576.8
ვ-74

მ. ნათიძე, თ. ნათიძე, თ. ონაშვილი,
ნ. გულუა

პრაქტიკული მიკრობიოლოგია

თბილისი 2011

სახელმძღვანელო "პრაქტიკული მიკრობიოლოგია" მე-2 შევსებული და გადამუშავებული გამოცემაა. სახელმძღვანელო განკუთვნილია ინფექციურ პათოლოგიაში მოღვაწე სტუდენტებისა და სპეციალისტებისათვის. სახელმძღვანელოში მოცემულია ინფექციურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის მეთოდები. მასში აღწერილია პათოგენური მიკრობების ბიოქიმიური თვისებების დადგენის Api სისტემა და მისი დახმარებით პათოგენის იდენტიფიკაცია. სახელმძღვანელოში მნიშვნელოვანი ადგილი აქვს დათმობილი თანამედროვე სეროლოგიურ რეაქციებს, რაც უმოკლეს დროში პათოგენის ზუსტად დადგენის საშუალებაა.

რედაქტორი: **დ. გოდერძიშვილი** - ვეტერინარიის მეცნიერებათა დოქტორი, სრული პროფესორი.

რეცენზენტები: **ჯ. ნაჭყებია** – ვეტერინარიის მეცნიერებათა დოქტორი, სრული პროფესორი;
მ. კერესელიძე- ვეტერინარიის მეცნიერებათა დოქტორი, ასოცირებული პროფესორი

ISBN 978-9941-0-4171-6

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორია

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის ფუნქციაა გარემო ობიექტების, ჰაერის, წყლის, ნიადაგის, საკვები პროდუქტების გამოკვლევა ბაქტერიულ დაბინძურებაზე, პირობით პათოგენური და პათოგენური მიკროფლორით დაინფიცირებაზე.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის მუშაობის ერთ-ერთი ამოცანაა - გარემოს გაჯანსაღება და ინფექციურ დაავადებათა შემცირება.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიები ატარებენ ანალიზს ინფექციურ დაავადებებზე დიაგნოზის დასასმელად და დასაზუსტებლად, რაც სწორი მკურნალობის საფუძველია.

მიკრობიოლოგიურ სამუშაოთა სპეციფიკა მოითხოვს ლაბორატორიისათვის განკუთვნილი შენობის იზოლირებას სამკურნალოსგან, საცხოვრებელი ოთახების, ცხოველთა სადგომებისა და კვების ბლოკისაგან.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორის შემადგენელი ნაწილებია: 1) ლაბორატორიული ოთახები ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევების ჩასატარებლად; 2) დამხმარე ნაგებობები: საავტოკლავო ან სასტერილიზაციო – დამუშავებული მასალების და ინფიცირებული ჭურჭლის გასაუვნებლად; სამრეცხაო აღჭურვილი ჭურჭლის გასარეცხად; სამზარეულო – საკვები არეების დასამზადებლად, ჩამოსასხმელად, გასასტერილებლად და შესანახად; ვივარიუმი საცდელი ცხოველების მოსათავსებლად; საკუჭნაო სათადარიგო რეაქტივების, ჭურჭლის, აპარატურის და სამეურნეო ინვენტარის შესანახად.

დამხმარე ნაგებობები, როგორც დამოუკიდებელი სტრუქტურული ერთეული, შედის მსხვილი ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიების შემადგენლობაში. მცირე ლაბორატორიებში სამზარეულო და სამრეცხაო ერთ ოთახშია განლაგებული.

ასეთ ლაბორატორიებში საცდელი ცხოველების შესანახი შენობა არ არის გათვალისწინებული.

ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევებისათვის გამოყოფილი ოთახები უნდა იყოს ნათელი და მოხერხებული. ლაბორატორიის კედლებს მთელ სიმაღლეზე ღებავენ ნათელი ტონალობის ზეთის საღებავით. იატაკს ფარავენ ლინოლეუმით ან რენილით. ასეთი სახის მოპირკეთება დალაგებას და სადეზინფექციო ხსნარით დამუშავებას აადვილებს.

თითოეულ ოთახში უნდა იყოს ნიჟარა და წყალგაყვანილობა; თარო სადეზინფექციო ხსნარის მოსათავსებელად.

ერთ-ერთ ლაბორატორიულ ოთახში ეწყობა შემინული ბოქსი, ბოქსის წინა ოთახით.

ბოქსში დგამენ მაგიდას მიკრორგანიზმთა კულტურების გადასათესად და სკამს, ხოლო ბოქსის წინა ოთახში კარადას სტერილური მასალის შესანახად. ბოქსში იატაკიდან 2 მ სიმაღლეზე მონტაჟდება ბაქტერიციდული ნათურა.

ლაბორატორიული ოთახის აღჭურვა ხდება ლაბორატორიული ტიპის მაგიდებით, მაცივრით, თერმოსტატით, კარადებით და თაროებით საჭირო აპარატურის, ჭურჭლის, საღებავების და რეაქტივების შესანახად.

ლაბორატორიებში ზედმეტი მასალების და აპარატურის არსებობა დაუშვებელია.

სამუშაოების ჩასატარებლად დიდი მნიშვნელობა აქვს ექიმ–ბაქტერიოლოგების და ლაბორანტების სამუშაო ადგილების სწორ ორგანიზებას.

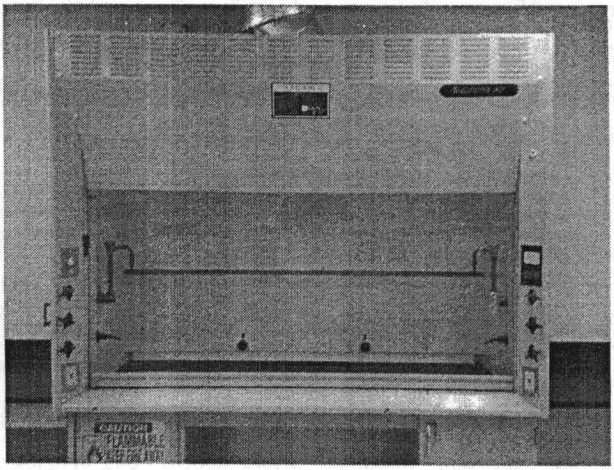
ლაბორატორიულ მაგიდებს დგამენ ფანჯარასთან ახლოს, იმ ანგარიშით, რომ სინათლე ეცემოდეს წინიდან ან მომუშავის გვერდიდან – უმჯობესია მარცხნიდან. ანალიზების ჩასატარებლად (განსაკუთრებით მიკროსკოპირებისთვის) სასურველია, რომ ფანჯარა ორიენტირებული იყოს ჩრდილოეთით ან ჩრდილო-დასავლეთით, ვინაიდან სამუშაოდ

საჭიროა გაბნეული სინათლე. სამუშაო მაგიდების ზედაპირის განათება უნდა იყოს 500 ლუქსი. დეზინფექციის ეფექტურობისათვის ლაბორატორიული მაგიდების ზედაპირს ფარავენ პლასტიკატით, ხოლო სამუშაო ადგილს სარკის მინით.

ლაბორატორიის თითოეულ თანამშრომელს გამოყოფილი აქვს ინდივიდუალური სამუშაო ადგილი. მათი აღჭურვა ხდება აუცილებელი, ყოველდღიური ბაქტერიოლოგიური მუშაობისათვის საჭირო საგნებით, კერძოდ: საღებავების კომპლექტით და პრეპარატების შესაღები რეაქტივებით, სასაგნე მინებით, საფარი მინებით, ფოსოიანი მინებით, სინჯარებისთვის საჭირო შტატივით, ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით, მინისა და მეტალის შპატელით, ქილით, ბამბით, ერთჯერადი ან მრავალჯერადი გამოყენების 1, 2, 5 და 10 მლ-იანი პიპეტებით, პასტერის პიპეტებით, პინცეტით, მაკრატლით, სკალპელით, მიკროსკოპის გამაშუქებლით, ლუპით (5X), იმერსიული ზეთით, ფილტრის ქაღალდით, სადეზინფექციო ხსნარით, პიპეტების მოსათავსებლად, სპირტქურით ან გაზქურით, პრეპარატის შესაღები დანადგარით, 1 ან 2 წუთიანი ქვიშის საათით, შპრიცებით, სტერილური სინჯარებით, მინაზე საწერი ფანქრით ან სპეციალური ფლომასტერით.

აღნიშნული ტიპის ლაბორატორიები განკუთვნილია პირობითად პათოგენურ და ზოგიერთ პათოგენურ მიკროორგანიზზე სამუშაოდ.

მუშაობა განსაკუთრებით საშიშ ინფექციებზე და პათოგენური მიკროოორგანიზმების უმეტესობაზე ხორციელდება ბიოუსაფრთხოების კაბინებში (ნახ. 1), რომლებშიც შექმნილია ჰაერის გასტერილების ავტომატური რეჟიმი, უსაფრთხოების სრული პირობები. ასეთი კაბინები ბაქტერიოლოგიური მარყუჟების გასასტერილებლად აღჭურვილია ელექტროდენზე მომუშავე ინსინერატორით.



ნახ. 1. ბიოუსაფრთხოების კაბინა

ლაბორატორიული ოთახების დალაგება

ლაბორატორიული ოთახები ყოველდღიურად, მუშაობის დაწყებამდე საჭიროა დალაგდეს სველი მეთოდით. მაგიდებიდან, ხელსაწყოებიდან, მოწყობილობებიდან, ასევე ფანჯრის რაფებიდან მტვერს აცილებენ სადეზინფექციო ხსნარში დასველებული ნაჭრით.

იატაკიდან მტვერს იღებენ მტვერსასრუტით და შემდეგ წმენდენ სადეზინფექციო ხსნარში დასველებული ნაჭრით.

მუშაობის დამთავრების შემდეგ ზეთის საღებავით შეღებილ ან მოსაპირკეთებელი ფილებით დაფარულ კედლებს რეცხავენ ცხელი წყლით და საპნით ან სარეცხი ფხვნილით.

ბოქსის სამუშაოდ მომზადება. ბოქსის დამუშავება შემდეგი თანმიმდევრობით ხორციელდება: ყოველდღიურად სამუშაოს დაწყების წინ იატაკს წმენდენ ქლორამინის 2% -იანი ან ფენოლის 3%-იანი ხსნარით; ჰაერს ასტერილებენ ბაქტერი-

ციდული ნათურით, შემდეგი გაანგარიშებით: ერთი ბაქტერიციდული ნათურა, (სიმძლავრით (1,5–2,0 ვატი) ოთახის 1 $მ^3$-ზე. ბოქსის დასხივების ხანგრძლივობა 2-3 სთ-ია. მუშაობის დაწყების წინ ბაქტერიციდული ნათურა უნდა გამოირთოს.

ბოქსის ჰაერი რეგულარულად, არანაკლებ კვირაში 2-ჯერ, უნდა შემოწმდეს ბაქტერიულ დაბინძურებაზე. ამ მიზნით 2 პეტრის ფინჯანს, (ხორცპეპტონიანი და საბუროს აგარით) თავღია მდგომარეობაში ტოვებენ 15 წუთს. ფინჯანს ხორცპეპტონიანი აგარით ათავსებენ თერმოსტატში 37^0C-ზე 20-24 სთ-ით, საბუროს აგარით კი - 22^0C-ზე. მიკროორგანიზმთა დასაშვები რაოდენობა 5 კოლონიაა. მეტი რაოდენობის კოლონიის შემთხვევაში ჰაერი ძლიერ დაბინძურებულია. ამ შემთხვევაში ბოქსი განმეორებით გულდასმით უნდა დამუშავდეს კვირაში ერთხელ მაინც ოთახს რეცხავენ ცხელი წყლით და საპნით, ამუშავებენ სადეზინფექციო ხსნარით და წმენდენ გამშრალებამდე.

სამუშაო ადგილის დალაგება. მუშაობის დამთავრების შემდეგ სამუშაო ადგილზე არსებულ მინას წმენდენ ქლორამინის 5%-იან ხსნარში დასველებული ბამბით, რომელსაც პინცეტით იკავებენ. აღნიშნული თანმიმდევრობით ჩატარებული დეზინფექცია პროფილაქტიკური ხასიათისაა.

ლაბორატორიული ჭურჭლის გარეცხვა და დამუშევება

ლაბორატორიული გამოკვლევებისათვის განკუთვნილი ჭურჭელი უნდა იყოს ზედმიწევნით სუფთა და სტერილური.

მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში, ლაბორატორიული ჭურჭელი ირეცხება სამრეცხაოებში ან სპეციალურად გამოყოფილ ადგილებში, რომელიც აღჭურვილია დიდი ნიჟარით, გაყვანილია ცხელი და ცივი წყალი; დამონტაჟებულია გამაცხელებელი ხელსაწყოები (გაზის ან ელექტროქურა).

სამრეცხაოში აუცილებელია იყოს ქვაბები, ტაშტები, ვედრო, ჯაგრისი, დაფა სუფთა ჭურჭლის გასაშრობად. აგარის ნარჩენებით საკანალიზაციო სისტემის დაცობის ასაცილებლად ნიჟარის ძირზე დებენ სქელი მეტალისაგან დამზადებულ ბადეს.

გარეცხვის პროცესში ჭურჭლიდან ჯაგრისით აცილებენ ჭუჭყს. ჭურჭლის გარეცხვის საიმედო საშუალებაა მექანიკური და ქიმიური ფაქტორების შეხამება. ამ მიზნით ჯაგრისს წინასწარ ასველებენ სოდის ხსნარში, თხევად საპონში, საპნის ან სარეცხის ფხვნილში.

ჭურჭელზე, მინაზე საწერი ფანქრით გაკეთებულ წარწერებს აცილებენ ჯაგრისით ან დანამული ცარციანი და სოდიანი დოლბანდის ნაჭრით.

მინაზე თეთრი ფერის ნადების მოსაცილებლად, ჭურჭელს 30 – 40 წუთს ათავსებენ ქლორწყალბადმჟავას 10% -იან ხსნარში.

ძლიერად დაბინძურებულ ჭურჭელს ამუშავებენ ქრომის ნარევით. ხმარების წინ ქრომის ნარევს ათბობენ 45 – 50^{0}C-მდე, შემდეგ მოასხურებენ ჭუჭყიან ჭურჭელს.

ახალი ლაბორატორიული ჭურჭლის გარეცხვა. ვედროში, თბილი წყლით ხსნიან სარეცხის საპონს, ქაფის უმნიშვნელო წარმოქმნით. მასში ძირავენ ჭურჭელს და დგამენ ნელ ცეცხლზე. ადუღებენ 15 წუთს. ჭურჭელს ავლებენ სუფთა წყალში, ათავსებენ თბილ ქლორწყალბადმჟავას 1-2% -იან ხსნარში, ადუღებენ 10-15 წუთს, ჭურჭელს თავდაპირველად ონკანის, ხოლო შემდეგ ორჯერ გამოხდილ წყალში ავლებენ.

სეროლოგიური რეაქციებისათვის განკუთვნილი ჭურჭლის გარეცხვა მჟავეების ან ტუტეების გამოყენებით არ არის რეკომენდებული, ვინაიდან არსებულ ნივთიერებების მინაზე კვალის სახით არსებობა ამახინჯებს რეაქციის შედეგებს. ასეთ ჭურჭელს რეცხავენ ცხელი წყლით, ათავსებენ ბადეზე წყლის ჩამოდინებისათვის, შემდეგ რამდენჯერმე ავლებენ გამოხდილ

წყალში და აშრობენ საშრობ კარადაში.

ნახმარი ლაბორატორიული ჭურჭლის გარეცხვა. ჭურჭელი კონტამინირებული ინფექციური მასალით გარეცხვას ექვემდებარება წინასწარი ავტოკლავირების ან დეზინფექციის შემდეგ, პათოგენური მიკროორგანიზმების სრული გაუვნებლების გარანტიით. უმნიშვნელოდ დაბინძურებულ ჭურჭელს რეცხავენ ცხელი წყლით და საპნით ჯაგრისის დახმარებით. ჭურჭელს აგარის, ჟელატინის ან სხვა საკვები არეების კვალით გარეცხვამდე ერთ დღე-ღამეს ტოვებენ მწვავე ნატრიუმის ან კალიუმის 2 - 5% -იან ხსნარში. ძლიერად დაბინძურებულ ცხიმიან ჭურჭელს 30-40 წუთის განმავლობაში ათავსებენ ქრომის ნარევში, შემდეგ ხანგრძლივად რეცხავენ გამდინარე ონკანის წყლით.

ლაბორატორიული ჭურჭლის გარეცხვის და გაუსნებოვნების მარტივი და საიმედო მეთოდია თავდაპირველად ავტოკლავირება 2 ატმ-ზე, 2 საათის განმავლობაში. შემდეგ ჭურჭელი გადააქვთ ავზში და ასხამენ ხსნარს, რომლის დასამზადებლადაც ყოველ 100 მლ გამოხდილ წყალს უმატებენ 5 მლ ნიშადურის სპირტს და 3 გ ბამბის და სელის ნაჭრების გასარეცხად გამოყენებულ ფხვნილს. ლაბორატორიული ჭურჭელი კარგად ირეცხება და თავისუფლდება ცხიმისაგან აღნიშნულ ხსნარში 30 წთ-ის განმავლობაში დუღილით. ჭურჭელს ავლებენ ონკანის, ორჯერ გამოხდილ წყალში და აშრობენ კარადაში.

გრადუირებული პიპეტების გარეცხვა. ახალ გრადუირებულ პიპეტებს არგებენ რეზინის ბურთულას და ცხელი, საპნიანი წყლის თანმიმდევრული შეწოვით და გამოდევნით რეცხავენ. პიპეტებს ათავსებენ ჭურჭელში ჩასხმულ ანალოგიურ ხსნარში. ჭურჭლის სიმაღლე უნდა შეესაბამებოდეს პიპეტისას; აჩერებენ 20-30 წთ-ს, ავლებენ ონკანის წყალში, გადააქვთ ქლორწყალბადმჟავას 1-2%-იან ხსნარში, აცხელებენ ადუღებამდე. შემდგომი დამუშავება სხვა მინის ჭურჭლის ანალოგიურია.

ნახმარ პიპეტებს წმენდენ, წვრილი დრეკადი მავთულის ბოლოზე დახვეული ბამბის და დოლბანდის გატარებით. ჭუჭყის სწრაფად და ადვილად მოსაცილებლად ხმარობენ საპნიან წყალს, საჭმელი სოდის ხსნარს და სარეცხის ფხვნილს.

პიპეტის დაცობილ არხს ასუფთავებენ შპრიცის წმინდა ნემსის მანდრენით. გარეცხილ პიპეტებს ათავსებენ ტაშტში, ასხამენ საპნიან წყალს და ადუღებენ დაბალ ცეცხლზე 20 — 30 წთ-ის განმავლობაში. ადუღების შემდეგ პიპეტები ამოაქვთ ხსნარიდან, თავდაპირველად ავლებენ გამდინარე, შემდეგ გამოხდილ წყალში.

ძლიერად დაბინძურებულ პიპეტებს თავდაპირველად ასუფთავებენ ჯაგრისით, საპნით ან სოდით, ხოლო შემდეგ ათავსებენ ქილაში ჩასხმულ ქრომის ნარევში. აჩერებენ 20-30 წუთს, რამდენიმე წუთის განმავლობაში რეცხავენ გამდინარე წყლით და ორჯერ ავლებენ გამოხდილ წყალში.

სასაგნე და საფარი მინების გარეცხვა. სასაგნე და საფარი მინები უნდა იყოს ზედმიწევნით სუფთა და ცხიმგაცლილი. ცხიმგაცლილ სასაგნე მინაზე მოთავსებული წყლის წვეთი თანაბრად ნაწილდება, ხოლო ცუდათ დამუშავებულზე იშლება წვრილ წვეთებად. სასაგნე და საფარი მინების გარეცხვა და გავლება რეკომენდებულია განხორციელდეს რეზინის ხელთათ-მანებით, რათა თავიდან იქნას აცილებული თითებზე არსებული ცხიმით მინების დასვრა.

ახალ სასაგნე და საფარ მინებს რეცხვავენ საპნიანი წყლით, ავლებენ წყალში და ათავსებენ ნიკოფოროვის ხსნარში. თუ ნიკოფოროვის ხსნარში 2-3 დღის განმავლობაში დაყოვნებული სასაგნე და საფარი მინები შეიცავენ ცხიმის კვალს, ათავსებენ ფაიფურის ფინჯანში, ასხამენ ნატრიუმის ჰიდროკარბონატის, მწვავე ნატრიუმის ან კალიუმის 2 -5%-იან ხსნარს, ადუღებენ დაბალ ცეცხლზე 20-30 წთ; შემდეგ გაავლებენ გამდინარე წყალში, 10-15 წთ-ის განმავლობაში,

ტოვებენ ქლორწყალბადმჟავას 5-10%-იან ხსნარში, შემდეგ რეცხავენ გამდინარე წყლით.

ნახმარ, სადებავით და იმერსიული ზეთით დაბინძურებულ სასაგნე და საფარ მინებს ამუშავებენ შემდეგი თანმიმდევრობით: 1) 2სთ-ის განმავლობაში აჩერებენ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავაში ან ქრომის ნარევში; შემდეგ გულდასმით რეცხავენ გამდინარე წყლით; 2) ათავსებენ ნატრიუმის ჰიდროკარბონატის 5%-იან ხსნარში ან ტუტეში (მწვავე ნატრი ან მწვავე კალიუმი), ადუღებენ დაბალ ცეცხლზე 30-40 წთ; რეცხავენ გამდინარე წყლით და ორჯერ გამოხდილი წყლით, მინებს ათავსებენ ნიკიფოროვის ხსნარში.

ქრომის ნარევის დამზადების და გარეცხვის პროცესში საჭიროა რეზინის ხელთათმანების ხმარება, ვინაიდან ხსნარის კანზე მოხვედრა იწვევს მტკივნეულ დამწვრობას.

სუფთა ლაბორატორიული ჭურჭლის გაშრობა და შენახვა. გამშრალ ჭურჭელს ათვალიერებენ სინათლეზე. მინები უნდა იყოს გამჭირვალე, დაბურვისა და ლაქების გარეშე. გარეცხილ ჭურჭელს აშრობენ ოთახის ტემპერატურაზე, ან ცხელი ჰაერით საშრობ კარადაში (100 – 105^{0}C).

სუფთა, გარეცხილ, საცობით დახურულ და ქაღალდის ჩაჩით დაფარულ გამშრალ ჭურჭელს ინახავენ მტვრისაგან დაცულ, უმჯობესია ჰერმეტულად დახურულ კარადაში.

ბაქტერიოლოგიურ ლაბორატორიაში მუშაობის წესები

ინფექციის გავრცელებისა და ადამიანთა დასნებოვნების თავიდან ასაცილებლად ბაქტერიოლოგიურ ლაბორატორიაში მუშაობა მოითხოვს გარკვეული წესების დაცვას, რომელთა უმნიშვნელო დარღვევამაც კი შეიძლება მძიმე შედეგი გამოიღოს.

ლაბორატორიაში ინფექციურ მასალასა და დასნებოვნებულ ცხოველებზე მუშაობისას საჭიროა შემდეგი წესების დაცვა:

1. სამუშაოდ დაიშვებიან პირები, რომლებმაც გაიარეს სათანადო მომზადება;
2. სამუშაო ადგილი წინასწარ უნდა აღიჭურვოს კონკრეტულ სამუშაოთა ჩასატარებლად საჭირო მასალებით: საღებავების კომპლექტი, მინის ჭურჭელი, გამოხდილი წყალი, შტატივი, სასაგნე მინა, ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი და სხვა. მუშაობის დაწყების წინ მოწმდება გაზქურის და სხვა მოწყობილობათა გამართულობა;
3. ლაბორატორიული ხალათი კარგად უნდა იყოს ტანზე მორგებული და შეკრული. რეზინის ხელთათმანები წინასწარ მოწმდება ჰერმეტულობაზე. ხუფის შერჩევა ხდება ზომის მიხედვით;
4. კატეგორიულად აკრძალულია ლაბორატორიაში თამბაქოს მოწევა, საკვების მიღება, ლაპარაკი, სხეულის ღია ადგილებზე ხელით შეხება და სხვა;
5. პერსონალმა საჭიროა გამოიყენოს მხოლოდ მასზე გაპიროვნებული ადგილი და მოწყობილობა;
6. ინფექციურ მასალაზე მუშაობის დაწყების წინ და დამთავრების შემდეგ აუცილებელია ბაქტერიციდული ნათურის ჩართვა 30 წთ, ოთახში სტერილური გარემოს უზრუნველსაყოფად;
7. დაუშვებელია ბაქტერიციდული ნათურით დასხივების პროცესში მუშაობა;
8. ლაბორატორიაში მუშაობა წარმოებს იდეალური სისუფთავის პირობებში. მუშაობის დაწყების წინ და დამთავრების შემდეგ საჭიროა ხელების დამუშავება სუსტი სადეზინფექციო ხსნარით, ხოლო შემდეგ გულდასმით დაბანა საპნითა და თბილი წყლით. სასურველია სტერილური ხელთათმანების გამოყენება;

9. პინცეტის, ლანცეტის და ბაქტერიოლოგიური მარყუჟის გასტერილება ხორციელდება სპირტქურის ან გაზქურის ალზე. ნახმარი სასაგნე და საფარი მინები თავსდება ქლორამინის 3-5%-იან ან წყალბადის ზეჟანგის 3%-იან ხსნარში;
10. ცხოველთა ლეშები, მიკროორგანიზმთა კულტურები და ყველა გამოყენებული მასალა უვნებლდება ავტოკლავში, ორთქლით წნევის ქვეშ;
11. სამუშაო მაგიდასა და სხვა საგნებზე დაღვრილ მიკროორგანიზმის შემცველ სითხეებს უვნებელყოფენ ქლორამინის 5%-იანი ხსნარით ან მოწვით, სპირტში დასველებული ბამბით.
12. პათოლოგიური მასალით შემთხვევით დაინფიცირებულ კანს, ლორწოვან გარსებს და ბუნებრივ ღრუებს (პირის, ცხვირის) ამუშავებენ კალიუმის პერმანგანატის 1:1000-ზე გაზავებული ხსნარით. ჭრილობის მიყენების და საცდელი ცხოველებით დაკაწვრის ან დაკბენის შემთხვევაში თავდაპირველად ღებულობენ სათანადო ზომებს სისხლდენის შესაჩერებლად, ხოლო შემდეგ დაზიანებულ ადგილს ამუშავებენ 40-60^0 –იანი სპირტით.
13. მუშაობის დამთავრების შემდეგ, სამუშაო მაგიდებს ამუშავებენ სადეზინფექციო ხსნარით.

ინფექციურ დაავადებათა ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის მეთოდები

ბაქტერიათა ინდიკაციისა და იდენტიფიკაციისათვის შემდეგი ლაბორატორიული მეთოდებია გამოყენებული: ა) მიკროსკოპული ანუ ბაქტერიოსკოპული, ბ) სუფთა კულტურების გამოყოფის ანუ ბაქტერიოლოგიური, გ) სეროლოგიური, დ) ბიოლოგიური ანუ საცდელი ცხოველების დასნებოვნება და ე) ფაგოდიაგნოსტიკა.

მიკროსკოპული მეთოდი. მიკროსკოპული ანუ ბაქტერიოსკოპული მეთოდით სწავლობენ მიკროორგანიზმთა მორფოლოგიას: ფორმა, სიდიდე, უჯრედთა ურთიერთგანლაგება, მოძრაობა, მიკრობული უჯრედის აგებულება, საღებავებთან დამოკიდებულება (ტინქტორიალური თვისებები). ამ მიზნით ხელოვნურ საკვებ არეებზე ნაზარდი მიკროორგანიზმთა კულტურიდან ან პათოლოგიური მასალიდან ამზადებენ პრეპარატს, რომელსაც იკვლევენ მიკროსკოპით.

სუფთა კულტურების გამოყოფის ანუ ბაქტერიოლოგიური მეთოდი. სწავლობენ ბაქტერიათა ფიზიოლოგიას (სუნთქვა, კვება), ზრდის თავისებურებას, მოთხოვნებს საკვები არეებისადმი და მათში მიმდინარე ცვლილებებს, ცხოველმყოფელობის პროცესში გამოყოფილ პროდუქტებს, (აირები, ტოქსინები, ფერმენტები და სხვ).

სეროლოგიური მეთოდი (seron-შრატი, logos-შესწავლა) დამყარებულია სპეციფიკური შრატით საძიებო მიკროორგანიზმის და ცნობილი ანტიგენით უცნობი ანტისხეულების აღმოჩენაზე.

ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ გამოიყენება: აგლუტინაციის, პრეციპიტაციის, კომპლემენტის შებოჭვის, ოფსონო-ფაგოციტური, ნეიტრალიზაციის, იმუნოფერმენტული, ჰემაგლუტინაციის, არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის და სხვა რეაქციები.

ბიოლოგიური მეთოდი. საცდელი ცხოველების დასნებოვნების ანუ ბიოლოგიური მეთოდით ადგენენ მაკროორგანიზმზე მიკროორგანიზმის ზემოქმედებას. ცხოველის სიკვდილის შემდეგ ლეშში არსებული ცვლილებებით მსჯელობენ დაავადებაზე. პარალელურად მკვდარი ცხოველის შინაგანი ორგანოებიდან ახდენენ აღმძვრელის სუფთა კულტურის გამოყოფას.

ფაგოდიაგნოსტიკა დამყარებულია სპეციფიჯური ფაგების გამოყენებაზე. ამ მეთოდით ზუსტად ხდება მიკროორგანიზმის

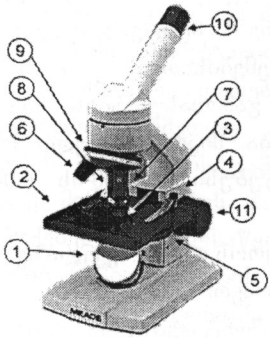
სახეობის განსაზღვრა თხევად და მყარ საკვებ არეებში. ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ წარმატებით გამოიყენება ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია.

მიკროსკოპი

მიკროსკოპი ოპტიკური ხელსაწყოა, მიკროსკოპი ბერძნული სიტყვაა და ნიშნავს: micros – მცირე, skopeo – ვხედავ. მიკრობიოლოგიაში გამოყენებული თანამედროვე მიკროსკოპები მიკროორგანიზმებს ათასჯერ და უფრო მეტად ადიდებენ.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიები აღჭურვილია თანამედროვე, სრულყოფილი სინათლის მიკროსკოპებით Meiji, Canon, Nikon, Olympus, Cart, Zeiss, Joeo და სხვა.

სინათლის მიკროსკოპის აგებულება. სინათლის მიკროსკოპი შედგება მექანიკური და ოპტიკური ნაწილებისგან (ნახ. 2).



1. სარკე 2. სასაგნე მაგიდა 3. კონდენსორი 4. ტუბუსის დამჭერი. 5. სადგამი 6. ობიექტივი. 7. ობიექტივი დიდი გადიდებით. 8. დამჭერები. 9. რევოლვერი 10. ოკულარი 11. მაკრო და მიკრომეტრული ხრახნები.

ნახ. 2. მიკროსკოპი

მექანიკური ნაწილი შეიცავს შტატივს, სასაგნე მაგიდას და ტუბუსს მოძრავი რევოლვერით.

შტატივი შედგება სახელურისა და სადგამისაგან, ისინი ერთმანეთთან მოძრავადაა შეერთებული.

სასაგნე მაგიდა შტატივის შუა ნაწილშია მოთავსებული. სასაგნე მაგიდას ცენტრში აქვს ხვრელი სინათლის სხივების გასატარებლად. ხვრელის ორივე მხარეს არის დამჭერები, სასაგნე მინის დასაფიქსირებლად. სასაგნე მაგიდა სპეციალური ხრახნებით მოძრაობს ორი ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით. ასეთი მაგიდა ჯვრისებრი ფორმისაა და მოსახერხებელია მუშაობისთვის. სასაგნე მაგიდა აღჭურვილია შკალით, ეს უკანასკნელი განმეორებით გამოკვლევისას პრეპარატის ნებისმიერი ადგილის ნახვის საშუალებას იძლევა. ამ მიზნით ჩაინიშნავენ შკალის ციფრებს, შემდგომში სათანადო ადგილს ჩაწერილი ციფრებით ნახულობენ.

ტუბუსი ორი ერთმანეთში ჩადგმული მილია, ტუბუსის სიგრძე შეიძლება შეიცვალოს 150-200 მმ-ის ფარგლებში. ტუბუსის მოძრაობა ხორციელდება მაკრომეტრული და მიკრომეტრული ხრახნებით. ტუბუსის გადაადგილება მაკრომეტრული ხრახნით გამოიყენება მცირე გადიდებისა და წინასწარი (მიახლოებითი) დაყენებისათვის. მიკროსკოპის ზუსტი დაყენებისა და მკვეთრი გამოსახულების მისაღებად მიკრომეტრული ხრახნი გამოიყენება. მიკრომეტრული ხრახნის ერთი სრული ბრუნვის დროს ტუბუსი 0,1 მმ-ის (100 მკმ) მანძილზე გადაადგილდება.

მიკრომეტრული ხრახნი მიკროსკოპის ყველაზე მყიფე ნაწილია და მოითხოვს ფრთხილ მოპყრობას.

ტუბუსის ქვედა ნაწილში დამონტაჟებულია რევოლვერი, რომელშიც ობიექტივებია ჩახრახნილი.

ოპტიკური ნაწილი შედგება გამაშუქებელი მოწყობილობის, ობიექტივებისა და ოკულარებისაგან.

ობიექტივები. ლითონის ბუდეებში ჩასმული ლინზებია. წინა ანუ ფრონტალური ლინზა ყველაზე პატარაა, რომელიც

ადიდებს. სხვა ლინზები საკორექციოა, ისინი ასწორებენ ოპტიკური გამოსახულების ნაკლს. ეს თვისება ყველაზე უკეთესად ბორის, ფოსფორის და სხვა ოპტიკური მინებისგან დამზადებულ აპოქრომულ ობიექტივებშია გამოხატული. აპოქრომული ლინზები ძვირია და სპეციალურ მიკროსკოპებში გამოიყენება. ჩვეულებრივი მიკროსკოპები აქრომატული ობიექტივებით არის აღჭურვილი.

მიკროსკოპის ობიექტივთა ბუდეებზე გადიდების შესაბამისი აღნიშვნებია მოცემული (X8, X10, X40, X60, X90, X120). აპოქრომული ობიექტივების ბუდეებზე გაკეთებულია წარწერა "Ap", ზეთის იმერსიულ ობიექტივზე "Oil" ან "Oel" " წყლის იმერსიულ ობიექტივზე – "Water", "WI", ან "Wasser".

ობიექტივის გადიდების უნარს ფოკუსური მანძილი და აპერტურის რიცხვი განსაზღვრავს. მცირე ფოკუსური მანძილის ობიექტივის გადიდების უნარი დიდია.

ბიოლოგიურ მიკროსკოპებში გამოყენებული ობიექტივები გვაძლევენ საგნის შებრუნებულ, ნამდვილსა და გადიდებულ გამოსახულებას.

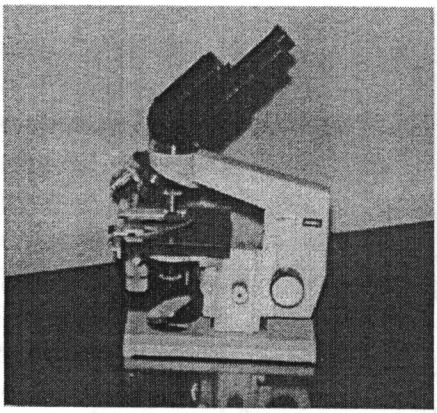
ბიოლოგიური მიკროსკოპები აღჭურვილია მშრალი სისტემის ორი ობიექტივით (რომლებიც გამოსაკვლევ ობიექტს 8-ჯერ ან 40-ჯერ ადიდებენ) და ერთი იმერსიული სისტემის ობიექტივით, რომელიც საგანს 90-ჯერ ადიდებს. მშრალი სისტემის ობიექტივის გამოყენების შემთხვევაში ლინზასა და სასაგნე მინას შორის ჰაერის ფენა იმყოფება. მიკროსკოპის გამაშუქებელი ხელსაწყოდან ობიექტივისაკენ წამოსული სხივების ნაწილი ჰაერის ფენაში გავლისას გარდატყდება და გაიბნევა. უნდა აღინიშნოს, რომ ჰაერის სხივთა გარდატეხის კოეფიციენტი სასაგნე მინის სხივის გარდატეხის კოეფიციენტზე მცირეა. მშრალი სისტემის ლინზების ფართო დიამეტრი უზრუნველყოფს სხივების ჭარბი რაოდენობით შესვლას და მკვეთრ განათებას. იმერსიული სისტემის ობიექტივებში (რომლებსაც მცირე დიამეტრის ლინზები აქვს)

სხივების შეზღუდული რაოდენობა გატარდება და შესაბამისად მკრთალი გამოსახულება მიიღება. მკვეთრი გამოსახულების მისაღებად გამოიყენება იმერსია (immersio-ვძირავ), ანუ ობიექტივის ჩაძირვა სითხეში (კედარის ზეთი). კედარის ზეთის სხივის გარდატეხის კოეფიციენტი (1,51-ია) ახლოს დგას სასაგნე მინის სხივის გარდატეხის კოეფიციენტთან (1,53-ია). კედარის ზეთის წვეთს ათავსებენ პრეპარატზე, წვეთში ძირავენ იმერსიული სისტემის ობიექტივს და ახდენენ გამოკვლევას მიკროსკოპში.

ოკულარი ტუბუსის ზემოთა ნაწილშია მოთავსებული. და შედგება ორი ცალმხრივ ამოზნექილი ლინზისაგან. ლინზები ამოზნექილი ზედაპირებით ობიექტივისკენ არის მიმართული. დამკვირვებლის ზედა თვალისაკენ მიმართულ ლინზას თვალის ლინზა ეწოდება, ხოლო ქვედას შემკრები. ოკულარი ობიექტივიდან წამოსული საგნის გამოსახულებას ადიდებს. ოკულარებზე მოცემულია გადიდების აღმნიშვნელი ციფრები 7X, 10X, ან 15X.

მიკროსკოპის საერთო გადიდება ობიექტივის და ოკულარის გადიდებათა ნამრავლის ტოლია.

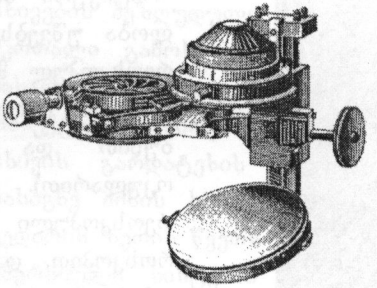
ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევების თანამედროვე სტანდარტებს შეესაბამება ბინოკულარული და სტერეოსკოპული მიკროსკოპების გამოყენება. ბინოკულარული მიკროსკოპი ობიექტივზე ორივე თვალით დაკვირვების საშუალებას იძლევა (ნახ. 3).



ნახ. 3. ბიოლოგიური მიკროსკოპი (ბინოკულარული)

ოპტიკური მრეწველობა უშვებს სტერეოსკოპულ მიკროსკოპებს (ორი ტუბუსით და ორი ოკულარით). სტერეოსკოპული მიკროსკოპით დაკვირვებას ერთდროულად ორი მკვლევარი ახდენს.

გამაშუქებელი მოწყობილობა. შედგება კონდენსორისა და დაიფრაგმისაგან (ნახ. 4). გამაშუქებელი მოწყობილობა სასაგნე მაგიდის ქვეშ არის მოთავსებული. კონდენსორი აღჭურვილია ლინზებით, რომლებიც სარკიდან არეკლილ სხივებს კრებს ძლიერი ნაკადის სახით. კონდენსორის მოძრაობა ხდება ხრახნით. იმერსიული სისტემის ობიექტივებზე მუშაობის დროს კონდენსორის ლინზის ბრტყელ ზედაპირს და სასაგნე მაგიდას ერთ სიბრტყეში ათავსებენ. სუსტი და საშუალო ობიექტივების გამოყენებისას კონდენსორს რამდენადმე დაბლა დასწევენ (კლებულობს მხედველობის არის განათება). მკვეთრი და მკაფიო გამოსახულების მისაღებად, კონდენსორის მოძრაობით გამოსაკვლევ ობიექტს ათავსებენ კონდენსორის ფოკუსში.



ნახ. 4. გამაშუქებელი მოწყობილობა

და სასაგნე მაგიდის ქვეშ არის მოთავსებული. კონდენსორი აღჭურვილია ლინზებით, რომლებიც სარკიდან არეკლილ სხივებს კრებს ძლიერი ნაკადის სახით. კონდენსორის მოძრაობა ხდება ხრახნით. იმერსიული სისტემის ობიექტივებზე მუშაობის დროს კონდენსორის ლინზის ბრტყელ ზედაპირს და სასაგნე მაგიდას ერთ სიბრტყეში ათავსებენ. სუსტი და საშუალო ობიექტივების გამოყენებისას კონდენსორს რამდენადმე დაბლა დასწევენ (კლებულობს მხედველობის არის განათება). მკვეთრი და მკაფიო გამოსახულების მისაღებად, კონდენსორის მოძრაობით გამოსაკვლევ ობიექტს ათავსებენ კონდენსორის ფოკუსში.

სარკე შტატივის ქვედა ნაწილში მოძრავადაა მიმაგრებული. სარკე სხივებს ობიექტივის მიმართულებით არეკლავს. სარკის ერთი მხარე ბრტყელ ზედაპირიანია ის სინათლის სხივებს მიმართულებას არ უცვლის. სარკის მეორე ზედაპირი ჩაზნექილ ზედაპირიანია და დაცემულ სხივებს ერთ წერტილში აგროვებს. სწორზედაპირიანი სარკე დღის სინათლის, ხოლო ჩაზნექილზედაპირიანი ხელოვნური განათებისა და ძლიერი იმერსიული სისტემის ობიექტივის ხმარების დროს გამოიყენება. მუშაობის დაწყებამდე საჭიროა შემოწმდეს მიკროსკოპის ნაწილების ურთიერთქმედება და ვარგისიანობა. ამ მიზნით წინასწარ ადგენენ მხედველობის არესათვის მაქსიმალურ განათებას, მიკროსკოპის "რევოლვერი" გადაყავთ მცირე გადიდების ობიექტივზე. კონდენსორსა და სასაგნე მინას ათავსებენ ერთ სიბრტყეში. მაკრომეტრული ხრახნის

მოძრაობით ობიექტივს აყენებენ ფოკუსურ მანძილზე (სასაგნე მინიდან 1,5-2 სმ-ის დაშორებით) სარკეს სინათლის წყაროსაკენ მიმართავენ და მისი მოძრაობით იღებენ მხედველობის არეს სრულ განათებას (დიაფრაგმა ღიაა). დღის სინათლეზე მუშაობის დროს თავიდან უნდა ავიცილოთ მზის სხივების უშუალო დაცემა სარკეზე. ამ მიზნით მიკროსკოპი უმჯობესია მოვათავსოთ ფანჯარასთან. ხელოვნური განათების გამოყენებისას დიაფრაგმის ქვედა რგოლში ათავსებენ ფილტრებს. განათების დაყენების შემდეგ სასაგნე მაგიდაზე ათავსებენ გამოსაკვლევ პრეპარატს, დამჭერებით აფიქსირებენ და საბოლოოდ არეგულირებენ განათებას დიაფრაგმის დახურვით ან კონდენსორის დაბლა დაწევით. იმერსიული სისტემის ობიექტივზე მუშაობის დროს პრეპარატზე აწვეთებენ კედარის ზეთს და მასში ჩაძირავენ ობიექტივს. ობიექტივის დაბჯენა სასაგნე მინაზე დაუშვებელია, ვინაიდან ლინზები შეიძლება დაზიანდეს. პრეპარატს აკვირდებიან ოკულარით. მაკრომეტრული ხრახნით ტუბუსს სწევენ მაღლა. გამოსაკვლევი ობიექტის ბუნდოვანი გამოსახულების მიღებისთანავე ხელი გადააქვთ მიკრომეტრულ ხრახნზე და მისი მოძრაობით ღებულობენ გამოსაკვლევი ობიექტის მკაფიო გამოსახულებას. მიკრომეტრული ხრახნის გადადგილება ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით მთლიანი ბრუნვის 1/4 მანძილზე წარმოებს.

მიკროსკოპზე მუშაობის დროს ხელი მუდმივად უნდა ქონდეს მიკრომეტრულ ხრახნზე. მისი გადაადგილებით პრეპარატი ფოკუსში იმყოფება.

მიკროსკოპზე მუშაობის წესები

1. მიკროსკოპი საჭიროა დავიცვათ მტვრისა და სინესტისგან. მუშაობის დამთავრების შემდეგ ათავსებენ ყუთში ან მინის

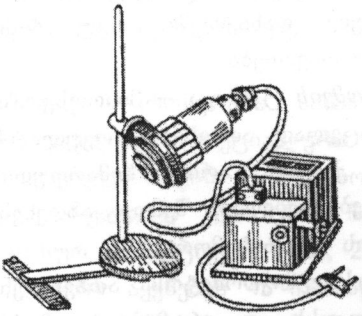
ხუფის ქვეშ. უკიდურეს შემთხვევაში აფარებენ ნაჭერს ან პოლიეთილენის პარკს..

2. მშრალი სისტემის ობიექტივების გასაწმენდად გამოიყენება ოპტიკის საწმენდი სპეციალური ხავერდი ან სხვა რბილი ქსოვილი (ბამბაზია და სხვ.).
3. იმერსიული სისტემის ობიექტივიდან კედრის ზეთის მოცილებას ახდენენ ნატით ან ფანელის ნაჭრით, ზეთის გაშრობის შემთხვევაში ბენზინში ან ქსილოლში დასველებული დოლბანდით წმენდენ. ლინზის ზედაპირზე თითით შეხება დაუშვებელია. ლინზების გასაწმენდად ბენზინის ან ქსილოლის ხშირი გამოყენება მიზანშეწონილი არ არის, ვინაიდან იშლება ლინზების დამაკავშირებელი ნივთიერება და გამოსახულების სიმკვეთრე ქვეითდება. მიკროსკოპის დანარჩენ ნაწილებს მშრალი ნაჭრით წმენდენ.
4. კედრის ზეთით დასვრილ სასაგნე მაგიდას თავდაპირველად წმენდენ ქსილოლში დასველებული ნაჭრით, ხოლო შემდეგ მშრალი ფილტრის ქაღალდით.
5. მუშაობის დამთავრების შემდეგ რევოლვერი გადაყავთ მცირე გადიდებაზე, სასაგნე მაგიდას აფარებენ დოლბანდის ნაჭერს.
6. კონდენსორს სწევენ დაბლა.
7. მცირე ან საშუალო გადიდების ობიექტივების ხმარებისას ტუბუსის გადაადგილება ხორციელდება მაკრომეტრული ხრახნით.
8. მტვრით დაბინძურების ასაცილებლად ტუბუსის ღია მდგომარეობაში – (ოკულარის გარეშე) დატოვება დაუშვებელია.
9. მიკროსკოპის გადატანისას ხელში შტატივს იკავებენ.

მიკროსკოპის გამანათებელი

ბუნებრივი, სუსტი განათების შემთხვევაში მიკროსკოპის გასაშუქებლად ხელოვნური განათება გამოიყენება. ხელოვნური

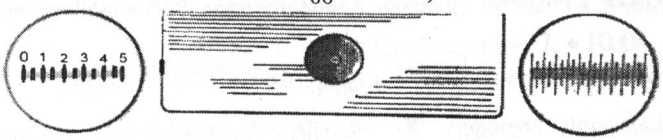
განათების მარტივი წყაროა ჩვეულებრივი ელექტრონათურა. გაშუქებისათვის ელექტრონათურის გამოყენებისას კონდენსორის რგოლში ათავსებენ ლურჯ, დაბურულ ან გამჭვირვალე ფილტრებს, ვინაიდან ხელოვნური სინათლის სპექტრში არსებული ყვითელი სხივები საღებავს უცვლის ფერს. ხელოვნური განათების სრულყოფილი წყაროა სხვადასხვა სისტემის გამანათებელი მოწყობილობა, რომელიც სპეციალურ ბუდეში მოთავსებული ნათურაა. (ნახ. 5) ნათურა აღჭურვილია ორლინზიანი კონდენსორით და ირის-დიაფრაგმით, სინათლის წყაროდ 8 ვოლტის სიმძლავრის ნათურა გამოიყენება, რომელიც სპეციალური ტრანსფორმატორით იკვებება.



ნახ. 5 მიკროსკოპის გამანათებელი

მიკროორგანიზმთა გაზომვა

მიკროორგანიზმებს ოკულარის და ობიექტივის მიკრომეტრებით ზომავენ ნახ. 6).



ა) ბ)

ნახ. 6. მიკრომეტრები: ა) ოკულარის, ბ) ობიექტივის.

ოკულარ-მიკრომეტრი მინის ფირფიტაა ცენტრში თანაბარ ნაწილებად დაყოფილი სახაზავით. სახაზავის სიგრძე 5 მმ-ია. თითოეული მილიმეტრი თავის მხრივ ათ ნაწილადაა დაყოფილი (0,1 მმ). ოკულარ-მიკრომეტრს ოკულარის დიაფრაგმაზე ათავსებენ.

ობიექტივ-მიკრომეტრი – 2 მმ-ის სიგრძის შკალით აღჭურვილი სასაგნე მაგიდაა. შკალის თითოეული მილიმეტრი 200 ნაწილადაა დაყოფილი ე.ი. 0,01 მმ-ის ტოლია. ობიექტივ - მიკრომეტრი ოკულარ-მიკრომეტრის დანაყოფების გასაზომად გამოიყენება ანუ იმის დასადგენად, ობიექტივ - მიკრომეტრის განსაზღვრულ დანაყოფში ოკულარ-მიკრომეტრის რამდენი დანაყოფი მოთავსდება.

გაზომვის ტექნიკა – მიკროსკოპში ოკულარის თვალის ლინზის ნაცვლად ათავსებენ ოკულარ-მიკრომეტრს, რომლის დანაყოფი ქვევით არის მიმართული. შკალის ნათელი გამოსახულების მიღების შემდეგ ახდენენ ოკულარის დიაფრაგმაზე თვალის ლინზის მორგებას.

ობიექტივ-მიკრომეტრს ათავსებენ სასაგნე მაგიდაზე, აყენებენ ფოკუსს და ერთმანეთს ამთხვევენ ოკულარისა და ობიექტივის შკალების პირველ დანაყოფებს. იმერსიულ სისტემაზე მუშაობის დროს შკალების გათანასწორებისათვის ობიექტივ - მიკრომეტრზე აწვეთებენ კედრის ზეთს.

შედეგები: დავუშვათ, ობიექტივ-მიკრომეტრის სამ დანაყოფში, ე.ი. 30 მკმ-ში ოკულარ-მიკრომეტრის 14 დანაყოფი მოთავსდა, მაშასადამე ოკულარ-მიკრომეტრის ერთი დანაყოფი 30მკმ:14=2,14მკმ-ის ტოლია. გაანგარიშება წარმოებს ფორმულით

$$Z = \frac{0.01 \bullet X}{Y}$$

სადაც Y-ოკულარ-მიკრომეტრის ერთი დანაყოფის სიდიდეა, X- ობიექტივ-მიკრომეტრის დანაყოფების რაოდენობაა, რომელიც ოკულარ-მიკრომეტრის დანაყოფებს ემთხვევა.

ოკულარ-მიკრომეტრის ერთი დანაყოფის სიდიდის დადგენის შემდეგ ობიექტივ-მიკრომეტრს შესასწავლი პრეპარატით ცვლიან. ზუსტი შედეგების მისაღებად მიმართავენ 10-დან 20-მდე გაზომვას და გამოჰყავთ საშუალო არითმეტიკული.

ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპი

ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპირება დამყარებულია სინათლის ტალღის ფაზების ცვალებადობაზე, რაც განაპირობებს გამოსახულების კონტრასტულობის შეცვლას. ამ მოვლენაზე დაკვირვება ფაზო-კონტრასტული მოწყობილობით შეიძლება.

ფაზო-კონტრასტულ მიკროსკოპში სინათლის მიკროსკოპის კონდენსორი შეცვლილია სპეციალური კონდენსორით. მიკროსკოპში გამოკვლევისათვის კონდენსორის სადგამს ატრიალებენ მარჯვნივ ნული (0) აღნიშვნის მიღებამდე. მიკროსკოპს არგებენ ფაზურ ობიექტივებს (10X, 20X, 40X, 90X). სარკის ბრტყელ ზედაპირს აყენებენ 45^0-იანი კუთხით. გამოსაკვლევ პრეპარატს ათავსებენ სასაგნე მაგიდაზე და მცირე ობიექტივით ადგენენ მაქსიმალურ განათებას. სარკეზე ათავსებენ თეთრ ქაღალდს, რომელზედაც გამაშუქებელი ელექტრონათურის მავთულის გამოსახულება მოჩანს.

ობიექტივის ფაზურ რგოლს აყენებენ ფოკუსში. ოკულარს, მიკროსკოპის დამხმარე მოწყობილობით ცვლიან. კონდენსორს აღებენ ბოლომდე. რევოლვერს ატრიალებენ საათის ისრის მიმართულებით ციფრი "20"-ის გამოჩენამდე. მიკროსკოპის დამხმარე მოწყობილობით ნახულობენ გამოსახულებას. ამ უკანასკნელს ოკულარით ცვლიან და იკვლევენ პრეპარატს. ობიექტივის ან პრეპარატის შეცვლის ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში ამოწმებენ რგოლისებრი დიაფრაგმისა და ფაზური რგოლის ცენტრების მდებარეობას.

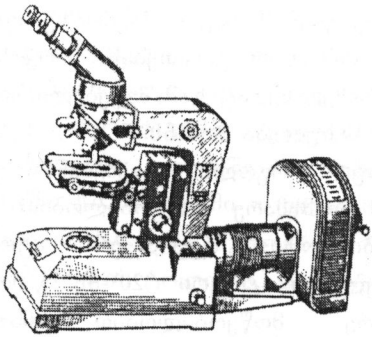
ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპირებით შესაძლებელია მიკროორგა-ნიზმების შესწავლა ცოცხალ მდგომარეობაში, ბაქტერიებში შოლტების ან გარსის კონტურების დანახვა, საფუარებში მოჩანს ბირთვი და ჩანართები.

ლუმინესცენტური მიკროსკოპი

მიკროორგანიზმთა შესასწავლად ფართოდ გამოიყენება ლუმინესცენტური მიკროსკოპი (ნახ. 7).

ლუმინესცენცია ენერგიის სხვადასხვა წყაროს ზემოქმედებით ზოგიერთი ნივთიერების სპეციფიკური ნათების თვისებაა. ლუმინესცენტური მიკროსკოპით მიკროორგანიზმებში შესაძლებელია აღმოვაჩინოთ სხვადასხვა სტრუქტურები, რომლებიც არ მოჩანან სინათლის მიკროსკოპში.

ლუმინესცენტური ნათებისათვის 400-450 ნმ–ის სიგრძის სინათლის სხივის ულტრაიისფერი სპექტრი ან მისი მომიჯნავე იისფერი და ლურჯი სხივები გამოიყენება.



ნახ. 7. ლუმინესცენტური მიკროსკოპი

ფლუორესცენცია არის პირველადი და მეორადი. ნივთიერებათა დამოუკიდებელ ნათებას, რომელიც ულტრაიისფერი სხივების ზემოქმედებით წარმოიქმნება, პირველადი ფლუორესცენცია ეწოდება.

ნივთიერებათა ნაწილს დამოუკიდებელი ფლუორესცენცია არ ახასიათებს და იძენს გარკვეული მანათობელი (ფლუორებადი) საღებავებით

დამუშავების შემთხვევაში. ამ საღებავებს ფლუოროქრომები ეწოდება, ხოლო მიღებულ ნათებას მეორადი ფლუორესცენცია. ფლუოროქრომებია: ფლუორესცეინი, როდამინი, აურამინი, კორიფოსფინი და სხვა.

ფლუოროქრომებით დამუშავებამდე პრეპარატს 10-15 წუთს აბსოლუტურ სპირტში ან აცეტონში აფიქსირებენ, აშრობენ და აწვეთებენ ფლუოროქრომს.

მიკრობიოლოგიურ პრაქტიკაში მარტივი ფლუოროქრომების გვერდით წარმატებით გამოიყენება მიკროორგანიზმთა აღმოჩენის ლუმინესცენტურ – იმუნოქიმიური მეთოდი. ამ მიზნით ფლუორებად საღებავს უერთებენ ანტისხეულებს. ეს უკანასკნელი ინარჩუნებს სპეციფიკურ ანტიგენთან რეაქციაში შესვლის თვისებას.

წარმოქმნილი ანტიგენ-ანტისხეულის კომპლექსის აღმოჩენა შესაძლებელია ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში სპეციფიკური ნათებით.

ფლუორებადი შრატები პრაქტიკაში ფართოდ გამოიყენება პათოლოგიურ მასალაში, დაავადებული ცხოველების გამონაყოფებში და ა.შ. მიკროორგანიზმთა ინდიკაციისათვის.

ლუმინესცენტური გამოკვლევისათვის საჭიროა სპეციალური მიკროსკოპი, ლუმინესცენტური გამაშუქებელი (ОИ-28, ОИ-30) და შუქ-ფილტრები.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიები აღჭურვილია უნივერსალური ლუმინესცენტური მიკროსკოპებით და სხვა.

გამაშუქებელი მოწყობილობა შედგება კვარცის კოლექტორისა (კონდენსორი, საველე დიაფრაგმა) და სინათლის ფილტრებისაგან. სინათლის ფილტრი (УФС-3, ФС-1, СС-14) გამოყოფს სინათლის საჭირო სპექტრს (ულტრაიისფერი და იისფერ-ლურჯი). ფილტრები ბოჭავენ წითელ და ინფრაწითელ სხივებს. ისინი გამოიყენება სითბოს მშთანთქმელ ლურჯ-მწვანე ფილტრებთან კომბინაციაში.

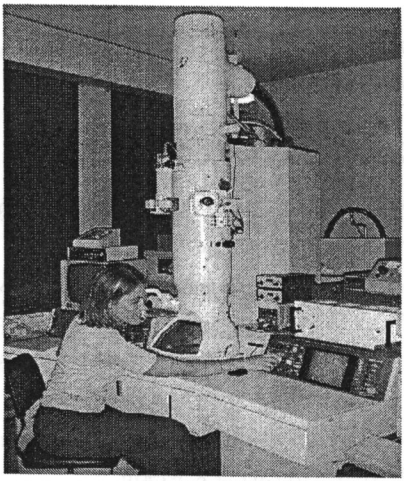
მიკროსკოპი ლუმინესცენტური მოწყობილობით ადიდებს მიკროსკოპულ ობიექტს. განათების მიმართულების მიხედვით ანსხვავებენ გამავალი და დაცემული სინათლის ლუმინესცენტურ მიკროსკოპირებას. დაცემული სხივის მიღება "ოპაკ" ილუმინატორით წარმოებს, რომელიც გამოსაკვლევ ობიექტს სიმკვეთრეს ანიჭებს და Л ასოთი აღინიშნება. "ოპაკ" ილუმინატორს აქვს სინათლის გამოსაყოფი ფირფიტა, რომელიც სპეციალური ინტერფერენციული თვისებების ნივთიერებითაა დაფარული და მოთავსებულია 45^0-იანი კუთხით. ლუმინესცენტური მოწყობილობა და მიკროსკოპი აღჭურვილია სათანადო ნათურებით.

ელექტრონული მიკროსკოპი

ელექტრონული მიკროსკოპი უნიკალური ხელსაწყოა (ნახ. 8). მისი გადიდების უნარი 200-დან 500-ჯერ და უფრო მეტად აღემატება სინთლის მიკროსკოპის გადიდებას.

ჩვეულებრივი ბიოლოგიური მიკროსკოპისაგან განსხვავებით ელექტრონულ მიკროსკოპში სინათლის სხივების ნაცვლად, ელექტრონული ქვემეხიდან დიდი სიჩქარით გამოტყორცნილი ელექტრონთა ნაკადი გამოიყენება.

მიკროსკოპის "ლინზები" კონდენსორის, ობიექტივის და საპროექციო ელექტრო-მაგნიტური კოჭებია, რომლებიც ელექტრონთა გზაზეა მოთავსებული.



ნახ. 8 ელექტრონულ მიკროსკოპი

გამოსაკვლევ პრეპარატს ელექტრონულ მიკროსკოპში ათავსებენ საპროექციო და ობიექტივის ლინზებს შორის. პრეპარატს ამზადებენ თხელ კოლოიდურ ფირფიტაზე. კოლოიდური ფირფიტის მისაღებად ამილაცეტატის 1,5%-იან ხსნარს ანაწილებენ წყლის ზედაპირზე. გამხსნელის აორთქლების შემდეგ რჩება ფირფიტა, რომლის სისქე დაახლოებით 1 მკმ-ია. კოლოიდურ ფირფიტას ფრთხილად ჩარეცხავენ. ფირფიტებზე თხელ ფენად ანაწილებენ გამოხდილი წყლით დამუშავებულ გამოსაკვლევ მასალას.

კონდენსორული ლინზა ახდენს ელექტრონული ქვემეხიდან გამოტყორცნილი ელექტრონთა ნაკადის კონცენტრაციას გამოსაკვლევ საგანზე. ელექტრონები დაეცემიან ობიექტივის ლინზაზე, მიიღება საგნის პირველადი გამოსახულება, რომელიც აისახება შუალედურ ეკრანზე. ელექტონები ობიექტივის ლინზის დიაფრაგმის გავლის შემდეგ საპროექციო ლინზაზე მოხვდება და მიიღება გადიდებული გამოსახულება ფოტოგრაფიულ ფირფიტაზე ან ფლუორებად ეკრანზე.

ელექტრონული მიკროსკოპით ცოცხალ მდგომარეობაში მყოფ მიკროორგანიზმებზე დაკვირვება შეუძლებელია. (პრეპარატში გავლისას ელექტრონები კლავენ ცოცხალ უჯრედს). ელექტრონული მიკროსკოპის ერთჯერადი ექსპლუატაციის დრო 2-4 საათია, ხანგრძლივად ექსპლუატაციის შემთხვევაში ელექტრონების მიერ დიდი

რაოდენობით სითბოს გამოყოფამ შეიძლება განაპირობოს მიკროსკოპის მწყობრიდან გამოყვანა.

ბაქტერიათა მორფოლოგია

გარეგანი ფორმის მიხედვით არსებობს ბაქტერიათა სამი ჯგუფი: ბირთვისებრი (კოკები), ჩხირისებრი და კლაკნილი.

ბირთვისებრი ბაქტერიები (კოკები), მრგვალი ბირთვისებრი ფორმისაა. არსებობს ბრტყელი კოკები, რომლებიც ცალი მხრიდან შეზნექილი და რამდენადმე წაგრძელებულია.

ცალკეული წევრების ურთიერთგანლაგების მიხედვით კოკები ქმნიან სხვადასხვა მორფოლოგიურ ჯგუფებს.

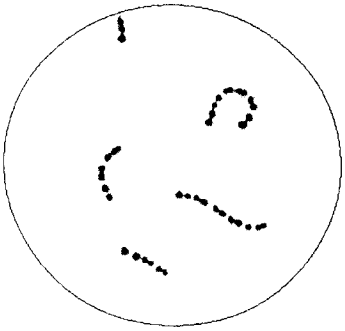
მიკროკოკები – თითო-თითოდ განლაგებული კოკები.

დიპლოკოკები – წყვილი კოკები. უჯრედთა განლაგება კოკების ერთ სიბრტყეში გაყოფის შედეგია.

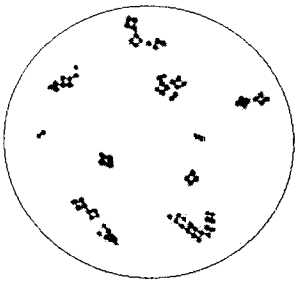
ტეტრაკოკები – ოთხ-ოთხად განლაგებული კოკები. ფორმით კვადრატს მოგვაგონებს. ასეთი განლაგება კოკების ურთიერთპერპენდიკულარული მიმართულებით დაყოფის შედეგია.

სტრეპტოკოკები ანუ ჯაჭვისებრი კოკები. კოკების განლაგება ძეწკვისებრია (ნახ. 9).

დიპლოკოკების მსგავსად სტრეპტოკოკები ერთ გარკვეულ სიბრტყეში საკუთარი დიამეტრის პერპენდიკულარულად ერთი მიმართულებით იყოფიან.



ნახ. 9. სტრეპტოკოკები



ნახ. 10. სტაფილოკოკები

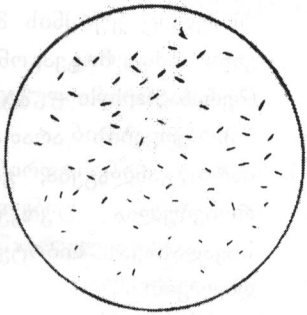
სტაფილოკოკები ანუ მტევნისებრი კოკები, (ნახ. 10). კოკების გროვებად განლაგებაა, რომელიც ყურძნის მტევანს მოგვაგონებს (ბერძნ.-Staphyle – მტევანი). კოკების არათანაბარი განლაგება, გაპირობებულია კოკების სხვადასხვა სიბრტყეში დაყოფით.

სარცინები ანუ პაკეტისებრი კოკები. ბაქტერიები სართულებადაა განლაგებული, რომელშიც 8-დან 16-მდე წევრია. სარცინები კოკების ურთიერთპერპენდიკულარული მიმართულებით დაყოფის შედეგია.

კოკების დიამეტრი 1-დან 2 მკმ-მდე მერყეობს. მათი უმეტესობა უძრავია, სპორებს არ წარმოშობენ, გამონაკლისია სარცინის ზოგიერთი სახეობა მაგ., *Sarcina ureae*.

ჩხირისებრი ბაქტერიები- სახეობის მიხედვით არის სწორი ცილინდრული, ოვალური, თითისტარისებრი და სხვა. ჩხირის ბოლოები უფრო ხშირად მომრგვალებულია, ამასთანავე შეიძლება შეგვხვდეს მკვეთრად წაკვეთილი ან წაგრძელებული. ჩხირების სიდიდე 2-3 მკმ-დან 5-10 მკმ-მდე

მერყეობს. ჩხირისებრი ფორმები სიდიდისა და გარეგანი ფორმების მიხედვით იყოფა ბაქტერიებად და ბაცილებად.



ნახ. 11. ბაქტერიათა ჩხირისებრი ფორმები (E.coli)

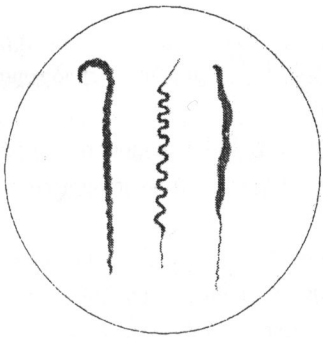
ბაქტერიები – ჩხირისებრი ფორმებია, რომლებიც სპორას არ წარმოქმნიან, მათ აღნიშნავენ Bacterium (Bact) მაგალითად: Bacterium prodigiosum.

ბაცილები–სპორების წარმომქმნელი ჩხირისებრი ფორმები. მათი წარმომადგენლებია *Bacillus* (B.) ან *Clostridium* (C). მაგ: *B. anthracis, C.tetani.*

მცირე ზომის ბაქტერიების გარჩევა კოკების წაგრძელებული ფორმებისგან ზოგჯერ ძნელია, ამიტომ "კოკო-ბაქტერიებს" უწოდებენ.

უჯრედის ურთიერთგანლაგებისა და გაყოფის სიბრტყის მიხედვით ჩხირებში არჩევენ რამდენიმე ჯგუფს: ა) დიპლობაცილები (დიპლობაქტერიები), წყვილწყვილად განლაგებული ჩხირისებრი ბაქტერიები, ბ) სტრეპტობაცილები (სტრეპტობაქტერიები) ძეწკვის ფორმის წარმომშობი ჩხირებია.

ბაქტერიათა კლაკნილი ფორმები – ვიბრიონები და სპირილები (ნახ. 12).



ა ბ

ნახ. 12 ბაქტერიების
კლაკნილი ფორმები
ა) ვიბრიონი, ბ) სპირილა

ვიბრიონი – მძიმის ან ნახევარმთვარის ფორმისაა, რომელიც ხვეულის 1/4-ის ტოლია. ვიბრიონის სიგრძე 1-დან 3 მკმ-დეა.

