ი. გველესიანი

ლაბორატორიული პრაქტიკუმი მიკრობიოლოგიაში

„ტექნიკური უნივერსიტეტი"

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ი. გველესიანი

ლაბორატორიული პრაქტიკუმი მიკრობიოლოგიაში

რეგისტრირებულია სტუ-ს
სარედაქციო-საგამომცემლო საბჭოს
მიერ. 27.05.2009, ოქმი №5

თბილისი
2009

სახელმძღვანელოში "ლაბორატორიული პრაქტიკუმი მიკრობიოლოგიაში" გადმოცემულია პრაქტიკული მიკრობიოლოგიის ძირითადი საკითხები, როგორიცაა: ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის მოწყობილობა და არჭურვა, მიკროსკოპირება, სტერილიზაცია, საკვები ნიადაგების მომზადება, მიკროორგანიზმთა კულტივირებისა და სუფთა კულტურათა გამოყოფის მეთოდები. აღნიშნული მეთოდების საშუალებით შეისწავლება ბაქტერიებისა და ვირუსების მორფოლოგიური, კულტურალური და ბიოქიმიური ნიშან-თვისებები, მათი რაოდენობრივი მახასიათებლები. ასევე მოცემულია ანტიბიოტიკების აქტიობის განსაზღვრის მეთოდები, მათდამი ბაქტერიათა მგრძნობელობის თვალსაზრისით, რასაც პრაქტიკული მნიშვნელობა გააჩნია.

დამხმარე სახელმძღვანელოში მოცემული მეცადინეობების კურსი, დაეხმარება ბაკალავრებს პრაქტიკული უნარჩვევების ჩამოყალიბებაში. სახელმძღვანელოში თემები აგებულია ისე, რომ ბაკალავრს გაუადვილდეს მასში მოცემული მასალის შესწავლა-ათვისება.

რეცენზენტი მ.მ.კ., ასოც. პროფესორი შ. ცანავა

© საგამომცემლო სახლი „ტექნიკური უნივერსიტეტი", 2009
ISBN 978-9941-14-652-7
http://www.gtu.ge/publishinghouse/

ყველა უფლება დაცულია. ამ წიგნის არც ერთი ნაწილი (იქნება ეს ტექსტი, ფოტო, ილუსტრაცია თუ სხვა) არანაირი ფორმით და საშუალებით (იქნება ეს ელექტრონული თუ მექანიკური), არ შეიძლება გამოყენებულ იქნას გამომცემლის წერილობითი ნებართვის გარეშე.

საავტორო უფლებების დარღვევა ისჯება კანონით.

შესავალი

წინამდებარე "მიკრობიოლოგია ლაბორატორიული პრაქტიკუმი" განკუთვნილია ფარმაციის სპეციალობის ბაკალავრიის სტუდენტებისათვის და წარმოადგენს "მიკრობიოლოგია, ვირუსოლოგია, იმუნოლოგის" თეორიული კურსის შემავსებელ მასალას. ნაშრომში გადმოცემული ინფორმაცია შეიცავს დახასიათებას იმ ძირითადი ეტაპებისა, რომლებიც გამოიყენება მიკრობიოლოგიურ დიაგნოსტიკაში. პრაქტიკული მეცადინეობები დაგეგმილია იმ განზრახვით, რომ ბაკალავრს პრაქტიკულად შეეძლოს მიკრობიოლოგიური კვლევის ჩატარება, გაიაზროს და დაგეგმოს ამა თუ იმ გამოკვლევის სქემა, შეარჩიოს საჭირო აპარატურა და სწორად გააანალიზოს მიღებული შედეგები.

პრაქტიკული მეცადინეობების საკითხები, როგორებიცაა- ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის მოწყობილობა და აღჭურვა, მიკროსკოპირება, სტერილიზაცია, მიკროორგანიზმთა კულტივირებისა და სუფთა კულტურის გამოყოფის მეთოდები, ანტიბიოტიკების აქტივობის განსაზღვრის მეთოდები მათდამი ბაქტერიათა მგრძნობელობის თვალსაზრისით, ასევე სამკურნალო საშუალებათა მიკრობიოლოგიური კონტროლის პარამეტრები და ძირითადი მეთოდები, შეიცავენ პრაქტიკულ ღირებულებას მომავალი ფარმაცევტებისათვის.

ნაშრომში მოცემულია "მიკრობიოლოგია, ვირუსოლოგია, იმუნოლოგის" კურსის ზოგადი ნაწილის შესაბამისი პრაქტიკული მეცადინეობები. შემდგომში ნაშრომი გაგრძელდება ვირუსოლოგიური და იმუნოლოგიური კვლევების მიმართულებით და გამოიცემა ზემოთაღნიშნული კურსის კერძო ნაწილის ლაბორატორიული პრაქტიკუმი, რაც დაეხმარებათ, როგორც ბაკალავრიატის ასევე მაგისტრატურის სტუდენტებს კურსის უკეთ შესწავლასა და პრაქტიკული ჩვევების გამომუშავებაში.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 1

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1.ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის მოწყობილობა და აღჭურვა.

2. ლაბორატორიის მუშაობის რეჟიმი.

3.პათოგენური მიკრობების კულტურის შენახვის წესები.

4.ლაბორატორიის მოვლა-დასუფთავების წესები.

5.ლაბორატორიული ჭურჭლის მომზადება და დამუშავება.

6.სადეზინფექციო საშუალება.

1. ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის მოწყობილობა და აღჭურვა–ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორია ჩვეულებრივ განთავსებულია რამოდენიმე ოთახისაგან შემდგარ ფართობში, რომლის მოცულობა დამოკიდებულია შესასრულებელი სამუშაოს მიზნობრივ და რაოდენობრივ მაჩვენებლებზე. ლაბორატორიაში გათვალისწინებული უნდა იყოს: სამუშაო ოთახი (ბოქსი) ინფექციურ მასალასთან (ბაქტერიები, ვირუსები და სხვა.) სამუშაოდ, სათავსო სეროლოგიური გამოკვლევებისათვის, საკვები ნიადაგების მოსამზადებლად, სტერილიზაციისათვის, ჭურჭლის გასარეცხად. ხშირად ლაბორატორიებში გამოყოფილია ფართობი ვივარიუმისათვის, სადაც აწყობენ სპეციალურ ბოქსებს დასნებოვნებული და დაუსნებოვნებელი ცხოველებისათვის. მოწყობილია აგრეთვე რეგისტრატურა ანალიზების მისაღებად და გასაცემად. ვირუსოლოგიურ ლაბორატორიებში დამატებით ეწყობა ოთახი უჯრედულ კულტურასთან სამუშაო ბოქსებით.

ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის აღჭურვილობაში შედის შემდეგი აპარატურა: ბიოლოგიური იმერსიული მიკროსკოპი დამხმარე მოწყობილობებით (გამანათებელი, ფაზურ-კონტრასტული მოწყობილობა, ბნელაროვანი კონდენსორი და სხვა.), ლუმინესცენცური მიკროსკოპი, თერმოსტატი-აპარატი, სადაც შენარჩუნებულია მუდმივი ტემპერატურა. არსებობენ მშრალჰაერიანი და წყლის თერმოსტატები, რომლებიც გამოიყენებიან მიკროორგანიზმთა კულტივირებისათვის. მიკროანაეროსტატი-აპარატი სადაც ხდება მიკროორგანიზმების კულტივირება ანაერობულ პირობებში, საშრობი კარადა – (პასტერის ღუმელი), სადაც მიმდინარეობს ლაბორატორიული ჭურჭლისა და სხვა მასალების სტერილიზაცია, ავტოკლავი – სადაც სტერილიზაცია მიიღწევა ორთქლის საშუალებით, წნევის ქვეშ (მიიღწევა მაღალი ტემპერატურა). არსებობენ ვერტიკალური და

ჰორიზონტალური, აგრეთვე სტაციონალური და გადასატანი ავტოკლავები. ლაბორატორიებში <u>მაცივრები</u> გამოიყენება მიკროორგანიზმთა კულტურების, საკვები მასალების, სისხლის,ვაქცინებისა და შრატების, აგრეთვე სხვა ბიოლოგიურად აქტიური პრეპარატების შესანახად 4°C ტემპერატურაზე ან დაბალტემპერატურულ მაცივარში –20°C ტემპერატურაზე. ცენტრიფუგები გამოიყენება მიკროორგანიზმთა, ერითროციტებისა და სხვა უჯრედული ნაწილაკების დასალექად, ან არაერთგვაროვანი ნარევების (ემულსია, სუსპენზია) დასაყოფად. ცენტრიფუგები განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ბრუნვის სიჩქარის მიხედვით. ლაბორატორიების აღრჭურვილობაში შედიან ასევე PH–მეტრები, წყლის გამოსახდელი დისტილატორი, ტექნიკური და ანალიზური სასწორები, სხვადასხვა ფილტრები, წყლის აბაზანები, ლაბორატორიული ინსტრუმენტები (ბაქტერიოლოგიური მარყუჟი, შპადელი, პინცეტი და სხვა.), აგრეთვე ლაბორატორიული ჭურჭელი (სინჯარები, კოლბები, პიპეტები, პეტრის ფინჯნები, ფლაკონები, ამპულები და სხვა.).

ლაბორატორიული ოთახების კედლები იატაკიდან 170სმ-ზე უნდა შეიღებოს ღია ფერის ზეთის საღებავით. იატაკზე დაიგოს მეტლახი ან ლინოლიუმი. ყველა ოთახში უნდა იყოს წყლის ნიჟარა წყალგაყვანილობით.

<u>2.ლაბორატორიის მუშაობის რეჟიმი</u> – ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიის შენობაში შესვლა არ შეიძლება ხალათის გარეშე. ლაბორატორიის შენობაში კატეგორიულად აკრძალულია თამბაქოს მოწევა, ჭამა ან საკვები პროდუქტების შენახვა. მუშაობის შემდეგ საჭიროა ხელების დეზინფექცია. სამუშაო საათების დამთავრების შემდეგ სამუშაო ადგილს უკეთებენ დეზინფექციას.

<u>3.პათოგენური მიკრობების კულტურის შენახვის წესები.</u> კულტურებს ინახავენ სინჯარებში (მყარ საკვებ ნიადაგზე) და ამპულებში (ლიოფილიზებულ მდგომარეობაში). სინჯარებსა და ამპულებზე აწებებენ ეტიკეტს, რომელზედაც აღნიშნულია შტამის ნომერი, გამომწვევის დასახელება და გადათესვის თარიღი. კულტურებს ინახავენ მაცივარში ან სეიფში, რომელსაც კეტავენ საკეტით, პლომბავენ ან ლუქავენ.

<u>4.ლაბორატორიის მოვლა-დასუფთავების წესები</u>.– ლაბორატორიული სათავსო მუშაობის დასაწყისში უნდა დასუფთავდეს სველი წესით. მაგიდების ზედაპირს, ხელსაწყოებს, მოწყობილობებს, აგრეთვე ფანჯრის რაფებს მტვერი უნდა

მოაცილონ სადეზინფექციო ხსნარში დასველებული სუფთა ჩვრით. კედლები, რომლებიც მოპირკეთებულია მეტლახით ან შეღებილია ზეთის საღებავით, უნდა გაიწმინდოს ცხელი წყლით და საპნით ან სარეცხი ფხვნილით.

<u>5.ლაბორატორიული ჭურჭლის მომზადება და დამუშავება</u>.– ჭურჭელს, რომელშიც იყო დაინფიცირებული მასალა, სამრეცხაოში აგზავნიან წინასწარი დეზინფექციის შემდეგ. ნაკლებად დაბინძურებულ ჭურჭელს რეცხავენ ჭურჭლის ჯაგრისით და ცხელი წყლით. ძლიერ დაბინძურებულ ცხიმიან ჭურჭელს დააყოვნებენ ქრომიან ნარევში 30-40 წთ, შემდეგ კი ხანგრძლივად რეცხავენ ონკანის გამდინარე წყლით.

<u>6.დეზინფექციის მეთოდები და სადეზინფექციო საშუალებები</u>– გარემოს ობიექტებზე პათოგენური მიკრობების მოსპობას დეზინფექცია ეწოდება. დეზინფექციას ექვემდებარება გამოკვლეული პათოგენურ მასალა(განავალი, შარდი, ნახველი, სისხლი და სხვა.) ვიდრე მას ჩაუშვებენ საკანალიზაციო ქსელში.

მუშაობის დამთავრებისთანავე გამოყენებული ხელსაწყოები: პიპეტები, სასაგნე და საფარი მინები, მინის ფითხები და ლითონის ხელსაწყოები უნდა ჩააწყონ ყველა სამუშაო ადგილას მაგიდაზე მოთავსებულ სადეზინფექციო ხსნარიან მინის ჭურჭელში. მუშაობის შემდეგ საჭიროა ხელების დეზინფექცია, რისთვისაც ბამბის ბურთულას ან დოლბანდის ხელსახოცს დაასველებენ ქლორამინის 1%-იან ან სხვა ხსნარებში და იწმინდავენ ხელებს.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 2

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. მიკროსკოპების ძირითადი ტიპები.
2. მიკროსკოპირების სპეციალური მეთოდები.

<u>მიკროსკოპების ტიპები</u>. მიკრობიოლოგიური გამოკვლევების ჩასატარებლად გამოიყენება რამოდენიმე ტიპის მიკროსკოპი- ბიოლოგიური, ლუმინესცენციური, ელექტრონული.

<u>ბიოლოგიური</u> მიკროსკოპები გამოიყენება იმ მიკროორგანიზმების ფორმის, სტრუქტურისა და ზომების შესასწავლად, რომელთა ზომა 0,2მკმ-ზე მეტია. იგი

შედგება ორი ნაწილისაგან–ოპტიკური და მექანიკური. ოპტიკურს მიეკუთვნებიან ობიექტივები, რომლებიც შედგებიან ფრონტალური (ქვედა) გამადიდებელი ლინზისაგან და საკორექციო ლინზისაგან (ოპტიკური გამოსახულების საკორექციოდ), რომელთაც გააჩნიათ შესაბამისი აღნიშვნა. საერთო გადიდება გამოითვლება ობიექტივისა და ოკულარის სიდიდეთა გადამრავლებით.მაგალითად, იმერსიული (ჩაძირული) ობიექტივისა (90) და ოკულარის (10) შემთხვევაში საერთო გადიდება იქნება 90×10=900-ჯერ. თანამედროვე ბიოლოგიურ მიკროსკოპებს გააჩნიათ დამატებითი მოწყობილობები, რომლებიც უზრუნველყოფენ ოპტიმალურ და სტაბილურ განათებას, ფოტოგრაფირებას, საჭირო ტემპერატურას და ა.შ.

