atuvchilari urug'lar tayoqchalar uchlarida polifosfatlaming mavjudligi bilan xarakterlanadi. Shoxsimon shakllarni hosil qiluvchi tayoqchalar mikobakteriyalar turiga kiradi (tuberkulyoz mikobakteriyalari, aktinomitsetlar, bifidobakteriyalar).

Buralgan bakteriyalar. Buralgan shakllarga quyidagi bakteriyalar kiradi:

Vibrionlar (lotincha *vibrio* – egilgan) – vergul belgisini eslatuvchi biroz egilgan tayoqchalar (vabo embrioni);

Kampilobakterlar – hujayralarda chag'alay qanotiga o'xshash egilgan qismlari bor;

Spirillalar – kam egilgan shakllar, 3-5 ta bukilishga ega;

Spiroxetalar – kuchli egilgan shakllar – ko'p bukilgan joylarga ega ingichka, uzun egilgan hujayralar. Spiroxetalar ichida inson uchun patogen bo'lgan turlar uchraydi. Bular leptospira *(Leptospira)*, treponema *(Treponema)*, borelly *(Borrelia)* turlarining namoyondalari.

7.2. Bakteriyalarni Gram usulida bo'yash

Bu belgi bo'yicha barcha bakteriyalar 2 guruhga ajratiladi:

- Gram usulida bo'yaluvchi – grammusbat.
- Gram usulida bo'yalmaydigan – grammanfiy.

Ushbu usul bakteriyalarning kimyoviy tarkibi va bakteriya hujayra devorlarining turlichaligiga asoslangan.

Bakteriyalarni Gram usulida bo'yash texnikasi

1. Yog'sizlantirilgan buyum oynasining 3 joyiga 3 tomchi suv tomiziladi va turli hil bakteriyalarning 3 ta surtmasi tayyorlanadi: chetlarida nazoratdagi bakteriyalar (Gram usulida bo'yashga bo'lgan reaksiyasini avvaldan bilgan holda), markazda – tekshirilayotgan namuna surtmasi.

2. Surtma quritiladi va spirt lampasi olovida fiksatsiya qilinadi.

3. Surtmalarni bir daqiqa davomida gensianviolet bilan bo'yaladi (buyum oynasiga bo'yoq shimdirilgan filtr qog'oz bo'lagi qo'yilib, suv bilan ho'llanadi)

4. Bo'yoqli qog'ozni olib tashlab, prepartni suv bilan yuvmay unga Lyugol eritmasi surtiladi. Bir daqiqa davomida ushlanadi (surtma butunlay qorayib ketgunicha).

5. Preparatni suv bilan yuvmay 96 % li spirt eritmasi bilan 15-20 soniya davomida ishlov beriladi. Bunda buyum oynasini to'xtamasdan silkitib turish kerak. Rangsizlantirish vaqtini aniq saqlash lozim. Chunki uzoqroq vaqt rangsizlantirishda grammusbat bakteriyalarning rangi ham o'chib ketishi mumkin.

6. Preparat suv bilan yuviladi, unga Pfeyfer fuksini shimdirilgan filtr qog'oz bo'lagi qo'yiladi. Suv bilan xo'llaniladi va bir daqiqa vaqt davomida bo'yaladi.

7. Bo'yoqli qog'oz olib tashlanadi. Preparat suv bilan yuviladi, filtr qog'oz bilan quritiladi.

8. Preparatga kedr moyi surtiladi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi.

Bunday ishlovdan so'ng grammusbat bakteriyalar binafsha rangga, grammanfiylari qizil rangga bo'yaladi.

Grammusbatlar mikrokokklar, steptokokklar, stafilokokklar, batsillalar, klostridiyalar, sut bakteriyalaridir. Grammanfiylariga esa ichak tayoqchalari, salmonellalar, brusellalar, dizenteriya, vabo, sirkai bakteriyalari, psevdomonadalar va boshqalar kiradi.

7.3. Bakteriyalar harakatchanligini aniqlash

Bakteriyalarning ko'pida xivchinlarning bo'lgani sababli ular mustaqil harakat qila olish qobiliyatiga egadirlar. Xivchinlarning joylashishi va ularning miqdori bakteriyalar turini aniqlashda asosiy diagnostik belgilardan hisoblanadi.

Bakteriyalar harakatchanligini aniqlash uchun "osilgan tomchi" va "ezilgan tomchi" preparatlari tayyorlanadi. Bunda bakteriyalarning yosh (1 sutkali) bulon namunalari ishlatiladi. Mikroskop orqali kuzatishda ko'rish maydonida alohida bakteriyalarning turli yo'nalishlarida va turli tezlikdagi aktiv harakatlari ko'rinadi.

7.4. Bakteriyalar sporalarini bo'yash

O'zining tuzilishi tufayli bakteriya sporalari tashqi muhitning nobop ta'sirlariga nisbatan yuqori chidamlilikka ega. Preparatni metilen ko'ki bilan bo'yashda sporalar bo'yalmay, rangsiz, dumaloq, oval va ellipssimon tanachalar bo'lib ko'rinadi va yorug'likni yaxshi sindiradi. Bu sporalar qobig'i yuqori zichlikka ega ekanligi, lipidlarning ko'p bo'lishi va sporaning o'zida erkin suvning yo'qligi bilan tushuntiriladi. Sporalarni bo'yash usullari kuydiruvchi moddalar (ko'pincha spora qobig'ini bo'shashtiruvchi kislotalar)ni ishlatishga va keyinchalik qizdirilishda surtmaning rangi o'zgarishiga asoslangan. Sporaning rang kirgan protoplasti bo'yoqni hujayra sitoplazmasiga nisbatan ko'proq ushlaydi. Shuning uchun u sitoplazmadan farqli o'laroq keyinchalik kislota bilan ishlov berilganida rangini yo'qotmaydi. Rangsizlantirilgan sitoplazma qo'shimcha ravishda kontrast bo'yoq bilan bo'yaladi.

Sil-Nilsen usuli

1. Bakteriyalarning fiksatsiyalangan preparati oddiy usul bilan tayyorlanadi.

2. Preparatga xrom kislotasining 5% li eritmasi surtiladi va 5-10 daqiqa ushlanadi.

3. Kislota suv bilan yuvib tashlanadi, preparatga bir bo'lak filtr qog'ozi qo'yilib, u karbol fuksini bilan yaxshilab ho'llanadi. Preparat spirt lampasi olovida bug' paydo bo'lgunicha qizdiriladi (qaynashgacha olib borilmaydi). Bu jarayon 5-7 daqiqa mobaynida davom ettiriladi. Bo'yoq bug'lanib ketmasligi va qog'oz qurib qolmasligi muhim.

4. Buyum oynasi sovuganidan so'ng qog'oz olinadi, preparat suv bilan yuviladi va sulfat yoki xlorid kislota bilan 15-30 soniya davomida ishlov beriladi. Sporalar hosil qiluvchi *B. subtilis, B. mycoides* yoki *B. Mesentericus* tayoqchalari preparatini tayyorlashda hujayralar sitoplazmasini 16-18 soniya davomida rangsizlantirish tavsiya etiladi.

5. Preparat metilen ko'ki bilan 1-2 daqiqa davomida bo'yalib, keyin bo'yoq yuviladi, preparat filtr qog'oz bilan quritilib, immersion ob'ektiv orqali ko'riladi.

Preparatga bunday ishlov berishda sporalar qizil rangga, vegetativ hujayralar ko'k rangga bo'yaladi.

Peshkov usuli

1. Tayyor fiksatsiyalangan preparatga Leffler metilen ko'ki quyiladi. Bunda oyna olov ustida ushlab turiladi. Bo'yoqning qurib qolishiga yo'l qo'ymasdan 15-20 soniya davomida qizdiriladi

2. Surtma suv bilan yuviladi va neytral qizilning 0,5% li eritmasi bilan 30 soniya davomida bo'yaladi

3. Preparat yuviladi, quritiladi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi.

Bo'yashning bu usulida sporalar havorang yoki ko'k rangga, hujayra sitoplazmasi pushti rangga bo'yaladi.

Bakteriyalarni identifikatsiyasi uchun sporalar hosil qilish turini (batsillyar, klostridial yoki plektridial), endosporaning hujayrada joylashishini (qutbli, markaziy, ekssentral) aniqlash lozim. Bu maqsadda sporalar hosil qiluvchi bakteriyalarning 2 yoki 3 sutkalik namunalari ishlatiladi.

7.5. Bakteriyalardagi kapsulalarni aniqlash

Ba'zi bir mikroorganizmlar, ayniqsa uglevodlarga boy muhitda o'sganida kapsulalar hosil qiladi. Kapsulalarning mavjudligi bakteriyalarni identifikatsiya qilishda diagnostik belgi hisoblanadi. Bo'yashning oddiy usullarida kapsulalar rangsizligicha qoladi. Kapsulalarni aniqlash uchun bo'yashning maxsus usuli qo'llaniladi.

Kapsulalarni Gins-Burri usulida bo'yash. Suyuq qora tush distillangan suv bilan 1:10 nisbatda aralashtiriladi. Bakteriyalar suspenziyasining bir tomchisi buyum oynasida bir tomchi tushli eritma bilan yaxshilab aralashtirilib, oyna yuzasida yupqa qatlam qilib surtiladi. Preparat havoda quritiladi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Preparatning to'q fonida bakterial hujayralar rangsiz kapsulalar bilan o'ralgan.

Nazorat savollari

1. Bakteriya hujayrasining tuzilishiga ko`ra necha xil bo`ladi?
2. Sharsimon bakteriyalarni sanab o`ting.
3. Tayoqchasimon bakteriyalarni sanab o`ting.
4. Bakteriyalarning buralgan formalari.
5. Bakteriya morfologiyasini tekshirish usullaridan qaysilarini bilasiz?
6. Bakteriyalarni Gram usulida bo'yashning mohiyati va texnikasi qanday?
7. Bakteriyalar sporalari qanday bo'yaladi?
8. Bakteriyalar harakatchanligini qaysi usullar bilan aniqlasa bo'ladi?
9. Bakteriyalarda kapsulalarni aniqlash uchun qanday usullardan foydalaniladi?

8. BAKTERIYALARNING KULTURAL VA FIZIOLOGIK – BIOKIMYOVIY BELGILARINI ANIQLASH

Tayanch so'z va iboralar: kultural belgilar, katalaz faollik, sutda o'sish xarakteri, indolning hosil bo'lishi, ammiakning hosil bo'lishi, vodorod sulfidining hosil bo'lishi, proteolitik faollik, uglevodlar va spirtlar, obligat aeroblar, mikroaerofillar, fakultativ anaeroblar va obligan anaeroblar.

Ishdan maqsad: turli ozuqa muhitlarida o'stirilgan bakteriyalarning kultural va fiziologik-biokimyoviy belgilarini ko'rish.

8.1. Bakteriyalarning kultural belgilari

Bakteriyalarning kultural belgilari ularning turli va zich ozuqa muhitlarida o'sish xususiyatlariga qarab aniqlanadi. Mikroblarning har qanday turi zich muhitlarda ma'lum o'lchamdagi va shakldagi koloniyalarni hosil qiladi.

Koloniyalar o'lchami, shakli, profili, chegaralarining konturi, yuzasi, rangi, strukturasi va konsentratsiyasiga qarab xarakterlanadi.

Koloniyalar *o'lchamli* uning diametri bilan aniqlanadi. Diametriga qarab nuqtaviy koloniyalar quyidagilarga ajratiladi: diametri 1 mm dan kichik, 1-2 mm – mayda diametrli, 2 dan 9 mm gacha – o'rtacha diametrli, 10 mm va undan katta– yirik diametrli bo'ladi.

Koloniyalar shakli dumaloq, noto'g'ri, amyobasimon, rozetkasimon, konsentrik va boshqacha bo'lishi mumkin (8.1-rasm).

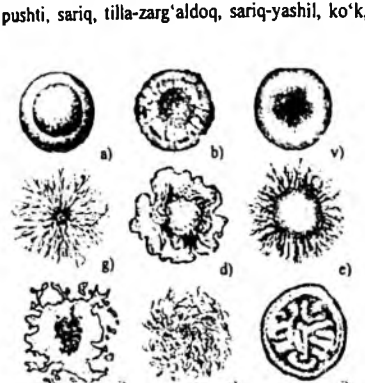
Koloniyaning *profili* uning ozuqa muhiti ustidan ko'tarilganligi va vertikal kesimidagi kontur shakli bilan xarakterlanadi. Vizual o'rganishda koloniyaning profili yuqoridan va yondan aniqlanadi. Tekis, kratersimon, konussimon, tomchisimon koloniyalar farqlanadi (8.2-rasm).

Koloniyaning *chegarasi* uni lupa yoki mikroskopda 8x ob'ektiv orqali ko'rishda aniqlanadi. Koloniyalar chetining quyidagi konturlari farqlanadi: tekis, to'lqinsimon, popukli, tishli, pistonli, yassi, eshkaksimon, kiprikchali, tukchali, shoxli va boshq.

Yuza silliq yoki g'adir-budur, quruq yoki nam, egatga o'xshagan, buklangan, burishgan, barqutga o'xshagan, do'ngalakli, konsentrik aylana bilan yoki radial chiziqlar chizilganday bo'lishi mumkin.

Optik xususiyati: shaffof, yarimshaffof, noshaffof, fluorossensiyalanuvchi.

Koloniya *rangi* mikroorganizmning shu turi tomonidan sintez qiluvchi pigment bilan aniqlanadi. Hosil bo'luvchi pigment turiga qarab mikroorganizmlar koloniyasi qizil, pushti, sariq, tilla-zarg'aldoq, sariq-yashil, ko'k, qora ranglarga kirishi mumkin.

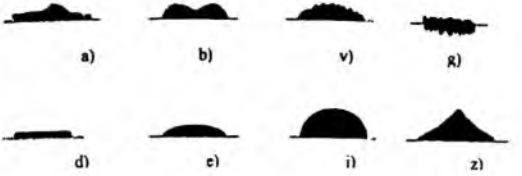


8.1-rasm. Mikroorganizm koloniyalar shakli: *a-dumaloq, b-cheti pistonli dumaloq; v-dumaloq, cheti yostiqchali; g,d-rizond; e-dumaloq, cheti rizond; j-amyobasimon; z-mitselial; i-buklangan; k-noto'g'ri; l-konsentrik; m-murakkab.*

Koloniyalar *strukturasi* bir jinsli, mayda yoki yirik urug'li, unsimon, pardali, agarga o'sib kirib ketuvchi bo'ladi.

Konsistinensiya pastasimon – ilgak bilan oson olinuvchi, qovushqoq yoki shilimshiq – ilgakqa yopishuvchi va cho'ziluvchi; zich; tolasimon; xamirsimon; smetanasimon; quruq, agar yuzidan elastik parda ko'rinishida olinuvchi; nozik – ilgak bilan tekkanda sochilib ketuvchi bo'lishi mumkin. Koloniyalar konsistensiyasini uning yuzasiga ilgak bilan tegib aniqlash mumkin:

Mikroorganizmlarni *shtrix* usuli bilan ekishda o'sish intensivligi (ko'p, o'rta, past), shtrixning o'ziga xosligi (cho'zilgan, shoxli, do'ngalakli) yuzaning optik xossalari, rangi va konsentratsiyasi aniqlanadi.



8.2-rasm. Mikroorganizmlar koloniyasining profili. *a – bukilgan; b – kratersimon; v – do'ngsimon; g –agarga o'sib kirgan; d – yassi; e – qabariq; j – tomchisimon; z – konussimon*

Suyuq muhitlarda bakteriyalar o'sish xarakteristikasini aniqlash uchun namunalar yaxshi o'sishini ta'minlaydigan go'sht-peptonli bulon yoki boshqa muhitlarga ekiladi. O'sishni tavsiflash uchun statsionar sharoitlarda o'stirilgan 4-7 sutkalik namunalar ishlatiladi. Birinchi navbatda o'sish intensivligi ko'riladi (kam, o'rtacha, ko'p). Keyin muhitning xiralashishiga ahamiyat beriladi (bir jinsli, pag'a-pag'asimon, ipaksimon to'lqinli), pardaning mavjudligi (qalin yoki yupqa, quruq yoki shilimshiq, silliq yoki bukilgan, xalqasimon yoki siding'a). Agar namuna pigment hosil qilmasa, muhit rangi o'zgarmay, cho'kma hosil bo'lsa, u ko'pincha kulrang-oq yoki sarg'imtir jigarrang bo'ladi. Ko'pincha mikroorganizmlarning suyuq muhitda o'sishi hid, gaz ajralishi bilan boradi. Gaz hosil bo'lishi pufakchalar va ko'pik paydo bo'lishidan bilinadi.

8.2. Bakteriyalarning fiziologik-biokimyoviy belgilari

Bakteriyalarning fiziologik-biokimyoviy belgilarini o'rganishda ularning kislorodga bo'lgan munosabatini, fermentativ faolligini, metobolizmning ma'lum mahsulotlarga boy turli uglevodlarni parchalash qobiliyatini o'rganiladi.

Havodagi kislorodga bo'lgan munosabat. Kislorodga nisbatan mikroorganizmlar *obligat aeroblar*, *mikroaerofillar*, *fakultativ anaeroblar* va *obligan anaeroblar*ga bo'linadi. Bakteriyalarning kislorodga bo'lgan munosabati

haqida namunani ukol bilan ozuqaviy agar ustuniga ekishdagi o'sishiga qarab xulosa chiqariladi. Aeroblar ukolning yuqori qismida, anaeroblar – quyi qismida, fakultativ anaeroblar esa – butun ukol bo'yicha tekis rivojlanadi.

Namunaning biokimyoviy xossalari ichida ularning fermentativ faolligini aniqlash juda muhimdir.

Uglevodlar va spirtlarning mikroorganizm namunalari tomonidan ishlatilishi 0,1-0,2 sm^3 tekshiriluvchi hujayralar suspenziyasining suyuq yoki yarim suyuq muhitli probirkaga ekish bilan aniqlanadi. Ushbu muhitda uglevod va indikator mavjud bo'ladi. Uglevodlarning parchalanishida gazning hosil bo'lishini aniqlash uchun suyuq muhitga yengil yuzaga suzib chiquvchi narsa (poplavok)lar tushiriladi. Uglevodlar va indikatorli muhitlar yig'indisi Gissning "rangli" qatori deyiladi. "Rangli" nomi hujayralar fermenti ta'sirida ba'zi uglevodlar kislota yoki ishqorning yig'ilishi bilan parchalanishiga bog'liq. Bu jarayon natijasida indikator va muhitning rangi o'zgaradi, boshqa uglevodlar parchalanmaydi va muhitning rangi o'zgarmaydi. Gissning qisqa qatori tarkibida glyukozali, laktozali, saxarozali, maltozali va mannitli muhitlar bor. Uzun qatorga qo'shimcha sifatida arabinoza, ksiloza, ramnoza, galaktozali muhitlar, shuningdek, polisaxaridlar (inulin, kraxmal, dekstrin) va spirtlar (glitserin, dulsit, inozit) qo'shiladi.

Ekilgan probirkalarni termostatga optimal haroratga qo'yiladi. Natija 2-4 sutkadan keyin hisoblanadi (sekin o'suvchi mikroorganizmlar uchun 7-10 sutkadan keyin). Indikator rangining o'zgarishi yoki muhit rangi o'zgarmasligi shuningdek poplavokda gazning paydo bo'lishi yoki yo'qligi aniqlanadi.

Olingan natijalar asosida bakteriyalarning tekshirilayotgan namunasi qanday uglevodlarni assimilyatsiya qilishi haqida xulosa qilish mumkin.

Proteolitik faollik. Proteolitik faollikka ega mikroorganizmlar jelatinni suyultiradi, sutni peptonizatsiya qiladi. Bu belgini aniqlash uchun tekshirilayotgan bakteriyalar namunasini ukol bilan jelatinli probirkaga ekiladi va xona haroratida 4-10 sutka davomida kultivatsiya qilinadi. Bunda suyulish tezligi va uning xarakteri aniqlanadi: qatlamma-qatlam, girdobsimon, pufaksimon va h.k.z (8.3-rasm).



8.3-rasm. Jelatinning tekshirilayotgan bakteriyalar proteazalari bilan suyulishi xarakteri.

Katalaz faollik. Katalaza fermentini ko'p aerob mikroorganizmlar hosil qiladi. Tekshirishlarni amalga oshirish uchun 10% vodorod peroksidi eritmasi tomchisini 24 soniya davomida zich muhitda Petri likopchasida o'sgan mikroorganizmlar koloniyasiga surtiladi. Kislorodning gaz pufakchalari ko'rinishida ajralishi bakteriya hujayralarida katalaza mavjudligidan darak beradi.

Sutda o'sish xarakteri. Yog'sizlantirilgan sut suv bilan 4:1 nisbatda aralashtiriladi, qirmizi bromkrezol indikatori qo'shiladi (1,6 % spirtli eritmaning 2 sm^3 miqdori 1 dm^3 sutga) yoki lakmus (4% li eritmaning 10 sm^3 miqdori 1 dm^3 sutga), 8-10 sm^3 hajmli probirkalarga quyiladi va avtoklavda 0,05 MPa bosim ostida 20 daqiqa davomida sterillanadi.

Sutli probirkalarga tekshiriluvchi bakteriyalar namunasi ekiladi va optimal haroratda 6-14 sutka davomida kultivatsiya qilinadi. Laktoza parchalanishida mikroorganizmlarning kislota hosil qilishi indikator rangining o'zgarishidan bilinadi. Agar kislota ko'p miqdorda hos bo'lsa, quyqa hosil bo'ladi. Faol proteazalarga ega bakteriyalar sutning peptonizatsiyasini keltirib chiqarib, kazeinni parchalaydilar.

Indolning hosil bo'lishi. Ba'zi mikroorganizmlar indol hosil qilib triptofan aminokislotasini parchalash qobiliyatiga ega. Bu hol ham bakteriyalar turini aniqlashda diagnostik belgi bo'lib hisoblanadi. Indolni aniqlash uchun Morel usuli qo'llaniladi. 0,01% li triptofan qo'shilgan 8-10sm^3 hajmdagi steril (yoki usiz) pepton bulyonli probirkaga tekshiriluvchi bakteriyalar namunasi ekiladi. Paxta tiqin tagiga shovul kislotasi shimdirilgan filtr qog'ozi bo'lagi o'rnatiladi. Probirkalar 24 soat davomida optimal haroratda inkubatsiya qilinadi. Indol hosil bo'lganida qog'ozning tag qismi pushti rangga kiradi.

Ammiakning hosil bo'lishi. Mikroorganizmlar fermentlari ta'sirida oqsil moddalarning ammonifikatsiyasi ammiak ajralishi bilan boradi. Bakteriyalarning bu xususiyati tekshiriluvchi namunalarni go'sht-peptonli bulonga ekib, 2-3 sutka davomida 37 °C haroratda termostatda o'stirib aniqlanadi. Ammiakning hosil bo'lishi tiqin va probirkaga bo'yinchasi orasida mahkamlangan maxsus qog'ozining rangi o'zgarishiga qarab aniqlanadi. Bunda lakmus qog'ozi ozuqa muhitiga tegmasligi lozim. Ammiakning ajralishi lakmus qog'ozining rangi qizildan ko'kka o'zgarishidan bilinadi.