სპირილა – ბურღისებრად დახვეულია, ხვეულების მეტ-ნაკლები რიცხვით. სპირილების სიგრძე 5-დან 30 მკმ-დეა, სიგანე 0,25-დან 1 მკმ-მდე. ბაქტერიათა კლაკნილი ფორმები მოძრავია, სპორებს არ წარმოშობენ.

ანილინის საღებავები

ბაქტერიოლოგიურ პრაქტიკაში მიკროორგანიზმთა შესაღებად ანილინის რიგის საღებავები გამოიყენება, რომლებიც ორგანული წარმოშობისაა და ქვანახშირის კუპრის რთული გადამუშავებით მიიღება.

ანილინის საღებავები არის ძირითადი და მჟავე. ძირითადი საღებავებს მიკროორგანიზმული უჯრედის ბირთვის ქრომატული ნივთიერების შეღებვის გამო ქრომოფორული ეწოდება.

მიკროორგანიზმთა შეღებვის ინტენსივობა საღებავის დამზადების ვადაზე, აგრეგატში ცხიმის წვეთების არსებობაზე, სასაგნე მინის სისუფთავესა და სხვა ფაქტორებზეა დამოკიდებული.

საღებავის თვისება გამხსნელზეა დამოკიდებული. სწრაფი გახსნის თვისების საღებავის მოქმედება სუსტია, ასე მაგალითად: ძმარმჟავას დამატებით საღებავის ხსნადობის უნარი მატულობს, მის საპირისპიროდ შეღებვის უნარი

ქვეითდება. ტუტის მიმატებით გახსნის უნარი კლებულობს, ხოლო შეღებვის უნარი მატულობს.

საღებავები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ფერით, კონცენტრაციით და რეაქციით (მჟავა, ნეიტრალური და ძირითადი).

ძირითადი საღებავებიდან ბაქტერიოლოგიურ პრაქტიკაში გამოიყენება: ა) წითელი ფერის: ფუქსინი (ტუტე), საფრანინი, ნეიტრალროტი, ბ) იისფერი: გენციან – ვიოლეტი, თიონინი, გ) ლურჯი ფერის: მეთილენის ლურჯი, ვიქტორია – ბლაუ, დ) ყავისფერი: ვეზუვინი, ქრიზოიდინი, ე) მწვანე ფერის: მალაქიტის მწვანე, მეთილენის მწვანე. მჟავა რეაქციის საღებავებია: ა) წითელი ფერის - ფუქსინი (მჟავა), ეოზინი, ბ) ყვითელი ფერის - ფლუორესცეინი, პიკრინის მჟავა, გ) შავი ფერის - ნიგრაზინი.

ანილინის საღებავები გამოშვებულია კრისტალების ან ფხვნილების სახით, საიდანაც სამუშაო ხსნარებს ამზადებენ.

საღებავების დამზადების რეცეპტები ***კარბოლიანი (ძირითადი) ფუქსინი*** – კრისტალური, მუქი, მურა მომწვანო ფერის ნივთიერებაა, კარგად იხსნება სპირტში (8, 16%) სუსტად წყალში (0,3%). ძირითადი ფუქსინი განსხვავდება მჟავა ფუქსინისაგან. ეს უკანასკნელი მომწვანო ფერისაა, კარგად იხსნება წყალში (20%). ძირითადი ფუქსინი ხსნარის სახით გამოიყენება. მის შემადგენლობაში შედის: ფუქსინი 1,0 გ, სპირტი 96%-იანი 10 მლ, გლიცერინი 2-3 წვეთი, კარბოლის მჟავა 5 გ, გამოხდილი წყალი 100 მლ.

ფაიფურის როდინში შეაქვთ 1 გ ფუქსინი, გლიცერინი 2-3 წვეთი, (გლიცერინი გასრესვას ხელს უწყობს), 10 მლ სპირტი. კომპონენტებს როდინში საგულდაგულოდ სრესენ, უმატებენ 5 გ კარბოლის მჟავას და 100 მლ გამოხდილ წყალს. კარბოლის მჟავა შეიძლება წინასწარ გაიხსნას წყალში. საღებავს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 24 საათის განმავლობაში. ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში. მიღებულ

ხსნარს ცილის ანუ კარბოლიანი ფუქსინი ეწოდება. ცილის ფუქსინი კონცენტრირებული საღებავია, მდგრადია და ინახება დიდხანს. ფუძე ანუ კარბოლიანი ფუქსინიდან ამზადებენ ყოველდღიურად სახმარ ხსნარს - ფეიფერის ანუ წყლიან ფუქსინს (1 მლ ცილის ფუქსინი ზავდება 9 მლ გამოხდილ წყალში). გაზავებული საღებავი არამდგრადია, მზადდება უშუალოდ ხმარების წინ, მიკროორგანიზმებს ღებავს ვარდისფრად.

გენციან-ვიოლეტი, კრისტალ-ვიოლეტი ანუ მეთილ-ვიოლეტი. კრისტალ-ვიოლეტი მომწვანო მურა ფერის ფხვნილია. კარგად იხსნება სპირტში (13,87%), სუსტად წყალში (1,68%). მეთილ-ვიოლეტი მუქი - მოლურჯო ფერის ფხვნილია, კარგად იხსნება წყალში (12,93%) და სპირტში (13,21%). გენციან-ვიოლეტი, კრისტალ-ვიოლეტის, მეთილ-ვიოლეტის და დექსტრინის ნარევია. საღებავები ხსნარის სახით გამოიყენება. საღებავების დასამზადებლად საჭიროა გენციან-ვიოლეტი, კრისტალ-ვიოლეტი ან მეთილ-ვიოლეტი 1 გ, გლიცერინი 2-3 წვეთი, სპირტი (96%–იანი) 10 მლ, კარბოლის მჟავა 2-3 გ, გამოხდილი წყალი 100 მლ.

ფაიფურის როდინში შეაქვთ 2-3 წვეთი გლიცერინი და 1 გ საღებავი, 10 მლ სპირტი და 2-3 გ კარბოლის მჟავა. გულდასმით სრესენ (კარბოლის მჟავას წინასწარ ხსნიან 100 მლ გამოხდილ წყალში). ნარევს აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურაზე 24 საათის განმავლობაში. ფილტრავენ. საღებავი შემდგომ განზავებას აღარ საჭიროებს. გენციან-ვიოლეტი მიკროორგანიზმებს მოლურჯო-იისფრად ღებავს.

მეთილენის ლურჯი - მეტალური ბზინვარების წვრილი, მომწვანო ფერის კრისტალებია; კარგად იხსნება სპირტში (7%) და წყალში (1,5%) სამუშაო ხსნარის მისაღებად თავდაპირველად სპირტიან ნაჯერ ხსნარს ამზადებენ. ა) მეთილენის ლურჯის სპირტიანი ნაჯერი ხსნარის დასამზადებლად 100 მლ 96%-იან სპირტში ხსნიან 3 გ

მეთილენის ლურჯს. 2-3 დღეს აჩერებენ ოთახის ტემპერა-ტურაზე, დროგამოშვებით ურევენ, ფილტრავენ. მიღებული ხსნარი მდგრადია, დიდხანს ინახება.

ბ) სამუშაო ანუ ლოფლერის ხსნარი: ნაჯერი სპირტიანი ხსნარი 30 მლ, NaOH – ის ან KOH-ის 1%-იანი ხსნარი 1 მლ, გამოხდილი წყალი 100 მლ.

საღებავის დასამზადებლად 30 მლ მეთილენის ლურჯის სპირტიან ხსნარს უმატებენ 1 მლ NaOH –ის ან KOH –ის 1%-იან ხსნარს და 100 მლ გამოხდილ წყალს. ფილტრავენ. საღებავი მიკროორგანიზმებს ლურჯად ან ცისფრად ღებავს. მეთილენის ლურჯის ხსნარით კარგად იღებება რძისა და რძის პროდუქტებიდან დამზადებული პრეპარატები (ცილის შეღებვის გამო). საღებავს აქვს მეტაქრომული თვისება, უჯრედებს ლურჯად, ხოლო ჩანართებს წითლად ღებავს.

საფრანინი მოწითალო-ყავისფერი, წვრილი, კრისტალური ფხვნილია, ადვილად იხსნება სპირტში, ძნელად წყალში (0,6%). საფრანინის ხსნარის დასამზადებლად საჭიროა : საფრანინი 0,1 გ, სპირტი 96%–იანი 50 მლ, გამოხდილი წყალი 50 მლ.

საფრანინის ხსნარი უშუალოდ ხმარების წინ მზადდება. საღებავი უპირატესად კაპსულებისა და ბრუცელოზის აღმძვრელების შესაღებად გამოიყენება. საღებავი მზადდება 2-4%-იანი სხნარის სახით. მიკროორგანიზმებს მოყავისფრო-წითლად ღებავს.

ლუგოლის ხსნარი საღებავი არ არის, მაგრამ გრამის წესით შეღებვისათვის აუცილებელი კომპონენტია. ლუგოლის ხსნარის შემადგენლობაში შედის: კრისტალური იოდი 1 გ, კრისტალური კალიუმ-იოდატი 2 გ, გამოხდილი წყალი 300 მლ.

იოდი წყალში სუსტად იხსნება, ამიტომ თავდაპირველად გამოხდილ წყალში 2 გ კალიუმის იოდატს ხსნიან, რომელშიც კარგად იხსნება კრისტალური იოდი (1 გ). დარჩენილი 295 მლ წყლის დამატებისა და გაფილტვრის შემდეგ, ხსნარი მზად

არის ხმარებისათვის. ლუგოლის ხსნარი მუქი ჩაის ან ნარინჯის ფერისაა.

ნეიტრალროტი. მომწვანო შავი ფერის ფხვნილია. კარგად იხსნება წყალში (5,69%), შედარებით სუსტად სპირტში (2,44%)

ხსნარი შედგება: ნეიტრალროტი 1 გ გამოხდილი წყალი 100 მლ.

1 გ ნეიტრალროტს ხსნიან 100 მლ. გამოხდილ წყალში, ფილტრავენ. გამოიყენება 1-1,5%-იანი ხსნარის სახით. ადვილად იშლება. საღებავს მუქი ფერის მინის ჭურჭელში ინახავენ. ნეიტრალროტი მიკროორგანიზმებს ბაც-წითელ ფერში ღებავს. ის მიკროორგანიზმების ცოცხალ მდგომარეობაში შესწავლისათვის გამოიყენება.

მალაქიტის მწვანე – მკვეთრი მწვანე ან მოყვითალო-მომწვანი ფერის წერილი კრისტალებია. კარგად იხსნება წყალში (3,5%) გამოიყენება 0,5-1%-იანი წყლიანი ხსნარის სახით. (1 გ. საღებავს ხსნიან 100 მლ გამოხდილ წყალში). ხსნარი მომწვანოა.

გიმზას საღებავი - რთული კომპლექსური საღებავია, მისი კომპონენტებია: აზური 20,8 გ, ეოზინი 3,0 გ, ქიმიურად სუფთა გლიცერინი - 250 მლ, მეთილის სპირტი (96%) 250 მლ.

საღებავს მეთილის სპირტისა და გლიცერინის მცირე მოცულობაში ხსნიან, უმატებენ გლიცერინისა და სპირტის დარჩენილ რაოდენობას. მიღებულ ხსნარს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე, 4–6 დღის განმავლობაში. ლაბორატორიულ პირობებში საღებავს იშვიათად ამზადებენ, სამუშაოდ უმჯობესია ქარხნული წესით დამზადებული საღებავის გამოყენება. ხმარების წინ საღებავს ფილტრავენ. საღებავის 1-2 წვეთს ხსნიან 1 მლ, გამოხილ წყალში. საღებავი ფართოდ გამოიყენება სისხლიდან დამზადებული ნაცხების შესაღებად.

მაი-გრუნვალდის საღებავი. საღებავის შემადგენლობაში შედის: 1:1000–ზე განზავებული ეოზინისა და მეთილენის ლურჯის წყლიანი ხსნარები.

ხსნარებს თანაბარი რაოდენობით ერთმანეთში ურევენ – აჩერებენ რამდენიმე დღეს, ფილტრავენ, ნალექს რეცხავენ წყლით, აშრობენ და ამზადებენ ნაჯერ ხსნარს მეთილის სპირტზე. ნაცხებს საღებავის წინასწარი განზავების გარეშე ღებავენ.

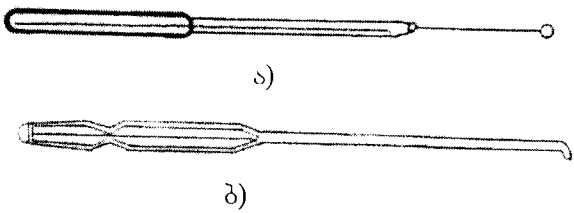
ბაქტერიოსკოპიული პრეპარატის დამზადება

პრეპარატის დამზადება მოიცავს შემდეგ საფეხურებს: ა) ნაცხების დამზადება, ბ) ნაცხების გაშრობა, გ) ნაცხების ფიქსაცია, დ) შეღებვა.

ნაცხების დამზადება. ნაცხების დამზადების ერთ–ერთი ძირითადი მოთხოვნაა უცხო მიკროორგანიზმებით დაბინძურების და მომსახურე პერსონალის პათოგენური მიკროორგანიზმებით დაინფიცირების თავიდან აცილება.

ნაცხს ამზადებენ სუფთა, ცხიმგაცლილ სასაგნე მინებზე.

ნაცხებს ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან პასტერის პიპეტით (ნახ. 13) ამზადებენ.



ნახ.13. ა) ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი.
ბ) პასტერის პიპეტი

ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს პლატინის მავთულიდან (სიგრძე 5-7 სმ, სისქე 0,5მმ) ამზადებენ. პლატინის მავთული

მარყუჟის დამჭერზეა დამაგრებული, რომელიც სითბოს გაუმტარი მასალით დაფარული სახელურით ბოლოვდება. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი ცეცხლზე ადვილად სტერილდება და სწრაფად ცივდება.

პასტერის პიპეტის დასამზადებლად 3-6 მმ დიამეტრის მინის მილი გამოიყენება.

თხევადი მასალიდან ნაცხის დასამზადებლად სპირტქურის ალზე გასტერილებული ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი შეაქვთ სითხეში და იღებენ ერთ წვეთს. სპირტქურის ალზე მოწვის შემდეგ ერთმანეთს არგებენ საცობსა და სინჯარის თავისუფალ ბოლოებს. წვეთს თანაბრად ანაწილებენ სასაგნე მინაზე. ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს ასტერილებენ სპირტქურის ან გაზქურის ალზე.

პასტერის პიპეტით ნაცხის დასამზადებლად, პიპეტს ატარებენ სპირტქურის ალზე. სტერილური პინცეტით აცილებენ დარჩილულ ბოლოს. პიპეტი შეაქვთ სითხეში, შეიწოვენ სითხის მცირე რაოდენობას, რომელსაც თანაბრად ანაწილებენ სასაგნე მინაზე. ნახმარი პიპეტი განმეორებითი მანიპულაციისათვის აღარ გამოიყენება. მას სადეზინფექციო ხსნარში ათავსებენ.

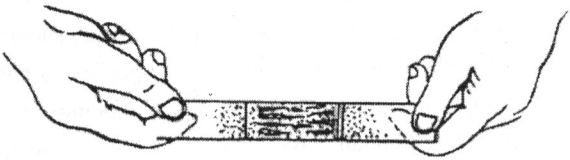
მკვრივ საკვებ არეზე ნაზარდი მიკროორგანიზმთა კულტურიდან ნაცხის დასამზადებლად სუფთა სასაგნე მინაზე სტერილური პიპეტით ან ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით NaCl-ის 0,9%-იანი იზოტონური ხსნარის ან გამოხდილი წყლის წვეთს ათავსებენ. სინჯარას კულტურით იკავებენ დახრილ მდგომარეობაში, გადმობრუნებული მარცხენა ხელის საჩვენებელი და შუა თითებით. ზევიდან ცერით აფიქსირებენ. ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს მოწვავენ (გაწითლებამდე) სპირტქურის ალზე. მუშაობის პროცესში ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს ან პასტერის პიპეტს მარჯვენა ხელში კალმისტრის მსგავსად იკავებენ. მარჯვენა ხელის ნეკა თითით და ხელის გულით სინჯარას ხსნიან საცობს. საცობის თავისუფალ ნაწილზე ხელის შეხება დუშვებელია. სინჯარის ღია ნაწილს

სპირტქურის ან გაზქურის ალზე მოწვავენ. სინჯარა გამოაქვთ სპირტქურიდან ოდნავ მარცხნივ და წინ. მასში შეაქვთ გასტერილებული მარყუჟი. მარყუჟს სინჯარის შიდა კედლებზე აცივებენ. საკვები არის ზედაპირზე ფრთხილი შეხებით იღებენ მიკროორგანიზმული კულტურის მცირე ნაწილს (საკვები არის დაუზიანებლად). ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი სინჯარიდან გამოაქვთ. სინჯარის თავისუფალ ნაწილსა და საცობს სპირტქურის ალზე გატარების შემდეგ ერთმანეთს არგებენ. ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟზე არსებულ მასალას ხსნიან სასაგნე მინაზე მოთავსებულ წვეთში და ანაწილებენ სასაგნე მინის ზედაპირზე თხელი ფენის სახით, რომლის ზომაა 1,5-2 სმ-ია.

შინაგანი ორგანოებიდან ნაცხების დასამზადებლად, ორგანოს ზედაპირს მოწვავენ გახურებული შპატელით, ჭრიან სტერილური სკალპელით და ღრმა შრეებიდან ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან პასტერის პიპეტით ამოაქვთ მასალა და თხელ ფენად ანაწილებენ სასაგნე მინაზე.

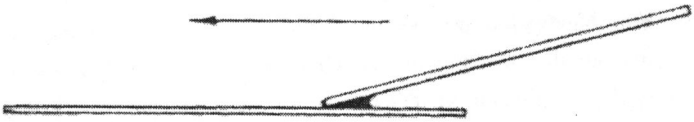
ანაბეჭდი ნაცხის დასამზადებლად სტერილური ინსტრუმენტებით ამოჭრიან ორგანოს მცირე ნაწილს და პინცეტის დახმარებით სასაგნე მინაზე შეხებით ამზადებენ ნაცხს (ანაბეჭდს).

ჩირქიდან ან სხვა ექსუდატიდან ნაცხის დასამზადებლად გამოსაკვლევ მასალას ათავსებენ ორ სასაგნე მინას შორის (ნახ.14). სასაგნე მინებზე ახდენენ ზეწოლას. მინების ერთმანეთისაგან დაცილების შემდეგ ღებულობენ ნაცხებს.



ნახ. 14. ჩირქიდან ნაცხის დამზადება

სისხლიდან ნაცხის დასამზადებლად სისხლის წვეთს ათავსებენ სასაგნე მინის კიდეში. სპეციალური სასაგნე მინით (45^0-იანი დახრილი კუთხით) ოდნავ ეხებიან წვეთს და წინსვლითი მოძრაობით ამზადებენ ნაცხს. (ნახ. 15.).

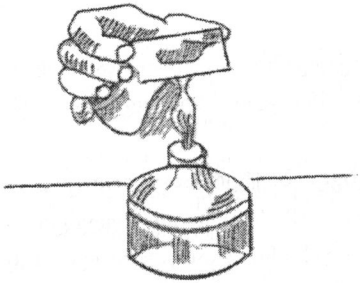


ნახ. 15. სისხლიდან ნაცხის დამზადება

ნაცხის გაშრობა. ნაცხს აშრობენ ჰაერზე ან თერმოსტატში. მწერებისაგან დასაცავად და ინფექციის გავრცელების ასაცილებლად ნაცხს აფარებენ მინის ხუფს. გაშრობის მიზნით ნაცხის ცეცხლის ალზე გატარება დაუშვებელია. ტენის სწრაფი დაკარგვის გამო ცილები განიცდიან დეგრადირებას და მიკროორგანიზმული უჯრედი კარგავს კონფიგურაციას.

ნაცხის ფიქსაცია. ნაცხის ფიქსაცია ფიზიკური და ქიმიური მეთოდებით ხორციელდება.

ფიზიკური მეთოდი. ნაცხის ფიქსაციას ახდენენ სპირტქურის ალზე (ნახ. 16).



ნახ. 16. ნაცხის ფიქსაცია

სასაგნე მინას (ნაცხით) ერთ-ერთი კიდით, ცერით და საჩვენებელი თითით იკავებენ და აუჩქარებლად ატარებენ სპირტქურის ალზე (დაახლოებით სამჯერ). ხანგრძლივი ფიქსაცია იწვევს მიკროორგანიზმული უჯრედის სტრუქტურის

შეცვლას. ასეთი მიკროორგანიზმები ცუდად იღებება. სუსტად დაფიქსირებული ნაცხი შემდგომი დამუშავებისას სასაგნე მინიდან სწრაფად ჩამოირეცხება.

ქიმიური მეთოდი – ქიმიური წესით ფიქსაციისათვის გამოიყენება აბსოლუტური სპირტი (96%-იანი), ფიქსაცია - 15-30 წთ; სპირტისა და ეთერის თანაბარი ნარევი, ფიქსაცია 2-5 წთ; მეთილის ან ამილის სპირტი, ფიქსაცია 5 წთ; ბუენის სითხე (განუზავებელი ფორმალინი 10 მლ, ყინულოვანი ძმარმჟავა 20 მლ და 30 მლ პიკრინის მჟავის ნაჯერი ხსნარი) და ა.შ. საფიქსაციო ნივთიერებას ნაცხზე აწვეთებენ ან ნაცხს ათავსებენ საფიქსაციო ნივთიერებაში.

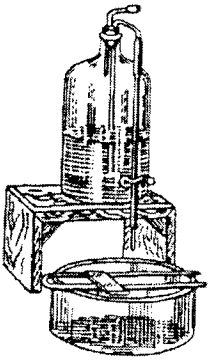
ფიქსაციით მიკროორგანიზმი სასაგნე მინაზე მაგრდება. ფიქსირებული ნაცხი უსაფრთხოა მუშაობისათვის, ვინაიდან მიკროორგანიზმი კვდება. ინაქტივირებული ცილა ნატივურ ცილასთან შედარებით საღებავს უკეთ ითვისებს.

მიკროორგანიზმთა შეღებვა

ნაცხების შესაღებად საჭიროა საღებავების კომპლექტი. ჭურჭელი გამოხდილი წყლით პრეპარატის ჩასარეცხად და ფინჯანი ხიდაკით (ნახ. 17). ნაცხს შესაღებად ხიდაკზე ათავსებენ.

ბაქტერიოლოგიურ პრაქტიკაში მიკროორგანიზმთა შესაღებად საორიენტაციო და რთული მეთოდებია შემუშავებული.

საორიენტაციო შეღებვა. ბაქტერიათა მორფოლოგიის სწრაფი დადგენის საშუალებაა. ამ მეთოდით შეღებვისათვის გამოიყენება: 1) კარბოლიანი ფუქსინი (განზავებული 1:10-ზე), შეღებვის ხანგრძლივობა 1 წთ 2) ლეფლერის საღებავი, შეღებვის ხანგრძლივობა 3-5 წთ. პრეპარატს ჩარეცხავენ გამოხდილი წყლით, აშრობენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.



ნახ. 17. პრეპარატის ჩასარეცხი მოწყობილობა

რთული შეღებვა. რთული წესით შეღებვისათვის სხვადასხვა საღებავები გამოიყენება. რთულ შეღებვას მიეკუთვნება: გრამის წესით შეღებვა, სპორების შეღებვა, კაპსულების შეღებვა და სხვ.

გრამის წესით შეღებვა 1. ფიქსირებულ ნაცხს აფარებენ ფილტრის ქაღალდს და ასხამენ გენციან-ვიოლეტს ან მეთილ-ვიოლეტს. შეღებვის ხანგრძლივობა 2-3 წთ (ფილტრის ქაღალდი ხელს უშლის პრეპარატზე ნალექის წარმოქმნას).

2. ფილტრის ქაღალდს აცილებენ, ნაცხზე აწვეთებენ ლუგოლის ხსნარს; აჩერებენ 1-2 წუთის განმავლობაში (პრეპარატი რამდენადმე შავდება). ლუგოლის ხსნარი გამოყენების შემდეგ უნდა გადაიღვაროს

3. პრეპარატს 20 წამის განმავლობაში ამუშავებენ 96%-იანი სპირტით.

4. ნაცხს ჩარეცხავენ წყლით.

5. პრეპარატს 2 წუთის განმავლობაში დამატებით ღებავენ ფეიფერის ფუქსინით, საფრანინით ან ნეიტრალროტით.

6. პრეპარატს კვლავ ჩარეცხავენ წყლით, აშრობენ და იკვლევენ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით.

მიკროსკოპიული სურათი. ფირმაკუტი (გრამდადებითი) ბაქტერიები მუქ იისფერში, გრაციკულიტი (გრამუარყოფითი), მოვარდისფრო-წითელ ფერშია შეღებილი.

ბაქტერიათა სხვადასხვა ფერით შეღებვა უჯრედის სტრუქტურითაა გაპირობებული. ფირმიკუტი (იგივე

გრამდადებითი) ბაქტერიები ციტოპლაზმაში დიდი რაოდენობით შეიცავენ რიბონუკლეინის მჟავას - მაგნიუმის მარილებს, რომელიც შედის რეაქციაში გენციან-ვიოლეტთან და იოდთან (ლუგოლის ხსნარი). ამრიგად წარმოიქმნება მდგრადი ნაერთი იოდპარაროზალინი. ეს უკანასკნელი ძნელად იშლება სპირტის მოქმედებით, ამიტომ პრეპარატი იისფრად შეღებილი რჩება. გრაცილიკუტი (იგივე გრამუარყოფითი) ბაქტერიები აღნიშნულ მარილებს მცირე რაოდენობით შეიცავენ, ამიტომ წარმოქმნილი ნაერთი სუსტია და სპირტის მოქმედებით ადვილად უფერულდება. გრაცილიკუტი ბაქტერიები მოითხოვენ დამატებით შეღებვას კონტრასტულ ფერში და ფეიფერის ფუქსინის მოქმედებით მოვარდისფრო – წითლად იღებებიან.

გრამის წესით შეღებვის თავისებურებაზე გავლენას ახდენს ბაქტერიათა უჯრედის კედლის სტრუქტურული თავისებურება, მისი ფორების სიგრძე და ფორმა. ფირმიკუტ (Firmicute, ლათ. firmus - ძლიერი, მტკიცე, cutis -კანი) ბაქტერიებს აქვთ მრავალშრიანი მურეინული შრე, ამიტომ გაუფერულებას ძნელად განიცდიან. გრაცილიკუტი (Gracillicute, ლათ. gracilis - თხელი, cutis -კანი) ბაქტერიების მურეინულ შრეს აქვს შედარებით მსხვილი ფორები. ისინი ადვილად ატარებენ სპირტს. წარმოშობილი კომპლექსი იშლება და უჯრედი უფერულდება.

ბირთვისებრი (კოკები) ფორმის ბაქტერიების უმეტესობა გრამდადებითია, კლაკნილი ფორმები – გრამუარყოფითი. ჩხირისებრ ფორმებში ვხვდებით ფირმიკუტ და გრაცილიკუტ სახეობებს. სარწმუნო შედეგების მისაღებად უმჯობესია მიკროორგანიზმთა 18-24 სთ-იანი სთ კულტურების გამოყენება. *გრამუარყოფითი ბაქტერიებია: Enterobacteriaceae* (გვარები: *Escherichia, Salmonella, Proteus, Enterobacter* და სხვ.) ყველა სახეობა; ბრუცელოზის - *Brucella*; პასტერელოზის – *Pasteurella multocida*; ქოთაოს – *Actinobacillus mallei*; მელიოიდოზის - *Malleumyces pseudomallei*; ნეკრობაქტერიოზის – *Fusobacterium*

necrophorum; ლეპტოსპიროზის – *Leptospira*; ტულარემიის – *Francisella tularensis* და სხვ აღმძვრელები.

გრამდადებითი ბაქტერიებია: სტაფილოკოკები – *Staphylococcus*, სტრეპტოკოკები – *Streptococcus*, სარცინები – *Sarcina*, ტეტრაკოკები – *Tetracoccus*, აციდოფილური ბაქტერია– *Bacterium acidophylus*, რძემჟავა ჩხირი (ბულგარული) – *Bacterium lactis*, აზოტის ფიქსატორი ბაქტერიები - *Azotobacter*, თივის ჩხირი – *Bacillus subtilis*, კომბოსტოს ჩხირი - *Bacillus megatherium*; კარტოფილის ჩხირი – *Bacillus mesentericus*; ფესვის ჩხირი – *Bacillus mycoides*, ავთვისებიანი შეშუპების - *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium oedematiens*, *Clostridium histoliticum*, ჯილეხის აღმძვრელი – *Bacillus anthracis*, ბოტულიზმის– *Clostridium botulinum*; ლისტერიოზის - *Listeria monocytogenes* და სხვ.

გრამის წესით შეღებვის მოდიფიცირებული მეთოდი. ფიქსირებულ ნაცხებზე აწვეთებენ გენციან-ვიოლეტის 10%-იან ხსნარს. ღებავენ 5 წამის განმავლობაში. პრეპარატს ჩარეცხავენ წყლით და თანმიმდევრულად 5-5 წამის განმავლობაში ამუშავებენ ფენოლის 5% -იანი ხსნარით და ლუგოლის ხსნარით, 15 წამის განმავლობაში აუფერულებენ სპირტით. პრეპარატს ჩარეცხავენ წყლით და დამატებით 5 წამის განმავლობაში ღებავენ ცილის კარბოლიანი ფუქსინით. პრეპარატს ჩარეცხავენ წყლით, აშრობენ ფილტრის ქაღალდით. აღნიშნული მეთოდი საჭიროებს 10-20-ჯერ ნაკლებ დროს, ვიდრე ჩვეულებრივი (გრამის წესით) შეღებვა. მიკროორგანიზმული უჯრედები უფრო კონტრასტულად და მკაფიოდ იღებებიან.

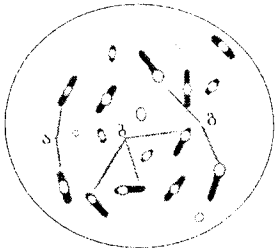
სპორების შეღებვა ზოგიერთი სახეობის ბაქტერია არახელსაყრელ პირობებში (საკვების შემცირება ტემპერატურის ცვლილება კულტურების დაძველება და სხვა) წარმოქმნის გამძლე ფორმებს – სპორებს.

სპორის ჩამოყალიბების პროცესში ციტოპლაზმა ნუკლეოიდის ნაწილთან ერთად მკვრივდება, რომელიც მრავალშრიანი გარსით იფარება. უჯრედის დანარჩენი ნაწილი კვდება. სპორა მცირე რაოდენობით შეიცავს წყალს, კალიუმს და ფოსფორს, ხოლო დიდი რაოდენობით ლიპიდებს, მაგნიუმს და კალციუმს, ფერმენტებს: ალანინ-რაცემაზას, ადენოზინ-დეზამინაზას და სხვ. ერთ ბაქტერიულ უჯრედში ერთი სპორა ჩამოყალიბდება.

სპორია შუქის ძლიერ გარდამტეხი, მბრწყინავი, მრგვალი ან ოვალური ფორმის წარმონაქმნია, რომელიც მიკროორგანიზმულ უჯრედში წარმოიშობა.

სპორა ხანგრძლივი დროის განმავლობაში უძლებს არახელსაყრელი ფაქტორების ზემოქმედებას. ასე მაგალითად, გაშეშების და ბოტულიზმის აღმძვრელთა სპორები დუღილს 1-3 სთ განმავლობაში უძლებენ. ჯილეხის და გაშეშების გამომწვევის სპორები ნიადაგში რამდენიმე ათეული წლის განმავლობაში ინარჩუნებენ სიცოცხლეს.

ბაქტერიულ უჯრედში მდებარეობისა და ზომის მიხედვით არჩევენ სპორათა სხვადასხვა ტიპს: ცენტრალურს, ტერმინალურს და სუბტერმინალურს. (ნახ. 18).



ნახ. 18. სპორის სახეები: ა) ცენტრალური. ბ) ტერმინალური. გ) სუბტერმინალური.

სპორა მარტივი და გრამის წესით არ იღებება. მათი შეღებვა საჭიროებს მკვრივი გარსის სტრუქტურის შეცვლას. სპორის გარსის დასარბილებლად ხმარობენ ფერმჭერს (ქრომისა და გოგირდის მჟავა). პრეპარატის ინტენსიური შეღებვისათვის გამოიყენება საღებავების კონცენტრირებული ხსნარები და გაცხელება.

სპორების შესაღებად თავდაპირველად პრეპარატს ინტენსიურად ღებავენ, შემდეგ აუფერულებენ ვეგეტატიურ ფორმებს მჟავათა სუსტი ხსნარებით. პრეპარატს დამატებით კონტრასტულ ფერში ღებავენ.

სპორების შესაღებად სხვადასხვა მეთოდია შემუშავებული.

აუესკის მეთოდი. ნაცხს ჰაერზე აშრობენ და გაცხელებით (ორთქლის გამოყოფამდე) 2-3 წუთის განმავლობაში 0,5-1%-ანი ქლორწყალბადმჟავის ხსნარით ამუშავებენ. პრეპარატს საწინააღმდეგო მხრიდან წყლის ჭავლით აცივებენ. ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სპირტქურის ალზე აფიქსირებენ. აფარებენ ფილტრის ქაღალდს, აწვეთებენ ცილის ფუქსინს და გაცხელებით ორთქლის წარმოშობამდე 7-8 წუთს ღებავენ. აუფერულებენ 5%-იანი H_2SO_4 – ით, 5-7 წამის განმავლობაში. ნაცხს გულდასხმით ჩარეცხავენ წყლით და დამატებით ღებავენ მეთილენის ლურჯით. ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

სპორები წითელ ფერში, ვეგეტატური ფორმები ლურჯ ფერშია შეღებილი.

პეშკოვის მეთოდი. ფიქსირებულ ნაცხს სპირტქურის ალზე გაცხელებით (ადუღებამდე) 20 წამის განმავლობაში ღებავენ მეთილენის ლურჯით. გაცივების შემდეგ წყლით ჩარეცხავენ, პრეპარატს დამატებით ღებავენ ნეიტრალროტის 0,5%-ანი წყლიანი ხსნარით 30 წამიდან 1 წუთის განმავლობაში. რეცხავენ წყლით და ამშრალებენ.

მიკროსკოპული სურათი – სპორები შეღებილია ლურჯ ფერში, ჩხირები ვარდისფერში.

ზლატოგოროვის მეთოდი. ფიქსირებულ ნაცხს აფარებენ ფილტრის ქაღალდს. აწვეთებენ კარბოლიან ფუქსინს, აცხელებენ სპირტქურის ალზე 5-10 წუთის განმავლობაში,

ორთქლის წარმოშობამდე. საღებავს პერიოდულად უმატებენ. ნაცხს H_2SO_4–ის 3%-ანი წყლიანი ხსნარით 5-10 წამის განმავლობაში აუფერულებენ, ჩარეცხავენ წყლით. დამატებით ღებავენ მეთილენის ლურჯით 2-5 წთ-ს. ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი - სპორები შეღებილია წითელ ფერში, ვეგეტატური ფორმები- ლურჯ ფერში.

კაფსულების შეღებვა. ზოგიერთი სახეობის პათოგენური და საპროფიტი ბაქტერიები უჯრედის გარშემო წარმოქმნიან ლორწოვან ჩანთას –კაფსულას.

კაფსულა ბაქტერიული გარსის გასქელების და გალორწოვანების პროდუქტია. კაფსულის ნივთიერება პოლი-საქარიდების, მუკოპოლისაქარიდებისა და პოლიპეპტიდებისგან შედგება. კაფსულა პათოგენურ მიკროორგანიზმებს იცავს ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმის დაცვითი ძალების ზემოქმედებისგან. კაფსულით ჩვეულებრივ 1-2-3 მიკროორგანიზმული უჯრედია გარშემორტყმული. საერთო კაფსულაში თავმოყრილ ბაქტერიათა გროვებს ზოოგლეა ეწოდება.

კაფსულის აღმოჩენას აქვს სადიაგნოსტიკო მნიშვნელობა.

კაფსულა ძნელად ითვისებს საღებავს, მარტივი წესით შეღებვის დროს მიკროორგანიზმული უჯრედის გარშემო მოჩანს უფერო, მკრთალი კონტურის სახით /ნახ. 19/.

კაფსულების შეღებვის სხვადასხვა მეთოდებია შემუშავებული.

ოლტის მეთოდი – ნაცხს აფარებენ ფილტრის ქაღალდს, ასხამენ ახლად დამზადებულ საფრანინის 3%-იან წყლიან ხსნარს. ნაცხს 1-3 წუთის განმავლობაში ღებავენ ოდნავი გაცხელებით. ჩარეცხავენ წყლით. გაშრობის გარეშე აფარებენ საფარ მინას. საფარსა და სასაგნე მინებს შორის უნდა იმყო-

ფებოდეს წყლის წვეთი. პრეპარატს იკვლევენ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით.

ნახ. 19. *Bacillus anthracis*-ის კაფსულა

მიკროსკოპული სურათი – კაპსულები შეღებილია ყვითლად, ბაქტერიები წითლად.

იონეს მეთოდი – ფიქსირებულ ნაცხს აფარებენ ფილტრის ქაღალდს და ღებავენ გაცხელებით 1-2 წუთის განმავლობაში 2%-ანი გენციან-ვიოლეტით ან მეთილ-ვიოლეტით. საღებავს ჩარეცხავენ წყლით. პრეპარატს ამუშავებენ ძმრის მჟავას 2%-ანი ხსნარით 10 წამის განმავლობაში, ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი – მიკროორგანიზმები შეღებილია მუქ-იისფერში, კაპსულები მოვარდისფრო-იისფერში.

მიხინის მეთოდი – ნაცხს 2-3 წთ-ის განმავლობაში ღებავენ გაცხელებით, მეთილენის ლურჯით ორთქლის წარმოშობამდე. საღებავს სწრაფად ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ ფილტრის ქაღალდით და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი – კაპსულები შეღებილია ღია ვარდისფერში, ბაქტერიები მუქ-ლურჯად.

რებიგერის მეთოდი. დაუფიქსირებელ ნაცხებს 15-20 წამის განმავლობაში ღებავენ ფორმალინიზირებული გენციენ-ვიოლეტით. წყლით სწრაფად ჩარეცხავენ, აშრობენ. ბაქტერიები იღებებიან მუქ-იისფერში, კაპსულები მოწითალო-იისფერში.

საღებავის მომზადება: ერთმანეთში ურევენ 15-20 გ გენციან-ვიოლეტს და 100 მლ 40% -იან ფორმალინს. აჩერებენ რამდენიმე საათს, ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში.

რომანოვსკი-გიმზას მეთოდი. ნაცხს 10 წუთის განმავლობაში აფიქსირებენ 96%-იანი სპირტით ან სპირტ-ეთერის ხსნარით. ღებავენ რომანოვსკი-გიმზას საღებავებით. ამ მიზნით ფიქსირებულ ნაცხს ათავსებენ პეტრის ფინჯანში 1-2 მმ სისქის მინის ან ხის ღეროებზე (ნაცხი ქვემოთ არის მიმართული). საღებავი შეაქვთ მინის ქვეშ. შელებვის ხანგრძლივობა 20-30 წუთია. ნაცხს სწრაფად ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი – ბაქტერიები შეღებილია ლურჯად, კაფსულები ღია ვარდისფრად.

მჟავა- და სპირტგამძლე ბაქტერიების შეღებვა. მჟავაგამძლე ბაქტერიებში გაერთიანებულია მინერალური მჟავებისადმი (5-10% H_2SO_4 და HCl ხსნარი) რეზისტენტული მიკროორგანიზმები.

მჟავაგამძლე ბაქტერიები ცხიმ-ცვილოვანი ნივთიერებების შემცველობის გამო ჩვეულებრივი საღებავებით ცუდად იღებება. მათ შეღებვას საფუძვლად უდევს კონცენტრირებული საღებავების გამოყენება და გაცხელება. მჟავა გამძლე ბაქტერიები ძნელად ითვისებენ საღებავს და ძნელადვე უფერულდებიან მჟავების (H_2SO_4, HCl) მოქმედებით. სხვა სახეობის ბაქტერიებიდან საღებავი სწრაფად გამოირეცხება მჟავების მოქმედებით და მოითხოვენ დამატებით შეღებვას.

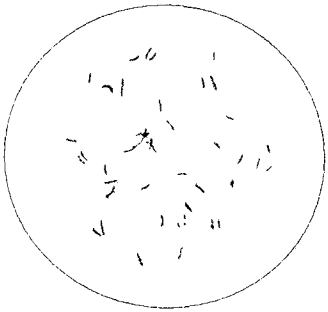
მჟავაგამძლე ბაქტერიებია: ტუბერკულოზის ჩხირი, მსხვილფეხა პირუტყვის პარატუბერკულოზური ენტერიტის აღმძვრელი, კეთრის ჩხირი და სხვ. მჟავა გამძლე ბაქტერიებს შორის არიან საპროფიტი სახეობები, რომლებიც სპირიტის მოქმედებით უფერულდებიან.

მჟავა და სპირტგამძლე ბაქტერიების შეღებვისათვის სხვადასხვა მეთოდებია მოწოდებული.

ცილ-ნილსენის მეთოდი. ფიქსირებულ ნაცხს აფარებენ ფილტრის ქაღალდს. ნაცხზე აწვეთებენ კარბოლიან ფუქსინს. აცხელებენ სპირტქურის ალზე ორთქლის გამოყოფამდე 5

წუთის განმავლობაში (საღებავს თანდათანობით უმატებენ). ფილტრის ქაღალდს აცილებენ. ნაცხს 5-10 წამის განმავლობაში აუფერულებენ H_2SO_4-ის 5-10%-იანი ხსნარით. სწრაფად ჩარეცხავენ წყლით. პრეპარატზე მოქმედებენ 96%-იანი ეთილის სპირტით 10-15 წამის განმავლობაში. პრეპარატს წყლით ჩარეცხავენ და დამატებით ღებავენ მეთილენის ლურჯით 2-3 წუთის განმავლობაში. ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი – მჟავაგამძლე ბაქტერიები წითლად, სხვა ბაქტერიები ლურჯად არის შეღებილი (ნახ. 20).



ნახ. 20. ტუბერკულოზის აღმძვრელი

ვეისბაუმის მეთოდი – ნაცხს ღებავენ კარბოლიანი ფუქსინით, გაცხელებით ორთქლის წარმოშობამდე. ჩარეცხავენ წყლით. დამატებით ღებავენ მეთილენის ლურჯის სპირტიანი ნაჯერი ხსნარით 2-3 წუთის განმავლობაში. პრეპარატს წყლით ჩარეცხავენ, ამშრალებენ ფილტრის ქაღალდით და სინჯავენ მიკროსკოპში.

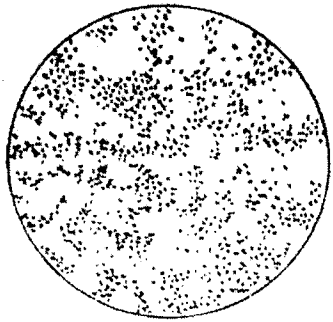
მიკროსკოპული სურათი – ტუბერკულოზის ჩხირი წითლად, მჟავა და არასპირტგამძლე მიკროორგანიზმები ლურჯად არის შეღებილი.

ბრუცელოზის აღმძვრელის შეღებვა. ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ ფართოდ გამოიყენება კოზლოვსკის მეთოდით შეღებვა. აღნიშნული მეთოდის გამოყენების დროს შერეულ მასალაში არსებული ბრუცელები სხვა მიკროორგანიზმებისაგან განსხვავებით საღებავის

(გაცხელებით) ხანმოკლე ზემოქმედების შემთხვევაში (1 წუთამდე) მოგვიანებით იღებებიან. უცხო მიკროფლორის შეღებვის მიზნით პრეპარატს დამატებით კონტრასტული ფერის საღებავით ამუშავებენ.

კოზლოვსკის მეთოდი. ნაცხს ღებავენ 2%-იანი საფრანინის წყლიანი ხსნარით, გაცხელებით, აირების პირველი ბუშტების გამოყოფამდე. ჩარეცხავენ წყლით. ნაცხს დამატებით ღებავენ 0,75-1%-ანი მალაქიტის მწვანის ან მეთილენის ლურჯის წყლიანი ხსნარით 30 წამის განმავლობაში. პრეპარატს ჩარეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

მიკროსკოპული სურათი - ბრუცელები შეღებილია მკვეთრ-წითელ ფერში, სხვა მიკროორგანიზმები მწვანედ ან ლურჯად. (ნახ. 21).



ნახ. 21. ბრუცელები

ბაქტერიათა შეღებვა ცოცხალ მდგომარეობაში. ცოცხალ მდგომარეობაში, ანუ ვიტალური შეღებვით ადგენენ მიკროორგანიზმთა სტრუქტურას, დეფორმაციის გარეშე. ვიტალური შეღებვის პარალელურად გამოიყენება სუბვიტალური შეღებვა. სუბვიტალური შეღებვის დროს მიკროორგანიზმები თანდათანობით კვდებიან. სუბვიტალური შეღებვა ხორციელდება საღებავების კონცენტრირებული ხსნარებით.

ვიტალური და სუბვიტალური შეღებვის სხვადასხვა მეთოდებია შემუშავებული.

ნაკაშინის მეთოდი. სასაგნე მინაზე შეაქვთ მეთილენის ლურჯის წყლიანი ნაჯერი ხსნარი. საღებავს ხმარების წინ

ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში. სასაგნე მინას გაშრობის შემდეგ წმენდენ ნაჭრით ნაზი მტრედისფერის მიღებამდე. გამოსაკვლევი კულტურის წვეთს ათავსებენ სასაგნე მინაზე და სინჯავენ მიკროსკოპში.

რუჟიჩკას მეთოდი - 0,5%-იანი ნეიტრალროტის და მეთილენის ლურჯის წყლიანი ხსნარების შერევით (თანაბარი რაოდენობით) ამზადებენ საღებავს. საღებავის რამდენიმე წვეთს თანაბრად ანაწილებენ სასაგნე მინაზე. თერმოსტატში 37^0C-ზე გაშრობის შემდეგ საღებავზე ათავსებენ გამოსაკვლევი მასალის წვეთს. აფარებენ საფარ მინას და სინჯავენ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით.

ნეგატიური შეღებვა სასაგნე მინაზე ათავსებენ ერთ წვეთ ტუშს, რომელშიაც გამოსაკვლევი მასალის წვეთს ურევენ. (მიკროორგანიზმთა კულტურა, კბილის ნალექი). შერეული მასალიდან ამზადებენ ნაცხებს (სისხლიდან ნაცხების დამზადების მსგავსად). ამშრალებენ და იკვლევენ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით.

შოლტების შეღებვა მოროზოვის მეთოდით (დავერ-ცხლის მეთოდი). შეღებვისათვის გამოიყენება სამი რეაქტივი:

ა) 1 მლ. 40 %-იანი ფორმალინი, +1 მლ, ყინულოვანი ძმარმჟავა, +100 მლ, გამოხდილი წყალი.

ბ) ტანინი 5 გ, + გამლღვალი კარბოლის მჟავა 1 მლ, + გამოხდილი წყალი 100მლ.

გ) კრისტალური აზოტმჟავა ვერცხლი 5გ, + გამოხდილი წყალი 100 მლ.

80 მლ აზოტმჟავა ვერცხლის ხსნარს წვეთ-წვეთობით უმატებენ ამიაკის 25%-იან ხსნარს, ნალექის სრულ გახსნამდე (ოპალესცენციის წარმოქმნა). ხსნარს ინახავენ მუქ ჭურჭელში, შოლტების შესაღებად აზავებენ 1:10-ზე.

18-20 საათიან აგარზე ნაზარდი კულტურიდან (საკონ-დენსაციო სითხის საზღვარზე) ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ფრთხილად იღებენ მასალას, 0,1-0,2 მლ შეაქვთ სინჯარაში

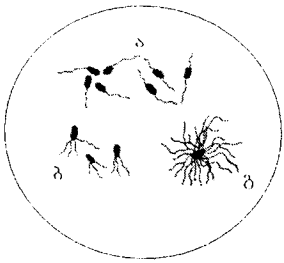
პირველი რეაქტივით. მარყუჟის ფრთხილი მოძრაობით (ზემოდან ქვევით) ხსნარში ხსნიან მარყუჟზე არსებულ ბაქტერიებს. ერთი საათის განმავლობაში ტოვებენ თერმოსტატში. პიპეტით ერთი წვეთი შეაქვთ სინჯარაში, რომელშიც 3-4 მლ გამოხდილი წყალია შეტანილი. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით სასაგნე მინაზე გადააქვთ 4-6 პატარა წვეთი. აშრობენ ჰაერზე. ნაცხზე მოქმედებენ მეორე რეაქტივით, აცხელებენ ორთქლის წარმოქმნამდე 1 წუთს. გულდასმით რეცხავენ წყლით. გაცხელებით ამუშავებენ მესამე რეაქტივით 1-2 წუთს. (პრეპარატი ყავისფერში იღებება). გულდასმით ჩარეცხავენ წყლით და ამშრალებენ.

მიკროსკოპული სურათი – ბაქტერიები შეღებილია შავად, შოლტები ყავისფრად.

ბაქტერიათა მოძრაობის დადგენა

ბაქტერიებში მოძრაობა შოლტებით ხორციელდება.

შოლტების რაოდენობისა და განლაგების მიხედვით მოძრავი ბაქტერიები დაყოფილია სამ ჯგუფად (ნახ. 22).



ნახ.22
ბაქტერიათაშოლტები:
ა)მონოტრიქა.ბ)
ლოფოტრიქა გ)
პერიტრიქა.

მონოტრიქა (Monotricha) ბაქტერიები ბოლოში ერთი შოლტით.

ლოფოტრიქა (Lophothricha) ბაქტერიები ბოლოში შოლტების კონით.

პერიტრიქა (Peritricha) ბაქტერიული უჯრედი შოლტებითაა დაფარული. ბაქტერიათა შოლტები ნაზი და წვრილი წარმონაქმნია. მათი სისქე 0,1 მკმ-მდეა. ჩვეულებრივი მეთოდით შეღებვისას მიკროსკოპში არ მოჩანს. მოძრაობა კარგად არის გამოხატული ახალგაზრდა (18-24 სთ)

ბულიონიან კულტურებში.

ბაქტერიათა მოძრაობას ადგენენ აგარის გელში ბაქტერიათა ზრდის თავისებურებით, ჩაკიდული და გაჭყლეტილი წვეთით.

აგარის გელში მოძრაობის დადგენა. 0,3-0,4%-იან აგარის გელში ახდენენ მიკროორგანიზმის კულტურის ჩათესვას ჩხვლეტით. ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^0 C-ზე. 18-24 საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. მოძრავი ბაქტერიები ზრდის პროცესში განიცდიან დიფუზიას და აგარი იძენს დაბურულ შეხედულებას. უძრავი ბაქტერიები მხოლოდ ჩათესვის მიმართულებით იზრდებიან.

ჩაკიდული წვეთი. ამ მეთოდით მოძრაობის დასადგენად სპეციალური ფოსოიანი სასაგნე მინა გამოიყენება. ფოსოს, გარშემო წააცხებენ ვაზელინის თხელ ფენას. სრულიად სუფთა, ცხიმგაცლილ სასაგნე მინაზე შეაქვთ გამოსაკვლევი კულტურის წვეთი. მკვრივ საკვებ არეზე ნაზარდი კულტურის გამოსაკვლევად საათის მინაზე წინასწარ ამზადებენ ბაქტერიათა სუსპენზიას NaCl-ის 0,9%-იან იზოტონურ ხსნარში. სასაგნე მინას იკავებენ ფოსოთი ქვევით და ოდნავი ზეწოლით ადებენ საფარ მინას. ამრიგად წვეთი ფოსოს ცენტრში იმყოფება (ნახ. 23).

ნახ. 23 ჩაკიდული წვეთი

სასაგნე მინას სწრაფად გადმოაბრუნებენ. გამოსაკვლევი წვეთი ჩაკიდულია და ფოსოს კიდეებს არ ეხება. ჰერმეტული სივრცე წვეთს იცავს გამოშრობისაგან.

სასაგნე მინას აფიქსირებენ სასაგნე მაგიდაზე და იკვლევენ მშრალი ან იმერსიული სისტემის ობიექტივებით.

გაჭყლეტილი წვეთი. სასაგნე მინის ცენტრში აწვეთებენ გამოსაკვლევ კულტურას. ფრთხილად აფარებენ საფარ მინას. საფარსა და სასაგნე მინებს შორის ჰაერის ბუშტუკების

წარმოშობა დაუშვებელია. პრეპარატს იკვლევენ ბნელ მხედველობის არეში.

აქტიურად მოძრავი ბაქტერიები მხედველობის არეში დაცურავენ, ერთმანეთს უსწრებენ, ასრულებენ ბრუნვით და წრიულ მოძრაობებს. წვეთის გაცხელების ან გაცივების შემთხვევაში მოძრაობა ქვეითდება ან შეიძლება სრულიად შეწყდეს.

ბაქტერიათა აქტიური მოძრაობა განსხვავდება ბროუნის მოლეკულური და მექანიკური ანუ პასიური მოძრაობისაგან.

ბროუნის მოძრაობის დროს ბაქტერიები განლაგებულია ჯგუფებად და ერთ ადგილას ტალღისებრად ირხევიან.

პასიური ანუ მექანიკური მოძრაობა გაშრობის სტადიაში მყოფ წვეთში აღინიშნება. ამ დროს წარმოქმნილი სითხის ნაკადი ბაქტერიებს გადააადგილებს.

სტერილიზაცია

სტერილიზაცია (ლათ. sterilis– უნაყოფო) სხვადასხვა მიკროორგანიზმების და მათი სპორების მოსპობას ნიშნავს.

ბაქტერიოლოგიურ ლაბორატორიებში სტერილიზაციით ახდენენ მიკროორგანიზმთა კულტურების, პათოლოგიური მასალის და ნახმარი ინსტრუმენტების უვნებელყოფას.

სტერილიზაციისათვის გამოიყენება ფიზიკური, მექანიკური და ქიმიური მეთოდები.

ფიზიკური მეთოდი. სტერილიზაციის ფიზიკური მეთოდი (თერმული სტერილიზაცია) ფართოდ გამოიყენება ყოველდღიურ მიკრობიოლოგიურ პრაქტიკაში. თერმული სტერილიზაცია სხვადასხვა გზით ხორციელდება:

სტერილიზაცია ცეცხლის ალზე – მარტივი და სწრაფი მეთოდია. ასეთი სტერილიზაცია სპირტქურის ან გაზქურის ალზე გაცხელებით ხდება. ამ გზით ასტერილებენ საგნებს, რომლებიც ცეცხლის ალის მოქმედებით არ ფუჭდება: ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი, სასაგნე მინები, მინის წკირები,

პინცეტები, ლანცეტები, და სხვა ინსტრუმენტები. ფოლადისგან დამზადებული ბასრი ინსტრუმენტები ცეცხლის ალზე განიცდის დაჩლუნგებას, ამიტომ მათი სტერილიზაცია ცეცხლის ალზე სასურველი არაა.

სტერილიზაცია ადუღებით–ტარდება სტერილიზატორში. ადუღებით ასტერილებენ ქირურგიულ იარაღებს: შპრიცებს, ნემსებს, რეზინის ხელთათმანებს და სხვა. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 30 წუთია. ადუღებით სტერილიზაციისათვის მიზანშეწონილია გამოხდილი წყლის გამოყენება რომელსაც 1% სოდას ან 0,5% კარბოლის მჟავას უმატებენ. ლითონისაგან დამზადებული იარაღების ბასრ ნაწილებს დაჟანგვისა და დაჩლუნგებისაგან დასაცავად ადუღებულ წყალში მოთავსების წინ ბამბაში ახვევენ.

სტერილიზაცია მშრალი ცხელი ჰაერით საშრობ კარადაში ხდება. საშრობი კარადა ორკედლიანი აპარატია. კედლებს შორის ცხელი ჰაერი გადის. კარადას ზემოთა ნაწილში აქვს ხვრელი, რომელშიაც თავსდება თერმომეტრი ტემპერატურის გასაზომად. ხელსაწყოს ელექტროდენით აცხელებენ. ხელსაწყოში ტემპერატურის სათანადო რეჟიმის დაცვა თერმორეგულატორით ან კონტაქტური თერმომეტრით ხდება.

ცხელი მშრალი ჰაერით ასტერილებენ: მინის ჭურჭელს, პიპეტებს, მინის შპრიცებს, ბამბას, დოლბანდს. გასასტერილებლად სინჯარებსა და ფლაკონებს გულდასმით ამშრალებენ, არგებენ ბამბის საცობს. ბაქტერიოლოგიურ ფინჯნებს (ცალ-ცალკე) ან პიპეტებს (10-15 ერთად) ქაღალდში ახვევენ. ანალოგიურად ქაღალდში ახვევენ ბამბასა და დოლბანდს.

სტერილიზაცია საშრობ კარადაში მიმდინარეობს: 150^{0}C-ზე - 2 სთ, 165-170^{0}C-ზე - 45 წთ, 180^{0}C-ზე - 10წთ. ბამბასა და დოლბანდს 170^{0}C-ზე ასტერილებენ, ვინაიდან უფრო მაღალ ტემპერატურაზე აალება იწყება. სტერილიზაციის დაწყების

მომენტად ითვლება დრო, როდესაც ტემპერატურა სასურველ დონეს მიაღწევს.

ულტრაიისფერი სხივებით სტერილიზაცია. ულტრაიისფერი სხივების წყაროდ უპირატესად ბაქტერიოციდული ნათურა გამოიყენება. ბაქტერიციდული ნათურის მოქმედების ხანგრძლივობა საშუალოდ 1-1,5 საათია. ბაქტერიოციდული ნათურით დასხივების მომენტში მუშაობა კატეგორიულად აკრძალულია.

გამდინარე ორთქლით სტერილიზაცია. ავტოკლავში 100^0C-ზე ხორციელდება. აღნიშნული ტემპერატურის მისაღებად ავტოკლავს სახურავს მჭიდროდ არ ახურავენ. წყლის დუღილის შედეგად გამოყოფილი ორთქლი თავისუფლად გამოდის ნაპრალებიდან. გამდინარე ორთქლით ასტერილებენ ნივთიერებებს, რომლებიც ვერ უძლებენ 100 ^{0}C-ზე მაღალ ტემპერატურას: რძე, ნახშირწყლიანი საკვები არეები და სხვ. სტერილიზაციის დაწყების მომენტად ითვლება დრო, როდესაც ტემპერატურა 100 ^{0}C-ს მიაღწევს. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 30 წუთიდან 1 საათია.

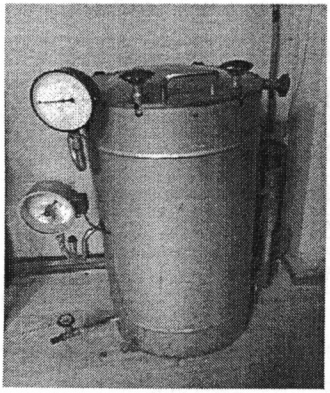
წყვეტილი სტერილიზაცია. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 3 დღეა; ყოველდღიურად 20-30 წუთის ხანგრძლივობით, შუალედებში გასასტერილებელ მასალას 37^0C-ზე ტოვებენ. პირველ დღეს სტერილიზაციის შემდეგ დარჩენილი სპორები 37^0C-ზე გადადიან ვეგეტატურ ფორმაში, რომლებიც მეორე დღეს კვდებიან. მესამე დღეს სტერილიზაცია სრულ უნაყოფობას განაპირობებს. წყვეტილი სტერილიზაცია გამდინარე ორთქლით სტერილიზაციაზე საიმედოა. წყვეტილი სტერილიზაციით ასტერილებენ ნივთიერებებს, რომლებიც ვერ უძლებენ ორთქლის ხანგრძლივ ზემოქმედებას: ჟელატინა, ნახშირწყლების შემცველი საკვები არეები და სხვ.

ტინდალიზაცია წყვეტილი სტერილიზაცია 55-58^0C-ზე, თითო-თითო საათის ხანგრძლივობით, 6-7 დღის განმავლობაში. შუალედებში გასასტერილებელ მასალას ოთახის ტემპერატუ-

რაზე ტოვებენ. ამ დროს სპოროვანი ფორმები გადადიან ვეგეტატურში და იხოცებიან. ტინდალიზაციით ასტერილებენ ცილის შემცველ საკვებ არეებს.

პასტერიზაცია. ერთჯერადი გაცხელებაა 63-80^{0}C-ზე 30 წუთის განმავლობაში, შემდგომი სწრაფი გაცივებით 10-11^{0}C-ზე. მეცხოველეობაში პასტერიზაცია ფართოდ გამოიყენება რძეში ბრუცელოზის და ტუბერკულოზის აღმძვრელების მოსასპობად. პასტერიზაცია პროდუქტს საკვებ ღირებულებას არ უკარგავს. პასტერიზაციით ვეგეტატური ფორმები იღუპება. სპოროვანი ფორმების გამრავლება პროდუქტის დაბალ ტემპერატურაზე შენახვის გამო იზღუდება.

ორთქლით წნევის ქვეშ სტერილიზაცია. ორთქლით წნევის ქვეშ სტერილიზაცია ავტოკლავში ხორციელდება. ავტოკლავში წყლის დუღილის შედეგად გამოიყოფა ორთქლი, რომელიც გროვდება ხელსაწყოში. ასეთ ორთქლს აქვს საუცხოო სასტერილიზაციო თვისება. ავტოკლავი ორკედლიანი, ცილინდრის ფორმის ლითონისგან დამზადებული "ქვაბია" (ნახ. 24).



ნახ. 24. ავტოკლავი

ავტოკლავი მასიური სახურავის და ხრახნების საშუალებით ჰერმეტულად იხურება. ავტოკლავი აღჭურვილია: მანომეტრით, (წნევის გასაზომად), დამცველი დიაფრაგმით, წყლის დონის გამზომი მილით, ძაბრით წყლის ჩასასხმელად, ორთქლის გამოსაშვები ონკანით და რეგულატორით ხელსაწყოში სათანადო წნევის და ტემპერატურის რეგულაციისათვის. ავტოკლავის გაცხელება ელექტროდენით

ხორციელდება. არსებობს ვერტიკალური და ჰორიზონტალური ლაბორატორიული ავტოკლავები.

ავტოკლავზე მუშაობა მოითხოვს წესების მკაცრ და თანმიმდევრულ დაცვას. ავტოკლავში 1/3-მდე ასხამენ წყალს, ხელსაწყოში ათავსებენ გასასტერილებელ მასალას, სახურავს ჰერმეტულად ახურავენ, ონკანს ტოვებენ ღიად. ხელსაწყოს ჩართავენ ელექტრო ქსელში. ონკანიდან თავდაპირველად გამოდის ჰაერთან შერეული, "სველი" ორთქლი, რომელიც ძლიერი ნაკადის მქონე "მშრალი" ორთქლით იცვლება. შემდეგ ~~ჩა~~კეტავენ ორთქლის გამომშვებ ონკანს, ავტოკლავში გროვდება ორთქლი, წნევა ავტოკლავში მატულობს. სათანადო წნევის მიღების შემდეგ ავტომატურად არეგულირებენ გათბობის წყაროს ჩართვას და გამორთვას ავტოკლავში სტერილიზაცია შემდეგი პარამეტრების მიხედვით მიმდინარეობს (ცხრილი 1)

ცხრილი №1

ავტოკლავის სასტერილიზაციო მახასიათებლები

რიგითი №	წნევა	ტემპერატურა	სტერილიზაციის ხანგრძლივობა
1.	1.0 ატმ	120 ^{0}C	30-60 წთ
2.	1.5 ატმ	127 ^{0}C	20-30 წთ
3.	2.0 ატმ	133 ^{0}C	15-20 წთ
4.	3.0 ატმ	144 ^{0}C	10-15 წთ

ავტოკლავში ნორმაზე მეტი ორთქლის დაგროვების შემთხვევაში ავტომატურად იხსნება დამცველი დიაფრაგმა და სტვენის მაგვარი ხმაურით ჭარბი ორთქლი გამოედინება. ავტოკლავის მწყობრიდან გამოსვლის ასაცილებლად და ტექნიკის უსაფრთხოების დასაცავად ელდენით მომარაგება უნდა შემცირდეს ან გამოირთოს.

სტერილიზაციის დამთავრების შემდეგ ავტოკლავი ელექტროდენის ქსელიდან საჭიროა გამოირთოს. წნევის ნულ დანაყოფზე ჩამოსვლამდე ავტოკლავს დახურულ მდგომარეობაში ტოვებენ. შემდეგ აღებენ ორთქლის გამომშვებ ონკანს. ავტოკლავიდან ორთქლის მთლიანი გამოსვლის შემდეგ ფრთხილად (ნარჩენმა ორთქლმა მომუშავე რომ არ დააზიანოს) ხდიან სახურავს. ნარჩენი ორთქლის გამოსვლისა და ავტოკლავის გაგრილების შემდეგ ამოაქვთ გასტერილებული მასალა.

ავტოკლავის სახურავის გახსნა მანომეტრის ისრის ნულ დანაყოფზე ჩამოსვლამდე აკრძალულია; წნევის სწრაფი დაცემა სინჯარებსა და ფლაკონებში სითხეების "ადუღებას" განაპირობებს, რასაც საცობების დასველება და ამოგდება შეიძლება მოყვეს. ავტოკლავის ხანგრძლივად დატოვება თავდახურულ მდგომარეობაში (მთლიან გაციებამდე) არ არის რეკომენდებული. წყლის ორთქლის კონდენსაციის შედეგად საცობები სველდება და სტერილიზაციის ხარისხი ქვეითდება.

ავტოკლავში სწრაფად და საიმედოდ სტერილდება: მინის ჭურჭელი, საკვები არეები, აგრეთვე ინფექციური მასალა, კულტურები, საცდელი ცხოველების ლეშები და სხვა.

ავტოკლავს, ნორმალური მუშაობისათვის პერიოდულად ამოწმებენ სასტერილიზაციო თვისებაზე. მანომეტრის მიერ ნაჩვენები წნევისა და ტემპერატურის შესაბამისობის დასადგენად ლღობის გარკვეული ტემპერატურის სხვადასხვა ნივთიერებები გამოიყენება: ბენზონაფტოლი (ლღობის ტემპერატურა 110^{0}C), ანტიპირინი (ლღობის ტემპერატურა 113^{0}C), ბენზოლმჟავა (ლღობის ტემპერატურა 120^{0}C) და ა.შ. ჩამოთვლილ ნივთიერებებს მცირე რაოდენობით უმატებენ ფუქსინს ან მეთილენის ლურჯს. (0,01 გ საღებავი, 100 გ ნივთიერება). ნარევს თხელკედლიან მინის მილში ან სინჯარაში ათავსებენ და სტერილიზაციის წინ ავტოკლავში ვერტიკალურ მდგომარეობაში დებენ. სტერილიზაციის

ხარისხზე ნივთიერებათა ფერის შეცვლით მსჯელობენ, კერძოდ წითელი ან ლურჯი ფერის წარმოშობით, რაც ნივთიერების, ლღობის წერტილს და ავტოკლავის ტემპერატურას შეესაბამება.

ბიოქარხნებსა და მიკროორგანიზმიოლოგიურ საწარმოებში დიდი წარმადობის ავტოკლავებია დამონტაჟებული.

მექანიკური მეთოდი სპეციალურ ბაქტერიოლოგიურ ფილტრებში გატარებით ასტერილებენ შრატებს და სხვა სითხეებს, რომლებიც ვერ უძლებენ თერმულ დამუშავებას.

ბაქტერიოლოგიურ ლაბორატორიულ პრაქტიკაში შემდეგი ფილტრები გამოიყენება.

მკვრივი ფილტრები. მკვრივ ფილტრებს კვარცის, ფაიფურის, აზბესტის და სხვა მასალიდან ამზადებენ. პრაქტიკაში უპირატესად შამბერლანის და ბერკეფელდის სანთლისებრი და ზეიცის ფირფიტისებრი ფილტრებია გამოყენებული.

შამბერლანის ფილტრი – სანთლისებრი ფორმისაა, წააგავს ცილინდრს, რომლის ერთი ბოლო ღიაა. მზადდება კაოლინისა და კვარცის სილისაგან. რომლებსაც გარკვეული პროპორციით ერთმანეთში ურევენ და განსაზღვრულ წნევასა და ტემპერატურაზე გამოწვავენ. გამოწვის პროცესში ფორიანობა მთლიანად შენარჩუნებულია.

