

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI QISHLOQ VA
SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI**

SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

BOZOROV X.K., ABDULAKIMOVA A.B.

**Veterinariya virusologiyasidan
o'quv qo'llanma**

Samarqand – 2015

Mualliflar: Dotsent Bozorov X.K., assistent Abdulakimova A.B.
Veterinariya virusologiyasidan o'quv qo'llanma. (Bakalavr 5440100 veterinariya, 511109 kasb ta'limi veterinariya yo'nalishi uchun virusologiya fanidan o'quv qo'llanma). Samarqand, 2015.

Ushbu o'quv qo'llanma veterinariya, zootexniya va qorako'lchilik fakultetining uslubiy kengashida 2015 yil ___ aprel kunidagi ___sonli qarori bilan ko'rib chiqildi.

Mazkur o'quv qo'llanma institut uslubiy kengashining 2015 yil ___ may ___sonli yig'ilishda ko'rib chiqilib, muhokama qilingan va chop etishga ruxsat etilgan.

Taqrizchilar: Veterinariya fanlari doktori, professor
X.S.SALIMOV

Veterinariya fanlari doktori, professor
U.K.IZBASAROV

O'quv qo'llanmada umumiy va xususiy virusologiya bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan. Patologik materiallar, viruslar, o'stirilgan hujayralar bilan ishlash usullari va serologik reaksiyalar yordamida viruslarni differentsiatsiyalash uchun ko'rsatmalar berilgan.

Ayrim virus kasalliklariga laboratoriyada diagnostika qo'yish yo'llari bayon etilgan.

Har bir mavzuga tayyorgarlik ko'rish va o'tkazish borasida uslubiy ko'rsatmalar mavjud. Talabalar bilimni nazorat qilish uchun test savollari tuzilgan.

O'quv qo'llanma O'zbekiston Respublikasi Qishloq va Suv xo'jaligi Respublika o'quv-uslubiyot markazi tomonidan tasdiqlangan dasturga muvofiq yozilgan. Qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining veterinariya fakulteti talabalari va laboratoriya xodimlari uchun mo'ljallangan.

Veterinariya virusologiyasidan o'quv qo'llanma birinchi marta davlat tilida ya'ni lotin yozuvida yozilganligi uchun unda ayrim kamchiliklar uchrab turadi. Buni mualliflar navbatdagi ishlarida albatta bartaraf etadilar. Kitobxonlar bildirgan barcha tanqidiy fikr va mulohazalarni, istak va tilaklarni minnatdorchilik bilan qabul qiladilar.

Mualliflar.

UMUMIY VIRUSOLOGIYA

1-MAVZU

Viruslarning asosiy xususiyatlari, virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalari va xavfsizlik texnikasi

Viruslar – hayvonlar, o'simliklar hamda odamlarda kasallik qo'zg'atadi. Boshqa infeksiyon omillarga o'xshab tarkibida genetik axborotni va navbatma-navbat keladigan nuklein kislotaning molekulalarini (DNK yoki RNK) saqlaydi.

Uning boshqa yuqumli kasallik tarqatuvchilardan farqi shuki, viruslarning o'zida alohida moddalar almashinuvi bo'lmaydi. Shuning uchun hech narsa bilan oziqlanmaydi, nafas olmaydi va o'zidan hech narsa ajratib chiqarmaydi, viruslarda oqsil sintezlovchi, quvvat hosil qiluvchi tizim deyarli yo'q.

Viruslar faqat tirik hujayralarda ko'payadi. Shuning uchun viruslar biologik jihatdan o'zida genetik axborotni olib yuruvchi faqat hayvon va o'simliklarning tirik hujayralarida ko'payishi tufayli genetik axborotni amalga oshiradigan shaklni o'zida ifodalaydi.

Sanoat tipidagi xo'jaliklarda viruslar tomonidan o'tkir respirator va ichak kasalliklari paramiksoviruslar, tomonidan chaqirilib (paramiksoviruslar), infeksiyon rinotraxeit (gerpes-viruslar), virusli diareya (togaviruslar) adenoviruslar va boshqa viruslar tomonidan qo'zg'atiladi.

Ular homilada bo'ladigan patologik jarayonlarga ham sababchidir. Shuningdek, cho'chqalarda o'lat kasalligini chaqiruvchi virus homilaning mumlanib qolishida va o'lik tug'ilishida asosiy sabablardan biri hisoblanadi. Yuqumli rinotraxeit kasalligining virusi homilaning nuqsonli o'sishiga yoki ko'r tug'ilishiga olib keladi.

Viruslarni zararli shish, leykoz, Marek va boshqa kasalliklarni keltirib chiqarishdagi o'rni ham isbotlangan.

Hayvonlarning ko'pchilik virusli kasalliklari (quturish, virusli ensefalomielit, g'ovaksimon ensefalopatiya, skreypi, gripp, gemor-ragik isitma va boshqalar) odamlar uchun ham xavflidir.

Virusli kasalliklarga qarshi muvaffaqiyatli kurashishda laboratoriyada tashxis qo'yish muhim ahamiyatga egadir.

Laboratoriyaning virusologiya bo'limi, ilmiy tekshirish veterinariya stansiyalari virus infeksiyasiga laboratoriya tashxisini qo'yish hayvonlarning virusli kasalliklari bilan kasallanishini epizootiya oralig'i paytida nazorat qilish hamda kasallikdan so'ngi spetsifik va vaksinatsiyadan keyingi virusga qarshi immunitet kuchini hisobga olish, xizmat ko'rsatiladigan regionda virusli va xlamidioz kasalliklarga qarshi kurashish kabi profilaktik tadbir choralarni o'tkazishni tashkil qilishga qaratilgan.

Virusologiya laboratoriyasining tuzilishi ish jarayonidagi bajariladigan vazifasiga qarab belgilanadi. Laboratoriya iloji boricha ikki qavatli yoki bir-biridan alohida, maxsus ajratilgan binoga joylashtiriladi.

Birinchi qavatda alohida shkafli garderoab, sanitariya nazorati, sanitariya bo'linmalari, laboratoriya jihozlari va idishlarni saqlash uchun omborxona, oqovadan kelayotgan suvni qabul qilib zararsizlantirish uchun moslama, sog'lom va virus yuqtirilgan tajriba hayvonlarini saqlash uchun xona, ifloslangan havoni so'rib oluvchi, avtoklav, yuvgich xonalari mavjud bo'ladi.

Ikkinchi qavatda laboratoriya xonasi joylashtiriladi: to'qimalarni, hujayralarni o'stirish, serologik va virusologik tekshirishlar, apparatlar, termostat uchun xonalar va laboratoriya mudiri va xodimlari uchun xona ajratiladi. Uncha katta bo'lmagan diagnostik laboratoriya alohida 5-6 xonadan iborat bo'lishi kerak.

Laboratoriyada alohida yaxshi yoritilgan xona bo'lishi lozim. Viruslar bilan ishlaydigan xona yaxshi yoritilgan va ikki xonadan iborat bo'lishi kerak. Boks oldi xonasi 4 m² va boks 9 m² kam bo'lmasdan bular orasidagi devor shisha to'siq va eshikdan iborat bo'ladi.

Laboratoriyaning boks xonasida ish uchun zarur bo'lgan stol, stul va jihozlar o'rnatiladi. Stollarning usti oynadan, plastikdan yoki zanglamaydigan po'lat bilan qoplanib ish stolining ustiga BUV-30 (bakteritsid uviolavaya) xildagi chiroq o'rnatiladi.

Boksga kiradigan joyda dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilgan gilamcha to'shaladi. Boks oldi xonasida sterillangan xalatlar, durrachalar, yuz yopqichlar, yengil oyoq kiyimlari saqlanib, boksga kirish oldidan kiyiladi.

Ishning bajarilishiga qarab boksdagi termostat, muzlatgich, suv hammomi, sentrifuga va boshqalar joylashtiriladi.

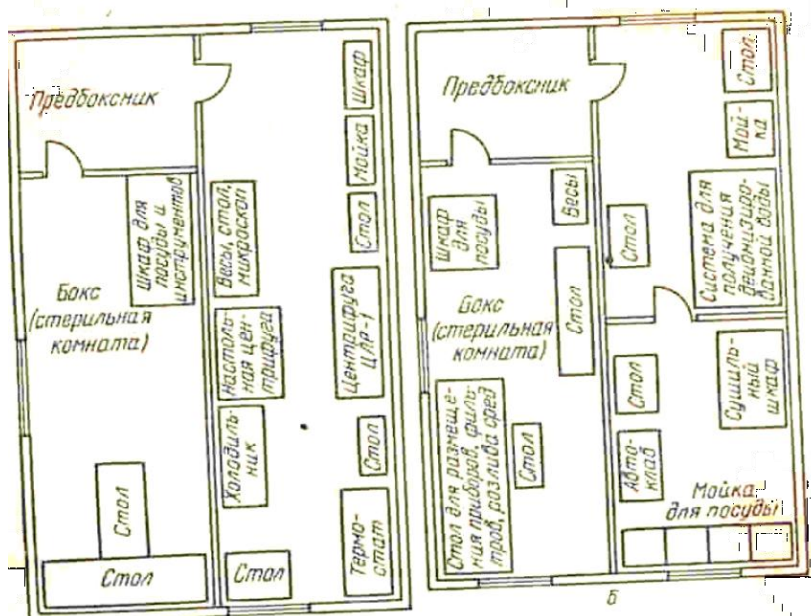
Laboratoriya xonalarining poli qattiq, namni o'tkazmaydigan, dezinfeksiyalovchi moddalarga chidamli (malaxit plitkasi, plastik, linolium) bo'lgan materialdan tayyorlanadi. Devor va shift yuvilishi yengil bo'lgan material – moyli bo'yoq yoki kafel plitkadan, oyna esa chivin va pashshalar yoki boshqa hashoratlar kirmasligi uchun to'r bilan to'siladi.

Laboratoriyaning virusologiya bo'limi sovuq va issiq suv, steril havo beruvchi moslama bilan ta'minlanadi. Tekshirish uchun yuborilgan patologik materialni rasmiylashtirib qabul qiluvchi xonaga bir nechta sinkli temir tunuka qoplangan stol va dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishlar (3%-xloramin, natriy gidrooksidi yoki 5%-fenol) qo'yiladi.

O'lgan hayvonlarga xonada maxsus ishlov berilgandan so'ng yorib ko'rilgach navbatdagi tekshirish uchun material olinadi. Bu ishlov maxsus ajratilgan stol ustida bajariladi. Shu xonada dezinfeksiyalovchi moddalar solingan idishlar, asboblardan: qaychi, pinset, skalpel, kornsang va boshqalarni saqlash uchun

oyndan tayyorlangan shkaf, materialni yig'ishtirib olish uchun steril idishlar hamda maxsus kiyimlarni saqlash uchun shkaf bo'lishi kerak.

Boks xonalari maxsus virusologik tekshirish uchun jihozlanadi. Hujayralarni o'stirish uchun ishlatiladigan boksda virus saqlovchi material bilan ishlash taqiqlanadi. (1-rasm).



1-рasm. Xonalarda jihozlarni va asbob –uskunalarni joylashtirish tasviri.

a) o'stirilgan hujayralar bilan ishlash uchun; b) hujayrani o'stirish, eritma va muhitlarni tayyorlash uchun.

Avtoklav o'rnatilgan xonada idishlar, oziq muhitlar, asbob-uskunalar, jihozlar va yuqumli materiallar zararsizlantiriladi. Ishlash uchun ikkita avtoklav kerak bo'lib, birinchisida toza materiallar ikkinchisida esa infeksiya bilan ifloslangan materiallar zararsizlantiriladi. Infeksiya bilan ifloslangan materialni yig'ish-tirish uchun bak, quritish shkafi, distillyator va steril idishlar saqlanuvchi shkaf bo'lishi kerak.

Infeksiya bilan ifloslangan idish, pipetka va instrumentlar zararsizlantirilgandan so'ng yuviladi. Laboratoriya hayvonlarini saqlash xonasida (vivariy) karantin xonasi alohida, sog'lom hayvonlar va tajriba qo'yib ko'rilgan hayvonlar uchun alohida xona bo'lishi zarur.

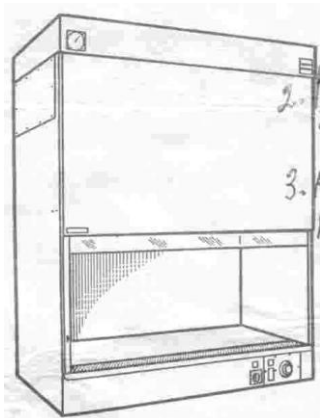
Laboratoriya hayvonlarini saqlovchi kataklarni dezinfeksiyalash, inventarlarni, maxsus kiyimlarni, xashaklarni tayyorlash, yem-xashakni saqlash, o'lgan laboratoriya hayvonlarini yondirish uchun ham alohida xonalar bo'lishi kerak.

Sog'lom va tajriba hayvonlari saqlanadigan bino bir-biridan alohida ajratilgan bo'lib chiqish eshiklari alohida bo'lishi shart.

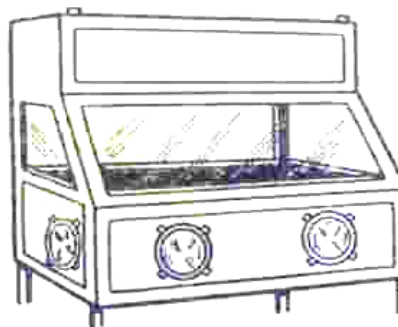
Laboratoriya hayvonlari kataklarda saqlanadi. Har bir laboratoriya hayvoni turgan katakka pasport osib qo'yiladi va vivariyga olib kelingan kuni, massasi ko'rsatilgan bo'ladi. Katakda saqlanayotgan tajriba hayvonlarining pasportiga

virus yuqtirilgan kun, virus saqlovchi materialning turi, ekspertiza nomeri va yuqtirilgan sanasi yozib qo'yiladi. Virusologiya laboratoriyasining barcha turida ham albatta stol ustida o'rnatilgan boks bo'lishi lozim (2-rasm). Eng yaxshisi laminar boks hisoblanadi (3-rasm).

Murakkab bo'lmagan ishlarni bajarish uchun oynadan yasalgan to'siqdan foydalanish mumkin. Bu to'siq stolga o'rnatilib ishlayotgan xodimning yuzini, ish bajarayotgan paytda materialdan alohida ajratib to'sib turadi.



2-rasm.



3-rasm.

Laboratoriyada tekshirish ishlarini olib borish jarayonida xonalarning rejasini tuzish va quyidagi asosiy shartlar ko'zda tutilishi kerak:

- 1.Xodimlarning xavf-xatarsiz ishlashini ta'minlash.
- 2.Tekshirilayotgan materialni mikroflora bilan kontamina-tsiyalanishini bartaraf etish.
- 3.Laboratoriyadan infeksiyani tashqariga chiqib ketmaslik choralarini ko'rish.

Virusologiya laboratoriyasida virus saqlovchi material bilan ishlovchi xodim mazkur talabni yodida saqlashi va ish rejimiga rioya qilishi kerak.

Virusologiya laboratoriyasida ishlash tartibi

Laboratoriyaning barcha xodimlari mehnat xavfsizligiga doir instruktaj o'tkazilib, talabga javob beradigan normaga asosan sanitariya himoya vositalari, maxsus oyoq kiyimi va maxsus kiyim bilan ta'minlanadi.

Virusologiya laboratoriyasining asosiy ish qoidalari quyidagilar:

- 1.Ishlab chiqarish binosiga begona kishilarning, hamda laboratoriya xodimlarining xalatsiz va maxsus oyoq kiyimisiz kirishi mumkin emas;
- 2.Laboratoriyadan tashqariga xalatda va maxsus oyoq kiyimida chiqish yoki xalat ustidan kiyim kiyish, chekish, ishlab chiqarish binosida ovqatlanish va oziq-ovqat mahsulotlarini saqlash taqiqlanadi.

Xodim boksda steril xalatda, yuz yopqichda, shippakda, zarur bo'lgan taqdirda rezina qo'lqopda va ko'zoynak taqib ishlaydi. Oyoq kiyim albatta almashtiriladi. Ish vaqtida so'zlashishga, yurishga yo'l qo'yilmaydi;

3.Laboratoriyaga tekshirish uchun olib kelingan barcha materialda infeksiya bor deb qaraladi. Infeksiya bor deb qaralgan material bilan ishlashda juda ehtiyot bo'lib ish ko'riladi, bankalarni ochayotgan paytda, tashqi tomonidan dezinfeksiyalovchi material surkalib, tagiga kyuveta qo'yiladi;

Bir necha qavat doka 5% xloramin eritmasi bilan namlanib ish stolining ustiga yopib qo'yiladi.

Virus saqlovchi suyuqliklarni quyish, dezinfeksiyalovchi eritma solingan kyuveta ustida bajariladi.

Pipetkalar bilan ishlashda rezina nokchalardan foydalaniladi. Oldin ishlatilgan pipetka, buyum va yopqich oynalar 5% xloramin eritmasi, fenol, lizol yoki sulfat kislotaga botirish yo'li bilan zararsizlantiriladi.

O'z joyida oldindan dezinfeksiya qilinmasdan turib laboratoriya jihozlari, inventarlar, materiallar va boshqa narsalarni laboratoriyadan tashqariga olib chiqish taqiqlanadi;

4.Ish tugagandan so'ng ish joyi tartibga keltirilib, so'ngra to'lasincha dezinfeksiyalanadi. Kelajakda kerak bo'ladigan virus saqlovchi material saqlash uchun muhrlanib muzlatgichga qo'yiladi;

5.Yuqumli materialni saqlovchi idishlarga mustahkam belgi qo'yilishi muhim ahamiyatga ega. Qo'lga kiyilgan qo'lqopni 5% xloramin eritmasi bilan yuvilib, so'ngra qo'lqop yechiladi, ikkinchi bor dezinfeksiyalanadi va yuviladi.

Yuqumli material xalatga, qo'lga, stolga, oyoq kiyimi va boshqalarga tushsa unda laboratoriya mudiriga (o'quv yurtlarida o'qituvchiga) xabar berilib, zudlik bilan uning nazorati ostida dezinfeksiya ishlari o'tkaziladi. Agarda infeksiya yuqqan deb gumonsiralsa, vrachga murojaat qilinadi.

Virusologiya laboratoriyasida ishlash jarayonida barcha xodimlar aseptika va antiseptika qoidalariga qat'iy rioya qilishlari kerak.

Aseptika – mikroorganizm va viruslarning tashqi o'rab turgan muhitdan odam organizmiga hamda tekshirilayotgan materialga tushishining oldini oladigan tadbirlar majmuasi.

Bunda steril instrumentlar va materiallardan foydalanish, xodimlarning qo'lga ishlov berish, sanitariya – gigiena qoida va usullariga alohida e'tibor berish ko'zda tutiladi.

Antiseptika – teri va shilliq pardalarga yoki jarohatlangan joylarga tushgan va yuqumli jarayon chaqiradigan mikroorganizmlar, viruslarni o'ldirishga qaratilgan kompleks tadbirlar.

Antiseptika vositalari sifatida har xil kimyoviy moddalar: 70% - etil spirti, 0,5-3% xloramin eritmasi, 0,1% - kaliy permanganat eritmasi, 0,5-1% formalin eritmasi, metil ko'kinining 1-2% spirtli eritmasi yoki brilliant yashili ishlatiladi.

Dezinfeksiya – kimyoviy moddalar yoki fizikaviy usul bilan odam va hayvonlar uchun patogen bo'lgan mikroorganizm va viruslarni o'ldirish natijasida atrof muhitni va ob'ektlarni zararsizlantirish. Kimyoviy moddalardan (0,1-10%) xlorli ohak eritmasi, formalin, (0,5-5%) xloramin, (3-5%) fenol, (3-5%) lizol, (2-3%) o'yuvchi ishqor va boshqalar qo'llaniladi.

Dezinfeksiyalovchi moddalar va uning konsentratsiyasini tanlash dezinfeksiyalaydigan materialga bog'liq.

Laboratoriyada boksni dezinfeksiyalash uchun ko'pincha formalin bug'i (30-35 ml 40% formaldegid eritmasi 1 m³ havoda), beta propiolakton (1,1 ml 100 m³ havoda) yoki karbol kislotani (haftada bir marta) bug'lantirib va har kuni xloramin yoki o'yuvchi natriy eritmasidan foydalaniladi.

Sterillash – har xil materialdagi virus va mikroorganizmlarni to'lasincha yo'qotish, pushtini kuydirishdir.

Fizikaviy (yuqori harorat bilan ta'sir etish) ul'trabinafsha nurlar bilan nurlantirish, bakterial filtrlar orqali suyuqlikni filtrlash va kimyoviy usul bilan sterillash o'tkaziladi.

Sterillashning fizikaviy usuli:

a)spirt lampasi yoki gorelka alangasida qizdirish. Bu usul cheklangan holda ishlatilib ignalarni, takachi apparatining halqalarini sterillashda foydalaniladi.

b)qaynatib sterillash. Bu usul bilan shprislarni, mayda xirurgik instrumentlarni, buyum va yopqich oynalarni va boshqa predmetlar sterillanadi. Qaynatish davri 30 daqiqadan kam bo'lmasligi kerak, suvni qaynatish nuqtasini ko'tarish va uni yumshatish uchun suvga 2% natriy gidrokarbonat qo'shiladi.

Ammo ushbu usul to'lasincha sterillikni ta'minlamaydi, ba'zi bir viruslar misol uchun gepatit virusi, bakteriyalarning sporalari yashovchanligini saqlab qolishi mumkin.

c)quritish shkafida quruq issiqlik bilan sterillash. Bu usul 165-180°Cgacha qizdirilgan havoning ta'siriga asoslangan quriq issiqlik bilan shisha idishlar sterillanadi;

d)avtoklavda bug'ning bosimi bilan sterillash. Sterillashning bu usuli juda samarali bo'lganligi uchun keng qo'llaniladi.

d)kox apparati yoki avtoklavda oquvchi bug' yordamida 1-1,5 atm bosimda 30 daqiqa davomida, vitamin va uglevodlarni saqlovchi oziq muhitlarni yuqori harorat ta'sirida chidamsiz materiallarni sterillashda ishlatiladi.

e)ul'trabinafsha nurlar bilan sterillash. Ushbu usul ul'trabinafsha nurlarni 260-300 MKM uzun to'lqinda bakteritsid ta'siriga asoslangan. Boksdagi havoni sterillash uchun BUV-15, BUV-30 lampalaridan foydalanamiz. Nurlantirish 1-2 soat davomida o'tkaziladi.

f) bakterial filtrlar orqali suyuqliklarni filtrlash. Bu usul bilan oziq muhitlarni, qon zardobini, vitaminlarni bakteriyalardan tozalanadi, ammo oziq muhit, qon zardobi, vitaminlarni filtrlash yo'li bilan viruslardan tozalab bo'lmaydi.

Sterillashning kimyoviy usuli – bu usulda har xil kimyoviy moddalardan foydalaniladi (antiseptika, dezinfeksiyaga qaralsin).

Laboratoriyalarda viruslarni saqlash, yorliq yopishtirish, hisobga olish

Barcha virusologiya laboratoriyalarida viruslar bilan ishlash uchun yagona tartib o'rnatilgan bo'lib bunda viruslarni saqlash, ro'yxatga olish laboratoriya sharoitida undan foydalanish va chetga chiqarish qonun qoidalari ko'rib chiqilgan bo'ladi.

Probirkadagi, flakondagi yoki boshqa idishlardagi virus saqlovchi materiallarga yorliq yopishtirilgan bo'lib unda qanday virus borligi, shtammni olingan vaqti, passaj nomeri, hajmi va boshqa ma'lumotlar ko'rsatilgan bo'ladi. Yorliqda ko'rsatilgan ma'lumotga laboratoriyadagi jurnalga yozilgan shtamm to'g'ri kelishi kerak.

Virus shtammlari muzlatgich xonada qulflangan, plombalangan yoki muhrlangan holatda saqlanadi.

Ajratilgan virus shtammlari, standart shtammlar bilan birgalikda serologik tekshirilgach solishtirib ko'rish uchun, bir xil sharoitda uzoq maksimal ta'minlangan holda saqlanadi.

Viruslarni konservatsiyalashning asosiy usullari

Viruslarni konservatsiyalashning quyidagi usullari qo'llaniladi:

1) Virus materialni saqlashda (organ yoki to'qimaning bir bo'lagi), ko'pchilik holda glitserinning fiziologik eritmadagi 50% eritmasi ishlatiladi. Bu eritma bakteriostatik ta'sirga ega bo'lib viruslarni yaxshi himoya qiladi. Viruslarni 4⁰C sharoitda bir necha oygacha saqlash mumkin;

2) Ko'pchilik holda viruslar minus 20, minus 30, minus 70⁰C harorat bilan ta'minlangan muzlatgichlarda saqlanadi. Bunday haroratda viruslar tarkibiga himoyalovchi qo'shimchalar qo'shilmasi yuqumlilik xususiyatini juda tez yo'qotadi.

Ma'lumki virus saqlovchi aralashmada oqsil moddasi qancha kam bo'lsa, virusning turoqliligi shuncha kam bo'ladi, shuning uchun toza holdagi viruslar o'zining biologik aktivligini yo'qotadi.

Viruslarni muzlatib saqlashda quyidagi komponentlarning qo'shilishi yaxshi himoya vazifasini o'taydi.

Aktivligi yo'qotilgan qon zardobi, yog'sizlantirilgan sut (10 dan to 30%), jelatina (0,5-1,5%), DMSO (10%) va boshqalar.

Virusni – 196°C (suyuq azot) tezda muzlatib so'ngra saqlash natijasida bir necha oygacha titri pasaymasdan turadi. Viruslar vodorod ionining konsentratsiyasi pH kamayishiga sezgir bo'lib, ularni NaH_2PO_4 yoki KH_2PO_4 fosfatlarni saqlovchi suyuqliklarda muzlatish mumkin emas.

Ammo kislotali muhit juda past muzlash nuqtasiga ega. Na_2HPO_4 yoki K_2HPO_4 ishqoriy reaksiyaga ega.

Viruslarni eritish tezligi uning aktivligiga deyarli ta'sir qilmaydi.

Viruslarni xona haroratida yoki 37°C suv hammomida qaytadan eritish mumkin. Bir turdagi virusni tez-tez eritib va yana qaytadan muzlatishni kamaytirish uchun virus saqlovchi materialni kichik-kichik miqdorda saqlash yoki bir marta titrlashga yetadigan, misol uchun neytrallash reaksiyasini qo'yishga yetadigan qilib saqlash maqsadga muvofiqdir.

3) Vakum sharoitida muzlatilgan holda quritish, liofilizatsiya viruslarni yaxshi konservatsiyalash usulidir. Liofilizatsiyalashni o'tkazish uchun kerakli apparatlar zarur bo'lib, ma'lum bir (virusni turiga bog'liq bo'lgan) to'ldiruvchilar va ayniqsa quritish jarayonini to'lasincha o'tkazish zarur.

Liofilizatsiyalangan virusning barqarorligi faqatgina to'ldiruvchini tanlash bilan bog'liq bo'lmay, balki ampuladagi gazning tarkibiga ham bog'liq. 0,5% kislorod virusni tezda halokatga olib kelib, shu o'rinda 2-3% namlik deyarli ta'sir qilmaydi. Liofilizatni saqlash harorati 4°C dan yuqori bo'lmasligi kerak.

Liofilizatsiya ishlarini liofilizatsiyalash usuli bilan yaxshi tanish bo'lgan tashkilotlarda bajarilgani ma'qul. Viruslar liofilizatsiyalangan holda bir necha yilgacha saqlanishi mumkin. Virusologiya laboratoriyasida quyidagi hujjatlar bo'lishi kerak.

1. Virusologik tekshirish (ekspertiza, qishloq xo'jalik hisob-kitob №13-vet.forma) jurnali.

2. Kasallik yuqtirilgan hayvonlarni qabul qiluvchi jurnal.

3. Viruslarning ajratib olinganligi va yo'q qilib tashlanganligini qayd etish jurnali.

4. Ishlab chiqarish yoki muzey shtammlari harakati hisob-kitob va boshqa tasdiqlangan instruktsiyalarga binoan qayd etish jurnali.

Kafedrada talabalarning virus saqlovchi material bilan ishlash qoidasi va xavfsizlik texnikasi

Virus saqlovchi material bilan ishlashda quyidagi talablarni bajarilishini ta'minlash lozim: viruslarni tashqi muhitga tarqalib ketishiga yo'l qo'ymaslik; begona mikroflora bilan virus saqlovchi materialni ifloslantirmaslik (kontaminatsiya) choralarini ko'rish; shaxsiy xavfsizlikni ta'minlash;

Bu talablarni bajarish uchun quyidagi ish qoidalariga rioya qilinadi:

1. Juda hushyor bo'lib, ixcham kiyinib, tartibga aniq rioya qilish kerak;

2. Garderobda kiyimni almashtirgach, laboratoriyaning xonasiga faqat xalatni kiygan holda kirib, xalatda tashqariga chiqiladi;

3. Ishlaganda tugmasi o'tkazilgan xalat, maxsus bosh kiyimi va dokadan bo'lgan yuzyopqichdan foydalaniladi;

4. Laboratoriyada tozalikka va tartibga qat'iy rioya qilinadi. Ish stolining ustida hech qanday begona narsalar bo'lmasligi kerak. Chekish va ovqat iste'mol qilish taqiqlanadi;

5. Ish uchun instrumentlar va materialni navbatchi talaba kafedraning laborantidan olib, talabalarga tarqatadi;

6. Faqatgina steril instrument va idishlardan foydalaniladi;

7. Probirka, flakon, likopcha va boshqalarni ochish va yopish gorenkaning alangasida bajariladi;

8. Pipetka og'izga olinmaydi;

9. Ishlatilgan instrumentlar, shprislar (ajratilgan holda) sterilizatorga joylashtiriladi va qaynatish natijasida zararsizlan-tiriladi;

10. Ishlatilgan pipetkalar dezinfeksiyalovchi eritma solingan idishga solinib, bir joyga to'planadi;

11. Qattiq va yumshoq chiqindilar (paxta, qog'oz va boshqa) maxsus mo'ljallangan konteynerga solinib so'ngra sterillanadi;

12. Chiqindilarni unitaz va rakovinaga oqizish yoki tashlash taqiqlanadi;

13. Agarda talaba to'satdan virus saqlovchi materialni ustiga tegizsa u holda shu to'g'rida o'qituvchiga xabar berishi va birgalikda ish joyini zararsizlantirishi kerak;

14. Talaba darsni oxirida ish joyini tartibga keltirib, navbatchiga barcha material va asbob-uskunalarini topshirgach qo'lini sovun bilan yaxshilab yuvishi lozim.

Topshiriq

1. Kafedraning virusologiya laboratoriyasi va u yerdagi asosiy asbob-uskunalar bilan tanishish.

2. Virus saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini o'rganish.

Material bilan ta'minlash:

Virusologik tekshirish uchun kerak bo'lgan virusologiya laboratoriyasining xonasi va laboratoriyaning, asbob-uskunolari, stol ustiga o'rnatilgan boks, lyuminessent mikroskop, sentrifuga, sovutgich, magnitli aralashtirgich, termostatlar, spirtovka, shisha idishlar (rezina nokcha, rezinali tiqin tiqilgan probirka, flakonlar, matraslar, petri likopchasi, pipetka) Takachi va Titertek apparati, asosiy reaktivlar va oziq muhitlar; talabalarni virusologiya

laboratoriyasida ishlash jarayonida xavfsizlik texnikasi bo'yicha instruktaj o'tilganligini yozib borish uchun jurnal;

Veterinariya muassasasida ishlash qoidalari to'g'risida tasdiqlangan qo'llanmalar va laboratoriyaning asosiy hujjatlari.

Mashg'ulotning rejasi (2 soat)

- 1.O'qituvchining tushuntirishi.
- 2.Virus saqlovchi materiallar bilan ishlashga bo'lgan asosiy talablar va bu talablarni bajarishga doir qoidalarni daftarga yozib olish.
- 3.Xavfsizlik texnikasi o'tilganligi to'g'risida jurnalga imzo chekish.
- 4.Ko'rsatish: a)laboratoriya va uning asosiy asbob-uskunolari; b)boksda viruslar bilan ishlash uchun ish joyini tashkil qilish; c)xalat, yuz yopqich, maxsus bosh kiyimi, chepchik yoki durracha; g)gorelka alangasida ishlash; d)pipetka, rezina nokcha va steril instrumentlar bilan ishlash; e)dezinfeksiyalovchi eritmalar, chiqindilar solinadigan konteynerdan foydalanish.
- 5.Talabalarni mustaqil ishlashi uchun: a)boksda ishlash; b)pipetka va steril instrumentlar bilan ishlash texnikasini o'rganishga tayyorlash; c)laboratoriyadagi hujjatlarni o'rganish;
- 6.Darsni yakunlash.
- 7.Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

- 1.Hayvonlarning yuqumli kasalliklarida viruslarning qanday o'rni bor?
- 2.Virusologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari va xavfsizlik texnikasi to'g'risida gapiring.
- 3.Viruslarni konservatsiyalashning qaysi usulini bilasiz?
- 4.Laboratoriya amaliyotida viruslarni qaysi yo'l bilan yo'qotish samarali ekanligi haqida gapirib bering.

Uslubiy ko'rsatma

Darsni quyidagicha tashkil qilsa bo'ladi. O'qituvchi reja asosida mavzuni tushuntirgach, talabalar virus materiali bilan ishlash uchun ish joyini tayyorlashlari kerak. Buning uchun ish joyi xloramin eritmasi bilan zararsizlantiriladi. Stol ustida zararsizlantiruvchi eritma solingan (2% xloramin yoki 2% natriy gidroksid eritmasidan), chiqindilar uchun konteyner, spirtovka, steril paxta, tampon, spirt solingan bankachalar, probirkalar uchun shtativ, petri likopchasi, oynaga yozadigan qalam qo'yiladi. So'ngra sterilash uchun asbob-uskunalar tayyorlanib (shpris, igna, pinset), sterilizatorga solib qaynatiladi. Shu vaqtning ichida talabalar pipetka va rezina ballonchalar bilan ishlash yo'llarini o'rganadi. Talabalar ikki

kishidan taqsimlanib, har bir topshiriqni o'zaro almashib o'rganib borishadi. So'ngra steril asboblardan foydalanish yo'llarini o'rganadi.

Laboratoriyadagi hujjatlarni o'rganish uchun veterinariya qonunchiligi, laboratoriyada ishlash qoidalari to'g'risidagi qo'llanmadan foydalanish va mikroorganizmlar bilan ishlashga doir yozilgan ma'lumotlar bilan tanishib chiqishi lozim bo'ladi.

2-MAVZU

Patologik materialni olish va ishlov berish

Laboratoriyada virus kasalliklariga aniq diagnoz qo'yishda eng avvalo patologik materialni to'g'ri olishga, laboratoriyaga o'z vaqtida yuborish, virus saqlovchi materialni tayyorlash sifatiga va tekshirish usuliga etibor berish kerak.

Kasallangan, o'lgan yoki ataylab o'ldirilgan hayvonlardan tekshirish uchun materialni, iloji boricha kasallikning aniq belgilari paydo bo'lgach yoki klinik o'lim, ba'zida o'ldirilgandan so'ng 2-3 soat oralig'ida olish zarur.

Kasallikdan, keyin 1-2 kunlari ichakning bar'erlik roli kamayadi bunda qon tomirlarning o'tkazuvchanligi kuchayadi va ichakdagi floraning dissiminasiyasi sodir bo'ladi. Bulardan tashqari infeksiyon jarayonning davom etishi va ayrim holda chuqurlashib ketishi tufayli va organizmning himoya ta'siri natijasida viruslarning soni kamayib ketishi mumkin.

Virusni ajratib olish uchun patmaterial olinganda o'rganilayotgan infeksiyaning patogenezi (virusning kirish darvozasi, organizmda virusning tarqalishi, uning ko'payish joyi va ajralib chiqish yo'llari)ga e'tibor beriladi. Respirator infeksiyalarda virusni ajratib olish uchun buruntamoq suyuqligi, burun va qizilo'ngachdan surtma, traxeyadan qirtishlangan material va o'lgan hayvonlardan o'pkaning bir bo'lagi olinadi; enteroviruslarda-najas; neyrotrop viruslarda-bosh va orqa miyadan bir bo'lakcha; dermatrop infeksiyada-terining yangi jarohatlangan qismi va boshqalar (1-jadval). Xullas shunday material olinadiki, shu materialda virusning yuqori darajadagi konsentratsiyasi mavjud bo'lishi lozim.

Virusni ajratib olishda xar xil ekskretlar va sekretlar, organning bo'lakchalari, qon, limfa material sifatida xizmat qiladi. Cho'chqalarda qon bo'yintiriq venasidan, dumining uchidan va quloqdan olinadi. Cho'chqalarning ko'zidagi vena chigalidan qon olish juda qulaydir.

Bunda 20 ml. mo'ljallagan "Rekord" shprisidan va N 12-30 ignadan foydalanib suyak orbitasining ichki burchagiga igna kiritiladi va qon olinadi. Virusni ajratib olish uchun fibrinsizlantirilgan qon, distillangan suv bilan 1:1 nisbatida aralashtirilgan qon, yoki qonning alohida elementlaridan (eritrotsitlar, leykotsitlar, plazma, zardob) foydalanish mumkin.

Virusga qarshi antitellolarni uchratish uchun bir turdagi hayvondan 2-3 hafta oraliq'da ikki marta qon olinadi. Har bir olingan zardobning miqdori 5,0 ml kam bo'lmasligi kerak.

1-jadval. Hayvonlarning ayrim virus kasalliklariga diagnostik qo'yish uchun patologik material olish

[illegible]

Davomi

kasallik	Burun suyuqligi	Vesikula, pustula va afta tarkibidan	So'lak	Qon	Fekaliy	Jarohatlangan teridan	Jarohatlangan konjunktivadan	Miya	O'pka	Jigar	Limfa tugunlari	Orqa miya suyuqligi	Taloqdan	Buyrakdan	Ichakning shilliq pardasi	O'smaning bir bo'lagidan	Bronx traxeyaning bir bo'lagidan
Cho'chqalarning afrika o'lati				+					+	+	+		+	+			
Teshen kasalligi					+			+				+			+		
Cho'chqalarning yuqumli gastroenteriti					+										+		
Cho'chqalarning grippi	+					+			+								+
Cho'chqalarning vezikulyar kasalligi		+				+											
Cho'chqalarning vezikulyar ekzantemasi		+				+											
Qo'y va echkilarning kontogiozli ektimasi		+				+	+										
Qo'yning chechagi						+	+										
O'rdakning grippi	+							+	+	+			+				
Tovuqlarning yuqumli laringotraxeiti	+						+		+								+
Tovuqlarning yuqumli bronxiti										+							+
O'rdaklarning virusli gepatiti				+						+			+				
Parrandalarning leykozi				+						+	+		+	+		+	
Marek kasalligi				+						+	+		+	+		+	
N'yukasl kasalligi	+			+	+		+	+	+				+				
Parrandalarning chechagi						+	+							+			

Yuvindi burunning shilliq pardasidan, ko'zdan, halqumning to'ridan, to'g'ri ichakdan parrandalarning kloakasidan steril paxta tampon yordamida yuvib olinib, ularni maxsus suyuqlik qo'shilgan penitsillin flakonchalariga botiriladi. Maxsus suyuqlik o'rnida ko'pincha, Xenks eritmasi yoki hujayralarni o'stirishda ishlatiladigan laktal'bumin gidrolizati, Igla eritmalari penitsillin va streptomitsindan 500, nistatindan 20 birlik 1 ml muhit tarkibiga qo'shilgan holda ishlatiladi.

Oqsilli stabilizatorlardan 0,5%-jelatina eritmasi yoki 0,5-1% buqaning qon zardobi qo'shilgan al'bumin eritmasi ishlatiladi. Ayrim viruslar tezda aktivligini yo'qotmasligi uchun (masalan paragripp virusi) stabilizatorlar qo'shiladi.

Burun, halqumdan material olishda Tomas va Stok tomonidan tayyorlanib moslashtirilgan asbobdan foydalanish mumkin. U diametri 9 mm va uzunligi 30 sm bo'lgan naydan iborat bo'lib ichiga zanglamaydigan sterjen, uchida neylon cho'tkasi bor bo'lgan ichki ingichka naydan iborat.

Asbob burun bo'shlig'ining yo'li (xonaga) yoki xalqumga burun yo'li orqali yuborilgach cho'tka harakatga keltiriladi, asbobni organ ichidan chiqarib olishda nayni ichiga tortib olinadi. So'ngra cho'tkadagi shilliq va hujayralar 2 ml suyuqlik bilan yaxshilab yuvib olinadi.

Og'iz bo'shlig'i yoki so'lak bezlarida jarohatlanish belgilari bo'lsa so'lakni tekshirsa bo'ladi. Og'iz bo'shlig'idan oqib tushayotgan so'lakni tog'ridan-tog'ri probirkaga to'plab olish mumkin.

Agarda so'lak kam ajralayotgan bo'lsa, unda paxtadan tayyorlangan tamponga shimdirilib olib, so'ngra fiziologik eritma quyilgan probirkaga botiriladi va rezina tiqin bilan yopiladi. So'lak ajralishini tezlashtirish uchun hayvonlarning 1kg og'irligiga 0,02-0,05 g hisobida pilokarpin yuborish ham mumkin.

Siydik katetr yordamida olinib, steril idishga yig'iladi. Fekaliy shpatel yoki cho'p yordamida to'g'ri ichakdan olinib, steril penitsillin flakonchalariga joylashtiriladi. Vezikulyar suyuqlikni shpris yoki paster pipetkasi yordamida steril probirkaga to'planadi.

Terining yuzasidagi afta devorlari, po'sloq pinset yordamida olinadi. Orqa miya suyuqligi punksiya qilish orqali olinib, veterinariya amaliyotida kamdan-kam tekshiriladi.

Hayvon o'lgandan so'ng iloji boricha tezda organlarning bir bo'lagi olinadi, chunki ko'pgina virus infeksiyasida o'limdan so'ng favqulodda avtosterilizatsiya bo'lishi tufayli virusni umuman uchratmaslik yoki uni miqdori juda kamayib ketishi natijasida oddiy tekshirish usullari bilan virusni ajratib olish mumkin bo'lmay qoladi.

Materialni tezlik bilan olishga ikkinchi sabab shuki, murdaning bakteriyalar bilan ifloslanishi tez bo'lib, steril ravishda tekshirish uchun material olish mumkin

bo'lmay qoladi. Tajriba sharoitida kasal hayvondan kasallikni agonal davrida o'ldirib yuqumli material olinadi.

Tekshiriladigan namuna bakteriyalar bilan kam ifloslangan bo'lgandagina antibiotiklarni ishlatish natija beradi. Ammo hayvon o'lgandan so'ng to'qimalardagi bir muncha o'zgarishlarni antibiotiklarni ishlatish tufayli bakteriyalarni o'sishidan to'xtatish mumkin bo'lib, zararlangan to'qimadagi zaharli substansiya, metabolitik mahsulotlarni neytrallash mumkin emas. Biroq bunday material bilan hayvonlarda, tovuq homilasida va o'stirilgan hujayralarda tajriba o'tkazish aslo mumkin emas.

Yuqorida aytilgan sabablarga ko'ra tekshirish uchun olingan material iloji boricha steril sharoitda olinishi zarur. Asosan ovqat hazm qilish traktida namuna olayotgan paytda namunaning oziqa qoldiqlari bilan ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik kerak, chunki oziqa tarkibida patogen bo'lmagan viruslar mavjud bo'lib, o'sayotgan hujayraning strukturasini buzilishiga sababchi bo'ladi va diagnostik tekshirish ishlarini qiyinlashtiradi.

Patologik material sifatida organlardan bir bo'lak (kattaligi bir necha kub santimetr keladigan va massasi 10-20g) namuna olinib, ularda:

a) normadan ko'zga sezilarli farqi bo'ladi (shakli, kattaligi, rangi, konsistensiyasi va avvalgiga o'xshamaydigan o'smalar);

b) kasallikni klinik belgisiga asosan o'lim oldidan jarohatlanib, virusni saqlashi mumkin;

c) ko'pchilik hollarda virusni jigar, taloq, o'pka, bosh miya, limfa tugunlari va buyrakda saqlaydi.

Namunani saqlash va transportda tashish.

Virusning aktivligini yo'qotish jarayonini sekinlashtirish uchun olingan namuna tezda virus faolligini saqlashga qodir bo'lgan sharoitda saqlash uchun qo'yiladi. Bunday sharoitni past harorat ta'minlaydi. Buning uchun patmaterial solingan va rezina tiqin bilan yopilgan probirkalar sovutuvchi aralashma solingan termosga joylantiriladi. (4-rasm).

Sovutuvchi aralashma sifatida quruq muzning (qattiq uglekislota) etil spirt bilan aralashmasi (minus 71°C haroratda bir necha kungacha) saqlab turadi. Uch qism og'irlikdagi muz va yoki bir qism og'irlikdagi osh tuzining aralashmasidan ham foydalanish mumkin. Natijasi minus 15-20°C harorat olsa bo'ladi. Muzlatish uchun kimyoviy konservantlardan foydalanish yaxshi natija bermaydi. Shulardan eng yaxshisi toza glitserinning teng miqdordagi 0,85 foiz osh tuzi eritmasi (izotonik eritma bo'lib patmaterial shu aralashmaga joylashtiriladi). Ko'pchilik holda ushbu aralashmani to'qimalarni, parenximatoz organlarni bir bo'lagini konservatsiyalashda ishlatiladi. Virus saqlovchi suyuqlikka, glitserinning qo'shilishi ushbu material hayvonlar, homilalar, o'stirilgan hujayraga yuborilishi mumkin

emas. Glitserinni ishlatish tufayli patologik materialni immuno-fluoressensiya usulida tekshirish mumkin bo'lmasdan qoladi. Shuning uchun patmaterial bilan birgalikda buyum oynasidan foydalanib ushbu materialdan tamg'a tayyorlanadi, fiksatsiyalangan lyuminessent mikroskopida tekshirib ko'rish uchun yuboriladi.

4-rasm. Virus namunalarini joylashtirishning asosiy qoidalari:

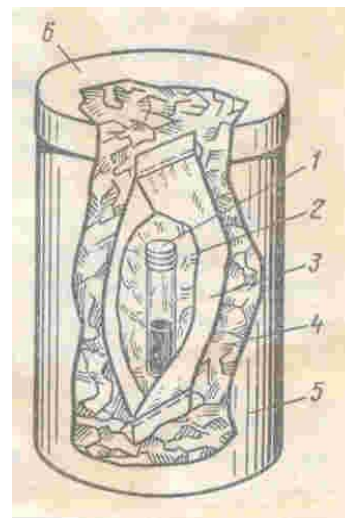
Birinchi idish: 1-Namunani saqlovchi zaharsiz rezina qistirma va buralib mahkamlanadigan tiqin o'rnatilgan idish yoki kavsharlanib yopilgan shisha ampula:

2-ichki joylashtirish: 2-o'ziga singdirib oladigan material. Suyuqlik oqgan holatda singdirib olishga yetadigan miqdordagi papiros qog'oz yoki paxta;

3-Tolasiz leykoplaster bilan to'ldirilib yelimlangan plastik qopcha. Tashqi joylashtirish:

4-urilishga qarshi qo'yilgan qog'oz yoki paxta;

5-Suv o'tkazmaydigan qattiq konteyner; 6-Buraladigan, leykoplaster bilan yelimlanadigan yoki maxsus qisqich bilan o'rnatilib mustahkam yopiladigan qopqoq.



Patmaterialga mustahkam va aniq yorliq yozilgan bo'lib, yozuvni buyum oynasiga yozadigan qalam bilan yozish mumkin emas. Probirka va flakonchalarga leykoplasterdan yorliq yopishtirish va oddiy (grafit) qalam bilan qaysi hayvondan qanday material olganligi ko'rsatilib yozilishi ishonchli hisoblanadi.

Namuna solingan termosga kartondan yoki fanerdan yorliq osilib u erda xo'jalikning nomi, hayvonning turi, materialning xili va sana ko'rsatiladi.

Termos albatta muhrlangan bo'lishi zarur. Patmaterial olingan hayvon to'g'risida to'la ma'lumotga ega bo'lgach, olingan patmaterial yo'llanma qog'ozida xo'jalikning epizootologik ma'lumoti, ehtimolli diagnozi va ko'riladigan chora, kasallikni bartaraf etish uchun (davolash, emlash va boshq). shuningdek, sana, vrachning familiyasi ko'rsatilgan bo'lib maxsus kishi orqali yuboriladi. Laboratoriyaga keltirilgan namunadan virusni ajratish uchun tezlik bilan tekshirish kerak.

Agar qandaydir uzrli sabablarga ko'ra (eksperimental hayvonlar, tovuq homilasi, o'stirilgan hujayralarning yo'qligi tufayli tekshirish kechiktiriladigan bo'lsa, u holda materialni minus 40-70°C saqlash talab qilinadi.) Ko'pchilik viruslar qon tarkibi, orqa miya suyuqligi siydikda, burun-tomoqning qirib va chayib olinganida, yirik shoxli hayvonlarning paragripp, respirator sinsitial viruslari esa

muzlatilganda tezda o'ladi. Shuning uchun ularni ajratib olishda juda tezkorlik bilan tekshirish ishlarini olib borish kerak.

Tekshirilayotgan yuqumli kasallik virus tomonidan chaqirilganligiga ishonch yo'q bo'lib gumonsiralsa, u holda materialning bir qismini bakteriologik va mikologik tekshirish uchun beriladi.

Virus saqlovchi materialni tekshirishga tayyorlash.

Olingan patmaterial laboratoriyada konservantlardan ozod qilinadi, eritiladi, glitserindan yuvib tozalanadi tarozida tortib ko'riladi yoki o'lchanadi. Materialning bir qismi virusologik tekshirish uchun, qolgan qismini esa qo'shimcha tekshirish uchun zarur bo'lib qolishi mumkin bo'lganligi sababli sovutgichga qo'yib saqlanadi. So'ngra yuborilgan materialni tekshirish rejasi tuziladi.

Organ va to'qimani tayyorlash

Virusni organ hujayralaridan va to'qimalaridan ajratib olgach fosfat buferli eritmaga yoki Xenks eritmasiga solinadi. Buning uchun material hujayralardan qaychi bilan qirqib olib maydalangach, steril kvars qumi solingan havochada eziladi. Maydalangan shisha solish mumkin emas, chunki u ishqoriy xususiyatga ega bo'lib virus bo'lakchalarini aktivligini yo'qotishi mumkin.

Maydalangan qum yoki shisha bo'lakchalarida katta yuza mavjud bo'lib ushbu adsorbsiyalanish natijasida virus to'kib tashlanadigan cho'kma tarkibiga o'tib ketadi.

Fosfat bufer yoki Xenks eritmasida ezib tayyorlangan materialdan suspenziya tayyorlanadi. Olingan suspenziyani 1500-3000 ayl/daqiqada 15-daqiqa sentrifugalanadi, cho'kma yuzasidagi suyuqlik so'rib olinib steril flakonchalarga quyilgach, bakterial filtrdan yoki keng spektrda ta'sir qiluvchi antibiotiklardan penitsillin, streptomitsin, nistatin, tetratsiklin, kristallomitsin, qo'shib mikrofloradan ozod qilinadi.

Ushbu maqsadda foydalanilayotgan antibiotiklarning miqdori 1 ml tekshirilayotgan materialning xususiyatiga binoan 100 dan to 1-2 ming birlikkacha yoki undan ham yuqori bo'ishi mumkin.

Antibiotiklarni yuqori miqdorda ishlatishdan saqlanish kerak, chunki o'stirilgan hujayralarda yuqori miqdordagi antibiotiklarning to'planishi hujayrada spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga sabab bo'lishi mumkin.

Qaysi antibiotiklardan qanday miqdorda ishlatish kerakligi, optimal sentrifugalash rejimi ma'lum bir virus kasalligiga diagnos qo'yish uchun chiqarilgan qo'llanmada ko'rsatilgan bo'ladi.

Suspenziyani antibiotiklar bilan 30-60 daqiqa hona haroratidagi ekspozitsiyasidan so'ng materialni bakteriyalar, zambrug'lar, borligiga

bakteriologik nazorat qilish uchun GPA, GPSH, GPJB va Saburo muhitiga ekib ko'riladi, Bakteriologik nazorat natijalariga qarab, manfiy javob olgach virus saqlovchi materialni laboratoriya hayvonlariga, tovuq homilalariga yoki o'stirilgan hujayralarga yuqtirib ko'riladi.

Suspenziya bakteriologik nazorat qilishda musbat natija ko'rsatsa u holda antibiotiklar bilan qo'shimcha ishlov berilib, qaytadan nazorat qilinadi. Suspenziya minus 20-70°C saqlanadi.

Burundan, ko'zdanajralgansuyuqliknitayyorlash

Maxsus eritmaga solingan tamponlar 10-15 daqiqa chayqatiladi, yaxshilab qisiladi, olingan suyuqlik 2-3 ming ayl/daq. 20 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik so'rib olingach, steril probirkalarga solinadi har bir millilitr suyuqlikka penitsillin va streptomitsindan 500-1000 birlik qo'shilib saqlab turiladi. Bakteriologik nazoratdan so'ng yuqtirish uchun foydalaniladi. Hujayra cho'kmalaridan IFR uchun surtmalar tayyorlanadi.

Fekaliydan tayyorlash

Najasdan namuna olishda 1 grammga yaqin munchiq bankaga solinib 10 ml Xenks eritmasi yoki fosfat bufer eritmasidan quyiladi. Material chayqalib so'ngra 2-3 ming ayl/daq. 30 daqiqa gomogenizatsiyalash uchun sentrifugalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik so'rib olingach, penitsillin va streptomitsindan 500-1000 birlik/ml, nistatindan 30 birlik ml va 200 mkg tetratsiklindan har bir millilitr suyuqlik tarkibiga qo'shiladi. 30-60 daqiqali qo'shilishdan so'ng steril ekanligini bilish uchun ekib ko'rilgach, minus 10-20°C muzlatilgan xolda saqlanadi.

Tekshirilayotgan material virus yuqtiriladigan kuni eritilib, yana qaytadan sentrifugalanadi, bundan maqsad muzlatish natijasida hosil bo'lgan cho'kmani ajratib tashlashdan iborat. Ishlatilmagan material muzlatilgan holda tekshirishning oxirigacha saqlab turiladi. Najasni tekshirishni, to'g'ri ichakdan surtma tayyorlash yo'li bilan almashtirilishi ham mumkin, chunki surtma tayyorlanganda kam vaqt sarflanadi.

Siydik 500-1000 birlik/ml antibiotiklar bilan ishlov berilgandan so'ng, yuqtirish uchun ishlatiladi. Teridagi unib chiqishlarda papulaning tarkibi, pufakchalar va pustula, qotgan yaralarni ustki qismi tekshiriladi. Papula va pufaklar 1:5 nisbatdagi fiziologik eritmada suyultiriladi. Yaraning qotgan qismi va po'stlog'i yaxshi ezilgach tuzli eritmaning 1:5-1:10 nisbatida eritilib aralashtirilgach, 2-3 ming ayl/daq. 10-15 daqiqa sentrifugalanadi 200-500 birlik/ml penitsillin va streptomitsin bilan ishlov berilgan material, yuqtirish uchun ishlatiladi.

Qonni tayyorlash - Virusni ajratib olish uchun fibrini ajratilgan yoki antikoagulyant qo'shilgan qon ishlatiladi. Probirkaga 5-6 tomchi geparin

tomizilgach, 5-6 ml qon olinib muzlatiladi. Gemolizlangan qon qaytadan eritilgach, 2-3 ming ayl/daq. 15 daqiqa davomida sentrifugalanadi, so'ngra 100-200 birlik/ml penitsillin va streptomitsindan qo'shilib sterilligi tekshirib ko'rilgach, yuqtirish uchun ishlatiladi. Ushbu maqsad uchun ivigan qonni ishlatsa ham bo'ladi. Havonchada qon yaxshi ezilgach, 1:1, 1:2 nisbatda Xenks eritmasidan qo'shiladi.

Serologik tekshirish uchun qon olish

Serologik diagnoz qo'yish uchun qondan (ikki namuna) kasallikning boshlanishida va kasallikning so'ngida juft zardob olinadi. Birinchi namunani iloji boricha ertaroq, ya'ni kasallikning yashirin davrida yoki kasallikning klinik belgilari paydo bo'lishi bilanoq, ikkinchi namuna tuzalish davrida yoki kasallangandan so'ng 2-3 kun o'tgach olinadi.

Qonni olishda va zardobni tayyorlashda sterillikka e'tibor berilib, antikoagulyantlar yoki konservantlarni qo'shish zardobni antikomplementar qilib qo'yishi, neytrallash reaksiyasida virus aktivligini yo'qotishi, o'stirilgan hujayraga zaharli ta'sir etishi, umuman olganda, sterillikni yo'qolishiga sababchi bo'ladl. 10-15 ml hajmdagi qon steril probirkalarga olinib, rezina tiqin bilan bekitilgach, xona haroratida qon iviguncha tutib turiladi, so'ngra steril shisha tayyoqcha bilan probirka devoridan ajratib chiqiladi va 4°C 18-20 soat sovitgichda saqlanadi.

Qon to'lasincha maksimal retraksiyaga uchragach, zardob so'rib olinadi va har bir millilitr zardobga 100 birlik/ml penitsillin va streptomitsindan qo'shilgach, bakteriologik muhitlarga ekib ko'riladi.

Sovitgichda qonni tindirishdan tashqari probirka devoridan qonni ajratgach, sentrifugalash ham mumkin. Virusologik diagnoz qo'yishda serologik usul juft zardob tekshirishni talab qiladi, shuning uchun birinchi olingan namunani, ikkinchi namunadan olib tekshirguncha saqlab turiladi.

Zardob 4°C da sovitgichda yoki muzlatilgan holda nomerlanish tartibiga qattiq rioya qilgan holda saqlanadi va jurnalda unga tegishli ma'lumotlar yoziladi.

Topshiriq

1.Laboratoriyada tekshirish uchun patologik materialni olish va transport orqali yuborish qoidalari bilan talabalarni tanishtirish.

2.O'lgan yoki ataylab o'ldirilgan hayvonlarning organidan virus saqlovchi suspenziyani tayyorlash.

3.Virusologik tekshirish uchun kasal hayvonlardan yuvindi tayyorlash.

Material bilan ta'minlash:

Steril qaychi va pinset, sterilizator; spirtlampa, steril paxta tamponlari; paxta; spirt-rektifikat; 3-4 ml Xenks eritmasi quyilgan penitsillin flakonchalari; sovutuvchi

aralashma solingan termos; leykoplastr; grafit qalam; kyuveta; parenximatoz organlardan bir bo'lakchadan solingan penitsillin flakonchalar; steril havoncha ezgichi bilan; steril qum; 5 va 10 ml pipetka; steril sentrifuga probirkalari; antibiotiklar; penitsillin va streptomitsin; GPA; GPSH; Xenks yoki Erla eritmasi; sentrifuga.

Mashg'ulotning rejasi.

1. Nazorat uchun savollar.
2. O'qituvchining tushuntirishi.
3. Namoyish: a) kasal va o'lgan hayvonlardan material olish uchun kerak bo'lgan idish va instrumentlar to'plami;
b) buzoq va boshqa hayvonlarning burun shilliq pardasidan, kon'yunktivasidan, to'g'ri ichagidan qirindi, surtmalarni olish usullari;
c) olingan materialga yorliq yopishtirish va transport orqali yuborish.
4. Talabalarning mustaqil ishlashi: a) buzoq, qo'y yoki boshqa hayvonlar nafas yo'llarining shilliq pardalaridan qirindi va surtma olish;
b) fetses (najas) - olish;
c) olingan materialni konservatsiyalash;
d) yorliq yopishtirish;
e) virus saqlovchi to'qimadan virus suspenziyasini tayyorlash;
f) virusologik tekshirish uchun keltirilgan hayvondan qirindi va surtma olish.
5. Mashg'ulotni yakunlash.
6. Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar.

1. Kasal va o'lgan hayvonlardan material olishning umumiy qoidalarini gapirib bering.
2. Patologik material qanday konservatsiyalanadi va transport vositasi orqali yuboriladi?
3. Patologik materialni tekshirishga tayyorlash deganda siz nimani tushunasiz?

Uslubiy qo'llanma.

Ushbu mashg'ulotni quyidagicha o'tkazish mumkin. Birinchi soatda institut klinikasida bo'lgan hayvonlardan material olish usullari namoyish qilinadi va tushintiriladi. Ikkinchi soatda talabalar materialni tekshirishga tayyorlash bilan mashg'ul bo'ladi.

O'lgan hayvonlardan olingan organlarni o'rniga har qanday laboratoriya hayvoni organidan yoki to'qimasidan foydalanilsa bo'ladi.

Hayvon o'ldirilgach, organlaridan bir bo'lagini penitsillin flakonchalarga joylanadi, rezina tiqin bilan yopiladi, yorliq yopishtiriladi, muzlatiladi yoki 50 foiz glitserin eritmasidan quyiladi so'ngra polietilen paketga solinib, sovutuvchi aralashma solingan termosga joylanadi.

Mashg'ulot paytida talabalar ushbu materialdan foydalanib, virus saqlovchi suspenziya tayyorlaydi. Namoyish paytida olingan qirma va surtmalardan ish paytida foydalaniladi. Ushbu mashg'ulotga hayvonlardan material olishni namoyish qilish bilan cheklanadi, qolgan jarayonni talabalar o'quv-ishlab chiqarish amaliyoti paytida bajarib ko'radi.

3- MAVZU

Patologik materialda virionlarni va kiritma tanachalarni uchratish yo'li bilan viruslarni indikatsiyalash

Viruslar bir hujayrali va ko'p hujayrali organizmlarda ko'payadi. Hujayrada viruslar to'plangan holda uchrab, molekulalari bir-biri bilan bog'lanmagan RNK yoki DNK molekulasining bir bo'lagi holatida bo'lib, shu molekulada virus oqsili to'g'risidagi genetik axborot kodlangan bo'ladi.

Ushbu axborotning amalga oshishi tufayli hujayrada virus oqsili sintezlanib, molekulalari to'planadi. Viruslarning molekulalari hujayraning ichida (DNK, RNK, oqsil) bo'lib hujayradan tashqi buzuvchi faktorlardan (fermentlar, kislota, harorat, nurlanish va boshqa) himoyalangan bo'ladi.

Agar virus hujayradan tashqarida bo'lsa tezda emrilib ketadi. Ko'pchilik virus oqsillari strukturali oqsillar deyilib molekulalarning oraliq kuchi ta'sirida o'z-o'zidan bir joyga to'planish (o'z-o'zidan yig'ilish) xususiyatiga ega.

Har bir agregat (yig'ilishida) virus DNK va RNK sining bir molekulasi ishtirok etadi. Ayrim holda hujayradan paydo bo'lgan lipidlar ham ishtirok etadi. Shunday yo'l bilan hosil bo'lgan bo'lakchalar virion deyiladi.

Virionda oqsil molekulalari o'zaro chamalangan bo'lib, ularga proteolitik fermentlar ta'sir qilmaydi. Virusning DNK va RNK molekulalariga, nukleaza yetib bora olmaydi, ammo muhitning fizikaviy faktorlardan himoyalangan har bir alohida virus virionining shakllanishi, ma'lum turga mansub hujayralarda bo'ladi. Virionlarni tinch turuvchi aktiv bo'lmagan viruslar deb qaralsa bo'ladi. Shuning uchun virus, virion shaklida hujayradan tashqarida biologik aktivligini yo'qotmasdan ma'lum bir muddatgacha turishi mumkin. Hususan virion shaklida viruslarning hujayradan-hujayraga, bir organizmdan ikkinchi organizmga migratsiyasi amalga oshadi.

Viruslarning hujayra ichida bo'lishiga qaraganda virion shaklida hayot kechirishi ancha yaxshi o'rganilgan bo'lib, hujayra ichidagi hayoti o'rganishning texnik tomoni bilan bog'liq. Har qaysi virusning virioni shakli kattaligi strukturasi va xususiyati bilan bir-biridan farq qiladi. Ammo virusning virionlarga hos umumiy belgilari va xususiyatlari ham bor.

Har bir virion bitta to'la yoki to'lasincha bo'lmagan DNK va RNK molekulasini saqlab, kapsomer bilan mustahkam o'ralgan va bir yoki ko'p oqsil molekulasidan iboratdir.

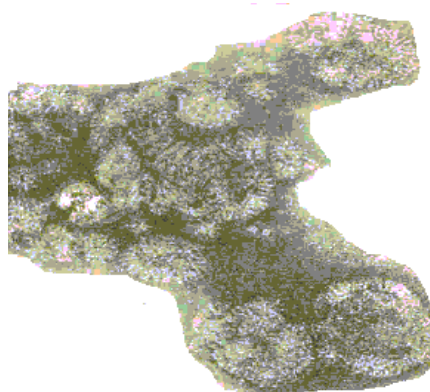
Ma'lum tartibda yig'ilib to'plangan kapsomerlar yig'indisi kapsidni tashkil etadi. Kapsid nuklein kislota bilan birgalikda nukleokapsid (kimyoviy nuqtai nazardan nukleoproteid) deyiladi.

Ayrim viruslarning virionlari nukleokapsiddan tashqari superkapsid qobig'i bilan ham o'ralgan bo'lib, virion hujayradan tashqariga chiqish jarayonida hujayra qobig'ini o'ziga biriktirib olgan bo'ladi. Shunday viruslar ham uchraydiki, ularni virionida yana bir oraliq qobiq (M-qobiq) bo'lib, bu asosan lipid va oqsildan iborat bo'ladi. (5-rasm).

Nuklein kislota molekulasini atrofida kapsomer spiralsimon o'ralgan bo'lib, uzun nukleoproteid ipini hosil qiladi. Bunday virionlar tayoqchasimon (hatto ipsimon), shakliga ega bo'lib superkapsid qobig'i bo'lmaydi, bunga o'simliklarda kasallik chaqiruvchi viruslar misol bo'la oladi. Ammo shunday viruslar ham borki, bularga hayvonlarning ortomiksoviruslari misol bo'la oladi. Bularda nukleoproteid ipi yumaloq shaklda, qobiqqa o'ralgan, virionining shakli esa yumaloq shaklda yoki tuxumsimon, ayrim holda o'qsimon shaklga ega bo'ladi.

Hayvonlarda kasallik chaqiruvchi viruslarning ko'pchiligini virionlari kub shaklidagi simmetriyaga ega bo'lib, ko'p burchakli ko'rinishli ikosaedrni eslatadi.

Ayrim viruslarning virionlari aniq simmetriyaga ega bo'lmay bunday viruslarga T-juft fagi, chechak kasalligining virusi misol bo'la oladi. Cho'psimon yoki kvaziferik (ikosaedr) shaklidagi virionlar uchraydi. Ularning kattaligi 10 dan to 350 nm bo'lib, shuning uchun ham ularni yorug'lik mik-

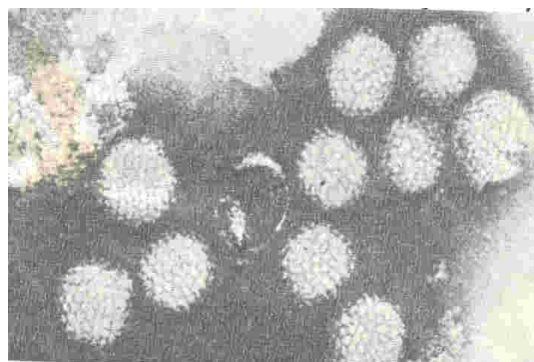


5-rasm. Parrandalardagi gripp virusining virioni (Yu.V.Pantelev bo'yicha)

roskopida ko'rib bo'lmaydi. Yorug'lik mikroskopida 300-400 nm bo'lgan viruslarni ko'rish mumkin. Viruslarning virionini ko'rishda elektron mikroskopdan foydalaniladi. 0,2 - 0,4 nm kattalikdagi ob'ektni farqlash faqat elektron mikroskopga xosdir.

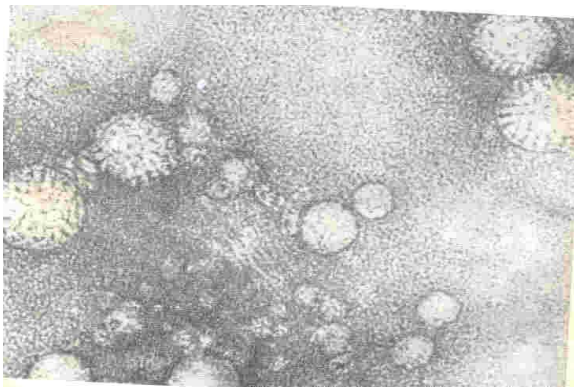


6-Rasm. Vezikulyar stomatit virusining virioni (Xautson va Uitmor bo'yicha).



7-Rasm. Yirik shoxli hayvonlar adenoviruslarining virioni (Yu.V. Pantelev bo'yicha).

Kasal hayvondan olingan materialda elektron mikroskop yordamida virionni ko'rish ushbu materialda virusning borligidan xabar topishga yordam beradi. Ayrim hayvonlarning virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda muhim hisoblanadi. Ammo bu usul texnikaviy murakkab va qimmat turishi, ajratilgan virusni aniq identifikatsiya qila olmasligi mumkin, lekin immunoelektron mikroskopda ko'rish yuqoridagi nuqsonlardan xolidir.



8-Rasm. Buzoqlarda rotaviruslarning virionlari (Yu.V. Pantelev bo'yicha).

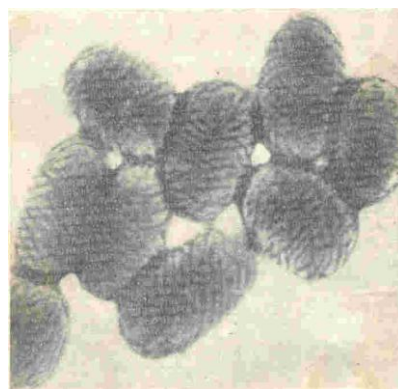


9-Rasm. Parrandalardagi korona-viruslarning virionlari (Yu.V.Pantelev bo'yicha).

Faqat chechak virusi virionlarini yorug'lik mikroskopi yordamida ko'rishga muvassar bo'lamiz. Chunki boshqa viruslarga qaraganda bu virusning virionlari gigant bo'lib kattaligi 300 - 390 nm. Chechak kasalligi virionini yorug'lik mikroskop yordamida uchratish virusoskopiya deyiladi.

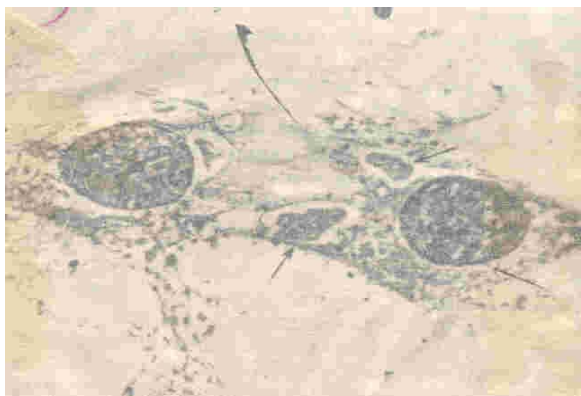
Ko'pgina viruslar hujayralarda reproduksiyalanishi natijasida hujayralarda virus tanachalari kiritmalar hosil qiladi. Ular sitoplazmaga xos bo'lishi yoki yadro ichida hosil bo'lishi mumkin. (11-12 -Rasm).

Tabiatiga qarab ko'p minglab virionlar hujayrada qolib bir joyda to'planishi yoki uning reproduksiya-lanishi tufayli yoki tarkibiga kirmaydirgan ortiqcha oqsil yoki shu elementlarning kombinatsiyasi bo'lishi mumkin. Kiritma-tanacha-larning kattaligi hujayra yadrosining kattaligicha bo'-lib, har bir hujayraga 10-12 donadan to'g'ri keladi.

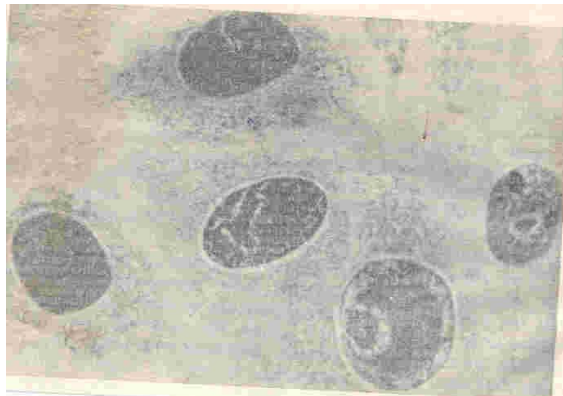


10-Rasm. Tuyalardagi chechak virusining virionlari (Yu.V.Pantelev bo'yicha).

Ayrim viruslar tomonidan hosil qilingan kiritma-tanachalar maxsus nom bilan ataladi.



11-Rasm. SHB hujayralarida Pg-3 virusi hosil qilgan sitoplazmatik kiritma tanachalar (Maer va boshqalar bo'yicha).



12-Rasm. Sb - 15 hujayralarida cho'chqalarning parvovirusi hosil qilgan yadro ichidagi kiritma - tanachalar (Mayru va boshqalar bo'yicha).

Quturish virusi tomonidan nerv hujayralarini sitoplazmasida hosil qilingan tanachalar Babesh-Nergi tanachalar, chechak virusining qushlarning epiteliy hujayralarining sitoplazmasida hosil qilgan tanacha-Bollinger, sut emizuvchilarning chechak kasalligida Gvarneri, go'shtxo'r hayvonlarning o'lat kasalligida - Lentsa, tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida-Zeyfred tanachalari hosil bo'ladi. RNK-saqllovchi viruslar sitoplazmada DNK-saqllovchi viruslar yadroning ichida kiritma tanachalar hosil qiladi.

Viruslarning uncha katta bo'lmagan guruhi sitoplazma hamda yadroning ichida kiritma tanachalar hosil qilishi aniqlangan. Hujayrada har bir virusning o'ziga xos spetsifik kiritma-tanachalari bo'lib foydalanishi va shakli, strukturasi kattaligi u yoki boshqa bo'yoq bilan bo'yalish xususiyatiga ega.

Tekshirilayotgan materialda virusning bo'lishi qaysi virusdan u hosil bo'lganligi, asosan kasal hayvondan olingan materialda kiritma-tanachalarini uchratish o'sha virusning patmaterialda borligidan dalolat beradi. Quturish kasalligida kiritma-tanachalarni uchratish spetsifik hisolanib, qanday infeksiya borligi haqida fikr yuritish mumkin bo'ladi. Ko'pchilik holda kiritma-tanachalarni uchratish diagnostikada qo'shimcha vosita hisoblanadi. Kiritma tanachalarni uchratish uchun hayvon tirik vaqtida yoki o'ldirilgandan so'ng surtma yoki tamg'a tayyorlanib, maxsus usullar bilan bo'yalgach mikroskop yordamida qarab ko'riladi.

Har-xil viruslar tomonidan hosil qilingan kiritma tanachalarni bo'yash ham har xildir. Bo'yashning ko'p retseptlari ishlab chiqilgan. Shulardan eng universali gemotoksilin-eozin bilan bo'yashdir.

Topshiriq

1. Yorug'lik mikroskopi yordamida kiritma-tanachalarni topish va chizish.

- a) Sitoplazmatik kiritma-tanachalarni;
- b) Yadro ichidagi kiritma tanachalarni;
- c) Morozov usulida bo'yalgan chechak virusi virionini;

2. Elektron mikroskopining ishlash prinsipi va tuzulishi bilan tanishish.

3. Har-xil viruslar virionining elektron mikrofotografiyasini sxematik ravishda o'rganish. Material bilan ta'minlash| sitoplazmatik kiritma-tanachalarni saqlovchi bo'yalgan preparatlar; yadro ichida kiritma-tanachalarni saqlovchi bo'yalgan preparatlar; Morozov usulida bo'yalgan chechak vezikulasi yoki follikulasidan tayyorlangan surtma; Mikroskoplar yoritgichi bilan; immersion moy; elektron mikroskop, har-xil viruslar virionining elektron mikrofotografiyasi.

Mashg'ulotning rejasi. (2 soat)

1. Nazorat uchun savollar.

2. O'qituvchining tushuntirishi.

3. Talabalarning mustaqil ishlashi|

a) preparatdagi sitoplazmatik va yadro ichidagi kiritma-tanachalarni topib ko'rish va ularni tasvirini chizish;

b) preparatda chechak virusining elementar tanachalarini topish va ularni tasvirini chizish.

4. Elektron mikroskopning tuzulishi va ishlash tartibini namoyish qilib ko'rsatish.

5. Virionlarning tayyor elektron mikrosurat sxemasini chizish.

6. Mashg'ulotni yakunlash.

7. Navbatdagi mashg'ulotga topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar.

1. Virion nima va uni qanday uchratish mumkin?

2. Har-xil viruslar virionining shakli va strukturasi haqida gapiring.

3. Virus kiritma-tanachalari nima va ularni qanday uchratish mumkin?

4. Virus kiritma-tanachalari va virionlarini uchratishning qanday diagnostik ahamiyati bor?

Uslubiy ko'rsatma

1. Sitoplazmatik kiritma-tanachalari bor preparat bo'lib hayvonning bosh miyasidan bir bo'lakchani parafin blokga solib gistologik kesma tayyorlanadi va bo'yaladi so'ngra Babesh-Negri tanachasi qarab ko'riladi.

Buyum oynasi ustida o'stirilgan va chechak virusi yuqtirilgan har qanday epiteliy hujayrasi gemotoksilin-eozin bilan bo'yab ko'rsatsa ham bo'ladi. Ammo bunday preparatda kiritmalarni izlash juda qiyin.