Vodorod sulfidining hosil bo'lishi. Mikroorganizmlar tomonidan oltingugurtli aminokislotalarini (sistein, metionin) parchalashida vodorod sulfidi hosil bo'ladi. Vodorod sulfidining hosil bo'lganini aniqlash uchun go'sht-peptonli bulonli probirkaga tekshirilayotgan bakteriya namunalari ekiladi. Tiqin tagiga qo'rg'oshin acetati eritmasi shimdirilgan filtr qog'oz bo'lagi biriktiriladi. Ekilgan probirkalar termostatga optimal haroratda 7-10 sutkaga qo'yiladi. Vodorod sulfidining ajralishi qo'rg'oshin sulfidi ajralishi natijasida qog'ozning qorayib qolishidan bilinadi.

Ajratilgan namunaning morfologik, kultural va fiziologik-biokimyoviy belgilari asosida bakteriyalarning Berdji aniqlagichidan foydalanib ularning qaysi turga mansubligi bilinadi.

Bakteriyalarni identifikatsiya qilish bo'yicha tadqiqotlar protokol shaklida rasmiylashtiriladi (8.1-jadval).

Kerakli hollarda boshqa belgilar masalan, nitratlarni qayta tiklash xususiyati, oksidazaning hosil bo'lishi kabilar o'rganiladi.

8.1-jadval

Namunaning morfologik, kultural va fiziologik-kimyoviy belgilariga qarab xarakteristikasi.

Test yoki belgi	Natija
Morfologik belgilar	
Hujayralarning shakli va joylashishi	
Gram usulida bo'yash	
Endosporalarning hosil bo'lishi	
Kapsulalarning hosil bo'lishi	
Harakatchanlik	
Kultural belgilar:	
Koloniyalar morfologiyasi	
Go'sht- pepton bulonda o'sish xarakteristikalari	
Sutda o'sish xarakteristikalari	
Fiziologik-biokimyoviy belgilar:	
Havo kislorodiga bo'lgan munosabat	
Katalazaning mavjudligi	
Proteolotik aktivlik	
Vodorod sulfidining hosil bo'lishi	
Ammiakning hosil bo'lishi	
Indolning hosil bo'lishi	
Glyukoza	
Laktoza	
Saxaroza	
Maltoza	
Mannit mavjud bo'lgan Gis muhitida o'stirish	

Nazorat savollari

1. Bakteriyalar turini aniqlashda qanday belgilar ishlatiladi?

2. Zich ozuqa muhitidagi bakteriya koloniyalari qanday belgilariga qarab xarakterlanadi?

3. Suyuq muhitdagi bakteriya qanday xarakterlanadi?

4. Bakteriyalarning proteolitik faolligi qanday aniqlanadi?

5. Bakteriyalarning uglevodlarni bijg'itish xususiyati qanday aniqlanadi?

6. Bakteriyalar sutda rivojlanishida qanday o'zgarishlar kuzatilishi mumkin va ular qanday tushuntiriladi?

7. Qanday belgilar bakteriyalarning ammiak, vodorod sulfidi, indol hosil qilganidan darak beradi?

9. SUT KISLOTALI BAKTERIYALARNING TOZA NAMUNASINI AJRATISH

Tayanch so'z va iboralar: yig'uvchi namuna, toza namunani, sut kislotali bakteriyalari (SKB), laktokokklar va enterokokklar.

Ishdan maqsad: tabiiy substratlardan (karam va bodring tuzlamasining suvi, o'simliklar, mevalar, bozor sut mahsulotlari) mezofil laktokokklar va laktobatsillalarning toza namunalarini ajratish va ularning xususiyatlarini aniqlash.

Tekshirilayotgan materialdan mikroorganizmlarning toza namunasini ajratish 3 bosqichni o'z ichiga oladi:

1. Yig'uvchi namunani olish.
2. Toza namunani ajratish
3. Ajratilgan namunaning tozaligini aniqlash

9.1. Yig'uvchi namunani olish

Yig'uvchi namuna deb, o'zida bir guruh yoki bir turdagi mikroorganizmlarni mujassamlashtirgan namunaga aytiladi. Yig'uvchi namunani olish uchun asosan ajratilayotgan mikroorganizmlar guruhi rivojlanishini ta'minlaydigan *elektiv* sharoitlar yaratib berish kerak.

Sut kislotali bakteriyalari (SKB) ozuqa manbalariga juda talabchandir, va ularning hamma namoyondalari ham sut kabi to'yimli muhitlarda o'savermaydi. SKB boshqa bakteriyalardan farqli ravishda spirtga chidamli bo'lgani sababli ular uchun elektiv muhit bo'lib 10-15% etil spirti mavjud bo'lgan xmellanmagan suslo xizmat qilishi mumkin.

Mezofil SKB larning yig'uvchi namunasini olish maqsadida ajrati olingan yog'sizlantirilgan steril sut probirkaga solib, 24 soat davomida 30±1°C haroratda inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiyadan so'ng ivigan sutdan fiksatsiyalangan, bo'yalgan preparat tayyorlanadi, tekshiriladi va mikroskopik manzarada SKBlar uchun hos hujayralar mavjud bo'lsa, toza namuna olish uchun ishlatiladi. Ko'pincha sut bakteriyalarining yig'uvchi namunasini olish uchun steril yog'sizlantirilgan probirkaga 2-3 marotaba passaj qilinadi (ekiladi).

9.2. Toza namunani ajratish

SKBlarning toza namunasini ajratish uchun Kox usuli bilan yig'uvchi namunadan ekiladi. Usulning mohiyati toza namunani bir hujayraning avlodi hisoblangan izolyatsiyalangan koloniyani olishdir.

SKBlarning izolyatsiyalangan koloniyasini olish maqsadida steril fiziologik eritmada yig'uvchi namunaning 10 karra suyultirilgan eritmasi tayyorlanadi. Shundan so'ng steril pipetka bilan bu namunaning mos aralashmasi (10^{-3} yoki 10^{-4}) bir tomchisini Petri likopchasidagi zich ozuqa muhiti yuzasiga surtiladi (gidrolizlangan sut 1,5% agar yoki suslo-agar bilan). Material ehtiyotkorlik bilan oyna shpatel vositasida muhitning butun yuzasi bo'ylab surtib tashlanadi. Aralashma shunday hisob bilan qilinadiki, bir likopchada 20-30 koloniyadan ko'p koloniya o'sib chiqmasin. Keyin xuddi shu shpatel bilan 2-likopchada zich muhitning yuzasi artiladi. Ekilgan likopchalar termostatda 30±1°C haroratda 2-3 sutka davomida ushlanadi. Shundan keyin o'sib chiqqan koloniyalar ko'riladi va tahlil qilinadi.

Koloniyalarning tashqi ko'rinishi va tuzilishi mikroorganizmlar turini aniqlashda muhim kultural belgi hisoblanadi. Chunki har bir turga o'zining tipik shakli hosdir. Koloniyalar oddiy ko'z bilan o'tayotgan va qaytgan yorug'likda va mikroskopning kam kattalashtirishi (8x) yordamida ko'riladi.

O'tuvchi yorug'likda koloniyalar likopcha tubi tarafidan ko'riladi. Koloniyalarning kattaligi (nuqtaviy-1mm.dan kichik, mayda-1-2mm., o'rta-2-4mm., yirik-4-5mm. va undan katta), ularning shakli (to'g'ri, dumaloq, noto'g'ri, yassi, sferik) va shaffofligi aniqlanadi. Qaytgan yorug'likda koloniyalarni qopqoq tomonidan ko'rib, rangi, yuzasining xarakteri (silliq, do'ngalakli, yaltiroq, sidirg'a), koloniyalar profili ya'ni yong tomondan ko'rinishi (qabariq, yassi, ezilgan) aniqlanadi.

Koloniyalarning turini aniqlash juda muhim. Bakterial namuna koloniyalarining ikkita asosiy turi mavjud:

a) Silliq koloniyalar-dumaloq va qabariq shakl, silliq yuza, nam konsistensiya bilan xarakterlanuvchi *S*-tur(inglizcha *smooth*-silliq)

b) G'adir-budir koloniyalar – g'adir budur yuza, noto'g'ri chegaralar, quruq konsistensiya bilan xarakterlanuvchi *R*-tur (inglizcha *rough* – g'adir-budur). Bu tur silliq *S* – shakllardan mutatsiya natijasida paydo bo'ladi.

Yuqoridagi ikki asosiy koloniyalar turidan tashqari shilimshiq *M*-tur ham mavjud bo'lib (lotincha *mucus* – shilimshiq), u cho'ziluvchan, shilimshiq konsistensiya bilan xarakterlanadi; bakterial namunalarning dissotsiatsiyasi jarayonida hosil bo'ladi.

Bitta izolyatsiyalangan koloniya bo'yicha toza namuna bilan kengayishlarini olib borish uchun SKBni sterillangan, yog'sizlantirilgan sutli probirkalarga ekiladi. Ekilgan namunalar optimal haroratda 18-24 soat termostatda ushlanadi (48 soatdan ko'p emas).

Izoh. Ba'zida izolyatsiyalangan koloniyalarni olish uchun zich muhitga bir marta ekishning o'zi yetarli bo'ladi. Lekin ko'pincha zich muhitga ekish 2-3 marotaba amalga oshiriladi. Bunda ekish materiali sifatida likopchada o'stirilgan alohida koloniyalar ishlatiladi.

9.3. Ajratilgan namunaning tozaligini aniqlash

Ajratilgan namunaning tozaligi bir necha usulda aniqlnadi: vizual, mikroskopik va ozuqa muhitlariga ekish bilan.

Vizual usulda zich muhitda koloniyalar o'sishi bir tipdagi xarakterga egaligi ko'riladi.

Namuna tozaligini mikroskopik tekshirish uchun fiksatsiyalangan, bo'yalgan preparatlar tayyorlanadi va ular immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Mikroskopik preparatda morfologik va tinktorial jihatdan bir xil hujayralar topilishi kerak.

Ajratilgan SKB namunasi tozaligi shuningdek suslo, gidrolizlangan sut, oxak yoki kalsiy sitrati qo'shilgan agarli ozuqa muhitlariga ekib tekshiriladi.

9.4. Sut kislotali bakteriyalar ajratilgan namunasini identifikatsiya qilish

SKBlar ajratilgan namunalarining identifikatsiyasi ularning morfologiyasi, har bir turga xos bo'lgan kultural, biokimyoviy va boshqa belgilarni o'rganish bilan amalga oshiriladi.

Bozor sut mahsulotlari – tvorog va smetanadan odatda mezofil laktokokklar ajratib olinadi.

Karam va bodring tuzlamasi suvida laktobatsillalarning dominant turlari quyidagilar: *L. plantarum, L. brevis, L. fermentum, L. Buchneri.*

Morfologik belgilar: SKBlar hujayralari sharsimon yoki tayoqchasimon bo'ladi. Sharsimon hujayralar yakka-yakka, juft (diplokokklar), uzun yoki qisqa zanjir ko'rinishida joylashishi mumkin. Tayoqchalarning uzunligi va qalinligi turlicha bo'ladi. SKBlar grammusbat, asosan harakatchan, spora va kapsulalar hosil qilmaydi.

Kultural va fiziologik-biokimyoviy belgilar. Zich ozuqa muhiti yuzasida *Lactococcus lactis* mayda (diametri 1-2 mkm), tomchisimon, yaltiroq, rangsiz, chegaralari tekis koloniyalar hosil qiladi. Chuqur koloniyalar qayiq yoki yasmiq (chechevitsa) ko'rinishiga ega. *Lactococcus cremoris* urug'simon dumaloq koloniyalar hosil qiladilar. Gidrolizlangan sutli va limon kislotali kalsiyli agarda *Lactococcus diacetylactis* koloniyalar atrofida yoritilgan zonalar hosil qiladi. Bu hol aromatik modda hosil qiluvchi laktokokklar uchun xarakterli bo'lgan setiritaza fermenti mavjudligidan darak beradi.

Laktokokklarni enterokokklardan (ichak kelib chiqishiga ega sut kokklari) ajratish maqsadida qator qo'shimcha testlar o'tkaziladi. Enterokokklardan farqli ravishda laktokokklar va leykonostoklar tarkibida 6,5% li NaCl mavjud bo'lgan gidrolizlangan sutta 45 °C da muhitning pH miqdori 9,5 bo'lganida o'smaydi (9.1-jadval).

9.1-jadval.

Laktokokklar va enterokokklarning farqlovchi belgilari.

Belgilar	*Enterococcus faecalis*	*Lactococcus lactis*	*Lactococcus cremoris*
45 °C haroratda o'sishi	+	-	-
30 daqiqa ushlanganida 65 °C haroratdagi termorezistentlik qobiliyati	+	-	-
Sutning 3%li namuna kiritilgandagi ivish vaqti, soat.	20-27	5-7	6-8
6,5% li NaCl da o'sishi	+	-	-
pH 9,6 bo'lgan muhitda o'sishi	+	-	-
Maltozaning bijg'ishi	+	+	-
Mannitolning bijg'ishi	+	-	±

Mezofil laktokokklar va laktobatsillalar ko'payishi uchun optimal harorat 28 dan 32 °C gacha. Laktokokklarning faol shtammlari sutni optimal haroratda 5-7 soatda tekis, zich quyqa hosil qilib ivitadi.

Sutdagi kislotali muhitning chegaraviy miqdorini aniqlash sutning 0.1 n. NaOH bilan titrlash yo'li bilan amalga oshiriladi. Bu uning tekshirilayotgan namuna bilan 7 sutka davomida optimal haroratda fermentatsiyalanganidan keyin bajariladi. Laktokokklarda kislotali muhitning chegaraviy miqdori 115-120 °T dan oshmaydi, mezofil laktobatsilllarda u 160-180 °T ni tashkil etsa, termofil laktobatsillalarda 250-300 °T ga yetishi mumkin.

Sut kislotali bakteriyalari fakultativ anaeroblardir. Ularda katalaza fermenti bo'lmaydi, lekin havo kislorodi mavjud bo'lganida o'sishi mumkin.

Ba'zi turdagi laktokokklaming kultural va biokimyoviy belgilari 9.2-jadvalda keltirilgan.

9.2-jadval

Laktokokklar va leykonostoklarning asosiy kultural va biokimyoviy belgilari

Belgilar	Lac. lactis	Lac. cremoris	Lac. Diacety lactis	Leu. cremoris
4%li NaCIli muhitda o'sish	+	-	+	-
NH_3 ning arginindan hosil bo'lishi	+	-	+	-
CO_2 ning glyukozadan hosil bo'lishi	-	-	-	+
Diasetilning hosil bo'lishi	-	-	+	+
Sutning ivish vaqti, soat	5-7	6-8	16 dan ko'p	24 dan ko'p
Lakmusli sutda o'sishi	TI*	TI*	TI*	o'zgarishsiz
Sutdagi kislotali muhitning chegaraviy miqdori, °T	115-120	110-115	80-100	50-80

*TI – tiklaydi, ivitadi

Ajratilgan laktobakteriyalarning gomo-yoki getero-fermentativ guruhga tegishliligini bilish uchun ular glyukoza va laktozali muhitga ekiladi va termostatda turganidan so'ng poplavokdagi gazning bor yoki yo'qligi aniqlanadi.

L. plantarum turidagi laktobatsillalar streptobakteriyalarning kichik turiga kiradi. Ular sutni 2-3 sutkada ivitadi, kislotali muhit hosil bo'lishining chegaraviy miqdori 160-180 °C ni tashkil etadi. Bu turdagi laktobatsillalar 6% li NaCl va 20% o't pufagi suyuqligi bo'lgan gidrolizlangan sutda o'sadi, lakmusli sutni qayta tiklaydi va ivitadi, arginindan ammiak hosil qilmaydi. Glyukozani asosan sut kislotasi hosil qilib geksodifosfat yo'l bilan parchalaydi.

Laktobatsillalarning ba'zi turlarida uchraydigan kultural va biokimyoviy belgilar 9.3 jadvalda keltirilgan.

L. brevis, L. fermentum, L. Buchneri lar geterofermentativ sut bijg'ishini keltirib chiqaradigan betabakteriyalar turiga mansub. Bijg'ish jarayonida sut va sirka kislotasi, etanol va uglerod dioksidi ajraladi.

9.3 jadval

Laktobatsillalarning asosiy kultural va biokimyoviy belgilari.

Belgilar	L.plantarum	L.brevis	L.fermentum	L.buchneri
6%li NaCl li muhitda o'sish	+	-	-	-
NH_3 ning arginindan hosil bo'lishi	-	+	+	+
CO_2 ning glyukozadan hosil bo'lishi.	-	+	+	+
Sutning ivish vaqti	2-3 sutka	Ivimaydi	Ivimaydi	Ivimaydi
Lakmusli sutda o'sishi	TI	P*	P	P
Sutdagi kislotali muhitning chegaraviy miqdori, ^0T	160-180			

*TI – tiklaydi, ivitadi; *P – pushti rangga kirishi (qisman tiklanish)

Betabakteriyalar sutni ivitmaydi, lekin unga achitqi avtolizati qo'shilganda ular tezroq rivojlanadi va kislotali muhitning chegaraviy miqdori 150 dan 160 ^0T gacha tashkil etishi mumkin. Betabakteriyalarning ko'p turlari arginindan ammiak hosil qiladilar, lakmusli sutni ivitmaydilar va uni faqatgina qisman tiklaydilar (pushti rangga kirish).

Nazorat savollari

1. Yig'uvchi namuna nima va u qanday olinadi?
2. Toza namunani ajratish
3. Ajratilgan namunaning tozaligini aniqlash
4. Sut kislotali bakteriyalar ajratilgan namunasini identifikatsiya qilish
5. Laktokokklar va enterokokklarning farqlovchi belgilari
6. Laktokokklar va leykonostoklarning asosiy kultural va biokimyoviy belgilari
7. Laktobatsillalarning asosiy kultural va biokimyoviy belgilari

10. MIKROORGANIZMLARNI MIQDORIY HISOBLASH USULLARI

Tayanch so'z va iboralar: Goryaev kamerasi, Fluoressent mikroskopiya oquvchan sitometriya, mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar.

Mahsulot birlik hajmi yoki massasidagi mikroorganizm hujayralari sonini ularni bevosita mikroskop ostida ko'rib hisoblash, yoki mahsulot namunalarini ekishda ozuqa muhitlarida o'sib chiqqan koloniyalarni sanash, yoki boshqa usullar bilan amalga oshirish mumkin.

Bundan tashqari mikrobiologik amaliyotda ko'pincha biomassa aniqlanadi. ***Biomassa*** – ozuqa muhitining ma'lum hajmida o'sib chiqqan, grammlarda ifodalangan hujayralar quruq moddasining massasidar. Hujayralarni bevosita hisoblash kameralarida, fiksatsiyalangan, bo'yalgan surtmalarda va membranali filtrlarda bajariladi. Mikrorganizmlarni mikroskop ostida bevosita hisoblashda ham tirik, ham o'lik hujayralar hisobga olinadi. Bu substratdagi tirik hujayralar soni haqida noto'g'ri ma'lumot olishga sabab bo'lishi mumkin.

10.1. Mikroorganizm hujayralarin Goryaev kamerasida hisoblash

Ishdan maqsad: Achitqi suspenziyasi hujayralarini Goryaev kamerasida hisoblash.

Goryaev, Tom-Seys va boshqa kameralarda mikroorganizmlarning faqat katta hujayralarini hisoblash mumkin. Bu mikroorganizmlar – achitqilar, bir hujayrali suv o'tlari, zamburug' klonidiyalari va ba'zi yirik bakteriyalar.

Goryaev hisoblash kamerasi 4 ta kesim bilan 3 ta ko'ndalang maydonchaga bo'lingan qalin buyum oynasidan iborat. Markaziy maydoncha kesim bilan 2 ga bo'linadi. Har bir qismida to'rsimon yacheykalari o'yib chiqilgan. To'r kvadrati maydoni va kamera chuqurligi buyum oynasida ko'rsatilgan va mos ravishda 1/25 mm^2 ga (katta kvadrat) va 1/400 mm^2 (kichik kvadrat) ga teng. Kamera chuqurligi 0,1 yoki 0,2 mm ni tashkil etadi.

Achitqi suspenziyasini hujayralarini sanashdan avval kerakli konsentratsiyada suv bilan aralashtiriladi. Goryaev kamerasi to'rning yuzasiga

tekshirilayotgan mikroorganizmlar suspeziyasidan kichikroq tomchi surtiladi, maxsus shlifovkalangan qoplovchi oyna bilan yopiladi va u chetki maydonchalarida Nyuton xalqalari paydo bo'lgunicha bosib turiladi. Hujayralarni sanashni kamera to'lganidan 3-5 daqiqa keyin boshlash tavsiya qilinadi. Hujayralar bitta tekislikda joylashib qolmasligi kerak. Hujayralar 8x yoki 40x ob'ektiv orqali sanaladi. Aniq natijalar olish uchun hisoblash to'rning 10 ta katta va 20 ta kichik kvadratlarida amalga oshiriladi. Bunda kvadratlarni diogonal bo'yicha surish lozim. Katta kvadratda hujayralar soni 20 tadan, kichigida 10 tadan ortmasligi lozim. Aks holda suspenziyani vodoprovod suvi bilan aralashtirish kerak.

1 sm^3 suspenziyadagi hujayralar soni quyidagi formula orqali hisoblanadi:

$$C = a \cdot 1000\, n/h\, S,$$

C – $1sm^3$ suspenziyadagi hujayralar soni; a – to'r kvadratidagi hujayralarning o'rtacha soni; 1000 mm^2=1 sm^3; n – boshlang'ich suspenziyaning aralashmasi; h – kameraning chuqurligi, mm; S – to'r kvadratining yuzasi, mm^3;

10.2 Mikroskop ostida hujayralarni bevosita sanash (Vinogradskiy - Brid usuli)

Ishdan maqsad: sut mahsulotidagi laktobatsillalar hujayralarini sanash.

Hujayralarni hisob kamerasida sanashdan ko'ra afzalroq bo'lgan bu usulda kichik o'lchamdagi mikroorganizmlar hujayralarini tekshirish imkoniyati bor. Chunki bu hisoblash immersion ob'ektivni qo'llagan holda bajariladi.