<u>ლუმინესცენციური</u> (ფლუორესცენციური) მიკროსკოპების მუშაობის პრინციპი დაფუძნებულია ფოტოლუმინესცენციის მოვლენაზე, ანუ ნივთიერების ნათების უნარზე რომელიმე ენერგიის წყაროს ზემოქმედებით(შუქი, ელექტრონული სხივი, მაიონიზირებელი გამოსხივება). პირველადი ლუმინესცენცია აღინიშნება ობიექტის წინასწარი შეღებვის გარეშე (ე.წ. "საკუთარი ნათება"), ხოლო მეორადი ლუმინესცენცია მიიღწევა პრეპარატების შეღებვით სპეციალური საღებავების - ფლუოროქრომების საშუალებით.

ლუმინესცენციური მიკროსკოპები ფართოდ გამოიყენება ლაბორატორიულ პრაქტიკაში იმ მიკროორგანიზმების გამოსავლენად და შესასწავლად, რომელთა კონცენტრაცია გამოსაკვლევ მასალაში მეტად მცირეა, რითაც უპირატესობა გააჩნიათ ჩვეულებრივ მიკროსკოპებთან.

<u>ელექტრონული</u> მიკროსკოპები იძლევიან შესაძლებლობას დავინახოთ ობიექტები, რომელთა ზომა 0,2მკმ-ზე ნაკლებია. მიკროორგანიზმთა სტრუქტურული კომპონენტების, ვირუსების და სხვა სუბმიკრობული ობიექტების ხილვადობა მიიღწევა ელექტრონული ნაკადის მეშვეობით, რომლის ტალღის სიგრძე 0,005ნმ-ის ტოლია. მისი საშუალებით შესაძლებელია 0,1-0,2ნმ ზომის ობიექტების დანახვა და საგნის მილიონჯერ გადიდება.

2. მიკროსკოპირების <u>სპეციალურ მეთოდებს</u> მიეკუთვნება ბნელაროვანი მიკროსკოპირება და ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპირება. <u>ბნელაროვანი</u> მიკროსკოპია ეფუძნება ე.წ. ტინდალის ეფექტს (სინათლის დიფრაქცია სითხეში შეწონილი უმცირესი ნაწილაკების გვერდითი, ძლიერი განათებისას). ეს ეფექტი მიიღება სპეციალური კონდესორების (ოკულარების) გამოყენებით, რომლითაც ცვლიან ბიოლოგიური მიკროსკოპის ჩვეულებრივ კონდესორს. ასეთი მიკროსკოპიით ჩანს მიკროორგანიზთა კონტურები მუქ ფონზე.

ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპირებით აღწევენ გამოსახულების მაღალ კონტრასტულობას, რომელიც არის პოზიტიური ან ნეგატიური. პოზიტიურის შემთხვევაში მოჩანს მუქი გამოსახულება ღია ფონზე, ხოლო ნეგატიურისას კი პირიქით. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპირებისათვის გამოიყენება ჩვეულებრივი მიკროსკოპი და დამატებითი ფაზურ-კონტრასტული მოწყობილობანი.

ნებისმიერ მიკროსკოპთან მუშაობისას აუცილებელია განათების სწორად დაყენება მხედველობის არეს ოპტიმალური ნათების მისაღწეად. განათება ორგვარია-ბუნებრივი და ხელოვნური. ბუნებრივი ანუ დღის შუქით სარგებლობისას მოძრავი სარკის საშუალებით ახდენენ სხივის ფოკუსირებას მხედველობის არეში. ხელოვნური განათებისათვის გამოიყენება სპეციალური გამანათებლები.

იმერსიული სისტემით აღჭურვილი მიკროსკოპით სარგებლობისას საჭიროა მკაცრად დავიცვათ განსაზღვრული წესები: მომზადებულ და შეღებილ ნაცხზე აწვეთებენ იმერსიული ზეთის პატარა წვეთს და ათავსებენ მიკროსკოპის სასაგნე დაფაზე "დამჭერებით"ან მათ გარეშე. ხრახნის საშუალებით დააყენებენ იმერსიულ ობიექტივს-90; ფრთხილად დაუშვებენ მიკროსკოპის ტუბუსს ობიექტივის ზეთში ჩაძირვამდე; მაკრომეტრული ხსნარით აყენებენ გამოსახულების საორიენტაციო ფოკუსს; საბოლოო ფოკუსირებას ახდენენ მიკრომეტრული ხრახნის საშუალებით. არ უნდა დაუშვათ ობიექტივის ზედაპირის შეხება უშუალოდ პრეპარატთან დაზიანების თავიდან ასაცილებლად.

მიკროსკოპით მუშაობის დამთავრებისას აუცილებელია სპეციალური ჩვრით გაიწმინდოს ზეთი იმერსიული ობიექტივიდან, მიკროსკოპს შემოვაცვათ შალითა და შევინახოთ მისთვის განკუთვნილ ადგილზე.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 3

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1.მასალის აღება გამოკვლევისათვის,

2.მიკროსკოპული გამოკვლევისათვის პრეპარატის მომზადება,

1. გამოსაკვლევი მასალა, როგორც წესი ინახება სინჯარაში, კოლბაში ან პეტრის ფინჯანში, იღებენ ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ან სტერილური პიპეტით.

<u>მასალის აღების ტექნიკა</u>: გამოსაკვლევი მასალის შემცველ სინჯარას იჭერენ მარცხენა ხელში, ხოლო მარყუჟს - მარჯვენაში, მარყუჟს გამოწვავენ ცეცხლის

ალზე, მის გაწითლებამდე. მარჯვენა ხელის IV და V თითებით ფრთხილად ხსნიან სინჯარის თავსახურს და ცეცხლის ალზე მოწვავენ სინჯარის კიდეებს. მარყუჟს ფრთხილად შეიტანენ სინჯარაში და მისი გაგრილების შემდგომ იღებენ მასალას. მარყუჟის სინჯარიდან ამოღების შემდეგ ამზადებენ პრეპარატს მიკროსკოპირებისათვის, ხოლო სინჯარის კიდეებს კვლავ გაატარებენ ცეცხლის ალზე და ახურავენ საცობს. ხმარების შემდეგ მარყუჟი კვლავ გამოიწვება (სტერილდება) ცეცხლის ალზე.

2 .მიკრობთა მიკროსკოპირება შესაძლებელია როგორც ცოცხალ, ასევე დახოცილ, ფიქსირებულ მდგომარეობაში. ცოცხალ მდგომარეობში მიკროორგანიზმთა პრეპარატების მოსამზადებლად გამოიყენება შემდეგი მეთოდები:

ა) "დაკიდებული" წვეთის მეთოდი – სასაგნე მინის შუაში დააწვეთებენ ბაქტერიული კულტურის ერთ წვეთს. შემდეგ სასაგნე მინას აფარებენ მეორე მინას, რომელსაც შუაში აქვს სპეციალური ჩაღრმავება (მის კიდეებს წინასწარ წაუსვამენ ვაზელინს) ისე, რომ გამოსაკვლევი წვეთი აღმოჩნდეს ჩაღრმავების ცენტრში. სწრაფი მოძრაობით პრეპარატს გადააბრუნებენ და შესასწავლი წვეთი თავისუფლად ჩამოიკიდება ჩაღრმავების თავზე ისე, რომ არ ეხებოდეს მის ფსკერს და კიდეებს. გასადიდებლად იყენებენ მშრალ ობიექტივს – 40 და ატარებენ გამოკვლევას.

ბ) "გაჭყლეტილი" წვეთის მეთოდი – სასაგნე მინის შუაში დააწვეთებენ გამოსაკვლევი მასალის ერთ წვეთს და დაფარებენ საფარ მინას. წვეთი აღმოჩნდება განაწილებული "გაჭყლეტილი" ორ მინას შორის. წვეთი უნდა იყოს პატარა, არ უნდა გამოდიოდეს სასაგნე მინის კიდეებიდან. გამოკვლევას ატარებენ 40–იანი ობიექტივით.

გ) ვიტალური შეღებვა. მიკრობული კულტურა შეაქვთ მეთილენის ლურჯის ან ნეიტრალური წითლის 0,001%-იანი ხსნარის ერთ წვეთში, რომელსაც წინასწარ აწვეთებენ სასაგნე მინაზე. შემდეგ ამზადებენ პრეპარატს "დაკიდებული" წვეთის ან "გაჭყლეტილი" წვეთის მეთოდით და ნახულობენ მიკროსკოპში. გამოკვლევის შემდეგ პრეპარატს ათავსებენ სადეზინფექციო ხსნარში.

დახოცილ მდგომარეობაში მიკროორგანიზმთა შესასწავლად ამზადებენ ნაცხებს. ა)თხიერი ნიადაგიდან ნაცხის მოსამზადებლად გამოსაკვლევი მასალის ერთ წვეთს მარყუჟის საშუალებით მოათავსებენ სასაგნე მინაზე და წრიული მოძრაობით თანაბრად ანაწილებენ რგოლის სახით, რომლის დიამეტრიც 1–1,5 სმ–ის ტოლია. ნაცხს აშრობენ ჰაერზე ან თბილი ჰაერის ნაკადზე. გამშრალ ნაცხს

უკეთებენ ფიქსირებას, რისთვისაც სასაგნე მინას (ნაცხით ზემოთ) 3–ჯერ გაატარებენ ცეცხლის ალზე. ფიქსირებისას მიკროორგანიზმები იღუპებიან და მჭიდროდ ეკვრიან მინის ზედაპირს. ზოგიერთ შემთხვევაში მიკროორგანიზმის ფიქსირებისათვის იყენებენ მეთილის ან ეთილის სპირტებს, ნიკიფოროვის ხსნარს და სხვა ხსნარებს. ბ) <u>მკვრივი ნიადაგებიდან</u> აღებული მასალიდან ნაცხის მოსამზადებლად სასაგნე მინაზე დააწვეთებენ წყლის ერთ წვეთს, რომელშიც შეაქვთ მარყუჟის საშუალებით გამოსაკვლევი მასალა – წვეთის ოდნავ შემღვრევამდე. გაშრობისა და ცეცხლის ალზე ფიქსაციის შემდგომ ახდენენ ნაცხების შეღებვას.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 4

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. მომზადებული პრეპარატების შეღებვის მარტივი წესი.
2. მომზადებული პრეპარატების შეღებვის რთული წესები.

1.<u>მარტივი წესით</u> შეღებვისას ხმარობენ რომელიმე ერთ საღებავს: მეთილენის ლილას ან ფუქსინის წყალხსნარს. ამ უკანასკნელით ღებავენ 1-2წთ-ის განმავლობაში, მეთილენის ლილით კი- 3-5წთ–ითI. შეღებილ პრეპარატებს გადარეცხავენ წყლით, გაამშრალებენ და ახდენენ მიკროსკოპირებას იმერსიული სისტემით.

2.<u>რთული მეთოდით</u> შეღებვის დროს ნაცხებზე მოქმედებენ ორი საღებავი ნივთიერებით, რომელთაგან ერთი ძირითადია, მეორე-დამატებითი. რთული მეთოდით შეღებვის დროს, საღებავი ნივთიერებების გარდა, იყენებენ სხვადასხვა გასაუფერებელ ნივთიერებებს: სპირტს, მჟავებს და ა.შ. რთულ მეთოდებს მიეკუთვნება გრამის წესით შეღებვა, ცილ–ნელსენის წესით შეღებვა და სხვა.

ა<u>) გრამის წესით შეღებვა</u>; 1. ალზე ფიქსირებულ ნაცხებს ფილტრის ქაღალდის მეშვეობით შეღებავენ ძირითადი საღებავით – გენციან–ვიოლეტის კარბოლის სპირტზე მომზადებული ხსნართ. შეღებვა გრძელდება 1-2წთ.

2. იღებენ ფილტრის ქაღალდს, გადაღვრიან ზედმეტ საღებავს და დაასხამენ ლუგოლის ხსნარს 1-2წთ-ით პრეპარატის გაშავებამდე.

3. ლუგოლის ხსნარს გადაღვრიან. სასაგნე მინას ნაცხების გასაუფერულებლად რამდენჯერმე ჩადებენ სპირტიან ჭიქაში. გაუფერულების პროცესი დამთავრებულად უნდა მივიჩნიოთ, როცა ნაცხებიდან შეწყდება იისფერი საღებავის გადასვლა სითხეში. (პროცედურა გრძელდება 30–60 წმ–ის განმავლობაში).

4. პრეპარატს გულმოდგინედ რეცხავენ წყალსადენის წყლით.

5. დამატებით ღებავენ ფუქსინის წყალხსნარით 2წთ-ის განმავლობაში, გადარეცხავენ წყლით, აშრობენ და ნახულობენ მიკროსკოპში. შეღებვის შედეგად გრამდადებითი ბაქტერიები იღებებიან მუქიისფრად, გრამუარყოფითები კი წითელ ფერში.

გრამის წესით ბაქტერიების შეღებვა განპირობებულია მათი უნარით შეიერთონ გენციან-ვიოლეტის იოდიანი საღებავი. სხვადასხვა ბაქტერიები, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ქიმიური შემადგენლობით, უჯრედული კედელის გამტარიანობით, აგრეთვე მათ ციტოპლაზმაში ნუკლეინის მჟავების რაოდენობრივი თანაფარდობით, გრამის წესით შეღებვისას იღებებიან ორგვარად – გრამდადებითად ან გრამურყოფითად. გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედის კედელი დიდი რაოდენობით შეიცავს მურეინს (მუკოპეპტიდურ შრეს) და ტეიქოას მჟავებს. მათი პეპტიდოგლიკანი სტრუქტურულად განსხვავდება გრამურყოფითი ბაქტერიების პეპტიდოგლიკანისაგან. ნუკლეინის მჟავების (რნმ და დნმ) თანაფარდობა გრამდადებითი ბაქტერიების ციტოპლაზმაში ტოლია 8:1, ხოლო გრამურყოფითი ბაქტერიების ციტოპლაზმაში 1:1. გარდა ამისა, გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედული კედლის გამავლობა გაცილებით ნაკლებია ვიდრე გრამურყოფითი ბაქტერიებისა. აღნიშნული მიზეზების გამო, გრამდადებით ბაქტერიებს ექმნებათ ოპტიმალური პირობები საღებავის მისაერთებლად და გაუფერულების პროცესის მიმართ მდგრადობისათვის, რასაც მოკლებულნი არიან გრამურყოფითი ბაქტერიები.