ფორიანობის მიხედვით შამბერლანის ფილტრები სხვადასხვაა:

ა) L – 1 მსხვილფორიანი – ატარებს ყველა სახეობის მიკროორგანიზმს.

ბ) L –2 და L –3- საშუალო სიდიდის ფორებით, დიდი ზომის მიკროორგანიზმებს აკავებს.

გ) L–5 L L–7, L–9, L–11 და L–13- წვრილფორიანი, აკავებს ყველა მიკროორგანიზმს რომლებიც მიკროსკოპში მოჩანს.

შამბერლანის ფილტრების უარყოფითი მხარეა ფორების სწრაფი დახშობა.

ბერკეფელდის ფილტრი. ფორმით შამბერლანის ფილტრს ჰგავს. ინფუზორული მიწიდან ამზადებენ. აქვს ფორიანობის რამდენიმე მაჩვენებელი N-normal durch lassing (ნორმალური გატარების თვისება), W-weinig durch lassing (მცირე გატარების თვისება) V-vich durch lassing (მსხვილფორიანი). ფორების სიდიდე შემდეგია: W=3-4 მკმ, N=5-7 მკმ, V=8-12 მკმ.

სანთლისებრ ფილტრებში სითხის გატარება წარმოებს გარედან შიგნით ან პირიქით, უარყოფითი ან დადებითი წნევით.

ზეიტცის ფილტრი. თხელი ფირფიტაა, სხვადსხვა დიამეტრის ფორებით: Ф-2 მსხვილფორიანი, გამოიყენება წინასწარი ფილტრაციისათვის, СФ-2- წვრილფორიანი გამოიყენება საბოლოო ფილტრაციისათვის.

ზეიტცის ფილტრის მონტაჟი ხორციელდება დამჭერ ხელსაწყოში, მისი ზედა ნაწილი უძირო ცილინდრია, ქვედა ძაბრისებრი მოყვანილობისაა (ტუბუსი), რომელსაც აქვს ლითონის ბადე ფილტრის მოსათავსებლად. ცილინდრისა და ტუბუსის ერთმანეთზე დამაგრება ხდება დამჭერების საშუალებით. მუშაობის დაწყების წინ ფილტრებს აწყობილ მდგომარეობაში ან ქაღალდში შეხვეულს (სანთლისებრი) ავტოკლავში 120^0C-ზე, 15 წუთს ასტერილებენ.

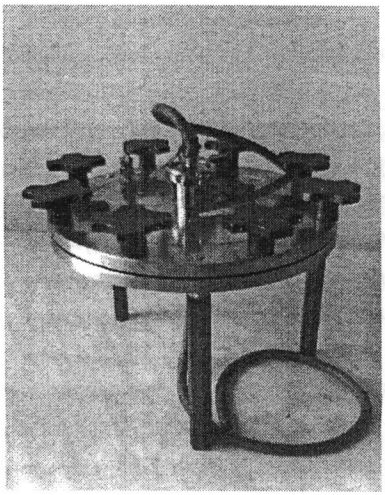
ფილტაციისათვის სითხეს ასხამენ ცილინდრისებრ ნაწილში. კოლბიდან გამოტუმბავენ ჰაერს. წნევის სხვადასხვაობის შედეგად სითხე გაივლის ფილტრში და გროვდება კოლბაში. ლაბორატორიულ პარქტიკაში კამოვსკის (კომბინირებული) და სხვა სისტემის ტუმბოები გამოიყენება. სანთლისებრი ფილტრები ხმარების წინ გულდასმით მოწმდება მთლიანობაზე. ამ მიზნით ფილტრებს წყლიან ჭურჭელში ათავსებენ. ფილტრებში ტუმბავენ ჰაერს.

ნაპრალების არსებობის შემთხვევაში წყალში ჩნდება ჰაერის ბუშტები. დაზიანებული ფილტრები უვარგისია. ფილტრების ჰერმეტულობაზე შემოწმება შეიძლება მცირე ზომის მიკროორგანიზმების გატარებით. ფილტრატს სტერილობაზე ამოწმებენ საკვებ არეებზე სინჯების ამოთესვით.

მუშაობის დამთავრების შემდეგ სანთლისებრ ფილტრებს 40 წუთის განმავლობაში 1%-იანი ქლორის ცხელ ხსნარში ათავსებენ, ჯაგრისის დახმარებით წყლით რეცხავენ, გადააქვთ გამოხდილ წყალში და კვლავ რეცხავენ, სანამ წყალი არ შეიძენს მჟავა რეაქციას. სანთლისებრ ფილტრებს აშრობენ და ინახავენ ცილინდრში.

ფორებში დარჩენილი მიკროორგანიზმების და ნაწილაკების მოსაცილებლად სანთლისებრ ფილტრებს გამოწვავენ მუფელის ღუმელში ან ტუტით და მჟავათი ამუშავებენ, რეცხავენ წყლით, ამშრალებენ და ასტერილებენ.

მემბრანული ულტრაფილტრები ანუ კოლოიდური მემბრანები. ემსახურება ულტრაფილტრაციისათვის. ულტრაფილტრაცია კოლოიდურ ნივთიერებათა ფენაში სითხეების გატარებას ნიშნავს. მემბრანული ულტრაფილტრები ნიტროცელულოზის ფირფიტებია, გარეგანი შეხედულებით მოგვაგონებს თეთრი ფერის ქაღალდს. ფილტრის ზედა (საჰაერო) ზედაპირი დაბურული შეხედულებისაა, ქვედა ლაქისებრად მბრწყინავი. ულტარაფილტრები თავსდება სპეციალურ საფილტარციო აპარატში, რომელიც ორი ნაწილისაგან – სადგამისა და სახურავისაგან შედგება. მათ შორის დებენ ფილტრს. სახურავი ხრახნებით ჰერმეტულად ეხურება სადგამს. (ნახ. 25.)



ნახ. 25. საფილტრაციო მოწყობილობა

კოლოიდური ფირფიტები (მემბრანები) სითხეების გასასტერილებლად და ვირუსთა ზომების დასადგენად გამოიყენება.

ულტრაფილტრაციისათვის ზოგჯერ ჟელატინში გაჟღენთილი სანთლისებრი ფილტრები იხმარება.

ქიმიური მეთოდი – დამყარებულია ქიმიურ ნივთიერებათა მოქმედებაზე. ქიმიური მეთოდი გამოიყენება ხელების, სამუშაო მაგიდების, ნახმარი სასაგნე მინების და ა.შ. სადეზინფექციოდ.

დ ე ზ ი ნ ფ ე ქ ც ი ა "დეზინფექცია" ფრანგული და ლათინური სიტყვის ნაწარმია "Des"- მოსპობა და "infectio"- ინფექცია. დეზინფექციის მიზანია პათოგენური მიკროორგანიზმების მოსპობა.

მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიულ პრაქტიკაში სადეზინფექციოდ გამოიყენება: ჰალოგენები და ჰალოგენშემცველი პრეპარატები და სხვ.

იოდინოლი (1%-იანი წყალხსნარი შეიცავს 0.1% იოდს, 0.3% კალიუმ-იოდატს და 0.9%-იან პოლივინილის სპირტს). იოდინოლი ქირურგიული ჩირქოვანი დაავადებების, დამწვრობის, ტროფიკული წყლულის და ა.შ. დროს გამოიყენება.

ქლორ-ამინი „ბ“ (შეიცავს 25-29 % აქტიურ ქლორს). აქვს ანტისეპტიკური და დეზოდორული თვისება. გამოიყენება 1-3%-იანი ხსნარი. მისი 3-5%-იანი ხსნარი ბაქტერიოლოგიაში

პათოგენური მიკროორგანიზმების მოსპობის საიმედო საშუალებაა.

ფენოლები. ფენოლი (კარბოლის მჟავა) გამოიყენება შენობების დეზინსექციისათვის. ადვილად შეიწოვება კანიდან და შეიძლება გამოიწვიოს ტოქსიური მოვლენები: თავბრუსხვევა, სისუსტე, სუნთქვის დარღვევა, კოლაფსი.

დამჟანგველები. *წყალბადის ზეჟანგი.* გამოიყენება 3%-იანი წყალხსნარი. აქვს სადეზინფექციო, აგრეთვე დეზოდორული თვისება.

ჰპზ-ტაბსი გამოშვებულია ტაბლეტის ფორმით. ერთი ტაბლეტის წონაა 4,75 გ. ბაქტერიათა ვეგეტატიური ფორმების უვნებელსაყოფად 2 ტაბლეტს ხსნიან 1 ლ გამოხდილ წყალში.

კარბოლის მჟავა. კრისტალური ნივთიერებაა, მძაფრი თავისებური სუნით. ჰიგროსკოპიულია. გამოიყენება 3-5% -იანი ხსნარის სახით. მისი ცხელი ხსნარი ხასიათდება მკვეთრი ბაქტერიოციდული თვისებით. ტოქსიურად მოქმედებს ქსოვილებზე, განსაკუთრებით ნერვულ ქსოვილზე.

ეთილის სპირტი უპირატესად ხელების დასამუშავებლად გამოიყენება. იხმარება 70%-იანი ხსნარის სახით. ამ მიზნით 70 მლ, 96%-იან ეთილის სპირტს აზავებენ 30 მლ გამოხდილ წყალში.

საკვები არეები

მიკრორგანიზმთა მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური თავისებურებების შესწავლისათვის ახდენენ მოშენებას საკვებ არეებზე. პათოგენური მიკროორგანიზმები ზრდა-განვითარებისათვის საჭიროებენ ხელსაყრელ პირობებს. მიკროორგანიზმთა მოსაშენებლად უნივერსალური საკვები არეები არ არსებობს. სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმთა მოთხოვნა საკვები ნივთიერებებისადმი განსხვავებულია. მიკროორგანიზმთა მოსაშენებელი საკვები არეების მახასიათებლებია: ა) სათანადო მჟავე ან ტუტე რეაქცია (pH), ბ) მიკროორგანიზმთა

ზრდა-განვითარებისათვის საჭირო საკვები ნივთიერებების შემცველობა, გ) ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალი, დ) კონსისტენცია, ე) გამჭირვალება, ვ) ტენიანობა.

საკვები არეები წარმოშობის მიხედვით არის სამი სახის: ბუნებრივი (რძე, კვერცხი, კარტოფილი და სხვ): ხელოვნური (ცხოველური ან მცენარეული პროდუქტებიდან დამზადებული) და სინთეზური. ცხოველური და მცენარეული პროდუქტებიდან დამზადებული. საკვები არეების შემადგენლობაში შედის: პეპტონი, ხორცის ექსტრაქტი, სისხლი, შრატი და სხვ. მიკროორგანიზმთა ფიზიოლოგიის, აგრეთვე ცალკეული სახეობის ბაქტერიების ნივთიერებათა ცვლის დასადგენად ხელმისაწვდომია სინთეზური საკვები არეები, რომელსაც არაორგანული მარილებიდან და განსაზღვრული ორგანული ნივთიერებებიდან ამზადებენ. სინთეზური საკვები არეების შემადგენლობა მუდმივია, საჭიროების შემთხვევაში ის შეიძლება შეიცვალოს.

დანიშნულების მიხედვით ხელოვნური საკვები არეები სამ ჯგუფადაა დაყოფილი:

1. ჩვეულებრივი ანუ უბრალო საკვები არეები – უმრავლესი მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის. ჩვეულებრივი საკვები არეებია: ხორც-პეპტონიანი ბულიონი (ხპბ), ხორც-პეპტონიანი აგარი (ხპა) და ხორც-პეპტონიანი ჟელატინი (ხპჟ).
2. სპეციალური საკვები არეები – იმ მიკროორგანიზმთა მოსაშენებლად გამოიყენება, რომლებიც ჩვეულებრივ საკვებ არეებზე ძნელად იზრდებიან. სპეციალური საკვები არეებია: ხორც-პეპტონიანი- ღვიძლიანი ბულიონი (ანაერობთა კულტივირებისათვის), საბუროს საკვები არე (სოკოების მოსაშენებლად) და სხვ.
3. სადიფერენციაციო-სადიაგნოსტიკო არეები – მიკროორგანიზმთა ბიოქიმიური თვისებების შესწავლისათვის გამოიყენება. მათი საშუალებით შესაძლებელია სხვადასხვა

სახეობის მიკროორგანიზმთა დიფერენცირება. დიფერენციალურ-სადიაგნოსტიკო საკვები არეებია: ენდოს აგარი, კონრად-დრიგალსკის, მიულერის, კაუფმანის საკვები არე და სხვ.

ფიზიკური მდგომარეობის მიხედვით საკვები არეები შემდეგია: თხევადი (ხორც-პეპტონიანი ბულიონი და სხვ.), ნახევრადთხევადი (ნახევრადთხევადი აგარი), მკვრივი (ხორც-პეპტონიანი აგარი და სხვ).

შემადგენლობის მიხედვით საკვები არეები არის ცილოვანი და სხვ.

საკვებ არეებს სპეციალურ ჩანებში ამზადებენ. საკვები არეებისთვის განკუთვნილ ჭურჭელს წინასწარ მჟავათი, ხოლო შემდეგ სოდით ამუშავებენ, ბოლოს რეცხავენ წყლით ნეიტრალურ რეაქციამდე. საკვები არეებისთვის განკუთვნილ ჭურჭელში ქიმიურ ნივთიერებათა შენახვა დაუშვებელია.

საკვები არეების დამზადება

ხელოვნური საკვები არეების უმეტესობას ხორცის წვენიდან ამზადებენ. ხორცის წვენის დამზადების რამდენიმე რეცეპტია შემუშავებული.

ა) 1 კგ. ახალ ხორცს (წინასწარ აცილებენ ძვლებს, ცხიმს, მყესებს) აქუცმაცებენ მცირე ნაჭრებად, ასხამენ 2 ლ ონკანის წყალს, ადუღებენ ერთი საათის განმავლობაში. თავდაპირველად დოლბანდში, შემდეგ ფილტრის ქაღალდში ფილტრავენ. ფილტრატს ზომავენ და უმატებენ გამოხდილ წყალს საწყის მოცულობამდე. ასტერილებენ ავტოკლავში 120^0C– ზე 30-40 წუთს.

ბ) ძვლებისგან, ცხიმისგან და მყესებისგან განთავისუფლებულ 1 კგ ახალ ხორცს აქუცმაცებენ პატარა ნაჭრებად. ასხამენ 2 ლ ონკანის წყალს. ექსტრაგირებისათვის ტოვებენ 4-6^0C – ტემპერატურაზე 18-24 საათის განმავლობაში, მეორე დღეს გადაწურავენ. ნაყენს ადუღებენ ერთ საათს.

ხორცის წვენს ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში. ფილტრატს ზომავენ და უმატებენ გამოხდილ წყალს საწყის მოცულობამდე. ჩამოასხამენ კოლბებში და ასტერილებენ ავტოკლავში 120^{0}C – ზე 30-40 წუთს.

გ) ხორცის წვენი ორმაგი კონცენტრაციით. 1 კგ ხორცის ფარშს უმატებენ 1 ლ გამოხდილ წყალს, ათავსებენ 6-8^{0}C-ზე 24 საათის განმავლობაში. მეორე დღეს ადუღებენ ერთი საათი, წურავენ ფარშისაგან, საწყის მოცულობამდე, უმატებენ გამოხდილ წყალს, ფილტრავენ. ფილტრატს ასტერილებენ 120^{0}C – ზე, 30 წუთის განმავლობაში.

ხორც-პეპტონიანი ბულიონი (ხპბ) ერთ ლიტრ ხორცის წვენს უმატებენ 1% პეპტონს და 0,5% ქიმიურად სუფთა NaCl-ს. ადუღებენ 10 წუთს. ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში, ადგენენ pH-ს, რომლის სიდიდის მიხედვით უმატებენ 10%-იან ნახშირმჟავა სოდის ან მწვავე ნატრიუმის დეცინორმალურ ხსნარს. (ხორცის წვენი მჟავა რეაქციისაა). საბოლოოდ ადგენენ pH-ს 7,2-7,4-ის ფარგლებში. ბულიონს ადუღებენ განმეორებით 15-20 წუთი, ფილტრავენ, ჩამოასხამენ სინჯარებში ან ფლაკონებში და ასტერილებენ 120^{0}C –ზე, 30 წუთი.

გლუკოზიანი ხორც-პეპტონიანი ბულიონი- ხორც-პეპტონიან ბულიონს უმატებენ 0,4% გლუკოზას. გლუკოზის გახსნის შემდეგ ბულიონს ფილტრავენ, ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ წყვეტილად, გამდინარე ორთქლით.

სისხლიანი ბულიონი. ხორც-პეპტონიან ბულიონს უმატებენ სტერილურად აღებულ ცხვრის, ცხენის, ბოცვრის ან ძროხის დეფიბრინირებულ სისხლს შეფარდებით 1-მოცულობა სისხლი + 4 მოცულობა ბულიონი.

ხორც-პეპტონიანი აგარი (ხპა). აგარ-აგარი მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებაა, ის ძირითადად შედგება ნახშირწყლებისა და აზოტოვანი ნივთიერებებისგან. აგარ-აგარს ზოგიერთი სახეობის ზღვის წყალმცენარეებიდან ამზადებენ.

ცივ წყალში აგარ-აგარი ფუვდება და რბილდება, ხოლო ცხელ წყალში (90-100^{0}C–ზე) ლღვება და გადადის წებოვან მასაში. გამლღვალი აგარი გამყარებას იწყებს 40^{0}C – ზე.

აგარ-აგარი სხვადასხვაა: არხანგელსკის, ოდესის, იაპონური, ცეილონის. აგარ-აგარი გრძელი, ერთმანეთზე გადახლართული, ცალკეული ფურცლებისაგან შემდგარი ღეროებია.

ხორც-პეპტონიანი აგარის დასამზადებლად ერთ ლიტრ ხორც-პეპტონიან ბულიონზე იღებენ 2-3 % /20-30 გ/ წვრილად დაჭრილ აგარ-აგარს (ოდესის 6%). ასხამენ ბულიონს და ხარშავენ 120^{0}C -ზე, 30 წუთის განმავლობაში. მოხარშული აგარი საჭიროებს გამჭვირვალებას. ამ მიზნით აგარს ტოვებენ თბილ ავტოკლავში დღე-ღამის განმავლობაში. გაცივებულ აგარს გადმოაპირქვავებენ, აჭრიან ქვედა შრეს ნალექთან ერთად. ზედა ფენას ჭრიან პატარა ნაჭრებად და ალღობენ. გამჭვირვალე აგარის მიღების სხვა მეთოდებიდან ხელმისაწვდომია შემდეგი: გამღვალ და 50^{0}C–მდე გაგრილებულ აგარს ორმაგი რაოდენობის გამოხდილ წყალში კარგად გათქვეფილ ქათმის კვერცხის ცილას (1 კვერცხი 1 ლიტრ ნიადაგზე) ან სისხლის შრატს (10 მლ. შრატი 1 ლ ნიადაგზე) უმატებენ. ნარევს ადუღებენ 10 წუთს. გამჭვირვალე აგარს ბამბის ფენაში ფილტრავენ. pH-ის დაყენების შემდეგ ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C–ზე 15-20 წუთის განმავლობაში. სვეტისებრი აგარის მისაღებად სინჯარებს საკვები არეთი ტოვებენ ვერტიკალურ მდგომარეობაში. ირიბი აგარის დასამზადებლად სინჯარებს დახრილ მდგომარეობაში ათავსებენ.

ხორც-პეპტონიანი სისხლიანი აგარი. გალღობილ და 45^{0}C–მდე გაგრილებულ ხორც-პეპტონიან აგარს უმატებენ 5-10% ახლად აღებულ დეფიბრინებულ სისხლს. გულდასმით ურევენ. სისხლიან ხორც-პეპტონიან აგარს 20-25 მლ-ის რაოდენობით ჩამოასხამენ პეტრის ფინჯნებში.

ნახევრად თხევადი აგარი. ხორც-პეპტონიან ბულიონს 0,25-0,3% აგარ-აგარს უმატებენ, ხარშავენ ავტოკლავში 120^{0}C-ზე 30 წუთი. ფილტრავენ თბილ მდგომარეობაში, ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C–ზე 15-20 წუთს. ნახევრად თხევად აგარში მიკროორგანიზმები ინტენსიურად იზრდებიან.

ხორც-პეპტონიანი ჟელატინა (ხპჟ). ხორც-პეპტონიან ბულიონს 10% (ზამთარში) ან 20% (ზაფხულში) ჟელატინს უმატებენ. მუდმივად ურევენ, აცხელებენ წყლის აბაზანაში, ადგენენ pH-ს 7,2-7,4. ადუღებენ დაბალ ცეცხლის ალზე 20 წუთი. ფილტრავენ ბამბისა და დოლბანდის ფენაში. ცხელ მდგომარეობაში ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ წყვეტილად, სამი დღის განმავლობაში 20–20 წუთის ხანგრძლივობით.

რძე. გამოიყენება მხოლოდ მოხდილი რძე (უმჯობესია სეპარირებული). რძეს ტილოში ფილტრავენ. ნახშირმჟავა ნატრიუმის 10%-ანი ხსნარის მიმატებით ადგენენ სუსტ ტუტე რეაქციას. ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ წყვეტილად, სამი დღის განმავლობაში 20–20 წუთის ხანგრძლივობით.

მშრალი საკვები არეები. ბაქტერიოლოგიაში ფართოდ გამოიყენება მშრალი საკვები არეები. ისინი ლაბორატორიებს თავიდან აცილებენ საკვები არეების დამზადებასთან დაკავშირებულ შრომატევად სამუშაოებს. მშრალი საკვები არეები სტანდარტულია, რაც აუცილებელია მიკროორგანიზმების მოშენებისათვის. მშრალ საკვებ არეებს ინახავენ ჰერმეტულად დახურულ ჭურჭელში, ბნელ ადგილას, ვინაიდან ჰიგროსკოპული და სინათლის მიმართ მგრძნობიარეა. ტენიანობა, კოშტების წარმოქმნა და ფერის შეცვლა საკვები არეების ხარისხის დაქვეითების მაჩვენებელია.

მშრალი საკვები არეები არის მცენარეული და ცხოველური წარმოშობის. მშრალი საკვები არეებია: სოიოს, ბრეინჰარტის.

კოლუმბია, ნუტრიეტ და სხვა. მშრალიდან–თხევადი საკვები არეების დამზადება მარტივი და ხელმისაწვდომია.

ნუტრიენტ ბულიონი (pH 7,3 – 7,6) 13.0 გრამ მშრალ ბულიონს გულდასმით ხსნიან 1 ლ წყალში. ადუღებენ 2-3 წთ, გაგრილების შემდეგ ჩამოასხავენ ფლაკონებში და ასტერილებენ 121^{0}C-ზე, 15 წთ-ის განმავლობაში.

ნუტრიენტ აგარი. 28.0 გ მშრალი აგარი შეაქვთ ჭურჭელში, რომელშიც ჩამოსხმულია 1 ლ წყალი. გახსნის მიზნით ურევენ ან კოლბას ანჯღრევენ. ადუღებენ 1-2 წთ. ჩამოასხავენ ფლაკონებში და ასტერილებენ, 121^{0}C, 15 წთ-ის განმავლობაში.

ბრაინჰარტის ბულიონი. 37.0 გ მშრალ ბულიონს ხსნიან 1 ლ წყალში. ადუღებენ 2-3 წუთს. ჩამოსხამენ ფლაკონებში ან სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C-ზე 15 წუთი.

ბრაინჰარტის აგარი. 42.5 გ მშრალ აგარს ხსნიან 1 ლ გამოხდილ წყალში, ადუღებენ 2-3 წუთს. ჩამოასხამენ ფლაკონებში ან სინჯარებში. ასტერილებენ 120^{0}C-ზე, 15 წთ-ის განმავლობაში.

კოლუმბია ბულიონი. 35.0 გრამ მშრალ ბულიონს ხსნიან 1 ლ გამოხდილ წყალში. ადუღებენ 2-3 წთ. ჩამოასხავენ ჭურჭელში. ასტერილებენ 118^{0}C, 15 წთ.

კოლუმბია აგარი. 42.5 გ მშრალ აგარს ხსნიან 1 ლ გამოხდილ წყალში. ადუღებენ 2-3 წთ. ჩამოასხავენ ფლაკონებში და სინჯარებში. ასტერილებენ, 115^{0}C, 15 წთ განმავლობაში.

სადიაგნოსტიკო – სადიფერენციაციო საკვები არეები. *ენდოს საკვები არე.* გალღობილ და 70 ^{0}C –მდე გაგრილებულ 100 მლ ხორცპეპტონიან აგარს უმატებენ, სტერილურ სინჯარაში მცირე რაოდენობის ანადუღარ წყალში გახსნილ 1 გ ქიმიურად სუფთა ლაქტოზას.

ცალკე სინჯარებში მზადდება:

1. 2-3 სპირტზე დამზადებული ძირითადი ფუქსინის გაჯერებული ხსნარი.

2. 100 მლ ნატრიუმის სულფიდის 10% -იანი ხსნარი.

სტერილურ სინჯარაში შეაქვთ 1 მლ ფუქსინი, უმატებენ ნატრიუმის სულფიდის ხსნარს ფუქსინის გაუფერულებამდე (მკრთალი ვარდისფერი). მზა ნარევს უმატებენ აგარს, გულდასმით ურევენ, ჩამოასხამენ ფინჯანში. ცხელი აგარი მკრთალი ვარდისფერია, გაცივების შემდეგ უფერული. საკვებ არეს ამზადებენ გამოყენების დღეს.

ლევინას საკვები არე. 100 მლ გამლღვალ ხორც-პეპტონიან აგარს (pH 7.2 – 7,4) თანმიმდევრობით უმატებენ 20 მლ მეთილენის ლურჯის 0,5% -იან ხსნარს, წინასწარ წყლის აბაზანაში გაცხელებულ 1,5 მლ ყვითელი ფერის ეოზინის 2%-იან ხსნარს, 2 გ ლაქტოზას და 0,2 გ ორჩანაცვლებულ კალიუმის ფოსფატს. საღებავების ხსნარები მზადდება გამოხდილ წყალზე. ასტერილებენ გამდინარე ორთქლით 1 სთ-ის განმავლობაში და ინახავენ გამოყენებამდე. ლაქტოზას და ორჩანაცვლებულ კალიუმის ფოსფატს აგარში დამატებამდე ხსნიან სინჯარებში ჩამოსხმულ სტერილურ გამოხდილ წყალში და ადუღებენ.

ინგრედიენტების მომზადების შემდეგ საკვებ არეს გულდასმით ურევენ ერთმანეთში და სტერილურად ჩამოასხავენ ფინჯნებში. საკვები არე წითელი-იისფერია.

მიულერის საკვები არე. კოლბაში, შეაქვთ 4,5 გ ცარცი ასტერილებენ ცხელი მშრალი ჰაერით. უმატებენ 90 მლ ხორცპეპტონიან ბულიონს, ასტერილებენ 30 წთ ავტოკლავში 120^0C-ზე. ასეპტიკის დაცვით უმატებენ 2 მლ ლუგოლის და 10 მლ გოგირდმჟავა კალიუმის ხსნარს. თითოეული ინგრედიენტის დამატების შემდეგ ნარევს გულდასმით ურევენ, ჩამოასხამენ 8-10 მლ-ის მოცულობით სინჯარებში ან 90 მლ-ის რაოდენობით კოლბაში. მიულერის საკვები არე ორგუნავს ეშერიხიების (ნაწლავის ჩხირების) გამრავლებას და ხელს უწყობს სალმონელების ზრდას.

კაუფმანის საკვები არე. 100 მლ მიულერის საკვებ არეს, ემატება 1 მლ ბრილიანტის მწვანის წყალხსნარი (1:1000) და 5 მლ ხარის სტერილური სისხლის შრატი. მზა ხსნარს ასტერილებენ გამდინარე ორთქლით 30 წთ. საკვები არე ინახება დიდხანს. სტერილიზაციამდე საკვები არე მომწვანოა, სტერილიზაციის შემდეგ მომწვანო – ყავისფერი ტონალობის.

საკვები არეები სოკოების კულტივირებისათვის. ***ური – საბო – ოლახის სუსლო – აგარი.*** მზადდება გაღივებული და გამშრალი ქერიდან. საკვები არეს დასამზადებლად: ქერს ფქვავენ და მის ყოველ წონით ნაწილს უმატებენ ათ წონით ნაწილს, 45^{0}C –მდე გამთბარ წყალს, მუდმივი შერევით. ტემპერატურა თანდათან აჰყავთ 70^{0}C-მდე. აღნიშნულ ტემპერატურაზე აჩერებენ ქერის სახამებლის სრულ დაშლამდე, (ისაზღვრება იოდის ფერადი რეაქციით) საშუალოდ 10 – 20 წუთის განმავლობაში. ენზიმების დასაშლელად მსუბუქად შემღვრეულ სითხეს ადუღებენ და ცხელ მდგომარეობაში ფილტრავენ დოლბანდში. ადგენენ pH –ს 7,2. განმეორებით აჩერებენ. გამოიყოფა ნალექი. განმეორებით ფილტრავენ, ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ. შაქრების (უპირატესად მალტოზა) და მცირე რაოდენობით ამინომჟავების შემცველ მოყვითალო-ყავისფერ სითხეში კარგად მრავლდებიან სოკოები.

კარტოფილის საკვები არე. უმჯობესია სპეციალურ სინჯარებში დამზადება, რომელიც ბოლოში ღილისებრია. კარტოფილს ასუფთავებენ, რეცხავენ, ჭრიან მოგრძო, კუბის ან პრიზმის ფორმის ნაჭრებად, ათავსებენ სინჯარებში. სინჯარებში შეაქვთ წყალი კარტოფილის დაფარვამდე. სინჯარების ძირზე წინასწარ ათავსებენ ბამბის ტამპონს. ასტერილებენ 120^{0}C-ზე სწრაფი გაცხელებით. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 30 წუთია.

სტაფილოს და კარტოფილის თხიერი საკვები არე. მიზანშეწონილია სოკოების სხვადასხვა შტამების შესანახად

და საფუარა სოკოების გამოსაყოფად. საკვები არეს დასამზადებლად კარტოფილის ფაფას ან გახეხილ სტაფილოს ხსნიან 1ლ ონკანის წყალში, ხარშავენ 5 წუთს, ფილტრავენ ბამბაში (ფილტრის ქაღალდში გადის ნელა), ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C –ზე 20 წთ.

სტაფილოს და კარტოფილის წვენზე დამზადებული აგარი. მზადდება ზემოთ აღწერილი საკვები არეებიდან, რომლებსაც უმატებენ 2% აგარ-აგარს. ფილტრავენ, ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C –ზე 5 წუთს.

სუსლო აგარი. 1 ლ ლუდის ალაოს უმატებენ 20 გ აგარ-აგარს. გაჯირჯვებისათვის ათავსებენ ავტოკლავში 100^{0}C –ზე 1,5 საათის განმავლობაში. 10 გ პეპტონს ხსნიან მცირე მოცულობის გამოხდილ წყალში, ხოლო შემდეგ თხევადი ალაოსა და აგარ-აგარის ნარევში. ჩამოასხამენ კოლბებში ან სინჯარებში. ასტერილებენ ჩვეულებრივად. ზღვრულზე მაღალ ტემპერატურაზე სტერილიზაცია დაუშვებელია.

საბუროს საკვები არე. 18 გ აგარს უმატებენ 1 ლ გამოხდილ წყალს, გაჯირჯვებისათვის ტოვებენ 30 წუთს. აცხელებენ და ურევენ აგარის გახსნამდე. უმატებენ 10 გ პეპტონს და 40 გ გლუკოზას ან მალტოზას. ჩამოასხამენ სინჯარებში. ასტერილებენ 115^{0}C –ზე 15 წთ.

საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრა

მიკროორგანიზმები ზრდა-განვითარებისათვის მოითხოვენ ნეიტრალური ან სუსტი ტუტე რეაქციის (pH-7,2-7,6) საკვებ არეებს. საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრის მარტივი მეთოდია ლაკმუსში დასველებული ფილტრის ქაღალდის გამოყენება, რომელიც მუავე არეში კარგავს დამახასიათებელ ლურჯ ფერს და წითლად იღებება. ამ მეთოდით საკვები არეების წყალბადიონთა კონცენტრაციის განსაზღვრა მიახლოებით ხდება.

კაუფმანის საკვები არე. 100 მლ მიულერის საკვებ არეს, ემატება 1 მლ ბრილიანტის მწვანის წყალხსნარი (1:1000) და 5 მლ ხარის სტერილური სისხლის შრატი. მზა ხსნარს ასტერილებენ გამდინარე ორთქლით 30 წთ. საკვები არე ინახება დიდხანს. სტერილიზაციამდე საკვები არე მომწვანოა, სტერილიზაციის შემდეგ მომწვანო – ყავისფერი ტონალობის.

საკვები არეები სოკოების კულტივირებისათვის. ***ური – საბო – ოლახის სუსლო – აგარი.*** მზადდება გაღივებული და გამშრალი ქერიდან. საკვები არეს დასამზადებლად: ქერს ფქვავენ და მის ყოველ წონით ნაწილს უმატებენ ათ წონით ნაწილს, 45^{0}C –მდე გამთბარ წყალს, მუდმივი შერევით. ტემპერატურა თანდათან აჰყავთ 70^{0}C-მდე. აღნიშნულ ტემპერატურაზე აჩერებენ ქერის სახამებლის სრულ დაშლამდე, (ისაზღვრება იოდის ფერადი რეაქციით) საშუალოდ 10 – 20 წუთის განმავლობაში. ენზიმების დასაშლელად მსუბუქად შემღვრეულ სითხეს ადუღებენ და ცხელ მდგომარეობაში ფილტრავენ დოლბანდში. ადგენენ pH –ს 7,2. განმეორებით აჩერებენ. გამოიყოფა ნალექი. განმეორებით ფილტრავენ, ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ. შაქრების (უპირატესად მალტოზა) და მცირე რაოდენობით ამინომჟავების შემცველ მოყვითალო-ყავისფერ სითხეში კარგად მრავლდებიან სოკოები.

კარტოფილის საკვები არე. უმჯობესია სპეციალურ სინჯარებში დამზადება, რომელიც ბოლოში ღილისებრია. კარტოფილს ასუფთაევებენ, რეცხავენ, ჭრიან მოგრძო, კუბის ან პრიზმის ფორმის ნაჭრებად, ათავსებენ სინჯარებში. სინჯარებში შეაქვთ წყალი კარტოფილის დაფარვამდე. სინჯარების ძირზე წინასწარ ათავსებენ ბამბის ტამპონს. ასტერილებენ 120^{0}C-ზე სწრაფი გაცხელებით. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 30 წუთია.

სტაფილოს და კარტოფილის თხიერი საკვები არე. მიზანშეწონილია სოკოების სხვადასხვა შტამების შესანახად

და საფუარა სოკოების გამოსაყოფად. საკვები არეს დასამზადებლად კარტოფილის ფაფას ან გახეხილ სტაფილოს ხსნიან 1ლ ონკანის წყალში, ხარშავენ 5 წუთს, ფილტრავენ ბამბაში (ფილტრის ქაღალდში გადის ნელა), ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C –ზე 20 წთ.

სტაფილოს და კარტოფილის წვენზე დამზადებული აგარი. მზადდება ზემოთ აღწერილი საკვები არეებიდან, რომლებსაც უმატებენ 2% აგარ-აგარს. ფილტრავენ, ჩამოასხავენ სინჯარებში და ასტერილებენ 120^{0}C –ზე 5 წუთს.

სუსლო აგარი. 1 ლ ლუდის ალაოს უმატებენ 20 გ აგარ-აგარს. გაჯირჯვებისათვის ათავსებენ ავტოკლავში 100^{0}C –ზე 1,5 საათის განმავლობაში. 10 გ პეპტონს ხსნიან მცირე მოცულობის გამოხდილ წყალში, ხოლო შემდეგ თხევადი ალაოსა და აგარ-აგარის ნარევში. ჩამოასხამენ კოლბებში ან სინჯარებში. ასტერილებენ ჩვეულებრივად. ზღვრულზე მაღალ ტემპერატურაზე სტერილიზაცია დაუშვებელია.

საბუროს საკვები არე. 18 გ აგარს უმატებენ 1 ლ გამოხდილ წყალს, გაჯირჯვებისათვის ტოვებენ 30 წუთს. აცხელებენ და ურევენ აგარის გახსნამდე. უმატებენ 10 გ პეპტონს და 40 გ გლუკოზას ან მალტოზას. ჩამოასხამენ სინჯარებში. ასტერილებენ 115^{0}C –ზე 15 წთ.

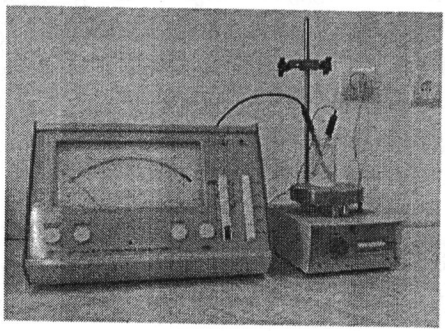
საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრა

მიკროორგანიზმები ზრდა-განვითარებისათვის მოითხოვენ ნეიტრალური ან სუსტი ტუტე რეაქციის (pH-7,2-7,6) საკვებ არეებს. საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრის მარტივი მეთოდია ლაკმუსში დასველებული ფილტრის ქაღალდის გამოყენება, რომელიც მუავე არეში კარგავს დამახასიათებელ ლურჯ ფერს და წითლად იღებება. ამ მეთოდით საკვები არეების წყალბადიონთა კონცენტრაციის განსაზღვრა მიახლოებით ხდება.

ელექტრომეტრული მეთოდი. pH-ის 0,1 ცვალებადობის ფარგლებში საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრის ზუსტი მეთოდია, რომელიც მიკრობიოლოგიურ პრაქტიკაში ფართოდ გავრცელებულია.

ელექტრომეტრული მეთოდით pH-ის განსაზღვრა სპეციალური ხელსაწყოთი- pH-მეტრით ხორციელდება.

pH-მეტრი-მილივოლტმეტრი (pH-121) (ნახ. 26) ხელსაწყოა, რომელიც ელექტროდებით და ბუფერებით არის აღჭურვილი. გამოსაკვლევი სითხე შეაქვთ სპეციალურ მინის ჭიქაში, მასში ელექტროდებს ძირავენ. pH-ის დადგენას განსაზღვრულ ტემპერატურაზე ახდენენ. აღნიშნულ პარამეტრებს სპეციალური გადამრთველით და ღილაკებით არეგულირებენ. pH-მეტრი მილივოლტმეტრი (pH-121) რთული ხელსაწყოა, სპეციალურ კვალიფიკაციას მოითხოვს. სათანადო pH-ის დასაყენებლად საკვებ არეს ტუტეს უმატებენ.



ნახ. 26. pH-მეტრი-მილივოლტმეტრი (pH-121)

მისი რაოდენობის განსაზღვრისთვის თავდაპირველად საკვები არეს სინჯს 50 ან 100 მლ-ის მოცულობით უმატებენ ტუტეს. ადგენენ სათანადო pH-ს. ახდენენ დახარჯული ტუტის ზუსტ აღრიცხვას.

საკვებ არეზე (საერთო მოცულობა) დასამატებელი ტუტის მოცულობას საზღვრავენ ფორმულით:

$$X = \frac{A \times B}{C}$$

სადაც: X– დასამატებელი ტუტის რაოდენობა.

A–დახარჯული ტუტის რაოდენობა.

B –საკვები არის საერთო მოცულობა.

C –გამოსაკვლევი სინჯის მოცულობა.

მაგალითად: გამოსაკვლევი საკვები არეს 100 მლ-ზე დაიხარჯა 0,5 მლ ნატრიუმის ტუტის 20%-იანი ხსნარი. საკვები არის მოცულობა 5 ლიტრია, მაშასადამე დასამატებელი ტუტის რაოდენობა ტოლია:

$$X = \frac{5000 \times 0.5}{100} = 25 \text{ მლ ნატრიუმის ტუტე}$$

საკვები არეს pH სტერილიზაციის შემდეგ 0,1-0,2–ით ქვეითდება, ამიტომ აღნიშნულ სიდიდეს განმეორებით საზღვრავენ.

ამჟამად წყალბადიონთა კონცენტრაციის გასაზომად გამოიყენება თანამედროვე მიკროპროცესორულ საფუძველზე შექმნილი აპარატები VWR 8000; VWR 8005 და სხვა, რომლებიც აღჭურვილია ელექტროდებით, ტემპერატურის ავტომატური რეგულაციის სისტემით, რაც უზრუნველყოფს ზუსტი შედეგების მიღებას. pH-მეტრები აღჭურვილია ეკრანით, სადაც აღირიცხება გაზომვის შედეგები.

საკვები არეების ფილტრაცია

საკვებ არეებს ფილტრავენ წინასწარ დასველებულ ორმაგ ფილტრის ქაღალდში ან საფილტრაციო ნაჭერში, რომელსაც ჩააფენენ მინის ძაბრში. ნაჭრის ფილტრები პრაქტიკულია ქაღალდთან შედარებით, ვინაიდან ხანგრძლივად გამოსაყენებელია. ფილტრის ქაღალდის გამოყენება მხოლოდ ერთხელ შეიძლება. თითოეული საკვები არეს გასაფილტრად

უმჯობესია ცალკე ნაჭრიდან დამზადებული ფილტრის გამოყენება. ახალი ნაჭრის ფილტრს წინასწარ დარბილების მიზნით ადუღებენ 30 წთ წყალში, რომელშიც მცირე რაოდენობით ნატრიუმის ჰიდროქსიდია (NaOH) დამატებული, გულდასმით რეცხავენ თბილი წყლით და 15 წთ-ის განმავლობაში ადუღებენ გამოხდილ წყალში. ხმარების შემდეგ ნაჭერს რეცხავენ წყლით და ადუღებენ.

აგარზე დამზადებულ საკვებ არეებს ფილტრავენ ცხელ მდგომარეობაში. უმჯობესია დოლბანდ-ბამბის ფილტრში. ამ მიზნით ძაბრში ჩააფენენ დოლბანდის ფენას იმ ანგარიშით, რომ გარედან სცილდებოდეს ძაბრის კიდეებს. დოლბანდზე ადებენ ჰიგროსკოპულ ბამბის ფენას. ფილტრს ასველებენ ცხელი გამოხდილი წყლით. ფილტრზე ასხამენ ცხელ აგარს. ფილტრაცია უმჯობესია ჩატარდეს სწრაფად, თბილ შენობაში.

საკვები არეების ჩამოსხმა

თხიერი საკვები არეების ჩამოსხმა წარმოებს ფლაკონებში, კოლბებსა და სინჯარებში, ძაბრით, რომელსაც ბოლოში რეზინის მილი (დამჭერით) აქვს მორგებული. ხორცპეპტონიანი აგარისა და ჟელატინის ჩამოსხმას ახდენენ ორმაგკედლიანი ძაბრით. აგარის გამყარების თავიდან ასაცილებლად ძაბრის კედლებს შორის ცხელ წყალს ასხამენ.

მიკროორგანიზმთა მოშენება

ხელოვნურ საკვებ არეებზე მიკროორგანიზმთა დათესვა

საკვებ არეებზე მიკროორგანიზმთა დათესვა ბაქტერიოლოგიური მუშაობის ერთ-ერთი ძირითადი მეთოდია. მიკროორგანიზმთა დათესვას ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან პასტერის პიპეტით ახდენენ. თხიერი მასალა მომზადების გარეშე გამოიყენება დასათესად, მკვრივ მასალას დათესვამდე ფიზიოლოგიურ ხსნარში (NaCl-ის 0,9%-იან ხსნარში) ხსნიან.

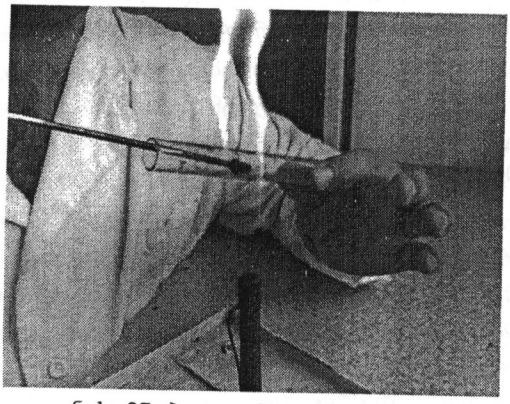
მიკროორგანიზმთა დათესვა და გადათესვა მოითხოვს სტერილობის დაცვას.

პათოლოგიური მასალიდან მიკროორგანიზმთა ამოთესვა ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს იკავებენ მარჯვენა ხელში (კალმისტრის ან ფანქრის მსგავსად) ცერით, საჩვენებელი და შუა თითებით. ასტერილებენ გაზქურის ან სპირტქურის ალზე. პასტერის პიპეტის წამახვილებულ ნაწილს ხრიან სწორი კუთხით.

ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ამოთესვის დროს ლეშიდან აღებულ ორგანოს ზედაპირს მოწვავენ გახურებული შპადელით. სტერილური სკალპელით აკეთებენ ვერტიკალურ ან ჰორიზონტალურ ჭრილს და იღებენ სინჯს, რომელიც შეაქვთ ბულიონში ან აგარის ზედაპირზე. სინჯარებზე აკეთებენ სათანადო წარწერებს. პასტერის პიპეტით ამოთესვის შემთხვევაში პიპეტის მოხრილ ნაწილს სტერილური პინცეტით მოაცილებენ და ცეცხლის ალზე ასტერილებენ. პიპეტი ჩხელეტით შეაქვთ ორგანოში, რომლის ზედაპირი წინასწარ გახურებული შპადელით არის დამუშავებული. სინჯის აღებას ახორციელებენ პიპეტის თანამიმდევრული მოძრაობით, წინა და უკანა მიმართულებით. გამოსაკვლევ მასალას თესავენ ხპბ–ში ან ხპა–ზე. სინჯარებზე აკეთებენ წარწერას მასალის და თარიღის აღნიშვნით.

მიკროორგანიზმთა გადათესვა სინჯარას კულტურით იკავებენ მარცხენა ხელში, (ხპა ირიბი ნაწილით მაღლაა მიმართული). ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს ასტერილებენ ცეცხლის ალზე. მარჯვენა ხელით სინჯარას აცილებენ საცობს. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი შეაქვთ სინჯარაში და მის შიგნითა კედელზე აცივებენ. მარყუჟით მასალა ამოაქვთ მცირე მოცულობით. სინჯარას ათავსებენ შტატივში და არგებენ საცობს. ანალოგიური თანმიმდევრობით გადასათესი მასალა ცალ-ცალკე შეაქვთ სინჯარებში ხპბ–თი და ხპა-თი.

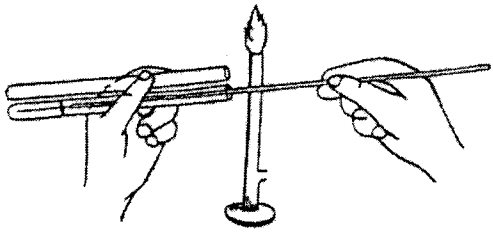
მარყუჟზე არსებულ მიკროორგანიზმულ კულტურას ხსნიან ბულიონის ზედა ფენაში (ნახ. 27).



ნახ. 27. ბულიონში გადათესვა

აგარზე დათესვის დროს მიკროორგანიზმთა კულტურას თავდაპირველად ხსნიან საკონდენსაციო სითხეში, ხოლო შემდეგ მარყუჟის ზიგზაგისებური მოძრაობით ანაწილებენ აგარის ზედაპირზე. სინჯარებზე აკეთებენ წარწერებს მიკროორგანიზმის ლათინური ტრანსკიპციის და გადათესვის თარიღის აღნიშვნით.

პასტერის ან ავტომატური პიპეტით გადათესვის დროს ბულიონზე ნაზარდ კულტურას შეიწოვენ პიპეტში და შეაქვთ ბულიონში და აგარზე. რძეში ჩათესვა, ბულიონში ჩათესვის თანამიმდევრობის დაცვით ხორციელდება. სვეტისებრ ჟელატინსა და აგარში ჩათესვის დროს სინჯარას იკავებენ ვერტიკალურად, გადმობრუნებულ მდგომარეობაში. ჩათესვას ახდენენ ნიადაგის სიღრმეში ჩხვლეტით. (ნახ. 28).



ნახ. 28. ჩხვლეტით ჩათესვა

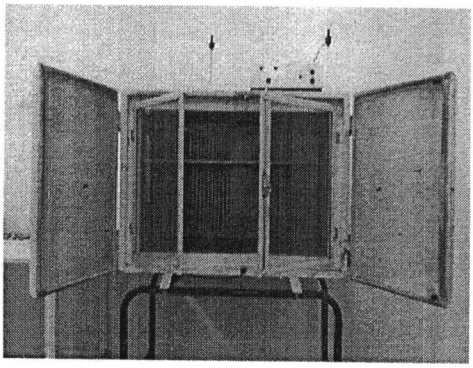
პეტრის ფინჯნებში აგარზე დათესვა, ირიბ აგარზე დათესვის ანალოგიურია. ბაქტერიოლოგიურ ფინჯანს მარცხენა ხელით ოდნავ ახდიან სახურავს. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან პასტერის პიპეტით შეაქვთ თხიერი მასალა და შპადელით ანაწილებენ თანაბრად ან თესავენ ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ზიგზაგისებურად. ბაქტერიოლოგიურ ფინჯნებს გადმოაბრუნებენ (სახურავი ქვევით). ფინჯნის ფუძეზე აკეთებენ სათანადო წარწერას და გადმობრუნებულ მდგომარეობაში ათავსებენ თერმოსტატში.

მიკროორგანიზმთა გამოზრდა

მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებისათვის საჭიროა გარკვეული ტემპერატურა. პათოგენური მიკროორგანიზმების უმეტესობისთვის ხელსაყრელი ტემპერატურა 37^0C-ია. მიკროორგანიზმთა გამოზრდას ახდენენ სპეციალურ ხელსაწყოში- თერმოსტატში.

თერმოსტატი – ორმაგკედლიანი კარადაა (ნახ. 29). კარადის გარეთა კედლები დაფარულია თბოგაუმტარი მასალით. კედლებს შორის ჰაერისა და წყლის გასაცხელებლად ელდენის სპირალი ან მილებია

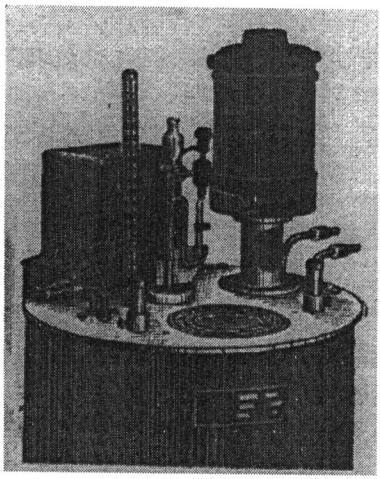
მოთავსებული. თერმოსტატის კარები ორმაგია. ჰაერის თავისუფალი ცირკულაციისათვის თერმოსტატის შიგნით ბადისებრი თაროებია. თერმოსტატს ელექტროდენით ათბობენ. თერმოსტატები სხვადასხვა სიდიდისა და აგებულებისაა, მცირე კარადიდან ოთახ- თერმოსტატამდე.



ნახ. 29. თერმოსტატი

თერმოსტატში ტემპერატურის მუდმივობა შენარჩუნებულია თერმორეგულატორით. თერმორეგულატორები სხვადასხვა სისტემისაა: ბიმეტალური, კონტაქტური და ა.შ. თერმორეგულატორი უზრუნველყოფს ოპტიმუმიდან გადახრისას გათბობის წყაროს ავტომატურ გამორთვას და ჩართვას. თერმოსტატებში ტემპერატურის მერყეობა 0,5 ^{0}C–ია.

თერმოსტატი TC–15. მუდმივ და ზუსტ ტემპერატურას უზრუნველყოფს (ნახ. 30.).



ნახ. 30. თერმოსტატი TC-15

თერმოსტატში მუდმივი ტემპერატურის შენარჩუნება ცხელი გამოხდილი წყლით ხორციელდება. გამოხდილი წყლის გასაცხელებლად თერმოსტატი 700 და 300 ვატიანი გამახურებლითაა აღჭურვილი. 700 ვატიანი გამახურებლით წყალი ცხელდება სასურველ ტემპერატურამდე, მისი გამორთვისას ტემპერატურის რეგულაცია ავტომატურად 300 ვატიანი გამახურებლით წარმოებს.

თერმოსტატის კრონშტეინზე დაყენებულია ელექტრომოტორი, რომელსაც მოძრაობაში დგუში და შემრევი მოყავს.

თერმოსტატი აღჭურვილია ვერცხლისწყლიან-ტოლუოლიანი რეგულატორით. რეგულატორის მოქმედების პრინციპია ტოლუოლის გაფართოება და შეკუმშვა, რაც ტემპერატურის ცვალებადობაზეა დამოკიდებული. თერმოსტატის მოცულობა 15 ლ-ია. ტემპერატურის რეგულირების საზღვრები 33-99^{0}C–ია. ტემპერატურის ცდომილება 0,5^{0}C–ია. წყლის გაცხელებას 99^{0}C–მდე 60 წუთი სჭირდება.

მიკროორგანიზმთა კულტურების შენახვა

ბაქტერიათა კულტურებს, ბიოპრეპარატებს (შრატები, ვაქცინები) აგრეთვე გამოსაკვლევ მასალას მაცივარში ინახავენ. ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიები აღჭურვილია,– NORD, TOSHIBA, SIEMENS, ATЛАНТ-ის და სხვ. მარკის მაცივრებით, ხოლო ბიოფაბრიკები და კომბინატები დიდი

გაბარიტის ოთახ-მაცივრებით. ბაქტერიულ კულტურებს ინახავენ 4-8^{0}C ტემპერატურაზე. მაცივრებში სათანადო ტემპერატურა სპეციალური მოწყობილობით რეგულირდება. ტემპერატურის გასაზომად მაცივარში თერმომეტრს ათავსებენ, რომლის მაჩვენებელიც ყოველდღე საკონტროლო ფურცელში შეაქვთ. შესანახი კულტურები უმჯობესია ნახევრად თხევად (0,7%-იანი) აგარში ჩაითესოს. ბაქტერიათა კულტურების შენახვისას ითვალისწინებენ მიკროორგანიზმთა დამოკიდებულებას საკვები არეების მიმართ და კულტურათა სიცოცხლის ხანგრძლივობას.

მიკროორგანიზმების დალექვა

თხიერი მასალიდან მიკროორგანიზმთა გამოსაყოფად მიმართავენ ცენტრიფუგირებას.

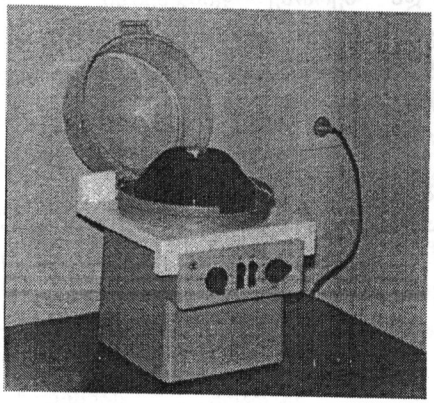
ცენტრიფუგა – ხელსაწყოა, რომლის მუშაობის პრინციპი ცენტრიდანული ძალის მოქმედებაზეა დამყარებული. მისი დახმარებით ხორციელდება სხვადასხვა ხვედრითი წონის ნივთიერებათა და მიკროორგანიზმთა ერთმანეთისაგან დაცილება.

ცენტრიფუგები სხვადასხვა სისტემისაა. ცენტრიფუგები რეაქტორიანი ელექტრომოტორის და მბრუნავი ღერძისაგან შედგება, რომელზედაც მოძრავად ცენტრიფუგის სინჯარების მოსათავსებელი როტორია დამაგრებული. როტორი სინჯარების მოცულობის მიხედვით შეიძლება შეიცვალოს, რაც საშუალებას იძლევა დაცენტრიფუგდეს სითხეები რამდენიმე მილილიტრიდან რამდენიმე ათეულ და ასეულ მილილიტრამდე. ცენტრიფუგების სიმძლავრე (ბრუნვათა რიცხვი) g-სიდიდით იზომება. ცენტრიფუგები წუთმზომით და სპეციალური რეგულატორითაა აღჭურვილი, რაც საშუალებას იძლევა სითხეები დაცენტრიფუგდეს გარკვეულ ბრუნვაზე დროის გარკვეულ მონაკვეთში.

მიკროორგანიზმიოლოგიურ ლაბორატორიებში ყოველ-დღიურად გამოიყენება ОПН 8 (ნახ. 31) და სხვა ტიპის ცენტრიფუგები, რომელთა მაქსიმალური ბრუნვათა რიცხვი 6000-8000 g-ა. მიკროორგანიზმთა სწრაფი დალექვისა და ზუსტი სამუშაოების ჩასატარებლად გამოიყენება სუპერცენტრიფუგები ანუ ცენტრიფუგირება მაღალი სიხშირის ბრუნვაზე (10000 g-ზე და უფრო მეტი). ამ მიზნით გამოშვებულია УЛ -1, VAC-60 და სხვა მარკის ცენტრიფუგები.

მიკროორგანიზმთა სწრაფი დალექვისა და კომპაქტური ნალექის მისაღებად ცენტრიფუგირებას ახდენენ 4-8^{0}C-ზე. ამ მიზნით თანამედროვე ცენტრიფუგებში დაბალი ტემპერატუ-რული რეჟიმი და ცენტრიფუგირებაა შეხამებული (УЛР-1 და სხვა ცენტრიფუგები).

ცენტრიფუგირების წინ სპეციალურ სასწორზე აწონას-წორებენ სინჯარებს, ათავსებენ როტორის ჭიქებში ან ბუდეებში ერთმანეთის მოპირდაპირედ. ხელსაწყოს სახურავს მჭიდროდ ახურავენ. დენის წყაროს ჩართვით თანდათანობით უმატებენ ბრუნვათა რიცხვს. სახურავის გაღება ნებადარ-თულია როტორის სრული გაჩერების შემდეგ.



ნახ. 31. ცენტრიფუგა ОПН-8

მიკროორგანიზმთა სუფთა კულტურების გამოყოფა

გამოსაკვლევი მასალა უმეტესად მიკროორგანიზმთა სხვადასხვა სახეობებისაგან შედგება. ინფექციურ დაავადებაზე დიაგნოზის დასმა მოითხოვს აღმძვრელის სუფთა სახით გამოყოფას.

სუფთა კულტურა ხელოვნურ საკვებ არეზე ერთი სახეობის მიკროორგანიზმის (იდეალურ შემთხვევაში, მისი ერთი უჯრედის) გამრავლების შედეგადაა მიღებული.

სუფთა კულტურის გამოყოფის სხვადასხვა მეთოდებია შემუშავებული.

დრიგალსკის მეთოდი. იღებენ 3-4 ფინჯანს ხპა-თი. პირველი ფინჯანის ცენტრში შეაქვთ გამოსაკვლევი მასალის წვეთი და სტერილური მინის შპატელით აგარის ზედაპირზე თანაბარ ფენად ანაწილებენ. შპატელი მოწვის გარეშე შეაქვთ მეორე ფინჯანში და აწარმოებენ მიკროორგანიზმთა ჩაზელვას აგარის ზედაპირზე. მსგავსი თანმიმდევრობით შპადელი შეაქვთ მესამე და მეოთხე ფინჯნებში. გამოყენებულ შპადელს ათავსებენ სადეზინფექციო ხსნარში ან ცეცხლის ალზე მოწვავენ. ფინჯნებზე აკეთებენ სათანადო წარწერებს და გადმობრუნებულ მდგომარეობაში ათავსებენ თერმოსტატში 37^0C-ზე. ინკუბაციიდან 18-20 საათის შემდეგ, ბოლო ფინჯნებში აღინიშნება იზოლირებული კოლონიები.

დაშტრიხვის მეთოდი – პეტრის ფინჯანს ხპა-თი ოდნავ ახდიან სახურავს და აგარის ზედა ნაწილის მარცხენა კიდიდან დაწყებული ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟზე არსებული მიკროორგანიზმთა კულტურით ავლებენ ჰორიზონტალურ ზონარს. ჭარბი მიკროორგანიზმების მოსაცილებლად ბაქტერიოლოგიურ მარყუჟს ცეცხლის ალზე გამოწვავენ და ჰორიზონტალური ზონრიდან 1,5 – 2 სმ-ის სიგრძის ერთ ან ორ

ვერტიკალურ ხაზს ავლებენ. მარყუჟს განმეორებით ატარებენ ცეცხლის ალზე, აცივებენ პეტრის ფინჯნის შიდა კიდეზე და მარცხნიდან მარჯვნივ ან პირიქით, ზიგზაგისებრი მოძრაობით ახორციელებენ გათესვას აგარის მთელ ზედაპირზე. ფინჯანზე აკეთებენ სათანადო წარწერებს და გადმობრუნებულ მდგომარეობაში ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. ინკუბაციიდან 18-20 საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. აგარის ზედა მესამედში მიკროორგანიზმთა ზრდა ინტენსიურია, შუა მესამედში მეჩხერი. ფინჯნის ქვედა მესამედში მიკროორგანიზმთა სიმცირის გამო ყალიბდება იზოლირებული კოლონიები. დაშტრიხვით სუფთა კულტურების მისაღებად საკმარისია ერთი პეტრის ფინჯანი.

მაღალი ტემპერატურის მოქმედება – სპოროვანი ფორმების გამოსაყოფად გამოიყენება. ამ მიზნით გამოსაკვლევ მასალას აცხელებენ 80^{0}C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. ვეგეტატიური ფორმები იღუპება, სპორები რჩება ცოცხალი. გაცხელებული მასალიდან ჩვეულებრივი წესით ახდენენ ამოთესვას საკვებ არეებზე, ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. მეორე დღეს სპოროვანი ფორმების სუფთა კულტურა მიიღება.

ქიმიური მეთოდი. საკვებ არეებს განსაზღვრული კონცენტრაციით უმატებენ ქიმიურ ნივთიერებას. მათი გავლენა მიკროორგანიზმებზე განსხვავებულია: ნაწილი იღუპება (ბაქტერიოციდული მოქმედება) ნაწილის ზრდა ყოვნდება (ბაქტერიოსტატული მოქმედება); ზოგიერთი სახეობის მიკროორგანიზმებზე ქიმიურ ნივთიერებათა დამთრგუნველი მოქმედება არ აღინიშნება. ამ პრინციპზეა დამყარებული სელექტური და ელექტური საკვები არეების დამზადება.

შუკევიჩის მეთოდი. ამ მეთოდით ხდება მოძრავი ბაქტერიების სუფთა კულტურების გამოყოფა. დაირიბებული აგარის საკონდენსაციო სითხეში ახდენენ გამოსაკვლევი მასალის ჩათესვას. მოძრავი მიკროორგანიზმები

საკონდენსაციო სითხიდან აღმავალი გზით იზრდებიან და აღწევენ აგარის ზედაპირს. მიკროორგანიზმთა ნაზარდის ზედა ნაწილიდან ბაქტერიოლოგიური მარყუჟის ფრთხილი შეხებით ამოაქვთ ბაქტერიული მასა და ახდენენ გადათესვას.

ბიოლოგიური მეთოდი. პათოგენური მიკროორგანიზმების საპროფიტებისაგან დასაცილებლად გამოიყენება. პათოლოგიური მასალით ასნებოვნებენ საცდელ ცხოველებს. სუფთა კულტურების მისაღებად ექსპერიმენტული ინფექციით მკვდარი ცხოველის შინაგანი ორგანოებიდან სინჯებს ამოთესავენ ხელოვნურ საკვებ არეებზე.

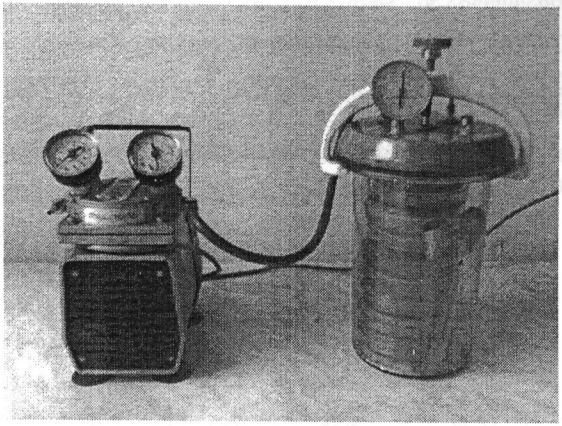
იზოლირებული კოლონიების ამოთესვა. პეტრის ფინჯნებში აგარის ზედაპირზე ჩამოყალიბებულ იზოლირებულ კოლონიებს თავდაპირველად სინათლის შუქზე შეუიარაღებული თვალით, ხოლო შემდეგ მიკროსკოპის მცირე გადიდების ობიექტივით ან ლუპით იკვლევენ. ნახულობენ ტიპურ კოლონიებს, რომელსაც გარედან ფინჯნის ფუძეზე მინაზე საწერი ფანქრით ან ფლომასტერით შემოხაზავენ. ფინჯანს სახურავს ოდნავ ახდიან. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით შეეხებიან შემოხაზულ კოლონიას და აწარმოებენ ამოთესვას საკვებ არეებზე. სინჯარებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C-ზე. 18-24 საათის შემდეგ მიიღება მიკროორგანიზმთა სუფთა კულტურა.

ანაერობთა მოშენება

ანერობები უჟანგბადო პირობებში ვითარდებიან. ისინი სუნთქვითი პროცესისათვის რთულ ორგანულ ნივთიერებებს (ნახშირწყლები, ორგანული მჟავები და სხვ) გამოიყენებენ. ანაერობული პირობების შექმნა ფიზიკური, ქიმიური, ბიოლოგიური და კომბინირებული მეთოდებით ხორციელდება.

ფიზიკური მეთოდი. სინჯარებს ან ფინჯნებს ნათესებით ათავსებენ თერმოსტატში ან ექსიკატორში (ნახ. 32).

მარტივი ანაეროსტატი თუნუქის ან პლასტმასის ყუთია ჰერმეტული სახურავით. ანაეროსტატს აქვს ონკანი ტუმბოსთან შესაერთებლად. უარყოფითი წნევის მისაღებად ხელსაწყოდან ახდენენ ჰაერის გამოტუმბვას.



ნახ. 32 ანაეროსტატი

ანაეროსტატს ათავესებენ თერმოსტატში. თანამედროვე სისტემის ანაეროსტატში ერთმანეთთან შერწყმულია სათანადო ტემპერატურული რეჟიმი და ანაერობული პირობების შექმნა. ანაეროსტატს უერთებენ ელექტროქსელს და აყენებენ სათანადო ტემპერატურას. ხელსაწყოში ათავსებენ ნათესებს. სახურავს ხურავენ ჰერმეტულად, ანაეროსტატიდან ჰაერს გამოტუმბავენ. ინკუბაციიდან 18-24 საათის შემდეგ მიიღება ანაერობთა ზრდა.

ქიმიური მეთოდი. ამ მიზნით გამოიყენება არისტოვსკის ხელსაწყო. ის ლითონისაგან დამზადებული ჰერმეტული ცილინდრია, რომელშიაც ფინჯნების ჩასალაგებლად სპეციალური კასრია მოთავსებული. კასრის ძირზე ათავსებენ ბაქტერიოლოგიურ ფინჯანს ფხვნილისებრი ნახშირმჟავა სოდითა და ნატრიუმის ჰიდროსულფატით. კასრში ათავსებენ ფინჯნებს მიკროორგანიზმთა კულტურებით, ზემოდან ათავსებენ თავღია ფინჯანს ჟანგბადის მშთანთქმელი ნივთიერებით. ნახშირმჟავა

სოდას და ნატრიუმის ჰიდროსულფატს წყლით ასველებენ. კასრი გადააქვთ ხელსაწყოში, ჰერმეტულად ახურავენ სახურავს და ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე, 18-24 საათის განმავლობაში. არისტოვსკის ხელსაწყო შეიძლება შეიცვალოს ჩვეულებრივი ექსიკატორით. ექსიკატორის ძირში ასხამენ ტუტის ხსნარს. ხელსაწყოს შიგნითა შვერილზე ერთი ფენა ფილტრის ქაღალდში გახვეულ პიროგალოლის ფხვნილს დებენ. ექსიკატორი, რომლის ზომა 25 X 20-სმ-ია, ათავსებენ 15,0 გ პიროგალოლის ფხვნილს და 100 მლ 50%-იან კალიუმის ან ნატრიუმის ტუტეს. ექსიკატორში დებენ პეტრის ფინჯნებს მიკროორგანიზმთა კულტურებით. სახურავს მჭიდროდ ახურავენ და ჰერმეტულობისათვის გარშემო პლასტელინს წააცხებენ. ექსიკატორის მსუბუქი შენჯღრევით პიროგალოლის ფხვნილს ყრიან ტუტის ხსნარში. ექსაკატორს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში.