2. Yadro ichidagi kiritmalarni saqlovchi preparat bo'lib buyum oynasi ustida o'stirilgan Aueski virusi (VGNKI virus vaktsinasi yoki BUK shtamidan tayyorlangan vaktsina) yuqtirilgan va gemotoksilin - eozin bilan bo'yalgan epiteliyal

hujayra o'smasi xizmat qiladi. DNK - saqlovchi viruslar o'stirilgan hujayralarni ham tanlash mumkin.

3.Chechak kasalligida olinib Morozov usulida bo'yalgan surtmadan 1-2 preparatni namoyish qilish bilan cheklansa bo'ladi. So'ngra shunday preparatlardan ko'p miqdorda, chechak kasalligiga diaynoz qo'yish mavzusi o'tiladigan mashg'ulot paytida tayyorlasa bo'ladi va shu preparatlarni kelgusi o'quv yiligacha saqlab qo'yish kerak bo'ladi.

4.Kafedrada elektron mikroskop bo'lmasa u holda elektron mikroskopni tuzilishi ishlashi chizilgan sxemadan foydalanilsa bo'ladi.

5.Darsda har hil virionlarning elektron mikrosuratining to'plami bo'lib har qaysi talabaga kamida bir donadan berilishi kerak. Bunday suratni elektron mikroskop bilan ishlovchi tashkilotga buyurtma berish yo'li bilan tayyorlasa bo'ladi. Birinchi bor foydalanish uchun bosmadan yaxshi chiqqan kitobdan foydalanib suratni ko'paytirish mumkin.

4-MAVZU

Laboratoriya hayvonlari va ularni virusologiyada qo'llanilishi.

Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan foydalanishdan maqsad viruslar tirik hujayralarda ko'payishi sababli virusologiyaning rivojlanish bosqichlarida viruslarni o'stirish, tekshirish uchun maxsus sharoitda o'stirilgan laboratoriya hayvonlari organizmidan foydalanilgan.

Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan quyidagi maqsadlarda foydalaniladi:

- patologik materiallarda virusni uchratishda;
- patologik materialdan virusni birinchi bor ajratishda;
- virus massasini to'plashda;
- laboratoriya sharoitida virusni aktiv xolda saqlashda;
- virusni titrlashda;
- neytrallash reaksiyasida test-ob'ekt sifatida;
- giperimmun zardob olishda.

Eng avvalo, laboratoriya hayvonlaridan potologik materialdagi virusni biologik tajriba qo'yib indikatsiyalashda foydalaniladi. Shu maqsadda patmaterialdan suspenziya tayyorlab laboratoriya hayvonlariga yuqtirilgan va ularning yuqtirilgan materialga qanday reaksiya berishi kuzatilgan.

Virusologiyaning laboratoriya amaliyotida quturish kasalligiga diagnoz qo'yish uchun sichqonlarda, tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligida esa jo'jalarda biologik sinab ko'riladi. Ko'pincha hayvonlar orasida virusning borligi kam spetsifik belgilar berib xususan qaysi virus borligi to'g'risida xulosa qila olmaymiz. Uning turini aniqlash uchun yana tekshirish ishlarini olib borish talab qilinadi.

Ma'lum kasallikda ayrim holda biologik sinab ko'rish spetsifik bo'lgan o'ziga xos klinik ko'rinishda bo'ladi. U vaqtda biologik sinab ko'rish natijasiga asosan patologik material tarkibida virusning borligini bilibgina qolmay balki virusning turi to'g'risida xulosa chiqarsa bo'ladi. Masalan, o'lgan cho'chqa bolasining parenximatoz organidan tayyorlangan suspenziyani quyonning muskul ichiga yuborish va yuborgan joyda chidab bo'lmaydigan qichish, terisi va muskul to'qimasini tishlab, tirnab tashlashi va o'limi Aueski virusi yuqtirilganligidan dalolat beradi. Shunday holda biologik sinab ko'rishning musbat natijasi nafaqat virusning borligi hatto, uning qaysi turga mansubligini aniqlashga ham yordam beradi.

Biologik tekshirib ko'rish ko'pchilik holda spetsifik bo'lgan belgilarni ko'rsatishini tovuq yoki kabutarning chechak virusi yuqtirilganda va tovuqda, qo'zichoqlarda – qo'yning chechak virusi yuqtirilganda va shunga o'xshash tabiiy moil hayvonlarga virus yuqtirilganda o'ziga xos belgilarni beradi.

Kasallik yuqtirilgan hayvondan olingan virus saqlovchi material ajratib olingan virus hisoblanadi. Tajriba yo'li bilan kasallik yuqtirilgan hayvonlar organida virus

to'plangach, indentifikatsiya-lanadi va so'ngra virusga qarshi vaksina ishlab chiqarishda foydalanish mumkin.

Tirik sistema sifatida yangi tug'ilgan quyon bolalaridan virusni to'plash uchun foydalanib oqsilga qarshi lapinizatsiyalangan gidrookis alyumin saponinformal vaksina tayyorlanadi.

Laboratoriyalarda ko'pincha viruslarni uzoq muddatga aktiv holatda saqlab turish talab qilinadi. Virusni tirik sistemalariga, shu jumladan laboratoriya hayvonlarining organizmida passaj qilish yo'li bilan saqlab turiladi va saqlash uchun konservatsiyalovchi sharoitga qo'yiladi.

Har qanday tezlik bilan viruslarni konservatsiyalaganda ham o'z aktivligini yo'qotadi. Qaytadan passaj qilish tufayli virus yangidan tiklanadi. Virusning yangi populyatsiyasini olish uchun sezgir tirik sistemaga yuqtirish passaj deyiladi. Virus bilan ishlaganda ko'pchilik holda virusni yuqumli titrini bilish yoki materialdagi konsentratsiyasini aniqlash kerak. Uni aniqlash uchun har xil suyultirilgan virus saqlovchi material bilan, tekshirilayotgan virusga sezgir bo'lgan tirik sistemaga, shu jumladan, laboratoriya hayvonlariga yuqtirib kuzatiladi. Viruslarni titrlash masalasi 7-mavzuda ko'rib chiqiladi.

Virus infeksiyasiga diagnoz qo'yishda, laboratoriya hayvonlari indikator sifatida qo'llaniladi, shuning uchun virusni antitelo bilan aralashtirib neytrallash reaksiyasi qo'yiladi va giperimmunos zardob olishda foydalaniladi.

Laboratoriya hayvonlarining turlari

Virusologiyada quyonlar, dengiz cho'chqachalari, oq kalamush, oq sichqon, oltin rangli xomyaklar ishlatiladi. lekin sanab o'tilgan turdagi hayvonlarda ayrim viruslarni o'stirish mumkin xalos. Shu maqsad uchun ko'pchilik holda boshqa sezgir hayvonlar: tovuq, kabutar, mushuk, it bolalari va boshqalar ishlatiladi.

Parrandalarning chechak kaslligida –tovuqlarda, qo'ylarning chechak kaslligida-qo'ylarda, cho'chqalarning o'lat kasalligida cho'chqa bolalarida biologik tajriba qo'yib ko'rish tufayli kasallikga diagnoz qo'yiladi.

2-jadval. Virus kasalliklarida biologik tekshirib ko'rish uchun laboratoriya hayvonlaridan foydalanish.

Hayvonning turi	Virusga sezgirligi	Yuqtirish usuli	Virusni ko'payish belgilari
Oq sichqonlar	Quturish	Intraserbal teri ostiga	Shollik, o'lim
	Oqsil	intraserbral	Spastik paraplegiya, shollik, o'lim
	Aueski kasalligi	Teri ostiga interaserbral	Shollik, o'lim
	Vezikulali stomatit	Qorin bo'shlig'iga, interaserbral	Ensefalit alomati, o'lim
	Otlarning gripp kasalligi	Burun ichiga	konyunktivit, toksikoz belgilari, 50% gacha o'lim
	Cho'chqalarning gripp kasalligi	Burun ichiga intraserbral	Shunday, ensefalit alomati o'lim

	Birtuyoqli hayvonlarning Afrika o'lati.	Intraserebral	Ensefalit alomati, o'lim
Oq kalamushlar	Cho'chqalarning gripp kasalligi	Burun ichiga	Nafas olish organlarining jarohatlanishi, o'lim
	Aueski kasalligi	Teri ostiga, burun ichiga	Shollik, o'lim
Dengiz cho'ch-qachalari	Quturish	intraserebral	Shollik, o'lim
	Oqsil	Terining ichiga	Yuborilgan joyda aftalar
	Vezikulali stomatit	Terining ichiga	Vezikulalar, buyrakning, jig-arining jarohatlanishi.
	Otlarning rinopnevmoniyakasalligi	Qorin bo'shlig'iga	Bola tashlash
	Go'shtxo'r hayvonlarning o'lat kasalligi	Teri ostiga, og'iz orqali	Haroratning ko'tarilishi
Quyvonlar	Quturish	Intraserebral, muskil ichiga	Shollik, o'lim
	Oqsil	Teri ostiga	
	Aueski kasalligi	Muskil ichiga, teri ostiga	Klinik alomatlari: ensefalit, qichish, meningial, o'lim shaklida:
	Qo'ylarning kontagiozli ektima kasalligi	Terini shilliq pardalarini tirnash	Yuborilgan joyda chechakka o'xshash jarohatlanish;
	Quyvonlarning miksoma kasalligi	Teri ostiga, teri ichiga	Bosh qismida, genitaliyda shish hosil bo'lishi

Laboratoriya hayvonlariga qo'yiladigan talablar

Virusologiyada tekshirish uchun hayvonlarni guruhlariga ajratgach quyidagi talablarni bajarish shart. Hayvonlar tekshirilayotgan virusga sezgir bo'lishi kerak; ko'pchilik viruslarni o'stirish uchun uni yoshi katta ahamiyatga ega. Bir qancha viruslar yosh, yaqinda tug'ilgan hayvonlar organizmiga yaxshi ko'payadi.

Masalan: quturish va oqsil kasalligida biologik tajriba o'tkazish uchun sut emadigan sichqonlar, parrandalarning laringotraxeit kasalligida-jo'jalardan foydalaniladi. Shu o'rinda shuni aytish kerakki, Aueski kasalligining virusi katta yoshdagi quyonlarga yuqtirilsa, kasallikka xos bo'lgan aniq klinik belgilarning paydo bo'lishiga olib keladi.

Standart sezgirlikka erishish uchun ma'lum yoshdagi va bir xil og'irlikdagi hayvonlar tanlanadi. Sezgirligi jihatdan standart xususiyatga bir necha bor yaqin qarindoshlik yo'li bilan urchitilgan hayvonlar ega bo'ladi. Bunday hayvonlarga genetik bir xillik tufayli, reaksiya yoki boshqa ta'sirlar ham bir xilda ta'sir etadi. Hozirgi paytda yaqin- qarindoshchilik yo'li bilan urchitilgan hayvonlar ilmiy-tekshirish ishlarida ishlatilmoqda.

Laboratoriya hayvonlariga bo'lgan eng muhim talablardan biri ularni sog'lomligidir. Virusologiya laboratoriyasining vivariysiga olib kelinadigan hayvonlar yuqumli kasalliklari bor bo'lmagan xo'jaliklardan olinishi kerak. Oq sichqon, kalamushlar 14 kun va boshqa turdagilari esa 21 kun ajratilgan holda karantinda saqlanadi. Shu davr ichida har kuni hayvonlar klinik tekshiruvdan

o'tkaziladi. Hayvonlarda yuqumli kasallik borligi gumon qilinsa, laboratoriya tekshiruvidan o'tkaziladi. Karantindagi hayvonlar orasida yuqumli kasallik borligi aniqlansa, shu guruhdagi barcha hayvonlar o'ldirilib tashlanadi.

Hayvonlarni haqiqatdan ham to'lasincha sog'lom deb ishonch hosil qilish uchun bunday nazorat qilish yetarli emas. Laboratoriya hayvonlari ichida virus etiologiyasiga xos bo'lgan latent infeksiya tarqalgan bo'lishi mumkin. Bizga malumki latent infeksiya organizmda doimo bo'lib klinik ko'rinish bermaydi. Organizmga yomon ta'sir ko'rsatuvchi omil bo'lsa, qo'zg'atuvchi tezda ko'payishi natijasida kasallikning klinik belgilari namoyon bo'lishi mumkin.

Virusologik tekshirishda laboratoriya hayvonlariga virusni yuqtirish oldindan bor bo'lgan latent infeksiyani o'tkir kechuvchiga aylanishi tufayli kasallikni klinik belgilarini paydo bo'lishiga olib keladi, natijada tajriba o'tkazilayotgan hayvon reaksiya natijasini aniqlashni qiyinlashtiradi.

Laboratoriya hayvonlarining virus etiologiyali latent infeksiyalaridan eng ko'p tarqalgani oq sichqonlarning ekteromeliya kasalligidir. Uning qo'zg'atuvchisi chechak virusi oilasiga mansub. Kasallik oyoqlarning nekrozli yallig'lanishi bilan barcha organlarga tarqalganida, o'pka, jigar va taloqda nekrozli markazlar hosil bo'lishi bilan kechadi. Unga yaqin bo'lgan viruslar laboratoriya hayvonlarida virusli pnevmoniya chaqiradi. Shulardan eng ko'p uchraydigan qo'zg'atuvchisi Senday virusi hisoblanadi. Virusli latent infeksiyaning uchinchi guruhi bu neyroinfeksiya bo'lib, tortishib qolish, falajlik, shollik holatida kechadi. Oq sichqonlarning limfotsitar xoriomeningiti, ensefalomieliti va boshqa laboratoriya hayvonlarini virusi latent ensefalitlaridir. Alohida o'stirilayotgan hayvonlarni latent infeksiyasidan nazorat qilish usuli bir bo'lib, shu maqsadda ataylab o'ldirilgan hayvonlar organidan suspenziya tayyorlangach, maxsus belgilangan usul bilan o'sha xo'jalikda bor bo'lgan hayvonlarga (misol uchun suspenziya miya ichiga interaserebral yo'l bilan) yuboriladi. Shu yo'l bilan passaj qilingan virus latent infeksiya bo'lsa kasallikning o'tkir kechishiga olib keladi.

Hayvonlarni saqlash va parvarish qilish

Laboratoriya hayvonlarini shunday joylashtirish kerakki, organizmning barcha sistemalari fiziologik normaga rioya qilgan holda o'z funksiyasini bajarishni ta'minlashi zarur bo'lib, boshqa tomonlama esa vivariy tashqarisiga infeksiya tarqalib ketishi va o'zaro kasallikni bir biriga yuqishining oldi olingan bo'lishi kerak. Vivariyda hayvonlarning fiziologik talabiga, yoritilishi, haroratiga alohida e'tibor beriladi.

Demak sichqon va kalamushlarga yarim qorong'u va havoning harorati 20°C atrofida, dengiz cho'chqachalari, quyonlar, tovuqlar uchun kunduzgi yorug'lik, harorat 16-23°C, 14-18°C bo'lib, 0°C dan past bo'lib ketmasligi zarur. Joylashtirish

zichligi laboratoriya hayvonlarining 1g massasiga 1 sm² joy to'g'ri kelishi kerak. Hayvonlar o'z vaqtida to'yimli ozuqa va doimo ichadigan suv bilan taminlanadi.

Agar maxsus joy bitta bo'lsa, kasallik yuqtirilgan hayvonlardan sog'lom hayvonlarni alohida saqlab, xonani yig'ishtirish, tozalash, oziqlantirish sog'lom hayvonlar turgan xonadan boshlanadi. Kasallik yuqtirilgan hayvonlarni parvarish qilishda alohida anjomlar va oxurdan foydalaniladi.

Sog'lom va kasallik yuqtirilgan hayvonlarni saqlash uchun ikkita vivariy bo'lgani maqul. Vivariyda ishlovchi xodim ish jarayonida maxsus xalat, rezina qo'lqop, fartuk, suv o'tkazmaydirgan oyoq kiyimi bilan ta'minlanadi. Har kuni vivariydagi inventarlar, dezinfeksiyalanadi, xona esa suv sepilib tozalangandan so'ng dezinfeksiyalovchi modda bilan dezinfeksiyalanadi. Tajriba tugagach, o'lgan hayvonlar pechda yondiriladi yoki avtoklavda zararsizlantiriladi, hayvon turgan kataklar, idishlar dezinfeksiyalanadi.

Laboratoriya hayvonlarini belgilash

Tajribada foydalanilgan hayvonlarni belgilash eng muhim vazifalaridan biridir. Kasallik yuqtirilgan hayvonlar saqlanayotgan kataklarga yozuvli yorliq yopishtiriladi, bunda yuqtirishda ishlatiladigan virus (yoki tekshirilayotgan patologik materialning ekspertiza nomeri) yuqtirilgan hayvonlarning soni, virus yuqtirilgan sanasi agar zarur bo'lsa boshqa ma'lumotlar ham yoziladi.

Har xil turdagi hayvonlarga belgilashning har xil o'ziga xos usuli qo'llaniladi. Yirik hayvonlarga va tovuqlarga bosilib yozilgan nomerli metall yorliq ishlatiladi.

Quyoning qulog'ini ildiz qismiga kiydiriladi, dengiz cho'chqachasining qulog'iga sirg'a o'rnatiladi, tovuqlarning oyog'iga xalqasimon shaklda belgi kiydiriladi. Tajribada kam guruhdagi hayvonlardan qisqa muddatda foydalaniladigan bo'lsa, u holda elkasidagi juni, quyonlarda esa son qismidagi juni qirqilib belgilanadi.

Dengiz cho'chqachalarini farqlashda rangiga e'tibor berilib, ish jurnaliga ham yozib qo'yiladi. Oq sichqonlar, oq kalamushlar alohida oldingi va keyingi barmoq, oyoqlarini kesib tashlash yoli bilan belgilanishi mumkin. Ularning har biri u yoki bu tartib nomeriga to'g'ri keladi. Oldingi oyoqdagi bir sonini, keyingi oyoqdagi esa o'n sonini bildiradi. Lekin ko'pchilik holda pigmentlanmagan junga rangli dog' surtish bilan belgilanadi. Barcha bo'yoqlarga (fuksin eritmasi, brilliant yashili) nisbatan pikrin kiclotasining to'yingan eritmasi eng yaxshi belgilovchi bo'yog hisoblanib, jun va terida uzoq vaqtgacha saqlanib turadi. Rangli belgilar hayvonning ma'lum bir tartib nomeriga qo'yiladi. Agarda hayvon tanasini ko'z oldimizga keltirib uzunasiga uch bo'lakka bo'lsak (chap yonbosh, yelka, o'ng yonbosh) u holda rangli belgi qo'yishni chap tamonning yuqoringi burchagidan, demak kurakchadan boshlaymiz va bu 1 bo'ladi, shu holda keyinga harakatlansak,

chap yonbosh 2, chap son 3, so'ngra esa 4, yelka 5, dumg'aza oblasti 6, o'ng yelka 7, o'ng yonbosh 8, o'ng son 9 bo'ladi. Ikki rangdan foydalanib birinchi rangda birlik, ikkinchi rangda o'nlik son bilan belgilanadi (13-rasm).

Laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun virus yuqtirish usullari

Laboratoriya hayvonlariga viruslarni saqlovchi materialni turli usullar bilan yuqtirsa bo'ladi. Ko'pincha quyidagi yuqtirish usullaridan foydalanamiz: teri ostiga (t/o), teri ichiga (t/i), muskul ichiga (m/i), qorin bo'shlig'iga (q/b), vena ichiga (v/i), burun ichiga (b/i), miya ichiga intraserebral (m/i). Ammo har qanday aniq holatda ham materialni yuqtirishda shu usullardan birini tekshiruvchi tanlashi kerak.

Yuqtirish usulini tanlaganda virusni tropizmi inobatga olinadi. virusning organizmning ma'lum bir turdagi hujayralarida ko'payishi (reproduksiyalanishi), virusning tropizmi deyiladi.

Nerv hujayrasida reproduksiyalanuvchi virusni neyrotrop (masalan quturish kasalligida) teri hujayralarida reproduksiyala-nuvchi virusni dermatrop (masalan, chechak virusi), o'pka hujayralarida pnevmatrop (gripp virusi) viruslar deyiladi. Bir qancha turdagi hujayralarda reproduksiyalanadigan viruslarni politrop (yirik shoxli hayvonlarda yuqumli rinotraxeit kasalligini chaqiruvchi virus nafas olish va ko'payish organlarida reproduksiyalanadi), barcha turdagi hujayralarda reproduksiya-lanuvchi viruslar pantrop viruslar deyiladi.

Pantrop viruslarga itlarda o'lat kasalligini chaqiruvchi virus misol bo'la oladi. Viruslarning tropizmini bilgan holda shu virusga sezgir bo'lgan organ hujayralariga virus materiali yuboriladi. Masalan gripp virusini—burun ichiga, chechak virusini – teri ichiga, quturish virusini- miya ichiga yuboriladi.

Pantrop viruslar vena ichiga yoki qorin pardasiga yuborilgandagina organizmga yaxshi tarqaladi. Tekshiruvchi material tarkibidagi virusning tropizmi to'grisida ma'lumotga ega bo'lmasa bir necha guruh hayvonlarga har xil usulda yuqtiriladi.

Yuboriladigan materialning hajmi va miqdori hayvonning turi, yuborish usuliga ko'pdan ko'p bog'liq.(3-jadval).

3-jadval. Laboratoriya hayvonlariga yuboriladigan materialning eng yuqori miqdori

Yuqtirish usuli	Quyvonlar	Dengiz cho'- chqachalari	Oq kalamushlar	Oq sichqonlar
Teri ichiga	0.1	0.1	0.05	0.02
Teri ostiga	5.0	3.0	3.0	0.5
Muskul ichiga	5.0	2.0	1.0	0.3
Qorin bo'shlig'iga	10.0	5.0	2.0	1.0
Vena ichiga	5.0	2.0	2.0	1.0
Burun ichiga	1.0	0.3	0.1	0.03
Miya ichiga	0.3	0.05	0.03	0.02

Har xil turdagi hayvonlarga u yoki boshqa usul bilan yuqtirishda mahkam tutib turish, fiksatsiyalash usullari, yuqtirish usullari bir xil emas.

Quyونlarning kurakcha suyagi ustidagi terisidan bir qo'l bilan ushlab, ikkinchi qo'l bilan tananing keyingi qismi tutib turiladi. Bunday fiksatsiyalanganda tirnashni oldi olingan bo'ladi.

Dengiz cho'chqachalarini bir qo'l bilan ko'krigidan ikkinchi qo'l bilan keyingi oyoqlari tutib turiladi.

Kalamush va sichqonlarni dumidan ushlab, oldingi oyoqlari bilan metal to'rga, katakga tirmashishi uchun imkoniyat yaratiladi, chap qo'lning ikki barmog'i bilan ensa qismining terisidan ushlab hayvon sekin tortiladi.

Bunday paytda kalamushni kornsang bilan ushlab mustahkam va xafsiz bo'lib, bosh qismini ikkita kornsang yordamida doim uning teri qatlamidan tutiladi. Ikkala kornsangni yordamchi chap qo'li bilan ushlab, dumini tutib turgan kornsangni o'ng qo'l bilan ushlanadi.

Oq sichqonlar yordamchisiz fiksatsiyalanadi, buning uchun Peano pinseti yordamida quloqlar orasidagi teri qatlamidan qistiriladi. Pinset xalqasi, Bunzen shtativi ushlagichiga qistiriladi yoki stativda turgan probirka tutib turuvchi vazifasini bajaradi.

Sichqonlarni bir qo'l bilan ushlab ham fiksatsiyalash mumkin. Material yuboriladigan joy yuqtirishdan oldin yodning 3% spirtli eritmasi bilan yaxshilab ishlov beriladi.

Teri ostiga yuqtirish- Teri qavatini chap qo'lning katta va ko'rsatkich barmoqlari bilan tutib ko'riladi va uning pastki qismiga tanaga parallel holda shprisli igna kiritiladi. Ko'pchilik hayvonlarda inyeksiya joyi bo'lib bo'yin qismi, yonbosh, yelka, kurakcha, itlarda esa ko'krak qafasining yonbosh qismi, dengiz cho'chqachalarida tizza qatlamlari, tovuqlarda bo'yin qismi hisoblanadi.

Terining ichiga yuqtirish- quyonlarda bu usulda virus yuqtirish uchun yonbosh yoki qorin qismidagi juni qirg'iladi, so'ngra terida qolgan junlarni o'tkir olmos yoki ustara bilan qirib tashlanadi.

Tayyorlangan joy spirt va fiziologik eritma bilan artiladi. Shprisli ignani o'tkir burchak ostida terining yuza qismiga bir necha mm kiritiladi. Material teri qavatida yumoloq shishcha hosil bo'lguncha yuboriladi.

Mayda laboratoriya hayvonlariga keyingi oyoqning plantar yuzasidagi teri ichiga material yuboriladi. Chap qo'lning ko'rsatkich barmog'i ustiga fiksatsiyalangach, o'ng qo'l bilan shpris ignani barmoqdan tizza tavon payiga qaratilgan holda terining ichiga yuboriladi.

Dermotrop viruslarni organizmda ko'payishi uchun virus saqlovchi materialni tirnalgan teriga surkaladi (Masalan chechak kasalliginig qo'zg'atuvchisi).

Terining yuzasi terining ichiga yuqtirilganday tayyorlanadi, igna va paster nayining singan bo'laklari bilan limfa suyuqligi tomchilari paydo bo'lguncha bir necha marta tiraladi. So'ngra material tomizilib shpatel, shisha tayoqcha, yoki tish cho'tkasi bilan surkaladi. Yirik hayvonlarning tiralgan terisiga virus yuqtirishda uning yonbosh yoki qorin qismiga, mayda hayvonlarning bel qismiga shu zohotiy oq yuqtiriladi.

Muskil ichiga yuqtirish – bu usulda yuqtirish uchun ko'pincha son muskullari, tovuqlarda esa ko'krakning kattamusku li tanlanadi. Inyeksiya qilingan joy dezinfeksiyalangach shpris bilan ignani teri orqali, teriosti kletchatkasiga, so'ngra tana yuzasiga perpendikulyar holda muskulga kiritib yuqtiriladi. Materialni yuqtirib bo'lgach igna tortib olinib, inyeksiya o'rni qayta dezinfeksiyalanadi.

Qorin bo'shlig'iga yuqtirish – Hayvonlarga bu usulda yuqtirilganda bosh qismini pastga qaratib vertikal holatda fiksatsiyalanadi, chunki qorin bo'shlig'idagi organlar diafragmaga yaqinlashadi va igna kiritilgan vaqtda ichakni jarohatlamaydi (14-rasm).

Tovuqlarning chot qismiga yani to'sh qismining boshi va kloakaning o'rtasidagi oraliqqa kichkina igna bilan qorin devorining terisi teshilib, tananing ko'ndalang o'qiga 45° burchak ostida yuboriladi.

Shu paytda chap qo'l bilan qorin devorining muskullarining inyeksiya qilinadigan tamoni taranglashishi uchun tovuqning oyog'i salgina tortiladi.

Ignani kirganligini qorin devorining qarshiligi sustligidan bilsa bo'ladi.

Vena ichiga yuqtirish - Eng muhimi shpris ichidagi havo pufakchalari, materialning bo'lakchalari tushmasligiga etibor beriladi, chunki havo pufakchalari hayvonda emboliya chaqirib, o'limiga sababchi bo'ladi.

Oq sichqon va kalamushlarga yuqtirishda dumning yonbosh venasidan foydalaniladi.

Yuqtirishdan oldin vena kengayishi uchun ksisol yoki issiq suv shimdirilgan tampon bilan artiladi.

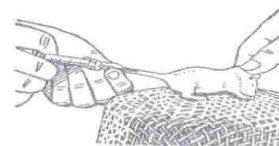
Yordamchi chap qo'li bilan dumning ildizini qisadi, o'ng qo'li bilan hayvonni ensa terisidan tutib fiksatsiyalaydi. Ignani tashqi tomonga qiya qaratib o'tkir burchakostida dumning pastki uchinchi qismiga yuboriladi (15-rasm).

Agar igna tomirga tushsa shpris ichidagi suyuqlik engil oqib kirib, tomir esa uzunasiga oqaradi.

Dumning ildiz qismi bo'shatilgandan so'ng material sekinlik bilan yuboriladi. So'ngra igna chiqarib olinadi va inyeksiya qilingan joy quriq paxta bilan qisib turiladi.



14-rasm qorin pardasi ichiga yuqtirish



15- rasm sichqonning venasi ichiga yuqtirish

Dengiz cho'chqachalarining yuragiga chap tamondan qilichsimon o'simtadan 1 sm yuqoriga qobirg'a oraliq'ga ignani sanchib kiritib virusni qon oqimiga yuborish mumkin. Buning uchun yurak urayotgan joyni aniqlab shprissiz igna kiritiladi. Agar ignada qon ko'rinsa demak igna yurakka tushgan u holda ignaga shpris ulanadi va material ineksiya qilinadi.

Quyonglar venasining ichiga material yuborilganda, quloqning chetki venasi tanlanib junlari oldindan qirib olinadi va igna kiritilish joyini sal pastki qismidan tomir bosib turiladi. Virus saqllovchi material qushlarning qanot osti venasiga yuboriladi.

Burun ichiga yuqtirish-Quyondan tashqari ko'pchilik laboratoriya hayvonlarining burniga material tomizilganda aksa urishi tufayli virus saqllovchi suspenziya nisochib yuboradi.

Nafas olayotganda burunga tomizilgan material, havo bilan ichkariga kiradi. Quyoning narkozsiz bosh qismini orqaga qaratgan holda virus saqllovchi suspenziya tomchilatib yuqtiriladi.

Miyaning ichiga yuqtirish-Chichqonnig bosh terisini chap qo'lning ko'rsatgich barmog'i bilan ensa tamoniga qarab tortiladi. Ko'zning tashqi tamonidan o'tuvchi o'rtanchisagital chiziqdan va unga perpendikulyar bo'lib hosil bo'lgan kvadratning o'rtasidagi nuqtaga cheklovchisi bor shprisli igna 1-2 mm kiritiladi (16-rasm).



16-rasm sichqon miyasining ichiga yuqtirish.



17-rasm quyong miyasining ichiga yuqtirish

Oq kalamushlarning miyasi ichiga trepanatsiyalangan teshik orqali yuqtiriladi, yosh quyong va dengiz cho'chqachalarini ko'z olmasining ustidagi eng yupqa kalla suyagi teshilib yuqtiriladi. Bu holda ham ignani 4-5 mm dan ko'p kirgizmasligi uchun cheklagichi bor ignadan foydalaniladi. Qari hayvon-larning miyasining ichiga trepanatsiyalangan teshik orqali yuqtiriladi.(17-rasm).

Hayvonlarga virus yuqtirilgandan so'ng, xonalarga joylashtirilib, yuqtirilgan virus yoki tekshirilayotgan materialni ekspertiza nomeri, yuqtirilgan hayvonlarning soni, yuqtirilgan vaqti yozilgan yorliq osib qo'yiladi.

Ish jurnalida virusning nomi yoki tekshirilayotgan materialning ekspertiza nomeri, yuqtirilgan hayvonlarning soni va tavsifnomasi, belgisi, yuqtirish usuli va virusning miqdori yozilgan bo'ladi.

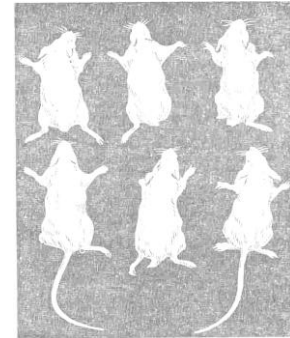
Hayvonlarni kuzatib borib, ularning tashqi tuzilishiga, harakatchanligiga, ovqatlanishi va h.k. e'tibor beriladi. Shuni inobatga olish kerakki yuqtirilgandan so'ng birinchi soatlarda hayvonlarni o'lishi travma yoki tekshirilayotgan materialni zaharli ta'siri tufayli sodir bo'lishi mumkin.

Laboratoriya hayvonlari organizmida viruslarning ko'payish belgilari

Yuqtirilgandan so'ng hayvonlar har kuni nazorat qilinib klinik holati kuzatiladi. Organizmning sezgir hujayralarida viruslarning ko'payishi natijasida hujayralar jarohatlanadi yoki o'ladi. Viruslar bilan jarohatlanish kam miqdorda bo'lsa, u holda organ funksiyasini bajarib turuvchi bir qismi yoki barchasi butunlay buziladi. Bu esa hayvonning ma'lum darajada xulqini, holatini o'zgarishi bilan kechadi.

Respirator trakti hujayralarida virusning reproduksiyalanishi natijasida xirillash, yo'tal, hansirash sodir bo'lsa, miya hujayralarida virusning ko'payishi tufayli tortishib qolish, falajlik, shollik va h.k kuzatiladi.

Organizmning holatida va funksiyasini bajarishida ko'zga ko'rinarli o'zgarishlarning paydo bo'lishi kasallikning klinik belgilari deyiladi. Ularni tajriba uchun yuqtirilish tufayli paydo bo'lishi virus ko'payganligini ko'rsatuvchi dalil hisoblanadi. (18-rasm).



18-rasm sichqonlarning elektromeliya (oyoqlar va dumning tushib qolishi.)

Bunda faqatgina paydo bo'lgan o'ziga xos o'zgarish inobatga olinibgina qolmay, balki yashirin davrning uzoq bo'lishi ma'lum bir kasallikka xos hisoblanadi.

Yashirin davr qo'zg'atuvchining xususiyatiga bog'liq bo'lmay, balki virusning miqdoriga, organizmga kirish yo'liga va organizmning holatiga ham bog'liq.

Biologik tajriba o'tkazish, yani virusni uchratish uchun yuqtirilgan laboratoriya hayvonlarida kasallikning klinik belgilari paydo bo'lishi tekshirilayotgan patmaterialda virus borligidan dalolat beradi.

Misol uchun: charchoqlik, ishtahaning pasayishi, hansirash va h.k belgilar ko'pchilik davrda ajralib turadigan xususiyatga ega bo'lmay, tekshirishning bu bosqichida qaysi turdagi virus kasallik chaqirganligiga yakun yasashning iloji bo'lmaydi.

Uchratilgan virus bunday vaziyatda serologik reaksiya yordamida indentifikatsiyalanadi. Bu holda noma'lum antigen bo'lib, tajriba uchun virus yuqtirilgan hayvonlarni yorib ko'rish tufayli olingan material tarkibidagi virus hisoblanadi. Ayrim holda kasallik o'lim bilan tugaydi, xuddi shunday holat virus yuqtirilgandan so'ng paydo bo'lib virusni organizmida ko'payish belgilaridan biri sanaladi.

Organizmida virus ko'payganligini klinik belgilarining paydo bo'lishi va hayvonning o'lishini ko'rsatibgina qolmay, balki virus yuqishi tufayli o'lgan hujayralar va to'qimalarda ko'rinarli o'zgarishlar paydo bo'lishi ko'riladi.

Patologoanatomik o'zgarishlar rangining o'zgarishi, kattaligi organning shakli va konsistensiyasi hamda normada uchramaydigan kiritmalarning paydo bo'lishida ifodalanadi.

Laboratoriya hayvonlariga yuqtirilganda materialda virusni borligini uchta kasallikning alomati, patologoanatomik o'zgarishlari va o'limi bildiradi. Otdan olingan patologik materialdagi virus, oq sichqonlar organizmida klinik belgilarni osonlikcha paydo qilib ko'paya olmaydi.

Birinchi passajda virusning ayrim bo'laklari o'ziga mos bo'lgan sezgir hujayralarni topsa, bu organ uchun juda oz bo'lib organizmda ko'zga ko'rinarli o'zgarishlar paydo bo'lmaydi. Bunday passaj "ko'r passaj" deb nomlanadi.

Yuqtirilgan organizmda kasallikning belgilari paydo bo'lmasa, ma'lum ikki intervaldan so'ng hayvonlar o'ldiriladi va yorib qaralgach, patologik material olinadi. Bu materialda virus ko'payish natijasida toplangan bo'ladi. Birinchi passajdan olingan material suspenziyasi bilan o'sha turdagi hayvonga yuqtiriladi.

Bu vaqtda birinchi passajga nisbatan ko'proq virus bo'lakchalari organizmga tushib shunday sharoitda ko'paya boshlaydi. Lekin ikkinchi passajda ham virus yuqumli miqdorgacha to'planmay ko'zga ko'rinarli o'zgarish chaqirmasligi mumkin. U holda ikkinchi passaj bo'ladi.

Yuqoridagilarga asoslanib, uchinchi passaj o'tkaziladi. Kasallikning belgilari paydo bo'lishi tekshirilayotgan materialda virus borligidan dalolat beradi. Shunday javob reaksiyasini bergan hayvondan olingan virus saqlovchi materiall ajratib olingan virus hisoblanadi. Virusni uchratish uchun laboratoriyaning boshqa tirik sistemalarida yuqoridagi nuqtai nazarga asoslanib biologik tajriba qo'yib ko'riladi. Viruslarni uchratishda va ajratib olishda tabiiy moyil hayvonlar ishlatiladi. Chunki ular oldindan moslashtirishga muxtoj bo'lmay, birinchi passajdayoq ma'lum belgilarni paydo qiladi.

Laboratoriya hayvonlarini yorib ko'rish

Tajriba uchun virus yuqtirilgan hayvonlarda patologo – anatomik o'zgarishlarni ko'rish va virus saqlovchi materialni olish uchun yorib ko'riladi. Organ va to'qimalar hayvon tiriklik paytida shaxsan ichaklardagi shilliq pardalar ustidagi mikroflora bilan ifloslanmasligi uchun o'lgandan so'ng shu zahotiyoq yorib ko'riladi.

Agar virus yuqtirilgan hayvon o'lmasa, u holda kasallik alomatlari to'lasincha paydo bo'lgan vaqtda, agar alomatlar paydo bo'lmasa yuqtirilgandan 8-10 kun o'tgach ataylab – o'ldiriladi. Hayvonlarni o'ldirish uchun ko'p miqdorda narkoz qilish, mayda hayvonlarning orqa miyasini uzish mumkin. Buning uchun o'ng qo'l bilan hayvonning gavdasidan ya'ni ensasidan, chap qo'l bilan dumidan tutiladi tez va qisqa harakat qilinib, ipni uzganday tortiladi. Boshini kesib o'ldirish (dekapitatsiya) oqilona usul emas.

Yorib ko'rish qulay bo'lishi uchun hayvonning gavdasi fiksatsiyalanadi. Katta hayvonlarni maxsus ochish uchun mo'ljallangan stollar yoki oyoq va boshni

fiksatsiyalash uchun taxtadan yasalgan moslamadan foydalaniladi. Mayda hayvonlarni eritilgan parafin solib qotirilgan kyuvetada fiksatsiyalanadi.

Fiksatsiyalash uchun in'eksion igna yoki bir sterjenli to'g'nog'ichdan foydalanamiz. Yorib ko'rish uchun steril instrumentlar ishlatiladi.

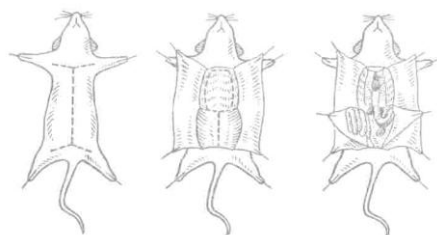
Hayvon yelka tomoni bilan yotqizilib, oldingi va keyingi oyoqlari fiksatsiyalangach qorin va ko'krak bo'shlig'i yorib ko'riladi. Kesib ochiladigan joydagi juniga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi. Mayda hayvonlarni yorib ko'rish uchun dumidan ushlab dezinfeksiyalovchi eritmaga to'lasincha botirib olinadi. Terini kesish tos suyagi qismidagi oq liniyadan boshlanib bo'ynigacha davom ettiriladi. Bu jarayonda qorin devorlarini kesib qo'ymaslik uchun chap qo'ldagi pinset yordamida teri tortilib tos suyagi ustidan ko'ndalangiga kesiladi.

Hosil bo'lgan teshikka qaychining bir uchi kiritilib hayvonning to'bo'ynigacha kesib so'ngra alohida-alohida to'rtala oyoqlarigacha kesib chiqiladi. O'tmas usulda shkafning eshigini ikki tomonga ochgandek, terisidan ajratiladi. Kesilgan teri bo'lakchalari yuqorigi va pastki tomondan to'g'nog'ich bilan fiksatsiyalanadi.

Instrumentlar boshqasiga almashtirilgach, qorin bo'shlig'i ochiladi. Buning uchun qorin bo'shlig'i devori diagfragmasi tagidan boshlab oq liniya bo'ylab tos suyagigacha kesiladi. Qorin bo'shlig'ining devor burchaklaridan tortgan holda chetki qismga fiksatsiyalanadi.

Virus saqlovchi material sifatida qorin bo'shlig'idan (mayda hayvonlardan butunlay organ) jigar, taloq, buyrak, qatqorin, limfa tugunlari, patologoanotomik o'zgarishlar bo'lsa ichakning bir qismidan ham olinadi. Ko'krak bo'shlig'ini ochishda uning qattiq devordan iborat ekanligi inobatga olinadi. Bu bo'shliqdagi organlarga tushish uchun bu yerdagi "Qopqoqni" olish kerak. Buning uchun qobirg'alar ko'ndalangiga qirqilib to'sh suyagi ham birgalikda olib tashlanadi (19, 20-rasm).

Hayvonlar qorin tomoni bilan yotqizilib o'rnashtirilgach kalla suyagi va bo'yniga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi. Gavda o'qiga perpendikulyar holda quloq orqasidan boshlab to chap va o'ng ko'zgacha kesiladi. Teri, quloqlar bilan birgalikda shilib



19-rasm. Qorin va ko'krak bo'shliqlarini ochish tartibi.

olinib bosh suyagi yalong'ochlanib, oldingi qismga tashlanadi. Qaychining bir uchini bosh suyagining katta teshigiga keltirib suyaklarning chap va o'ng tomonlariga qarab kesiladi.



20-rasm. Bosh suyagi bo'shliqlarini ochish tartibi.

So'ngra ko'z oralig'idagi suyak qirqilib, barcha qirqilgan joy ajratib olinadi. Agarda bosh suyagi qalin bo'lsa, yuqoridagi ko'rsatma asosida

arralanadi. Yumshoq surkalib ketadigan konsistensiyaga ega bo'lgan hayvonlarning miyasi, bosh suyagining asosi qaychining uchi bilan ko'tarilib bosh miya nervlari qirqilgach, ajratib olinadi.

Virus saqlovchi materialga asosiy talab shundan iboratki u o'zining tarkibida maksimal holda virusni saqlashi kerak, bu esa virusning tropizmini belgilaydi. Ma'lum bir turdagi hujayralarda ularning ko'payishi hayvonlarning o'sha organida virus ularning to'planishidan dalolat beradi. Hayvon yorib ko'rilgach, qaysi organlarida patologoanatomik o'zgarishlar borligiga qaraladi va o'sha joyda virusni saqlashi mumkin deb oldindan aytiladi. O'zgarishga uchragan organlardan virus saqlovchi material sifatida foydalaniladi. Shu bilan birgalikda, ushbu maqsadda zararlangan organlarning regionar limfa tugunlaridan ham olinadi.

Pnevmotrop viruslar yuqtirilgan hayvonlardan virus saqlovchi material sifatida o'pka, o'pka oralig'i limfa tugunlari, traxeyadan olinadi.

Visserotrop viruslar qorin bo'shlig'idagi parenximotor organlardan, jigar, taloq, qatqorin limfa tugunlari va ichak devorlarida to'planadi.

Neyrotrop viruslarni tekshirganda virus saqlovchi material bosh miyadan agar kerak bo'lsa orqa miyadan ham olinadi.

Har qaysi olingan materialni ikki qismga ajratib, alohida-alohida steril probirkalarga joylashtiriladi va rezina tiqin bilan bektiladi. Birinchi probirkaga joylashtirilgan patologik material virusologik tekshirish uchun mo'ljallangan bo'lsa, ikkinchi probirkadagi to'qima gistologik tekshirish uchun mo'ljallangan bo'ladi. Shuning uchun bu probirkaga kerakli fiksatoridan qo'shiladi. Ma'lum bir infeksiyada virusni mikroskopik usulda uchratish uchun tekshirish ishlari olib boriladi. Virusni yorug'lik, lyuminessent mikroskopda ko'rish kerak bo'lsa, virus saqlovchi organlardan surtma va tamg'alar tayyorlanadi.

Virusga xos spetsifik o'zgarishlar organlarning har xil bo'limlarida joylashgan bo'lishi mumkin. Masalan, quturish kasalligida miyadan tamg'a quyidagicha tayyorlanadi. Mayda hayvonlarning bosh suyagi ochilgandan so'ng, miya strukturasini buzmasdan (10x10) kattalikdagi filtr qog'ozning ustiga qo'yiladi. Bu yerda u mustahkam fiksatsiyalanadi. Ko'z uchun ishlatiladigan qaychi bilan vertikal holatda miyaning bir qismi kesilib, yonbosh tomondagi qog'oz ustiga qo'yiladi.

So'ngra miyaning qolgan qismini kesib, avvalgi kesilgan miya turgan qog'oz ustiga navbatma-navbat joylashtiriladi.

Chap qo'ldagi qog'ozga fiksatsiyalangan miyani bir bo'lagidan olib o'ng qo'l bilan yog'sizlantirilgan buyum oynasi tegizilib tamg'a tayyorlanadi.

Topshiriq

1. Tajribadagi laboratoriya hayvonlarini barcha usullar bilan fiksatsiya qilish va virusni yuqtirish usullarni o'rganish.
2. Oq sichqonlarni terisini ichiga ektromeliya virusini va quyonlarga ospavaksina virusini yuqtirish.
3. Virus yuqtirilgan hayvonlarda kasallikning simptomini aniqlash.
4. Patologoanatomik o'zgarishlarni ko'rish va virus saqlovchi material olish uchun virus yuqtirilgan hayvonlarni yorib ko'rish.
5. Miyadan tamg'a tayyorlash.

Material bilan ta'minlash

Ektromeliya va ospovaksina virusining suspenziyasi; quyonlar; oq sichqonlar; hayvonlar uchun kataklar; parafin to'shalgan kyuveta; steril instrumentlar (shpris, inyeksiya uchun ighalar, 10-14 santimetrlik anatomik pinsetlar, ko'z uchun ishlatiladigan qaychi solingan sterilizator; paxta; spirt; narkoz uchun efir; 0,5 / qopqoqli banka; sterillangan tamponlar; qog'ozga o'ralgan paxtachalar; steril fiziologik eritma; filtr qog'ozi; buyum oynalari; pikrin kislotaning eritmasi.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi

1-mashg'ulot (2 soat)

1. Nazorat uchun savollar.
2. O'qituvchining tushuntirishi.
3. Namoyish qilish: a) steril instrumentlar bilan ishlash usullari, shprisni tayyorlash va yuqumli material bilan to'ldirish; b) tajriba uchun quyonlarga va oq sichqonlarga virus yuqtirishning usullari.
4. Talabalarning mustaqil ishlashi: a) fiksatsiya qilish usullarini o'rganish va fiziologik eritmani oq sichqon va quyonlarga yuqtirish; b) ektromeliya virusi bilan oq sichqonlarni, ospa vaksina virusini quyonning terisini ichiga yuqtirish va ularni pikrin kislota eritmasi bilan belgilash; c) virus yuqtirilgan hayvonlarni alohida kataklarga joylashtirish ularga maxsus yorliqlar osish tufayli qaysi virus yuqtirilganligini va yuqtirishda qanday usulni qo'llanganligini, hayvonlarning soni, o'quv guruhining nomeri va yuqtirish muddati ko'rsatiladi.

5. Mashg'ulotni yakunlash.

6. Kelgusi mashg'ulotga topshiriq berish.

2-mashg'ulot (2 soat)

1. Nazorat uchun savollar.
2. O'qituvchining tushuntirishi.
3. Namoyish qilish: a) virus yuqtirilgan laboratoriya hayvonlarida kasallikning klinik belgilari; b) laboratoriya hayvonlarini o'ldirish usullari; c) yorish texnikasi

(talabalar ichki organlarning holatiga e'tiborni qaratadi va virus saqllovchi materialni olish usullarini o'rganadi); d)miyadan tamg'a tayyorlash texnikasi; e)o'lgan hayvon yorib ko'rilgan joyni zararsizlantirish uchun qilingan harakat;

4.Talabalarning mustaqil ishlashi: a)virus yuqtirilgan sichqonlarni rangli belgilariga qarab aniqlash, klinik holatini tahlil qilish, o'ldirish, tagiga parafin to'shalgan kyuvetada fiksatsiyalash, yorib ko'rish; b)patologoanatomik o'zgarishlarni tahlil qilish, parenximatoz organlardan virus saqllovchi material olish, miyadan qavatma-qavat tamg'a tayyorlash; c)hayvonlarning oyog'ida sichqonlarning ektromeliya kasalligida ta'riflanadigan shish, terida nekrozning paydo bo'lganligini bilish uchun keyingi oyoq tavonlaridan virus saqllovchi material sifatida olish va rezina tiqin bilan yopilgan steril probirkaga solib qo'yish.

5.Mashg'ulotni yakunlash.

6.Kelgusi mashg'ulotga topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

1.Laboratoriya hayvonlarining turlari va ularni virusologiya laboratoriyalarida ishlatishdan maqsad nima?

2.Laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun ko'p qo'llaniladigan yuqtirish usullaridan qaysilarini bilasiz?

3.Laboratoriya hayvonlarining organizmida viruslarni ko'payish belgilari qanday bo'ladi?

4.Biologik tajribani musbat bo'lishi va uning diagnoz qo'yishdagi ahamiyati nimadan iborat?

5. "Ko'r" passaj nima?

6.Yorib ko'rib virus saqllovchi materialni olishda, organi tanlab olinishi nimaga asoslangan?

Uslubiy qo'llanma

Mavzuni o'rganishni 2 mashg'ulotda, 2 soatdan 5-7 kun oralig'ida o'tkazish maqsadga muvofiq. Laboratoriya hayvonlaridan quyon va oq sichqonlardan foydalaniladi, chunki ular dengiz cho'chqachasiga nisbatan ancha chidamli, oq kalamushlardek agressiv emas.

Chechak kasalligiga laboratoriya diagnozi qo'yishni o'rganish uchun chechak virusini xo'rozlarga yuqtirish mashg'ulot rejasiga kiritiladi.

Mashg'ulot uchun berilgan ikki hayvondan faqat biriga tajriba uchun yuqtiriladi. Bu holda yuqtiruvchi material sifatida fiziologik eritmadan foydalaniladi, ikkinchisining terisini ichiga esa chechak virusi yuqtiriladi.

Iloji boricha har bir talabaga ishlash uchun ikkitadan sichqon beriladi. Bu holda bitta sichqonda yuqtirish usullarini o'rganadi, ikkinchi sichqonga esa sichqonlarning ektromeliya virusi terining ichiga yuqtiriladi va belgi qo'yiladi.

Bir necha kishidan iborat guruhga bir dona quyon ajratiladi. Ektromeliya virusini maxsus joyda tabiiy kasallangan sichqonlardan ham ajratib olinadi, so'ngra sichqonlarga va tovuq homilalariga passaj qilish yo'li bilan saqlab turiladi.

Ilmiy tekshirish tashkilotlarining muzeyidan ektromeliya virusining shtammlari bo'lsa olsa bo'ladi. Sichqonlarning miyasini ichiga yuqtirilganda cheklovchisi bor bo'lgan ignalardan foydalaniladi.

Bu esa ignaning miya bo'shlig'iga chuqur kirib ketib jarohatlanishining oldini oladi.

Quyonglarga cheklovchisi bor igna o'rnida, yirik shoxli hayvonlarni tuberkulinlash uchun ishlatiladigan ignalardan foydalanib, virus yuqtiriladi.

Bunday igna ikki qismdan iborat bo'lib, har xil qalinlikka ega. Eng o'tkir qismi 0,5 sm uzunlikda bo'lib, ignaning yuqorigi qalin qismi bosh suyagining ichiga kirib ketishini oldini oluvchi to'siq hisoblanadi.

Sichqonlar uchun ignadagi cheklovchi to'siq sterillashdan oldin o'rnatiladi, bu to'siq rezina naydan tayyorlanadi va ignani uchi rezina naydan 1-2mm chiqib turadi.

Sichqonlarning bosh suyagi yupqaligini inobatga olib shpris igna yuqtiriladigan joyga o'rnatiladi shprisning silindridan ushlab, bosh va o'rta barmoq oralig'ida aylantiriladi va ignani miya ichiga shprisni bosmasdan o'zining og'irligi ta'sirida kiritiladi.

So'ngra shpris porsheniga yengilgina tegib, ko'rsatgich barmoq bilan 0,01 ml atrofiga virus saqlovchi material yuboriladi.

Shprisni yig'ib, unga inyeksiya qiluvchi igna o'rnatiladi, keyin virus saqlovchi material tortib olinadi. Virus saqlovchi probirka yoki shisha idishga faqatgina igna tushiriladi hech qachon shprisni slindri kiritilmasligi kerak.

Shprisga tortib olish paytida tushgan havoni yo'qotish uchun shprisni igna bilan vertikal tomonga buriladi ignaga oldindan pergament qog'ozga o'ralgan paxtacha sanchilgan bo'ladi.

Igna paxtani ichiga chuqur kirgiziladi, shu paytda qo'l bilan ignaga tegmaslik zarur.

Paxtachalar virus saqlovchi tomchilarni sachrab ketishini va virusni tashqi muhitga sochilishini oldini oladi. Undan tashqari ignani paxta ichida turishi inyeksiya qilguncha steril turishini ta'minlaydi.

Oq sichqonlarni yorib ko'rishda quyidagicha ish tutiladi. Kyuvetadagi parafin ustiga shunday kattalikdagi qog'oz yopishtiriladi so'ngra o'sha qog'oz ustiga

sichqonni o'ligi o'rnatiladi va o'lik yorib ko'rilgach o'sha qog'ozga o'raladi va o'likni to'plash uchun tayyorlangan konteynerga tashlanadi.

Agar zarur bo'lsa kyuvetadagi parafin qaytadan eritiladi. Hayvonlarni rangli bo'yoqlar bilan belgilash virusni yuqtirib bo'lgach amalga oshiriladi.

5 – MAVZU

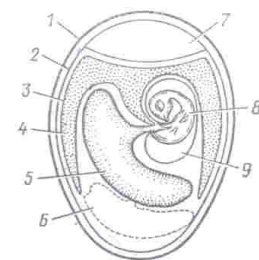
Tovuq homilalarining virusologiyada qo'llanilishi

XX-asrning 30-yillaridan boshlab, tovuq homilasi tirik sistema sifatida virusologiya amaliyotida qo'llanila boshlandi. Tovuq homilasi viruslarni laboratoriya sharoitida o'stirishda muhim ahamiyat kasb etib, virusologiya, fanining oldida turgan ko'pchilik vazifalarni hal etishda muvaffaqiyat qozondi. Tovuq homilalarining laboratoriya hayvonlariga nisbatan qator afzallik tomonlari bor. Tovuq homilalarini tashqi muhitdagi bakteriyalarning yuqishidan po'stloq va po'stloq osti qobig'ini ishoncnli himoya qilib turadi. Homilaning muhim yutuqlaridan biri uning keng spektrdagi viruslarga yuqori sezgirligi bo'lib bu himoya mexanizmining to'lasincha rivojlanmaganligidir. Tovuq homilalari parrandachilik fabrikalari va inkubatoriylarning ko'pligi tufayli topilishi oson bo'lgan ob'ektdir. Bulardan tashqari tovuq homilalari tejamlil bo'lib parvarishni, oziqlantirishni talab qilmaydi va virus yuqishi natijasida unga javoban antitelo hosil qilmaydi. Ammo tirik sistemaning steril ekanligiga to'lasincha kafolat berib bo'lmaydi, shuningdek, homilalar o'zining tarkibida viruslarni va patogen agentlardan (tovuqlarning yuqumli bronxit virusini, nyukasl kasalligini, gripp, leykoz, xlamidiyalar va mikoplazmalarni) saqlashi mumkin. Ushbu kasalliklarda viruslarning bor bo'lishi tekshirish natijalarini noto'g'ri ko'rsatishi mumkin. Virusologiyada laboratoriya hayvonlaridan qaysi maqsadda foydalangan bo'lsak tovuq homilasidan ham huddi shunday maqsadda foydalanamiz. Bular quyidagilar:

- biologik tajriba qo'yish tufayli patmaterial tarkibidagi aktiv virusni uchratishda;
- virusni birinchi bor ajratib olishda;
- ayrim sut emizuvchilarda, parrandalarda, kasallik chaqiruvchi viruslarni tovuq homilalarida o'stirish va ajratib olish juda qulayligi;
- laboratoriyada viruslarni saqlab turishda;
- viruslarni titrlashda;
- laboratoriya tekshirishlarida virusni to'plash va vaksina tayyorlashda;
- neytrallash reaksiyasida test-ob'ekt sifatida.

Virus saqlovchi materialni tovuq homilasiga yuqtirishda uning oldiga quyidagi talablar qo'yiladi;

homilalar yuqumli kasalliklar uchramaydigan xo'jaliklardan olinishi, tuxumning tashqi ohak qobig'i pigmentlanmagan, toza (yuvish mumkin emas) bo'lishi kerak.



21-rasm.10 kunlik tovuq homilasining sxematik kesimi.
1-ohak qobiq; 2-po'stloq osti qobiq; 3-xorionallantois qobiq; 4-allantois boshliq; 5-sariq xalta; 6-oqsil; 7-havo kamerasi; 8-homilaning tanasi; 9-amnion bo'shlig'i.

Homilaning yoshi tanlagan yuqtirish usuliga mos kelishi zarur. **Tovuq homilasining tuzilishi.** Tovuqlar deyarli otalangan tuxum qo'yadi, bunda homila blastula yoki ertangi gastrula bosqichida bo'ladi. Tuxumni tovuq tanasidagidek harorat bilan isitilsa, u holda homilaning rivojlanishi davom etadi. Tovuq homilasi 5-12 kun rivojlanganidan so'ng unga virus yuqtirish mumkin (21-rasm). Homila rivojlanayotgan

tovuq tuxumi tashqi tomondan mayda teshiklari bor ohak tuxum po'chog'i bilan o'ralgan bo'lib unga po'choq osti po'stlog'i mustahkam yopishib turadi. Po'choq osti qobig'i tuxumni o'tmas qismida ikki varaqqa ajratib ular orasida havo kamerasini hosil qiladi. Tuxum ichida homilaning tanasi ekssentr holatida yotib yelka tomoni bilan ohak qobiqga yaqin va bosh qismi esa havo kamerasi tamonga qaragan bo'ladi:

Homila atrofidagi suyuqlikga botgan holda bo'lib amnion bo'shligini to'ldirib turadi va kindik orqali sariq xalta bilan birlashgan bo'ladi. Sariq xalta ham ekssentr holatida o'rinishib homilaga nisbatan tuxumning ko'ndalang qarama-qarshi ikkinchi tamoniga Joylashgan. Po'choq osti po'stlog'i ostida allantois bo'shlig'i bor bo'lib amnion va sariq xaltani o'rab 10-11 kundan so'ng tuxumning o'tkir qismida qo'shilib ketadi.

Allantois po'stlog'i o'sish davomida xorion bilan qo'shilib ketib, xorion allantois po'stlog'ini hosil qiladi (X.A.P.).

Tuxumning o'tkir qismida oqsil qoldig'i saqlanib turadi. Hujayra tuzilishiga ega bo'lg'an barcha strukturalarda viruslar ko'payishi mumkin, bularga homila XAP va sariq xalta kiradi.

Viruslarning to'planishi ham shu strukturalarda bo'lib bir qancha viruslar allantois va amnion suyuqliklarida to'planib tayyor virus suspenziyasini hosil qiladi.

Homilaning u yoki bu qismida virus yuqtirish uni maksimal rivojlangan, yani sezgir hujayralar eng ko'p bo'lgan vaqtda o'tkaziladi. Inkubatsiya jarayonida homila strukturasining kattaligi ham o'zgarib bu esa ko'pchilik holda homilaning optimal yoshi yuqtirish vaqtini belgilaydi. Sariq xalta oziq moddalarning manbai bo'lib inkubatsiyadan oldin hajmi katta, 12 kundan keyin esa homilaning o'sishi tufayli u kichiklasha boradi. Sariq xaltaga inkubatsiyaning 5-7 kunlarida virus yuqtiriladi.

Amnion bo'shlig'i homilaning o'sishi uchun buferli muhit bo'lib, inkubatsiyaning 5 kunida homilani o'rab oladi.

Inkubatsiya davrining o'rtalariga kelganda suyuqlikining miqdori 1 ml atrofida. Amnion bo'shlig'iga yuqtirish uchun homilani 6-10 kunlik yoshdagisidan foydalaniladi.

Allantois bo'shlig'i moddalar almashinuvi tufayli hosil bo'lgan maxsulotlarni to'plab turadi. Bu vaqtda siydik tuzlari fosforli va azotli birikmalar yig'iladi.

Homilaning o'sish va rivojlanish jarayonida allantois suyuqligi kislotali reaksiyaga ega bo'ladi.

Homilaning 9-12 kunlik o'sish davrida allantois bo'shlig'i maksimal kattalikga ega bo'ladi shuning uchun allantois bo'shlig'iga yuqtirish 9-11 kunlik inkubatsiya davrida o'tkaziladi.

Xorionallantois po'stlog'i qon tomirlarga boy bo'lib tuxum postlog'ining teshikchalari bor yuzasida ichki tamondan yaqin joylashgan. Bu esa homila tanasini kislorod bilan to'yinishini ta'minlab homilada nafas olish organi vazifasini bajaradi. 11-13 kunlar XAP maksimal rivojlangan payti hisoblanadi.

Xorionallantois po'stlog'iga yuqtirish inkubatsiyaning 10-12 kunlari amalga oshiriladi.

Virusni yuqtirish uchun tovuq homilalarini tayyorlash

Inkubator xonadan homilani, yo'lda sovutmasdan olib kelinadi. Laboratoriyada homilani 37°C va namligi 60-70% bo'lgan termostatda inkubatsiyalanadi. Namlik bilan doimiy taminlash uchun termostatga og'zi keng bo'lgan idishlarga suv solib qo'yiladi.

Termostatning shamollatuvchi teshiklari ochiq bo'lishi kerak. Homilani maxsus shtativlarga havo kamerasini yuqoriga qaratilib joylashtiriladi.

Yuqtirguncha bir kecha-kunduz davomida homila yangi olib kelingan sharoitga moslashishi va transportdagi bo'lgan stressdan so'ng funksiyalari normal holga kelishi kerak.

Agar laboratoriyaning shaxsiy inkubatoriysi bo'lsa tovuq tuxum qo'ygandan so'ng 10 kun davomida tuxum bostirishga qo'yish uchun yaroqli hisoblanadi.

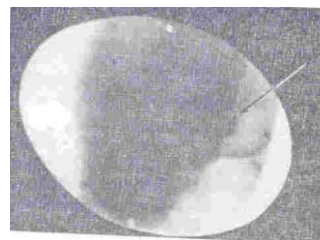
Tovuq homilasiga yuqtirishidan oldin ovoskopda qarab ko'riladi po'choq qismi dezinfeksiyalanadi va ishlash uchun tegishli joy ham tanlanadi.

Ovoskopda qarab ko'rish uchun etarli darajada yorug'lik manbasi nur kerak bo'lib, tuxumni yoritilmagan qismida esa ichki strukturaning soyasi ko'rinadi (22-rasm).

Ovoskopda ko'rish uchun xona qorong'ilashtiriladi. Bunda tuxum pochog'ining ustki qismidan grafit qalam bilan havo kamerasini homila joylashgan o'rnini va qon tomirlari kam bo'lgan 0,5 x 0,5 sm joy belgilanadi.

Bu qo'yilgan belgi virus saqlovchi material yuborayotganda joyini ko'rsatuvchi belgi hisoblanadi.

Ovoskopda ko'rilayotganda homilani tirik yoki o'likligi aniqlanadi. XAP tomirlarining qon bilan to'la bo'lishi va aktiv harakatdagi homila tirik hisoblanadi.



22-rasm. 10-kunlik tovuq Homilasining ovoskopda ko'rinishi homilaning soyasi sariq xalta XAP qon tomirlari havo kamerasi ko'rinmoqda (X.K.Bozozov usuli boyicha)

Tovuq homilalariga aseptika sharoitida eng qulayi bokslarda virus yuqtiriladi. Boks oldi xonasida homilaga yo'd qo'shilgan spirt bilan ishlov berilib boksdagi yana qaytadan artiladi ayrim hollarda spirt shimdirilgan tampon yordamida alanga bilan ishlov beriladi.

Emallangan kyuvetaga 3-4 qavat doka to'shaladi va bu dokaga dezinfeksiyalovchi modda shimdiriladi uning ustidan homilani maxsus tutib turuvchi fiksatsiyalovchi shtativ o'rnatiladi.

Ish jarayonida qaynatish natijasida sterillangan instrumentlar-dan foydalaniladi. Instrumentlar qaytadan ishlatilgudek bo'lsa spirt lampa alangasida qizdiriladi.

Tovuq homilalariga tajriba uchun virusni yuqtirish usullari

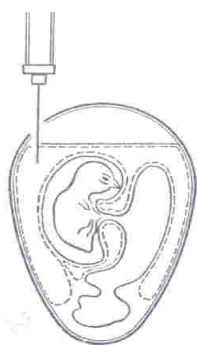
Homilalarga olti xil usulda virusni yuqtirish mumkin. Eng ko'p qo'llaniladigan yuqtirish usullari allantois boshliqqa va xorionallantois po'stlogga, kamroq amnion bo'shliqqa va sariq xaltaga, homila tanasiga va XAP qon tomirlariga yuqtiriladi.

Yuqtirish usulini tanlash virusning tropizmiga va yuqtirishdan ko'zda tutilgan maqsadga bog'liq.

Har qaysi usul bilan yuqtirilganda ham 0.1-0.2ml yuqumli material yuboriladi.

Allantois bo'shliqqa virus yuqtirish.

Ushbu usul bilan yuqtirilganda gripp, Nyukasl kasalligining, otlarning rinopnevmoniya, vezikulyar stomatit va boshqa kasalliklarning viruslari yaxshi ko'payadi. Bu usulning bir necha variantlari mavjud.

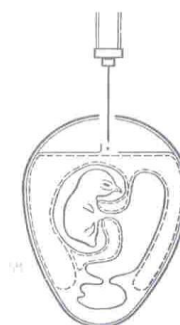


23-rasm. Tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga virus yuqtirish (Nikolay bo'yicha).

Homilaning o'tmas qismini yuqoriga qaratib vertikal holatda fiksatsiyalanadi. Tuxum postlog'ining homila yotgan tomonida, ayrim holda homilaga qarama-qarshi tomoni, havo kamerasining chegarasidan 5-6 mm yuqoridan 1 mm diametr kattalikdagi teshik ochiladi. Uzun o'qqa parallel holda ignani 10-12mm chuqurlikda kirgiziladi (23-rasm).

Tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga virus yuqtirish

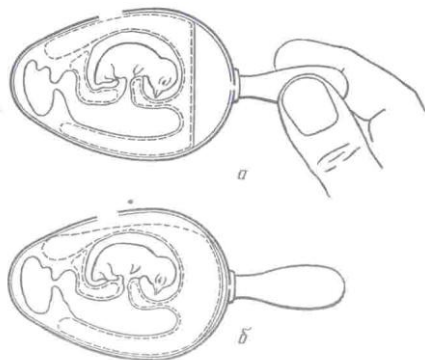
Mirus saqllovchi materialni ineksiya qilib bo'lgach igna tortib olinadi va hosil bo'lgan teshik parafinning erigan tomchilari bilan to'ldiriladi. Boshqa varianti



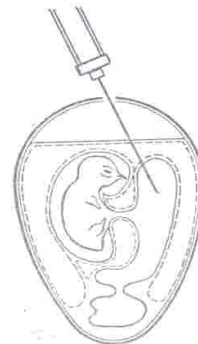
24-rasm. Tovuq homilasining xorional-lantois qobig'iga tabiiy havo kamerasi orqali virus yuqtirish (Nikolay bo'yicha)

shundan iboratki, havo kamerasi ustidagi pochoq teshilib, shu teshikdan havo chiqarib yuboriladi.

Yuqtirish uchun xorionallantois qobiqning homila tomonidan qon tomiri kam qismi tanlanib teshiladi. Igna ko'pi bilan 2-3mm chuqurlikda kiritiladi 0.1-0.2ml hajmdagi yuqtiruvchi suyuqlik ineksiya qilinadi va teshik parafin bilan bekitiladi (27-rasm)



25-rasm. Tovuq homilasining xorionallantois po'stlog'iga suniy havo kamerasi orqali virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar boyicha).



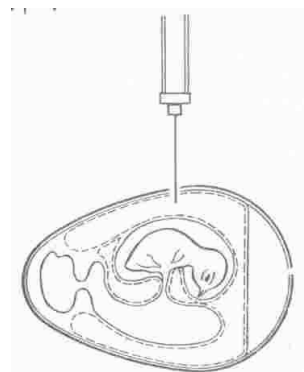
26-rasm. Tovuq homilasining sariq xaltasiga virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar bo'yicha).

Xorionallantois qobiqqa virus yuqtirish.

Bu usulda tovuq homilasiga yuqti-rish epiteliotrop va pantrop viruslar chechak, parrandalarning yuqumli kasalligi, qo'ylarning kataral isitma viruslarini o'stirishda qo'laniladi. Yuq-tirish tabiiy yoki suniy havo kamerasi orqali bajarilishi mumkin.

Tabiiy havo kamerasi orqali yuqti-rishda homila shtativga o'tmas qismi yuqoriga qaratib vertikal holda o'rnatil-gach havo kamerasining markaziga qarshi 15-20 mm diametrli yumaloq darcha qirqib ochiladi. Pinset yordamida shu darcha orqali po'choq osti qobig'i ajratib olinadi.

Xorionallantois po'stloq ochilgan joyga 0.2 mm virus saqllovchi suspenziya yuboriladi (24-rasm). Teshikni leykoplastr yoki yopqich oyna bilan yopilib erigan parafin bilan mustahkamlanadi.



27-rasm Tovuq homilaning sariq xaltasiga virus yuqtirish (Nikolay va boshqalar boyicha).

Sun'iy havo kamerasi orqali yuqtirish.

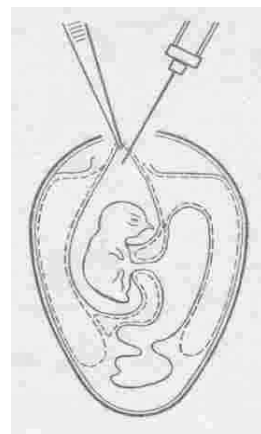
Ko'pchilik holda birinchi o'rinda ishlatiladi, chunki bunda virus saqllovchi matral XAP katta yuzasi bilan birga bo'lib, ko'proq miqdorda virus hosil bo'lishiga olib kiladi.

Bu usulda yuqtirish uchun shtativga homila yuqoriga qaratilgan holda gorizantal holatda o'rnatiladi.

Tuxum pochog'ida ikki teshik teshiladi birinchisi havo kamerasing markazidan (havoni so'rib olish uchun mo'ljallangan), ikkinchisi 0.2-0.5 sm diametrda homila bor tomonning yonboshidan.

Bu usulning qiyinchiligi shundan iboratki, ikkinchi teshikni tayyorlashda, avvalo sekinlik bilan po'choqni bir bo'lakchasi ajratib olinadi, so'ngra sekinlik bilan XAP jarohatlanmay po'choq osti qobiq suriladi va hosil bo'lgan ochiq joydan havo kirishiga erishiladi.

So'ngra rezinali so'rg'ich yordamida havo kamerasi bo'shlig'idagi havo so'rib olinadi (25-rasm).



28-rasm. Ochiq usul bilan tovuq homilasining amni oniga virus yuqtirish. (Nikolay va boshqa bo'yicha)

Yonboshdagi teshik orqali XAP yuzasiga yuqumli suyuqlik kiritiladi va teshik bir parcha leykoplastir bilan yopiladi. Birinchi teshikni yopishda hech qanday ehtiyoj bo'lmasdan, bu usulda yuqtirilganda po'choq osti po'stloq jarohatlanmaydi, ammo bar'erlik vazifasini bajarib tashqi muhitdagi mikrofloraning tushishiga to'sqinlik qiladi. Shu usulda virus yuqtirilgan homilani gorizontol holatda teshigini yuqoriga qaratib inkubatsiya uchun qo'yiladi.

Sariq xaltaga virusni yuqtirish

Xlamidiya, Marek kasalligi, otlarning rinopnevmoniya, qo'ylarning kataral isitma va boshqa viruslarni o'stirishda ushbu usul keng qo'llaniladi.

Rif vodiysining virusli isitmasi 5-7 kunlik ayrim holda 2-3 kunlik yoshdagi homilalarga yuqtiriladi. Yuqtirishning ikki varianti qo'llaniladi.

1-variant.

Homilalar shtativga vertikal holatda o'rnatiladi. Havo kamerasing markazidagi po'choqni teshib 3,5-4 sm chuqurlikka vertikal o'qqa 45° burchak ostida homilaga qarama-qarshi tomonga igna kiritiladi. (26 rasm).

2-variant.

Yuqorida aytib o'tilgan yo'l bilan homilani shtativga gorizontol holda joylashtirib yuqtiriladi; bunda homila pastki qismda joylashib sariq xalta uning ustida bo'ladi. Tuxum pochog'idagi teshikni eritilgan parafin bilan yopiladi.

Amnion bo'shlig'iga virusni yuqtirish.

Buning uchun yoshi 6-10 kunlik homilalardan foydalaniladi. Bu usul gripp kasalligi virusini n'yukasl kasalligi, otlarning rinopnevmoniya va boshqa kasalliklarni virusini o'stirishda ishlatiladi.

Yuqtirish ning ikki usuli mavjud.

Yopiq usul. Yuqtirish qorong'ilashtirilgan boksda bajariladi. Tuxum ovoskopga gorizontal holatda homilani yuqoriga qaratib joylashtiriladi.

Havo kamerasining ustki qismidan tuxum po'chog'idagi teshik orqali igna homilaga tik holda kiritiladi(27 rasm).

Amnionga ignani kirganligini homilani tanasining igna harakati tomoniga qimirlashidan bilish mumkin.

Ochiq usul. Havo kamerasi ustidagi po'choqni 1,5-2,5 sm diametr qirqilib teshik ochiladi. Shu tes

hik orqali pinset yordamida po'choq osti qobig'i ajratiladi. So'ngra 14 sm uzynlikdagi pinset yordamida XAP homila tomoniga bosiladi. Pinset bosilishi natijasida amnion po'stlog'ini qisib olib XAP bilan birgalikda ochilgan teshik tomonga tortiladi. Pinsetni chap qo'lda ushlab amnion po'stlog'i tortib turiladi va virus saqllovchi material yuboriladi(28 rasm).

So'ngra po'stloq qo'yib yuboriladi, ochilgan teshik leykoplaster bilan yopilib, homila vertikal holatda inkubatsiyaga qo'yiladi. Yuqorida yozib o'tilgan usullar laboratoriya amaliyotida ko'p qo'llaniladi.

Homilaning tanasiga va XAP qon tomirlariga virus yuqtirish amaliyotda kam qo'llaniladi.

Homilani tanasiga virusni yuqtirish.

Yuqtirish uchun 7-12 kunlik yoshdagi homilalardan foydalaniladi. Bu usulning ikki varianti ma'lum.

1-variant. Yopiq usulda amnionga qanday yuqtirilsa xuddi shunday bajariladi. Ayrim farqlar bilan bo'lsada o'tkir igna olinib ovoskopning ko'rsatishiga qarab kiritiladi.

Homilaga ignani kirganligini homilani igna harakatiga mos qimirlashidan bilsa bo'ladi.

2-variant. Amnionga yuqtirilgandek ochiq usulda bajariladi, teshik orqali homilaning tanasi pinset yordamida tortiladi. Materialni bosh miyaga va tananing ma'lum qismlariga yuqtiriladi. Bu usulda yuqtirilganda homilalarning spetsifik bo'lmagan o'limi ko'proq foizni tashkil qiladi.

Xorionallantois pardaning qon tomirlariga virusni yuqtirish.

11-13 kunlik homilani ovoskopda qarash tufayli yirik qon tomirlari belgilab olinadi. Qon tomirlarning yo'nalishidagi tuxum po'chog'ining ustiga 1-2 tomchi spirt tomizilgach tuxum po'chog'i tiniqlashadi.

Ovoskopda ko'z bilan nazorat qilinib qon tomiriga igna kiritiladi, yonboshga ignani harakat qildirganda tomirni ham qimirlashi, ignani tomirga kirganligini bildiradi.

Po'choq osti qobiqning ochiq qismi leykoplastr bilan yopiladi. Qon tomirga bir qancha farqlanadigan usullar bilan ham materialni yuborish mumkin: havo kamerasi ustidagi tuxum po'chog'i qirqilib, po'choq osti qobiq spirt bilan yumshatiladi va ko'ringan XAP material yuboriladi. Teshikni bir parcha steril leykoplastr bilan yopiladi.

Tovuq homilasiga tajriba uchun yuqtirishning usullari yagona bo'lmasdan, uning bir qancha variantlari ham mavjud.

Inkubatsiyaga qo'yishdan oldin tuxum po'chog'iga grafit qalam bilan qaysi usul bilan, virus yuqtirilganligi zarur bo'lsa boshqa ma'lumotlar ham yozib qo'yiladi.

Virus yuqtirilgan tovuq homilalari keyinchalik termostatga inkubatsiyalash uchun joylashtiriladi. So'ngra yuqtirilgan viruslarning reproduksiyalanish jarayoni boshlanib, tegishli strukturalarda to'plana boshlaydi.