Preparat quyidagicha tayyorlanadi. Yaxshilab yog'sizlantirilgan buyum oynasi 4sm^2 yuzali kvadrat belgilangan millimetr qog'oziga qo'yiladi va unga steklograf yoki tush bilan chiziladi. Mikroorganizmlar suspenziyasi tayyorlanadi. Buning uchun 1 sm^3 sut mahsulotini 9 sm^3 fiziologik eritmali probirkaga solinadi (n=10). Keyin buyum oynasiga mikropipetka bilan tekshirilayotgan mikroorganizmlar suspenziyasining aniq miqdori surtiladi (ko'pincha 0,01 yoki 0,02 sm^3). Suspenziya bakteriologik ilgak bilan oynada belgilangan kvadrat yuzasi bo'ylab yaxshilab taqsimlanadi. Preparat havoda quritiladi, spirt lampasi olovida fiksatsiya qilinadi, 2 daqiqa davomida ko'k metilen bilan bo'yaladi, suv bilan

yuviladi va filtr qog'oz bilan quritiladi. Preparatga kedr moyining 1 tomchisi surtiladi va immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Natija aniq bo'lishi uchun hujayralar sonini sanash kamida 20 ta ko'rish maydonida amalga oshirilishi kerak. Sanalgan hujayralarning umumiy miqdori 600 dan kam bo'lmasligi kerak. Surtmada mikroorganizmlar notekis taqsimlnadi: markazida ular chetlariga nisbatan ko'proq bo'ladi. Shuning uchun o'rtacha qiymatni olishda hisobni ko'rish maydonini diametrining bir boshidan boshqa boshiga surib, surtmaning butun diametri bo'ylab amalga oshiriladi.

1 sm^3 suspenziyadagi hujayralar soni quyidagi formula orqali hisoblanadi:

$$C = a\,S\,n/s\,V,$$

Bu yerda, C – 1 sm^3 suspenziyadagi hujayralar soni; a – bitta ko'rish maydonida hujayralarning o'rtacha soni; S – tayyorlangan surtmaning yuzasi (400 mm^2); n – boshlang'ich suspenziyaning aralashmasi; s – ko'rish maydonining yuzasi (0,02 mm^2) va V – buyum oynasiga surtilgan mikroorganizmlar suspenziyasining hajmi (0,01 yoki 0,02 sm^3)

10.3. Mikroorganizmlar miqdorini fluoressent usul bilan bevosita hisoblash

Fluoressent mikroskopiya ba'zi biologik ob'ektlarning lyuminessensiyasi, ya'ni ultrabinafsha yoki ko'k yorug'likda yoritilganda o'zidan yorug'lik tarqatish hossasiga asoslangan. Bunga sabab lyuminessensiya yorug'ligining yutilgan yorug'likka nisbatan kattaroq to'lqin uzunligiga ega ekanligidir (Stoks qoidasi). Bunda ob'ektlar sariq-yashil yoki zarg'aldoq rangdagi nur tarqatadilar. Bu hususiy yoki birlamchi lyuminessensiyadir. Ko'p mikroorganizmlar hususiy lyuminessensiyaga ega bo'lmaganligi uchun ularni lyuminessent mikroskopda ko'rish maqsadida qayta ishlashning bir necha usullari mavjud. Eng birinchi usul – bu ularni maxsus bo'yoqlar – fluoressensiyalanuvchi bo'yoqlar eritmalari bilan eritilgan fluoroxrom bilan bo'yash. Sintetik fluoroxromlardan eng yaxshi natijani sariq yoki zarg'aldoq akridin, korifosfin, primulin, rodaminlar beradi.

Lyuminessensiyaning bunday turi birlamchidan farqli ravishda keltirilgan (ikkilamchi) lyuminessensiya deb ataladi.

Lyuminessent mikroskopiya oddiy mikroskopiyaga nisbatan quyidagilarga imkon beradi:

- rangli tasvir va ob'ektlar kontrastligini uyg'unlashtirish;
- ham shaffof, ham noshaffof tirik ob'ektlarni o'rganish;
- mikoroorganizmlarni ham tirik, ham o'lik hujayralari morfologiyasini o'rgani;
- turli fluoroxromlarni tanlab, yutuvchi hujayraviy mikrostrukturalarni o'rganish hamda hujayralarning fuksional – morfologik o'zgarishlarini aniqlash;
- turli hayotiy jarayonlarni ularning rivojlanish dinamikasida o'rganish.

Mikrob hujayralari zarg'aldoq akredinga bo'yaladi va ular sentrifugalash yoki filtrlash usuli bilan filtratlarda to'planadi. 450 nm. to'lqin uzunligidagi o'tuvchi yorug'likda tirik bakteriyalar yashil nur sochadi, o'liklari esa – zarg'aldoq-qizil. Mikroskop ostida ko'rish jarayoni bakterial hujayralarining sonini hisoblash bir vaqtning o'zida alohida morfologik belgilar bo'yicha olib boriladi. Bu mikroorganizmlarning tarkibi hamda tekshirilayotgan ob'ektdagi mikroorganizmlar sonini (kl/sm^3) aniqlash imkonini beradi.

Lyuminessent mikroskopiya tibbiy mikrobiologiyada tuberkulyoz, difteriya, gonoreya, tif qo'zg'atuvchilrarini aniqlashda keng qo'llaniladi.

Mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar sonini aniqlashning lyuminessent usuli.

Hozirgi davrda tadqiqotlar uchun lyuminessent mikroskoplarining quyidagi Rossiyada ishlab chiqarilgan turlari qo'llaniladi: ЛЮМАМ 3–8, МЛД–2, ЕС БИМАМ Р–11, ЕС БИМАМ Р–13.

Lyuminessent mikroskopiyaning kamchiligi mayda (1 mkm dan kichik) bakterial hujayralarni sanashdagi kichik ajratish qobiliyatidir. Ularning ko'p qismini ko'rish imkoniyati yo'q, kichik hujayralarni sanashda ko'z zo'riqadi,

shuningdek mikroskopda ko'rish sharoitining qorong'uligi ko'rishga halaqit beradi.

10.4. Oquvchan sitometriya usuli

Oquvchan sitometriya (OS) hujayra parametrlari uning organellalari va unda kechayotgan jarayonlarni optik jihatdan tez o'rganishning zamonaviy texnologiyasidir. OS usulining mohiyati har bir alohida hujayrananing fluoressensiyasi va yorug'lik sochishiga asoslangan. Fluoressent bo'yoq bilan avvaldan belgilangan hujayra suspenziyasi bosim ostida orasidan suv oquvchi yacheykadan o'tkaziladi. U yerda hujayralar gidrodinamik fokuslanish hisobiga laminar oqimda bir-birining ketidan zanjir bo'lib joylashadilar. Hujayra lazer nuri bilan kesishgan vaqtda yuqori sezgirlikka ega detektorlar uning fluoressensiyasi intensivligi va sochilgan lazer nurlanishini qayd qiladilar. Tekshiruv vaqtida hujayra tarkibiga kiruvchi kimyoviy birikmalarning fluoressensiya darajasi hisobga olinadi (autofluoressensiya). Olingan signal kompyuterga uzatiladi, qayta ishlanadi va olingan natijalar turli grafik yoki gistogrammalar ko'rinishida aks etadi. OSni o'tkazish uchun mo'ljallangan apparat hujayraning o'lchami, fermentlarning faolligi, oqsillarning miqdori, DNK, lipidlar, antigen moddalar kabi 5-10 ta turli parametrlarni aniqlash imkonini beradi.

OS usulini turli maqsadlarda qo'llash mumkin: hujayralarni oddiy hisoblash va ularning hayotga chidamliligidan boshlab immunologiya, onkologiya, sitologiya, gematologiya, farmakologiyadagi murakkabroq tadqiqotlargacha.

10.5. Mikroorganizmlar miqdorini membranali filtrlash usulida aniqlash

Usulning mohiyati quyidagidan iborat: tekshiriluvchi namunaning (ichimlik suvi, alkogolsiz ichimliklar, pasterizatsiyalangan pivo) ma'lum hajmi teshiklari 0,15 mkm dan 0,25 mkm gacha bo'lgan membranali filtrlardan o'tkaziladi (10.3 bo'limga qarang). Filtrda qolib ketgan mikroorganizmlar bo'yaladi va mikroskop ostida okulyar to'rsimon mikrometrni qo'llagan holda bir necha ko'rish

maydonlarida preparatning ma'lum yuzasida sanaladi. Mikroskopda ko'rish jarayonida bakterial hujayralarning sonini hisoblash bir vaqtning o'zida alohida morfologik guruhlar bo'yicha olib boriladi. Bu mikroblar to'planmasining tarkibi, shuningdek (barcha natijalarni ko'rib chiqqandan keyin), tekshiriluvchi ob'ektdagi mikroorganizmlarning umumiy miqdorini xarakterlash imkonini beradi.

10.6. Mikroorganizmlar miqdorini koloniyalarini hisoblash usulida aniqlash (likopchali usul)

Ishdan maqsad: oziq-ovqat mahsulotida mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar miqdorini aniqlash.

Likopchali usul mikroorganizmlar tirik hujayralarining turli tabiiy substratlarida va laboratoriya namunalaridagi sonini aniqlashda keng qo'llaniladi. Ushbu usul Kox prinsipiga asoslanib, unga ko'ra har bir koloniya bitta hujayraning avlodi bo'ladi. Lekin shuni hisobga olish kerakki, zanjir yoki hujayralarning boshqa to'planmasini hosil qiluvchi mikroorganizmlar uchun natijalar doim bir oz kamaytirilgan bo'ladi. Shuning uchun likopchali usulni qo'llashda natija hujayralarning massa yoki hajm birligida emas, balki *koloniya hosil qiluvchi birliklar* (KHQB) miqdorida o'lchanadi. Hujayralarni mikroskop ostida bevosita sanash usulidan farqli ravishda ushbu usul faqat tirik hujayralar sonini aniqlash imkonini beradi.

Bakteriyalarni hisoblash uchun oziqa muhiti sifatida go'sht-peptonli agar ishlatiladi. Unda faqat saprofit aerob va fakultativ anaerob bakteriyalar o'sishi mumkin. Lekin qat'iy anaeroblar o'sa olmaydi. Achitqi va mitselial zamburug'lar ko'pincha suslo agarda o'stiriladi.

10.7. Tirik mikroorganizmlarni chegaraviy aralashmalar usulida hisoblash

Chegaraviy aralashmalar usuli alohida fiziologik guruhlar (sut kislotali, sirka kislotali bakteriyalar, ichak tayoqchalari va boshq.) mikroorganizmlarining miqdorini aniqlash uchun qo'llaniladi. Ushbu usulning mohiyati: tekshiriluvchi

material bir necha bor aralashtiriladi. Eritmalar bakteriyalarning tekshiriluvchi ob'ektdagi taxminiy miqdoriga qarab shunday tayyorlanadi-ki, oxirgi aralashmada ushbu bakteriyalar namoyondalari bo'lmasin. Tayyorlangan aralashmadan olingan material ozuqa muhitli ma'lum sondagi probirkalarga ekiladi. Optimal haroratdagi inkubatsiyadan so'ng tekshiriluvchi materialning qancha miqdorida ushbu guruh mikroorganizm namoyondalari borligi vizual ravishda aniqlanadi.

Masalan, sut mahsulotida sut kislotali bakteriyalar miqdorini aniqlash uchun uning 10^{-4} dan 10^{-10} gacha miqdordagi qator aralashmalari tayyorlanadi. Har bir aralashmadan 3 ta steril yog'sizlantirilgan probirkaga 1 sm^3 dan ekiladi. Probirkalar termostatda optimal haroratda 18-24 soat mobaynida ushlanadi. Shundan so'ng qaysi probirkada sut kislotasining bakteriyalari to'planishi hisobiga quyqa hosil bo'lganligi aniqlanadi. Parallel ekilgan probirkalarda hujayralarning tekshiriluvchi namunadagi notekis taqsimlanishi natijasida bir xil natija chiqmasligi mumkin. Keyinchalik titr maxsus hisob jadvallari yordamida aniqlanadi.

Agar tirik mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun bulonli ozuqa muhiti ishlatilsa, mikroorganizmlar ko'paygan probirkalar inkubatsiyadan so'ng xira bo'lib, eritma ekilgan probirkalarda esa tirik mikroorganizmlar qolmay shaffof bo'lib qoladi.

Tekshirilayotgan aralashma namunasini ekishda xira bo'lib qolgan probirkalar ulushi eritilmagan namunadagi tirik hujayralar soniga bog'liq. 3 ta ketma-ket aralashmalar suspenziyasi ekilgan xira probirkalar soniga qarab mos jadvallar yordamida mikroorganizmlar hujayralarining ehtimolligi eng katta bo'lgan soni (EES) aniqlanadi.

10.8. Biomassaning aniqlashning nefelometrik usuli

Biomassaning aniqlashning nefelometrik (turbidimetrik) usuli laboratoriya mikrobiologik tadqiqotlarida keng qo'llaniladi. Chunki bu usul mikroorganizmlar suspenziyasidagi hujayralar konsentratsiyasini tez va ancha aniq hisoblash imkonini beradi.

Nefelometrik usul yorug'lik dastasining suyuq fazadagi zarrachalar tomonidan sochilishiga asoslangan. Ushbu usul o'sishi muhitning bir tekisda xiralashishini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar uchungina yaraydi. Bunda mitseliy, parda va boshqa to'planmalar hosil bo'lmasligi lozim. Mikroorganizmlar kultivatsiya qilinayotgan ozuqa muhiti optik shaffof bo'lishi kerak.

Ozuqa bulonida o'sgan va yorug'lik sochilishiga sababchi bo'lgan mikroorganizmlarni fotoelektrokolorimetr (FEK) yoki spektrofotometrda o'lchash qulaydir. O'lchashlar berilgan suspenziya tomonidan yorug'likning yutilishi minimal bo'ladigan to'lqin uzunligi ~ 540 nm dan 650 nm gacha bo'lgan intervalda amalga oshiriladi.

Tushayotgan yorug'likning intensivligi (I_0) va o'tgan yorug'likning intensivligi (I) (ya'ni, namuna tomonidan sochilmagan yorug'lik) orasidagi bog'liqlik bakteriyalarning kichik konsentratsiyasida Lambert Ber qonuniga bo'sunadi:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon lc},$$

Bu yerda; ε – ekstinksiya koeffitsienti, l – suspenziya qatlami qalinligi, c – bakteriyalar konsentratsiyasi. Bu tenglamadan quyidagini olamiz:

$$lg(I_0/I) = \varepsilon lc.$$

$lg(I_0/I)$ ning c (bakteriyalar konsentratsiyasi)ga bog'liqlik grafigi to'g'ri chiziq ko'rinishiga ega. Bu chiziqning og'ish burchagi εl ko'paytma bilan aniqlanadi. Shunday qilib, bakteriyalar konsentratsiyasi bir birlikka o'zgarishi tufayli optik zichlikning o'zgarishi suspenziya qatlami qalinligi l ga va ε bilan xarakterlanuvchi suspenziya xossalariga bog'liq bo'ladi.

Bakteriyalarning yuqori konsentratsiyasida Lambert-Ber qonuni o'z kuchini yo'qotadi.

Bakteriyalar sonini nefelometrik usulda aniqlash uchun yorug'lik sochilishi kattaligi va hujayralar soni (yoki muhitning birlik hajmdagi quruq biomassa) orasidagi kalibrovka chiziqlari chiziladi. Kalibrovka chizig'ini chizish uchun FEK yoki spektrofotometrda turli miqdordagi hujayralar soniga ega suspenziyalarning

yorug'lik sochilishi kattaligi o'lchanadi va ularning har birida hujayra va biomassa miqdori aniqlanadi.

Olingan bog'liqlik grafik ko'rinishida bo'lib, ordinata o'qida FEKning ko'rsatkichlari absissalar o'qida 1 sm^3 suspenziyadagi hujayralar soni yoki 1 dm^3 kultural muhitdagi biomassa belgilanadi. Har bir mikroorganizm uchun o'zining kalibrovka chizig'ini tasvirlashi kerak.

Nazorat savollari

1. Turli ob'ektlardagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlashning qanday usullarini bilasiz?
2. Tekshiriluvchi ob'ektning eritmalari qanday maqsadda tayyorlanadi? KHQB nimani anglatadi.
3. Tekshiriluvchi mahsulotda bor bo'lgan barcha bakteriyalarni likopchali usulda aniqlasa bo'ladimi?
4. Mahsulotdagi bakteriyalar va zamburug'lar (achitqilar va mog'or) miqdorini aniqlash uchun qanday ozuqa muhitlari ishlatiladi?
5. Mikroorganizmlarni hisoblashning fluoressent usulining afzalliklari va kamchiliklari nimalardan iborat?
6. Oquvchan sitometriya usulining mohiyati nimadan iborat?
7. Suspenziyadagi bakteriyalar yoki biomassa miqdorini nefelometriya usuli nimaga asoslangan?

11. XONA HAVOSI MIKROFLORASINI TEKSHIRISH

Tayanch so'z va iboralar: go'sht -peptonli agar, suslo-agar, Asriratsion usul, Sedimentatsion usul.

Ishdan maqsad: xona havosini mikrobiologik tekshirish usullari bilan tanishish.

Kerakli jihoz va reaktivlar: Krotov apparati, steril Petri likopchalari, ozuqa muhitlari – go'sht -peptonli agar, suslo-agar.

Oziq-ovqat ishlab chiqarish sanoati korxonalar xonalaridagi havo xom ashyo va tayyor mahsulotning begona mikroorganizmlar bilan zararlanishiga sababchi bo'lishi mumkin. Havoda asosan turli mikrokokklar, sarsinlar, spora hosil qilmaydigan tayoqchalar, achitqilar, bakteriya va mitselial zamburug' sporalari, shuningdek turli kasalliklarni keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlar uchraydi.

1 m^3 havoning mikrobiologik tekshiruvida mikroorganizmlarning umumiy miqdori, mog'or zamburug'lar miqdori, kerak bo'lsa, sanitar namunaviy mikroorganizmlar: gemolitik streptokokklarning (qonli agarga ekish) va oltinrang stafilokokk (sariq-tuzli agarga ekish)ning umumiy miqdori aniqlanadi.

Havodagi mikroorganizmlarning miqdorini aniqlash uchun turli usullar qo'llaniladi. Eng ko'p tarqalgan usullar – bu *sedimentatsion* va *aspiratsion* usullardir.

11.1. Sedimentatsion usul

Sedimentatsion usul (Kox usuli) chang zarralari va tomchilarning mikroorganizmlar bilan birga ochiq Petri likopchalaridagi ozuqa muhitlari yuzasiga tushishiga asoslangan. Honalar havosini tekshirish quyidagicha amalga oshirildi. Ikkita sterill Petri likopchasi tayyorlanadi. Uning bittasiga eritilgan go'sht peptonli agar (GPA) boshqasiga suslo-agar (SA) solinadi. Agar soviganidan keyin, likopchalar tekshiriluvchi xonaga olib kiriladi, qopqoqlari ochilib, chetga shunday surilib qo'yiladi-ki, ozuqa muhitining yuzasi butunlay ochiq bo'lsin. Likopchalar havoning ifloslanganligi darajasiga bog'liq ravishda 5, 10 yoki 15 daqiqa ochiq holda turadi. Keyin likopchalar yopiladi, teskarisi o'girilib, termostatga qo'yiladi.

Diqqat! Agar likopchalar o'girilmasa, agarli muhitdan ko'tarilgan kondensatsion namlik qopqoqning ichki tomonidan muhit yuzasiga tushadi va mikroorganizmlar koloniyasini suv bilan aralashtirib yuboradi.

GPAli likopchalar 37 °C li haroratda 24 soat, SAli likopchalar esa 30 °C haroratda 48 soat davomida ushlanadi.

1 m^3 havodagi mikroorganizmlar miqdorini aniqlash uchun V.L. Omelyanskiy formulasidan foydalaniladi. Unga ko'ra 100 sm^2 likopchaga 5 daqiqa davomida 10 dm^3 havoda qancha mikroorganizm bo'lsa, shunchasi tushadi:

$$X = a \cdot 100 \cdot 5 \cdot 100 / ST,$$

Bu yerda; a – likopchada o'sib chiqqan koloniyalar soni; 100 – likopcha yuzasining 100sm^2 miqdorini hisobga olish; 5 – Omelyanskiy bo'yicha likopcha ekspozitsiyasi, daqiqa; 100 – 1m^3 havoning hisobi; S – Petri likopchasining yuzasi 78,5sm^2; T – ochiq likopchaning ekspozitsiya vaqti, min.

11.2. Aspiratsion usul

Asriratsion usul (Krotov usuli) Yu.A.Krotovning tirqishli apparatini qo'llashga asoslangan. Ixcham qutiga joylashtirilgan asbob qopqoqsiz Petri likopchasi joylanadigan maxsus maydonchali probani saqlovchi qismdan, elektromotor, ventilyator va rotametrdan iborat. Ventilyator daqiqaiga 4-5 ming marotaba aylanib, havoni so'rib oladi. Havo oqimi Petri likopchasidagi ozuqa muhitiga urilib, uning yuzasida mikroorganizmlarni qoldiradi. Havo asbobdan rotametr orqali chiqadi. Mikroorganizmlar muhit yuzasida tekis taqsimlanishi uchun likopchali disk bir daqiqada 60 marotaba aylanadi. Bakteriyalarning umumiy sonini aniqlashda o'tkazilgan havoning miqdori 100 dm^3 ni tashkil etishi kerak. Ekilgan likopchalar apparatdan olinadi, qopqoqlari yopiladi, termostatda 37 °C haroratda 24 soat saqlanib olinadi va xona haroratida 24 soat qoldiriladi. O'sib chiqqan koloniyalar soni hisoblanib, 1 m^2 havo uchun beriladi:

$$X = a/100\ V,$$

Bu yerda; a – likopchada o'sib chiqqan koloniyalar soni; V – asbob orqali o'tgan havoning hajmi; 100 – havoning tekshirilayotgan hajmi, dm^3.

Havo mikroflorasining miqdoriy xarakteristikasidan tashqari sifat xarakteristikasi ham beriladi. Buning uchun Petri likopchalarida o'sib chiqqan bakteriya koloniyalari tavsiflanadi va ulardan mikroskopik preparatlar tayyorlanadi. Koloniyalar 5.3 bo'limda ko'rsatilganidek tavsiflanadi.

Tadqiqot natijalari 11.1 - jadvalga kiritiladi:

11.1-jadval

GPA da o'sib chiqqan bakteriya koloniyalari morfologiyasini o'rganish

Koloniyalar xarakteristikasi						
O'lcham	Shakl	Profil	Chegarasi	Yuzasi	Rangi	Struktura

Suslo-agarli Petri likopchalarida o'sib chiqqan mog'or zamburug'lari vizual ravishda 8x ob'ektivli mikroskopda ko'riladi. 5-bo'limda keltirilgan zamburug'lar ta'riflaridan foydalanib, ular qaysi turga mansubligi aniqlanadi.

Tekshirilayotgan xonaning sanitar holati sanitar norma va qoidalariga ko'ra baholanadi.

11.2-jadvalda oziq-ovqat sanoati korxonalarida ishlatiladigan sanitar-biologik nazorat jurnalining shakli keltirilgan.