ბიოლოგიური მეთოდი. დამყარებულია აერობებსა და ანაერობებს შორის სიმბიოზის მოვლენაზე.

ა) ნოვაკის მეთოდი. ჰერმეტულ ჭურჭელში დგამენ სინჯარებს ან პატარა კოლბებს B. subtilis და ანაერობთა კულტურებით. თივის ჩხირი ზრდის პროცესში შთანთქავს ატმოსფერულ უანგბადს და გამოჰყოფს CO_2-ს და ქმნის პირობებს ანაერობთა ზრდა-განვითარებისათვის. ნოვაკის წესი გამოიყენება ფაკულტატური ანერობების კულტივირებისათვის.

ბ) ფორტნერის მეთოდი. ბაქტერიოლოგიურ ფინჯნებში ჩამოსხმულ სისხლიან აგარს ყოფენ ორ თანაბარ ნაწილად. აგარს ვიწრო ზონარის სახით ამოჭრიან. ერთ ნახევარზე თესავენ ანაერობებს, ხოლო მეორეზე აერობებებს (*B.subtilis*, *B prodigiosum*, *E.coli*.).

ფინჯნების კიდეებზე პარაფინს ან პლასტილინს უსვამენ და ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. აერობები ზრდა-განვითარებისათვის შთანთქავენ ფინჯანში არსებულ ატმოს-

ფერულ ჟანგბადს და გამოჰყოფენ CO_2-ს რაც ხელშემწყობია ანაერობთა ზრდისათვის.

კომბინირებული მეთოდი. ანაერობული პირობების შექმნის ფიზიკურ მეთოდს უხამებენ ქიმიურ და ბიოლოგიურ მეთოდს.

საკვები არეები ანაერობთა კულტივირებისათვის

ანაერობთა მოშენებისათვის სპეციალური საკვები არეები გამოიყენება.

ხორ-პეპტონიანი ღვიძლიანი ბულიონი (ხპღბ) ანუ კიტ-ტაროცის საკვები არე. მსხვილფეხა პირუტყვის (ხარის) ღვიძლს ჭრიან 20-30 გ წონის ნაჭრებად, თანაბარი რაოდენობით ასხამენ ონკანის წყალს და ადუღებენ 1 საათს. ღვიძლის ექსტრაქტს ფილტრავენ ბამბის ფენაში, ურევენ ხორც-პეპტონიან ბულიონში (1 ნაწილი ღვიძლის ექსტრაქტი + 3 ნაწილი ხორც-პეპტონიანი ბულიონი). აცხელებენ. 1 ლ საკვებ არეს უმატებენ 2,5 გ ქიმიურად სუფთა NaCl-ს. ადგენენ pH-ს 7,6-7,8-ის ფარგლებში, აცხელებენ განმეორებით და ფილ-ტრავენ. ღვიძლის ნაჭრებს აცილებენ გარსს, ჭრიან შედარებით პატარა ნაჭრებად. სინჯარაში ათავსებენ 3-4 პატარა ნაჭერს, ასხამენ მზა ხორც-პეპტონიან ბულიონს (ღვიძლის ექსტრაქ-ტით) აფენენ გამღვალ ვაზელინს, ან გლიცერინს. ასტერილებენ ავტოკლავში 120^0C-ზე, 30 წუთის განმავლობაში.

შედედებული შრატი. ანაერობთა პროტეოლიზური თვისების დასადგენად გამოიყენება ცხენის, მსხვილფეხა პირუტყვის ან ცხვრის სტერილური სისხლის შრატი. შრატი 7-10 მლ-ის მოცულობით შეაქვთ სტერილურ სინჯარებში. შრატის შესადედებლად სინჯარებს 3 დღის განმავლობაში აცხელებენ 63-65^0C-ზე, 40-45 წუთის განმავლობაში. შედედებული შრატი გამჭვირვალეა.

სისხლიან-შაქრიანი აგარი. 100 მლ გამღვალ და 50^0C-მდე გაგრილებულ ხორც-პეპტონიან აგარს სტერილურად უმატებენ

10 მლ 20-%-იან გლუკოზის ხსნარს და 15-20 მლ სტერილურად აღებულ დეფიბრინებულ სისხლს. ფრთხილად ურევენ, ჩამოასხამენ პეტრის ფინჯნებში, აშრობენ თერმოსტატში. სისხლიან-შრატიანი აგარით ადგენენ ანაერობთა კოლონიების თავისებურებას და ჰემოლიზურ თვისებას.

უილსონ-ბლერის საკვები არე. 100 მლ გამლღვალ და 80^{0}C-ზე გაცხელებულ აგარს (10%-იანი გლუკოზით) უმატებენ 10 მლ გამდინარე ორთქლით გასტერილებულ 20%-იან გოგირდმჟავა ნატრიუმს (Na_2SO_4) და 1 მლ სტერილურ წყალზე დამზადებულ 8%-იან რკინის ქლორიდს ($FeCl_2$). ჩამოასხამენ სინჯარებში მაღალი სვეტის სახით. უილსონ-ბლერის საკვებ არეზე ანაერობები წარმოქმნიან შავი ფერის კოლონიებს. ნატრიუმის სულფატით აღდგენილი გოგირდმჟავა ნატრიუმი რკინის ქლორიდთან ურთიერთქმედების დროს იძლევა გოგირდმჟავა რკინის შავი ფერის ნალექს.

რობინსონ-სტოვალის საკვები არე. 100 მლ სტერილურ რძეს უმატებენ 10 მლ გოგირდმჟავა ნატრიუმის ახლად-დამზადებულ 20%-იან და 1 მლ რკინის ქლორიდის 8 %-იან ხსნარს. სინჯარებში ჩამოსხმის შემდეგ ასტერილებენ 30 წუთს 100 ^{0}C-ზე.

ცეისლერის სისხლიან-შაქრიანი აგარი. 3%-იან ხორცპეპტონიან აგარს (pH 7,2-7,4) ჩამოასხამენ ფლაკონებში 100-100 მლ-ის მოცულობით და ასტერილებენ, 42-45^{0}C-მდე გაგრილებულ საკვებ არეს, უმატებენ 10 მლ გლუკოზის ხსნარს და 15-20 მლ მსხვილფეხა პირუტყვის ან ცხვრის სტერილურად აღებულ სისხლს. გულდასმით ანჯღრევენ, ჩამოასხამენ ფინჯნებში და 5-7 საათის განმავლობაში აშრობენ თერმოსტატში.

ფორტნერის სისხლიანი აგარი. მზადდება ცეისლერის ნიადაგის ანალოგიურად. ცხვრის ან მსხვილფეხა საქონლის სისხლი შეცვლილია ბოცვრის სისხლით.

კარტოფილიანი საკვები არე (ნეჩაევსკი და სტარობინცევი). წვრილად დაჭრილ და კარგად გარეცხილ კარტოფილს წონიან, ასხამენ წყალს (1 კგ კარტოფილი + 2ლ წყალი). ასტერილებენ 133^{0}C-ზე 10 წუთს. ცხელ მდგომარეობაში ფილტრავენ ბამბის ფენაში ან დოლბანდში. ფილტრატს თანაბარი რაოდენობით 1% მშრალ პეპტონს და 0,5% სუფრის მარილს უმატებენ. ადგენენ pH-ს 7,2-7,4-ის ფარგლებში. სითხე ღია ყვითელია. ჩამოასხამენ სინჯარებსა და ფლაკონებში, რომელშიაც შეტანილია კარტოფილის ნაჭრები. ზემოდან აფენენ ვაზელინს. ასტერილებენ 20 წუთს 120^{0}C-ზე. მკვრივი საკვები არის დასამზადებლად ბულიონს უმატებენ 2-3% აგარ-აგარს. აცხელებენ გახსნამდე. ფილტრავენ ბამბის ფენაში, ცხელ მდგომარეობაში. ასტერილებენ 120 ^{0}C-ზე 20 წუთს.

ხელოვნურ საკვებ არეებზე ანაერობთა კულტივირება

ანაერობთა დათესვასა და გადათესვას თხევად საკვებ არეებზე ახდენენ პასტერის პიპეტით. შინაგანი ორგანოებიდან და კუნთებიდან წინასწარ ამზადებენ სუსპენზიას. სპირტქურის ან გაზქურის ალზე სინჯარების თანამიმდევრული ტრიალით ალღვობენ ვაზელინის ფენას, გამოსაკვლევი მასალა 0,5 მლ-ის მოცულობით შეაქვთ ბულიონში. მკვრივ საკვებ არეებზე ანაერობთა სუფთა კულტურების გამოსაყოფად დრიგალსკის ან დაშტრიხვის მეთოდი გამოიყენება. ფინჯნებს ანაერობული პირობების შესაქმნელად ტოვებენ 37^{0}C-ზე ანაროსტატში 18-24 საათის განმავლობაში. სუფთა კულტურების მისაღებად ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ახდენენ ტიპური იზოლირებული კოლონიების ამოთესვას თხიერ საკვებ არეებში. ანაერობთა ზრდა თხევად საკვებ არეებში ზოგჯერ არ აღინიშნება, ამიტომ ჩათესვას ახდენენ 4-5 სინჯარაში ღვიძლიანი ბულიონით. საკონტროლოდ ახდენენ გამოსაკვლევი მასალის სინჯების ამოთესვას ხორც-პეპტონიან ბულიონში და ხორც-პეპტონიან

აგარზე, ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში. უარყოფითი შედეგების მიღების შემთხვევაში ნათესებს 4-6 დღე ტოვებენ თერმოსტატაში. ანაერობთა ზრდას თან ახლავს ცვლილებები საკვებ არეებში. ღვიძლიან ბულიონში გამოიყოფა აირები, ბულიონი თანაბრად იმღვრევა ნალექის წარმოქმნით. ზოგიერთი სახეობის ანაერობი მე-10-12 დღეს შლის ჟელატინს.

მკვრივ და თხევად საკვებ არეებზე კულტურათა აღწერა

მიკროორგანიზმთა კულტურების დიფერენცირებისათვის მნიშვნელოვანია ზრდის თავისებურების შესწავლა ხელოვნურ საკვებ არეებზე. მიკროორგანიზმთა კულტურებს თავდაპირველად სწავლობენ მაკროსკოპულად-შეუიარაღებელი თვალით. მკვრივ საკვებ არეებზე ზრდის ხასიათს დეტალურად ადგენენ მიკროსკოპის მცირე გადიდებით, ლუპის ან მიკროსკოპის ოკულარის დახმარებით.

ხორც-პეპტონიანი აგარი

ზრდა: სუსტი, ზომიერი, უხვი.
სიდიდე. მსხვილი, წვრილი, წერტილოვანი.
ფორმა: მრგვალი, ელიპსოიდური, ბუშტისებრი, დატოტვილი-სწორი ან არასწორი გამონაზარდებით.
ზედაპირი: მბრწყინავი, დაბურული, უსწორმასწორო, ხორკლიანი, ნაოჭისებრი, ტვინისებრი და სხვ.
გამჭვირვალება: გამჭვირვალე, ოპალესცირებული, მუქი კონსისტენციის, ლორწოვანი, წებოვანი, მარცვლოვანი და სხვ.
კიდეები: სწორი, დაკბილული, ტალღისებრი, კულულისებრი, სავარცხლისებრი და სხვ.
რელიეფი: სწორი, ამოწეული, ამობურცული, ჩაჭყლეტილი.

პიგმენტის წარმოშობა: აღინიშნება, რა ფერისაა, არ აღინიშნება.
ნიადაგის ფერი: შეცვლილია, რა ფერისაა, არ არის შეცვლილი.
სუნი: არ აღინიშნება, მკვეთრ სუნს გამოსცემს.

ხორც-პეპტონიანი ბულიონი

ზედაპირული ზრდა: კედლის ამყოლი რგოლი, ნაზი აპკი, უხეში, დახორკლილი აპკი, ფიფქები, ზედაპირული, ზრდა არ აღინიშნება.

ნალექი: მკვრივი, ფიფქისებრი, მარცვლოვანი, შენჯღრევით წებოვანი, ბამბის ნაგლეჯის სახით და სხვ.

ნალექის რაოდენობა: უხვი, მცირე, არ აღინიშნება.

სუნი: არ აღინიშნება, რას მოგვაგონებს.

ჟელატინი (ჩხვლეტით)

ზრდა: გრძელი, მოკლე, ზონარის სახით დ.ა.შ.

გვერდითი გამონაზარდები: მოკლე, ზღარბის ან ნაძვის ხის მსგავსი, ზოგჯერ გადმობრუნებული ნაძვის ხის შესახედაობა.

ჟელატინის გალღვობა. მთლიანად, ფენებად, ბაფთისებრად (კონუსისებრად, მრგვალი დ.ა.შ)

რძე

ზრდა: რძის აჭრა სხვადსხვა ვადებში- რძის შაქრიდან რძის მჟავას გამომუშავების გამო. მიკროორგანიზმული წარმოშობის პროტეოლიზური ფერმენტების მოქმედებით რძე გამჭვირვალეა (აჭრის შედეგად ან აჭრის გარეშე).

ბაქტერიათა ინდიკაციის ბიოქიმიური მეთოდები

ბაქტერიათა ინდიკაციის მრავალი ბიოქიმიური მეთოდი არსებობს. მათი ნაწილი პრაქტიკული მიზნებით გამოიყენება.

ბაქტერიათა ცხოველმყოფელობის სხვადასხვა სუბსტრატების გამოვლენა საჭიროებს ინდიკატორების შემცველი სადიფერენციაციო – სადიაგნოსტიკო საკვები არეების არსებობას. მიკრობიოლოგიაში უპირატესად გამოყენებული ბიოქიმიური ტესტები შემდეგია.

ცხრილი №2

ბაქტერიათა ინდიკაციისათვის გამოყენებული ძირითადი ბიოქიმიური ტესტები

№	ტესტი	მოქმედების პრინციპი	გამოყენების ვარიანტი
1	2	3	4
1	ნაღვლის მარილების მიმართ ლაბილურობა	ნაღვლის მჟავას მარილებს ხსნიან Streptococcus pneumoniae-ს შტამები.	სხვა a–ჰემოლიზური სტრეპტოკოკების დიფერენცირებისათვის.
2	კატალაზური აქტივობა	ფერმენტი შლის H_2O_2–ს და გამოყოფს ჟანგბადს (ბუშტები საკვებ არეში)	სტრეპტოკოკების (უარყოფითი) სტაფილოკოკებისაგან (დადებითი) დიფერენცირება
3	კოაგულაზური აქტივობა	ფერმენტი ახდენს პლაზმის კოაგულაციას	კოაგულაზა-დადებითი (St.aureus) და კოაგულაზა –უარყოფითი სტაფილოკოკების დიფერენცირებისთვის
4	დნმ–აზური აქტივობა	დნმ-აზა ახდენს დნმ-ს ჰიდროლიზს, არა-ჰიდროლიზირებული დნმ ილექება HCL-ით	დნმ-აზა დადებითი და დნმ-აზა უარყოფითი სტაფილოკოკების დიფერენცირებისთვის.
5	ხედლსონის ბაქტერიოსტატული მეთოდი	სხვადასხვა ბრუცელები ახდენენ საკვებ არეში შეტანილი ფუქსინის ინჰიბიციას	ბრუცელების სახეობების დიფირენცირებისათვის.
6	ჰისის საკვებ არეში ჩათესვა	ავლენს ბაქტერიათა ზრდის და სხვადასხვა ნახშირწყლების ფერმენტაციის თვისებას მჟავას გამოყოფით	Corinebacterium სახეობების დიფერენცირებისათვის
7	ინდოლის წარმოქმნის ტესტი	საკვებ არეში ტრიფტოფანის დაშლა იწვევს ინდოლის წარმოქმნას, რაც გამოვლი-	ეშერიხიების სხვა ენტერობაქტერიებისაგან დიფერენცირებისათვის.

		ნდება საკვებ არეში კოვაჩის რეაქტივის შეტანის შემდეგ წითელი შეფერილობის წარმოქმნით	
8	კოზერის ციტრატული სინჯი	ციტრატიან საკვებ არეში (სიმონსის ან კოზერის) იწვევს pH-ის გადახრას ტუტიანობისაკენ და მწვანე საკვები არის ცისფერში გადასვლას	ბაქტერიების გამოვლინებისათვის, რომლებიც აღჭურვილია თვისებით ნახშირბადის წყაროდ გამოიყენონ ციტრატის უტილიზაცია
9	ლეციტინაზური აქტივობა, ლაქტოზადამატებულ კვერცხის ნიადაგზე	გამოავლენს პრეციპიტაციის ზონას (ლეციტინაზური აქტივობა) ლაქტოზის ფერმენტაციის, ლიპაზური და პროტეინაზულ აქტივობას	Clostridium სახეობების დიფერენცირებისათვის
10	ლაკმუსიანი რძის სინჯი	ფერმენტაციით ხორციელდება ლაკმუსიანი რძის აღდგენა და გაუფერულება	ენტეროკოკების (დადებითი) და ზოგიერთი კლოსტრიდიების ინდიკაციისათვის
11	მეთილენიანი წითლის რეაქცია გლუკოზიდან მჟავიანობის წარმოქმნის ინტენსივობის განსაზღვრისათვის (მეთილროტრეაქცია)	ინტენსიურად მჟავას წარმოქმნისას, pH (3,0) ინდიკატორის დამატების შემდეგ საკვები არე წითლად იღებება, ზომიერად წარმოქმნისას (pH 6,0) იღებება ყვითლად	E.coli ენტერობაქტერიებისა-გან ინდიკაციისათვის
12	ნეისერიების მიერ ნახშირწყლების ფერმენტაცია	გამოავლენს გლუკოზის, მალტოზის და ლაქტოზის ფერმენტაციას.	N. gonozzhoeae N. meningitisi შლის გლუკოზას და მალტოზას; სხვა ნეისერიებისაგან დიფერენცირებისათვის
13	ნიტრატების აღდგენა	ფერმენტი ნიტრატრედუქტაზა აღადგენს NO_3 –ს NO_2 –ში	ენტერობაქტერიების (აღადგენენ ნიტრატებს) სხვა გრამუარყოფითი ბაქტერიებისაგან დიფერენცირებისათვის.
14	ოქსიდაზური აქტიურობის ტესტი	ოქსიდაზა ჟანგავს ფენილენდიამინს, რაც განაპირობებს ლურჯ შეღებვას.	ოქსიდაზა დადებითი ბაქტერიების: მაგალითად ვიბრიონების ან ნეისერიების გამოვლინება
15	ხიულეიფსონის ტესტი გლუკოზის	მიკროორგანიზმებს ზრდიან 2 სინჯარაში,	გლუკოზის დამჟანგველი ბაქტერიების (მაგალითად

	დაჟანგვასა და ფერმენტაციაზე	რომელიც შეიცავს გლუკოზას. ერთის ინკუბაციას ახდენენ აერობულ პირობებში (დაჟანგვის გამოვლენა) მეორისას ანაერობულ პირობებში	ფსევდომონადა) მაფერმენ-ტებელი ბაქტერიებისაგან მაგალითად: (ენტერობაქტერიები) დიფერენცირებისათვის.
16	"ფერად რიგში (პეპტონის წყალ-ხსნარი ნახშირ-წყლების ნაკრებით) ჩათესვა	ავლენს გლუკოზის, მანიტის, ლაქტოზის, საქაროზის, დულცი-ტის და შარდოვანას ფერმენტაციის თვისებას მჟავას ან მჟავას და აირების გამოყოფით.	ენტერობაქტერიების დიფერენცირებისათვის
17	ფენილ-ალანინ-დეზამინაზური აქტივობა	ფენილ-ალანინის დაშლა განაპირობებს ფენილ-პირო-ყურძნის-მჟავას წარმოქმნას, რომელიც საკვებ არეს რკინის ქლორიდის დამატების შემდეგ სძენს მწვანე ფერს.	პროტეუსის (დადებითი) სხვა ენტე-რობაქტერიებისაგან დიფერენცირებისათვის.
18	ურეაზული ტესტი	ურეაზა–დადებითი ბაქტერიები შლიან შარდოვანას ამონი-უმის წარმოქმნით, რაც განაპირობებს ფენოლ-წთელის შემცველი საკვები არის წითლად შეღებვას.	პროტეუსის (დადებითი) სხვა ენტერობაქტე-რიებისაგან დიფერე-ბისათვის.
19	ფოგეს-პროსკაუერის რეაქცია.	ზოგიერთი ენტერობაქ-ტერიები გლუკოზის ფერმენტაციის შედე-გად წარმოქმნიან აცე-ტილმეთილ-კარბინოლს, რომელიც კრეატინთან ურთიერთ-ქმედებისას საკვებ არეს ღებავს წითლად.	დადებითი ენტერობაქ-ტერიების (მაგალითად Klebsiella pneumoniae) უარყოფითებისაგან (მაგალითად E.coli) დიფერენცირებისათვის.
20	X და V ტესტი	ზოგიერთი ბაქტერია იზრდება მხოლოდ ზრდის X ფაქტორის (პორფირინი) ან V ფაქტორის (ნიკო-ტინამიდ-დინუკლე-ოტიდი) არსებობის შემთხვევაში.	Hemophilus სახეობების დიფერენცირებისათვის

21	„მარგალიტისებრი ყელსაბამის" რეაქცია	ჯილეხის აღმძვრელი პენიცილინ დამატებულ ხპა-ზე ზრდისას წარმოქმნის სფეროპლასტებისგან შემდგარ ძეწ-კვებს, რომელიც მოგვაგონებს „მარგალიტის ყელსაბამს"	Bac.anthracis სადიფერენციაციოდ ბაცილების გვარში შემავალი სხვა სახეობებისაგან დიფერენცირებისათვის.

მიკროორგანიზმთა ბიოქიმიური (ფერმენტული) აქტივობის განსაზღვრა

მიკროორგანიზმებისათვის დამახასიათებელია სპეციფიკური ბიოქიმიური აქტივობა. მიკროორგანიზმთა ფერმენტებით ცილები, ცხიმები და ნახშირწყლები იშლება. მათი დაშლის შედგად გამოყოფილი ნივთიერებები განაპირობებს საკვები არეების ცვლილებას. ეს პროცესები მიკროორგანიზმთა ფერმენტული აქტივობის მაჩვენებელია.

ბაქტერიათა საქაროლიზური თვისებების განსაზღვრა. ბაქტერიათა საქაროლიზური თვისების დადგენა ჰისის საკვები არეთი ხორციელდება.

ჰისის საკვები არე: პეპტონიან წყალს (100 მლ გამოხდილი წყალი, 0,5% NaCl და 1% პეპტონი), უმატებენ 0,5% ნახშირწყალს და 0,5% ანდრედეს ინდიკატორს. ჩვეულებრივად ამზადებენ საკვებ არეებს სხვადსხვა ნახშირწყლით. (ფერადი რიგი). ანდრედეს ინდიკატორის კომპონენტებია: 0,5 გ მჟავა ფუქსინი, 16 მლ 4%-იანი ნატრიუმის ტუტე და 100 მლ გამოხდილი წყალი. საკვებ არეებს ჩამოასხამენ ტიუტივებიან სინჯარებში (ტივტივას ყრუ ბოლო საცობისკენ არის მიმართული). ასტერილებენ გამდინარე ორთქლით, წყვეტილად. ფერმენტული აქტივობის დასადგენად "ფერად რიგში" ჩათესავენ მიკროორგანიზმთა 18-20 საათიან კულტურას. 37 ^{0}C-ზე თერმოსტატირებიდან 18-20 საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. ნახშირწყლების დაშლის შედეგად გამოყოფილი

მჟავას მოქმედებით ინდიკატორი აღიდგენს ფერს და საკვები არე წითლად შეიღებება. ხოლო გამოყოფილი აირები ტივტივაში გროვდება.

ფოგეს-პროსკაუერის რეაქცია. /აცეტილ-მეთილ-კარბინოლის გამომუშავება/. კლარკის საკვებ არეში ნაზარდ 4-5 დღიან კულტურას უმატებენ თანაბარი რაოდენობით მწვავე კალიუმის 10% -იან ხსნარს და აჩერებენ 37^{0}C-ზე. ინკუბაციიდან 18-24 საათის შემდეგ გლუკოზიდან აცეტილ-მეთილ-კარბინოლის წარმოქმნის შემთხვევაში საკვები არე იძენს ვარდისფერ – ყვითელ ელფერს. რეაქციის დასაჩქარებლად შეიძლება მწვავე კალიუმის 20%-ანი ხსნარის გამოყენება. შედეგებს აღრიცხავენ ინკუბაციიდან 4 საათის შემდეგ.

კლარკის საკვები არე. 1 ლ გამოხდილ წყალში ხსნიან 5გ ორჩანაცვლებულ კალიუმის ფოსფატს (K_2HPO_4), 5გ პეპტონსა და 5გ გლუკოზას. საკვებ არეს აცხელებენ ადუღებამდე, ფილტრავენ, ჩამოასხამენ სინჯარებში 2-3 მლ მოცულობით და ასტერილებენ 0.5 ატმ-ზე, 30 წუთს. თითოეულ კულტურას თესავენ 2 სინჯარაში.

პროტეოლიზური თვისების განსაზღვრა *ა). პროტეოლიზური თვისების* დასადგენად მიკროორგანიზმთა კულტურებს თესავენ ხორც-პეპტონიან ჟელატინში, ცხენის შედედებულ სისხლის შრატსა და ქათმის კვერცხის ცილაში.

სვეტისებრ ხორც-პეპტონიან ჟელატინში ჩათესვა ხორციელდება ჩხვლეტით. მიკროორგანიზმთა გამოსაკვლევი კულტურა ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით შეაქვთ საკვები არის სიღრმეში. ნათესების ინკუბაციას ახდენენ 20-22^{0}C-ზე, 3-6 დღის განმავლობაში.

შედედებული ცხენის სისხლის შრატსა და ქათმის კვერცხის ცილაში მიკროორგანიზმთა პროტეოლიზური თვისების დასადგენად ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. ფერმენტ პროტეაზას მოქმედებით ცილა გაჯირჯვდება და ზედაპირზე წარმოიქმნება ჩაღრმავება.

ბ) კაზეინის ჰიდროლიზი. მიკროორგანიზმების მიერ კაზეინის ჰიდროლიზის დასადგენად გამოიყენება ეიკმანის რძიანი საკვები არე. საკვები არეს დასამზადებლად 100 მლ სტერილურ და წყლის აბაზანაში გამდვალ ხორც-პეპტონიან აგარს უმატებენ 3 მლ მოხდილ რძეს, გულდასმით ურევენ და ჩამოასხამენ ფინჯნებში. დათესვას ახდენენ ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან შპადელით აგარის მთელ ზედაპირზე. თერმოსტატში 37^{0}C-ზე ინკუბაციიდან 24-48 საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. კაზეინის პეპტონიზაცია პროტეოლიზის მაჩვენებელია. რძის შაქრის დაშლის შედეგად კოლონიების გარშემო გამჭვირვალე ზონა წარმოიქმნება.

გ) მიკროორგანიზმთა პროტეოლიზზე დაკვირვება შეიძლება ჩვეულებრივ რძეში მიკროორგანიზმთა კულტივირებით. მიკროორგანიზმული პროტეაზას მოქმედებით რძე წყლისებრი და გამჭვირვალე ხდება, სინჯარის ძირზე ლორწოვანი ნალექი წარმოიქმნება.

ცილების ღრმა დაშლასა და პროტეოლიზის ხარისხზე გოგირდწყალბადის, ინდოლის, ამიაკის და სხვა ნივთიერებების წარმოქმნით მსჯელობენ.

გოგირდწყალბადის (H_2S) განსაზღვრა. გოგირდწყალბადი ამინმჟავების (ცისტეინი, მეთიონინი, ცისტინი) დაშლის საბოლოო პროდუქტია. მის განსაზღვრას ახდენენ თხიერ და მყარ საკვებ არეებში.

ა) თხიერ საკვებ არეში გოგირდწყალბადის წარმოქმნის დასადგენად მიკროორგანიზმთა გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ ბულიონში. საცობსა და სინჯარის კედელს შორის 10%-იან ძმარმჟავა ტყვიაში დასველებულ ფილტრის ქაღალდის ზონარს ათავსებენ. შედეგებს აღრიცხავენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე ინკუბაციიდან 18-24 საათის შემდეგ. გოგირდწყალბადის წარმოქმნის შემთხვევაში ფილტრის ქაღალდი შავდება.

ბ) მკვრივ საკვებ არეში გოგირდწყალბადის წარმოქმნის დასადგენად ხორც-პეპტონიან აგარს /pH = 7,2-7,6/, 4%

პეპტონის შემცველობით, ხუთ-ხუთი მილილიტრის მოცულობით ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ. თითოეულ სინჯარაში სტერილურად უმატებენ 1 მლ მოცულობით წინასწარ გასტერილებულ ძმარმჟავატყვიის 0,25%-იან ხსნარს, გულდასმით ურევენ, აჩერებენ სვეტის გაცივების მიზნით და ამოწმებენ სტერილობაზე. გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ ჩხვლეტით. გოგირდწყალბადის წარმოქმნის შემთხვევაში საკვები არე ჩხვლეტის მიმართულებით შავდება.

ამიაკის (NH₃) განსაზღვრა. ა) სინჯარში მიკროორგანიზმთა კულტურით, საცობსა და სინჯარის კედელს შორის ათავსებენ ლაკმუსის ქაღალდის ვარდისფერ ზონარს, რომელიც ამიაკის გამოყოფის შემთხვევაში ლურჯად იღებება.

ბ) ფაიფურის როდინში პიპეტით შეაქვთ მიკროორგანიზმთა ბულიონში ნაზარდი კულტურის და ნესლერის რეაქტივის თითო-თითო წვეთი. გულდასმით ურევენ. ამიაკის კონცენტრაციის მიხედვით მიკროორგანიზმთა კულტურა ყვითლად ან ყავისფრად იღებება.

ინდოლის განსაზღვრა. ინდოლი ტრიფტოფანის დაშლის შედეგად გამოიყოფა. ინდოლის წარმოქმნის დასადგენად გამოსაკვლევ კულტურას ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით თესავენ სტროგოვის საკვებ არეში. სინჯარის თავისუფალ კიდესა და საცობს შორის ათავსებენ მჟაუნმჟავს 12%-იან ხსნარში დასველებულ ინდიკატორული ქაღალდის ზონარს. (იდიკატორული ქაღალდის შეხება საკვებ არესთან დაუშვებელია). ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. ინდოლის წარმოქმნის შემთხვევაში ინკუბაციიდან 24-48 საათის შემდეგ ინდიკატორული ქაღალდი ბაც-ვარდისფერში იღებება.

გოგირდწყალბადსა და ინდოლზე შედეგების საბოლოო აღრიცხვას ახდენენ ჩათესვიდან მე-7-10 დღეს.

სტროგოვის საკვები არე. 10 მლ გამოხდილ წყალში ხსნიან 0,5გ NaCl-ს, 0,25გ K_2HPO_4-ს და 0,25 გ ტრიფტოფანს. ინგრედიენტების სრული გახსნის შემდეგ (დასაშვებია

გაცხელება) ნიადაგს 2-3 მლ-ის მოცულობით ჩამოასხამენ სინჯარებში და ასტერილებენ 100^{0}C-ზე, 40 წუთის განმავლობაში.

მიკროორგანიზმთა აღდგენითი თვისების განსაზღვრა. აღდგენითი რეაქცია მიკროორგანიზმთა მიერ საკვებ არეში შეტანილი ზოგიერთი ორგანული საღებავის (მეთილენის ლურჯი, მალაქიტის მწვანე, ინდიგოკარმინი, ლაკმუსის ნაყენი) ფერის შეცვლაზეა დამყარებული. აღდგენითი თვისების დასადგენად გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ ბულიონში, რძეში ან აგარზე. ნიადაგს წინასწარ უმატებენ საღებავს შემდეგი პროპორციით: 5 მლ საკვები არე+ერთი წვეთი მეთილენის ლურჯის 1%-იანი წყლიანი ხსნარი ან 1-2 წვეთი ინდიგოკარმინის 5%-იანი ხსნარი ან 1 წვეთი ლაკმუსის ნაყენი. გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით. შედეგებს აღრიცხავენ 37^{0}C-ზე 24 საათიანი თერმოსტატირების შემდეგ. აღდგენითი რეაქციის შემთხვევაში საკვები არე გაუფერულდება, მაშინ როდესაც ჟანგბადის სიუხვის დროს საღებავი იჟანგება და აღიდგენს საწყის ფერს.

ნიტრატების აღდგენა (დენიტრიფიკაცია). ნიტრატების აღდგენა მიკროორგანიზმთა თვისებაა აღადგინოს ნიტრატები ნიტრიტებამდე ამიაკისა და თავისუფალი აზოტის ფორმით. პათოგენური მიკროორგანიზმების უმეტესობა ახდენს ნიტრატების აღდგენას ნიტრიტებამდე. მიკროორგანიზმთა რედუქციული თვისების განსაზღვრა სხვადსხვა მეთოდებით ხორციელდება: მაგალითად, გამოსაკვლევ მიკროორგანიზმებს თესავენ ხორც-პეპტონიან ბულიონში, რომელსაც 0,1% აზოტმჟავა კალიუმი (KNO_3) აქვს დამატებული. პარალელურად ჩათესვას ახდენენ საკონტროლო სინჯარაში. თერმოსტატში 37^{0}C-ზე ინკუბაციიდან 24 საათის შემდეგ სინჯარებში შეაქვთ რამდენიმე წვეთი გრისის რეაქტივი. ნიტრიტების არსებობის დროს ხორც-პეპტონიანი ბულიონი წითლად ან ვარდისფრად იღებება.

გრისის რეაქტივი. პირველი ხსნარი (0,5 გ სულფანილის მჟავა+150 მლ 12,0%-იანი ძმარმჟავა). მეორე ხსნარი (0,1 მლ ნაფტილამინი+150მლ 12%-იანი ძმარმჟავა). ხსნარებს მუქი ფერის მილესილ საცობიან ფლაკონებში ინახავენ, რეაქციის დადგმის წინ ხსნარებს ერთმანეთში ურევენ.

თუთია-სახამებლის სინჯი. 4,0 გ სახამებელს სრესენ მცირე მოცულობით წყალში და მუდმივი შერევით უმატებენ დუღილის სტადიაში არსებულ $ZnCl_2$ –ის 20%-იან წყლიან ხსნარს (სახამებლის სრულ გახსნამდე) და 2,0 გ მშრალ თუთიის იოდიდს. ხსნარს წყლით 1 ლ-მდე შეავსებენ და მუქი ფერის ჭურჭელში ინახავენ. რეაქციის დასადგმელად ფაიფურის როდინში ერთმანეთში ურევენ აღნიშნული ხსნარის 3 წვეთსა და გოგირდმჟავს 20%-იანი ხსნარის 1 წვეთს. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით (გვერდიდან) შეაქვთ გამოსაკვლევი კულტურის 1 წვეთი. აზოტოვანი მჟავის არსებობის შემთხვევაში სითხე მუქ-ლურჯად შეიღებება.

სახამებლის ჰიდროლიზის დადგენა. სახამებლის შაქრებად გარდამქმნელი ფერმენტის დიასტაზას აღმოსაჩენად, გამოსაკვლევ კულტურას დაშტრიხვით (იზოლირებული კოლონიების მისაღებად) თესავენ ფინჯნებში ჩამოსხმულ სახამებლიან აგარზე (0,2 გ სახამებელს ხსნიან 5 მლ გამოხდილ წყალში, ადუღებენ და უმატებენ 100 მგ აგარს). 37^0C-ზე 24 საათიანი თერმოსტატირების შემდეგ (სუსტი ზრდის შემთხვევაში 6 დღის შემდეგ) აგარის ზედაპირზე შეაქვთ გაფილტრული იოდის 50%-იანი ხსნარი. შედეგებს აღრიცხავენ მუქი შეფერილობის წარმოქმნის შემდეგ. კოლონიების გარშემო გამჭვირვალე უფერო ზონის წარმოქმნა სახამებლის ჰიდროლიზის მაჩვენებელია.

ფერმენტების: ოქსიდაზას, პეროქსიდაზას და კატალაზას აღმოჩენა. ***ოქსიდაზას განსაზღვრა*** ა) პეტრის ფინჯანში, მიკროორგანიზმთა იზოლირებულ კოლონიებზე აწვეთებენ ქლორწყალბადოვანი დიმეთილ პარამეთილდიამინის 0,5%-იანი

ხსნარის წვეთს. ოქსიდაზას მოქმედებით რეაქტივი თავდაპირველად ინტენსიურ ვარდისფრად, ხოლო რამდენიმე წუთის შემდეგ მუქ ფერში იღებება. ანაერობები ოქსიდაზას არ შეიცავენ.

ბ) *კოვაჩის მეთოდი.* 1%-იან გოგირდმჟავა დიმეთილ პარამეთილდიამინის წყლიან ხსნარს თანაბარი მოცულობით უმატებენ ეთილის სპირტს. აღნიშნული ხსნარით გაჟღენთილ ფილტრის ქაღალდზე შეაქვთ გამოსაკვლევი მიკროორგანიზმის 18-20 საათიანი აგარზე ნაზარდი კულტურა. დადებითი რეაქციის დროს 10-30 წამის შემდეგ მიკროორგანიზმთა შრე ვარდისფრად შეიღებება, რომელიც წითელ, ყავისფერ ან შავში გადადის.

პეროქსიდაზას განსაზღვრა (პარშინის მეთოდი) სინჯარაში შეაქვთ 0,5 მლ. გამოსაკვლევი მიკროორგანიზმის 10 მლრდ-ანი სუსპენზია (აგარზე ნაზარდი და ფიზიოლოგიური ხსნარით ჩამორეცხილი), 1 მლ ფოსფატური ბუფერი, 0,25 მლ პიროგალოლის 0,5%-იანი ხსნარი და 0,25 მლ წყალბადის ზეჟანგის 1%-იანი ხსნარი (pH 7,2). პარალელურად დგამენ ორ კონტროლს: ა) სინჯარა მიკროორგანიზმთა სუსპენზიით (წინასწარ წყლის აბაზანაში 10 წუთს ადუღებენ) და დანარჩენი ინგრედიენტები; ბ) სინჯარა იგივე ინგრედიენტებით, სადაც წყალბადის ზეჟანგის ნაცვლად წყალია დამატებული. პეროქსიდაზას არსებობის შემთხვევაში ძირითადი სინჯარის შიგთავსი შეიღებება. ობლიგატური ანაერობები პეროქსიდაზას არ შეიცავენ.

კატალაზას განსაზღვრა ზოგიერთი სახეობის მიკროორგანიზმები სუნთქვის პროცესში გამოყოფენ წყალბადის ზეჟანგს, რომელიც ფერმენტ კატალაზას მოქმედებით წყლად და ჟანგბადად იშლება. კატალაზას განსაზღვრა სხვადასხვა მეთოდით ხორციელდება:

ა) *ტოპლის მეთოდი.* 18-20 საათიანი ხორც-პეპტონიან აგარზე ნაზარდი კულტურის ზედაპირზე შეაქვთ 1 მლ

წყალბადის ზეჟანგის 1.0%-იანი ხსნარი. სინჯარებს ათავსებენ დახრილ მდგომარეობაში. აირების ბუშტების წარმოშობა კატალაზას არსებობის მაჩვენებელია.

ბ) კეის მეთოდი. სასაგნე მინაზე შეაქვთ გამოსაკვლევი კულტურა, ამატებენ წყალბადის ზეჟანგის წვეთს, კატალაზას არსებობის შემთხვევაში ჰაერის ბუშტუკები გამოიყოფა.

ჰემოლიზური თვისებების განსაზღვრა. ზოგიერთი სახეობის ბაქტერია გამოიმუშავებს განსაკუთრებულ, ცილოვანი ბუნების ნივთიერებას – ჰემოტოქსინს, რომელიც ერითროციტების დაშლის თვისებითაა აღჭურვილი. ბაქტერიათა ჰემოლიზური თვისების დადგენა წარმოებს მყარ და თხიერ საკვებ არეებში.

ა) მყარ საკვებ არეში ჰემოლიზური თვისებების დასადგენად გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ პეტრის ფინჯანში ჩამოსხმულ ხორცპეპტონიან აგარზე, რომელსაც 5% დეფიბრინებული სისხლი აქვს დამატებული. ერითროციტების ჰემოლიზის შემთხვევაში კოლონიების გარშემო გამჭვირვალე ზონა წარმოიქმნება.

ბ) თხიერ საკვებ არეებში, რომელსაც დეფიბრინებული სისხლი აქვს დამატებული, ბაქტერიული ჰემოტოქსინის მოქმედებით ერითროციტები იშლება და საკვები არე თანაბრად წითლად შეიღებება.

დერმონეკროზული თვისების დადგენა. 18-24 საათის განმავლობაში აგარზე ნაზარდ მიკროორგანიზმთა კულტურიდან NaCl–ის 0,9%-იან იზოტონურ ხსნარზე ამზადებენ $2x10^9$ მიკრობული უჯრედი/მლ-ში (2 მილიარდი) შენაწონს. ბოცვერს ასნებოვნებენ 0,25 მლ შენაწონის კანში შეყვანით. კანს ბალნისაგან წინასწარ ათავისუფლებენ. დადებითი რეაქციის შემთხვევაში კულტურის შეყვანიდან 24-48 საათის შემდეგ თავდაპირველად კანი წითლდება, წარმოიქმნება ინფილტრატი, ხოლო შემდეგ ვითარდება ნეკროზი.

Api საიდენტიფიკაციო სისტემა

Api სტანდარტული სისტემაა, ის შედგება ბიოქიმიური ტესტებისაგან, რომელიც გამოიყენება ნაწლავური ჯგუფის ბაქტერიების, სხვა გრამუარყოფითი ჩხირების, გრამუარყოფითი არამაფერმენტებელი ჩხირების, სტაფილოკოკების, სტრეპტოკოკების და სხვა იდენტიფიკაციისათვის.. მათი არსი და გამოყენების პრინციპი შემდეგია.

Api 20E Ref 20100. ნაწლავური ჯგუფის ბაქტერიების და სხვა გრამუარყოფითი ჩხირების სტანდარტული საიდენტიფიკაციო სისტემაა. ის შედგება 23 მინიატურული ბიოქიმიური ტესტისაგან.

მისი პრინციპი შემდეგში მდგომარეობს: Api 20E სტრიპი დეჰიდრირების სუბსტარტების შემცველი 20 მიკროსინჯისაგან შედგება. აღნიშნულ სტრიპში შეტანილი ბაქტერიული სუსპენზია რეაქციაში შედის არსებულ სუბსტრატთან. ინკუბაციის პროცესში იცვლება ფერი. ეს უკანასკნელი განისაზღვრება პირდაპირ ან სპეციალური რეაქტივების დამატების შემდეგ.

რეაქციის შედეგების აღრიცხვა ხორციელდება საინტერპრეტაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგის დახმარებით.

შენახვის პირობები. Api 20E ინახება ალუმინის ტომსიკში, რომელიც გახსნის შემდეგ უნდა დაიხუროს სპეციალური სამაგრით (შედის კომპლექტის შემადგენლობაში). სტრიპები ინახება 2-8^{0}C-ზე და გამოიყენება მითითებულ ვადებში. რექტივების უმეტესობა ვარგისია გახსნიდან ერთი თვის განმავლობაში.

გამოყენების მეთოდიკა. ამზადებენ საინკუბაციო ყუთს. სადგამის ფოსოებში შეაქვთ 5 მლ წყალი. აღნიშნავენ ანალიზის ნომერს. სტრიპს ათავსებენ საინკუბაციო ყუთში. ატარებენ ოქსიდაზის ტესტს.

საკვები არის მომზადება კულტივირებისათვის. სუსპენზირების საკვები არის ამპულას ხსნიან. პიპეტის

დახმარებით პეტრის ფინჯნიდან იღებენ იზოლირებულ კოლონიას. ჰომოგენატის მისაღებად ფრთხილად ამზადებენ ბაქტერიულ სუსპენზიას.

სტრიპის ინოკულაცია. იმავე პიპეტით ბაქტერიული სუსპენზიით ავსებენ სინჯარებს და ფოსოებს ტესტებით CIT, VP, CEL. სხვა ტესტებისათვის ავსებენ მხოლოდ სინჯარებს. ADN, LDS, ODS, URE და H_2S ტესტირებისათვის ზეთის შეტანით ქმნიან ანაერობულ პირობებს.

შედეგების შეფასება. საინტერპრეტაციო ცხრილი 3-ის გამოყენებით, 35-37^{0}C -ზე ინკუბაციის შემდეგ კითხულობენ სტრიპებს. რეაქციის შდეგები შეაქვთ სააღრიცხვო ბლანკზე. გლუკოზაზე ან სხვა სამ ან მეტ ტესტზე დადებითი რეაქციის შემთხვევაში არკვევენ რომელი ტესტები საჭიროებენ რეაქტივების დამატებას.

ტესტი VP. ემატება თითო წვეთი VP_1 და VP_2 რეაქტივები. აყოვნებენ 10 წუთს. მკვეთრი ვარდისფრის ან წითელი შეფერვის შემთხვევაში რეაქცია დადებითია.

ტესტი TDA. ემატება 1 წვეთი TDA-ს რეაქტივი. მუქი ყავისფერის წარმოქმნისას რეაქცია დადებითია.

ტესტი IND. ემატება ერთი წვეთი James რეაქტივი. რეაქცია მყისიერია. ვარდისფერი შეფერვის წარმოქმნისას რეაქცია დადებითია.

ტესტი NO_2. სინჯარაში გლუკოზით ემატება 1 წვეთი NIT1 და NIT2. აყოვნებენ 2 წუთს. წითელი ფერის წარმოქმნა დადებითი რეაქციის მიმანიშნებელია. რეაქცია უარყოფითია ყვითელი ფერის წარმოქმნისას.

თუ რეაქცია გლუკოზაზე უარყოფითია და დადებითი რეაქციების რიცხვი არ აღემატება 2-ს, რეაქტივების დამატება არ არის საჭირო.

– გლუკოზის დაშლის დასაზუსტებლად ახდენენ Api OF-ის ინოკულაციას ორ სინჯარაში.

– Api M საკვებ არეში ამოთესვით ან მიკროსკოპში დაკვირვებით ამოწმებენ მოძრაობაზე.

– სააღრიცხვო ბლანკში შეაქვთ სტრიპზე მიღებული და დამატებითი ტესტების შედეგები. ამ მიზნით ხელმძღვანელობენ საინტერპრეტაციო მონაცემებით (ცხრ 3).

ინტერპრეტაცია. მიღებულ შედეგებს ადარებენ: საიდენტიფიკაციო ცხრილის მონაცემებს, ან იყენებენ ანალიზურ კატალოგს. ამ მიზნით საჭიროა მიღებული რეაქციები კოდირებული იყოს რიცხვითი პროფილით.

სააღრიცხვო ბლანკზე ტესტები დაყოფილია ჯგუფებად. თითოეული ჯგუფი შედგება 3 ტესტისაგან, რომელიც აღნიშნულია ციფრებით 1, 2 ან 4. დადებითი რეაქციების შესაბამისი ნომრების დაჯამებით მიიღება ციფრობრივი პროფილი Api 20E ტესტისათვის. ოქსიდაზა 21-ე ტესტია და დადებითი რეაქციის დროს აქვს მნიშვნელობა 4.

ზოგიერთ შემთხვევაში 7 ციფრიანი პროფილი არ არის საკმარისი და დამატებით საჭიროებს ტესტების ჩატარებას.

იდენტიფიკაციის პროცესში გასათვალისწინებელია გამოსაკვლევი მასალის წარმოშობა, კოლონიების მორფოლოგია, მიკროსკოპირების მონაცემები, ავადმყოფობის ისტორია, სეროლოგია და სხვ.

უვნებელყოფა. გამოკვლევების ჩატარების შემდეგ ყველა სტრიპი, ამპულა, საინკუბაციო ყუთი ექვემდებარება უვნებელყოფას ავტოკლავირებით, დაწვით ან სადეზინფექციო ხსნარში მოთავსებით.

ცხრილი 3.

საინტერპრეტაციო ცხრილი

№	ტესტი	სუბსტრატი	რეაქციები (ფერმენტები)	შედეგები	
				უარყოფითი	დადებითი
1	2	3	4	5	6
1	ONPG	ორთო-ნიტროფენილ	β გალაქტოზი-დაზა	უფერული	ყვითელი (1)

		β-D გალაქ-ტოპირანო-ზიდი			
2	ADH	არგინინი	არგინინის დეჰიდროლაზა	ყვითელი	წითელი/ ნარინჯისფერი (2)
3	LDC	ლიზინი	ლიზინ-დეკარბოქსილა ზა	ყვითელი	ნარინჯისფერი
4	ODC	ორნიტინი	ორნიტინ-დეკარბოქსილა-ზა	ყვითელი	წითელი ნარინ-ჯისფერი (2)
5	CIT	ციტრატი	ციტრატის უტილიზაცია	ბაცი მწვანე, ყვითელი	მოლურჯო-მომწვანო/ ლურჯი (3)
6	H_2S	თიოსულფატი	H_2S-ის წარმოქმნა	უფერული/მო ნაცრისფრო	შავი ნალექი
7	URE	შარდოვანა	ურეაზა	ყვითელი	წითელი/ნარინ ჯისფერი
8	TDA	ტრიფტოფანი	ტრიფტოფან-დეზამინაზა	TDA/ მომენტალურად	
				ყვითელი	მუქი წაბლისფერი
9	IND	ტრიფტოპენი	ინდოლის პროდუქცია	James/სწარფად ან IND/2 წთ	
				James უფერული ბაცი, ბაცი-მწვანე/ ყვითელი. IHD ყვითელი	Jame ვარდისფერი IND წითელი რგოლი
10	VP	პირუვატი	აცეტონის გამომუშავება	VP1+VP2 10 წთ	
				უფერული	მოვრდისფრო/ წითელი
11	CEL	Kohn-ის ჟელატინაზა	ჟელატინაზა	დიფუზიის არსებობა	შავი პიგმენტის დიფუზია
12	CLU	გლუკოზა	ფერმენტაცია და დაჟანგვა (4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
13	MAN	მანიტი	ფერმენტაცია და დაჟანგვა (4)	ლურჯი/მო-ლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
14	INO	ინოზიტი	ფერმენტაცია და დაჟანგვა (4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი

15	SOR	სორბიტი	ფერმენტაცია და დაჟანგვა (4)	ლურჯი/მოლურჯო/მწვანე	ყვითელი
16	RHA	რამნოზა	ფერმენტაცია და დაჟანგვა (4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
17	SAC	საქაროზა	ფერმენტაცია და დაჟანგვა(4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
18	MEL	მელიბიოზა	ფერმენტაცია და დაჟანგვა(4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
19	AMY	ამიგდალინი	ფერმენტაცია და დაჟანგვა(4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
20	APA	არაბინოზა	ფერმენტაცია და დაჟანგვა(4)	ლურჯი /მოლურჯო/ მწვანე	ყვითელი
21	OX	ტეტრამეთილ-ფენილენ-დიამინ-იზოამინის სპირტი	ციტროქრომო-ქსიდაზა	OX/1-2 წუთი	
				ყვითელი	წითელი
22	NO_3-NO_2	სინჯარა CLU	NO_2 პროდუცირება N_2 რედუქცია	NIT1+NIT2 2-3 წთ	
				ყვითელი	წითელი
				Zn 5 წთ	
				წითელი	ყვთელი
23	MOB	(ApiM) (მიკ-როსკოპია)	მოძრაობა	უძრავი	მოძრავი
24	McC	მაკ-კონკის საკვები არე	კულტურის მიღება	არ არსებობა	არსებობა
25	OF-F OF-O	გლუკოზა (Api OF)	ფერმენტაცია: ზეთის ქვეშ დაჟანგვა: ჰაერზე	მწვანე მწვნე	ყვითელი ყვითელი

შენიშვნა: /1/ ყვითელი ფერი – რეაქცია დადებითია; /2/ ნარინჯისფერი – რეაქცია უარყოფითია (ოცდაოთხსაათიანი ინკუბაციის შემდეგ); /3/ რეაქციის აღრიცხვა ფოსოში (აერობული ზონა); /4/ ფერმენტაცია სინჯარის ქვედა ნაწილში, დაჟანგვა ფოსოში.

Api Staph /Ret 20500/–სტაფილოკოკებისა და მიკროკოკების საიდენტიფიკაციო სისტემა. სისტემა დამყარებულია სტანდარტული და შემოკლებული ტესტების გამოყენებაზე, სპეციალური ადაპტირებული საბაზო მონაცემებით.

პრინციპი. სისტემა შედგება სტრიპისაგან. მისი მიკროსინჯარები შეიცავენ დეჰიდრირებულ სუბსტრატებს. ტესტირებისას მას უმატებენ Api Staph-ის საკვებ არეს. სტრიპის ინკუბაციას ახდენენ 35-37^{0}C-ზე, 18-24 საათის ან 48 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. იდენტფიკაციისათვის სარგებლობენ საიდენტიფიკაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგით.

შენახვის პირობები. Api Staph სტრიპები და საკვები არეები ინახება 2-8^{0}C-ზე. ანალოგიურ ტემპერატურაზე ინახება რეაქტივები, ZYMA-ს გარდა. ვინაიდან აღნიშნულ პირობებში წარმოქმნის ნალექს. ამიტომ უმჯობესია მისი ოთახის ტემპერატურაზე შენახვა.

ZYM B-ს რეაქტივი მგრძნობიარეა სინათლის მიმართ. ვარდისფერი შეფერილობა რეაქტივის უვარგისობის მიმანიშნებელია. მას ხსნიან უშუალოდ ხმარების წინ. ZYM B-ს ფუთავენ ალუმინის ფოლგაში. რეაქტივი ვარგისია გახსნიდან 1 თვის განმავლობაში.

რეაქციის მეთოდიკა. მზადდება საინკუბაციო ყუთი. სადგამის ფოსოებში შეაქვთ 5 მლ გამოხდილი წყალი. სადგამს ნიშნავენ. სტრიპს იღებენ შეფუთვიდან და ათავსებენ საინკუბაციო ყუთში.

კულტურის მომზადება. ახდენენ კულტურის გამოყოფას სისხლიან აგარზე. ნათესებს ათავსებენ 37^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში. კულტურას ამოწმებენ სისუფთავეზე და *Micrococcaceae* ოჯახის კუთვნილებაზე. ხსნიან ამპულას Api Staph საკვები არეთი. ამზადებენ ბაქტერიულ სუსპენზიას,

რომლის კონცენტრაციაც შეესაბამება MacFarland სტანდარტის 0.5 სიმღვრივეს.

სტრიპის ინოკულაცია. სტერილური პიპეტით ბაქტერიული სუსპენზიით ავსებენ მიკროსინჯარებს (ქვედა ნაწილს), ბუშტების წარმოქმნის გარეშე. ADH და URE-ში ზეთის დამატებით ქმნიან ანაერობულ პირობებს. საინკუბაციო ყუთს ხურავენ და ათავსებენ 35-37^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში.

შედეგების აღრიცხვა. VP ტესტს უმატებენ VP1 და VP2 თითო-თითო წვეთს. დაყოვნებიდან 10 წუთის შემდეგ მოვარდისფრო-იასამნისფერის წარმოქმნა დადებითი რეაქციის მაჩვენებელია. MIT ტესტს უმატებენ NIT1 და NIT2 რეაქტივებს. დაყოვნებიდან 10 წუთის შემდეგ წარმოქმნილი წითელი ფერი დადებითი რეაქციის მაჩვენებელია.

PAL ტესტს ემატება ZYMA და ZIMB რეაქტივები. 10 წუთის შემდეგ იისფერის წარმოქმნა დადებით შედეგებზე მიუთითებს.

შედეგები შეაქვთ სააღრიცხვო ბლანკში.

იდენტიფიკაცია-ახდენენ საიდენტიფიკაციო მონაცენებით /ცხრ 4/ და ანალიზური კატალოგის დახმარებით, რიცხვითი კოდის მიღების შემდეგ. ტესტების შედეგები დაყოფილია 3 ჯგუფად /1-2-4/. დადებითი შედეგები იმყოფება აღნიშნულ ჯგუფებში. საბოლოოდ მიიღება 7 ციფრიანი კოდითი პროფილი.

ლიზოსტაფინის /200მკგ/მლ/ მიმართ მდგრადობა განისაზღვრება 21-ე ტესტით.

უვნებელყოფა. პიპეტები, ამპულები და საინკუბაციო ყუთები უნდა განადგურდეს ავტოკლავირებით, დაწვით ან სადეზინფექციო ხსნარში მოთავსებით.

ცხრილი 4

საინტერპრეტაციო ცხრილი

№	ტესტი	სუბსტარატი	რეაქციები ფერმენტები	შედეგები	
				უარყოფითი	დადებითი

0			ნეგატიური კონტროლი	წითელი	–
1	CLU	D-გლუკოზა,	/დადებითი კონტროლი/		
2	FRU	D- ფრუქტოზა,			
3	MNE	D-მანოზა			
4	MAL	მალტოზა	ნახშირწყლების აღდგენა	წითელი	ყვითელი
5	LAC	ლაქტოზა			
6	TRE	D- ტრეგალოზა			
7	MAN	D-მანიტი			
8	XLT	ქსილიტი			
9	MEL	D- მილიბიოზა			
10	RAF	რაფინოზა			
11	XYL	ქსილოზა			
12	SAC	საქაროზა	ნახშირწყლების აღდგენა	წითელი	ყვითელი
13	MDG	α მეთილ D-გლუკოზიდი			
14	NAC	β-აცეტილ-გლუკოზამინი			
15	ADN	არგინინი	არგინინ დეჰიდროლაზა	ყვითელი	ნარინჯის-ფერიწითელი
16	URE	შარდოვანა	ურეაზა	ყვითელი	წითელი-იისფერი
17	NIT	კალიუმის ნიტრატი	ნიტრატების რედუქცია ნიტრიტებში	NIT1+WIT2/10 წთ	
				უფერული ბაცი ვარდისფერი	წითელი
18	PAL	β -ნაფტალინ-მუავა ფოსფატი	ტუტე ფოსფატაზა	ZYMA+ZYMB/10წთ	
				ყვითელი	იისფერი
19	VP		აცეტილ-მეთილ კარბინოლის წარმოქმნა	VPI+ 2/10წთ	

				უფერული	იისფერ- ვარდისფერი

შენიშვნა: დაჟანგვის ტესტი უნდა შედარდეს უარყოფით (0) და დადებით (GLU) კონტროლებთან. თუ MNE და XLT ტესტები ნარინჯისფერია, ხოლო წინამდებარე ტესტი დადებითი, შედეგი უარყოფითია.

Api 20Strep /Ref 20600/– სტრეპტოკოკების იდენტიფიკაცია Api 20Strep –ის სისტემა სტანდარტული მიკრომეთოდია, რომელიც 20 ბიოქიმიური ტესტისგან შედგება, რაც ქმნის შესაძლებლობის ფართო სპექტრს. აღნიშნული ტესტით სტრეპტოკოკების იდენტიფიკაცია ხორციელდება მოკლე დროში – 4-24 საათში.

მოქმედების პრინციპი. Api 20Strep, 20 მიკროსინჯისაგან შემდგარი სტრიპია. ის შეიცავს დეჰიდრირებულ სუბსტრატებს ფერმენტული აქტივობის სადემონსტარციოდ. გამოკვლევების ჩასატარებლად შესასწავლი კულტურიდან მზადდება სუსპენზია, რომელიც გამოიყენება ფერმენტული სუბსტარების რეჰიდრატაციისათვის. მეტაბოლიზმის საბოლოო პროდუქტები ინკუბაციის შემდეგ ფერის შეცვლით ან რეაქტივის დამატების შემდეგ გამოვლინდება.

რეაქციების გამოთვლა ხორციედება საინტერპრეტაციო ცხრილით. იდენტიფიკციისათვის ხელმძღვანელობენ საიდენტიფიკაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგით. (ცხრილი 5)

შენახვის პირობები. GP ნიადაგი და რექტივები ინახება 2-8^{0}C-ზე მითითებული ვადების დაცვით. ZYMA და VP1 ინახება 8-30^{0}C-ზე. NIM რეაქტივი ზედმიწევნით მგრძნობიარეა ტენიანობისა და ჰაერის მიმართ, ამიტომ გამოიყენება მხოლოდ მშრალი პიპეტები. ხმარების შემდეგ ფლაკონი ჰერმეტულად უნდა დაიხუროს. ZYMA რეაქტივი გაცივების შემდეგ წარმოქმნის მყარ ნალექს. ZYMB რეაქტივი სინათლის მიმართ მგრძნობიარეა. რეაქტივის ვარდისფერში შეღებვა უვარგისობის

მაჩვენებელია. რეაქტივის გამოყენება სასურველია უშუალოდ ხმარების წინ და დაცული უნდა იქნას სინათლის ზემოქმედებისაგან ალუმინის ფოლგაში შეფუთვით.

გამოკვლევის მსვლელობა. მიკროორგანიზმული კულტურის გამოყოფისა და სტრეპტოკოკების გვარისადმი კუთვნილების დადგენის შემდეგ: ა) აღნიშნავენ ჰემოლიზის ტიპს (21 ტესტი), ბ) არჩევენ ტიპურ კოლონიას და ამზადებენ ჰომოგენურ სუსპენზიას 0.3 მლ გამოხდილ წყალზე, გ) სუსპენზია გადაქვთ კოლუმბია აგარზე და სტერილური ტამპონით ჩააზელენ საკვები არეს მთელ ზედაპირზე, დ) ახდენენ ინკუბაციას 35-37^{0}C-ზე ანაერობულ პირობებში, 18-24 საათის განმავლობაში, ე) ჰემოლიზური სტრეპტოკოკები და ენტეროკოკები საკვებ არეზე 24 საათის განმავლობაში წარმოქმნიან დიდი ზომის კოლონიებს. სხვა სტრეპტოკოკების მოსაშენებლად სასურველია 48 საათიანი ინკუბაცია.

პნევმოკოკებზე ეჭვის შემთხვევაში გამოიყენება 2 პეტრის ფინჯანი სისხლიანი აგარით.

სტრიპის მომზადება. საინკუბაციო ყუთის სადგამის ფოსოებში შეაქვთ 5 მლ წყალი. ყუთზე აკეთებენ შტამის ნომრის წარწერას. სტრიპი ამოაქვთ შეფუთვიდან და ათავსებენ წინასწარ მომზადებულ საინკუბაციო ყუთში.

საკვები არის მომზადება. გამოიყენება ამპულა საკვები არეთი ან 2 მლ სტერილური გამოხდილი წყალი. ამზადებენ სუსპენზიას, სიმღვრივით 4-ზე მაღალი (MacFarland სტან-დარტით).

სტრიპის ინოკულაცია. სტრიპის პირველი ნახევარი (VP-დან ADH-მდე).

სტერილური პიპეტით სუსპენზიას ანაწილებენ ბუშტების წარმოქმნის გარეშე.

VP-დან LAP-მდე დაახლოებით 150 მკლ (3 წვეთი ჩვეულებრივი პიპეტით, ან 6 წვეთი Psipette) შეაქვთ თითოეულ ფოსოში.

ADH-თვის ავსებენ მხოლოდ მიკროსინჯარის ნაწილს.

GP საკვები არის ამპულას ხსნიან, რომელშიც შეაქვთ დარჩენილი სუსპენზია (დაახლოებით 0.5 მლ). ახდენენ ჰომოგენიზაციას. მზა სუსპენზიას ანაწილებენ მხოლოდ მიკროსინჯარებში.

ADH-დან GLYG-მდე ტესტების ფოსოებს ავსებენ მინერალური ზეთით ამობურცული მენისკის წარმოქმნით, სადგამს ხურავენ. ათავსებენ 35-37°C-ზე. პირველ შედეგებს აღრიცხავენ 4 საათის, ხოლო მეორეს 24 საათის შემდეგ.

აღრიცხვა და ინტერპრეტაცია. ინკუბაციიდან 4 საათის შემდეგ ემატება:

VP ტესტს - თითო წვეთი VP1 და VP2 რეაქტივები.

HIP ტესტს: ორი წვეთი NIN რეაქტივი.

PYRA, GAL, β GUR, α GAL, PAL, LAP ტესტებს - თითო წვეთი ZYMA, ZUMB რეაქტივები. აყოვნებენ 10 წუთს. რეაქციის შედეგებს კითხულობენ საინტერპრეტაციო ცხრილის გამოყენებით. საჭიროების შემთხვევაში სტრიპს ათავსებენ მკვეთრი განათების პირობებში (100 w) 10 წამის განმავლობაში სინჯარებში ზედმეტი რეაქტივის (PYRA-დან LAP-მდე) გასაუფერულებლად.

განმეორებით ინკუბაციას ახდენენ როდესაც შეუძლებელია პროფილის მიღება ანალიზური კატალოგით ან მიღებულ პროფილს თან არ ახლავს მითითება. იდენტიფიკაცია არ არის სარწმუნო, თუ პროცედურა გრძელდება 24 საათის გასვლამდე. ინკუბაციიდან 1 დღის შემდეგ განმეორებით აღრიცხავენ ტესტებს ESC, ADH-დან RTB-დან GLYG- მდე. რეაქციის შედეგები შეაქვთ სააღრიცხვო ბლანკში.

იდენტიფიკაცია. წარმოებს საიდენტიფიკაციო მონაცემებით (ცხრ 5) ანალიზური კატალოგის დახმარებით. ამ მიზნით რეაქციების კოდირება ხდება რიცხობრივი პროფილით.

სააღრიცხვო ბლანკზე ყველა ტესტი დაყოფილია ჯგუფებად: თითოეული შედგება ციფრებით (1; 2; 4),

აღნიშნული სამი ტესტისაგან, ნომრების მიმატებით. ეს უკანასკნელი შეესაბამება დადებით რეაქციებს; საბოლოოდ მიიღება 7 ციფრიანი კოდირებული პროფილი.

შენიშვნა. ჰემოლიზის რეაქცია 21-ე ტესტია. β ჰემოლიზი დადებითია თუ ციფრობრივად 4-ის ტოლია. სხვა დანარჩენი რეაქცია უარყოფითია თუ ციფრული მნიშვნელობა 0-ის ტოლია. ზოგიერთი სახეობისათვის ეს ტესტი შეიძლება გამოყენებულ იქნას განსხვავების მიზნით.

უვნებელყოფა. ნახმარი ამპულები, სტრიპები, პიპეტები და საინკუბაციო ყუთი ნადგურდება ავტოკლავირებით, დაწვით ან სადეზინფექციო ხსნარში მოთავსებით.

შეზღუდვები. Api 20 Strep სისტემა გამოიყენება *Streptococcus, Enterococcus, Listeria, Gemella, Gardnerella* და *Aerococcus* სახეობათა საიდენტიფიკაციოდ.

შედეგების აღრიცხვისას გასათვალისწინებელია: ავადმყოფობის ისტორია, გამოსაკვლევი მასალის წყარო, კოლონიების მორფოლოგია, ხოლო საჭიროების შემთხვევაში სხვა ჩატარებული ტესტების შედეგები.