Homilalarni inkubatsiyalash harorati 33°C to 38°C bo'lib yuqtirilgan virusning xususiyatiga ham bog'liq. Ovoskop yordamida homilalarni har doim kuzatib borib o'lganlari olib tashlanadi.

Birinchi bor yuqtirilgan 24 soat ichida homilalarning o'lishi zambrug'larning ko'payishi, inokulyat bilan birga tushgan bakterial mikroflora yoki yuqtirishdagi jarohatlanish tufayli sodir bo'ladi. Bunda o'lim spetsifik bo'lib hisoblanmaydi. Homilalar virus yuqtirilgandan so'ng uzoq muddat o'tgandan keyin o'lishi uning virus o'sganligi tufayli nobud bo'lganligidan darak beradi.

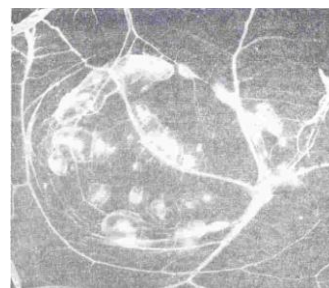
Homilalarni o'lganlarini ko'rgach, darhol uni harorati 4°C bo'lgan sovutgichga qo'yiladi.

Bunday sharoit, birinchidan, homilada to'plangan virusni aktivligini saqlashga yordam bersa, boshqa tomondan to'qimalarni qotishi, qon tomirlarini qondan bo'shashiga va keyinchalik homilani ochishni birqancha engillashtiradi.

Homilalar viruslar maksimal to'planguncha inkubatsiyalanadi. Har qaysi virus uchun bu muddat 2 sutkadan to 7-8 sutkagacha bo'lib, N'yukasl kasalligining H-shtammi uchun 2-3 kun, B-shtammi uchun 5 kundan iborat. So'ngra barcha homilalarni 3-4 soat mobaynida 4°C haroratda sovutish tufayli o'ldiriladi va ochib ko'riladi.

Tovuq homilasida virusning ko'payish belgilari.

Homilaga virus yuqganligini har qaysi virusga tegishli muddatda o'lishi ko'rsatadi. Virusni ko'payganligini ko'rsatuvchi boshqa belgilar, ya'ni homilaning barcha strukturalarida patologoanatomik o'zgarishlarni paydo bo'lishidir.



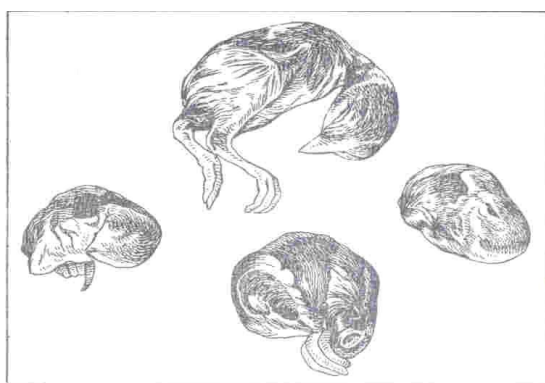
29-rasm. Parrandalardagi yuqumli laringotraxeit kasalligining virusi yuqtirilgan tovuq homilasining XAP dagi tugunchalar.

XAP shishlarning bo'lishi, qon quyilishi, tugunchalar (chechakcha-larning) paydo bo'lishidir. Tovuq

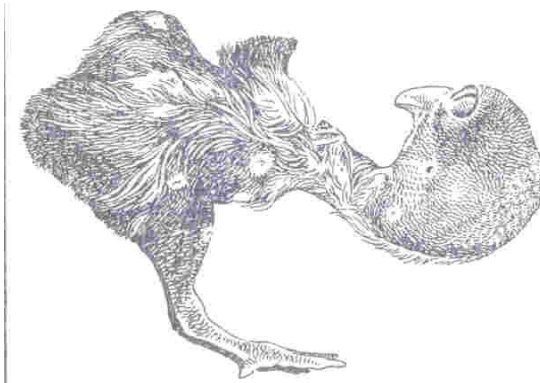
homilasiga parandalarning chechak virusi, parrandalarning yuqumli laringotraxeit, Aueski kasalligi va boshqa viruslarning yuqtirilishi shunday jarohatlanishning paydo bo'lishiga olib keladi (29-rasm). Har xil turdagi viruslarning o'sishiga qaraganda chechakchalarning shakli ko'zda ko'rinarli darajada ajralib turadi. Homilaning o'zi yuqtirilmaganlarga qaraganda o'sishdan qolish fenomenini ko'rsatadi.

Homila tanasining barcha joylari har xil darajada suvsizlangan yoki mumlanganligi, bo'yin qismining buralishi bilan ta'riflanadi.

Yuqorida aytilgan belgilar parrandalarning yuqumli bronchit kasalligiga o'xshashdir (30-rasm). Homilaning terisi qizarib, qon quyilgan (31-rasm). Ichki organlarida ham virusning ko'payganlik belgilari bo'ladi.



30-rasm. Parrandalarning yuqumli bronchit kasalligi.



31-rasm. Chechakvaksina virusi yuqtirilgan tovuq homilasida chechakning butun tanada tarqalishi (Mairu va boshqa. bo'yicha).

Virus yuqtirilgan tovuq homilalarida homilaning o'smasdan va mumlanib qolishi. Yuqorida shu yoshdagi virus yuqtirilmagan homila (Mairu va boshqa bo'yicha).

Tovuq homilasida sariq yashil yoki qora yashil rangda jigar shishsa, o'rdaklarning gepatit virusi o'sayotganligini bildiruvchi belgi hisoblanadi. B₁-shtammdagi virus n'yukasl kasalligi tovuq homilasida o'saturib homilani o'ldirmaydi va patologoanatomik o'zgarishlar chaqirmaydi. Bunday viruslarni faqatgina gemagglyutinatsiya reaksiyasi (GAR) yordamida eritrotsitlarni agglyutinatsiyalash qobiliyatiga qarab uchratish mumkin.

Gemagglyutinatsiya hodisasi eritrotsitlarning tarkibiga gemaglyutinatsiyalovchi viruslar suspenziyasini qo'shish tufayli sodir bo'ladi. Gemagglyutinatsiyalash xususiyatiga shunday viruslar egaki, ularning virionlari yuzasida retseptorlar mavjud va ular eritrotsitlarning qobig'idagi retseptorlar bilan qo'shilish xususiyatiga ega.

Bunday virionlar eritrotsitlarning yuzasida adsorbsiyalanishi mumkin. Bir virion bir yo'la ikki eritrotsitga adsorbsiyalanishi tufayli, adsorbsiyalangan virion ikki eritrotsit oralig'ida ko'prik vazifasini o'taydi.

Shunday ko'priklarning ko'pchilik eritrotsitlar oralig'ida hosil bo'lishidan eritrotsitlarning elimlanishi va ipir-ipir massa hosil qilishi kuzatiladi.

Ipir-ipir massa hosil bo'lganligini oddiy ko'z bilan ko'rish mumkin. Buning uchun buyum oynasi ustiga bir tomchi virus suspenziyasiga bir tomchi yuvilgan eritrotsitlardan qo'shib aralashtiriladi.

Virus va eritrotsit suspenziyasini aralashtirish natijasida probirkada eritrotsitlar bir qavat bo'lib cho'kmaga tushadi, tag qismida esa soyabonni eslatuvchi shakl paydo bo'ladi.

GAR- virusni uchratishda va titrlash uchun qo'llaniladi.

Eritrotsitlardan ipir-ipir massa hosil bo'lishi 5-10 da-qiqa ichida virus saqlovchi suyuqlik tomchisiga eritrotsit-lar aralashmasini aralashtirish natijasida hosil bo'ladi (32-rasm).



32-rasm. Tomchi usulda gemagglyutinatsiya reaksiyasi: a) virus saqlovchi suyuqlik, eritrotsitlar bilan aralashtirilgandan so'ng hosil bo'lgan gomogen suspenziya. b) shu suspenziyada 10 daqiqa o'tgach ipir-ipir agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar.

Gemagglyutinatsiyaning musbat bo'lishi faqatgina virus borligini bildiribgina qolmay, balki uning gemagglyuti-natsiyalovchi aktivligini ma'lum turdagi hayvonning eritrotsitlari yordamida amalga oshirishi tufayli diagnoz qo'yishda yordamchi vosita bo'lib xizmat qiladi. Homilani ochishda ko'pchilik holda virusning ko'payganligini bildiruvchi belgilar bo'lmaydi ammo virus tekshirilayotgan materialda mavjud. Bunday passajni yuqorida aytilgandek "ko'r" passaj deyiladi.

Tovuq homilasini ochib virus saqlovchi materialni olish.

Tovuq homilalarini ochishdan maqsad virus ko'payganligini bilish va virus saqlovchi materialni olishdir. Virus saqlovchi materialni olish uchun homilani ochish aseptika qoidalariga amal qilinadi.

Homilaga qaysi virus yuqtirilganligini bilish uchun virusni homila strukturalaridagi tropizmiga e'tibor beriladi. Virus saqlovchi material bo'lib XAP, homila to'qimasi, sariq xalta devorlari, hamda allantois va amnion suyuqligi xizmat qiladi.

Amnion suyuqligidan virusni ajratib olish juda qulay, chunki allantois, amnion suyuqliklari tayyor virus suspenziyasi hisoblanadi. Homilasi bor tuxumning po'chog'ini ochishdan oldin yod qo'shilgan spirt bilan ishlov beriladi ayrim hollarda flombirlash ham mumkin.

Ochib ko'rish steril boksda, steril instrument va idishdan foydalangan holda bajariladi. Havo kamerasi ustidagi tuxum po'chog'i virus yuqtirilgan joyidan qirqiladi. Bunday tuxum burchak ostida tutib turilib, po'choqning ichki qismiga

tushishga yo'l qo'yilmaydi. Qaychi esa havo kamerasi tagidagi po'stloqni zararlamasligi uchun qirqishni havo kamerasining ustki qismi chegarasidan yuqoriroqdan o'tkazish kerak. Ochilgan XAP patologoanatomik o'zgarishlarni uchratish uchun pinset yordamida ko'tarilib qaraladi XAP virus saqllovchi material yuqtirilgan qismida ko'zga ko'rinarli o'zgarishlar kuzatiladi. Sinchiklab tekshirib chiqish uchun XAP bir qismini pinset yordamida ko'tarib, o'zgarishi bor joyi qaychi yordamida qirqib olinadi. XAP

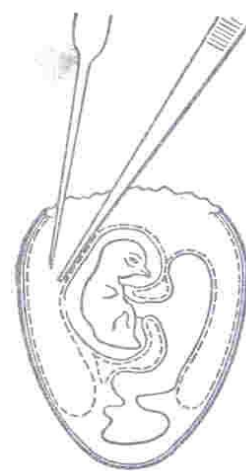
kuzatish uchun homila, sariq xaltadan, oqsildan ajratib tuxum po'choq'ining ichki qismidan xorionallantois po'stloq ajratib olinib fiziologik eritma quyilgan Petri likobchasiga solinadi.

Po'stloqni chayqatib yuvgach ikkita pinset yordamida tekislanadi va bir tomonlama yoyib kuzatiladi. Po'stloqdagi patologoanatomik o'zgarishlar aniq ko'rinishi uchun Petri likobchasining tagiga qora qog'oz qo'yiladi.

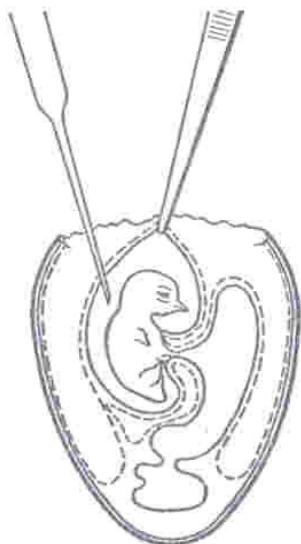
10 ml miqdordagi allantois suyuqligi po'choq osti po'stloq, homila tanasi ustidagi XAP teshilgach, pipetka yordamida so'rib olinadi (33-rasm).

Pipetkani bu holda yuborish sariq xaltaning devorini tasodifan teshilishini va olinadigan allantois suyuqligi bilan aralashib ketishining oldini oladi.

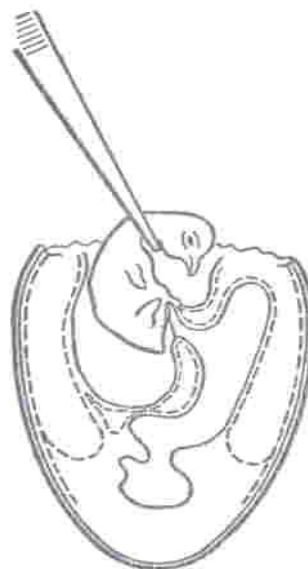
Amnion suyuqligini 1ml gacha so'rib olish mumkin. Buning uchun allantois suyuqligini olib bo'lgach, homila tanasining bosh qismi ya'ni bo'yin ostiga va amnion oralig'iga pipetka kiritiladi (34-rasm). Sariq xalta devorini virus saqllovchi material sifatida olish uchun, sariq xalta Petri likobchasida chiqarilgach,devori qaychi bilan qirqilib tarkibidagi moddalardan fiziologik eritma bilan yuvish tufayli tozalanadi. Homila tanasining bo'yin qismidan pinsetga qistirib chiqarib olinadi (35- rasm).



33-rasm. Allantois suyuqligini so'rib olish (Nikolay va boshq. bo'yicha).



34-rasm. Amnion suyuqligini so'rib olish (Nikolay va boshq.bo'yicha).



35-rasm.Homila tanasini chiqarish (Nikolay bo'yicha).

Tovuq homilalarini ochib ko'rganda virus saqllovchi materialni bakteriologik nazorat qilish uchun GPSH, GPA, GPJSh, Saburo muhitlariga ekiladi. Virus saqllovchi material minus 25°C va undan past haroratda saqlanadi.

Topshiriq

1. Tovuq homilalarini virus yuqtirish uchun tayyorlash.
2. Tovuq homilalariga n'yukasl kasalligi va kabutarlarning, tovuqlarning chechak virusini yuqtirish.
3. Yuqtirilgan tovuq homilalarini ochish, XAP va allantois suyuqligini olish.
4. Allantois suyuqligidan olib GAR tomchi usulida qo'yib ko'rish.
5. XAP chechaklarni sanash va suratini chizish.

Mashg'ulotni material bilan ta'minlash

9-11 kunlik tovuq homilalari; B₁-shtammdagi n'yukasl kasalligining virusi; N'yudjersi shtammdagi kabutarlarning chechak virusi; ovoskoplar; 24-36 sm kattalikdagi emallangan va doka salfetka to'shalgan kyuvetalar; probirkalar uchun shtativ; homilani fiksatsiyalovchi shtativ; spirtli va gazli gorelkalar; rezinadan tayyorlangan paxta tamponlar, yod qo'shilgan spirt; qog'ozga o'rab joylashtirilgan va sterillangan paxtachalar, rezina tiqini bor probirkalar; Petri likopchasi; 2-5 ml pipetkalar; steril instrumentlar bilan birgalikda sterilizator (1 ml shprislar, anatomik pinsetlar, teshgichlar, infeksiya uchun ignalar, ko'z uchun ishlatiladigan qaychilar); fiziologik eritma; dezinfeksiyalovchi eritma; tovuqning 5% eritrotsitlari; tomchi GAR uchun oyna yoki keramikadan tayyorlangan plitka; doka yuz yopgichlar; 10x10Cm kattalikdagi qora qog'ozlar; meditsina leykoplasteri; tovuq homilasi va yuqtirish usullari ko'rsatilgan chizma.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (4 soat)

I-Mashg'ulot

1. Tekshirish uchun savollar.
2. O'qituvchining tushuntirishi.
3. Ko'rsatish: a) ish joyini tashkil qilish; b) ovoskopda qarash va tovuq homilasini dezinfeksiyalash; c) tovuq homilalarida yuqtirish usullarini barchasini ko'rsatish; d) ochilgan tovuq homilasida uning tuzilishini ko'rsatish.
4. Talabalarning mustaqil ishi: a) uchta tovuq homilasini ovoskopda ko'rish; b) ushbu tovuq homilalarini dezinfeksiyalash; c) homilaga yuqtirish uchun maxsus kiyim va ish joyini tayyorlash; d) bitta tovuq homilasida barcha usullar bilan yuqtirishni mashq qilish; e) 9-kunlik tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga N'yukasl kasalligining B₁, yoki H shtammidan yuqtirib, yozib qo'yish; f) 11-kunlik tovuq homilasini sun'iy ochilgan havo kamerasi orqali XAP tovuqlarning chechak

virusini yuqtirish va yozib qo'yish; g)virus yuqtirilgan tovuq homilasini termostatga inkubatsiya uchun qo'yish.

5. Mashg'ulotni yakunlash.

6. Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

II. Mashg'ulot (5-7 kundan so'ng)

1. Tekshirish uchun savollar.

2. O'qituvchining tushuntirishi.

3. Ko'rsatish: a) o'lgan homilani ovoskopda ko'rish; b) homilani ochish uchun ish joyini tashkil qilish; c) virus yuqtirilgan tovuq homilasini ochish va virus saqllovchi materialni olish; d) tovuq homilasida virusning ko'payish belgilari, patologoanatomik o'zgarishlarini, GAR tomchi usulida qo'yib ko'rsatish; e) virus bilan ishlashda foydalanilgan keramika plastinkalarni, ochilgan homilalarni va instrumentlarni qaynatib sterillash natijasida zararsizlantirish usulini ko'rsatish; f) olingan virus saqllovchi materialga yorliq yopishtirish.

4. Talabalarning mustaqil ishlashi: a) o'tgan darsda yuqtirilgan tovuq homilalarini ochish uchun maxsus kiyim va ish joyini tayyorlash; b) N'yukasl kasalligi yuqtirilgan tovuq homilasini ochib, allantois, amnion suyuqliklarini so'rib olish va tomchi usulda GAR qo'yish; c) chechak virusi yuqtirilgan tovuq homilasini ochib XAP ajratish, chechakchalarni sanab suratini chizish; d) instrumentlarni, homilani, idishlarni yuqumsizlantirish uchun tayyorlash.

5. Mashg'ulotni yakunlash.

6. Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Tekshirish uchun savollar

1. Virusologiyada tovuq homilalari nima uchun ishlatiladi?

2. Rivojlanayotgan tovuq homilasining tuzilishi qanday?

3. Tovuq homilalariga virusni yuqtirish usullarini so'zlab bering.

4. Tovuq homilasida viruslarni qanday indikatsiyalash usulini bilasiz?

5. Tovuq homilasidan virus saqllovchi materialni qaysi usulda olishni bilasiz?

6. Viruslarning gemagglyutinatsiyalash xususiyati va ularni ishlatilishi hamda gemagglyutinatsiyalash mexanizmi haqida gapirib bering.

Uslubiy ko'rsatma

Shu mavzu yuzasidan ikki mashg'ulot o'tkazish maqsadga muvofiq bo'lib, mashg'ulot orasidagi vaqt bir necha kunni tashkil qiladi. Chunki talabalar bu vaqt ichida virus yuqtirilgan homilalarni ochib ko'rishga muyassar bo'ladi.

Yuqtirish uchun n'yukasl kasalligining B₁ shtammidan foydalanilsa, maksimal titrdagi virus inkubatsiyaning 5-kunida to'planadi va homila o'lmaydi.

Virus saqlovchi material sifatida 10 ml miqdorda allantois suyuqligi so'rib olinishi mumkin. Bu suyuqlik tiniq va biroz sariq rangda. Suyuqlik tarkibidagi virus GAR natijasida eritrotsitlardan katta ipir-ipir hosil qiladi. Virus vaksina bo'lgani uchun uni zoovetta'minotdan yoki parrandachilik xo'jaliklaridan olish mumkin. Har qanday vaziyatda ham uni tovuq homilalarida passaj qilinadi; mashg'ulotda 10^{-3} , 10^{-4} suyultirilganlari, 10^5 - 10^6 HYUM50 miqdordagilari ishlatiladi.

Yuqtirish usulini XAP o'rganish uchun kabutarlarning chechak virusi, N'yu-Djersi shtammidan foydalaniladi u ko'payishi natijasida homilani o'limga olib kelmasdan, XAP oq 2-3 mm diametrdagi chechakchalarni hosil qiladi.

Virusning 10^{-2} , 10^{-4} ChXB miqdorda suyultirilgani homilaga yuqtirilsa ko'rsatish uchun yaxshi natija olinib alohida chechakchalarni sanab kattaligi va shaklini kuzatish mumkin.

Tavsiya etilgan virus, vaksina uchun ishlatilib parrandalarning chechak kasalligidan spetsifik profilaktika qilish uchun keng qo'llaniladi.

Mashg'ulot uchun ovoskop o'rnida posilka yashigiga elektr lampasi o'rnatiladi faner qopqoq esa chetga surib qo'yiladi. Qopqoq qismida tuxumdan biroz kichik kattalikdagi teshik yasaladi. Bunday ovoskoplar o'rnida mikroskopning yoritgichidan ham foydalansa bo'ladi.

Ovoskopda qarash qorong'ilashtirilgan xonada olib borilib xona oynalariga qora parda o'rnatiladi.

Talabalarning ish joyi quyidagicha tashkil qilinadi. Har bir talaba oldiga emallangan kyuveta qo'yilib va uning tagiga 3-4 qavatli dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilgan salftetka to'shaladi. Kyuveta ichiga homila uchun shtativ va unga yaqinroq joyga spirtlampa qo'yiladi. O'ng tomonda yod qo'shilgan spirt quyilgan bankacha, uning ichiga sterillangan asboblari joylashtiriladi.

Ishlatishdan oldin bankadan chiqarilgan asboblari alangada yondiriladi va ishlatilib bo'lgach, yana bankachaga joylashtiriladi.

Talabalar doka yuzyopqichda ishlab, yuzyopqich har bir guruh ishlatgandan so'ng yuvilib sterillanadi. Tuxum po'chog'ida teshik ochish uchun zanglamaydigan po'latdan yasalgan diametri 0,4-0,5 sm uzunligi 9-10Cm teshgichdan foydalaniladi. Agar teshgich bo'lmasa tuxum po'chog'iga inyeksiya uchun ishlatiladigan rezina tiqinchaga kiritilgan № 18-20 igna bilan teshish ham mumkin.

Bunday ignalar ishlatilgach spirt solingan bankachaga botiriladi. Tuxum po'chog'ida teshik ochish uchun o'tkir uchli ko'z uchun ishlatiladigan qaychilardan foydalanilsa ham bo'ladi.

Tuxum po'chog'idagi teshikni yopish uchun parafin tayoqchalardan foydalanish qulay: parafinni biror idishda eritgach, 10 ml probirkalarga quyiladi.

Probirkani vertikal holatda parafin qotguncha tutib turiladi. So'ngra probirkani ustki qismigacha issiq suvga botiriladi va qog'oz ustiga parafin tayoqchasini tezda

silkitiladi. Hosil bo'lgan tayoqcha tuxum po'chog'idagi teshikni yopishda uzoq muddatgacha foydalaniladi.

Alanga ustida turgan tayoqcha tuxum po'chog'idagi teshikni yopish uchun ishlatiladi. Tuxum ustida tomchi shakldagi tezda qotgan parafin qoladi.

6-MAVZU

O'stirilgan hujayralar va ularni virusologiyada qo'llanilishi

O'stirilgan hujayra - ko'p hujayrali organizmdan olingan va sun'iy sharoitda organizmdan tashqarida alohida yashayotgan va ko'payayotgan hujayralardir. Hujayrani o'stirish usuli o'tgan asrning 40-yillaridan boshlab, muvaffaqiyat bilan rivojlana boshladi. Bunga antibiotiklarning ochilishi sabab bo'lib, o'stirilgan hujayraga bakterial infeksiyaning yuqishiga chek qo'yildi.

Xuang (1943) va Enders (1949) yilda viruslarni hujayralarda o'sishi natijasida hujayra strukturasini o'zgarishi ya'ni (sitopatik effekt) chaqirishini aniqladilar. Viruslarni hujayrada o'sishini va bu orqali virusni indikatsiyalash mumkinligiga va nihoyat Dal'bekko va Fogt (1952) tripsinlash usulini va bir qavatli hujayrani o'stirish usulini taklif etdilar. Virusologiya amaliyotida quyidagi o'stirilgan hujayralar ishlatiladi.

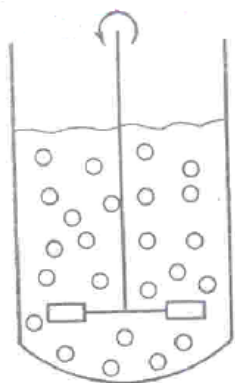
1.Birlamchi – tripsinda ishlov berilgan hujayralar

Organ yoki to'qimalardan olingan faqat bir qavat bo'lib o'sayotgan hujayralardir. O'stirilgan hujayralarni xoxlagan hayvon yoki odam organidan yoki to'qimasidan (homilasidan) tayyorlash mumkin. Iloji boricha homila to'qimalaridan yoki organlardan tayyorlansa, hujayralarning o'sish imkoniyati kuchli bo'ladi. Shuning uchun ko'pincha, yosh hayvonlardan buyrak, o'pka, teri, timus, homilaning testikulalari olib ishlatiladi. Birlamchi hujayrani olish uchun sog'lom hayvon so'yilgandan so'ng 2-3 soat o'tar-o'tmas tegishli organ va to'qimalari olinib kattaligi 1-4 mm gacha maydalanadi va tripsin, pankreatin, kollogenaza fermenti bilan ishlov beriladi.

Fermentlar hujayra oralig'idagi moddalarni buzib hujayralarni yakka holga keltiradi. Yakka holdagi hujayralarni oziq muhitga solinib 37°C o'stirishga qo'yiladi. Hujayralar probirka matras devorlariga yopishgan holda bo'lina boshlaydi.

Hujayraning o'sish davri bir necha fazalardan iborat: adaptatsiya, logarifmik o'sish statsionardagi va hujayraning eskirishi tufayli o'lishi. Hujayra o'sish davrida shishaning butun borlig'ini yopib olgandan so'ng bir-biriga tegishi natijasida bo'linishdan to'xtaydi. Idish ichiga bir hujayra qalinligida qavat hosil bo'lib, bunga bir qavatli o'sish deyiladi. (36-38 rasmlar).

Oziq muhiti hujayraning yashovchanlik vaqtida ajratib chiqargan mahsulotlar bilan ifloslanishi hisobga olinib, almashtirib turiladi. Bir qavatli o'sish o'zining yashovchanligini 7-21 kun davomida saqlab turadi. Viruslarni o'stirish uchun yosh o'stirilgan hujayralar ishlatiladi.



36-rasm. Mikrotashigichda hujayrani o'stirish.

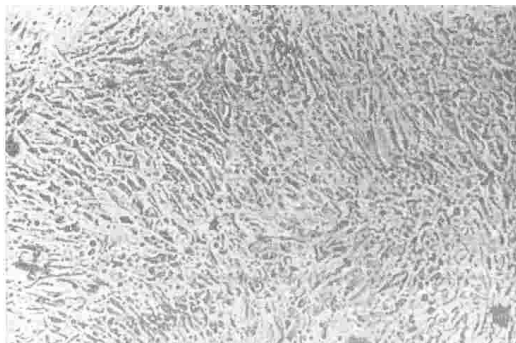
Subkulturalar - virusologiya amaliyotida birlamchi hujayralar o'stirilgan matraslarning shisha devoridan tripsin va versen yordamida ajratib olinadi va oziq muhitida qaytadan suyultirilib boshqa matras yoki probirkalarga ko'chirib ekiladi. 2-3 sutka mobaynida bir qavatli hujayra hosil bo'ladi.

Amaliyotda subkulturalar birlamchi o'stirilgan hujayralardan olinadi. Subkulturalar viruslarga sezgirligi jihatidan birlamchi o'stirilgandan qolishmaydi, undan tashqari ular tejamli bo'lib, hujayralarni virus bilan kontaminatsiyalashi mumkin. Subkul'turalar 2-5 passajdan keyin ayrim holda 8-10 passajdan so'ng olinadi.

Keyinchalik passaj qilish natijasida hujayraning shakli o'zgarishi va so'ngra o'lishi mumkin. O'stirilgan hujayralar 10 marta passaj qilingandan so'ng chirmashib o'suvchi to'qimalarga o'tish bosqichida bo'ladi.



37-rasm. Qo'y homilasining o'pkasidan tayyorlangan birlamchi o'stirilgan hujayra.



38-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlangan birlamchi o'stirilgan hujayra.

Chirmashib o'suvchi to'qima kultu'ralari - Bu hujayralar organizmdan tashqarida uzoq muddatgacha ko'payish qobiliyatiga ega. laboratoriya sharoitida ularni saqlash uchun bir idishdan ikkinchi idishga ko'chirib ekish tufayli saqlab, oziq muhit har doim yangisiga almashtirib turiladi.

O'sishda yuqori aktivlikka ega bo'lgan, ma'lum bir tartibda uzoq muddat ko'chirib o'tkazilgan birlamchi o'stirilgan hujayralardan chirmashib o'suvchi to'qima kul'turalari tayyorlanadi. Yangi hujayra qatoridagi chirmashib o'suvchi to'qima kul'turalarini kelib chiqish mexanizmini hujayraning genetik o'zgarishi natijasida yoki ayrim hujayralarni seleksiyalanishida- birlamchi tayyorlangan hujayra tarkibida bor bo'lgan hujayra deb tushuntiriladi.

Chirmashib o'suvchi to'qima bir xil shaklda bo'lib, o'sishi hatto ayrimlari onkogen aktivlikka ham ega. Chirmashib o'suvchi to'qimaning onkogen aktivlikka ega bo'lish xususiyati, viruslarni o'stirib vaksina tayyorlash vazifasini cheklaydi.

Chirmashib o'suvchi to'qima hujayralarini sog'lom hayvonlar to'qimasidan yoki zararli shish to'qimalaridan tayyorlash mumkin. Bularning ichida quyidagi qatordagi hujayralar keng ishlatiladi:

HeLa – (ayollar bachadonining bo'yin qismi hujayrasidan, rak kasalligida);

Hep – 2 (odam qizil o'ngachining karsinomasida) (39 rasm);

KB – (og'iz bo'shlig'ining rakida);

BNK – 21 (yangi tug'ilgan xomyakchalar buyragida);

PPES – (pervivaemaya pochka embriona svin'i) cho'chqa homilasining o'suvchi buyragi;

PPT (pervivaemaya pochka telyonka) chirmashib o'suvchi cho'chqa buyragi;

PPO (pervivaemaya pochka ovets) chirmashib o'suvchi qo'y buyragi;

TR (iz slizistoy traxei korov) sigir traxeyasining shilimshig'i;

L (mishinie fibroblasti) sichqon fibroblastlari;

COS (iz serdsa obezyani sinomolgus) sinomol'gus maymunning yuragidan va boshqalar.

Chirmashib o'suvchi emlanadigan hujayralarning bir qator afzallik tomonlari bor:

Ularni tayyorlash deyarli oddiy, mehnat va moddiy vositalar tejiladi;

Bu kul'turalarni oldindan latent virus yoki mikroflora borligiga tekshirish mumkin;

Klon liniyalari o'sishi uchun standart sharoit bilan taminlaydi, birlamchi hujayralarda esa hujayralarning aralash populyatsiyasi mavjud.

Birlamchi kulturalarga nisbatan ko'pchilik chirmashib o'suvchi hujayralar viruslarga keng spektrda sezgir. Ammo chirmashib o'suvchi hujayralarning kelib chiqishidan va viruslarga sezgirligining kamayishidan qat'iy nazar, zararli shish qatoridagi chirmashib o'suvchi hujayralardan foydalanish zarur.

Chirmashib o'suvchi hujayralarni har doim qayta ekib turish tufayli saqlab turiladi. Ko'pchilik holda sentrifugasiz usuldan foydalaniladi.

Navbatdagi ko'chirib ekish 2-3 kunlik kul'turani yaxshi qavatidan olish uchun oziq muhit to'kib tashlangach, hujayra qavatini 35-37°C qizdirilgan 0,02% - versen eritmasi bilan yopiladi.

Versenni dispergiyalash ta'siri Mg^{++} , Ca^{++} ikki valentli kationlari hujayrani shishaga yopishishini yaxshilab, hujayraning butunligini ta'minlaydi.

Versen ta'sirida hujayralar yumaloqlanib, shisha devoridan ajrala boshlaydi. Hujayra yumaloqlangandan so'ng 10-15 daqiqa o'tgach versen quyib olinib, 1 litrli matrasda 10-15 ml 0,1 litrlida 2-3 ml qoldiriladi va 5-10 daqiqa vaqti-vaqti bilan chayqatilib tutib turiladi, so'ngra bir oz miqdordagi oziq muhitdan solinadi.

Hujayra oziq muhitida aralashtirilgach, Goryaev to'rida sanaladi. 1 ml 80-200 ming miqdordagi hujayra oziq muhit bilan aralashtirilib, probirka va matraslarga

quyilib rezina tiqin bilan yopiladi, so'ngra 37°C 3-4 kun termostatda to'lasincha bir qavat hujayra hosil bo'lguncha o'stirish uchun qo'yiladi.

Ko'pchilik holda Goryaev to'rida hujayrani sanamasdan 1:2, 1:6 koeffitsientda ekiladi bu holda hujayraning turi inobatga olinadi.

Oziq muhitning tarkibi hujayraning turiga bog'liq bo'lib, ko'pincha chirmashib o'suvchi hujayrani o'stirish uchun lgla muhiti, 199 yoki gidrolizat laktalbuminidan foydalaniladi.

Chirmashib o'suvchi hujayralarni tartibli ravishda qaytadan ekish uchun laboratoriyada bir matrasni doimo saqlab turilib, avvalgi ekish yaroqsiz bo'lgan holda hujayrani ushbu matrasdan olib ekiladi.

3.Diploidli hujayra kulturasi - Hujayra kulturasi bo'yicha xalqaro komitet diploidli hujayralarni quyidagicha ta'riflaydi – hujayra populyatsiyasi morfologik bir xil bo'lgan in vitro - o'stirish jarayonida moslashgan, cheklangan hayotiychanlikka ega, uch fazada o'sishi, passaj natijasida kariotipni saqlab qoluvchi, olingan to'qimaga o'xshash kontaminantlardan ozod va xomyakchalarda transplantatsiyalashda tumorogen aktivlikka ega bo'lmagan hujayralardir.

Diploidli hujayra kul'turasini ham chirmashib o'suvchi hujayralardek, birlamchi o'stirilgan hujayradan olinadi. Hujayra kariotipi juda labil bo'lib, oddiy usullarda o'stirilganda birinchi kundanoq o'zgaradi. Shuning uchun to'qimaga ishlov berishda maxsus usullardan foydalanish talab qilinadi.

Diploid holatida in vitro hujayrani uzoq vaqt saqlab turish uchun yuqori sifatga ega bo'lgan oziq muhitlardan foydalaniladi.

Bu vazifani amerikalik olimlar Xeyflik va Murxed (1961) birinchi bo'lib muvaffaqiyatli echdilar. Diploidli hujayralar (o'pka, buyrak, teri-muskul to'qimasi, yurak va boshqalar) odam homilasining har xil to'qimalaridan olingan bo'lib, yirik shoxli hayvon homilasining buyragidan, cho'chqa, BHK-21 xomyakchalarning buyragi va boshqalardan tayyorlanadi.

Diploid hujayralarni chirmashib o'suvchi hujayralardan farqi shuki ularda passaj qilish cheklangan.

Maksimal passaj qilish soni 50 ± 10 bo'lib so'ngra bo'linadigan hujayralar soni birdan kamayib, so'ngra o'ladi.

Ammo diploidli hujayralar uzoq muddat ishlatilishi mumkin, chunki har bir passajda hujayralarni qisman minus 196°C muzlatilib, kerak bo'lgan taqdirda yana qaytadan tiklash mumkin. Diploidli hujayralarni chirmashib o'suvchi va birlamchi hujayralarga nisbatan ustunligi bor:

Oziq muhitni almashtirganda ham ular 10-12 kun yashovchanlik holatini saqlab qoladi;

Haftada bir marta oziq mihit yangilanadi, 4 haftagacha yashovchanlik holatini saqlab turadi; shu to'qimaga nisbatan sezgirliги saqlanib qolgan viruslasrni uzoq vaqtgacha o'stirish uchun yaroqli hisoblanadi.

Suspenziyali hujayra kulturasini.

1953 yilda Ouens xodimlari bilan hujayraning suspenziyali holatda erkin ko'payish xususiyatlarini ko'rsatdi.

So'ngi yillarda bu usul bir necha bor takomillashtirildi: mukammal belgilangan (harorat, pH, almashtirish tezligi) parametrli zamonaviy apparatlar ixtiro qilindi ko'p liniyadagi chirmashib o'suvchi hujayralar shu sharoitda BHK-21, Hep-2, MDBK ko'payishga moslashtiriladi.

Suspenziyali kulturalarda viruslarning o'stirilishi ishlab chiqarish sanoatida vaksina va diagnostikumlarni tayyorlash mumkinligini isbotladi.

Lekin faqatgina chirmashib o'suvchi hujayralar suspenziyada yaxshi o'sadi. Suspenziyada hujayralarni o'stirish yangi yo'nalish bo'lib (sefadeks, silikagel, sitolar va boshqa) mikro tashigichlar ishlatila boshlandi. Mikrotashigichlarda o'stirilayotgan hujayralar (monosloy) bir qavat hosil qiladi.

Shunday qilib suspenziyali o'stirish usulida qattiq substratda yopishgan holda: birlamchi, subkultura, diploidli hujayralar parvarish qilinadi.

Bunday hujayralarni yuzaki-qaram bo'lganlar deb atash qabul qilingan.

Mikrotashigichlarda o'stirish uslubi hozirgi paytda juda ham mashxur bo'lib hujayra, biotexnologiyasida, vaksina yoki boshqa biologik aktiv moddalar (interferon, gormonlar va boshq.) olishda katta yo'nalishni tashkil etadi.

Hujayra kulturasini saqlash

Virusologiya tekshiruvlarida qo'llaniladigan asosiy uchta turdagi hujayra kulturasini – birlamchi kultura, diploidli shtammlar va chirmashib o'suvchi qatorlari ko'p holda konsepvatsiyalashga to'g'ri keladi, chunki uzoq muddat in vitro passaj qilinishi tufayli bakteriyalar bilan ifloslanishiga va hujayrani nazorat qilib bo'lmaydigan o'zgarishlarga olib kelishi mumkin.

O'stirilgan hujayralarni koservatsiyalashning eng oddiy usuli 4°C 1-6 haftacha saqlab turish hisoblanadi. Hujayra shtammlarini saqlashda (minus 78°C) quruq muz yoki (minus 196°C) suyultirilgan azot muvaffaqiyatli qo'llanilmoqda.

Buning uchun hujayralar matrasdan ajratilib 10⁶ konsentratsiyagacha 1 ml oziq muhitda aralashtiriladi. Himoya vazifasini o'tovchi 10-40% zardob va 10% tozalangan steril glitserin (glitserin o'rniga DMCO- dimetilsul'foksid) ishlatilishi mumkin.

So'ngra hujayra suspenziyasi ampulalarga quyilgach, kavsharlanadi, 4°C 1-3 soat tutib turilgach hujayralar etil spirti aralashtirilgan quruq muz bilan muzlatiladi. Sovitish tezligi 1 daqiqaga 1°C dan oshmasligi kerak.

Haroratni minus 25°C pasaytirgach ampulalarni saqlash uchun quruq muzga joylashtiriladi.

Agar saqlash uchun quruq azot ishlatilsa u holda hujayra solingan ampula minus 70°C sovutilib so'ngra suyuq azotga qo'yiladi.

Suyuq azotda hujayralarni bir necha yil saqlanishi ularning proliferativ aktivligini, viruslarga sezgirligini o'zgartirmaydi. Muzlatilgan hujayralar solingan ampula tezlik bilan suv hammomiga 1-2 daqiqaga solinib, engilgina silkitilib turiladi, so'ngra hujayralarni matrasga quygach, ma'lum miqdordagi o'stiruvchi muhit qo'shilib termostatda 37°C da o'stirish uchun qoldiriladi.

Glitserinni yoki DMCO ajratish uchun hujayra ekilganining ertangi kuni oziq muhit almashtiriladi.

Hujayralarni transport orqali yuborishda matrasda o'sgan bir qavat hujayra ustiga qo'shimcha oziq muhitdan quyilib, so'ngra rezina tiqin bilan yopiladi.

Laboratoriyada oziq muhit quyib olinib, shu hujayralarni o'stirishda qo'shimcha oziq muhit sifatida ishlatiladi. Hujayra suspenziyasini 4°C tashuvchi orqali yuborish mumkin.

Qizdirish va muzlatish bo'lmaganda transport orqali yuborish vaqtida 80-90% hujayralar yashovchanligini 7-8 kungacha saqlab qoladi.

O'stirilgan hujayralar bilan ishlashda foydalaniladigan idishlar mukammal tozalanadi, eritmalarini, bunda oziq muhitni va yuqori sifatli suvning toza bo'lishi talab qilinadi.

Eritmalar. Har xil tuz va glyukoza qo'shilgan Xenks va Erla eritmalarini bidistillangan suvda tayyorlab hujayralarni o'stirishda keng qo'llaniladi.

Xenks eritmasi: 1 l bidistillangan suvga 8,0 NaCl; 0,4 KCl; 0,1MgSO₄·7H₂O; 0,14 CaCl₂; 0,06 KH₂PO₄; 0,06 Na₂HPO₄; 1,0 glyukoza; 0,02 fenolrot; 0,07 NaHCO₃ qo'shiladi.

Erla eritmasi: 1 l bidistillangan suvga 6,8 NaCl; 0,4 KCl; 0,1 MgSO₄; 0,2 CaCl₂; 0,125 NaH₂PO₄; 2,2NaHCO₃; 1,0 glyukoza qo'shiladi..

Bu tenglashtirilgan tuzli eritmalar barcha oziq muhitni tayyorlashda ishlatilish mumkin, chunki ular pH tutib turishini ta'minlab, hujayralarga kerakli bo'lgan anorganik moddalarni tegishli konsentratsiyada saqlab turadi.

Bulardan tashqari ular o'stirilgan hujayralarda har-xil vazifalarni bajarishda (o'stiruvchi muhitni yuvishda virusni suyultirishda) foydalaniladi. Hujayralarni o'stirishda dispergiyalovchi tripsin va versen eritmaları ishlatiladi. Tripsin eritmasi (0,25% fosfat bufer eritmasida) to'qimani alohida bo'lakchalarga ajratishda, shisha yuzasiga yopishgam hujayralarni alratib olishda foydalaniladi.

Versen eritmasi. Etilendiamintetrauksus kislota (0,02% - Xenks eritmasida) shisha yuzasidan hujayrani ajratishda ishlatiladi. Barcha eritmalar tegishli rejimda sterillanadi.

Oziq muhitlar. Bir-biridan farq qiluvchi tabiiy va sun'iy (sintetik va yarimsintetik) oziq muhitlar bor.

Tabiiy muhitlar tuzli eritmalar aralashmasidan iborat bo'lib (Xenks, Erla), qon zardobi (odam va hayvon), to'qima (homila) ekstrakti (tovuq homilasi, odam homilasi) sigirning amnion suyuqligi va h.k. har bir komponentning soni har xil muhitning aralashmasida har xil bo'lishi mumkin. Bu muhitlar kamdan-kam ishlatiladi.

Hozirgi paytda, asosan, sun'iy muhitlar ko'p ishlatiladi. Yarim sintetik oziq muhitlarga fermentativ gidrolizatlar va har xil oqsilli maxsulotlar kiradi:

Laktal'bumin gidrolizati, muskul fermentativ gidrolizati, fermentativ-kazeinli achitqi gidrolizati, gemogidrozatning 5% va 2,5% eritmasi virusologiya amaliyotida keng qo'llaniladi.

Sintetik muhitlardan eng ko'p qo'llaniladigani 199 muhit va Igla muhiti bo'lib, 199 muhitining tarkibi 60 dan ortiq komponentdan iborat:

20 aminokislota, 17 vitamin, nuklein kislota komponentlari, lipidlar manba'lari, 8 mineral tuz va boshqa moddalardir. Igla muhitining tarkibi ham 60 komponentdan kam emas, chunki tarkibida aminokislotalar, vitaminlar, uglevodlar va boshqalarni saqlaydi.

Barcha oziq muhitlar va ayrim tuzli eritmalarda vodorod ionining konsentratsiyasini (pH) aniqlash uchun (0,002%) fenol qizil indikatoridan qo'shiladi. U yuqorida ko'rsatilgan aralashma holida hujayra va viruslarga zaharli ta'sir ko'rsatmaydi.

pH pasayishi natijasida muhit sarg'ayadi bu esa metabolizm maxsulotlari bilan oksidlanganidan dalolat berib oziq muhitni almashtirishni talab qiladi. Eritmadagi pH ishqoriy tomonga o'tishi qizil-malina rangini eslatadi. pH neytral bo'lsa (7,2-7,4) muhitning rangi to'q-sariq-qizil bo'ladi. Tuzli eritmalarda va oziq muhitlarda pH nazorat qilib tenglashtirib turish uchun 7,5% NaHCO₃ natriy bikarbonat va CH₃COOH uksis kislotasining 3% eritmasi ishlatiladi.

Mikroorganizmlarni yo'q qilish uchun oziq muhitni ishlatishdan oldin antibiotiklardan penitsilin va streptomitsin 100 birlik/ml qo'shiladi.

Zamburug'larni o'sishini to'xtatish uchun nistatinning natriyli tuzidan 1ml oziq muhitga 100 mkg qo'shiladi.

Barcha oziq muhitlarni ikki guruhga bo'lish qabul qilingan:

a) o'stiriluvchi, hujayra yashovchanligini tamin'lovchi, tarkibida 2-10% qon zardobini saqlab, hujayrani o'stirishning birinchi kunlari ishlatiladi.

b)Quvvatlab turuvchi, hujayraning ko'payishiga aloqador bo'lmay, hayotiychanligini taminlovchi, lekin tarkibida qon zardobini saqlamaydigan o'stiruvchi oziq muhitning doimiy komponenti bo'lib, yirik shoxli hayvonlarning qon zardobi hisoblanadi. Uning tarkibiga qator biologik aktiv hujayrani in vitro o'stirish uchun kerak bo'lgan moddalar kiradi. Zardob tarkibidagi aktiv bo'lgan albumin va fetuin fraksiyalari shisha yuzasida hujayraning yopishishini ta'minlaydi. Amaliy ishda go'sht korxonalarida yirik shoxli hayvonlardan olingan zardob ko'p ishlatiladi. Hujayrani o'stirish uchun eng yaxshisi sigir homilasining zardobi hisoblanadi.

Zardobni olishda sterilikka qat'iy e'tibor berish kerak. O'stirilgan hujayraga aloqador har bir zardobning seriyasi sterilligi va zaharli xususiyati to'g'risida nazoratdan o'tkaziladi.

Idishlar Organizmdan tashqarida hujayrani o'stirish uchun ishlatiladigan idishlarning sifati katta ahamiyatga ega.

Idishlar steril, yog'sizlantirilgan bo'lib, zaharli xususiyatga ega bo'lmasligi kerak. Hujayralarni o'stirish uchun probirkalar 50,100,250, 500, 1000, 1500 ml, matraslar 500, 1000, 2000 ml roller kolbalari, har xil pipetkalar, oziq muhitlar va eritmalar uchun flakonlar, har xil hajmdagi kolbalar, voronkalar kerak bo'ladi.

Idishlarga ishlov berishning ko'p usullari bo'lib, har qaysi laboratoriya shu usullardan tejamli, yaxshi natija beruvchisini qo'llaydi.

Hujayrani o'stirishda, idishlarni kolbalarni tayyorlash va sterillash ishiga katta talab qo'yiladi.

Ko'pchilik holda idishlarni yuvish, sterillashni noto'g'ri tashkil etish shisha yuzasiga hujayraning yopishmasligi yoki bir qavatli hujayralarning buzulishiga sababchi bo'ladi.

Idishlarga ishlov berishda og'ir metallarning zaxarli tuzlariga hujayraning sezgirligini inobatga olish zarur.

Hujayra bilan muvaffaqiyatli ishlash uchun suvning sifatiga alohida e'tibor beriladi. Idishlarni chayqash uchun distillangan, yaxsisi ikki marta distillangan yoki ionsizlantirilgan, elektr o'tkazuvchanligi $2 \cdot 10^{-6}$ om/sm pH 6,2-6,8 bo'lgan suv ishlatiladi. Shisha idishlariga ishlov berish bir necha bosqichlardan iborat bo'lib:

1.infeksiya bilan ifloslangan idishni 2-3% NaOH eritmasida 5-6 soat botirib qo'yiladi;

2.suv bilan 3-4 marta chayib tashlanadi;

3.kechasi bilan 0,3-0,5% "Lotos", "Losk" yoki B markadagi sovun kukuniga ivitib qo'yiladi;

4.iliq "Lotos", "Losk" eritmasida va sim cho'tka yordamida yaxshilab yuviladi;

5.8-10 marta suv bilan chayqab tashlanadi;

6.0,5% HCl saqlovchi distillangan suv bilan chayqab tashlanadi.

7.4-5 marta suv bilan chayqab so'ng 3 navbat distillangan suv bilan chayqaladi;

8.qurutish shikafida quritiladi;

9.qurutish shkafida (rezina tiqindan tashqari) 180°C 3-4 soat sterillanadi yoki 2 atm, 1,5-2 soat avtoklavlanadi.

Yangi idishlar sovunli iliq suvda yuvilib, suv bilan chayqaladi va 3 soat xrompikga botiriladi, 9 soat davomida oqayotgan suvda yuvilgach, distillangan suvda bir necha marta yuvilib, quritiladi va sterillanadi. Oldindan ishlatilib kelingan eski idishlarga xrompik bilan 1 soat davomida ishlov beriladi.

Yangi rezina tiqinlar 1 soat mobaynida 5% sodaga qo'shib qaynatiladi, so'ngra issiq suv bilan yuviladi va 1 soat distillangan suvda qaynatilib, shu vaqt ichida distillangan suv olti marta almashtiriladi.

Ishlatilgan tiqinlar avtoklavlanadi yoki 1 soat mobaynida qaynatiladi. Chotka bilan tozalab bir necha marta, yuvilgach distillangan suvda bir marta chayiladi. So'ngra distillangan suvda 1 soat mobaynida qaynatilib, 3 marta distillangan suv bilan yuvilgach avtoklavda sterillanadi.

Metall instrumentlar sovun qo'shilgan issiq suvda yuvilib so'ngra suv bilan, undan keyin esa distillangan suv bilan yuviladi, distillangan suvda 30 daqiqa mobaynida qaynatib sterillanadi.

Steril boksda ishlash vaqtida instrumentlar 96°-etil spirtisolingan stakanda saqlanadi, ishlatishdan oldin instrumentlar spirtlampa alangasida qizdiriladi. Hozirgi paytda biron-bir virusologiya laboratoriyasi o'stirilgan hujayrasiz ishlay olmaydi. Laboratoriya hayvonlari, tovuq homilasiga nisbatan o'stirilgan hujayralar quyidagi afzalliklarga ega:

- o'stirilgan hujayralarni barchasiga virisni yuqtirish tufayli oqsil ballastlarsiz yuqori konsentratsiyadagi virus saqlovchi materialni olish mumkin;

- yuqimli jarayonni doimo nazorat qilib kuzatish mumkin;

- o'stiruvchi suyuqlik holatida virusni tayyor suspenziyasini olish mumkin;

- zamburug' va bakteriyalarga nisbatan o'stiruvchi suyuqlikni to'lasincha sterilligi saqlanadi;

- yuqtirish usuli oddiy bo'lib, virus saqlovchi materialni olish oson;

- nisbatan arzon;

- o'stirilgan hujayra –viruslarni o'stirish uchun qulay bo'lgan laboratoriya sistemasi hisoblanadi. Virusologiya amaliyotida o'stirilgan hujayralarni, viruslarni birinchi bor uchratishda, patologik materialdan ajratib olishda, viruslarni bir joyga to'plab vaksina va diagnostikumlar tayyorlashda, virus shtammlarini laboratoriyada saqlab turishda, viruslarni titrlashda neytrallash reaksiyasini qo'yishda, test-ob'ekt sifatida ishlatiladi.

Virusni muvaffaqiyatli ajratib olish uchun quyidagi qoidaga rioya qilish zarur:

1) Ishlatilayotgan hujayra, o'rganilayotgan virusga sezgir bo'lishi kerak. Hujayralar yosh hayvonlardan (homilidan) olingan bo'lsa virusga sezgirligi katta bo'ladi;

2) Yuborilayotgan virus eski bo'lmasdan, uzoq saqlanmagan bo'lishi kerak. Aktivligi yoqotilgan virus populyatsiyasi virusning virulent bo'lakchalarining ko'payishini to'xtatadi.

Viruslarni viruletnligi ma'lum bir suyultirish tufayli navbatma-navbat o'tkaziladigan seriyali passaj tufayli oshadi;

3) Virusni hujayraga yuqtirishda aniq nisbatda tenglashtirib o'stirilib boriladi. 10mln hujayraga 10^6 - 10^4 TST₅₀ o'rtacha kattalikda tavsiya etiladi;

4) Virus hujayraga o'rnashib adsorbsiyalanib olgandan song quvvatlab turuvchi muhitdan qo'shiladi.

Ko'pincha 22-37°C 1-2 soatdan so'ng amalga oshishi virusga ko'pdan-ko'p bog'liq. Bir qavat hujayralarda virusni bir tekisda yuqtirish lozim;

5) Viruslarning ko'payishi uchun optimal harorat 36-38°C. Iliq muhitda erkin holda virusning bo'lishi uning aktivligini yoqolishiga olib keladi. Virusning 75% sitopatogen ta'sir ko'rsatganini olish maqsadga muvofiq.

Viruslarni o'stirilgan hujayralarda o'stirish

O'stirish uslubi quyidagilardan iborat:

1) o'stirilgan hujayrani tanlash;

2) virus saqlovchi materialni olish;

3) yuqtirish uchun tayyorlash;

4) virus saqlovchi materialni hujayraga yuqtirish;

5) hujayrada viruslarni o'stirish;

6) o'stirilgan hujayrada virusni indikatsiyalash;

7) o'stiruvchi suyuqlikni to'plab u erdagi virusni identifikatsiyalash

O'stirilgan hujayrani tanlash - Har xil hujayralar istalgan virusga sezgir emas. Viruslarni birlamchi o'stirilgan hujayralarga moshlashuvi, ushbu virusga sezgir bo'lgan hayvon organidan tayyorlangan bo'lsa muvaffaqiyatli bo'ladi. Ammo chirmashib o'suvchi hujayralarga viruslarning moslashuvi murakkab bo'lib, ko'pchilik holda amalga oshmaydi. Ayrim viruslarni o'stirish uchun hozirgi kungacha o'stirilgan hujayralardan foydalanish mumkin bo'lmasdan kelmoqda.

Viruslarni o'stirish uchun yosh hujayralar ishlatiladi, birinchi kundanoq ayrim hollarda (cho'chqalarning parvoviruslarida) hujayrani ekish jarayonida virus yuqtiriladi, chunki bo'linib ko'payayotgan hujayrada viruslar ham samarali ko'paya boshlaydi.

Hujayraga yuqtirish –Buning uchun bir qavat hujayra hosil qilingan probirka, matras mikroskopning kichik kattalashtirgichida qarab ko'rilgach, tanlab olinadi. O'stiruvchi oziq muhit quyib olinadi, so'ngra hujayrani zardob antitelolari va ingibitorlaridan ajratish uchun 1-2 marta Xenks eritmasi bilan yuviladi.

Har bir probirkaga 0,1-0,2 ml virus saqlovchi material quyilib, hujayra yuzasiga bir tekisda tarqatib chiqiladi. Shu holatda probirkalar matraslar 1-2 soat davomida 22-37°C hujayra yuzasiga virus adsorbsiyalanishi uchun qoldiriladi.

So'ngra virus saqlovchi materialni probirka, matrasdan quyib olinib quvvatlab turuvchi muhitdan probirkalarga 1-2 ml matras hajmining 10% miqdorida quyiladi. Patologik materialdan virusni ajratib olishda ayrim namunalar (fekaliy va boshqa.) hujayraga zaharli ta'sir ko'rsatishi mumkin, shuning uchun virus bir qavatga so'rilgandan so'ng Xenks eritmasi yordamida 1-2 marta yuvib tashlanib, so'ngra quvvatlab turuvchi muhit quyiladi.

Virislarni o'stirish –Probirkalar, matraslar rezina tiqin bilan mustahkam yopilgach inkubatsiya uchun 37°C termostatga qo'yiladi.

Hozirgi paytda statsionarda viruslarni inkubatsiyalash keng qo'llanilmoqda. Bunday sharoitda matraslar gorizontal holatda joylashtiriladi, probirkalar 5° burchak ostida yotqizilib hujayra monosloyi oziq muhit tagida turishi kerak.

Bir qator laboratoriyalarda virus yuqtirilgan hujayralar aylanadigan Roller sistemasida inkubatsiyalanadi. Bunday statsionar usuldan foydalanish tufayli virusni yuqori titrda o'stirib ko'p miqdorda olish mumkin. Materialning har bir namunasiga 4-10 probirkadagi o'stirilgan hujayra kerak bo'ladi.

Nazorat qilish uchun 4-6 probirkada yuqtirilmagan hujayra qoldirilib ularning o'stiruvchi muhitini quvvatlab turuvchi muhitga almashtiriladi.

Virus yuqtirilgan hujayralarning oziq muhitini 7-kun davomida almashtirilmasa ham bo'ladi, oziq muhitni pH (6,9-7,4) 7,5% natriy bikorbonatning eritmasi yordamida tutib turish mumkin.

Adenoviruslar yuqtirilgan hujayralar uzoq muddat o'sishi sababli oziq muhit almashtiriladi.

Barcha probirka, matraslardagi hujayralarga virus yuqtirilgandan so'ng har kuni mikroskopning kichik kattalashtirgichida hujayrani taqqoslab ko'rib turish uchun virus yuqtirilgan nazoratdagi hujayralar tekshirib boriladi.

Termostatda, hujayraga adsorbsiyalangan virus bo'lakchalarining hujayra ichkarisiga kirishi natijasida ularning reproduksiyalanishi boshlanadi.

Hujayra ichida hosil bo'lgan yangi virus bo'g'inchalari to'lasincha yoki qisman hujayradan ajralib chiqadi. So'ngra jarohatlanmagan yangi hujayralarga kirib u erda reproduksiyalanadi va ularni ham zararlantiradi. Bunday holat zararlانmagan hujayra qolmaguncha davom etaveradi.

Bu jarayonda probirkadagi, matrasdagi hujayralar virus bilan zararlanadi. Ammo absolyut barcha hujayralar virus bilan zararlanadi, deb aytishimiz mumkin emas.

Viruslar o'stiruvchi suyuqlik tarkibida to'planib, ayrim virionlar virus buzib chiqmagan hujayra ichida qolishi mumkin.

Hujayra tarkibida qolgan virusdan ajratish uchun, hujayrani bir necha bor 2-3 marta muzlatilib so'ngra eritish tufayli yoki ultratovush yordamida ajratib olinadi.

O'stirilgan hujayralarda virusni indikatsiyalash

O'stirilgan hujayrada virusni indikatsiyalashning quyidagi asosiy usullari mavjud:

Sitopatik effekt yoki sitopatik ta'sir (SPE, SPT) bo'yicha; GADR musbat bo'yicha;

Toshma (blyashka) hosil bo'lishi bo'yicha;

Hujayra ichidagi kiritmalarni uchratish; IFR imminofluoressensiya reaksiyasi yordamida virusni ko'rish; viruslarning interferensiyasini ko'rish;

Hujayra metalbolizmini o'ziga bo'ysindirmoq (rangli namuna);

Elektron mikroskop va boshqalar bo'yicha.

SPT. O'stirilgan hujayralarda virusni ko'payganligini ko'pchilik holda sitopatik effekt yoki sitopatik ta'sirga binoan aniqlanadi.

SPT deb o'stirilgan hujayrada viruslarning ko'payishi tufayli sodir bo'lgan har qanday o'zgarishga aytiladi.

Fiziologik yo'l bilan hujayradagi o'zgarishni aniqlash ancha qiyin bo'lib, morfologik o'zgarishlarni uchratish ancha oson. Buning uchun mikroskopning buyum stolchasiga, probirka, matrasdagi yuqoriga qaratilgan hujayra yuzasini mikroskopning kichkina kattalashtirgichida (ob'ektiv 8-10, okulyar 7-10) qarab ko'riladi.

Probirkadagi virus yuqtirilgan hujayra bilan solishtirib ko'rish maqsadga muvofiq. Virus yuqtirilgan probirkadagi hujayrada har qanday o'zgarishning, nazoratdagi probirkadagi hujayraga nisbatan paydo bo'lishi SPT yuzaga kelishi deb tushuniladi.

Bu farq barcha yuzadagi hujayrani egallab olishi natijasida yoki normadagi hujayra yuzasida uncha katta bo'lmagan o'choqchalarga o'xshash holdagi ko'rinishni o'z ichiga oladi.

SPT- intensivligi hujayra qavatining qaysi qismi viruslar tomonidan o'zgartirilganligi bilan ifodalanadi.

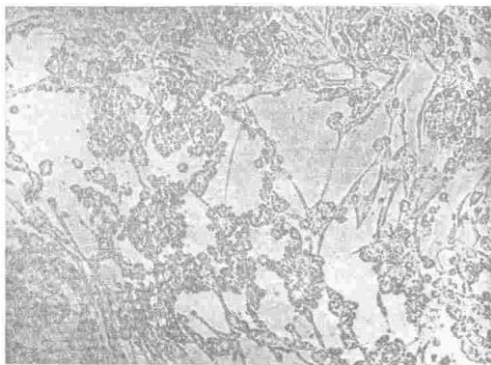
SPT-umum qo'llaniladigan baholash sistemasi yo'q bo'lib uni ko'pchilik holda nishonlar yoki ballar bilan baholanadi. Probirkadagi, matrasdagi bir qavat o'stirilgan hujayrani nazoratdagi o'zgarishga SPTni to'rt nishonga, agar 3/4 -uch

nishonga. Agar 1/2 ikki nishonga, 1/4 -bir nishonga baholanadi. Lekin bu shartli baholash hisoblanadi.

SPT-shakli virusning biologik xususiyatiga hujayraning turiga, yuqtirish miqdoriga, o'stirish sharoitiga bog'liq. Ayrim viruslar yuqtirilgandan keyin (enteroviruslar) 2-3 sutkadan so'ng, adenoviruslar 1-2 haftadan so'ng SPT hosil qiladi.

Bir qator mualliflar SPT o'xshash shakllarni guruhlashga urinib ko'rdilar. Ayrimlarida 23 shakl, boshqalarida 11, uchinchisida 5 shakl bo'lib chiqdi.

SPT bir-biridan tubdan farqlash uchun uch shakl: hujayraning fragmentlanishi, hujayraning yumaloqlanishi, simplast hosil qilishdan iborat (40-41-rasm)



40-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlangan hujayraga yirik shoxli hayvonlar adenoviruslarning sitopatik ta'siri.



41-rasm. qo'y homilasining o'pkasidan tayyorlangan hujayralarga qo'ylar dachechak kasalligini chaqiruvchi virusning sitopatik ta'siri

Fragmentlanish- hujayralarning bo'lak-bo'lak fragmentlarga bo'linib ketishi natijasida shisha devoridan ajralib, o'stiruvchi suyuqlik tarkibiga hujayra detritiga o'xshab o'tib ketishi (vezikulyar stomatit kasalligining virusi).

Yumaloqlashish – hujayraning shisha devoriga yopishish qobiliyatini yo'qolishi natijasida hujayra shisha devorining ustida sharsimon shaklga ega bo'lib, shishaning alohida ajralishi tufayli o'stiruvchi suyuqlik yuzasida erkin suzib yuradi va so'ngra o'ladi (enteroviruslar, adenoviruslar va boshq.).

Simplast hosil qilish - hujayra qobig'ining erib ketishi natijasida qo'shni hujayra sitoplazmalari qo'shib ketib, yagona butunlik hosil qiladi, bu holda hujayra yadrosi bir chetga joylashgan bo'ladi.

Bunday ko'p yadroli sitoplazmatik massani paydo bo'lishi (gigant ko'p yadroli) simplast deyiladi.

Ularning paydo bo'lishi ikki xilda tushintiriladi: viruslarning ta'siri natijasida hujayralarning bo'linish jarayoni buziladi bu hol ayrim viruslarda letsitinaza fermentining saqlanishi tufayli hujayra qobig'iga yaqin joylashgan sitoplazma qo'shib ketadi.

Hujayrada SPT ko'pchilik viruslarni o'stirilgan hujayralarda indikatsiyalashda keng qo'llaniladi.

Ammo ayrim viruslar o'stirilgan hujayralarda ko'payib SPT ko'rsatmaydi, bularga quturish virusi, cho'chqalarning o'lat kasalligining virusi, yirik shoxli hayvonlarda diareya kasalligini qo'zg'atuvchi viruslar misol bo'la oladi. Hujayralar tirikligicha qolib, hujayralarning bo'linishi pasayadi vaqt o'tishi bilan ularning shakli ham o'zgaradi.

Zararlangan hujayralarning neoplastik transformatsiyalanishida bir qavat hujayrada har xil kattalikda oq rangdagi qattiq fokuslar (Raus sarkomasi virusida) hosil bo'ladi. Birinchi passajda SPT bo'lmasligi virusning yo'qligini bildirmaydi, chunki virus tez rivojlanmaganligi tufayli ko'zga tashlanuvchi SPT ko'rsatmaydi. Shuning uchun "ko'r" passaj o'tkaziladi. Tekshirilayotgan materialda virusning borligini bilish uchun hech bo'lmaganda 3 marta "ko'r" passaj o'tkaziladi.

GADR Gemadsorbsiya – virus bilan zararlangan hujayraning yuzasiga eritrotsitlarning yopishib qolishini birinchi bor Fogel va Shelkovlar (1957) gripp virusi yuqqan to'qima kul'turasida uchratgan. Keyinchalik aniqlanishicha bunday qobiliyatga chechak va chechakvaksina virusi, Nyukasl kasalligi, sut emizuvchilarning va parrandalarning gripp viruslari ega ekan.

Hayvonlarning paragripp viruslarini identifikatsiyalashda (yirik shoxli hayvonlarning PG-3, qo'ylarning paragripp, Senday virusida) bu reaksiya juda qimmatli hisoblanadi.

Reaksiya asosida, zararlangan hujayra ustidagi virus bilan, eritrotsitlarning retseptori qardosh bo'lganligi tufayli gemagglyutinatsiya reaksiyasi amalga oshadi.

Ushbu reaksiyaning ijobiy yutuqlari shundan iboratki, virus hujayraga yuqqandan keyin paydo bo'lishi kerak bo'lgan sitopatik o'zgarishlar paydo bo'lmasdan oldin musbat natijani ko'rsatib turadi. Reaksiyani qo'yish uchun dengiz cho'chqachasining eritrotsitlari, maymunning, odamning (o-guruhidagi) va boshqa eritrotsitlardan foydalaniladi. Ushbu eritrotsitlar virusning gemagglyutinatsiyalash ta'siriga sezgir.

G A D R quyidagi usullardan iborat

Infeksiya yuqtirulgandan 3-4 kun o'tgach bir xilda o'stirilgan hujayrasi bor ikkita probirka olinib, birinchisiga virus yuqtiriladi, ikkinchisi esa nazorat qiluvchi hisoblanadi. Ikki probirkadagi hujayraning ustida 5-10 daqiqa eritrotsitlar (stol ustiga gorizontaal yotqizilib) qo'yiladi, so'ngra fiziologik eritma yordamida yengilgina yuviladi, yuvilgandan so'ng mikroskopning kichik kattalashtirgichida tekshirib ko'riladi. Nazoratdagi probirkada eritrotsitlar fiziologik eritma yordamida to'lasincha yuvib olinadi.

Virus yuqtirilgan probirkadagi hujayrani fiziologik eritma bilan yuvish natijasida eritrotsitlar olinmasdan, demak hujayra yuzasiga yopishgan holda tursa u holda GADR musbat hisoblanadi (82-rasmga qaralsin)

Virus va hujayraning turiga bog'liq holda eritrotsitlarning joylashuvi 3 xil bo'lishi mumkin:

Eritrotsitlar hujayraning chetki qismiga (cho'chqalarda afrika o'lati kasalligining virusi) joylashgan;

Eritrotsitlar hujayra qavatiga to'planib (gripp virusi) joylashgan;

Eritrotsitlar hujayra qavatida diffuziyali (paragripp virusi) joylashgan.

Har bir virus ma'lum bir turdagi hayvonlar qonidagi eritrotsitlarga adsorbsiyalanishga qodir. Eritrotsitlarni gemagglutinatsiyalanishiga qodir bo'lgan viruslar gemadsorbsiya qobiliyatiga ham ega bo'ladi.

Agar virus o'stirilgan hujayraga SPT ko'rsatsa GADR, SPT nisbatan oldin paydo bo'ladi. Bu usul o'stirilgan ayrim viruslarni indikatsiyalashda ko'p qo'llaniladi. Ammo bir qator viruslarni (cho'chqalarning afrika o'lati, yirik shoxli hayvonlarning paragripp –3 va boshqa) indikatsiyalashda bu reaksiyaning o'rnini hech bir reaksiya bosa olmaydi.

Kasallik yuqqandan so'ng 3-4 kunlar gemadsorbsiya bo'lmasa har 2-3 kundan so'ng navbatdagi probirkalar olinib, virus yuqqan hujayralarda yuqorida aytib o'tilgan usul asosida GADR qo'yiladi.

O'stirilgan hujayra bor probirkalar 14-20 kun kuzatish ostida bo'ladi. Gemadsorbsiya reaksiyasi birinchi passajda manfiy bo'lsa navbatdagi passaj va GADR o'tkaziladi.

GADR o'stirilgan hujayrada virusning borligini bilish uchun ishlatiladi. Hayvonlar qonining zardobida antitelolarni aniqlash uchun titrlanadi va neytrallashtirish reaksiyasi qo'yib ko'riladi.

Toshma (blyashka) hosil qilish usuli

Bu usul viruslarni ko'rish uchun texnik jihatdan juda murakkab bo'lib, asosan viruslarni titrlashda qo'llaniladi. Dal'bekko va Fogt 1954 yilda agar ostidagi tovuq fibroblastlari kulturasida otlarning g'arbda uchrovchi ensefalomielit virusidan foydalanib, toshma olish usulini taklif etdilar. So'ngi yillarda ko'pchilik mualliflar bir qancha viruslarni o'rganishda ushbu usuldan foydalanmoqda.

Bunga oqsil, vezikulyar stomatit, nyukasl kasalligi, parrandalarning o'lat, poliomieli, koksaki va boshqalar misol bo'la oladi.

Virusologiyada toshma usuli keng qo'llanilishining sababi virusning toza populyatsiyasini olish, asosan, viruslarning genetik xususiyatlarini o'rganishga asoslangan. Hozirgi paytda toshma tayyorlashni Dal'bekko va Fogt soddalashtirib, bir biridan qator farq qiladigan har xil viruslarni o'rganish usullarini ishlab chiqdilar.

Toshma usuli agar, muhiti quyilgan va o'zida vital-bo'yoq neytralrotni saqllovchi, bir qavatli hujayralarda viruslar tamonidan hosil qilinadigan negativ koloniyalar yoki toshmalardir (48-rasmga qaralsin). Toshmalarni kul'turada rangsizlangan joylari bo'lib bu virus ta'siri natijasida o'lgan hujayralardan iborat. Virusni boshqa joyga o'tkazish zarur bo'lsa agar o'rniga kraxmal yoki metilsellyulozadan foydalanish mumkin. Ayrim viruslar agar bilan yopmaganda ham toshma hosil qiladi, bularga yirik shoxli hayvonlarning o'lat virusi, ospovaksina, herpesvirusning ayrim vakillari misol bo'la oladi.

Toshmalarni qo'yganda kul'turaning sifatiga alohida e'tibor beriladi, degeneratsiya belgilarisiz hujayra bir tekis o'sgan bo'lishi kerak.

Yaxshisi flakonlarda yoki har xil turdagi matraslarda o'stirilgan kulturalardan foydalaniladi. Xenks eritmasi bilan yuvilgan virus 37-38°C(1-2 soat) kontaktga qo'yilib doimo chayqatilib turiladi. Adsorbsiyalanmagan virusni Xenks eritmasi yordamida yuvib tashlanadi, yoki paster pipetkasi yordamida so'rib olinadi, so'ngra hujayra qavatiga maxsus agar qoplamasi qo'yiladi.

Yopiladigan muhitni tanlash hujayraning va virusning turiga bog'liq.

Yopish uchun yotqiziladigan agarni har galgidek komponentlari quyidagilar: agar, Erla eritmasi.(NaHCO₃), muhit va antibiotiklar.

Agar 30-60 daqiqadan so'ng qotgach, agar yuzasidagi kondensat namlikni quyib tashlanadi, flakonlar termostatga joylashtirilib hujayrani yuqoriga qaratib inkubatsiyalanadi. Inkubatsiyalash vaqti va harorat shu virus toshma hosil qilishi uchun optimal bo'lishi zarur.

Toshma hosil bo'lganligini ko'rish uchun bir necha kun davomida kuzatish olib boriladi. Bu vaqt ichida hujayraga adsorbsiyalangan viruslar hujayra ichiga kiradi, reproduksiya sikli o'tadi so'ngra hujayra ichidan chiqib qo'shni hujayralarni jarohatlaydi.

Tirik hujayralarning butun bir qatorida virusning ko'payishi natijasida o'lgan hujayralarning orolchalari paydo bo'ladi. Bo'yoq eritmasi faqat tirik hujayrani bo'yaydi.

Shuning uchun matrasda tekis qizdirish- qizil fonda rangsiz dog'lar paydo bo'lib, bu dog'larni Dal'bekkoning negativ dog'lari yoki toshmalar (inglizcha plack) deyiladi. Har bir toshma, hujayralarning o'lgan orolchalariga binoan paydo bo'ladi. O'stirilgan hujayralarda ko'pgina viruslar toshma hosil qiladi. Juda tig'iz joylashganda toshmalar bir-biri bilan qo'shilishib ketadi.

Toshmalarning paydo bo'lish vaqti va shakli virus shtammining turiga, hujayraning xiliga va o'stirish sharoitiga bog'liq. Dal'bekko va Fogt viruslarni titrlashdagi kuzatishlari asosida hosil bo'lgan blyashkalarning soni yuborilgan virus miqdori bilan to'g'ri proporsionalligini ko'rsatadi. Bir toshmaning hosil bo'lishi uchun bir yuqumli virus bo'lakchasi etarli ekanligini isbotladi.

Ammo bu qoida ma'lum bir sharoitda aniq bo'lib, eng avval kul'turaga yuqori suyultirilgan viruslarni tushirganda hujayraning ko'plab zararlanishiga imkoniyat bo'lmaydi.

Rangli namuna – Laboratoriya tekshiruvlarida rangli namunani birinchi bor Solk, Yangner va Uord 1954 yilda taklif etdi. Bu usulni ishlab chiqishga Enders, Ueller va Robbinsning kuzatuvlari sabab bo'lib, ular virus yuqtirilmagan to'qima kulturasida metebolizmi natijasida pH kislotali tamonga o'tib, bunday holatni muhitga qo'shilgan fenolrotning sarg'ayishi tufayli bilish mumkin. Shunday holatda virus yuqtirilgan to'qima kul'turasidagi suyuqlik tirik hujayralarni o'ldirib, o'zining qizil rangini saqlab qolgan. Sekin o'suvchi hujayralarda katta tezlik bilan ko'payadigan viruslar o'stirilganda ko'zga ko'rinarli aniq natijalar beradi.

Rangli namuna usuli o'zining yuqori aniqligi bilan ajralib turmaydi shuning uchun amaliyotda kam foydalaniladi.

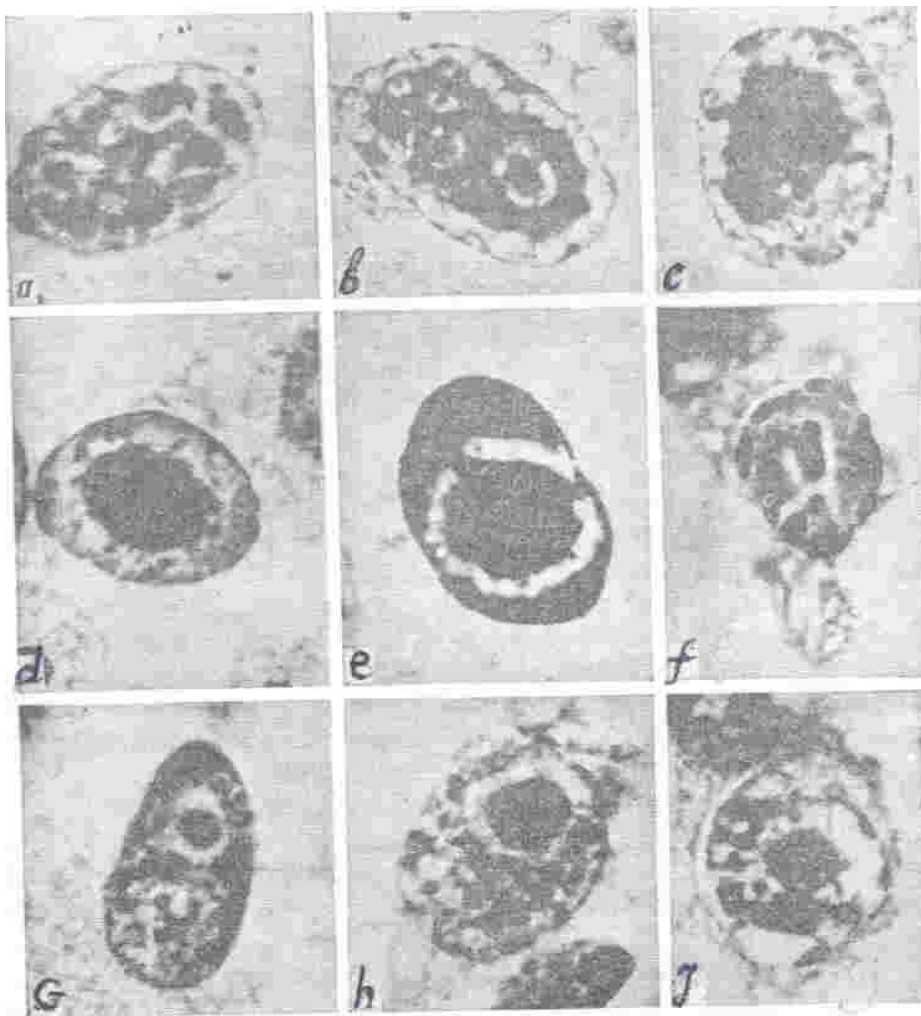
Hujayra ichida hosil bo'lgan kiritmalarni ko'rish

Ko'pchilik virus kasalliklarida hujayrada (sitoplazma va yadroda) ba'zi organ yoki to'qimalarda maxsus birikmalar paydo bo'lib, ularni kiritmalar deb nomlanadi.