11.2-jadval

Korxonadagi sanitar-mikrobiologik nazorat

Tekshiruv ob'ekti	Mikrobiologik aniqlash	Ruhsat etiladigan norma	Nazorat davriyligi
Sex havosi	Umumiy mikroblar soni	GPAli likopchadagi 200 ta koloniya sedimentatsion usul bilan 20 daqiqa espozitsiya qilinganidan so'ng; 150 ta koloniya Krotov apparati bilan 100 dm^3 ni tortib olganidan so'ng.	1 oyda 2 marta
Sex havosi	Mog'or zamburug'larining sporalari	SA li likopchada 20 ta koloniya 20 daqiqa ekspozitsiya qilinganidan so'ng va 15 ta koloniya Krotov usuli bilan.	1 oyda 2 marta

11.2-jadvalda keltirilgan natijalardan foydalanib tekshirilgan xona havosining mikrobiologik tozaligi haqida xulosa qilish kerak.

Nazorat savollari:

1. Xona havosining mikrobiologik tekshiruvi qanday usullarda olib boriladi?
2. Oziq-ovqat sanoati korxonalarining ishlab chiqarish xonalaridagi havosini baholash mezonlari qanday?
3. Xona havosida qaysi mikroorganizmlar eng ko'p uchraydi?
4. Xona havosi mikroflorasini tekshirishning sedimentatsion usulini tushuntirib bering.
5. Xona havosi mikroflorasini tekshirishning aspiratsion usulini tushuntirib bering.

12. SUVNING SANITAR-BAKTERIOLOGIK HOLATINI TEKSHIRISH

Tayanch so'z va iboralar: suvning sanitar-bakteriologik holati, umumiy mikroblar soni (UMS), ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari (ITGB), *Escherichia, Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella, Serratia* turlari, koli-titr, koli-indeks.

Ishdan maqsad: ichimlik suvi va tabiiy suv havzalaridagi suvning sanitar-bakteriologik holatini baholash usullarini o'rganish.

Oziq-ovqat sanoati korxonalarida ishlatiluvchi suv normativ hujjatlarga ko'ra ichimlik suviga qo'yiladigan talablarga javob berishi kerak. Suvning epidemiologik jihatdan havfsizligi uning ma'lum hajmidagi mikroorganizmlar va ichak tayoqchalari guruhidagi bakteriyalar (ITGB) soniga qarab aniqlanadi.

Markazlashgan suv ta'minoti tarmoqlari suvining sifati sanitar qoidalar va normalariga asosan aniqlanadi. Ichimlik suvi epidemiologik va radiatsion jihatdan, kimyoviy tarkibiga ko'ra xavfsiz bo'lishi va yaxshi organoleptik xususiyatlarga ega bo'lmog'i lozim.

12.1-jadval

Ichimlik suvining epidemiologik jihatdan havfsizligi. (mikrobiologik va parazitoldogik ko'rsatkichlar bo'yicha)

SanPin 2.1.4.1074-01

Ko'rsatkichlar	Birlik	Normativlar
Umumiy mikroblar soni (UMS)	KOE ning $1 sm^3$ dagi soni	50 dan kam
Termotolerant koliform bakteriyalar	100 sm^3 dagi bakteriyalar soni	Yo'q
Umumiy koliform bakteriyalar	100 sm^3 dagi bakteriyalar soni	Yo'q
Kolifaglar	100 sm^3 dagi PHQB* lar	Yo'q
Sulfit redutsirlovchi bakteriyalar sporalari	20 sm^3 dagi sporalar soni	Yo'q
Lyamblyalarning sistalari	50 dm^3 dagi sistalar soni	Yo'q

PHQB*-pilak hosil qiluvchi birliklar.

12.1. Probalarni tanlash va ularni analizga tayyorlash

Sanitar-bakteriologik nazorat uchun oldindan qog'oz paketlarda sterillangan, paxta-doka tiqinli, ustidan qog'oz qopqoq bilan berkitilgan butilkalarga 500 sm^3 miqdorda solinadi.

Namunani olishdan avval kran yoki trubaning chetki qismlari spirt shimdirilgan paxtali tampon yoki spirt lampasini yoqib kuydiriladi. Kran ochilib, 10-15 daqiqa davomida suv tushiriladi, keyin namuna olinadi. Suvni namuna olinganidan so'ng 2 soatdan ko'p bo'lmagan muddat ichida tekshirish mumkin.

Ochiq suv havzalari – quduqlar, basseynlar, daryolar, ko'llardagi suv namunalari tubi massiv qo'rg'oshinli metall karkasdan iborat batometrlar yordamida olinadi. Metall karkasga butilka o'rnatilgan. Batometr kerakli chuqurlikka tushiriladi va qopqog'iga boylangan ip tortilib, butilka ochiladi. Butilka to'lganidan keyin batometr suvdan tortib olinadi va steril tiqin bilan berkitiladi.

Xlorlangan suv probalari dexloratorli flakonlarga solinadi. Chunki xlor ta'sirida suvdagi mikroblar halok bo'ladi. Dexlorator sifatida oltingugurtli natriy tekshirilayotgan suvning 500 sm^3 ga 10 mg hisobida ishlatiladi.

Suvning tanlangan probalariga kerakli natijalar ko'rsatilgan hujjatlar beriladi. Ichimlik suvi namunalarini yetkazish konteyner – muzlatkichlarda 4 ^0C dan 10 ^0C gacha haroratda amalga oshiriladi.

12.2. Suvdagi umumiy mikroblar sonini aniqlash

Umumiy mikroblar soni (UMS) – bu go'sht peptonli agarga 1 sm^3 ekilgan, keyinchalik 37±0,5 ^0C haroratda 48 soat davomida inkubatsiya qilinadigan, ushbu agarda mezofill aerob va fakultativ-anaerob mikroorganizmlar sonidir. UMS 50 KOE sm^3 dan oshmasligi kerak.

Zararlanganlikning tahminiy darajasidan kelib chiqib kamida 2 ta turli hajmdagi suvni ekish shunday hisob bilan olib boriladiki, likopchalarda 30 tadan 300 tagacha koloniyalar o'sib chiqishi kerak. Vodoprovod va artezan suvlari aralashtirilmagan holda 1 sm^3 dan ekiladi. Ifloslangan suvlarning bakteriologik

tekshiruvlarda suv eritmalari ekiladi. Eritma 8.3 bo'limda ko'rsatilganidek tayyorlanadi.

Tekshirilayotgan namunadan va uning eritmalari solingan probirkalardan mikroblar bilan tahminiy zararlanganlik darajasini bilgan holda 1 sm^3 miqdor olinib, steril Petri likopchalariga solinadi va ustidan 10-12 sm^3 miqdordagi eritilgan va 45 ^0C gacha sovitilgan go'sht-peptonli agar quyiladi. Qo'lning aylanma harakatlari bilan likopchalar stolning gorizontal yuzasi bo'ylab aylantirilib, ularning ichidagi aralashma likopchalar tubida tekis taqsimlanadi. Agar soviganidan so'ng ekilgan likopchalar 24 soatga 37 ^0C haroratda qo'yiladi. Inkubatsiyadan so'ng o'sib chiqqan koloniyalar soni hisoblanadi.

12.3. Suvdagi koliform bakteriyalar miqdorini aniqlash

Epidemiologik nuqtai nazardan suvdagi patogen mikroorganizmlar – ichak infeksiyalari qo'zg'atuvchilari (qorin tifi, dizenteriya, vabo va boshqalar)ni aniqlash juda muhim hisoblanadi. Lekin patogen mikroorganizmlarni aniqlash juda murakkab bo'lganligi sababli bakteriologik tekshiruvlarda sanitar – ko'rsatkich mikroorganizmlari (STM) deb ataluvchi mikroorganizmlarni aniqlash bilan chegaralaniladi. Sanitar-ko'rsatkich mikroorganizmlarga inson va hayvonlar tanasida doimo mavjud bo'lgan mikroorganizmlar kiradi. SKMlarning tashqi muhit ob'ektlarida bo'lishi ularning inson tomonidan zararlanganligidan darak beradi. SKMlar tashqi muhitda qanchalik ko'p bo'lsa, yuqumli kasalliklar maxsus qo'zg'atuvchilarining bo'lishi ehtimolligi shunchalik katta bo'ladi.

SKMlar sifatida ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari (ITGB) eng katta ahamiyatga ega. Ichak tayoqchalari guruhiga *Escherichia, Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella, Serratia* turidagi koliform bakteriyalar kiradi.

SKMlarning suvdagi miqdorini aniqlashda quyidagi xarakteristikalar ishlatiladi:

- *koli-titr* – bitta ichak tayoqchasi topilgan suvning eng kichik hajmi. Tozalangan ichimlik suvi uchun ichak tayoqchasining titri 300 sm^3 dan kam bo'lmasligi kerak.

- *koli-indeks* – ichak tayoqchalarining 1dm³ dagi miqdori. Ichimlik suvi uchun koli-indeks 3 dan ortmasligi kerak.

Koliform bakteriyalar suvda membrana filtrlari usuli yoki bijg'itish usuli bilan aniqlanadi.

Bijg'itish usuli. Bijg'itish usulining mohiyati tekshirilayotgan suvning ma'lum hajmlarini ekish, ekilgan namunalarni to'plangan muhitlarda (keyinchalik Endo muhitiga ekish bilan) 37 °C da inkubatsiya qilish, o'sib chiqqan koloniyalarni aniqlash va 1 dm³ suvdagi ITGBning eng katta ehtimollikka ega miqdorini topishdan iborat.

Markaziy suv ta'minoti tarmog'i suvini tekshirishda tekshirilayotgan material ikki marta uchta hajmga ekiladi: 100,10 va 1 sm³. Daryo, ko'llarning suvini tekshirish uchun o'n karrali eritmalar tayyorlanadi: 1:10, 1:100, 1:1000 va suyultirmasdan yana 10 sm³ va 1 sm³ ekiladi.

Suv Eykmanning glyukoza-peptonli muhiti to'ldirilgan bijg'itish idishlari (kolbalar, butilkalar, poplavokli probirkalar)ga ekiladi. Ekilgan namunalar termostatda 37 °C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi.

Tekshiruv natijalarini hisoblash. Inkubatsiya tugaganidan so'ng ekilgan namunalar ko'rib chiqiladi va quyidagi xulosalar qilinadi:

a) gaz hosil bo'lmasa va muhit rangi o'zgarmasm, suvning tekshirilayotgan hajmida ITGB yo'q degan xulosa beriladi. Ushbu xulosa tekshiruvlarni 24 soatdan keyin to'xtatish huquqini beradi;

b) kislota va gazni tekshirishda bijg'itish idishlaridagi materiallarni Endo muhitiga ekish amalga oshiriladi. Ekish izolyatsiyalangan koloniyalarni olish uchun bakteriologik ilgakda zich shtrix usuli bilan amalga oshiriladi. Ekilgan namunali likopchalar 37 °C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiyadan so'ng namunalar ko'rib chiqiladi. Endo muhitida ichak tayoqchalariga hos bo'lgan koloniyalarning yo'qligi rad javobini berishga va tekshiruvlarni tugatishga asos bo'ladi;

v) Endo muhitida laktoza bor (musbat) to'q-qizil yaltiroq yoki yaltiramaydigan koloniyalar topilsa, o'sib chiqqan mikroorganizmlarning ichak

bakteriyalar oilasiga kirishi yoki kirmasligi tekshiriladi. Bu maqsadda koloniyadan olingan preparat mikroskop orqali ko'riladi va *oksidaz* test o'tkaziladi.

Oksidaz test *Enterobacteriaceae* oilasidagi bakteriyalarni *Pseudomonodaceae* oilasidagi grammanfiy bakteriyalardan va ichak bakteriyalardan farqli ravishda oksidaza fermentini ishlab chiqaruvchi suv saprofitlarini ajratish uchun tavsiya etilgan.

Oksidaz testni o'tkazish uchun Endo muhitidan ilgak bilan har bir turdan 2-3 ta koloniya olinadi. Mikrobli massa mahsus reaktiv shimdirilgan filtr qog'ozga shtrix qilib surtiladi. Reaktivni tayyorlash: 30 gramm α-d-naftol 2,5 sm^3 etanolda eritiladi, 7,5 sm^3 distillangan suv va 40 mg dimetil-parafenilendiamin qo'shiladi. Eritma bevosita tekshiruvdan oldin tayyorlanadi.

Oksidaz testda kutilgan bakteriyalar chiqmasa, qog'oz koloniyaga tekkizilganda rangini o'zgartirmaydi. Agar koloniyaga tekkizilgan qog'oz 1 daqiqa davomida ko'k rangga kirsa, oksidaz test musbat hisoblanadi.

Preparatni grammanfiy spora hosil qilmaydigan, oksidaz faollikka ega bo'lmagan tayoqchalarning mavjudligi suvda ITGBlar borligi haqida tez ma'lumot berish imkonini yaratadi.

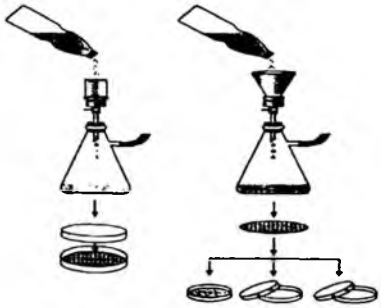
Endo muhitida pushti va rangsiz koloniyalar topilsa, ular sanaladi va har bir turdan 2-3 ta koloniya Eykman glyukoza-peptonli muhitiga ekiladi. Ekilgan namunalar 37 ^{0}C haroratda 3-4 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Kislota hosil bo'lsa (muhit rangining o'zgarishi) va poplavokda yig'iladigan gaz hosil bo'lsa, natija musbat hisoblanadi. Kislota yoki gaz hosil bo'lmasa, teskari natija qayd qilinadi.

Tekshirish tugaganidan so'ng oxirgi natijalar (musbat va manfiy) har bir ekilgan hajm bo'yicha laboratoriya jurnaliga yoziladi va koli-titr, koli-indeks aniqlanadi.

Membrana filtrlari usuli. Ushbu usulning mohiyati suvning ma'lum hajmidagi bakteriyalarni membrana filtrlarida yig'ishdan iborat. Keyinchalik ular endomuhitida 37 ^{0}C haroratda o'stiriladi, o'sib chiqqan koloniyalar aniqlanib, 1 sm^3 suvdagi ITGBlar miqdori hisoblanadi.

Membrana filtrlarini tayyorlash. Suvni filtrlash uchun №3 raqamli membrana filtrlari tanlanib, ular 80 °C gacha qizdirilgan distillangan suvga solinadi va qaynatish uchun pastroq olovga qo'yiladi. Qaynatish 3 marotaba 10 daqiqadan amalga oshiriladi. Birinchi va ikkinchi qaynatishdan so'ng suv to'kib tashlanib, uchinchisidan keyin filtrlar suvda ishlatilgunicha qoldiriladi.

Filtrlash apparatini tayyorlash. Filtrlash apparati avtoklavda sterillanadi yoki spirtda xo'llangan paxta tamponi bilan artiladi va sterillash maqsadida kuydiriladi. Filtrlash apparatining stolchasiga steril pinset bilan membrana filtri qo'yiladi. Filtrning sinishini oldini olish uchun uning tagiga dumaloq steril filtr qog'ozi qo'yiladi. Filtrlash stolchasiga filtrlar qo'yilib, asbobning yuqori qismiga voronka o'rnatiladi (12.1-rasm).



12.1-rasm. Mikroorganizmlar miqdorini membrana filtrlari usulida aniqlash

Suvni filtrlash va mikroorganizmlarni o'stirish. Filtrlash apparatining voronkasiga steril qilib tekshirilayotgan hajmdagi suv quyiladi va suv nasosi yordamida qabul qiluvchi idishda vakuum hosil qilinadi. ichimlik suvi tarmog'iga kelayotgan suvni tekshirishda 333 sm^3 dan kam bo'lmagan suv hajmini olish kerak. Filtrlash tugaganidan so'ng membrana filtri flambirlangan (olovda kuydirilgan) pinset bilan Petri likopchasidagi ozuqa muhiti yuzasiga qo'yiladi. Hozirgi vaqtda mos ozuqa muhitlari shimdirilgan filtrlar ishlab chiqarilmoqda.

Ekilgan namunalar termostatda 37 °C haroratda 18-24 soat davomida inkubatsiya qilinadi.

Tekshiruv natijalarini qayta ishlash. Inkubatsiya tugaganidan so'ng ekilgan namunalar ko'rib chiqiladi va quyidagicha xulosalar qilinadi:

a) filtrlarda mikroblar o'sib chiqmasa, yoki ularda ITGBga xos bo'lgan koloniyalar bo'lmasa, tekshirishlarni shu bosqichda ushbu suv hajmida ITGBlar yo'qligini tasdiqlab yakunlasa bo'ladi;

b) filtrlarda ITGBga xos koloniyalar topilsa, tekshirishlar davom etadi. Har bir turdagi bir nechta koloniyalardan surtmalar tayyorlanib, ular Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi. Surtmalarda mayda grammanfiy sporalar tashimaydigan tayoqchalarning yo'qligi tekshirishlarni tugatib, ushbu suv hajmida ITGBlar yo'qligini tasdiqlashga asos bo'ladi;

c) surtmalarda ichak tayoqchalariga morfologik jihatdan o'xshash grammanfiy tayoqchalar mavjud bo'lsa, oksidaz proba o'tkaziladi. Membrana filtrlarida oksidaza ishlab chiqarmaydigan bir turdagi laktoza musbat koloniyalar (to'q qizil yaltiroq yoki yaltiramaydigan) topilsa, suvni tekshirish shu bosqichda tugatiladi va membrana filtrlarida o'sib chiqqan ichak tayoqchalari koloniyalari sanaladi. Natija suvning 1 dm^3 miqdoriga hisoblanib, koli-indeks ko'rinishida beriladi;

d) membrana filtrlarida pushti va rangsiz koloniyalar topilsa, ularning soni hisoblanadi va har bir turdan 2-3 ta izolyatsiyalangan koloniya olinib, Eykman glyukoza-pepton muhitiga ekiladi. 37 °C haroratda 3-4 soat mobaynida inkubatsiya qilinganidan so'ng kislota hosil bo'lishi va poplavokda gaz hosil bo'lishi hisobiga muhit rangining o'zgarishi qayd etiladi. Bu holda ITGBlar mavjud deb hisoblanadi. Agar muhitda o'zgarish kuzatilmasa, ITGBlar yo'qligi tasdiqlanadi.

Koli indeksini aniqlash uchun misol. 3 ta 100 sm^3 hajmga ega suv namunasi filtrlangan. Birinchi va iukkinchi filtrlarda 3 tadan koloniya, uchinchisida 9 ta koloniya o'sib chiqqan. Hammasi bo'lib 15 ta koloniya o'sib chiqqan. Shunday qilib, tekshiriluvchi namunanang koli-indeksi (1000x15):300=50. Koli-indeks koli-titrga quyidagicha o'tkaziladi: 1000:50=20.

Nazorat savollari

1. Ichimlik suvining epidemiologik havfsizlik ko'rsatkichlaridan qaysi birini bilasiz?
2. Umumiy mikroblar soni, koli-titr va koli-indeks nima?
3. Mikroorganizmlarning qanday turlari ITGBlar qatoriga kiradi?
4. Koliform bakteriyalar qanday usullar bilan aniqlanadi?
5. Ichimlik suvida koliform bakteriyalari mavjudligini aniqlashning asosiy mezonlari qanday?
6. Oksidaza mavjudligini aniqlash uchun test nima maqsadda o'tkaziladi?

13. TUPROQNING SANITAR MIKROBIOLOGIK TEKSHIRUVI

Tayanch so'z va iboralar: bakteriyalar, viruslar, aktisomitsetlar, achitqilar, zamburug'lar, autotorf, geterotorf, GPA va kartoshka-glyukoza agari, *Proteus, Clostridium perfringens* tayoqchasi, koli-titr, perfingens-titr, nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar titri va proteylar, termofill bakteriyalar miqdori.

Ishdan maqsad: oziq-ovqat mahsulotlarini begona mikroorganizmlar kontaminatsiyasi manbai bo'lgan tuproqni mikrobiologik jihatdan o'rganib chiqish.

Tuproqda mikroorganizmlar juda ko'p miqdorda bo'ladi. Unda Yerda uchraydigan barcha shakldagi mikroorganizmlar mavjud: bakteriyalar, viruslar, aktisomitsetlar, achitqilar, zamburug'lar. 1 g tuproqdagi umumiy mikroblar soni (UMS) 1,0 dan 10 mlrd.gacha bo'lishi mumkin. Tuproqning turli qatlamlarida mikroorganizmlar miqdori turlicha. Eng yuqori qatlamida (0,5 sm) mikroorganizmlar juda kam. 1-5 sm chuqurlikdan 30-40 sm gacha mikroorganizmlar soni maksimal bo'ladi – 1 g da o'rtacha 10 mln dan 50 mln gacha. 30-40 sm dan keyin UMS sekin asta kamayadi va chuqurroq qismlarda minimal bo'ladi.

Tuproq mikroflorasi 2 guruhga bo'linadi:

1) Autotorf – mineral moddalar bilan oziqlanadi.

2) Geterotorf – organik moddalar bilan oziqlanadi.

Ikkala guruh mikroflora ham tuproqning o'zini-o'zi tozalash jarayonida uning mineralizatsiyasida qatnashadi. Ammo geterotrof mikroorganizmlar guruhida patogen mikroflora mavjud bo'lishi mumkin. Tuproqning ichak tayoqchalari bilan zararlangan inson chiqindilari bilan ifloslanishida o'simliklar dizenteriya, vabo, qoring tifi, salmonellyoz, enteroviruslar qo'zg'atuvchi mikroblar bilan kontaminatsiya qilishi mumkin. Inson va hayvonlarning ichak infeksiyalari bilan kasallanish darajasi va tuproq sanitar holatining yomonligi orasida bevosita bog'lanish mavjud. Tuproq orqali o'lat, gazli gangrena, qoqshol va boshqa kasalliklarning qo'zg'atuvchilari tarqalishi mumkin.

Tuproqning sanitar-mikrobiologik tekshiruvida umumiy mikroblar soni, koli-titr, perfingens-titr, nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar titri va proteylar, termofill bakteriyalar miqdori hisoblanadi. Mikroblar soni tuproqning organik moddalar bilan zararlanganligini ifodalaydi. Tuproqda ichak tayoqchalarining mavjudligi uning inson chiqindilari bilan ifloslanganligidan darak beradi. Tuproqda *Clostridium perfringens* tayoqchasining mavjudligi ham shunday ifloslanishga misol bo'ladi. Tuproqda *Proteus* turidagi bakteriyalarning mavjud bo'lishi uni hayvonlarning organik moddalari yoki inson chiqindilari bilan zararlangan deb hisoblashga asos bo'ladi. Termofil mikroorganizmlarning mavjudligi tuproq go'ng yoki kompostlar (o'simliklarning yerda chirigan sun'iy o'g'itlari) bilan ifloslanganligidan darak beradi. Toza tuproqlarda termofill mikroorganizmlar ko'pincha topilmaydi.