ცხრილი 5

საიდენტიფიკაციო ცხრილი

№	ტესტი	სუბსტრა-ტი	რეაქციები/ ფერმენტები	შ ე დ ე გ ე ბ ი			
				უარყოფითი		დადებითი	
1	VP	პირუვატი	აცეტონის პროდუქცია	VP1+VP2/10 წუთამდე			
				უფერული		ვარდისფერი, წითელი	
2	HPI	ჰიპურატი	ჰიდროლიზი	NIN/10 წუთამდე			
				უფერული/ბაცი ლურჯი		მუქი ლურჯი/იისფერი	
3	ESC	ესკულინი	β-	4 სთ	24 სთ	4	24

			გლუკოზიდაზა			სთ	სთ
				უფერ ულ-ლი, ბაცი ყვითე-ლი	უფერუ-ლი, ბაცი ყვითელი, ღია ნაცრის-ფერი	შავი ნაც-რის-ფე-რი	შავი
4	PYRA	პიროლიდ ონილ-2 ნაფტილა მიდი	პიროლიდონი I არილამიდაზა	ZYMA+ZUMB/10წთ/PYRA-LAP-მდე(1)			
				საჭიროების მიხედვით გადაიღებება ინტენსიობის დასადგენად			
				უფერული ან უკიდურესად ნარინჯისფერი	ნარინჯისფერი		
5	α CAL	6-ბრომო-2-ნაფტილი-α D-გალაქტو პირანო-ზიდი	α – გალაქტოზი-დაზა	უფერული	იისფერი		
6	β CUR	ნაფტილ AS-BI β-D გლუკურو ნატი	β – გლუკورونი-დაზა	უფერული	ლურჯი		
7	β CAL	2-ნაფტილ-β D გალაქტو პირანო-ზიდი	β – გალაქტოზიდა-ზა	უფერული ან ძალიან ბაცი იისფერი	იისფერი		
8	PAL	2-ნაფტილ ფოსფატი	ტუტე-ფოსფატაზა	უფერული ან ძალიან ბაცი იისფერი	იისფერი		
9	LAP	L ლეიცინ 2-ნაფტილ-ამიდი	ლეიცინ არილამიდაზა	უფერული	ნარინჯისფერი		
10	ADH	არგინინი	არგინინ-დეჰიდროლაზა	ყვითელი	წითელი		
11	RIB	რიბოზა	დაჟანგვა	4სთ	24 სთ	4სთ	24 სთ
				წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-	ნარინ-ჯის-ფერი	ყვით ე-ლი

					წითელი	წითელი	
12	ARA	L არაბინო-ზა	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წით-ელი	ყვითე-ლი
13	MAN	მანიტი	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვითე-ლი
14	SOR	სორბიტი	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვით-ელი
15	LAC	ლაქტოზა	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვი-თელი
16	TRE	ტრეგალ ოზა	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვითე-ლი
17	INU	ინულინი	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვი-თე-ლი
18	RAP	რაფინოზა	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი წი-თელი	ყვით-ელი
19	AMD	ამიდონი	დაჟანგვა	წი-თე-ლი	ნარინჯ ის-ფერი-წითელი	ნარინ-ჯის-ფერი-წი-თელი	ყვითე-ლი
20	CLYC	გლიკოგე-ნი	დაჟანგვა	წითელი ან ნარინჯისფერი		ყვითელი	

შენიშვნა: ა) 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ (მე-2 შეფასება) ZYMA და ZUMB რექტივების დამატებით დასაშვებია სინჯებში

ნალექის წარმოქმნა, ბ) სხვა შაქრებთან შედარებით ამიდონის დაჟანგვა სუსტია.

Api 20A /Ref 20300/ - ანაერობთა იდენტიფიკაციისათვის Api 20A სისტემის გამოყენებით, მოკლე დროში და მარტივად შეიძლება ჩატარდეს ანაერობთა იდენტიფიკაციის 21 ტესტი. ამასთან დამატებით სწავლობენ კოლონიათა მორფოლოგიას, ფუნქციურ თვისებებს, პრეპარატში განლაგებას და აირ-თხევადი ქრომატოგრაფიით მეტაბოლური პროდუქტების წარმოქმნას. ასეთი კომპლექსური გამოკვლევა ანაერობთა ზუსტი იდენტიფიკაციის საფუძველია.

გამოკვლევის პრინციპი. Api 20A სისტემა შეიცავს 20 მიკროსინჯარას დეჰიდრატირებული სუბსტრატებით. მიკროსინჯარებში შეტანილი ბაქტერიული სუსპენზია შედის რეაქციაში სუბსტრატებთან.

რეაქციის პროცესში გამოყოფილი მეტაბოლიტების აღმოჩენა ხორციელდება სხვადასხვა pH –ის ინდიკატორებით ან ინკუბაციის პერიოდის (24-48სთ, 35-38^{0}C) გავლის შემდეგ რეაქტივების დამატებით.

შენახვის პირობები. Api 20A სტრიპები და საკვები არეები ინახება 2-8^{0}C-ზე, მითითებული ვადების დაცვით. EHR რეაქტივი ინახება 2-8^{0}C-ზე, ხოლო BCP და XYL რეაქტივები ოთახის ტემპერატურაზე.

გამოკვლევის მსვლელობა. ხსნიან Api 20A-ის ამპულას საკვები არეთი. სტერილური ტამპონით ამოაქვთ სისხლიან აგარზე ნაზარდი ანაერობების ტიპური კოლონია. ამპულას საკვები არეთი იკავებენ ვერტიკალურად. ტამპონს ამოუღებლად ატარებენ სინჯარის კედელზე. მიკროორგანიზმთა კონცენტრაცია უნდა შეადგენდეს 3-ს, McFarland სტანდარტით.

შენიშვნა. ანაერობული პირობების შესანარჩუნებლად საკვები არეს გადამატებით შენჯღრევა დაუშვებელია.

სტრიპის მომზადება. სტრიპის მომზადებას განსაზღვრავს ანაერობული პირობების შექმნა.

ინკუბაციის პირობები. Api 20A სტრიპს ათავსებენ 5 მლ წყლით დასველებულ სადგამში, მიკროსინჯარებში პიპეტით შეაქვთ წინასწარ მომზადებული Api 20A-ს საკვები არე, ბუშტუკების წარმოქმნის აცილებით. GEL ტესტისათვის ავსებენ მიკროსინჯარას და ფოსოს.

IND ტესტისათვის ავსებენ მხოლოდ მიკროსინჯარას, ფოსში შეაქვთ მინერალურ ზეთს ინდოლის აორთქლების ასაცილებლად. სადგამს არგებენ სახურავს და ათავსებენ 35-37^{0}C-ზე.

ანაეროსტატში ინკუბაცია. შეფუთვიდან იღებენ Api 20A –ს სტრიპს და მოხრილ მდგომარეობაში ათავსებენ პეტრის ფინჯანში. ბოლოებს წებოვანი ზონრით ამაგრებენ ისე, რომ ზედა ნაწილი აღმოჩნდეს ARA და GEL ტესტებს შორის, ხოლო ქვედას –სტრიპის ბოლოებს შორის. პეტრის ფინჯანზე აწერენ შტამის ნომერს. პიპეტით მიკროსინჯარებში შეაქვთ Api 20A – ს საკვები არე. ავსებენ მხოლოდ მიკროსინჯარებს. IND –ს ფოსოს უმატებენ მინერალურ ზეთს. სტრიპს ათავსებენ ანაეროსტატში 35-37^{0}C-ზე.

ფაკულტატური ანაერობების კულტივირება მინერალური ზეთის ქვეშ. Api 20A –ს სტრიპს ათავსებენ წინასწარ 5 მლ წყლით დასველებულ სადგამში; სტერილური პიპეტით სუსპენზია ბუშტუკების წარმოქმნის გარეშე შეაქვთ მიკროსინჯარებში. ფოსოებში შეაქვთ მინერალური ზეთი; სადგამს არგებენ სახურავს და ინკუბაციისათვის ათავსებენ 35-37^{0}C-ზე.

შედეგები. ანაერობული მიკროორგანიზმების უმეტესობა მეორე დღეს იძლევა უფერო რეაქციას. ზოგიერთი შტამი ნელა იზრდება და მათი იდენტიფიკაცია შესაძლებელია ინკუბაციიდან 2 დღის შემდეგ.

ინკუბაციის შემდეგ ფოსოებში უმატებენ რეაქტივებს და ახდენენ გამოთვლას საიდენტიფიკაციო ცხრილით. შედეგები შეაქვთ სააღრიცხვო ბლანკში.

ინდეტიფიკაცია. ანაერობთა იდენტიფიკაცია ხორციელდება საიდენტიფიკაციო ცხრილით (6) და კატალოგით, რაც საჭიროებს რეაქციების შედეგების კოდირებას ცოფრობრივი პროფილის მიხედვით.

საინტერპრეტაციო ცხრილში შეტანილია Api 20A-ის 20 ტესტი, რეაქცია კატალაზაზე და 3 მორფოლოგიური დახასიათება: SPOR (სპოროგენულები-სათვის), GRAM (გრამით შეღებვა), COCC (კოკებისათვის). ± ტესტები დაყოფილია ჯგუფებად. თითოეული ჯგუფი შედგება 3 ტესტისაგან და აღნიშნულია ციფრებით 1,2,4. დადებითი რეაქციების ნომრების შეკრების შემდეგ მიიღება 8 ციფრიანი პროფილი.

ცხრილი 6

საინტერპრეტაციო ცხრილი

№	ტესტი	სუბსტრატი	რეაქციები/ ფერმენტები	შედეგები	
				უარყოფითი	დადებითი
1	IND	ტრიფტოფანი	ინდოლის წარმოქმნა	XYL-შერევა /2-3წთ+EHR/ 5წთ	
				ყვითელი	წითელი
2	URE	შარდოვანა	ურეაზა	ყვითელი ნარინჯისფერი	წითელი
3	CLU	გლუკოზა	დაჟანგვა	BCP	
4	MAN	მანიტი	დაჟანგვა	მეწამული	ყვითელი/მწვანე ყვითელი
5	LAC	ლაქტოზა	დაჟანგვა		
6	SAC	საქაროზა	დაჟანგვა		
7	MAL	მალტოზა	დაჟანგვა		
8	SAL	სალიცინი	დაჟანგვა		
9	XYL	ქსილოზა	დაჟანგვა		
10	ARA	არაბინოზა	დაჟანგვა		
11	CEL	ჟელატინი	ჰიდროლიზი /პროტეაზა/	პიგმენტის დიფუზიის არ არსებობა	შავი პიგმენტის დიფუზია
12	ESC	ესკულინი	ჰიდროლიზი	ყვითელი /1/	ყავისფერი, შავი

		რკინის ციტრატი	/...-გლუკო-ზიდაზა		/2/
				UV ქვეშ (365ნმ)	
				ფლუორესცენცია	ფლუორესცენცია არ არის
13	GLY	გლიცეროლი	დაჟანგვა	BCP	
14	CEL	ცელობიოზა	დაჟანგვა	მეწამული	ყვითელი/მწვანე ყვითელი
15	MNE	მანოზა	დაჟანგვა		
16	MLZ	მელეზიტოზა	დაჟანგვა		
17	RAF	რაფინოზა	დაჟანგვა		
18	SOR	სორბიტი	დაჟანგვა		
19	RHA	რამნოზა	დაჟანგვა		
20	TRE	ტრეგალოზა	დაჟანგვა		
21	CAT	კატალაზა	კატალაზა	30წთ-ის შემდეგ ჰაერზე H_2O_2-„დადებით“ სინჯარაში	
				ბუშტუკების არ არსებობა	ბუშტუკების არსებობა
22	SPOR		სპორები	არ არის	არის
23	GRAM		გრამით შეღებვა	ვარდისფერი	იისფერი
24	COCC		მორფოლოგია	ბაქტერიები	კოკები

შენიშვნა: (1) დიფუზური პიგმენტი მხოლოდ სინჯარის ქვედა ნაწილში; (2) შავი-ყავისფერი შეღებვა მხოლოდ ჰაერზე.

Api /tef 10300/ Listeria –ს საიდენტიფიკაციო სისტემა

Api /tef 10300/ -ლისტერიის საიდენტიფიკაციო სისტემაა, რომელიც სტანდარტული და მინიატურული ტესტებისაგან შედგება.

პრინციპი. Api listeria-ს სტრიპი ათი მიკროსინჯარაა. ის შეიცავს დეჰიდრატირებულ სუბსტრატებს. ინკუბაციის პროცესში მიმდინარე რეაქცია ხილული ხდება ფერის შეცვლით ან რეაგენტების დამატების შემდეგ. რეაქციის შედეგებს აღრიცხავენ 35-37°Cზე 18-24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ საინტერპრეტაციო ცხრილის დახმარებით.

შენახვა. სტრიპები და საკვები არეები ინახება 2-8°C-ზე. მათი ვარგისიანობის და გამოყენების ვადები ტარაზეა აღნიშნული.

რეაგენტები გამოიყენება გახსნიდან 1 თვის განმავლობაში ZYM B მგრძნობიარეა სინათლისადმი; საჭიროებს მუქ ქაღალდში შეფუთვას. ZYMB ყვითელი ფერისაა და მაცივრიდან გამოაქვთ გამოყენების წინ. ფერის შეცვლის /ვარდისფერი/ შემთხვევაში რეაქტივი არ გამოიყენება.

გამოყენება. სტრიპის მომზადება.

- საინკუბაციო ყუთის მომზადება, სადგამის ალვეოლებში 5 მლ წყლის შეტანა.
- ყუთზე ნომრის აღნიშვნა.
- სტრიპის მოთავსება საინკუბაციო ყუთში.

ინოკულუმის მომზადება. ხსნიან ამპულას, სუსპენზიური საკვები ნიადაგით /2მლ/, მასში შეაქვთ რამდენიმე იზოლირებული კოლონია. სუსპენზიის სიმღვრივე უნდა შეესაბამებოდეს 0,5- ს /Mac Farland სტარდანტიზაციით/.

სტრიპის ინოკულაცია. სტრიპის ინოკულაცია შემდეგი ეტაპებით ხორციელდება.

- ბაქტერიული სუსპენზიით ფოსოების შევსება /ბუშტების წარმოქმნის გარეშე/.
- Dim ტესტი: სუსპენზიის შეტანა მიკროსინჯარასა და ფოსოებში 100-100 მკლ-ის მოცულობით.
- ESC-დან TAG-მდე ტესტები: სუსპენზიის შეტანა მიკროსინჯებში 50 მკლ-ის მოცულობით.
- საინკუბაციო ყუთზე თავსახურის დაფარება.
- ინკუბირებისათვის თერმოსტატში 35-38°C–ზე 18-24 საათი, აერობულ პირობებში დატოვება.

შედეგების აღრიცხვა.

Dim ტესტს ემატება 1 წვეთი ZYM B.

აყოვნებენ 3 წუთი და კითხულობენ შედეგებს საინტერპრეტაციო ცხრილის გამოყენებით /ცხრ. 7/.

ცხრილი 7

საინტერპრეტაციო ცხრილი

№	ტესტი	რეაქტივები	შედეგები	
			უარყოფითი	დადებითი
			ZYM B /3 წუთი	
1	DIM	დიფერენცირება L. innocua /L monocitogenes/	ბაცი ნარინ-ჯისფერი-ვარდისფერი, კაკაოსფერი-ნაცრისფერი-კაკაოსფერი	ნარინჯისფე-რი
2	ESC	ესკულინი/ჰიდრო ლიზი	ბაცი-ყვითელი	შავი
3	a.MAN	a-მანოზიდანი	უფერული	ყვითელი
4	DARL	D-არაბიტოლი /დაჟანგვა/	წითელი, წითელი-ნარინჯისფ-ერი	ყვითელი, ყვითელი-ნარინჯისფ-ერი
5	XYL	D-ქსილოზა / აჟანგვა/		
6	RNA	რამნოზა /დაჟანგვა/		
7	MDC	a-მეტალ-D-გლუკოზიდი /დაჟანგვა/		
8	RIP	რიბოზა /დაჟანგვა/		

9	CIP	გლუკოზა I ფოსფატი /დაჟანგვა/		
10	TAC	D-ტაგატოზი /დაჟანგვა/		

იდენტიფიკაცია. იდენტიფიკაციას ახდენენ საიდენტიფიკაციო ცხრილითა და ანალიზური კატალოგით. საღრიცხვო ბლანკზე ტესტები დაყოფილია 3 ჯგუფად: 1-2-4: აღრიცხავენ დადებით შედეგებს. თითოეულ ჯგუფში მონაცემთა შეკრებით მიიღება 4 ციფრანი რიცხვითი პროფილი.

უვნებელყოფა: გამოყენებული ამპულები, სტრიპი ნადგურდება ავტოკლავირებით, დაწვით ან სადეზინფექციო ხსნარში მოთავსებით.

Api 20 C AUX /Ref 20210/ -სოკოების საიდენტიფიკაციო სისტემა.

Api 20CAUX სისტემაა, რომელიც გამოიყენება სოკოების იდენტიფიკაციისათვის.

პრინციპი. Api 20CAUX სტრიპი 20 ფოსოსაგან შედგება. ფოსოები შეიცავენ დეჰიდრირებულ სუბსტრატს. მათ შეუძლიათ 19 ასიმილაციური ტესტის განხორციელება. ფოსოები ინოკულირებულია ნახევრად თხევადი საკვები ნიადაგით. ნახშირბადის შემცველი თითოეული სუბსტრატის უტილიზაციის შემთხვევაში სოკო გაიზრდება.

რეაქციის შედეგების შეფასებისას სოკოს ზრდა ფოსოებში უნდა შედარებულ იქნას საკონტროლო ფოსოსთან. სოკოს იდენტიფიკაცია ხორციელდება საიდენეტიფიკაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგით.

შენახვა. სტრიპები და საკვები არეები ინახება 2-8°C-ზე. ტარაზე მითითებული ვადების დაცვით.

გამოყენება-სტრიპის მომზადება.

- საინკუბაციო ყუთის სადგამში 5 მლ დისტილირებული წყლის შეტანა.
- ყუთზე შტამის ნომრის აღნიშვნა.
- სტრიპის ამოღება ინდივიდუალური შეფუთვიდან და საინკუბაციო ყუთში მოთავსება.

ინოკულუმის მომზადება.

- Suspension Medium-is ან NaCl-ის 0,9 %-იანი Medium-ის ამპულის გახსნა.
- სოკოს რამდენიმე კოლონიიდან სუსპენზიის დამზადება, რომელიც შეესაბამება 2 სიმკვრივის სტანდარტს /Mc. Fazland სტანდარტით/.
- RAT საკვებ არეში სუსპენზიის ერთი წვეთის შეტანა.
- C. Medium ამპულის გახსნა და მასში 100 მკლ სუსპენზიის შეტანა; ჰომოგენიზაცია ბუშტუკების წარმოქმნის გარეშე.

სტრიპის ინოკულაცია. სტრიპის ფოსოების შევსება C. Medium-ში მომზადებული სუსპენზიით, ბუშტუკების წარმოქმნის გარეშე. ფოსოები არ უნდა იყოს გადავსებული ან ნახევრად შევსებული; წინააღმდეგ შემთხვევაში არასწორი შედეგები მიიღება.

- ინკუბაციისათვის თერმოსტატში 30°C-ზე 48-72 საათის განმავლობაში დატოვება.

შედეგების შეფასება და ინტერპრეტაცია:

- ინკუბაციიდან 24-48 საათის /საჭიროების შემთხვევაში 72 საათი/ შემდეგ ფოსოებში სიმკვრივის აღრიცხვა . გლუკოზაში /ძირითადი/ ძნელად შესამჩნევი სიმკვრივის შემთხვევაში /48 საათიანი ინკუბაცია/, ამოწმებენ ზრდას O-ფოსოში, რომელიც მიჩნეულია უარყოფით კონტროლად. თუ საკონტროლო ფოსოსთან შედარებით ძირითად ფოსოებში სითხე შემღვრეულია-ტესტი დადებითია, რომლის შედეგებიც შეაქვთ სააღრიცხვო ბლანკში.

- 72 საათის შემდეგ შედეგების შეუფასებლობის შემთხვევაში დასაშვებია ტესტის აღრიცხვა 4 დღის შემდეგ.
- იდენტიფიკაციის წარმართვა შესაძლებელია ანალიზური კატალოგის გამოყენებით. რეაქციის შედეგები წარმოდგენილი უნდა იქნას კოდური პროფილით.
- საღრიცხვო ბლანკზე ტესტები დაყოფილია ჯგუფებად და დანომრილია 1,2 და 4 ციფრებით. დადებითი ტესტების ჯამით მიიღება 7 ციფრიანი კოდური რიცხვი.

შენიშვნა. მიცელიუმის და ფსევდომიცელიუმის შემთხვევაში მაჩვენებელი 4–ის ტოლია /რეაქცია დადებითია/ და განიხილება 21-ე ტესტად.

უვნებელყოფა. გამოყენებული ამპულები, პიპეტები და საინკუბაციო ყუთი უვნებლდება ავტოკლავირებით, დაწვით ან სადეზინფექციო ხსნარში მოთავსებით.

მიკროორგანიზმთა ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობის განსაზღვრა

ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობის მიხედვით მიკროორგანიზმები დაყოფილია 3 ჯგუფად: მგრძნობიარე, ზომიერად მდგრადი და მდგრადი. მგრძნობიარეა შტამი, რომლის ზრდა ავადმყოფი ადამიანის ან ცხოველის სისხლის შრატში ანტიბიოტიკების გარკვეული კონცენტრაციით ითრგუნება.

ზომიერად მდგრადია შტამი, რომლის ზრდის დათრგუნვა ხორციელდება ანტიბიოტიკის მაქსიმალური თერაპევტული დოზის გამოყენებით.

მიკროორგანიზმი მდგრადია, თუ მისი ზრდა არ ითრგუნება ანტიბიოტიკის მაქსიმალური დასაშვები დოზის გამოყენებით.

ლაბორატორიულ პირობებში ანტიბიოტიკის მიმართ მიკროორგანიზმის მგრძნობელობის ხარისხი ისაზღვრება პრეპარატის მინიმალური კონცენტრაციით, რომელიც ახდენს გამოსაკვლევი კულტურის ზრდის დათრგუნვას *in vitro*. ანტიბიოტიკებისადმი ბაქტერიათა მგრძნობელობის განსაზღვრა ხდება: ა) აგარში დიფუზიის მეთოდით, ქაღალდის დისკოების გამოყენებით, ბ) მკვრივ და თხევად არეებში სერიული განზავების მეთოდით.

აგარში დიფუზიის მეთოდი, ქაღალდის დისკოების გამოყენებით. 20 მლ მოცულობით პეტრის ფინჯნებში ჩამოსხმული მყარი საკვები არეს ზედაპირზე შეაქვთ 1 მლ გამოსაკვლევი ბაქტერიული შენაწონი. ამ მიზნით გამოიყენება სუფთა კულტურა; 18-20 საათიანი ბულიონიანი ან მკვრივი საკვები არედან 18-20 საათიანი კულტურის ჩამონარეცხი. სუსპენზიის სიმკვრივე უნდა შეესაბამებოდეს №10 სიმღვრივის სტანდარტს.

შენაწონს თანაბრად ანაწილებენ ფინჯანში. დარჩენილ სითხეს შეიწოვენ პიპეტით, რომელიც გადააქვთ სადეზინფექციო ხსნარში. ფინჯნებს 30-40 წუთს აშრობენ ოთახის ტემპერატურაზე, შემდეგ ფინჯნის ზედაპირზე პინცეტით ათავსებენ ანტიბიოტიკის დისკოებს. დისკოები შეიცავენ ანტიბიოტიკების გარკვეულ კონცენტრაციას, რომელიც რეკომენდებულია მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის მიერ (გამონაკლისია დისკოები კარბენიცილინით, რომლებიც შეიცავენ ორ კონცენტრაციას–25 მკგ-ს *E. coli*-ს და *Proteus*-ის შტამების მგრძნობელობის შესასწავლად და 100 მკგ-ს *Ps.aeruginosa*–ს შტამების მგრძნობელობის დასადგენად). ერთ ფინჯანზე უნდა მოთავსდეს 5-6 დისკო, რომლებიც ერთმანეთისაგან თანაბარი მანძილით, ხოლო ფინჯნის კიდიდან

2 სმ-ით იქნება დაცილებული. ფინჯნების ინკუბაციას ახდენენ თერმოსტატში, 37^{0}C–ზე, გადმობრუნებულ მდგომარეობაში (ფუძე ზევით) 18-20 საათის განმავლობაში. შედეგების აღრიცხვისათვის სახაზავით ზომავენ დისკოების გარშემო მიკროორგანიზმთა ზრდის ზონის შეკავების დიამეტრს. (დისკოს დიამეტრის ჩათვლით).

შედეგების შეფასება შემდეგი მაჩვენებლებით ხდება: (ცხრილი 8)

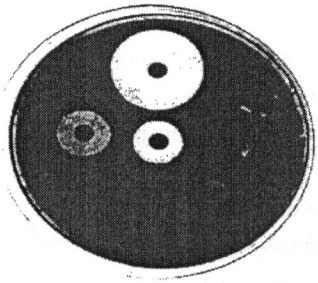
ცხრილი 8.

მიკროორგანიზმთა შეკავების ზონის და ანტიბიოტიკების მკგ-ს მნიშვნელობა

№	ანტიბიოტიკები	ანტიბიოტიკის შემცველობა	დისკოს კოდი	ზონის დიამეტრი მმ-ში			მკგ/მლ	
				რეზისტენტული	სუსტად მგრძნობიარე	მგრძნობიარე	რეზისტენტული	მგრძნობიარე
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	ბენზილპენიცილინი -სტაფილოკოკებზე გამოკვლევა -სხვა მიკროორგანიზმებზე გამოკვლევა	6	პენ	≤20 ≤11	21-28 12-21	≥29 ≥22	– –	≤0.1 ≤1.5
2.	ამპიცილინი -სტაფილოკოკებზე გამოკვლევა -გრამუარყოფითი ბაქტერიებსა და ენტეროკოკებზე გამოკვლევა	10	ამპ	≤20 ≤9	21-28 10-13	≥29 ≥14	– ≥32	≤0.2 ≤8
3.	კარბენიცილინი -ნაწლავის ჩხირსა და პროტეუსზე გამოკვლევა ლურჯი-დაჩირქების ჩხირებზე გამოკვლევა	25 100	კარ	≤14 ≤13	15-18 14-16	≥19 ≥17	≥32 ≥250	≤16 ≤125

4.	მეთიცილინი	10	მეთ	≤13	14-17	≥18	–	≤3
5.	ოქსაცილინი	10	ოქს	≤19	20-23	≥24	–	≤3
6.	ცეფალექსინი	30	ცფლ	≤11	12-16	≥17	≥32	≤10
7.	ცეფალოტინი	30	ცფტ	≤11	12-16	≥17	≥32	≤10
8.	სტრეპტომიცინი	30	სტრ	≤13	14-16	≥17	≥15	≤6
9.	ნეომიცინი	30	ნეო	≤13	14-17	≥18	–	≤10
10.	კანამიცინი	30	კან	≤14	15-18	≥19	≥25	≤6
11.	მონომიცინი	30	მონ	≤13	14-17	≥18	–	≤10
12.	გენტამიცინი	10	გენ	≤13	-	≥14	≥6	≤4
13.	სიზომიცინი	10	სიზ	≤13	-	≥14	≥6	≤4
14.	ტეტრაციკლინი	30	ტეტ	≤15	16-19	≥20	≥12	≥2
15.	დოქსაციკლინი	10	დოქ	≤12	13-19	≥19	≥12	≤2
16.	ერითრომიცინი	15	ერი	≤14	15-18	≥9	≥8	≤2
17.	ოლეანდომიცინი	15	ოლე	≤12	13-17	≥18	≥8	≤2
18.	ლინკომიცინი	15	ლინ	≤19	20-23	≥24	≥8	≤2
19.	ლევომიცეტინი	30	ლევ	≤14	15-18	≥9	≥16	≤8
20.	რიფამპიცინი	5	რიფ	≤9	10-12	≥13	≥8	≤2
21.	ფუზიდინი	10	ფუზ	≤12	13-19	≥20	≥16	≤2
22	რისტომიცინი	30	რის	≤9	10-11	≥12	–	≤5

დისკების მეთოდით ხდება მგრძნობელობის რაოდენობრივი განსაზღვრა, რომელიც საშუალებას იძლევა გამოსაკვლევი კულტურები დაიყოს მგრძნობიარედ და არამგრძნობიარედ. მიკროორგანიზმთა მგრძნობელობა ანტობიოტიკებისადმი განსხვავებულია ნახ. 33-ზე ასახულ ექსპერიმენტში.



ნახ. 33: მიკროორგანიზმთა ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობიარობა

საკვებ არეებში განზავების მეთოდი. ა) *მკვრივ საკვებ არეში განზავების მეთოდი.* გამოსაკვლევი კულტურების მცირე რიცხვის შემთხვევაში დასაშვებია საკვები არეს ნაკლები მოცულობით გამოყენება. ერთდროულად ასი კულტურის მგრძნობელობის დასადგენად, ფლაკონში 100 მლ მკვრივი საკვები არეთი შეაქვთ 1,5-2,0 მლ. ბულიონი, ანტიბიოტიკების ისეთი რაოდენობის შემცველობით, რომ საბოლოო კონცენტრაციამ 1 მლ-ში შეადგინოს დადგენილი რაოდენობა (მაგალითად, 100 მლ საკვებ არეში შეტანილი 1,5-2 მლ ბულიონი შეიცავს 10000 მკგ-ს, ანუ 10 მგ ანტიბიოტიკს, ამრიგად, საკვები არეს 1 მლ-ში ანტიბიოტიკის შემცველობა 100 მკგ-ის ტოლი იქნება). ფლაკონის შიგთავსს გულდასმით ურევენ და 20 მლ-ის მოცულობით ჩამოასხამენ ფინჯნებში. გამშრალი აგარის ზედაპირზე შტამპ-რეპლიკატორით შეაქვთ გამოსაკვლევი კულტურა. ჩვეულებრივ გამოიყენება 18 საათიანი ბულიონიანი ან აგარზე ნაზარდი 18 საათიანი კულტურის ჩამონარეცხი (შენაწონი), რომლის კონცენტრაცია შეესაბამება №10 სიმღვრივის სტანდარტს. დასაშვებია ფინჯნის დაყოფა სექტორებად და კულტურების გათესვა თითოეულ სექტორში დაშტრიხვით.

პარალელურად იღებენ ფინჯანს საკვები არეთი, ანტიბიოტიკის გარეშე- კონტროლი კულტურის ზრდაზე. ფინჯნების ინკუბაციას ახდენენ თერმოსტატში, 37^0C–ზე, 18 საათის განმავლობაში.

შედეგების აღრიცხვისათვის აღნიშნავენ ანტიბიოტიკის უმცირეს რაოდენობას, რომელიც აჩერებს გამოსაკვლევი კულტურის ზრდას.

ბ) თხიერ საკვებ არეში ორჯერადი განზავების მეთოდი. ამზადებენ ანტიბიოტიკის ორჯერად განზავებას ხორცპეპტონიან, ხოტინგერის ან სხვა ბულიონში. ბულიონს ორ-ორი მილილიტრის მოცულობით ჩამოასხამენ 10 სინჯარაში. პირველ სინჯარაში შეაქვთ 2 მლ გარკვეული კონცენტრაციის ანტიბიოტიკის ხსნარი. გულდასმით ურევენ და 2 მლ გადააქვთ მეორე და შემდგომ ბოლოსწინა სინჯარამდე, რომლიდანაც ზედმეტ 2 მლ-ს გადაღვრიან. შემდეგ ათივე სინჯარაში შეაქვთ 0,2-0,2 მლ 18-20 საათიანი ბულიონიანი ან ბულიონით ჩამორეცხილი აგარზე ნაზარდი 18 საათიანი კულტურა, რომლის 1 მლ შეიცავს 10^5-10^6 მიკროორგანიზმულ უჯრედს. ბოლო სინჯარა, რომელიც არ შეიცავს ანტიბიოტიკს, საკონტროლოა. სინჯარების ინკუბაციას ახდენენ თერმოსტატში, 37^0C–ზე, 18–24 საათის განმავლობაში. შედეგების აღრიცხვისას აღნიშნავენ ბოლო სინჯარას, რომელშიაც მიკროორგანიზმთა ზრდა სრულადაა შეჩერებული. სერიული განზავების მეთოდი ანტიბიოტიკების რაოდენობის განსაზღვრის ზუსტი მეთოდია, მისი საშუალებით შესაძლებელია ერთმანეთს შეკადაროთ გამოსაკვლევი კულტურის ლაბორატორიული გზით დადგენილი მგრძნობელობა პრეპარატის იმ დოზებს, რომელიც იმყოფება ავადმყოფის ორგანიზმში.

სეროლოგიური რეაქციები

ინფექციურ დაავადებათა დიაგნოსტირებისათვის ვეტერინარიაში და მედიცინაში წარმატებით გამოიყენება სეროლოგიური მეთოდი, რომელიც იმუნოლოგიურ რეაქციებზეა დამყარებული.

იმუნოლოგიური რეაქციები მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკურია. სადიაგნოსტიკოდ გამოყენებულ სეროლოგიურ რეაქციებში ერთ-ერთი კომპონენტი ცნობილია. მისი სპეციფიკურობა საშუალებას გვაძლევს დავადგინოთ მეორე – უცნობი კომპონენტის არსებობა. იმუნოლოგიური რექციები გამოიყენება სხვადასხვა მიზნით. 1) დაავადებული ცხოველის სისხლის შრატში ცნობილი ანტიგენით ანტისხეულების აღმოსაჩენად და 2) გამოსაკვლევ მასალაში სპეციფიკური ანტიგენის აღმოსაჩენად (ცნობილი იმუნური შრატით).

აგლუტინაციის რეაქცია

იმუნური შრატით (მარილთა ხსნარების თანდასწრებით) მიკროორგანიზმული ან სხვა წარმოშობის უჯრედთა (ერითროციტები და სხვა) შეწებებას აგლუტინაცია ეწოდება.

აგლუტინაცია მიმდინარეობს ორ ფაზად: პირველ ფაზაში მიკროორგანიზმები უერთდებიან ანტისხეულებს, მეორეში ხდება მათი შეწებება და დალექვა. მარილთა ხსნარების (ელექტროლიტები) გარეშე აგლუტინაცია არ მიმდინარეობს.

აგლუტინაცია არის სპეციფიკური და არასპეციფიკური. არასპეციფიკური აგლუტინაცია შეიძლება განხორციელდეს მჟავათა ზეგავლენით (მჟავური აგლუტინაცია), ანტიგენის ქიმიურ-კოლოიდური თვისებების შეცვლით (სპონტანური აგლუტინაცია) და სხვ.

აგლუტინაცია სპეციფიკურია, თუ საკონტროლო სინჯარაში (ანტიგენი + ფიზ. ხსნარი) მიკროორგანიზმები არ შეწებდება. აგლუტინაციის რეაქციის კომპონენტებია:

1. სააგლუტინაციო შრატი (აგლუტინინი) ანუ ცხოველის სისხლის შრატი.
2. ანტიგენი (აგლუტინოგენი) მიკროორგანიზმთა აგარზე ნაზარდი 18-24 საათიანი კულტურის სუსპენზია ან მკვდარი მიკროორგანიზმთა შენაწონი.
3. ფიზიოლოგიური ხსნარი (NaCl-ის 0,9%-იანი ხსნარი).

სააგლუტინაციო შრატი. სააგლუტინაციო შრატის (აგლუტინინის) მისაღებად ბოცვერს, ცხვარს, თხას ან ცხენს უტარებენ ჰიპერიმუნიზაციას მიკროორგანიზმთა ტიპური შტამებით. შრატს ტიტრავენ და ადგენენ მაქსიმალურ განზავებას, რომელიც იძლევა აგლუტინაციას. შრატს, ხანგრძლივად შენახვის მიზნით აკონსერვებან ან აშრობენ. გამშრალ შრატს ხმარების წინ ხსნიან ფიზიოლოგიურ ხსნარში საწყის მოცულობამდე.

ანტიგენი (აგლუტინოგენი). ანტიგენის მისაღებად შესაბამის მიკროორგანიზმებს ზრდიან ხპა-ზე, 37^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში, ჩამორეცხავენ ფიზიოლოგიური ხსნარით, ადგენენ სათანადო კონცენტრაციას და გამოიყენებენ რეაქციაში. მკვდარი ანტიგენის მისაღებად ფიზიოლოგიურ ხსნარზე დამზადებულ მიკროორგანიზმთა შენაწონს უვნებელყოფენ მაღალი ტემპერატურით ან ქიმიური ნივთიერებით. ანტიგენსა და შრატს ინახავენ 4-8^{0}C-ზე, ბნელ ადგილას.

ფიზიოლოგიური ხსნარი, ანუ NACl-ის 0.9%-იანი იზოტონური ხსნარი/ ფიზიოლოგიურ ხსნარს ამზადებენ ქიმიურად სუფთა სუფრის მარილიდან. NaCl–ს ხსნიან გამოხდილ წყალში. ადგენენ ნეიტრალურ რეაქციას, ასტერილებენ აუტოკლავში. აგლუტინაციის რეაქცია გამოიყენება ბრუცელოზის, ბოტულიზმის, ცხენის ინფექციური

აბორტის, სალმონელოზის და სხვა ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ. აგლუტინაციის რეაქციის დადგმის სხვადასხვა მეთოდებია დამუშავებული: ა) წვეთოვანი ანუ ფირფიტოვანი ბ) მიკროსკოპული; გ) სისხლწვეთოვანი; დ) მაკროსკოპული – სინჯარული.

წვეთოვანი ანუ ფირფიტოვანი – გამოიყენება გამოყოფილი მიკროორგანიზის იდენტიფიკაციისათვის. ამ მიზნით სასაგნე მინაზე ათავსებენ 1 : 50-ზე გან-ზავებულ შესაბამისი სააგლუტინაციო შრატის წვეთს. წვეთისგან მარცხენა ბოლოში 1 : 20 განზავებულ ნორმალურ შრატს, ხოლო მარჯვენა ბოლოში ფიზიოლოგიური ხსნარის წვეთს. თვითეულ წვეთში ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით შეაქვთ ირიბი აგარიდან ან ფინჯნებში ნაზარდი კოლონიიდან აღებული საეჭვო კოლონიის მცირე რაოდენობა და გულდასმით ახდენენ ემულგირებას ჰომოგენური შენაწონის მისაღებად. დადებითი რეაქციის დროს სააგლუტინაციო შრატის წვეთში, რამდენიმე წამის შემდეგ წარმოიქმნება შეუიარაღებელი თვალით შესამჩნევი მარცვლოვნება, რომელიც მატულობს და კარგად შეიმჩნევა შავ ფონზე. 1-2 წუთის შემდეგ წვეთი ხდება გამჭვირვალე, რომელშიაც ნათლად მოჩანს ფიფქები ან მსხვილი მარცვლები. საეჭვო შემთხვევაში (არამკვეთრი მარცვლოვანება) წვეთს ათვალიერებენ ლუპით. საკონტროლო წვეთში ბაქტერიული შენაწონი უცვლელია – ჰომოგენური (ნახ. 34).

გამოსაკვლევ შრატზე რეაქციის დასადგმელად, ამზადებენ შრატის 2-3 განზავებას, სადიაგნოსტიკო ტიტრის გათვალისწინებით. ერთ სასაგნე მინაზე შეაქვთ განზავებული შრატების წვეთები; მეორე სასაგნე მინაზე ნორმალური შრატისა და ფიზიოლოგიური ხსნარის წვეთები. თვითეულ წვეთს უმატებენ თითო წვეთ ანტიგენს. ამრიგად, გამოსაკვლევი შრატის განზავება ორმაგდება. სასაგნე მინებს 1-2 წუთს ათავსებენ თერმოსტატში. დადებით შემთხვევაში გამოსაკვლევი შრატის წვეთში წარმოიქმნება ფიფქები ან მარცვლები.

რეაქცია ნორმალურ შრატთან და ფიზიოლოგიურ ხსნართან უარყოფითია.

ნახ. 34 ფირფიტოვანი აგლუტინაცია. ა) დადებითი. ბ) უარყოფითი.

მიკროსკოპული აგლუტინაცია. საფარ მინაზე აწვეთებენ შესაბამისი განზავების გამოსაკვლევ შრატს. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით შეაქვთ მიკროორგანიზმთა შენაწონი (ანტიგენი). კომპონენტებს ერთმანეთში ურევენ. საფარ მინას გარშემო ვაზელინს წააცხებენ, ათბობენ და აფარებენ ფოსოიან სასაგნე მინას. წვეთი ფოსოს ცენტრში იმყოფება. სასაგნე მინას აბრუნებენ სწრაფად და სინჯავენ მიკროსკოპში დიდი გადიდებით. დადებით შემთხვევაში მიკროორგანიზმები თავდაპირველად თანაბრად განაწილდება წვეთში, შემდეგ ფიფქების ან მარცვლების სახით ერთ ადგილას გროვდებიან.

მოდიფიცირებული მიკროსკოპული აგლუტინაციის რეაქცია გამოიყენება *ლეპტოსპიროზის* სადიაგნოსტიკოდ.

გამოსაკვლევ შრატს ანტისხეულების შემცველობის გათვალისწინებით აზავებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1:10-ზე, 1:100-ზე, 1:200-ზე და ა.შ. რეაქციას დგამენ სააგლუტინაციო სინჯარებში 0,4 მლ მოცულობაში (0,2 მლ განზავებული შრატი + 0,2 მლ ლეპტოსპირების კულტურა) საკონტროლოდ სინჯარაში შეაქვთ 0,2 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი და 0,2 მლ კულტურა – რეაქცია უარყოფითია. სინჯარებს გულდასმით ანჯღრევენ და ათავსებენ თერმოსტატში 30-32^{0}C-ზე 0,5-1

საათის განმავლობაში, ანდა 25^{0}C-ზე 2 საათს. თითოული სინჯარიდან ამზადებენ გაჭყლეტილ წვეთს. პრეპარატს იკვლევენ მიკროსკოპში, მშრალი სისტემის ობიექტივით, ბნელ მხედველობის არეში.

რეაქციის შეფასების დროს ანსხვავებენ ლიზისისა და აგლუტინაციის ფენომენს.

აგლუტინაციის ფენომენისათვის დამახასიათებელია მოძრავი ლეპტოსპირებიდან "აბლაბუდის" მსგავსი გადახლართული ძაფების წარმოქმნა.

ლიზისის დროს ლეპტოსპირები იბერებიან და ცალკეულ ფრაგმენტებად იშლებიან.

შრატის სააგლუტინაციო ტიტრია მისი მაქსიმალური განზავება, რომელშიც აღინიშნება აგლუტინირებული ლეპტოსპირები (აბლაბუდა) შრატის ლიზისის ტიტრად მიჩნეულია მისი ზღვრული განზავება, რა დროსაც შესაძლებელია არა უმეტეს 3-5 ლეპტოსპირის აღმოჩენა. (მკვეთრი აგლუტინაცია არ აღინიშნება).

სინჯარებში ცვლილებებს აღნიშნავენ ციფრებით და ასოებით. ნორმალური ლეპტოსპირები აღინიშნება M ასოთი, ლიზირებული და მარცვლისებრი L ასოთი, აგლუტინირებული ჯგუფები (აბლაბუდა) A ასოთი.

ინფექციის საწყის ეტაპზე სადიაგნოსტიკო ტიტრია გამოსაკვლევი შრატის 1:50-ზე განზავება, ხოლო დაავადების მწვავე მიმდინარეობისას 1:400-ზე და მეტი.

სისხლწვეთოვანი აგლუტინაცია. პულოროზზე ფრინველის მასობრივი გამოკვლევისთვის გამოიყენება. ფრინველს ბიბილოდან აუღებენ ერთ წვეთ სისხლს. ათავსებენ სასაგნე მინაზე. წვეთში შეაქვთ ანტიგენის წვეთი. ინგრედიენტებს გულდასმით ურევენ ერთმანეთში. რეაქციაში ანტიგენად პულოროზის 48 საათიანი აგარზე ნაზარდი და ფორმალინით ინაქტივირებული კულტურა გამოიყენება. ანტიგენის ყოველი 1 მილილიტრი 10 მლრდ

მიკროორგანიზმულ უჯრედს შეიცავს. სისხლის შედედების თავიდან ასაცილებლად ანტიგენს დამატებული აქვს ლიმონმჟავა ნატრიუმი (0,5%). ანტიგენი ფერადია. დადებითი რეაქციის დროს სისხლის წვეთში თეთრი ფიფქები წარმოიქმნება.

სალმონელების იდენტიფიკაცია მონორეცეპტორული, ადსორბირებული, სააგლუტინაციო შრატებით

სალმონელების მონორეცეპტორული O და H სააგლუტინაციო ადსორბირებული შრატები აგლუტინაციის რეაქციაში სალმონელების სეროტიპებისა და სეროლოგიური ჯგუფების დასადგენად გამოიყენება.

სააგლუტინაციო შრატების ნაკრები 24 შრატს შეიცავს:

1. პოლივალენტური. სეროლოგიური ჯგუფები: B, C_1. C_2, D_1, F_1.
2. O-შრატები 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10.
3. H- შრატები I ფაზა – i; gp; c; z; ch; iQ; b; d; g; m; t; p.
   II ფაზა – e; n; x; 2; 5; 6.
4. კომპლექსური ფაზა – 1; 2; 5; 6.

თავდაპირველად კულტურას იკვლევენ პოლივალენტური შრატით. უარყოფითი რეაქციის დროს კულტურის შემდგომ გამოკვლევას O და H შრატებით აღარ აწარმოებენ.

კულტურა, რომელიც პოლივალენტურ შრატთან იძლევა დადებით რეაქციას, ექვემდებარება შემდგომ გამოკვლევას O და H სააგლუტინაციო შრატებით. თავდაპირველად ცხოველის სახეობის და სალმონელათა ტიპის გათვალისწინებით აგლუტინაციის რეაქციას დგამენ ერთ-ერთ O შრატთან. უარყოფითი რეაქციის დროს კულტურას იკვლევენ O ჯგუფის ოთხივე შრატით. მიღებული შედეგებით მსჯელობენ სალმონელების სეროლოგიურ ჯგუფზე.

კულტურის შემდგომ იდენტიფიკაციას I და II ფაზის შრატებით ახდენენ. შრატის შერჩევისას ითვალისწინებენ კულტურის ანტიგენურ სტრუქტურას და ცხოველის სახეობას,

რომლიდანაც კულტურაა გამოყოფილი. აგლუტინაციის რეაქციით საზღვრავენ გამოსაკვლევი კულტურის ანტიგენურ სტრუქტურას და ტიპს. სალმონელების ანტიგენური ფორმულის დასადგენად სარგებლობენ ცხრილით (ცხრილი 9).

რეაქციის დადგმის მეთოდიკა. სასაგნე მინაზე პიპეტით აწვეთებენ განუზავებელ შრატს. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით წვეთში შეაქვთ 20-24 საათიანი, აგარზე ნაზარდი კულტურა. O–პოლივალენტური შრატით რეაქციის დადგმისას კულტურას აგარის ზედა ნაწილიდან იღებენ, ხოლო H ანტიგენთან რეაქციის დადგმის დროს აგარის ქვედა ნაწილიდან (საკონდენსაციო სითხესთან ახლოს). კულტურა შეაქვთ წვეთში და გულდასმით ურევენ. სასაგნე მინას ოდნავ არხევენ.

რეაქციის შედეგები. O–აგლუტინატი მარცვლისებრია ან გროვებად არის განლაგებული, ის ძნელად იშლება. H-აგლუ-ტინატი ფიფქისებრია და ადვილად იშლება. პოლივალენტური შრატი კულტურასთან შერეული ხასიათის აგლუტინატს (ფიფქისებრი, მარცვლისებრი, გროვები) წარმოქმნის. უარყო-ფითი რეაქციის დროს კულტურა შრატის წვეთში თანაბრად ნაწილდება.

მაკროსკოპული აგლუტინაცია, ანუ მოცულობითი აგლუტინაცია (ბრუცელოზის მაგალითზე).

რეაქციას დგამენ სრულიად სუფთა, მშრალ, თანაბარი დიამეტრის სააგლუტინაციო სინჯარებში. 1 მლ მოცულობაში. ამ მიზნით ამზადებენ გამოსაკვლევი შრატის ოთხ განზავებას: 1:25, 1:50, 1:100, 1:200-ზე (დაავადების თავისებურების მიხედვით განზავებათა რიცხვი შეიძლება გაიზარდოს).

რეაქციის დადგმის მეთოდიკა. შტატივში ათავსებენ საჭირო რაოდენობის სინჯარებს. პირველ სინჯარაში შეაქვთ 2,4 მლ. ფიზიოლოგიური ხსნარი. მეორე სინჯარას ტოვებენ ცარიელს. დანარჩენ სინჯარებში შეაქვთ თითო-თითო მილი-ლიტრი ფიზიოლოგიური ხსნარი. პირველ სინჯარაში შეაქვთ

0,1 მლ გამოსაკვლევი შრატი. რაც შეესაბამება 1:25-ზე განზავებას. (ძირითადი განზავება). ძირითადი განზავებიდან გრადუირებული პიპეტით ამოაქვთ 2 მლ, საიდანაც 1 მლ შეაქვთ პირველ სინჯარაში (ცარიელი), ხოლო დარჩენილი 1 მლ მეორე სინჯარაში. გულდასმით ურევენ, (განზავება 1:50-ზე), მეორე სინჯარიდან 1 მლ. გადააქვთ მესამე სინჯარაში, მესამიდან მეოთხეში და ა.შ. ამრიგად, თანმიმდევრულად მიიღება განზავება 1:100-ზე 1:200-ზე და ა.შ. ბოლო სინჯარიდან ზედმეტ 1 მლ-ს გადაღვრიან. ძირითადი ცდის პარალელურად დგამენ კონტროლებს:

ა) უარყოფით ანუ ნორმალურ შრატთან. ნორმალურ შრატს გამოსაკვლევი შრატის შესაბამისად აზავებენ.

ბ) დადებით შრატთან - აზავებენ ტიტრის შესაბამისად.

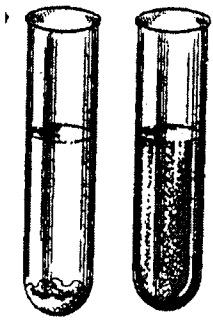
გ) ფიზიოლოგიურ ხსნართან, საკონტროლო სინჯარა 1 მლ, 0.9%-იანი NaCl ხსნარით. (სპონტანური აგლუტინაცია).

ძირითად და საკონტროლო სინჯარებში ფიზიოლოგიური ხსნარით შეაქვთ 0,05 მლ ანტიგენი, რომლის 1 მლ 10 მლრდ. მიკროორგანიზმულ უჯრედს შეიცავს.

სინჯარებს ანჯღრევენ და ათავსებენ 4-8 საათს 37^0C-ზე, ანდა ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 16-18 საათის განმავლობაში.

დადებითი რეაქციის დროს გამჭვირვალე სითხეში ფიფქისებრი ან მარცვლოვანი ნალექი–აგლუტინატი წარმოიქმნება (შესაძლებელია ორივე ერთად), რომელიც სინჯარის ფსკერზე ილექება და გაშლილ ქოლგას ჰგავს. სინჯარის ფრთხილი შენჯღრევით ნალექი იშლება ფიფქებად და მარცვლებად, რომელიც სითხეში დაცურავს. ფიფქისებრ აგლუტინატს სომატური ანუ O თერმოსტაბილური ანტიგენი, ხოლო მარცვლოვანს წამწამოვანი ანუ H თერმოლაბილური ანტიგენი წარმოქმნის.

უარყოფითი რეაქციის დროს სინჯარებში სითხე თანაბრად შემღვრეულია, სინჯარის ფსკერზე წარმოქმნილი ნალექი ღილისებრია. (ნახ. 35).



ა) ბ)

ნახ. 35. აგლუტინაციის რეაქცია
ა) დადებითი
ბ) უარყოფით

რეაქციაზე დაკვირვება ადვილად შეიძლება შეუიარაღებელი თვალით. გამონაკლის შემთხვევაში გამოიყენება აგლუტინოსკოპი.

საკონტროლო სინჯარებში (ანტიგენი, ნორმალური შრატი და ანტიგენი + ფიზიოლოგიური ხსნარი) უარყოფითი რეაქციის შემთხვევაში აღრიცხავენ შედეგებს ძირითად ცდაში. საეჭვო შემთხვევაში ცდას იმეორებენ ანტიგენის სხვა სერიასთან.

აგლუტინაციის რეაქციას აფასებენ სითხის გამჭვირვალების და ნალექის ხასიათით. შედეგებს ჯვრებით აღრიცხავენ:

(+ + + +) – მკვეთრი დადებითი რეაქცია. სითხე გამჭვირვალეა. აგლუტინატი "ქოლგისებრია";

(+ + +) – რეაქცია დადებითია. სითხე თითქმის გამჭვირვალეა. აგლუტინატი "ქოლგისებრია";

(+ +) – სუსტი დადებითი რეაქცია. სითხე უმნიშვნელოდ გამჭვირვალეა, "ქოლგისებრი" ნალექი სუსტია;

(+) – რეაქცია საეჭვოა, სითხე შემღვრეულია, ნალექი კვალის სახითაა;

(–) – რეაქცია უარყოფითია. სითხე თანაბრად შემღვრეულია, ნალექი არ აღინიშნება.

აგლუტინაციის ამოწურვის რეაქცია (კასტელანი) ცალკეული მიკროორგანიზმები სპეციფიკურ ანტიგენებთან ერთად შეიცავენ ჯგუფურ ანტიგენებს, რომლებიც მოცემული გვარის ან ოჯახის ბაქტერიებისთვის საერთოა. ასეთი ანტიგენები ადამიანის და ცხოველის ორგანიზმში

ერთდროულად სპეციფიკური და ჯგუფური ანტისხეულების გამომუშავებას განაპირობებენ. რეაქციაში ტიპოსპეციფიკური და ჯგუფური ანტიგენების შემცველი მიკროორგანიზმები ახდენენ შესაბამისი ანტისხეულების სრულ ადსორბციას. ჰეტეროლოგიური ანტიგენი ჯგუფური ანტისხეულების ხარჯზე განაპირობებს აგლუტინაციის რეაქციას. ტიპოსპეციფიკური ანტისხეულები რჩება შრატში. ადსორბირებული ჯგუფური ანტისხეულების მოსაცილებლად შრატს აცენტრიფუგებენ, ხოლო სუპერნატანტს (შრატი ტიპოსპეციფიკური ანტისხეულებით) რეაქციაში გამოიყენებენ. ეს მეთოდი საფუძვლად უდევს მონორეცეპტორული შრატების დამზადებას.

მოდიფიცირებული, სინჯარული აგლუტინაციის რეაქცია. აგლუტინაციის რეაქციის მგრძნობელობის და სპეციფიკურობის ასამაღლებლად გამოიყენება ერთიანი მშრალი ბრუცელოზური ანტიგენი (ერთდროულად აგლუტინაციის და კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქციაში). მისი ყოველი მილილიტრი 10 ან 20 მილიარდ მიკროორგანიზმულ უჯრედს შეიცავს. რეაქციის დადგმის წინ 10 მილიარდიან ანტიგენს 5%-იან ფიზიოლოგიური ხსნარში 1:10-ზე აზავებენ. ანალოგიურად რეაქციაში გამოსაკვლევ და საკონტროლო შრატებს აზავებენ 5%-იან ფიზიოლოგიური ხსნარში. ეს უკანასკნელი თრგუნავს ბლოკირების თვისების ანტისხეულების მოქმედებას.

ცხრილი 9

სალმონელების ძირითადი ტიპების ანტიგენური ფორმულები

ჯგუფი	ტიპი	O ანტიგენი (სომატური)	H ანტიგენი (წამწამოვანი)	
			I ფაზა	II ფაზა
1	2	3	4	5
B1	*S.abortus equi*	4.12	-	e,n,x
	S. paratyphi B	1,4/5/,12	b	1,2
	S. canada	4,12	b	1.6
	S.aborus bovis	1,4.12,27	b	e,n,x

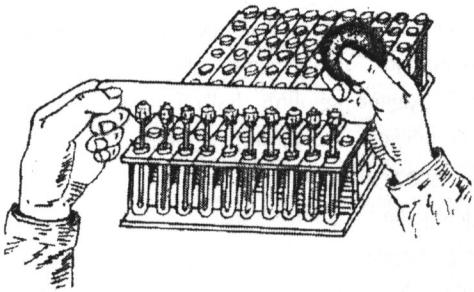
	S.abortus ovis	4,12	c	1,6
	S.sait-paul	1,4/5/12	e,h	1,2
	S.reading	1,4/5/.12	e,h	1,5
	S.chester	1,4/5/.12	e,h	e,n,x
	S.derby	1,4/5/.12	f,g	1,2
	S.essen	1,12	g,m	-
	S.budapest	1,4/5/.12	g,t	-
	S.banana	4/5/.12	m,t	-
	S.typhi murium	1,4/5/12	i	1,2
	S.heidelberg	1,4/5/.12	r	1,2
C1	*S.edinburg*	6,7	B	1,5
	S.cholere-suis	6,7	(C)	1,5
	S.typhi-suis	6,7	C	1,5
	S.birkenhead	6,7	C	1,6
	S. isangi	6,7	d	1,5
	S. amersfoort	6,7	d	-
	S.rissen	6,7	f.g	-
	S.oranienburg	6,7	m.t	-
	S.augestenborg	6,7	i	1,2
	S.concord	6,7	i,v	1,2
	S.irumu	6,7	i,v	1,5
	S.mkamba	6,7	i,v	1,6
	S.bonn	6,7	i,v	e, n, x
	S.virchow	6,7	r	1,2
C2	*S.stoubrige*	6,8	b	1,6
	S.gatuni	6,8	b	e, n, x
	S.wingrove	6,8	c	1,2
	S.utah	6,8	c	1,5
	S.bronx	6,8	c	1,6
	S.belen	6,8	c	e, n, x
	S.muenchen	6,8	d	1,2
	S.manchattan	6,8	d	1,5
	S.sterrenbos	6,8	d	e, n, x
	S.newport	6,8	e,n	1,2
	S.bassa	6,8	m,t	-
	S.germiston	6,8	m,t	e, n, x
	S.lindenburg	6,8	i	1,2
	S.warnow	6,8	i	1,6
	S.bonariensis	6,8	i	-
	S.loanda	6,8	i,v	1,5
	S.holcomb	6,8	i,v	e, n, x
	S.bovis-morbificans	6,8	r	1,5
D1	*S.onarimon*	1,9,12	b	1,2

	S.frintrop	1,9,12	b	1,5
	S.goeteborg	9,12	c	1,5
	S.bdolo	1,9,12	d	1,5
	S.tarshyne	9,12	d	1,6
	S.rhodesiense	9,12	d	e, n, x
	S.eastbourne	1,9,12	e,h	1,5
	S.berta	1,9,12	f,g,t	-
	S.enteritidis	1,9,12	g,m	(1,7)
	S.hamburg	1,9,12	g,m,t	-
	S.dublin	1,9,12 (vi)	g,p	-
	S.pensacola	1,9,12	m,t	-
	S.seremban	9,12	i	1,5
	S. mendora	9,12	i,v	1,2
	S.panama	1,9,12	i,v	1,5
	S.jamaica	9,12	r	1,5
	S.gallinarum-pullorum	1,9,12	-	-
	S.kalina	3,10	b	1,2
	S.batantan	3,10	b	1,5
	S.alferton	3,10	b	1.6
	S.benfika	3,10	b	e, n, x
	S.gbadago	3,10	c	1.5
	S.stormont	3,10	d	1.2
	S.seangani	3,10	d	1,5
	S.lekke	3,10	d	1,6
EI	*S.soura*	3,10	d	e, n, x
	S.vejle	3,10	e,h	1,2
	S.muenster	3,10	e,h	1,5
	S.anatum	3,10	e,h	1,6
	S.newlands	3,10	e,h	e, n, x
	S.suberu	3,10	g,m	-
	S.islington	3,10	g,m	-
	S.southdank	3,10	m,t	-
	S.london	3,10	i,v	1,6

ფლორინსკის აპარატი. აგლუტინაციის რეაქციაში დიდი რაოდენობით შრატების გამოკვლევის მიზნით წარმატებით გამოიყენება ფლორინსკის აპარატი. მისი დახმარებით შესაძლებელია ავტომატური პიპეტით რეაქციაში მონაწილე კომპონენტების ერთდროულად 10 სინჯარაში ჩამოსხმა. ავტომატური პიპეტი ბოლოებში მირჩილული, რამდენადმე წაგრძელებული მინის ცილინდრია. ცილინდრის მარცხენა

ბოლო სწორი კუთხითაა მოღუნული. ამ უკანასკნელში არის ხვრელი, მისი საშუალებით ზედმეტი სითხე ხელსაწყოდან გადმოედინება. ცილინდრის მარჯვენა ბოლოში მინის მილზე რეზინის ბურთულაა მიმაგრებული. მისი საშუალებით ხდება სითხის შეწოვა. ცილინდრის ქვედა კედელზე (სწორ ხაზზე) მოთავსებულია 10 მრგვალი ხვრელი, რომელშიაც რეზინის მილით გამზომი პიპეტებია ჩადგმული. აპარატი აღჭურვილია 0,1 0,4 0,5 და 1,0 მლ-ის მოცულობის პიპეტებით (ნახ. 36).

ფლორინსკის აპარატზე მუშაობისას საჭიროა შემდეგი პირობების დაცვა: მარჯვენა ხელს თითების ზეწოლით ჰაერს გამოდევნიან რეზინის ბურთულიდან. პიპეტს ათავსებენ სითხეში. მარცხენა ხელის დიდი თითით ხურავენ ხვრელს ცილინდრის მოხრილ ნაწილში.



ნახ. 36. ფლორინსკის აპარატი

რეზინის ბურთულაზე ამცირებენ დაწოლას. ცილინდრის შიგნით წარმოქმნილი უარყოფითი წნევით სითხე გადადის გამზომ პიპეტებში. მათი ავსების შემდეგ აპარატი გადააქვთ სინჯარებში. ცილინდრის მოღუნულ ნაწილში არსებულ ხვრელს მარცხენა ხელის დიდი თითისგან ათავისუფლებენ. აპარატში წნევის გაწონასწორების შემდეგ გამზომი პიპეტებიდან სითხე სინჯარებში გადადის. ფლორინსკის

აპარატზე მუშაობისას უმჯობესია გამოვიყენოთ შტატივი, რომელსაც აქვს ასი ხვრელი სინჯარებისათვის.

კუმბსის რეაქცია. დაავადებული ცხოველის სისხლის შრატი სრულ ანტისხეულებთან ერთად შეიცავს არასრულ ანუ ბლოკირების თვისების მქონე ანტისხეულებს, რომლებსაც ერითროციტებთან რეაგირებისას არ შეუძლიათ აგლუტინატის წარმოქმნა. არასრული ანტისხეულების აღმოჩენა შეიძლება კუმბსის რეაქციაში. მისი ორი მეთოდია შემუშავებული: პირდაპირი და არაპირდაპირი.

პირდაპირი მეთოდი. დაავადებული ცხოველის ერითროციტებს უმატებენ გლობულინის საწინააღმდეგო შრატს, ერითროციტები ახდენენ ანტისხეულების აგლუტინაციას.

არაპირდაპირი მეთოდი. ჯანმრთელი ცხოველის ერითროციტებს თავდაპირველად დავადებული ცხოველის სისხლის შრატს, ხოლო შემდეგ გლობულინის საწინააღმდეგო შრატს უმატებენ. არასრული ანტისხეულები ერითროციტებს უერთდებიან. გლობულინის საწინააღმდეგო შრატი რეაქციაში შედის არასრულ ანტისხეულებთან და ერითროციტები განიცდიან აგლუტინაციას.

პრაქტიკაში წარმატება ჰპოვა კუმბსის რეაქციის მოდიფიცირებულმა ბაქტერიულმა ვარიანტმა. რეაქციაში ერითროციტების ნაცვლად გამოიყენება სპეციფიკური ბაქტერიული ანტიგენი. მისი არსი შემდგომში მდგომარეობს: გამოსაკვლევ შრატთან დგამენ აგლუტინაციის რეაქციას. შედეგების აღრიცხვის შემდეგ სინჯარებში, უარყოფითი რეაქციით უმატებენ ორ-ორ მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარს. აცენტრიფუგებენ 4000 ბრ/წთ 15 წუთის განმავლობაში. სუპერნატანტს გადაღვრიან. ნალექს უმატებენ 1 მლ გლობულინის საწინააღმდეგო შრატს წინასწარ დადგენილი სამუშაო ტიტრით. ცენტრიფუგის სინჯარებს ანჯღრევენ. შიგთავსი გადააქვთ სააგლუტინაციო სინჯარებში. სინჯარებს

ათავსებენ თერმოსტატში 37-38^{0}C-ზე, 16-18 საათის განმავლობაში. შედეგების აღრიცხვისას ითვალისწინებენ აგლუტინატის თავისებურებას. კუმბსის რეაქცია ზედმიწევნით მგრძნობიარეა და დაავადებული ცხოველების გამოვლინების უტყუარი საშუალებაა.

ხედლსონის აგლუტინაციის რეაქცია

ადამიანებში ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ რეაქციის ორი ვარიანტი გამოიყენება: მოცულობითი და მინაზე –დაჩქარებული მეთოდი.

მოცულობითი აგლუტინაცია. რეაქცია იდგმება თანაბარი მოცულობის, ერთნაირი დიამეტრის სინჯარებში. რეაქციის დადგმის წინ ფერად დიაგნოსტიკუმს აზავებენ 1:10-ზე, ფენოლიზირებულ (0.5%-იანი) NaCl –ის 0.9-იან ხსნარში. ანალოგიურ ხსნარში აზავებენ გამოსაკვლევი სისხლის შრატს 1:25; 1:50; 1:100: 1:400-ზე და, შრატის კონტროლს 1:25-ზე.

ბოლო სინჯარის გარდა ყველა სინჯარას უმატებენ 0.5 მლ 1:10-ზე განზავებულ დიაგნოსტიკუმს, ხოლო ბოლო სინჯარას – 0.5მლ ფენოლიზირებულ (0.5%-იანი) 0.9%-იან NaCl-ის ხსნარს. ამრიგად, შრატის საბოლოო განზავებები ორმაგდება. სინჯარების შიგთავსს ანჯღრევენ და გადააქვთ თერმოსტატში (36±1) ^{0}C.

შედეგების აღრიცხვა. მოცულობითი მეთოდით აგლუტინაციის რეაქციის დადგმის შემთხვევაში შედეგებს აღრიცხავენ 24 საათის შემდეგ (22 საათი თერმოსტატში (36±1) ^{0}C-ზე და ორი საათი (21±1) ^{0}C-ზე) მუქ ფონზე დათვალიერებით, გამოსაკვლევი შრატების სინჯარების, დიაგნოსტიკუმის საკონტროლო განზავებებთან შედარებით, გამჭვირვალების ხარისხის გათვალისწინებით დიაგნოსტიკუმის საკონტროლო განზავებას ამზადებენ შემდეგნაირად: 2 მლ (1:10 განზავებული) დიაგნოსტიკუმს უმატებენ 2 მლ NaCl–ის 0.9-იან ხსნარს (0.5% ფენოლით). ამრიგად, მიიღება დამატებით 1:2-ზე განზავებული დიაგნოსტიკუმი.

ძირითადი ცდის ანალოგიურად იღებენ 5 სინჯარას. სინჯარებში ჩასმოასხამენ ფენოლიზირებულ (0.5%-იანი) NaCl–ის 0.9-იან ხსნარს, შემდეგი მოცულობებით: პირველ სინჯარაში – 1 მლ; მეორეში 0.75 მლ; მესამეში 0.5 მლ; მეოთხეში 0.25 მლ; მეხუთე ცარიელია. სინჯარებში იმავე თანმიმდევრობით მეორიდან დაწყებული შეაქვთ 1:2-ზე განზავებულ დიაგნოსტიკუმი ისეთი რაოდენობით, რომ თითოეულ სინჯარაში ნარევის რაოდენობამ NaCl–ის 0.9-იან ხსნარი + დიაგნოსტიკუმი შეადგინოს 1 მლ; კერძოდ, 0.25 მლ; 0.5 მლ; 0.75მლ; 1 მლ. პირველ სინჯარაში დიაგნოსტიკუმს არ უმატებენ. სინჯარებს ანჯღრევენ და ათავსებენ თერმოსტატში (36±1) ^{0}C-ზე ძირითად სინჯარებთან ერთად.

ძირითადი ცდის თვითოეულ სინაჯრებში რეაქციის შედეგების აღრიცხვის დროს შესადარებლად არჩევენ გამჭვირვალების მიხედვით მის შესაბამის დიაგნოსტიკუმის საკონტროლო განზავებას და ჩაინიშნავენ აგლუტინაციის ხარისხს სქემით (ცხრილი №10).