Ular hujayralarda joylashuvi, nuklein kislotasining tarkibi, tinktorial xususiyatni va gomogenligiga asosan sinflarga ajratiladi. Kiritma- tanachalar tanlagan holda joylashadi: chechak, gripp, quturish, paragripp va boshqa kasalliklarda sitoplazmatik kiritmalar paydo bo'ladi.

Yirik shoxli hayvonlarning rinotraxeit kasalligida, parrandalarning laringotraxeit kasalligida, adenovirus infeksiyalari va boshqalarda – yadroda kiritmalar hosil bo'ladi. Kiritma tanachalarini ko'rish maqsadida hujayralar yopqich oynalarda, probirkalarda yoki penitsillin flakonchalarda o'stirilib, tekshirilayotgan material yuqtiriladi va ma'lum muddatgacha 37°C inkubatsiyalangach oyna chiqarib olinib Xenksning iliq eritmasida yoki fiziologik eritmada (pH 7,0-7,2) yuviladi, filtrlovchi qog'ozda quritilgandan so'ng fiksatsiyalovchi eritmalarining biri bilan; Buen eritmasi 10-15 daqiqa, Karnua fiksatorida -10,–Senker 20-30, metil spirtida 15 daqiqa yoki boshqa fiksatorlarda fiksatsiyalanadi. So'ngra preparatlar bo'yaladi.

Gemotoksilin –eozin bo'yog'i bilan bo'yalgan preparatlarda virusning kiritma-tanachalari yaxshi ko'rinadi. Buning uchun yopqich oynada fiksatsiyalangan hujayralar distillangan suv bilan yuvilib, 5-15 daqiqa gemotoksilin eritmasiga botiriladi (Mayer, Erlix, Karakki gemotoksilini)/ har qaysi o'stirilgan hujayra va bo'yoq uchun, bo'yash vaqti empirik tanlanadi. So'ngra preparat suv bilan yuvilib, 1-2 daqiqa ammiakli suvga (200 ml distillangan suvga 2-3 tomchi ammiak qo'shib botirib qo'yiladi.



42-rasm. Yadro ichidagi kiritma tanachalar. Gemotoksilin eozin bilan bo'yalgan (L. N. Nosach va boshq. boyicha).
 a-e-chirmashib o'suvchi PT-80 hujayra, yirik shoxli hayvonlarning birinchi turdagi adenovirusi yuqtirilgan:
 a-yadroda mayda ko'p sonli donachalarning paydo bo'lishi;
 b-rangsiz doiraga o'ralgan yagona donacha kiritmalarini hosil bo'lishi;
 c-rangsiz doirani kengayishi va kiritmaning zichlashishi;
 d-dag'al bazofil yadro markazidagi kiritma;
 e-shunday kiritmasi bor hujayra, yadroning pastki qismida esa marginirlangan xromatinning to'planganlari ko'rinadi;
 f-yadroning markaziy qismi, oz bo'yalgan, uzunasiga yadro membranasida paydo bo'lgan va yumaloq joylashgan material ko'proq bo'yalgan;
 g-i-yirik shoxli hayvonlar adenovirusining ettinchi turi yuqtirilgan buqa testikulasining birlamchi o'stirilgan hujayrasi;
 g-unchalik katta bo'lmagan yakka holdagi va h-o'zgarmagan xromatin orasida yumaloq kiritma shaklidagi yirik donador eozinofillar va mayda bazofil donachalar kiritma atrofida rangsiz doira shaklida;
 i-nukleoplazmalarning rangsiz fonida hujayra ikki kiritmadan iborat.

Ishqorli muhitda hujayra yadrosi ko'k rangda bo'ladi. So'ngra preparatlar 0,1% eozinning suvdagi eritmasida 30-60 soniya bo'yaladi, filtrlovchi qog'oz bilan ortiqcha namlik olingach spirtni ortib boruvchi konsentratsiyasidan o'tkazilib 70, 80, 96(1), 96(2), 100⁰+ ksilol (1:1), ksilol 2 va balzamlash bilan yakunlanadi.

Har qaysu spirt va ksilolda preparatlar 1 daqiqagacha saqlanadi. Preparatni bir boksdan ikkinchi boksga o'tkazayotganda albatta filtrlovchi qog'oz yordamida ortiqcha nam shimdirilib olinadi, aks holda navbatdagi boksdagi spirtning suvi ko'payib ketadi.

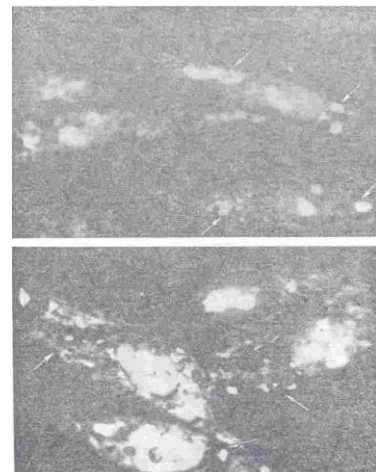
Gemotoksilin eozin bilan bo'yalganda virusga bog'liq holda hujayra yadrosi ko'k rangga, sitoplazmasi esa qizil rangga bo'yaladi (42 rasm).

Gripp kasalligida kiritma tanachalarini ko'rish uchun ko'pincha o'stirilgan hujayra Klisenko usuli bilan bo'yaladi. Buning uchun virus yuqtirilgan hujayralar issiqligi 37°C fiziologik eritma bilan yuviladi va Dyuboska-Brazila-Buena suyuqligida 20 daqiqadan to bir necha haftagacha fiksatsiyalanadi.

3-4 marta distillangan suvda to'lasincha yuvilgan ob'ektlar 1% - akridin sariq eritmasi bilan 10 daqiqa bo'yaladi, so'ngra distillangan suv bilan yaxshilab yuviladi, so'ngra yana 1% eozin eritmasi bilan 30 daqiqa bo'yalgach, distillangan suv bilan yuvilib, (1:1000) metilen ko'ki shimdiriladi. Metilen ko'kini ishlatishdan oldin 1% bosh (matochnaya) eritmasi tayyorlab olinadi.

Bo'yalgan preparatlar distillangan suv bilan yuvilib, (50ml spirtagi 2-3 tomchi muzli uksus kislota) absolyut spirta qizil ko'k rang bo'lguncha differentsiatsiyalanadi.

Absolyut spirt bilan suvsizlantirilgan, ksiloldan o'tkaziladi va balzamlanadi. Sitoplazma nozik-qizil rangga bo'yalib, yadrosi-qizil och binafsha rangga, yadrochasi ko'k rangga, virus kiritmalari ochiq qizil rangga bo'yaladi. Qon hujayralarini, ko'mikni yoki limfoid organlardan o'stirilgan hujayralarni bo'yashda Romonovski-Gimza usulidan foydalaniladi. Virusologiya amaliyotida kiritma tanachalarni ko'rish uchun oddiy fluoroxromlash usuli ishlatilib akridin, akridin to'q sariqdan foydalaniladi. (Usuldan foydalanish va uning mohiyati –12 mavzuda bayon etilgan).



43-rasm. Akridin to'q sariq bilan bo'yalgan kiritma-tanachalar.

Immunofluoressensiya reaksiyasi orqali virusni ko'rish

Virusni o'stirilgan hujayralarda ko'payishi sitopatik effekt, gemadsorbsiya bilan kechmasa, uning borligini fluoressensiya-lanuvchi antitelolar yordamida ko'rish mumkin. Ushbu usul cho'chqalarning o'lat kasalligida, cho'chqalarning parvovirus infeksi-yasida va boshqa kasalliklarga diagnos qo'yishda keng qo'llaniladi (shu usul 12 mavzuda bayon qilingan).

Immunoperoksidaza reaksiyasi (immunoferment taxlil) yordamida virusni ko'rish

Immunoperoksidaza reaksiyasi immunofluoressensiyaga o'xshash, ammo farqi shuki reaksiyani qo'yish uchun flyoroxrom bilan belgilangani emas balki peroksidaza fermenti bilan belgilangan antitelodan foydalaniladi.

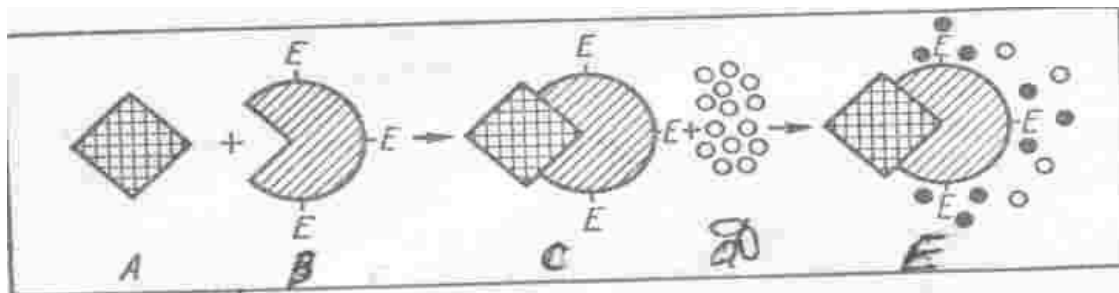
Reaksiya natijalarini hisoblash lyuminessent mikroskopi ostida emas, yorug'lik mikroskopi ostida olib boriladi. Reaksiyani bevosita va bilvosita variantlarda qoyib ko'riladi. Bevosita immunoperoksidaza usuli yordamida antigenni topishda virusga qarshi kon'yugatlardan foydalaniladi, kon'yugatlar antitelolardan olinib spetsifik zardoblardan ajratilib, ferment bilan belgilangan bo'ladi. Kon'yugatlar maxsus moslashtirilgan biologik sanoat korxonalari tomonidan tayyorlanadi. Bevosita usulda virus antigenini topish uchun 44 rasmda ko'rsatilgan bosqichdagi ishlar bajariladi. Buning uchun: yopqich oynada o'stirilgan va virus yuqtirilgan hujayra 10 daqiqa davomida minus 10-20°C sovutilgan atsetonda fiksatsiyalanadi; preparat havoda quritiladi; unda 0,2-0,3ml immunoperoksidaza kon'yugatining ishchi eritmasi tomiziladi, 1-2 soat 37°C nam kamerada inkubatsiyalanadi (inkubatsiya muddati zarur bo'lsa 6 soatgacha uzaytiriladi); preparatni 15 daqiqa fiziologik eritma bilan yaxshilab yuviladi, distillangan suv bilan yuviladi va havoda quritiladi; preparatga bir necha tomchi diaminobenzidin-tetraxlorid (3,3-DAB·4HCL) tomiziladi, 5-10 daqiqa inkubatsiyalangach 10-15 daqiqa fiziologik eritma bilan yuviladi va distillangan suv bilan yuviladi.

Musbat holatda demak tekshirilayotgan preparatda antigen bor bo'lsa, belgilangan ferment bilan antigen+antitelo kompleksi hosil bo'ladi.

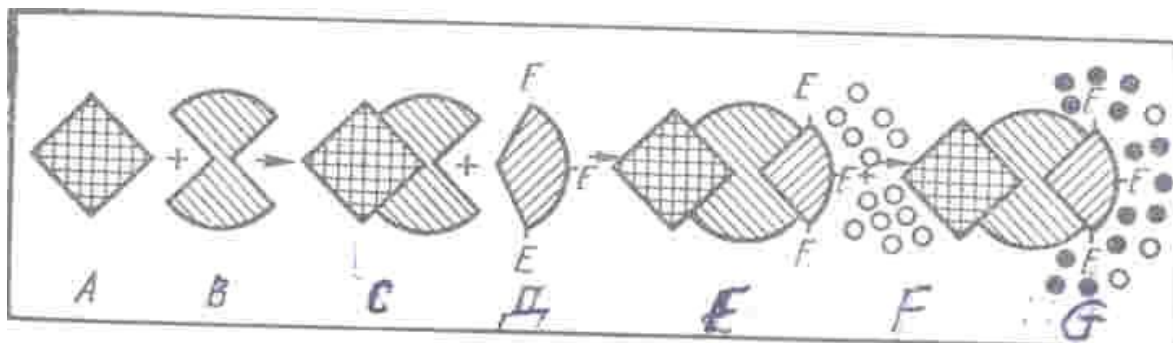
Preparatga substrat quyilgandan so'ng, ferment ta'sirida parchalana boshlab reaksiyaning ko'k rangdagi mahsuloti hosil bo'lib, tezda jigar rangga aylanib ketadi buni yorug'lik mikroskopida ko'rish mumkin. Preparatda sariq-jigar rang diffuz bo'yalgan jigar rang yoki qora rang granulasi ko'rsa bo'ladi.

Nazoratdagi preparatlarda bunday bo'yalish bo'lmaydi. Bilvosita immunoperoksidaza testida turga qarshi immunoperoksidaz kon'yugatlardan foydalaniladi (45-rasm) buning uchun yopqich oynada o'stirilgan hujayra 10 daqiqa davomida minus 10-20°C sovutilgan atsetonda fiksatsiyalanadi; preparat havoda quritiladi; unga 0,2- 0,3 ml izlanayotgan antigenga spetsifik bo'lgan zardob tomizilib nam kamerada 37°C 1-2 soat inkubatsiyalanadi; 5 daqiqa preparatni fiziologik eritma bilan yuviladi va havoda quritiladi; unda 0,2-,03 ml turga qarshi ishchi suyultirilgan immunoperoksidaz kon'yugatdan tomiziladi, 37°C 1-6 soatgacha inkubatsiyalanadi. So'ngra bevosita usul uchun yozilgan ishlar bajariladi. Tekshirilayotgan materialda virusga spetsifik antigen, spetsifik zardob tonmiziladi, antigen+antitelo kompleksi hosil qilsa, ularni ko'rish uchun ferment bilan belgilangan turga qarshi yoki ikkilamchi antitelodan foydalaniladi;

Birinchi galdagiga qaraganda murakkab kompleks hosil bo'ladi: antigen+antitelo+ikkilamchi antitelo+ferment.



44-rasm. Antigenni bevosita peroksidaza usuli bo'yicha topishning tasviri: a-antigen saqllovchi to'qimaning kesmasi; b-ferment bilan belgilangan antitelo; c-antigen+antitelo+ferment kompleksi; d-substrat; e-substrat yordamida namoyon qilingan antigen+antitelo+ferment kompleksi;



45-rasm. Antigenni bilvosita peroksidaza usuli bo'yicha topishning tasviri: a-antigenni saqllovchi to'qimaning kesmasi; b-A-antigenga spetsifik antitelo; c-antigen+antitelo kompleksi; d-ferment bilan belgilangan ikkilamchi antitelo; e-ferment bilan belgilangan antigen+antitelo+ikkilamchi antitelo kompleksi; f-substrat; g-substrat yordamida namoyon qilingan kompleks.

Hosil bo'lgan kompleksni substrat qo'shish orqali ko'rish mumkin, chunki ferment ta'sirida parchalanadi va fermentativ reaksiyaning rangli maxsulotini hosil qiladi. Natijalarni hisoblash yorug'lik mikroskopida o'tkaziladi. Bilvosita usulning afzalligi –turga qarshi globulinlarning universalligi, hamda bevosita usulga qaraganda kuchli sezgirligidir.

Elektron mikroskop yordamida viruslarni ko'rish

Bu usul viruslarning interferensiyasiga asoslangan o'stirilgan hujayralarda ayrim viruslar ikkinchi bir virusning ko'payish qobiliyatini pasaytiradi.

Misol, cho'chqalarning o'lat virusi, oqsil virusining yuqumli aktivligini, nyukasl kasalligining virusi-vezikulyar stomatit virusini yuqumli aktivligini pasaytiradi.

Deyarli bu usul o'stirilgan hujayralarda SPT ko'rsatmaydigan viruslarni ko'rish uchun ishlatiladi.

O'stirilgan hujayrada cho'chqalarning o'lat virusini ko'rish uchun (chunki u SPT ko'rsatmaydi) infeksiya yuqqan hujayraga ikkinchi oqsil virusini eng kamida 100 TST₅₀ miqdorda yuqtirilib, so'ngra 37°C termostatga joylashtiriladi. Bir necha kun o'tgach, natijasi mikroskop ostida qaraladi.

O'stirilgan hujayraga SPT ko'rsatmasa, demak u hujayrada cho'chqalarning o'lat virusi bor deb hisoblanadi. Agar barcha probirkalarda SPT bo'lsa, demak o'lat virusi yo'q, oqsil virusi sitopatogen ta'sir ko'rsatganligi aniqlanadi.

Interferensiya usuli hatto SPT ko'rsatmaydigan viruslarni titrlashda ham qo'llaniladi.

O'sayotgan tovuq homilalarining teri-muskul to'qimasidan birlamchi – tripsinlangan hujayra olish

9-11 kunlik tovuq homilalari ovoskopda qarab ko'riladi. Qon tomirlari yaxshi ko'ringan, harakatchan homilasi bor tuxum tanlanadi. Oddiy qalam bilan havo kamerasi va homilaning joylashishi belgilanadi. Tuxum po'chog'iga yod qo'shilgan spirt surtilib so'ngra yondiriladi.

Steril qaychi bilan havo kamerasining chegarasidan 2-3mm yuqoridan qirqiladi, po'choq osti, xorionallantois parda yirtilib, homilaning bo'ynidan tortib olingach steril Petri likopchasiga qo'yiladi (46-rasm).



46-rasm. Hujayrani o'stirish uchun tayyorlash sxemasi.

1-homilani chiqarish; 2-boshini kesish; maydalash; 3-bir necha marta yuvish; 4-tripsinlash; 5-hujayra aralashmasini miz ustiga qo'yish; 6-sentrifugalash va tripsindan ajratish; 7- cho 'kmani oz miqdordagi muhit bilan qayta sentrifugalash va hujayrani sanash; 8-kerakli konsentratsiyaga etkazish; 9-hujayralarni matras va probirkalraa ekish; 10-termostataa ao 'vish.

Homilaning boshi, qanotlari, oyoqlari va ichki organlari olib tashlanadi. Qolgan teri-muskul xaltasi steril bankaga solinib qaychi bilan 3-4 mm kattalikda qirqiladi.

Maydalangan to'qima 2-3 marta Xenks eritmasi bilan yuvilib, shilim-shiq va qon elementlaridan tiniq suyuqlik hosil bo'lguncha yuviladi va tozalangach tripsinlash uchun kolbaga quyiladi.

Kolbaga 0,15%-li tripsin eritmasi 35-37°C qizdirilib quyiladi (to'qimaning va tripsinning nisbati 1/3) so'ngra steril magnitcha solinib magnitli aralashtirgichga qo'yiladi (47-rasm).

Tripsinlash bo'lib-bo'lib bajariladi, har 3-5 daqiqada ajralib chiqqan hujayralar tripsin bilan birgalikda sentrifuga probirkalariga quyiladi va muz ustiga yoki muzxonaga hujayraga tripsin ta'sir qilmasligi uchun qo'yiladi. Kolbalardagi qolgan massaga tripsinning yangi porsiyasi, pufak hosil bo'lmasligi uchun magnitli aralashtirgich moslashtiriladi. Bu jarayon to'qima to'lasincha ariqlaguncha 3-5 marta takrorlanadi.

Tripsin eritmasida hujayra suspenziyasini tripsinlagach 1000 ayl/daq. 10 daqiqa sentrifugalanadi.

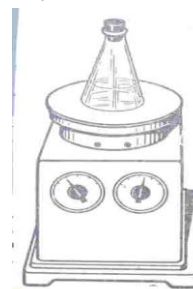
Cho'kma ustidagi suyuqlik 37°C bo'lgan oziq muhitda aralashtiriladi va 3 qavat doka filtrdan o'tkaziladi. Hujayralar yaxshi aralashtirilgach 1 ml olinib hujayralarning soni aniqlanadi.

Hujayralarni o'stirishdagi muvaffaqiyat ko'p jihatdan ekiladigan miqdorga bog'liq. Hujayralar kam ekilganda uzoq vaqt inkubatsiyalanganda ham bir qavatli hujayra (monosloy) hosil bo'lmaydi.

Juda katta miqdorda ekilgan hujayrada intensiv ravishda proliferatsiya kechib, hosil bo'lgan qavat tez qariydi, spetsifik bo'lmagan degeneratsiyaga uchraydi.

Hujayralarni sanash Goryaev torida bajariladi. 1ml hujayra aralashmasiga 0,1 N limon kislotasida tayyorlangan 0,1% kristallviolet eritmasidan teng miqdorda qo'shiladi.

Kamera tayyor bo'lgach hujayra aralashmasi bilan to'ldiriladi va yadrosi va sitoplazmasi zararlanmagan barcha hujayralar sanaladi; aniq konturdagi hujayra



47-rasm. Magnitli aralashtirgich.

guruhi bir hujayra hisobidan sanaladi. Ikki kameradagi hujayrani sanash tufayli o'rtacha arifmetik son olinadi.

4 ml suspenziyadagi hujayralar soni (x) quyidagi formula bilan aniqlanadi:
$$X = (A \times 2 \times 1000) : 0,9;$$

bu erda A - bir kameradagi hujayralarning o'rtacha soni;

0,9 – Goryaev to'rining hajmi, mm³;

1000 - 1 sm³ da mm³ soni;

2 - qo'shilgan bo'yoq hajmida suyultirilgan suspenziyaning koeffitsienti.

Hujayralar sanalgach, oziq muhitda shunday hisobda suyultiriladi, demak 1ml da 700 mingdan to 1 mln. gacha hujayra (tovuq fibroblastlari uchun) bo'lsin.

Misol. Olingan 1ml hujayra suspenziyasida 4mln hujayra bo'lsa, demak 100ml suspenziyada jami hujayralarning soni 400 mln. Ekish konsentratsiyasi 1ml ga 1mln hujayra. 100 ml hujayra suspenziyasiga 400 ml bo'lguncha oziq muhitdan qo'shiladi.

So'ngra matras yoki probirkalarga quyiladi. Probirkalarga 1ml dan, 1000, 250, 100 ml hajmdagi matraslarga 100, 40 va 15 ml hujayra aralashmasi quyiladi. Matras va probirkalar steril rezina tiqin bilan (muhit ishqorlanib qolmasligi uchun zichlab yopiladi, va kul'turaning turi, sana yozib qo'yiladi).

Probirkalarga mumli qalam bilan uzunasiga chiziq chiziladi, chiziqni yuqoriga qaratilgan holda 5⁰ qiyalikda maxsus shtativga yotqizilib 37⁰C termostatga joylashtiriladi. Har kuni mikroskopning kichik kattalashtirgichida hujayraning o'sish jarayoni aniqlab boriladi. Agar hujayralarda proliferatsiya bo'lmasdan yumaloq, donador, hujayra qora rangda qavat-qavat bo'lib shishadan ajralib tursa bu esa muhitdagi zardobning zaxarli ta'siridan dalolat beradi. Proliferatsiyalanayotgan hujayra tiniq, sitoplazmatik o'simtalar bilan birlashgan, bir qavatli plastdek o'sadi. Hujayraning ko'payish jarayonida moddalar almashinu-vining mahsuloti ajraladi, bunday oziq muhitning pH kislotali tamonga o'tib muhitni sarg'aytiradi. Bu esa hujayralarga yomon ta'sir ko'rsatib, hatto hujayraning o'lishiga sababchi bo'ladi. Bunday muhit yangisiga almashtiriladi.

Tovuq fibroblastlari to'lasincha bir qavatli hujayralarni (monosloyni) 36-48 soat ichida hosil qiladi. Birgina tovuq homilasidan 70-120 mln hujayra olinadi.

Tovuq fibroblastlaridan tayyorlanib o'stirilgan hujayralar Aueski kasalligining virusi, parrandalarning o'lat, n'yukasl kasalligi, parrandalarning gripp, Raus sarkomasi virusi va boshqa viruslar bilan ishlashda qo'llaniladi.

Topshiriq

1. Tovuq homilasining fibroblastlaridan birlamchi o'stirilgan hujayra olish.
2. O'stirilgan hujayraga viruslarni yuqtirish usuli bilan tanishish.
3. Sitopatik effekt bo'yicha hujayrada virusning ko'payganligini aniqlash.
4. Gemadsorbsiya reaksiyasini qo'yish.
5. Toshmalar usuli bilan tanishish.

Matetial bilan ta'minlash: sterrillangan maxsus kiyim (xalatlar, bosh kiyimi, yuz yopqich); 9-11 kunlik tovuq homilalari; ovoskoplar yoki Ol-19 yoritgichi; tuxumni qo'yish uchun moslama; spirt lampalar; steril instrumentlar joylashtirilgan sterilizatorlar (to'g'ri va egri ko'z qaychilari, anotomik pinsetlar); magnitli aralashtirgich; sentrifuga; steril sentrifuga probirkalari; muz solingan idish; mikroskoplar; Goryaev kamerasi; probirkalarni joylashtirish uchun moslama; steril idishlar (petri likopchasi, bankachalar, tripsinlash uchun magnit solingan kolba; doka filtrlar, graduirlangan 1, 2, 5 va 10 ml pipetkalar, rezina tiqinli probirkalar,

100-1500 ml matraslar, roller kolbalari); eritmalar va muhitlar (Xenks va Erla eritmasi, 0,25% li tripsin eritmasi, 0,02% li versen eritmasi, 7,5% soda eritmasi, yirik shoxli hayvonning qon zardobi, 199 muhit, Igla muhiti, laktal'bumin gidrolizati muhiti); penistillin; streptomitsin; dezinfeksiyalovchi eritmasi bor idishlar; probirkalar uchun shtativ; normadagi birlamchi o'stirilgan hujayralar tovuq fibroblastlari (SHB, BT) chirmashib o'sadigan to'qima kul'turalari –L (PPT yoki Hep-2) va viruslar yuqtirilgan (nyukasl kasalligi, YURT, Pg-3) probirkalar; eritrotsitlarning 0,5%- suspenziyasi yoki dengiz cho'chqachasiniki; virus saqllovchi material; blyashkasi bor matraslar; normadagi har xil shakldagi SPT ko'rsatgan birlamchi o'stirilgan hujayralar va chirmashib o'sadigan to'qima kul'turalari va shulardan tayyorlanib bo'yalgan mikropreparatlar; jadval va slaydlar.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (6 soat)

1-mashg'ulot (2 soat).

- 1.Nazorat uchun savollar.
- 2.O'qituvchining tushuntirishi.
- 3.Namoyish qilish: a) eritmalar: Xenks, Erla, tripsin, versen; b) oziq muhitlardan: 199, Igla, laktalbumin gidrolizati; c) hujayrani o'stirishda ishlatiladigan idishlar.

4.Talabalarning mustaqil ishi: a)birlamchi va chirmashib o'suvchi hujayra kul'turasini mikroskop ostida ko'rish (tirik hujayra kul'turasi va fiksatsiyalangan mikropreparatlar); b)daftarga ko'rilgan preparatlarni rasmini chizish.

2-mashg'ulot (2 soat)

- 1.O'qituvchi tovuq homilasini tripsinlash usulini tushuntiradi.
- 2.O'qituvchi tripsinlashni har bir bosqichini namoyish qilib ko'rsatadi.
- 3.Talabalarning mustaqil ishi: a)tripsinlash uchun ish joyini tayyorlash; b)tripsinlash uchun tovuq homilasini tayyorlash; c)tripsinlashni o'tkazgach, hujayra suspenziyasidan kerakli konsentratsiyani olib, probirkalarga quyish.

3-mashg'ulot (2 soat)

- 1.O'qituvchining tushuntirishi: a)o'stirilgan hujayralarga virusni yuqtirish usuli; b)o'stirilgan hujayrada viruslarni indikatsiyalash usullari.

2.Namoyish: a)o'stirilgan hujayraga yuqtirish usuli; b)GADR qoyish usuli; c) SPT asosiy shakllari (sur'atda, slaydda, preparatda); d) toshma hosil bo'lgan matraslarda.

3.Talabalarning mustaqil ishlashi:

a)mikroskop ostida normadagi birlamchi va chirmashib o'suvchi hujayra kul'turasini ko'rish (tirik hujayralar va fiksatsiyalangan mikropreparatlar) va chizish;

b)har xil viruslarning SPT shaklini o'rganish (virus yuqtirilgan o'stirilgan hujayralar va mikropreparatlar) va chizish;

c)virusni indikatsiyalash maqsadida GADR qo'yish.

4.Mashg'ulotni yakunlash.

5.Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

1.O'stirilgan hujayralarning turlari to'g'risida gapiring va ularni ta'riflab bering.

2.Hujayrani o'stirishda qaysi eritmalar va oziq muhitlar ishlatiladi?

3.Birlamchi-tripsinlangan, o'stirilgan hujayrani olish usuli qanday?

4.Virusologiyada o'stirilgan hujayradan qanday foydalaniladi?

5.O'stirilgan hujayraga virusni yuqtirish usuli qanday?

6.Siz o'stirilgan hujayrada qaysi usul bilan virusni indikatsiyalashni bilasiz?

7.Boshqa laboratoriya sistemalari oldida, o'stirilgan hujayraning qanday afzallik tomonlari bor.

Uslubiy ko'rsatmalar

Mashg'ulot uchun ajratilgan vaqtni quyidagicha taqsimlash maqsadga muvofiq. Birinchi 4 soatda o'qituvchi tushuntiradi, namoyish qilib ko'rsatgach, talabalar tovuq homilasini tripsinlash bo'yicha mustaqil ishlaydi. Tripsinlashni bajarish uchun kafedradagi bor bo'lgan materiallarning soniga qarab 2-4 guruhlariga bo'linadi. Ushbu mashg'ulotga eng muhim tayyorgarlik –sterillangan idish, instrument, muhit va eritma bilan ta'minlash hisoblanib, oldindan tayyorlab qo'yilishi kerak. So'nggi 2 soat o'stirilgan hujayradagi virusni indikatsiyalashga bag'ishlanadi.

a)tovuq fibroblastlaridan tayyorlangan normal hujayralar va nyukasi kasalligining vaksina virusi yuqtirilgan yoki SHB yoki MDVK normal o'stirilgan hujayralari va shularning PG-3 vaksina virusi yuqtirilgan hujayralari oldindan tayyorlangan bo'lishi kerak;

b)o'stirilgan hujayra mikropreparatlari fiksatsiyalangan, bo'yalgan normal holda va har xil SPT va GADR shaklida bo'lishi kerak.

O'stirilgan hujayrani doimiy olish uchun sharoit bo'lmasa, u holda fiksatsiyalangan preparatlar, tayyorlab ko'rish mumkin. Buning uchun oldindan (SHB yoki xohlagan chirmashib o'suvchi hujayra liniyalaridan) o'rta hisobda 100 probirkada o'stirilgan hujayra olib qo'yish kerak. 50 probirkadagi yaxshi o'sgan bir qavatli hujayradan muhitni to'kib tashlab Xenks eritmasi bilan yuviladi, 70⁰ spirt quyiladi. Qolgan 50 probirkadagi o'stirilgan hujayraga SPT ko'rsatish uchun xohlagan virus yuqtiriladi.

Virus yuqtirilgan probirkalarda bir necha oygacha saqlanib talabalar tomonidan normada SPT o'rganish hamda NR virusni titrlashni o'rganishda

foydalaniladi. Agar mashg'ulotni barcha kerakli narsalar bilan ta'minlashning to'lasincha iloji bo'lmasa, u holda ayrim qismlarni osonlashtirish mumkin:

1) talabalarni xalat, bosh kiyim, yuz yopqich bilan ta'minlashning iloji bo'lmasa o'quv xonasida steril bo'lmagan xalatlarda ishlashga ruxsat etiladi, ammo ishlash jarayonida aseptika qoidalariga rioya qilish talab qilinadi;

2) magnitli aralashtirgich bo'lmagan taqdirda, tripsin qo'shilgan to'qima aralashmasini qo'l bilan chayqatilsa ham bo'ladi;

3) tripsin bo'lmaganda homila to'qimalarini alohida hujayralarga ajratish uchun bir necha bor pipetka orqali o'tkaziladi;

4) standart oziq muhitlar bo'lmaganda o'stirilgan hujayralar uchun tabiiy oziq muhitlardan Erla yoki Xenks eritmasiga qon zardobi va homila ekstraktidan qo'shib ishlatiladi.

5) Erla va Xenks eritmalari bo'lmaganda Tirode va (hatto noiloj bo'lganda 0,85%) natriy xlor eritmasini tayyorlab ishlatish mumkin. Birlamchi o'stirilgan hujayralarni olish uchun eng muhimi asboblari idish va materiallar to'lasincha steril bo'lishi, hamda ulardan foydalanish vaqtida steril saqlash, ta'minlanishi talab etiladi.

Mashg'ulotda asosiy vaqtni o'stirilgan hujayrani tayyorlash egallaydi shuning uchun bu mashg'ulotga kamida 2 soat vaqt ajratilishi kerak.

7-MAVZU

Viruslarni titrlash

Laboratoriya ishlarida, biofabrikalarning ishlab chiqarishida va veterinariya amaliyotida doimo u yoki bu materialdagi virusning sonini aniqlash kerak boladi

Uiruslar sonini aniqlamasdan tirik laboratoriya sistemalariga tajriba uchyn yuqtirish, virusga qarshi tirik va aktivligi kamaytirilgan vaksina tayyorlash, diagnostik preparatlar ishlab chiqarish virusga qarshi tirik vaksinalarni aktivligini baholash, immun zardob olish va boshqa kopchilik ishlarni bajarish mumkin emas. Biror materialdagi virusning miqdori, shu materialdagi virusning titri boyicha aniqlanadi.

Virusning titri deganda, uninig materialdagi ifodali konsentratsiaysi tushuniladi.

Hajm birligidagi materialda saqlanayotgan virusning miqdori virusning titri deyiladi.

Virusning miqdorini odatdagidek (hajm, massa va boshqa) birliklarda ifodalash mumkin emas, demak o'lchash uchun tasir birligi yoki aktivlik birligiga tayanmoq kerak.

Viruslar yuqumlilik va gemagglyutinatsiyalovchi ta'sirga ega. Viruslarning yuqumlilik va gemagglyutinatsiyalovchi miqdor birliklari shundan olingan.

Bu birliklarning kattaligi foydalanilayotgan suspenziyada to'la qimmatli va to'la qimmatsiz virionlarning o'zaro nisbatiga, ob'ektga, titrlash usuliga va boshqa faktorlarga bogliq.

Amaliyotda virusning miqdori uch hil birlik bilan;

1- muayyan joyni jarohatlagan yuqumli birliklar, viruslar tomonidan chaqirib yagona natija bilan baholanadi;

2- tirik sezgir ob'ektga viruslarni yuqumli birliklarini 50% ta'sirini statik yo'l bilan baholash;

3- gemagglyutinatsiyalovchi birliklar.

Viruslar tomonidan chaqiriladigan muayyan joydagi jarohatlanishning deyarli tanish bolgani (tirik hujayra qavatida olgan hujayra orolchasi) tugunchalar, blyashkalar bo'lib, (48-rasm), o'stirilgan hujayralarga chechak yoki boshqa viruslarni yuqtirish tufayli tovuq homilasining XAP (nekrozga uchragan tugunchalar) chechakchalari (49 rasm) hosil boladi.

Viruslarni yuqumli aktivligining bunday holatda paydo bo'lishi viruslar miqdorini toshma (blyashka) hosil qiluvchi birlik (THB) yoki chechek hosil qiluvchi (ChHB) bilan o'lchash mumkin bo'ladi. Bir THB-bir toshma, bir (ChHB) bir chechakcha hosil qilishga qodir miqdorga teng. Virusning titrini THB va ChHB aniqlash quyidagicha bajariladi.

Aniq o'lchangan bir xil hajmdagi tekshirilayotgan virus saqllovchi material bilan matrasda o'stirilgan hujayralarga, yoki tovuq homilasining XAP yuqtiriladi.

So'ngra har qaysi neytral qizil qo'shilgan va agar bilan yopilgan matrasda qancha toshma hosil bo'lganligini sanab chiqib, o'rtacha arifmetik son hisoblab chiqiladi. Bunda THB va ChHB yuqtirilgan virus saqllovchi materialning miqdoriga tengligi aniq bo'ladi.

Qanday bo'lganda ham yuqtirilgan miqdorning hajmi doimo aniq ma'lum bir birlik hajmdagi virus saqllovchi materialga qancha THB yoki ChHB to'g'ri kelishini hisoblash qiyin emas. Xuddi



48- rasm.
O'stirilgan
hujayrada virus
to'shmalarining
paydo bo'lishi.



49-rasm. Sigirlarning chechak virusi
yuqtirilgan tovuq homilasining XAP-da
paydo bo'lgan chechakchalar.

o'sha material tarkibidagi virus konsentratsiyasini ifoda-lovchisi yoki titri bo'ladi. Virusning titrini (T) oddiy formula yordamida hisoblab chiqish mumkin.

$$T = \frac{n}{V_a}$$

Bu yerda, n-bir matrasda-gi toshma yoki bir tovuq ho-milasidagi chechakchalarning o'rtacha arifmetik con; a-yuqtirish uchun olingan virus saqllovchi materialni eritib aralashtirish; V - yuqtiriladigan miqdorning hajmi.

Misol. Chechak kasali bilan kasallangan tovuqning, zararlangan terisining bir bo'lagidan suspenziya tayyorlangan. Shu suspenziyadagi chechak virusining titrini aniqlash kerak. 0,5 ml suspenziyadan olib, 4,5 ml fiziologik eritma qo'shdik demak 10 barobar aralashtirdik (1:10).

Suspenziya ancha quyuq konsenratsiyaga ega bo'lib, yopishqoq. Eritib suyultirilgan suspenziyadan 0,2ml olib 5 dona tovuq homilasining XAP yuqtirdik. Termostatda inkubatsiyalanayotgan 5 dona tovuq homilalarini 6 kun o'tgach barchasini yorib, XAP hosil bo'lgan chechaklarni sanadik. Ma'lum bo'lishicha 10, 11, 13, 18 va 8 o'rtacha arifmetik son.

$$n = \frac{10 + 11 + 13 + 18 + 8}{5} = 12$$

Olingan natija (n=12 chechakcha, a=1:10=0,1. V=0,2ml. Formulaga qo'ysak

$$T = \frac{12}{0,2 \cdot 0,1} = \frac{12}{0,02} = \frac{12 \cdot 100}{2} = 600 \text{ hosil bo'ladi.}$$

Shunday qilib, suspenziyadagi virusning titri 600 ChHB/ml teng, demak suspenziyaning har bir millilitrida 600 miqdordan chechak virusini saqlaydi, shulardan har qaysisi XAP bittadan chechakcha hosil qilishga qodir. Misolda virusni titrlash soddalashtirilgan bo'lib, bu materialdagi virusning yuqori konsentratsiyasini hisobga olmaydi, bunday holda o'stirilgan hujayradagi

toshmalar yoki XAP chechaklar bir-biri bilan qo'shib ketishi tufayli sanash mumkin bo'lmasdan qoladi. Ularning soni matrasda yoki XAP 50 dan oshmasa, toshma va chechakchalarni sanash mumkin.

Qanchalik bo'lsa ham virusning titri tekshiriladigan materialda odatdagicha noma'lum (uni aniqlashimiz kerak) yuqtirish uchun materialni qanday suyultirish ham noma'lum, chunki toshma yoki chechakchalarni qo'shib ketishini oldini olishimiz kerak.

Bunday vaziyatda tekshirilayotgan materialdan bir nechta aralashma tayyorlanadi (odatdagidek 10 koeffitsienti bilan) har bir aralashma bilan bir xil miqdorda, teng guruhda o'stirilgan hujayraga yoki tovuq homilalariga yuqtiriladi, so'ngra har-bir suyultirilgan aralashmadagi toshma yoki chechakchalarning o'rtacha arifmetik soni hisoblanib, ayrim joylarda hisoblash mumkin bo'lmaganlari olib tashlanadi.

U holda virusning titri quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$T = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_n}{V(a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n)}$$

Bu formula oldingilariga o'xshash bo'lib lekin, biroz murakkablashtirilgan.

Misol. Titrlash natijalari 4 jadvalga keltirilgan.

4-jadval. THB bo'yicha titrlashning natijalari.

Virusni aralashtirish	Yuqtirish miqdori (ml)	Matrasdagi toshmalarning o'rtacha arifmetik soni
$a_1=1:10$	0,2	$n_1=134$
$a_2=1:100$	0,2	$n_2=28$
$a_3=1:1000$	0,2	$n_3=5$

$$T = \frac{134 + 28 + 5}{0,2(\frac{1}{10} + \frac{1}{100} + \frac{1}{1000})} = \frac{167}{0,2 \cdot 0,111} = \frac{167 \cdot 10000}{222} = 7522$$

THB usulida viruslarni titrlash, virus konsentratsiyasi to'grisida ishonchli ma'lumotlar beradi ammo toshmalarni sanash bilan bogliq texnik qiyinchiliklar uchrab turadi.

Chechakchalarga tegishli titrlash, ulardan foydalanish unchalik ko'p bo'lmagan viruslarga ta'alluqli bo'lib, hamma viruslar ham tovuq homilasining XAP tugunchalar hosil qilavermaydi, shu sababdan cheklangan holda ishlatiladi. Virusning yuqumli ta'sirini 50% birlikda aniqlash keng qo'llaniladigan har tomonlama (universal) usul hisoblanadi. Bu usulda virus miqdorining birligi sifatida shunday miqdor qabul qilingdiki, yuqtirilgan test-ob'ektlarga 50%-yuqumli ta'sir ko'rsatadi, u NM_{50} -50% natijali miqdor deb aytiladi.

Ma'lum birlikdagi materialda viruslarning bunday miqdori shu materialdagi virusning titrini ifodalaydi.

Laboratoriyalarda test-ob'ekt sifatida odatdagidek oq sichqonlardan, tovuq homilalaridan va o'stirilgan hujayralardan foydalaniladi, ularga virusning yuqumli ta'siri o'lim, klinik alomat, patologoanatomik o'zgarish va sitopatik natija holida namoyon bo'ladi.

Har qaysi virus uchun sezgir test-ob'ekt tanlanadi va uning yuqumli ta'sirini, hisoblash shakliga qarab yuqtirish effekti baholanadi.

Test-ob'ektning turiga va yuqumli ta'sir ko'rsatish shakliga bog'liq holda 5 jadvalda ko'rsatilgan turlarning biri qabul qilinadi.

Boshqacha aytganda: 1O'M₅₀-bu 50% laboratoriya hayvonlarini (odatdagidek oq sichqonlar) o'ldiruvchi virusning miqdori;

1YUM₅₀- virus yuqtirilgan laboratoriya hayvonlarida 50%- klinik alomat yoki patologoanatomik o'zgarishlar chaqiruvchi virusning miqdori;

1HO'M₅₀-50% tovuq homilasini o'ldiruvchi virusning miqdori.

1HYUM₅₀- virus yuqtirilgan 50% tovuq homilasida patologoanatomik o'zgarishlar chaqiruvchi virusning miqdori;

5-jadval. 50%- yuqumli ta'sirni aniqlashda viruslarning miqdor birliklarining turi.

Test-ob'ektlar	Viruslarning yuqumli ta'sirining ko'rinishlari	Viruslarning miqdor birliklari	
		Birlikning nomi	Qisqartirib belgilash
Laboratoriya hayvonlari	O'lim	50%- o'ldiruvchi letal miqdor	O'M ₅₀
Shu ham	Klinik alomatlari yoki patologo-anatomik o'zgarishlari	50%-yuqumli miqdor	YUM ₅₀
Tovuq homilasi	O'lim	50%-homilani o'ldiradigan miqdor	HO'M ₅₀
Shu ham	Patologoanatomik o'zgarishlar	50%-homilani yuqumli miqdori	HYUM ₅₀
O'stirilgan hujayra	Sitopatik ta'sir qilmoq	50%-sitopatik miqdor	SPM ₅₀

1SPT₅₀-O'stirilgan hujayralarga yuqtirilganda 50% sitopatik ta'sir ko'rsatuvchi virusning miqdori (odatdagidek probirkada o'stirilgan hujayralarda).

NM₅₀ (O'M₅₀, YUM₅₀, HO'M₅₀, HYUM₅₀ yoki SPT₅₀) virusning miqdori bir hajm birligida virus saqlovchi material tarkibidagi virusning miqdori, shu materialdagi virusni (T)titrini ifodalaydi. Misol, $T=10^{3,48}$ SPT/0,1 ml shunday ma'noni anglatadiki har bir 0,1ml virus saqlovchi materialda $10^{3,48}$ (demak 1000 dan ko'p, ammo 10000 dan kam, shaxsan $10^{3,48}=3020$)miqdorda virusni saqlaydi, shulardan har

biri o'stirilgan hujayra quyilgan probirkalarning 50% sitopatik ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega.

Virusning 50% yuqumli ta'siri deb nomlangan birliklar ($O'M_{50}$, YUM_{50} , $HO'M_{50}$, $HYUM_{50}$, SPT_{50}) virusni statistik ta'siri bo'yicha yuqumliligini baholashda foydalanib, virusni yuqumlilik ta'siri, o'ldiruvchi ta'siri, klinik alomatlari, patologoanatomik o'zgarishlari yoki sitopatik ta'siri bo'yicha hisob olib borishda muhim o'rinlarni egallaydi. Viruslarning 50% yuqumli ta'siri bo'yicha titrlash universal usul bo'lib barcha viruslarni, tirik sezgir sistemani tanlay olsak (test ob'ektni) titrlash uchun ham bo'ladi.

Lekin viruslarni bu usulda titrlash ko'p mehnat talab qilib, uzoqqa cho'ziladi va statistik hisoblashni talab qiladi.

50% yuqumli ta'sir birligida virusni titrini aniqlash masalasi shunga olib keladiki, tekshirilayotgan virus saqllovchi materialni darajasini topish. ($O'M_{50}$, YUM_{50} , $HO'M_{50}$, $HYUM_{50}$, SPT_{50}) uchun yuqtirilgan hajm miqdorida bir NM_{50} saqlab va so'ngra shu hajm miqdordagi virus saqllovchi materialdan shunday hajmda nechta birlik saqlashi hisoblanadi va o'sha ushbu materialdagi virus titrinining ko'rsatgichi bo'ladi.

Masalani yechish uchun avvalo tekshirilayotgan virus saqllovchi material qator ketma-ket 10 karrali suyultiriladi. 10- marta suyultirish 2 sababga ko'ra olinadi:

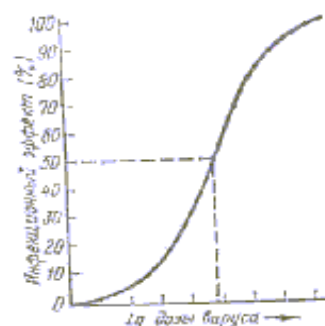
Birinchidan, virusning yuqumlilik ta'siri virusning miqdoriga bogliqligi grafikdan ko'rinib turmoqda (50 rasm). Egri chiziqli NM_{50} tegishli nuqtaga yaqin bo'lib, biroz kesishgach to'g'ri chiziqqa yaqinlashadi. Bu esa ma'lum bir bo'limgacha bo'lib, markazi NM_{50} nuqtada.

Virusning miqdor logarifmi bilan ta'siri oraligida to'g'ri chiziqli bogliqlik bor demak virusni yuqumlilik ta'sirining logarifmi, virusning miqdor logarifmiga proporsionaldir. Oz miqdorda va deyarli katta miqdorda bu bogliqlik buziladi.

Ikkinchidan keyingi bajariladigan hisoblab chiqish 10 karrali suyultirishda osonlashadi.

Har bir 10 karrali suyultirilgan virus saqllovchi material bilan ushbu virusga sezgir bo'lgan test ob'ektlarga (sichqonlar, tovuq homilasi yoki o'stirilgan hujayra) bir xil hajmda yuqtiriladi.

Bunda har bir guruhda eng kamida 4-6 test-ob'ekt bo'lishi kerak, agarda bu sondan kam bo'lsa, virusning titrini statistik hisoblaganda, virus titrini o'lchash kattaligida juda katta xatoga yo'l qo'yilgan bo'ladi. Ob'ektlarga yuqtirilgach virusning ta'sir natijasini (o'lim, klinik alomatlari, patologoanatomik o'zgarishlar yoki SPT) hisoblab,



50-rasm. Virusning yuqumlilik ta'siri virusning miqdoriga bogliqligini ko'rsatuvchi grafik.

virusning qaysi turi aralashtirilgani 50% sezgir ob'ektlarga ta'sir ko'rsatganligi aniqlanadi.

50%-ta'sir ko'rsatgan aralashma to'gri chiziqli interpolyatsiya usuli bilan hisoblanadi. Qachonki shunday,yuqtiriladigan hajmdagi virus aralashmasi topilsa,aralashtirish tufayli topilgan miqdor (50% ta'sirga to'gri keladi) bir NM_{50} saqlaydi. Shu hajmdagi suyultirilmagan virus saqlovchi material necha marta ko'p (NM_{50}) saqlashi, $1NM_{50}$ bergan material necha marta aralashtirilganligi aniqlanadi.

So'ngra 50% yuqumli ta'sir ko'rsatuvchi virus,(ml) hajmdagi virus saqlovchi materialda nechta shunday birlik saqlashini hisoblab chiqamiz, bu esa shu materialdagi virus titrini ifodalaydi. Aytilganlarni aniq misollarda yechamiz.

Demak, biz 12ml ektromeliya virusi suspenziyasini oldik va zamburuglardan ozod qilinganligiga, bakteriologik nazorat paytida ishonch hosil qildik. Vazifamiz ko'rsatilgan suspenziyadagi virusning titrini aniqlash.

Avvalo, shu virusga sezgir bo'lgan tirik laboratoriya sistemalaridan tanlab olamiz. Ektromeliya virusi sichqonlarning qorin pardasining ichiga yuqtirilganda o'ldirishini tushuntiramiz.

Suspenziyamizdagi virusni oq sichqonlardan foydalanib titrlashga kirishamiz. Buning uchun ogirligi bir xil va kasallik belgilari bo'lmagan 60-ta sichqonni tanlab olamiz. 10 katakchaga 6 sichqondan qo'yib chiqamiz (yoki 10 litrlik og'zi keng bankalarga) so'ngra har bir yashik nomerlanadi.

Tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 10 karrali ketma-ket qator aralashma tayyorlaymiz.

Suyultirish miqdori molj'allangan virusning titriga bogliq (qancha yuqori bo'lsa,shuncha ko'p aralashtirish kerak). Ularni shunday aralashtirish kerakki, eng oxirgi (ancha yuqori) aralashtirish umuman yuqumli ta'sir ko'rsatmasligi kerak.

Agar virusning ehtimolli titr doirasini bilish qiyin bo'lsa, yaxshisi u vaqtda ko'p suyultiriladi,ortiqcha suyultirish virusning titrini aniqlashga hech qachon halaqit bermaydi, oxirgi aralashtirilgan nol ta'sir ko'rsatmasa u holda virusni titrini aniqlash qiyin yoki umuman mumkin bo'lmaydi.

Aralashtirish darajasining kattaligiga qarab shunga mos ravishda laboratoriya hayvonlari ham tanlanadi va shularda virus titrlanadi (bizning misolimizda virusdan 10 aralashma tayyorlangan edi, shunga mos qilib sichqonlarni 6 tadan 10 guruhga bo'lib chiqdik).

Tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 10 ketma-ket aralashma tayyorlash uchun 10 dona tiqini bor probirka shtativga olinib, nomerlangach har biriga 9ml steril fiziologik eritmadan quyib chiqamiz, so'ngra birinchi probirkaga tekshirilayotgan virus suspenziyasidan 1ml quyiladi, suspenziyani oxirgi tomchilarini tushirish uchun rezina nok yordamida puflanadi, shu paytda pipetkaning uchi fiziologik eritmaga tegmasligi kerak.Virus suspenziyasi olingan

pipetka (3% natriy gidrookisi (NaOH), yoki kaliy gidrookisi (KOH) quyilgan idishga botiriladi.

Yangi steril pipetka yordamida probirkadagi suyuqlik pipetkaga olinadi va qaytadan probirkaga qo'shilishi tufayli yaxshilab aralashtiriladi.

Navbatda birinchi probirkadagi aralashmadan 1ml olinib, ikkinchi probirkaga fiziologik eritmaga tegizmasdan quyiladi. Undan so'ng uchinchi steril pipetkaga olinib, ikkinchi probirkadagi aralashma yaxshilab aralashtirilgach 1 ml ikkinchi probirkadan uchinchi probirkaga o'tkaziladi va shunday yo'l bilan o'ninchi probirkagacha takrorlanadi.

Natijada virus aralashmasining 10 karrali ketma-ket qatori hosil bo'ladi.

Probirkaga 9 ml fiziologik eritma, olinishi so'ngra ketma-ket 1ml dan o'tkazib quyish shart emas. Bu hajmni 2,5 yoki 10 barobar kamaytirish ham mumkin. Demak 4,5 ml fiziologik eritmadan quyib chiqib 0,5 ml dan o'tkazish yoki 1,8 ml fiziologik eritma quyib chiqish 0,2 ml dan o'tkazish, yoki 0,9 ml fiziologik eritma quyib chiqib 0,1 ml dan o'tkazish ham mumkin. Shuni bilish kerakki, qanchalik hajmni kam olsak, shunchalik o'lchash noaniq bo'lib virusning titrini aniqlashdagi aniqlik ham kam bo'ladi.

10-karrali ketma-ket suyultirish jarayonini quyidagi jadvaldagidek ko'z oldimizga keltirishimiz mumkin.

Probirkalarning nomeri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fiziologik eritma	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Tekshiriladigan virus	0,5	0,5ml dan ketma-ket o'tkazish.								
Olingan aralashma	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}

Virus suspenziyasidan aralashma tayyorlangach, yuqtirilgan miqdor tanlanadi u texnik jihatdan qulay bo'lib, yuqtirilganda aniq samara berishi kerak.

Laboratoriya ob'ektlari deyarli katta bo'lmaganligi uchun yuqtiruvchi miqdor ham kam tanlanadi. Hatto sichqon uchun (qorin pardasining ichiga yuqtirilganda) 0,1 dan to 0,5 ml gacha bo'ladi.

Faraz qilaylik, har bir sichqonning qorin pardasining ichida 0,3 ml yuqumli materialdan turlicha konsentratsiyada yuborish kerak. U holda virusning birinchi aralashtirilganini (10^{-1} yoki 1:10) 0,3 ml birinchi guruhdagi 6 sichqonga, 10^{-2} (1:100) 0,3 ml ikkinchi guruhdagi 6 sichqonga yuborish kerak.

Yuqtirilgan sichqonlardan o'z vaqtida (sutkasiga kamida bir marta) kuzatilib, o'lganlari esa yozib boriladi. Virus yuqtirilgach, dastlabki 48 soat ichida o'lganlarini virusning ta'siri tufayli o'ldi, deb aytish qiyin (asosan yuqori suyultirishda), uni spetsifik emas deb hisoblab, hisob-kitob qilishda inobatga olinmaydi. Virus yuqtirilgan sichqonlarning o'lishi to'xtagach 2-3 sutka ichida sichqonlar orasida

yana o'lim kuzatilmasa, natija yakunlandi deb aytish mumkin. Tajriba natijalari daftarga yozib boriladi. Quyidagi natijani oldik, deb faraz qilaylik.

Virusni suyultirish	tirik	o'ldi
10^{-1} (1:10)	0	6
10^{-2} (1:100)	0	6
10^{-3} (1:1000)	1	5
10^{-4} (1:10000)	4	2
10^{-5} (1:100000)	5	1
10^{-6} (1:1000000)	6	0
10^{-7} (1:10000000)	6	0

Hisoblash tufayli shunday virus aralashmasini topishimiz kerakki, u virus, yuqtirilgan sichqonlarni 50% o'ldirgan bo'lishi kerak. Buning uchun bir necha (grafikli) usullar mavjud bo'lib, ammo ko'pchilik holda Rid va Mench yoki Kerber usulidan foydalanamiz.

Rid va Mench bo'yicha 50% samara beruvchi (SBM_{50}) virus aralashmasi miqdorini hisoblash

Bu usul viruslarning organizmda to'planib, kuchli ta'sir qilishini ko'zda tutadi. Ma'lum miqdordagi virus yuqtirilganda tirik qolgan sichqonlar, kam miqdordagi virus yuqtirilganda tirik qolgan sichqonlar, kam miqdordagi virus yuqtirilganda ham albatta tirik qolgan bo'lar edi.

Yoki uning aksi ma'lum miqdordagi virus yuqtirilgan sichqonning o'lishi kam suyultirilgan (katta miqdordagi) virus yuqtirilganda ham o'lar edi.

Bunday izohlashga tirik qolganlar va o'lganlar soni har bir aralashtirilganda fikrimizda oldingilarni qo'shgan holda ortib boradi. Bizning misolimizda qanday bo'lishini ko'rib chiqamiz.

Buning uchun natijani 6-jadvaldagidek yozish kerak. Viruslarni organizmda to'planib, kuchli ta'sir qilishini bilish uchun quyidagicha fikr yuritamiz. Yuqtirishda manfiy reaksiya bergan haqiqiy ma'lumotni barchasi qator bo'yicha olinib (bizda virus yuqtirilgach tirik qolgan sichqonlar) oz ko'rsatgichdan ko'p ko'rsatgichga qarab boradi.

6-jadval. Virusni sichqonlarga yuqtirish natijalari

Virusni suyultirish	Haqiqiy ma'lumot		Organizmda to'planib kuchli ta'sir ko'rsatish natijalari			
	tirik	o'ldi	Tirik qoldi	O'ldi	O'lganlarni tirik qolganlarga nisbati	O'lim, %
10^{-1}	0	6	0	20	20:20	100
10^{-2}	0	6	0	14	14:14	100

10^{-3}	1	5	1	8	8:9	88.8
10^{-4}	4	2	5	3	3:8	37.5
10^{-5}	5	1	10	1	1:11	9
10^{-6}	6	0	16	0	0:16	0
10^{-7}	6	0	22	0	0:22	0

0,3 ml miqdordagi 10^{-1} suyultirilganda bironta sichqon tirik qolmadi; 10^{-4} suyultirilganda tirik qolgan 4, 10^{-3} suyultirilganda tirik qolgan 1, 10^{-4} tirik qolgan (10^{-3} qaraganda, 10^{-4} kam) uni 4 ga qo'shiladi, 10^{-5} uchun tirigi 5, o'lgani 1, 10^{-3} da ham o'lmasdan qolgani 4, 10^{-4} tirik qolgani 10^{-5} dan kam tirik qolgan bo'lar edi.

Ularning barchasini tirik qolgan 5 ga qo'shiladi. Qolgan aralashmadagilar to'g'risida ham xuddi shunday fikr yuritiladi. Yuqtirishga musbat javob bergan (ya'ni o'lgan) mulohaza qarama-qarshi tartibda o'tkazilib, kam miqdordagiga ko'p miqdordagi ma'lumot jamlanadi.

Organizmida to'planib, kuchli ta'sir qilish ma'lumotini olgach, yuqtirishga ijobiy javob berganlar foyizi hisoblab chiqiladi (misolimizda o'lganlar) har bir aralashtirilganlik uchun (masalan 10^{-4} aralashtirilgani uchun o'lgan 3, o'lmasdan qolgan 5 demak 8 tadan 3 tasi o'ldi, demak bu $3/8 \cdot 100 = 37,5\%$). Olingan natijadan ko'rinib turibdiki, 0,3 ml virus suspenziyasi olingan aralashmalarimizda 50% sichqonlarning birortasini ham o'ldirmaydi. Bunday virus aralashmasini (yoki $O'M_{50}$ virus miqdorini) hisoblab chiqish kerak.

6-jadvaldan ko'rinib turibdiki, 10^{-3} aralashtirilgan 0,3 ml virus suspenziyasi 50% ko'p sichqonlarni o'ldiradi (88,8 %), 10^{-4} aralashtirilgani esa 50% dan kam (37,5%) o'ldiradi. Demak, izlanayotgan aralashma 10^{-3} (1:1000) va 10^{-4} (1:10000) oralig'ida. Uni topish uchun quyidagi formuladan foydalanishimiz kerak.

$$\lg O' M_{50} = \lg B \frac{b-50}{b-a} \lg d,$$

bu yerda $O'M_{50}$ -izlanayotgan virusning aralashmasi; B-50% yuqori natija beruvchi aralashma; b-B aralashmaga to'g'ri kelgan foyiz; a-50% kam natija beruvchi aralashmaning foyizi; d-aralashma koeffitsienti (bizning suyultirish darajamiz 10-karrali, demak koeffitsient 10 ga teng). Misolimizda olingan sonlarni formulaga qo'ysak:

$$\lg O' M_{50} = \lg 10^{-3} - \frac{88,8-50}{88,8-37,5} \lg 10 = -3 - \frac{38,8}{51,3} 1 = -3 - 0,76 = -3,76$$

Demak, 0,3 ml virus aralashmasi yuqtirilgan 50% sichqonlarni o'ldirishga qodir, bu yerda $10^{-3,76}$ yoki 1:10^{3,76} ga teng.

Boshqacha aytganda $10^{3,76}$ marta suyultirilgan 0,3 ml virus bir $O'M_{50}$ (50% sichqonlarni o'ldirishga qodir bo'lgan virusning miqdorini) saqlaydi.

U holda 0,3 ml asos qilib olingan (sinalayotgan) virus suspenziyasida shunday miqdordan $10^{3,76}$ saqlaydi.

Demak, virusning titri $T=10^{3,76}$ O'M₅₀/0,3 ml, yoki $T=10/3$; $10^{3,76}$ O'M₅₀/ml bo'ladi.

50%-natija beruvchi izlanayotgan noma'lum virus aralashmasining natijali miqdori (NM₅₀) tashkil etar ekan.

Buni boshqa yo'l bilan ham topsa bo'ladi. Bizning misolimizda O'M₅₀ 10^{-3} va 10^{-4} aralashmasining oralig'ida yotadi. Foizlar orasida farq 50% dan yuqori va 50% ga teng $88,8-50=38,8$ yuqori va past ko'rsatkichning farqi $88,8-37,5=51,3$ ga teng.

$38,8:51,3$ nisbati 10^{-3} qaysi kattalik 10^{-3} qanday kattaligi bilan ajralib turishini ko'rsatadi, uni agar suyultirish logarifm koeffitsientiga ko'paytirsak, ($\lg 10=1$) unda quyidagiga ega bo'lamiz: $38,8:51,3=0,76$ Demak, izlanayotgan O'M₅₀ aralashma $10^{-3-0,76}=10^{-3,76}=1:10^{3,76}$ ga teng. Virusning titri esa $T=10/3 \times 10^{3,76}$ O'M₅₀/ml

Kasr sondagi ko'rsatkich bilan ifodalangan virusning titri, deyarli shu ko'rinishda qoldiriladi. Ammo antilogarifm jadvalidan foydalanib, absolyut kattalikka aylantirish mumkin (V.M.Bradisni to'rt xonali matematik jadvali).

Bizning misolimizda $10^{3,76}=5754$. Shuning uchun virus titrini ifodalab, yozishimiz mumkin. Demak, $T=10/3 \times 5754$. O'M₅₀/ml, yoki $T=19180$ O'M₅₀/ml.

Rid va Mench usuli musbat 50% nisbatan bir muncha ma'lumotni talab qiladi (Misol, 0 dan 100%, 10 dan to 90%, 20 dan to 80% va boshqa). Har bir virus aralashmasiga o'zgarmas sondagi hayvonlar sonini bo'lib, spetsifik bo'lmagan sabablarga musbat natijani ko'rsatmaslik kerak.

Bu usulning kamchiliklariga quyidagilar kiradi:

1) yuqori miqdordagi virus hamma vaqt ham juda yuqori yuqumli natija ko'rsatmaydi;

2) standart xatoni hisoblash mumkin bo'lmaydi;

3) aslidagiga qaraganda ko'p sondagi test-ob'ektlarda ish olib borilgandek ta'surot qoldiradi.

Bu usul ham aniq usullar bilan olingan ko'rsatkichlarga mos kelib ko'rsatkichlari yaqinroq keladigan kattaliklarni beradi.

50% natija beruvchi (NB₅₀) virus miqdorini Kerber bo'yicha hisoblash.

Bu usul oddiy bo'lib, organizmda to'planib kuchli ta'sir qilish dalillarini hisoblashni talab qiladi, spetsifik bo'lmagan sababga ko'ra musbat natija ko'rsatgan hollardagina yaroqli.

Lekin yuqori ishonchli natijalar olish uchun musbat ma'lumotlar 0 dan to 100% aniq bo'lishi zarur. Oldingi misoldagi titrlash natijalari bo'yicha O'M₅₀ hisoblab chiqamiz.

Virusni suyultirish	Tirik qoldi	O'ldi
10^{-1}	0	6
10^{-2}	0	6
10^{-3}	1	5
10^{-4}	4	2
10^{-5}	5	1
10^{-6}	6	0
10^{-7}	6	0

Bu yerda $O'M_{50}$ hisoblash uchun quyidagi formuladan foydalanamiz (bizning modifikatsiyamiz):

$$\lg O' M_{50} = \lg D + \frac{\lg d}{2} - \lg d \sum \frac{r}{n};$$

bu yerda D–100% natija beruvchi virusning yuqori suyultirilgani;

d- suyultirish koeffitsenti;

n- suyultirilganning har qaysi yuqtirilgan, test-ob'ektlar soni;

r-har qaysi suyultirilganining ta'siriga musbat javob bermoq;

$\sum \frac{r}{n}$ -barcha musbat javob bergan test-ob'ektlarining qiymatini, barcha suyultirib yuqtirilgan va 0 dan to 100% gacha natija beruvchilarga nisbati.

Harf belgilarni formulalarga qo'yamiz:

$$\lg O' M_{50} = \lg 10^{-2} + \frac{10}{2} - \lg 10 \left(\frac{0}{6} + \frac{1}{6} + \frac{2}{6} + \frac{5}{6} + \frac{6}{6} \right) = -2 + 0,5 - \frac{14}{6} = \text{Demak} \quad 10^{-3,83}$$

$$-2 + 0,5 - 2,33 = -3,83$$

suyultirilgan (yoki $10^{3,83}$ marta) 0,3 ml virus bir $O'M_{50}$ virusni saqlaydi.

So'ngra Rid va Mench bo'yicha hisoblagandek fikr yuritamiz. Agar $\lg O'M_{50} = -3,83$ unda $O'M_{50} = 10^{-3,83}$ yoki $1:10^{3,83}$.

Demak $1:10^{3,83}$ suyultirilgan 0.3 ml virusda bir $O'M_{50}$ saqlaydi, lekin asos qilib olingan dastlabki 0.3 ml virusda shunday miqdor $10^{3,83}$ marta ko'p, shuningdek $10^{3,83} O'M_{50}$.

Demak, suspenztyada virusning titri $T = 10^{3,83} O'M_{50} / 0,3 \text{ ml}$, yoki $T = (10:3) * 10^{3,83} O'M_{50} / \text{ml}$, yoki $T = (10:3) * 6761 O'M_{50} / \text{ml}$ yoki $T = 22537 O'M_{50} / \text{ml}$.

Vivirusning titri to'g'risidagi unchalik katta bo'lmagan farqni ikki usul bilan hisoblash tufayli bo'lib, ikkala usulda ham absolyut aniqlik yaqinligidan kelib chiqadi.

Viruslarni laboratoriya hayvonlarida titrlaganda reaksiya natijalarini o'lim bo'yicha emas, balki "o'ldi" degan jadvalni, "musbat javob beradi" deganga almashtirilgan holda virusning titri ($O'M$ o'rnida) YUD_{50} deb aniqlanadi.

Viruslarni tovuq homilalarida titrlaganda ham xuddi yuqorida laboratoriya hayvonlarida titrlagandagidek bajariladi, lekin titz $HO'M_{50}$ yoki $HYUM_{50}$ deb ifodalanadi.

Viruslarni o'stirilgan hujayralarda titrlaganda natijalari jadvalga "SPN" yopki "SPN bo'lmashligi" (yoki "+" va "-") yozilib, titri SPT₅₀ deb ifodalanadi.

Ba'zi bir viruslar ma'lum bir sharoitda, ma'lum bir turdagi hayvonlarni eritrotsitlarini agglyutinatsiyalash xususiyatiga ega. Bunday viruslarning gemmaglyutinatsiyalovchi titri birliklarda (GAB) ifodalanadi.

1 GAB deb shunday miqdor qabul qilinganki, ma'lum hajmdagi virus 1% li yuvilgan eritrotsitlar suspenziyasini 50% agglyutinatsiyalashga qodir.

Viruslarni gemmaglyutinatsiyalovchi ta'siri bo'yicha titrlash uchun bir qator probirkalar yoki bir qator pleksiglas panelining chuqurchasidan foydalanamiz.

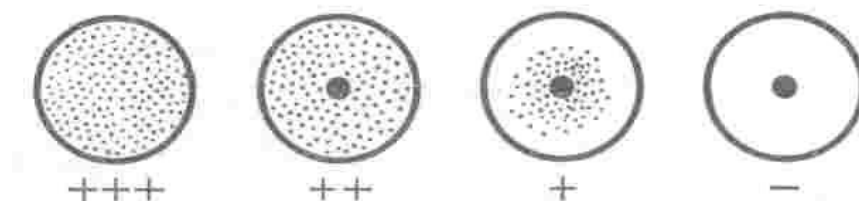
Bajariladigan ishning ketma-ketligi quyidagicha:

-titrlanayotgan virusni agglyutinatsiyalashga ega bo'lgan hayvonlardan olingan va yuvilib tayyorlangan eritrotsitlarning 1% li suspenziyasi;

-teng hajmdagi tekshirilayotgan virus saqllovchi materialni ketma ket 2 karrali suyultirilgan qatori;

-virus saqllovchi materialning barcha suyultirilganiga aniq shuncha hajmdagi eritrotsitlarning yuvilgan 1% suspenziyasidan qo'shib chiqiladi;

-Har qaysi chuqurchada (probirkada 0 gemaglyutinatsiyaning tezlik bilan kechishini quyidagi ko'rsatkich bo'yicha krestlar bilan baholab boriladi (51-rasm).



51-rasm krestlar bilan GAR ni baholash tartibi.

Eritrotsit chukmasining ko'rinishi	Krestlar bilan GAR baholash.
Barcha eritrotsitlar agglyutinatsiyalangan va to'lasincha bir qavat tekis "soyabon" hosil qilgan	+
Eritrotsitlarning asosiy massasi agglyutinatsiyalangan va soyabon hosil qilgan, ammo markazda bir joyda to'planib agglyutinatsiyalanmagan eritrotsitlar borligi aniq ko'rinib turibdi.	++
Eritrotsitlarning asosiy massasi agglyutinatsiya-lanmagan, "tugmaga" o'xshab markazga cho'kkan, atroflarida esa bir nechta eritrotsitlar agglyutinatsiyalangan va unchalik katta bo'lmagan "soyabon" bo'lib atroflari notekis "tugmachani" eslatadi.	+
Barcha eritrotsitlar agglyutinatsiyalanmagan va probirkaning eng chuqur joyiga "markaziga" atroflari notekis tugmaga o'xshab cho'kmaga tushgan.	-

Virus saqllovchi materialning yuqori suyultirilgani ikki krestdan kam bo'lmasa u holda GAR (eritrotsitlarning 50% agglyutinatsiyalanganligiga to'g'ri keladi) 1 GAB

virusni saqlaydi. Shunday hajmdagi tekshirilayotgan materialning (suyultirilmagani) shu miqdordagi material necha marta suyultirilgan bo'lsa shuncha 1 GAB saqlaydi. Agar gemagglyutinatsiya beruvchi yuqori suyultirilganlik ikki krestga baholansa 1:128 bo'ladi bu esa 128 marta suyultirilgan virus shu hajmda 128 GAB bo'ladi, demak virusning titri (T) ushbu materialda 128 GAB teng (7 jadval).

7-jadval. GAR-uchun virusni titrlash.

Ko'rsatgichlar	Probirkaning nomeri										Eritrotsitlarni nazorat qilish
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Virusni suyultirish	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	
Fiziologik eritma, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Virus saqlov-chi material	0,5	Ketma-ket 0,5 ml o'tkazish									-
Eritrotsitlarning 1% li suspenziyasi, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Exspozitsiya	Xona haroratida 30-40 daqiqa										
Natija	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-

* Eng so'ngi suyultirilgan virus saqlovchi materialdan 0.5 ml olinib dezinfeksiyalovchi eritmaga quyiladi.

Eritrotsitlar suspenziyasini va virus saqlovchi materialning aralashtirilgani teng hajmda olinadi, chunki 128 GAB qanday hajmga to'g'ri kelishining farqi yo'q, chunki bir komponentning hajmi oshib borishi bilan ikkinchi komponent ham shunchaga oshib bormoqda. Shuning uchun virus saqlovchi materialda eritrotsit suspenziyasining va virionlarning hajmi o'zgargan taqdirda ham natija o'zgarmaydi, demak GAB soni o'zgarmaydi.

Topshiriq

1.Tavsiya etilgan aniq ma'lumotlar asosida 50% yuqumli ta'sir ko'rsatuvchi virusning titrini hisoblash.

2.Gemagglyutinatsiyalovchi tasir birliklarida allantois suyuqligidagi Nyukasl kasalligi virusining titrini aniqlash.

Material bilan ta'minlash:

Aniq ma'lumotlarga asoslanib virusning titrini NM₅₀ aniqlash uchun misollar; har bir talabaga kamida 10 variantdan iborat bittadan misol yozilgan varaq beriladi; nyukasl kasalligining virusi yuqtirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligi; yuvilgan eritrotsitlarning 1% - suspenziyasi; fiziologik eritma (NaCl izotonik

eritmasi); chuqurchasi bor pleksiglas panellar; 1 ml darajalarga bo'lingan pipetkalar; rezina noklar; dezinfektsiyalovchi eritma solingan idish; shishaga yozish uchun qalamlar.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (4 soat).

1. Nazorat uchun savollar.
2. Aniq ma'lumotlarga asoslanib virusning NM_{50} bo'yicha hisoblashni namoyish qilish.
3. NM_{50} bo'yicha virusning titrini hisoblash bo'yicha talabalarning mustaqil ishlashi.
4. Har bir talabaga misolni yechishda yo'l qo'ygan kamchiliklarini ko'rsatish va xatosini to'g'rilash.
5. Nyukasl kasalligi virusini GAR bo'yicha titrini aniqlash tasvirini muhokama qilish.
6. Pleksiglas panellarni ishga tayyorlash, pipetka bilan materialni ketma-ket o'tkazish usullarini namoyish qilish.
7. Talabalarning mustaqil ishlashi:
 - a) material, pipetka va panellarni tayyorlash;
 - b) 0,5 ml yoki 0,2 ml virusni ikki karrali ketma-ket suyultirishni ko'rsatish;
 - c) 1% - eritrotsitlar suspenziyasidan qo'shish;
 - d) Natijani hisoblash va ularni sharhlash.
8. Ekspozitsiya vaqtida Nyukasl kasalligi virusiga GATR antiteloni titrlash tasvirini daftarga doskadan yoki jadvaldan ko'chirib olish.
9. Mashg'ulotga yakun yasash.
10. Kelgusi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

1. Virusning titri nima?
2. Virusning miqdori qanday birlik bilan o'lchanadi?
3. ChHB va BXB bo'yicha virusning titrini aniqlashni so'zlab bering.
4. 50% yuqumli ta'sir birliklarida, virusning titrini hisoblashning mohiyati nimadan iborat?
5. Virusning titrini 50% yuqumli ta'sir birliklarida hisoblash usuli nimadan iborat?
6. Virusni GAB bo'yicha titrini aniqlashdagi nuqtai nazar nimaga asoslangan?
7. Viruslarni har xil usullar bilan titrlashdagi yutuq va kamchiliklarni gapiring?

Uslubiy ko'rsatmalar

1. Viruslarni titrlash bo'yicha mashg'ulotni 4 soatga mo'ljallab o'tkazish yoki 2 marta 2 soatlik qilib o'tkazish ham mumkin (viruslarni titrlashning ikki usuli). Qaysi mashg'ulot birinchi o'tkazilishining farqi yo'q.

2.Virusning titrini NM_{50} bo'yicha hisoblash uchun mashg'ulotga oldindan kamida 10 aniq ma'lumotga ega bo'lgan misol tuziladi. Iloji boricha misolni har xil test-ob'ekt va har xil yuqumli ta'sir bo'yicha tuzilsa talabaning xotirasida mustahkam o'rnashib qolishiga erishiladi. Har bir misol oldindan yechilib tayyor javoblari bo'lishi lozim. Bu esa tekshirishni osonlashtiradi. Talabaga har bir masala nomer qo'yilgan varaqqa yozib berilgani qulay.

3.Har qaysi usul bo'yicha 50% natija beruvchi aralashmani Kerber yoki Rid va Mench bo'yicha hisoblashning farqi yo'q, chunki ular amaliyotda barobar va keng qo'llaniladi.