Tuproq namunasini olish. Tuproqning yuqori qatlamlarini mikrobiologik tekshirishlarda namunalar 15-20 sm chuqurlikdan olinadi. Bunda yuqoridagi 2 sm qalinlikdagi qatlam olib tashlanadi (tekshirilayotgan huduning turli qismlaridan kamida 10 ta namuna). Namunalar kichkina temir kurakcha yoki hokandoz bilan steril, qog'ozga o'ralgan, yorlig'i mavjud bo'lgan og'zi katta bankalarga solinadi. Har bir olingan namuna 200-300 g og'irlikda bo'lishi kerak, aralashgan namuna (o'rta proba) esa, 1 kg dan kam bo'lmasligi kerak.

Tuproqni tekshirishga tayyorlash. Tuproq namunalari katta bo'laklardan ajratiladi, maydalanildi, steril 3 mm li elakdan o'tkaziladi. Keyin namuna steril qog'ozga solib yaxshilab aralashtiriladi va 10 g miqdori tarozida tortiladi. Tarozida tortilgan tuproq 90 sm^3 steril vodoprovod suvi solingan 250 sm^3 hajmga ega kolbaga solinadi. 1:10 miqdordagi aralashma olinadi. Bu tekshirilayotgan tuproqning 0,1 g miqdoriga mos keladi. Bu tekshirilayotgan tuproqning 0,1 gr. miqdoriga mos keladi. Kolba 10 daqiqa davomida silkitilib, tuproqning yirik zarrachalari 30 sek. davomida joylashadi va tuproqning ifloslanganlik darajasiga qarab 3 tadan 6 tagacha o'n karrali aralashmalar tayyorlanadi.

13.1. Tuproqdagi mikroblar sonini aniqlash

Ikkita steril Petri likopchasiga qopqog'ini ozgina ochib qo'yib, 1 sm^3 dan 10^{-4} va 10^{-5} miqdorda aralashtirilgan tuproq suspenziyasi solinadi va uning ustiga erigan 45 °C gacha sovitilgan ozuqa agari (GPA va kartoshka-glyukoza agari) solinadi. Agar qotganidan so'ng likopchalar termostatga 37±2 °C haroratda 24-48 soatga qo'yiladi. Keyin shuncha vaqt davomida xona haroratida saqlanadi. Likopchalarda o'sib chiqqan koloniyalar soni va ekilgan aralashmani hisobga olgan holda tuproqning 1 grammidagi mikroblar soni hisoblanadi.

13.2. Tuproq kolititrini aniqlash

Ichak tayoqchalari guruhidagi bakteriyalarning mavjudligi tuproqning inson chiqindilari bilan ifloslanganligidan darak beradi. Ichak tayoqchasining titri (koli-titr) deb ichak tayoqchalari topilgan tuproqning eng kichik miqdoriga aytiladi (grammlarda). Bir garmm tuproqdagi ichak tayoqchalarining miqdori koli-indeks deb ataladi.

Koli-titrni aniqlash uchun 1 sm^3 eritilgan tuproq suspenziyasining 10^{-1} dan 10^{-5} miqdorini Kessler muhiti solingan va poplavoklari bor bo'lgan probirkalarga ekiladi. Ekilgan namunalar termostatda 37 °C haroratda 18-24 soat davomida ushlanadi. Shundan so'ng poplavoklarda gazning yig'ilganligi aniqlanadi.

13.3. Tuproqning perfingens - titrini aniqlash

Perfingens-titr – sulfidlarni tiklovchi grammusbat obligat-anaerob sporalar hosil qiluvchi tayoqchalar titridir. *C. Perfringens* (sporali shakllar)ning mavjudligi inson chiqindilari bilan avval ifloslanganlikdan darak beradi.

Perfingens-titrni aniqlash uchun temir-sulfat agar (Vilson-Bler muhiti) qo'llaniladi. Ushbu muhitda *C. Perfringens*ning topilishi bu mikroorganizmlarning $Na_2S_2O_3$ ni Na_2S ga aylantirish qobiliyatiga asoslangan. Na_2S xlorli temir bilan ta'sirlashib qora rangga ega bo'lgan temir sulfati (FeS) hosil bo'ladi.

Tuproq suspenziyasi aralashmalari solingan probirkalar 80-85 °C haroratli suv hammomida 15 daqiqa davomida isitiladi. Keyin probirkalar xona

haroratigacha sovitilib, 1 sm^3 tuproq suspenziyasi aralashmasining 10^{-1} dan 10^{-4} gacha bo'lgan miqdori eritilgan va 45 °C gacha sovitilgan Vilson-Bler muhiti solingan probirkalarga joylanadi. Probirkalar kaft orasida aylantirilib, tuproq suspenziyasi muhitida bir tekis taqsimlanadi. Shundan so'ng probirkalar oqayotgan vodoprovod suvida agar qotgunicha sovutiladi. Ekilgan namunalar 43 °C haroratda 18-24 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Muhit solingan probirkalarda qora koloniyalarning paydo bo'lishi *C. Perfringens* borligidan darak beradi.

13.4. Tuproqdagi termofil mikroorganizmlar miqdorini aniqlash

Termofil bakteriyalar indeksini aniqlash uchun steril Petri likopchalariga 1 sm^3 dan tuproq suspenziyasi aralashmasidan 10^{-1} dan 10^{-3} gacha miqdorda solinib, ustiga erigan va 45 °C gacha sovutilgan GPA solinadi. Agar soviganidan so'ng likopchalar 60 °C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Shundan so'ng o'sib chiqqan koloniyalar soni hisoblab chiqiladi va eritmaning hisobini olib, 1 gramm tuproqdagi termofil bakteriyalar miqdori topiladi.

13.5. Tuproqdagi protey tayoqchalarini aniqlash

Proteus turidagi bakteriyalar tuproqdan oziq-ovqat mahsulotlariga o'tib, qulay sharoitlarda rivojlanishi mumkin. Protey tayoqchalarining hayotiy faoliyati mahsulotlari oshqozon-ichak faoliyatining buzilishiga olib keladi.

Shukevich usuli bilan tuproqdagi protey tayoqchalarini topish uchun yangi GPAning kondensatsion suviga tuproq suspenziyasi aralshmasining 0,1 sm^3 miqdori solinadi. Probirkalar 37 °C haroratda 24-48 soat davomida termostatda ushlanadi. Shundan so'ng agarning yuzasida yupqa to'rsimon parda hosil bo'ladi va proteylar o'sishi qayd qilinadi. Shunday parda hosil bo'lsa, uning yuzasidan mikroskopik preparat tayyorlanadi, Gram usulida bo'yaladi, harakatchanlik va H_2S ni hosil qilish xususiyati aniqlanadi.

Tuproqning sanitar-mikrobiologik tekshirish natijalari tahlil qilinadi va 13.1-jadvalda keltirilgan kattaliklardan foydalanib tuproqqa baho beriladi.

13.1- jadval

Tuproqning sanitar holatini mikrobiologik ko'rsatkichlarga qarab baholash sxemasi.

Tuproq kategoriyasi	Titr (gramm)			Termofil mikroorganizmlar indeksi, KOE/gramm
	ITGB	Nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar	Perfringens	
Toza	1,0 va undan katta	0,1 va undan katta	0,01 va undan katta	$10^2 - 10^3$
Ifloslangan	0,9 dan 0,01 va undan kam	0,09 – 0,0001	0,09 – 0,0001	$10^3 - 10^5$
Kuchli ifloslangan	0,009 va undan kam	0,00009 va undan kam	0,00009 va undan kam	$10^5 - 4 \cdot 10^6$.

Nazorat savollari

1. Tuproqning qanday qatlamlarida mikroorganizmlar kam bo'ladi?
2. Tuproqda mikroorganizmlarning qanday guruhlari mavjud?
3. Tuproqda qanday yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari uchrashi mumkin?
4. Tuproq namunasini olish va uni tekshirishga tayyorlash qanday amalga oshiriladi?
5. Tuproq koli-titri va koli-indeksi deb nimaga aytiladi?
6. Tuproqdagi mikroblar sonini aniqlash usuli qanday?
7. Perfingens-titr nima va uni aniqlash usuli qanday?
8. Tuproqdagi protey tayoqchalari qanday aniqlanadi?

14. OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARINING AYNISHIGA SABABCHI BO'LADIGAN BAKTERIYALARNING XARAKTERISTIKASI

Tayanch so'z va iboralar: *Micrococcus* turi, *Enterococcus* turi *Enterococcaceae* oilasi, *Lactobacillales* tartibi, *Sarcina* turi *Peptococcaceae* oilasi, *Staphylococcus* turi, *Escherichia* turi *Enterobacteriaceae* oilasi, *Proteus* turi *Enterobacteriaceae* oilasi, *Pseudomonas* turi *Pseudomonodaceae* oilasi, *Bacillus* turi *Bacillaceae* oilasi, *Bacillus subtilis, Bacillus megaterium, Bacillus mycoides, Bacillus cereus, Clostridium* turi.

Ishdan maqsad: oziq-ovqat mahsulotlarida rivojlanib, ularning aynishiga sababchi bo'ladigan bakteriyalarning morfologik va fiziologik belgilari bilan tanishish.

14.1. *Micrococcus* turi

Micrococcus turining namoyondalari diametri 0,5-2,0 mkm. Bo'lgan sferik hujayralarga ega bo'lib, ular yolg'iz yoki noto'g'ri to'planmalar bo'lib joylashadi. Mikrokokklarning ba'zi turlarida hujayralarning tetradalarga birlashishi kuzatiladi. Mikrokokklar grammusbat, harakatsiz, sporalar hosil qilmaydi.

Obligat aeroblar. Katalaz musbat. Bu turning ko'p namoyondalari pigment hosil qilib, buning natijasida koloniyalar oq, sariq, zarg'aldoq, pushti, tilla rangga kiradi.

Micrococcus luteus turi (14.1 rasm). Hujayralari yirik, diametri 1,5 mkm.gacha, yolg'iz joylashgan. Zich muhitda dumaloq bo'rtgan, sariq rangdagi yaltiroq yuzali to'g'ri shakldagi koloniyalarni hosil qiladi.



14.1 rasm *Micrococcus luteus* turi

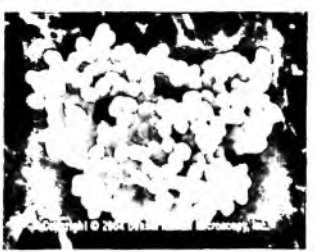
Mikrokokklar o'sishi uchun optimal harorat 25 °C dan 30 °C ni tashkil etadi. Ba'zi turlari 63 °C dan 65 °C da 30 daqiqa davomida qizdirishga va 72-75 °C haroratda qisqa muddatli pasterizatsiyaga bardosh berishlari mumkin.

Mikrokokklar ko'pincha havoda uchraydi va undan oziq-ovqat mahsulotlariga o'tadi. Mikrokokklarning sutda intensiv ravishda rivojlanichi unda achchiq ta'mning hosil bo'lishi va past kislotali muhitda (40 – 60 °T) ivib qolishiga sabab bo'ladi. Bu ularning sichug fermenti kabi ferment ishlab chiqarish qobiliyatiga bog'liq. Shakarli quyultirilgan sutda achchiq ta'm bilan birga pag'a-pag'a narsalar hosil bo'ladi, yoki mahsulot quyilib qoladi. Oziq-ovqat mahsulotlari yuzasida rivojlanish jarayonida mikrokokklar turli rangdagi pigment dog'larini hosil qiladi.

14.2. *Enterococcus* turi

Zamonaviy sistemstikaga ko'ra *Enterococcus* turi *Enterococcaceae* oilasi, *Lactobacillales* tartibiga kiradi. Entrokokklar deb ichak keltirib chiqishiga ega bo'lgan streptokokklarga aytiladi. Ular inson va hayvonlar ichaklarining normal mikroflorasi namoyondalaridir. Hozirgi vaqtda entrokokklar ichak tayoqchalari singari sanitar ko'rsatkichli mikroorganizmlar hisoblanadi.

Entrokokk hujayralari sferik yoki oval bo'lib, diametri 0,6 dan 2,5 mkm gacha. Ular juft yoki zanjir bo'lib joylashadilar (14.2-rasm). Grammusbat, harakatsiz, kapsula va sporalar hosil qilmaydi.



14.2-rasm. *Enterococcus faecalis*

Havo kislorodiga nisbatan entrokokklar fakultativ anaeroblar hisoblanadi. Zich ozuqa muhitlari yuzasida mayda, bo'rtgan, rangsiz koloniyalar hosil qiladilar. Chuqur koloniyalar qayiqchani eslatadi. Ushbu turning tipik vakillari: *Enterococcus faecalis, E. Faecies.*

Enterokokklar bijg'itish turidagi metobolizmni amalga oshiradilar. Uglevodlarni asosan sut kislotasi hosil qilib, bijg'itadilar. Entrokokklar o'sishining optimal harorati 30-37 ^{0}C, o'sishning harorat diapazoni 10 ^{0}C dan 45 ^{0}C gacha. Entrokokklar tashqi muhit faktorlari ta'siriga chidamli, 75-80 ^{0}C gacha qizdirishga bardosh beradi, 6,5% natriy xloridli va pH 9,6 li muhitda o'sishi mumkin. Entrokokklar oqsillarni achchiq peptidlar hosil qilib parchalaydilar. Bu oziq-ovqat mahsulotlarida achchiq ta'mning hosil bo'lishiga olib keladi.

14.3. *Sarcina* turi

Sarcina turi *Peptococcaceae* oilasiga kiradi. Hujayralar deyarli sferik, 1,5 – 3,0 mkm diametrga ega, sakkizta yoki ko'proq kokklar to'plangan paketlar (kublar)ga yig'ilgan, chunki hujayralarning bo'linishi 3 ta o'zaro perpendikulyar tekislikda sodir bo'ladi.

Grammusbat, harakatsiz, endosporalar hosil qilmaydi. Faqat hivchinlari mavjud va spora hosil qiluvchi *Sporosarcina urea* turi bundan istisno.

Oziqlanish turi – xemoorganotroflar. Tipik turi – ***Sarcina ventriculi.***



14.3-rasm. *Sarcina ventriculi.*

Zich muhitning yuzasida Petri likopchalarida sarsinlar o'rta o'lchamdagi, chetlari tekis, silliq yoki g'adir-budur, urug'simon strukturali, sariq, limon-sariq, ba'zida pushti yoki oq rangdagi qabariq koloniyalar hosil qiladi. Oziq-ovqat mahsulotlarining pigmentatsiyasiga sababchi bo'ladi.

14.4. *Staphylococcus* turi

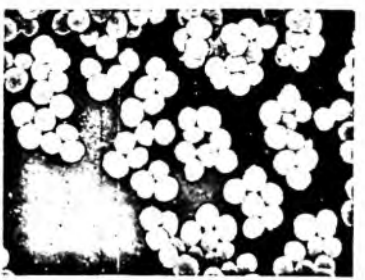
Stafilokokklar asosan issiq qonli hayvonlarning teri qatlamlarida va shilliq pardalarida uchraydi. Lekin ular havo, oziq-ovqat mahsulotlaridan ham ajralishi mumkin. Ba'zi turlari inson va hayvonlarda turli opportunistik infeksiyalar chaqirishi mumkin.

Staphylococcus turidagi bakteriyalar 0,5 – 1,5 mkm diametrga ega sferik shaklda bo'ladi, yakka-yakka yoki juft holda uchraydi. Shuningdek uzum shingiliga o'xshash noto'g'ri to'planmalar hosil qiladi. Bunga sabab hujayralarning uchta o'zaro perpendikuliyar tekisliklarda bo'linishidir.

Stafilokokklar grammusbat, harakatsiz, spora va kapsulalar hosil qilmaydi.

Fakultativ anaeroblar. Bular metobolizmning nafas va bijg'ituvchi tipiga ega xemoorganotroflardir.

Zich muhitda stafilokokklar dumaloq, sariq yoki tillarang qabariq koloniyalar hosil qiladi. Bu turning asosiy namoyondalari: *S. epidermidis, S. saprophyticus, S. aureus* (tillarang stafilokokk).



14.4-rasm. *Staphylococcus aureus*

Stafilokokklar o'sishining optimal harorati 30-37 °C. Bu turning vakillari yuqori haroratga chidamli bo'lib, bu xususiyati oziq-ovqatlarga issiqlik bilan ishlov berilganda etiborga olinadi. Tillarang stafilokokkning oziq-ovqat mahsulotlarida ko'payishi, unda oziq-ovqatdan zaharlanishni keltiradigan ekzotoksinning yeg'ilishiga sabab bo'ladi.

14.5. *Escherichia* turi

Escherichia turi *Enterobacteriaceae* oilasiga mansubdir. Bu turning namoyondalari – uchlari dumaloq mayda grammanfiy tayoqchalar bo'lib, ularning o'lchamlari (0,5-0,7)x(2,0x3,0) mkm. Surtmalarda tartibsiz joylashadi. Xivchinlarining peritrixial joylashishlari hisobiga suyuq muhitlarda harakatchandirlar. Ko'pchiligida *tukchalar* uchraydi. Spora, sista va kapsulalar hosil qilmaydi. Tipik vakili – *Escherichia coli*.

Escherichia coli – ichak tayoqchasi (14.5-rasm) – fakultativ anaerob, oddiy ozuqa muhitlarida 37 °C optimal haroratda yaxshi o'sadi. Go'sht peptonli agaridagi koloniyalari silliq, yaltiroq, chetlari tekis, ozgina qabariq, kulrang.

Ichak tayoqchalarining oziq-ovqat mahsulotlarida ko'payishi ularga xos bo'lmagan ta'mga, shishlar hosil bo'lishiga olib keladi.

Ichak tayoqchasining oziq-ovqat mahsulotlarida mavjudligi ishlab chiqarishda sanitar tartibning buzilishining ko'rsatkichi hisoblanadi.



14.5-rasm. *Escherichia coli*

14.6. *Proteus* turi

Proteus turi *Enterobacteriaceae* oilasiga mansubdir. Ushbu turning namoyondalari inson va hayvonlar ichaklarida, go'ngda, tuproqda va ifloslangan suvlarda uchraydi. Proteylarni ularning to'dalanish hususiyatlari borligi uchun oson aniqlash mumkin. Proteylarni to'dalanishi zich ozuqa muhitining yuzasida to'rsimon pardaning hosil bo'lishiga olib keladi. Tipik vakili – *Proteus vulgaris.*

Proteus vulgaris (proteus tayoqchasi). Proteylar hujayralari mayda (0,4 – 0,6)x(1,0-3,0) mkm o'lchamdagi grammanfiy tayoqchalardir.

Endospora va kapsulalar hosil qilmaydi. Juda harakatchan – peritrix xivchinli (14.6-rasm).

Fakultativ anaeroblar. Metobolizmning nafas va bijg'ituvchi turiga ega xemoorganotroflar. O'sishining optimal harorati 37 °C.



14.6-rasm. *Proteus vulgaris*

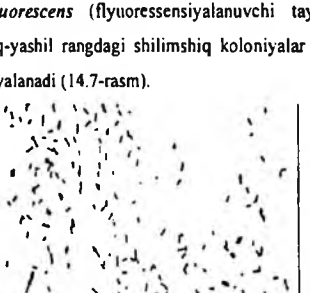
Protey tayoqchasi aktiv proteazalarga ega bo'lib, go'sht va go'sht mahsulotlari, baliq, sut mahsulotlarining chirib aynishiga sabab bo'ladi. Oqsillarning parchalanishida vodorod sulfid, ammiak va indol hosil bo'ladi. Proteylarning mahsulotlarda ko'payishi oshqozon-ichak sistemasi kasalliklariga olib kelishi mumkin.

14.7. *Pseudomonas* turi

Pseudomonas turi *Pseudomonodaceae* oilasiga mansub. Psevdomonadalar tabiatda keng tarqalgan. Ular tuproqda, suvda, oziq-ovqat mahsulotlarida topiladi. Psevdomonadalar hujayralari mayda grammanfiy (0,5-1,0)x(1,5-5,0) mkm o'lchamga ega tayoqchalar. Spora va kapsulalar hosil qilmaydi, bitta yoki bir nechta qarama-qarshi joylashgan hivchinlar hisobiga harakatchandir.

Qat'iy aeroblar. Zich muhitlarda dumaloq yoki noto'g'ri shakldagi koloniyalar hosil qiladi. Ular tekis va qabariq, shilimshiq, ko'pincha pigmentatsiyalangan. Metobolizmning faqat nafas turi. Bunda kislorod elektronlarning oxirgi akseptori sifatida ishlatiladi. Haroratning +4 dan +43 ^{0}C gacha bo'lgan diapazonida o'sishi mumkin.

Pseudomonas fluorescens (flyuoressensiyalanuvchi tayoqcha). Ozuqa agarida sariq yoki sariq-yashil rangdagi shilimshiq koloniyalar hosil qilib, ular ko'pincha flyuoressensiyalanadi (14.7-rasm).



14.7-rasm. *Pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas aeruginosa (ko'k yiringli tayoqcha) muhitga ko'k pigment – piotsianin chiqaradi. Shuning uchun uning koloniyalari ko'k rangga bo'yalgan. Shartli – patogen mikroorganizm hisoblanadi.

Ko'p psevdomonadalar oziq-ovqat mahsulotlarini saqlashning past haroratlarida (2-4 ^{0}C) rivojlana oladigan psixrofillar hisoblanadi. Psevdomonadalar

aktiv proteolitik va lipolitik fermentlarga ega bo'lib, oqsil va yog'larning parchalanishiga sabab bo'ladilar. Bu esa o'z navbatida go'sht, sut va baliq mahsulotlarining tez aynishiga olib keladi.

14.8. *Bacillus* turi

Bacillus turi *Bacillaceae* oilasiga mansubdir. Ushbu turdagi bakteriyalar turli uzunlik va qalinlikdagi tayoqchalardan iborat. Ular grammusbat. ko'pincha harakatchan, endosporalar hosil qiladi. Aerob va fakultativ anaeroblar. Xemoorganotroflar, metobolizmning nafas yoki bijg'ish turiga ega.

Bacillus subtilis (pichan tayoqchasi) – ingichka, qisqa (0,5-2,5)x(3,0-5,0) mkm kattalikdagi grammusbat tayoqchalar. Hujayralar peritrixial ravishda joylashgan hivchinlar hisobiga harakatchandir. Markaziy sporali bo'lib, u oval, o'lchamlari 0,6 dan 0,9 mkm gacha (14.8 a-rasm).

Go'sht-peptonli agarda *B. Subtilis* quruq burishgan yoki barqutsimon chegaralari tekis, rangsiz yoki pushtiroq koloniyalar hosil qiladi.