ცხრილი 10

აგლუტინაციის რეაქციის შედეგები

სინჯარის №	აგლუტინაციის ხარისხი				
	1	2	3	4	5
NaCl–ის 0.9-იან ხსნარი, 0.5% ფენოლით (მლ-ში)	1.0	0.75	0.5	0.25	0
1:2-ზე განზავებული დიაგნოსტიკუმი (მლ-ში)	0	0.25	0.5	0.75	1.0
გამჭვირვალება: ა) %-ში ბ) ჯვრებში	100% 4	75% 3	50% 2	25% 1	0 -

- 100%-იანი აგლუტინაცია (4 ჯვარი); სითხის სრული გამჭვირვალება- საკონტროლო განზავების პირველი სინჯარა;

- 75%-იანი აგლუტინაცია (3 ჯვარი) სითხის თითქმის მთლიანი გამჭვირვალება – საკონტროლო განზავების მეორე სინჯარა;
- 50%-იანი აგლუტინაცია (2 ჯვარი), სითხის უმნიშვნელო გამჭვირვალება- საკონტროლო განზავების მესამე სინჯარა;
- 25%-იანი აგლუტინაცია (1 ჯვარი) – სითხის ოდნავ შესამჩნევი გამჭვირვალება, საკონტროლო განზავების მეოთხე სინჯარა.;
- 0 აგლუტინაცია არ აღინიშნა (-), სითხე თანაბრად შემღვრეულია, საკონტროლო განზავების მეხუთე სინჯარა.

გამოსაკვლევი შრატის დადებით ტიტრად მიღებულია 50%-იანი აგლუტინაცია (2 ჯვარი), აგლუტინაციის რეაქციის ტიტრებს გამოსახავენ საერთაშორისო ერთეულებში (ს.ე.)

დიაგნოსტიკუმი, ბრუცელოზის საკონტროლო სააგლუ-ტინაციო დადებით შრატთან იძლევა 50%-იან აგლუტინაციას 1:100-ზე განზავებაში. ამიტომ სერიული ტიტრები 1:50; 1:100; 1:200 და ა.შ. მიუთითებს 1 მლ გამოსაკვლევ შრატში 50; 100; 1:200 და ა.შ. ანტისხეულების საერთაშორისო ერთეულის /ს.ე/ შემცველობაზე. რეაქციის სადიაგნოსტიკო შეფასებისას რეკომენდებულია შემდეგი სქემა: გამოსაკვლევ შრტში ანტისხეულების 1:100 ს.ე. ნაკლები რაოდენობის არარსებობისას – (ტიტრი 1:50), - შედეგი სუსტი დადებითია; ანტისხეულების 100-200 ს.ე.-ის შემთხვევაში (1:100; 1:200) – დადებითი, 200 ს.ე-ზე ზევით (ტიტრი 1:400 და მეტი) -- მკვეთრი დადებითი.

აგლუტინაციის დაჩქარებული რეაქცია მინაზე. რეაქციას დგამენ ჩვეულებრივ გულდასმით გარეცხილ ცხიმგაცლილ მინაზე ან სპეციალურ მომინანქრულ (0.5%-იანი) ფირფიტაზე ფოსოებით. მინას ჰორიზონტალურად ხაზავენ 6 კვადრატად (დაახლოებით 40მმ×40მმ). პირველ კვადრატზე აწერენ გამოსაკვლევი შრატის ნომერს; მომიჯნავე კვადრატებში მარცხნიდან დაწყებული შეაქვთ 0.04 მლ; 0.02 მლ; 0.01 მლ და 0.02 მლ (შრატის კონტროლი) გამოსაკვლევი შარატი. შრატის პირველ სამ დოზას ამატებენ 0.03 მლ

განუზავებელ დიაგნოსტიკუმს. შრატის ბოლო დოზას 0.02 მლ-ს ამატებენ 0.03 მლ NaCl–ის 0.9-იან ხსნარს. მინის წკირით შრატს ფრთხილად შეურევენ დიაგნოსტიკუმს, მინიმალური დოზიდან დაწყებული. მეექვსე კვადრატი დიაგნოსტიკუმის კონტროლია. ამ მიზნით0.03 მლ დიაგნოსტიკუმს უმატებენ 0.03 მლ NaCl–ის 0.9-იან ხსნარს. მინას თანაბრად ათბობენ სპირტქურის ან გაზქურის ალზე (36±1)^{0}C-ზე.

ახდენენ რეაქციის შედეგების შეფასებას. მინაზე დაჩქარებული აგლუტინაციის რეაქციის შემთხვევაში შედეგებს აღრიცხავენ დადგმისთანავე. დაკვირვების მაქსიმალური დრო – 8 წუთია. დადებით შემთხვევაში პირველივე წუთებში წარმოიქმნება ფიფქები, უარყოფითის დროს სითხე რჩება თანაბრად შემღვრეული

შედეგებს აღრიცხავენ შეუიარაღებელი თვალით შემდეგი სქემით:- 100%-იანი აგლუტინაცია (4 ჯვარი); სითხის სრული გამჭვირვალება- მსხვილი და წვრილმარცვლოვანი ფიფქებით, რეაქცია მკვეთრი დადებითია;

- 75%-იანი აგლუტინაცია (3 ჯვარი) სითხე თითქმის მთლიანად გამჭვირვალეა –კარგად გამოხატული ფიფქებით- რეაქცია დადებითია;
- 50%-იანი აგლუტინაცია (2 ჯვარი), სითხე უმნიშვნელოდ გამჭვირვალეა-შესამჩნევი ფიფქებით – რეაქცია დადებითია;
- 25%-იანი აგლუტინაცია (1 ჯვარი) - სითხე შემღვრეულია, ოდნავ შესამჩნევი ფიფქებით – რეაქცია სუსტი დადებითია.
- 0 (-), სითხე თანაბრად შემღვრეულია, რეაქცია უარყოფითია.

ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ მნიშვნელოვანია მხოლოდ რეაქციის დადებითი შედეგები. სუსტად გამოხატული შედეგების შემთვევაში რეკომენდებულია რეაქციის განმეორებით დადგმა 7-10 დღის შემდეგ.

უარყოფითი რეაქციისა და ეპიდემიოლოგიური მონაცემების არსებობის შემთხვევაში, რეკომენდებულია რეაქციის განმეორებით დადგმა. მინაზე აგლუტინაცია არის

ხარისხობრივი მაჩვენებელი, რომელიც არ იძლევა ზუსტად სააგლუტინაციო ტიტრის დადგენის საშუალებას, რეკომენდებულია რეაქციის დადგმა მხოლოდ სტაციონარის პირობებში დონორების მასობრივი გამოკვლევის დროს. აგუტინინების ტიტრის და მისი დინამიკის განსაზღვრისათვის აუცილებელია მოცულობითი მეთოდის გამოყენება.

ჰემაგლუტინაციის რეაქცია

ჰემაგლუტინაცია ზოგიერთი ბაქტერიისა და ვირუსის თვისებაა მოახდინოს გარკვეული სახეობის ცხოველისა და ფრინველის (ცხვარი, ძაღლი, ზღვის გოჭი, ქათამი, მტრედი და.ა.შ.) ერითროციტების შეწებება. რეაქციაში მონაწილეობს ორი კომპონენტი: ვირუსების და ბაქტერიების შემცველი ემულსია და ერითროციტების შენაწონი.

ვირუსის ემულსიას დასნებოვნებული ქათმის ემბრიონის ქსოვილებიდან ან პათოლოგიური მასალიდან ამზადებენ. ვირუსის შემცველ ქსოვილს სრესენ, ამზადებენ ემულსიას ფიზიოლოგიურ ხსნარზე და აცენტრიფუგებენ. სუპერნატანტს 1:10-ზე და ა.შ აზავებენ. თანამიმდევრულად ამზადებენ დაახლოვებით 8-10 განზავებას. ყოველი შემდგომი განზავება წინამდებარესთან შედარებით გაორმაგებულია. განზავებული მასალა 0,5 მლ-ის მოცულობით გადააქვთ სინჯარებში და თანაბარი რაოდენობით ერითროციტების 2%-იან შენაწონს უმატებენ. პარალელურად დგამენ კონტროლს. საკონტროლო სინჯარაში 0,5 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი და 0,5 მლ ერითროციტების შენაწონი შეაქვთ. სინჯარებს გულდასმით ანჯღრევენ, აჩერებენ ოთახის ტემპერატურაზე 0,5-1 საათის განმავლობაში ან ათავსებენ თერმოსტატში. დადებითი რეაქციის დროს ერითროციტები სინჯარის ფსკერზე ილექება "ქოლგისებრად". უარყოფითი რეაქციის შემთხვევაში ერითროციტები პატარა რგოლის მსგავსადაა დალექილი. საკონტროლო სინჯარაში რეაქცია უარყოფითია. გამოსაკვლევი

მასალის უმაღლესი განზავება, რომლის დროსაც აღინიშნება აგლუტინაცია მიჩნეულია ვირუსის ტიტრად ანუ ჰემაგლუტინაციურ ერთეულად.

ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქცია (ჰშრ)

ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქციას, ჰემაგლუტინაციის რეაქციის პარალელურად დგამენ. რეაქციაში სპეციფიკური სადიაგნოსტიკო შრატი და გამოსაკვლევი ანტიგენი მონაწილეობს. სპეციფიკურ შრატს 1:10-ზე, 1:20-ზე და ა.შ. აზავებენ. ჩვეულებრივ ამზადებენ 8-დან 10-მდე თანმიმდევრულ განზავებას. თითეული განზავება 0,5 მლ მოცულობით შეაქვთ სინჯარებში, უმატებენ გამოსაკვლევი მასალის გამჭვირვალე სუსპენზიას. სინჯარებს 37^{0}C-ზე, 1-2 საათის განმავლობაში ტოვებენ თერმოსტატში, შემდეგ უმატებენ 1 მლ ერითროციტების 2%-იან შენაწონს. საკონტროლო სინჯარაში სპეციფიკური შრატის ნაცვლად შეაქვთ ნორმალური შრატი ან ფიზიოლოგიური ხსნარი. გამოსაკვლევი ანტიგენი და სადიაგნოსტიკო შრატი ჰომოლოგიურობის შემთხვევაში ერთმანეთს უკავშირდება, ერითროციტები აგლუტინაციას არ განიცდიან (რეაქცია დადებითია). გამოსაკვლევი ანტიგენის და სადიაგნოსტიკო შრატის შეუსაბამობის დროს ერითროციტები შეწებდება (რეაქცია უარყოფითია). საკონტროლო სინჯარაში რეაქცია დადებითია.

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია (აპრ)

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია მაღალსპეციფიკური და მგრძნობიარეა. არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქციის დასადგმელად წინასწარ მზადდება ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი ანუ ცხერის ფორმალინიზირებული და ტანიზირებული ერითროციტები, რომლებიც ანტიგენით ან ანტისხეულებით არის სენსიბილიზირებული.

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია ფართოდ გამოიყენება მთელი რიგი ინფექციური დაავადებების, მათ შორის ჯილეხის აღმძვრელის სპოროვანი და ვეგეტატური ფორმების აღმოსაჩენად და იდენტიფიკაციისათვის. რეაქციაში ანტისხეულური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი გამოიყენება.

ჯილეხის ანტისხეულური ერითროციტული მშრალი დიაგნოსტიკუმი, ფორმალინიზირებული, ტანიზირებული და საპრეციპიტაციო შრატიდან მიღებული გამაგლობულინით სენსიბილიზირებული ცხვრის ერითროციტებია. რეაქციაში დიაგნოსტიკუმი გამოიყენება 2,5 %-იანი კონცენტრაციით. ძირითად პრეპარატს თან ერთვის საკონტროლო ერითროციტები, რომელსაც იმავე სერიის ფორმალინიზირებული, ტანინიზირებული, არა სენსიბილიზირებული ერითროციტებიდან ამზადებენ.

პრეპარატს თან ახლავს დამატებითი ინგრედიენტები:

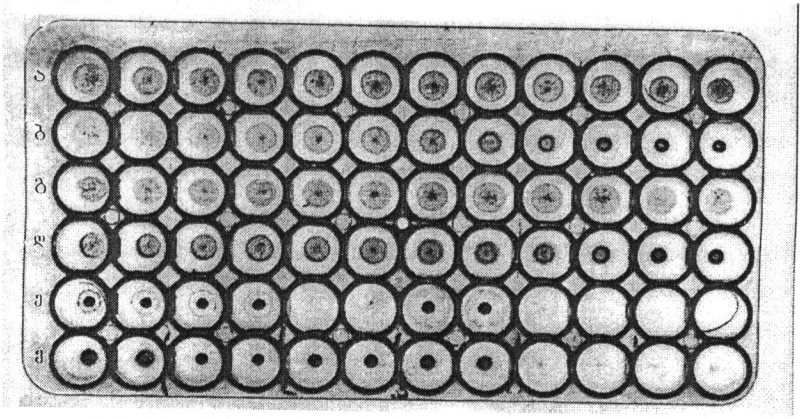
1. ფორმალინიზირებული ერითროციტების 50%-იანი შენაწონი, ჰეტეროგენული ანტისხეულების ადსორბციისათვის.
2. ვაქცინა "სტი"-ს მკვდარი სპორები. (1 მლრდ/მლ-ში).
3. ჯილეხის 1:10-ზე განზავებული საპრეციპიტაციო შრატი.

ინგრედიენტების მომზადება და რეაქციის დადგმის მეთოდიკა: თერმოსტაბილური, სომატური ანტიგენის ექსტრაგირებისათვის მიკროორგანიზმთა გამოსაკვლევ შენაწონს აცხელებენ წყლის აბაზანაში 100^{0}C-ზე 15 წუთს, შემდეგ უვნებელყოფენ 1% ფორმალინის დამატებით 1 საათის განმავლობაში.

პოლისტიროლის ფირფიტის ფოსოებში ამზადებენ გამოსაკვლევი შენაწონის ორჯერად განზავებას, 0,5 მლ-ის მოცულობით ჩამოსხმულ 1%-იან ბოცვრის ნორმალურ შრატში. შრატს წინასწარ ინაქტივაციისათვის აცხელებენ 56^{0}C-ზე 30 წუთის განმავლობაში.

ლიოფილიზირებული და სენსიბილიზირებული ერითროციტებიდან ამზადებენ სამუშაო განზავებას (2,5 %). ამ

მიზნით ამპულის შიგთავსს ხსნიან 4 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და თითეულ განზავებას უმატებენ თითო-თითო წვეთ ერითროციტების შენაწონს. ფირფიტას გულდასმით არხევენ და ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე. შედეგებს აღრიცხავენ 3 საათის შემდეგ, ხოლო შესაძლებლობის შემთხვევაში მეორე დღეს. შეფასების სიზუსტისათვის ფირფიტას სინჯავენ თეთრ ფონზე. დადებითი რეაქციის დროს ერითროციტები ფოსოს ფუძეზე დაფენილია "ქოლგისებრად", ხოლო უარყოფითი რეაქციის დროს პატარა ღილის მსგავსად, რომელიც სწორი და სადა კიდეებიანია. (ნახ. 37)



ნახ. 37 არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია: ა, ბ, გ, დ-დადებითი; ე-უარყოფითი; ვ-კონტროლი;

ძირითად ცდასთან ერთად იდგმება კონტროლები:

1. 0,5 მლ გამხსნელი და ერთი წვეთი სენსიბილიზირებული ერითროციტები-დიაგნოსტიკუმის კონტროლი.
2. 0,5 მლ გამოსაკვლევი მასალა უმცირეს განზავებაში და ერთი წვეთი არასენსიბილიზირებული ერითროციტების შენაწონი არასპეციფიკური შეწებების კონტროლი. საკონტროლო სინჯარებში ერითროციტები მცირე ზომის რგოლებად ილექება.

ჰემადსორბციის რეაქცია

ჰემ-ადსორბცია ვირუსით დასნებოვნებული უჯრედის ზედაპირზე ერითროციტების ფიქსაციის პროცესია. ჰემ-ადსორბციის თვისებით აღჭურვილია ძუძუმწოვრების და ფრინველების პარაგრიპის, ნიუკასლის დაავადების, გრიპის და სხვა ვირუსები. ჰემ-ადსორბციის რეაქცია ფართედ გამოიყენება ცხოველთა პარაგრიპის ვირუსების გამოსაყოფად და იდენტიფიკაციისათვის.

ჰემ-ადსორბციას საფუძვლად უდევს დასნებოვნებულ უჯრედზე მყოფი ვირუსის რეცეპტორების შესაბამისობა ერითროციტების რეცეპტორებთან, რაც განაპირობებს მათ დაკავშირებას. ჰემ-ადსორბციის დადებითი შედეგები გამომჟღავნდება უჯრედებში ციტოპათიური ცვლილებების ჩამოყალიბებამდე. რეაქციაში გამოიყენება ზღვის გოჭის, მაიმუნის, ადამიანის (0-ჯგუფი) და სხვა ერითროციტები ანუ ერიტროციტები რომლებიც იჩენენ მგრძნობელობას და რეაგირებენ ვირუსის მოქმედებაზე.

რეაქციის დადგმა. ვირუსით დაინფიცირებულ ქსოვილოვან კულტურებში შეაქვთ 0,2 მლ ერითროციტების 0,4% -იანი სუსპენზია (ერითროციტების სუსპენზია მზადდება ფიზიოლოგიურ ან ჰენკსის ხსნარზე). სინჯარებს ანჯღრევენ და ტოვებენ დახრილ მდგომარეობაში ოთახის ტემპერატურეზე ან მაცივარში. ინკუბაციის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია ტემპერატურასა და ვირუსის სახეობაზე. მაგ: რესპირულ ვირუსებზე მუშაობისას ოთახის ტემპერატურაზე რეაქცია იწყება 3-5 წთ-ის, ხოლო 4^0C-ზე 30-40 წთ-ის შემდეგ; ყვავილის და ყვავილვაქცინის ვირუსების შემთხვევაში რეაქცია ოთახის ტემპერატურაზე გამომჟღავნდება 15-20 წთ-ის შემდეგ. რეაქციის შედეგებს აკვირდებიან მიკროსკოპის მცირე გადიდებით. არაადსორბირებული ერითროციტების მოსაცილებლად, სინჯარას ოდნავ შეანჯღრევენ. ჰემ-ადსორბციის დროს

ერითროციტები მტკიცედ უკავშირდება უჯრედს. უჯრედსა და ვირუსს შორის კავშირი იმდენად მტკიცეა, რომ მათი დაცილება ჩარეცხვით არ ხორციელდება. ვირუსით დაინფიცირებულ უჯრედზე ადსორბირებული ერითროციტები წარმოქმნიან დამახასიათებელ გროვებს. ადამიანის და ღორის გრიპის ვირუსების მიერ აგლუტინირებული ერითროციტები მოგვაგონებს კუნძულებს. პარაგრიპის ვირუსების მიერ აგლუტინირებული ერითროციტები დიფუზურადაა გაბნეული სითხეში. დაუსნებოვნებელ უჯრედებზე ერითროციტების ადსორბცია არ მიმდინარეობს და ისინი თავისუფლად დაცურავენ.

ჰემ-ადსორბციის გამოვლინება დამოკიდებულია ციტოპათიური ცვლილებების გამომჟღავნების ვადებზე; რაც უფრო სწრაფად ხდება ციტოპათიური ცვლილებების განვითარება, უფრო მკვეთრადაა გამოხატული ერითროციტების აგლუტინაცია. უარყოფითი რეაქციის შემთხვევაში, ინფიცირებიდან მე-4-5 დღეს, ყოველი 2-4 დღის ინტერვალით სინჯარებში შეაქვთ ახლი ერითროციტები აღწერილი მეთოდით. რეაქციის მსვლელობას აკვირდებიან 14-20 დღის განმავლობაში.

ჰემ-ადსორბციის შეკავების რეაქცია. ქსოვილოვან კულტურას სინჯარებში ასნებოვნებენ ვირუსით. თერმოსტატში გარკვეული დროის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ უჯრედებს ათავისუფლებენ საკვები არესაგან. ქსოვილოვან კულტურებს სინჯარებში რეცხავენ ჰენკსის ხსნარით. სინჯარების ნაწილში შეაქვთ 0,2 მლ განუზავებელი ან 1 : 10-ზე განზავებული შრატი და 0,6-0,8 მლ ხენკსის ხსნარი; დანარჩენ სინჯარებში მხოლოდ ჰენკსის ხსნარი. სინჯარებს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 15-30 წთ. თითოეულ სინჯარას უმატებენ 0,2 მლ, 0,4 %-იან ერითროციტების შენაწონს. სინჯარებს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე დახრილ მდგომარეობაში 3-4 წუთის განმავლობაში. ანჯღრევენ და აღრიცხავენ შედეგებს; რეაქცია დადებითია, როდესაც

სინჯარებში შრატით ჰემ-ადსორბცია არ აღინიშნება, ხოლო საკონტროლო სინჯარებში რეაქცია მკვეთრადაა გამოხატული.

ჰემ-ადსორბციის რეაქციის გამოყენება შეიძლება ნეიტრალიზაციის რეაქციაში ვირუსის ტიპის განსაზღვრისა და წყვილ შრატებში ანტისხეულების ტიტრის დასადგენად.

ვირუსის სახის იდენტიფიკაციისათვის 0.1 მლ ვირუსის შემცველ მასალას თანაბარი მოცულობით ურევენ 1:10-ზე განზავებულ სპეციფიკურ შრატს, ნარევით ასნებოვნებენ ქსოვილოვან კულტურას. ამ უკანასკნელს წინასწარ მოაცილებენ საკვებ არეს. სინჯარებს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 30წთ. ნარევს შეიწოვენ პიპეტით, სინჯარებში შეაქვთ ახალი საკვები არე. სინჯარებს ათავსებენ თერმოსტატში. ციტოპათიური მოქმედების გამომომჟღავნებისათვის საჭირო ოპტიმალური დროის გავლის შემდეგ თითოეულ სინჯარაში შეაქვთ 0,2 მლ ერითროციტების შენაწონი, აკვირდებიან ერითროციტების ადსორბციას. დაავადებული ცხოველის წყვილ შრატებში ანტისხეულების აღმოსაჩენად ამზადებენ შრატების ორჯერად განზავებას 0,1 მლ მოცულობით. უმატებენ ვირუსს თანაბარი რაოდენობით, რომელიც შეიცავს 100 ჰემადსორბციულ ერთეულს. სინჯარებს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 30-60 წთ. 2-4 სინჯარაში კულტურით შეაქვთ 0,2 მლ ვირუსისა და შრატის ნარევი. კონტაქტიდან 30 წთ-ის შემდეგ თითოეულ სინჯარას უმატებენ 0,8 მლ საკვებ არეს, საკონტროლო სინჯარებში ინტენსიური ჰემადსორბციის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს.

შრატის ტიტრად მიღებულია მისი მაქსიმალური განზავება, რომელშიც ჰემ-ადსორბცია აღინიშნება.

პრეციპიტაციის რეაქცია

პრეციპიტაციის რეაქცია სწრაფი, მარტივი, მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკურია.

პრეციპიტაციის რეაქციას საფუძველად უდევს ანტიგენისა (პრეციპიტინოგენი) და საპრეციპიტაციო შრატს (პრეციპიტინი) შორის მიმდინარე ურთიერთქმედება. მათი შეხების საზღვარზე წარმოიქმნება რგოლისებრი ფორმის პრეციპიტატი. პრეციპიტაციის რეაქციის მექანიზმი, აგლუტინაციის რეაქციის მსგავსია, ორივე შემთხვევაში ჰიპერიმუნური შრატით და ელექტროლიტების (ფიზ. ხსნარი) თანდასწრებით ხდება ანტიგენის ნაწილაკების გამსხვილება და დალექვა.

პრეციპიტაციის რეაქცია ვეტერინარულ პრაქტიკაში ძირითადად ტყავ-ბეწვეულისა და მკვდარი ცხოველების შინაგანი ორგანოების (ელენთა, ღვიძლი, გული) ჯილეხზე გამოსაკვლევად გამოიყენება. უსაფრთხოების მიზნით გამოსაკვლევად აღებულ სინჯებს რეაქციის დადგმის წინ ავტოკლავში უვნებელყოფენ.

პრეციპიტაციის რეაქციის კომპონენტებია:

1 საპრეციპიტაციო შრატი-პრეციპიტინი.

2. ანტიგენი-პრეციპიტინოგენი (პათ. მასალის ექსტრაქტი).

3. ფიზიოლოგიური ხსნარი (NaCl-ის 0,9%-იანი ხსნარი).

საპრეციპიტაციო შრატი. საპრეციპიტაციო შრატს ამზადებენ ბიოქარხნებში ცხენების იმუნიზაციით. ცხოველთა იმუნიზაციას ახდენენ მკვდარი ან დასუსტებული ჯილეხის აღმძვრელით. საპრეციპიტაციო შრატს ხმარების წინ ფილტრავენ.

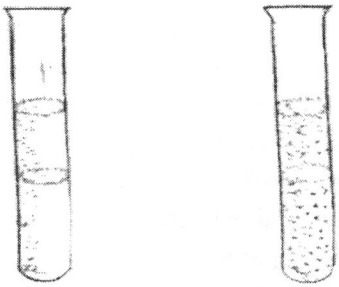
ანტიგენი. ანტიგენის დასამზადებლად ტყავის ნაჭრებს (1 გ) წვრილად აქუცმაცებენ, უმატებენ 10 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარს და ახდენენ ექსტრაგირებას, ადუღებით 20 წუთის განმავლობაში (ცხელი მეთოდი) ან ოთახის ტემპერატურაზე 16-18 საათის განმავლობაში კარბოლიზირებულ ფიზიოლოგიურ ხსნარში დაყოვნებით (ცივი მეთოდი).

ექსტრატს ფილტრავენ. ფილტრატი გამჭირვალე სითხეა.

პრეციპიტაციის რეაქციას დგამენ დაფენისა და ამოფენის მეთოდებით.

დაფენის მეთოდი: სრულიად სუფთა 1 სმ დიამეტრის და 5 სმ სიგრძის საპრეციპიტაციო სინჯარებში პიპეტით შეაქვთ 0,3-0,5 მლ ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატი და მასზე 0,3-0,5 მლ გამოსაკვლევ ექსტრაქტს აფენენ. სითხეების ერთმანეთში შერევის თავიდან ასაცილებლად სინჯარას შრატით რამდენადმე გადახრიან და ფრთხილად, კედლის ჩაყოლებით შეაქვთ გამოსაკვლევი ექსტრაქტი. სწორად ჩატარებული მანიპულაციის დროს შრატზე წარმოიქმნება ანტიგენის ფენა.

ამოფენის მეთოდი. სინჯარაში თავდაპირველად 0,3-0,5 მლ გამოსაკვლევი ექსტრაქტი, ხოლო შემდეგ სინჯარის ძირში პიპეტით იმავე მოცულობით შეაქვთ საპრეციპიტაციო შრატი. მაღალი ხვედრითი წონის შრატი სინჯარის ფსკერზე რჩება, რომელზედაც მცირე ხვედრითი წონის ექსტრაქტია დაფენილი.



ა) ბ)

ნახ. 38 პრეციპიტაციის რეაქცია
ა-დადებითი, ბ-უარყოფითი

რეაქციის შედეგები ფასდება ნალექის (რგოლის) წარმოქმნით. რეაქცია დადებითია, თუ სითხეების შეხების საზღვარზე, რეაქციის დადგმიდან 15 წუთის განმავლობაში მოთეთრო-მტრედისფერი რგოლი-პრეციპიტატი წარმოიქმნება. (ნახ. 38)

ძირითადი ცდის პარალელურად იდგმება კონტროლები:

1. ჯილეხის ანტიგენი + საპრეციპიტაციო შრატი, რეაქცია დადებითია.
2. ჯილეხის ანტიგენი + ცხენის ნორმალური შრატი, რეაქცია უარყოფითია.

3. ფიზიოლოგიური ხსნარი + საპრეციპიტაციო შრატი, რეაქცია უარყოფითია.

დიფუზური პრეციპიტაციის რეაქცია

დიფუზური პრეციპიტაციის რეაქციის დასადგმელად გამოიყენება პეტრის ფინჯნებში ჩამოსხმული ხპა–ფოსოებით. ფოსოებში შეაქვთ გამოსაკვლევი ანტიგენი და შრატი. ინგრედიენტების აგარის გელში დიფუზიის და ჰომოლოგიურობის შემთხვევაში მათი შეხვედრის საზღვარზე საპრეციპიტაციო ზოლი წარმოიქმნება (რეაქცია დადებითია).

აგარის მომზადება. ერთ მოცულობა მაღალხარისხოვან აგარს (უმჯობესია Difco-ს აგარი) უმატებენ 30 ნაწილ გამოხდილ წყალს და 0,5%-იან NaCl-ს. ადუღებენ გალღვობამდე. აგარს ცხელ მდგომარეობაში ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში და თხელ ფენად ჩამოასხამენ ბრტყელძირიან მინის ჭურჭელში. გაცივების შემდეგ აგარს ჭრიან პატარა ნაჭრებად (1სმX1სმ). ნაჭრებს ათავსებენ მინის ქილაში, აფარებენ დოლბანდს და ონკანის წყლის ჭავლით 3 დღე-ღამის განმავლობაში რეცხავენ. წყალს გადაღვრიან, აგარს ალღვობენ წყლის აბაზანაში, თანაბარი მოცულობით უმატებენ 1,6%-იან NaCl-ის ხსნარს, მეთილორანჟს (3:100000) ან მერთიოლატს (1:10000). აგარს გაცხელებით ალღვობენ. ჩამოასხამენ კოლბებში და გამოყენებამდე 4^0C-ზე ინახავენ.

რეაქციის დადგმის წინ აგარს ალღვობენ და 15-15 მლ მოცულობით ჩამოასხამენ პეტრის ფინჯნებში. აცივებენ. ფოსოების მისაღებად გამყარებული აგარის ზედაპირზე 1,5 სმ დაშორებით, ათავსებენ 1-2 სმ დიამეტრის ცილინდრებს. ფინჯნებში იმავე მოცულობით აგარის ახალი პორცია შეაქვთ. ფინჯნებს აგარის გამყარებამდე გრილ ადგილას ტოვებენ. ცილინდრების მოცილების შემდეგ წარმოიქმნება ფოსოები.

რეაქციის დადგმის მეთოდიკა. ცენტრალურ ფოსოში შეაქვთ 0,2 მლ ანტიგენი, დანარჩენ ფოსოებში იმავე

მოცულობით განზავებული ან განუზავებელი შრატი (რეაქცია შეიძლება შებრუნებით დაიდგას). ერთ–ერთი ფოსო საკონტროლოა, რომელშიაც შეაქვთ 0,2 მლ ფიზ. ხსნარი. ფინჯნებს 3 კვირის განმავლობაში ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე და ყოველ დღე აკვირდებიან საპრეციპიტაციო ზოლის წარმოქმნას.

საკონტროლო ფოსოს გარშემო საპრეციპიტაციო ზოლი არ უნდა აღინიშნოს.

დიფუზური პრეციპიტაციის რეაქცია ფართოდ გამოიყენება ვირუსთა ანტიგენური შენების დასადგენად და ზოგიერთი ინფექციური დაავადების სადიაგნოსტიკოდ.

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია (კფრ)

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია რთულ სეროლოგიურ რეაქციებს მიეკუთვნება. ის ბაქტერიოლიზური (ანტიგენი, გამოსაკვლევი შრატი, კომპლემენტი) და ჰემოლიზური (ცხვრის ერითროციტები და ჰემოლიზური შრატი) სისტემებისაგან შედგება.

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ორ ფაზად მიმდინარეობს. პირველ ფაზაში ანტიგენი უკავშირდება ანტისხეულებს. მეორე ფაზაში "ანტიგენ ანტისხეულების" კომპლექსზე კომპლემენტი ადსორბირდება. კომპლემენტის გარეშე რეაქცია არ მიმდინარეობს.

ბაქტერიოლიზურ სისტემაში ანტიგენსა და ანტისხეულებს შორის მიმდინარე რეაქცია კომპონენტების გამჭვირვალების გამო ვიზუალურად შეუმჩნეველია. იმისათვის, რომ ჰემოლიზური სისტემა გახდეს ხილული, ემატება ყოჩის ერითროციტები და ჰემოლიზური შრატი (ჰემოლიზინი).

ბაქტერიოლიზურ სისტემაში ანტიგენისა და ანტისხეულების შესაბამისობის შემთხვევაში კომპლემენტი დაიხარჯება. ჰემოლიზური სისტემის დამატების შემდეგ ერითროციტები ლიზისს არ განიცდიან და სინჯარის ფსკერზე დაილექებიან. (რეაქცია დადებითია). ბაქტერიოლიზურ სისტე-

მაში ანტიგენისა და ანტისხეულების ჰეტეროგენობის დროს კომპლემენტი რჩება თავისუფალი, გადადის ჰემოლიზურ სისტემაში დაიხარჯება ჰემოლიზური შრატისა და ერითროციტების დაკავშირებაზე. ერითროციტები განიცდის ლიზისს, სითხე თანაბრად იღებება წითლად-რეაქცია უარყოფითია. ამრიგად, ჰემოლიზური სისტემა ასრულებს ინდიკატორის როლს. კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ვეტერინარიულ პრაქტიკაში ბრუცელოზის, მსხვილფეხა პირუტყვის პერიპნევმონიის, ტუბერკულოზის, ცხენების დაგრილების დაავადების, ქოთაოს და სხვ. ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ გამოიყენება. კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია მგრძნობიარე და სპეციფიკურია.

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ბრუცელოზის მაგალითზე. კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ბრუცელოზზე იდგმება შემდეგი სქემით. (ცხრილი 11)

ცხრილი 11

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ბრუცელოზზე

კომპონენტები	დაავადებული ცხოველი	ჯანმრთელი ცხოველი
გამოსაკვლევი შრატი (ინაქტივირებული).	შეიცავს ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულებს (ამბოცეპტორი).	ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულები არ აღინიშნება.
ზღვის გოჭის სისხლის შრატი.	კომპლემენტი	კომპლემენტი

ბრუცელათა ექსტრაქტი (ანტიგენი) 30წთ. 37^{0}C-ზე.	რეცეპტორ-ანტიგენი ამბოცეპტორისათვის. ამბოცეპტორი და ანტიგენი უკავშირდება ერთმანეთს. მათზე ადსორბირდება კომპლემენტი.	რეცეპტორ-ანტიგენი ამბოცეპტორისათვის. ამბოცეპტორი არ მოიპოვება, კომპლემენტი თავისუფალია.
ემატება ჰემოლიზური სისტემა: ა)ჰემოლიზური შრატი, ბ)ცხვრის ერითროციტები 20წთ. 37^{0}C-ზე.	ჰემოლიზური ამბოცეპტორი.	ჰემოლიზური ამბოცეპტორი
	ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულებთან და ანტიგენთან დაკავშირებული კომპლიმენტი არ შედის კავშირში ჰემოლიზური სისტემის კომპონენტებთან. ჰემოლიზი არ აღინიშნება. ცხოველი დაავადებულია ბრუცელოზით.	კომპლემენტი რჩება თავისუფალი, ვინაიდან ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულები არ მოიპოვება. კომპლემენტი უკავშირდება ჰემოლიზურ სისტემას. აღინიშნება ჰემოლიზი. ცხოველი ჯანმრთელია.

რეაქციის კომპონენტები. 1. *ანტიგენი.* რეაქციაში ანტიგენად ბიოქარხნებში დამზადებული მიკროორგანიზმთა ექსტრაქტი (თხიერი) ან ერთიანი მშრალი ბრუცელოზური ანტიგენი გამოიყენება. ანტიგენის ტიტრი პრეპარატის ეტიკეტზეა მოცემული.

2. გამოსაკვლევი შრატი. ცხოველიდან სისხლს საუღლე ვენიდან იღებენ. საკუთარი კომპლემენტის დაშლის მიზნით გამოსაკვლევ შრატს რეაქციის დადგმამდე წინასწარ წყლის აბაზანაში 30 წუთს, 56-57^{0}C-ზე აცხელებენ. შედედების თავიდან ასაცილებლად შრატს ინაქტივაციამდე აზავებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1:10-ზე. საჭიროების შემთხვევაში შრატს ფიზიოლოგიურ ხსნარზე დამზადებული 5%-იანი კარბოლის ხსნარით აკონსერვებენ. (1 მლ შრატი + 2 წვეთი კონსერვანტი).

3. კომპლემენტი. კომპლემენტად ზღვის გოჭის ახლადაღებული, გამშრალი ან დაკონსერვებული სისხლის შრატი გამოიყენება. ზღვის გოჭის კომპლემენტი მდგრადი და აქტიურია. კომპლემენტის საჭირო რაოდენობის გათვალისწინებით სისხლს რამდენიმე ზღვის გოჭიდან იღებენ (თითოეულს 8-10 მლ). რეკომენდებულია სისხლის ასაღებად 350-700 გ ცოცხალი მასის ცხოველის აყვანა. სისხლიდან გამოყოფილ შრატს მაცივარში, ან გრილსა და ბნელ ადგილას ინახავენ. (სინათლისა და სხვა ფაქტორების მოქმედებით კომპლემენტი იშლება). საჭიროების შემთხვევაში კომპლემენტს აკონსერვებენ ან აშრობენ.

4. ცხვრის (ყოჩის) ერითროციტები. რეაქციაში ფიზიოლოგიურ ხსნარზე დამზადებული ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონი გამოიყენება. მიზანშეწონილია 3 თვიდან 4 წლამდე ასაკის ცხვრის (ყოჩის) ერითროციტების გამოყენება.

ცხოველს სისხლს აუღებენ საუღლე ვენიდან მინის ბურთულებიან ჭურჭელში (ფლაკონი). სისხლის შედედების თავიდან ასაცილებლად ფლაკონს 10 წუთი ანჯღრევენ. სისხლს ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში, შემდეგ აცენტრიფუგებენ 10-15 წუთს, 1500-2000 ბრ/წთ-ში. პლაზმას გადაღვრიან. სინჯარაში შეაქვთ ფიზიოლოგიური ხსნარი საწყის დონემდე და ურევენ გულდასმით. კვლავ აცენტრიფუგებენ. აღნიშნული თანამიმდევრობით ერითროციტებს 5-6-ჯერ რეცხავენ. ერითროციტებს რეაქციის დადგმამდე ინახავენ მაცივარში. ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონის დასამზადებლად 2,5 მლ ერითროციტებს აზავებენ 97,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში. რეაქციის დადგმამდე ერითროციტებს ბნელსა და გრილ ადგილას ინახავენ.

ჰემოლიზური შრატი (ჰემოლიზინი). ჰემოლიზინის მისაღებად ახდენენ ყოჩის ერითროციტებით ბოცვრების იმუნიზაციას. იმუნიზაციას სხვადასხვა სქემით აწარმოებენ. ისინი შესაყვანი ერითროციტების რაოდენობით და ინექციათა

შორის ინტერვალით განსხვავდება. ბოლო ინექციიდან მე-7-8 დღეს ცხოველს აუღებენ სისხლს და გამოყოფენ შრატს. შრატის მისაღებად სისხლს ტოვებენ თერმოსტატში 37-38^{0}C-ზე, ერთი საათის განმავლობაში, ხოლო შემდეგ მაცივარში 4-5^{0}C-ზე, 18-24 საათი. გამოყოფილი შრატი ფრთხილად გადაქვთ სტერილურ ჭურჭელში. ერითროციტებს დალექვისათვის აჩერებენ გრილ ადგილას ერთი დღე-ღამის განმავლობაში. მეორე დღეს ასეპტიკის დაცვით აგროვებენ სტერილურ ჭურჭელში. ერითროციტების დალექვის დასაჩქარებლად დაბალ ტემპერატურაზე დატოვების ნაცვლად შრატს 1500-2000 ბრ/წთ-ში, აცენტრიფუგებენ 15-20 წთ-ის განმავლობაში.

საკუთარი კომპლემენტის დასაშლელად შრატს 30 წთ-ის განმავლობაში აცხელებენ 57-58^{0}C-ზე. ჰემოლიზურ შრატს (1:1) გლიცერინში აკონსერვებენ. გლიცერინს წინასწარ 15 წუთის განმავლობაში 165^{0}C-ზე საშრობ კარადაში ასტერილებენ.

კფრ-ის კომპონენტების მომზადება და რეაქციის მსვლელობა. 1. გამოსაკვლევი შრატი, ნორმალური და ბრუცელოზზე დადებითი შრატები. შრატებს რეაქციის დადგმის დღეს აცხელებენ 56-57^{0}C–ზე 30 წუთის განმავლობაში.

2. ბრუცელოზის ანტიგენი-ბრუცელოზის აღმძვრელის ექსტრაქტი (მზადდება ბიოქარხნებში).

3. ჰემოლიზინი-სამუშაო "ტიტრით" არანაკლებ 1:1000-ზე (მზადდება ბიოქარხნებში).

4. კომპლემენტი (ახალი, მშრალი ან დაკონსერვებული ზღვის გოჭის სისხლის შრატი).

5. ცხვრის ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონი დამზადებული ფიზიოლოგიურ ხსნარზე (1:40-ზე განზავებული).

ძირითადი ცდის დადგმამდე საზღვრავენ კომპონენტების ტიტრს (დოზისა და განზავების დადგენა). თითეული კომპონენტის ტიტრად მისი უმცირესი რაოდენობა ანდა უდიდესი განზავებაა მიღებული, რომელიც დამახასიათებელ

თვისებას გარკვეულ პირობებში ავლენს (ტემპერატურა, რეაქციის ხანგრძლივობა და სხვა).

რეაქციის დადგმამდე ტიტრავენ ჰემოლიზინს, კომპლემენტს (ბაქტერიოლიზურ და ჰემოლიზურ სისტემაში) და ანტიგენს.

ჰემოლიზინის ტიტრაცია. მისი მიზანია სტანდარტულ პირობებში (რეაქციის ხანგრძლივობა, ტემპერატურა, კომპლემენტის არსებობა, ერითროციტების რაოდენობა), მაქსიმალური ჰემოლიზური თვისების დადგენა. რეაქციაში ჰემოლიზური შრატის ტიტრი ცვალებადია, სხვა კომპონენტებისა და რეაქციის პირობები სტაბილური.

ჰემოლიზინის ტიტრად მიღებულია მისი უმცირესი რაოდენობა, რომელიც ახდენს 0,5 მლ ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონის სრულ ჰემოლიზს 37-38^{0}C—ზე, 10 წუთის განმავლობაში, 0,5 მლ კომპლემენტის (განზავებული 1:20) თანდასწრებით.

ჰემოლიზური შრატის ტიტრაციის დროს გამოსაკვლევი შრატისა და ბრუცელოზის ანტიგენის ნაცვლად, სინჯარებში შეაქვთ თითო-თითო მილილიტრი ფიზიოლოგიური ხსნარი.

ჰემოლიზური შრატის გატიტრის დასადგენად თავდაპირველად ამზადებენ ჰემოლიზინის ძირითად განზავებას 1:100-ზე (0,1 მლ კარბოლის მჟავაში დაკონსერვებული ჰემოლიზური შრატი + 9,9 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი).

ძირითადი განზავებიდან (1:100-ზე) ჰემოლიზური შრატის ტიტრის გათვალისწინებით, რომელიც მითითებულია პრეპარატის ეტიკეტზე, მზადდება თანამიმდევრული განზავებები: 1:500-ზე, 1:800, 1:1000-ზე, 1:1200-ზე და ა.შ. (ცხრილი 12).

ცხრილი 12

ჰემოლიზინის განზავება

№ რიგზე	ჰემოლიზინის განზავება (მლ) ადებულია ძირითადიდან 1:100 (მლ-ში)	დასამატებელი ფიზ. ხსნარი მლ-ში	განზავება	№ რიგზე	ჰემოლიზინის განზავება (მლ) ადებულია ძირითადიდან 1:100 (მლ-ში)	დასამატებელი ფიზ. ხსნარი მლ-ში	განზავება
1	0.5	0.5	1:200	14	0.1	1.3	1:1400
2	0.4	0.6	1:250	15	0.1	1.4	1:1500
3	0.5	1.0	1:300	16	0.1	1.5	1:1600
4	0.25	0.75	1:400	17	0.1	1.6	1:1700
5	0.4	1.6	1:500	18	0.1	1.7	1:1800
6	0.2	1.0	1:600	19	0.1	1.8	1:1900
7	0.2	1.2	1:700	20	0.1	1.9	1:2000
8	0.2	1.4	1:800	21	0.1	2.4	1:2500
9	0.2	1.6	1:900	22	0.1	2.9	1:3000
10	0.1	0.9	1:1000	23	0.1	3.4	1:3500
11	0.1	1.0	1:1100	24	0.1	3.9	1:4000
12	0.1	1.1	1:1200	25	0.1	4.9	1:5000
13	0.1	1.2	1:1300	26	0.1	5.9	1:6000

ჰემოლიზური შრატის ტიტრის დასადგენად შტატივში ათავსებენ სინჯარების ორ რიგს. პარალელურ სინჯარებზე აწერენ შესაბამის განზავებებს. სინჯარების პირველ რიგში ამზადებენ შრატის საჭირო განზავებებს.

უმაღლესი განზავებიდან დაწყებული, 0,5 მლ მოცულობით შესაბამისი განზავებები გადააქვთ მეორე რიგის სინჯარებში და 0,5 მლ კომპლემენტს (განზავება 1:20) და თითო-თითო მილილიტრ ფიზიოლოგიურ ხსნარს უმატებენ. გულდასმით ანჯღრევენ და 10 წუთს წყლის აბაზანაში 37-38^{0}C-ზე ათავსებენ. შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. (ცხრილი 13)

პარალელურად დგამენ სამ კონტროლს: ა) ჰემოლიზური შრატის კონტროლი, კომპლემენტის გარეშე. ბ) კომპლემენტის კონტროლი-ჰემოლიზური შრატის გარეშე. გ) ყველა კომპონენტი ჰემოლიზური შრატისა და კომპლემენტის გარეშე-ერითროციტებისა და ფიზიოლოგიური ხსნარის კონტროლი.

შედეგები. დავუშვათ, რომ სრული ჰემოლიზი აღინიშნა სინჯარაში 1:2000-ზე განზავებაში; შედარებით მაღალ განზავებაში ჰემოლიზი ნაწილიბრივია, ხოლო დანარჩენებში სრულიად არ აღინიშნება მაშასადამე, ჰემოლიზური შრატის ტიტრია 1:2000. (ნორმალური ტიტრი).

ცხრილი 13

ჰემოლიზინის ტიტრაცია

ჰემოლიზინის განზავება	კომპონენტების განზავება												კონტრო-ლი		
	1:500	1:800	1:1000	1:1200	1:1400	1:1600	1:1800	1:2000	1:2500	1:3000	1:3500	1:4000	1:100		
ჰემოლიზინი	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-
კომპლემენტი (1:20)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5	-
ფიზ. ხსნარი	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,5	2,0
ცხვრის ერითროციტები (1:40)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	10 წუთი წყლიან აბაზანაში 37 – 38°C														
შედეგები	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ	ჰს	სჰ	სჰ	სჰ	ნჰ	ნჰ	ჰ.ა	ჰ.ა	ჰ.ა	ჰ.ა	ჰ.ა

პირობითი აღნიშვნები: სჰ – სრული ჰემოლიზი, ნჰ – ნაწილობრივი ჰემოლიზი. ჰა – ჰემოლიზი არ აღინიშნება.

კფრ-ის დასადგმელად ჰემოლიზურ შრატს იღებენ გაორმაგებული ტიტრით. კონკრეტულ შემთხვევაში ჰემოლიზინის ტიტრი 1:1000-ია (2000 : 2 =1000).

კომპლემენტის ტიტრაცია ჰემოლიზურ სისტემაში. მისი მიზანია დროის გარკვეულ მონაკვეთში ერითროციტების ლიზისისათვის საჭირო კომპლემენტის მინიმალური დოზის დადგენა. კომპლემენტს აზავებენ და მზარდი დოზებით 0,3 მლ-ის ინტერვალით შეაქვთ (0,1 0,13 0,16 0,19 მლ და ა.შ.) სინჯარებში (ცხრილი 14)

თითოეულ სინჯარაში 0,5 მლ–მდე უმატებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარის შემავსებელ რაოდენობას. პირველ სინჯარაში 0,4 მლ-ს; მეორეში 0,37-ს მლ. და ა.შ. შემდეგ სინჯარებში შეაქვთ 0,5 მლ. ჰემოლიზური შრატი (სამუშაო ტიტრით) და 0,5 მლ ერითროციტები (განზავება 1:40). ანტიგენისა და შრატის ნაცვლად თითო მილილიტრ ფიზიოლოგიურ ხსნარს უმატებენ. სინჯარებს ანჯღრევენ და ათავსებენ წყლის აბაზანაში 37-38^{0}C-ზე, ინკუბაციიდან 10 წუთის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს.

ცხრილი №14

კომპლემენტის ტიტრაცია ჰემოლიზურ სისტემაში

კომპონენტები	მ ი ლ ი ლ ი ტ რ ე ბ შ ი													
კომპლემენტი (1:20)	0,1	0,13	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49
ფიზიოლოგიური ხსნარი	0,4	0,37	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16	0,13	0,1	0,07	0,04	0,01
ჰემოლიზინი სამუშაო ტიტრით	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ერითროციტები 1:40 (2,5%-იანი)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ფიზ. ხსნარი, ანტიგენის და შრატის ნაცვლად	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	წყლის აბაზანაში 37 – 38°C 10 წუთი													
შედეგები	ჰა	ჰა	ჰა	ნჰ	ნჰ	ნჰ	ნჰ	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ

შენიშვნა: ჰა- ჰემოლიზი არ აღინიშნება, ნჰ-ნაწილობრივი ჰემოლიზი, სჰ-სრული ჰემოლიზი.

კომპლემენტის ტიტრად ჰემოლიზურ სისტემაში მიღებულია მისი უმცირესი რაოდენობა, რომელიც ჰემოლიზინის თანდასწრებით (სამუშაო ტიტრი) ახდენს 0,5 მლ ერითროციტების სრულ დაშლას 37-38°C-ზე ათი წუთის განმავლობაში. მოცემულ შემთხვევაში კომპლემენტის ტიტრია 31.

კომპლემენტის ტიტრაცია ბაქტერიოლიზურ სისტემაში. ემსახურება კომპლემენტის ლიზისის თვისების დადგენას ჰემოლიზური შრატის, სპეციფიკური ანტიგენის, ნორმალური და დადებითი შრატების თანდასწრებით.

კომპლემენტის ტიტრად ბაქტერიოლიზურ სისტემაში მიღებულია მისი მინიმალური რაოდენობა, რომელიც ახდენს ერითროციტების შენაწონის სრულ ლიზისს ნორმალური შრატის მონაწილეობით (ანტიგენით და უანტიგენოდ). ჰემოლიზის ერთდროული შეკავებით ბრუცელოზის დადებით შრატთან და სპეციფიკურ ანტიგენთან 37-38°C-ზე, 20 წუთის განმავლობაში.

რეაქციის კომპონენტებია: ა) ბრუცელოზის დადებითი შრატი, ბ) ორი ნორმალური შრატი, გ) სპეციფიკური ანტიგენი, დ) ჰემოლიზური შრატი, ე) ყოჩის ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონი.

დადებით და უარყოფით შრატებს (ოთხი) აზავებენ 1:10-ზე. შტატივში აწყობენ სინჯარების 2 რიგს (5-6 სინჯარა თითოეულ რიგში). განზავებული შრატები 0,5 მლ მოცულობით შეაქვთ წყვილ სინჯარებში. შრატების ინაქტივაციისათვის სინჯარებს 30 წუთის განმავლობაში ათავსებენ წყლის აბაზანაში 56-57°C-ზე. პირველი რიგის სინჯარებში შეაქვთ 0,5 მლ განზავებული ანტიგენი. მეორე რიგის სინჯარებში ანტიგენის ნაცვლად იმავე რაოდენობით ფიზიოლოგიურ ხსნარს უმატებენ. ორივე რიგის სინჯარებში შეაქვთ 0,5 მლ 1:20-ზე გაზავებული კომპლემენტი, რომლის ტიტრი, ჰემოლიზურ სისტემაში ტიტრზე ორი ინტერვალით ნაკლებია. ასე მაგალითად, თუ ჰემოლიზურ სისტემაში კომპლემენტის

ტიტრი 0,1-ია, განზავებას 0,25-დან (შემდეგ 0,28, 0,31 და ა.შ.) იწყებენ. სინჯარებში კომპლემენტის შემავსებელ რაოდენობამდე (0,5 მლ.) უმატებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარს. სინჯარებს ფრთხილად ანჯღრევენ და ტოვებენ 37-38^{0}C-ზე 20 წუთს. შემდეგ თითოეულ სინჯარაში 1 მლ ჰემოლიზური სისტემა შეაქვთ. სინჯარებს განმეორებით 20 წუთის განმავლობაში ათავსებენ წყლის აბაზანაში 37-38^{0}C-ზე, 20 წუთი. აღრიცხავენ რეაქციის შედეგებს (ცხრილი 15).

მოცემულ შემთხვევაში კომპლემენტის ტიტრია 0,37. რეაქციისთვის საჭირო კომპლემენტის რაოდენობის დასადგენად ახდენენ გაანგარიშებას. დავუშვათ, რომ საჭიროა 100 სინჯარის გამოკვლევა. ბაქტერიოლიზურ სისტემაში კომპლემენტის ტიტრია (1:20 განზავებაში) 0,37. თითოეულ სინჯარაში კომპლემენტის რაოდენობა ტოლია 0,37:20=0,0185. მიღებული რიცხვის 100-ზე გამრავლებით ზუსტად ადგენენ რეაქციისთვის საჭირო კომპლემენტის რაოდენობას, ანუ 1,85მლ-ს, რომელიც უნდა გაიხსნას 48,15 მლ. ფიზიოლოგიურ ხსნარში. ვინაიდან რეაქციის დადგმის პროცესში კომპლემენტის გარკვეული რაოდენობა იკარგება, ამიტომ უმჯობესია დამზადდეს 10-15 ღოზით მეტი.

ცხრილი №15

კომპლემენტის ტიტრაცია ბაქტერიოლიზურ სისტემაში

კომპონენტები	კომპონენტები მილილიტრებში							
კომპლემენტი (1:20)	0,25	0,28	0,31	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46
ფიზიოლოგიური ხსნარი	0,25	0,22	0,19	0,16	0,13	0,10	0,07	0,04
ანტიგენი	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

ნორმალური შრატი	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ცხვრის ერითროციტები (2.5%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ჰემოლიზური შრატი (სამუშაო განზავება)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
შედეგები	ნჰ	ნჰ	ნჰ	ნჰ	სჰ	სჰ	სჰ	სჰ

შენიშვნა: ნჰ-ნაწილობრივი ჰემოლიზი, სრული ჰემოლიზი.

კომპლემენტის ტიტრია 0.37.

ანტიგენის ტიტრაცია. ანტიგენის ტიტრი დადგენილია ბიოქარხნის მიერ და პრეპარატის ეტიკეტზეა აღნიშნული. ლაბორატორიაში ანტიგენის ტიტრს ამოწმებენ ყოველი ახალი სერიის მიღებისას ან დადგენილი ვადის გასვლის შემდეგ. რეაქციაში ერთიანი მშრალი ბრუცელოზური ანტიგენის გამოყენების შემთხვევაში, რომლის თითოეული მილილიტრი 20 მლრდ მიკროორგანიზმულ უჯრედს შეიცავს, რეაქციის დადგმის წინ აზავებენ 1:100-ზე. ანტიგენი მდგრადია და არ მოითხოვს ტიტრაციას ყოველი ცდის დადგმის წინ.

ანტიგენის ტიტრის დასადგენად საჭიროა ორი დადებითი (+ + + + და + + +) და ერთი ნორმალური შრატი. შრატებს წინასწარ აზავებენ (ცხრილი 16).

ცდებში აუცილებელია ანტიგენის ანტიკომპლემენ-ტარობის დადგენა. ამ მიზნით ანტიგენს აზავებენ 1:10 –ზე და 0,5 მლ-ის მოცულობით შეაქვთ საკონტროლო სინჯარაში, რომელშიც შრატის ნაცვლად ფიზიოლოგიური ხსნარია ჩამოსხმული.

რეაქციის დადგმამდე ახდენენ გამოსაკვლევი შრატების ინაქტივაციას. რეაქციის დადგმის პირობები სტანდარტულია. რეაქციაში იკვლევენ დადებით და უარყოფით შრატებს ყველა

განზავებაში. ერითროციტების ჰემოლიზის პროცენტის განსაზღვრა სტანდარტული სითხით ხორციელდება.

მაღალი განზავების შრატებში მკვეთრად გამოხატული ჰემოლიზის შეკავება აღნიშნულია ანტიგენის 1:150-ზე განზავებაში (ცხრილი 17) რომელიც მიღებულია სამუშაო ტიტრად. ანტიგენის ტიტრად მიჩნეულია მისი განზავება, რომელიც ახდენს ჰემოლიზის შეკავებას სხვადასხვა აქტივობის განზავებულ დადებით შრატებთან.

ცხრილი 16

ანტიგენის ტიტრაცია

კომპონენტები	ანტიგენის განზავება							კონტროლი
	1:500	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400	1:500	1:10
ანტიგენი (მლ–ში)	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5
შრატი (მლ–ში)	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5
კომპლემენტი (სამუშაო ტიტრი) მლ–ში	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5
ფიზიოლოგიური ხსნარი მლ–ში	-	-	-	-	-	-	-	0.5
წყლის აბაზანაში 37 – 38^{0}C 20 წუთი								
ჰომოლიზინი (სამუშაო ტიტრი) მლ–ში	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5
ერითროციტების 2,5% შენაწონი (მლ–ში)	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5	0,5	0.5

ცხრილი 17

ჰემოლიზის შეკავება

შრატის განზავება		ანტიგენის განზავება							
		1:10	1:50	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400	1:500
1.	1:10	0	0	0	0	0	10	20	40
2.	1:25	0	0	0	0	0	10	30	50
3.	1:50	10	0	0	0	10	20	40	60
4.	1:75	20	10	10	0	10	40	60	100
5.	1:100	20	20	20	10	40	100	100	100

ძირითადი ცდა. რეაქცია იდგმება 2,5 მლ-ის მოცულობით. სინჯარებს ათავსებენ წყლის აბაზანაში 37-38^{0}C-ზე. კომპლემენტის ფიქსაციის და ჰემოლიზის რეაქციის ხანგრძლივობა 20 წუთია (ცხრილი 18). გამოსაკვლევ შრატებს წინასწარ 30 წთ-ის განმავლობაში აცხელებენ 56-57^{0}C-ზე. შრატებს იკვლევენ 0,1 მლ და 0,05 მლ მოცულობაში. ერთდროულად დგამენ კონტროლს 0,1 მლ მოცულობით (შრატი ანტიგენის გარეშე).

მასობრივი გამოკვლევისას პირველი რეაქცია იდგმება შრატის 0,1 მლ მოცულობაში კონტროლის გარეშე. ჰემოლიზის ამა თუ იმ ხარისხში შეკავების შემთხვევაში რეაქციას დგამენ განმეორებით.

ძირითადი ცდის კონტროლები. 1). ბრუცელოზის დადებითი და უარყოფითი შრატები, ანტიგენით და ანტიგენის გარეშე 0,5 მლ მოცულობაში. 2). ბრუცელოზური ანტიგენი ორმაგი მოცულობით, შრატის გარეშე. 3). 0,5 მლ ერითროციტების 2,5%-იანი შენაწონი + 1 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი + 0,5 მლ კომპლემენტი "სამუშაო ტიტრით."

ბრუცელოზის მაგალითზე შრატის სადიაგნოსტიკო დოზა, რომლის მიხედვითაც რეაქციის შედეგები 2,5 მლ მოცულობაში აღირიცხება 0,1 მლ-ია.

რეაქციის შედეგებს აღრიცხავენ ორჯერ: პირველად სინჯარების წყლის აბაზანიდან ამოღებისთანავე, ხოლო მეორედ ოთახის ტემპერატურაზე სინჯარების დაყოვნებიდან 12

საათის შემდეგ. აღნიშნული პერიოდის განმავლობაში არაჰემოლიზირებული ერითროციტები დაილექება.

ცხრილი 18

კ ფ რ ძირითადი ცდის სქემა

კომპონენტები	გამოსაკელი შრატის ნომრები								დადებითი შრატის კონტროლი		ნორმალური შრატის კონტროლი		კონტროლები		
	1		2		3		4		++++	++			ანტიგენი	ერითროციტები	ჰემოლიზი
შრატი (მლ-ში)	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	-	-	-
ფიზ. ხსნარი (მლ-ში)	0,05	0,9	0,45	0,9	0,45	0,9	0,45	0,9	0,45	0,9	0,45	0,9	-	2,0	1,0
	წყლის აბაზანაში 56-57°C 30 წუთი														
ანტიგენი საბუნაო დოზით (მლ-ში)	0,05	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	1,0	-	-
კომპლემენტის ტიტრი ბაქტერიოლიზურ სისტემაში (მლ-ში)	0,05	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
	წყლის აბაზანაში 37-38°C 20 წუთი														
ჰემოლიზინი (საბუნაო ტიტრი მლ-ში)	0,05	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
ერითროციტების 2,5%-იანი სუსპენზია (მლ-ში)	0,05	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

ჰემოლიზის შეკავების ინტენსივობას გამოსახავენ ჯვრებით:

(+ + + +)- ჰემოლიზის სრული შეკავება. სითხე უფერულია, სინჯარის ძირზე ერითროციტების ნალექი მნიშვნელოვანია.

(+ + +)- ჰემოლიზის ხილული შეკავება. სითხე უფერულია, სინჯარის ძირზე ერითროციტების ნალექი მნიშვნელოვანია.

(+ +)- ჰემოლიზის ნაწილობრივი შეკავება. სითხე ინტენსიურად შეღებილია, სინჯარის ძირზე ერითროციტების ნალექი კომპაქტურია.

(+)- ჰემოლიზის ნაწილობრივი შეკავება, სინჯარის ძირზე ერითროციტების ნალექი უმნიშვნელოა.

(±)- ჰემოლიზის კვალის სახით შეკავება. ერითროციტების ნალექი ფაშარია.

(-) სრული ჰემოლიზი. სითხე შეღებილია ინტენსიურად, სინჯარის ძირზე ერითროციტების ნალექი არ აღინიშნება.

ჯვრებით გამოსახული შეკავების ხარისხი შეესაბამება ერითროციტების ჰემოლიზს პროცენტებში.

(+ + + +)	ერითროციტების ჰემოლიზი	0-დან 10-მდე
(+ + +) -	ერითროციტების ჰემოლიზი	10-დან 40-მდე
(+ +)-	ერითროციტების ჰემოლიზი	40-დან 50-მდე
(+)-	ერითროციტების ჰემოლიზი	50-დან 70-მდე
( )-	ერითროციტების ჰემოლიზი	70-დან 90-მდე
(-) -	ერითროციტების ჰემოლიზი	90-დან 100-მდე

ჰემოლიზის პროცენტის მიხედვით, რეაქციის შედეგების ზუსტი აღრიცხვისათვის გამოიყენება ფერადი შკალა. ამ მიზნით იღებენ 5 სინჯარას სრული ჰემოლიზით (100%). სითხეებს აერთებენ. მიღებული ნარევიდან ამზადებენ თანმიმდევრულ განზავებას (ცხრილი 19). განზავების ზრდის შესაბამისად ერითროციტების ჰემოლიზი კლებულობს.

ძირითადი და სტანდარტული ცდის სინჯარებში სითხეთა ფერების შედარებით ადგენენ ჰემოლიზის პროცენტს, რომელიც გადაჰყავთ ჯვრებში.

რეაქციის შედეგებს წარმოთქვავენ სიტყვებით დადებითი, საეჭვო, უარყოფითი, ჯვრების ჩვენებით.

ბრუცელოზზე რეაქციის შედეგების შეფასება ხდება სქემით:

(+ + + +), (+ + +) -რეაქცია დადებითია

(+ +), (+) -რეაქცია საეჭვოა

(+) (-) -რეაქცია უარყოფითია

ჰემოლიზური სითხის განზავების სქემა (ცხრილი 19)

კომპონენტები	ჰემოლიზი პროცენტებში									
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
ჰემოლიზირებული სითხე (მლ-ში)	0,2	0,4	0,6	0,8	1	1,2	1,4	1,6	1,8	2
ფიზიოლოგიური ხსნარი (მლ-ში)	1,8	1,6	1,4	1,2	1	0,8	0,6	0,4	0,2	-

კომპლემენტის გახანგრძლივებული ფიქსაციის რეაქცია

კომპლემენტის ფიქსაციას ახდენენ დაბალ ტემპერატურაზე, რაც ზრდის რეაქციის მგრძნობელობას და სპეციფიკურობას. რეაქციის დასადგმელად იღებენ 3 სინჯარას. პირველ სინჯარაში 0,1 მლ, მეორეში 0,05 მლ, ხოლო მესამეში 0,2 მლ სისხლის შრატი შეაქვთ. სინჯარებს თანმიმდევრულად უმატებენ ფიზიოლოგიური ხსნარის შემავსებელ რაოდენობას, კერძოდ: პირველში 0,4 მლ-ს, მეორეში 0,45 მლ-ს, და მესამეში

0,3 მლ-ს. პირველი და მეორე სინჯარები ძირითადია (ანტიგენით), მესამე სინჯარა საკონტროლოა (ანტიგენის გარეშე). განზავებულ შრატებს 30 წთ-ს აცხელებენ 56-57^{0}C-ზე წყლის აბაზანაში. პირველ და მეორე სინჯარაში 0,5-0,5 მლ მოცულობით შესაბამისი ტიტრის ბრუცელოზური ანტიგენი (არაკორპუსკულური) შეაქვთ. სამივე სინჯარას ცალ-ცალკე უმატებენ 0,5 მლ კომპლემენტს. სინჯარებს თავდაპირველად 16-18 საათის განმავლობაში 0-დან 4^{0}C-ზე, შემდეგ 10-12 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე აჩერებენ. ყველა სინჯარებში შეაქვთ თითო-თითო მილილიტრი ჰემოლიზური სისტემა. სინჯარებს ანჯღრევენ და 20 წუთის განმავლობაში 37-39^{0}C-ზე წყლის აბაზანაში ათავსებენ. რეაქციის შედეგების აღრიცხვას იწყებენ საკონტროლო სინჯარიდან (ერითროციტების სრული ჰემოლიზი). რეაქციის შედეგების შეფასება ხდება სინჯარების წყლის აბაზანიდან ამოღებისთანავე ან 2 საათის შემდეგ, ერითროციტების ნაწილობრივი დალექვისა და სითხის გამჭირვალების დაწყების მომენტში.

კომპლემენტის გახანგრძლივებული ფიქსაციის რეაქცია საჭიროებს იგივე კონტროლებს, რასაც ჩვეულებრივი მეთოდით დადგმული რეაქცია.

კომპლემენტის გახანგრძლივებული ფიქსაციის რეაქცია მოითხოვს ჰემოლიზური სისტემის ტიტრაციას. ამ მიზნით იღებენ 1:5-ზე განზავებულ ბრუცელოზზე ორ უარყოფით შრატს და 30 წუთის განმავლობაში წყლის აბაზანაში 56-57^{0}C-ზე აცხელებენ. თითოეული შრატი 0,5 მლ-ის მოცულობით 7-7 სინჯარაში შეაქვთ. სინჯარებს 0,5 მლ (1:30-ზე განზავებული) კომპლემენტს და 0,5 მლ ანტიგენს "სამუშაო ტიტრით" უმატებენ. სინჯარებს 16-18 საათის განმავლობაში ტოვებენ 0-4^{0}C-ზე, პარალელურად დგამენ ჰემოლიზურ სისტემას. ამ მიზნით თანაბარი მოცულობით იღებენ ცხვრის ერითროციტების 4%-იან სუსპენზიას და მეოთხე ხარისხამდე განზავებულ ჰემოლიზინს.

სიცივეში დაყოვნების შემდეგ სინჯარებს ათავსებენ ოთახის ტემპერატურაზე. სინჯარების ორივე რიგს უმატებენ ჰემოლიზურ სისტემას. ჩვეულებრივ 0,2-დან იწყებენ. ყოველ შემდგომ სინჯარაში დოზას 0,2 მლ-ით ზრდიან. სინჯარებს ანჯღრევენ. წყლის აბაზანაში 37-38^{0}C-ზე 20 წუთის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს. ჰემოლიზური სისტემის ტიტრად ანუ სამუშაო დოზად მიღებულია მისი უდიდესი რაოდენობა, რომლის დროსაც აღინიშნება სრული ჰემოლიზი. აღნიშნული დოზა ძირითად ცდაში გამოიყენება.

ნეიტრალიზაციის რეაქცია

ნეიტრალიზაციის რეაქცია ბაქტერიოლოგიაში ბაქტერიული ტოქსინის სახის და ანტიტოქსიური შრატის აქტივობის დასადგენად, ხოლო ვირუსოლოგიაში სპეციფიკური შრატებით ვირუსთა ტიპირებისათვის გამოიყენება.