მიკროორგანიზმთა შეღებვას გრამის წესით აქვს დიდი დიფერენციალურ–დიაგნოსტიკური მნიშვნელობა და ფართოდ გამოიყენება მიკრობიოლოგიაში. გრამდადებით ბაქტერიებს მიეკუთვნებიან სტაფილოკოკები, სტრეპტოკოკები, დიფტერიის კორინებაქტერიები, ტუბერკულიოზის მიკობაქტერიები და სხვა. ხოლო გრამუარყოფით ბაქტერიებს–გონოკოკები, მენინგოკოკები, ნაწლავის ჩხირი და სხვა. ძირითადი შეცდომა გრამის წესით შეღებვისას მდგომარეობს ნაცხების სპირტით გაუფერულების პროცედურების გადაჭარბებაში ან არასრულ

ჩატარებაში, რასაც ხშირაად მოსდევს არაზუსტი დიაგნოზი, რის გამოც საჭიროა გაუფერულების ზემოთაღნიშნული ტექნიკის ზუსტი დაცვა.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 5

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. მიკრობთა შეღებვის სხვა მეთოდები.
2. კაფსულისა და სპორების შეღებვა.

1.გავეცნოთ რთული მეთოდებიდან მჟავაგამძლე ბაქტერიების შეღებვას ცილ–ნელსენის წესით: მჟავაგამძლე პათოგენურ მიკრობებს მიეკუთვნებიან მაგ. ტუბერკულიოზის და კეთრის გამომწვევები.

შეღებვის მეთოდიკა; !. სანათურის ალზე ფიქსირებულ ნაცხებს 3-5წთ. ღებავენ კარბოლ-ფუქსინის ხსნარით ფილტრის ქაღალდის მეშვეობით. შეღებილ ქაღალდს აცხელებენ ორთქლის წარმოქმნამდე 3–5 წთ–ის განმავლობაში.

2. პრეპარატს გააციებენ, ქაღალდს მოაცილებენ, ზედმეტ საღებავს გადაღვრიან და წყლით გადარეცხავენ.

3. შეღებილ პრეპაპატს აუფერულებენ 1–2წთ-ის განმავლობაში 5%-იანი გოგირდმჟავათი ან 3%-იანი ქლორწყალბადმჟავას მეშვეობით. პრეპარატს რამდენჯერმე ჩაუშვებენ ასეთი ხსნარის შემცველ ჭიქაში.

4. გაუფერულების შემდეგ მჟავას ნარჩენს გადაღვრიან და გულმოდგინედ გარეცხავენ წყლით.

5. დამატებით ღებავენ მეთილენის ლილის წყალხსნარით 3-5წთ-ის განმავლობაში.

6. შეღებილ პრეპარატს გადარეცხავენ წყლით, აშრობენ და სინჯავენ მიკროსკოპით.

მჟავაგამძლე ბაქტერიები ფუქსინით იღებება ლალისფერ-წითლად და არ უფერულდება მჟავათი.

არამჟავაგამძლე ბაქტერიები, აგრეთვე ქსოვილის ელემენტები და ლეიკოციტები მჟავას მოქმედებით უფერულდებიან და ღებულობენ დამატებითი საღებავის ლურჯ ფერს.

2.მიკრობთა სპორების შეღებვა ოჟეშკოს მეთოდით: 1. დაუფიქსირებელ პრეპარატებს დაასხამენ ქლორწყალბადმჟავას 0,5%-იანი ხსნარის წვეთს და გააცხელებენ 1-2წთ-ით სანთურის ალზე, რის შემდეგ მჟავას ნარჩენს გადაღვრიან.

2. გაცივებულ პრეპარატს გადარეცხავენ წყლით, გააშრობენ და ფიქსაქციას უკეთებენ სანათურის ალზე.

3. პრეპარატს შეღებავენ ცილ–ნელსენის წესით, გააცხელებენ ოროქლის წარმოქმნამდე.

4. გააუფერულებენ რამდენიმე წამის განმავლობაში გოგირდმჟავას 5%-იანი ხსნარით.

5. გარეცხავენ წყლით.

6. დამატებით შეღებავენ მეთილენის ლილით ან მალაქიტის მწვანეს 1%-იანი წყალხსნარით 3-5წ -ის განმავლობაში.

შეღებილი სპორები ლალისფერ-წითელი ფერისაა, ხოლო მიკრობების ვეგეტაციური ფორმები დამატებითი შეღებვისას ღებულობენ ლურჯ ფერს, მალაქიტის მწვანეს გამოყენების დროს კი– მწვანე ფერს.

ბურის ხერხით კაფსულების გამოვლინება სასაგნე მინაზე დააწვეთებენ ტუშს და მარყუჟით შეურევენ გამოსაკვლევ მასალას. გააშრობენ და ფიქსაციის შემდეგ სინჯავენ მიკროსკოპით იმერსიული სისტემით. პრეპარატის ფონი შეიღებება მუქ-ჟოლოსფრად. მიკრობები და მათი კაფსულები არ შეიღებება, უფერული რჩება, რის გამოც შეღებვის ამ მეთოდს ნეგატიური ეწოდება.

ჰისის ხერხით კაფსულის შეღებვა: 1.ამზადაბენ ბურის მეთოდით ნეგატიურად შეღებილ პრეპარატს.

2.აფიქსირებენ ნებისმიერი ქიმიური წესით: მეთილის სპირტით, ნიკიფოროვისნარევით, ან სხვა.

3.გადარეცხავენ წყლით.

4.ღებავენ 3-5 წთ–ის განმავლობაში კარბოლის ფუქსინით (განზავებულს 1:3 შეფარდებით).

5.გადარეცხავენ წყლით, გააშრობენ და სინჯავენ მიკროსკოპით იმერსიული სისტემით. მიკროსკოპით გასინჯვის დროს პრეპარატის შავ ფონზე კონტრასტულად გამოირჩევა შეუღებავი კაფსულა, რომლის შიგნით მკვეთრი ჟოლოსფერი ბაქტერიაა.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 6

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. მიკრობთა ზომების განსაზღვრა.
2. მკვრივ და თხიერ ნიადაგზე მასალის დათესვის ტექნიკა.
3 .ანაერობული ბაქტერიების კულტივირების მეთოდები.

1. მიკრობთა ზომების განსაზღვრისათვის გამოიყენება ოკულარ-მიკრომეტრი და ობიექტ-მიკრომეტრი. ოკულარ-მიკრომეტრი წარმოადგენს შუშის ფირფიტას, რომელზედაც (მის ცენტრალურ ნაწილში) დატანილია შკალა 50 დანაყოფით. მისი მეშვეობით ხდება უშუალოდ მიკრობთა გაზომვა. ობიექტ-მიკრომეტრი წარმოადგენს მინას, რომლის შუაგულში არის ეტალონური შკალა, დაყოფილი 100 ნაწილად. ეტალონური შკალის დანაყოფის ფასი არის ცნობილი სიდიდე და აღნიშნულია მინაზე. ჩვეულებრივ, ობიექტ-მიკრომეტრის თითოეული დანაყოფის ფასი ტოლია 10მკმ-ის.

მიკროორგანიზმთა ზომების დასადგენად მოქმედებენ შემდეგი თანმიმდევრობით: მიკროსკოპის ოკულარის დიაფრაგმაზე ათავსებენ ოკულარ-მიკრომეტრს (დანაყოფებით ქვემოთ). მიკროსკოპში მოჩანს დანაყოფები, რომლის ზომასაც საზღვრავენ ობიექტ-მიკრომეტრის საშუალებით. მას ამაგრებენ მიკროსკოპის სასაგნე დაფაზე ისე, რომ ობიექტ-მიკრომეტრის შკალის ერთ-ერთი დანაყოფი დაემთხვეს ოკულარ-მიკრომეტრის შკალის რომელიმე დანაყოფს. შკალების ურთიერთმიმართება აუცილებლად პარალელური უნდა იყოს, რაც იძლევა ცდომილებათა თავიდან აცილების საშუალებას. აკვირდებიან და აღნიშნავენ ობიექტ-მიკრომეტრის დანაყოფების რაოდენობას, რომელშიც სრულად თავსდება ოკულარ -მიკრომეტრის დანაყოფების გარკვეული რაოდენობა. ხდება ოკულარ-მიკრომეტრის დანაყოფის ფასის გაანგარიშება მარტივი ფორმულით–ოკულარ-მიკრომეტრის ერთ დანაყოფში ჩატეული ობიექტ-მიკრომეტრის დანაყოფთა რაოდენობა მრავლდება 10მკმ-ზე (რადგანაც ეს ცნობილი სიდიდეა). აღნიშნული მოქმედებების შემდგომ ობიექტ-მიკრომეტრს აიღებენ და მის მაგივრად სასაგნე მინაზე ათავსებენ გამოსაკვლევი მიკრობის პრეპარატს. მიკროსკოპში მოჩანს გამოსაკვლევი მიკრობი და ოკულარ-მიკრომეტრის შკალა. მიკრობის ზომის

განსაზღვრა ხდება იმავე გადიდებაზე, რაზედაც მოხდა ოკულარ-მიკრომეტრის შკალის დანაყოფის ფასის განსაზღვრა.

ზომების განსაზღვრის შემდგომ შედეგები აღირიცხება სპეციალურ ცხრილში, რომელშიც ოწერება შემდეგი მონაცემები: მიკრობული უჯრედის ფორმა, ზომა, გრამის წესით შეღებვის შედეგი, კაფსულის, სპორისა და ვოლუტინის მარცვლების არსებობა, მოძრაობის უნარი, ჩანართების არსებობა. აღნიშნული ცხრილი წარმოადგენს მიკროორგანიზმთა მორფოლოგიური და ტინქტორიალური მახასიათებლების ერთობლიობას და გააჩნია დიაგნოსტიკური ღირებულება.

2. თხიერ საკვებ ნიადგში ჩათესვისას მარყუჟს მასზე მოთავსებულ მასალით ჩაუშვებენ ნიადაგში. თუ მასალა ბლანტია და მარყუჟს ადვილად არ სცილდება, მას მიალესავენ ჭურჭლის კედელზე. ხორც-პეპტონიან ირიბ აგარზე ჩათესვის დროს სინჯარას იღებენ მარცხენა ხელით, სინჯარიდან საცობს ამოიღებენ მარჯვენა ხელის IV-V თითებით. მარჯვენა ხელის სამი თითით იჭერენ ბაქტერიულ მარყუჟს, რომლის საშუალებითაც ხდება დათესვა. მარყუჟს მასზე მოთავსებული ჩასათესი მასალით შეიტანენ სინჯარაში ფსკერამდე, ნიადაგის ზედაპირზე სიბრტყით და ქვევიდან ზევით მცოცავი მოძრაობით სინჯარის ერთი კედლიდან მეორემდე აკეთებენ შტრიხებს.

მკვრივ საკვებ ნიადაგზე პეტრის ფინჯანში ჩათესვისას პეტრის ფინჯანს იჭერენ მარცხენა ხელით. სახურავს ახდიან და აფიქსირებენ ისე რომ წარმოიქმნას ნაპრალი, რომელშიც თავისუფლად შევა მარყუჟი ან ფითხი. ბაქტერიულ მარყუჟს საკვებ ნიადაგზე დადებენ სიბრტყით, რათა მისი ზედაპირი არ დაიფხაჭნოს და გაავლებენ შტრიხებს მთელ ნიადაგზე ან სექტორად.

3. აერობული მიკრობები თავისი არსებობისათვის მოიხმარენ თავისუფალ ჟანგბადს, ხოლო ანაერობები იზრდებიან და მრავლდაბიან ისეთ პირობებში, სადაც ჰაერიდან ჟანგბადის მოხვედრა გამორიცხულია. მოლეკულური ჟანგაბადი მათზე ტოქსიკურად მოქმედებს. ანაერობი თავისი არსებობისათვის საჭირო ჟანგბადს ღებულობს საკვებ ნიადაგში შემავალი ორგანული და არაორგანული შენაერთების დისოციაციის შედეგად.

ანაერობების კულტივირებისათვის გამოიყენება მათი გაზრდა ვაკუუმის პირობებში – ვაკუუმს ქმნიან ანაეროსტატში ან ვაკუუმექსიკატორში. გამოსაკვლევი მიკრობების კულტურას ჩათესავენ სინჯარაში თხიერ ნიადაგზე ან პეტრის ფინჯანში მკვრივ საკვებ ნიადაგზე. ნათესს მოათავსებენ ანაეროსტატში, შემდეგ მას მიუერთებენ ტუმბოს და გამოქაჩავენ ჰაერს.

ანაერობების კულტივირების ქიმიური მეთოდი: – ანაერობების არსებობაზე გამოსაკვლევ მასალას თესავენ პეტრის ფინჯანში ნიადაგზე და ათავსებენ ექსიკატორში, რომლის ფსკერზე ათავსებენ ჟანგბადის შთანმთქავ ნივთიერებებს. შედგამენ თერმოსტატში 37გრადუს ტემპერატურაზე 24-48საათით.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 7

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. საკვები ნიადაგების ტიპები.
2. საკვები ნიადაგის მომზადება.

ინფექციურ დაავადებათა მიკრობიოლოგიური დიაგნოსტიკის უმნიშვნელოვანეს ეტაპს მორფოლოგიური გამოკვლევების შემდგომ, წარმოადგენს მიკროორგანიზმთა დიფერენცირება და იდენტიფიკაცია. მიკროორგანიზმთა კვების თავისებურებები, მათი ფერმენტების თვისებები, ზრდის ტიპები, მათი გამრავლების თავისებურებები თხიერ და მყარ საკვებ ნიადაგებზე, წარმოადგენენ მიკროორგანიზმთა ფიზიოლოგიის შესწავლის ძირითადი პარამეტრებს.

1. <u>საკვები ნიადაგები.</u> ბაქტერიებისა და სხვა მიკროორგანიზმების შესასწავლად საჭიროა მათი გამრავლება ლაბორატორიულ ან საწარმოო პირობებში. ამ მიზნით იყენებენ საკვებ ნიადაგებს, რომლებიც შეიცავენ სხვადასხვა ტიპის მარტივ ან რთულ ნაერთებს. ნებისმიერი საკვები ნიადაგი უნდა პასუხობდეს შემდეგ მოთხოვნებს: ნიადაგი უნდა შეიცავდეს მოცემული მიკროორგანიზმების გამრავლებისათვის აუცილებელ ყველა ნივთიერებას ადვილად ასათვისებელი ფორმით; უნდა ჰქონდეს ოპტიმალური ტენიანობა; ოპტიმალური სიმკვრივე; ოპტიმალური PH ; უნდა იყოს იზოტონური და მაქსიმალურად გამჭვირვალე; საკვებ ნიადაგებს ასტერილებენ ხმარების წინ სხვადასხვა მეთოდებით–მისი შემადგენლობის შესაბამისად.