Pichan tayoqchasi sporalari haroratga chidamli, qisqa muddatli sterillashni ko'taradi. O'sishning optimal harorati 25-37 ^{0}C. Pichan tayoqchasi chirituvchi bakteriyalarga mansub bo'lib, u sut, go'sht oqsillarini aynituvchi aktiv proteazalarga, shuningdek, nonning "kartoshka kasalligi"ni keltirib chiqaruvchi amilazalarga ega.

Bacillus megaterium – (yer tayoqchasi, lotincha *terra* – yer) – yirik, uchlari dumaloq (5-7)x(1,2-1,5) mkm o'lchamdagi urug'simon tayoqchalar. Ular uzun zanjir bo'lib joylashgan. Sporalar elliptik bo'lib, hujayra markazida joylashgan (14.8 b-rasm).

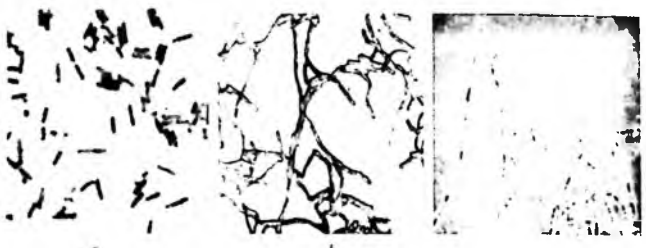
Zich ozuqa muhitida yirik, silliq, sidirg'a yoki yaltiroq koloniyalar hosil qiladi. Ularning chegaralari to'lqinsimon – popukli, kulrang-oq. Faol proteazalari mavjud bo'lib, uglevodlarni parchalab, kislota hosil qiladi.

Bacillus mycoides (zamburug'simon tayoqcha) – (5-7)x(0.8-1.2) mkm o'lchamdagi mayda tayoqchalar. Sitoplazmada vakuoli va zahiradagi ozuqa moddalarining granulalari bor. Sporalari oval shaklda (14.8 v-rasm).

Ozuqa agarida zamburug' o'sishini eslatadigan koloniyalar hosil qiladi. Rezoid yoki mitselisimon bo'lib, ozuqa muhiti yuzasi bo'ylab taqsimlanadi. Zamburug'simon tayoqcha aktiv proteazalarga ega, achchiq peptidlar hosil qilib, oqsillarni parchalaydi.

Bacillus cereus (lotincha – cera – mumli) – (3-5)x(1,0-1,5) mkm o'lchamdagi kalta semiz hujayralar, yakka yoki zanjir bo'lib joylashgan. Sporasi oval (1,5x0,9) mkm, subterminal ravishda joylashgan (markazdan hujayra chetiga siljigan).

Ozuqa agaridagi koloniyalar mumsimon, semiz, taxlangan markazli, sidirg'a va rizoid to'lqinsimon chegaralari bor. Ba'zida mayda g'adir-budur popukli chegaralari bor, ulardan ingichka iplar tarqaladi.



a *b* *v*

14.8-rasm. *Bacillus* turi:

a – Bacillus subtilis; b – Bacillus megaterium; v – Bacillus mycoides

B. cereus havfli mikrob sanaladi. Chunki u bilan kontaminatsiya bo'lgan oziq-ovqat mahsulotlari oshqozon-ichak sistemasining zararlanishiga olib kelishi mumkin.

14.9. *Clostridium* turi

Clostridium turi *Clostridiaceae* oilasiga kiradi. Tayoqchasimon bakteriyalar, grammusbat, yosh hujayralari ko'pincha harakatchan - peritirix xivchinli bo'ladi. Hujayra diametridan katta endosporalar hosil qiladi.

Qat'iy anaeroblar. Klostridiyalarning ba'zi namoyondalari amilolitik bo'lib, ular yog'li-nordon va aseton-butil bijg'ishda shakarlarni parchalaydi. Boshqalari proteolitik bo'lib, chirish jarayonlarini keltirib chiqaradi. Ba'zi klostridiyalar oziq-ovqatdan zaharlanishga olib keladi: **botulizm** – qo'zg'atuvchisi *Clostridium botulinum*, toksiko-infeksiyalar – qo'zg'atuvchisi *Clostridium perfringens*. Klastridiyalar orasida inson uchun patogen (*Clostridium septicum, C. perfringens, C. novyi*) – gazli gangrena qo'zg'atuvchisi va qoqshol qo'zg'atuvchisi - (Clostridium tetani) uchraydi.

Clostridium butyricum – yog'li nordon bakteriyalar. (0,5-1,5)x(5-12) mkm o'lchamdagi yirik tayoqchalar, garmmusbat, spora hosil bo'lgunicha harakatchan. Sporalar terminal yoki subterminal ravishda joylashgan. Sporali hujayralar tennis raketkasi yoki qoshiq ko'rinishiga ega.

Yog'li nordon bakteriyalar saxarolitik klostridiyalar guruhiga kiradilar; ular uglevodlarni yog', sirka, chumoli kislotasi va ko'p miqdorda gaz hosil qilib bijg'itadi. Shuning uchun ular oziq-ovqat mahsulotlarida achchiq ta'm, konservalarning ichida gaz to'planib qolishi, pishloqning shishib qolishini keltirib chiqaradi.

Clostridium perfringens – (1-2)x(5-8) mkm o'lchamdagi yirik tayoqcha, klostridiyalar harakatsiz, inson va hayvonlar tanasida kapsulalar hosil qiladilar. Sporalar terminal yoki subterminal ravishda joylashgan (14.9-rasm).

Xemoorganotroflar, bijg'ish turidagi metabolizmga ega.

Zich muhitlarda bakteriyalar mayda, silliq yoki tishchali chegaralariga ega dumaloq koloniyalar hosil qiladi. Qonli agarda o'sish jarayonida perfringens tayoqchalari koloniyalari dumaloq, silliq, kulrang, keyinchalik yashil tusga kiruvchi va β - gemoliz zonasi bilan chegaralangan. Bu turdagi bakteriyalar agressivlik fermentlari sintez qiladi: lesitinaza, kologenaza, gialuronidaza va boshqalar.



14.9-rasm. *Clostridium perfringens*

Perfringens tayoqchasi saxarolitik klostridiyalar turiga kiradi. Bu tur sutning quyqa hosil qilib ivishiga sabab bo'ladi. Sporalar haroratga chidamli 2 soat davomida qaynatishga bardosh beradi. Sulfitredutsirlovchi hususiyatiga ega. Bu turning ba'zi serologik ko'rinishlari (A va C) endotoksinlar hosil qiladi, shuning uchun oziq-ovqat toksikoinfeksiyalarini keltirib chiqarishi mumkin.

Clostridium putrificum – hujayra uchida joylashgan oval sporalarga ega yirik, gammusbat tayoqcha. Mikrob proteolitik bakteriyalar guruhiga kiradi, oqsillarni vodorodsulfid va ammiakgacha parchalaydi "chiriyotgan pishloq" hidini beradi.

Clostridium sporogenes – uzunligi 3-4 mkm va diametri 0,9 mkm, uchlari dumaloq harakatchan tayoqcha. Yirik oval sporalar hujayra markazida joylashgan. Sporalarning tez hosil bo'lish xususiyati mavjud (o'sishning dastlabki sutkalarida). Uglevodlarni kislota va gaz hosil qilib bijg'itadi. Oqsillarni parchalashda ko'p miqdorda vodorod sulfidining ajralishi kuzatiladi. O'sishning optimal harorati 35 ^{0}C dan 40 ^{0}C gacha, minimal harorat 8 ^{0}C. Go'sht, baliq, sabzavot konservalarining aynishiga sababchi bo'ladi.

Clostridium botulinum - (3,4-8,6)x(1,0-1,3) mkm. o'lchamdagi yirik tayoqchalar, grammusbat, spora hosil bo'lguniga qadar harakatchan, kapsula hosil qilmaydi. Sporalar terminal ravishda joylashgan. Sporali hujayralar tennis raketkasi, qayiqcha, qoshiq ko'rinishiga ega (14.10 rasm).



14.10 rasm. ***Clostridium botulinum***

C. botulinum ikkita ekzotoksin: neyrotoksin va gemolizin hosil qiladi. Oziq-ovqat mahsulotlarida neyrotoksinning yig'ilib qolishi og'ir zaharlanishga, hatto o'limga olib kelishi mumkin.

Nazorat savollari.

1. Yuqori proteolitik faollikka ega bakteriyalar oziq-ovqat mahsulotlarining qanday turdagi aynishlariga sababchi bo'ladi?
2. Ta'rifi keltirilgan bakteriyalardan qaysilari oziq-ovqatdan zaharlanishga olib keladi?
3. Basilla va klostridiyalar havo kislorodiga qanday munosabatda bo'ladilar.
4. Endosporalar hosil qiluvchi va hosil qilmaydigan bakteriyalar turlarini ayting
5. Ko'rsatilgan turlarning qaysilari *Enterobacteriaceae* turiga mansub?
6. *Pseudomonas* turi va ularning tavsifi.
7. *Bacillus* turi vakillari va ularning tavsifi.
8. *Clostridium* turi vakillari va ularning tavsifi.

15. OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARINING MIKROBIOLOGIK TEKSHIRUVI

Tayanch so'z va iboralar: Mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar miqdori. Oziq-ovqat mahsulotlarida ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari (ITGB), Kessler muhiti, Endo muhiti, Ekzo muhiti.

15.1. Mezofil aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar miqdorini aniqlash (MAFAnMM)

Oziq-ovqat mahsulotlarining mikrobiologik tekshiruvi MAFAnMMni aniqlash maqsadida ularni Petri likopchalaridagi ozuqa muhitlari (go'sht-pepton agar)ga ekish yoki mikroorganizmlarning alohida guruhlarini elektiv ozuqa muhitlariga ekish bilan amalga oshiriladi. Mikroorganizmlarning miqdori 1 sm^3 suyuq mahsulotda yoki 1 gr. zich mahsulotda aniqlanadi.

O'rta namunani tanlash. Mahsulot partiyasini tekshirishda o'rta namuna tanlanadi. Turli oziq-ovqat mahsulotlari uchun tanlanadigan o'rta namunalar meyori va ularni tanlash qoidalari o'rnatilgan. Lekin barcha hollarda tekshirilayotgan mahsulot begona mikroorganizmlar bilan kontaminatsiya qilinishiga yo'l qo'ymaslik uchun barcha sharoitlar yaratilishi zarur.

Tekshirish jarayonida suyuq va yarimsuyuq mahsulotlar (sut, smetana, souslar va boshq.) yaxshilab aralashtiriladi va steril idishga 50-100 sm^3 hajmdagi steril cho'mich bilan olinadi. Zich mahsulotlar (go'sht, kolbasa, baliq, qandolat mahsulotlari va boshq.) namunalari mahsulotlarning turli qatlamlaridan olinadi. Tekshiriluvchi joylarning yuzasi avval qizdirilgan pichoq bilan kuydiriladi va shu iz bo'yicha steril skalpel bilan kesiladi. Kesilgan joy steril pinset bilan ochilib, steril qaychi bilan mahsulotning kichkina bo'lagi olinadi. Shunday tarzda turli qismlardan olingan namunalar maydalanib, steril idishga solinadi va ulardan o'rta namuna tuziladi.

Sariyog', tvorog, pishloq kabi mahsulotlarning o'rta namunasini tanlashda mahsulotning bir chetidan boshqa chetiga chuqur va qiyalatib kirgiziladigan steril qisqich – ichi kovak sterjendan foydalaniladi. Keyin steril skalpel bilan tanlangan

namunaning bir necha joyidan bo'lakchalar olinib, maydalanadi va steril idishga solinadi.

Namunani tekshirishga tayyorlash. Zich mahsulotlarni tekshirishda o'rta namunadan 1 grammdan 10 gramm miqdorgacha olinib steril havonchaga solinadi va yaxshilab eziladi. Agar mahsulot juda zich bo'lsa, u oldin qizdirilgan kvars qumi solingan hovonchada eziladi. Ezilgan mahsulot 90 dan 99 sm^3 gacha miqdordagi fiziologik eritma (0,5% li natriy xlorid eritmasi) solingan kolbaga solinadi. Kolba 5 daqiqa davomida ehtiyotkorlik bilan chayqatiladi. Kolbada mahsulotning birinchi aralashmasi (1:10) hosil bo'ladi. Undan keyingi aralashmalar tayyorlanadi.

Sariyog' namunasi 45 ^0C dan yuqori haroratda suv hammomida eritiladi. Shundan so'ng 9sm^3 fiziologik eritmaga steril pipetka bilan 1 sm^3 mahsulot solinib, 1:10 aralashma tayyorlanadi.

Suyuq va yarimsuyuq mahsulotlarni tekshirish uchun olingan o'rta namunadan yaxshilab aralashtirilgandan so'ng steril pipetka bilan 1 sm^3 mahsulot olinib, 9 sm^3 steril fiziologik eritmasi bor bo'lgan probirkaga solinadi.

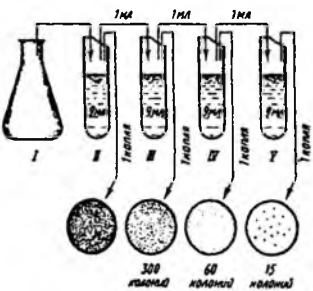
Mahsulotning birinchi aralashmasi yangi steril pipetka bilan yaxshilab aralashtiriladi. Bunda olingan eritma pipetkaga olinib va undan chiqarilib turiladi. Bu jarayon 3-5 marotaba bajarilib, xuddi shu pipetka bilan 1 sm^3 suspenziya olinadi va 9sm^3 steril fiziologik eritmali ikkinchi proobirkaga solinadi. Shunday qilib ikkinchi aralashma hosil bo'ladi. Pipetkaning ustidagi mikroorganizmlar yuvilib ketmasligi uchun uni suyuqlikka botirib bo'lmaydi.

Yangi steril pipetka bilan ikkinchi eritma yaxshilab aralashtiriladi, eritmadan 1 sm^3 olinib, 9 sm^3 steril suv solingan keyingi probirkaga o'tkaziladi va uchinchi eritma hosil qilinadi (1:1000). Xuddi shu usulda kerakli natija olingunicha keyingi aralashmalar tayyorlanadi.

Diqqat! Har bir eritmani tayyorlash uchun alohida steril pipetka ishlatiladi. Bu qonunga rioya qilmaslik noto'g'ri natijaga olib kelishi mumkin!

Petri likopchalariga ekish. MAFAnMMni aniqlash uchun zich muhitlarga chuqurlatib ekish usuli qo'llaniladi. Ekish sxemasi 15.1-rasmda keltirilgan.

Likopchalar qopqoqlarida steklograf bilan tekshirilayotgan variant va aralashma belgilanadi. Har bir aralashma kamida 2-3 ta parallel likopchalarga ekiladi. Aralashmalar shunday tanlanishi kerak-ki, likopchada 30 dan 300 tagacha koloniyalar o'sib chiqsin. Steril pipetka bilan mos aralashma suspenziyasidan 1 sm^3 olinib, 2-3 ta steril Petri likopchalariga solinadi. Eritma suspenziyasi solingandan so'ng likopchalarga 15 daqiqagacha bo'lgan muddatda ozuqa muhitlari solinadi. Buning uchun spirt lampasi olovi ustida ichida avval qizdirib, keyin 45-50 ^0C gacha sovutilgan ozuqa muhiti solingan probirka yoki kolbaning tiqini olib tashlanib, chetlari kuydiriladi. Keyin likopchaning qopqog'i kolba bo'yni kiradigan qilib ochiladi va ehtiyotkorlik bilan 10-15 sm^3 ozuqa agari solinadi. Uning qatlami 5 mm qalinlikda bo'lishi kerak. Likopcha qopqoq bilan yopiladi va shu zahoti aylanma harakatlar bilan ekilgan material solingan ozuqa muhiti aralashtiriladi va muhit sovushi uchun 10-15 daqiqa gorizontal holda qoldiriladi. Ekilgan namunali likopchalarning teskarisi o'chiriladi va 37±1 ^0C haroratda 24-48 soat mobaynida termostatda saqlanadi.



15.1-rasm. MAFAnMMni aniqlash uchun mahsulotni ekish sxemasi.

O'sib chiqqan koloniyalarni hisoblash. Inkubatsiyadan keyin 30 tadan 300 tagacha koloniyalar o'sib chiqqan likopchalar tashlanadi, ular vizual tarzda yoki koloniyalarni hisoblovchi mahsus asbob yordamida sanaladi. Koloniyalarni hisoblashda likopchalar o'tayotgan yorug'likda ko'riladi va sanalgan koloniyalar

siyoh yoki tush yordamida belgilanadi. Agar maksimal aralashmali likopchada 300 tadan ortiq koloniya o'sib chiqsa, ularni lupa yoki orgsteklodan yasalgan 1 sm tomonli kvadrat to'r yordamida yonlama yoritilgan tarzda ko'rish mumkin. Koloniyalarni hisoblash kamida 20 kvadratda amalga oshiriladi, ularning 1 sm^2 dagi o'rtacha soni topiladi va muhitning likopchadagi yuzasi kattaligiga ko'paytiriladi.

1 sm^3 (yoki 1 g) mahsulotdagi mikroorganizmlar miqdori MAFAnMM o'sib chiqqan koloniyalar sonining aralashma ko'rsatkichi (n) ga ko'paytmasiga teng:

$$MAFAnMM = N\ 10^n\ KOE/sm^3$$

Izoh. Anaerob mikroorganizmlar likopchali usul bilan aniqlanmaydi, chunki ularni o'stirish uchun anaerob sharoitlar yaratish kerak. Anaeroblar kultivatsiyasi anaerostatlarda amalga oshiriladi (4.1-rasmga qarang) yoki redutsirlovchi moddalari mavjud bo'lgan ozuqa muhitlari ishlatiladi.

15.2. Oziq-ovqat mahsulotlarida ichak tayoqchalari guruhi bakteriyalari (ITGB)ni aniqlash

Oziq-ovqat mahsulotlarida ITGBni aniqlash O'zDSt ga ko'ra aniqlanadi. Oziq-ovqat mahsulotlari. Ichak tayoqchalari (koliform bakteriyalari) guruhi bakteriyalari turi va sonini aniqlash usullari. ITGBlarni aniqlash usuli mahsulot ma'lum miqdori suyuq ozuqa muhitlariga ekilganida gaz va kislotaning hosil bo'lishiga asoalangan. Bu muhitlar tarkibida laktoza bo'lib (Kessler muhiti), keyinchalik o'sib chiqqan mikroorganizmlar morfologik va kultural belgilariga ko'ra ichak tayoqchalari guruhiga kirishi tasdiqlanadi.

ITGB mavjudligini tekshirish bir necha bosqichda boradi:

I-bosqich – mahsulot aralashmalarini tayyorlash. Agar mahsulot zich bo'lsa (kolbasa, pishloq, sariyog', tvorog va boshq.), natijada uning ma'lum massasida (gramm) ITGB yo'qligi tasdiqlanadi. Agar mahsulot suyuq bo'lsa (sut, sut-qatiq ichimliklari, sok va boshq.) unda ITGBlar uning ma'lum hajmida bo'lishi kerak (sm^3 yoki dm^3).

II-bosqich – ma'lum miqdordagi mahsulot yoki uning aralashmasini Kessler muhitiga ekish. Kessler muhiti poplavok (bir uchi kavsharlangan oyna naycha) solingan probirka yoki kolbalarga solinadi. Sterillashdan so'ng poplavok muhit bilan to'ldiriladi.

Kessler muhiti mavjud probirkalarga mahsulotning mos aralashmalari (10^{-1}; 10^{-2}; 10^{-3}) 1 sm^3 miqdorda solinadi va 37±1 ^0C haroratda termostatga qo'yiladi. 24 soat inkubatsiya qilinganidan so'ng namunalar ko'rib chiqiladi va poplavokda gaz hosil bo'lishi, muhitning binafsharangdan sariq-yashil rangga o'zgarishi qayd etiladi. Qaysi aralashmalarda gaz hosil bo'lgani yozib olinadi.

III-bosqich – Kessler muhitida o'sib chiqqan mikroorganizmlar ITGBga tegishli ekanini tasdiqlash. Kessler muhiti solingan probirkalardan bijg'itilganlarini tanlab, ilgak bilan izolyatsiyalangan koloniyalar olish uchun Endo zich muhitiga ekiladi. Buning uchun Petri likopchalari tubini qalam bilan 4-8 ta sektorlarga bo'linadi. Har bir probirkadan alohida sektorga namuna ekiladi. Bakteriologik ilgak bilan probirkadan tekshirilayotgan materialning minimal miqdori olinadi va sektorda zigzagsimon shtrix usuli bilan ekiladi. Bunda ilgak agar yuzasidan uzilmaydi va uning butunligi buzilmaydi. Petri likopchalariga kerakli yozuvlar yozilib, 37±1^0C haroratda 18-24 soat termostatga qo'yiladi (qopqoqlari ustida).

Inkubatsiyadan so'ng likopchalar ko'rib chiqiladi. Ichak tayoqchasi guruhidagi bakteriyalar Endo muhitida yaltiroq yoki yaltiroq bo'lmagan qizil yoki pushti koloniyalar hosil qiladi. Bakteriyalar o'sishining bunday tabiati fuksin indikatorini tiklaydigan kislota hosil bo'lishi va laktozaning bijg'ishi bilan tushuntiriladi. Fuksin indikatori koloniyalarni qizil rangga kiritadi.

Tipik koloniyalardan Endo muhitida preparatlar tayyorlanadi, ular Gram usulida bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi. Agar preparatda mayda grammanfiy spora hosil qilmaydigan tayoqchalar topilsa, bir vaqtning o'zida oksidaz test o'tkaziladi. Mahsulotda topilgan mikroorganizmlar ITGBga mansub ekanligi haqida xulosa ekilgan namunalarda garmmanfiy, sporalar hosil qilmaydigan, laktozani 37±1^0C haroratda kislota va gaz hosil qilib bijg'itadigan, testga javob bermaydigan tayoqchalar topilishi asosida qilinadi. Bunda mahsulot massasi

(grammlarda) yoki hajmi (sm^3 larda) ko'rsatiladi. Endo muhitida ITGBlarga xos bo'lgan koloniyalar bo'lmasa, mahsulot ichak tayoqchalari bilan zararlanmagan deb hisoblanadi.

15.3. Achitqi va mog'or miqdorini aniqlash

Oziq-ovqat mahsulotlarida achitqi va mog'or miqdorini aniqlash uchun mos aralashmalarni Petri likopchalariga solib, ustida erigan va 45-50 °C gacha sovitilgan suslo-agar (SA) yoki Saburo muhiti quyiladi.

Likopchalardagi aralashma aylanma harakat bilan aralashtiriladi va 10-15 daqiqa sovitiladi. Shundan so'ng 30±2 °C haroratdagi termostatga 2-3 sutka qo'yiladi. Inkubatsiyadan so'ng o'sib chiqqan mog'or va achitqi koloniyalari miqdori hisoblanadi. Natija KDE/sm^3 (yoki gramm)larda ifodalanadi.