4.Nyukasl kasalligining virusini titrlashda tovuq homilasining allantios suyuqligidan foydalanish maqsadga muvofiq. Iloji bo'lmaganda nyukasl kasalligiga qarshi ishlatiladigan virus vaksina suspenziyasidan foydalanish ham mumkin. (GAR yaxshi ko'zga ko'rinarli natijani H-shtammi beradi).

5.Navbatdagi mashg'ulot GATR bo'lishini inobatga olib vaqtdan yutush uchun GATR tasvirini berish mumkin. Chunki shu tasvir asosida navbatdagi mashg'ulotda talabalar reaksiya qo'yib ko'radilar.

6.GATR tasvirini ko'chirib yozib olish talabalarning fikrlashiga va yodida qolishiga yordam beradi.

8- MAVZU

Viruslar uchun gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi (GATR) yordamida antitelolarni titrlash.

Issiq qonli hayvonlar organizmiga yuqori molekularli yot moddalar parenteral yo'l bilan yuborilganda organizmning ularga qarshi ishlab chiqargan oqsillariga antitelolar deyiladi. Antitelo hosil qiluvchi moddalarni organizmga yuborilganda esa antigenlar deyiladi.

Viruslar deyarli antigenlar hisoblanadi. Antitelo o'zlarini hosil qilgan antigenlar bilan o'zaro ta'sir qilib, (antitelo spetsifikligi) uning biologik aktivligini neytrallaydi. Shu tariqa antitelo organizmni yuqumli agentlardan himoya qiladi, ularning hosil bo'lishining mohiyati ham shunda..

Antitelolar gomologik antigenlar bilan nafaqat in vivo balki in vitro sharoitda ham o'zaro ta'sir qilishi mumkin. Odatda antiteloning manbai qon zardobi (serum) hisoblanganligi sababli va organizmdan tashqarida in vitro sodir bo'lgan antitelo va antigenlar reaksiyani serologik reaksiya deyiladi.

Gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi GATR oddiy reaksiyalardan biri hisoblanadi.

Bu reaksiya, antiteloning gomologik virus (antigen) bilan uchrashib, uning nafaqat yuqumli ta'sirini, balki gemagglyuti-natsiyalovchi qobiliyatini neytrallash xususiyatiga asoslangan bo'lib, virionning gemagglyutinatsiyalovchi retseptorlarini o'rab oladi va u bilan antigen + antitelo kompleksi hosil qiladi. GATR hatti harakati shundan iborat, probirkaga bir xil hajmda qon zardobi va virus suspenziyasi quyilib aralashtirilgach, ma'lum vaqtdan so'ng eritrotsit suspenziyasi quyilib, aralashmada virus borligi aniqlanadi.

Aralashmada eritrotsitlarning agglyutinatsiyalangani virusning borligidan, cho'kmaga tushishi esa virusni yo'qligidan dalolat beradi. Virus va zardob aralashmasidagi virusning yo'qolishi zardobdagi antitelo bilan virus o'rtasida o'zaro aloqa belgisi hisoblanadi.

Demak, antitelo antigenlar bilan ma'lum miqdorda qat'iy o'zaro aloqaga kirishadi. Shuning uchun, ma'lum miqdordagi virusning gemagglyutinatsiyalovchi qobiliyatini bartaraf qilish uchun antiteloning aniq minimum miqdori talab qilinadi.

Odatdagidek, GATR komponentlaridan biri hamma vaqt noma'lum, shuning uchun reaksiyani qator probirkalarda antiteloning har xil miqdori bilan qo'yiladi.

Buni amalga oshirish uchun zardobning har-xil suyultirilgan ma'lum hajmi va virusning esa bir xil suyultirilgan ma'lum hajmi yoki virusning har xil suyultirilgan ma'lum hajmi, zardobning esa bir xil suyultirilgan ma'lum hajmi olinadi.

GATR quyidagi masalalarni yechadi: zardobdagi antiteloning virusni gemagglyutinatsiyalovchi ta'siriga nisbatan titrini aniqlaydi; aniq zardob yordamida

gemagglyutinatsiyalovchi noma'lum virusni farqlaydi; ikki xil virusning bir-biriga o'xshashlik darajasini aniqlaydi. GATR ning ustunligi; qo'yish tartibi oddiy, tez bajariladi, antiseptik sharoit talab qilmaydi, nihoyatda spetsifik va arzon. GATRning kamchiligi—bu reaksiya faqat gemagglyu-tinatsiyalovchi viruslar bilan bajariladi.

GATR antitelolarni titrlash tartibi quyidagidan iborat: Tekshiriladigan zardobning ketma-ketli (odatda 2 karrali) suyultirilganini bir xil hajmda (ko'pincha 0,25 yoki 0,2 ml) bir qator qilib tayyorlash; Har qaysi suyultirilganiga shu hajmda gomologik virusdan 4 GAB qo'shish;

Aralashma aniq haroratda ma'lum vaqtgacha (n'yukasl kasalligi virusi uchun 40-60 daqiqa xona haroratida) saqlab turiladi. Barcha aralashmaga bir xil hajmda 1% yuvilgan eritrotsitlar suspenziyasidan qo'shish; ma'lum vaqtdan so'ng har bir aralashmadagi gemagglyutinatsiya krestlar bilan baholanadi.

Reaksiyada zardobga, virusga va eritrotsitlarga nazorat belgilanadi. Zardobning eng yuqori suyultirilgan darajasining gemagglyutinatsiyani to'lasincha to'xtata olishiga zardobdagi antiteloning titri deb qabul qilingan.

GATR ning sxemasi 8- jadvalda tasvirlangan. Keltirilgan misolda gemagglyutinatsiyani to'liq to'xtatuvchi zardobning yuqori titri 1:32 ga teng bo'lganligi sababli antiteloning titri T= 1: 32 deb yoziladi.

Zardobdagi antiteloning titri hamma vaqt uning yuqori suyultirilgani gomologik antigen bilan o'zaro ta'siri tufayli ma'lum natija berib ifodalanishini esda qoldiramiz. Antiteloning titri uning zardobdagi konsentratsiyasini ifodalaydi.

GATR qanchalik past titrdagi virus olinsa, zardobdagi antitelolarning shunchalik kam konsentratsiyasini aniqlay olishini nazarda tutish kerak (binobarin ularning titri yuqori bo'ladi). Virusning 4 GAB titri ishonchli gemagglyutinatsiya keltirib chiqaruvchi eng past miqdori hisoblanadi, chunki uni barobar miqdordagi zardob bilan aralashtirilganda uning titri har qaysi probirkalarda 2 GAB gacha pasayadi.

8-jadval. GATR yordamida antitelolarni N'yukasl kasalligining virusiga qarshi titrlash.

Reaksiya-ning komponentlari	Tajriba								Nazorat					
	Zardobni suyultirish								zar-dob-lar	Erit-rotsitlar	Virusning GAB			
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			2	1	1/2	1/4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Zardob, ml	0,2	0,2 ml dan ketma-ket o'tkazish*							-	-	-	-	-	-
Virus T=4GAB, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	0,4	0,4 dan o'tkazish**		

Virus bi-lan zar-dobni qo'shish (kontakt)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi														
1% eritro-tsitlar	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Saqlab tu-rish (eks-pozitsiya)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi														
natija	-	-	-	-	-	++	+++	+++	-	-	+++	++	-	-	-

**oxirgi probirkadan 0,2 ml chiqarib tashlanadi.*

*** oxirgi probirkadan 0,4 ml chiqarib tashlanadi.*

Demak, har bir probirkaga virusning hajmida va zardobning hajmiga teng eritrotsitlarning 1% suspenziyasidan qo'shilganda bu yerdagi virionlarning soni eritrotsitlarni 100% agglyutinatsiyaga uchratishga qodir (virusning 1 GAB 1% suspenziyadagi eritro-tsitlarni 50% agglyutinatsiyalashini esga olamiz). Agar virusni 4 GAB dan kam olsak, gemagglyutinatsiya hodisasi sodir bo'lmisligi virionlarning soni u yoki bu texnik xato va kamchilik sabablariga ko'ra to'satdan kamayishi ko'zda tutiladi va natijada eritrotsitlarni 50% agglyutinatsiyalash qobiliyati kamayishi mumkin (demak, ikki krestga baholangan aniq agglyutinatsiya ham sodir bo'lmisligi mumkin).

Bu holni sodir bo'lmisligi uchun probirkaga 1% eritrotsitlar suspenziyasi virus qancha hajmda bo'lsa, shu hajmda teng quyiladi (yoki probirkadagi suyuqlik hajmining yarmiga teng) yoki virusning titrini 8 GAB ko'tariladi. Ikki holda ham bir probirkadagi virus miqdori minimumiga 4 marta oshadi va gemagulyutinatsiya usuli bilan aniqlanadi. Ammo antitelo titrining ko'rsatgichi 2 marta kam bo'ladi.

Ko'rsatilgan bu usul, ko'pincha, antiteloning aniq titrini aniqlash ahamiyatsiz bo'lgan paytlarda qo'llaniladi. GATR ning modifikatsiyasi 9 jadvalda ko'rsatilgan

9-jadval. Eritrotsitlarning ikki marta kamaytirilgan miqdorining GATR dagi sxemasi

Reaksiya-ning komponentlari	Tajriba								Nazorat					
	Zardobni suyultirish								Zar-dob-lar	Erit-rotsitlar				
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			2	1	1/2	1/4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
Zardob, ml	0,2	0,2 ml dan ketma-ket o'tkazish							0,2	-	-	-	-	-
Virus T=4GAB, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	0,2	0,2 mldan o'tkazgich		

Virus bi-lan zar-dobni qo'shish (kontakt)	Xona haroratida 40-60 daqiqa qoldiriladi														
1% eritro-tsitar	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Saqlab tu-rish (eks-pozitsiya)	Xona haroratida 30-40 daqiqa qoldiriladi														
natija	-	-	-	-	++	+++	+++	+++	-	-	+++	++	-	-	-

Antiteloning titrini to'g'ri aniqlashda zardobning suyultirilgan darajasi ham ta'sir qiladi. Suyultirish darajasi qancha kichik bo'lsa, antiteloning titri shuncha to'g'riroq aniqlanadi, lekin juda kichik suyultirish darajalarini tayyorlash noqulay bo'lganligi sababli odatda ikki karrali suyultirilgani qo'llaniladi.

Zardobdagi antiteloning titrini juda to'g'ri aniqlash kerak bo'lgan paytda reaksiyada olingan virusning miqdori 4GAB titri nazoratda kam bo'lgan payti, antiteloning titrini o'zgartirishning iloji bor. Agar nazoratdagi 3-probirkada virusning titri 1/2 GAB 2-3 krestga teng gemagglutinatsiya va 4 da esa manfiy natija bo'lsa, bu esa reaksiyaga 4 GAB o'rniga 8 GAB virus olinganidan dalolat beradi. Shu sababli tekshiriladigan zardobdagi antiteloning haqiqiy titri olganimizdagidan ikki marotaba yuqori bo'ladi. Agar virusning titrini 4 GAB olinganda (8 GAB emas) uning gemagglutinatsiyalovchi aktivligini neytrallash uchun 2 marta kam antitelo talab qilinar edi va zardobning gemagglutinatsiyani to'xtatuvchi oxirgi suyultirilgani 2 marta ko'p bo'lar edi.

Aksincha, agar virusning 1 GAB nazoratida (2-probirka) gemagglutinatsiya sodir bo'lmasa, unda zardobdagi antiteloning titri 2 marta ko'pligidan dalolat beradi.

Hamma vaqt GATR tekshiriladigan zardoblarni virusga qarshi termostabil spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan xalos qilishni nazarda tutish kerak, chunki ular ham virusning gemagglutinatsiyalovchi qobiliyatini to'xtatish xususiyatiga ega.

Shu maqsadda zardoblarga quyidagi moddalarning biri bilan ishlov beriladi; karbonat angidrid gazi (CO_2), kaliy periodat (KIO_4), rivanol, kaolin, aktivlashtirilgan ko'mir, xolera vibrionining ekstrakti va hokozolar. Virusning termostabil spetsifik bo'lmagan ingibitorlaridan zardobni ozod qilishning eng oddiy usuli CO_2 yordamida ishlov berish hisoblanadi. Buning uchun dastlab zardob distillangan suv bilan 1:10 suyultiriladi gaz pufak hosil bo'lib 3-5 daqiqa davomida zardob loyqalanguncha (ballon yoki Kipp apparatidan foydalanib) CO_2 gazi o'tkaziladi.

So'ngra zardob 10-20 daqiqa davomida 2000-2500 ayl/daqiqa davomida sentrifugalanadi, cho'kma usti suyuqligi olinadi (ingibitorlar cho'kmaga tushadi).

Zardobning izotonikligini tiklash uchun 8,5% natriy xlor eritmasidan uning 0,1 hajmda suv bilan suyultirilganiga teng hajmda quyiladi. CO_2 bilan ishlov berilgan

zardoblarni ishlatganimizda 1:11 darajagacha suyultirilganini yodda saqlash kerak.

Topshiriq

Quyoning qon zardobida n'yukasl kasalligiga qarshi antiteloning titrini GATR yordamida aniqlash.

Material bilan ta'minlash:

Titri aniq bo'lgan n'yukasl kasalligining virusi (oldingi mashg'ulotdan); n'yukasl kasalligiga qarshi immunlangan CO₂ bilan ishlov berilgan quyoning qon zardobi; fiziologik eritma NaCl; 1% yuvilgan xo'roz eritrotsitlarining suspenziyasi; pleksiglas panellar; 1 ml belgilangan pipetkalar; rezina noklar; Kipp apparati.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

1. GATR qo'yish jadvaliga binoan (o'tgan mashg'ulotdan) talabalarning mustaqil ishi: a) Zardobning ikki karalli suyultirilganini tayyorlash (0,2ml); b) virusni 4 GAB titrini qo'shish (0,2 ml); s) virus bilan zardobni 40-60 daqiqagacha qo'shib turish.

2. O'qituvchining nazorat savollari va tushuntirishi (qo'shish vaqtida)

3. Zardoblarni viruslarning spetsifik bo'lmagan ingibitorlaridan tozalash yo'llarini ko'rsatish.

4. Talabalarning mustaqil ishini davom etkazish: a) eritrotsitlar suspenziyasini quyish; b) 30-40 daqiqa saqlab turish (ekspozitsiya)

5. Ekspozitsiya vaqtida o'qituvchining tushuntirishi.

6. Antiteloni titrashdagi GATR ning natijalarini hisoblash.

7. Savollarga javob berish.

Nazorat uchun savollar:

1. Antigenlar va antitelolar nima?

2. Serologik reaksiya nima va qaysi maqsadda ishlatiladi?

3. GATR qo'llashdagi asosiy tartib qoidalar nimalardan iborat?

4. GATRning modifikatsiyasini aytib bering?

Uslubiy ko'rsatmalar:

Zardoblarni tayyorlash eng murakkab va ma'suliyatli hisoblanadi. Asosiysi u virus bilan ishonchli ishlashi kerak. Oson topiladigan va oldiga qo'yilgan maqsadga javob bera oladigan n'yukasl kasalligining virusi hisoblanadi (eng qulayi H shtammi). Mashg'ulotlarda ushbu virusdan homilalarga yuqtirish, hamda virusning titrini aniqlash maqsadida ishlatiladi.

Undan tashqari n'yukasl kaslligiga qarshi quritilgan virus vaksinani ham qo'llash mumkin. Agar n'yukasl kasalligiga qarshi spetsifik bo'lgan zardobning

ko'p miqdordagisi kerak bo'lsa, 1-2 quyon olinib ularga suyultirilgan virus vaksina yuqtiriladi. Virus qorin bo'shlig'iga va muskul ichiga (virusning titri iloji boricha yuqori bo'lishi kerak) 5 ml yuboriladi va 12-14 kundan so'ng immunlash takrorlanadi.

7-10 kundan so'ng quyon tolasincha qonsizlantiriladi va qoni steril idishga quyilib zardobi olinadi.

Aktivligi GATR da tekshiriladi va titri (1:160–1:1280 oralig'ida bo'ladi).

So'ngra 1-2 ml hajmdagi ampulalarga quyilib, muzlatgichning kamerasiga qo'yiladi. Zardobning aktivligi bir necha yil saqlanadi. GATR uchun zardobning (1:10) suyultirilgani qo'llaniladi.

Mashg'ulot uchun virus titrining 4 GAB oldindan titrlab qo'yiladi. Zardoblarni virusga qarshi termostabil bo'lmagan ingibitorlaridan ozod qilish usullarini barcha guruhlariga ko'rsatish kerak.

9-MAVZU

Neytrallash reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi

Neytrallash reaksiyasining (NR) mohiyati shundan iboratki, bir xil hajmdagi zardob bilan virus suspenziyasi probirkada qo'shilib, ma'lum vaqtdan so'ng aralashmada aktiv virus qolgan yoki qolmaganligi aniqlanadi.

Bunu aniqlash uchun aralashma sezuvchan tirik sistemalarga yuqtirilib (test-ob'ektlarda biologik tajriba) amalga oshiriladi.

Virus test-ob'ektlarga ta'sir qilmasa (manfiy biologik tajriba), musbat nazoratda virusning biologik aktivligi zardobdagi antitelo tomonidan neytrallashidan dalolat beradi yoki antigen bilan zardobdagi antitelolar gomologikligi isbotlanadi.

Olingan virusga nisbatan zardobning tarkibida antitelo qancha ko'p bo'lsa, u shuncha yuqori suyultirilgan darajada ham virusning aniq (standart) miqdorini (odatda 100 NM50) neytrallashga qodir. Agar musbat biologik tajriba yuz bersa u holda zardobning tarkibida shu virusga qarshi antitelolar yo'qligidan dalolat beradi.

Test-ob'ektlarning turiga qarab, NR laboratoriya hayvonlarida, tovuq homilalarida yoki o'stirilgan hujayralarda tajriba o'tkazish mumkin.

Odatda antitelo o'zining gomologik antigeni bilan qat'iy ma'lum miqdor nisbatida bir-biri bilan o'zaro ta'sir qiladi, zardobdagi antiteloning miqdori esa hamma vaqt aniq emas, shuning uchun reaksiyani qo'yishda bitta emas balki qator probirkalar olinib undagi virusga, zardobning har-xil nisbatda suyultirilgan darajalari quyiladi. Buning uchun, probirkalardagi virusning bir-xil miqdoriga zardobning har-xil suyultirilgani yoki zardobning bir xil miqdoriga virusning har-xil suyultirilgan darajalari quyiladi: NR bu ikki tadbir texnik jihatidan bir xil bajarilmaydi.

Suyultirilgan zardob bilan neytrallash reaksiyasini qo'yish

1.Qator probirkalarda tekshiriladigan zardobning (sz) bir xil hajmdagi ketma-ket 2 karrali suyultirilgani tayyorlanadi. Suyultirish darajalarining soni zardobdagi antitelo titrining yuqoriligiga qarab har xil bo'ladi.

2.Suyultirilgan barcha zardobga shu hajmga teng miqdorida gomologik virus (SA) ning titrlangan va har qaysi test-ob'ektga 100 NM50 dan tegadigan miqdorda qo'shiladi.

3.Virus bilan zardob aralashmalari ma'lum vaqtgacha ma'lum haroratda saqlab turiladi. Har xil viruslar uchun bu ko'rsatkichlar xilma xil bo'lishi mumkin.

4.Har qaysi aralashma bir xil hajmda sezuvchan hayvonlarning (test-ob'ektlar) teng guruhlariga yuqtiriladi.

5. Har qaysi guruhdagi test ob'ektlarga virusning ta'siri zardobning suyultirilganiga qarab hisoblanadi.

6. Virusning 100 NM50 ta'siridan test- ob'ektlarni 50% himoya qiladigan zardobning suyultirilgan darajalari Kerber yoki Rid va Mench usullari yordamida hisoblanadi.

7. Zardobning suyultirilganini hisoblash, undagi virusni neytrallovchi antitelolarning titri ko'rsatkichi, deb qabul qilingan.

Misol: N'yukasl kasalligi virusi bilan emlangan quyondan qon zardobi olingan. Undagi antiteloning titrini aniqlash kerak.

N'yukasl kasalligi virusi tovuq homilalarini o'ldirishini hisobga olgan holda, NR test-ob'ekt sifatida tovuq homilalarida qo'yish mumkin. Tovuq homilalariga yuqtirish uchun yuqumli materialning 0,1-0,2 ml miqdori allantois bo'shlig'iga yuboriladi, shunda har qaysi homilaga 0,2 ml dan virus va zardob aralashmasi yuboriladi. Har qaysi homilaga virusning 100 HO'M50 ni 0,1 ml hajmdagi miqdorini yuborish uchun virusning titri 1000 HO'M50/ml teng bo'lishi kerak.

NR qo'yish uchun sinalayotgan zardobning (SZ) bir xil hajmdagi 2 karrali ketma-ket suyultirilgan qatorini tayyorlaymiz.

Sinalayotgan zardobning har qaysi suyultirilganiga, n'yukasl kasalligi virusini saqlovchi materialni (SA) 1000 HO'M 50/ml titradagi teng hajmi qo'shiladi.

10-jadval. Suyultirilgan zardob bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Reaksiyaning komponentlari	Maxsus suyultirilgan zardob SZ								SA virusining nazorati
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
SZ + SA	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	+	+	-	-	-	-	-	-	-
SZ-zardobni nazorati	+								
	+								
	+								
	+								

Aralashma xona haroratida 60 daqiqagacha saqlanadi (bunday sharoitni n'yukasl kasalligi virusi talab qiladi) so'ngra, har qaysi aralashma 0,2 ml to'rttadan tovuq homilasiga yuqtiriladi. Yuqtirishning natijasi homilalarning o'limiga qarab 48-72 soatdan so'ng hisoblanadi. NR musbat natijasi homilalarning tirik qolishi bilan va manfiy natijasi esa ularning o'limi bilan belgilanadi, (demak, aralashmadagi virusli zardob neytrallash qobiliyatiga ega emas). 10-jadvalda ko'rsatilgan natijalarni oldik, deb faraz qilaylik: zardobdagi antitelolarni titrini hisoblash uchun 11 jadvalni tuzamiz.

11-jadval. Suyultirilgan zardob bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Zardobni suyultirish	Tovuq homilalarining soni	Yuqtiruvchi miqdor, ml	Tirik (+)	O'lgan (-)
1:2 = $10^{-0,3}$	4	0,2	4	0
1:4 = $10^{-0,6}$	4	0,2	4	0
1:8 = $10^{-0,9}$	4	0,2	3	1
1:16 = $10^{-1,2}$	4	0,2	2	2
1:32 = $10^{-1,5}$	4	0,2	2	2
1:64 = $10^{-1,8}$	4	0,2	1	3
1:128 = $10^{-2,1}$	4	0,2	1	3
1:256 = $10^{-2,4}$	4	0,2	0	4

12-jadval. Suyultirilgan virus bilan qo'yilgan neytrallash reaksiyasining natijasi

Reaksiyaning komponentlari	Virusning suyultirilishi							zardobning nazorati
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
SA + SZ	+	+	+	-	-	-	-	-
	+	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
SA+NZ	+	+	+	+	+	+	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-
	+	+	+	-	-	-	-	-
Virusning nazorati	+							
	+							
	+							
	+							

Zardobning qaysi suyultirilgan darajasi tovuq homilalarini 50%ni n'yukasi kasalligi virusning 100 HO'M50 ta'siridan himoya qilishni hisoblash uchun Kerberning (bizning modifikatsiya) formulasidan foydalanamiz :

$$\lg NM_{50} = \lg D + \frac{\lg d}{2} - \lg d \sum \frac{r}{n},$$

bu yerda NM_{50} – zardobning izlanayotgan, suyultirilgan darajasi. Formulaga jadvaldagi ma'lumotlarni qo'yib quyidagini olamiz.

$$\lg NM = \lg 10^{-0,6} + \frac{\lg 2}{2} - \lg 2 \left(\frac{0}{4} + \frac{1}{4} + \frac{1}{4} + \frac{2}{4} + \frac{2}{4} + \frac{3}{4} + \frac{4}{4} \right) = -0,6 +$$

$$+ \frac{0,3}{2} - 0,3 \cdot \frac{13}{4} = -0,6 + 0,15 - 0,3 \cdot 3,25 = -0,45 - 0,975 = -1,425$$

Demak, zardob $10^{-1,425} = 1:10^{1,425}$ darajada suyultirilganda n'yukasl virusining 100 HO'M₅₀ ta'siridan 50% tovuq homilalarini himoya qila oladi. Olingan sonni antilogarifm jadvalidan topganimizda $1:10^{1,425} = 1:26,5$ ga teng. Shunday qilib zardobdagi antitelolarning titri T=1:26,5.

Neytrallash reaksiyasini suyultirilgan virus bilan qo'yish

1.Virusning ikki qator bir xil hajmdagi ikki karrali suyultirilgan darajalari tayyorlanadi (virusning suyultirish darajasining titriga bog'liq)

2.Birinchi qatordagi suyultirilganining barchasiga o'sha hajmda teng miqdorda tekshiriladigan zardob qo'shiladi (uncha katta bo'lmagan suyultirilgani)

3.Ikkinchi qatordagi barcha suyultirilgan darajalarga o'sha hajmda normal zardobdan (NZ) qo'shiladi.Normal zardob ham o'sha turdagi hayvondan olingan bo'lib xuddi shunday suyultirilgan darajasi olinadi va ingibitorlaridan bir xil usul bilan xalos qilingan hamda o'zining tarkibida olingan virusga qarshi antitelosi yo'q.

4.Virus bilan sinalayotgan zardob va normal zardob aralashmalari ma'lum haroratda belgilangan vaqtgacha ushlanadi: Bu ko'rsatkich har xil viruslar uchun xilma – xil bo'ladi.

5.Aralashmalarning har qaysisi bilan bir xil miqdorda olingan virusga sezgir test – ob'ektlarning teng guruhlariga (odatda o'stirilgan hujayralar, tovuq homilalari yoki oq sichqonlar) yuqtiriladi.

6.Yuqtirish natijalari har qaysi guruhlardagi test-ob'ektlar bo'yicha olib boriladi, musbat natija virus ta'sir qilganda, ta'sir qilmaganda manfiy natija kuzatiladi.

7.Virusning titri tekshiriladigan zardob bilan ta'sir qilganda (T_{SA+SZ}) va virusning titri normal zardob bilan ta'sir qilganda (T_{SA+NZ}) alohida hisoblanadi.

8. T_{SA+SZ} , T_{SA+NZ} dan qancha pastligi aniqlanadi.Olingan bu son esa **neytrallash indeksi** (NI) deyiladi. Tekshiriladigan zardobdagi antiteloning konsentratsiyasi qancha ko'p bo'lsa, NI ham shuncha baland bo'ladi.

Agar $NI < 10$ - ishlatiladigan virusga qarshi tekshiriladigan zardobda antitelo yo'q deb hisoblanadi, agar $NI > 10$ - antiteloning borligidan dalolat beradi (NI 10 gacha shubhali natija).

Agar virusning titrini tekshiriladigan zardob va normal zardob ishtirokida hisoblasak, unda quyidagi sonlarni olamiz:

$$T_{SA+SZ} = 10^2 \text{ NM}_{50/\text{ml}} \text{ va } T_{SA+NZ} = 10^5 \text{ NM}_{50/\text{ml}}$$

$$\text{Bundan } NI = \frac{T_{SA+NZ}}{T_{SA+SZ}} = \frac{10^5}{10^2} = 10^3 = 1000$$

Shunday qilib NR zardobning har- xil suyultirilgani bilan qo'yganimizda tekshiriladigan zardobdagi antiteloning titrini aniqlaydi, uning ko'rsatkichi zardobning suyultirilgani 50% test- ob'ektlarni virusning 100 NM₅₀ ta'sir qiluvchi himoya qilishda ifodalanadi. Virusning suyultirilgani bilan qo'yilgan NR zardobning tarkibidagi antitela virusning yuqumli titrini necha marta neytrallab pasaytirishini aniqlab bera oladi. Neytrallash indeksi deb ataluvchi bu abstrakt son zardobdagi antitelo konsentratsiyasining ko'rsatkichi hisoblanadi. Ma'lum bo'lishicha zardobning tarkibida antieloning konsentratsiyasi qancha baland bo'lsa, neytrallash indeksi ham shuncha baland bo'ladi.

Neytrallash reaksiyasi quyidagi masalalarni yechadi:

1)zardobdagi antiteloning virus neytrallovchi titrini, yoki neytrallash indeksi aniqlaydi;

2)avvaldan aniq zardoblar yordamida noma'lum virusni sinab farqlaydi;

3)viruslar orasidagi antigen o'xshashlikni aniqlaydi.

Antigenli o'xshashlik darajasini Archetti formulasi yordamida hisoblanadi.

$R\% = 100\sqrt{r_1 r_2}$, bu yerda $r_1 = NI_1 / NI_2$; $r_2 = NI_3 / NI_4$,

NI – virus 1; virus 2 nisbatan zardobning neytrallash indeksi; NI₂- zardobning 1 virusni 1 virusga neytrallash indeksi; NI₃ – zardobning 1 virusni 2 virusga neytrallash indeksi; NI₄ – zardobning 2 virusni 2 virusga neytrallash indeksi.

NR afzalligi, uning universalligida va yuqori spetsifikligidadir. Uning kamchiligiga quyidagilar kiradi; katta xizmat talab qilib, materialning va asboblarning streligiga qat'iy rioya qilish so'raladi. Tirik test-ob'ektlar juda qimmat, matematik hisoblash murakkab bo'lib biologik sinab ko'rish uzoq vaqtga cho'ziladi.

NR ishlatiladigan zardoblarni virusning termostabil ingibitorla-ridan ozod qilishni hamma vaqt esda tutish kerak (ular ikki barobar suyultirilgan holda) bu jarayon hayvonning turiga qarab 56°Cdan 63°C 30 daqiqa davomida olib boriladi.

Otlarning va dengiz cho'chqachasi zardoblarini 56°C, tovuqlarniki – 58°C, kalamush va quyonlarning zardoblarini esa 60°C da qizdirishni talab qiladi.

Topshiriq

Zardobdagi antiteloning titrini o'stirilgan hujayrada NR qo'yish tufayli aniqlash

Material bilan ta'minlash

Spirt bilan fiksatsiyalangan SPT va normal o'stirilgan hujayralar shunday olingan bo'lishi kerakki neytrallash reaksiyasi sodir bo'lsin; yoritgichli mikroskoplar va probirkalarni mikroskop ostida kuzatish uchun moslamalar.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

1. Nazorat uchun savollar.
2. O'qituvchining tushuntirishi.
3. Talabalarning mustaqil ishi: a) o'stirilgan hujayralarda qo'yilgan NR- natijasini hisoblash va jadval tuzish; b) zardobdagi antitelo titrini hisoblash.
4. Mashg'ulotni yakunlash
5. Kelgusi mashg'ulotga topshiriq.

Nazorat uchun savollar

1. Neytrallash reaksiyasining mohiyati nimada?
2. Neytrallash reaksiyasining qanday modifikatsiyalarini bilasiz?
3. Neytrallash reaksiyasi qaysi masalalarni echa olishini so'zlab bering.
4. Neytrallash reaksiyasining yutuq va kamchiliklari nimadan iborat?

Uslubiy ko'rsatmalar

1. Mashg'ulot dastlabki tayyorgarlikni talab qiladi. Bir mashg'ulotda NR to'lasincha qo'yib bo'lmasligi sababli uni faqat oxirgi bosqichini ko'rsatish maqsadga muvofiq.

NR o'stirilib fiksatsiyalangan hujayralarda tayyorlash qulay. Buning uchun probirkalarda (kamida 50) hujayralarning xohlagan turi o'stiriladi.

Har probirkani dastlab fiziologik eritma bilan bir qavat hujayralar, monosloy yuvilgandan so'ng ularning oziqa muhiti 70° etil spirti bilan almashtiriladi.

Bunday fiksatsiyalangan hujayralar gorizontal (5% qiyshay-tirilgan) holatda xona haroratida bir necha oy saqlanadi. Ular tirik hujayralardan kam farq qiladi, shuning uchun ularni kuzatish qulay.

Hujayrasi bor probirkalarning ikkinchi qismiga esa SPT chaqiraoladigan virus yuqtiriladi. SPT sodir bo'lgandan so'ng ularni ham spirt bilan fiksatsiyalanadi.

Keyinchalik SPT va normal hujayrali probirkalarni jadval asosida nomerlab terib qo'yiladi.

Har bir o'quv guruhi uchun bu to'plamlarning bir nechtasini qo'yish kifoya (har 6-8 talabaga bitta to'plam) ular NR o'rnini bosa oladi.

NR bilan amaliy tanishtirishdan tashqari, viruslarni hujayralarga ta'sir ko'rsatish kuchini baholashda qo'shimcha mashq hisoblanadi.

2. Antitelolarning titrini aniqlashda zardobning ikki karrali suyultirilgani 10 karralikga o'tkaziladi. Shu bilan birgalikda suyultirilgan darajalarning bo'laklangan ko'rsatkichi $2=10^{0.3}$ ekanligini unutmaslik kerak.

3. Zardobning 50% himoya qiluvchi kuchini Rid va Mench yoki Kerber formulalari bilan hisoblangan farqi shuki bu erda musbat natija virus ta'sirining

yo'qligi (manfiy biologik sinab ko'rish) ya'ni formulada hech narsa o'zgartirilmaydi.

10-MAVZU

Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi

Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi DPR (sinonimlari: gel-pretsipitatsiya reaksiyasi, gelda ikkilamchi diffuziyalanish reaksiyasi) antitelo va erigan antigenlarning gelda diffuziyalanish xususiyatiga asoslangan bo'lib, antigen-antitelo kompleksi bunday xususiyatga ega emas.

Antigen – antitelo kompleksi gomologik antigen va antitelolar bir biriga qarama – qarshi diffuziyalanib uchrashuvdan hosil bo'ladi. U gel qatlamiga cho'kib pretsipitatsiya chiziqlarini hosil qiladi.

Bir moddaning ikkinchi modda molekulalariga muayyan haroratda kirishi diffuziya hodisasi deyiladi. Diffuziya gazlarda, suyuqliklarda, qattiq jismlarda va gel muhitlarda sodir bo'lishi mumkin.

Gel deb qattiq jismlar tarkibida bir tekis tarqalgan suyuq fazalar tizimiga aytiladi. Odatda gel yuqori molekulari birikmalar hosil qiladi, ular kolloidli eritmalarini beradi va sovutilganda qotadi.

Bunday birikmalarga kraxmal, agar-agar, jelatina va boshqalar kiradi. Laboratoriya amaliyotida ko'pincha agar-agar ishlatiladi.

Zardob antiteloosi immunoglobulinlar molekulalarining yig'indisi hisoblanib, o'zining kattaligiga qaramasdan agar gelda bimalol diffuziyalanish xususiyatiga ega.

Virus antigeni – virus oqsillaridir. Ular virionning tarkibida bo'ladi va antigenning korpuskulasini ifodalaydi, ularning kattalarini agar geli diffuziyalamaydi.

Virusning eruvchi antigenlari esa agar gelda bimalol diffuziyalanadi.

DPR gelda qo'yish usuli quyidagidan iborat, agar gelining qatlamida bir nechta chuqurchalar qilinadi va ularga antigenlar va zardoblar shunday qilib qo'yiladiki zardoblar va antigenlar bir biriga yaqin bo'lishi kerak. Chuqurchalardan antigen va zardoblar gel qalinligiga diffuziyalanadi. Har qaysi chuqurchadan barcha tomonga qarab diffuziyalana boshlaydi.

Antigen va zardoblar to'ldirilgan chuqurchalar orasidagi yuzada bir–biriga qarama–qarshi diffuziyalanadi, (gelda ikkilamchi diffuziya). Agarda ular bir–biriga gomologik bo'lsa antigen- antitelo kompleksi hosil bo'ladi; u katta bo'lganligi uchun boshqa diffuziyalanmaydi, ammo cho'kib (pretsipitatsiyalanadi) oqish pretsipitatsiya chizig'i hosil qiladi.

U gel yuzasining tiniq fonida yaxshi ma'lum bo'ladi (52-rasm).

Demak, diffuziyalanayotgan antigen va zardob bir biriga gomologik bo'lmasa, pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'lmaydi. Bu nuqtai nazar amaliyotdagi qator masalalarni echadi, ulardan eng muhimlari quyidagilar:

1)53- rasmda ko'rsatilgan DPR cxemasi yordamida qon zardobidagi (Z) antitelolarni unga gomologik SA antigenga (masalan virusga) nisbatan aniqlab topadi.

Agarda zardob Z o'zining tarkibida SA spetsifik antigenga qarshi antitelo saqlasa, Z va SA quyilgan chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'ladi. Bunday pretsipitatsiya chizig'i nazoratdagi normal zardob NZ va SA quyilgan chuqurchalar orasida paydo bo'lmaydi.

2)Aniq zardob SZ antitelosiga gomologik bo'lgan materialdagi noma'lum (SA) topish DPR ga o'xshash sxema yordamida bajariladi (54 rasm).

Tekshiriladigan materialda zardobdagi (SZ) antitelolarga gomologik antigen bo'lsa, A va SZ quyilgan chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chizig'i hosil bo'ladi biroq boshqa chuqurchalar orasida paydo bo'lmaydi;

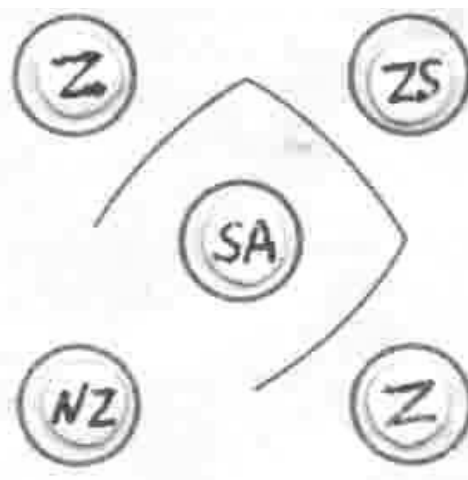
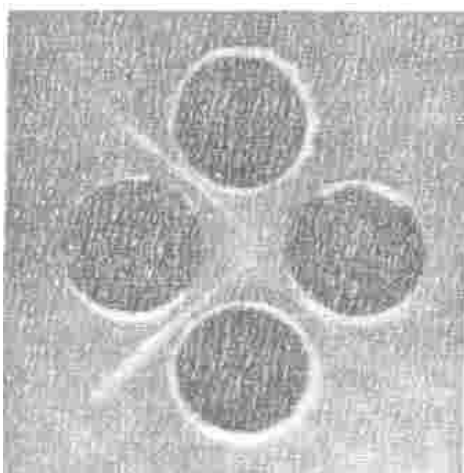
3)Noma'lum virusni farqlash 55-rasmda tasvirlangan DPRning sxemasi yordamida amalga oshirilishi mumkin.Bu yerda SA noma'lum antigen; SZ₁ SZ₅-noma'lum antigenlarga antitelo saqllovchi zardoblar.

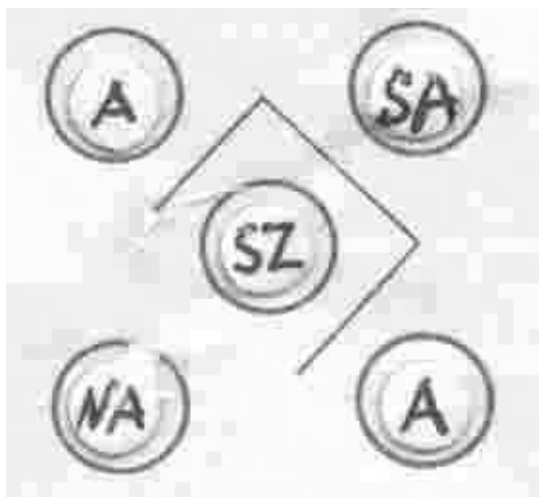
Agar pretsipitatsiya chizig'i masalan SA va SZ₃ to'lg'azilgan chuqurchalar oralig'ida paydo bo'lsa, demak tekshiriladigan antigen SZ₃ zardobdagi antitelolarga gomologikligidan dalolat beradi.

4)Zardobdagi antiteloning titrini aniqlash mumkin.

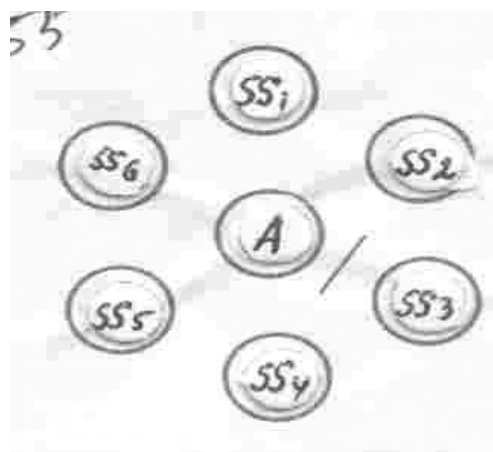
Bu yerda zardob o'zining eng yuqori suyultirilgan darajasida gomologik antigen bilan pretsipitatsiya berishi chizig'ining hosil bo'lishi (bizning misolimizda 1:16) Zardobdagi (SZ) antitelo titrining ko'rsatgichini belgilaydi (56-rasm).

DPR petri likopchasida, buyum oynasida va naychalarda qo'yish mumkin. DPR buyum oynalarida qo'yish keng qo'llaniladi. Uni amalga oshirish uchun quyidagilar kerak: yog'sizlantirilgan buyum oynalari; 2-5 ml belgilangan pipetkalar va paster pipetkalari; o'tkir uchli 5 mm diametrli naycha yoki maxsus qolip; namlantirilgan kamera; chuqurchadagi agar gelini chiqarib oladigan o'quv perosi yoki maxsus moslama; fiziologik eritmada yoki pH 7,2-7,4 fosfat bufer eritmasida tayyorlangan 1,0–1,5% agar; antigenlar; zardoblar

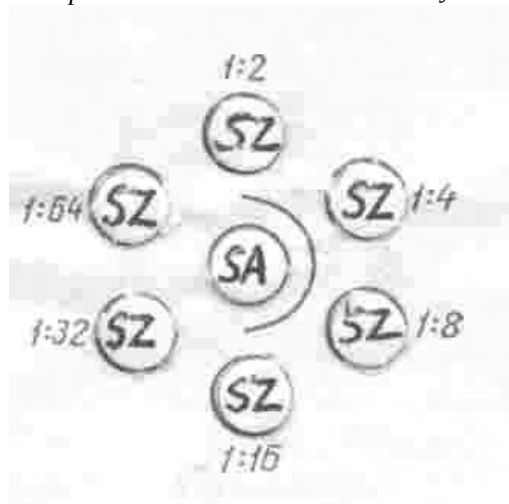




54-rasm. DPR yordamida antigenni topish tasviri



55-rasm. DPR yordamida virusni farqlash tasviri



56-rasm. DPR yordamida antiteloni titrlash tasviri

Agarning tozaligi katta ahamiyatga ega, shuning uchun yaxshi tozalangan Difko agaridan foydalaniladi

Ish uchun yaqqol pretsipitatsiya chizig'i hosil qilaoladigan va antigen+antitelo kompleksi hosil qilishini ta'minlaydigan yuqori titrli sretsifik antigenlar va zardoblar olinadi.

DPR qo'yish

Reaksiyani qo'yish tartibi quyidagilardan iborat:

Yog'sizlantirilgan buyum oynachalari sovuq va tekis joyda (stolga) terib qo'yiladi. Pipetkaga 60°C qizdirilgan agardan 1,5 –2 ml olinadi va zigzaksimon harakat bilan avval oynachaning atroflariga quyiladi va so'ngra o'rtasi to'ldiriladi, quyish payti to'lqin va pufakchalar bo'lmasligi kerak. Oynachaga quyilgan agarning

qalinligi 1,5 – 2 mm bo'lishi kerak, so'ngra agarni qotishini ta'minlash uchun 5-10 daqiqa qoldiriladi.

Qotgan agar qatlamida chuqurchalar tayyorlanadi. Chuqurchalarning soni DPR qaysi maqsadda qo'yilishiga bog'liq, chuqurchalarning diametri 5mm, chuqurchalar orasidagi masofa 3-4 mm bo'ladi. Ko'pincha chuqurchalarning ikki turdagi joylashishi qo'llaniladi.

Chuqurchalarni tayyorlash uchun uchi o'tkir naychalardan foydalaniladi. Agar tayyor qolip bo'lmasa doirasi to'g'ri keladigan har qanday naycha yoki kichik kalibrli miltiqning (5,6 kalibrli) patron gilzalaridan foydalaniladi. U holda dastlab qog'ozga chuqurchalarning o'zaro joylashish tasviri chizib olinadi va agar quyilgan petri likopchasi yoki buyum oynachasi tagiga qo'yilib unga qarab chuqurchalar kesib tayyorlanadi.

Chuqurchada qolgan agarni esa igna, paster pipetkasining uchi bilan, yoki o'quv perosi yordamida chiqarib tashlanadi. Chuqurchaga quyilgan suyuqliklar oqmasligini ta'minlash uchun, chuqurchani tubiga eritilgan suyuq agardan paster pipetkasi yordamida tomchi tomizilib so'ngra qaytadan tortib olinadi. Bu holatning tasviri 57 rasmda tasvirlanganidek ko'rinishda bajariladi. Biroq ayrim hollarda yaxshi yog'sizlantirilgan oynaga eritilgan agar yaxshi yopishgan bo'lsa, chuqurchaga qo'shimcha suyuq agar tomizilmasa ham unga quyilgan suyuqliklar oqib ketmaydi va pretsipitatsiya chizig'i normada hosil bo'ladi.

Tayyorlangan chuqurchalarga DPR komponentlari (antigenlar va zardoblar) quyiladi. Komponentlarni quyganda chuqurchalar to'lib bir biriga aralashib ketishini oldini olishi kerak. Buning uchun yaxshi cho'zilgan paster pipetkalari yordamida suyuqliklar tomiziladi.

DPR komponentlari tomizilgan buyum oynachalarida agar qurib qolmasligi uchun namlantirilgan kameralarga joylashtiriladi. Namlantirilgan kamera sifatida har qanday qopqoqli idishlardan (eksikator, petri likopchasi va boshqalardan) foydalanish mumkin, ularga suvga botirilgan paxta yoki filtr qog'ozi qo'yiladi.

Namlantirilgan kamera xona haroratida qizdiriladi yoki termostatga joylashtiriladi (termostatda) diffuziyalanish kamroq bo'lsada tez bo'ladi.

DPR ning dastlabki natijasini hisoblash 8-10 soatdan, asosiyni 24 soatdan va oxirgisi esa 48 soatdan so'ng o'tkaziladi.

Petri likopchasida DPR qo'yish

Texnik jihatdan buyum oynalarida qo'yishdan farq qilmaydi, faqat bu erda agar qatlamining qalinligi 3mm, chuqurchalar doirasi va ular orasidagi masofa ham biroz kattaroq bo'ladi. Shuning uchun natijani hisoblash vaqti 5-7 kungacha uzayadi.

Kapillyarlarda DPR qo'yish usuli

Bu usul tajribada keng qo'llanilmaganligi sababli biz unga to'xtalmaymiz. Buyum oynalarida qo'yiladigan DPR preparatlarni 48-72 soatdan so'ng quritilib, qora amidli rang bilan bo'yash mumkin. Bu esa preparatlarni uzoq muddatga saqlashga va uni suratga olishga imkon beradi.

DPR ning yutuqlari quyidagilardan iborat:

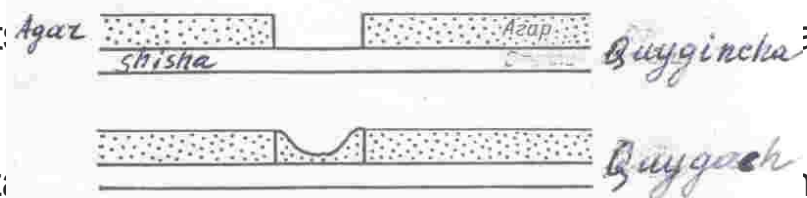
quyish texnikasi sodda; javob olish tez; komponentlarning tozaligi shart emas; steril sharoitda ishlashni talab qilmaydi; komponentlar nihoyat kam miqdorda talab qilinadi; har qanday eruvchi antigenlar bilan ishlash mumkin; natijalarni suratga olish mumkin.

Ammo uning bu fazilatlarini, o'zining asosiy kamchiligi hisoblangan kam sezuvchanligi qoplaydi.

Shunga qaramasdan virus kasalliklarining laboratoriya diagnostikasida DPR keng qo'llaniladi.

Patmateriallarda quturish, yirik shoxli hayvonlarning rinotraxeit, cho'chqalarning afrika o'lati, itlarning o'lati va boshqa kasalliklarni viruslarini topish hamda otlarning yuqumli anemiya, adenoviruslarini, respirator - sinsitial kasalligi, yirik shoxli hayvonlarning diareya kasalliklari viruslarini farqlashda va yirik shoxli hayvonlarning qon zardoblarida RS – virusga qarshi antitelolarni aniqlashda keng ishlatiladi.

DPR sezuvchanligini oshirish maqsadida muvohiq preparatlar bilan qo'yiladi va natijasi pret:



Quyvon z: aniqlash. i antitelo borligini

57-rasm.DPR qo'yish uchun chuqurcha yasash va qisman to'ldirish.

Material bilan ta'minlash

Yog'sizlantirilgan buyum oynalari; 2 va 5 ml belgilangan pipetkalar; paster pipetkalari; 5,6 mm kalibrli patron gilzalari; 18- 24 sm kattalikdagi tagiga namlantirilgan filtr qog'ozi to'shalgan va qapqoqli kyuveta; namlantirilgan filtr qog'oz to'shalgan Petri likopchasi; pero o'rnatilgan ruchka; fiziologik eritmada tayyorlangan 1,2% agar; n'yukasl virusi bilan immunlangan quyvonning qon zardobi; n'yukasl virusi bilan zararlantirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligi; quyvonning normal qon zardobi; tovuq homilasining normal allantois suyuqligi.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

- 1.Nazorat uchun savollar
- 2.O'qituvchining tushuntirishi.

3.Namoyish: a)buyum oynalariga agarni quyish; b)chuqurchalar tayyorlash; c)DPR komponentlarini chuqurchalarga tomizish.

4.Mustaqil ish; buyum oynalariga agarni quyish; agar qatlamida chuqurchalar tayyorlash;DPR komponentlarini tomizish; namlantirilgan kamerani jihozlash; DPR suratini daftarga chizish.

5.DPR natijasini ko'rish va jadvalga kiritishni kelgusi mashg'ulotda bajarish.

6.Kelgusi mashg'ulotga topshiriq.

Nazorat uchun savollar

1.DPR mohiyati nimada?

2.DPR qaysi masalalarni echa oladi?

3.DPR xususiyati va kamchiliklari nimadan iborat ?

Uslubiy ko'rsatmalar.

1.DPR uchun yaxshisi difko agaridan foydalanish kerak, difko agari bo'lmaganda uzoq sharq agarini tozalagandan so'ng ishlatish mumkin. Agarni tozalash usuli qator amaliyot qo'llanmalarida yozilgan

2.DPR uchun antigenlar va zardob olish. Spetsifik antigen (SA) sifatida n'yukasl kasalligi virusi yuqtirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligi ishlatiladi. Yuqtirish uchun vaksina shtammlarini (B₁, H, La-Sota, Bor) ishlatish qulay, ularni liofillanganini tegishli tashkilotlardan olish mumkin.

Normal antigen (NA) sifatida yuqtirilmagan tovuq homilalarining allantois suyuqligi ishlatiladi.

Spetsifik zardobni olish uchun 2-3 quyonning qorin bo'shlig'iga, virus yuqtirilgan tovuq homilasining allantois suyuqligidan 5-7 ml, venasiga 1,0 ml yuborilsa etarli. 12-14 kundan so'ng venasiga takror Bezredka usuli bilan 15 ml va muskul ichiga 5 ml yuboriladi.

Ikki haftadan so'ng quyonlarning venasidan yoki qonsizlantirish tufayli qon olinadi. Quyonlarning qon zardobi olinib, gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida undagi antitelalarning titri aniqlanadi. U 1:64 dan kam bo'lmashligi kerak.

Quyonning qon zardobida n'yukasl kasalligi virusiga qarshi spetsifik antitelolardan tashqari allantois suyuqligi oqsillariga qarshi antitelo hosil bo'lishini nazarda tutish kerak, qaysiki ular ham pretsipitatsiya chiziqlarini hosil qiladi, buni DPR qo'yganda inobatga olish kerak. DPR qo'yish uchun ishlatiladigan qo'sh spetsifik antigen + antitelolarni biofabrikalarda chiqariladigan diagnostik to'plamlardan ham olib ishlatish mumkin (masalan, otlarning yuqumli anemiya kasalligiga diagnoz qo'yish uchun ishlatiladigan to'plamdan).

3.DPR laboratoriya mashg'uloti uchun agarni issiq holda uzoq vaqtgacha (20-30 daqiqa) saqlash kerak, 1,0- 1,5% agarni 50-60°C qizdirilgan holda 50ml

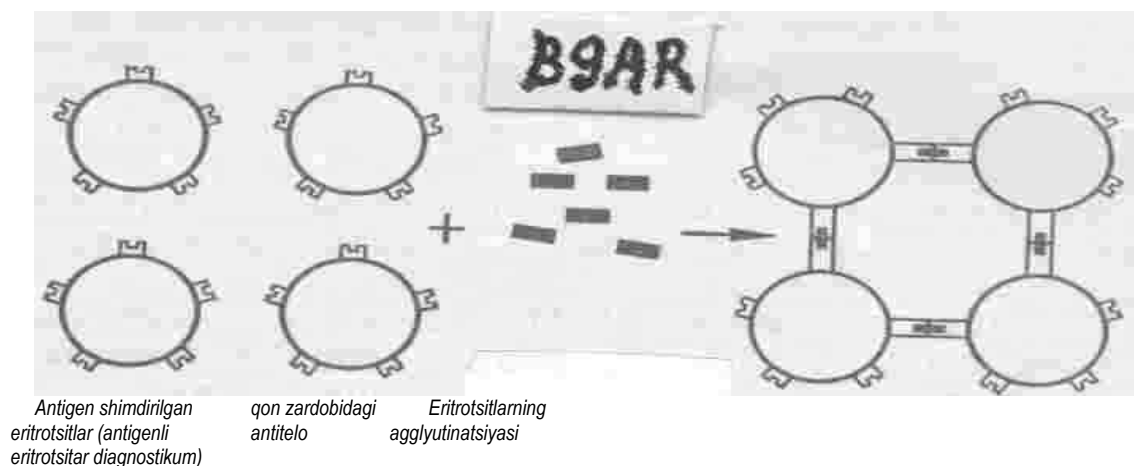
flakonlarga quyilib, qaynoq suv solingan 0,5 ml bankalarga joylashtirib suv hammomida tutib turiladi. Flakonlar suvda ag'darilmasligi uchun ularning bo'yniga sim bog'lab bankaning og'ziga ildirib qo'yiladi.

11-MAVZU: Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi (BGAR) virusologiya tekshiruvlarida keng qo'llanilmoqda.

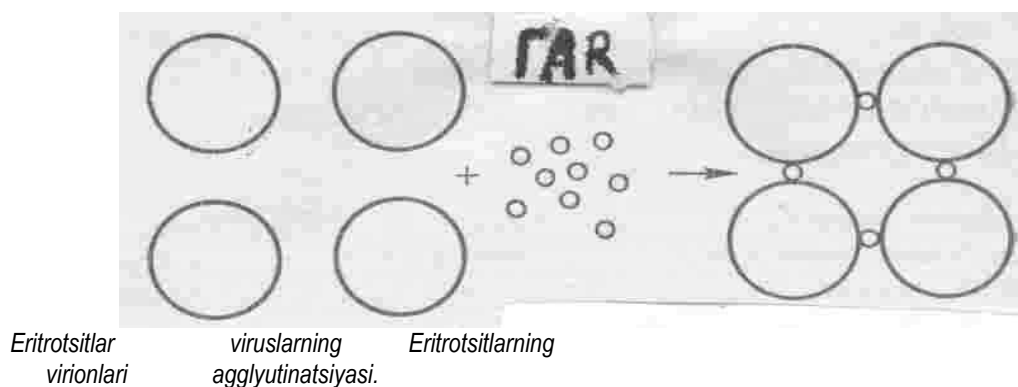
Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki, eritrotsitlar yuzasiga oldindan shimdirilgan antigenlar o'ziga gomologik zardob (antitelo) bilan uchrashsa, agglyutinatsiyalanish qobiliyatiga ega bo'ladi.

Bu fenomen ushbu usulda antitelolarni topish va titrlashga asoslangan. Eritrotsitlar bu erda spetsifik determinantlarni tashuvchi vazifani o'taydi va ularning agglyutinatsiyasi antigen-antitelo reaksiyasi natijasida sodir bo'ladi va bu hol o'zining cho'kmasiga asosan ko'zga yaqqol ko'rinadi. Shu tufayli BGAR spetsifik bo'lgan serologik reaksiya hisoblanadi (58-rasm).



58-rasm. Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasining tasviri.

BGAR ni GAR dan farqlash kerak. GAR da eritrotsitlarni bir biriga yopishishi (agglyutinatsiyasi) uning retseptorlari virus retseptorlari bilan o'zaro ta'siri natijasida yuzaga keladi (59-rasm).



59-rasm. Gemagglyutinatsiya reaksiyasining tasviri.

BGAR da esa, agglyutinatsiyani antigen+antitelo kompleksi yuzaga keltiradi.

40-yillarning oxirida bakterial kasalliklarni aniqlashda BGAR ni birinchi bor tavsiya qilishgan. Virus antigenlari bilan BGAR birinchi bo'lib Bernet va Andersen (1946) bayon qilishgan.

Keyingi rivojlanishni Boyden (1951) ishlatiladigan eritrotsitlarga tanin bilan ishlov berish usulini joriy qilgandan so'ng davom etkazdi.

BGAR ning boshqa xili 1956 yilda tavsiya qilingan. Bunda eritrotsitlarning yuzasiga antitelolar shimdiriladi va ular o'zining gomologik antigenlari ta'sirida gemagglutinatsiyaga uchrab o'ziga xos cho'kma hosil qiladi. Antitelo bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni qo'llash har xil materiallardagi antigenlarni tez topishga imkon yaratadi. Eritrotsitlar yuzasiga mustahkam yopishtirilgan antigenlarni eritrotsitar antigenli diagnostikmlar yoki eritrotsitga sensibilizatsiyalangan antitelolar deb ataladi.

Bu ikki muhim usulga asoslangan BGAR ning modifikatsiyalari virusologiyada juda keng qo'llaniladi.

U quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi:

a) sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni tayyorlash (eritrotsitlarni tayyorlash, ularni fiksatsiyalash, taninlash va sensibilizatsiyalash).

b) BGAR ning asosiy tajribasini qo'yish. Odatda, veterinariya laboratoriyasida faqat asosiy tajriba qo'yiladi, sensibilizatsiya-langani eritrotsitlarni tayyorlash esa biologik ishlab chiqarish fabrikalarida olib boriladi.

Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar (eritrotsitar diagnostikumlar) tayyorlash jarayoni quyidagilarni o'z ichigga oladi:

1-eritrotsitlarni tayyorlash. Bu maqsad uchun qo'y va odam eritrotsitlari keng qo'llaniladi.

Hozirgi vaqtda bu maqsad uchun parrandalarning eritrotsitlari (tovuq, kurka, o'rdak) ko'p qo'llaniladi, chunki ulardan tayyorlangan diagnostikumlar tez cho'kmaga tushadi bu esa sezgirlikni yo'qotmasdan tekshirish muddatini qisqartiradi.

Tegishli turdagi hayvondan umumiy usul bilan qon olinadi. Fibrinsizlantirilgan qon sentrifuga yordamida uch marta natriy xlorning izotonik eritmasi bilan yuviladi.

2-eritrotsitlarni fiksatsiyalash. Fiksatsiyalangan eritrotsitlarni xususiyati shundaki, ular uzoq vaqt suspenziyalarda gemolizga uchramasdan saqlanadi. Eritrotsitlarni fiksatsiyalash uchun ko'pincha formal'degid, glutarli yoki akrilli al'degidlar ko'p ishlatiladi.

Fiksatsiyalash usuli xilma-xil. Ulardan birida; 50% yuvilgan eritrotsitlarning aralashmasi, bir xil hajmdagi 50% formalin bilan qo'shiladi va 37 ° C 2 soatlik kontaktda vaqti-vaqti bilan eritrotsitlar aralashtirilib 3 marta 0,15 NaCl (pH 7,2) eritmasida yuviladi.

3-eritrotsitlarni taninlash. Eritrotsitlarga taninning ta'sir mexanizmi kam o'rganilgan. Biroq bunda asosiy maqsadga erishiladi-taninlangan eritrotsitlar katta hajmdagi oqsillarni shimish qobiliyatiga ega bo'ladi.

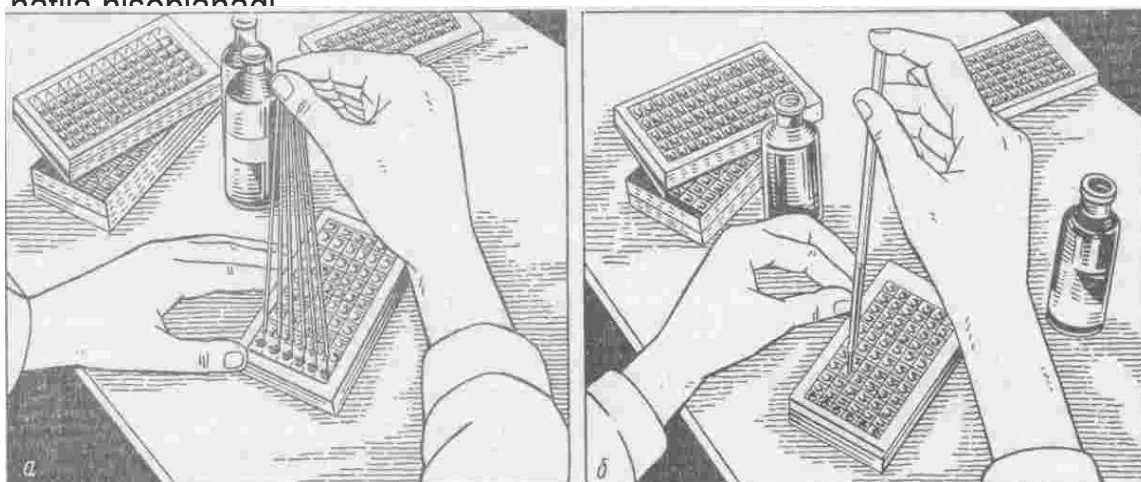
Formalinlangan eritrotsitlarni taninlash bir-xil hajmdagi 3% li eritrotsitlarni taninning (1:20000) eritmasiga qo'shish yo'li bilan 37°C haroratda 10-15 daqiqali kontaktdan so'ng sentrifugalanib, cho'kma uch karra (pH 7,2) fosfat buferi bilan yuviladi.

4-eritrotsitlarni sensibilizatsiyalash, eritrotsitlarning 0,15 M fosfat buferidagi (pH 6,4) 10% konsentratsiyadagisi teng hajmdagi virus saqlovchi suyuqlik bilan aralashtiriladi. Aralashma 37°C 60 daqiqa ushlanadi, vaqti vaqti bilan chayqatiladi, so'ng sentrifugalanadi va 2-3 marta yuviladi. Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar cho'kmasini 1%-li konsentratsiyagacha suyultirib quyoning 1% normal zardobini saqlovchi pH (7,2) bo'lgan fosfat bufer eritmasida stabillanadi.

Shu yo'l bilan sensibilizatsiyalanib olingan eritrotsitlar BGAR uchun ishlatiladi. Shuni aytish kerakki, har qaysi virus antigenlari bilan eritrotsitlarni sensibilizatsiyalash jarayoni har-xil bo'ladi; uning optimal variantlari sinov tajribalarida ma'lum bo'ladi.

BGAR ning asosiy tajribasi

Reaksiya probirkalarda yoki pleksiglas panellarning chuqurchalarida qo'yiladi. So'ngi paytlarda BGAR ning mikro usuli Takachi (60-rasm) yoki Titertek apparatlari yordamida qo'yiladi. Tekshiriladigan va nazorat zardoblar 56°C 30 daqiqa qizdiriladi. Tekshiriladigan zardob 0,2 ml hajmda quyoning 1% normal zardobini saqlovchi fiziologik eritmada (pH 7,2-7,4) ikki karrali suyultiriladi, so'ngra zardobning har-qaysi suyultirilganiga, 0,2 ml antigen bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar qo'shiladi. Aralashma chayqatilib xona haroratida saqlanadi. Nazoratdagi eritrotsitlarning cho'kishiga qarab 2-3 soatdan so'ng natija hisoblanadi.



60-rasm. Serologik reaksiyani mikrousulda qo'yish uchun ishlatiladigan Takachi asbobi:
a-komponentlarni qator chuqurchalar orqali o'tkazish;
b-Maxsus pipetka yordamida komponentlarni quyish.

Tajriba quyidagi nazoratlar bilan olib boriladi:

1)eritrotsitar antigenni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+1% quyon zardobi qo'shilgan fiziologik eritma) kutilmaganda gemagglyutinatsiyaga uchrashini nazorat qilish;

2)sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+musbat zardob) aktivligini aniqlash uchun;

3)sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni (sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar+normal zardob) spetsifikligini aniqlash bo'yicha;

4)zardoblarda spetsifik bo'lmagan gemagglyutininlarni yo'qligi (tekshiriluvchi zardob + sensibilizatsiyalanmagan eritrotsitlar) bo'yicha.

Reaksiyaning natijasi to'rt balli shkala bo'yicha baholanadi;

(+++)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar chetlari notekis "soyabon" hosil qiladi;

(++)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar atrofida, agglyutina-tsiyalanmagan eritrotsitlardan ingichka halqa hosil bo'ladi.

(+)-agglyutinatsiyalangan eritrotsitlar atrofida agglyutinatsi-yanamagan eritrotsitlardan keng halqa hosil bo'ladi.

(-)-eritrotsitlar disksimon cho'kma hosil qiladi-natijasi manfiy.

Reaksiyaning musbat natijasida agglyutinatsiyalangan eritro-tsitlar probirka yoki chuqurcha tubiga tekis tarqalib soyabonsimon cho'kma hosil qiladi.

Agglyutinatsiya yuz bermaganda aniq natija olinadi: tekshiriluvchi zardob sensibilizatsiyalanmagan eritrotsitlar bilan, eritrotsitar diagnostikum avvaldan manfiy zardob bilan, musbat natija berganda, zardobdagi antitelolarning titri uning yuqori suyultirilgani sensibilizatsiyalangan eritrotsitlarni agglyutinatsi-yalay olishi qabul qilingan (13-jadvaldagi BGAR ning sxemasiga qarang).

Hozirgi vaqtda mamlakatimizning veterinariya biologik sanoati yuqumli rinotraxeit, oqsil va yirik shoxli hayvonlarning adenovirus kasalliklariga eritrotsitar diagnostikumlar to'plamini chiqarmoqda.

Har bir to'plam laboratoriya sharoitida ishlatish uchun qo'llanma bilan ta'minlangan.

Shunday qilib, BAGR quyidagi diagnostik masalalarni echa oladi:

a)zardobdagi antiteloni topadi va uning titrini aniqlaydi.

Buning uchun virus bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar ishlatiladi;

b)virus antigenini topadi va farqlaydi.

Buning uchun antitelolar bilan sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar ishlatiladi.

BGAR ning xususiyati: juda sezgir (ko'rsatkichi bo'yicha DPR, KBR dan oldinda turadi va immunoferment usuliga yaqin) qo'yish texnikasi oddiy va 2-3 soatdan so'ng javobi tayyor bo'ladi.

Ammo kamchiliklardan xoli han emas. Bu stabilli eritrotsitar diagnostikimlarni tayyorlashdagi qiyinchilik bilan bog'liq (komponentlar nihoyatda toza bo'lishi kerak va har qaysi virus uchun alohida sensibilizatsiya tartibini belgilash kerak.

Topshiriq

Buzoqning qon zardobidagi antitelolarning titrini yirik shoxli hayvonlarning adenovirusi misolida aniqlash kerak.

13-jadval. Zardobdagi antitelolarning titrini BGAR da aniqlash.

Komponentlar	Zardobni suyultirish								Komponentlar	Nazorat			
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280		1	2	3	4
Fiziologik eritma, ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar	0,2	0,2	0,2	
Tekshirilayotgan zardob, ml	0,2	0,2 ml dan o'tkazish							Fiziologik eritma	0,2			
Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Musbat zardob		0,2		
	Xona haroratida 2-3 soat ushlab								Manfiy zardob			0,2	
									Tekshirilayotgan zardob, ml				0,2
									Sensibilizatsiyalangan eritrotsitlar				0,2
Natijani hisoblash	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-		-	+++	-	-

Xulosa: zardobdagi antiteloning titri 1:160

Material bilan ta'minlash:

Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus va yuqumli rinotraxeit kasalliklariga diagnoz qo'yish uchun antigenli eritrotsitar diagnostikum; yirik shoxli hayvonlarning tekshiriladigan zardoblari; BGAR suyultirgichi; 1ml pipetkalar; probirkalar; Takachi yoki Titertek apparatlari; zardoblar; NaCL izotonik eritmasi; distillangan suv; fil'tr qog'ozlari; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan idish. Agar

Takachi yoki Titertek apparati bo'lmasa pleksiglas panellarning chuqurchalari ishlatiladi.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2soat)

1. Nazorat uchun savollar
2. O'qituvchining tushuntirishi
3. Namoyish: a) BGAR uchun biologik sanoat tomonidan tayyorlangan diagnostik to'plamlar.
b) Takachi yoki Titertek apparatlari yordamida BGAR ning mikrousulini qo'yish.
4. Talabalarning mustaqil ishi; a) BGAR uchun mikropanellarni, ilmoqlarni va pipetkalarini tayyorlash;
b) Buzoqning qon zardobidagi yuqumli rinotraxeit virusiga yoki adenovirusga qarshi antitelolarni titrini aniqlash maqsadida BGAR qo'yish;
c) Reaksiyaning natijasini hisoblash.
5. Mashg'ulotni yakunlash.
6. Kelgusi mashg'ulotga vazifa berish.

Nazorat uchun savollar

1. Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasining, gemagglyuti-natsiya reaksiyasidan farqi nimada?
2. BGAR ning mohiyatini so'zlab bering.
3. BGAR amaliyotda qanday qo'llaniladi?

Uslubiy ko'rsatmalar

Ushbu mashg'ulotda talabalar Takachi yoki Titertek apparatlari yordamida BGAR mikrousulini qo'yish va komponent sifatida esa BGAR uchun chiqarilgan diagnostikumlardan foydalanishi maqsadga muvofiq bo'ladi. Yuqorida ko'rsatilganlar bo'lmasa, BGAR makrometodini pleksiglas panellarda qo'yish mumkin.

Reaksiyaning komponentlari o'rniga imitatsiyadan foydalaniladi. Buning uchun tekshiriladigan musbat zardob o'rniga n'yukasl kasalligi virusining vaksina shtammi olindi; antigenli eritrotsitar diagnostikumi o'rniga esa-xo'roz eritrotsitlari olinadi.

12-MAVZU

Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU) va uning virusologiyada qo'llanilishi

Nurlanuvchi antitelolar usuli asosida lyuminessensiya jarayoni yotadi. Uning mohiyati shundaki, har-xil moddalarning atomlari har xil turdagi quvvatlarni (yorug'lik, elektr va boshqa) yutib qo'zg'alish holatiga keladi va so'ngra avvalgi holiga qaytib yutgan energiyasini yorig'lik nuri sifatida tarqatadi.

Lyuminessensiya, fluoressensiya yoki fosforessensiya ko'rinishida yuzaga keladi.

Fluoressensiya - nur sochish, to'liqinli nur bilan nurlantirilganda sodir bo'lib (10^{-9} dan to 10^{-7} C) nurlantirish to'xtagandan so'ng, nur sochish ham to'xtaydi.

Fosforessensiya - qo'zg'alish jarayoni to'xtagandan keyin ham nur sochish uzoq vaqt davom etadi. Tirik organizmning ko'pgina moddalari o'zining shaxsiy fluoressensiyaga (aytoflyoressensiya) ega, biroq uning quvvati juda ham kam.

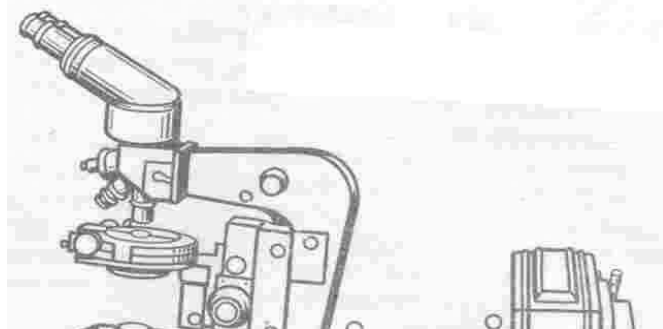
Fluoroxromlar (nur sochuvchi ranglar) nur sochmaydigan moddalarga nur sochish xususiyatini beruvchi moddalar hisoblanadi. Bunday fluoressensiyalar ikkilamchi deyiladi. Fluoroxromlar lyuminessentli mikroskoplarda, biologik obe'ktlarga ishlov berish uchun keng qo'llaniladi.

Lyuminessentli nur sochish Stoks qoidasiga amal qiladi, bu qoidaga binoan fluoressensiya nuri qo'zg'atuvchi nurga qaraganda nihoyat uzun to'lqinga ega. Agar qo'zg'atuvchi nur ko'p bo'lsa, fluoressensiya nuri esa-yashil bo'ladi. Bu esa nihoyat ravshan qo'zg'atuvchi nurdan kam quvvat fluoressensiyani filtrlab olishga imkon beradi.

Lyuminessensiya mikroskopda fluoressensiyani qo'zg'atish uchun yaqin ul'trabinafsha yoki ko'k binafsha spektr qismlari ishlatiladi.

Lyuminessentli mikroskop esa maxsus lyuminessent yordamida amalga oshiriladi. Hozirgi vaqtda laboratoriyalarda ML-1, ML-2, ML-3 va "Lyumam" seriali lyuminessent mikroskoplari ishlatiladi. (61-rasm).

Lyuminessent mikroskopida ko'k-binafsha qismli spektrni ajratish uchun bir qancha yorig'lik filtrlar (FS-1, SS-4+SS-8) ishlatiladi; issiqlikdan optikalarni va preparatlarni rangsizlanib qolishidan himoya qiluvchi (SZS-14, SZS-7, BS-8, suv solingan yoki achchiq tosh eritmasi quyilgan bochkaga) fil'trlar va mikroskopning okulyarida esa qo'zg'algan nurni to'suvchi hamda lyuminessensiya nurini o'tkazuvchi (JS-18, JS-3) fil'trlar bilan ta'minlangan bo'ladi. Lyuminessent mikroskopi qorong'i xonaga joylashtirilgan stolga o'rnatiladi. Mikroskopni tebranmasligini ta'minlash zarur, chunki mikrosurat olganda halaqit beradi.



Xona yaxshi shamollatilgan bo'lishi kerak, chunki nur manbaidan tarqaluvchi gaz sog'liqqa zarar etkazishi mumkin. Agar tok kuchi 4-5A bo'lganda mikroskopdagi nur beruvchi chiroq o'zining nur berish quvvatiga 5-10 daqiqadan so'ng erishadi.

Ikkinchi marta chiroqni yoqish uchun, uni dastlab to'lasincha sovutish kerak. Ko'pincha tekshiruvchilar, preparatlarni lyuminessent mikroskopda tekshirishni yuqoridan tushadigan nur ostida olib boradi, chunki u preparatni pastidan yoritib kuzatishda qator qulayliklarga ega, nur kam sarflanadi, qo'zg'atuvchi nurning spektrlar tarkibi yaxshi, tekshiruvchining ko'ziga nur kam tushadi va ob'ektlarni yoritish kattalashadi.

Lyuminessent mikroskopida ishlatish uchun o'zidan nur sochmaydigan yuqori sifatli immersiyali moylar ishlatiladi. Ayrim paytlar uning o'rnini bosuvchi-dimetilftalat qo'llaniladi, biroq uni uzoq vaqt qo'llaganda ob'ektlarning sifati buziladi.

Virusologiya amaliyotida lyuminessent mikroskopni asosan ikki usulda ishlatiladi: fluoroxromlar (nur beruvchi ranglar bilan bo'yash) va nurlanuvchi antitelolar usulida.

Fluoroxromlash-preparatlarni nur sochish quvvatini va kontrastligini oshirish maqsadida fluoroxromlar bilan ishliv berish. Hozirgi vaqtda mamlakatimiz sanoatida maxsus fluoroxrom to'plamlari chiqariladi. Eng ko'p qo'llaniladigan akridin guruhi (to'q sariq akridin, sariq akridin va boshqalar) va tiozil guruhi (primulin). Fluoroxromlarning past konsentratsiyadagi suvdagi eritmaları ko'p ishlatiladi (1:1000 dan to 1:1000000). Fluoroxromlash usulini ayrim viruslarni (chechak, Born kasalligi, adenovirus kasalliklarida) o'rganishda qo'llash mumkin.

Ularning orasida to'q sariq akridin katta ahamiyatga ega, u nuklein kislotalarning polixromatik fluoressensiyasini chaqiradi.

Masalan, bo'yalgan preparatlarda dezoksiribonuklein kislota ravshan sariq-yashil rang bilan nur sochadi, ribonuklein kislota esa-to'q sariq qizil nur sochadi.