ზოგიერთ საკვებ ნიადაგს ამზადებენ უშუალოდ მოკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში მცენარეული ან ცხოველური წარმოშობის პროდუქტებისაგან (საქონლის ხორცი, რძე, კვერცხი, სისხლის შრატი, ბოსტნეული, საფუარები, კაზეინი) ან მათი გადამუშავებით მიღებული ნივთიერებებისაგან (პეპტონი, ამინოპეპტიდი და სხვა).

დიდი მნიშვნელობა აქვს საკვებ ნიადაგში ე.წ. ზრდის ფაქტორების არსებობას (B ჯგუფის ვიტამინები, ნიკოტინის მჟავა და ა.შ.), რომლებიც ასრულებენ მეტაბოლიტური პროცესების კატალიზატორის როლს.

კონსისტენციის მიხედვით არჩევენ მყარ, თხიერ, და ნახევრადთხიერ ნიადაგებს. მყარ ნიადაგებს ამზადებენ სითხეში 1,5-2% <u>აგარის</u> დამატებით, რომელიც წარმოადგენს განსაკუთრებული სახეობის წყალმცენარის გადამუშავების პროდუქტს და გაცივებისას სითხეს ანიჭებს სიმკვრივეს. აგარი ლღვება 80-90° და მყარდება დაახლოებით 40°Ñ ტემპერატურაზე. ნახევრად თხიერი ნიადაგის მოსამზადებლად სითხეს უმატებენ 0,3-0,7%აგარის ფხვნილს. ზოგიერთ შემთხვევაში აგარის ნაცვლად ხმარობენ ჟელატინს (10-15%), შედედებულ სისხლის შრატს ან შედედებულ კვერცხის ცილას, რომლებიც თავისთავად მკვრივი კონსისტენციის არიან. ბაქტერიოლოგირ პრაქტიკაში ხშირად იყენებენ აგრეთვე საწარმოო გზით მიღებულ საკვებ ნიადაგებს, რომლებიც მზადდებიან არასაკვები პროდუქტებიდან (თევზეულის ნარჩენები, ძვლების ფქვილი, ტექნიკური კაზეინი და სხვა). მყარი საკვები ნიადაგები ინახებიან დიდხანს, მოსახერხებელი არიან გადასატანად და აქვთ სტანდარტული შემადგენლობა, რის გამოც მათ ანიჭებენ უპირატესობას ბაქტეტრიოლოგიურ პრაქტიკაში.

მიზნობრივი დანიშნულების მიხედვით საკვები ნიადაგები იყოფიან ძირითად, ელექტიურ და დიფერენციალურ-სადიაგნოსტიკო ნიადაგებად.

<u>ძირითად</u> ნიადაგებს მიეკუთვნებიან მარტივი და რთული ნიადაგები. მარტივი ნიადაგები მზადდებიან თევზის პროდუქტებიდან ან კაზეინიდან. მათ მიეკუთვნება თხევადი ნიადაგი- <u>საკვები ბულიონი</u> და მყარი- <u>საკვები აგარი</u>, რომლებიც გამოიყენება მთელი რიგი ბაქტერიების გასამრავლებლად. რთული ნიადაგების მოსამზადებლად მარტივ ნიადაგებს უმატებენ სხვადასხვა ინგრედიენტებს, მიკრობების კვების თავისებურების შესაბამისად. მათ მიეკუთვნება შქრიანი, სისხლიანი შრატიანი და სხვა საკვები ნიადაგები. რთულ საკვებ ნიადაგებს მიეკუთვნებიან აგრეთვე სინთეტიკური ნიადაგები, რომლებშიც უმატებენ ამინომჟავებს, ვიტამინებს, პეპტონის, სიმინდის ან საფუარის ექსტრატს და სხვა ნივთიერებებს. ასეთ ნიადაგებს იყენებენ საწარმოო მიკრობიოლოგიაში ანტიბიოტიკების, ვაქცინებისა და სხვა პრეპარატების მოსამზადებლად.

<u>ელექტიური</u> საკვები ნიადაგები გამოიყენებიან გარკვეული სახეობის მიკრობთა შერჩევითი გამრავლებისა და გამოყოფისათვის ისეთი მასალიდან, რომელიც შეიცავს მრავალფეროვან მიკროფლორას. ამ მიზნით საკვებ ნიადაგში უმატებენ ისეთ ინგრედიენტებს, რომელთა მიმართ მოთხოვნილება გააჩნიათ

მოცემულ სახეობებს. მაგალითად, სტაფილოკოკების შერჩევითი (ელექტიური) ზრდა აღინიშნება ნატრიუმის ქლორიდის მაღალი კონცენტრაციისას, ხოლო ქოლერის ვიბიონისა–ტუტე აეში, და ა.შ. ელექტიურ საკვებ ნიადაგებს მიეკუთვნებიან: პეტონიანი წყალი 1% PH 0,8; ტუტე აგარი PH 7,8; ლეფლერის ნიადაგი (დიფტერიის ჩხირებისათვის), მიულერის ნიადაგი (მუცლის ტიფის, პარატიფების) და სხვა.

<u>დიფერენციალურ–სადიაგნოსტიკო</u> საკვები ნიადაგები გამოიყენებიან მიკრობთა ცალკეული სახეობათა ან ჯგუფების გასაცალკევებლად. ასეთი განცალკევების პრინციპები ემყარება იმ გარემოებას, რომ ბაქტერიები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ბიოქიმიური თვისებებით–მათ შემადგენლობაში შედიან სხვადასხვა ფერმენტები, რომლებიც განსხვავებულად შლიან სუბსტრატებს, რომლებსაც შეიცავენ საკვები ნიადაგები (მაგალითად,შაქრებს). დიფერენციალურ–სადიაგნოსტიკო საკვები ნიადაგების შემედგენლობაში შედიან: ძირითადი საკვები ნიადაგი; კონკრეტული ქიმიური სუბსტრატი (მაგალითად ლაქტოზა), რომლის მიმართაც მოცემულ ბაქტერიას აქვს განსხვავებული მოქმედება; ფერადი ინდიკატორი, რომლის ფერის შეცვლა მეტყველებს ბიოქიმიურ რეაქციაზე და მოცემული ფერმენტული სისტემის არსებობაზე გამოსაკვლევ მიკროორგანიზმში. ასეთი ნიადაგები ფართოდ გამოიყენება მიკრობიოლოგიურ დიაგნოსტიკაში ბაქტერიათა იდენტიფიკაციისა და დიფერენცირებისათვის. მათ მიეკუთვნებიან: ჰისის ნიადაგი, ნიადაგი ენდო, ლევინის ნიადაგი, პლოსკირევის ნიადაგი (აერობული ბაქტერიებისათვის), აგრეთვე ვილსონ-ბლერის ნიადაგი, კიტ-ტაროცის ნიადაგი (ანაერობული ბაქტერიებისათვის) და სხვა ნიადაგები.

2. საკვები ნიადაგების მომზადება.

<u>ძირითადი ნიადაგები</u>. საკვები აგარის მოსამზადებლად, აგარის ფხვნილს ხსნიან წყალში და ადუღებენ 10-15წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც ასახავენ პეტრის ფინჯნებზე ან სინჯარებში. დახრილი აგარის მოსამზადებლად აგარიან სინჯარას გააცივებენ დახრილ მდგომარეობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

სისხლიანი, შრატიანი და ასციტიანი საკვები ნიადაგის მოსამზადებლად გამლღვალ და 50°C-მდე გარილებულ საკვებ აგარში სტერილურად უმატებენ 5-10% დეფიბრინებულ სისხლს ან სისხლის შრატს, ან 25% ასციტურ სითხეს, კარგად შეურევენ და ჩამოსხავენ პეტრის ფინჯნებზე, სინჯარაში ან სხვა ჭურჭელში. თხევადი ნიადაგის მოსამზადებლად ასეთივე რაოდენობის სისხლს, შრატს ან ასციტურ სითხეს ჩაამატებენ საკვებ ბულიონში.

ნახშირწყლოვანი საკვები ნიადაგის მოსამზაებლად საკვებ აგარს ან ბულლიონს უმატებენ 0,5-1% გლუკოზას ან სხვა ნახშირწყალს. სტერილიზაციას უტარებენ ავტოკლავში.

ელექტიური საკვები ნიადაგები. პეპტონიანი წყალის მისაღებად ამზადებენ 1%-იან ხსნარს, PH-8,0, ეს ხსნარი ელექტიურია ქოლერის ვიბრიონისათვის, სადაც იგი სწრაფად მრავლდება, ხოლო სხვა ბაქტერიების გამრავლება მკვეთრად იზღუდება ტუტე რეაქციის მეშვეობით. ასეთივე მოქმედება ახასიათებს ტუტე აგარს. PH 7,8;

ლეფლერის ნიადაგი მზადდება ცხენის შრატის შერევით შაქრიან ბულიონთან შეფარდებით 1:3. ეს ნიადაგი ელექტიურია დიფტერიის ჩხიებისათვის, რომლებიც იზრდებიან 4,6 საათში.

დიფერენციალურ–სადიაგნოსტიკო საკვები ნიადაგები. ჰისის ნიადაგის მოსამზადებლად 1%-იან პეპტონიან წყალს უმატებენ 0,5% რომელიმე ნახშირწყალს (გლუკოზა, ლაქტოზა, მანიტი და სხვა) და სპეციალურ ინდიკატორს, ჩამოასხავენ სინჯარებში, რომლებშიც წინასწარ ათავსებენ მინის ტივტივას. უტარებენ სტერილიზაციას ავტოკლავში. ხსნარის PH 7,2-7,4-ის შემთხვევაში იგი უფერულია, ხოლო ნახშირწყლების დაშლის შედეგად წითლად იფერება.

ენდოს ნიადაგი წარმოადგენს ფხვნილს, რომელშიც შედის საკვები აგარი, 1% ლაქტოზა და ინდიკატორი ფუქსინი. ხმარების წინ ფხვნილს ხსნიან წყალში, წამოადუღებენ და ჩამოსხავენ პეტრის ფინჯნებზე. ახლადმომზადებული ნიადაგი უფერულია, ან ოდნავ მოვარდისფრო შეფერილობისაა. იმ ბაქტერიების გაზრდისას, რომლებიც შლიან ლაქტოზას, კოლონიები იფერება მუქ წითელ ფერში და ღებულობენ მეტალისებურ ბზინვარებას. ლაქტოზაუარყოფითი ბაქტერიები წარმოქმნიან უფერულ კოლონიებს.

პლოსკირევის ნიადაგი (ბაქტოაგარი). ეს ნიადაგი მიეკუთვნება როგორც დიფერენციალურ–სადიაგნოსტიკო, ასევე სელექტიურ ნიადაგებს, ვინაიდან იგი აფერხებს რიგი ბაქტერიების ზრდას (ნაწლავის ჩხირი და სხვა) და ამავე დროს ხელს უწყობს მუცლის ტიფის, პარატიფების, დიზენტერიის გამომწვევების სწრაფ ზრდას. ლაქტოზადადებითი ბაქტერიები იღებებიან წითლად, ხოლო ლაქტოზაუარყოფითები უფერულ კოლონიებს იძლევიან.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 8

სტუდენტებს გავაცნოთ

1. სუფთა კულტურის იზოლირების წესები.

2.მიკრობთა კულტურალური თვისებების განსაზღვრა საკვებ ნიადაგებზე ზრდის ხასიათის მიხედვით.

1. <u>სუფთა კულტურის იზოლირების წესები</u>–იზოლირებული მიკრობული კოლონიებიდან მიღებული ერთი სახეობის მიკროორგანიზმების პოპულაციას მიკრობების სუფთა კულტურას უწოდებენ.მიკრობულ კოლონიაში იგულისხმება ერთი მიკრობული უჯრედის გამრავლების შედეგად მიღებული შთამომავლობა. სუფთა კულტურის გამოყოფის პროცესი შეიძლება დავყოთ რამოდენიმე ეტაპად:

I ეტაპი: საკვლევი მასალიდან ამზადებენ ნაცხს, ღებავენ გრამის წესით ან სხვა მეთოდით და ახდენენ მის მიკროსკოპირებას. აუცილებლობის შემთხვევაში საკვლევ მასალას განაზავებენ სინჯარაში NaCl-ის სტერილური იზოტონური ხსნარით. მომზადებული ხსნარის ერთ წვეთს შეიტანენ მარყუჟით პეტრის ფინჯანზე საკვები აგარის ზედაპირზე და შეაზელენ შპადელით, მასალას ანაწილებენ მთელ ზედაპირზე თანაბრად. ნათესებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C-ზე 18-24სთ.

II ეტაპი. ათვალიერებენ ნათესებს და სწავლობენ იზოლირებულ კოლონიებს. ყურადღებას აქცევენ მათ ფორმას, სიდიდეს, კონსისტენციას და სხვა ნიშნებს. კოლონიიდან ამზადებენ ნაცხს, ღებავენ გრამის წესით და ახდენენ მიკროსკოპირებას. სუფთა კულტურის გამოყოფისათვის იზოლირებულ კოლონიას გადათესავენ სინჯარაში ირიბ აგარზე ან სხვა ნიადაგზე. კოლონია ზედაპირიდან ისე უნდა მოვხსნათ გადათესვამდე, რომ მეზობელ კოლონიას არ შეეხოს.

III ეტაპი: განსაზღვრავენ გამოყოფილი კულტურის ზრდის ხასიათს. ვიზუალურად სუფთა კულტურა ხასიათდება ერთგვაროვანი ზრდით. ასეთი კულტურიდან მომზადებული შეღებილი ნაცხის მიკროსკოპული კვლევისას, მასში აღმოჩნდება მორფოლოგიურად და ტინქტორიალურად ერთგვაროვანი უჯრედები, თუმცა გამოხატული პოლიმორფიზმის შემთხვევაში (რომელიც ახასიათებს ზოგიერთ ბაქტერიას) სუფთა კულტურის ნაცხებში, შესაძლოა შეგვხვდეს სხვა სახის უჯრედებიც.

1.<u>მკვრივ საკვებ ნიადაგებზე მიკრობების ზრდა</u>. კოლონიების თვისებების შესწავლისათვის მიკრობების კულტივირებას ახორციელებენ პეტრის ფინჯანში მკვრივ საკვებ ნიადაგზე. მასალის დათესვისას ცდილობენ მიიღონ იზოლირებული კოლონიების ზრდა. კოლონიებს ახასიათებენ სიდიდის, ფორმის, ნაპირების კონტურების, რელიეფის, ზედაპირის, ფერის, სტრუქტურის და კონსისტენციის მიხედვით. <u>კოლონიის</u> <u>სიდიდე</u> განისაზღვრება მისი დიამეტრით. სიდიდის მიხედვით არჩევენ წერტილოვან კოლონიებს, წვრილებს, საშუალოს და მსხვილს. <u>კოლონიის ფორმებია</u>: სწორი-მრგვალი, არასწორი-ამორფული, როზოიდული-ფესვისმაგვარი, რომელიც ხის გადახლართულ ფესვებს მოგვაგონებს. არჩევენ სწორკიდეებიან კოლონიებს, მკვეთრად გამოხატული ხაზებით და არასწორკიდეებიან კოლონიებს.