რეაქციის დადგმის მეთოდიკა. სინჯარებში შეაქვთ თითო-თითო მილილიტრი (გაშეშების ტოქსინის 1000 სასიკვდილო დოზა) და სპეციფიკური შრატი (ცვალებადი კონცენტრაცია). სინჯარებს 1-2 საათის განმავლობაში თერმოსტატში ათავსებენ. თითოეულ სინჯარის შიგთავსით ასნებოვნებენ ორ-ორ ლაბორატორიულ ცხოველს. შრატით ტოქსინის განეიტრალების შემთხვევაში ცხოველი ცოცხალი რჩება.

შრატის უმცირესი რაოდენობა, რომელიც ტოქსინს ანეიტრალებს მიღებულია ანტიტოქსიური შრატის აქტივობის ერთეულად (AE). რამდენადაც მცირეა მისი რაოდენობა, იმდენად აქტიურია შრატი.

ვირუსული ჰემ-აგლუტინინების ნეიტრალიზაციის რეაქცია *(ვჰნრ)*

ვირუსული ჰემ-აგლუტინინების ნეიტრალიზაციის რეაქცია გამოიყენება დაავადებამოხდილი ცხოველის სისხლში, მსხვილი რქიანი პირუტყვის პარაგრიპ-3-ის საწინააღმდეგო სპეციფიკური ანტისხეულების აღმოსაჩენად.

რეაქცია იდგმება სპეციალურ ფოსოიან პანელში მიკრო მეთოდით. გამოსაკვლევი სისხლის შრატს აცხელებენ 56-58^{0}C-ზე 30 წთ. შრატს აზავებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1:40-ზე ან 1:32-ზე და 0,025 მლ-ის მოცულობით ჩამოასხამენ (თითო წვეთი) მიკროტიტრატორით, პანელის 10-12 ფოსოში, ჰორიზონტალური მიმართულებით. პირველ რიგში შრატის ნაცვლად შეაქვთ 0,025 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი. ვერტიკალური რიგის ფოსოებში შეაქვთ 0,025 მლ სხვადასხვა გაზავების ჰემაგლუტინაციის თვისების ანტიგენი. რეაქციისათვის წინასწარ ამზადებენ ანტიგენის ორჯერად განზავებას 1:2 დან 1:512-1:1024-მდე. ანტიგენის განზავება უნდა იყოს ეტიკეტზე მოცემულ ტიტრზე ერთით მეტი. ანტიგენის თითოეული განზავება უმაღლესიდან დაწყებული შეაქვთ ერთ ვერტიკალურ რიგში. ანჯღრევენ. შრატისა და ანტიგენის კონტაქტიდან 30-60 წთ–ის შემდეგ ფოსოებში ცალ-ცალკე უმატებენ 0,025 მლ ზღვის გოჭის ერითროციტების 1%-იან შენაწონს. რეაქციის შედეგებს აღრიცხავენ 60-90 წთ-ის შემდეგ. თავდაპირველად საკონტროლო რიგში ადგენენ ჰემაგლუტინაციური ერთეულის რაოდენობას *(ჰაე)* ანტიგენის თითეული განზავებისათვის.

ერთ ჰემაგლუტინაციურ ერთეულად (ჰაე) მიღებულია ანტიგენის უმაღლესი განზავება, რომელიც ახდენს ერითროციტების სრულ აგლუტინაციას.

პარალელურად შრატებს ამოწმებენ ერიტროციტების სპონტანურ აგლუტინაციაზე, მათი დალექვით ფოსოების ვერტიკალურ რიგში (მარჯვნივ), რომელიც შეიცავს 1 *ჰაე*-ზე

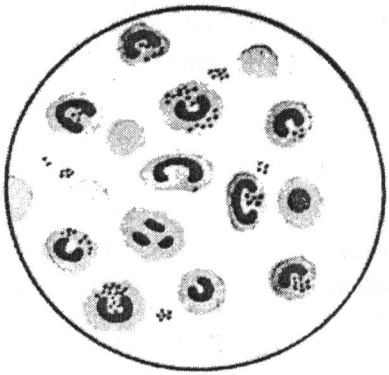
ნაკლებს. შემდეგ საზღვრავენ ანტიგენის *ჰე-ის* რაოდენობას, რომელიც განიცდის განეიტრალებას თითოეული შრატით. მისი საშუალებით ანგარიშობენ ანტისხეულების ტიტრს. ანტისხეულების ტიტრი შეესაბამება შრატით განეიტრალებულ ჰემაგლუტინაციურ ერთეულს × 10. ასე მაგალითად: თუ შრატმა გაანეიტრალა ანტიგენის 8 *ჰე,* მაშინ მისი ტიტრია 1:80-ია. იმ შემთხვევაში, როცა შრატი განზავებულია 1:32-ზე, *ჰე* რიცხვს ამრავლებენ 8-ზე.

ოფსონო-ფაგოციტური რეაქცია

ოფსონინებად წოდებულია სპეციფიკური ანტისხეულები, რომლებიც ბაქტერიებს ფაგოციტოზისათვის ამზადებენ (opsono-- საკვებად მომზადებას ნიშნავს). ფაგოციტოზით ხორციელდება ორგანიზმში შეჭრილი უცხო სხეულების, მათ შორის ბაქტერიების შთანთქმა და მონელება. ფაგოციტოზის თვისებით მაკროფაგები-მონოციტები და მიკროფაგები-ჩხირბირთვა და სეგმენტბირთვა ნეიტროფილებია აღჭურვილი. მაკროფაგები ახდენენ კაპსულიანი ბაქტერიების, ხოლო მიკროფაგები უკაპსულოთა ფაგოციტოზს. ოფსონინები იმყოფება სისხლში. მისი რაოდენობა და ლეიკოციტების ფაგოციტოზის თვისება ცხოველთა იმუნიზაციისა და ინფექციური დაავადებების მოხდის შემდეგ მკვეთრად მატულობს.

რეაქციის დადგმის მეთოდიკა. სინჯარაში შეაქვთ ერთი მოცულობა ლიმონმჟავა ნატრიუმის 2%-იანი სტერილური ხსნარი, ორი მოცულობა გამოსაკვლევი ნატივური სისხლი და ერთი მოცულობა ანტიგენი. ანტიგენის კონცენტრაცია მერყეობს მიკროორგანიზმის სახეობაზე დამოკიდებულებით. კერძოდ: 0,25 მლ ლიმონმჟავა ნატრიუმის 2%-იან ხსნარს, 0,5 მლ გამოსაკვლევი სისხლი და 0,25 მლ ბაქტერიალური კულტურის (აგარინი) 2 მლრდ-იანი შენაწონი ემატება. კომპონენტებს გულდასმით ურევენ და 30 წუთი წყლის

აბაზანაში 37°C–ზე ათავსებენ. ინკუბაციის შემდეგ ჰომოგენური შენაწონის მისაღებად სინჯარებს ანჯღრევენ. სინჯარებიდან პიპეტით იღებენ სისხლს და პატარა წვეთს სასაგნე მინის ერთ-ერთ კიდეში ათავსებენ. სპეციალური სასაგნე მინით ამზადებენ ნაცხს. ნაცხს ოთახის ტემპერატურაზე აშრობენ. აფიქსირებენ სპირტ-ეთერის ხსნარით 5-8 წუთის განმავლობაში. ნაცხებს ღებავენ რომანოვსკის მეთოდით. პრეპარატს ჩარეცხავენ გამოხდილი წყლით, აშრობენ და იკვლევენ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით, ითვლიან 100 ლეიკოციტს (ნეიტროფილი) და ფაგოციტირებულ ბაქტერიებს (ნახ. 39)



ნახ. 39. სტაფილოკოკების ფაგოციტოზი.

სათანადო გაანგარიშებით ადგენენ ფაგოციტურ ინტენსივობას (რიცხვს) ერთი ლეიკოციტისათვის. მაგალითად, 100 ლეიკოციტმა შთანთქა 400 ბაქტერია. მაშასადამე ფაგოციტური რიცხვი 4-ის (400:100 =4) ტოლია.

ორგანიზმის იმუნობიოლოგიური ძვრების დადგენის მიზნით ანგარიშობენ ოფსონურ ინდექს, რომელიც იმუნური ორგანიზმის, ნორმალური სისხლის ოფსონურ რიცხვთან შეფარდების ტოლია. დავუშვათ, რომ იმუნური სისხლის ოფსონური რიცხვი 4-ია, ნორმალურისა 2. მაშასადამე, ოფსონური ინდექსი 2-ის ტოლია (4 : 2 = 2).

ფლოკულაციის რეაქცია

ფლოკულაციის რეაქცია შეიმუშავა რამონმა დიფთერიის ტოქსინისა და ანატოქსინის ურთიერთქმედების შესასწავლად. რეაქცია მიმდინარეობს ფლოკულატის გამოყოფით, რომელიც იძლევა ოპალესცენციას.

რამონის მიერ შემუშავებული ფლოკულაციის რეაქციის პრინციპი წარმატებით გამოიყენება სამედიცინო და საველერინარო პრაქტიკაში.

გაშეშების ანტიტოქსიური შრატის ტიტრირება. რეაქციის დასადგმელად საჭიროა შემდეგი კომპონენტები: სტანდარტული საფლოკულაციო ტოქსინი ან ანატოქსინი. მათი ტიტრის დადგენა წარმოებს სტანდარტული საფლოკულაციო შრატით.

გაშეშების სტანდარტული საფლოკულაციო შრატი შეიცავს 200 AE /მლ-ში. ლაბორატორიებს სტანდარტული შრატის გარდა უნდა ჰქონდეს ადგილობრივი დადებითი შრატიც.

სტანდარტული საფლოკულაციო ტოქსინი ან ანატოქსინი უნდა იძლეოდეს ფლოკულაციას მოკლე დროში და როგორც წესი, ერთ ზონაში. ტოქსინის ტიტრია 15-20 AE (ნატივური ანტიგენი). სტანდარტულ ანატოქსინად გამოიყენება გასუფთავებული ანტიგენი, რომლის ტიტრი შეადგენს 40-50 AE-ს. მისი 1 AE ანეიტრალებს გაშეშების ტოქსინის 1000 სასიკვდილო დოზას 16-18 გ ცოცხალი მასის თეთრ თაგვებისათვის. ანტიგენის 1 AE შეესაბამება ანალოგიური შრატის ერთ ანტიტოქსიურ ერთეულს.

ფლოკულაციის რეაქციის დასადგმელად აუცილებელია წინასწარ შედგეს შრატის ტიტრაციის ცხრილი, 1 მლ მოცულობის მიმართ, AE-ის სხვადასხვა შემცველობაზე. გაანგარიშებას ახდენენ შემდეგი თანმიმდევრობით: თუ სტანდარტული ანატოქსინის ტიტრი ტოლია 40 AE-ს / მლ-ში, მაშინ მისი 0,5 მლ შეიცავს 20 AE-ს, ეს ტიტრი უნდა გაიყოს ტიტრის

მაჩვენებელზე (1 AE; 5 AE; 10 AE; 25 AE; 50 AE; 75 AE; 100 AE; 150 AE და ა.შ.) ამრიგად, მიიღება განუზავებელი შრატის ის რაოდენობა რომელიც იხმარება ანტიტოქსინის სხვადასხვა რაოდენობის დასადგენად.

რეაქციის დადგმა. სინჯარებში შეაქვთ შრატის კლებადი რაოდენობა, ტიტრაციის დასახული ზონის ფარგლებში. სინჯრებს უმატებენ მუდმივი მოცულობით (0,5 ან 1 მლ) სტანდარტულ საფლოკულაციო ტოქსინს ან ანატოქსინს. ურევენ და ათავსებენ აბაზანაში 40-50^{0}C-ზე. სინჯარას ტოვებენ ინიციალური ფლოკულაციის გამომუდავნებამდე, რომელიც გვიჩვენებს გამოსაკვლევი შრატის ტიტრს.

გაშეშების ტოქსინის და ანატოქსინის ტიტრაცია. რეაქციაში ანტიგენის ტიტრაციისათვის საჭიროა ერთი ან რამდენიმე სტანდარტული საფლოკულაციო შრატი, რომელსაც იღებენ საწარმოო შრატებიდან, შემდეგ თავისებურებათა გათვალისწინებით:

1. რეაქციაში მიზანშეწონილია ჰიპერიმუნიზაციის პირველი ციკლის შრატის გამოყენება.

2. შრატი საჭიროა ახდენდეს სტანდარტული ტოქსინის ან ანატოქსინის ფლოკულაციას ერთ ზონაში. სტანდარტული საფლოკულაციო ტოქსინის ინიციალური ფლოკულაცია ნეიტრალურია.

3. შრატი ფლოკულაციას უნდა ახდენდეს 30 წუთში. სტანდარტული შრატის სახით შეიძლება გასუფთავებული ან ნატივური შრატების გამოყენება. გასუფთავებული შრატის ტიტრი უნდა იყოს 600-700 AE, ხოლო ნატივურისა 300-400 AE.

4. სტანდარტული შრატით, დიდი რაოდენობით ანატოქსინის გამოკვლევისას ფლოკულაციისა და *in vivo* მაჩვენებელი დაახლოებით ერთმანეთს უნდა ემთხვეოდეს.

პრეპარატის დამამზადებელ საწარმოში სტანდარტული საფლოკულაციო შრატით ტიტრაციას ექვემდებარება ყველა უცნობი ანტიგენი.

რეაქციის დადგმა: სტანდარტულ საფლოკულაციო შრატს აზავებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარში ინსტრუქციის მიხედვით 100 AE ტიტრამდე. განზავებულ შრატს ჩამოასხამენ სინჯარებში სავარაუდო ტიტრის გათვალისწინებით: 2: 4: 6: 8: 10: 12: 16: 20: 24: 28: 32 AE და ა.შ. თითოეულ სინჯარაში უმატებენ თითო მლ გამოსაკვლევ ანტიგენს. ურევენ გულდასმით. სინჯარებს ათავსებენ წყლის აბაზანაში 37-^{0}C-ზე. შედეგებს აღრიცხავენ ყოველ 15 წუთში. ანტიგენის ტიტრად მიჩნეულია შრატის მაქსმალური განზავება, რომელშიაც აღინიშნება დადებითი რეაქცია.

ლეციტო–ვიტელონური რეაქცია

სინჯარებში შეაქვთ გამოსაკვლევი შრატის სხვადასხვა განზავება 0,2 მლ მოცულობით, უმატებენ 0,3 მლ სტანდარტულ ტოქსინს და 0,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარს, რომელიც 0,27% $CaCl_2$-ს შეიცავს. სინჯარებს 45 წუთის განმავლობაში ათავსებენ 37°C–ს ტემპერატურაზე. 0,2 მლ მოცულობით უმატებენ კვერცხის ყვითრის ემულსიას. სინჯარებს თავდაპირველად ტოვებენ თერმოსტატში 37°C-ზე ორი საათის განმავლობაში, ხოლო შემდეგ 20 საათს მაცივარში. რეაქციის შედეგებს აღრიცხავენ 2 და 20 საათის შემდეგ. შრატის ტიტრად მიღებულია მისი მაქსიმალური განზავება რა დროსაც ოპალესცენცია არ აღინიშნება.

საკონტროლოდ ტოქსინის საცდელ დოზას უმატებენ სტანდარტული შრატის 0,1 AE-ს. საკონტროლო სინჯარაში წარმოიქმნება შემღვრევა.

ყვითრიდან ემულსიის დასამზადებლად ერთი კვერცხის ყვითრს ხსნიან 250 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და 30 წუთის განმავლობაში აცხელებენ 60°C-ზე წყლის აბაზანაში; აცივებენ და უმატებენ სტერილურ ცარცს. ნარევს ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში და 0,1% ბორის მჟავით აკონსერვებენ.

ლიმეს-ჰემოლიზის რეაქცია

სტაფილოკოკური d-ანტიტოქსიური ანტისხეულების დასადგენათ ახდენენ ალფა-ტოქსინის ჰემოლიზური თვისების განსაზღვრას ნეიტრალიზაციის რეაქციაში (LH).

რეაქციის კომპონენტები:

1. სტაფილო-ტოქსინი.
2. ბოცვრის ერითროციტები.
3. სტანდარტული ანტისტაფილოკოკური შრატი.
4. გამოსაკვლევი შრატი ან გამა-გლობულინი.
5. ფიზიოლოგიური ხსნარი. pH=7.0-7.2

ცდის დადგმა: გამოსაკვლევ შრატს ან გამა-გლობულინს აცხელებენ 56°C-ზე, 20წთ-ის განმავლობაში. ინაქტივირებულ პრეპარატს აზავებენ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1:5-ზე; 1:10-ზე და ა.შ. სტაფილოკოკურ ტოქსინს აზავებენ შეფარდებით LH/5. შესაბამისი განზავების შრატებს ჩამოასხამენ სინჯარებში 0,5 მლ მოცულობით. თითოეულ სინჯარაში შეაქვთ 0,5 მლ განზავებული ტოქსინი. სინჯარებს ანჯღრევენ და უმატებენ თითო წვეთს 0,05 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარით გარეცხილ ერითროციტების შენაწონს. სინჯარებს აყოვნებენ ერთი სთ-ს 37°C-ზე, ხოლო შემდეგ ერთი საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე და აღრიცხავენ შედეგებს.

შრატის მაქსიმალური განზავება რომლის დროსაც ტოქსინი (LH/5) იძლევა ჰემოლიზს არაუმეტეს 2 ჯვარი, შეიცავს ანტიტოქსინის საერთაშორისო ერთეულის 1/5-ს. 1 მლ განუზავებელ შრატი ან გამაგლობულინი შეიცავს მოცემული მაქსიმალური განზავების სიდიდეზე 5-ჯერ ნაკლებს.

ძირითადი ცდის პარალელურად იდგმება კონტროლები: ა) ტოქსინის კონტროლი, შრატის გარეშე (0,5 მლ ტოქსინი LH/5 +0,5 მლ ფიზ ხსნარი+ერთი წვეთი ბოცვრის ერითროციტები)- რეაქცია დადებითია: ბ) ერითროციტების კონტროლი (1 მლ

ფიზ ხსნარი + 1 წვეთი ბოცვრის ერითროციტები) - რეაქცია უარყოფითია.

პლაზმო–კოაგულაციის რეაქცია

პლაზმო–კოაგულაციის რეაქცია პათოგენურ სტაფილოკოკებში ფერმენტ კოაგულაზას აღმოსაჩენად გამოიყენება. აღნიშნული ფერმენტი ახდენს ბოცვრის ნორმალური პლაზმის შედედებას.

ბოცვრის პლაზმა ამპულებშია გამშრალი. თვითოეული ამპულა 1 ან 2 მლ ბოცვრის პლაზმას შეიცავს.

რეაქციის დადგმის მსვლელობა. მშრალ პლაზმას ხსნიან სტერილურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1 : 5 შეფარდებით (1 მლ პლაზმა + 4 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი) და 0,5 მლ მოცულობით შეაქვთ სინჯარებში. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით პლაზმაში სტაფილოკოკის გამოსაკვლევ კულტურას თესავენ.

კონტროლისათვის იღებენ ორ სინჯარას პლაზმით. პირველში თესავენ ფერმენტ კოაგულაზას შემცველ სტაფილოკოკის კულტურას, მეორეში კულტურას, რომელიც აღნიშნულ ფერმენტს არ შეიცავს. ძირითად და საკონტროლო სინჯარებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C-ზე და ყოველი 1-2-3-18 და 24 საათის შემდეგ აღრიცხავენ პლაზმის შედედებას. დადებით შემთხვევაში პლაზმის შედედების ხარისხი მხედველობაში არ მიიღება.

ლიმფო-ციტოტოქსიური რეაქცია

ლიმფო-ციტოტოქსიური რეაქცია იზოიმუნური და ჰეტეროიმუნური ანტისხეულების აქტივობის განსაზღვრისათვის გამოიყენება. რეაქცია კომპლემენტის მონაწილეობით მიმდინარეობს. რეაქციისათვის ლიმფოციტებს ლიმფური კვანძებიდან, ელენთიდან და თიმუსიდან ღებულობენ.

რეაქციის დადგმის მსვლელობა. გამოსაკვლევ იზოიმუნურ შრატს 1:2-დან, ხოლო ჰეტეროიმუნურს 1:10-დან დაწყებული თანმიმდევრულად აზავებენ. თითოეული განზავების 0,2 მლ გადააქვთ სუფთა სინჯარებში და უმატებენ 0,1 მლ ლიმფოციტების შენაწონს. სინჯარებს ათავსებენ 37°C-ზე. თითოეულ სინჯარაში შეაქვთ 0,1 მლ კომპლემენტი (ზღვის გოჭის ან ბოცვრის სისხლის შრატი) ანჯღრევენ და 30 წუთის განმავლობაში ათავსებენ თერმოსტატში. შემდეგ სინჯარებში შეაქვთ 0,3 მლ ex tempore დამზადებული მეთილენის ლურჯის 0,1%-ანი ხსნარი, (ერთი მოცულობა ტრიპანის ლურჯის 0,125%-იანი ხსნარი, NaCI-ის 4,25%-იანი ხსნარის 1/4 მოცულობა). სინჯარებიდან იღებენ თითო-თითო წვეთს, ათავსებენ სასაგნე მინაზე და აფარებენ საფარ მინას. მიკროსკოპში ითვლიან შეღებილი და შეუღებავი ლიმფოციტების რაოდენობას. შედეგების აღრიცხვას და რეაქციის შეფასებას ახდენენ შეღებილი მკვდარი უჯრედების პროცენტის დადგენით შრატის მოცემული განზავებისათვის.

იმუნო-ფლუორესცენციის რეაქცია

იმუნო-ფლუორესცენციის რეაქცია დამყარებულია ულტრაიისფერი სხივების ზემოქმედებით ზოგიერთი ორგანული და არაორგანული ნივთიერების ნათებაზე.

ფლუორესცენცია არის პირველადი და მეორადი. პირველადით აღჭურვილია ყველა სხეული, რომლებიც ბუნებრივად შეიცავენ ფლუორებად ნივთიერებებს. მეორადის მიღება შეიძლება ფლუორებადი ნივთიერებით სპეციფიკური შრატის დამუშავების შედეგად. ფლუორებად ნივთიერებებს ფლუოროქრომებს უწოდებენ.

პირველადი ფლუორესცენცია მხედველობაშია მისაღები ბაქტერიული ინფექციების დროს. პირველადი ფლუორესცენცია

დამახასიათებელია ზოგიერთი საპროფიტი მიკროორგანიზმისათვის.

იმუნოფლუორესცენციის მეთოდი სწრაფი და სპეციფიკურია. მისი დახმარებით შესაძლებელია ერთეული მიკროორგანიზმის ან ვირუსის აღმოჩენა.

იმუნოფლუორესცენცია წარმატებით გამოიყენება ცოფის, ჯილეხის, ბრუცელოზის და სხვა დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ.

იმუნოფლუორესცენციას საფუძვლად უდევს რეაქცია ანტიგენსა და ანტისხეულებს შორის. იმუნურ შრატს წინასწარ ამუშავებენ ფლუოროქრომით და უერთებენ ანტიგენს. ულტრაიისფერი სხივების ზემოქმედებით წარმოქმნილი კომპლექსი ხდება ხილული. რეაქციის ძირითადი ეტაპია ანტისხეულების კონიუგირება.

ფლუორებადი ანტისხეულების დამზადება მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: იმუნური შრატის მიღება და გამა-გლობულინური ფრაქციის გამოყოფა. გამა-გლობულინის კონიუგირება ფლუოროქრომით. კონიუგატის გაწმენდა ზედმეტი საღებავისაგან და სპეციფიკურობაზე შემოწმება.

იმუნური შრატის მისაღებად მიკროორგანიზმული ან ვირუსული ანტიგენით ახდენენ ცხოველის იმუნიზაციას სპეციალური სქემით.

იმუნური შრატიდან გამა-გლობულინის ფრაქციის გამოსაყოფად გამოიყენება სხვადასხვა მეთოდი: რივანოლით დამუშავება, სპირტით ზემოქმედება ყინულის ტემპერატურაზე, ამონიუმის მაძღარი ხსნარით დალექვა, ნატრიუმის სულფატის 2,46 მოლარული ხსნარით დამუშავება და სხვა.

კონიუგაციისათვის ხშირად გამოიყენება ფლუორესცეინიზოტიოციონატი. კონიუგაცია წარმოებს 2-4 °C-ზე, 18 სთ-ის განმავლობაში, მუდმივი შერევით.

ნაცხების მომზადება: სხვადასხვა ორგანოებიდან ცხიმგაცლილ სასაგნე მინაზე აკეთებენ თხელ ანაბეჭდ

ნაცხებს. აშრობენ ჰაერზე და აფიქსირებენ სპირტით, აცეტონით ან სხვა ფიქსატორით.

მიკროორგანიზმული წარმოშობის ინფექციების დროს ფიქსაციისათვის გამოიყენება მეთილის და ეთილის სპირტი, ხოლო ვირუსული ინფექციებისას- ქიმიურად სუფთა აცეტონი.

იმუნოფლუორესცენციის ვარიანტები. არსებობს იმუნოფლუორესცენციის რეაქციის დადგმის 3 ვარიანტი: ა) კუნსის პირდაპირი მეთოდი; ბ) უელირისა და კუნსის არაპირდაპირი მეთოდი; გ)გოლდვასერისა და შეპერდის არაპირდაპირი მეთოდი ფლუორებადი კომპლემენტით.

კუნსის პირდაპირი მეთოდი. ეს მეთოდი დამყარებულია ანტისხეულების სპეციფიკურ ანტიგენთან უშუალო ზემოქმედებაზე.

რეაქციის ზოგადი პრინციპები შემდეგში მდგომარეობს: ფიქსირებულ პრეპარატზე აწვეთებენ ფლუორებად ანტისხეულებს.აფარებენ საფარ მინას. პრეპარატს ათავსებენ ტენიან გარემოში ოთახის ტემპერატურაზე ან თერმოსტატში 37 °C, 15-30 წთ-ის განმავლობაში.პრეპარატს ჩარეცხავენ ბუფერული ხსნარით და გამოხდილი წყლით. ჰაერზე გაშრობის შემდეგ პრეპარატს იკვლევენ ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში.

კუნსის პირდაპირი მეთოდით ცოფის დიაგნოსტიკა ხორციელდება შემდეგი თანმიმდევრობით: მკვდარი ცხოველის თავის ტვინის სხვადასხვა ნაწილებიდან ამზადებენ თხელ, სასაგნე მინაზე ანაბეჭდ ნაცხებს. აშრობენ ჰაერზე. აფიქსირებენ ქიმიურად სუფთა აცეტონით; შემდეგ აშრობენ ჰაერზე, აწვეთებენ ანტირაბიულ ფლუორებად ანტისხეულებს. აფარებენ საფარ მინას. პრეპარატს ათავსებენ ტენიან გარემოში, ოთახის ტემპერატურაზე. პრეპარატს ჩარეცხავენ ბუფერული ხსნარით და ავლებენ გამოხდილ წყალში. ჰაერზე გაშრობის შემდეგ პრეპარატს იკვლევენ ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში, იმერსიული სისტემით. პარალელურად იკვლევენ

საკონტროლო პრეპარატებს, რომლებსაც ამზადებენ ცოფით და აუესკის დაავადებით მკვდარი ცხოველების თავის ტვინიდან.

ცოფის არსებობის შემთხვევაში ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში მოჩანს სპეციფიკური სხეულები რომლებიც იძლევა მომწვანო ფერის ფლუორესცენციას.

პრეპარატის ჩასარეცხი ბუფერული ხსნარის მოსამზადებლად: 1 ლ გამოხდილ წყალში ხსნიან 8.7 გ სუფრის მარილს. 100 მლ ხსნარს უმატებენ 0.136 გ KH_2PO_4-ს. დარჩენილ 900 მლ ხსნარში ხსნიან 1.57 გ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$-ს. ხსნარებს აერთებენ. ადგენენ pH=7.2-7.4 ფარგლებში.

ნაცხების შეღებვა უელირის და კუნსის არაპირდაპირი მეთოდით. არაპირდაპირი მეთოდით აწარმოებენ ანტიგენის შეერთებას სპეციფიკურ ანტისხეულებთან. წარმოიქმნილი "ანტიგენ+ანტისხეულის" კომპლექსი, მიკროსკოპში არ მოჩანს. შემდგომ ეტაპზე პრეპარატს ამუშავებენ კომპლექსში შემავალი ანტისხეულების საწინააღმდეგო ფლუორებადი შრატით. არაპირდაპირი მეთოდით ცოფის დიაგნოსტიკა ხორციელდება შემდეგი თანმიმდევრიბით: თავის ტვინიდან ამზადებენ ანაბეჭდ ნაცხს. აფიქსირებენ 18-24 სთ-ს აცეტონში. პრეპარატს აშრობენ ჰაერზე, ამუშავებენ ძაღლის არაფლუორებადი შრატით. პრეპარატს ტოვებენ ტენიან საკანში 30 წთ. შემდეგ ორჯერ ჩარეცხავენ ბუფერული ხსნარით /pH 7.4/ და გამოხდილი წყლით. პრეპარატს აშრობენ ჰაერზე. განმეორებით აწვეთებენ ფლუორებად შრატს, რომელიც მიღებულია ძაღლის სისხლით ცხენის იმუნიზაციით. პრეპარატს ათავსებენ ტენიან გარემოში 30 წთ ოთახის ტემპერატურაზე. ჩარეცხავენ, აშრობენ და იკვლევენ ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში.

არაპირდაპირი მეთოდი ზედმიწევნით მგრძნობიარეა მისი საშუალებით შეიძლება ანტიგენის გამოვლენა და ანტი-სხეულების აღმოჩენა.

გოლდვასერისა და შეპარტის არაპირდაპირი მეთოდი (ფლუორებადი კომპლემენტით). რეაქციის დასადგმელად

საჭიროა ანტიკომპლემენტური ფლუორებადი ანტისხეულები. ამ მიზნით ზღვის გოჭის სისხლის შრატით აწარმოებენ ბოცვრის ჰიპერიმუნიზაციას. მიღებული სისხლის შრატიდან გამოყოფენ გამა-გლობულინს და კონიუგირების შემდეგ გამოიყენებენ აღმძვრელის აღმოსაჩენად.

ცოფზე რეაქცია იდგმება შემდეგნაირად: მკვდარი ცხოველის თავის ტვინიდან ამზადებენ ნაცხს. აფიქსირებენ 18-24 სთ-ს ცივ აცეტონში. აშრობენ ჰაერზე. ანტირაბიულ არაფლუორებად შრატს საკუთარი კომპლემენტის დასაშლელად აცხელებენ 30 წთ, 56 °C-ზე. თანაბარი რაოდენობით უმატებენ 1:10-ზე განზავებულ კომპლემენტს. აღნიშნული თანმიმდევრობით მომზადებულ შრატს, 1-2 წვეთის მოცულობით აწვეთებენ პრეპარატზე, აფარებენ საფარ მინას და ათავსებენ ტენიან გარემოში. 15 წუთის განმავლობაში ტოვებენ თერმოსტატში 37°C-ზე. პრეპარატს 10-15 წუთის განმავლობაში ჩარეცხავენ წყლით, აშრობენ. პრეპარატს ამუშავებენ ფლუორებადი ანტიკომპლემენტური შრატით ოთახის ტემპერატურაზე 30წთ ან 15 წთ თერმოსტატში. ჩარეცხავენ ბუფერული ხსნარით და გამოხდილი წყლით, აშრობენ ჰაერზე, პრეპარატს იკვლევენ ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში.

იმუნო-ფერმენტული რეაქცია

იმუნოფერმენტული რეაქცია იმუნოფლუორესცენციის ანალოგიურია. განსხვავება იმაშია, რომ სპეციფიკური ანტისხეულები ნიშანდებულია ფერმენტით (ტუტე ფოსფატაზით ან პირშუშხადან მიღებული პეროქსიდაზით). იმუნო-ფერმენტული რეაქციის არსებობს პირდაპირი და არაპირდაპირი მეთოდი.

პირდაპირი მეთოდი. გამოსაკვლევად გამოიყენება ნაცხი რომელიც შეიცავს ვირუსულ ანტიგენს. გამოკვლევა მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: ა) პრეპარატის ჩარეცხვა ფოსფატური

ბუფერის ხსნარით. ბ) პრეპარატის გაშრობა ჰაერზე, 2-3 წვეთი კონიუგატის დაწვეთება (პეროქსიდაზით ნიშანდებული ანტისხეულები), გ) ტენიან გარემოში 37°C მოთავსება 1-6 სთ-ის განმავლობაში, დ) პრეპარატის გულდასმით ჩარეცხვა ფოსფატური ბუფერის ხსნარით, გამოხდილი წყლით და ჰაერზე გაშრობა, ე) პრეპარატის დამუშავება ბენზიდინოვანი სუბსტრატით, პეროქსიდაზის აღმოსაჩენად, ვ) 5-10 წთ-ის შემდეგ პრეპარატის ჩარეცხვა და მიკროსკოპირება.

ბენზიდინოვანი სუბსტრატი შედგება ამონიუმის ქლორიდის, EDTA ხსნარის, ბენზიდინის ხსნარისა და წყალბადის ზეჟანგისაგან. ბენზიდინი, პეროქსიდაზისა და წყალბადის ზეჟანგის არსებობის დროს იჟანგება და გვაძლევს ყავისფერ ნალექს, რომლის გარჩევა ადვილად შეიძლება მიკროსკოპში.

არაპირდაპირი მეთოდი. ამ დროს სარგებლობენ რეაქციის პირველ ფაზაში ანტიგენთან დაკავშირებული კონიუგატის საწინააღმდეგო გამაგლობულინით. ენდოგენური პეროქსიდაზის ინაქტივაციისათვის გამოიყენება ნატრიუმის აზიდინი და ფენილ-ჰიდრაზინი. იმუნური გლობულინის, პლასტმასის ზედაპირზე ადსორბციის დადგენამ შესაძლებელი გახადა დამუშავებულიყო იმუნოფერმენტული რეაქციის მკვრივ ფაზიანი მეთოდი, მათ შორის ELISA რომლის დადგმის რამდენიმე ხერხია დამუშავებული:

არაპირდაპირი. პანელის ფოსოებში რომლებშიც დაფიქსირებულია ანტიგენი, შეაქვთ სავარაუდო ანტისხეულებიანი შრატი, კონტაქტის შემდეგ ჭარბ შრატს ჩამორეცხავენ და უმატებენ ფერმენტს- ანტიგლობულინს, რომელიც განიცდის ფიქსაციას ანტიგენ + ანტისხეულის კომპლექსზე. შეღებვის ინტენსივობას საზღვრავენ კოლორიმეტრით.

ორმაგი ანტისხეულების "სანდვიჩის" მეთოდი. ამ მეთოდის გამოყენებისას ანტიგენი უერთდება ანტისხეულს.

პოლისტიროლის პანელის ფოსოებში შეაქვთ ანტისხეულები რომლებიც უერთდება ანტიგენ + ანტისხეულის კომპლექსს. შეღებვის ინტენსივობა ანტიგენის რაოდენობის პროპორ-ციულია.

იმუნური შეწებების რეაქცია

იმუნური შეწებების რეაქცია გამოიყენება ბაქტერიათა ანტიგენური თვისების, ვირუსულ დაავადებათა საწინააღმდეგო ვაქცინების შესასწავლად და სხვ. იმუნური შეწებების რეაქციას ადამიანის ან მაიმუნის ერითროციტებთან ანტიგენი+ ანტისხეული + კომპლემენტი ურთიერთქმედება უდევს საფუძ-ვლად. რეაქციის დასადგმელად პრაქტიკულად მოსახერხე-ბელია ადამიანის ერითროციტების გამოყენება. იმუნური შეწებების რეაქცია მაღალსპეციფიკურია. მისი საშუალებით შეიძლება ანტიგენის და ანტისხეულის აღმოჩენა მცირე კონცენტრაციებში (შესაბამისად 0,001 – 0,005 მკგ). იმუნური შეწებების რეაქცია ორ ფაზად მიმდინარეობს: ა) სპეციფიკური ფაზა ანუ ანტიგენისა და ანტისხეულების კომპლექსის წარმოქმნა და კომპლემენტის დაკავშირება. ბ) არასპეციფიკური, ანუ ანტიგენ +ანტისხეულები+კომპლემენტი– კომპლექსის შეერთება (შეწებება) ერითროციტებთან.

რეაქციის ინგრედიენტები. ა) ბაქტერიათა ან სხვა წარმოშობის უჯრედთა შენაწონი განსაზღვრულ კონცენტრა-ციაში. ასე მაგალითად: რეაქციაში ბაქტერიების კონცენტრაცია $2 \cdot 10^8$ მლ-ია. ხსნადი ანტიგენის (შრატის ალბუმინი) კონცენტრაცია 0,5%-ია. ბ) ერითროციტების 1,5%-იანი შენაწონი დაკონსერვებული ჰეპარიზირებულ ან ალსევერის ხსნარში (0 ან I ჯგუფის სისხლიდან მზადდება). გ) კომპლემენტი ანუ ზღვის გოჭის სისხლის შრატი. შრატს წინასწარ ამუშავებენ

ერითროციტებით ან ჰომოლოგიური ანტიგენით ჰეტეროგენური ანტისხეულების, ჰემაგლუტინინების და გამოსაკვლევი ანტიგენის შესაბამისი ანტისხეულების მოსაცილებლად. კომპლემენტს ტიტრავენ და აზავებენ 1:16 -- 1:32-ზე.

რეაქციის დადგმის მსვლელობა. გამოსაკვლევ შრატს აზავებენ. თითოეული განზავების 0,2 მლ შეაქვთ სტერილურ სინჯარაში, უმატებენ 0,5 მლ ანტიგენს და 0,2 მლ კომპლემენტს. ათავსებენ 37^0C-ზე 30 წუთის განმავლობაში. სინჯარებში შეაქვთ 0,1 მლ ადამიანის ერითროციტების შენაწონი. სინჯარები გადააქვთ თერმოსტატში ან წყლის აბაზანაში 37^0C-ზე. ინკუბაციიდან ერთი საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს.

ხსნადი ანტიგენების შემთხვევაში შეფასება ხდება ერითროციტების ნალექის ხასიათის მიხედვით (ჰემაგლუ-ტინაციის რეაქციის მსგავსად). კორპუსკულური ანტიგენების შემთხვევაში (ბაქტერიები, ლეიკოციტები და ა.შ.) შედეგების აღრიცხვას ახდენენ ფაზოკონტრასტულ მიკროსკოპში. გამო-საკვლევი სუსპენზიის წვეთში საზღვრავენ ერითროციტების რაოდენობას (პროცენტებში) ადსორბირებული (შეწებებული) ანტიგენის ნაწილაკებით. შრატის ტიტრად მიღებულია მისი უმაღლესი განზავება, რომელიც არანაკლებ 20% შეწებებულ ერითროციტებს (ერითროციტების მიერ შეწებებულ ანტიგენს) შეიცავს.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ)

ამ მეთოდს საფუძვლად უდევს მაკატალიზირებელი დნმ-პოლიმერაზით დნმ-ის გარკვეული მონაკვეთის ანალოგის წარმოქმნა (ამპლიფიკაცია).

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ეტაპებია: ორძაფიანი დნმ-ის მოლეკულის ცალკეულ ჯაჭვებად თერმული დამუშავება (30-40წმ, 93-95^0C-ზე), გაცივება და პრაიმერის შეტანა, ორივე

ძაფის ნუკლეოტიდების კომპლემენტარობის თანმიმდევრობის დაცვით. რეაქციის მსვლელობისათვის გამოიყენება 10-20 ნუკლეოტიდისაგან (მაგალითად დეზოქსინუკლეოტიდტრიფოს-ფატი) შემდგარი სინთეზური პრაიმერი – ოლიგონუკლეო-ტიდები, რომლებიც ურთიერთქმედებენ და წარმოქმნიან 50-100 ფუძისაგან შემდგარ თანმიმდევრობას. შემდეგ უმატებენ თერმოსტაბილურ taq-(ბაქტერია *Thermus aquaticus* სახელწოდებიდან, რომლისგანაც ეს ფერმენტია გამოყოფილი) – პოლიმერაზას. ეს უკანასკნელი ასრულებს გამშვებ ფუნქციას დნმ-ის მეორადი ჯაჭვების წარმოსაქმნელად. წარმოქმნილ ორძაფიან დნმ-ს კვლავ აცხელებენ. ახლად წარმოქმნილ ცალკეულ ძაფებს აცივებენ, შეაქვთ პრაიმერი და კვლავ იმეორებენ გაცხელებისა და გაცივების პროცედურას. პოლიმერაზის სტაბილურობა განაპირობებს ფერმენტის სტაბილურობას. დნმ-ის ასლის დაგროვების 30-40 ციკლის შემდეგ ახდენენ მათ იდენტიფიკაციას ელექტროფორეზის მეთოდით. დნმ-ის აღმძვრელის მიმართ ჰომოლოგიურობის დასამტკიცებლად შესაძლებელია ჩატარდეს სპეციფიკური ენდონუკლეაზებით რესტრიქცია, ანდა დაიდგას დნმ-ის ჰიბრიდიზაციის რეაქცია.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია ზედმიწევნით სპეციფიკურია, თეორიულად შედეგების მისაღებად საკმარისია გამოსაკვლევ ობიექტში ერთი მოლეკულა დნმ-ის არსებობა.

ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ აღმძვრელის მარკირებას ემსახურება მისი გენომი. ამპლიფიკაციისათვის (დნმ-ს მატრიცის სინთეზისათვის) შეარჩევენ მის უპირატესად კონსერვატულ ნაწილს (ჩვეულებრივად რომელიმე უნიკალურ გენს), რომლითაც უფრო მეტად განსხვავდება სხვა პათოგენისაგან.

დნმ-მატრიცის სინთეზის წარმართვისათვის გამოიყენება 2 პრაიმერი, დნმ-ს კომპლემენტალური ძაფები, ორივე ბოლოში

სპეციფიკური ფრაგმენტებით. პრაიმერებთან ურთიერთქმედებას „მოწვა“ ეწოდება. (რეაქცია მიმდინარეობს 20-60 წამი, 50-65^{0}C).

დნმ-ს ძაფების აწყობის შედეგად განსაზღვრულ ფრაგმენტში თერმოსტაბილური პოლიმერაზის (რეაქციის თვისების გამოსამჟღავნებლად ოპტიმუმია 70-72^{0}C) სპეციფიკური ფრაგმენტი (ამპლიკონი) წარმოიქმნება. პირველი ციკლის დამთავრების შემდეგ ახდენენ ციკლების გამეორებას. ამ დროს სინთეზირებული ამპლიკონები ასრულებენ მატრიცას როლს შემდგომ ციკლებში. გამოთვლილია, რომ 30-40 ციკლის ჩატარებისას ერთი მოლეკულიდან შეიძლება 10^3 ამპლიკონის მიღება.

ფაგოდიაგნოსტიკა

მიკროორგანიზმთა ფაგოტიპირება

მიკროორგანიზმთა ფაგოტიპირებამ მტკიცედ დაიმკვიდრა ადგილი ეპიდემიათა საწინააღმდეგო ღონისძიებების გატარებაში. ფაგოტიპირება ინფექციურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის სრულყოფილი, საიმედო და ხელმისაწვდომი მეთოდია. სამედიცინო პრაქტიკაში ფაგოტიპირება წარმატებით გამოიყენება მუცლის ტიფის აღმძვრელის იდენტიფიკაციისათვის.

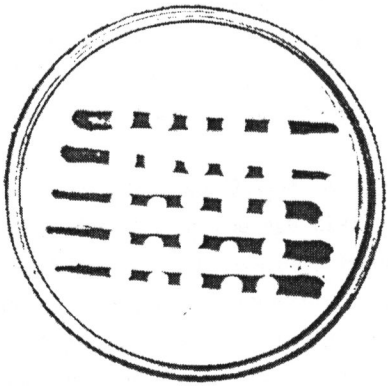
მუცლის ტიფის შტამების ფაგოტიპირებას ტიპური (A, C_1, D_1, D_4, E_1, E_2, 28, 40) და Vi ფაგებით ახდენენ.

მუცლის ტიფის და პარა B კულტურების ფაგოტიპირებისათვის რამდენიმე მეთოდია მოწოდებული.

კრეჯის და იენას მეთოდი 3-4 საათიანი ბულიონიანი კულტურა (მდიდარია ანტიგენით) შეაქვთ ფინჯანში ჩამოსხმული აგარის ზედაპირზე რგოლების სახით. კულტურის გაშრობის შემდეგ (15-20 წუთი) წვეთის (რგოლის) ცენტრში პიპეტით ან მარყუჟით აწვეთებენ ტიპურ ფაგს “სამუშაო განზავებაში”. ტიპური ფაგის სამუშაო ანუ კრიტიკული ტესტ-განზავება მისი მაქსიმალური განზავებაა, რომელიც ახდენს

შესაბამისი კულტურის გადაჯაჭვულ ლიზისს. ფინჯნებს თავდაპირველად 2 სთ-ის განმავლობაში 37^{0}C–ზე, ხოლო შემდეგ მაცივარში ტოვებენ. მეორე დღეს კვლავ ათავსებენ 4-6 საათის განმავლობაში თერმოსტატში 37^{0}C – ზე და აღრიცხავენ შედეგებს.

მუცლის ტიფის და პარა B შტამების ტიპირება. პეტრის ფინჯანში 20-25 მლ მოცულობით ჩამოსხმულ 1,3-1,5%-იან აგარს (გამლღვალი) ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე, მეორე დღეს ფინჯნებს 1-2 საათის განმავლობაში თერმოსტატში აშრობენ. ფინჯნის ფუძეზე (გარედან) ავლებენ კულტურათა რაოდენობის შესაბამის ჰორიზონტალურ და ფაგების შესაბამისი რაოდენობის ვერტიკალურ ხაზებს (საშუალოდ 6-7). ფაგოტიპირებისათვის იღებენ მუცლის ტიფის 3-4 საათიან ბულიონიან კულტურას. ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ჰორიზონტალურად აგარის ზედაპირზე ავლებენ 5-6 მმ სიგანის ზონრებს. ფინჯნებს იკავებენ დახრილ მდგომარეობაში. ბაქტერიოფაგს აწვეთებენ წმინდა წვერიანი პასტერის პიპეტით, ზონრის ზედა კიდეში. კულტურასთან პიპეტით შეხება დაუშვებელია. ფინჯნებს 4 საათის განმავლობაში თერმოსტატში აყოვნებენ. აღრიცხავენ შედეგებს. დადებითი რეაქციის დროს ფაგის დაწვეთების ადგილას მიკროორგანიზმთა ზრდა არ აღინიშნება (ნახ. 40).



ნახ. 40. ბაქტერიათა ფაგოტიპირება

ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია (ფტზრ)

ა) **ფეკალური მასების გამოკვლევა.** კოლბაში მინის ბურთულებით შეაქვთ 1 გ ფეკალური მასა, უმატებენ 20 მლ ხპბ-ს ან მიულერის საკვებ არეს. კოლბას 5 წუთის განმავლობაში ანჯღრევენ. უხეში ნაწილების დალექვისათვის აჩერებენ 5-10 წუთს. რეაქციის დადგმისათვის იღებენ სამ სინჯარას (№1, 2, 3).

№1 და №2 სინჯარებში შეაქვთ 9-9 მლ გამოსაკვლევი შენაწონი. №1 სინჯარაში 1 მლ ინდიკატორულ ფაგს "სამუშაო განზავებაში" (10^4) ხოლო №2 სინჯარაში 1 მლ ხპბ-ს უმატებენ. №3 სინჯარაში 9 მლ ხპბ და 1 მლ ინდიკატორული ფაგი (სამუშაო განზავებაში) შეაქვთ.

№1 სინჯარა საცდელია. №2 სინჯარა (ფაგის გარეშე) საკონტროლო – ემსახურება ფეკალურ მასაში თავისუფალი ფაგის დადგენას. №3 სინჯარით წარმოებს ინდიკატორი ფაგის ტიტრის განსაზღვრა. თერმოსტატში 37^0C-ზე 5-18 საათის

განმავლობაში, ინკუბაციის შემდეგ სამივე სინჯარის შიგთავსს აზავებენ 1:100-ზე

მიკროფლორის ინაქტივაციისათვის სინჯარებს 30 წთ-ის განმავლობაში აცხელებენ წყლის აბაზანაში 56-57^{0}C-ზე და გრაციას მეთოდით ადგენენ ფაგის კორპუსკულების რიცხვს. ცდის დადგმის წინ სამ სინჯარაში, რომლებშიც 0,7%-იანი აგარია ჩამოსხმული ალღვობენ და წყლის აბაზანაში 46-48^{0}C-ზე ათავსებენ. სამივე სინჯარაში 0,1 მლ ირიბ აგარზე ნაზარდი 18-20 საათიანი ეტალონური კულტურა (ჩამორეცხილი 5 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარით), ძირითადი და საკონტროლო სინჯარების თითო-თითო მლ შეაქვთ. სინჯარების შიგთავსს გულდასმით ურევენ და თანაბარი ფენის სახით ანაწილებენ ფინჯნებში ჩამოსხმულ 1,5%-იან აგარის ზედაპირზე. რამდენიმე სინჯის ერთდროულად გამოკვლევისას დგამენ ერთ კონტროლს. ფინჯნებს 20-30 წუთის განმავლობაში ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე. თერმოსტატში ინკუბაციიდან 5 ან 18 საათის შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს.

რეაქციის შედეგების შეფასება ხდება ძირითად და საკონტროლო სინჯარებში ფაგის კოლონიების დათვლით. შეფასებისას ხელმძღვანელობენ ცხრილით (20).

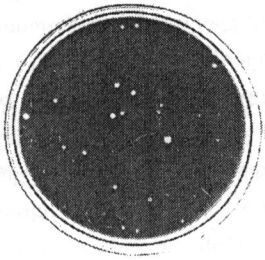
ცხრილი №20

ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქციის
შედეგების შეფასება

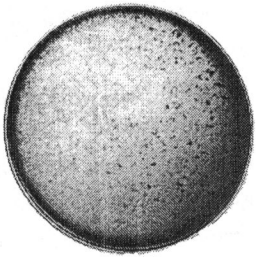
№	№1 საცდელ ფინჯანში ფაგის ნეგატიური კოლონიების მატება, №3 საკონტროლო ფინჯანში ფაგის ნეგატიური კოლონიების რაოდენობასთან შედარებით	შედეგების შეფასება
1	ტიტრის მატება 2,5-მდე	უარყოფითი

2	ტიტრის მატება 2,5-დან 5-მდე	სუსტი დადებითი
3	ტიტრის მატება 5-დან 10 მდე	დადებითი
4	ტიტრის მატება 10-ჯერ	მკვეთრი დადებითი

ძირითადი ცდის ფინჯანში (ნახ. 41) საკონტროლოსთან შედარებით ნეგატივური კოლონიების რიცხვის 5–ჯერ და მეტად მატების დროს რეაქცია დადებითია.



ა. კონტროლი.



ბ ძირითადი ცდა (დადებითი)

ნახ. 41. ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია

გამოსაკვლევ მასალაში თავისუფალი ფაგის არსებობის შემთხვევაში (№2 სინჯარა) აღრიცხავენ ფაგის კოლონიების რაოდენობას ფინჯანში და მიღებულ რიცხვს გამოაკლებენ ინდიკატორული ფაგის კოლონიების რაოდენობას საცდელ ფინჯანში. განსხვავებას შეადარებენ ფაგის ტიტრს საკონტროლო ფინჯანში (№3).

თავისუფალი ფაგის მაღალი ტიტრის შემთხვევაში (ეტალონური კულტურის მთლიანი ლიზისი) რეაქციის შედეგებს არ აღრიცხავენ.

ბ) **წყლის გამოკვლევა.** ორ სტერილურ კოლბაში (№1 და №2) შეაქვთ 80-80 მლ გამოსაკვლევი წყალი.

№ 1 კოლბაში (საცდელი სინჯი) უმატებენ 10 მლ კონცენტრირებულ საკვებ არეს (100 მლ. ხორცის წვენი, 10 გ პეპტონი, 5 გ NaCl) და 10 მლ ინდიკატორულ ფაგს "სამუშაო განზავებაში", ხოლო №2 კოლბაში 10 მლ კონცენტრირებულ ბულიონს. (თავისუფალი ფაგის კონტროლი). №3 კოლბაში შეაქვთ 90 მლ ხპბ და 10 მლ ინდიკატორული ფაგი "სამუშაო განზავებაში" (ფაგის ტიტრის კონტროლი).

კოლბებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C-ზე, 16-18 საათის განმავლობაში. რეაქციის შემდგომი მსვლელობა ფეკალურ მასების გამოკვლევის ანალოგია.

ლაბორატორიული ცხოველები და მათი გამოყენება

ბაქტერიოლოგიურ ლაბორატორიულ პრაქტიკაში ინფექციურ დაავადებაზე დიაგნოზის დასასმელად, სუფთა კულტურის გამოსაყოფად, მიკროორგანიზმთა ვირულენტობისა და ანტიგენობის დასადგენად ფართოდ გამოიყენება საცდელი ცხოველები. მიკროორგანიზმთა სხვადასხვა ჯგუფების ერთმანეთისაგან განსხვავება საცდელი ცხოველების მიმართ პათოგენობის სპექტრით არის შესაძლებელი.

ცდების ჩასატარებლად გამოიყენება ინფექციურ და ინვაზიურ დაავადებებზე კეთილსაიმედო მეურნეობიდან შემოყვანილი ცხოველები. ცხოველებს ორი კვირის განმავლობაში ათავსებენ კარანტინში. ყოველ დღე უზომავენ ტემპერატურას, უტარებენ ბაქტერიოლოგიურ და ჰემატოლოგიურ გამოკვლევებს. ცხოველის შერჩევისას ითვალისწინებენ ასაკს, სქესს, ჯიშს და სხვ. ცდის დასაყენებლად ბაცილამტარებელი და ინკუბაციურ პერიოდში მყოფი ცხოველი არ გამოიყენება.

მიკრობიოლოგიურ გამოკვლევათა ჩასატარებლად ყოველდღიურ ლაბორატორიულ პრაქტიკაში შემდეგი სახეობის ცხოველები გამოიყენება: თეთრი თაგვი, თეთრი ვირთხა, ზღვის გოჭი, ბოცვერი, ქათამი და სხვ.

თეთრი თაგვი. რეკომენდებულია ინბრიდული ხაზების გამოყენება. ზუსტი შედეგების მისაღებად ცხოველებს დააჯგუფებენ წონის მიხედვით: 12-14 გ, 14-16 გ, 16-18 გ. თეთრი თაგვის სხეულის ტემპერატურა 37-38^0 C-ია.

თეთრი ვირთხა. თეთრ თაგვთან შედარებით ზოგიერთი ინფექციის მიმართ რეზისტენტულია. ახლადდაბადებული წრუწუნები წარმატებით გამოიყენება სიმსივნეთა გამომწვევი ვირუსების შესასწავლად. ვირთხის სხეულის ტემპერატურა 38,5-39,6^0 C-ია

ზღვის გოჭი. ჭარბობს ლაქებიანი ცხოველები: თეთრი, შავი და ყვითელი ლაქებით. ცდის დასაყენებლად რეკომენდებულია 250 გ წონის ცხოველის გამოყენება. ზღვის გოჭის სხეულის ტემპერატურა 38,7-39,5^0 C-ია.

ბოცვერი. მისი მრავალი სტანდარტული ჯიშია ცნობილი. ცდებისათვის მიზანშეწონილია 2 კგ ცოცხალი მასის ხალასი ჯიშის გამოყენება. ბოცვრის სხეულის ტემპერატურა 38,7-39,5^0 C-ია.

ქათამი. სხვადასხვა მიზნით გამოიყენება: ა) დონორად - მათი სისხლის მეშვეობით იდგმება სეროლოგიური რეაქციები. ბ) სადიაგნოსტიკოდ და გ) ვაქცინების გამოსაცდელად. ცდაში რეკომენდებულია ხალასი ჯიშების გამოყენება. ეკონომიკური თვალსაზრისით ცდებს 12 კვირის ასაკის მოზარდზე ატარებენ. ქათმის სხეულის ტემპარატურა 41,4-41,8^{0}C-ია.

ცხოველთა შენახვა. საცდელ ცხოველებს ვივარიუმში ინახავენ. ვივარიუმი შეიცავს ძირითად და დამხმარე შენობებს: ა) ოთახი ცდის ქვეშ მყოფი ცხოველებისათვის, ბ) სამრეცხაო, გ) სამზარეულო, დ) საკუჭნაო, ე) საოპერაციო, ვ) სანიტარიული ოთახი და გარდერობი მომსახურე პერსონალისათვის.

ვივარიუმი უნდა იყოს ნათელი და სუფთა. მღრღნელებისა და მწერებისაგან დაცული. ზოოჰიგიენური პირობებიდან განსაკუთრებული ადგილი აქვს დათმობილი სათანადო ვენტილაციას. ვივარიუმის კედლების მოსაპირკეთებლად გამოიყენება მასალები, რომელიც ადვილად ექვემდებარება დეზინფექციას და ნაკლებად ფუჭდება. ცდის ქვეშ მყოფ ცხოველს ლაბორატორიაში არსებულ ჯანმრთელი ცხოველისაგან იზლირებულად ინახავენ.

ცალკეული სახეობის ცხოველისათვის ვივარიუმში ტემპერატურული და შეფარდებითი ტენიანობის ოპტიმუმია დადგენილი. (ცხრილი 21)

ცხრილი 21

ცხოველთა სადგომებში ტემპერატურისა და ტენიანობის ოპტომუმი

№	ცხოველის სახეობა	ტემპერატურა	შეფარდებითი ტენიანობა
1.	თეთრი თაგვი	+18-20^{0}C	30-60%
2.	თეთრი ვირთხა	+20-24^{0}C	45-55%
3.	ზღვის გოჭი	+16-23^{0}C	60%
4.	ბოცვერი	+14-18^{0}C	50-60%

ლაბორატორიულ ცხოველთა შესანახად გამოიყენება:

1. მინის ქილები (თეთრი თაგვი, თეთრი ვირთხა, ზღვის გოჭი).
2. ლითონის გალიები (თეთრი თაგვი, თეთრი ვირთხა, ზღვის გოჭი, ბოცვერი).
3. სინთეზური მასალიდან დამზადებული გალიები - ყველა სახეობის ცხოველისათვის.

ცხოველებისათვის ქვეშსაფენად რეკომენდებულია თივის, ნამჯის, ქვიშის და სხვა გამოყენება.

ცხოველის კვება. ცხოველებისათვის დადგენილია ყოველდღიური ნორმები. ცილებზე, ნახშირწყლებზე,

ვიტამინებზე, მინერალურ მარილებსა და მიკროელემენტებზე. კვების რაციონი დამოკიდებულია ცხოველის სახეობაზე.

თეთრი თაგვი. საკვებად ეძლევა ყველა სახის მარცვლეული, მზესუმზირას თესლი, გამხმარი პური, მწვანე საკვები, ბოსტნეული, ცხოველური ცილა. კვება დღეში ორჯერ.

თეთრი ვირთხა. (იხ თეთრი თაგვი).

ზღვის გოჭი. საკვებად ეძლევა შვრია, ქერი, პური, ბალახი, თივა, ბოსტნეული. კვება დღეში ორჯერ.

ბოცვერი. კვების რაციონში შეტანილია შვრია, ქერი, მოხარშული კარტოფილი, თივა, ბოსტნეული, მწვანე საკვები. კვება დღეში ორჯერ.

ცხოველთა ნიშანდება. მასობრივი ცდების ჩატარებისას საჭიროა ცხოველების ერთმანეთისაგან გარჩევა. ამ მიზნით სხვადასხვა მეთოდები გამოიყენება.

ფერადი ნიშანდება. სხვადასხვა ფერის საღებავით (პიკრინის მჟავის ნაჯერი ხსნარი, ფუქსინის ან გენციან-ვიოლეტის 0,5%-იანი ხსნარი). ამ მეთოდით ახდენენ თეთრი თაგვებისა და თეთრი ვირთხების ნიშანდებას.

საღებავს წააცხებენ სხეულის სხვადასხვა ადგილას, რომელიც სპეციალურ ჟურნალში ან რვეულში ციფრებით 1-დან 9-მდე აღნიშნავენ. (შუბლი, კისერი, ზურგი დ.ა.შ.) ციფრ 0-ს აღნიშვნა არ აქვს. ამ მეთოდის უარყოფითი მხარეა ხანგრძლივად მიმდინარე ცდების დროს საღებავის გაუფერულება.

დამახასიათებელი შეფერილობის ჩახატვა. ლაქებიანი ცხოველის (ზღვის გოჭი) ნიშანდებისათვის გამოიყენება.

ყურის საჭდეთი დანომვრა. მიზანშეწონილია ბოცვრის და ზღვის გოჭის ნიშანდებისათვის.

ყურის დასვირინგება. გამოიყენება გრძელყურებიან ცხოველებში (ბოცვერი).

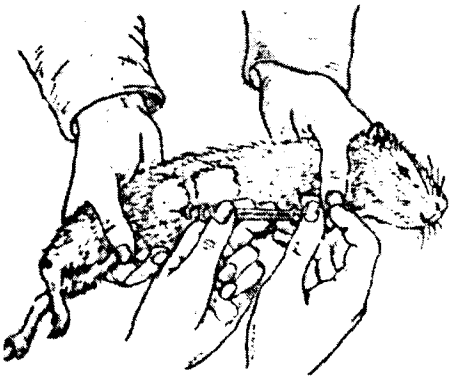
დარგოლვა. ფრინველთა ნიშანდების გავრცელებული მეთოდია.

საცდელი ცხოველების დასნებოვნება

საცდელი ცხოველების დასნებოვნების სხვადასხვა მეთოდები გამოიყენება. დასნებოვნებისათვის კანს სპირტში, სპირტ-ეთერში, კარბოლის მჟავის 2%-იან ხსნარში ან იოდის ნაყენში დასველებული ბამბით წმენდენ.

კანქვეშ დასნებოვნება. კანს თითებით ნაოჭის სახით იჭერენ. ნემსი ჩხვლეტით შეჰყავთ კანქვეშ. ბოცვერს ზურგის მიდამოში, ზღვის გოჭს მუცლის არეში (ნახ. 42), თეთრ თაგვს და თეთრ ვირთხას კუდის ფუძის მიდამოში ასნებოვნებენ. *დოზა.* თეთრი თაგვებისათვის 0,25-0,5 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 0,5 მლ, ზღვის გოჭისათვის 3,0 მლ, ბოცვრისათვის 5,0 მლ.

კანზე დასნებოვნება. სკარიფიცირებულ ან დაუზიანებელ კაზე აწვეთებენ გამოსაკვლევ სითხეს და შპადელით ახდენენ ჩაზელვას.



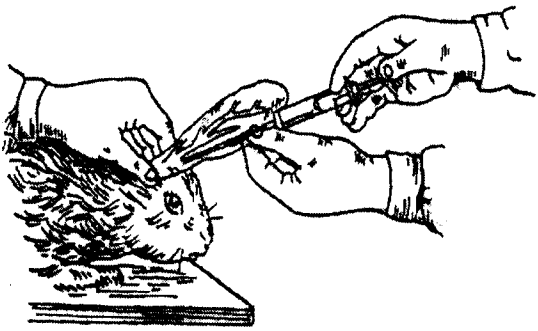
ნახ. 42 კანქვეშ დასნებოვნება.

კანშიდა დასნებოვნება. წმინდა და მახვილწვერიანი ნემსით ახდენენ. ნემსი ეპიდერმისის სისქეში კანის პარალელურად შეყავთ. ნემსი წაკვეთილი წვეროთი ზევით არის მიმართული. სწორად ჩატარებული დასნებოვანებისას ეპიდერმისის შრე პატარა ბუშტის სახით ამოიბურცება. დოზა 0,1-0,2 მლ.

კუნთებში დასნებოვნება. გამოსაკვლევი მასალა ბოცვერში, ზღვის გოჭში, თეთრ თაგვსა და თეთრ ვირთხაში ბარძაყის კუნთებში შეყავთ (შიგნითა მხრიდან). ფრინველს ასნებოვნებენ გულმკერდის კუნთში (თეთრი ხორცი).

დოზა. თეთრი თაგვისათვის 0,25 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 0,5-1,0 მლ, ზღვის გოჭებისათვის 2,0 მლ, ქათმისათვის 3,0 მლ, ბოცვრისათვის 5,0 მლ.

ვენაში დასნებოვნება. ბოცვერს ყურის ვენაში ასნებოვნებენ. ვენას თითებით ყურის ფუძეზე აფიქსირებენ. კანს ვენის გაყოლებით სპირტით ან ქსილოლით ამუშავებენ (ვენა ფართოვდება). შპრიცი შეყავთ ვენის პარალელურად ნემსი წაკვეთილი ბოლოთი ზევით არის მიმართული. დაფიქსირებულ ვენას ათავისუფლებენ. შპრიცში სისხლის გადასვლისთანავე, აუჩქარებლად ახდენენ მასალის ვენაში შეყვანას (ნახ. 43).



ნახ. 43. ბოცვრის ყურის ვენაში დასნებოვნება

თეთრ ვირთხასა და თეთრ თაგვს გამოსაკვლევ მასალას კუდის ვენაში უშხაპუნებენ.

ვენის გაფართოვებისათვის ცხოველის კუდს 48-50^{0}C-მდე გამთბარ წყალში 5-10 წუთის განმავლობაში ათავსებენ. ვენას კუდის ფუძეზე თითებით აფიქსირებენ. ნემსი შეჰყავთ კუდის ქვედა მესამედში. დასნებოვნებას ახდენენ აუჩქარებლად. ინექციის სწორად ჩატარების მაჩვენებელია დგუშის თავისუფალი მოძრაობა და ვენის გაუფერულება.

ფრინველს ასნებოვნებენ ფრთის ქვეშა ვენაში.

დოზა. თეთრი თაგვისათვის 1,0 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 2,0 მლ, ბოცვრისათვის 5,0 მლ.

გულში დასნებოვნება. ცხოველს სპეციალურ მაგიდაზე აფიქსირებენ. მკერდის ძვლის მახვილისებური მორჩიდან 1-2 სმ-ის ზევით და რამდენადმე მარცხნივ ნახულობენ გულის ბიძგის ადგილს. შპრიცი შეყავთ ნეკნთაშუა სივრცეში. გულში ნემსის მოხვედრისას სისხლი გადადის შპრიცში. საინექციო მასალა შეყავთ ფრთხილად. ამ მეთოდით ასნებოვნებენ ბოცვერს, თეთრ ვირთხას, თეთრ თაგვს. გულში უპირატესად ასნებოვებენ ზღვის გოჭებს.

დოზა. ზღვის გოჭისათვის 1,5-2,0 მლ. გულში დასნებოვნებისას ცხოველი შეძლება მოკვდეს.

მუცლის ღრუში დასნებოვნება. შინაგანი ორგანოების დიაფრაგმისაკენ გადაადგილების მიზნით ცხოველს აფიქსირებენ თავდაყირა. გამოსაკვლევი მასალა შეყავთ მუცლის ღრუს უკანა ნაწილში თეთრი ხაზის გვერდით. პინცეტით კანს წინ გამოწევენ და შედიან ნემსით. დასნებოვნებისათვის გამოიყენება მოკლე და ბლაგვწვერიანი ნემსი.

დოზა. თეთრი თაგვებისათვის 1,0 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 2,0 მლ, ზღვის გოჭისათვის 5,0 მლ, ბოცვრისათვის 10,0 მლ.

პერორალურად დასნებოვნება. გამოსაკვლევ მასალას ურევენ საკვებში და ცხოველს აჭმევენ. გამოსაკვლევი მასალის კუჭში შეტანა შეიძლება სპეციალური ელასტიკური კათეტერით.

სუბდურალური დასნებოვნება. დიდი ზომის ცხოველებს (ძაღლი, ცხვარი, და სხვ.) წინასწარ უტარებენ შუბლის ძვლის ტრეპანაციას. წვრილ ცხოველებში გამოსაკვლევი მასალა შეჰყავთ უშუალოდ Sulcus supraorbitalis-დან, სადაც შუბლის ძვალი თხელია და ადვილად ატარებს ნემსს. დასნებოვნებას ახდენენ ინსულინის ან ტუბერკულინის შპრიცით.

დოზა. თეთრი თაგვებისათვის 0,025-0,03 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 0,05-0.1 მლ, ზღვის გოჭისათვის 0,1-0,2 მლ, ბოცვრისათვის 0,3-0,5 მლ.