Fluoroxromlash usuli uchun preparatlar ikki yo'l bilan tayyorlanadi:

a) Yangi surtma-tamg'achalarga (organlardan, shilliq pardalardan) yoki zararlantirilgan hujayra suspenziyalarga 1-2 tomchi to'q sariq akridinning ishchi eritmasidan (1:10000) 1-2 tomchi tomiziladi va yopqich oyna bilan yopiladi. Shu usulda tayyorlangan preparat lyuminessent mikroskopi ostida kuzatiladi;

b) olingan patmaterialdan tayyorlangan surtma tamg'alar, yoki zararlantirilgan o'stirilgan hujayralar (yopqich oynachalarda) 96°etil spirti bilan 15-30 daqiqa davomida mustahkamlanadi, Xenks eritmasi bilan chayiladi, preparatga 1-2 tomchi to'q-sariq akridin (1:10000) tomiziladi, 5-10 daqiqadan so'ng yopqich oyna bilan yopiladi va tekshiriladi.

Natijada, hujayra yadrosidagi DNK-yashil rangli nur beradi, sitoplazmadagi RNK esa qizil yoki to'q sariq nur sochadi.

DNK saqlovchi adenoviruslardan tayyorlangan preparatlarning yadrolari donador yashil nur sochadi.

Agar preparatlarda RNK saqlovchi virus uchrasa, masalan gripp virusi, u vaqtda virus materiali ravshan qizil donalar shaklida hujayraning sitoplazmasida topiladi.

DNK yoki RNK ning kelib chiqishini (hujayraga tegishlimi yoki virusga tegishlimi) farqiga bormoq uchun preparatlarni RNK-aza yoki DNK-azalarning 0,5% eritmalari bilan 5-10 daqiqagacha ishlov beriladi yoki ul'trabinafsha nurlar bilan nurlantiriladi.

Natijada hujayra RNK yoki DNK ning nurlanishi darhol yo'qoladi, viruslarniki esa yana 20-30 daqiqa davomida nur sochadi. Bu esa virus nuklein kislotalarining spetsifikligini isbotlaydi.

Oddiy fluoroxromlash usuli murakkab emas, biroq u ko'p hollarda kasallik qo'zg'atuvchilarini to'lasincha farqlay olmaydi.

Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU), yoki immunofluoressensiya reaksiyasi (IFR)

Bu usulning mohiyati shundan iboratki, fluoroxrom bilan bo'yalgan yoki belgilangan antitelolar o'zining gomologik antigenlari bilan bog'lanish xususiyatini saqlab qoladi. Hosil bo'lgan antigen+antitelo kompleksi lyuminessent mikroskopi ostida o'zining xarakterli nur sochishiga qarab ko'rinadi va topiladi.

Shunday qilib, NAU yordamida serologik reaksiyaning dastlabki davrini nazorat qilishga imkon yaratiladi, shu sababli reaksiyaning maxsusligiga uning yuqori sezgirligi qo'shiladi.

Antitelolar olish uchun, yuqori aktivlikga ega bo'lgan, begona antitelolardan tozalangan virusga qarshi giperimmun zardoblar ishlatiladi.

Bu zardoblardan uning antitelosini saqlovchi gomogenli fraksiyasi ajratiladi va ular fluoroxromlar bilan belgilanadi. Fluoroxrom sifatida ko'pincha fluoressen izototsionat-FITC (yaxshi nur sochuvchi) va rodamin sul'foxlorid-RSX (qizil nur sochuvchi). Fluoroxromlar bilan belgilangan antitelolarni kon'yugat deb ataladi.

Kon'yugatlar ampulalarga quyilib -20°C yoki undan ham past haroratda saqlanadi. Undan tashqari kon'yugatlar 1:10000 tiomersal qo'shib 4°C haroratda saqlash mumkin. Nur sochuvchi zardoblar yoki ularning globulinli fraksiyalari liofillanib quritilgan holda uzoq vaqt o'zining aktivligini saqlaydi. Kon'yugatning har qaysi seriyasini ishlatganda, dastlab uning ishchi suyultirilganini tajriba yo'li bilan aniqlanadi, chunki u nafaqat nurlanuvchi

zardobning sifatiga bog'liq balki preparatlarning lyuminessent mikroskopi ostida yoritilganligiga ham bog'liqdir.

Bu maqsad uchun kon'yugatning har xil suyultirilgani (yorliqda ko'rsatilgan ishchi suyultirilgan 1-2 suyultirish darajasi yuqori va past) bilan bo'yalgan preparatlar mikroskop ostida kuzatilib yaxshi nur sochadigan yuqori suyultirilgani tanlanib, bo'yash titri ikki marta oshiriladi.

Preparatlarni tayyorlash

Immunofluoressent usuli bilan tekshirish olib borilganda, surtma, tamg'a, gistologik kesmalar va o'stirilgan hujayralardan foydalaniladi.

Ishlatiladigan buyum oynalari yupqa, toza yog'sizlantirilgan va tirnalmagan bo'lishi kerak.

Shuning uchun ularni neytral suyuqliklarda yuviladi, distillangan suvda chayiladi va spirt aralashmasida yoki spirt bilan efir aralashmasida saqlanadi. Ishlatishdan oldin buyum oynalari spirt lampa alangasida toblanib so'ngra sovutiladi.

Avvaldan yopishtirilgan leykoplastrga kerakli yozuvlar oddiy qalam bilan yoziladi.

Boshqa xil qalamlar bilan yozilganda preparat fiksatsiyalaganda erib ketib, fluoressiyalovchi zardoblar bilan ishlov berishga halaqit beradi.

Surtmalar yuvindilardan va boshqa suyuqliklardan tayyorlanadi.

Surtma-tamg'achalar organizmning qaysi to'qimasida yoki organida virus ko'p to'plansa, o'sha materialdan tayyorlanadi. Quturish kasalligiga diagnoz qo'yish uchun miyadan; otlarning rinopnevmoniyasida va itlarning gepatit kasalligida-jigardan; gripp, yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, adenovirus kasalliklarida burun, tamoq yuvmalaridan surtmalar, tamg'alar esa burun bo'shlig'i, bronx va kekirdak shilliq pardalaridan tayyorlanadi; chechak kasalligida surtmalar vezikulalardan, papulalardan tayyorlanadi.

Gripp virusini aniqlash uchun va boshqa respirator kasalliklar qo'zg'atuvchilarini topish uchun, burun yo'llari shilliqlardan tozalanadi paxta tampon yordamida surtma olinib, buferlangan fiziologik eritma yoki oziqa muhitlari quyilgan probirkalarga joylashtiriladi. So'ngra, tampon chayiladi, siqiladi va olib tashlanadi, eritma sentrifugalanib uning cho'kmasidan surtmalar tayyorlanadi. Ko'p qavatli yassi epiteliy bilan qoplangan masalan tamoq, ko'z shilliq pardasi, qin shilliq pardalarini tekshirish uchun, dastlab shilliq moddalardan tozalanadi va qirib (qirtishlab) olinadi. Odatda bu epiteliylardan tayyorlangan preparatlar tekshirishga yaramaydi, chunki ular autofluoressensiyaga ega. Shu sababli preparatlarni qirtishlab olingan joylardagi hujayralardan tayyorlanadi.

Organlardan tamg'alar tayyorlaganda buyum oynachalari organning sirtiga tegiziladi. Tamg'alar yupqa va tekis bo'lishi kerak. Surtma tamg'achalar havoda quritilgach, so'ngra fiksatsiyalanadi va ishlatilgunga qadar muzlatgichlarda

saqlanadi (4°C - 70°C). Nazorat uchun sog'-hayvonlarning organlaridan shu yo'l bilan preparatlar tayyorlanadi.

Agar viruslarni oldindan o'stirilgan hujayralarda to'plash kerak bo'lsa, unda o'stirilgan hujayralar probirkaga solingan yopqich oynachalar yuzasida o'stiriladi.

Bu plastinkalar zararlantirilgandan so'ng har-xil vaqtlarda chiqarib olinib, oziq muhitlardan tozalash uchun fiziologik eritma bilan yoki fosfat buferi eritmasi bilan sekin yuviladi.

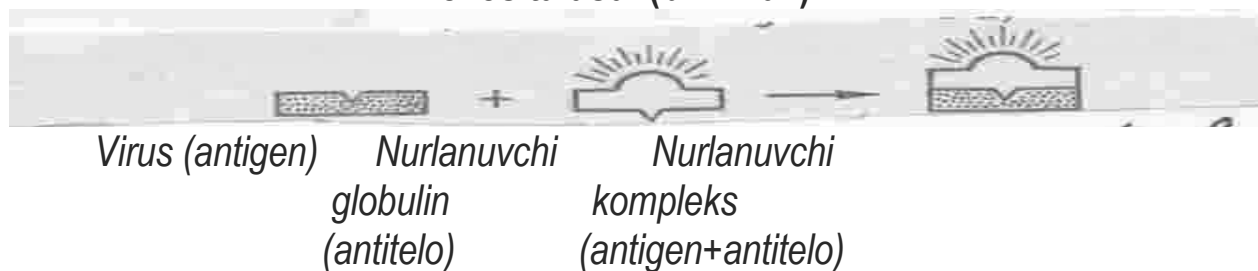
So'ngra xona haroratida yoki toza filtr qog'ozi yordamida quritiladi va fiksatsiyalanadi.

Virus antigenlari uchun eng yaxshi fiksator toza atseton hisoblanadi, uning minus 10 - 15°C sovutilgani yoki metil spirti ishlatiladi.

Preparatlar 10 - 20 daqiqa davomida fiksatsiyalanadi. Fiksatsiyalash vaqti va harorati virusning turiga bog'liq. O'ta xavfli viruslarni fiksatsiyalash vaqti cho'ziladi.

Masalan, quturish kasalligi bilan ishlaganda preparatlar kamida 4 soat fiksatsiyalanadi. Nurlanuvchi antitelolarning bevosita va bilvosita usullari ma'lum (62-rasm).

A.Bevosita usul (bir zinali)



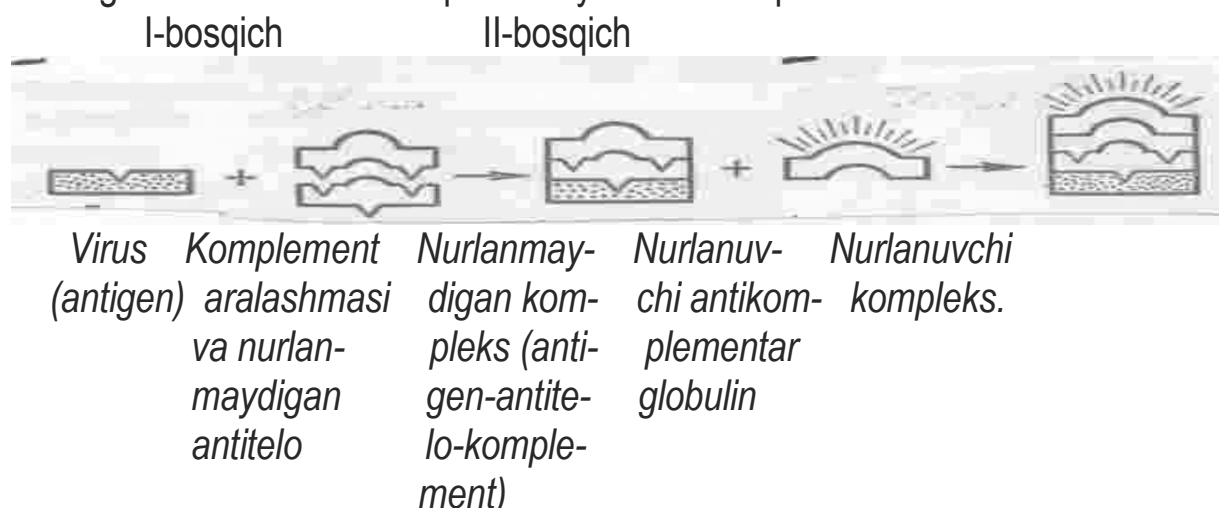
B.Bilvosita usul (ikki zinali)

1. Antigenni nurlanuvchi antiglobulin yordamida topish
 - I-bosqich
 - II-bosqich



Virus (antigen) Nurlanmaydigan antitelo, o'sha anti- gen N2 (immun- li zardob) Nurlan- maydigan kompleks (antigen- antitelo) Nurlanuvchi N2 antigen- ga qarshi antitelo. Nurlanuvchi kompleks.

2. Antigenni nurlanuvchi komplement yordamida topish.



62-rasm. Preparatlarga fruoressensiyalanuvchi antitelolar usuli bo'yicha ishlov berish sxemasi.

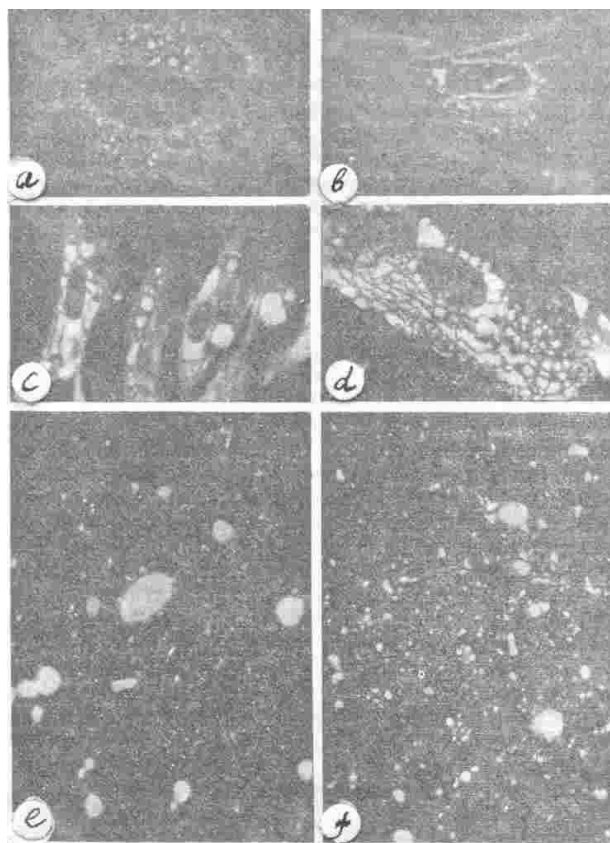
- ++++ -och yashil ravshan nur sochganda;
- +++ -yashil ravshan nur sochganda;
- ++ -yashil sariq rangli past nur sochganda;
- +-aniq bo'lmagan past nur sochganda;
- - ob'ekt nur sochmaganda;

1.Bevosita yoki bir zinali usulni (Weller va Coons, 1954) har xil virus antigenlarini indikatsiyalash uchun qo'llaganda har qaysi antigen uchun nurlanuvchi antitelolar ishlatiladi. Preparatga to'g'ridan to'g'ri konyugat tomizilib 37°C namlantirilgan kamerada 20-60 daqiqa ishlanadi, ayrim tekshiruvchilar esa bu jarayonni 4°C da uzoqroq vaqt olib borgan.

Antigen bilan bog'lanmagan kon'yugatlardan tozalash uchun preparatlar fiziologik eritma (pH 7,2-7,5) bilan yuviladi. So'ngra ularni havoda quritiladi, nurlanmaydigan moy tomizilib mikroskop ostida kuzatiladi.

Nurlanishni spetsifikligiga va ravshanligiga qarab uning natijasi hisoblanadi va tuzilishining o'ziga xosligiga qarab quyidagi shkalalarda belgilanadi.

Nazorat sifatida tarkibida tekshiriladigan virus yo'q preparatlar olinadi (normal o'stirilgan hujayralar, sog'lom hayvonlarning organlaridan tayyorlangan tamg'alar). Ularga bir vaqtda tajribadagi preparatlarga ishlov bergandek ishlov beriladi (63-rasm). Tekshiriladigan preparatlardagi spetsifik bo'lmagan nurlarni pasaytirish maqsadida kontrastlash usuli qo'llaniladi.



63-rasm. O'stirilgan hujayralarda (a,b,c,d) quturish virusining, va virus yuqtirilgan sichqonlarning miyasidan tayorlangan.
(e,f) tamg'adan FAU bevosita usulida antigenni uchratish. E.V. Klyuevaning preparatlari.

Buning uchun tekshiriladigan surtmalarga ot yoki ho'kiz zardobi al'buminining rodamin bilan belgilangan suyuqliklar bilan ishlov beriladi. Natijada mikroskop ostidagi preparatlardan spetsifik antigenlar yashil nur sochadi, preparatlarning tagi esa to'q sariq yoki qo'ng'ir rangli ko'rinishda bo'ladi.

Biofabrikalarda chiqariladigan quritilgan spetsifik nur sochuvchi immun zardoblar va al'buminlar, surtmalarni bo'yashdan oldin yorliqda ko'rsatilgan hajmda distillangan suv bilan eritiladi.

Yaxshi preparatlar odatda tez va cho'kmasiz eriydi. Ular eritilganda loyqalansa va cho'kma hosil qilsa 6000 ayl / daqiqa sentrifugalanib loyqadan va cho'kmadan tozalanadi. Eritilgan preparatlarni 4°C saqlanganini bir necha haftagacha ishlatish mumkin. Tekshiriladigan preparatlarga ishlov berishdan oldin spetsifik kon'yugat bilan nur sochuvchi al'buminning ishchi suyultirilgani tayyorlanadi. FITS bilan belgilangan nurlanuvchi immunli globulin aralashmasi rodamin bilan belgilangan al'bumin aralashmalari orasidagi nisbat tajriba yo'li bilan aniqlanadi, chunki ularning seriyalarini aktivligi chiqarilgandan to ishlatilganicha o'zgarishi mumkin.

Bevosita usul antigenlarni topadi va farqlaydi. Buning uchun, har qaysi virusga o'zining nurlanuvchi zardobi bo'lishi kerak.

2.Bilvosita yoki ikki zinali usulda dastlab antigenga nurlanmaydigan antitelo bilan ishlov beriladi (1-zina). Natijada antigen+antitelo kompleksi hosil bo'ladi,

ularni topish uchun esa nurlanuvchi turga qarshi zardob ishlatiladi. Turga qarshi zardobni virusga qarshi zardob olingan hayvon globulinlari bilan emlab olinadi.

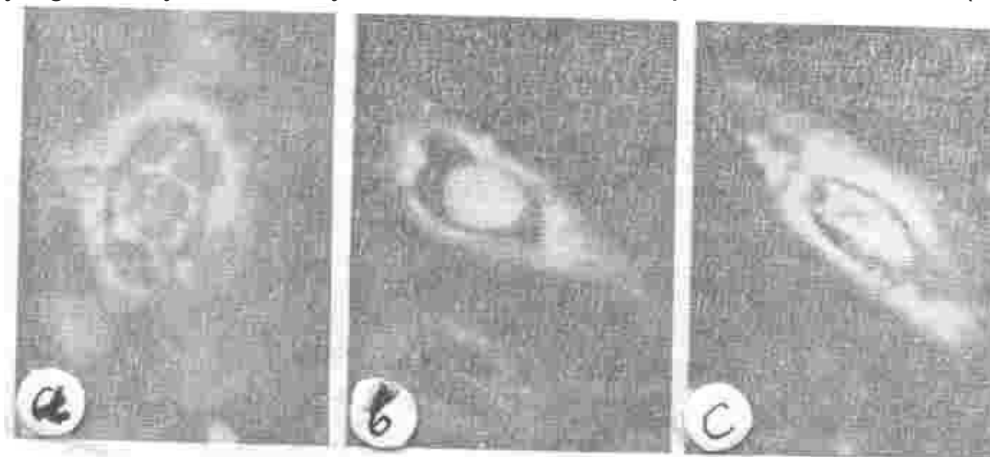
Ko'pincha quyon, ot va dengiz chochqachasi globulinlariga qarshi zardoblar ishlatiladi.

Bilvosita usulda, fiksatsiyalangan preparatlarga (yuqorida ko'rsatilgandek shubha qilinadigan virusga qarshi belgilanmagan zardob yoki gamma-globulinlar tomiziladi, so'ngra preparat 37°C da 30 daqiqa davomida ushlanadi.

Bog'lanmagan antitelolar yuvib tashlanadi. Preparatga tarkibida qaysi hayvondan virusga qarshi antitelo olingan bo'lsa, shu hayvonning gamma-globuliniga qarshi antitelo saqllovchi kon'yugat tomiziladi, agar tovuqlardan olingan antitelo ishlatilsa, unda faqat tovuqlarning gamma-globuliniga qarshi va fluoroxrom bilan belgilangan antitelolar ishlatiladi.

Bu kon'yugatlar bilan bo'yash vaqti xuddi bevosita usuldagiga o'xshash.

Preparatlar bog'lanmagan belgilandan antitelolardan yuvib tashlanadi, unga nur sochmaydigan moy tomizilib lyuminessent mikroskopi ostida kuzatiladi (64-rasm).



64-rasm. Buqaning testikulasidan tayyorlanib o'stirilgan hujayrada FAU bilvosita usulida yirik shoxli hayvonlarning adenovirus antigenini uchratish. L.N. Nosach, R.V. Belousova va boshqalarning preparatlari.

a) yadro dagi nur chiqarmayotgan yumaloq kiritma, kiritmadan tashqarida ham aloqa bo'lmaganligi tufayli nurlanmayapti;

b) yadro markazidagi kiritmaning nur chiqarishi;

c) yadro va sitoplazmaning nurlanib turishi.

Bilvosita usulning bir qancha afzalliklari mavjud, u nafaqat antigenlarni topishda ishlatiladi, shuningdek antitelolarni titrlashda ham qo'llaniladi. Bu usul bevosita usulga qaraganda bir necha marta sezgir, chunki antigenning har qaysi molekulasini odatda antiteloning bir qancha molekulasini bog'laydi.

Bu antitelolar esa o'rganiladigan antigen bilan bog'lanib o'z navbatida nurlanuvchi antiglobulinlarga antigen hisoblanadi va uni ko'proq bog'laydi. Undan tashqari, bu usulda ko'pgina har xil viruslarning antigenlarini yagona belgilangan zardob bilan topish mumkin.

Biofabrikalar chiqaradigan, quritilgan antiglobulinli lyuminessent zardoblar kon'yugatlarini ishga tayyorlash uchun uni dastlab changlantiriladi va 1 ml distillangan suv quyilib aralashtiriladi.

So'ngra fiziologik eritmadan qo'shilib, ampulaning yorlig'idagi ko'rsatilgan suyultirish darajasigacha suyultiriladi.

Yaxshi kon'yugatlar darhol eriydi va cho'kma hosil qilmaydi. Eritilgan kon'yugatlarni 2-4°C haroratda 1-2 oygacha saqlash mumkin.

Kon'yugatlarni ishchi suyultirilganidan quyuqroq konsentratsiyalarini ishlatganda spetsifik bo'lmagan nurlanishlarni kuzatamiz.

Bilvosita usulning bir qancha xillari ishlab chiqilgan. Shulardan komplementni qo'llash ko'proq e'tiborga loyiqdir. (Goldwasser va Shepard, 1958). Bu usulda preparatlarga aktivligi yo'qotilgan va fluoroxrom bilan bo'yalgan zardoblar va komplement tomiziladi, so'ngra antigen+antitelo+komplement kompleksini ko'rish maqsadida preparatga komplementga qarshi nurlanuvchi zardob tomiziladi.

Bu variant birinchisiga qaraganda sezgir hisoblanadi va universal hamdir, chunki har-xil virus antigenlarini topish uchun yagona nurlanuvchi komplementga qarshi zardob kerak bo'ladi.

Bilvosita usulning har ikki variantlari ham antigenlarni topish va farqlash uchun hamda spetsifik antitelolarni titrlash uchun ishlatiladi.

Avvaldan aniq virus saqlovchi materiallardan tayyorlangan surtmalarga tekshiriladigan zardobning har-xil suyultirilgani bilan ishlov berilgach ulardagi spetsifik antiteloni topish va uning titrini aniqlash ham mumkin.

Bu usul virus kasalliklarining serologik diagnostikasini tezlashtiradi va soddalashtiradi. (Oqsil kasalligiga diagnoz qo'yish bo'limiga qarang antitelolarni aniqlash va titrlash usuli).

NAU biologiyaning har xil sohasida keng qo'llanilmoqda. Ayniqsa virusologiyada juda keng qo'llanilmoqda.

NAU usulining yuqori spetsifikligi, sezgirligi, oddiyligi va tez javobliligi tufayli virus antigenlarini topish va farqlash uchun ishlatiladi.

Bu usulning ayniqsa sitopatik ta'sir chaqirmaydigan, gemagglutinatsiyalash va gemadsorbsiyalash qobiliyatiga ega bo'lmagan viruslarni aniqlashda katta ahamiyatga ega;

Virusga qarshi antitelolarni hamda xususiy antitelolarni topish va titrlashda NAU antigenlari bilan hujayralar orasidagi o'zaro ta'sir jarayoni, morfologiyasini o'rganishni, hujayralarda virus antigenining to'planish dinamikasini, virus antigenlarining bog'liqligini, hamda virus kasalliklarining patogenezini o'rganishga imkon yaratadi.

Ayniqsa bu usulning aralash va surunkali kechuvchi virus kasalliklarini o'rganishdagi ahamiyati katta.

NAU diagnostikaning ekspress-usuliga tegishli, chunki qisqa vaqt ichida (bir necha soat) u virus antigenlarini oz miqdorda bo'lsa ham topadi.

Ammo, laboratoriya diagnostikasi jarayonida NAU ko'pincha qoniqarsiz natijalar beradi. Buning asosiy sababi reaksiya natijasining spetsifiklik darajasini izohlashi mumkinligi, bu esa ko'pgina faktorlarga bog'liq.

Spetsifik bo'lmagan reaksiyaning tabiati to'lasincha o'rganilmagan.

Biroq ayrim sabablari aniqlangan, ular quydagilardan iborat;

- 1)Kon'yugatning tarkibida oqsillar bilan bog'lanmagan fluoroxromlar borligi;
- 2)Kon'yugatda begona antitelolarning borligi;
- 3)Spetsifik bo'lmagan holda preparatda belgilangan oqsillarning adsorbsiyalanishi.

Hozirgi vaqtda NAU hayvonlarning ko'pgina virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda keng qo'llaniladi.

Topshiriq.

- 1.Nurlanuvchi zardob to'plamlari va ularni ishlatish qo'llanmalari bilan tanishish.
- 2.Preparatlarni (YuRT yoki PG-3 viruslari bilan zararlantirilgan o'stirilgan hujayralar) immunofluoessent usulining bevosita varianti bilan ishlov berish, buning uchun diagnostik to'plamlardagi nur sochuvchi zardoblardan foydalaniladi.
- 3.Tayyorlangan preparatlarni mikroskopda kuzatish.

Materiallar bilan ta'minlash:

Lyuminessent mikroskopi; nurlanmaydigan immersion moy; buyum va yopqich oynalar; atseton; fiziologik eritma; distillangan suv; petri likopchasi; fil'trovchi qog'ozlar; YuRT yoki PG-3 viruslari bilan zararlantirilgan o'stirilgan hujayra (yopqich oynada); shunga tegishli nurlanuvchi zardoblar; Paster pipetkalari; rezina tiqinli probirkalar; 1 va 5 ml pipetkalar; jarroxlik pinsetlari; kyuvetalar; mavzuga oid diapozitivlar.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

- 1.Nazorat uchun savollar.
- 2.O'qituvchining tushuntirishi.
- 3.Talabalarning mustaqil ishi.
 - a)preparatlarga nurlanuvchi usulning bevosita usuli bilan ishlov berish;
 - b)lyuminessent mikroskopi ostida tayyorlangan preparatlarni kuzatish.
- 4.Namoyish: a)virus kasalliklariga diagnoz qo'yish uchun nurlanuvchi zardoblar to'plami;
 - b)quturish kasalligi, yuqumli rinotraxeit, Pg-3 va boshqa kasalliklarning musbat preparatlari.

5. Mashg'ulotni yakunlash.
6. Kelgusi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

1. NAU nimadan iborat va uning virus kasalliklariga diagnostika qo'yishda ishlatilishi?
2. Virusologiyada NAU ning qanday xillari ishlatiladi?
3. NAU yordamida qanday masalalarni echish mumkin?
4. NAU yutuq va kamchiliklari nimadan iborat?

Uslubiy ko'rsatmalar

NAU bevosita usuli bo'yicha mashg'ulotni o'tkazganda preparatlarni tayyorlash uchun hayvonlardan, tovuq homilasidan va virus bilan zararlantirilgan o'stirilgan hujayralar qo'llaniladi va ularga tegishli nurlanuvchi zardoblar ham bo'lishi kerak.

Yuqorida ko'rsatilgan imkoniyatlar bo'lmagan taqdirda tirik vaksinalardan (YuRT, Pg-3 va boshqa) foydalanish mumkin. Buning uchun dastlab SHB tayyorlanib o'stirilgan hujayralar yoki yopqich oynalarda o'stirilgan MDVK tayyorlanib ularga vaksina shtammlari yuqtiriladi.

Ularga tegishli nurlanuvchi zardoblar esa biologik sanoat tomonidan chiqarilgan to'plamlarda bor. Namoyish vaqti kam bo'lganligi sababli o'qituvchining tushuntirishini, preparatlarni 25-30 daqiqa bo'yash vaqtida o'tkaziladi.

13-MAVZU:

Diagnostik masalalarni echish

Mashg'ulotning maqsadi-talabalarning virus kasalliklariga diagnoz qo'yish usullari bo'yicha bilim saviyasini oshirish, diagnoz ishlarida dastlabki malaka hosil qilishni oshirish va viruslar bilan ishlashning umumiy usullarini tajribada qo'llash bo'yicha tushunchalar berish.

Diagnoz qo'yish jarayonini diagnostika deb ataladi.

Diagnostika esa kuzatishdan va kasal hayvonni tekshirishdan olingan patmateriallarni tekshirishdan, tekshirish natijalarini baholash va tahlil qilishdan iborat. Kasallikning chiqish sababini va kasallikning shaklini va kasal hayvon organizmining holati to'g'risida xulosa qilish.

Yuqumli kasalliklarni samarali davolash usullari ishlab chiqilmaguncha ular bilan kurashish diagnoz qo'yib unga qarshi profilaktik tadbirlar o'tkazish bilan chegaralaniladi xalos;

Shuning uchun virus keltirib chiqaradigan yuqumli kasalliklarga diagnoz qo'yish ularga qarshi kurashish tadbir choralar sistemasida hal qiluvchi o'rinni egallaydi.

Tez va to'g'ri qo'yilgan diagnoz virus kasalliklarining kelib chiqishini bartaraf etishni ta'minlaydi, bu esa epizootik holatni konkret aniqlashga imkon beradi va sog'lomlashtirish tadbir-choralarini maqsadga muvofiq o'tkazishga yordam beradi.

Noto'g'ri qo'yilgan diagnoz yoki kechiktirilgan diagnoz esa, kelib chiqqan kasallikning tarqalishiga imkon yaratadi, uni bartaraf qilish tadbir-choralarini o'tkazishni qiyinlashtiradi, ko'plab iqtisodiy zarar etkazadi, ayniqsa tez tarqaluvchi yuqumli virus kasalliklarida (oqsil yoki juda og'ir kechuvchi chochqalarning o'lati) misol bo'la oladi.

Shu sababli virus kasalliklariga diagnoz to'g'ri va tez qo'yilishi kerak. Afsuski bu ikki talab bir-biriga zid, diagnoz qancha shoshilinch ravishda qo'yilsa, natijasi ham uncha to'g'ri bo'lmaydi, shuningdek diagnoz qancha kech qo'yilsa natijasi aniqroq bo'ladi.

Ko'pchilik hollarda diagnoz qo'yish uchun, bir qancha tahlil va bir butun har xil ma'lumotlar majmuasini to'plash kerak.

Shuning uchun diagnoz uzoq va o'ylab qilingan mehnatning natijasidir. Odatda o'rganiladigan ma'lumotlar majmuasi quyidagilardan iborat: kasallikni kelib chiqishi haqidagi epizootologik ma'lumotlar; kasallikning belgilari; organizm a'zolaridagi va to'qimalardagi patologoanatomik o'zgarishlar; hayvonlardan olingan patologik materialni laboratoriyada tekshirish natijalari.

Virus kasalliklariga diagnoz qo'yish qoidaga asosan ikki bosqichni o'z ichiga oladi: kliniko-epizootologik (laboratoriyagacha) diagnoz xo'jalikda amalga oshiriladi va kasallikga dastlabki diagnoz qo'yish imkonini beradi. Laboratoriya

diagnozi ixtisoslashtirilgan laboratoriyalarda o'tkaziladi (yoki laboratoriya bo'limlarida) va oxirgi diagnoz qo'yishga imkon beradi.

Olingan ma'lumotlar diagnostikaning birinchi bosqichida ishlatiladi. Bularga esa kasallikning klinik belgilari, epizootologik ma'lumotlari va yorib ko'rish natijalari (patologoanatomik o'zgarishlar) jalb qilinadi.

Epizootologik ma'lumotlar hayvonlarni kasallanish sababi, xududlarga tarqalish tezligi, kasallangan hayvonlarning turlari, kasallikning kechishi va rivojlanish sur'ati haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga oladi.

Kasallikning alomatlari deb klinik tekshirish paytida kuzatilgan kasallikning belgilariga aytiladi.

Bu o'zgarishlar (normaga qaraganda) quyidagilardan iborat, tana harorati, nafas olishning soni va shakli, tomir urishining soni, ishtahaning buzilishi, xulq atvorning o'zgarishi, terining va shilliq pardalarning holati, ovqat hazm qilish va chiqarish organlarining faoliyati va boshqalardir.

Patologoanatomik o'zgarishlar o'lgan va majburiy o'ldirilgan hayvonlarni yorib ko'rish natijasida aniqlanadi. Ular mikroskopik o'zgarishlar ya'ni hujayralarda, to'qimalarda yuz beradi va gistologik usullar bilan aniqlanadi, hamda sog'lom hayvon organizmi a'zolarida uchramaydigan o'zgarishlarga (shakli, kattaligi, rangi konsistensiyasi, holati, tugunchalar paydo bo'lishi, qon quyilishlar) bo'linadi.

Kasallikning yuqumli yoki yuqumsizligini aniqlash uchun olingan ma'lumotlar etarli bo'ladi. Yuqumli kasallikda, to'plangan ma'lumotlarni diqqat bilan tahlil qilish va ularni taqqoslash tufayli qaysi kasallik mavjud ekanligini aytib berish mumkin.

Shuningdek ularning har qaysi (virus va boshqa qo'zg'atuvchilar chaqiruvchi) o'ziga xos ajralib turadigan klinik belgilar kompleksi epizootologik holat va patologoanatomik o'zgarishlar bilan kechadi. Bunday holatda qo'yilgan klinikoepizootologik diagnoz ishonchli hisoblanadi. Ammo ko'p hollarda u dastlabki va taxminiy diagnoz hisoblanadi; ayniqsa viruslar chaqiruvchi bir qator yuqumli kasalliklarda epizootologik ma'lumotlar, klinik belgilar va ulardagi patologoanatomik o'zgarishlar bir-biriga juda o'xshash bo'lganligi tufayli kasallikni to'lasincha ishonch bilan aniqlashning imkoni bo'lmaydi. Undan tashqari kasallik bir yoki bir nechta etiologik faktorlarga (masalan, ikki xil virus bilan yoki bir vaqtda virus va bakteriyalar bilan kasallik chaqirganda) diagnoz qo'yish jarayoni yanada murakkablashadi.

Ayrim vaqtlar kasallikning klinik belgilarini kuzatib epizootologik va patologoanatomik ma'lumotlarni o'rganib ishonchli diagnoz qo'yish mumkin.

Masalan, kasallik yirik shoxli hayvonlarni va cho'chqalarni bir vaqtda zararlab, juda o'tkir kechishi va nihoyatda tez tarqalib qisqa vaqt ichida sruv-sruv hayvonlarni kasallantirsa, otlar esa bu kasallikga chalinmasa, kasallangan hayvonlarning og'zida aftalar hosil bo'lib ko'p so'lak ajralib tursa va tuyoqlarining

orasida ham jarohatlar kuzatilsa u holda bemalol oqsil kasalligi deb diagnoz qo'yish mumkin. Bunday paytda oqsil kasalligi qo'zg'atuvchisining turini va variantini aniqlash kerak bo'ladi.

Dastlabki diagnozning taxminiy xarakteri juda ham katta ahamiyatga ega, chunki diagnoz juda qisqa vaqt ichida qo'yiladi va veterinar vrachlar birdaniga bir necha kasallikka shubha qiladi.

Virus kasalliklarining oxirgi diagnozi ko'p hollarda laboratoriya tekshirishlarining natijalari asosida qo'yiladi. Odatda laboratoriyada tekshirishlarini o'tkazish uchun kasal hayvonlardan olingan patologik materiallar talab qilinadi.

Tekshirishning vazifasi patologik materialda virus antigenlarini topish va ularning turini aniqlashdan iborat.

Virusning aktiv shakllarini unga sezgir laboratoriya hayvonlarida biologik sinab ko'rishni o'tkazish yo'li bilan topiladi yoki kam hollarda—gemagglyutinatsiya reaksiyasi yordamida topiladi.

Hayvon organizmida viruslarning borligini qon zardobida virusga qarshi antitelolarning borligidan va ulardan olingan patmaterialda esa virus antigenlari mavjudligini bilamiz. Ularni topish va farqlash serologik reaksiyalar yordamida bajariladi. Shu bilan bir qatorda organizmda virusning borligini patmateriallarda virusning kiritma-tanachalarini topish yo'li bilan ham aniqlanadi.

Bularning barchasi mikroskopik usullar bilan topiladi. Virus kasalliklarining laboratoriya diagnostikasini uch guruhga bo'lish mumkin.

Ekspress usullar. Patmaterialda virusni uchratishga asoslangan. Bu usullar virusni borligini tez aniqlaydi, ammo olingan ma'lumotlarni to'lasincha to'g'riligi shubhaliroq.

Virusologik usullar. Bu usul patologik material tarkibidagi noma'lum virusni ajratib ularni serologik reaksiyalar yordamida farqlashga asoslangan. Ushbu usul o'zining ko'p mehnat talab qiladigan, uzoq vaqtga cho'ziladigan tekshirishlari bilan farq qilib, qo'zg'atuvchi haqida to'g'ri javob beradi, ammo javobi retrospektivdir.

Diagnostikaning serologik usullari

Kasal hayvonlardan olingan juft zardobdagi antitelolarning titrini aniqlashga qaratilgan. Juda ishonchli bo'lib to'g'ri javob beradi, lekin bu ham retrospektiv hisoblanadi.

Kasal hayvonlardan shunday patologik material, olinadiki, unda virusning katta bo'lmagan konsentratsiyasi borligi faraz qilinadi.

O'lgan yoki majburiy o'ldirilgan hayvonlardan olingan patologik material hayvonning klinik o'limidan yoki o'ldirilgandan so'ng 1-2 soatdan kechiktirmasdan (kechiksa materiallar bakteriyalar bilan ifloslanishi tufayli material olishning iloji bo'lmaydi) olish kerak.

Patologik material sifatida ko'pincha jarohatlangan organlardan (bir necha kub santimetr kattalikda) bo'lakchalar olinadi:

a) sog' organlardan farq qiluvchi (shakli, kattaligi, rangi, yumshoq yoki qattiqligi va har xil o'zgarishlar paydo bo'lishi bilan);

b) jarohatlanishi mumkin bo'lgan va o'zida virus saqlovchi, buni o'lim oldi klinik belgilariga qarab mulohaza qilinadi.

c) ko'pincha virus-jigar, taloq, o'pka, bosh miya, limfa tugunlari va buyrakda saqlanadi.

Laboratoriyada keltirilgan patologik material konservantlardan tozalanadi, tarozida tortilib o'lchanadi va 2-3 qismga bo'linadi.

So'ngra jo'natish xatining mazmuniga, materialning miqdoriga, uning sifatiga va ko'rinishiga qarab tekshirish rejasi tuziladi.

Rejaga asosan patologik materialni kamida 2 usul bilan o'rganish ko'zda tutiladi va iloji boricha tez natija olish va ularni esa qo'ldan kelguncha ishonchli usullar yordamida isbotlash kerak bo'ladi. Shuning uchun material qismlarga bo'linadi (bir qismi esa ehtiyotdan qoldiriladi).

Tekshirish usullarining xiliga qarab patologik materialdan kesmalar, tamg'alar, surtmalar yoki suspenziyalar tayyorlanadi.

Ekspress usullar. Bu usullar yordamida patologik materialdavirusantigenlarini (virus oqsillari) kiritma-tanachalarini va virionlarini tez topish mumkin. Ularni tez topish usullari ekspress-usullar guruhiga birlashtirilgan va ular yordamida qo'yilgan diagnozga ekspress diagnoz deyiladi.

Virus antigenlarini topish. Patmaterialdagi virus antigenlarini topish uchun istalgan serologik reaksiyadan foydalanish mumkin, antigen sifatida esa patologik material (to'g'ridan - to'g'ri yoki tegishli ishlov berilgandan so'ng), antitelo sifatida-avvaldan ma'lum antiteloni, giperimmun zardoblar oldindan tayyorlanadi).

Buning uchun qulay immunofluoressensiya (IFR), komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) yoki diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi (DPR), hamda immunferment aniqlash usullaridan foydalaniladi.

IFR usuli 2-4 soat ichida patologik materialning tarkibida birorta virus antigeni bor yoki yo'qligiga javob bera oladi.

Reaksiyaning qulayligi shundan iboratki, hozirjavob qo'yish texnikasi oddiy komponentlarni kam talab qiladi, tekshiriladigan materialning tozaligini talab qilmaydi, yuqori sezgir va universaldir. Bu reaksiyaning kamchiligi, unda spetsifik bo'lmagan nur sochish hollari kuzatiladi. Patmaterialdagi virus antigenlarini KBR yordamida ham aniqlash mumkin.

Biroq bu reaksiya IFR qaraganda sezgirligi kam hisoblanadi. Uni qo'yish uchun virus antigenining etarli konsentratsiyasini saqlovchi patmaterialning ma'lum miqdori kerak.

Undan tashqari patologik materialdan suspenziya tayyorlash zarur, uni tinitish va antikomplementar moddalardan tozalash kerak (ishlov berish usulini tanlash patologik materialning holatiga va laboratoriyaning imkoniyatiga bog'liq). KBR-mehnatni ko'proq talab qiladigan reaksiyalardan hisoblanib, qo'llaniladigan komponentlarni aniq titrlanishi zarur.

Shunga qaramasdan, bu reaksiya veterinariya amaliyotida keng qo'llaniladi, komplementni bog'lash reaksiyasiga qaraganda ham DPR sezgirligi kam hisoblanadi. Yuqorida aytilgan serologik reaksiyalar patologik materialdagi virus antigenini juda qisqa vaqt ichida (2-3 kunda) topadi va uni qaysi turga oidligini aniqlaydi. Ularning ichida eng yaxshisi IFR hisoblanadi.

Kiritma-tanachalarni topish. Ayrim viruslarning organizmda borligini patologik materialda kiritma-tanachalarini topish yo'li bilan aniqlanadi. Kiritma tanachalar, viruslarning hujayrada ko'payishi jarayonida va uning ta'sirida hujayralarda to'plangan voyaga etgan virionlar (koloniyalar) va hujayraning jarohatlangan materiallaridan hosil bo'ladi.

Kiritma-tanachalar ko'pincha, hujayra materiallari yoki virionlar kombinatsiyalaridan tashkil topadi.

Har xil viruslar hosil qilgan kiritma-tanachalar bir-biridan farq qilishi tufayli ularni topganda ma'lum bir kasallikga oid virus borligidan dalolat beradi.

Hujauralarda ko'payish jarayonida 100 ga yaqin viruslar kiritma-tanachalar hosil qilishi ma'lum, ammo amaliyotda ulardan bir nechtasi muhim ahamiyatga egadir.

Sut emizuvchi hayvonlar nerv hujayralarining sitoplazmasida quturish kasalligi virusi hosil qilgan Babesh-Negri kiritma-tanachalarining diagnostik ahamiyati nihoyatta katta.

Kiritma-tanachalarni qo'ylarning chechak virusi (Borrel tanachasi), parrandalarning chechagi (Bollinger tanachasi) itlarning o'lat kasalligida (lentsa tanachasi), tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida (Zeyfred tanachasi) hosil bo'ladi.

Lekin ularning bor yo'qligini aniqlashning maxsus usullari yo'qligi sababli (umumiy bo'yab korish usullaridan foydalaniladi). Kiritma tanachalar diagnoz qo'yishda (Babesh-Negri tanachasidan boshqalari) yordamchi ahamiyatga ega.

Virionlarni topish (viruslarning elementar tanachasi)

Patologik materiallardagi virionlarni elektron mikroskop yordamida topish mumkin. Faqat sut emizuvchi va parrandalardagi chechak virionlarining kattaligi 250 nm bo'lganligi uchun yorug'lik mikroskopi yordamida aniqlash mumkin.

Virusoskopiya deb nomlangan bu usulda kasal hayvonlarning papulalari yoki vezikulalari kesib olinib, buyum oynalarida surtma yoki tamg'achalar tayyorlanadi.

Qurilgan surtma va tamg'alar ammiakli kumush bilan Morozov usulida bo'yaladi va mikroskop ostida immersiya moyi tomizish yordamida tekshiriladi. Chechak kasalligining virusoskopiya usuli juda oddiy, ammo elementar tanachalarni aniqlash uchun etarli tajribaga ega bo'lish kerak.

Virusoskopiyaning musbat natijasi bilan musbat biologik sinab ko'rish natijalari chechak kasalligiga diagnoz qo'yish uchun etarli hisoblanadi.

Biologik sinab ko'rish va immunologik namuna.

Ekspress-diagnostika usullariga biologik sinab ko'rish ham qo'shiladi, ammo ekspress usullarga (immunologik namuna ham) shartli ravishda qo'shiladi.

Biologik sinab ko'rish-laboratoriya hayvonlarini va tabiiy moyil hayvonlarni kasal hayvonlardan olingan material bilan tajriba uchun yuqtirish (barcha tirik ob'ektlarga yuqtirish ko'zga tutiladi).

Kasallikning o'ziga xos klinik belgilarini va unga o'xshash patologoanatomik o'zgarishlar chaqirish maqsadida biologik sinab ko'rish o'tkaziladi.

Bunday kasalliklar juda kam, jumladan Aueski kasalligiga gumonsiralgan quyonlarda biologik sinab ko'riladi, quturish kasalligida

-sichqonlarda ayrim hollarda quyonda, oqsil kasalligida- dengiz cho'chqachalarida, yirik shoxli hayvonlarning o'latida-buzoqlarda, vezikulyar stomatit kasalligida-dengiz cho'chqachalarida va oq sichqonlarda, qo'ylarning kontagiozli ektimasida va chechak kasalligida-qo'zichoqlarda; yuqumli laringotraxeit va bronxit kasalliklarida jo'jalarda biologik sinab ko'riladi.

Immunli va immunsiz hayvonlarda immunologik namuna, ya'ni biologik sinab ko'rishni o'tkazish kasallikni aniqlashga va uni farqlashga imkon beradi.

Yirik shoxli hayvonlarning o'lat kasalligida immunologik namuna buzoqlarda, cho'chqalarning Afrika o'latida-cho'chqa bolalarida qo'yiladi.

Biologik sinab ko'rish va ayniqsa immunologik namunani tabiiy moil hayvonlarda o'tkazish nihoyat qimmat va bajarilishi qiyinligi tufayli kam ishlatiladi.

Biologik sinab ko'rish esa laboratoriya hayvonlarida o'tkazish ko'p ishlatiladi, biroq javobi doimo aniq bo'lavermaydi.

Ekspress-diagnostika usullarini umum baholaganda quyidagini aytish mumkin; ular qisqa vaqtda kasal hayvon organizmidan olingan patologik materialdagi virusning turi va uning bor yo'qligi haqidagi savolga javob beradi. Ularning asosiy xususiyati ham shunda. Biroq olingan javobning to'g'rilik darajasi qoidaga binoan unchalik yuqori emas, shuning uchun ekspress-diagnoz natijalarini boshqa usullar bilan isbotlash talab qilinadi.

Shu sababli tekshirish uchun keltirilgan patologik materialning faqat bir qismigina tekshirish uchun ishlatilsa, qolgan qismlari esa boshqa virusologik tekshiruvlarga sarflanadi.

Odatda, bu ikki taraflama tekshirish usullari bir vaqtda boshlanadi, ammo ekspress-usullarning javobi birinchi bo'lib, keyinchalik esa boshqa usullarniki olinadi, ular ekspress diagnostika to'g'riligini isbotlaydi.

Virusologik usullar. Bularga patologik materialdagi virusning aktiv shaklini indikatsiyalovchi va keyinchalik farqlovchi usullar kiradi. Viruslarning indikatsiyalash odatda sezgir, tirik laboratoriya ob'ektlarida biologik sinab ko'rish yo'li bilan va ularni farqlash esa serologik reaksiyalar yordamida amalga oshiriladi.

Bu usullarni virusologik deb shartli ravishda atash mumkin (to'g'risi virusologik masala) chunki boshqa laboratoriya usullarining vazifasi ham viruslarni topish va ularni aktiv bo'lmagan shaklini yoki organizmdagi ularning izini farqlashdan iborat.

Virusologik usullar bilan ayrim patologik materialni tekshirganda material steril sharoitda olinishi kerak va undagi virus esa yaxshi konservatsiyalangan bo'lishi zarur. Laboratoriyalarda ulardan aralashma (suspensiya) tayyorlanadi, uni tartib bilan materialning qismlaridan va bo'lakchalaridan (sentrifugalab) va bakteriyalardan va zamburuug'lardan (antibiotiklar bilan yoki fil'trlab) tozalanadi.

Viruslarni topish. Tayyorlangan suspensiya bilan (tarkibida virusning borligi taxmin qilingan) sezgir laboratoriya ob'ektlariga yuqtiriladi shu maqsadda ko'pincha laboratoriya hayvonlari, tovuq homilalari va o'stirilgan hujayralar qo'llaniladi. Yuqtirish usullari va yo'llari virusning tropizmiga qarab aniqlanadi.

Ob'ektlarni tanlash esa patologik materialning kelib chiqishiga va ob'ektlarni tanlaganda ularni viruslarga sezgirligi hisobga olinadi.

Viruslarni indikatsiyalash uchun laboratoriya ob'ektlari tanlanganda, kasallikning klinik-epizootologik ma'lumotlariga, patologik material olingan hayvonning turiga va patologik materialning xiliga qaraladi.

Ko'pincha bu ma'lumotlar kerakli laboratoriya sistemalarini va ularga yuqtirish usullarini tanlashga imkon beradi. Shuning uchun kasal parrandalardan olingan patologik materialdagi virusni izlash uchun tovuq homilalariga yuqtirish usullari qo'llaniladi. Bu erda, katta yoshdagi tovuqlar organizmida rivojlangan virus tovuq homilasida bemalol rivojlanishi mumkinligi ko'zda tutiladi.

Agar patologik material sut emizuvchi hayvonlardan olingan bo'lsa unda patologik materialdagi virusni topish uchun o'stirilgan hujayralarga yuqtirish maqsadga muvofiq.

Bu yerda patologik materialdagi virus ma'lum hayvonlar hujayralariga moslashgani va tez SPT chaqirishiga asoslangan.

Patologik materialdagi virusni indikatsiyalash uchun laboratoriya hayvonlarini tanlash nihoyat murakkabdir. Faqat dastlabki diagnostika natijasiga qarab chamlanadi, u qo'zg'atuvchini laboratoriya hayvonlarining turiga, sezgirligiga qarab tanlash xususiyatiga asoslanadi.

Laboratoriya hayvonlariga tajriba uchun yuqtirilganda virus patologik materialda qaysi hujayra tarkibida bo'lsa, yuqtirilgandan so'ng ham o'sha hujayralarga tushishga (miyadan tayyorlangan suspenziya bilan aynan miyaga yuqtirish, jigar suspenziyasi bilan qorin bo'shlig'iga, o'pka suspenziyasi yoki yuqori nafas olish yo'llarining yuvindisi bilan burunga yuqtirish kerak va hokazo) virusning tropizmini ham hisobga olish zarur.

Yuqorida aytilganlarga qaramasdan patologik materialdagi virusni aniqlash uchun o'tkazilgan birinchi passajda laboratoriya sistemalari virusga nisbatan sezilarli reaksiya bermaydi. Bu hol ko'pincha, laboratoriya hayvonlariga virus moslashmaganligi sababli yoki uning miqdori spetsifik reaksiya chaqirishga etarli bo'lmagan paytlar sodir bo'ladi. Bu holda, birinchi passaj "ko'r passaj" hisoblanadi, shundan so'ng laboratoriya hayvonlariga ikkinchi passaj qilinadi. Agar ikkinchi passaj ham virusga reaksiya chaqirmasa u ham "ko'r passaj" hisoblanadi va uchinchi passaj o'tkaziladi.

Ayrim paytlar virus 10 marta passaj o'tkazilganda spetsifik ta'sir ko'rsatishi mumkin, chunki bu orada virus laboratoriya sistemalari organizmiga etarlicha moslashadi va spetsifik bo'lgan reaksiya chaqirish uchun etarli miqdorda to'planadi. Odatda 3-4 "ko'r" passaj o'tkaziladi.

Virusni farqlash. Shunday qilib u yoki bu usullar bilan patologik materialdagi aktiv virus topiladi.

Navbatdagi vazifa bu qaysi virusligini aniqlab uni farqlashdan iborat.

Ayrim hollarda virusni aniqlash jarayonida qaysi virus ekanligini farqlash mumkin.

Buni farqlashda patologik material olingan hayvonning turi, sezgir laboratoriya sistemalarining turi va laboratoriya ob'ektlariga virusning ta'sir qilish xususiyati to'g'risidagi ma'lumotlar hisobga olingani yordam beradi.

Undan tashqari virusni turini ishonchli aniqlashga gemagglutinatsiya va gemadsorbsiya chaqirishini, hamda uning efirga sezgirligini o'rganish natijasida ham erishish mumkin. Lekin topilgan virusni uzil kesil farqlash birorta mos keladigan serologik reaksiya yordamida bajariladi. O'rganiladigan virus bu holda virus antigeni vazifasini bajaradi, spetsifik zardoblar sifatida esa avvaldan tayyorlanganlari ishlatiladi. Tez uchrab turadigan viruslarga qarshi zardoblar (konservatsiyalangan holda) qo'llaniladi.

Ajratilgan virusning xususiyatini o'rganish va antigen sifatida foydalanish uchun kerakli hajmdagi suspenziyasini olish kerak.

Shuning uchun ajratilgan virusni identifikatsiyalashdan oldin, qaysi hayvondan ajratilgan bo'lsa, shu xil laboratoriya sistemalariga yuqtirish yo'li bilan ko'paytiriladi.

Viruslarni uzil-kesil identifikatsiyalash uchun serologik reaksiyalarni tanlash virusning xususiyatiga binoan va u yoki bu serologik reaksiyalarni qo'yish imkoniyatiga qarab aniqlanadi.

Agar virus gemagglyutinatsiyalovchi xususiyatini namoyon qilsa, gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida ishonchli identifikatsiyalanadi.

Virus o'stirilgan hujayralardan ajratilgan bo'lsa va gemadsorbsiyalanish qobiliyatini namoyon qilsa uni gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida identifikatsiyalash maqsadga muvofiqdir.

Yuqorida aytilgan xususiyatlar ajratilgan virusda bo'lmagan taqdirda uni o'sha laboratoriya ob'ektlarida neytrallash reaksiyasi yordamida identifikatsiyalanadi.

Biroq neytrallash reaksiyasining ko'p mehnat talab qilishi, uzoqqa cho'zilishi va nihoyat qimmat turishi inobatga olinadi. Shuning uchun gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiysidan foydalanish mumkin.

Bu reaksiyani qo'yish tartibi oddiy va oson, tez natija beradi, kam ingredientlar sarflanadi, lekin sezuvchanligini kamligi bilan ajralib turadi va shu sababli unda qo'llaniladigan antigenlar va zardoblarning titri yetarli yuqori bo'lgan paytda (bunday zardoblar hamma vaqt ham olinavermaydi) foydalanish mumkin. Shuningdek, KBR dan foydalanish mumkin.

Biroq u ko'p mehnat talab qilib, komponentlarga ehtiyoj katta, unga faqat eruvchan antigenlar yaraydi va antikomplementar xususiyatlardan ozod (yoki ozod qilingan) antigenlar ishlatiladi. Shuning uchun KBR barcha viruslarga yaroqli hisoblanadi.

Virusning etiologik rolini isbotlash

Agar serologik reaksiya tanlanib, ajratilgan virus identifikatsiyalangach ham yana hayvonlarning kasallanishida uning etiologik rolini isbotlash kerak.

Patologik material olingan hayvonlardan olingan juft zardobdagi antiteloning titri ajratilgan virusga nisbatan yuqori bo'lsa bunda kasallik isbotlangan bo'ladi. Bu esa qo'shimcha tekshirishlarni talab qiladi. Ayrim hollarda ajratilgan virusning hayvonlarning kasallanishidagi etiologik rolini isbotlash uchun shu turdagi sog'lom hayvonlarga (odatda yosh hayvonlarga) yuqtirib, ularda shu kasallikni chaqirish yo'li bilan bajariladi. Ammo bu usul o'zining qimmatligidan tashqari, kasallikni hamma vaqt takrorlashga qodir emas.

Virusologik tekshiruv natijalariga asoslanib qo'yilgan diagnozni ishonchli deb hisoblash mumkin. Lekin u uzundan-uzoq mehnat talab tekshirishlar bilan bog'liq.

Serologik diagnostika usullari

Kasal hayvonlarning zardoblari serologik usullar bilan tekshiriladi. Odatda juft zardoblar ishlatiladi, ularni olish uchun har qaysi kasal hayvonlardan 2-3 hafta oralig'ida ikki marta qon olinadi.

Juft zardoblar kasallikning boshida va oxirida olinishi kerak, amaliyotda bu vaqtni aniqlash kamdan-kam amalga oshiriladi.

Zardoblar steril bo'lishligi uchun, qonni olish va uning zardobini ajratish aseptik sharoitda bajariladi.

Ular tekshirilguncha tiqinli probirkalarga quyilib muzlatgichga yoki muzlatilgan (minus 25°C va undan ham past) xolatda saqlanadi.

Eng muhim masala kasal hayvonlarning taxminiy, qo'zgatuvchisi hisoblangan virusga nisbatan juft zardoblardagi antiteloning titrini aniqlash.

Virusga qarshi antitelo axtarishga asos bolib epizootologik ma'lumotlarni kuzatish, klinik belgilar va patologoanatomik ozgarishlarni organib qoyilgan dastlabki diagnoz xizmat qiladi.

Zardobdagi antiteloni borligini va uni titrini taxmin qilinadigan virus antitelolarini (bular laboratoriyada bolishi kerak, ular oldindan tayyorlanadi) qo'llab serologik reaksiyalarda aniqlanadi.

Shu virus bilan ishlash uchun yaraydigan hamda laboratoriya imkoniyatini va xodimlarning malakasini inobatga olinib serologik reaksiyalar tanlanadi.

Shu bilan bir qatorda tez javob olish va kop mehnat talab qilishi ham hisobga olinadi. Agar malum virus gemagglyutinatsiyalovchi qobiliyatga ega bolca, masala oson echiladi. Bu holda antiteloni topish va uning titrini aniqlash uchun bajarilishi oddiy bo'lgan va tez javob beruvchi gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasidan foydalanish maqsadga muvofiq.

Diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi ham bajarilishi oddiy, oson va tezkorligi bilan ajralib turadi va zardoblarni titri baland bo'lishini talab qiladi, aksincha pretsipitatsiya chiziqlari, aniq bilinmaydi yoki umuman paydo bo'lmaydi. Undan tashqari bu reaksiyada antiteloni ishonchli titrlash juda mushkul. Shu sababli DPR agglyutinatsiyalanmaydigan virusga nisbatan antitelo borligi haqida tez javob olish hamda taxminiy dastlabki javob kerak bo'lgan paytlarda qoyib ko'riladi.

Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi, nihoyat sezgir va universal reaksiya hisoblanib har xil viruslarga nisbatan qon zardobidagi antiteloning titrini aniqlash uchun ishlatiladi.

U tez javobni beradi. Ammo uni qo'yish uchun viruslar bilan sensibilizatsiyalangan va konservatsiyalangan eritrotsitlar zahirasi kerak, qaysiki bu ko'pgina laboratoriyalar uchun muammo hisoblanadi. Shuning bilan bir qatorda bu reaksiya ishlatiladigan komponentlarni tozaligini talab qiladi va o'zining "nozikligi" bilan ajralib turadi. Shu sababli uning amaliyotda ishlatilishi cheklangan.

Komplementni bog'lash reaksiyasini bog'lash bosqichini uzoq vaqt sovuq sharoitda olib borilsa ko'pgina viruslarga nisbatan antitelolarning titrini aniqlash uchun ishlatish mumkin.

Biroq, KBR avvaldan mos antigenlarni o'zlarining ko'p mehnat qilishni va aniq miqdorda talabchanligi bilan ajralib turuvchi komponentlarni talab qiladi. Shunday bo'lsada, amaliyotda ishlovchi mutaxassislar KBR ni qo'yish tartibini bilishadi va diagnostik ishlarda keng foydalaniladi.

Ko'pgina viruslarga nisbatan (quturish va chochqalarning o'lat kasalligidan tashqari) antitelolarni titrlash bo'yicha ishonchli natijani neytrallash reaksiyasi beradi, shuningdek, u organizmni virusdan himoya qiluvchi virus neytrallovchi antitelolarni ham topadi.

Agar unda indikator sifatida hayvonlar ishlatilsa, bu reaksiyani qo'yish uchun bir muncha vaqt talab qilinadi.

Reaksiyani qo'yish uchun vaqt 1-2 haftaga qisqartiriladi, indikator sifatida tovuq homilalari yoki o'stirilgan hujayralar ishlatilgan taqdirda esa vaqt yana ham qisqaradi.

Lekin, bu so'ngi holatda ham reaksiyani qo'yish uchun ko'p mehnat talab qilinadi.

Neytrallash reaksiyasi o'zining yaxshi xususiyati tufayli zardobdagi antiteloning titrini aniqlash uchun juda ham zarur.

Juft zardobdagi antiteloning titrini aniqlagandan so'ng, uning titrini o'sishiga qarab natijasi izohlanadi. Birinchi zardob titriga qaraganda ikkinchi marta olingan, zardobdagi antiteloning titri 4 marta oshsa, hayvondan birinchi marta qon olingan payt yuqumli jarayonning aktiv kechishidan dalolat beradi.

Shuningdek, kasallik aynan zardobdagi antiteloni ko'tarilishiga sababchi bo'lgan virus bilan chaqirilgani ham aniq bo'ladi. Serologik diagnostikaning kamchiligi uning retrospektivligida, chunki diagnoz aniqlangan payt juft zardob olingan hayvon sog'ayib ketgan yoki o'lgan bo'ladi.

Lekin serologik usullar bilan qo'yilgan diagnoz kasallik haqida ishonchli tasavvur beradi va virus kasalliklarini bartaraf qiluvchi tadbirlarni aniqlashda va epizootik holatni o'rganishda ham katta ahamiyati bor.

(Ammo juft zardob olingan hayvonga nisbatan diagnozning ahamiyati yo'q.)

Barcha virus kasalliklariga diagnoz qo'yish usullari va sxemasini quyidagicha ko'rsatish mumkin (14-jadval).

Topshiriq

Virus kasalliklarida ularning ko'rsatgan klinik belgilariga va patologoanatomiko'zgarishlariga qarab diagnoz qo'yish reja jadvalini tuzish.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi. (2 soat).

1. Nazorat uchun savollar.
2. Diagnostik masalalar berish.
3. Talabalarning mustaqil ishi.
 - a) kasallikning klinik belgilariga, patologoanatomik o'zgarishlariga qarab diagnoz qo'yish uchun turli ma'lumotlarni beradigan yordamchi adabiyotlarni o'qib o'rganish.
 - b) bu holda laboratoriyaga qaysi patologik materialni va qanday qilib jo'natish aniqlanadi.
 - c) olingan patmaterialni laboratoriyada tekshirishning taxminiy rejasini yoki sxemasini tuzish.
4. Ishning natijasini ko'pchilik bo'lib muhokama qilish.
5. Mashg'ulotni yakunlash.

Nazorat uchun savollar

1. Virus kasalliklariga qanday qilib dastlabki diagnoz qo'yiladi?
2. Patologik materialni olishda nimaga amal qilish kerak?
3. Patologik materialni laboratoriyada tekshirish usullari va uning maqsadi nimadan iborat?

Uslubiy ko'rsatmalar

1. Har bir o'quv guruhlar uchun diagnostik masalalarni o'qituvchi avvaldan tayyorlaydi, bu erda iloji boricha kasallikning klinik belgilari majmuasidan va patologoanatomik o'zg'arishlardan foydalanib talaba bir emas bir nechta kasallik haqida bir vaqtda gumonsirashi kerak va natijada ularni laboratoriya usullari bilan farqlash zaruriyati yuzaga kelsin.

2. Har bir diagnostik masala o'qituvchi tomonidan puxta ishlab chiqilishi kerak.

3. Har bir o'quv guruhiga bitta masala berish maqsadga muvofiq, chunki yechilgan masalani tekshirish jarayonida bir masaladagi savolga bir nechta fikrni qarama-qarshi qo'yishi mumkin. Bu esa, qo'yilgan masalaga ijodkorona yondashishni ta'minlaydi.

4. Talabalar ishining natijalarini ochiq muhokama qilish guruhdagi barcha talabalarni jalb qilishga undaydi. Ammo hal qiluvchi fikrni faqat o'qituvchi aytadi.

5. **Masala.** Tovuqchilik xo'jaligida jo'jalar kasallangan.

Klinik belgilari: qiynalib nafas oladi, xirillaydi, yo'taladi, burnidan shilliq suyuqlik oqadi.

O'lgan parrandalarni yorib ko'rganda, kekirdak bronx va tamoq shilliq qatlamida shish va qizarishlar kuzatiladi. O'lim 20% ga etgan. Ushbu kasallikka dastlabki diagnoz qo'yish kerak, qaysi patologik materialni olish zarurligini va laboratoriyaga

olib borish yo'lini echish va patologik materialni tekshirishning taxminiy rejasini tuzish kerak.

Masalani yechish. Dastlabki diagnoz-n'yukasl kasalligi (NK), yoki parrandalarning gripp kasalligi (PG), yoki yuqumli laringo-traxeit (YuLT), yoki tovuqlarning yuqumli bronxiti (TYUB).

Patologik material: tomoq, kekirdak yuvindisi, murdalardan tomoq, bronx va kekirdak shilliq pardalari.

14-jadval. Virus kasalliklariga diagnoz qo'yishning umumiy jadvali

Klinik-epizootologik diagnoz	Laboratoriya diagnozi		
Xo'jalikdagi hayvon- larni tekshirish	Patologik materialni ekspress usullar bilan tekshirish	Patologik materialni virusologik usullar bilan tekshirish	Serologik usullar bilan qondagi juft zardoblarni tekshirish
Aniqlash: 1)epizootologik ma'lumotlarni 2)klinik belgilarini 3)patologoanatomik o'zgarishlarini kasal hayvonlardan va ularning murdalaridan patologik material olinadi, konservatsiyalangach transport orqali laboratoriyaga yuboriladi, shu-ningdek juft zardoblar ham olinadi.	1.Virus antigenlarini IFR, KBR yoki DPR yordamida topish. 2.Viruslarning elementar tanachalarini virusoskopiya yoki elektron mikroskop yordamida topish. 3.Yorug'lik mikroskopi yordamida viruslarning kiritma-tanachalarini topish. 4.Immonologik namuna yoki spetsifikligini namoyon qilmoq uchun biologik sinab ko'rish.	Ketma-ket: 1-bosqich - aktiv virusni sezgir o'stirilgan hujayralarda, tovuq homilalarida, laboratoriya hayvonlaridan yoki tabiiy moil hayvonlardan ajratish. 2-bosqich - ajratilgan virusni serologik reaksiyalardan: NR, GATR, GADTR, KBR yoki DPR yordamida farqlash (identifikatsiya). 3-bosqich - juft zardoblardagi antitelo titrini ajratilgan virusga nisbatan o'sishiga qarab yoki kasallikni tabiiy xo'jayinida qayta tajriba yo'li bilan paydo qilish va ajratilgan virusni etiologik ahamiyatini isbotlash.	Juft zardobdagi antitelo titr dinamikasini etalon viruslarga nisbatan o'sishini serologik reaksiyalardan NR, GATR, BGAR, KBR, yo-ki DPR yordamida aniqlash.
Afzalligi			
Joylarda yo'nalishni aniqlash	Tezligi	Aniqligi	

Kamchiligi			
Dastlabki diagnozni qo'yish mumkin	Natijalarni boshqa usullar bilan isbotlash kerak	Ko'p mehnat va uzoq vaqt talab qiladi.	

Patologik materialni tekshirishning taxminiy rejasi:

a) olingan patologik materialdan surtma va tamg'alar tayyorlab gumon qilinadigan viruslarga NK, PG, YuLT, TyuB qarshi spetsifik nurlanuvchi zardoblar yordamida IFR tekshirish (bevosita yoki bilvosita usullari);

b) patologik materialdan taxminiy ehtimol qilingan virus suspenziyasini tayyorlab bir guruh tovuq homilalarining xorionallantois po'stlog'iga, ikkinchi guruhini esa allantois bo'shlig'iga yuqtirish;

c) birinchi guruhdagi tovuq homilalarini yorib ularning xorionallantois qatlamini tekshirish. Qatlamda hosil bo'lgan oq tugunchalar patologik materialda YuLT virusi borligidan dalolat beradi;

d) ikkinchi guruhdagi homilalarni o'lgan yoki o'lmaganligi tekshiriladi. Homilaning o'lishi patologik materialda NK yoki PG viruslari borligidan dalolat beradi.

e) Ikkinchi guruhdagi tovuq homilalarini yorib homilani va allantois suyuqligini tekshirish. Bujmayish o'smasdan qolish, mumlanish, buralib qolish TYUB virusi borligidan dalolat beradi.

Allantois suyuqligini GAR tovuq eritrotsitlari yordamida sinab ko'rish. Musbat GAR, NK yoki GP viruslarini borligini ko'rsatadi.

Trypsin yordamida ishlov berilgan allantois suyuqligi bilan qo'yilgan GAR ning musbat natijasi esa TYUB virusi borligidan dalolat beradi;

f) GAR da musbat natija bergan allantois suyuqligini (tripsinlamasdan) NK va GP viruslariga qarshi zardoblar bilan GATR qo'yilsa bu viruslardan qaysi biri patologik materialda borligini aniqlash mumkin.

XUSUSIY VIRUSOLOGIYA

1-MAVZU

Quturish kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yish

Oilasi, Rhabdoviridae Avlodi, Lussavirus.

Kriptogrammasi. R/1:4/2:U/E:V, I/0, Di, Ac.

Quturish - o'tkir kechadigan yuqumli kasallik bo'lib, nerv sistemasining kuchli zararlanishi bilan ta'riflanadi va o'lim bilan tugaydi. Kasallikka odamlar va barcha sut emizuvchi hayvonlar moyil.

Quturish kasalligi barcha joyda tarqalgan. Kasallikning yuqumli qo'zgatuvchisini itlar, mushuklar, yovvoyi kemiruvchi va yirtqichlar, hamda qon so'ruvchi ko'rshapalaklar (vampiralar) tarqatadi.

Yashirin davrning muddati tishlagan joyga va tishlash kuchiga, tushgan virusning miqdori va virulentligiga, tishlangan hayvonning rezistentligiga bog'liq.

Yashirin davr 1-3 haftadan bir yilgacha, hatto undan ham ortiq bo'lishi mumkin.

Kasallik o'tkir kechadi. Klinik belgilari barcha hayvonlarda deyarli bir xil. Itlarda quturish kasalligi o'ziga xos, ya'ni tajovuzkorlik va tinch (falaglanish) bilan kechadi.

Quturish kasalligi yirik shoxli hayvonlarda (ishtahaning yo'qolishi, katta qorinning atoniyasi, so'lak oqishi o'ziga xos bo'lmagan holda kechadi. Qo'zgalish bosqichi bo'lmasligi ham mumkin. Patalogoanatomik o'zgarishlar o'ziga xos emas. Go'shtxo'r hayvonlar (asosan, itlar) oshqozonida eb bo'lmaydigan narsalarni uchratish mumkin.

Quturish virusi ko'zga tashlanarli neyroprobaziya xususiyatiga ega. Tishlangan joyga periferiyadan tushib, nerv tolasi orqali markaziy nerv sistemasiga markazga intiluvchi, organizmda periferik nervlar orqali tarqalib har-xil organlarga, shu jumladan, so'lak bezlariga ham tushadi.

Virus Rhabdoviridae oilasiga, Lussavirus avlodiga mansub. Virionlari tayoqchasimon shaklga ega bo'lib, ikkinchi qismi kesib tashlangandek.

Virusning virioni RNK saqlab spiralsimon simmetriyaga ega, lipoproteid qobig'i bor.

Past haroratda virus buzilmasdan saqlanadi. 60°C harorat virusni 5-10 daqiqada, quyosh nuri 5-7 kunda o'ldiradi. Virusning aktivligini formalin, fenol, 5%-xlorid kislota 5-10 daqiqadayo'qatadi. Quturish virusining virioni glikoproteidli (tashqi) va nukleokapsidli (ichki)

antigenlarni saqlaydi. Glikoproteidli antigen virus neytrallovchi antitela hosil qilsa, nukleokapsidli-komplementni bog'lovchi va pretsipitatsiyalovchi antitela hosil qiladi.

Quturish virusining epizootik shtamlari immunobiologik xususiyati bo'yicha o'xshash, ammo, virulentligi bo'yicha bir biridan farq qiladi.

Organizmida virus, asosan, markaziy nerv sistemasida, so'lak bezi va so'lakda saqlanib turadi. Virusni sichqonlarda, quyonlarda, dengiz chochqachalarida va boshqa hayvonlarda hamda birlamchi o'stirilgan hujayralarda (siriya xomyaging buyragidan, qo'yning homilasi, buzoqlar va boshqa) o'sayotgan hujayralarda (VNK-21, KEM-1 va boshq) o'stiriladi. O'stirilgan hujayralarda virusning ko'payishi hamisha CPT ko'rsatmaydi.

Quturish virusiga oldindan adaptatsiyalangan tovuq homilalari sezgir. Virus sitoplazmatik kiritma-tanachalar hosil qilishga qodir.

Bularni ko'pincha ammon shoxi hujayralarida, miyachada, bosh miya po'stlog'ida uchratish mumkin.

Kasallik manbai kasal hayvon hisoblanadi. Ular virusni tishlash tufayli uzatadi. Go'shtxo'r hayvonlar quturish kasalligi bilan kasallanib, o'lgan hayvonning bosh va orqa miyasini eganda yuqadi.

Quturish kasalligi ko'rshapalaklar bor joyda aerogen yo'l bilan yuqushi mumkin ekanligi isbotlangan.

Quturish kasalligini tarqatishda asosiy manba itlar va mushuklar, tulkilar, bo'rilar va boshqa turdagi yovvoyi hayvonlardir.

Quturish kasalligiga diagnoz epizootologik, klinik ma'lumotlarga va laboratoriya tekshiruvlariga asoslanib qo'yiladi.

Kasal hayvonlar va yuqumli materiallar bilan ishlashda qat'iy shaxsiy xavfsizlik choralarini ko'rish kerak: Rezina qo'lqoplar, xalatlarning yengi ustidan kiyiladigan rezina yoki polietilen fartuk, rezina etik, himoya qiluvchi ko'zoynak, yuzni himoya qiluvchi niqob kiyish zarur.

Dala sharoitida quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvonlarning murdasini yorish qat'iyan taqiqlanadi.

Patmaterial olish

Quturish kasalligi bo'yicha tekshirish uchun laboratoriyaga yangi murdani, kichkina hayvonlarni butunlay, katta va o'rtacha kattalikdagi hayvonlarning boshi ikkinchi va birinchi bo'yin umurtqalari bilan birgalikda yuboriladi.

Mayda hayvonlarning murdasiga tekshirishga yuborishdan oldin insektitsidlar bilan ishlov beriladi.

Patologik material plastmassa yashikka joylanadi. So'ngra, mustahkam yopiladigan quti ichiga namlikni o'ziga shimib oluvchi dezinfektant bilan ishlov berilgan qistirma to'shaladi. Material va yo'llanma xatida yuboruvchi va uning manzilgohi, hayvonning turi, quturish kasalligiga gumonsirashni isbotlovchi anamnez ma'lumotlari, veterinariya xodimining imzosi va sana ko'rsatilib, maxsus kishi orqali yuboriladi.

Laboratoriya diagnostikasi.

IFR va DPR yordamida antigenni uchratish, Babesh-Negri tanachalarini ko'rish va sichqonlarda biologik namuna qo'yishdan iborat.

IFR bu reaksiya uchun biosanoatimiz fluoressensiyalanuvchi antirabik gammaglobulin ishlab chiqargan.

IFR qo'yish usuli. Yog'sizlantirilgan, buyum oinasida yupqa tamg'a yoki bosh miyaning har-xil bo'laklaridan chap va o'ng tomonlaridan (ammon shoxi, yarim shar po'stlog'i miyacha va uzunchoq miya) surtmalar tayyorlanadi.

Miyaning har qaysi bo'limidan eng kamida ikkitadan preparat tayyorlanadi.

Shuningdek orqa miya, jag' osti so'lak bezlarini ham tekshirish mumkin. Nazorat qilish uchun sog'lom hayvonning miyasidan (oq sichqonning) preparatlar tayyorlanadi.