<u>კოლონიის რელიეფის</u> მიზედვით არჩევენ: 1.წვეტისებრ და გუმბათისებრ კოლონებს. 2.ბრტყელ-ამოზნექილ კოლონებს ბრტყელი ზედაპირით, დამრეცი ან ციცაბოდ ჩამოკვეთილი კიდეებით; 3. კონუსისებრ კოლონებს, 4.ამოზნექილ კოლონებს შუაში-დვრილს, პერიფერიაზე-ლილვაკის სახით: 5.კოლონიებს ჩაზნექილი ცენტრით, 6.ბრტყელ კოლონიებს, ნიადაგის ზედაპირზე მოფენილს.

კოლონიის ფერი განისაზღვრება პიგმენტით, რომელიც მიკრობთა კულტურის მიერ პროდუცირდება. პათოგენური მიკრობების უმეტესობა პიგმენტს არ წარმოქმნის, რის გამოც მათი კოლონიები უფეროა ან რძისებრი-მღვრიე. მიკრობების პიგმენტის წარმომქმნელი სახეობები იძლევა სხვადასხვა ფერის კოლონიებს: ყვითელს, ოქროსფერ-ნარინჯისფერს, ლურჯს, წითელს, იასამნისფერს, შავს დასხვა.

კოლონიების <u>კონსისტენციას</u> ადგენენ მათთან შეხებით ან ბაქტერიული მარყუჟით მასალის ნაწილის აღებით. კოლონიები კონსისტენციის მიხედვით შეიძლება იყოს: ცომისნაირი, მწებავი ან ლორწოვანი, ბოჭკოვანი, მყიფე, მშრალი, მარყუჟის შეხებისას მსხვრევადი.

2. <u>თხიერ საკვებ ნიადაგებზე მიკრობების ზრდის თავისებურება</u>. თხიერ საკვებ ნიადაგებზე მიკრობების ზრდის ხასიათი ნაკლებად მრავალფეროვანია. თუმცა აქაც გამოვლინებულია ბაქტერიების ზრდის შემდეგი ფორმები: 1.ბაქტერიების ზრდა ნიადაგის თანაბარი შემღვრევით, როცა მისი ფერი რჩება შეუცვლელი, 2.ბაქტერიების ფსკერულ ზრდას თხიერ საკვებ ნიადაგზე ახასიათებს ნალექის წარმოქმნა სინჯარის ფსკერზე, 3.კედლის არეში ბაქტერიების ზრდა გამოიხატება იმით რომ სინჯარაში არსებული საკვები ნიადაგი რჩება სავსებით

გამჭვირვალე, ხოლო ბაქტერიები იზრდება მიკრობის ჭურჭლის შიგა კედლის ზედაპირზე. 4.ბაქტერიების ზედაპირულ ზრდას ახასიათებს თხიერი საკვები ნიადაგის ზედაპირზე აფსკის წარმოქმნა.

<u>3. ზრდა ნახევრადთხიერ საკვებ ნიადაგზე</u>. მიკრობებს თესავენ ნახევრადთხიერ აგარის სვეტზე, ჩხვლეტით. ასეთნაირი დათესვა საშუალებას იძლევა გამოვლინდეს მიკრობის მოძრავი სახეობები და მოხდეს მათი დიფერენციაცია არამოძრავისაგან. მოძრავი მიკრობი იწვევენ გამოხატულ შემღვრევას, რომელიც მეტნაკლებად თანაბარია ნიადაგის მთელ სისქეზე. მიკრობების უმოძრაო ფორმები იზრდება მხოლოდ ნიადაგის ნაჩხვლეტის მიმართულებით.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 9

სტუდენტებს გავაცნოთ:

მიკრობთა შესწავლის ბიოქიმიური მეთოდები.

მიკრობების ცხოველმყოფელობაში ფერმენტები დიდ როლს ასრულებენ. ფერმენტები მონაწილეობენ მრავალფეროვან ბიოქიმიურ რეაქციებში, რომლებიც საფუძვლად უდევს მათ კვებას, სუნთქვას, გამრავლებას.

გამოსაკვლევ მიკრობულ კულტურებს ფერმენტების გამოვლინების მიზნით თესავენ სპეციალურ სადიფერენციაციო-სადიაგნოსტიკო საკვებ ნიადაგებზე.

<u>მიკრობთა შაქრების დამშლელი ფუნქციები</u>. . შაქრების დამშლელი ფერმენტების დადგენისათვის ბაქტერიების გამოსაკვლევ კულტურებს თესავენ ჰისის საკვებ ნიადაგზე, რომელსაც უწოდებენ აგრეთვე "ჭრელ" რიგს. ჰისის მოკლე "ჭრელი" რიგი შედგება ჩვეულებრივად 5 სინჯარისაგან: გლუკოზით, ლაქტოზით, მანიტით, მალტოზით და საქაროზით. ზოგიერთი გამოკვლევის დროს ჰისის რიგს დაემატება დულციტი, სორბიტი, ქსილოზა, არაბინოზა და ზოგიერთი სხვა შაქარი. (გრძელი რიგი). ყველა სინჯარას ემატება ინდიკატორი (ანდრადეს რეაქტივი).

გამოსაკვლევი მიკრობის სუფთა კულტურას მარყუჟის საშუალებით ჩათესავენ "ჭრელი რიგის" სინჯარებში და ათავსებენ თერმოსტატში 37ºC ტემპერატურაზე 18-24 საათის განმავლობაში. იმ შემთხვევაში, თუ ბაქტერიის ფერმენტები შლიან ნახშირწყლებს, შეიცვლება ნიადაგის შეფერილობა და წარმოიქმნება გაზის ბუშტუკი, წინააღმდეგ შემთხვევაში ნიადაგის ფერი არ იცვლება.

მიკროორგანიზმების ზოგიერთი სახეობა გამოიმუშავებს და გარემოში გამოყოფს <u>პროტეოლიზურ ფერმენტებს–პროტეაზებს</u>, რომლებიც კატალიზატორის როლს ასრულებენ ცილების გახლეჩაში. პროტეოლიზური ფერმენტების გამოსავლინებლად გამოსაკვლევ მიკრობულ კულტურას ჩათესავენ საკვებ ნიადაგში, რომელიც შეიცავს ამა თუ იმ ცილას. ამ მიზნით ყველაზე ხშირად გამოყენებულია ჟელატინი, იშვიათად ცხენის შედედებული შრატი, შედედებული კვერცხის ცილა, რძე და მოხარშული ხორცის ნაჭრები. ჩათესვის შემდეგ სინჯებს ათავსებენ თერმოსტატში 2–3 დღით, 37°Ñ, რის შემდეგაც პეპტონიან წყალში განსაზღვრავენ პეპტონის დაშლის პროდუქტებს: ამიაკს, ინდოლს, გოგირდწყალბადს და სხვა.

<u>გოგირდწყალბადის განსაზღვრა-</u>გამოსაკვლევი მიკრობების ერთ მარყუჟს ჩათესავენ სინჯარაში ხორც-პეპტონიან ან ხოტინგერის ბულიონზე. სინჯარაში შეაქვთ ტყვიის აცეტატში გაჟღენთილი საინდიკაციო ქაღალდი. დადებითი შედეგის შემთხვევაში ინდიკატორის ქაღალდი შეიფერება შავ-რუხად.

<u>რეაქცია ამიაკზე: ლ</u>აკმუსის ქაღალდის ვიწრო ზოლს ამაგრებენ საცობის ქვეშ, ისე რომ იგი არ შეეხოს სითხეს. ქაღალდის გალურჯება მეტყველებს ამიაკის გამოყოფაზე.

<u>რეაქცია ინდოლზე</u>: ერლიხის მეთოდი–სინჯარას ბაქტერიული კულტურით უმატებენ რამოდენიმე წვეთ ერლიხის რეაქტივს, ინდოლის არსებობის შემთხვევაში მიიღება ვარდისფერი შეფერილობა, ან ვარდისფერი რგოლი.

<u>რეაქცია გოგირდწყალბადზე</u>: კულტურას ჩათესავენ ჩხვლეტით საკვებ ნიადაგში, რომელშიც წინასწარ გახსნილია სპეციალური მარილები (რკინის სულფატი, ნატრიუმის თიოსულფსტი, ნატრიუმის სულფიტი). გოგირდწყალბადის გამოყოფის შემთხვევაში ნიადაგი შავდება.

ხშირ შემთხვევებში მიკრობთა შაქრისდამშლელი და პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა საკმარისია მათი იდენტიფიცირებისათვის. საჭიროების შემთხვევაში შეისწავლიან ოქსიდაზის, პლაზმოკოაგულაზის, ფიბრინოლიზინის და სხვა ფერმენტების აქტივობას.

ბაქტერიათა შემდგომი იდენტიფიცირებისათვის მნიშვნელოვანია ბაქტერიული პიგმენტების გამოვლენა, რომლებიც მიკრობულ კოლონიებსა და ნათესებს ღებავენ სხვადასხვა ფერად. მაგალითად, ოქროსფერი პიგმენტი გააჩნიათ ოქროსფერ სტაფილოკოკებს, ლურჯ-მწვანე პიგმენტი – ფსევდომონას ჯგუფის ჩირქმბად ბაქტერიებს და ა.შ.

უფრო საფუძვლიანი იდენტიფიკაციისათვის (სეროვარის, ქემოვარის, ფაგოტიპის განსაზღვრისათვის) ატარებენ დამატებით გამოკვლევებს ბაქტერიათა ცალკეული ანტიგენის, ფერმენტის ან სხვა მარკერის გამოსავლენად.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 10

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1.გარემოს ობიექტებიდან ფაგის გამოყოფის მეთოდები;

2.ბაქტერიათა ფაგოტიპირების მეთოდი;

3. ფაგის ლიზისური სპექტრის განსაზღვრა.

ბაქტერიული ვირუსები (ბაქტერიოფაგები). ბაქტერიოფაგები ფართოდ არიან გავრცელებული გარემოში – წყლებსა და ნიადაგში. ნაწლავური ბაქტერიების ფაგები (ნაწლავის ჩხირის, დიზენტერიის, სალმონელების) მრავლად არიან ჩამდინარე წყლებსა და სხვადასხვა გამონაყოფებში. სტაფილოფაგები აღინიშნებიან ცხვირის ლორწოვან გამონაყოფში, კანსა და ჭრილობათა ნაჭდევებზე. ფაგის აღმოჩენა გარემოში მიუთითებს მათ მიმართ მგრძნობიარე ბაქტერიის არსებობაზე. განასხვავებენ ვირულენტურ და ზომიერ ფაგებს. ვირულენტური ფაგები იწვევენ ინფექციას, რაც ყოველთვის მთავრდება ბაქტერიული უჯრედის ლიზისით (დაშლით). ზომიერი ფაგები არ იწვევენ უჯრედის დაშლას. მათი დნმ უერთდება ბაქტერიის ქრომოსომას და ასეთი სახით გადაეცემა შთამომავლობას. ასეთი სახის ურთიერთობას ლიზოგენია ეწოდება, ხოლო ასეთ ფაგებს – ლიზოგენური ფაგები.

ფაგების უმრავლესობას ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა ბაქტერიებთან მიმართებაში, თუმცა არსებობენ ფაგები, რომლებიც ასნებოვნებენ რამოდენიმე მონათესავე ბაქტერიულ უჯრედებს. ზოგიერთი ფაგი ასნებოვნებს

ბაქტერიული სახეობის შიგნით არსებული ვარიანტებიდან მხოლოდ ცალკეულ სახეობას და არ აზიანებს სხვებს. ფაგის ამ თვისებას იყენებენ ბაქტერიული ფაგოტიპის (ფაგოვარის) განსასაზღვრავად მოცემული სახეობის შიგნით ეპიდემიოლოგიური ანალიზის დროს. გარდა ამისა, ფაგებს იყენებენ: ბაქტერიულ კულტურათა ფაგოდიფერენციაციაში (სახეობრივი კუთვნილების დასადგენად), ფაგოდიაგნოსტიკაში (ავადმყოფის ორგანიზმიდან ფაგის გამოყოფა, რაც ირიბად ადასტურებს მასალაში შესაბამისი მიკრობის არსებობას), ფაგოპროფილაქტიკისთვის – ზოგიერთი ინფექციის კერაში (მაგ.:დიზენტერიის) მოსახლეობისთვის წინასწარ ფაგის მიცემა პროფილაქტიკის მიზნით. ასევე გამოიყენება ფაგოთერაპია – ზოგიერთი ინფექციური დაავადების სამკურნალოდ (დიზენტერია, სტაფილოკოკური ინფექცია, მუცლის ტიფი და სხვ.)

1. ვირულენტური ფაგების გამოსაყოფად ამზადებენ გამოსაკვლევი მასალის ფილტრატს (წყალი, ფეკალიების სუსპენზია და სხვა.). ფილტრატს, შესაბამის ბაქტერიულ კულტურას ჩათესავენ ბულიონში და ათავსებენ 18-24 სთ 37°Ñ-ზე თერმოსტატში. კულტურის ლიზისის შემდგომ დარჩენილ ბაქტერიულ უჯრედებს აცილებენ ცენტრიფუგირებით ან ფილტრაციით, ფილტრატში საზღვრავენ ფაგის რაოდენობრივ და ხარისხობრივ მაჩვენებლებს. მაგალითად, ნაწლავის ჩხირის ფაგების ხარისხობრივი განსაზღვრისათვის იღებენ აგარიან პეტრის ფინჯანს, რომელზედაც დათესავენ ნაწლავის ჩხირებს ფინჯნის სიგრძეზე. 37°C-ზე 15წთ-იანი გაშრობის შემდეგ, ნათესის ზედაპირზე დააწვეთებენ ფაგის წვეთს ისე, რომ ფინჯანის დახრისას წვეთი ჩამოიწვეთოს მოპირდაპირე მიმართულებით. 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ნახულობენ ფინჯანს, სადაც აღინიშნება ფაგის მიერ ბაქტერიული ნათესის ლიზისის ზოლი წვეთის მოძრაობის მიმართულებით.

2. გამოსაკვლევ ბაქტერიულ კულტურას, რომელიც გახსნილია საკვებ ბულიონში, დათესავენ საკვებ აგარზე, პეტრის ფინჯნის მთელ ზედაპირზე, გააშრობენ თერმოსტატში. ამის შემდეგ ფინჯანს ყოფენ კვადრატებად, რომლებზედაც პასტერის პიპეტით აწვეთებენ სხვადასხვა ტიპოსპეციფიურ ფაგებს. 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ნახულობენ შედეგს, იმ კვადრატების აღნიშვნით, რომლებშიც აღინიშნება ბაქტერიათა ლიზისი. ბაქტერიის ფაგოტიპი განისაზღვრება ფაგის იმ ტიპით, რომელიც იწვევს ლიზისს.