ცხვირის ღრუში დასნებოვნება. ახდენენ ნარკოზირებულ ცხოველებში. ცხვირის ღრუში დასნებოვნებისათვის კონცენტრირებული სუსპენზიის გამოყენება არ შეიძლება, ვინაიდან პრეპარატის ტოქსიური მოქმედებით ცხოველი შეიძლება მოკვდეს. გამოსაკვლევ მასალას ცხოველს ცხვირის ღრუში აწვეთებენ.

დოზა. თეთრი თაგვებისათვის 0,03-0,05 მლ, თეთრი ვირთხისათვის 0,5-1.0 მლ-ია, ზღვის გოჭისათვის და ბოცვრისათვის 2,0 მლ-მდე.

ლაბორატორიული ცხოველებიდან სისხლის აღება

ლაბორატორიული ცხოველებიდიან დიდი რაოდენობით სისხლის აღებას ახდენენ გულიდან, ბარძაყის ვენიდან და სხვა; მცირე რაოდენობით ყურის ვენიდან, კუდის ვენიდან, თითებიდან, რეტრობულბალური ვენური წნულიდან, ბიბილოდან.

გულიდან სისხლის აღება. ამ მეთოდით სისხლს უღებენ ანესთეზირებულ თეთრ თაგვს, თეთრ ვირთხას, ზღვის გოჭს, ბოცვერს, ფრინველს და სხვ. გულიდან სისხლის აღების დროს თეთრი თაგვი, თეთრი ვირთხა და ზღვის გოჭი შეიძლება მოკვდეს.

ყურის ვენიდან სისხლის აღება. ეს მეთოდი ბოცვრებში გამოიყენება. ცხოველს აფიქსირებენ. კანს ყურის ვენის გაყოლებაზე, სპირტში ან ქსილოლში დასველებული ბამბით ამუშავებენ. ყურის ფუძეზე თითების დაჭერით ვენაში აჩერებენ სისხლის მოძრაობას. სისხლის აღება ვენის გაჭრით ან პუნქციით ხორციელდება.

კუდის ვენიდან სისხლის აღება. გამოიყენება თეთრ თაგვსა და თეთრ ვირთხაში. ნარკოზირებული ცხოველის კუდს სპირტით ან ეთერით ამუშავებენ, ან 10 წუთი 45^{0}C-მდე გამთბარ წყალში ჩააყოფინებენ. სისხლის ასაღებად ვენას ჭრიან, ან კუდის ბოლოს მაკრატლით მოაცილებენ.

რეტრობულბალური ვენური წნულიდან სისხლის აღება. გამოიყენება თეთრი თაგვიდან და თეთრი ვირთხიდან სისხლის ასაღებად. სისხლის შესაჩერებლად ნარკოზირებულ ცხოველს კისერზე ოდნავ მოუჭერენ ხელს, სისხლის მოძრაობა თავის

მიდამოში ჩერდება. თვალები ორბიტებიდან რამდენადმე წინ წამოიწევს. თვალის მედიალურ კუთხეში შეყავთ პიპეტი. ვენური წნულის დაზიანების შედეგად სისხლი გროვდება პიპეტში.

ბიბილოდან სისხლის აღება. ფრინველიდან სისხლის ასაღებად ბიბილოში ახდენენ ნემსის ჩხვლეტას ან ერთი კბილის მოცილებას.

ლეშის გაკვეთა

ცხოველის გაკვეთას ახდენენ სპეციალურ მაგიდაზე. ლეშს გულაღმა ხის ან საცობის დაფაზე ათავსებენ, კიდურებით ჭიმავენ და დაფის კიდეებზე აფიქსირებენ. პატარა ცხოველი დაფას შეიძლება მიეჭედოს კიდურებით (ნახ. 44)

ნახ. 44 ცხოველის მომზადება გასაკვეთად

ბალანს მკერდისა და მუცლის მიდამოში სპირტით ან ქლორამინის 3%-იანი ხსნარით ამუშავებენ. გაკვეთას ახდენენ ასეპტიკის მკაცრი დაცვით სტერილური ინსტრუმენტებით. ბასრი სკალპელით შუა საგიტალურ ხაზზე (თეთრი ხაზის გასწვრივ) ნიკაპის გაორკაპებიდან მენჯის ძვლამდე ჭრიან კანს. ლეშს ატყავებენ მკერდისა და მუცლის ღრუს სრულ გაშიშვლებამდე, რომელსაც ამუშავებენ სპირტში დასველებული ბამბით. თავდაპირველად ხსნიან გულმკერდის ღრუს, ამ მიზნით მკერდის ძვლის მახვილისებრი მორჩის ოდნავ ქვევით სკალპელით აკეთებენ ხვრელს. მაკრატლის ბლაგვი წვერი შეაქვთ ხვრელში და ახდენენ ნეკნების

შემოჭრას ორივე მხარეზე. გულმკერდის მოცილებულ ნაწილს თავის მიმართულებით გადასწევენ. გულმკერდის ღრუს ათვალიერებენ გულდასმით, ინიშნავენ ცვლილებებს. გახურებული ლითონის შპადელით მარჯვენა წინაგულის ან პარკუჭის მიდამოს მოწვავენ. სტერილური მახვილბოლოიანი პიპეტი ჩხვლეტით შეაქვთ გულში, სისხლი გადადის პიპეტში. სისხლის სინჯებს თესავენ საკვებ არეებში. ბაქტერიოსკოპული გამოკვლევისათვის წვეთიდან ამზადებენ ნაცხებს.

სტერილური სკალპელით ხსნიან მუცლის ღრუს. გულდასმით აკვირდებიან და ინიშნავენ ცვლილებებს. პარენქიმული ორგანოებიდან სინჯების ასაღებად გახურებული შპადელით სათანადო ორგანოს ზედაპირს მოწვავენ. სტერილური სკალპელით ჭრიან და ღრმა შრეებიდან ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით აღებულ სინჯს ხპა-სა და ხპბ-ში თესავენ. ერთდროულად ორგანოებიდან ამზადებენ ანაბეჭდ ნაცხებს, ღებავენ და სინჯავენ მიკროსკოპში.

გაკვეთის დამთავრების შემდეგ ლეშს ავტოკლავში აუვნებლებენ ან წვავენ. ცხოველის საფიქსაციო დაფას სპირტში დასველებული ბამბით მოწვავენ ან ერთი დღე-ღამის განმავლობაში სადეზინფექციო ხსნარში ტოვებენ. ინსტრუმენტებს და ლურსმნებს ასტერილებენ ადუღებით.

ცხოველებისათვის განკუთვნილ ლითონის გალიებს თავდაპირველად ცეცხლით მოწვავენ, შემდეგ რეცხავენ წყლით. სინთეზური მასალიდან დამზადებულ გალიებს უვნებელყოფენ სადეზინფექციო ხსნარით, წყლით რეცხავენ და ამშრალებენ. მინის ქილებში ასხამენ სადეზინფექციო ხსნარს, ტოვებენ 24 საათის განმავლობაში, რეცხავენ წყლით და ამშრალებენ.

ლეშიდან გამოსაკვლევი მასალის აღება და გადაგზავნა

ინფექციურ დაავადებაზე დიაგნოზის დასმა მოითხოვს მკვდარი ცხოველიდან გამოსაკვლევი მასალის აღებას და ლაბორატორიაში გადაგზავნას.

გამოსაკვლევ მასალას იღებენ სტერილური ინსტრუმენტებით, სტერილურ ჭურჭელში ასეპტიკის წესების დაცვით.

ფეკალურ მასას იღებენ სწორი ნაწლავიდან, ათავსებენ სტერილურ ქილაში, რომელსაც ჰერმეტულად ხურავენ.

ელენთის, ღვიძლის, თირკმლის, კუნთის და სხვა ორგანოთა ნაჭრებს, აგრეთვე ლიმფურ კვანძებს ქილაში ათავსებენ, რომელშიაც გლიცერინის 30%-იანი წყალხსნარია ჩასხმული. ქილას ჰერმეტულად არგებენ სახურავს, გარშემო გამლღვალ პარაფინისა და ცვილის ნარევს წააცხელებენ.

ლულოვან ძვლებს ბოლოების დაუზიანებლად ათავისუფლებენ კუნთებისა და მყესებისგან, ახვევენ სულემის 1:1000-ზე განზავებულ ან ფენოლის 5%-იან ხსნარში დასველებულ დოლბანდ'ში და ყუთში ფუთავენ.

ჯილეხზე გამოსაკვლევად მკვდარი ცხოველის ყური გამოიყენება. იმ მხარეს, რომელზედაც ლეში დევს ყურზე ორ ადგილას ადებენ ლიგატურას. ლიგატურებს შორის ყურს მოკვეთენ, გადანაჭერ ადგილებს მოწვავენ. ყურს სულემაში დასველებულ დოლბანდში ახვევენ. ტყავის ნაჭრებს ზომით 10 X 10 სმ მინის ჰერმეტული ჭურჭლით აგზავნიან.

გოჭის, ხბოს, ფრინველის, შეძლების შემთხვევაში კვიცის ლეშს და ცხოველთა ნაყოფებს ფენოლის ან კრეოლინის ხსნარში დასველებულ ტომარაში ახვევენ და ხის ან თუნუქის ყუთში ათავსებენ.

მკვდარ ფუტკრებს ქილით აგზავნიან, რომელშიც თაფლია ჩასხმული.

განსაკუთრებით საშიშ ინფექციებზე გამოსაკვლევად (ჯილეხი, ემკარი, ტულარემია, ბრუცელოზი, ღორის აფრიკული ცხელება, ფრინველის გრიპი, მსხვილფეხა პირუტყვის ჭირი და სხვ.) პათოლოგიურ მასლას ათავსებენ ტენგაუმტარ, პირველად კონტეინერში (შუშის ან პლასტმასის ბოთლები, თავმოსახ-რახნიანი სინჯარები). თითოეული კონტეინერი ცალ-ცალკე უნდა იყოს შეხვეული. მოსახრახნ თავიან სახურავებს უნდა ჰქონდეთ გარშემოვლებული წებოვანი ლენტი. სათანადო ეტიკეტი და სადეზინფექციო საშუალება იფუთება და თავსდება მასალის გარეკანზე.

პირველადი კონტეინერი თავსდება ლითონის ან პლასტმასისაგან დამზადებულ დარტყმაგამძლე მეორად კონტეინერში.

მეორად კონტეინერს ათავსებენ ყუთში ან კონტეინერში ე.წ. გარეთა შეფუთვა. მეორად კონტეინერსა და გარეთა შეფუთვას შორის ათავსებენ ტენგაუმტარ კონვერტს, სადაც, დაწერილებით უნდა იყოს მითითებული შემდეგი მონაცემები: ნიმუშის რაობა, მისი რაოდენობა, ნიმუშის აღების ადგილი.

ნიმუშების ცივად შენახვის აუცილებლობის შემ-თხვევაში, გამოიყენება საყინულე კარადები. მშრალი ყინული თავსდება მეორადი კონტეინერის გარეთ.

აღნიშნული თანმიმდევრობით შეფუთული მასალა იგზავნება ლაბორატორიში გამოსაკვლევად.

მიკროორგანიზმთა კულტურებს საკვებ არეებთან ერთად აწყობენ თუნუქის "პენალში", პლომბავენ და აგზავნიან ლაბორატორიაში.

მსხვილ ცხოველებში (ცხენი, ძროხა, ცხვარი და სხვ.) სეროლოგიური გამოკვლევისათვის სისხლის აღებას ახდენენ საუღლე ვენიდან სტერილური ნემსით 5-7 მლ-ის მოცულობით. ღორში სისხლის ასაღებად ცხოველს მაკრატლით კუდის ბოლოს მოაჭრიან. სისხლს სინჯარაში აგროვებენ.

სისხლს ლაბორატორიაში აგზავნიან აღებიდან არაუგვიანეს 2-3 დღის განმავლობაში. სინჯარებს ფუთავენ ვერტიკალურ მდგომარეობაში. ცივ ამინდში საჭიროა სინჯარების დაცვა გაყინვისაგან.

სინჯარაზე აკეთებენ სათანადო წარწერებს: ნომრის, ცხოველის სახელის (ან პატრონის გვარის) აღნიშვნით. სინჯებს სისხლით ლაბორატორიაში აგზავნიან.

ჰაერის, წყლის და ნიადაგის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

ჰაერის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

ჰაერის სანიტარიული შეფასებისათვის საზღვრავენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1 მ^3-ში შემდეგი მეთოდების გამოყენებით:

კოხის სედიმენტაციის მეთოდი. პეტრის ფინჯნებს 15-20 მლ ხპა-თი ტოვებენ შენობაში, თავლია მდგომარეობაში, 15-20 წუთს. ფინჯნებს ახურავენ სახურავს და ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. ინკუბაციიდან 48 სთ-ის შემდეგ ითვლიან კოლონიებს და საზღვრავენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1 მ^3-ჰაერში ფორმულით:

$$X = \frac{a \times 100 \times 5}{b \times 10 \times g} \times 1000$$

სადაც X ბაქტერიათა რაოდენობაა 1მ^3 ჰაერში, a- კოლონიათა რაოდენობა ფინჯანში, b- ფინჯნის ფართობი, g- ცდის ხანგრძლივობა (სინჯის აღების დრო), 1000- გადაანგარიშება 1 მ^3-ჰერის მოცულობაზე; 100, 10 და 5 ექსპერიმენტულად დადგენილი ციფრებია. საშუალოდ 100 სმ მ^3-ის

ფართობზე 5 წუთში ილექება 10 ლ ჰაერში არსებული მიკროორგანიზმები.

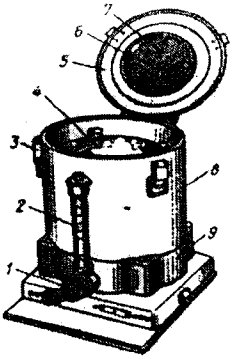
სანიტარიული ტესტ-მიკროორგანიზმების (ჰემოლიზური სტაფილოკოკები, სტრეპტოკოკი) რაოდენობის დასადგენად გამოიყენება გლუკოზიან-სისხლიანი აგარი, ხოლო სოკოების გამოსაყოფად საბუროს საკვები არე.

ფილტრაციის მეთოდი. სპეციალურ ხელსაწყოში (სტერილური ჭურჭელი მინის ბურთულებით და 50-100 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარით ან ხპბ-ით), თანაბარი სიჩქარით ახდენენ 100-150 ლ ჰაერის გატარებას. ჰაერის გატარების შემდეგ 1 მლ სითხე შეაქვთ სტერილურ პეტრის ფინჯანში 15-20 მლ ხპა-თი. ფინჯნებს წრიული მოძრაობით ფრთხილად ანჯღრევენ. აგარის გამყარების მიზნით ფინჯანს 15-20 წუთი ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე, შემდეგ გადააქვთ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. მეორე დღეს ითვლიან კოლონიებს და საზღვრავენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1მ^3-ჰაერში ფორმულით

$$x = \frac{a \times b}{g} \times 1000;$$

სადაც X მიკროორგანიზმთა რაოდენობაა 1მ^3 ჰაერში, a-კოლონიათა რაოდენობა ფინჯანში, b-სითხის მოცულობა, g-გატარებული ჰაერის მოცულობა, 1000- გადაანგარიშება 1 მ^3-ჰაერის მოცულობაზე.

ასპირაციული მეთოდი. ამ მიზნით გამოიყენება კროტოვის ხელსაწყო, რომელიც ცილინდრისებრია (ნახ. 45).



ნახ. 45 კროტოვის ხელსაწყო

კროტოვის ხელსაწყოს შემადგენელი ნაწილები: 1 როტომეტრის ხრახნი, 2) როტომეტრი, 3) დამჭერები, 4) მბრუნავი დისკო, 5) სახურავი, 6) დისკო, 7) სოლისებრი ნაპრალი, 8) კორპუსი, 9) ფუძე.

ხელსაწყოში ჩამონტაჟებულია ელექტრომოტორი ცენტრიდანული ვენტილატორით და პეტრის ფინჯნის (ხპა-თი) მბრუნავი საყრდენი დისკო. ცილინდრის სახურავში სოლისებრი ნაპრალია. მისი დახმარებით ჰაერი შეიწოვება, რომლის რაოდენობა როტომეტრით იზომება.

ჰაერის სანიტარული შეფასებისათვის გათვალისწინებულია შემდეგი გარემოება: საცხოვრებელი ბინის ჰაერი სუფთაა და ზაფხულის პერიოდში მიკროორგანიზმთა საერთო რაოდენობა $1 მ^3$-ში შეადგენს 1500-ს, ჰემოლიზური სპრეპტოკოკებისა არაუმეტეს 15-ს, ზამთარში შესაბამისად 4500-ს და 30-ს შეადგენს.

წყლის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

წყლის სინჯის აღება ხდება სტერილურ ჭურჭელში ასეპტიკის დაცვით.

მდორე წყლებიდან (ზღვა, ჭაობი და სხვა) და მდინარეებიდან სინჯების აღებას ახდენენ სპეციალური

ხელსაწყოთა - ტყვიის ფუძიან დაზგაში ჩადგმული ბოთლით (ნახ. 46).

ბოთლის გახსნა შესაძლებელია ნებისმიერ სიღრმეზე, საცობზე მიმაგრებული ბაწრით. მდინარიდან სინჯის აღება ხდება ნაპირიდან 2-3 მ-ის დაშორებით, 0,25-0,5 მ სიღრმეზე. თხელი წყლებიდან ნიმუშებს იღებენ ფსკერიდან 15 სმ-ის დაშორებით.

სასმელი წყლის სინჯების აღებამდე ონკანს წინასწარ მოწვავენ. სინჯებს იღებენ წყლის ჭაელის პირველი პორციის ჩამოსვლიდან 10-15 წუთის შემდეგ. ჭიდან წყლის ნიმუშს იღებენ მოხმარებამდე ან გამოყენებიდან 10-12 საათის შემდეგ. ქლორირებულ წყალს წინასწარ ანეიტრალებენ ნატრიუმის სულფატით შეფარდებით 10.0 გ Na_2SO_4 1 ლ წყალზე. წყლის გამოკვლევა უნდა ჩატარდეს სინჯების აღებიდან არაუმეტეს 2 საათისა. (1-5^{0}C-ზე წყლის სინჯის შენახვის ხანგრძლივობა 6 სთ-მდეა).

ნახ. 46 წყლის სინჯის

ასაღები ბოთლი. გამოკვლევის მიზნის მიხედვით სინჯებს იღებენ 10, 100 ან 300-500 მლ-ის მოცულობით.

წყალში მიკროორგანიზმთა საერთო რიცხვის დადგენა. ღია წყალსატევების წყლის სინჯებს 15-20 მლ-ის მოცულობით აცენტრიფუგებენ 1500 ბრ/წთ-ში, 10-15 წუთს. სუპერნატანტს გადაღვრიან, ტოვებენ 5 მლ-მდე. დაბინძურების ხარისხის მიხედვით აზავებან სტერილურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში ან გამოხდილ წყალში. ჩვეულებრივ ამზადებენ 3-7 განზავებას. ონკანის ან არტეზიულ წყალს იკვლევენ განზავების გარეშე. თითოეული განზავებიდან თითო-თითო მილილიტრი შეაქვთ სტერილურ პეტრის ფინჯანში 15-20 მლ ხპა-თი. ფინჯნებს ფრთხილად შეარხევენ აგარის გამყარების შემდეგ ფინჯნები გადააქვთ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე. ინკუბაციიდან 18-20 საათის შემდეგ ითვლიან კოლონიებს. მათი რიცხვის გამრავლებით განზავების ხარისხზე ადგენენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1 მლ წყალში. მიკროორგანიზმთა სერთო რაოდენობა სასმელ წყალში არ უნდა აღემატებოდეს 100-ს, ხოლო ღია წყალსატევების წყალში 1000-ს.

წყლის კოლიტიტრის განსაზღვრა. წყალში ნაწლავის ჩხირის აღმოჩენა ფეკალური მასებით და შესაბამისად წყლის პათოგენური მიკროორგანიზმებით შესაძლო დაბინძურების მაჩვენებელია.

ნაწლავის ჩხირით წყლის დაბინძურების ხარისხს გამოხატავენ კოლი-ტიტრით და კოლი-ინდექსით. წყლის უმცირეს რაოდენობას, რომელიც ნაწლავის ჩხირს შეიცავს *კოლი-ტიტრი* ეწოდება. ნაწლავის ჩხირის რაოდენობას 1 ლ წყალში *კოლი-ინდექსი* ეწოდება.

კოლი-ტიტრის დადგენა წარმოებს "დუღილის" სინჯით და მემბრანული ფილტრების გამოყენებით. "დუღილის" სინჯისათვის გამოსაკვლევი წყლის ნიმუშებს ჩათესავენ სპეციალურ ნიადაგებში და ნაწლავის ჩხირისათვის

დამახასიათებელი ზრდის შემთხვევაში ახდენენ ამოთესვას სადიაგნოსტიკო-სადიფერენციაციო საკვებ არეებში.

გამოკვლევის თანამიმდევრობა. ონკანის წყლის გამოსაკვლევად ნიმუშებს იღებენ შემდეგი რაოდენობით: სამს - 100-100 მლ-ის, სამს - 10-10 მლ-ის, სამს - თითო-თითო მლ-ის, ხოლო ჩანადენ წყალს ოთხი მოცულობით: 1,0; 0,1, 0,01 და 0,001 მლ. აღნიშნული რაოდენობით წყლის სინჯებს ჩათესავენ ტივტივებიან კოლბებში (ან ფლაკონებში) და სინჯარებში გლუკოზიან-პეპტონიანი ან ლაქტოზიან-პეპტონიანი საკვები არეთი, რომელსაც დამატებული აქვს ინდიკატორი.

საკვები არეს შემადგენლობა. ნატივური საკვები არე: 10 გ პეპტონი, 5.0 გ ქიმიურად სუფთა სუფრის მარილი, 5,0 გ გლუკოზა, 1 ლ გამოხდილი წყალი, 10,0 მლ ანდრედეს ინდიკატორი.

კონცენტრირებული საკვები არე. საკვები არეს შემადგენლობაში წყლის რაოდენობა იგივეა, დანარჩენი კომპონენტები აღებულია ორმაგი მოცულობით. 10,0 მლ კონცენტრირებულ საკვებ არეში შეაქვთ 100,0 მლ გამოსაკვლევი წყალი; 1,0 მლ კონცენტრირებულ საკვებ არეში 10,0 მლ წყლის სინჯი. წყლის ნიმუშები 1,0 მლ, 0,2 მლ და უფრო ნაკლები რაოდენობით შეაქვთ სინჯარებში 10-10 მლ მოცულობით კონცენტრირებული ბულიონი. ნათესებს ტოვებენ თერმოსტატში 37^0C-ზე 18-20 საათს. მიკროორგანიზმთა ზრდის, აირებისა და მჟავის არ არსებობის შემთხვევაში შედეგი უარყოფითია. კოლბებიდან (ფლაკონები) და სინჯარებიდან, რომელშიაც აღინიშნება ნაწლავის ჩხირის ზრდა (შემღვრევა, საკვები არეს ფერის ცვლილება) ახდენენ ამოთესვას პეტრის ფინჯნებში, ენდოსა და ლევინას აგარზე. ფინჯნებს 18-20 საათს ათავსებენ თერმოსტატში 37^0 C-ზე.

ენდოს აგარზე ჩამოყალიბებული ნაწლავის ჩხირის ტიპური კოლონიებიდან ამზადებენ პრეპარატს და იკვლევენ მიკროსკოპში. კულტურას სწავლობენ ოქსიდაზურ ტესტზე.

ფილტრის ქაღალდის საწყისი ფერის შენარჩუნება (უარყოფითი ოქსიდაზური სინჯი) და პრეპარატში გრამურაყოფითი ჩხირების არსებობა, ნაწლავის ჩხირის ზრდის მაჩვენებელია.

დადგენილ ნორმაზე მეტი კოლი-ტიტრის შემთხვევაში გამოკვლევას იმეორებენ. ფეკალური მასებით წყლის დაბინძურების გამოსაკვლევად, ნათესების კულტივირებას ახდენენ 37^{0}C-ზე, ციკისისხლიანი ცხოველების ნაწლავის ჩხირის დიფერენცირებისათვის, რომელიც არ იზრდება აღნიშნულ ტემპერატურაზე. სახელმწიფო სტანდარტის მიხედვით ღია წყალსატევების კოლიტიტრი საორიენტაციოდ არ უნდა იყოს 111-ზე /ცხრილი 22/, ხოლო ონკანის წყლის 333-ზე /ცხრილი 23/ ნაკლები.

მემბრანული ფილტრებით წყლის კოლი-ინდექსის განსაზღვრა. მემბრანულ ფილტრებს (№2 და №3) გულდასმით რეცხავენ ცხელი წყლით. ფილტრებს ამონტაჟებენ ულენჰუტის ძაბრზე ან ბუნზერის კოლბაზე. ონკანის წყალს არანაკლებ 333 მლ-ს, ხოლო ღია წყალსატევებისას 0,1; 1,0 და 10,0 მლ-ის მოცულობით ფილტრავენ. 1,0 და ნაკლები მოცულობის სინჯრებს გაფილტრამდე წინასწარ აზავებენ 10-ჯერ სტერილურ წყალში. ფილტრები ასეპტიკის დაცვით გადააქვთ პეტრის ფინჯნებში ჩამოსხმულ ენდოს აგარზე. ფინჯნებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^0 C-ზე. ინკუბაციიდან 18-20 სათის შემდეგ ითვლიან ნაწლავის ჩხირის კოლონიებს, ამრავლებენ 1000-ზე, მიღებული რიცხვის გაყოფით გაფილტრული წყლის მოცულობაზე ღებულობენ ნაწლავის ჩხირის რაოდენობას 1 ლ წყალში (კოლი-ინდექსი).

წყალში პათოგენური მიკროორგანიზმების აღმოჩენა. წყალში პათოგენური მიკროორგანიზმების აღმოსაჩენად, წყლის სინჯებით ასნებოვნებენ საცდელ ცხოველებს. ცხოველის სიკვდილის შემდეგ შინაგანი ორგანოებიდან ახდენენ ამოთესვას საკვებ არეებზე. გამოყოფილი კულტურა ექვემდებარება იდენტიფიკაციას.

ცხრილი 22

ღია წყალსაცავების წყლის კოლი-ტიტრი და კოლი-ინდექსი

გამოსაკვლევი წყლის მოცულობა მილილიტრებში				კოლი-ტიტრი	კოლი-ინდექსი
100	10	1	0,1		
-	-	-	-	111-ზე მეტი	9-ზე ნაკლები
-	-	+	-	111	9
-	+	-	-	105	10
+	-	-	-	43	23
+	-	+	-	10	94
+	+	-	-	4	230
+	+	-	+	1	960
+	+	+	-	0,4	2380
+	+	+	+	0,4-ზე ნაკლები	2380-ზე მეტი

შენიშვნა: + ზრდა; – ზრდა არ აღინიშნება

ცხრილი 23

ონკანის წყლის კოლი-ტიტრის და კოლი-ინდექსის განსაზღვრა

წყლის ანალიზის დადებითი შედეგების რაოდენობა			კოლი-ტიტრი	კოლი-ინდექსი
3 ფლაკონი 100-100 მლ-ით	3 სინჯარა 10-10 მლ-ით	3 სინჯარა თითო მლ-ით		
0	0	0	333-ზე მეტი	3-ზე ნაკლები
0	0	1	333	3
0	1	0	333	3
1	0	0	250	4

1	0	1	143	7
1	1	0	143	7
1	1	1	91	11
1	2	0	91	11
2	0	0	111	9
2	0	1	72	14
2	1	0	67	15
2	1	1	50	20
2	2	0	48	21
2	2	1	86	28
3	0	0	43	23
3	0	1	26	39
3	0	2	16	64
3	1	0	23	43
3	1	1	13	75
3	1	2	8	120
3	2	0	11	93
3	2	1	7	150
3	2	2	5	210
3	3	0	4	240
3	3	1	2	460
3	3	2	0,9	1100
3	3	3	0,9-ზე ნაკლები	1100-ზე მეტი

ნიადაგის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

25 კვ.მ. ფართობიდან, 10-20 სმ-ის სიღრმეზე სტერილურად იღებენ 10 სინჯს. გულდასმით ურევენ. ნარევის 1 კგ-ს აგზავნიან ლაბორატორიაში აღების ადგილის, ნიადაგის მახასიათებლების, გამოკვლევის მიზნის და თარიღის აღნიშვნით.

გამოკვლევის თანამიმდევრობა. ნიადაგის სინჯებს ასხამენ სტრილურ წყალს 1:10-ზე შეფარდებით, ანჯღრევენ 10

წუთს, ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში. ფილტრატს აზავებენ 10^{-9} (ქვიშნარ ნიადაგებს 10^{-7}). ბოლო 3 განზავებიდან თითო-თითო მილილიტრი შეაქვთ სტერილურ პეტრის ფინჯნებში 15-20 მლ ხპა-თი. ფინჯნებს ფრთხილად შეარხევენ. აგარის გამყარების შემდეგ ფინჯნები გადაქვთ თერმოსტატში 37^0C-ზე. ინკუბაციიდან 48 საათის შემდეგ ითვლიან ნაწლავის ჩხირის კოლონიათა რაოდენობას. მიღებულ ციფრს ამრავლებენ განზავების ხარისხზე და კრებენ. მიღებული ჯამის სამზე გაყოფით ადგენენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1 გ გამოსაკვლევ ნიადაგში.

ნიადაგის კოლი-ტიტრის განსაზღვრა. ნიადაგის კოლი-ტიტრი ეწოდება მის უმცირეს რაოდენობას, რომელიც ნაწლავის ჩხირს შეიცავს.

კოლი-ტიტრის განსაზღვრისათვის ნიადაგის სინჯე-ბიდან დამზადებულ სუსპენზიას ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში. ნაწლავის ჯგუფის მიკროორგანიზმებით სავარაუდო დაბინძურების ხარისხის გათვალისწინებით აზავებენ კესლერის საკვებ არეში (1 ლ გამოხდილი წყალი, 1,0 გ პეპტონი, 50 მლ ნაღველი, 2,5 გ ლაქტოზა, 4 მლ გენციან-ვიოლეტის 1%-იანი ხსნარი) იმ ანგარიშით, რომ გამოსაკვლევი ნიადაგის რაოდენობამ შეადგინოს 0,1; 0,01; 0,001 გ. თითეული განზავებიდან 1 მლ ცალკ-ცალკე შეაქვთ ტივტივებიან სინჯრებში, რომლებშიაც 9-9 მლ კესლერის საკვები არეა ჩამოსხმული. ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 43^0C-ზე 48 საათს. სინჯარებში სიმღვრივის და აირების არ არსებობის შემთხვევაში შედეგი უარყოფითია. სინჯრებიდან, რომლებშიაც აღინიშნება შემღვრევა და აირების წარმოქმნა ახდენენ ამოთესვას ერთ-ერთ სადიაგნოსტიკო-სადიფერენციაციო ნიადაგზე (ენდო, ლევინა, პლოსკირევი). ნათესებს ინკუბაციისათვის ათავსებენ თერმოსტატში 37^0C-ზე 24 საათს. ნაწლავის ჩხირისათვის დამახასიათებელი, ტიპური

კოლონიების ჩამოყალიბების და პრეპარატში გრამუარყოფითი ჩხირების არსებობის შემთხვევაში შედეგი დადებითია.

ნიადაგის კოლი-ტიტრის განსაზღვრა მემბრანული ფილტრების გამოყენებით. ნიადაგი, რომლის 0,001 გ და უფრო მცირე მოცულობა შეიცავს ნაწლავის ჩხირს სანიტარიული ნორმებით ძლიერ დაბინძურებულია. 0,01-0,001 გ-ის დროს ზომიერად დაბინძურებული, ხოლო 0,1-0,01 გ-ის შემთხვევაში სუსტად დაბინძურებული.

ნიადაგში პათოგენური მიკროორგანიზმების აღმოჩენა. პათოგენური მიკროორგანიზმების გამოსაყოფად ნიადაგის სინჯებს ხსნიან სტერილურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში, ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში. ნატივური ან გაცხელებული ფილტრატით ასნებოვნებენ ლაბორატორიულ ცხოველებს. ცხოველის სიკვდილის შემთხვევაში შინაგანი ორგანოდან ახდენენ კულტურის გამოყოფას და იდენტიფიკაციას.

ნიადაგიდან მიკროორგანიზმთა სპოროვანი ფორმების გამოყოფა. ნიადაგის სინჯებიდან დამზადებულ შენაწონს გაფილტვრის შემდეგ აცხელებენ 80^0 C-ზე 20 წუთის განმავლობაში და ახდენენ ამოთესვას ხელოვნურ საკვებ არეებზე.

საკვების სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

რძისა და რძის პროდუქტების სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

რძისა და რძის პროდუქტების სანიტარიულ-ბაქტერიული გამოკვლევის მიზანია კეთილხარისხოვნების დადგენა. რძეს გამოსაკვლევად იღებენ 50,0 მლ-ის, კარაქს,

არაჟანს და ხაჭოს 20,0 გ-ის, ყველს 10,0 გ-ის მოცულობით. რძისა და რძის პროდუქტების გამოკვლევა უნდა მოხდეს სინჯების აღებიდან 4 საათის განმავლობაში.

რძეში მიკროორგანიზმთა საერთო რაოდენობის დადგენა. რძის სინჯებს აზავებენ სტერილურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში 10^{-1} –დან 10^{-8} –მდე. ბოლო 3 განზავებიდან 0,5-0,5 მლ შეაქვთ პეტრის ფინჯნებში ხორც-პეპტონიანი აგარის ზედაპირზე და ანაწილებენ თანაბრად სტერილური შპადელით. ფინჯნები ოთახის ტემპერატურაზე დაყოვნებიდან 15-20 წუთის შემდეგ გადააქვთ თერმოსტატში 37^0C-ზე. თერმოსტატირებიდან 48 საათის შემდეგ ფინჯნებში ითვლიან კოლონიების რაოდენობას, ამრავლებენ ორზე, გამოყავთ საშუალო არითმეტიკული და ადგენენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას I მლ რძეში.

შეფასება. I კლასის რძე შეიცავს 500 000-მდე ბაქტერიას, II კლასის რძე 500 000-დან 4 000 000 –მდე, III კლასის 4 000 000-დან 20 000 000-მდე, ხოლო IV კლასის რძე 20 000 000-ზე მეტ მიკროორგანიზმს.

რედუქტაზას განსაზღვრა. ბაქტერიათა უმეტესობა გამოიმუშავებს ფერმენტ რედუქტაზას, რომელიც ახდენს მეთილენის ლურჯის გაუფერულებას. მისი ინტენსივობა რძეში ბაქტერიათა რაოდენობის პირდაპირ პროპორციულია. რძეში ბაქტერიათა სიუხვის დროს საღებავის გაუფერულება აქტიურად მიმდინარეობს.

ცდის მსვლელობა. სინჯარაში შეაქვთ 20 მლ გამოსაკვლევი რძე. უმატებენ I მლ მეთილენის ლურჯის ხსნარს. სინჯარას არგებენ საცობს, ანჯღრევენ და ათავსებენ თერმოსტატში ან წყლის აბაზანაში 38-40^0C-ზე, აკვირდებიან საღებავის გაუფერულების სისწრაფეს და მიღებული შედეგებით მსჯელობენ რძეში მიკროორგანიზმთა რაოდენობასა და კეთილხარისხოვნებაზე. (ცხრილი №24).

ცხრილი 24

რძის შეფასება

გაუფერულების სიჩქარე	ბაქტერიათა სავარაუდო რაოდენობა 1მლ–ში	რძის შეფასება	კლასი
20 წუთზე ნაკლები	20 მლნ-ზე მეტი	ძალიან ცუდი	მე-4
20 წუთიდან - 2 საათამდე	4 მლნ-დან 20 მლნ-მდე	ცუდი	მე-3
2 სთ-დან- 5 1/2 საათამდე	500 ათასიდან 4 მლნ-მდე	საშუალო	მე-2
$5^{1/2}$ სთ-ზე მეტი	500 ათასზე ნაკლები	კარგი	1

რძისა და რძის პროდუქტების კოლი-ტიტრის განსაზღვრა. რძის კოლიტიტრის დასადგენად გამოიყენება კესლერის საკვები არე. (მოდიფიცირებული)

კესლერის საკვები არეს დასამზადებლად ყოველ 1 ლ გამოხდილ წყალს უმატებენ 10,0 გ პეპტონს, 50,0 მლ მსხვილფეხა პირუტყვის ნაღველს, 2,5 გ გლუკოზას, 2,0 მლ კრისტალვიოლეტის 10%-იან ხსნარს. საკვებ არეს ჩამოასხამენ ტიუტივებიან სინჯარებში და ასტერილებენ.

ჩათესვის წინ რძეს და რძის პროდუქტების სინჯებს აზავებენ, თითოეული განზავების 1 მლ-ს თესავენ კესლერის საკვებ არეში. სინჯარებს ათავსებენ თერმოსტატში 37^0C-ზე. ინკუბაციიდან 18-24 საათის შემდეგ ნაწლავის ჩხირის იდენტიფიკაციისათვის, სინჯარებიდან რომლებშიაც აღინიშნება მიკროორგანიზმთა ზრდა ახდენენ ამოთესვას ენდოს აგარზე. თერმოსტატირებიდან მეორე დღეს ნაწლავის ჩხირისათვის დამახასიათებელ კოლონიებს ამოთესავენ კოზერის საკვებ არეში (1,5 გ ფოსფორმჟავა ამონიუმი, 1,0 გ $KNH_4(PO_3)_2$, 0,2 გ $MgSO_4$, 2,5-3,0 გ ლიმონმჟავა ნატრიუმი და 10,0 მლ ბრომთიმოლის ლურჯის 0,5%-იანი სპირტიანი ხსნარი). კოლიტიტრის განსაზღვრისათვის ხელმძღვანელობენ ცხრ. 25-ით.

ცხრილი 25

რძის და რძის პროდუქტების კოლი ტიტრის განსაზღვრა

გამოსაკვლევი პროდუქტი	განზავება	სინჯარა საკვები არეთი, რომელშიც წარმოებს ჩათესვა
რძე, ნაღები (უმი)	1:10000-დან 1:100 ათასამდე	1
რძე, ნაღები (პასტერიზებული)	1-დან 1:10-მდე	3
რძემჟავა პროდუქტები	იგივე	იგივე
ხაჭო, არაჟანი	1:10-დან 1:10000-მდე	1
კარაქი	1;1:10, 1:100 და 1:100	2
ნაყინი	1:100	3

პარალელურად ახდენენ ამოთესვას ლაქტოზიან და ანდრედეს ინდიკატორიან საკვებ არეებზე. კესლერის საკვებ არეში E.coli-ის დადგენის შემთხვევაში ანგარიშობენ კოლი-ტიტრს: ა) ნაწლავის ჩხირის ზრდა არ აღინიშნება, კოლი-ტიტრი 3-ზე მეტია, ბ) ნაწლავის ჩხირის ზრდა აღინიშნება ერთ სინჯარაში, კოლი-ტიტრი 3-ის ტოლია, გ) ნაწლავის ჩხირის ზრდა 2-3 და 4 სინჯარაში, კოლი-ტიტრი 0,3-ის ტოლია. კოლი-ტიტრი 3 და მეტი რძის პროდუქტების მაღალხარისხოვნების მაჩვენებელია.

რძის კოლი-ტიტრის განსაზღვრა მემბრანული ფილტრებით. უმი რძის სინჯებს აზავებენ 1:100-ზე, 1:1000-ზე და 1:10 000-ზე, პასტერიზებულ რძეს 1:10-ზე, 1:100-ზე და 1:1000-ზე. პირველი განზავებიდან 2 მლ-ს, ხოლო დანარჩენიდან 10-10 მლ-ს ფილტრავენ ცალკ-ცალკე. ფილტრებს ათავსებენ ფინჯნებში ჩამოსხმულ ენდოს აგარზე. ფინჯნები გადააქვთ თერმოსტატში 37^0C-ზე. ინკუბაციიდან 24 საათის შემდეგ აღრიცხავენ კოლონიების საერთო – მათ შორის ტიპური კოლონიების რაოდენობას.

დაავადებული ძროხის რძის გამოკვლევა. რძის სინჯებს ცურის თითებიდან იღებენ ცალ-ცალკე. რძეს იკვლევენ ლეიკოციტების რაოდენობაზე, კატალაზასა და ბრომთიმოლზე. გამოკვლევა ითვალისწინებს პათოგენური მიკროორგანიზმების აღმოჩენას.

ლეიკოციტური სინჯი. დანაყოფებიან ცენტრიფუგის სინჯარაში შეაქვთ 10 მლ 65^{0}C-ზე გაცხელებული და დოლ-ბანდში გაფილტრული რძე. აცენტრიფუგებენ 1200 ბრ/წთ, 5 წუთი ნალექს იკვლევენ მიკროსკოპში. ნორმალური რძე 300 000 მეტ ლეიკოციტს შეიცავს.

კატალაზას რიცხვის დადგენა. რძე შეიცავს წყალბადის ზეჟანგის დამშლელ ფერმენტ კატალაზას. ჯანმრთელი ცხოველის რძეში კატალაზა მცირე რაოდენობითაა. ცურში ანთებითი პროცესის დროს მისი რაოდენობა მკვეთრად მატულობს.

რძეში კატალაზას რიცხვს ადგენენ წყალბადის ზეჟანგის აღმოჩენით და გამოყოფილი ჟანგბადის აღრიცხვით.

კატალაზას რიცხვის დადგენა ხორციელდება სპეციალური ხელსაწყოთი. ჯანმრთელი ცხოველის რძეში კატალაზას რაოდენობა 2,5-3,0-ია, დაავადებული ცხოველის რძეში მკვეთრად მატულობს.

ბრომთიმოლის სინჯი. დამყარებულია რძის რეაქციაზე. ჯანმრთელი ძროხის რძე სუსტი მჟავა რეაქციისაა pH-6,3-6,5. სარძევე ჯირკვლებში პათოლოგიური პროცესის დროს იძენს ტუტე რეაქციას. pH-6,5-7,5-ის ცვლილების პარალელურად იცვლება რძის ფერი.

ცდის მსვლელობა. თეთრი ფერის ფაიფურის ფირფიტაზე ერთმანეთში ურევენ 3-4 წვეთ რძეს და 60^0–იან სპირტზე დამზადებულ ბრომთიმოლბლაუს 0,2%-იანი ხსნარის 1-2 წვეთს. ნორმალური რძის ფერი მოყვითალო ან მომწვანო ყვითელია. სტრეპტოკოკური ეთიოლოგიის მასტიტის დროს ძროხის რძე მოლურჯო-მწვანე ან მკვეთრი ყვითელია.

რძეში ტუბერკულოზის აღმძვრელის აღმოჩენა. სტერილურ კოლბაში შეაქვთ 50 მლ რძე, უმატებენ 50 მლ მწვავე ნატრიუმის 5-%-იან ხსნარს. კოლბას ანჯღრევენ და ათავსებენ 56-60^0 C-ზე 30 წუთს, უმატებენ 1 მლ ქსილოლს და 60-80 მლ გამოხდილ წყალს. კოლბას არგებენ რეზინის საცობს, ანჯღრევენ 10 წუთს. რძის სინჯი გადააქვთ ვიწროყელიან კოლბაში და ტოვებენ ოთახის ტემპერატურზე 45-50 წუთს. ქსილოლთან ერთად ადსორბირებული ტუბერკულოზის აღმძვრელები გროვდებიან სითხის ზედა ფენაში რგოლის სახით. რგოლიდან ამზადებენ ნაცხებს, ამუშავებენ ეთერით, აფიქსირებენ და ღებავენ ცილ-ნილსენის მეთოდით.

ბრუცელოზზე რძის გამოკვლევა. (რგოლური რეაქცია) რგოლურ რეაციას დგამენ ულენჰუტის ან ფლორინსკის სეროლოგიურ სინჯარებში.

ულენჰუტის სინჯარებში რეაქციის დადგმისას თავდა-პირველად ჩამოასხამენ 0,05 მლ (1 წვეთი) ანტიგენს, შემდეგ გრძელნემსიანი (5-6 სმ) შპრიცით ფრთხილად ამატებენ თითო-თითო მილილიტრ რძეს. სინჯარებს ანჯღრევენ გულდასმით.

ძირითადი რეაქციის პარალელურად იდგმება კონტროლები:

– წინასწარ ცნობილი ჯანმრთელი ცხოველის რძეზე.

– ჯანმრთელი ცხოველის რძისა და დადებითი შრატის ნარევზე (0,05 მლ შრატი + 1 მლ რძე).

შტატივს გამოსაკვლევი და საკონტროლო რძის სინჯარებით ათავსებენ წყლის აბაზანაში ან თერმოსტატში 37^{0}C-ზე ერთი საათის განმავლობაში.

რეაქციის შედეგების შეფასება ხდება ვიზუალურად, თერმოსტატიდან ან წყლის აბაზანიდან სინჯარების ამოღებისთანავე.

შედეგების აღრიცხვას იწყებენ საკონტროლო სინჯარებიდან. რეაქცია ჯანმრთელი ცხოველის რძესთან

უარყოფითია, ხოლო ჯანმრთელი ცხოველის რძისა და ბრუცელოზის დადებითი შრატის ნარევთან – დადებითი.

რეაქციის შედეგებს გამოხატავენ ჯვრებით:

+ + + (სამი ჯვარი)- რძის სვეტის ზემოთა ნაწილში ნაღების ფენაში მკაფიოდ გამოხატულია ლურჯი რგოლი, რძის დანარჩენი მასა თეთრია.

+ + (ორი ჯვარი)- ნაღების ფენაში ნათლად გამოხატულია ლურჯი რგოლი, რძის დანარჩენი მასა მოლურჯო შეხედულებისაა.

+ (ერთი ჯვარი)- რძე შეღებილია ლურჯ ფერში, ნაღების ფენა თეთრი ან მოყვითალოა.

სამი ან ორი ჯვრის დროს რეაქცია- დადებითია, ერთი ჯვრის შემთხვევაში უარყოფითია.

რძეში სტაფილოკოკური ტოქსინის აღმოჩენა. ბაქტერიოლოგიურ სინჯარაში ჩამოასხამენ 2 მლ გამოსაკვლევ რძეს, უმატებენ 1 წვეთ ბოცვრის განზავებულ ერითროციტებს. სინჯარას ანჯღრევენ და ერთი საათის განმავლობაში ათავსებენ თერმოსტატში 37^0 C-ზე, შემდეგ 1 საათს ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე. აცენტრიფუგებენ 10 წუთის განმავლობაში 1000 ბრ/წთ-ში. ცენტრიფუგირების შემდეგ აღრიცხავენ შედეგებს.

- ერითრციტები დალექილია სინჯარის ფსკერზე, რძის სვეტი თეთრია- რეაქცია უარყოფითია ანუ რძე არ შეიცავს სტაფილოკოკურ ტოქსინს.

- ერითროციტები დაშლილია, რძის სვეტი თანაბრად შეღებილია წითლად- რეაქცია დადებითია, რძე შეიცავს სტაფილოკოკურ ტოქსინს.

გამოკვლევის პროცესში, რძის შედედების შემთხვევაში წარმოქმნილი კოლტი ბოჭავს ერითროციტებს და არ აძლევს დალექვის საშუალებას, ამ შემთხვევაში შედეგებს არ აღრიცხავენ.

რძე, რომელიც იძლევა დადებით რეაქციას საჭიროებს დამატებით გამოკვლევას საკონტროლო სტაფილოკოკური, სპეციფიკური ანტიტოქსიური შრატით. ამ მიზნით 2 სინჯარაში ჩამოასხამენ ორ-ორ მილილიტრ გამოსაკვლევი რძის სინჯებს. პირველ სინჯარაში უმატებენ ერთ წვეთ ერითროციტებს, მეორეში - ერთ წვეთ ერითროციტებს და მოცემული შრატის AE-ს (ანტიტოქსიური ერთეული). სინჯარებს ერთი საათის განმავლობაში ათავსებენ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე, შემდეგ 1 საათს აჩერებენ ოთახის ტემპერატურაზე, აცენტრიფუგებენ და აღრიცხავენ შედეგებს. პირველ სინჯარაში (შრატის გარეშე) ჰემოლიზის, ხოლო მეორე სინჯარაში (შრატით) ჰემოლიზის არ არსებობის შემთხვევაში (წითელი შეფერილობა)- რეაქცია არასპეციფიკურია.

შენიშვნა: ერითროციტების დასამზადებლად ბოცვერს ყურის ვენიდან აუღებენ სისხლს სინჯარაში ლიმონმჟავა ნატრიუმის 5%-იანი ხსნარით, იმ ანგარიშით რომ 1 მოცულობა ხსნარზე მოდიოდეს 4 მოცულობა სისხლი. სისხლს აცენტრიფუგებენ. პლაზმას გადაღვრიან, ერითროციტებს რეცხავენ ფიზიოლოგიური ხსნარით 3-ჯერ. ნალექს აზავებენ 1:2-თან შეფარდებით ფიზიოლოგიურ ხსნარში. ერითროციტებს ინახავენ მაცივარში 3-5^{0}C-ზე.

ბრუცელოზზე ნაღების გამოკვლევა (რგოლური რეაქცია) სინჯარაში შეაქვთ 1,0 მლ ჯანმრთელი ძროხის ან იმ სახეობის ცხოველის რძე, რომელიც ექვემდებარება გამოკ-ვლევას. უმატებენ 10 წვეთ გამოსაკვლევ ნაღებს. სინჯარას გულდასმით ანჯღრევენ, დამზადებულ სუსპენზიაზე დგამენ რეაქციას და აღრიცხავენ შედეგებს (იხ რძის რგოლური რეაქცია).

კარაქში ტუბერკულოზის ჩხირის აღმოჩენა. კარაქის სინჯებს ერთი დღე-ღამის განმავლობაში ათავსებენ თერმოსტატში. ხაჭოსებრი ფენიდან აღებული სინჯები 2,0 გ-ის მოცულობით შეაქვთ სტერილურ სინჯარაში, რომელშიაც 3/4-

მდე წყალია ჩასხმული. აკვირდებიან ცხიმის ფენის წარმოქმნას, აცივებენ. გამოყოფილ წყალს აცენტრიფუგებენ. ნალექიდან ამზადებენ ნაცხებს, ღებავენ ცილ-ნილსენით, პრეპარატს იკვლევენ მიკროსკოპში. ტუბერკულოზის აღმძვრელი შედებილია წითლად. პარალელურად აღებული სინჯიდან ახდენენ კულტურის გამოყოფას და საპროფიტი მჟავა გამძლე მიკროორგანიზმთა იდენტიფიკაციისათვის საცდელი ცხოველების დასნებოვნებას.

ხორცის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

ხორცის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის მიზანია სიახლის დადგენა და პათოგენური ბაქტერიების აღმოჩენა.

გამოსაკვლევად ტან-ხორცის სხვადასხვა ნაწილებიდან: კისრის, ბეჭის მიდამოდან და ბარძაყის მსხვილი კუნთებიდან იღებენ სინჯებს 200 გ-ის მოცულობით. იძულებით დაკლულ ან დაავადებაზე საეჭვო ცხოველის ხორცის გამოკვლევისათვის ლაბორატორიაში დამატებით აგზავნიან ღვიძლის, ელენთისა და თირკმლის ნაჭრებს.

ხორცის სიახლის დადგენას ახდენენ მიკროსკოპული გამოკვლევით, pH-ის, ამიაკის და H_2S-ის განსაზღვრით.

მიკროსკოპიული გამოკვლევა. სტერილური მაკრატლით ან სკალპელით ხორცის სინჯის ზედაპირული და ღრმა შრეებიდან ამოაჭრიან პატარა ნაჭრებს, ამზადებენ ანაბეჭდ ნაცხებს. ღებავენ გრამის წესით. მიკროსკოპში ნახულობენ რამდენიმე მხედველობის არეს (დაახლოებით 5). ითვლიან კოკისებრ და ჩხირისებრ ფორმებს. გამოჰყავთ საშუალო არითმეტიკული.

ახალი ხორციდან დამზადებული ნაცხები ცუდად იღებება. ზედაპირული შრეებიდან დამზადებულ პრეპარატში

აღინიშნება კოკებისა და ჩხირების მცირე რაოდენობა (20 მიკროორგანიზმამდე). ღრმა შრეებიდან დამზადებულ პრეპარატში მიკროორგანიზმები არ არის ან აღინიშნება ერთეული ბაქტერიები.

სიახლეზე საეჭვო ხორციდან დამზადებული ანაბეჭდი ნაცხები იღებება დამაკმაყოფილებლად. ზედაპირული შრეებიდან დამზადებულ პრეპარატში აღინიშნება რამდენიმე ათეული (20-30) კოკისებრი, ხოლო ღრმა შრეებიდან დამზადებულში 20-მდე კოკისებრი და ჩხირისებრი ბაქტერია.

ძველი ხორციდან დამზადებული ანაბეჭდი-ნაცხები იღებება ინტენსიურად. ზედაპირული და ღრმა შრეებიდან დამზადებულ პრეპარატებში აღინიშნება 30-ზე მეტი მიკროორგანიზმი, უპირატესად ჩხირები.

გახრწნილი ხორციდან დამზადებული პრეპარატის ერთ მხედველობის არეში ჩხირების რიცხვი რამდენიმე ასეულს აღწევს.

ხორცის pH განსაზღვრა. ხორცის სინჯებს ათავისუფლებენ ცხიმისა და მყესებისაგან. გამოსაკვლევად იღებენ 10,0 გ-ს, აქუცმაცებენ პატარა ნაჭრებად, ასხამენ 100,0 მლ ნეიტრალური რეაქციის /pH-6,8-7,0/. გამოხდილ წყალს, ანჯღრევენ გულდასმით 15 წუთს. ექსტრაქტს ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში. ფილტრატის pH-ს საზღვრავენ ელექტრომეტრული მეთოდით.

ახალი ხორცის pH 5,7-6,5-ია, გაფუჭებულის კი pH-6,7 და მეტი. ხორცი, რომლის pH-6,5-ს აღემატება, მაგრამ თვალით შესამჩნევი ცვლილებები არ აღინიშნება, ექვემდებარება ბაქტერიოლოგიურ გამოკვლევას.

ხორცში ბაქტერიათა საერთო რიცხვის დადგენა. ხორცის სინჯს 1,0 გ-ის რაოდენობით ათავსებენ სტერილურ როდინში, უმატებენ 10,0 მლ სტერილურ წყალს, გულდასმით სრესენ (ძირითადი განზავება 1:10). ძირითადი განზავებიდან ამზადებენ 1:100 და 1:1000 განზავებას. თითოეული განზავების

თითო მილილიტრი შეაქვთ პეტრის ფინჯნებში 15-20 მლ გალღობილ და 45^0 C-მდე გაგრილებულ ხპა-თან ერთად. ფინჯანს წრიული მოძრაობით ფრთხილად არხევენ და ათავსებენ თერმოსტატში 37^0 C-ზე. ინკუბაციიდან 24-48 საათის შემდეგ ითვლიან კოლონიებს. მიღებული რიცხვის გამრავლებით განზავების ხარისხზე ადგენენ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას 1,0 გ ხორცში.

ხორცის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა. მიზნად ისახავს დაავადებათა აღმძვრელების აღმოჩენას. ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა მოიცავს მიკროსკოპირებას, ამოთესვას საკვებ არეებზე და საცდელი ცხოველების დასნებოვნებას.

კვერცხის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

კვერცხის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის მიზანია სიახლეზე შემოწმება და პათოგენური მიკროორგანიზმების დადგენა.

კვერცხის სიახლეზე შემოწმება – ხორციელდება ოვოსკოპირებით. ახალი კვერცხი მოწითალო-ყვითელია, მცირე საჰაერო საკნით. ყვითრი ცენტრში იმყოფება. კვერცხის უმნიშვნელო გაფუჭებისას აღინიშნება მცირე ლაქები. გაფუჭებულ კვერცხში სინათლე მხოლოდ საჰაერო საკანში გადის.

მიკროორგანიზმებმა კვერცხში შეიძლება გამოიწვიოს სხვადსხვა მანკები: ლპობითი დაცემა (ანტრაკოიდი, ეულგარული ჩხირი და ა.შ) ცილის გაჯირჯვება და გამწვანება (ლურჯ-დაჩირქების ჩხირი, აქტინომიცეტები და სხვა), პროტეუსის გამრავლების დროს ყვითრი მომწვანო-ყავისფერია, გაჯირჯვებულ ცილაში რუხი ფერის წარმონაქმნები დაცურავს. სხვისებრი სოკოების გამრავლების შედეგად ცილის შიგნითა

გარსზე გამსხვილებული რუხი ფერის ლაქისებრი კოლონიებია ჩამოყალიბებული.

კვერცხის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა. ყვითრიდან და ცილიდან ამზადებენ პრეპარატს. სინჯავენ მიკროსკოპში. პარალელურად ახდენენ ამოთესვას ხპბ-ში, ხპა-ზე, ხპჟ-ში და სოკოების მოსაშენებელ საკვებ არეებზე (სუსლოს აგარი, საბუროს აგარი, ჩაპეკის საკვები არე და სხვ). გამოყოფილი კულტურები ექვემდებარება დიფერენცირებას.

თივისა და ჩალის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

თივისა და ჩალის გამოკვლევას ახდენენ პათოგენური მიკროორგანიზმების და მათი ტოქსინების აღმოსაჩენად.

პათოგენური მიკროორგანიზმების გამოყოფა. სინჯებს იღებენ თივის ზვინის ან ჩალის ბულულის რამდენიმე ადგილიდან, ახვევენ სუფთა ქაღალდში. ლაბორატორიაში თივის ან ჩალის სინჯებს ჭრიან წვრილად, ათავსებენ სტერილურ მინის კოლბაში, ასხამენ სტერილურ ფიზიოლოგიურ ხსნარს სინჯების სრულ დაფარვამდე. კოლბას გულდასმით ანჯღრევენ, სითხეს ფილტრავენ დოლბანდის ორმაგ ფენაში. ფილტრატს აცხელებენ 80^0 C-ზე 20-30 წუთს. აცენტრიფუგებენ 1500-2000 ბრ/წთ-ში, 20-30 წუთს. ნალექიდან ახდენენ ამოთესვას ხპბ-ში ,ხპა-ზე, ხპჟ-ზე.

ერთდროულად ფილტრატით ასნებოვნებენ თეთრ თაგვს, ზღვის გოჭს ან ბოცვერს. გამოყოფილ კულტურას იკვლევენ მიკროორგანიზმთა სახეობის სრულ იდენტიფიკაციამდე. პათოგენური მიკროორგანიზმებიდან განსაკუთრებით საგულისხმოა *Stachybotrus alternans*. მისი კულტივირებისათვის გამოიყენება ვან-ინტერსონის და ჩაპეკის სინთეზური საკვები არეები. ბაქტერიოლოგიურ ფინჯნებში

აფენენ ბამბის ფენას და აფარებენ ორმაგ ფილტრის ქაღალდს. ფინჯნებს ახვევენ ქაღალდში და ასტერილებენ 150-160^0 C-ზე 1 საათს. დათესვის წინ ფილტრის ქაღალდს ასველებენ 6-7 მლ ვან-ინტერსონის ან ჩაპეკის საკვები არეთი.

გამოსაკვლევი თივის ან ჩალის ნიმუშებს ჭრიან 1,5-2 სმ-ს სიგრძის ნაჭრებად. ათავსებენ ფინჯნებში 1 სმ-ის დაშორებით. კულტივირებას ახდენენ 20-25^0 C-ზე. სოკოს ზრდის შემთხვევაში მე-7-12 დღეს თივის ან ჩალის ნაჭრების გარშემო წარმოიქმნება შავი, მჭვარტლისებრი ნაფენი. კულტურის ტოქსიურობის დასადგენად სოკოს ზრდიან კეთილხარისხოვან ჩალაზე. ამ მიზნით ჩალას ჭრიალ პატარა ნაჭრებად, ათავსებენ კოლბაში, ასხამენ ვან-ინტერსონის ან ჩაპეკის საკვებ არეს 1:1-თან შეფარდებით, ასტერილებენ 120^{0}C-ზე 40 წუთს. სოკოს ზრდიან 20-25^{0}C-ზე 2-3 კვირის განმავლობაში. კულტურის ინაქტივაციას ახდენენ გამდინარე ორთქლით ერთი საათის განმავლობაში. ჩალის ნაჭრებს აშრობენ 40-45^{0}C-ზე. ტოქსინის მისაღებად ამუშავებენ ეთერით 6 საათის განმავლობაში. გამონაწურს აორთქლებენ ფაფისებრი მასის მიღებამდე. ტოქსინის არსებობას ადგენენ ბოცვრებზე. ცხოველს, სხეულის ორივე მხარეს აცილებენ ბალანს, ერთ მხარეს ჩააზელენ გამოსაკვლევ მასალას, მეორე მხარეს კეთილხარისხოვანი ჩალის გამონაწურს. ტოქსინის არსებობის შემთხვევაში 48-72 საათის შემდეგ გამოსაკვლევი ჩალის ჩაზელვის ადგილას აღინიშნება შეშუპება, სიწითლე და ნეკროზი.

სილოსის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

სილოსის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა ითვალისწინებს pH-ის განსაზღვრას, მიკრობიოლოგიური

პროცესის მიმართულების დადგენას და ბოტულიზმის ტოქსინის აღმოჩენას.

სილოსის pH-ის განსაზღვრა. სილოსში წყალბადიონთა კონცენტრაციას საზღვრავენ ელექტრომეტრული მეთოდით. სწორი ტექნოლოგიით დამზადებული სილოსის pH 4,0-4,2-ია.

სილოსში მიკრობიოლოგიური პროცესის დადგენა. სილოსში ლპობისა და ხრწნის ბაქტერიების რაოდენობას საზღვრავენ სინჯების ხპუ-ზე ამოთესვით და კოლონიათა რაოდენობის დადგენით, რომელებიც იწვევენ ჟელატინის გაჯირჯვებას.

რძემჟავა და ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიათა რაოდენობის დასადგენად სასილოსე მასას აზავებენ და ახდენენ ამოთესვას კომბოსტოდან დამზადებულ საკვებ არეზე.

კომბოსტოს საკვები არე. ახალ კომბოსტოს წვრილად ჭრიან, გაწურავენ და აზავებენ წყალში 1:1-ზე. ფილტრავენ ბამბის ფენაში. უმატებენ 1% ცარცს და 2% აგარს. ასტერილებენ 120^0 C-ზე 15 წუთს.

კომბოსტოს ნიადაგზე რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის პროცესში ცარცი გაიხსნება. ნაწლავის ჩხირის ზრდის შემთხვევაში ცარცის გახსნის ზონა უმნიშვნელოა.

სილოსში ბოტულიზმის ტოქსინის აღმოჩენა. სილოსში ბოტულიზმის ტოქსინის აღმოსაჩენად სინჯებს ათავსებენ სტერილურ როდინში და სრესენ წყლის ან ფიზიოლოგიური ხსნარის მიმატებით 1:2-თან შეფარდებით. ემულსიას ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 1-2 საათს; ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში და აცენტრიფუგებენ 1500 ბრ/წთ-ში, 20-30 წუთს. სუპერნატანტს 3-5 მლ-ის რაოდენობით ალევინებენ ზღვის გოჭს, პარალელურად ცხოველს ასნებოვნებენ კანქვეშ (1-2 მლ). ტოქსინის არსებობის შემთხვევაში ცხოველი კვდება 48-72 საათის განმავლობაში, ზოგჯერ 10-12 დღის შემდეგ.

ბოტულიზმის ტოქსინის აღმოჩენა შესაძლებელია თეთრ თაგვზე ბიოცდის დადგმით. ცხოველებში სუპერნატანტი შეჰყავთ კანქვეშ 1-2 მლ-ის მოცულობით. თეთრი თაგვი კვდება 1-5 დღეში, მუცლის კუნთებისა და უკანა კიდურების დამბლითი მოვლენებით.

სარჩევი

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორია 3
ინფექციურ დაავადებათა ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის მეთოდები 13
მიკროსკოპი 15
მიკროსკოპზე მუშაობის წესები 21
მიკროორგანიზმთა გაზომვა 23
ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპი 25
ლუმინესცენტური მიკროსკოპი 26
ელექტრონული მიკროსკოპი. 28
ბაქტერიათა მორფოლოგია 30
ანილინის საღებავები 33
ბაქტერიოსკოპიული პრეპარატის დამზადება. 38
მიკროორგანიზმთა შეღებვა 42
საორიენტაციო შეღებვა 42
რთული შეღებვა 43
გრამის წესით შეღებვა 43
სპორების შეღებვა 45
კაფსულის შეღებვა 48
მჟავა და სპირტგამძლე ბაქტერიების შეღებვა 50
ბრუცელოზის აღმძვრელის შეღებვა 51
ბაქტერიათა შეღებვა ცოცხალ მდგომარეობაში 52
ნეგატიური შეღებვა 53
შოლტების შეღებვა 53
ბაქტერიათა მოძრაობის დადგენა 54
სტერილიზაცია 56
საკვები არეები 66
საკვები არეების დამზადება 68
საკვები არეების რეაქციის განსაზღვრა 75
საკვები არეების ფილტრაცია 77
საკვები არეების ჩამოსხმა 78

მიკროორგანიზმთა მოშენება 78
მიკროორგანიზმთა გამოზრდა 81
მიკროორგანიზმთა კულტურების შენახვა 83
მიკროორგანიზმთა დალექვა 84
მიკროორგანიზმთა სუფთა კულტურების გამოყოფა 86
ანაერობთა მოშენება 88
მკვრივ და თხევად საკვებ არეებზე კულტურათა აღწერა. 94
ბაქტერიათა ინდიკაციის ბიოქიმიური მეთოდები 95
მიკროორგანიზმთა ბიოქიმიური (ფერმენტული) აქტივობის განსაზღვრა 99
ბაქტერიათა საქაროლიზური თვისებების განსაზღვრა . 99
პროტეოლიზური თვისებების განსაზღვრა 100
მიკროორგანიზმთა აღდგენითი თვისებების განსაზღვრა. 103
თუთია-სახამებლის სინჯი 104
სახამებლის ჰიდროლიზის დადგენა 104
ფერმენტების: ოქსიდაზას, პეროქსადაზას და კატალაზას აღმოჩენა. 104
ჰემოლიზური თვისებების განსაზღვრა 106
დერმონეკროზული თვისებების განსაზღვრა 106
Api საიდენტიფიკაციო სისტემა 107
მიკროორგანიზმთა ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობის განსაზღვრა. 129
. . . . . .
სეროლოგიური რეაქციები 135
აგლუტინაციის რეაქცია 135
ხედლსონის აგლუტინაციის რეაქცია 149
ჰემაგლუტინაციის რეაქცია 153
ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქცია(ჰშრ) 154
არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია(აჰრ) 154
ჰემადსორბციის რეაქცია 157

პრეციპიტაციის რეაქცია 159
დიფუზიური პრეციპიტაციის რეაქცია 162
კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია(კფრ) 163
ნეიტრალიზაციის რეაქცია 184
ვირუსული ჰემ-აგლუტინინების ნეიტრალიზაციის რეაცია (ჯჰნრ) 185
ოფსონო-ფაგოციტური რეაქცია 186
ფლოკულაციის რეაქცია 188
ლეციტო-ვიტელონური რეაქცია 190
ლიმეს-ჰემოლიზის რეაქცია 191
პლაზმო-კოაგულაციის რეაქცია 192
ლიმფო-ციტოტოქსიური რეაქცია 192
იმუნო-ფლუორესცენციის რეაქცია 193
იმუნო-ფერმენტული რეაქცია 197
იმუნური შეწებების რეაქცია 199
პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია 200
ფაგოდიაგნოსტიკა 202
მიკროორგანიზმთა ფაგოტიპირება 202
ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია 205
ლაბორატორიული ცხოველები და მათი გამოყენება . . . 207
საცდელი ცხოველების დასნებოვნება 211
ლაბორატორიული ცხოველებიდან სისხლის აღება . . 215
ლეშის გაკვეთა 216
ლეშიდან გამოსაკვლევი მასალის აღება და გადაგზავნა 218
ჰაერის, წყლის და ნიადაგის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა 220
ჰაერის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა .. 220
წყლის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა . . 222
ნიადაგის სანიტაარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა 228

საკვების სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა . 230
რძისა და რძის პროდუქტების სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა 230
ხორცის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა . 238
კვეცხის სანიტარიულ-ნაქტერიოლოიური გამოკვლევა . 240
თევზისა დაჩალის სანიტარიულ-ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა 241
სილოსის სანიტარიულ-ბქტერიოლოგიური გამოკვლევა 242