Preparatlar havoda quritiladi va sovutilgan (minus 15-20°C) atsetonda 4 soatdan to 12 soatgacha fiksatsiyalanadi, havoda quritiladi, so'ngra fluoressensiyalanuvchi gamma-globulin tomiziladi va nam kameraga 37°C 25-30 daqiqa qo'yiladi, so'ngra fiziologik eritma bilan yoki pH 7,4 bo'lgan fosfat bufer eritmasi bilan yuviladi, havoda quritiladi, fluoressensiyalanuvchi immersion moy tomiziladi va lyuminessent mikroskop ostida qaraladi. Quturish virusi antigeni bor preparatdagi granulalarda, ko'pchilik holda hujayradan tashqarida har xil kattalikdagi vashakldagi sariq-yashil fluoressensiyalanuvchi rangni uchratish mumkin. (63-rasmga qarang).

Nazoratdagida shunday nur sochish bo'lmasdan deyarli nerv hujayrasi kulrang xira yoki yashil rang sochib turadi. Nur sochishning tezligi krestlar bilan baholanadi. Spetsifik fluoressensiyalanuvchi nur sochishning bo'lmasligi natijaning manfiy ekanligini bildiradi.

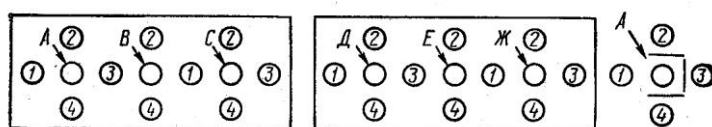
Quturish kasalligiga qarshi emlangan hayvonlardan olingan patologik materialni uch oy davomida IFR bo'yicha tekshirish mumkin

emas, chunki vaksina virusning antigeni fluoressensiyalanishi ham mumkin. Glitserin, formalin, spirt va boshqalar bilan konservatsiyalangan hamda biroz chirish belgilari bor bo'lgan to'qimalarni IFR bo'yicha tekshirish mumkin emas.

Agar gelidagi DPR.

Bu usul antigen va antitelolarning xususiyatiga asoslangan bo'lib antigen va antitelo agar gelida shimilib aralashgandan so'ng (antigen kompleksi+antitelo) uchrashib ko'zga ko'rinarli pretsipitatsiya chizig'i hosil qiladi. Quturish kasalligining ko'cha virusi tufayli o'lgan yoki tajribadagi infeksiyadan (biologik namuna) o'lgan hayvonning miyasidan antigenni topish uchun qo'llaniladi.

Reaksiyani bajarishda buyum oynadan foydalaniladi va uning ustiga 1,5% eritilgan agardan 2,5-3ml quyiladi. Buyum oynasining ustida agar qotgach, 4-5mm diamerda trafaret bo'yicha chuqurchalar yasaladi. Agar ustunchalari o'quv perosi yordamida chiqarib olinadi. Agardagi chuqurchalar sxema bo'yicha tuzilgan komponentlar bilan to'ldiriladi (65-rasm).



65-rasm. Quturish kasalligiga diagnoz qo'yishdagi DPR- ning tasviri.

A-bosh miya qobig'i (chap yarimshar); B-bosh miya qobig'i (o'ng yarimshar); C-ammon shoxi (chap); D-ammon shoxi (o'ng); E-miyacha; G-uzunchoq miya; 1,2,3,4,-globulinning suyultirilgani, 1:2,1:4,1:8,1:16.

O'ngda -1:4,1:8,1:16-PR suyultirilgan globulinning musbat ko'rinishi.

Yirik hayvonlar bosh miyasining barcha bo'limlari (chap va o'ng tamonlari) tekshiriladi, o'rta kattalikdagi (kalamush, xomyak va boshqa) miyaning har qanday uch bo'limi, sichqonlarda esa miyaning barcha qismi tekshirilib ko'riladi.

Pinset yordamida miyadan pastasimon massa tayyorlangach, tegishli chuqurchalarga quyib chiqiladi. Manfiy va musbat antigenlar bilan nazorat oynadagi o'sha trafaret bo'yicha alohida alohida qo'yiladi.

Agar geli: agar Difko agari-15g, natriy xlor-8,5g, 1% metil to'q sariqning 50%-etil spirtidagi eritmasi-10ml, mertiolat-0,01g, distillangan suv-1000ml.

Chuqurchalar komponentlar bilan to'ldirilgach, preparatlar nam kameraga joylashtiriladi, yoki 37°C 6 soat davomida termostatga so'ngra xona haroratida 18 soat qo'yiladi. Natijalarni hisoblash 48 soatdan so'ng o'tkaziladi. Miya suspenziyasi va antirabik gammaglobulin oralig'idagi chuqurchalar atrofida 2-3 pretsipitatsiya chiziqlarining hosil bo'lishi reaksiyaning musbat ekanligidan dalolat beradi.

Miyaning bakterial steril emasligi yoki chirishi DPR qo'yish uchun to'siq bo'la olmaydi. Glitserin, formalin yoki boshqa vositalar bilan konservatsiyalangan materiallar DPR uchun yaroqsiz hisoblanadi.

Babesh-Negri tanachalarini topish.

Bosh miyaning kamida har bir bo'limidan ikkitadan buyum oynasida yupqa surtma yoki tamg'alar (IFR kabi) tayorlanib, Sellers, Muromsev, Mann, Lens va boshqa usullar bo'yicha bo'yaladi.

Misol uchun Sellers bo'yicha bo'yash: yangi hali qotib ulgurmagan preparat, bo'yoq bilan qoplangach 10-30s tutib turiladi va fosfat-bufer (pH 7,0-7,5) eritmasi bilan yuviladi qorong'ilashtirilgan joyda, xona haroratida vertikal holatda quritiladi, so'ngra immersiya moyi yordamida mikroskop ostida qarab ko'riladi.

Aniq chizilgan oval yoki uzunchoq granulyatsiyalangan och-qizil rangda va hujayraning sitoplazmasida yoki undan tashqarida joylashgan, Babesh-Negri tanachalarining ko'rinishi natijani musbat ekanligidan dalolat beradi. Bu usulda turga oid o'ziga xos kiritmatanachalarni aniqlashning diagnostik ahamiyati bor.

Biologik namuna.

Yuqorida aytib o'tilgan barcha usullarga qaraganda samarali.

Bu usul bulan yuqoridagi usullarda manfiy natija olinganda va gumonsiralganda tekshirib ko'riladi. Biologik namuna uchun og'irligi 16-20g bo'lgan oq sichqonlar tanlab olinadi. Bosh miya nerv to'qimalarining barcha qismidan olinib steril qum solingan havonchada maydalab eziladi, so'ngra 10%-aralashma hosil qilish uchun fiziologik eritma qo'shiladi. 30-40 daqiqa tindirilgach, cho'kma ustidagi suyuqlik olinib, sichqonlarga yuqtiriladi.

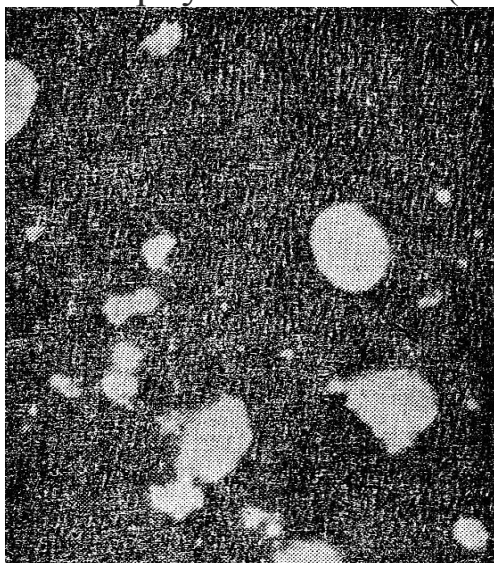
Bakterial infeksiya bilan ifloslangan deb gumonsiralsa, 1ml suspenziyaga 500 birlikda penitsillin yoki streptomitsin qo'shib, xona haroratida 30-40 daqiqa tutib turiladi. Biologik namuna uchun 10-12 bosh sichqonga yuqtiriladi: yarmiga 0,03ml intraserebral, qolgan yarmiga esa burun qismi terisining ostiga yoki yuqoringi labiga 0,1-0,2ml yuqtiriladi.

Virus yuqtirilgan sichqonlarni shisha bankalarga (yaxshisi akvariumga) joylashtiriladi va 30 kun davomida ular kuzatilib, sodir bo'lgan o'zgarishlar yozib boriladi.

Sichqonlarning 48 soat uchida o'lishi kasallikka xos hisoblanmaydi va natijani baholashda inobatga olinmaydi.

Patologik materialda quturish virusi bo'lsa, sichqonlarga yuqtirilgandan so'ng 7-10 kun ichida quydagi alomatlar paydo bo'ladi: junining hurpayib ketishi, yelkasining o'ziga xos bukchayishi harakat koordinatsiyasining buzilishi, keyingi oyoqlarda, so'ngra oldingi oyoqlarda falajlik, keyinchalik o'lim kuzatiladi.

O'lgan sichqonlarning miyasi Babesh-Negri, tanachalarini uchratish uchun IFR va DPR qo'yib tekshiriladi (65-a rasm).



65-a rastn. Quturish kasalligining ko'cha virusi yuqtirilgan it bolachasining ammon shoxidan tayyorlangan preparatdagi Babesh- Negri tanachalari (E.V. Klyueva bo'yicha).

Virus yuqtirilgan sichqonlarning miyasidan tayyorlangan preparatlarda Babesh-Negri tanachalarini uchratish tufayli yoki IFR, DPR usuli yordamida antigeni topilsa biologik sinab ko'rish musbat diagnoz hisoblanadi. 30 kun davomida sichqonlarda o'lim kuzatilmasa, manfiy diagnoz hisoblanadi.

Biologik sinab ko'rish uchun ertangi diagnoz usuli (bu esa tekshirilayotgan hayvon tekshiruvchini tishlaganda) qo'llanilgan yuqtirish uchun 10-12 sichqon emas, balki 20-30 sichqon ishlatilib, har kuni 1-2 sichqonning bosh miyasi IFR yordamida tekshirilib turiladi. Bu esa (musbat holatda) tekshirish muddatini bir necha kunga qisqaitiradi.

Laboratoriya amaliyotida o'ziga xos biologik sinov usuli qo'yib ko'riladi.

Uning mohiyati shundan iboratki, quturish kasalligiga uchragan hayvonning miya to'qimasidan tayyorlangan suspenziya sichqonlarga yuqtirilsa kasallanadi. Agar miya to'qimasiga oldindan antirabik zardob bilan 37°C -10 daqiqa ishlov berilsa u holda sichqonlar kasallanmaydi.

Ayrim tekshiruvchilar quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvon tirik paytida, ko'zining muguz pardasidan tamg'a tayyorlab immunofluoressensiya usulida tekshirib diagnoz qo'yishni taklif etganlar.

Lekin bu usulning samaradorligi yuqori emas.

Deyarli laboratoriyalarda tekshirish navbatma-navbat quyidagicha olib boriladi:

IFR uchun bosh miyadan surtma-tamg'a tayyorlanadi, DPR qo'yiladi, manfiy natija olgan holda biologik namuna qo'yib ko'riladi.

IFR yuqori malakali bajarilganda biologik sinab ko'rishga 99-100% mos keladigan natija olinadi. Quturish kasalligida Babesh-Negri tanachalarini 65-85%, DPR yordamida 45 dan 70% gacha aniqlash mumkin.

Topshiriq.

1. Laboratoriyada quturish kasalligiga diagnoz qo'yish usullarini o'rganish.

2. Quturish kasalligida IFR qo'yishni o'rganish: a) oq sichqonlarning bosh miyasidan tamg'a tayyorlash; b) immunofluoressensiya reaksiyasining bevosita usuli bo'yicha preparatga ishlov berish; c) luminessent mikroskop yordamida avvaldan musbat bo'lgan preparatni ko'rish.

Material bilan ta'minlash: lyuminessent mikroskop; termostat; fluoressensiyalanuvchi immersion moy; kyuvetalar; buyum oynalari; fiziologik eritma va distillangan suv uchun idishlar; Petri likopchasi; filtr qogoz; oynaga yozish uchun qalam; pinsetlar; oq sichqonning kalla suyagini ochish va bosh miyasini olish uchun asbob uskunalar to'plami; efir; quturish kasalligiga musbat preparatlar (IFR, DPR, Babesh-Negri tanachalari); oq sichqonlar.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2.soat)

1. Nazorat uchun savollar.

2. O'qituvchining tushuntirishi.

3. Talabalarning mustaqil ishlari. a) sichqonning bosh miyasidan tamg'a tayyorlash; b) IFR uchun preparatlarni fiksatsiyalash va bo'yash.

3. Namoyish qilish: a) quturish kasalligiga diagnoz qo'yish uchun ishlab chiqilgan to'plamlar (IFR, DPR); b) Babesh-Negri tanachalari bor preparatlar (gistokesmalar), IFR va DPR.

4. Talabalarning mustaqil ishlari davom etadi: a) preparatlarni yuvish va quritish; b) lyuminessent mikroskopi ostida ko'rish.

5. Mashg'ulotga yakun yasash.

6. Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar.

1. Quturish virusining asosiy xususiyatlarini so'zlab bering.

2. Quturish virusi chaqirgan kasallikning epizootologik xususiyati va simptomlari to'grisida gapiring.

3. Quturish kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yishning qanday usullarini bilasiz?

4. Quturish kasalligiga gumonsiralgan hayvonlardan qanday material olinadi va ishlashdagi qoidalar nimalardan iborat.

Uslubiy ko'rsatma.

Ushbu mashg'ulot uchun vaqt kam bo'lganligi uchun namoyish qilinadigan materiallar oldindan tayyorlab qo'yiladi:

a) IFR uchun virus fiks yuqtirilib, tayyorlangan musbat surtmamg'a, yaxshi samara beruvchi quturish kasalligining ko'cha virusidan tayyorlangan surtma, ularni veterinariya laboratoriyasidan olsa bo'ladi;

b) Babesh-Negri tanachalari bor preparatlar (gistokesmalar);

c) diagnostik to'plamdagi komponentlardan foydalanib, DPR qo'yish yoki DPR ga musbat natija beruvchi materialdan foydalanish:

Mashg'ulotda barcha talabalar oq sichqonlarni yorib ko'rishi shart emas, chunki ular "laboratoriya hayvonlari" degan mavzuda bajarib ko'rilgan.

Oldin yorib ko'rilgan oq sichqonlarning bosh miyasidan surtmamg'a tayyorlab, qo'yish kerak.

Preparatlarni bo'yash paytida o'qituvchi laboratoriyada diagnoz qo'yish usullarining barchasini namoyish qilib ko'rsatadi.

Ushbu mashg'ulotda IFR usulini o'rganish uchun sog'lom sichqonlar olinadi. So'ngra ushbu preparatlar (manfiy) nazorat uchun, kasal sichqonlardan olingan preparatlar (musbat) natija bergan deb, parallel holda lyuminessent mikroskopi ostida namoyish qilinadi.

Boshqa variant bo'yicha oldindan virus fiks yuqtirilgan oq sichqonlar yorib ko'riladi, va miyasidan talabalar preparatlar tayyorlaydi.

2-MAVZU

Chechak kasalligiga laboratoriyada diagnostika qo'yish

Oilasi.Poxviridae. Avlodi.Orthopoxvirus

Kriptogrammasi. D/2:160-200/5-7:X/*:V/0,Di,Ac,Si.

Chechak kasalligi bilan sut emizuvchilarning 23 turi, parrandalarning 5 turi va hashoratlarning 16 turi kasallanadi. Chechak virusining ayrim turlari ma'lum turdagi hayvonlarda kasallik chaqirsa, boshqalari esa bir necha turdagi hayvonlarda kasallik chaqiradi.

Ayrim hayvonlarda chechak kasalligi bir qo'zg'atuvchi tomonidan chaqirilsa, boshqalarida esa o'zinikidan tashqari (genuinnli), yana ikki-uch turdagi viruslar tomonidan chaqiriladi.

Hayvonlarda chechak kasalligining klinikasi bir xil ko'rinishda o'tmasa ham, ammo bir-biriga juda o'xshash.

Zararlanish shilliq pardalarda va terida, tananing ko'proq junsiz, patsiz joylarida generalizatsiya jarayoni bilan birgalikda uchratish mumkin.

Teri va shilliq pardalarda ma'lum turga xos bo'lgan rozeolalarning paydo bo'lishi (qizarish), so'ngra papulaga o'tishi va vezikulalar (pufakchalar) hosil bo'lishidan iborat. So'ngra pustulaga aylanib, ularning yorilishi natijasida suyuqlik oqishi kuzatilib, yaralar ustida qotgan po'stloq (strup) hosil bo'ladi.

Yaralar tuzalgandan so'ng po'stloq tushib ketib, chandiqlar qoladi. Chechak kasalligida generalizatsiya jarayonining kechishi tufayli haroratning ko'tarilishi, so'lg'inlik, ishtahaning yo'qolishi, teri osti kletchatkasining shishishi, parrandalarda esa nafas yo'llarida difteroidli qatlam paydo bo'lishi kuzatiladi. Chechak viruslari virionlar hosil qiladi, kattaligi 260x390 NM. Ular boshqa viruslar virionlarining orasida eng kattasi hisoblanadi.

Ularni nafaqat elektron mikroskopi ostida ko'ribgina qolmay, balki yorug'lik mikroskopi ostida ham ko'rish mumkin. Chechak kasalligi kasal hayvonlardan sog'lom hayvonlarga oson uzatiladi va tajribadagi hayvonlarga yuqtirish oson.

Chechak kasalligining ayrim viruslari tovuq homilasining xorionallantois pardasida ko'payib, chechakchalar paydo qiladi (ularning shakli har-xil viruslarda bir xilda emas). Chechak viruslari o'zining turiga xos hayvonning birlamchi o'stirilgan hujayralarida ko'payib, SPT ko'rsatadi.

Boshqa viruslarga o'xshagan holda har-xil materiall'ardagi chechak virusning antigenlarini FAU va DPR yordamida uchratish mumkin.

Klinik-epizootologik ma'lumotlarni hisobga olgan holda diagnoz qo'yish qiyin emas. Ammo klinik epizootologik diagnozni laboratoriya tekshiruv ma'lumotlariga asoslanib tasdiqlash tavsiya etiladi.

Laboratoriya usullaridan virusoskopiya universal hisoblanib-kasal hayvondan olingan materialda chechak virusining virionini yorug'lik mikroskopi yordamida uchratish mumkin. Buning uchun terining bir bo'lagi yoki chechak bilan zararlangan shilimshiq pardadan (yaxshisi papula yoki vezikula bosqichida) buyum oynasida surtmalar tayyorlanadi. Surtmalar har-xil usullar bilan bo'yaladi, shulardan eng yaxshisi M.A.Morozovning kumushlash usuli hisoblanadi. M.A.Morozov bo'yicha bo'yalganda 3 reaktiv tayyorlanadi.

N1 Reaktiv (Ruge suyuqligi): 1ml muzli uksus kislotasi, 2ml 40%-li formal'degid eritmasi (sotuvdagi formalin) va 100ml distillangan suv bilan bir idishga quyiladi.

N2 Reaktiv (kimyoviy modda): 5g taninni 100ml distillangan suvda eritgach, 1ml suyuq karbol kislotasi (fenol) qo'shiladi. Kristall holdagi karbol kislotani suyuq holatga keltirish uchun 56°C suv hammomida eritiladi. Taninning yaxshi navdagisini ishlatish kerak. lg taninning tozaligini bilish uchun 5ml suvda eritilib, unga 10ml 96°li spirtidan qo'shiladi. Bir soat davomida loyqalanish paydo bo'lmasligi kerak(dekstrin, kamel). So'ngra 5ml efir qo'shish tufayli (shakar, tuz) loyqalanish bo'lmasligi zarur.

3.Reaktiv (ammiakli kumush eritmasi):5g kristal kumush nitrat 1 ml distillangan suvda eritiladi. Umumiy eritmadan boshqa idishga kam miqdorda (o'ndan biri) quyiladi. Qolgan kumush nitrat eritmasiga tomchilatib (25%-li) ammiak eritmasi qo'shiladi. Boshlanishda zich qo'ng'ir rangdagi cho'kma hosil bo'ladi, so'ngra ammiakni qo'shish tufayli erib ketadi.Maqsad cho'kmani to'lasincha erib ketmasligidan iborat bo'lib, bir-oz loyqalangan eritma olishga qaratilgan.

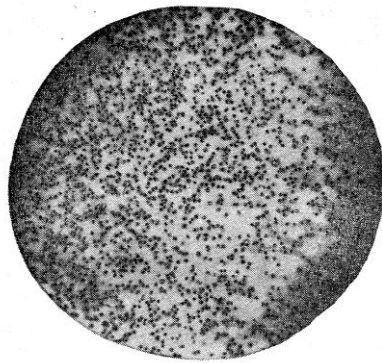
Agar eritma to'lasincha yaltiroq holda bo'lsa, asosiy eritmani loyqalanishidan oldin quyib, olingan kumush nitrat eritmasidan tomchilatib qo'shiladi.

Tomchilatib ammiakning asosiy eritmasidan so'ngra kumush nitrat eritmasidan biroz loyqa hosil bo'lguncha qo'shiladi. Hosil bo'lgan loyqa eritmani distillangan suvda 1:10 suyultiriladi va preparatlarni bo'yash uchun ishlatiladi. Eritma juda turoqli bo'lib, qorong'i xonada mahkam yopiladigan tiqinli, shisha idishda saqlanishi kerak.

M.A.Morozov usuli bo'yicha bo'yash.

Preparatga 1-reaktiv bilan 3-5 daqiqa ishlov beriladi, so'ngra distillangan suv bilan yuviladi;

2-reaktivga botiriladi so'ngra bug' hosil bo'lguncha 1-2 daqiqa qizdiriladi; 3-reaktiv bilan 1-2 daqiqa qora-jigarrang paydo bo'lguncha qizdirilib ishlov beriladi, so'ngra distillangan suvda yaxshilab yuviladi; havoda quritiladi va mikroskopning immersion sistemasida qarab ko'riladi. Natija: sariq fonda mayda qora-jigarrang, yumaloq oval shakldagi, to'planib turuvchi, qator yoki diffuzli massani yoki yakka holatda bo'lmagan tanachalarni uchratish mumkin. Shu tanachalar chechak virusining virionlari hisoblanadi. (66-rasm)



66-rasm. Virusoskopiya. Morozov usulida bo'yalgan chechak virusining virionlari (S.S.Marennikova bo'yicha).

Bo'yash uchun (18x24) emallangan kyuveta qulay bo'lib, uning chetlariga "ko'priksimon" 2ta 1-2 ml pipetka joylashtirilib, chetki qismiga rezina kiygiziladi.

Har qaysi reaktiv uchun alohida pipetka bo'lishi kerak. Virusoskopiya usulining yutuqlari javobni tez olish, oddiy va bajarilishi osonligidir. Bu usulning kamchiliklari shundan ibo-ratki, vezikulyar suyuqlikni tekshir-ganda aniq natija berib, pustulalarni va qotgan po'stloqlarni tekshirganda reaksiyaning natijasi sezilarli daraja-da pasayadi; chechak guruhidagi har

xil viruslarni farqlashning iloji bo'lmaydi; hujayra elementlaridan virionlarni aniq farqlashning iloji yo'q (har- xolda tekshiruvchining saviyasi ancha yuqori bo'lishi kerak).

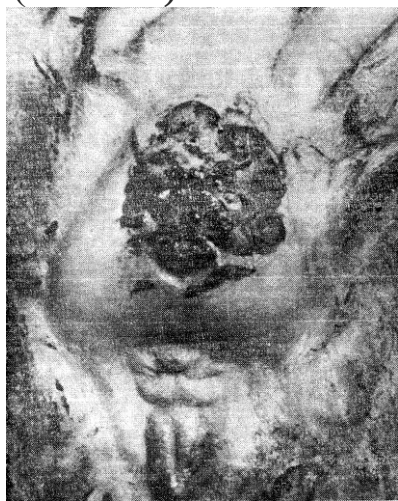
Biologik namuna. Chechak kasalligiga diagnoz qo'yishda keng qo'llaniladigan ikkinchi usuldir. Chechak kasalligida biologik namuna tabiiy moil hayvonlarda, shu hayvondan tayyorlangan birlamchi o'stirilaan hujayralarda hamisha amalga oshaveradi.

Quyondalar ospavaksina virusiga, sigirlar, o'tlar chechak virusiga sezgir, tovuq homilalari esa parrandalarning chechak virusiga sezgir bo'libgina qolmay balki ospavaksinaga, qora mollarning chechagi, kabutarlarning chechagiga ham sezgir. Barcha chechak viruslari dermatrop bo'lib tajriba uchun yuqtirish teri ichiga, tirlangan teriga, tovuq homilasining XAP yuqtirish tufayli amalga oshiriladi (hayvonlarga hamda tovuq homilasiga yuqtirish usuli tegishli mavzularda yozib o'tilgan (67 rasm).

Xo'rozning tirlangan terisiga yuqtirish usuli oson bo'lib u igna yoki singan paster pipetkasi yordamida bajariladi, toji esa uncha chuqur bo'lmagan holda tirlanadi (qon chiqmasligi kerak. Shu joyga virus suspenziyasi paxta tamponi yoki tish cho'tkasi yordamida surkaladi.

Xo'rozning pat follikulalariga chechak virusini osongina yuqtirish mumkin. Buni uchun xo'rozning son qusmidagi pati yulib olinadi va darhol ochiq follikulalarga virus suspenziyasini tampon yoki cho'tka yordamida surtiladi.

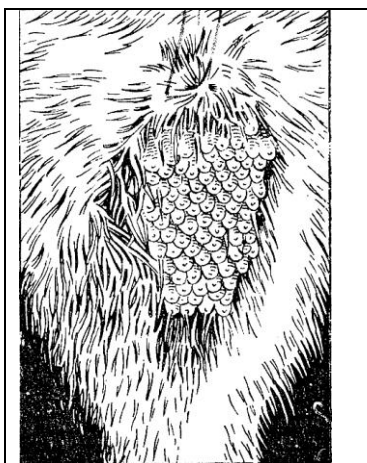
Tekshirilayotgan materialda chechak kasalligining virusi bo'lsa virus yuqtirilgandan so'ng 5-7 kun o'tgach, tojda o'ziga xos chechakchalar (68-rasm), sonida esa chechakka xos follikulit paydo bo'ladi (69-rasm).



67-rasm. Qo'ylarning chechak virusini dumosti qatlamiga yuqtirib, biologik sinab ko'rish.



68-rasm. Chechak kasalligida xo'roz tojining zararlanishi.



69-rasm.
*Xo'rozdagi
chechak follikuliti.*

Chechak yarasida yoki follikulalarda virusoskopiya usulida surtmalarda virionlarni uchratish qiyin emas.

Quyonglarga yuqtirishda, teri jundan tozalangach tirnalgan joyga virus surkaladi, demak xo'rozning tirnalgan, joyiga virusni yuqtirishdan farq qilmaydi.

Chechak kasalligida FAU va DPR usullari deyarli boshqa mavzularda yozilganlarga o'xshash.

Topshiriq.

Chechak kasalligida biologik namuna qo'yish va virusoskopiya o'tkazish.

Material bilan ta'minlash:

Chechak virusi va sezgir tirik ob'ektlar (xo'roz, kabutar, quyon); sterilizatsiyalangan tish cho'tkasi; steril paxta tamponi; yog'sizlantirilgan buyum oynasi; o'tkir tig'; pinsetlar; 1,2,3 reaktivlar; immersion moy; yoritgichli mikroskoplar; spirtlampasi; distillangan suv.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

1.Mashg'ulotga 5-7 kun qolganda barcha guruh talabalari ishtirokida xo'rozga, quyonga chechak virusini yuqtirish.

2.Nazorat uchun savollar.

3.O'qituvchining tushuntirishi.

4.Namoyish qilish: a) biologik namunaning natijasini; b) chechak kasalligida surtmalar tayyorlash usulini.

5.Talabalarning mustaqil ishlashi: a) chechak kasalligida surtmalar olish; b)Morozov usuli bo'yicha surtmalarni bo'yash; c) surtmalarni mikroskop yordamida qarab ko'rish; d) natijalarini chizib olish.

6.Mashg'ulotga yakun yasash.

7.Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar.

1.Chechak viruslarini ta'riflab bering.

2.Chechak kasalligining har-xil turdagi hayvonlarda epizootologik, klinik xususiyati qanday?

3.Chechak kasalligiga diagnoz qo'yishning qaysi usullarini bilasiz?

Uslubiy ko'rsatma

Ushbu mashg'ulotga tayyorgarlik ko'rishdagi qiyinchiliklar chechak virusini va unga sezgir bo'lgan tirik ob'ektni tanlash hisoblanadi.

Xo'rozlarga yuqtirish uchun (tirmalgan tojga yoki pat follikulalariga) NR-1 tovuqlardagi chechak virusining vaksina shtammidan foydalaniladi.

Oson topiladigani tovuqlarning chechak. kasalligiga qarshi vaksina sifatida ishlatiladigan kabutardagi chechak virusining N 'yu-D jersi shtammi hisoblanadi.

Ushbu viruslar bilan samarali biologik namunani kabutarlarda qo'yish mumkin.

Yaqin kunlargacha odamlarni emlash uchun ishlatilgan ospovaksina virusini quyonlarning terisini ichiga yuqtirish yaxshi natijalar ko'rsatar edi.

Chechak kasalligida iloji bo'lmagan paytda biologik namuna uchun ko'plab topiladigan tovuq homilalari ishlatiladi. Yuqorida so'z yuritilgan viruslar bilan tovuq homilasining xorionallantois pardasiga yuqtirish tufayli shish avj olib, o'ziga xos tugunchalar (chechakchalar) paydo bo'ladi.

Morozov usuli bo'yicha surtmalarni bo'yash uchun reaktivlar tayyorlash ko'p qiyinchiliklar tug'dirmaydi. Bo'yash uchun to'plamlarni tayyorlash maqsadga muvofiq, bular 1,2 va 3 reaktivlardan, immersion moy, benzin, penitsillin flakonlar, ko'z uchun ishlatiladigan pipetkalardan iborat. Bir to'plamdagi barcha flakonlarni Petri likopchasining qopqog'iga joylashtirib ikki kishiga bir to'plamdan bersa bo'ladi.

3-MAVZU

GATR-yordamida parrandalardagi gripp virusini, N'yukasl kasalligi virusidan differensiatsiyalash

Oilasi: Myxoviridae Avlodi: Orthomyxovirus va Paramyxovirus

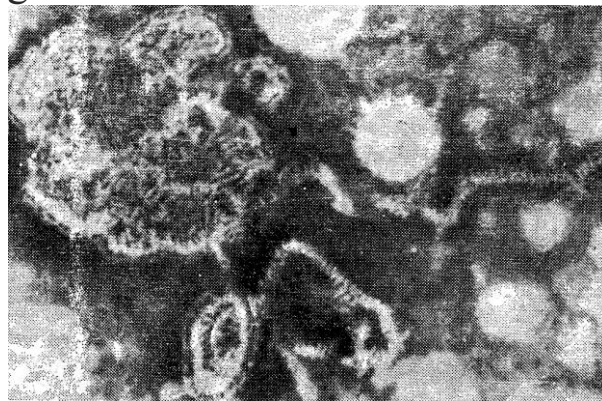
Kriptogrammasi: R/I:Σ5/1:S/E:V/O va R/I:6-8/I:S/E.V/O.

N'yukasl kasalligi-parrandalarning keng tarqalgan kasalligi bo'lib, katta iqtisodiy zarar yetkazadi. So'nggi paytlarda shu kasallikka o'xshash bo'lgan parrandalarning gripp kasalligi uchrab turmoqda. Ushbu kasalliklarga qarshi kurashish va spetsifik profilaktika ishlarini o'tkazish uchun bir- biridan farqlashimiz zarur.

N'yukasl kasalligi-tovuq va kurkalarning yuqori kontagiozli kasalligi hisoblanadi. Kasallik epizootik shtammning virulentligiga, immunologik holatga, tovuqlarning yoshiga va qo'shimcha infeksiyaga qarab o'tkir, klinik belgisiz va yashirin o'tishi mumkin. N'yukasl kasalligining alomatlari har-xil kechadi. Kamquvvatlik belgilari bilan birgalikda nafas olish traktining zararlanishi, burun bo'shlig'idan, suyuqlik oqishi, yo'tal, bo'g'ilish kuzatiladi.

Ko'kimtir rangdagi xuddi suvday suyuqlikning qon aralash ajralib turishi ovqat hazm qilish traktining yallig'lanishidan dalolat beradi.

Ayrim hollarda markaziy nerv sistemasining zararlanishi tufayli oyoqlarning, qanotlarning falajlanishi kuzatiladi. Kasallik belgisiz kechganda germinal traktida o'zgarishlar bo'lib, tuxum berish 3 haftagacha bo'lmasligi mumkin. Kasallik o'tkir kechganda jo'jalar orasida o'lim 90% gacha etadi.



70-rasm. N'yukasl kasalligi virusining virioni va viriondan tashqarida ribonukleoproteid ipining fragmentlari (Yu.V.Panteleev bo'yicha).

O'lgan tovuqlar yorib ko'rilganda kataral yallig'lanish, nafas olish sistemasida, qizil o'ngachda, oshqozonda, ichakda giperemiya va qon quyilishi kuzatiladi. Bosh miya qizargan va shishgan bo'ladi.

N'yukasl kasalligini chaqiruvchi virus Paramyxoviridae oilasiga mansub (70-rasm). Virus antigenining bir xilligi laboratoriyada tekshirib diagnoz qo'yish ishlarini ancha yengillashtiradi.

Virus tovuq, dengiz cho'chqachasi, sichqon va odam eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. Virusning ayrim shtammlari qo'y va ot eritrotsitlarini ham agglyutinatsiyalaydi.

Parrandalarning gripp kasalligi uy va yovvoyi parrandalarning o'tkir kechuvchi yuqori kontagiozli kasalligidir. Gripp kasalligiga tovuqlar, o'rdaklar, kurkalar, g'ozlar sezgirdir.

Parrandalarning gripp kasalligida madorsizlik, ishtahaning yo'qolishi, nafas olishning qiyinlashuvi og'iz va burun bo'shlig'idan suyuqlik oqishi, harakat koordinatsiyasining buzulishi oyoqlarda falajlik va sholliklar, tojning ko'pkarishi, ayrim hollarda chechaksimon unib chiqishlar kuzatiladi.

Boshning, bo'yinning shishi, diareya, nerv sistemasi zararlanishi mumkin.

Tovuqlardagi gripp kasalligining Al serologik variantida 70-80% kasal tovuqlar o'ladi. Ammo virus shtammining virulentligiga, tovuqning yoshiga, saqlanish sharoitiga va qo'shimcha infeksiyaning aralashuviga ham bog'liq. Gripp kasalligi bilan o'lgan tovuqlarni yorib ko'rganimizda kataral kon'yunktivit, rinit, sinusit, traxeit, kataral gemorragik yallig'lanish, oshqozon shilliq pardalarida, ichakda qon quyulishni ko'rishimiz mumkin. Ayrim hollarda tuxum yo'li va tuxumdonning yallig'lanishi kuzatiladi.

Parrandalarning gripp virusi Orthomyxoviridae oilasiga mansub 13 ta serologik varianti bo'lib turlicha patogenlik darajasiga ega va kasallikni har xil turdagi parrandalarda o'ziga xos klinik belgilari bo'ladi. Shuning uchun parrandalarning gripp virusi oldin boshqacha nomlanib ya'ni parrandalarning o'lat virusi deyilar edi. Gripp virusining barcha avlodga mansub bo'lgan A,S-antigeni bo'lib, KBR qo'yib va V-antigenni (gemagglyutinin va neyraminidaza) GATR va NR yordamida aniqlashimiz mumkin. Parrandalarning gripp virusi tovuqlar, dengiz chochqachalari, quyonlar, otlar, qo'ylar va boshqa hayvonlarning eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. Yuqorida aytilganlarga qaraganimizda N'yukasl kasalligining klinik alomatlari, patologoanatomik o'zgarishlari parrandalarning gripp kasalligiga juda

o'xshash bo'lib, ularni faqat laboratoriya usullari bilan farqlashimiz mumkin.

Bu ishlarni bajarish uchun laboratoriyaga bosh miya, o'pka va taloq yuboriladi.

O'lgan parrandalardan virusni kasallik eng avjida chiqqan paytida ajratib olish lozim.

Shuning uchun patmaterial kasallik boshlangandan so'ng 3-5 kun ichida olinishi kerak.

Tekshirilayotgan virusga qarshi antiteloni uchratish uchun bir tovuqxonadagi 25 ta tovuqdan qon zardobi olinib, namuna uchun yuboriladi. 2-3 hafta o'tgach, shu raqamdagi 25 tovuqdan tekshirish uchun qon zardobi yuboriladi.

Tovuqdan qon olinayotgan vaqtda aseptika qoidalariga amal qilib, zardobni olgach, unga 1:20000 mertiolat nisbatda qo'shib konservatsiya qilinadi.

Parrandalardagi gripp va N'yukasl kasalligining virusini laboratoriyada farqlab diagnoz qo'yish.

Bajarish quyidagi reja asosida bo'ladi:

virusni tovuq homilasida ajratib olish; GATR yordamida gripp virusini n'yukasl kasalini chaqiruvchi virusdan farqlash. Parrandalarning gripp va N'yukasl kasalligiga gumonsiralganda virusni uchratish uchun tomchi usulida gemagglyutinatsiya reaksiyasini qo'yib ko'ramiz.

Buning uchun patologik materialdan tayyorlangan bir tomchi suspenziyaga, bir tomchi 5% tovuq eritrotsitlari qo'shiladi. Reaksiyaning musbat bo'lishi patmaterial tarkibida gemagglyutinatsiyalovchi virus borligini bildiradi.

Virusni ajratish. Biologik namuna usulida virusni uchratish va ajratib olish uchun patmaterialdan tayyorlangan suspenziyani 9-11 kunlik tovuq homilasining allantois bo'shlig'iga yuboriladi.

N'yukasl va gripp viruslarining ko'payishi natijasida 20-76 soat ichida virusning shtammi virulentli bo'lsa, tovuq homilasi o'ladi. O'lgan tovuq homilasini ochib ko'rsak, homilaning ensasida, oyog'ida, tanasida ko'plab qon quyilganligini ko'ramiz. O'lgan tovuq homilasining allantois suyuqligi olinib, tomchi reaksiyasi yordamida virusning borligi aniqlanadi, ushbu virusni navbatdagi tekshirishda material sifatida, ya'ni ajratilgan virus o'rnida ishlatamiz.

Birinchi zararlashda virusni ajratib ololmasak, u holda 3 marta "ko'r" passaj qilib ko'riladi.

Yuqtirish uchun homilaning oldingi tekshirishda musbat reaksiya bergan allantois suyuqligi ishlatiladi.

Tekshirishlar asosida ajratib olingan virus N'yukasl virusi bo'lgan unda uning vaksinali yoki epizootikligini aniqlashimiz zarur.

Dala shtammining patogenlik darajasini aniqlash uchun vaksina bilan emlangan yoshi 30 kunlik jo'jalaridan foydalanamiz.

Jo'jalarga 0,2 ml allantois suyuqligining (1:100) nisbatdagi yoki o'lgan tovuqlardan olingan suspenziya yuqtiriladi. Dala shtammi bor bo'lsa, 4-6 kun ichida jo'jalar o'ladi.

GATR yordamida gripp virusini N'yukasl virusidan farqlash.

Tovuq homilasida virusni uchratish va ajratib olishning, virusni differensiatsiyalashga aloqasi yo'q. Ikkala virus tovuq homilasida rivojlanishi tufayli bir xil patalogo'natomik o'zgarishlar chaqiradi.

Viruslarning maxsus ta'siri serologik reaksiyalar natijasida ko'zga tashlanadi.

GATR viruslarni differensiatsiyalash uchun, tovuq eritrotsitlarining ishlatilishi juda qulay.

Ushbu reaksiyani tanlashdan maqsad, ikki virus ham eritrotsitlarni gemagglutinatsiyalash qobiliyatiga ega, lekin maxsus zardoblar bilan qo'shilishi natijasida ularni bir-biridan farqlashimiz mumkin.

Reaksiya tez va oson bajarilib, unchalik sterillik talab qilmaydi, hamda tez javob olishimiz mumkin. Spetsifik ma'lum antitelolarni saqlovchi zardoblar biofabrikalarda tayyorlanib, ular laboratoriyalarga diagnostikum sifatida yuboriladi.

N'yukasl va gripp virusiga laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun mamlakatimizda 2 ta shunday to'plam (nabor) ishlab chiqilgan.

N'yukasl kasalligini gripp kasalligidan farqlash uchun GATR qo'yilib, ikki maxsus zardobdan foydalaniladi.

Birinchisida N'yukasl virusiga qarshi antitelo, ikkinchisida gripp virusiga antitelo saqlanadi.

Gripp virusining serologik variantini aniqlashdan maqsad, bir variant bilan kasallangan parrandalar ikkinchi variantdagi virusga qarshi antitelo ishlab chiqarmaydi.

Reaksiyani qo'yish uchun ajratib olingan virus titrlanadi va 4 GAB titrdagi ishchi suyultirilgan darajasi hosil qilinadi.

So'ngra biofabrikada tayyorlangan ikki xil zardob olinib, antitelolarning zardobdagi titri ajratib olingan virus ishtirokida aniqlanadi.

Quyidagi misolda noma'lum bo'lgan virusning gemagglutinatsiyalash aktivligi maxsus zardob tarkibidagi antitelo yordamida to'xtatilgan.

15-jadval. GATR yordamida zardobni suyultirish.yo'li bilan N'yukasl va gripp virusini differensiatsiyalash sxemasi.

Reaksiyaning tarkibiy qismi	Zardobni suyultirish								
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
VirusX+N'yukasl virusi uchun zardob	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VirusX+Gripp virusi uchun zardob	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++

Antigen+antitelo kompleksining hosil bo'lishi (ajratib olingan virus+maxsus zardobning antitelosi). Shu o'rinda virusga tarkibida N'yukasl virusiga qarshi antitelosi bor zardobning qo'shilishi.

16-jadval. GATR yordamida virusni suyultirib, N'yukasl kasalligini gripp kasalligidan differensiatsiyalash sxemasi.

Qatorlar№	Reaksiyaning tarkibi, ml	Virusni suyultirish							
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
1	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	N'yukasl virusi uchun zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	Gripp virusi uchun zardob	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
3	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Virus X	0,2	Navbatma-navbat 0,2 ml dan o'tkazish						
	Fiziologik eritma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

17-jadval. GATR yordamida virusni suyultirib parrandalarning N'yukasl va gripp 1 virusining serovariantini farqlash natijalari.

Reaksiyaning tarkibi	Virusni suyultirish								
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Virus X+N'yukasl virusi uchun zardob	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
Virus X+gripp virusi uchun zardob	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
Virus X+fiziologik eritma	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-

Shunday qilib, N'yukasl va gripp kasalligining virusi tovuq homilalarida bir xil o'zgarishlar chaqiradi.

GATR qo'yib virusni farqlash mumkin, agarda reaksiyaga shubha paydo bo'lsa neytrallash reaksiyasini qo'yib ko'riladi.

Topshiriq

GATR yordamida noma'lum gemagglyutinatsiyalovchi N'yukasl va gripp viruslarini bir-biridan farqlash.

Material bilan ta'minlash:

N'yukasl kasalligining virusi; shu virus uchun maxsus zardob; fiziologik eritma; 1-2ml pipetkalar; pleksiglas panellar; 1%-tovuq eritrotsitlari; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan; rezina nokcha; oynaga yozish uchun qalam.

Mashg'ulotning rejasi (2 soat)

- 1.O'qituvchining tushuntirishi.
- 2.Talabalarining mustaqil ishlashi:
 - a)virusni ikki barobar suyultirish;
 - b)zardobni quyib chiqish.
- 3.Nazorat uchun savollar.
- 4.Talabalar mustaqil ravishda eritrotsitlarni quyadi.
- 5.O'qituvchining tushuntirishi.
- 6.Diagnostik to'plamni talabalarga ko'rsatish, N'yukasl virusini gripp virusidan farqlash. Antigen va zardoblarning ishlatilish yolarini o'rganish. GATR orqali bir virusni ikkinchi bir virusdan farqlash.
- 7.Mustaqil bajarilgan GATR ning natijalarini ko'rish.
- 8.Mashg'ulotga yakun yasash. 9.Navbatdagi mashg'ulotga topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar

- 1.N'yukasl va gripp viruslari chaqiradigan kasalliklarning o'xshashlik tomonlari nimadan iborat?

2.Kasal va o'lgan tovuqlardan virusni ajratish va ko'rishning qaysi usullarini bilasiz?

3.N'yukasl kasalligining virusini, gripp virusidan qanday farqlash mumkin?

4.GATR virusni suyultirish bilan birgalikda ikki virusni bir biridan farqlashni ayting, natijalarini esa tushuntiring.

Uslubiy ko'rsatma.

Farqlanadigan virus o'rnida n'yukasl kasalligi virusning H yoki LA-Sota shtammlarining 64 GAB titrdagisidan foydalanish qulay hisoblanadi.

NK va GP viruslariga spetsifik zardob sifatida shu maqsadda ishlatiladigan diagnostik to'plamlar yoki laboratoriya hayvonlaridan, quyonlarni giperimmunlash yo'li bilan olingan zardoblardan foydalaniladi.

Giperimmunlash uchun tegishli vaksinalar yoki shu vaksinalar bilan zararlantirilgan tovuq homilalarini allantois suyuqligi ishlatiladi.

Qo'llanilayotgan gomologik virusga birorta spetsifik zardob bor bo'lsa, ikkinchi zardobni imitatsiya qilish ham mumkin.

4-MAVZU

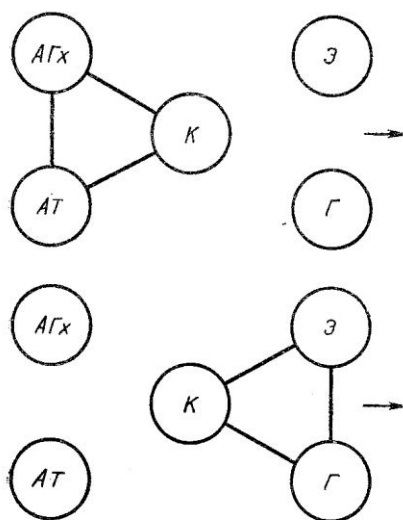
KBR yordamida oqsil kasalligining turini aniqlash

Oilasi: Picornaviridae Avlodi: Aphthovirus

Kriptogrammasi: R/1:2,3-2,8/30:S/S:V/O.

Komplementni bog'lash reaksiyasi (KBR) ko'plab virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda qo'llaniladigan an'anaviy serologik reaksiyalardan biri hisoblanadi. Reaksiyaning nomi alohida ikki bosqichdan iborat bo'lib bajariladigan ishning mohiyatini malum darajada ko'rsatadi. Birinchi bosqichda antigen va antitelo qatnashadi (oldindan shulardan biri malum bo'ladi), hamda oldindan titrlangan malum miqdorda komplement kerak bo'ladi. Antigen va antitelo kompleksining mos kelishi tufayli komplementni biriktirib oladi, buni esa, ikkinchi bosqichda indikator vazifasini o'tovchi (qo'chqor eritrotsitlarining aralashmasi va ularga antizardob-gemolizin) namoyon qiladi.

Agarda antigen va antitelo birikishi tufayli komplement bog'lansa, u holda eritrotsitlar lizisga uchramaydi (musbat KBR). Manfiy KBR da esa boglanmagan komplement eritrotsitlarni gemolizlanishida ishtirok etadi. (71-rasm).



71-rasm. KBR ning tasviri.

AG- tekshirilayotgan antigen; AT - spetsifik antitelo;

K- komplement; E- qo'chqorning eritrotsiti; G- gemolizin.

Gemolizning to'xtashi musbat- KBR (+)

manfiy KBR - gemoliz (-)

KBR dan amaliyotda ko'pincha diagnoz qo'yishda, virusni topish va identifikatsiyalashda, qon zardobi tarkibidagi antitelolarni topishda va titrlashda foydalaniladi.

KBR ning asosiy komponenti bo'lib antigenlar (ma'lum va izlanayotgan), antitela (ma'lum antizardoblar yoki tekshirilayotgan zardob), komplement, gemolitik zardob va qo'chqorning eritrotsitlari hisoblanadi; suyultirgich o'rnida pH 7,2-7,4 bolgan natriy xloridning izotonik eritmasi yoki har-xil buferli eritmalaridan foydalaniladi.

Antigenlar va zardoblar antikomplementar xususiyatda, shuningdek, komplementni adsorbsiyalash, ya'ni gemolizni to'xtatishi va reaksiya natijasini noto'g'ri ko'rsatishi mumkin. Antikomplementarlikdan xalos qilish uchun antigenlar, har-xil usullar bilan ya'ni: atseton, freon, efir, xloroform va shunga o'xshash antigen va virus o'rnida ishlatiladigan to'qimaning turiga bog'liq holda tozalanadi. Zardoblar esa antikomplementarlikdan qizdirish va komplementga boshqa usullar bilan ishlov berish yo'li bilan tozalanadi.

KBR uchun antigenlar kasallik bilan zararlangan hayvonlarning organlaridan virus yuqtirilgan tovuq homilasining allantois yoki amnion suyuqligidan, hamda virus yuqqan hujayra kulturalarining suyuq muhitidan tayyorlanadi. Virus infeksiyalarida KBR uchun antigen tayyorlash bakterial infeksiyalarnikiga qaraganda ko'p jihatdan farq qiladi. Bu esa virusning bir qator spetsifik xususiyatlari bilan bog'liq.

Birinchidan, hujayra ichidan virus antigenini ajratish uchun ko'pchilik holda yuqumli materialni buzish va antigenni ajratayotganda qo'shimcha ishlov berishga to'g'ri keladi.

Ikkinchidan, bakteriyalarga nisbatan virus antigenlarining katta termolabiligi hisoblanadi. Ko'pchilik viruslarda komplementni fiksatsiyalovchi antigen yuqumli bo'lakchalar bilan bog'langan bo'lib, ularning buzilishi yuqumlilikni yo'qolishi bilan parallel kechadi. Shuningdek antigen olish uchun materialni hayvon o'lgach bir-ikki soat ichida, iloji bo'lsa tirik paytida olish kerak.

Virus saqlovchi materialni har-xil dezinfeksiyalovchi moddalar bilan konservatsiyalash ko'pchilik holda musbat natijalar bermasdan, ko'pchiligi virus antigenini buzishga olib keladi.

Uchinchidan, antigen+antitelo konsentratsiyasini har xil nisbatda bo'lishi tufayli komplementni fiksatsiyalanishi bir tekis bo'lmaydi. Antigen+antitelo kompleksi qachonki ular faqat son jihatidan bir-biriga teng bo'lgandagina hosil bo'ladi; antiteloning soni ortiq bo'lganda komplementni fiksatsiyalash birdaniga pasayadi, antigen+antiteloning aktiv kompleksi antitelo bilan bog'liq, chunki komplementning aktiv yuzasi juda ham kam. Antigenlarning soni ortiq bo'lganda ham shunday holat kuzatiladi. Chunki komplementning fiksatsiyalanishining pasayishi

juda ham tez kechadi. Komplementning optimal bog'lanishi uchun antigen va antiteloni oldindan titrlash kerak bo'ladi.

To'rtinchidan, kam hajmdagi antigen+antitelo kompleksiga kiradigan virus bo'lakchasi juda kichkina kattalikka ega shuning uchun komplementni fiksatsiyalash maydoni kam. Komplementni fiksatsiyalash davrini uzaytirish yo'li bilan antigen+antitelo kompleksining hajmini ko'paytirish natijasida (4°Cda 18 soat) reaksiyaning sezgirligi oshadi ammo uning spetsifekligi kamayadi; shuningdek uzoq vaqt fiksatsiyalash tufayli spetsifik bo'lmagan antigenlarni fiksatsiyalashi ko'payadi.

Beshinchidan, virus antigenining yuqori prokomplementar aktivligi. Spetsifik bo'lmagan komplementni fiksatsiyalashni oldini olish uchun virus antigenini to'qima fermentlaridan to'lasincha tozalash zarur. Odamlar va hayvonlarning virus kasalliklariga KBR dan foydalanib diagnostik qo'yishda katta to'siq bo'lib kasallikning har-xil davrida virus antigenining notekis to'planishidir. Oqsil virusining tipi, variantlarini aniqlashda oqsil virusining ishlab chiqarish, shtammini tekshirishda, ilmiy tekshirish ishlarida KBR dan foydalaniladi. Oqsil-juft tuyoqli hayvonlarning yuqori, kontagiozli, o'tkir kechuvchi kasalligi bo'lib, haroratning ko'tarilishi, og'iz bo'shlig'ini shilliq pardalari, tuyoqning teriga qo'shilgan joyi (venchik)ning va yelinning vezikulyar yallig'lanishi, yosh hayvonlarda miokardning va skelet muskullarining jarohatlanishi bilan kechadi.

Oqsil kasalligi dunyoning ko'pchilik mamlakatlarida ro'yxatga olingan. Yashirin davri 1-3 kun, ayrim hollarda 7-10 kungacha cho'ziladi. Ushbu kasallikning ko'zga tashlanarli belgilari bo'lib og'iz shilliq pardasining, teri gultojoyining vezikulali yallig'lanishi hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlar va cho'chqalarda oqsil kasalligi o'tkir kechib, katta yoshdagi hayvonlarda esa zararsiz (davolab bo'ladigan) kechadi. Avvalo ishtahaning yomonlashuvi, so'lak ajralishining kuchayishi (72 rasm), tana haroratining (40,5-41,5 °C) ko'tarilishi kuzatiladi. 2-3 kun o'tgach labning ichki yuzasida, tilda, aftalar paydo bo'ladi. (73 rasm). Ayrim hayvonlarning tuyoqlari oralig'ida, elinda aftalar hosil bo'ladi. (74,75 rasm) Oyoqlarda aftalarning paydo bo'lishi hayvonning oqsoqlanib yurishiga sabab bo'ladi. Bir sutka o'tgach aftalar yorilib o'rnida eroziya paydo bo'ladi. (76 rasm). 2-3 hafta o'tgach eroziyalar bitadi va hayvonlar tuzaladi. Cho'chqalarda, qo'y va echkilarida zaralanish ko'p holda oyoqlarda ayrim hollarda og'izning shilliq pardasida kuzatiladi. (77-rasm). Ko'pchilik hollarda yelin jarohatlanadi. Yosh hayvonlarda oqsil kasalligi yomon kechadi (o'lim

80% va yuqori), aftalar bo'lmasdan, ichakning gemorragik yallig'lanishi va yurak muskullarida degenerativ o'zgarishlar (yo'lbarsga o'xshash yurak) va shunga o'xshash o'zgarishlar skelet muskullarida ham topiladi.

Virus Picornaviridae oilasiga va aphtovirus avlodiga mansub, RNK saqlaydi, superkapsid qobig'i bo'ladi. Virionlari ikosaedr shaklidagi mayda bo'lakchalardan iborat. Oqsil virusi tashqi muhit faktorlariga nisbatan chidamli. Afta devorlarida virulentlik xususiyati 67 kun, suyuq najasda-39 va oqar suvda 103 kungacha saqlaydi. Eng yaxshi dezinfeksiyalovchi vosita bo'lib 2 yoki 3% gidrokarbonat natriyning issiq eritmasi va 1% formaldegid hisoblanadi..

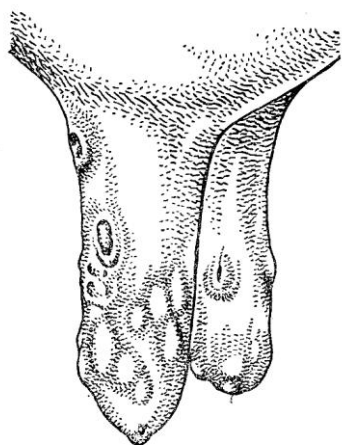


72-rasm. Oqsil kasalligida sigirning og'zidan so'lak oqishi.

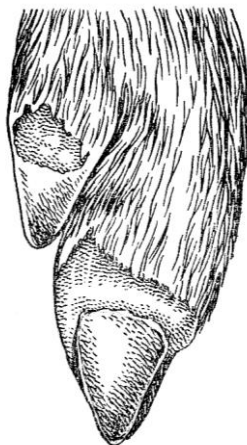


73-rasm. Oqsil kasalligida sigirning tilidagi eroziyalar (S.J.Voynov va M.B.Karpovich bo'yicha)

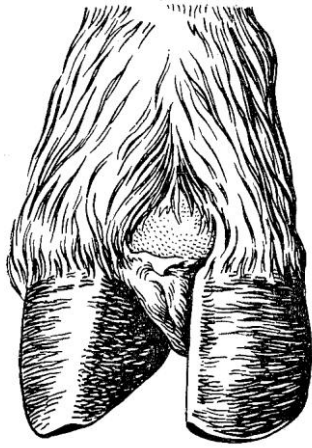
Tuzalgan yirik shoxli hayvonlarning 50% virusni 8 oy davomida, ayrimlari hatto 2 yilgacha ajratib yuradi.



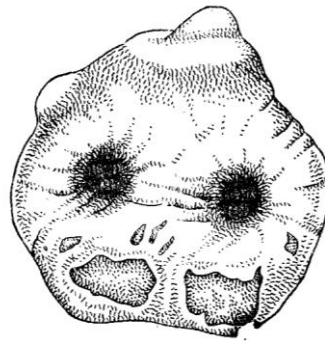
74-rasm. Oqsil kasalligida sigir yelinidagi yaralar. (Marek, Mochi va boshq bo'yicha)



75-rasm. Oqsil kasalligida cho'chqaning tuyoq gultohg'idagi zararlanish (S.N.Voynov va M.B. Karpovich bo'yicha)



76-rasm. Oqsil kasalligida sigirning tuyoq oralig'ini zararlanishi. (Skomoroxov bo'yicha)



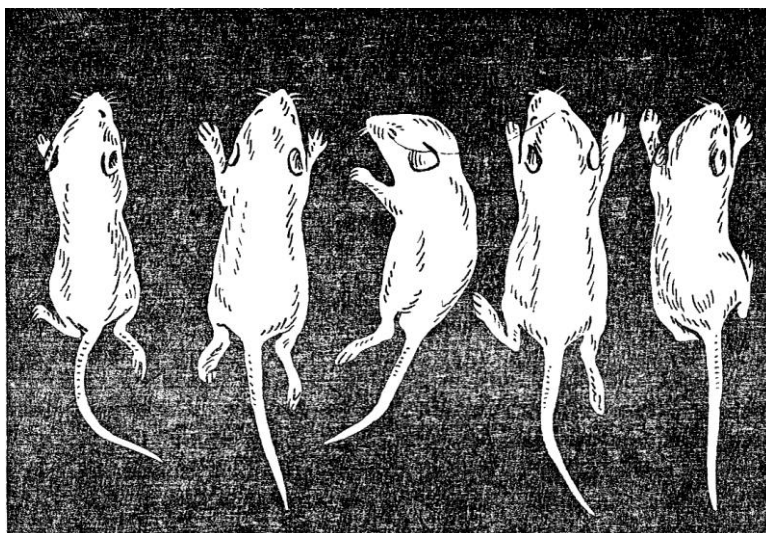
77-rasm. Oqsil kasalligida cho'chqaning tumshug'idagi yarachalar va eroziyalar (Skomoroxov bo'yicha)

Tabiiy sharoitda oqsil virusiga juft tuyoqli hayvonlar sezgir. Kasal hayvonlarda kasallikni yashirin davrida (sutdan, urug'dan, so'lakdan) virusni ajratib olish mumkin. Virusning yuqori miqdori epiteliy va vezikula suyuqligida saqlanadi. Kasal hayvolarning ekskret va sekretlari 10 kundan ko'proq vaqtgacha yuqumli bo'ladi. Kasal bo'lib tuzalgach uzoq muddatgacha virus tashuvchilik kuzatiladi

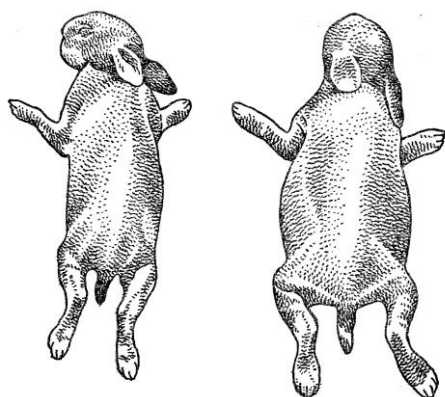
Virus tabiiy moil va laboratoriya hayvonlaridan: yangi tug'ilgan sichqonlar va quyonlarda, dengiz cho'chqachalarida 60 kunlik xomyaklarda o'stiriladi (78-80 rasm).



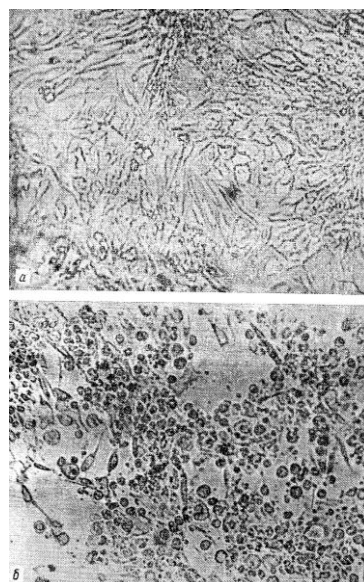
78-rasm Oqsil kasalligi yuqtirilgan dengiz cho'chqachasining oyoq terisidagi ochiq yara. (S.J.Voynov va M.B. Karpovich bo'yicha)



79-rasm. Oqsil virusi yuqtirilgan sichqonlarning oyoqlaridagi falajlik va shollik (M.B.Karpovich bo'yicha)



80-rasm. Oqsil virusi yuqtirilgan quyonlarning oyoqlaridagi falajlik va shollik (M.B.Karpovich bo'yicha)



81-rasm. Quyon bolalarining buyragidan tayyorlangan o'stirilgan hujayra (M.B.Karpovich bo'yicha) a-yuqtirilmagan b-oqsil virusu yuqtirilgan;

Oqsil kasalligini turini aniqlash laboratoriyada bajariladi.

Oqsil kasalligiga diagnoz epizootologik ma'lumotlarga faqat juft tuyoqlilarni zararlanishi va yuqori kontagiozligi, klinik belgilariga (og'izning shilliq pardalarida, oyoqning terisida va yelinda vezikulyar jarohatlar), patologoanatomik o'zgarishlar (ichakning va yurak muskullarining jarohatlanishi, yosh hayvonlarning o'lishi) laboratoriya tekshiruvlarining natijalariga asoslanib qo'yiladi.

Namuna olish: Laboratoriya tekshiruvlari uchun 2-3 kasal hayvon aftasining devori va tarkibidan, tilning shilliq pardasidan (yirik shoxli hayvondan, cho'chqaning tumshuq gardishidan, teri gultojidan va tuyoq oralaridan, Y.sh.h, m.sh.h, cho'chqa va tuyanining) kamida 5 g olinadi.

Afta bo'lmagan holda hayvonning harorati ko'tarilgan paytda qon, barcha turdagi mayda hayvonlar murdasidan - boshning limfa tugunlari, oshqozon osti bezi yoki yurak muskuli olinadi. Virus tashuvchilikka tekshirish uchun maxsus zond yordamida qizilo'ngach-tamoq shilimshig'i olinadi. Nosog'lom xo'jalikdan olingan materialdagi virusning tashqi muhitga tarqalib ketmasligi va yuqumli material bilan ishlovchi xodimlarni himoyalash zarur.

Buning uchun: a) xo'jalikdagi veterinariya xodimi kasal hayvondan material olish bo'yicha yetarlicha mahoratga ega bo'lishi kerak; b) materialni olish uchun - pinsetlar, qaychilar, salfetaklar, qalin devorli flakonlar, leykoplaster, rezina tiqin, izotonik natriy xlor eritmasidagi 50% glitserinning steril aralashmasi, sovutuvchi aralashmasi bor termos, 2% - NaOH yoki 1% uksus yoki sut kislotasining eritmasi, maxsus kiyimlardan - xalatlar, kombinzonlar, kosinka yoki chepchik, rezina etik, qo'lqoplar va boshqalar bo'lishi kerak.

Barcha zarur bo'lgan narsalar konteynerga joylanib nosog'lom xo'jalikka borilgach, kasal hayvonlar turgan xonaga kirish oldidan kiyiladi;

c) kasal hayvondan materialni olib bo'lgach instrumentlar, yuzyopqich, qo'lqoplar dezinfeksiyalovchi eritmaga botiriladi, flakon va termosning tashqi qismiga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi.

Odam va narsalarni sanitariya ko'rigidan o'tkazadigan (sanpropusknik) joyda, barcha kiyimlar yechilib, dushga tushiladi. Oqsil virusi odamning burun bo'shlig'ida 7 kungacha yashaydi. Demak, nosog'lom xo'jalikka borgandan so'ng 7 kungacha sog'lom juft tuyoqli hayvonlar bilan iloji boricha kontaktda bo'lmaslik kerak. Buzilish belgisi bo'lmagan material namunasi tiqini burab yopiladigan yoki zich yopiladigan flakonlarga joylashtirilgach muzlatiladi, muzlatish uchun sharoit bo'lmasa konservatsiyalovchi eritma quyiladi (NaCl izotonik eritmasidagi 50% steril glitserin eritmasi). Flakonga yorliq yopishtirilib unda hayvonning turi, materialning nomi, uning miqdori, olingan vaqti va yuboruvchining manzilgohi ko'rsatiladi. Flakonlar metallardan yasalgan va hech narsani o'tkazmaydigan konteynerga joylanib, muhrlanadi va muzi bor termosga joylanadi va yana muhrlanadi. Materialga yo'llanma xati

ilova qilinib unda quyidagilar ko'rsatiladi: materialni olgan vaqt, oqsil kasalligi bo'yicha xo'jalikdagi epizootik holat yuzasidan xabar berib, veterinariya xodimi imzo qo'yadi. Material maxsus veterinariya xodimi orqali berib yuboriladi. Laboratoriyada oqsil virusi bilan ishlash uchun alohida xona (boks va boks oldi xonasi bilan) ajratiladi, u yerda diagnoz qo'yish ishlarini bajarish uchun (materialni tayyorlash, KBR qo'yish, biologik tajriba va h.k) zarur bo'lgan asbob uskunalar bo'lishi shart. Boksda ishlayotganda maxsus kiyim va oyoq kiyimi to'lasincha almashtiriladi, rezina qo'lqop va yuzyopqich kiyiladi. Idish va asboblari qaynatiladi, maxsus kiyim konteynerga joylanib avtoklavlanadi, stollarga, polga, devorga dezinfeksiyalovchi eritma bilan ishlov beriladi, so'ngra UBN bilan nurlantiriladi.

Laboratoriyaga olib kelingan material va uning sarf qilinganligi 0,1 mg gacha aniqlikda hisobga olinadi. Laboratoriyaga keltirilgan material tekshirilganga qadar va ishlatish davrida ham kalit bilan yopiladigan muhrlangan sovutgichda saqlanadi. Ish tugagandan so'ng tekshirishdan ortib qolgan material yoki biologik tajriba o'tkazilgan havonlar yo'q qilib tashlanganligi haqida dalolatnoma tuziladi.

Laboratoriyada oqsil kasalligiga tekshirish quyidagilarni o'z ichiga oladi: oqsil virusining antigenini topish va identifikatsiyalash (uning qaysi turga va variantga mansubligini aniqlash);

oqsil bilan kasallanib tuzalgan hayvonlar (rekonvalessentlar) qonida virusga qarshi antitelolarni radial immunodiffuziya reaksiyasi (RIDR) va bilvosita immunofluoressensiya reaksiyasi (BIFR) yordamida topish va titrlash.

Oqsil virusining antigenini KBR yordamida topish va identifikatsiyalash.

Reaksiyaning komponentlari: a) kasallangan hayvondan olingan, sinalayotgan virus antigenining epizootik shtammi;

b) oqsil virusining variantga va turga oid shtammdagi virusi bilan giperimmunlangan dengiz cho'chqachasining zardobi (biofabrikada ishlab chiqariladi);

c) nazoratdagi antigenlar oqsil virusining turga va variantga xos shtammi (biofabrikada ishlab chiqariladi);

d) kompliment - dengiz cho'chqachasining quritilgan yangi normal zardobi;

e) biofabrikada ishlab chiqilgan gemolizin;

f) fiziologik eritmadagi qo'chqorning 2% eritrotsitlari aralashmasining distillangan suvdagi toza osh tuzining 0,85% eritmasi;

g) vezikulyar jarohatlanish chaqiradigan boshqa viruslarga, spetsifik zardoblar va antigenlar to'plami.

KBR ni har xil hajmda qo'yish mumkin:

umumiy hajm 1 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,2 ml hajmda olinadi; 0,5 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,1 ml yoki mikro usulda - umumiy hajm 0,125 ml bo'lsa - har qaysi komponentdan 0,025 ml hajmda olinadi.

Oqsil antigenini tayyorlash. Kasal hayvondan olingan afta devori konservatsiyalovchi suyuqlikdan pH 7,4-7,6 bo'lgan fiziologik eritma yordamida tozalanadi, filtr qog'ozi bilan quritiladi, tarozida o'lchanadi, maydalangach mayda steril shisha qo'shilgan chinni havonchada bir xildagi massa hosil bo'lguncha yaxshilab aralashtiriladi. Aftaning massasiga nisbatan ikki barobar 1 g aftaga pH 7,4-7,6 2 ml fiziologik eritma qo'shiladi. Hosil bo'lgan 33% suspenziya xona haroratida 2 soat davomida qoldiriladi (ekstraksiyalanadi), -10,-20°C da 5-18 soat davomida muzlatiladi. Eritilgach 3-5 ming ail/daq. 30-15 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik 58°C da 40 daqiqa davomida aktivligi yo'qotiladi, agarda suyuqlik pag'a-pag'a holda bo'lsa uni qaytadan 10-15 daq. 3 ming ail/daq. sentrifugalanadi, so'ngra KBR uchun antigen sifatida ishlatiladi.

Gemolizinni tayyorlash. Gemolizinni yangi seriyasi olinganda titrlanadi. Titrlash umum qo'llaniladigan usul bo'yicha o'tkaziladi. Biofabrikalar tomonidan ishlab chiqarilgan gemolizin ayrim hollarda glitserin bilan 1:1 konservatsiyalangan bo'ladi, shuning uchun gemolizinning asosiy (1:1000) suyultirilganini tayyorlashda 0,2 ml gemolizin va 9,8 ml fiziologik eritma (1:100), so'ngra **shu** suyultirilgandan 1:1000 suyultirib tayyorlanadi: 1 ml (1:10) gemolizinga 9 ml fiziologik eritma qo'shiladi. Asosiy (1:1000) eritmada ko'rsatilgan sxema asosida navbatdagilari tayyorlanadi (18-jadval). Gemolizinning kerakli suyultirilgani olingach titrlash N19 sxemadagi jadval asosida o'tkaziladi. Gemolizinni titrlash uchun kerak: 1)eritrotsitlarning o'z-o'zidan gemolizlanishini mustosno qilish uchun nazorat qilish (0,5 ml 2% - eritrotsitlar suspenziyasi+2 ml fiziologik eritma); 2)eritrotsitlarning komplementsiz gemolizlanishini mustosno qilish uchun gemolizinni nazorat qilish (0,5 ml 1:1000 suyultirilgan gemolizin + 0,5 ml eritrotsitlarning 2%-suspensiyasi + 1,5 ml fiziologik eritma); 3) gemolizin ishtirokisiz, eritrotsitlarning gemolizlanishini mustasno qilish uchun komplementni nazorat qilish (0,5 ml 1:20 suyultirilgan komplement+0,5ml 2%-eritrotsitlar suspenziyasi+1,5ml fiziologik

eritma); 4) gemolitik sistemani nazorat qilish (0,5 ml 1:1000 suyultirilgan gemolizin+0,5 ml 2% - eritrotsitlar suspenziyasi+0,5 ml 1:20 suyultirilgan komplement+ 1,0 ml fiziologik eritma) . Titrlash natijasida gemolizinning eng so'nggi titri aniqlanadi. Demak komplement ishtirokida, eritrotsitlarda minimal gemoliz chaqirish qobiliyati.

Keltirilgan sxemada gemolizinning suyultirish soni 1:3000 olingan.

18-iadval. Suyultirilgan gemolizin tayyorlash sxemasi

Komponentlar, ml	Gemolizinni suyultirish							
	1:1500	1:2000	1:3000	1:4000	1:5000	1:6000	1:7000	1:8000
Gemolizin 1:1000	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fiziologik eritma	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0

19-jadval. Gemolizinni titrlash sxemasi.

Komponentlar, ml	Gemolizinni suyultirish							
	1:1000	1:1500	1:2000	1:3000	1:4000	1:5000	1:6000	1:7000
Gemolizin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fiziologik eritma (antigen o'rniga zardobalar)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1:20 suyultirilgan komplement	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2% eritrotsitlar suspenziyasi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
37° C	10 daqiqa suv hammomida saqlanadi							
Titrlanish natijashi		-	-	-	++	+++	++++	++++

Birinchi uch nazoratda gemoliz to'lasincha to'xtashi kerak, to'rtinchi nazoratda esa to'lasincha gemoliz. Asosiy tajriba uchun gemolizinning 4-karrali konsentratsiyasidan eng so'nggi titri olinadi (ishchi suyultirish);

Misol, gemolizinning eng so'nggi titri 1:3000, uning ishchi suyultirilgani 1:750.

Agarda u glitserin bilan (1:1) konservatsiyalangan bo'lsa, unda ishchi suyultirilishni tayyorlash uchun 2:750 olinadi yoki 0,2 ml yaxlit gemolizin va 74,8 ml fiziologik eritma olinadi.

Gemolitik sistemani tayyorlash (gemosistema).

Gemolizinning ishchi suyultirilgani teng miqdorda 2% li qo'chqor eritrotsitlari bilan aralashtiriladi. Gemosistemani ishlatishdan oldin

eritrotsitlarni sensibilizatsiyalanishi uchun termostatda 30 daqiqa tutib turiladi.

Qo'chqor eritrotsitlarining 2% suspenziyasini tayyorlash.

2 ml yuvilgan eritrotsitlarning cho'kmasiga 98 ml fiziologik eritma qo'shiladi.

Komplementni titrlash

Asosiy tajribani qo'yadigan kun gemolitik sistemada komplement ko'rsatilgan sxema bo'yicha titrlanadi(20-jadval).

Eng kam sondagi komplementning eritrotsitlarda to'lasincha gemoliz chaqirish komplementning titri hisoblanadi. Oqsil kasalligini turini aniqlashda 2,5% dan past bo'lmagan titrdagi komplementlardan foydalaniladi.

20-jadval.Komplementni titrlash sxemasi

Komponentlar, ml	Yaxshi komplementni saqlashi, %								
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
1:20 suyultirilgan komplement	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45
0,5 ml gacha yetishmaydigan fiziologik eritma	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05
Gemolitik sistema	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fiziologik eritma (antigen va zardob o'rnida)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
37-38°C	suv hammomida 15 daqiqa saqlanadi								
Titrlanish natijasi	++++	+++	++	+	-	-	-		

KBR ning asosiy tajribasini qo'yish uchun 1% ortiqcha komplement, yoki uning gemosistemadagi titridan 2 shartli birlik olinadi.

Misol, gemosistemada komplementning titri 2%, asosiy tajriba uchun 3% olinadi, ishchi miqdor tayyorlash uchun 3 ml yaxlit komplementga 97 ml fiziologik eritma qo'shiladi.

Suyultirilgan komplementni tayyorlash, uning aktivligini aniqlash va ishchi miqdorini hisoblash KBRga tayyorgarlik ko'rganda katta e'tiborni talab qiladi.

To'g'ri tanlangan komplementning ishchi miqdori reaksiyani normal kechish shartlaridan sanalib, natijaning aniqligini ta'minlaydi.

Komplementni ortiq bo'lishi spetsifik antigenni yoki antiteloni qisman topilishiga yoki to'lasincha yo'qolishiga sabab bo'ladi. Komplement yetishmagan holda spetsifik antigen va antitelo yo'qligi tufayli ham reaksiyaning gemolizlanishi to'xtaydi.

Zardobar. Oqsil virusining turini aniqlaganda pozitiv turga spetsifik oqsil zardobining ishchi titrdagisi ishlatiladi. Demak, zardobning eng so'ngi titri yorliqda 1:40 ga teng deb ko'rsatilgan bo'lsa, ishchi titri esa 1:20 ga teng.

Antigenlar. Turga oid oqsil antigenlarini (biofabrikalardagi spetsifik zardob chiqarganga o'xshash) ikkilangan titrdagisidan foydalaniladi.

Yorliqda 1:6 titr ko'rsatilgan bo'lsa, uning ikkilamchi titri 1:3 ga teng.

Sinalayotgan antigen sifatida (oqsil bilan kasallangan hayvonlar aftasining tarkibi va devori biologik tajriba qoygach, o'lgan sichqon va quyunchalarning gavdasi, patologik material); virus saqlovchi kultural suyuqlik ishlatiladi. (Antigen tayyorlash usuli: _ betga qarang).

Sinalayotgan antigen reaksiyalarda yaxlit (33% aralashma) 1:2, 1:4, 1:8 suyultirilgan holda ishlatiladi.

Mamlakatimizning chegaradosh zonalarida boshqa tipga oid oqsil kasalligining kirish xavfi bo'lsa (Sat-1, Sat-2, Sat-3 va Osiyo-1) asosiy tajribada tipini aniqlash va nazorat uchun oqsil virusining boshqa mamlakatda uchrovchi zardob va antigenlari qo'shiladi.