3. პეტრის აგარიან ფინჯანს ყოფენ იმდენ ნაწილებად (კვადრატებად) რამდენი ბაქტერიული კულტურაც უნდა შეისწავლონ. თითოეულ კვადრატზე მარყუჟის საშუალებით აწვეთებენ ბაქტერიულ კულტურას და ანაწილებენ მარყუჟით კვადრატის ფარგლებში. შემდეგ ყოველ დათესილ კვადრატზე მარყუჟით

ან პასტერის პიპეტით შეაქვთ გამოსაცდელი ფაგის თითო წვეთი. 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ნახულობენ შედეგს, აღინიშნება ის კვადრატები, სადაც მოხდა ბაქტერითა ლიზისი ან ე.წ. სტერილური ლაქების გაჩენა ბაქტერიულ ნათესზე. ფაგის ლიზისის სპექტრი განისაზღვრება იმ ბაქტერიული კულტურების რაოდენობით, რომელიც ლიზირდება მოცემული ფაგით.

ბაქტერიული ლიზისის ხარისხი განისაზღვრება ოთხჯვრიანი სისტემით: 4 ჯვარი–სრული ლიზისი, 3ჯვარი– ნაწილობრივი ლიზისი და ა.შ.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 11

მიკროორგანიზმები ფართოდ არიან გავრცელებული ატმოსფერულ ჰაერში, წყალში, ნიადაგში, გარემომცველ საგნებზე, აგრეთვე ადამიანისა და ცხოველთა ორგანიზმებში. პათოგენური მიკრობები, რომლებიც ბინადრობენ ავადმყოფი ან ბაქტერიამატარებელი ადამიანისა თუ ცხოველის ორგანიზმში, ხვდებიან გარემოში და ცირკულირებენ მასში გარკვეული დროის განმავლობაში. მიუხედავად იმისა, რომ პათოგენური მიკრობები გარემოს ობიექტებში ვერ მრავლდებიან, გარემოს მიკრობიოლოგიურ შესწავლას აქვს პრაქტიკული მნიშვნელობა, რადგან დაინფიცირებული გარემო ინფექციურ დაავადებათა გავრცელების ფაქტორს წარმოადგენს.

სტუდენტებს გავაცნოთ: 1. ადამიანის ორგანიზმის მოკროფლორა
2. ჰაერის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა

<u>1. ადამიანის ორგანიზმის მიკროფლორა</u>. ადამიანის მიკროფლორა წარმოდგენილია სხვადასხვა მიკროორგანიზმებით, რომლებიც ბინადრობენ კანის საფარზე, პირის ღრუს, ხორხის, პირსახის, ზემო სასუნთქი გზების, ნაწლავების ლორწოვან გარსებზე და ა.შ. ზოგიერთი მათგანი მუდმივად ბინადრობს ადამიანის ორგანიზმში და მათ ობლიგატური ბაქტერიები ეწოდებათ, მეორე ნაწილი კი დროებით

(ფაკულტატური ბაქტერიები), მათ მიეკუთვნება პათოგენური ბაქტერიების დიდი ნაწილი. ადამიანის მიკროფლორის რაოდენობრივი და ხარისხობრივი შედგენილობა ცხოვრების მანძილზე იცვლება და დამოკიდებულია სქესზე, ასაკზე, კვებაზე და სხვა ფაქტორებზე. გარდა ამისა, მიკროფლორა მკვეთრად იცვლება სხვადასხვა დაავადებების შემთხვევაში და განსაკუთრებით ანტიბაქტერიული მკურნალობის (ანტიბიოტიკებით) შემდეგ. მიკროფლორის ხარისხობრივი და რაოდენობრივი მაჩვენებლების შეფასება განსაზღვრული მაჩვენებლების მიხედვით იძლევა საშუალებას აღმოვაჩინოთ დარღვევები და ამ დარღვევათა შედეგი – დისბაქტერიოზი.

მიკროფლორის ხარისხობრივი მაჩვენებლების დასადგენად იყენებენ მიკროსკოპირებასა და მიკრობიოლოგიურ მეთოდებს. ნაცხებს ამზადებენ კბილის ემალიდან, ცხვირხახიდან, ღებავენ გრამის წესით და აკვირდებიან მიკროსკოპში. კბილის ემალიდან აღებული მასალით შესაძლოა მომზადდეს პრეპარატი "გაჭყლეტილი წვეთის" მეთოდით მოძრავი მიკრობების გამოსავლენად. მიკრობიოლოგიური გამოკვლევისთვის იღებენ ჩამონარეცხებს სახის, ხელების, სხვა ნაწილების კანიდან დასველებული ტამპონით. ტამპონს ასველებენ ნატრიუმის ქლორიდის იზოტონურ ხსნარში. შემდეგ იგივე ტამპონით ახდენენ ჩათესვას სტერილურ საკვებ ნიადაგში პეტრის ფინჯანზე. ნაწლავის ჩხირის აღმოსაჩენად ტამპონს ათავსებენ გლუჯკოზა-პეპტონიან ნიადაგში (სინჯარაში). მიკრობთა წინასწარ იდენტიფიკაციას ახდენენ გაზრდილი კოლონიების ხასიათის, აირის წარმოქმნის, შეღებილ ნაცხებში მიკრობთა მორფოლოგიის შესწავლით. რაოდენობრივი გამოკვლევებისთვის მასალას იღებენ გარკვეული ოდენობით (ცხვირსახის ჩამონარეცხი, ფეკალია და სხვ.) ხსნიან ნატრიუმის ქლორიდის იზოტონურ ხსნარში და დათესავენ სხვადასხვა განზავებით საკვებ ნიადაგებზე. ნაწლავის ჩხირის შემთხვევაში – ენდოს ნიადაგში. ინკუბირების შემდეგ ახდენენ გაზრდილი კოლონიების დათვლას.

ასეთ გამოკვლევებს იმეორებენ გარკვეული დროის შემდეგ, რათა დინამიკაში მოხდეს მიკროფლორის რაოდენობრივ ცვლილებებზე დაკვირვება.

2. <u>ჰაერის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის</u> რაოდენობრივი მეთოდები დაფუძნებულია დალექვის (სედიმენტაციის), ასპირაციის და ფილტრაციის პრინციპებზე.

<u>სედიმენტაციის მეთოდი</u>: ორ ფინჯანს საკვები აგარით ტოვებენ გამოკვლევის ადგილზე ღიად 60წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც ნათესებს ათავსებენ

თერმოსტატში 37 გრადუსზე. შედეგის შეფასება ხდება ორივე ფინჯანზე გაზრდილი კოლონიების რაოდენობის შეჯამებით: თუ ეს რიცხვი ნაკლებია 250-ზე–ჰაერი ითვლება სუფთად, 250–500 კოლონია–საშუალო ხარისხით დაბინძურებულად, 500 კოლონიაზე მეტი–დაბინძურებულად.

2. ასპირაციული მეთოდი ყველაზე ზუსტი რაოდენობრივი მეთოდია ჰაერში მიკრობთა რაოდენობის განსაზღვრის. ჰაერის დათესვა ხორციელდება კროტოვის აპარატით.

ჰაერის საერთო მიკრობული დაბინძურების განსაზღვრისათვის სინჯის დათესვა ხდება 2%-იან ხორც-პეპტონიან აგარზე, სტაფილოკოკების გამოყოფის მიზნით კი რძე-მარილიან ან ნაღველ-მარილიან აგარზე, სტრეპტოკოკების გამოსაყოფად სისხლიან აგარზე.

ხელსაწყოს კორპუსს მჭიდროდ ხურავენ თავსახურით, რომლის ცენტრალური ნაწილია პლექსიგლასის გამჭვირვალე დისკო რადიალურად განლაგებული სოლისებრი ნაპრალებით.

ვენტილატორის ბრუნვის დროს ჰაერი შეისრუტება სახურავის ნაპრალიდან, ეცემა საკვები ნიადაგის ზედაპირს და ტოვებს მასზე მიკროორგანიზმების დიდ ნაწილს, რომელსაც შეიცავს აპარატში შესული ჰაერის სინჯი. ფინჯანის მოძრაობა (დაახლოებით 60 ბრუნი წუთში) გარანტიას იძლევა მაში მოთავსებული საკვები ნიადაგის მთელ ზედაპირზე თანაბრად განაწილდეს მიკრობები. ხელსაწყოში შესული ჰაერი გარეთ გამოედინება მიკრომანომეტრზე მიმაგრებული ჰაერის გამტარი მილით, რომლის დახმარებითაც რეგისტრირდება აპარატში გატარებული ჰაერის სისწრაფე. აპარატს უნარი აქვს წუთში გაატაროს 25-დან 56ლ-მდე ჰაერი.

კროტოვის აპარატით მუშაობის წესი: აპარატს ჩართავენ ელექტოქსელში, მოხდიან სახურავს, დისკოზე ამაგრებენ ღია პეტრის ფინჯანს საკვები ნიადაგით და მასთან ერთად ხელით ამოძრავებენ საათის ისრის მიმართულებით, ხელსაწყოს სახურავს დაახურავენ და აღნიშნავენ ხელსაწყოში ჰაერის შესვლის საწყის დროს დააყენებენ ჰაერის შესასრუტ სიჩქარეზე, რომელიც უდრის წუთში 25 ბრუნს.

თერმოსტატში 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ხდება მიკრობული რიცხვის გამოთვლა ფორმულით:

$$X = \frac{a \times 1000}{V}$$

a-ფინჯანზე გაზრდილი კოლონიების რაოდენობა;

v- ხელსაწყოში გატრებული ჰაერის მოცულობა,

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 12

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. სასმელი და ღია წყალსატევების წყლის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა: ა) საერთო მიკრობული დაბინძურება; ბ) კოლიტიტრი, კოლიინდექსი.

2. ნიადაგის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა.

1, ა). სასმელი წყალი, 1მლ მოცულობით და ღია წყალსატევების წყალი 1,0; 0,1; 0,01მლ მოცულობით შეაქვთ სტერილურ პეტრის ფინჯნებზე, შემდეგ მათში ასხავენ 10-12 მლ გამლღვალ, და 45-50°C–მდე გაციებულ საკვებ აგარს. ნათესებს უკეთებენ ინკუბირებას 37°C –ზე 24-48სთ. ღია წყალსატევების წყალს თესავენ პარალელურად 2 ფინჯანზე, ერთს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C –ზე დღე-ღამის განმავლობაში, მეორეს-2 დღე-ღამე 20°C –ზე. ინკუბირების შემდეგ გაითვლიან გაზრდილი კოლონიების რაოდენობას აგარის ზედაპირზე და მის სიღრმეში. მიკრობული კოლონიების ჯამი წარმოადგენს წყლის მიკრობული დაბინძურების მაჩვენებელს, რომელსაც წყლის მიკრობული რიცხვი ეწოდება (მიკრობთა რაოდენობა 1 მლ წყალში)

გარდა წყლის საერთო მიკრობული დაბინძურების მაჩვენებლისა, დიდი მნიშვნელობა აქვს სასმელ წყალში ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიების აღმოჩენას და მათ რაოდენობრივ განსაზღვრას, რადგანაც ნაწლავის ჩხირის აღმოჩენა (მიუხედავად იმისა, რომ იგი არის ადამიანის ნორმალური მიკროფლორის წარმიმადგენელი და უშუალოდ არ ქმნის დასნებოვნების საშიშროებას) მიანიშნებს სასმელი წყლის დაბინძურებაზე ფეკალური ან სხვა მასებით, რაც თავისთავად ქმნის საშიშროებას მოსახლეობაში ნაწლავური ინფექციური დაავადებების (მათ შორის მძიმედ მიმდინარე) აღმოცენება-გავრცელებისთვის.

სასმელი წყლის ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის მიკრობებით დაბინძურების რაოდენობრივ მაჩვენებლებს წარმოადგენენ კოლი-ტიტრი და კოლი-ინდექსი. კოლი-ტიტრი წარმოადგენს წყლის მინიმალურ რაოდენობას, რომელშიც შეიძლება

აღმოჩნდეს ნაწლავის ჩხირის ერთი ბაქტერიული უჯრედი. კოლი-ინდექსი გვიჩვენებს ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის მიკრობთა რაოდენობას ერთ ლიტრ სასმელ წყალში.

საქართველოში მოქმედი კანონმდებლობით განსაზღვრულია სასმელი წყლის დაბინძურების ნორმატიული მაჩვენებლები: წყლის საერთო მიკრობული დაბინძურების მაჩვენებელი 1 მლ განუზავებელ წყალში არაუმეტეს 100-სა. კოლი-ინდექსი (1 ლ წყალში ნაწ. ჩხ.) – არაუმეტეს 3-სა, კოლი-ტიტრი – არაუმცირეს 333 მლ-სა.

წყლის კოლი-ტიტრის განსაზღვრა ხდება დუღილის მეთოდით და მემბრანული ფილტრების მეთოდით.

ა) დუღილის მეთოდი. (ბაქტერიული დუღილის შესახებ მსჯელობენ საკვებ ნიადაგში გაზის ბუშტუკების წარმოქმნისას). სასმელი ან ღია წყალსატევების წყალს თესავენ გლუკოზპეპტონიან ნიადაგში, რომელიც შედგება – 1% პეპტონიანი წყლის, 0,5% გლუკოზის, 0,5% ნატრიუმის ქლორიდის, ანდრადეს ინდიკატორის და ტივტივასაგან. ნათესებს (სხვადასხვა განზავებებს) ათავსებენ 24 სთ 37°C ტემპერატურაზე. ნათესებს, რომლებშიც შეიმჩნევა დუღილი ან შემღვრევა, გადათესავენ ენდოს ნიადაგზე. გაზრდილი კოლონიებიდან ამზადებენ ნაცხებს, ღებავენ გრამის წესით და დგამენ ოქსიდაზურ ტესტს, რომელიც იძლევა საშუალებას გავარჩიოთ ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიები (გრამუარყოფითი) სხვა ოქსიდაზადადებითი ბაქტერიებისგან, რომლებიც ჩვეულებრივ ბინადრობენ წყალში (ასევე გრამუარყოფითი ბაქტერიები). ამისათვის 2,3 იზოლირებულ კოლონიას წკირის საშუალებით გადაიტანენ ფილტრის ქაღალდზე, რომელიც გაჟღენთილია დიმეთილ-ფენილენდიამინში. უარყოფითი ტესტის შემთხვევაში ქაღალდის ფერი არ იცვლება, ხოლო დადებით შემთხვევაში იღებება ლურჯად 1 წუთის განმავლობაში. კოლი-ტიტრი და კოლი-ინდექსი გამოიანგარიშება სპეციალური ცხრილების მეშვეობით.