Nazorat savollari

1. MAFAnMM nima?
2. Mikroorganizmlar miqdorini aniqlashda nima uchun oziq-ovqat mahsulotining aralashmasi tayyorlanadi?
3. MAFAnMM, achitqi va mog'orlarni aniqlash uchun qanday ozuqa muhitlari ishlatiladi?
4. Oziq-ovqat mahsulotlarida ITGBni aniqlash qanday bosqichlardan tashkil topgan?
5. Oziq-ovqat muhitlarida ITGBni aniqlashda qanday muhitlar ishlatiladi?
6. ITGBning Kessler muhitida o'sishi qaysi belgilarga ko'ra aniqlanadi?
7. Endo muhitida ITGB koloniyalari qanday ko'rinishga ega?
8. Qaysi holda oziq-ovqat mahsulotida ITGB mavjud degan xulosa beriladi?

ILOVALAR

Mikrobiologik amaliyotda ishlatiladigan ozuqa muhitlari va reaktivlar

Ko'p ozuqa muhitlarining asosi – go'shtli suv, achitqilar uchun pivo suslosi, oziqlanishga muhtoj sut bakteriyalari uchun – quyultirilgan sut, ba'zilari uchun – jigar qaynatmasi, Xottinger qaynatmasi va boshq.

1. Mezofil va termofil aerob va fakultativ-anaerob mikroorganizmlarni kultivatsiya qilish uchun muhitlar

1.1. Go'sht-peptonli bulon (GPB)

GPBni tayyorlash uchun avval go'shtli suv tayyorlanadi. Bu maqsadda suyak, yog', paylari olib tashlangan mol go'shti maydalanadi yoki qiymalagichdan o'tkaziladi. Maydalangan go'shtga 500 gramm go'sht – 1dm^3 suv hisobida suv quyiladi va 12-18 soatga muzlatgichga qo'yiladi. Ertasiga aralashma olovda sekin qizdiriladi va 15-20 daqiqa davomida vaqti-vaqti bilan aralashtirilib, qaynatiladi. Sovigan massa paxta-dokali filtrdan o'tkaziladi va boshlang'ich hajmgacha yana suv quyiladi. Olingan go'shtli suvga 1% pepton, 0,5 % natriy xlorid, kerakli miqdorda pH olish uchun to'yingan natriy gidrokorbonat yoki 10 % li natriy gidroksidi eritmasi quyiladi. 121±1°C haroratda 15-20 daqiqa davomida sterillanadi.

1.2. Go'sht-peptonli agar (GPA)

1 dm^3 miqdordagi GPB (go'sht-peptonli bulon) ga sterillashdan oldin 20 gramm agar qo'shib, agar butunlay erib ketgunicha past olovda qizdiriladi. Issiq GPA paxta-dokali filtr orqali o'tkaziladi, pH 7,2-7,4 oralig'ida o'rnatiladi, kolba yoki probirkalarga solinib, 20 daqiqa davomida 121±1°C haroratda sterillanadi.

GPAni mikrobiologik sanoat korxonalarida ishlab chiqariladigan quruq ozuqa agaridan tayyorlasa bo'ladi. Buning uchun 50 gramm quruq ozuqa agari

kukuni 1dm³ sovuq vodoprovod suvi solingan yopiq idishga solinadi va past olovda agar butunlay erib ketgunicha 1-2 daqiqa davomida aralshtirilib qaynatiladi.

1.3. Glyukoza va achitqi ekstraktli go'sht peptonli agar

1dm³ go'sht peptonli buloni (agar)ga sterillashdan oldin 10 gramm glyukoza va 2 gramm achitqi ekstrakti (yoki 10 sm³ eritmasi) qo'shiladi. Muhit pH 7,0 dan 7,2 gacha oraliqda o'rnatiladi va 121±1°C haroratda 20 daqiqa davomida sterillanadi.

1.4. Achitqi ekstrakti

100 gramm presslangan non achitqisi maydalanib, ustidan 500 sm³ miqdordagi qaynab 60 °C gacha sovitilgan vodoprovod suvi quyiladi. Aralashma 58-60 °C haroratdagi termostatga 72 soatga qo'yiladi va har kuni 1-2 marotaba silkitib turiladi. Bunda achitqi hujayralarining avtolizi sodir bo'ladi, hujayra fermentlari murakkab moddalarni gidrolizlaydi va achitqi massasi suyuladi. Achitqi ekstrakti filtrlanadi ozgina porsiyalarga ajratib quyiladi va 121±1°C haroratda 15 daqiqa davomida sterillanadi. Ishlatishga tayyor ekstraktni muzlatgichda saqlagan ma'qul.

2. Achitqi va mog'or zamburug'larini o'stirish uchun muhitlar

Oziq-ovqat mahsulotlaridagi achitqi va mog'or zamburug'larini aniqlash va miqdoriy hisoblash uchun ozuqa muhitlari ishlatiladi. Ularning selektivligiga pHning past miqdori va bakterial florani kamaytirish uchun keng ta'sirli antibiotiklar (tetrasiklin, levomitsetin, neomitsin va boshqalar)ni kiritish bilan erishiladi.

2.1. Saburo muhiti

1 dm³ distillangan suvga 18 gramm agar qo'shiladi va uni 30 daqiqaga qoldirib, so'ng 40 gramm glyukoza va 10 gramm pepton qo'shiladi. Aralashma past olovda agar butunlay erib ketgunicha qizdiriladi. Erigan muhit paxta-dokali filtrdan o'tkazilib, pH shunday o'rnatiladi-ki, sterillashdan keyin uning miqdori

6,5-6,6 ni tashkil etsin. So'ng kolbalarga quyiladi va 121±1°C haroratda 15 daqiqa davomida sterillanadi.

Saburo muhiti antibiotikli muhitlar tayyorlashga asos sifatida ishlatiladi. Antibiotiksiz muhit konserva mahsulotlarining sanoatdagi sterilligini tekshirishda qo'llanilishi mumkin.

2.2. Qulmoqlantirilmagan pivo suslosi

Tayyor qulmoq solinmagan pivo suslosi quruq moddalar ulushi 7-8% bo'lgunicha suv bilan aralashtiriladi. Kolba yoki probirkalarga solinadi va 116±1 °C haroratda 20 daqiqa davomida sterillanadi.

2.3. Suslo-agar

1dm³ pivo suslosining suv bilan aralashmasiga 20 gr agar qo'shiladi. Muhit suv hammomida eritiladi va paxta-dokali filtr orqali o'tkaziladi. Filtrdan o'tkazilgan aralashma kolba yoki probirkalarga solinib 116 °C haroratda 15 daqiqa davomida sterillanadi.

3. Ichak tayoqchasi guruhi bakteriyalarini o'stirish uchun muhitlar

3.1. Endo muhiti

100 sm³ go'sht – peptonli agar (pH-7.4) eritilib, 70 °C haroratgacha sovitiladi. Steril probirkada ozgina distillangan qaynagan suv bilan eritilgan 1 gr laktoza qo'shiladi.

Alohida probirkalarda 2-3 sm³ asosiy fuksinning to'yingan spirtli eritmasi, 10% li natriy sulfit eritmasining 10 sm³ miqdori tayyorlanadi.

Steril probirkaga 1 sm³ fuksin o'lchab solinadi va fuksinning rangi o'chgunicha (och pushti rang) natriy sulfat eritmasi qo'shiladi. Tayyorlangan aralashma erigan agarga quyiladi, yaxshilab aralashtirilib, likopchalarga solinadi. Issiq agar och pushti rangda bo'lib, qotganida rangsiz bo'lib qoladi.

Endo muhiti mikrpobiologik sanoatda quruq kukun ko'rinishida ishlab chiqariladi. Muhit ishlatiladigan kunida yorliqda ko'rsatilganidek tayyorlanadi.

3.2. Eykmanning glyukozopeptonli muhiti

100 sm^3 suvda 10 gr pepton, 5 natriy xlorid eritiladi, aralashma qaynagunicha qizdiriladi, filtrlanadi, 10 gr glyukoza qo'shiladi, pH 7.4-7.6 qilib o'rnatiladi, poplavokli probirka yoki flakonlarga quyiladi va 0.05 MPa bosim ostida 20 daqiqa davomida sterillanadi.

3.3 Kessler muhiti.

1 dm^3 10 gr pepton, 50 sm^3 buqa o't pufagi suyuqligi qo'shiladi. Aralashma peptonning to'liq erigunicha aralashtirib qaynatiladi, paxta orqali filtrlanadi, 2.5 gr laktoza eritiladi, hajm 1 dm^3 gacha oshiriladi va muhit reaksiyasi o'rnatiladi (pH 7.4-7.6). keyin 2 sm^3 gensianviolet qo'shiladi, poplavokli probirka yoki kolbalarga quyiladi va 121 ^0C haroratda 15 daqiqa davomida sterillanadi.

Kessler muhiti mikrobiologik sanoatda quruq kukun ko'rinishida ishlab chiqariladi. U laboratoriyada yorliqda ko'rsatilganidek tayyorlanadi.

3.4. Simmons muhiti

Bu muhit enterobakteriyalarning sitratlarni yo'qotish qobilyatini aniqlashga mo'ljallangan.

Muhit tarkibi	g/dm^3
Ammoniy fosfat	1.6
Dinatriy fosfat	1.1
Magniy sulfat	0.2
Natriy sitrat	3.2
Natriy karbonat	0.05
Ko'k bromtimol (suvda eruvchi)	0.05
Natriy xlorid	6.0
Agar	9.0

Tayyorlash muhit komponentlari distirlangan suvda eritiladi, agar to'liq erigunicha 2-3 daqiqa davomida qaynatiladi. Muhitning pH 7.0-7.2. Muhit

probirkalarga 4 sm^3 miqdorda solinib, 112 °C haroratda 20 daqiqa davomida sterillanadi. Ishlatishdan avval agar suv hammomida probirkalarda eritiladi va egilgan holda sovitiladi. Tayyor muhitning rangi yashil zaytun rangida bo'ladi.

Ekish va natijalarni o'rganish. Simmonsning sitratli agariga mikroorganizmlar o'stirilgan muhit mavjud bo'lmagan ekish materialining kichik miqdori qo'shiladi. Nazorat probirkasiga hech narsa ekilmaydi. Ekilgan namunalar 37 °C haroratda inkubatsiya qilinadi. Natijalar har 24 soatda 5 sutka davomida qayd qilib boriladi. Sitratlarni yo'qotish qobilyatiga ega bo'lgan mikroorganizmlar Simmons muhitida o'sadi va uning rangini yashildan ko'kka o'zgartiradi (musbat reaksiya), sitratlarni yo'qotish qobilyatiga ega bo'lmagan mikroorganizmlar bu muhitta o'smaydi va uning rangini o'zgartirmaydi (manfiy reaksiya).

3.5. Mak-Konki agari

Muhit *Enterobacteriaceae* oilasi bakteriyalarini aniqlash uchun ishlatiladi. Muhitta mavjud bo'lgan o't suyuqligi o't tuzlari va kristall binafsharang mikrofloraning o'sishini kamaytiradi.

Muhit tarkibi

Pepton	1,5
Jelatinning pankreatit gidrolizati	17,0
Laktoza	10,0
Natriy xlorid	5,0
O't kislotalarining tuzlari	1,5
Kristall binafsharang	0,001
Neytral qizil	0,03
Agar	13,5

Tayyorlash ingridientlar suvda aralashtirilib, 1 daqiqa davomida qaynatilib, eritiladi. Muhit pH 7.1±0.2 qilib o'rnatiladi. Muhit kolbalarga solinadi, paxta-dokali tiqinlar bilan berkitiladi, ustidan qog'oz qopqoqlar yopiladi va 121 °C haroratda 15 daqiqa davomida sterillanadi.

Ekish va natijalarni o'rganish. Izolyatsiyalangan koloniyalarni olish uchun ekish shtrix usuli bilan amalga oshiriladi. Petri likopchalari 37 °C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi.

Escherichia coli – koloniyalari qizil; *Klebsiella mobilis* – pushti; enterokokklar – qizil mayda, dumaloq; stafilokokklar – och pushti; noshaffof; *Pseudomonas aeruginosa* – yashil-jigarrang, flyuorossensiyalanuvchi.

4. Anaeroblarni o'stirish uchun muhitlar

4.1. Vilson-Bler muhiti

Muhit mezofil anaerob mikroorganizmlarning hususiyatini, xususan oziq-ovqat mahsulotlaridagi *Clostridium perfringens*ni aniqlash uchun ishlatiladi.

Muhit asosining tarkibi	sm^3
Temir ammoniyli achchiqtosh – 50 dm^3 konsentratsiyali eritma	1
Natriy sulfidi – 200 dm^3 konsentratsiyali eritma	10
10 dm^3 glyukoza solingan go'sht-peptonli agar	100

Tayyorlash. Temir ammoniyli achchiqtosh va natriy sulfiti eritmalari sterill distillangan suvda tayyorlanadi. Natriy sulfiti eritmasi oquvchan bug'da 1 soat davomida sterillanadi. Glyukoza qo'shilgan 10 ml erigan va 80 °C haroratgacha sovitilgan GPAga 10 ml natriy sulfiti va 1 ml temir ammoniyli achchiqtosh eritmasi qo'shiladi. Muhit pH 7,5-7,8 qilib o'rnatiladi. Muhit Petri likopchalariga quyiladi.

Ekish va natijalarni o'rganish. Infitsirlangan materialni ekish va yig'uvchi muhitdan ekish ikki qatlamli usul bilan amalga oshiriladi. Sulfitredutsirlovchi klostridiyalar temir sulfidi hosil bo'lishi natijasida qora koloniyalar tashkil qiladi.

5. Gram usuli bilan bakteriyalarni bo'yash uchun bo'yoqlar va reaktivlar

5.1. Binafsharang gensianning fenolli eritmasi. Binafsharang gensian – 1 gramm; 96% li etanol – 10 sm^3; kristallik fenol – 2 gramm; distillangan suv – 100 sm^3 gacha.

5.2. Lyugol eritmasi. Kaliy yodit – 2 gamm; kristallik yod – 1 gramm; distillangan suv – 300 sm^3 gacha. Avval 5 sm^3 suvda kaliy yoditining konsentratsiyalangan eritmasi tayyorlanib, unda yod eritiladi. Keyin 300 sm^3 gacha suv qo'shiladi.

5.3. Pfeyfer fuksini. Sil fuksinining suvli eritmasi; Sil karbol fuksinidan 1 sm^3 va 9 sm^3 distillangan suv.

5.4. Sil fuksini. Sil fuksinini tayyorlash uchun 1 gramm asosiy fuksin 96% li etanolning 10sm^3 miqdorida eritiladi va suvda eritilgan 5 gramm fenol va bir necha tomchi glitserin qo'shiladi. Distillangan suv bilan eritma hajmi 100 sm^3 gacha ko'paytiriladi va bir necha kunga qoldiriladi. Ishlatishdan avval u filtrdan o'tkaziladi.

GLOSSARIY

Termin	*Definition in English*	*Termin*	*O'zbek tilidagi ma'nosi*
Acid tolerance response	The response of cells to an initial acid treatment which allows them to survive more severe acid treatments. Abbreviated ATR.	Kislotaga nisbatan chidamlik	Hujayralami kislota bilan ishlov berilganda tirik qolish xossasi. Qisqartirilgan nomi ATR.
Adenosine triphosphate	A compound that serves as cellular energy currency. Abbreviated ATP.	Adenozintrifosfat	Hujayrani energetik manbai kompleksi bo'lib xizmat kiladi. Qisqartma nomi ATF.
Aerobe	An organism that requires oxygen to grow.	Aerob	O'sishi uchun kislorod talab etadigan organizm.
Aerobic plate count	A count that provides an estimation of the number of microorganisms in a food. Abbreviated APC.	Aeroblarni hisoblaydigan plastinka	Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi mikroorganizmlarni hisoblashni ta'minlaydi. Qisqartma nomi APC.
Anaerobe	An organism that cannot grow in the presence of air.	Anaerob	Havo ishtirokida yashay olmaydigan organizm.
Antigenic	Capable of eliciting an immune (antibody) response. Small molecules may be nonantigenic. Large molecules may have several antigenic sites	antigenli	Immun javobini (antitelani) berish xususiyatli modda. Kichik molekulalari nanoantigenli bo'lishi mumkin. Katta molekulalar bir qancha antigenli saytlari bo'lishi mumkin.
AOAC International	An organization involved in validation of testing methods. Formerly the Association of Official Analytical Chemists.	Xalqaro AOAS	Testlarni qonunlashtirishda ishtirok etuvchi uyushma. Oldin ximik-analitiklarni rasmiy assotsiatsiyasi bo'lgan.
APC	*See* Aerobic plate count	APC	Aeroblarni hisoblaydigan plastinka
Ascospore	A heat-resistant reproductive fungal spore	Askospora	Zamburg'li issiklikga chidamli qayta tiklangan spora

ATP	*See* Adenosine triphosphate.	ATF	adenozintrifosfat
ATR	*See* Acid tolerance response	ATR	Kislotaga javoban chidamli
Attaching and effacing lesions	Lesions that occur when a bacterium (e.g., *Escherichia coli* 0157:H7) adheres to the surface of an intestinal epithelial cell, resulting in loss of microvilli (effacement).	Bog'lanadi va jaroxatni o'chiradi	Ichak (Ichak tayoqchalari 0157: N7) hujayralarini epiteliya yuzasiga yopishgandagi jaroxat mikrovorsinkalarni yo'kolishiga olib keladi (yumshatish bilan).
Autoxidation	The spontaneous oxidation of a substance	Antioksidant	Moddalarni o'z xolicha oksidlanishi
a_w	Water activity	a_w	Suvning faolligi
Bacteremia	The presence of bacteria in the blood.	Bakteriyamiya	Bakteriyalarni qonda mavjudldigi.
Bureau of Alcohol, Tobacco, Firearms and Explosives	An agency of the US. Department of Justice that has regulatory authority over beer, wine, and liquor (as well as firearms, explosives, and tobacco).	Spirtli ichimliklarni, tamaki, qurol va portlovchi moddalar byurosi.	AQSH agentligi. Spirtli ichimliklarni, tamaki, qurol va portlovchi moddalarni boshqaruvchi organ.
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	CDC	Kasalliklarni nazorat qilish va oldini olish markazlari
Centers for Disease Control and Prevention	The agency within the Department of Health and Human Services that tracks foodborne illness and helps solve outbreaks. It has no regulatory authority. Abbreviated CDC.	Kasalliklarni nazorat qilish va oldini olish markazlari	Departament doirasida sog'likni saklash va xizmat ko'rsatish vazirligi qoshidagi, oziq-ovqat mahsulotlari asosida yuz beradigan kasalliklarni kuzatish va keng tarqalmaslini xal qilish xizmati. Qiskartma nomi CDC.
CFU	Colony-forming unit.	CFU	Koloniya hosil qiluvchi birlik
Chelate	To bind ions.	Xelat	Ionlarni bog'lovchi
Chlamydosp	Asexually produced	Xlamidospor	Jinssiz tinch sporalarni

ores	resting spores of certain fungi.	alar	hosil qiluvchi muayyan zambrug'.
-cidal	A suffix indicating the ability to kill.	-sidal	O'ldirish xususiyatini ko'rsatuvchi qo'shimcha
Colony-forming unit	A colony on an agar plate that in theory arises from a single bacterial cell. Abbreviated CFU.	Koloniya hosil qiluvchi birlik	Nazariy jixatdan bitta bakteriya hujayrasidan agarli plastinkasida paydo bo'ladiga koloniya. Qiskartma nomi CFU.
Commercial sterility	A level of sterility that indicates that an item is free of organisms that can cause illness	Tijoriy sterillik.	Kasal qilmaydigan, organizmlardan xoli sterillik darajasi.
Compatible solutes	"Harmless" compounds which cells accumulate to quilibrate their internal water activity with the water activity of the environment	Mos keluvchi	«Zararsiz» birikma bo'lib, ichki suv faolligini tashqi muhitdagi bilan muvozanatlash uchun hujayrada to'planadi.
Cortex	The spore structure responsible for resistance properties, presumably through dehydration of the core.	Korteks	Yadroni suvsizlanishda qarshilik xossalariga javob beradigan spora.
Cucurbits	A group of plants that includes squashes, cucumbers, and pumpkins.	Qovoq	Baqlajon, qovoq va bodringni o'z ichiga olgan o'simlik guruxi.
Cytokines	Substances or compounds that are produced and secreted by cells of the immune system. These substances play a significant role in the immune response.	Sitokinlar	Hujayralarni immun sistemasida ishlab chiqariladigan sekretsiyalangan moddalar yoki birikmalar. Bu moddalar immun reaksiyasida muhim rol o'ynaydi
Cytotoxic	Lethal to cells.	sitotoksik	Hujayralarga halokatli
Differential media	Media that allow specific bacteria to be visualized (e.g., through a color reaction) among a	Differensial muhit	Muhitda bakteriyalarni boshqalari bo'lganda, muayyan bakteriyalarni ko'rishga (masalan, rangli reaksiya orqali) imkon

	population of other bacteria		beruvchi muhit.
Disulfide linkage	A covalent bond formed between two cysteine molecules in different parts of a protein; serves to stabilize the protein shape.	Disulfit bog'	Oqsillarni har xil joylarida ikki molekula sistein orasida hosil bo'ladigan kovalent bog'.
Emetic toxin	A toxin that causes vomiting	Qusish toksini	Qayt qildiruvchi toksin
Endospore	A bacterial spore formed in the body of the mother cell.	Endospora	Ona hujayrada organizmida hosil bo'ladigan bakterial spora
Endotoxin	A toxin structurally associated with the cell.	endotoksin	Hujayra strukturasi bilan bog'langan toksin
Enterocolitis	Inflammation of the lining of the intestine	enterokolit	Ichak shilimshik qavatini yallig'lanishi
Enterotoxin	A toxin that acts in the gastrointestinal tract	Enterotoksin om	Oshqozon ichak traktiga ta'sir etuvchi toksin
Environmental Protection Agency	A federal government agency that regulates food-related issues, such as sanitizer efficacy and pesticides. Abbreviated EPA.	Atrof muhitni himoyalash bo'yicha agentlik	Oziq-ovqat mahsulotlariga bog'lik savollarni, ya'ni dezinfikatsiya samarasi va pestitsidlarni boshqaruvchi Davlat Federal agenligi EPA.
EPA	Environmental Protection Agency.	**EPA**	Atrof muhitni ximoyalash bo'yicha agentlik
Epidemiology	The study of epidemics; it is used to determine the factors that lead to an outbreak of foodborne illness	Epidemiologiya	Epidemiyani o'rganish: Oziq-ovqat maxsuloltlari keltirib chiqaradigan kasalliklarni omilini bilish uchun ishlatiladi.
Exotoxin	An excreted toxin	Ekzotoksin	Toksinni sekretsiya qiladi.
Extrinsic factor	An external factor, such as temperature or atmosphere, that influences the ability of microbes to grow in a food.	Tashqi omil	Oziq-ovqat mahsulotlarida mikroblarni rivojlanishiga ta'sir etuvchi tashqi omil: harorat va atmosfera

