

Amaliy mashg'uloti

Mavzu: Gram usulida bo'yash.

1. Darsning maqsadi.

Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini Gram bo'yicha bo'yashni o'rganish.

Kerakli o'quv materiallari: Mikroskop, buyum oynasi, suv, filtr qog'oz, KJ ning sundagi eritmasi bo'lgan Lyugol eritmasi.

2. Darsning vazifasi.

Mashg'ulot davomida surtma preparat tayyorlash, oddiy va murakkab usulda bo'yash. Immersion sistemada mikroskop ostida ko'rishni o'zlashtirib, o'rganib olish lozim.

Umumiy ma'lumot:

Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini Gram bo'yicha differensial bo'yash usuli keng tarqalgandir. Bu usulda bo'yash 1884 yili daniyalik olim X. Gram tomonidan kiritilgan va o'sha davrdan boshlab diagnostika belgisi sifatida ishlatiladi. Bakteriyalar grammusbat (Gram +) va grammanfiy (Gram –) deb farqlanadi. Grammusbat bakteriyalarni gentsianviolet bo'yog'i bilan bo'yab, ba'zi moddalar bilan ishlov berib (protravlivaniye), so'ngra 960 etanol bilan ishlov berilsa binafsha rang saqlanib qoladi. Grammanfiy bakteriyalarda esa, gentsianviolet bilan bo'yalsa ham, etanol ta'sir etganda rangsizlanib qoladi. Ularni qo'shimcha birorta bo'yoq, masalan, fuksin bilan bo'yash mumkin. Shunday qilib, Gram usulida bo'yashning bosqichlarini amalga oshirgandan so'ng, grammusbat bakteriyalar binafsha rangga, grammanfiylari esa qizil rangga bo'yaladi.

Qator mualliflarning tadqiqotlari shuni ko'rsatadiki, Gram + va Gram – bakteriyalar faqatgina bo'yashda farqlanmasdan, balki ba'zi antibiotiklarning (penitsillin) ta'siriga, sulfamid preparatlarining, lizotsimning, proteolitik fermentlarning va boshqalarning ta'sirlariga bo'lgan sezgirliklariga qarab ham farqlanadi. Yana aniqlanishicha Gram + bakteriyalar 1% NaOH da erimaydi. Gram – lar esa to'la erib ketadi.

Hozirgi vaqtda ko'pgina tadqiqotchilar Gram bo'yicha bo'yalgan bakteriyalarning bu xususiyatlarini hujayra devorining molekular qurilishi va kimyoviy tuzilishiga bog'lashmoqda.

Odatda Gram usulida bo'yaladigan hujayralar yosh, ko'pincha bir sutkalik kulturalar bo'ladi, chunki bo'yoqni tutib qolish ma'lum darajada bakteriyaning fiziologiya holatiga ham bog'liq bo'ladi.

Ishning bajarilishi:

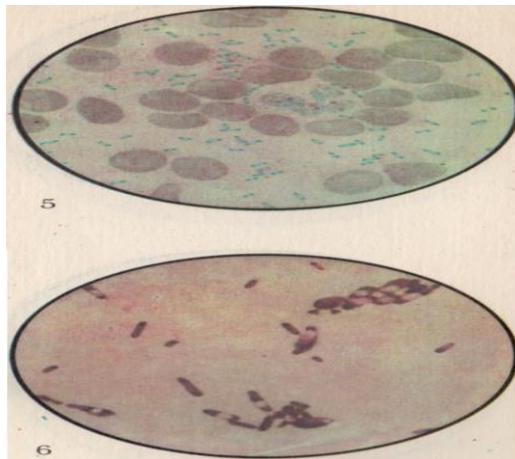
Gram usulida bo'yash quyidagicha bo'ladi. Moysizlantirilgan buyum oynasida 3 ta surtma tayyorlanadi — markazda tekshiriladigan kultura, chapda va o'ngda — nazorat kulturalar. Bitta kultura Gram + va boshqasi Gram – bo'lishi kerak.

I	2	3
O	O	O

1. Achitqilar-Gram +,
2. Pseudomonas melochlora-Gram-,
3. Tadqiqot qilinadigan kul'tura.

Tadqiqot qilinadigan kultura sifatida Petri likopchalarida o'stirilgan havo mikroorganizmlarni ishlatish mumkin.

Surtmalarni juda ham yupqa qilib tayyorlash kerakki, ular oyna yuzasida bir tekis tarqalgan bo'lsinlar. Preparat havoda quritiladi, alangada fiksirlanadi va sovitiladi. So'ngra ikki minut davomida gentsianviolet bilan bo'yaladi. Buning uchun surtmaga gentsianviolet bo'yog'i shimdirilgan qog'oz yopiladi. Bo'yash vaqti tugagandan so'ng bo'yoqli qog'oz olib tashlanadi va suv bilan yuvmasdanoq yodni kaliy yodli suvdagi eritmasi bo'lgan Lyugol eritmasi bilan ikki minut davomida ishlov beriladi. Lyugol eritmasi tashlanib, surtma suv bilan yuviladi va filtr qog'ozi bilan quritiladi. So'ngra esa mas'uliyatli ish qilinadi: preparat qisqa muddat 96 gradusli etanol bilan 30 sekunddan to 1 minutgacha rangsizlantiriladi. Tezda suv bilan yuviladi va qaytadan 2 minut davomida fuksin bo'yog'i bilan bo'yaladi, suv bilan yuvib tashlangandan so'ng filtr qog'ozi bilan quritiladi va immersiya tizimida mikroskopda ko'riladi. Agar preparat to'g'ri bo'yalgan bo'lsa grammusbat mikroorganizmlar (Gram +) binafsha, grammanfiylar (Gram -) qizil rangga bo'yaladi.



5 - тоун таёқчаси (метилен кўки). билан бўялган); 6- ллострий
нгрфринггне (Грим усули билан буялган