ბ) მემბრანული ფილტრების მეთოდი. გასტერილებულ მემბრანულ ფილტრს ათავსებენ სპეციალურ დამჭერში და ვაკუუმის პირობებში მასში გაატარებენ გამოსაკვლევ წყალს სხვადასხვა მოცულობით (0,1 მლ-დან 500 მლ ფარგლებში). ფილტრაციის შემდგომ ფილტრებს უშუალოდ მოათავსებენ ენდოს ნიადაგზე პეტრის ფინჯანზე, 24 სთ 37°C-ზე ინკუბაციის შემდეგ ითვლიან ნაწლავის ჩხირისთვის დამახასიათებელი კოლონიების რაოდენობას.

2. ნიადაგის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა.

გამოსაკვლევი ნიადაგის სხვადასხვა ადგილებიდან იღებენ სინჯებს (10 და მეტი) 10–15 სმ–ის სიღრმეზე, სტერილური კოვზის საშუალებით, რომელსაც ათავსებენ სტერილურ ჭურჭელში. სინჯებიდან იღებენ ნიადაგის 30 გრამიან ანაწონს და ათავსებენ კოლბაში, სადაც ჩასხმულია 270 მლ წყალი და შეანჯღრევენ. მიღებული სუსპენზიიდან ამზადებენ სხვადასხვა განზავებებს. ბოლო ორიდან იღებენ 0,1 მლ და შეურევენ 40 მლ 0,7%–იან გამლღვალ და 45°C–მდე გაციებულ საკვებ აგარს. მიღებულ ნარევს შეიტანენ პეტრის ფინჯნებში 2%–იანი აგარით და ათავსებენ თერმოსტატში 37°C–ზე. 24 სთ–ის შემდეგ ითვლიან გაზრდილ კოლონიებს და განსაზღვრავენ საერთო მიკრობულ რიცხვს.

ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიებით ნიადაგის დაბინძურების შესასწავლად მის სხვადასხვა რაოდენობას თესავენ კესლერის ნიადაგზე. ინკუბირება ხდება 43°Ñ–ზე 48 სთ–ის განმავლობაში. შემდგომ ანალიზი წარმოებს სასმელი წყლის კოლი ინდექსის განსაზღვრის ანალოგიურად. წითელი ფერის 2,3 კოლონიიდან ამზადებენ ნაცხებს, ღებავენ გრამის წესით და დადგამენ ოქსიდაზურ ტესტს (ზემოთაღწერილი ტექნიკის გამოყენებით). დადებითი ტესტის შემთხვევაში კოლონია იფერება ლურჯ ფერში. 2,3 კოლონია, რომელსაც არ შეუცვლია პირველადი ფერი, გადააქვთ ნახევრადთხიერ 0,5% გლუკოზიან ნიადაგზე. 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ (37°C ტემპერატურაზე) აკვირდებიან ნათესებს. აირის წარმოქმნის შემთხვევაში ფილტრის ზედაპირზე ითვლიან წითელი კოლონიების რაოდენობას და ანგარიშობენ კოლი-ინდექსს. კოლი-ტიტრი იანგარიშება კოლი-ინდექსიდან გამომდინარე. მაგალითად, თუ კოლი-ინდექსი ტოლია 5, მაშინ კოლი-ტიტრი იქნება 1000:5=200

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 13

ინფექციურ დაავადებათა სამკურნალოდ გამოყენებულ ქიმიოთერაპიულ საშუალებათა შორის წამყვანი ადგილი უკავიათ ანტიბიოტიკებს. ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდებიან წარმოშობის, ქიმიური აგებულების, მოქმედების მექანიზმისა და მოქმედების სპექტრის მიხედვით და შესაბამისად იყოფიან რამოდენიმე ჯგუფად. კონკრეტული ინფექციის შემთხვევაში პაციენტისთვის ანტიბიოტიკის შერჩევა გარკვეულ სირთულეებთანაა დაკავშირებული, ვინაიდან

ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობიარე ბაქტერიებთან ერთად ფართოდ არიან გავრცელებული ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტული (გამძლე) ბაქტერიები. აღნიშნულის გამო მნიშვნელოვანია კონკრეტული ინფექციის გამომწვევი მიკროორგანიზმების გამოყოფა და მასზე დამთრგუნველად მოქმედი ანტიბიოტიკის შერჩევა.

დღეისათვის, ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის მიხედვით ბაქტერიები იყოფიან ოთხ ჯგუფად – მგრძნობიარე ბაქტერიები, საშუალოდ მგრძნობიარენი, ზომიერად რეზისტენტული და რეზისტენტული ბაქტერიები. ასეთი დაყოფა ხდება ანტიბიოტიკის მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაციების განსაზღვრის შედეგად.

სტუდენტებს გავაცნოთ:

1. ბაქტერიათა მგრძნობელობის განსაზღვრა ანტიბიოტიკებისადმი დისკების მეთოდით,
2. ბაქტერიათა მგრძნობელობის განსაზღვრა ანტიბიოტიკებისადმი სერიული განზავების მეთოდით.
3. სერიული განზავების მეთოდი საკვებ აგარზე.

1. შესასწავლ ბაქტერიულ კულტურას თესავენ პეტრის ფინჯანზე ჩამოსხმულ აგარაზე, ფინჯნის მოცულობის სრული დაფარვით, რის შემდეგაც ნათესის ზედაპირზე პინცეტით ათავსებენ ქაღალდის დისკებს, რომლებიც გაჟღენთილია სხვადასხვა ანტიბიოტიკის განსაზღვრული დოზით. დისკებს ათავსებენ ერთმანეთისაგან თანაბარი მანძილების დაშორებით. ფინჯნებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C–ზე 24 სთ–ით. შედეგებს აფიქსირებენ დისკების ირგვლივ მიკრობული ზრდის შეწყვეტის ზონის დიამეტრების მიხედვით. ეს სიდიდე პროპორციულია აღნიშნული ანტიბიოტიკისადმი მოცემული მიკროორგანიზმის მგრძნობელობისა. შეწყვეტის ზონის 10მმ-იანი დიამეტრის შემთხვევაში კულტურა ითვლება მცირედმგრძნობიარედ აღნიშნული ანტიბიოტიკის მიმართ, ხოლო 10მმ და ზევით–მაღალმგრძნობიარედ. იმ შემთხვევაში თუ დისკები გაჟღენთილია ერთიდაიგივე ანტიბიოტიკის სხვადასხვა კონცეტრაციებით, შეიძლება განისაზღვროს ანტიბიოტიკის ის მინიმალური დოზა, რომლის მიმართაც მგრძნობიარეა მოცემული ბაქტერიული კულტურა.

2. ანტიბიოტიკებისადმი ბაქტერიების მგრძნობელობის განსაზღვრა <u>სერიული განზავების</u> მეთოდით. ასეთი მეთოდით საზღვრავენ ანტიბიოტიკის იმ მინიმალურ კონცენტრაციას, რომელიც ახდენს ბაქტერიული კულტურის ზრდის შეჩერებას. ამისათვის ამზადებენ ძირითად ხსნარს, რომელშიც გახსნიან ანტიბიოტიკის გარკვეულ რაოდენობას. ძირითადი ხსნარისაგან ამზადებენ ანტიბიოტიკების სხვადასხვა განზავებებს საკვებ ბულიონში. (სინჯარები შეიცავენ 1 მლ ბულიონს და ანტიბიოტიკის გარკვეულ გატიტრულ რაოდენობას). შემდეგ თითოეულ განზავებას უმატებენ 0,1 მლ ბაქტერიულ სუსპენზიას, რომლის 1 მლ შეიცავს 10^6-10^7 ბაქტერიულ უჯრედს. ბოლო სინჯარაში შეაქვთ მხოლოდ 1მლ ბულიონი და 0,1 მლ ბაქტერიული სუსპენზია (საკონტროლო სინჯარა). სინჯარებს ათავსებენ თერმოსტატში 37°C–ზე 24 სთ-ით, შედეგებს აღნიშნავენ ბულიონის გამჭვირვალეობის მიხედვით საკონტროლო სინჯარასთან შედარებით, რომელშიც ბაქტერიების ზრდა იწვევს ბულიონის შემღვრევას. ბოლო გამჭვირვალე სინჯარა გვიჩვენებს ბაქტერიული ზრდის შეჩერებას მასში არსებული ანტიბიოტიკის მინიმალური მაინჰიბირებელი დოზის მიერ.

3. სერიული განზავება საკვლევ აგარზე. აღნიშნული მეთოდი უფრო ზუსტია ზემოთაღწერილ მეთოდთან შედარებით და იძლევა შესაძლებლობას ანტიბიოტიკის მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცეტრაციის დადგენისა. ამზადებენ ანტიბიოტიკების ორმაგ განზავებებს, რის შემდეგაც თითოეულ განზავებას უმატებენ გამდნარ და 45°C -მდე გაგრილებულ საკვებ აგარს პროპორციით 1:9-სთან. ნარევს კარგად შეურევენ და ჩამოასხავენ პეტრის ფინჯნებზე. ასეთი გზით მომზადებულ ფინჯნებს, რომლებიც შეიცავენ ანტიბიოტიკის განსაზღვრულ კონცენტრაციას, დაყოფენ 20 სექტორად. თითოეული სექტორის აგარიან ზედაპირზე მარყუჟის საშუალებით მოთესავენ სხვადასხვა განზავების გამოსაკვლევი ბაქტეიული კულტურებით. ნათესებს ათავსებენ 37°C -ზე (საკონტროლო ფინჯანში ბაქტერიული ზრდის დასრულებამდე, რომელიც არ შეიცავს ანტიბიოტიკს) რის შემდეგაც კითხულობენ შედეგებს. ანტიბიოტიკის მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცეტრაცია განისაზღვრება ბაქტერიული ზრდის შეჩერებით (კონტროლთან შედარებით), იმ სექტორში, რომელშიც გახსნილია ანტიბიოტიკის უმცირესი რაოდენობა.

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 14

სტერილიზაცია ითვალისწინებს გასასტერილებელ ობიექტებზე ვეგეტატიური და სპორიანი, პათოგენური და არაპათოგენური მიკროორგანიზმების მოსპობას. სტერილიზაციას ახდენენ სხვადასხვა ხერხით: ორთქლით, მშრალი ცხელი ჰაერით, ადუღებით, ულტრაფილტრაციით ამა თუ იმ ხერხის შერჩევას განსაზღვრავს სასტერილიზაციო მიკროფლორის ხარისხი და თვისებები.

<u>ლაბორატორიული ჭურჭლის სტერილიზაცია</u>: სტერილიზაციამდე ჭურჭელს ჯერ რეცხავენ და აშრობენ. პეტრის ფინჯნებს 1-5 ცალის რაოდენობით ქაღალდში გახვეულს სტერილიზაციას უკეთებენ. პასტერის პიპეტებს 3-15 ცალს ახვევენ მკვრივ ქაღალდში, რომელიც რომელიც წინასწარ დაჭრილია 2-2,5სმ სიგანისა და 50-70სმ სიგრძის ზოლებად. ლაბოროტორიულ ჭურჭელს ასტერილებენ: ა)მშრალი ცხელი ჰაერით 150, 160 და 180°C ტემპერატურაზე შესაბამისად 2 საათი, 1 საათსა და 30წუთის განმავლობაში; ბ) ავტოკლავში 1 ატმოსფერული წნევის ქვეშ 20-30წუთის განმავლობაში.

ბამბას, დოლბანდსა და ფილტრის ქაღალდს ასტერილებენ მშრალი წესით ღუმელებში 160°Ñ ტემპერატურაზე 1სთ-ის განმავლობაში ან ავტოკლავში 1 ატმოსფერო წნევის ქვეშ 30წთ-ის განმავლობაში.

რეზინის ნაწარმი (ხელთათმანები, მილები და სხვა), დაბინძურებული მიკრობების ვეგეტატიური ფორმებით უნდა გაასტერილონ ნატრიუმის ჰიდროკარბონატის 2%-იან ხსნარში ადუღებით ან გამდინარე ორთქლით 30 წთ-ის განმავლობაში, სპოროვანი მიკროორგანიზმებით დაბინძურებისას კი ავტოკლავში 1,5-2 ატმოსფერული წნევის ქვეშ 30 ან 20 წუთის განმავლობაში.

<u>სტერილიზაციის სახეები</u>: <u>სტერილიზაცია დუღილით</u>: ამ მეთოდით ასტერილებენ შპრიცებს, წვრილმან ქირურგიულ ინსტრუმენტებს, სასაგნე და საფარ მინებს და სხვა საგნებს. მათ ათავსებენ სტერილიზატორში. წყალს უმატებენ 1-2 %-იან ნატრიუმის ბიკარბონატიან ხსნარს. დუღილი მიმდინარეობს არანაკლებ 30 წუთისა.

<u>სტერილიზაცია გამდინარე ორთქლით</u>: მიმდინარეობს კოხის აპარატში ან ავტოკლავში. მასალას ასტერილებენ 100°C-ზე(ან 80-90°C) 20-30წთ-ის განმავლობაში. შედეგად ბაქტერიათა ვეგეტატიური ფორმები იღუპებიან, სპორები კი ინახებიან და აგრძელებენ ცხოველმყოფელობას. შემდგომი ორჯერადი გაცხელება უზრუნველყოფს მასალის საიმედო სტერილიზაციას.

<u>სტერილიზაცია მშრალი ორთქლით</u>: სტერილიზაცია მიმდინარეობს საშრობ კარადაში (პასტერის ღუმელი). მეთოდი დაფუძნებულია 165-180°C-მდე გაცხელებული ჰაერის ბაქტერიოციდულ მოქმედებაზე. ცხელი ჰაერით ასტერილებენ მინის ჭურჭელს: პეტრის ფინჯნებს, სინჯარებს, პიპეტებს და სხვა.

<u>სტერილიზაცია ორთქლით წნევის ქვეშ</u>: მიმდინარეობს ავტოკლავში. ეს სტერილიზაციის ერთ-ერთი ყველაზე ეფექტური მეთოდია, რომელიც ფართოდ არის გავრცელებული არა მარტო მიკრობიოლოგიურ პრაქტიკაში, არამედ კლინიკურ მედიცინაშიც. საკვები ნიადაგები, გადასახვევი მასალა, თეთრეული სტერილიზდება 1 ატმოსფერულ წნევაზე 15-20 წთ-ში, შაქრიანი საკვები ნიადაგები- 0,5ატმ. 15წთ, ინფიცირებული მასალა სტერილიზდება 1,5-2 ატმ. 20-25 წთ-ში.