Facultative	Having the ability to do something that is not the preferred mode. For example, a facultative anaerobe can grow in the absence of oxygen but grows better in its presence	fakultativ	Fakultativ anaerob kislorodsiz muhitda ham o'sati, lekin uni ishtirokida yaxshi o'sadi.
FDA	Food and Drug Administration	FDA	Oziq-ovqat va dorilarni nazorat qilish idorasi
Fecal-oral route	A route of disease transmission from fecal matter to the body via the oral cavity	Fekal-oral yo'l	Kasal yuqtirishni fekal materitalidan og'iz bo'shlig'iga o'tish marshruti
50% lethal dose	The concentration of a substance that will kill 50% of a population. Abbreviated LD_{50}	50% halokatli dozasi	50% organizmni o'ldirish konsentratsiyasi. Qisqartirilgan nomi LD
Food and Drug Administration	The U.S. government agency that has legal authority over all foods except meat, poultry, eggs, and alcohol. It is part of the Department of Health and Human Services. Abbreviated FDA	Oziq-ovqat va dorilarni nazorat qilish idorasi	AQSHni, xuquqiy xukumat agentligi bo'lib go'sht, paranda, tuxum va alkogoldan tashqari hamma oziq-ovqat mahsulotlari ustidan xuquqiy vakolatga ega. U sog'liqni saqlash va ijtioiy xizmati departamentini qismi hisoblanadi. Qiskartirilgan firmani nomi FDA
Food Safety and Inspection Service	The food safety regulatory arm of the U.S. Department of Agriculture. It inspects all meat and poultry processing plants. Abbreviated FSIS	Oziq-ovqat xavfsizligi va nazorat xizmati	Oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligini boshqaruvchi kuchi bo'lib AQSHni qishloq xo'jalik departamenti hisoblanadi. U hamma go'sht mahsulotlari turlarini, paranda va o'simliklarni qayta ishlashni o'z ichiga oladi. Oisqartirilgan nomi FSIS

Food safety objective	A quantitative goal for the frequency of a particular foodborne illness. Abbreviated FSO	Oziq-ovqat xavfsizligi maqsadi	Muayyan oziq-ovqat manbalaridan kasallik chastotasi uchun miqdor ob'ekti. Qisqartirilgan nomi FSO
FSIS	Food Safety and Inspection Service	FSIS	Oziq-ovqat xavfsizligi va nazorat xizmati
FSO	Food safety objective	FSO	Oziq-ovqat xavfsizligi maqsadi
GAPs	Good agricultural practices	GAPs	Yaxshi qishloq xo'jalik amaliyoti
Gastroenteritis	Broadly speaking, a disease or illness that originates in the gut.	Gastroenterit lar	Qo'pol qilib aytganda, kasallikni ortirish ichakdan boshlanadi.
GBS	Group B streptococcus	GBS	Streptokokklarning V guruhi
Generally recognized as safe	A legal classification of food additives in use before 1958; it includes additives affirmed as safe since that time. Abbreviated GRAS.	Umumiy xavfsiz deb e'tirof etilgan	1958 yildan oldin foydalanish uchun yuridik klassifikatsiyalangan ozuqaviy qo'shimcha; u o'ziga usha yildan xavfsiz deb e'lon qilingan qo'shimchalarni o'z ichiga oladi. Qisqartirilgan nomi GRAS.
Genetic fingerprinting	A nucleic acid-based technique that provides specific identification (a "fingerprint") of a microorganism	Genetik tamg'a	Muayyan mikroorganizmlarni identifikatsiyalash uchun nuklein kislota asosidagi uslub
Germinant	A compound that induces spore germination	Germinant	Sporalarni o'sishini indutsirlovchi birikma
Germination	The first irreversible step in the process by which a spore becomes a vegetative cell.	Germinatsiy a	Jarayonni birinchi qaytmas qadami bo'lib, buning natijasida spora o'suvchi hujayraga aylanadi
Glyco-	A prefix meaning "containing a sugar."	Glyuko-	Old qo'shimcha bo'lib, qand borligini bildiradi
GMP	Good manufacturing	GMP	Yaxshi ishlab chiqarish

	practices.		amaliyoti
Good agricultural practices	Prescribed practices, such as the use of potable water for rinses, prohibition against fertilizing with human manure, and good worker hygiene, that help ensure the microbial safety of food at the farm level. Abbreviated GAPs.	YAxshi qishloq xo'jalik amaliyoti	Bu amaliyot, ichimlik suvini chayish uchun ishlatish, inson axlatini o'git sifatida ishlatishni cheklash va ishchilarni gigienasini yaxshiligi, oziq-ovqat mahsulotlarini mikrobli xavfsizlikni xujalik darajasida ta'minlaydi. Qisqartirilgan nomi GAPs.
GRAS	Generally recognized as safe	GRAS	Umuman xavfsiz deb e'tirof etilgan
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point.	HACCP	Xavfli Tahlil Muhim Nazorat Nuqtalari (XTMNN)
Halotolerant	Able to tolerate high salt concentrations	Galotolerant	Tuzlarni yuqori konsentratsiyasiga bardosh qobiliyati
Hazard Analysis Critical Control Point	A proactive, prevention-oriented program that addresses food safety through the analysis and control of biological, chemical, and physical hazards. Abbreviated HACCP	Xavfli Tahlil Muhim Nazorat Nuqtalari	Oziq-ovqat mahsulotlarini biologik, kimyoviy va fizikaviy xavfsizligini ta'minlashga va profilaktikasiga yo'naltirilgan faol programma. Qisqartirilgan nomi XTMNN
Hemolysin	A compound that causes lysis of red blood cells.	Gemolizin	Qizil qon hujayralarini lizis qiluvchi birikma.
Hemolytic	Able to break open red blood cells.	Gemolitik	Qizil qon hujayralarni yorish xususiyati
Hemorrhagic colitis	A disease characterized by bloody diarrhea.	Gemorragik kolit	Kasallik qonli diareya bilan xarakterlanadi
Hermetically sealed	Sealed under a vacuum.	Germetik yopilgan	Vakuum ostida berkitiladi
Heterofermentative	Forming lactic acid, acetic acid, and ethanol as fermentation products.	Geteroferme ntativ	Fermentatsiya mahsuloti sifatida sut kislota, uksus kislota, hamda etanolni shakllantirish. Bu

	Also called heterolactic.		geterolaktik deb aytiladi.
Homeostasis	An attempt by a microorganism to maintain a constant intracellular state, e.g., maintenance of pH.	Gomeostaz	Kandaydir mikroorganizm bilan hujayra ichida doimiy xolatni, masalan pH ushlab turish
Homolactic	Forming only lactic acid as a fermentation product. Also called homofermentative.	Gomolaktik	Fermentatsiya mahsuloti sifatida faqat sut kislotani shakllantirish. Buni gomofermenttiv deyiladi
Host	An organism that provides an environment for a second organism to live in. In the case of foodborne pathogens, the host is the victim.	Mezbon	Ikkinchi organizmga yashashi uchun muhit yaratuvchi organizm. Oziq-ovqat patogenlari uchun, mezbon kurbon bo'ladi.
Immunocompromised	Having an immune system that is unable to combat normal disease processes.	Immuniteti zaiflashgan	Immun sistemasi bo'lib normal kasallik jarayoniga qarshi kurasha olmaslik xolati.
Inoculum (pl., inocula)	The bacteria initially present that initiate growth.	Inokulum (inokula)	Boshidan ozuqa muhitida bo'lgan bakteriyani o'sishini initsirlash.
Intrinsic factor	A property, such as pH or water activity, inherent in a food.	Ichki omil	Oziq-ovqatni xususiyati, pH yoki suvni faolligi.
Isoelectric point	The pH at which a protein has no net charge.	Izoelektrik nuqta	Oqsilni sof zaryadi bo'lmaydigan pH
Isolate	A strain of bacteria obtained ("isolated") from a specific site. Strains of the same species that are environmental or clinical isolates can be quite different.	Izolyat	Bakteriya shtammi ma'lum saytdan olinadi. SHtammni u yoki bu ko'rinishdagi izolyati ekologik va klinik har xil bo'lishi mumkin.
kGy	Kilogray	**kGy**	Kilogray
Kilogray	A unit of absorbed radiation equal to 1 joule of energy.	Kilogray	Energiyasi 1 djoulga teng yutilgan radiatsiya birligi, kGr.

	Abbreviated kGy.		
LD50	50% lethal dose.		
Low-acid food	A food with a pH of >4.6 and a water activity of >0.85.	Kam kislotali ozuqa mahsuloti	pH> 4,6 va suvni faolligi> 0,85 bo'lgan ozuqa mahsuloti.
Lyse	To break open.	Liz	Buzib ochish
Lysis	The breakage of cells.	lizis	Hujayrani yorish.
Lysozyme	An enzyme that degrades cell walls.	Lizotsim	Hujayra devorini buzuvchi ferment
MAP	Modified-atmosphere packaging.	MAR	Qadoqlashda modifikatsiyalangan havo
Meningitis	Inflammation of the tissue (meninges) surrounding the brain and spinal cord.	Meningit	Miya qobug'ini, to'qimasini va orqa miyani yallig'lanishi
Mesophile	An organism with an optimal growth range of 20 to 45°C.	mezofil	20 dan 45°C da o'sadigan organizm.
4-Methylumbellif eryl-β-D-glucuronide	A substrate used to determine production of β-D-glucuronidase by *Escherichiu coli* 0157H7. Abbreviated MUG.	4-metilubelli-ferilfosfat-β-D-lyukuroni-daza	Ichak tayoqchasi *Escherichia coli* 0157H7 dagi β -D-glyukuroni-dazani aniqlashda ishlatiladigan substrat. Qisqartirilgan nomi MUG.
Modified-atmosphere packaging	Storage or packing of foods in increased amounts of C02. Abbreviated MAP.	Qadoqlashda modifikatsiy alangan havo	Oziq ovqatni saqlashda yoki qadoqlashda SO_2 saqlash muddatini uzaytiradi
Monoclonal antibody	An antibody that detects a specific cell target.	monoklonal antitela	Nishon hujayrani topadigan antitela
Most probable number	A statistical method for estimating small populations of bacteria. Abbreviated MPN	Eng extimoliy son	Kam populyasiyali bakteriyalarni baholashni statistik usuli. Qisqartirilgan nomi MPN
MPN	Most probable number.	MPN	Eng ehtimoliy son
Mycotoxins	A generic term for the chemical toxins formed by fungi	mikotoksin	Zambrug'lar hosil qiladigan toksinlarning umumiy nomi
Necrotic	Dead	Nekrotik	O'lgan
Neurotoxin	A toxin that acts on	Neyrotoksin	Asabga ta'sir etuvchi

	nerves.		toksin
New-variant Creutzfeldt-Jakob disease	A human neurological disease caused by prions. Abbreviated nvCJD.	Kreytsfelda-Yakob kasalligini yangi nomi	Prionlar keltirib chiqaradigan nevrologik kasallik
nvCJD	See New-variant Creutzfeldt-Jakob disease	**nvCJD**	Kreytsfeld-Yakob kasalligining yangi nomi
Opportunistic pathogen	A bacterium that causes illness only in people with some preexisting medical condition	Patogen mikroorganizmlar	Faqat odamlarda tibbiy ko'rsatkichlari bilan oldindan bor kasal keltirib chiqaradigan bakteriyalar
Osmotolerant	Tolerant of conditions (i.e., high salt or sugar concentrations) where there is little available water (low water activity)	Osnotolerant	Kichik xajmdagi suv (suvning kam faolligi) bo'lgan muhitni tolerant sharti (ya'ni, tuzni yoki qandning yuqori konsentratsiyasi)
Outgrowth	The process by which a germinated spore becomes a vegetative cell.	o'sish	Rivojlanayotgan sporani o'sayotgan hujayraga o'tish jarayoni.
Pandemic	Epidemic over an especially wide geographic area	pandemiya	geografik keng maydondagi epidemiya
Pasteurization	A heat process designed to kill pathogens but not necessarily spoilage organisms	pasterizatsiya	Patogen mikroorganizmlarni yo'q qilish uchun issiqlik jarayoni, lekin mahsulotni zararlovchi organizmlar uchun shart emas.
Plasmid	A piece of circular DNA, separate from the chromosome, that contains genes for traits such as virulence, toxins, bacteriocin production, and various biochemical traits. Plasmids can be transmitted among different species of	Plazmida	O'zida belgilarni, virulent, toksinlarni, bakteriotsitlarni genini saqlagan, xromosomadan ajratilgan DNK xalqasini bir qismi. Plazmidalar bakterialar aro bir biriga o'tishi mumkin.

	bacteria		
Plasmolysis	Shrinkage of a cell due to water loss	Plazmoliz	Suvni yo'qolishi tufayli hujayralarni siqilishi
Poliomy	A degenerative disease of the muscles that causes paralysis. Also called polio.	poliomielit	Sichqonlarni falajga odib keluvchi degenerativ kasallik. Bu poliomielit deb ham aytiladi.
Polyclonal antibody	An antibody that detects many cellular targets.	Poliklonal antitela	Antitela, ko'p hujayra nishonlarini aniqlaydi
Pomaceous fruits	A group of fruits that includes apples and pears.	Danakli mevalar	Olma va nokni o'z ichiga olgan mevalar sinfi
Prion	An unusual type of protein which, by changing shape, causes transmissible encephalopathies	Prion	Oqsillarni g'ayri oddiy turi bo'lib, ko'rinishini o'zgartirib ensefalopatini berishga sabab bo'ladi
Prostration	An extreme state of exhaustion	Prostratsiya	CHarchoqni ekstremal xolati
Proteolytic	Producing enzymes that degrade proteins.	Proteolitik	Oqsillarni gidrolizlovchi fermentlarni ishlab chiqarish
Pseudoappendicular syndrome	A syndrome in which, in broad terms, an individual experiences symptoms commonly associated with appendicitis	Psevdo appendikulyarli sindrom	Appenditsitga bog'liqli umumiy alomatli sindrom
Psychrophile	An organism that "loves" to grow in the cold, has an optimum growth temperature of 15"C, and cannot grow at *30°C.*	psixrofil	Sovuqda o'sishni "xoxlovchi" organizm, o'sishning optimal harorati 15°C, lekin 30°C o'smaydi.
Psychrotroph	An organism that can grow in the cold but has an optimum growth temperature of >20"C and can grow at *30°C.*	psixrotrop	Sovuqda o'sishni "xoxlovchi" organizm, o'sishning optimal harorati >20°C, lekin 30°C haroratda ham o'sa oladi
Ready-to-eat food	A food that can be eaten without further cooking, such as deli	Iste'molga tayyor ovqat	Keyinchalik pishirmasdan iste'mol qilinadigan ovqat,

	meats.		go'shtli kolbasa.
Reiter's syndrome	An autoimmune disease characterized by arthritis and inflammation around the eye.	Reyter sindromi	Ko'z atrofida yallig'lanish va artrit xarakterlanadigan autoimmun kasalligi
rpoS genes	Genes that encode DNA-dependent RNA polymerase	rpoS genlar	DNK-bog'likli RNK polimerazani kodlovchi gen.
Saprophyte	An organism that survives by living off dead or decaying plant material.	saprofit	O'lgan yoki o'simlik xom ashyolarni parchalovchi organizmlar hisobiga tirik qoluvchi organizmlar
SASP	Small acid-soluble proteins.	SASP	Kislotada eruvchi kichik oqsillar
SEA	Staphylococcal enterotoxin A.	SEA	Stafilokokkli enterotoksin A.
Selective media	Media that select for the growth of specific bacteria by inhibiting the growth of other bacteria that may be present.	Tanlash muhiti	Ma'lum bakteriyalarni tanlab o'stirish uchun, boshqa bo'lishi mumkin bo'lgan bakteriyalarni ingibitorlari bor muhit.
Septicemia	A gross, whole-body infection	Septisemiya	Butun badanda tarqaladigan infeksiya
Serologica	Able to cause an antibody response	Serologik	Gumoral javob berish qobiliyati
Serotypes	Varieties of a bacterial species that respond to different antibodies	Serotiplar	Har xil antitelalarni jalb qiladigan bakteriya-larni xilma xil ko'rinishlari
Sigma factor	A protein that binds to a DNA-dependent RNA polymerase.	Sigma omil	DNK-bog'liq RNK polimeraza bilan bog'lanadigan oqsil.
Small acid-soluble proteins	Spore proteins that confer resistance properties. Abbreviated SASP.	Kislota eruvchi kichik oqsil	Qarshilik berish xususiyatli oqsil. Qisqacha SASP.
Sporadic	Occurring randomly.	sporadik	Tasodifiy sodir bo'lish
Sporulation	The process by which a vegetative cell forms and releases a spore.	Spora hosil bo'lish	Hujayrani o'sayotgan formalarini spora chiqarish
Staphylococcal enterotoxin	One serological type of staphylococcal enterotoxin. Abbreviated	Stafilokokli enterotoksin	Stafilokokni serologik turlarini enterotoksini. Qisqacha SEA

A	SEA		
-static	A suffix indicating the ability to inhibit or stop something	-statik	So'z qo'shimchasi bo'lib ingibirlash yoki to'xtatish xossasini beradi
Temperatur e abuse	The holding of food at temperatures that per- mit mi crobial growth, i.e., 40 to 140°F.	Harorat abuzisi	Ovqatni haroratda ushlashda, mikroblarni o'sishiga imkon beradi, ya'ni 40 dan 140 ° F gacha.
Tenesmus	The sensation of an urgent need to defecate while being un- able to do so.	tenezmus	Keyin qilib bo'lmaydigan xolat, tezda defekatsiya qilishni xis qilish.
Thermophil e	An organism that grows at high temperatures	Termofil	YUqori haroratda o'suvchi organizm
Transmissib le spongiform encephalop athy	A disease, such as scrapie, kuru, or "mad cow disease," that is caused by prions. Abbreviated TSE.	YUqadigan ensefalopati ya	Prionlar keltirib chiqaradigan skrepi, kuru va mollarni qutirish" kasalliklari. Qisqacha TSE.
TSE	Transmissible spongiform encephalopathy	TSE	Yuqadigan ensefalopatiya
Turkey "X" disease	A disease of turkeys for which the causal agent was not initially known.	Kurkani "X" kasalligi	Keltirib chiqarishi noma'lum bo'lgan kurkani kasalligi
USDA	U.S. Department of Agriculture	USDA	AQSH ni qishloq xo'jalik vazirligi
U.S. Department of Agriculture	A cabinet-level government department that has legal authority over meat, poultry, and eggs. Abbreviated USDA.	AQSH ni qishloq xo'jalik vazirligi	Go'sht, parranda va tuxum mahsulotlari bo'yicha yuridik maqomga ega bo'lgan ministrlar kobineti darajasidagi davlat boshqarmasi
Vehicle	A source or carrier	Transport vositasi	Manba yoki tashuvchi
Viable but nonculturab le	A term applied to cells that cannot be cultured by conventional methods but that still cause illness if	YAshovchan , lekin ko'paymaydi gan	An'anaviy usullar bilan o'stirib bo'lmaydigan, lekin organizmga tushganda kasallik keltirib chiqaradigan

	ingested. Abbreviated VNC.		hujayralarga ishlatiladigan termin. Qisqacha VNC.
Virulent	Causing illness.	xavfli	Kasallik ko'zg'atuvchi
VNC	Viable but nonculturable	VNC	Yashovchan lekin ko'paymaydi
Water activity	The measure of water available for microbial growth and chemical reactions, defined as the equilibrium relative humidity of a product. Abbreviated a_w.	Suv faolligi	Mahsulot namligiga nisbatan mikroorganizmlarni o'sishi va ximiyaviy reaksiyalar uchun suvning meyori. Qisqacha a_w.
Xerotolerant	Capable of tolerating dry conditions	Xerotolerant	Quruq sharoitga toqat qila oladigan

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Thomas J. Montville, Karl R. Matthews, Kalmia E. Kneil. Second edition. Food microbiology: an Introduction. -2nd ed. Copyright 2008. – 484 p.

2. James M. Jay, Martin J. Loesnner, David A. Golden. Second edition. Modern food microbiology. Springer 2005. – 782 p.

3. Mirxamidova P., Vaxobov A.X., Davronov Q., Tursunboyeva G.S. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. – Toshkent: "ILM ZIYO" nashriyoti, 2014. – 336 b.

4. Мудрецова-Висс К.А. Микробиология. Учебник. М.: Экономика, 1985.– 255 с.

5. Xakimova Sh.I. Oziq-ovqat mikrobiologiyasi. O'quv qo'llanma – Toshkent: "O'zbekiston" nashriyoti, 2005. - 304 b.

6. Красникова Л.В., Гунькова П.И. Общая и пищевая микробиология: Учеб. пособие. Часть I. – СПб.: Университет ИТМО, 2016. 134 с.

7. Рабинович Г.Ю., Сульман Э.М. Санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами микробиологии. Учебное пособие, Тверь. 2005. – 220 с.

8. Ганина В.И., Королева Н.С., Филчакова С.А. Техническая микробиология продуктов животного происхождения: Учеб. пособие. – М.: ДеЛи принт, 2008. – 352 с.

9. Зимоглядова Т.В., Карташёва И.А., Шабалдас О.Г. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие. – М.: Колос; Ставрополь: АГРУС, 2007.–148 с.

10. Определитель бактерий Берджи. В 2 т. Пер. с англ. /Под ред. Дж. Хоулта и др. – М.: Мир, 1997. – 432 с.

11. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для вузов / Под ред. В.К. Шильниковой. 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

O‘QUV ADABIYOTINING
NASHR RUXSATNOMASI

O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligining 20 18 yil “ 25” avgust dagi “ 744” -sonli buyrug‘iga asosan

M.Zakirova, M.Egamova

mualliflarning familiyasi, ismi-sharifi

5320500-Biotexnologiya

(oziq-ovqat, ozuqa, kimyo va qishloq xo’jaligi),

ta’lim yo’nalishi (mutaxassisligi)

5111000-Kasb ta’limi (Oziq-ovqat texnologiyasi),

5321000-Oziq-ovqat texnologiyasi, 5610100 ning

talabalari (o‘quvchilari) uchun tavsiya etilgan

Oziq-ovqat mikrobiologiyasi nomli

to‘qov adabiyotining nomi va turi: darslik, o‘quv qo‘llanma

o‘quv qo‘llanmasi

ga

O‘zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi tomonidan litsenziya berilgan nashriyotlarda nashr etishga ruxsat berildi.

M.O‘.

Vazir *imzo* *I.Madjidov*

Ro‘yxatga olish raqami *744-C51*