ორთქლის მაქსიმალური ტემპერატურა იზომება მაქსიმალური თერმომეტრით, რომელიც მოთავსებულია ავტოკლავში სასერილიზაციო მასალასთან ერთად. ზოგიერთ შემთხვევაში ტემპერატურის ინდიკატორად სარგებლობენ განსაზღვრულ ტემპერატურაზე მლღობადი ქიმიური ნივთიერებით: ბენზონაფტოლი (110°), ბენზოის მჟავა (120°C).

<u>ტინდალიზაცია</u>: დანაწევრებული სტერილიზაციაა 58-56°C რომელიც მიმდინარეობს 5-6 დღის განმავლობაში. ამ მეთოდს იყენებენ ისეთი ნივთიერებების სტერილიზაციისათვის, როგორიცაა სისხლის შრატი, ვიტამინები და ა.შ..

<u>პასტერიზაცია</u>: მოცემული მეთოდი დაფუძნებულია მაღალი ტემპერატურის ანტიბაქტერიულ მოქმედებაზე. ეს მეთოდი ეფექტურია მხოლოდ მიკრობთა ვეგეტატიური ფორმების გასაუვნებლად და არაეფექტურია სპორების შემთხვევაში. მასალის გახურება მიმდინარეობს 50-65°C 15-30წთ ან 70-80°C 5-10წთ. სწრაფი გაციებით. ჩვეულებრივ პასტერიზაციას უტარებენ სასმელებს და საკვებ პროდუქტებს (ღვინო,წვენები, რძე და ა.შ.)

<u>სტერილიზაცია ულტრაიისფერი სხივებით</u>: მეთოდი დაფუძნებულია ულტრაიისფერი სხივების ანტიბაქტერიულ მოქმედებაზე, რომელთა ტალღის სიგრძეა 260-300მკმ. მეთოდი ეფექტურია ატმოსფერული ჰაერის სასტერილიზაციოდ ლაბორატორიულ ბოქსებში ჰაერის სასტერილიზაციოდ, საოპერაციოებში და ა.შ. ე.წ. ბაქტერიციდული ნათურების გამოყენებით.

ლაბორატორიული სამუშაო № 15

1. სამკურნალო საშუალებათა მიკრობიოლოგიური კონტროლის ძირითადი პარამეტრები
2. სამკურნალო საშუალებათა მიკრობიოლოგიური კონტროლის ძირითადი მეთოდები

1. სამკურნალო საშუალებათა მიკრობიოლოგიური კონტროლის პარამეტრები გადმოცემულია სახელმწიფო ფარმაკოპეის მუხლებში – "მიკრობიოლოგიური სისუფთავე" და "სტერილობა". ამ მუხლებში დაფიქსირებული მაჩვენებლები და სიდიდეები ახასიათებენ სამკურნალო საშუალებებს და საზღვრავენ მათი უსაფრთხოების მაჩვენებლებს. ფარმაკოპეაში მოცემული ცხრილები ადგენენ იმ ძირითადი მიკროორგანიზმებისა და მაჩვენებლების დასაშვებ რაოდენობებს, როგორიცაა ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიები, ოქროსფერი სტაფილოკოკები, ჰემოლიზური სტრეპტოკოკები, პათოგენური სოკოები, პსევდომონას ჯგუფის ბაქტერიები, სალმონელები, აგრეთვე აერობულ ბაქტერიათა საერთო მიკრობული მაჩვენებელი. აღნიშნული მაჩვენებლების გამოვლენა სამკურნალო საშუალებათა შემადგენლობაში დასაშვებია მხოლოდ ცხრილებში მოცემული რაოდენობით, ხოლო მაჩვენებლების მომატების შემთხვევაში, ან სხვა პათოგენური ბაქტერიების აღმოჩენისას, ითვლება რომ სამკურნალო პრეპარატის, სუბსტანციის ან დამხმარე მასალის ხარისხი არ შეესაბამება სამკურნალო საშუალების "მიკრობიოლოგიური სისუფთავის" ხარისხის მოთხოვნებს და შესაბამისად იკრძალება მათი წარმოება. დღეისათვის ფარმაკოლოგიურ პრაქტიკაში ხმარებული პრეპარატები დაყოფილია 4 კატეგორიად. <u>პირველ კატეგორიას</u> მიეკუთვნებიან: პრეპარატები პარენტერალური მიღებისათვის, თვალის სამკურნალო პრეპარატები, ღია ჭრილობებზე და დამწვრობის უბნებზე დასადები საშუალებები, და სხვა. მათ მიმართ რეკომენდირებული ნორმაა სტერილობა, ანუ პრეპარატი თავისუფალი უნდა იყოს ნებისმიერი ბაქტერიის არსებობისგან. <u>მეორე კატეგორიაში შედიან:</u> ადგილობრივი მოხმარებისა, ტრანსდერმალური პრეპარატები (დასაშვები ნორმები: აერობულ ბაქტერიათა და სოკოვანი ინფექციების გამომწვევთა ჯამური რაოდენობა – არაუმეტეს 10^2-სა პრეპარატის 1 გრ ან 1 მლ-ში); ცხვირისა და ყურის ღრუებში შესაყვანი პრეპარატები (პრეპარატები უნდა იყვნენ თავისუფალი ენტერობაქტერიებისგან 1 გრ ან 1 მლ-ის ფარგლებში). <u>მესამე კატეგორიაში</u>

შედიან: 3.ა) – შიგნით ან რექტალურად მისაღები პრეპარატები – დამზადებული სინთეზური გზით. მათ მიმართ მოთხოვნები: - აერობული ბაქტერიების საერთო რიცხვი – 10^3 –(1 გრ ან 1 მლ მოცულობაში), სოკოების საერთო რაოდენობა არაუმეტეს 102-სა (1 გრ ან 1 მლ მოცულობაში); ნაწლავის ჩხირის არარსებობა (1გრ ან მლ მოცულობაში). 3.ბ) – სამკურნალო საშუალებები დამზადებული ბუნებრივი წარმოშობის სუბსტანციებიდან (მცენარეული, ცხოველური ან მინერალური). მათ მიმართ მოთხოვნაა – აერობულ ბაქტერიათა საერთო რაოდენობა არაუმეტეს 10^4 (1 გრ ან 1 მლ-ში). ბავშვებისთვის განკუთვნილ სამკურნალო პრეპარატებისათვის დაუშვებელია: აერობული ბაქტერიების საერთო რიცხვი – 500-ზე მეტი, სოკოების საერთო რიცხვი (1 გრ ან 1 მლ-ში) 50-ზე მეტი, ენტერობაქტერიების, ფსევდომონას და ოქროსფერი სტაფილოკოკების არსებობა.
<u>მეოთხე კატეგორიაში</u> შედიან – სამკურნალო ბალახოვანი საშუალებები – ნაყენების ან ნახარშების სახით მომზადებულნი თერმული დამუშავებით ან თერმული დამუშავების გარეშე. პირველ შემთხვევაში – აერობულ ბაქტერიათა დასაშვები საერთო რიცხვია არაუმეტეს 10^7 (1 გრ ან 1 მლ-ში); სოკოების საერთო რაოდენობა – არაუმეტეს 10^5, ნაწლავის ჩხირისა – არაუმეტეს 10^2-სა (1 გრ ან 1 მლ-ში). მეორე შემთხვევაში – ბაქტერიათა საერთო რიცხვი – 10^5, სოკოებისა – არაუმეტეს 10^4, ნაწლავის ჩხირისა და სალმონელას ჯგუფის ბაქტერიების არარსებობა, სხვა ენტერობაქტერიები – არაუმეტეს 100 1 გრ ან 1 მლ რაოდენობაში.

ასეთივე მოთხოვნებია ჩამოყალიბებული სამკურნალო საშუალებათა საწარმოებლად საჭირო სუბსტანციებისა და დამხმარე მასალათა მიმართ (ხორბლისა და სიმინდის ფქვილი, კრახმალი, ტალკი და სხვა).

2. ა) სამკურნალო პრეპარატებში <u>ნაწლავის ჩხირის</u> ჯგუფის ბაქტერიების განსაზღვრა. სამკურნალო პრეპარატის გარკვეული რაოდენობა შეაქვთ 100 მლ ლაქტოზურ ბულიონში (საკვებ ნიადაგში, რომელიც შედგება: ლაქტოზა – 5 გრ, პეპტონი – 8 გრ, გამოხდილი წყალი – 1 ლ. pH –6,9) – ენტერობაქტერიათა წინასწარი გამდიდრების (ზრდის) მიზნით. თუ შესასწავლი სამკურნალო ნივთიერება წარმოადგენს სითხეს, ლაქტოზური ბულიონის რაოდენობას ამცირებენ 90 მლ-მდე. 2-5 სთ-ნი ინკუბაციის შემდეგ (32-35°C ტემპერატურაზე) ჩათესილი სითხის 10 მლ-ს შეავსებენ 100 მლ-მდე პეპტონიანი ბულიონით. შერევის შემდეგ ინკუბაციას უტარებენ 18-24 სთ 32-35°C ტემპერატურაზე. თუ ინკუბაციის შემდგომ ბულიონი არ აიმღვრევა ან ფერი არ შეიცვალა, ითვლება

რომ სამკურნალო პრეპარატი არ შეიცავს ენტერობაქტერიებს. დადებით შემთხვევაში გამოკვლევა გრძელდება. კერძოდ, შესასწავლი სინჯი (შემდვრეული სინჯარიდან) მარყუჟით გადააქვთ ენდოს მყარ ნიადაგზე და ათავსებენ თერმოსტატში 32-35°C-ზე 18-24 სთ. ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიები, როგორც წესი ენდოს ნიადაგზე წარმოქმნიან ჟოლოსფერ კოლონიებს (2–4 მმ-ს ზომის) მეტალისებრი ბზინვარებით. საეჭვო კოლონიებს ღებავენ გრამის წესით და აკვირდებიან მიკროსკოპში. გრამუარყოფითი ბაქტერიების აღმოჩენის შემთხვევაში, მათ გადათესავენ დახრილ აგარზე და კვლავ ათავსებენ თერმოსტატში იგივე პირობებში – მიკრობის სუფთა კულტურის მისაღებად. თუ საბოლოო გამოკვლევების შემდგომ (ტესტი ციტოქრომოქსიდაზე, ინდოლზე და სხვა) გამოსაკვლევ მასალაში აღმოჩნდა გრამუარყოფითი, სპორის არწარმოქმნილი ჩხირები, რომლებიც არ შეიცავენ ციტოქრომოქსიდაზას, წარმოქმნიან ინდოლს, ითვლება, რომ სამკურნალო საშუალება დაბინძურებულია ნაწლავის ჩხირით.

ბ) სამკურნალო პრეპარატებში <u>სალმონელას ჯგუფის</u> ბაქტერიების განსაზღვრა. სალმონელური ბაქტერიული კულტურის 1 მლ შეაქვთ 10 მლ სელენიტურ ნიადაგში, რომელიც ხელს უწყობს მათ ზრდასა და გამრავლებას. 16-18 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ 32-35°C-ზე აკეთებენ გადათესვას ბისმუთ-სულფიდის აგარზე მარყუჟის საშუალებით. ინკუბაცია იგივე ტემპერატურაზე 24 სთ. ასეთ ნიადაგზე სალმონელები როგორც წესი, წარმოქმნიან შავ კოლონიებს მეტალის ბზინვარებით. ასეთ კოლონიებს ღებავენ გრამის წესით და შეისწავლიან მიკროსკოპში. გრამუარყოფითი ჩხირების გამოვლენის შემთხვევაში აგრძელებენ გამოკვლევას სპეციალურ ნიადაგზე (რკინის მარილებიან, შაქრის ნიადაგზე), რისთვისაც მარყუჟის საშუალებით მასალას თესავენ დახრილ ნიადაგზე და ნახევრად თხევად ნიადაგში – "ჩხვლეტით". პარალელურად დგამენ ტესტს ციტოქრომოქსილადაზე. 18-24 სთ ინკუბაციის შემდგომ აკვირდებიან ნიადაგის ფერის შეცვლას. ნიადაგის გაშავება მეტყველებს ნახშირწალბადის წარმოქმნაზე, რაც სალმონელას ჯგუფის ბაქტერიების ტიპიური ნიშანია. მათ არ ახასიათებთ ციტოქრომოქსიდაზური აქტივობა და არ წარმოქმნიან სპორებს.

ლიტერატურა

1. იმნაძე, ფორჩხიძე, ფირცხალაიშვილი-„სამედიცინო მიკრობიოლოგია". 1995წ. თბილისი.
2. ბორისოვი,სახელმძღვანელო ლაბორატორიულ მეცადინეობები-სათვის მიკრობიოლოგიაში,1984წ.
3.კოჩემასოვა, ეფრემოვა, ნაბოკოვი-„ მიკრობიოლოგია"1984წ. მოსკოვი.
4. ბელიაკოვი, იაფაევი- „ ეპიდემიოლოგია.1989წ. მოსკოვი
5. ბელიაკოვი -„ სალმონელოზიები"1976წ. მოსკოვი.
6. ბეილი, სკოტი-„ დიაგნოსტიკური მიკრობიოლოგია" მე-9 გამოც.1994წ.საერთაშ. გამოც.
7. ჟდანოვი, გადამოვიჩი-„ ვირუსოლოგია" 1986წ. მოსკოვი.
8. კოჩემასოვა, ეფრემოვა,რიბაკოვა-„სანიტარული მიკრობიოლოგია და ვირუსოლოგია". 1987წ. მოსკოვი.

სარჩევი

შესავალი ——————————————————————————————————————3

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 1----------4

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 2----------6

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 3----------8

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 4---------- 10

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 5----------12

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 6----------14

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 7----------16

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 8----------20

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 9----------22

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 10----------24

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 11----------26

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 12----------29

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 13 ----------32

ლაბორატორიული მეცადინეობა N 14----------34

ლაბორატორიული მეცადინეობა N15----------36

ლიტერატურა----------41

იბეჭდება ავტორის მიერ წარმოდგენილი სახით

გადაეცა წარმოებას 28.05.2009. ხელმოწერილია დასაბეჭდად 30.06.2009. ქაღალდის ზომა 60X84 1/8. პირობითი ნაბეჭდი თაბახი 2,5. ტირაჟი 100 ეგზ.

საგამომცემლო სახლი „ტექნიკური უნივერსიტეტი“, თბილისი, კოსტავას 77

Verba volant,
scripta manent

ი.მ. „გოჩა დალაქიშვილი“,
ქ. თბილისი, ვარკეთილი 3, კორპ. 333, ბინა 38