Oqsil kasalligini tipini aniqlash uchun asosiy tajribani qo'yish

Asosiy tajriba bilan birgalikda, spetsifik oqsil antigenlari va zardoblariga sxema bo'yicha nazorat qo'yiladi. Komponentlar quyidagi tartibda qo'yiladi (asosiy tajriba sxemasiga qaralsin 21-jadval):

1) har qaysi zardob uchun 0,2 ml dan ishchi titrdagi spetsifik zardob - vertikal bo'yicha bir qator probirkalar;

2) 0,2 ml dan ishchi titrdagi spetsifik antigenlar, gorizontal bo'yicha yetti qator, har qaysi antigenga bir qator;

3) har qaysi suyultirilganiga 0,2 ml sinalayotgan antigen, bir qator probirkalar, gorizontal bo'yicha;

4) 0,2 ml dan fiziologik eritma, oxirgi gorizontal qator bo'yicha (zardobni nazorati) antigen o'rnida va vertikal bo'yicha so'ngi qator (antigenlarni nazorati) zardob o'rnida;

5) 0,2 ml dan ishchi suyultirilgan komplement - asosiy tajribaning barcha probirkalariga.

Probirkalar sekingina chayqatiladi va 20 daqiqaga 37-38°C suv hammomiga joylashtiriladi;

6) barcha probirkalarga 0,4 ml gemolitik sistemadan quyib chiqiladi. Probirkalar yana chayqatilgach, 37-38°C suv hammomiga 30 daqiqa joylashtiriladi.

Suv hammomida 5-10 daqiqa o'tgach reaksiya natijalari hisoblanadi va 10-12 soat o'tgach eng so'ngi natija olinadi.

Gemolizni to'xtatish darajasi krestlar bilan baholanadi:

(+++++) - 100% gemolizni to'xtashi; (++++) - 75% gemolizni to'xtashi; (++) - 50% gemolizni to'xtashi; (+) - 25% gemolizni to'xtashi; (-) - to'lasincha gemoliz.

Agar sinalayotgan antigen spetsifik antitelog gomologik bo'lsa u holda gemolizlanish to'xtaydi va reaksiya musbat sanaladi; agarda gomologik antigen bo'lmasa to'lasincha gemoliz kuzatilib reaksiya manfiy hisoblanadi.

21-jadval.Oqsil virusining tipini aniqlashda asosiy tajribaning sxemasi

Antigenlar	Antigen - larning ishchi titri	Zardoblar							Antigenlarni nazorat qilish
		Atitr 1:30	0 Titr 1:40	C Titr 1:20	Osiyo- 1 Titr 1:30	Sat-1 Titr 1:30	Sat-2 Titr 1:20	Sat-3 Titr 1:30	
		Zardoblarning ishchi titri							
		1:15	1:20	1:10	1:15	1:15	1:10	1:15	
A, titr 1:4	1:2	++++	-	-	-	-	-	-	-
0, titr 1:6	1:3	-	++++	-	-	-	-	-	-
C, titr 1:8	1:4	-	-	++++	-	-	-	-	-
Osiyo-1, titr 1:8	1:4	-	-	-	++++	-	-	-	-
Sat-1, titr 1:8	1:4	-	-	-	-	++++	-	-	-
Sat-2, titr 1:6	1:3	-	-	-	-	-	++++-	-	-
Sat-3, titr 1:4	1:2	-	-	-	-	-	-	++++	-
	S	++++	-	-	-	-	-	-	-
Sinalayot- gan antigen	1:2	+++	-	-	-	-	-	-	
	1:4	++	-	-	-	-	-	-	-
	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
Zardoblar- ni nazorat qilish		-	-	-	-	-	-	-	-

Eslatma: Natijalarga qaraganda barcha antigen va zardoblar aktiv va tipga spetsifik. Sinalayotgan antigen A-tipga mansub. Zarurat yuzasidan ishlab chiqarishda oqsil virusini qaysi tipga mansubligi aniqlangach, so'ngra varianti aniqlanadi. Buning uchun xuddi shunday usulda KBR qo'yilib, tegishli aniqlangan variantdagi zardob va antigenlardan foydalaniladi.

Lekin variant zardoblarining eng so'ngi titrdagisi, antigeni ikkilangan titrdagisi ishlatiladi.

Tekshirilayotgan antigen yuqori suyultirilganda ham zardob bilan musbat reaksiya bersa, o'sha variantga tegishli ekanligini bildiradi (22-jadval).

22-jadval. KBR da oqsil virusining epizootik shtammi qaysi variantga mansubligini aniqlashning taxminiy natijasi.

Variantdagi antigenlar	Antigen-larni suyultirish	Variantga oid eng so'nggi titrdagi zardoblar				Antigen-larni nazorat qilish
		A_{ST}	A_7	A_{20}	A_{22}	
A_{ST} , titr 1:4	1:2	++++	-	-	-	-
A_7 , titr 1:8	1:4	-	++++	-	-	-
A_{20} , titr 1:6	1:3	-	-	++++	-	-
A_{22} , titr 1:8	1:4	-	-	-	++++	-
Sinalayotgan antigen (epizootik)	S	++++	++++	++++	++++	—
	1:2	++++	++++	++++	++++	—
	1:4	+++	++++	++++	++++	—
	1:8	++	+	+	++++	—
	1:16	+	+	+	+++++	—
	1:32	-	-	-	+++	—
Zardobni nazorat qilish		-	-	-	-	—

Xulosa. Sinalayotgan shtamm A_{22} variantga mansub.

Xo'jalikdan yuborilgan virus materialining miqdori KBR uchun yetarli bo'lmasa u holda o'stirilgan hujayralarda yoki 3-6 kunlik sut emuvchi sichqonlarda yoki k'atta yoshdagi dengiz cho'chqachalarida ko'paytiriladi. Tekshirilayotgan suspenziya sichqonlar terisining ostiga, yelka qismiga 0,1-0,2 ml, dengiz cho'chqachalarining terisining ichiga va

keyingi ikki oyoqlarining yostiqchalariga 0,2-0,5 ml miqdorda yuboriladi. Hayvonlar 5-7 kun davomida kuzatiladi.

Sichqonlar o'lgach, uning tanasidan KBR uchun antigen tayyorlanadi. Dengiz cho'chqachalarining oyoqchalarida musbat natijada aftalar paydo bo'ladi; o'sha afta devorlari va uning tarkibi KBR uchun ishlatiladi. Zarurat paydo bo'lganda 2-3 "ko'r" passaj o'tkaziladi.

Uchinchi passajda hujayralarda degeneratsiya bo'lmasdan yoki sichqonlar o'lmasa, ulardan olingan suspenziyalarda oqsil virusining antigeni KBR da topilmaydi va tekshirilayotgan suspenziya namunasi manfiy hisoblanadi.

Oqsil kasalligining retrospektiv diagnozi

Oqsil virusiga tegishli antiteloni topishda tekshiriladigan material bo'lib oqsil kasalligi bilan kasallangan yoki boshqa vezikulyar kasalliklarga gumonsiralgan hayvonlardan olingan qon zardobi kerak bo'ladi. Hayvonlarda vezikulyar kasallikning belgilari paydo bo'lgach 7-kundan so'ng qon zardobi olinadi. Har qaysi guruhdagi katta yoshli hayvonlardan 5-10 namuna tekshirish uchun yuboriladi. Birinchi tekshirishda noaniq natijalar olingan holda, xuddi shu hayvonlardan 7-10 kun o'tgach qaytadan qon olinadi. Zardob umumiy usul bilan konservatsiyalanadi (penitsillin va streptomitsin 500 birlik/ml) yoki -20°C da muzlatiladi. Har bir hayvondan tekshirish uchun kamida 5 ml zardob olinib, muz solingan termosda yuboriladi.

Laboratoriyalarda zardobni radial immunodiffuziya reaksiyasi (RIDR) va bilvosita immunofluoressensiya (BIFR) reaksiyalari yordamida tekshiriladi.

RIDR. Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki agar gelining tarkibida virus antigenlari, antitelolar bilan qo'shilishi natijasida spetsifik pretsipitatsiya chizig'ini hosil qiladi. RIDR - turga spetsifik hisoblanadi.

Reaksiyani bajarish uchun (2% li) eritilgan agarga 1:5, 1:10, 1:20 sh.k.to 1:320 suyultirilib (50-55°C gacha) qizdirilgan teng hajmda sinalayotgan zardob aralashtiriladi va 4 ml dan buyum oynasiga quyiladi.

Qotgan agarda diametri 4-7,7 mm bo'lgan chuqurcha o'yiladi, chuqurchalar turga oid etalon antigenlar bilan to'ldiriladi. So'ngra buyum oynasi harorati 37°C bo'lgan nam kameraga joylashtiriladi. Reaksiya natijalarini 6-7 soat va 18 soat o'tgach hisobga olinadi.

Musbat reaksiyada antigen quyilgan chuqurcha atrofida kasallik chaqiruvchi gomologik qo'zg'atuvchiga nisbatan opalessensiyalanuvchi pretsipitatsiya halqasi hosil bo'ladi.

Hayvonlar kasallanib tuzalgach antiteloning titri 1:160 dan ortiqcha bo'ladi.

BIFR. Bu reaksiya kasallanib tuzalgan hayvonlarning qon zardobida bo'lgan antitelo spetsifik nur sochishiga (antigen+antitelo kompleksi) asoslangan bo'lib vaksinatsiya qilingan hayvonlarning qon zardobi kompleksida nur sochish kuzatilmaydi.

Reaksiyani qo'yish tartibi quyidagicha.

Oqsil virusining har qanday turi bilan zararlantirilgan VNK-21, SHB, ChHB o'stirilgan hujayraga 1:10 va 1:20 suyultirilgan sinalayotgan zardob quyiladi, 30 daqiqa 37°C nam kamerada inkubatsiyalanadi, bog'lanmagan antitelo yuviladi, havoda quritiladi rodamin bilan belgilangan fluoressensiyalanuvchi turga qarshi zardobning ishchi suyultirilgan aralashmasi bilan bo'yaladi. So'ngra 37°C 30 daqiqa nam kamerada inkubatsiyalanadi, quritiladi, lyuminessent mikroskopi ostida kuzatiladi (ob'ektiv x 40, okulyar x 4 yoki 5).

Musbat reaksiyada hujayra sitoplazmasi yashil yoki och yashil nur sochadi. Reaksiya tegishli nazorat bilan kuzatiladi. Xo'jalikdan yuborilgan 5-10 zardobda hatto bir dona spetsifik nur sochish topilsa, diagnoz natijasi musbat hisoblanadi. Shunday qilib sinalayotgan zardob tarkibida topilgan antiteloning darajasini aniqlash uchun titrlanadi. Buning uchun sinalayotgan zardob 1:40 dan 1:1280 gacha suyultiriladi. Yuqorida ko'rsatilganidek oldindan infeksiya yuqtirilgan preparatga suyultirilganning har qaysisi bilan ishlov berildi.

Infeksiyadan keyin hosil bo'lgan antiteloni titrini aniqlash uchun BIFR da musbat natija bergan so'ngi suyultirishga qaraladi.

1:10, 1:20, 1:40 suyultirilgan zardoblar bilan ishlov berilgan preparatlarning nur sochishi, oqsil kasalligi o'tkir kechayotgan paytda olinganligidan ya'ni kasallikdan 7 kun o'tgach, 1:80 suyultirilgani va undan yuqorisi esa rekonvalessent hayvondan olingan zardob ekanligini bildiradi.

Oqsil kasalligida tekshiruv natijalari bo'yicha protokol rasmiylashtiriladi va unda tekshirish o'tkazilgan kun, xo'jalikning nomi, materialning turi, qisqacha epizootologik ma'lumot va tekshirishda foydalanilgan komponentlarning nomi, nazorat qilish yo'li ta'riflanadi.

Topshiriq

1. Laboratoriyada oqsil kasalligiga diagnoz qo'yish usullari bilan talabalarni tanishtirish.

2. Oqsil kasalligiga gumonsiralgan hayvondan olingan patologik materialdan (gultoj terisidan bir bo'lak), KBR uchun antigen tayyorlash.

3.Oqsil virusining qaysi turga oidligini aniqlash uchun KBRning asosiy tajribasini qo'yish.

4.Reaksiya natijalarini hisoblash va yakunlash.

Material bilan ta'minlash:

Tekshirilayotgan patologik material (50% glitserin eritmasi solingan flakonda terining gultoj qismidan bir bo'lak); standart turga oid antigenlar (A, O, C turlari); standart (A, O, C turlarga) oid zardoblar; gemolizin; komplement; qo'chqor eritrotsitlarining 2% aralashmasi; izotonik eritma - 0,85% li NaCl eritmasi; shtativlar; probirkalar; 1,2 va 5 ml pipetkalar; suv hammomi; mavzuga oid jadvallar; dezinfektsiyalovchi eritma solingan idish (2% - NaOH eritmasi); forfordan yasalgan steril havoncha; maydalangan steril shisha; kyuvetalar; Petri kosachasi; 10x10 filtrlovchi qog'oz; pinsetlar; qaychilar.

Mashg'ulotning rejasi (6 soat) I.-mashg'ulot.

1.Nazorat uchun savollar.

2.O'qituvchining tushuntirishi.

3.Oqsil kasalligiga diagnoz qo'yish uchun biologik sanoat tomonidan ishlab chiqilgan diagnostik to'plamlarni ko'rsatish.

4.Talabalarning mustaqil ishlashi. KBR uchun patologik materialdan antigen tayyorlash.

II va III mashg'ulot.

1.O'qituvchining tushuntirishi: a)KBR ning mohiyati va uning virus kasalliklariga diagnoz qo'yishdagi ahamiyati; b) oqsil virusini turini aniqlashda KBR qo'yish usuli.

2.Komplementni va gemolitik sistemani titrlashni namoyish qilish va hisoblash.

3.Talabalarning mustaqil ishlashi: KBR ning asosiy tajribasini qo'yish.

4.O'qituvchining tushuntirishi (KBR ning bosqichlari oralig'idagi davr): a) oqsil virusining qaysi variantga mansubligini aniqlash usuli; b)oqsil kasalligining retrospektiv diagnozi.

5.O'qituvchi yordamida talabalarning mustaqil ishlashi: KBR natijalarini hisob kitob qilish.

6.Mashg'ulotni yakunlash.

7.Navbatdagi mashg'ulot uchun topshiriq berish.

Nazorat uchun savollar.

1.Oqsil virusining qanday asosiy xususiyatlarini bilasiz?

2.Oqsil virusini saqlovchi material bilan ishlash qoidalarini so'zlab bering.

3.Oqsil virusi chaqirgan kasallikni epizootologik xususiyati, simptomi qanday?

4. Laboratoriyada oqsil kasalligiga diagnoz qo'yishning qanday usullarini bilasiz?

Uslubiy ko'rsatma.

Ushbu mashg'ulot 6 soatga mo'ljallangan. Vaqtni quyidagicha taqsimlash mumkin. Birinchi 2 soatda o'qituvchi tushuntirishi, namoyish qilib ko'rsatish(rejaga qarang) va talabalarning mustaqil ishlashi - KBR uchun antigen tayyorlash. Patologik material o'rnida o'lgan hayvonlardan olingan bir parcha teri yoki o'stirilgan hujayra bo'limidan olingan sigir homilasi.

To'qimalar 2-3 g penitsillin flakonlariga joylanib ustiga 50% li glitserin eritmasi quyiladi va sovutuvchi aralashma solingan termosga joylanadi.

Navbatdagi 4 soatda - o'qituvchining tushuntirishi, namoyish (rejaga qarang) va talabalarning mustaqil ishlashi - KBR ning asosiy tajribasini qo'yish.

Bunday vaqtda o'quv guruhini 4-5 kishilik kichik guruhchalarga bo'lish maqsadga muvofiq bo'lib har qaysi kichik guruhchalar ham KBR qo'yishi kerak.

Talabalar o'qituvchidan, sinalayotgan antigendan tashqari KBR ning barcha komponentlarini ishchi suyultirilgan holda oladi va KBR da tekshirib ko'radi.

KBR uchun biologik sanoat tomonidan ishlab chiqarilgan diagnostikumlar to'plamidan foydalanib, barcha komponentlardagi suyultirish ishlarini o'qituvchi oldindan bajarib qo'yadi va KBR tekshirib ko'radi.

Talabalar bilan KBR natijalarini hisoblab har bir kichik guruhchalarda muhokama qilinadi.

Komponentlarni tejash maqsadida talabalar uchun standart zardob va antigenlarning ikki karrali bo'lmagan suyultirilganlari tayyorlanadi.

Bulardan tashqari tekshirilayotgan materialni A, O va C turlarga oid zardoblar bilan tekshirish to'lasincha yetarli hisoblanadi.

Namoyish qilish uchun RIDR va BIFR da tayyorlangan diagnostik to'plamdagi komponentlar ishlatiladi yoki ushbu reaksiyalar samarali natija berishi uchun boshqa viruslardan ham foydalaniladi.

5-MAVZU

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yish.

Oilasi.Myxoviridae. Avlodi.Paromyxovirus

Kriptogrammasi. R/1:6-8/1:S/E:V/O.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligi - asosan buzoqlarning o'tkir kechuvchi yuqumli virus kasalligi bo'lib, nafas olish a'zolarining jarohatlanishi bilan ta'riflanadi. Kasallikning qo'zg'atuvchisi RNK - saqlovchi Paramyxoviridae oilasiga mansub virus.

Paragripp viruslarining antigenli tarkibi har xil. Ular inson va hayvonlarga yuquvchi to'rt serologik turga bo'linadi. Yirik shoxli hayvonlarda kasallik chaqiruvchi virus uchinchi serotipga mansub, shuning uchun yirik shoxli hayvonlarning paragripp - 3 (Pg-3) virusi deb nomlanadi.

Tekshirilgan yirik shoxli hayvonlarning qonida 95% Pg-3 virusiga qarshi antiteloning topilishi kasallikning keng tarqalganligini isbotlaydi.

Pg-3 kasalligining klinikasi odatda organizmga stress-faktorlarning ta'siri natijasida yuzaga keladi, ularga esa transportda hayvonlarni tashish, yaxshi shamollatilmagan xonalarda hayvonlarni ko'plab saqlash va boshqalar kiradi.

Paragripp kasalligining buzoqlardagi o'ziga xos klinik belgilari: tana haroratining 40-41,5°C ko'tarilishi, keskin quruq yo'tal, nafas olishning tezlashishi, lanjlik, ishtahasining pasayishi, burundan dastlab shilliq, so'ngra shilimshiq - yiringli suyuqlik oqishi, o'pka va bronxlarda yallig'lanish belgilari paydo bo'ladi. Kasallik 7-12 kun davom etadi.

Kasallikning kechishiga ko'pgina faktorlar ta'sir ko'rsatadi. Stress ta'sirlar, shartli patogen mikroorganizmlar kasallikni kechishini og'irlashtiradi.

Katta yoshdagi hayvonlar va buzoqlarda onasidan olgan antitelolarga qaraganda kasallikning alomatsiz kechishi ustun keladi.

O'lgan hayvonlar yorib ko'rilganda, nafas olish yo'llarida va o'pkaning bosh qismida kataral yallig'lanish belgilari kuzatiladi. Shuning bilan bir qatorda o'pkaning qo'shimcha bo'laklarining cho'qqisida, yurak va qo'shimcha bo'limlarida kulrang - qizil rangli qotgan o'choqlar ko'rinadi. Tamoq orti, bo'yin va limfa tugunlari kattalashgan va nekrozga uchragan qismlari bo'ladi.

Paragripp kasalligiga taxminiy diagnoz, stress faktorlarga, epizootologik holatga, kasallikning klinik alomatlariga va patologoanatomik o'zgarishlarga asoslanib qo'yiladi.

Laboratoriya tekshiruvlarining natijasi esa taxminiy qo'yilgan diagnozni tasdiqlaydi.

Paragripp kasalligining laboratoriya diagnozi:

a) immunofluoressent reaksiyasi yordamida patologoanatomik material tarkibidagi spetsifik antigenni indikatsiyalash;

b) viruslarni ajratib ularni gemadsorbsiyani to'xtatish yoki gemagglutinatsiyani to'xtatish reaksiyalari yordamida farqlash;

c) retrospektiv diagnostika yordamida Pg-3 virusining spetsifik antigeniga nisbatan olingan juft zardoblardagi antitelolar titrining o'sishini aniqlash yo'li bilan.

Patologik material olish va tekshirish uchun tayyorlash.

Laboratoriyaga tekshirish uchun patologik material, kasal hayvonlardan kasallikning belgilari maksimal darajaga ko'tarilgan payti (ko'pincha kasallikning 1-7 kunlari) o'lganlardan esa 1-2 soatdan kechiktirmasdan olinib yuboriladi. Virusning burun shilliq suyuqligi orqali chiqarilishini nazarda tutib, surtma va tamg'achalar burun shilliq pardasidan yoki to'g'ridan-to'g'ri (paralon tamponga shimitilgani) suyuqligidan tayyorlanadi. Bu material IFR yordamida virusni topish uchun ishlatiladi. Bulardan tashqari, kasal hayvonlardan juft zardoblar olish maqsadida qon ham olinadi.

O'lgan yoki majburiy o'ldirilgan hayvonlardan burun to'siqlari, kekirdak, o'pka, buyrak va regionar limfa tugunlaridan bo'lakchalar va ich ketish hollari kuzatilsa ingichka ichak bo'limlaridan bo'lakchalar olinadi.

Patologik material solingan flakonlar muzi bor termosga joylashtirilib laboratoriyaga yuboriladi.

Laboratoriyada tamponi bor flakonlar 2-3 daqiqa chayqaladi, tampon siqilgach esa olib tashlanadi, flakondagi suyuqlik 2000 ayl/daqiqada 10 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma usti suyuqligi steril probirkaga olinadi, unga 500 birlik / ml penitsillin va 500 mkg / ml streptomitsin eritmaları quyiladi, 4°C da 2-4 soat ushlanadi va o'stirilgan hujayralar zararsizlantirilib virusni ajratish uchun ishlatiladi.

Shilliq qatlam tarkibida hujayralarni saqlovchi cho'kmalardan esa immunofluoressent usulida tekshirish uchun surtmalar tayyorlanadi.

O'lgan hayvonlarning hafas olish yo'llaridan shilliq pardalaridan qirib olingan materialdan avval surtma tayyorlanadi, so'ngra termolizis (muzlatish va eritish) yo'li bilan hujayradagi virusni fiziologik eritmaga chiqishi ta'minlanadi.

Olingan aralashma tamponlar uchun qo'llanadigan usul bilan ishlov berilib virusni ajratish uchun ishlatiladi. O'pkadan va limfa tugunlaridan tamg'alar tayyorlanadi. Shuningdek organlarning bo'lakchalaridan 10-20% suspenziya tayyorlanib ulardan qo'zg'atuvchini ajratish uchun foydalanamiz.

Patologik materialdagi paragrippozli antigenni immunofluoressent usuli bilan indikatsiyalash

Paragrippoz virusi hujayraning tashqi qismida yetishadi va undan juda sekinlik bilan ajraladi, shuning uchun yallig'lanish jarayonidagi uzilgan epiteliy hujayralarida, burun yo'llarida va kasal hayvonlarning og'iz, burun-tomoq yo'llarida spetsifik virus antigeni va yetilgan virus virionlari topiladi.

Yuqori nafas olish yo'llaridagi uzilgan epiteliy hujayradagi virusni ulardan tayyorlangan surtma-tamg'alarda immunofluoressent usuli bilan topiladi.

Tayyorlangan pereparatlar havoda quritiladi, 5 daqiqa atsetonda fiksatsiyalanadi va biologik sanoat tomonidan chiqarilgan diagnostik to'plamlardagi nurlanuvchi zardoblar bilan bo'yaladi.

Har qaysi zardob bilan har-xil organdan tayyorlangan 4 tadan preparat bo'yaladi. Nurlanuvchi zardob tomilizishidan oldin virusga muvofiq zardob tomizilib undagi nurlanish bostirilgan preparatlardan nazorat sifatida foydalaniladi. Preparatda paragripp virus antigeni bo'lsa har-xil kattalikdagi ravshan yashil-sariq donalardek hujayra sitoplazmasida nur sochadi.

Mikroskopda ko'rinadigan 3 maydonda 3-5 tagacha nur sochuvchi hujayralar kuzatilsa virus topilgan deb xulosa qilinadi.

Odatda bir hayvondan tayyorlangan preparatlarni yarmini paragrippozli zardoblar bilan, yarmini esa paragripp virusidek, yirik shoxli hayvonlarda ichak-respirator belgilarini chaqiruvchi viruslarga qarshi fluoro'xromlar bilan belgilangan zardoblar yordamida bo'yaladi.

Paragripp virusini ajratish

Virusni ajratish uchun material bo'lib, shilliq qatlamlar yuvindisi va hayvonlarning a'zolaridan tayyorlangan suspenziyalar hisoblanadi.

Namuna uchun olingan to'qimadan suspenziya tayyorlashdan oldin bir marta muzlatilib so'ngra eritish natijasida virusning ajralish samaradorligi oshadi.

Materialni uzoq saqlaganda va ko'plab muzlatib, eritish jarayonlarida uning chidamsiz bo'lganligi sababli virusni ajratish keskin pasayadi.

Parragripp virusini tovuq homilalarining allantois bo'shlig'iga yuqtirish yo'li bilan ajratish mumkin.

Ko'paygan virus gemagglyutinatsiya reaksiyasi yordamida va yuqtirilgan tovuq homilalarining ekstraembrional suyuqliklari bilan sezuvchan o'stirilgan hujayralarga yuqtirgan vaqtda topiladi.

Yirik shoxli hayvonlarning parragripp-3 virusini ajratishda sigir homilasi buyragidan va yangi tug'ilgan buzoq buyragidan tayyorlangan birlamchi-tripsinlanib o'stirilgan hujayralar ayniqsa kerakli.

Yuqtirishdan oldin o'stirilgan hujayra qavati 3 marta Xenks eritmasi bilan chayilib zardoblardan tozalanadi.

So'ngra yuqtiruvchi materialni 0,2 ml har bir probirkadagi o'stirilgan hujayralarga yuqtiriladi va 37°C da termostatda 60-90 daqiqa ushlanadi. Hujayralar yuzasiga virus adsorbsiyalangandan so'ng, virus saqlovchi suspenziya to'kiladi va zararlangan hujayralarga zardobsiz 199 virusiga qarshi antitelosi yoki buzoq qon zardobi qo'shilgan 0,5% gidrolizatlaktal'bumin eritmasi quyiladi.

(O'stirilgan hujayralarga yuqtirilgach 37°C 7-14 kun inkubatsiyalanadi. Virusning sitopatik ta'sirini aniqlash maqsadida probirkalar har kuni mikroskop ostida kuzatiladi va gemadsorbsiya reaksiyasi qo'yiladi.

Paragripp-3 virusining hamma shtammlari hujayralarning o'choqli dumoloqlanishini, yuqtirilgan hujayralarning donali buzilishi kuzatiladi.

Simplastlar bir qancha hujayra sitoplazmalarining bir-biriga qo'shilib ketishi natijasida hosil bo'ladi.

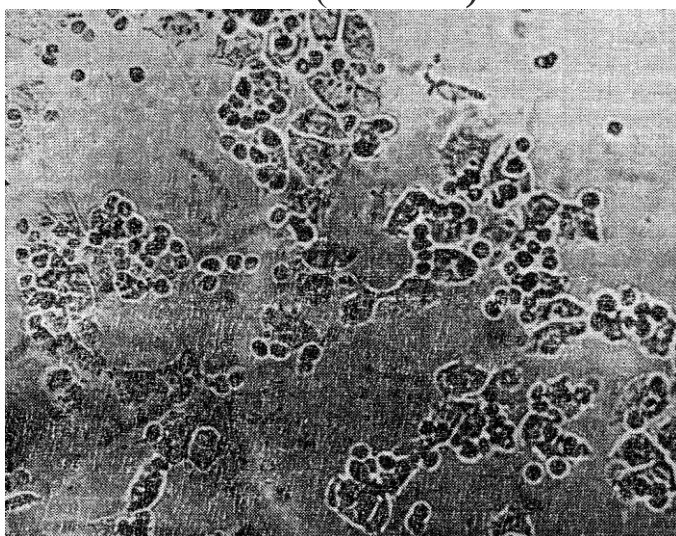
Yuqtirgach 24-72 soatdan so'ng sitologik tekshiruvlar olib borilib, hujayra sitoplazmasida eozinofilli kiritma-tanachalarni ko'rish mumkin.

Birinchi passajda virusning SPT kuzatilsa, uchta ketma-ket passaj o'tkaziladi. Har qaysi passajdan so'ng dengiz cho'chqachasi eritrotsitlari yordamida gemadsorbsiya reaksiyasida tekshirilib turiladi. Paragripp virusining o'stirilgan hujayralarda to'planishini aks ettirish ularni tekshiriladigan 1-7 kunlardan so'ng ya'ni sitopatik ta'sirlar ko'rinishidan avval gemadsorbsiya testi yordamida bajariladi. SPT yuz bermagan virusning birinchi passajida, virusni o'stirilgan hujayrada indikatsiyalashning asosiy usuli gemadsorbsiya hisoblanadi.

Gemadsorbsiya reaksiyasi o'stirilgan hujayralari bor probirkalarda ularni tekshiriladigan material bilan yuqtirilgandan 3-7 kundan so'ng qo'yish mumkin.

Probirkalarga dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 0,5% aralashmasi 0,2 ml tomiziladi. Probirkalar hujayra qavatini pastga qaratilgan gorizontol holatda xona haroratida 10-15 daqiqa ushlanadi, hujayralarga adsorbsiyalanmagan eritrotsitlarni ajratish maqsadida sekin chayqaladi, so'ngra eritrotsitlar aralashmasi quyib olinadi va mikroskop ostida kuzatiladi.

Materialda paragripp virusi bo'lsa gemadsorbsiya natijasi musbat: ya'ni virus bilan zararlangan hujayralar yuzasiga qalin yopishgan harakatsiz eritrotsitlarni ko'ramiz (82-rasm).



82-rasm. Yirik shoxli hayvonlarning pg-3 virus yuqtirilgan MDVK, chirmashib o'suvchi hujayradagi gemadsorbsiya.

Paragrippozli virus uchun gemadsorbsiya reaksiyasining diffuzli turi xarakterli.

Virus yuqtirilmagan hujayralarni kuzatganda eritrotsitlar kuzatuv maydonida sekin suzadi yoki umuman ko'rinmaydi. O'stirilgan hujayralardagi yuqtirilgan virusni topish uchun gemadsorbsiya reaksiyasi ishlatilganda sterillangan eritmalar va steril olingan eritrotsitlar qo'llanilsa va manfiy natija olinsa, yuqtirilgan hujayralarga oziqa muhiti qo'shilib o'stirishni yana davom etkazish mumkin.

Gemadsorbsiya yuz bermagan taqdirda va sitopatik ta'sir kuzatilmasa, birinchi passaj "ko'r" passaj hisoblanib, kelgusidagi passajlar davom etkaziladi. Buning uchun ikkinchi passajni o'tkazishda birinchi passajning o'stiruvchi suyuqligi yuqtiruvchi material hisoblanadi

va undagi hujayra detritlarining muzlatilgani va qayta eritilgani ishlatiladi.

Beshinchi passajdagi o'stirilgan hujayralarda ham manfiy gemadsorbsiya natijasi qayd qilinsa tekshirish natijasi ham manfiy hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp virusini identifikatsiyalash.

SPT ga yoki gemadsorbsiya natijasiga qarab topilgan virus paragrippoz virusi ekanligiga to'la ishonch hosil qilish uchun biofabrikada chiqariladigan diagnostik to'plamdagi pg-3 virusiga qarshi spetsifik zardob bilan gemadsorbsiyani to'xtatish yoki gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyalari qo'yiladi.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 kasalligiga diagnoz qo'yish uchun quritilgan diagnostikum to'plamlari ampulalarga solingan va liofilizatsiya yo'li bilan quritilgan:

a)GATR uchun pg-3 antigen; b)GATR va GADTR uchun pg-3 virusiga qarshi spetsifik zardoblar; c)immunofluoressensiya reaksiyasi uchun nurlanuvchi zardoblar; d)GATR va GADTR uchun (manfiy) nazorat zardoblari.

Ishlatishdan oldin barcha ampulalar ochilib, qo'llash uchun tavsiyanomada ko'rsatilgandagidek zardoblar suyultiriladi.

Gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi.

GADTR - yirik shoxli hayvonlarning paragripp virusini farqlash quyidagicha bajariladi. Oxirgi passajda musbat gemadsorbsiya natijasini beruvchi virus saqlovchi materialning 0,2 ml miqdori bilan 15 ta probirkadagi o'stirilgan hujayra zararlantiriladi.

Reaksiya natijasini tez olish maqsadida o'sha birinchi bor gemadsorbsiya bergan passaj bilan zararlantirilgan probirkadagi o'stirilgan hujayralarda reaksiya qo'yiladi.

37°C da 1 soat mobaynida yuborilgan virus adsorbsiyalangandan so'ng 1 ml 199 quvvatlovchi muhit qo'shiladi va 37°C termostatda inkubatsiyalanadi. 3-7 kundan so'ng probirkalardan oziqa muhitlari to'kiladi, hujayralar Xenks eritmasi bilan yuviladi va probirkalarga pg-3 virusiga spetsifik giperimmunos zardoblardan (1:10 suyultirilganidan) 0,5 ml quyiladi.

Nazoratdagi 3 ta probirkaga 0,8 ml Xenks eritmasi quyiladi. Hujayra va antitelolarni qo'shilishi uchun probirkalar gorizontal holatda 30 daqiqa xona haroratida qoldiriladi. So'ngra barcha probirkalarga 0,2 ml 0,5% dengiz cho'chqachasining eritrotsit suspenziyasi quyiladi. 22°C

30 daqiqali ekspozitsiyasidan so'ng gemadsorbsiya reaksiyasining natijasi o'qiladi. Spetsifik zardob tomonidan neytrallangan virus qo'shilgan probirkalarda gemadsorbsiya yuz bermaydi.

Gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi.

Paragripp virusini farqlash pleksiglas paneli chuqurchalarida bajariladi. Dastlab virus, 1% dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining suspenziyasi bilan xona haroratida bajarilgan GAR yordamida titrlanadi.

Titrlash natijasi 60-90 daqiqadan so'ng nazorat probirkalaridagi eritrotsitlar to'lasincha cho'kgandan so'ng o'qiladi. Paragrippozli virus odatda past gemaglyutinatsiyalovchi titrga ega (1:8-1:64). Titrlangan virusdan uning ishchi suyultirilgani 4GAB tayyorlanadi va GAR nazorat qilinadi.

Reaksiyaning asosiy tajribasini qo'yish uchun bir qatorda 0,2 ml hajmda spetsifik zardobning ampula yorlig'ida ko'rsatilgan titrning oxirgi suyultirilgan darajasidan ikki karrali suyultirilgan darajalari, ikkinchi qatorda esa shu hajmda manfiy zardob suyultiriladi. Ikkala qatordagi har qaysi chuqurchalarga 0,2 ml virusning ishchi suyultirilganidan quyiladi. Bir vaqtda eritrotsitlarga nazorat qo'yiladi (0,2 ml eritrotsitlar va 0,4 ml fiziologik eritma). Panellar chayqatilib 60-90 daqiqali zardob va virus kontaktidan so'ng, barcha chuqurchalarga 0,2 ml 1% eritrotsitlar aralashmasi qo'shiladi.

Reaksiyaning natijasi 60-90 daqiqadan so'ng hisoblanadi. Agar spetsifik zardob virusning gemagglyutinatsiyalovchi aktivligini to'xtata olsa virusni farqlash jarayoni yakunlangan hisoblanadi.

Yirik shoxli hayvonlarda paragripp kasalligining retrospektiv diagnostikasi.

Bu kasallikni serologik diagnostikasidan kasallikdan tuzalgan hayvonlardan va kasallikning boshlanishida 4-5 kundan kechiktirmasdan olingan juft zardoblarni tekshirib, antitelo titrining o'sishi aniqlanadi.

Birinchi olingan zardob bilan ikkinchi olingan zardob orasidagi oraliq 2-3 hafta bo'lishi kerak.

Birinchi olingan zardob muzlatilib qo'yiladi va uni ikkinchi zardob bilan bir vaqtda 3 kun ichida tekshiriladi. Spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan tozalash uchun zardoblar 56°C 30 daqiqa davomida qizdiriladi.

Zardoblar gemagglyutinatsiyani to'xtatish yoki neytrallash reaksiyalari yordamida tekshiriladi. Reaksiyalarda diagnostik to'plamlardan olingan antigenlar ishlatiladi, ular virulentli bo'lmagan va 256 GAB titrga ega bo'lgan paragripp-3 kasalligining o'stirilgan viruslaridan iborat. Virusni identifikatsiyalashda qo'yilgan kabi gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi bajariladi.

Virusning gemagglyutinatsiyalash qobiliyatini to'liq to'xtata oladigan zardobning eng yuqori suyultirilgan darajasi, antiteloning titri hisoblanadi.

Birinchi zardobga qaraganda ikkinchi zardobda antitelo titrining to'rt karra o'sishi organizmda yuqumli jarayonning aktivligidan dalolat beradi va o'sha jarayonni chaqirgan paragripp virusiga qarshi organizmda antitelo ishlab chiqiladi.

Topshiriq

O'stirilgan hujayralarda pg-3 virusini indikatsiyalash va gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi yordamida farqlash.

Material bilan ta'minlash:

mikroskoplar; yoritgichlar; mikroskopda probirkani kuzatish uchun moslama; fiziologik eritma; pg-3 virusiga mos spetsifik zardob; pipetkalar; dezinfeksiyalovchi suyuqlik solingan stakan; probirkalarda pg-3 virusi bilan zararlantirilgan sigir homilasining buyragidan (SHB) tayyorlangan o'stirilgan hujayra (nazorat uchun); dengiz cho'chqachasi eritrotsitining 0,5% aralashmasi.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (2 soat)

1.Nazorat uchun savollar.

2.Talabalarning mustaqil ishi:

a) o'stirilgan hujayradagi virusni gemadsorbsiyasiga qarab indikatsiyalash va GADTR jadvalini chizib olish;

b) virusni o'stirilgan hujayralarda SPT qarab indikatsiyalash va virus saqlovchi material olish;

c) topilgan virusni GADTR yordamida farqlash.

3.Mashg'ulotni yakunlash.

4.Kelgusi mashg'ulot uchun savollar.

Nazorat uchun savollar.

- 1.Yirik shoxli hayvonlarda paragripp kasalligining asosiy klinik belgilarini va patologoanatomik o'zgarishlarni so'zlab bering.
- 2.Kasal va o'lgan hayvonlardan patologik material qanday olinadi?
3. Patmaterialdagi virusni topish uchun qaysi usullar ishlatiladi?
- 4.Pg-3 virusini ajratishning qanday usullarini bilasiz?
- 5.Pg-3 virusini farqlash usullarini so'zlab bering.
6. Retrospektiv diagnostikada qaysi materiallar ishlatiladi, paragrippga diagnoz qo'yishda qaysi usullar bilan tekshiriladi va natijasi qanday izohlanadi?

Uslubiy ko'rsatmalar

Bu mavzudagi mashg'ulotini tashkil qilish uchun probirkalarda sigir homilasining buyragidan tayyorlangan o'stirilgan hujayralar bo'lishi kerak.

Hujayra o'stirilgan probirkalar bir o'quv kuniga yetarli miqdorda, bir necha guruhlariga bo'lib va ularni har qaysi guruhlarini virusning ("Paravak" vaksina) o'n karrali ketma-ket suyultirilgani bilan zararlantiriladi.

Bunday kichik (10^{-1} - 10^{-3}) suyultirilgani bilan yuqtirish, keyinchalik esa 10^{-4} - 10^{-5} suyultirilgani bilan yuqtirilganda virusni probirkalarda ajratishga imkon beradi.

Mashg'ulotda virus yuqtirilgan probirkalarni 3-5 kun ichida talabalarga ko'rsatsa bo'ladi.

Agar o'stiruvchi SHB dan tayyorlangan o'stirilgan hujayralardan foydalanishni ilojini topmasa, unda tovuq homilasidan tayyorlangan o'stirilgan hujayralarni N'yukasl kasalligining H vaksina shtammi bilan yuqtirish bo'yicha ishni o'tkazishi mumkin.

Bu holda, gemadsorbsiya reaksiyasi qo'yish uchun 0,5% tovuq eritrotsitlarining aralashmasi qo'llaniladi. Mashg'ulotda birorta gemagglyutinatsiyalovchi, virus va unga sezgir o'stirilgan hujayralarni qo'llashning iloji bo'lmasa, musbat gemadsorbsiyani va zararlantirilmagan o'stirilgan hujayralarni tasvirlovchi (6-mavzuga qarang) fiksatsiyalangan preparatlar, probirkalarda yoki yopqich oynalarda o'stirilgan hujayralarni fiksatsiyalovchi suyuqlik bilan ishlov berilib, gemotoksilin - eozin rangi bilan bo'yalgan balzam bilan yopishtirilgan preparatlardan iborat. Bunday bo'yab tayyorlangan preparatlar mashg'ulotlarda ko'p yillab qo'llaniladi.

O'stirilgan hujayralarni gemotoksilin - eozin bilan bo'yash usuli-

Bir qavat hujayra o'stirilgan yopqich oyna (agar SPT bo'lsa, 50% buzilgan hujayrali) probirkadan chiqarib olinadi, Xenks eritmasi bilan muhitdan yuvib tozalanadi, so'ngra 10-15 daqiqa davomida Buen eritmasida fiksatsiyalanadi va 70° etil spirtiga 10 daqiqagacha joylashtiriladi (bundan uzoqroq vaqtgacha mumkin).

Preparatlarni bo'yash bosqichlari:

1)distillangan suvda yuviladi;

2)gemotoksilin bilan 2-20 daqiqagacha bo'yash;

3) suv bilan bo'yoqni yuvish;

4)preparatlarni (10 ml suvga 3-4 tomchi) nashatir spirit qo'shilgan vodoprovod suvi bilan to binafsha rangdan ko'k rangga aylanguncha yuviladi;

Bo'sh vaqti, hujayra yadrosining bo'yoqni qabul qilishi nazorat qilinadi;

5)distillangan suvda yuvish;

6) eozin bilan bo'yash (bir necha soniyadan 2-3 daqiqagacha) ;

7)distillangan suv bilan yuvish (bir necha soniya).

Hujayra sitoplazmasi rangni qabul qilguncha bo'yash vaqti nazorat qilinadi;

8)preparatni suvsizlantirish;

a)70°, 90°, 100° - etil spirtidan o'tkazish yo'li bilan - 15 daqiqa;

b)buyum oynasidagi preparatni bal'zam bilan qoplash (hujayra qatlamini oynaga qaratib).

Preparatlarni bo'yash uchun ishlatiladigan reaktivlar:

Buen eritmasi - 15 qism pikrin kislotasining suvdagi to'yingan eritmasi, 5 qism neytral formalin, 1 qism muz uksus kislotasi;

Mayer gemotoksilini - 1 l distillangan suvga 2 g gemotoksilin, 0,2 g NaJ, 50 g kaliyli achchiq tosh, 50 g xlorgidrat. Olovda qizdirilgan holda ketma-ket eritiladi. Bu reaktiv ishlatishdan kamida 1 oy oldin tayyorlanadi;

Eozin - 100 ml distillangan suvga 1 g;

Karbol-ksilol: - ksilolning 4-5 qismiga 1 qism kristall karbol kislotasi qo'shiladi.

6-MAVZU

Biofabrikalarda ishlab chiqilgan diagnostik to'plamlar yordamida buzoqlarning pnevmoenterit kasalligini differensiallash.

Mashg'ulotning maqsadi - hayvonlarning virus kasalliklariga talabalar tomonidan amaliy diagnoz qo'yish yo'larini o'rgatish. Buning uchun quyidagi vazifa qo'yiladi: patologik materialda buzoqlarda pnevmoenterit kasalligini chaqiruvchi virusni uchratish va farqlash.

Qo'zg'atuvchisining o'zaro hech qardoshlik tomoni bo'lmagan virus etiologiyasiga ega bir guruh o'xshash kasalliklar sun'iy ravishda pnevmoenteritlar deb nomlangan. Bu guruhga yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit (YURT), virusli diareya (VD), paragrippning 3 turi (pg-3), adenovirusli va respirator-sinsitial (RS) infeksiyalari kiradi.

Yuqorida qayd etilgan infeksiyalarning o'xshashlik tomonlari ko'p:

1)epizootologiyasi - asosan kuz-qish fasllarida 5-6 oylik yosh buzoqlar kasallanadi. Kasallik ko'pincha enzootiya holatida o'lim kam, virus tashuvchilik uzoq davom etadi;

2)simptomlari - isitma, rinit, yo'tal, burundan suyuqlik oqishi, ich ketish;

3)patologoanatomik o'zgarishlari - nafas olish yo'llarining shilliq pardalari qizargan, shishgan, bronx va umurtqa bilan ko'krak qafasi oralig'i, limfa tugunlari qizargan;

4)Laboratoriyaga patologik material sifatida burun va kekirdakdan shilimshiq, burunning shilliq pardalari, traxeya, bronx, fekaliydan yuboriladi;

5)Pnevmoenterit kasalligining virusi buyrakdan yoki yirik shoxli hayvonlar homilasining testikulalaridan tayyorlangan o'stirilgan hujayralarda SPT ko'rsatib ko'payadi. Ularni antigenlarini DPR va IFR yordamida uchratish mumkin;

6)pg-3 virusi dengiz cho'chqasi eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydi. O'quv vazifasi sifatida xuddi shu infeksiyani tanlanishi quyidagicha mulohaza qilishga asoslanadi: 1)pnevmoenteritlar guruhiga qarashli infeksiya keng tarqalgan bo'lib, chorvachilikka katta iqtisodiy zarar yetkazadi. Ammo bu infeksiyaga diagnoz qo'yish kamdan-kam hollarda bajariladi, chunki kasallik yuqori darajada o'limga olib kelishligi, sekinlik bilan kechganligi tufayli e'tibor berilmaydi. Bu kasalliklar ko'pincha boshqa diagnoz bilan nomlanib hatto kasallikni kechishini sezmasdan qolish ham mumkin.

Oldimizga qo'yilgan vazifani hal qilish bo'lajak veterinariya mutaxassislariga pnevmoenteritlar muammosini yechishga imkon beradi;

2) biologik sanoat tomonidan maxsus diagnostik to'plamlar ishlab chiqilib pnevmoenteritlarni faqat laboratoriya sharoitida differensiatsiya qilibgina qolmasdan, balki xo'jalikning o'zida ham murakkab bo'lmagan apparat (lyuminessent mikroskop) yordamida malakali veterinariya xodimi tomonidan bajarilishi mumkin.

Ushbu to'plamlar bilan tanishish va ularning amaliyotda ishlatish, shu mavzuning birdan-bir vazifalaridan hisoblanadi.

Diagnostik to'plamlar bilan tanishishning muhimligi shundaki, nafaqat pnevmoenteritlar balki boshqa infeksiyalarga diagnoz qo'yish uchun ham bunday to'plamlar ishlab chiqilmoqda;

3) Buzoqlarning pnevmoenterit kasalliklarini differensiatsiyalashda biologik sanoat tomonidan ishlab chiqilgan va keng qo'llanilayotgan preparatlar har bir alohida guruhdagi infeksiyadan profilaktika qilishda muhim ahamiyat kashf etmoqda.

4) pnevmoenteritlar infeksiyasining o'xshashligi sababli ularni chaqiradigan viruslarni differensiatsiyalash qulay. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligiga diagnoz qo'yish uchun Privolj biofabrikasida ishlab chiqarilgan, diagnostik to'plamlarning tarkibini keltiramiz.

1. Yirik shoxli hayvonlarning YURT kasalligiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamning tarkibi:

- a) NR va DPR uchun otning spetsifik zardobi;
- b) NR va DPR uchun otning (manfiy) nazoratlovchi zardobi;
- c) otning belgilangan spetsifik zardobi;
- d) otning belgilangan (manfiy) nazoratlovchi globulini.

2. Yirik shoxli hayvonlarning VD kasalligiga dia'gnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a) NR uchun diareya kasalligining vaksina virusi;
- b) KBR va DPR uchun diareya virusining spetsifik antigeni;
- c) nazoratlovchi (manfiy) antigen;
- d) KBR va DPR uchun diareya virusiga spetsifik bo'lgan zardob;
- e) NR uchun diareya virusiga spetsifik zardob;
- f) nazoratlovchi (manfiy) zardob;
- g) diareya virusiga fluoressensiyalanuvchi zardob.

3. Yirik shoxli hayvonlarning pg-3 kasalligiga dia'gnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a) agglyutinatsiyalovchi antigen;
- b) spetsifik zardob;
- c) manfiy zardob;
- d) fluoressensiyalovchi zardob.

4.Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus infeksiyasiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi:

- a)1-kichik guruhning spetsifik antigeni;
- b)DPR uchun 1-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- c)KBR uchun 1-kichik guruhning spetsifik zardobi;
- d) 1-kichik guruh uchun fluoressensiyalanuvchi zardob;
- e)2-kichik guruh uchun spetsifik antigeni;
- f)DPR uchun 2-kichik guruhning spetsifik zardobi; g)KBR uchun 2-kichik guruhning spetsifik zardobi; h)2-kichik guruh uchun fluoressensiyalanuvchi zardobi; i)manfiy antigen; f)DPR uchun manfiy zardob; k)KBR uchun manfiy zardob.

5.Yirik shoxli hayvonlarning RS-infeksiyasiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan diagnostik to'plamlarning tarkibi: a)RS-virusining spetsifik antigeni; b)nazoratlovchi (manfiy) antigen; c)KBR va DPR uchun spetsifik zardob; d)nazoratlovchi (manfiy) zardob;

e) fluoressensiyalanuvchi spetsifik zardobi.

Topshiriq

Pnevmoenterit belgilari bor buzoqlardan olingan patologik materialda qaysi virus borligini aniqlash.

Material bilan ta'minlash

Biofabrikada tayyorlangan yirik shoxli hayvonlarning YuRT, pg-3, DV, RS va adenovirus infeksiyasiga diagnoz qo'yish uchun ishlatiladigan diagnostik to'plamlar; kasal buzoqlardan olingan traxeya va bronxlarning shilimshiq qobig'i; lyuminessent mikroskoplar; termostat; kyuvetalar; pipetkalar; atseton; fiziologik eritma.

Mashg'ulotning taxminiy rejasi (4 soat)

1-mashg'ulot (2 soat):

1.nazorat uchun savollar.

2. IFR usulining tafsilotlarini masala qilib qo'yish.

3.Diagnostik to'plamlarni ko'rsatish.

4.Talabalarning mustaqil ishlari:

a)patologik materialdan tamg'a olish;

b)tamg'ani atsetonda fiksatsiyalash;

c)quritish.

2-mashg'ulot (2 soat):

1. Fluoressensiyalanuvchi zardob bilan tamg'aga ishlov berish.

2.Nazorat uchun savollar.

3.Preparatni yuvish.

4.Preparatni quritish.

5. Preparatni mikroskopda ko'rish.
6. IFR natijalarini muhokama qilish.

Nazorat uchun savollar

1. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligida qanday klinik va patologoanatomik belglari bo'ladi?
2. Buzoqlarning pnevmoenterit kasalligida laboratoriya diagnozi qanday qo'yilishi va differentsiatsiyalanishini so'zlab bering.
3. IFR qo'yish usuli nimadan iborat?

Uslubiy ko'rsatmalar.

Ushbu mavzu yuzasidan antigen va zardoblarni oldindan tayyorlab qo'yish, mashg'ulotni muvaffaqiyatli o'tkazishda muhim omil hisoblanadi.

Laboratoriya mashg'uylotida talabalar tomonidan haqiqiy patologik materialdagi pnevmoenteritlarni to'lasincha differentsiatsiyalash amaliy jihatdan mumkin emas.

Go'sht korxonalarida patologik material sifatida kekirdakning shilimshiq pardalaridan yoki bronxlardan bir bo'lak olinib IFR yordamida virusni identifikatsiyalash bilan cheklanadi.

O'quv maqsadida diagnostik to'plamlarning yetarli miqdorda olish qiyinligini va qimmatligini hisobga olish kerak. Shuning uchun mashg'ulot jarayonini diagnostik to'plamlar bilan ta'minlash murakkabligini inobatga olgan holda, o'rganish samarasini pasaytirmasdan, mashg'ulotni o'tkazishni soddalashtirish zarur.

Mashg'ulot paytida bir antigen va bir zardobdan foydalanish tavsiya etiladi.

IFR uchun tegishli to'plamdan zardobni olish mumkin. Antigen sifatida yirik shoxli hayvonlardan olingan, mos keladigan to'qimadan (tang'a tayyorlash uchun) foydalanish mumkin.

Spetsifik zardob o'rnida - fluoressensiyalanuvchi zardob (xohlagan kichik guruhi) adenovirus to'plamidan olinib, faqat yuqori konsentratsiyadagisi ishlatiladi.

DV va pg-3 to'plamlari tarkibidagi fluoressensiyalanuvchi zardoblardan foydalanish mumkin, ammo ularni aktivligi (spetsifikligi emas) yirik shoxli hayvonlarning to'qimalarida sinab ko'riladi.

Antigen sifatida quyon kekirdagi to'qimalaridan va spetsifik quyon zardobiga qarshi fluoressensiyalanuvchi zardobdan foydalaniladi.

Har qanday holda ham fluoressensiyalanish spetsifik bo'lmaganligi tufayli, fluoressensiyalanuvchi antigenni o'rganish tabiiy bo'lmashligi mumkin.

Mashg'ulotni ushbu oddiy usulda o'tkazish uchun har bir o'quv guruhiga 5 tadan zardoblar to'plami sxema boyicha (+) -musbat, (-) -manfiy zardob tayyorlanib qo'yiladi.

Mashg'ulotni quyidagicha tashkil qilish mumkin. O'quv guruhi 25 talabadan 5 brigadaga bo'linadi. Har bir brigadaga turlicha nomerlangan to'plamdan 5 tadan zardob beriladi.

Har qaysi brigada olingan zardoblar to'plami yordamida IFR dan foydalanib patologik material tarkibida qaysi virus borligini aniqlashni vazifa qilib qo'yiladi.

Tabiiyki natijalar har qaysi brigadada har xil boladi, demak ulardagi to'plamda qaysi zardob musbat bo'lsa, o'sha virus bilan qo'shiladi.

Zardoblar to'plamining nomeri					Zardobning nomlanishi	
1	2	3	4	5		
+	0	0	0	0		YuRT
0	+	0	0	0		DV
0	0	+	0	0		Pg-3
0	0	0	+	0		RS
0	0	0	0	+		Adeno

Imitatsiyaning shunday bajarilishi talabalarning tekshiruvdagi qiziqishini kamaytirmaydi, ammo olingan patologik materialda qaysi virus topilgani noma'lumligicha qoladi. Bu yerda haqiqiy tekshirish natijalarini olishga qaraganda, o'tganish jarayoni muhim ahamiyatga ega.

ILOVA

Virus kasalliklarini o'rganish uchun o'tkaziladigan mashg'ulotga uslubiy tavsiyanoma. Hayvonlarning viruslar qo'zg'atadigan kasalliklarini modellashtirilgan holda diagnostik tekshirish. Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlari

Bu guruhdagi kasalliklarga yuqumli rinotraxeit, paragripp-3, virusli diareya, adenovirusli, respirator-sinsitial, rota-va yirik shoxli hayvonlarning korona-infeksiyasi kiradi.

Leksiya kursi: epizootologiya, etiologiya, patogenez, kasallikning klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

I. “Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlarini differensial diagnostikasi” mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

1.Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi. (12 soat, 3 hafta ichida, mashg'ulotlar oralig'idagi interval bir hafta).

1-MASHG'ULOT

Buzoqlardagi virusli pnevmoenterit kasalligining epizootologik ma'lumotlari va klinik-patologoanatomik belgilari. Laboratoriyada tekshirish uchun patmaterial olish.

1-soat: 1) mavzu bo'yicha talabalardan yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, paragripp-3, respirator-sinsitial, adeno-va rotavirus infeksiyalari bo'yicha so'rash;

2)o'qituvchining tushuntirishi-buzoqlarning virusli pnevmoenteritlariga laboratoriyada differensial diagnoz qo'yish.

2-soat:1) virusli pnevmoenteritni buzogga tajriba uchun yuqtirgandan so'ng klinik belgilarini o'rganish (vivariy binosida).

2) kasal hayvondan laboratoriyada tekshirish uchun material olish (burun va kon'yunktivadan yuvindi, qon, fekalii);

3) material namunasini konservatsiyalab, flakonlarga yorliq yopishtirish va transportda yuborish;

4)yo'llanma varaqasini to'ldirish.

3-soat: materialni tekshirish uchun tayyorlash (surtmalar tayyorlab, gomogenizatsiyalash, sentrifugalash, antibiotiklar qo'shish, bakteriologik nazorat qilish).

4-soat: Sigir homilasining buyragidan (SHB) yoki buqaning testikulalaridan (BT), tayyorlanib o'stirilgan hujayralardan foydalanib patologik material namunalaridan virusni ajratish;

mikroskopda qarab probirkada o'stirilgan hujayrani tanlash; o'stirilgan hujayrani zararlantirish (tekshirilayotgan material yuqtiriladi, o'stirilgan hujayraga virus adsorbsiyalanadi so'ngra quvvatlab turuvchi muhitdan qo'shiladi).

Probirkalarning bir qismi buyum oynasi ustida o'stirilgan hujayralarni saqlashi kerak, talabalar o'qituvchining ishtirokida o'stirilgan hujayraga virusni yuqtiradi;

Guruhning navbatchi talabasi virus yuqtirilgan hujayralarni nazorat qilib, xabar olib turadi;

Probirkada o'stirilgan hujayralarga (shu jumladan yopqich oynasi bilan ham) o'qituvchi talabalarsiz-pnevmoenterit kasalligining qo'zg'atuvchisini bir xilini yuqtiradi. Talabalar tomonidan virusni ajrata olmagan taqdirda, ikkinchi mashg'ulotda o'qituvchi tomonidan oldindan yuqtirilib, tayyorlab qo'yganidan foydalaniladi;

Shilliq pardalardan yuvindi olish uchun ishlatiladigan probirkalarga Xenks eritmasi quyilib - oldindan pnevmoenterit kasalligining qo'zg'atuvchisidan qo'shib qo'yiladi;

Shunday yo'l bilan olingan patologik material namunasini, hujayralarga virus adsorbsiyalanishi uchun 22°C 1 soat davomida (yoki 37°C) inkubatsiyalanadi.

O'qituvchining tavsiyanomasi bilan bajarilgan usul deyarli virusni uchratish va ajratib olish samaradorligini oshiradi.

2-MASHG'ULOT

Kasal buzoqdan olingan patmaterialda virusni uchratish va identifikatsiyalash.

1-soat: 1-mashg'ulotda virus yuqtirilgan hujayralarni mikroskopda ko'rish. SPT natijasini hisoblash, paragripp-3 virusini GADR (gemadsorbsiya reaksiyasi) indikatsiyalash, GADTR (gemadsorbsiyani to'xtatish reaksiyasi) yordamida paragripp-3 virusini identifikatsiyalash.

2-3-soatlar: patologik materialdan tayyorlangan preparatlarni va patmaterial yuqtirilgan hujayralarni virusga spetsifik yuqumli rinotraxeit, diareya virusi, respirator-sinsitial va yirik shoxli hayvonlarning adenovirusini belgilangan zardoblar bilan bo'yash.

4-soat: preparatlarni YuRT, DV, RS, adenoviruslarining antigeni borligini immuno fluoressensiya reaksiyasi yordamida tekshirish.

3-MASHG'ULOT

Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlariga retrospektiv serologik diagnoz qo'yish.

1-soat: 1-mashg'ulotda foydalanilgan kasal buzoqdan laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun qon olish, so'ngra qonning zardobini ajratish.

2-3-soatlar: 1) buzoqning juft zardobida virus qo'zg'atuvchisiga qarshi antiteloni uchratish va titrlash (1 va 3-mashg'ulotlarda olingan);

Eslatma. Tajriba uchun virus yuqtirilgan buzoqdan YuRT virusi topilsa BGAR, adenovirus topilsa BGAR, respirator-sinsitial virusi topilsa BGAR, paragripp virusi topilsa - GATR qo'yiladi.

Reaksiyani biologik sanoat tomonidan ishlab chiqilgan diagnostik preparatlardan foydalanib qo'yiladi.

2) Aniqlangan kasallikdan profilaktika qilish va yo'qotish rejasi tuziladi.

4-soat: laboratoriyadagi tekshiruv natijalarini va talabalarning nazariy bilim saviyasini inobatga olgan holda mavzu yuzasidan sinov o'tkaziladi.

II. "Buzoqlardagi virusli pnevmoenterit kasalligining differensial diagnozi" bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

1-mashg'ulot: Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: tajriba yo'li bilan alohida yoki bir yo'la bir necha pnevmoenterit kasalliklarining virusi yuqtirilgan buzoq;

Yuqtirilgan hayvondan steril patologik materialni olish va virusni ajratish uchun instrumentlar to'plami (steril paxta - doka tanponlari, sterilizatorga joylashtirilgan pinset, 3-4 ml Xenks eritmasi quyilib antibiotiklardan penitsillin va streptomitsin qo'shilgan flakonlar, fekaliyni to'plash uchun banka, qon olish uchun ignalar, yorliq yozish uchun leykoplastir, muz solingan termos, yo'llama xat yoziladigan qog'oz, sentrifuga, antibiotiklar (penitsillin va streptomitsin), bakteriologik nazorat uchun oziq muhitlardan GPA, GPSH, SHB yoki BT hujayralari o'stirilgan probirkalar, yoritgichli mikroskop, 1 va 2 ml pipetkalar, Xenks eritmasidagi 0,5% gidrolizat laktal'bumin, o'stiruvchi oziq muhitni quyib olish uchun banka, gaz yoki spirt lampa, buyum oynalari.

2-mashg'ulot: Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: probirkalardagi o'stirilgan hujayraga yuqtirilgan virus, shu jumladan shishachalari bilan; organ va yuvindilardan tayyorlangan tamg'a va surtmalar; yoritgichli mikroskoplar; lyuminessent mikroskoplar; GATR uchun yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 virusiga spetsifik bo'lgan zardob; yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, diareya virusi, respirator-sinsitial va adenovirus infeksiyasiga spetsifik zardobning FITS-kon'yugatlar (biofabrikalarda tayyorlangan diagnostik to'plamlar ichidan). GADR uchun dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 0,4% aralashmasi; GADR uchun Xenks eritmasi yoki fiziologik eritma; IFR reaksiyasida surtmalarni yuvish uchun pH 7,2-7,4 bo'lgan fosfat-bufer eritmasi; 1 va 2 ml pipetkalar; Petri kosachalari (surtmalar uchun namli kamera); buyum oynalari; surtmalarni fiksatsiyalash uchun vertikal kyuvetalar; dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan; atseton; termostat.

3-mashg'ulot Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: qon olish uchun steril ignalar; bakteriologik steril probirkalar; 1 va 2 ml steril pipetkalar, shishaga yopishgan qonni ajratish uchun metallardan yasalgan sim; takachi mikrotitrotori; yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit, adenovirus, respirator-sinsitial virusiga antitelo hosil bo'ganligini BGAR, paragripp virusiga hosil bo'lgan antiteloni GATR da aniqlash uchun biofabrikalarda tayyorlangan diagnostik to'plamlar; dengiz cho'chqachasi eritrotsitlarining 1% li aralashmasi; GATR uchun fiziologik eritma; BGAR uchun suyultiruvchi eritma; dezinfeksiyalovchi suyuqlik quyilgan stakan; distillangan suv; spirt lampa; rezina noklar; termostat; muzlatgich.

III A. Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning patogen 4016 shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirilgan hujayralarda o'stirish
Sezgir ob'ekt	Yirik shoxli hayvon	Birlamchi: SHB, BT va ularni subkulturalari. Chirmashib o'sadigan MDBK, BB-80. TR, SHKB 3-4 sutkalik
Yoshi	2-4 oylik	-
Yuqtirish usuli	Burun ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	2×10^6 TST 50/ml	-
Yashirin davr	2-4 kun	2-4 kun
Kasallikning belgilari:		
klinik	Haroratning 41°C ko'tarilishi, rinit, ko'nyuktivit yotal, holsizlik	Yumoloqlashgan hujayralar
patologoanatomik	Yuqori nafas yo'llarining kataral yallig'lanishi, o'pkaning yuqori qismida. Burun shilliq pardalarida yaralar.	
Kasallikning davom etish muddati	7-12 kun	-
O'lim	Yo'q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan so'ng 3-7 kun o'tgach	5-7 kun
Virus saqlovchi materialning turi	Burun va kon'yunktivadan olingan sekretlar, jinsiy organlardan ajralgan shilimshiq, fibrinsizlantrilgan qon	
Virusni ajratish uchun model	-	Birlamchi: SHB, BT va ularning subkul'turalari. Chirmashib o'suvchi: MDVK, BB-80, TR, SHKB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) minus 30°C	Virusni buzoqlarda 2-3 marta passaj qilish
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 1 oyda bir marta b) 2-3 oyda bir marta	

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

III B. Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning “Belorussiya” epizootik shtamni tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo’li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o’stirilgan hujayralarda o’stirish
Sezgir ob’ekt	Yirik shoxli hayvon	4-5 kunlik SHB
Yoshi	1-6 oylik	-
Yuqtirish usuli	Traxeyaning ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	10 ⁶ TST 50/ml	0,2 TST 50/ml
Yashirin davr	36-48 soat	48-60 soat
Kasallikning belgilari:		
klinik	Haroratning ko’tarilishi, rinit, xirillash yo’tal	Sinsitiy-SPT, sitoplazmaning donadorligi, GADR
patologoanatomik	O’pkaningyuqoribo’lakchalarinikulrangdaqattiqlash uvivane-krozgauchraganjoylar	-
Kasallikning davom etish muddati	-	-
O’lim	Yo’q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	2-6-kunlar	48-60 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Burun sekreti	Muzlatib, eritgach kultural suyuqlik
Virusni ajratish uchun model	-	SHB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) -20°C b) -70°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 3-6 oyda bir marta b) 6-12 oyda bir marta	Virus buzoqlarda 2-3 yilda bir marta passaj qilinadi

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

III C. Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit kasalligini qaytadan tiklash uchun virusni "Bovine-10" etalon shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirilgan hujayralarda o'stirish
Sezgir ob'ekt	Yirik shoxli hayvon	Birlamchi: SHB, BT
Yoshi	1-2 oy	-
Yuqtirish usuli	Burun uchiga, traxeya ichiga	-
Yuqtiriladigan miqdor	2×10^6 TST 50/ml	-
Yashirin davr	5-6 kun	5-10 kun
Kasallikning belgilari:		
klinik	Rinit, kon'yunktivit	Hujayralarning yumoloqlashuvi, avvaliga har-har joyda, so'gra barcha bir qavatli o'sgan hujayralarda
patologoanatomik	Burun shilliq pardalari va ko'zning giperimiyasi, o'pkadaqattiqlashgan o'choqchalar, limfa tugunlari kattalashgan	-
Kasallikning davom etish muddati	7-10 kun	-
O'lim	Kamdan-kam	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan 4-kundan boshlab to 10-kungacha	8-10 kunda
Virus saqlovchi materialning turi	Burunning shilliq pardasidan, ko'z, fekaliiy, qondan	Muzlatib, eritilgach kultural suyuqlik, BT
Virusni ajratish uchun model	-	SHB
Virusni saqlash uchun sharoit	a) -20°C b) -70°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	BT, SHB, 1 yilda 1 marta 2-3 yilda buzoqlarda 1 marta	

*Laboratoriya hayvonlari va tovuq homilalari sezgir emas.

Parrandalarning virusli respirator kasalliklari.

Bu guruhdagi kasalliklarga N'yukasl kasalligi (NK), parrandalarning gripp (PG), parrandalarning yuqumli laringotraxeit (YuLT), parrandalarning yuqumli bronxit (PyuB), parrandalarning chechak (PCh) kasalligi kiradi.

Leksiya kursi: epizootologiya, etiologiya, patogenez, kasallikning klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, parrandalarning virusli respirator kasalligiga qarshi kurash choralar.

Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotining mavzusi "Parrandalardagi virusli respirator kasalliklarining differensial diagnozi".

1.Laboratoriya amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi. (12 soat 3 hafta ichida, mashg'ulotlar oralig'idagi interval bir hafta).

1-MASHG'ULOT.

Parrandalarning virusli respirator kasalligida epizootologik, klinik va patologoanatomik ma'lumotlar. Laboratoriyada tekshirish uchun patologik material olish.

Virusoskopiya va biologik sinab ko'rish natijasida patologik materialda virusni uchratish.

1-soat: 1)parrandalarda keng tarqalgan virusli respirator kasalligining epizootologik, klinik va patologoanatomik belgilari, shu kasalliklarga diagnoz qo'yish usullarini talabalardan so'rash;

2) Ushbu infeksiyalardan birining qo'zg'atuvchisi yuqtirilgan parrandani namoyish qilish.

2-soat: 1) Laboratoriyada tekshirish uchun (qon olish, yorib ko'rish, patologoanatomik o'zgarishlarni tahlil qilish, miya, toloq, o'pka, traxeya, tamoqning shilliq pardasi, vezikulyar suyuqliklardan) patmaterial olinadi; 2) transport vositasi orqali yuborish uchun material joylashtiriladi; 3)ilova xati tuziladi.

3-soat: 1)qondan zardobni ajratish; 2)virus saqlovchi suspenziyani tayyorlash; 3)Morozov usulida bo'yash uchun preparat tayyorlash; 4)Morozov usulida preparatni bo'yash; 5)preparatni mikroskopda ko'rish va chechak virusining elementar tanachalarini chizib olish.

4-soat: Biologik tajriba qo'yish - 1) jo'jalarda (.YuLT virusini 45 kunlik jo'jalarning traxeyasini ichiga yuqtirish, PYUB - virusini 10-25 kunlik jo'jalar traxeyasining ichiga yuqtirish, PCh-virusini 2 oylik jo'jalarning pat follikulalariga yuqtirish);

2) Tovuq homilalarida (8-9 kunlik tovuq homilalarining xorionallantois bo'shlig'iga yuqtirish).

Eslatma: Guruhning navbatchi talabalari so'ngi kunlarda biologik tajribani nazorat qilib, natijalarini maxsus daftarga yozib boradi.

2-MASHG'ULOT

Virusni topish va identifikatsiyalash

1-soat: 1) Tovuq homilasini ochib ko'rish; 2)patologik o'zgarishlarni tahlil qilish, virus saqllovchi materialni allantois po'stloqdan, allantois suyuqligidan olish; 3)allantois suyuqligi va tovuq eritrotsitlaridan foydalanib tomchi usulida GAR qo'yib ko'rish.

2-4-soatlar: Ajratilgan virusni identifikatsiyalash. Gemagglyutinatsiyalovchi virusni ajratib olgan holda, n'yukasl va gripp kasalligi virusiga spetsifik zardoblar (diagnostik to'plamdagi zardobdan) bilan GATR qo'yib ko'riladi. Tovuq homilasida parrandalarning yuqumli bronxit kasalligiga xos (o'smasdan mumlanib qolish) belgilari kuzatilib o'lsa, u holda umumqo'llaniladigan usul bilan DPR qo'yiladi, (tovuq homilasiga virus yuqtirilib 48 soat o'tgach, antigen o'rnida - XAP suspenziyasi ishlatiladi, virusga spetsifik zardobni esa diagnostik to'plamdan olinadi);

Eslatma.Guruhdagi navbatchi talaba DPR natijalarini 24, 48, 72 soatdan so'ng hisobga olib boradi.

Agarda XAP-da nekroz o'choqlari topilsa u holda tayyorlash kerak:

a)tovuqlardagi chechak virusining virionlarini topish uchun zararlangan xorionallantois qobiqdan surtma-tamg'a tayyorlanib Morozov usuli bo'yicha bo'yaladi. Preparatlarni talabalar bo'yab, mikroskop ostida o'rganadi;

b)XAP suspenziyasida yuqumli laringotraxeit virusining antigenini topish uchun DPR qo'yiladi.

DPRni talabalar, kafedra xodimlari tomonidan tayyorlangan spetsifik zardobdan foydalangan holda qo'yadi.

3-MASHG'ULOT

Parrandalarning virusli respirator kasalliklarini retrospektiv serologik differensial diagnostikasi.

1-soat: Kasal bo'lib tuzalgan parrandalardan qon olish. Qondan zardobni ajratish.

2-3-soatlar: 1-3-mashg' ulotda kasal va kasallanib tuzalgan parrandalardan olingan juft zardoblardagi antiteloni topish.

Oldingi mashg'ulotlarda topib, indentifikatsiyalangan virusni turiga mos keladigan antigen va serologik reaksiya tanlanadi, ya'ni: a) tovuqlarning chechak kasalligida retrospektiv diagnostika o'tkazilmaydi; b) hamma qabul qilgan DPR usuli asosida, parrandalarning yuqumli laringotraxeit va parrandalarning yuqunii bronxit virusiga antitelo topiladi. Ushbu infeksiyalarga diagnos qo'yishda kasalliklarni 14-28-kunlari olingan juft zardoblar yaxshi natija beradi.

Shu bo' lim bo'yicha qisqa vaqt ichida mashg'ulotni o'tkazish uchun juft zardoblar o'rnida virus yuqtirilgan jo'jalardan olingan zardob, parrandachilik fabrikasida kasallanib tuzalgan parrandalarning zardobi yoki giperimmun zardobdan foydalanadi.

Bulardan tashqari tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligiga serologik diagnoz qo'yish uchun diagnostik to'plamdagi spetsifik zardobdan ham foydalanilsa bo'ladi. c) N'yukasl kasalligi yoki parrandalarning gripp virusiga antitelo topilgach GATR da titrlanadi. Sinalayotgan zardoblarga oldindan is gazi bilan ishlov berilib spetsifik bo'lmagan ingibitorlardan tozalanadi.

4-soat: 1) patologik materialda virusni topish va virusni indentifikatsiyalash hamda retrospektiv serologik diagnostika ma'lumotlariga asoslanib tekshirish natijalari kompleks tahlil qilinadi; 2) aniqlangan kasallikni profilaktika qilish, yo'qotish tadbirlarini o'tkazish rejasi tuziladi; 3) o'tilgan mavzu yuzasidan talabalarning nazariy va laboratoriya tekshiruv natijalarini hisobga olgan holda sinov o'tkazilib daftarga yozib qo'yiladi .

Eslatma. Agar 3-mashg'ulotda shu mavzu bo'yicha DPR qo'yilgan bo'lsa, guruhlardan vakillar reaksiya natijalarini 48 soat o'tgach hisoblab boradi. 4-soatga rejalashtirilgan mashg'ulot, kelasi mashg'ulotda o'tkazilishi kerak.

"Parrandalardagi virusli respirator kasalligining differensial diagnostikasi" mavzusi bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

1-mashg'ulot. A. Ushbu mashg'ulotni o'tkazish uchun biologik modellar zarur. a) PG, NK, YULT, TYUB, chechak viruslaridan biri yuqtirilgan eksperimental jo'ja; b) TYUB ga biologik sinab ko'rish uchun 20-25 kunlik, YULT va chechakga sinab ko'rish uchun 45-60 kunlik immunlanmagan sog'lorn jo'jalar; c) 9-11 kunlik tovuq homilalari.

B.Kasallikni tajriba yo'li bilan qaytadan tiklash uchun kerak: H shtammdagi n'yukasl kasalligining virusi;

Gripp virusining 3 yoki 6 serotiplari, parrandalarning yuqumli laringotraxeit virusini 24 A shtammi;

Tovuqlardagi yuqumli bronxit virusining AM shtammi;

Kabutarlardagi chechak virusining N'yu-Djersi shtammi;

Instrumentlardan steril (14 sm qaychi va ko'z qaychilari, skalpel, 14 sm xirurgik pinset, 14 sm anatomik pinset, 1 va 2 ml shprislar, 0,6x25 in'eksion ignalar, teshgichlar sterilizatorlar (guruh soniga qarab);

Asboblardan (-4°C va -10°C -25°C, muzlatgichlar, 37°C termostat sentrifuga ovoskoplar); steril idishlar (antibiotiklar solinadigan rezina tiqinli flakonlar, rezina tiqinli bakterilogik probirkalar, forfor havoncha, 2 va 5 ml graduirlangan pipetkalar); muhit va eritmalar - oziq muhitlaridan (GPSH, GPA), natriy xlorning steril izotonik eritmasi, 2% yodning spirtidagi eritmasi; antibiotiklar (penitsillin, steptomitsin); muz solingan termos; paxta va steril paxtachalar (pergament qog'ozga o'ralgan paxtachalar dezinfeksiyalovchi eritma solingan idish, natriy gidroksidining 3% eritmasi (o'yuvchi natriy ishlatilgan probirkalar uchun); buyum oynalari; tovuq homilasi va probirkalar uchun shtativ; 24x36 emallangan kyuveta; 4 qavatli doka salfetka (tovuq homilasi bilan ishlaganda dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilib kyuvetaga qo'yiladi); parafin tayoqchalari; leykoplastr; grafit qalamlar; doka yuzyopqichlar; kesgich;

Morozov usulida bo'yash uchun reaktivlar to'plami; yoritgichli mikroskoplar; immersion moy; benzin va doka salfetka (mikroskopni linzasini tozalash uchun); Maydalangan shishaning sterillangan siniqlari.

2-Mashg'ulot. A. Tovuq homilalarini ochish, virus saqlovchi materialni olish va GAR qo'yish uchun kerak: 1-mashg'ulotda patmaterial yuqtirilgan tovuq homilasi; emallangan kyuvetalar; dezinfeksiyalovchi eritma shimdirilgan doka salfetkalar; probirka va tovuq homilasi uchun shtativlar; 2% li yodning spirtidagi eritmasi; steril instrumentlar (ko'z uchun ishlatiladigan qaychilar, pinsetlar, anatomik pinsetlar); steril bakteriologik probirkalar; spirtlampa; rezina nok; tovuq eritrotsitlarining 5% aralashmasi; GAR ni tomchi usulda qo'yish uchun oq keramik plastinkalar; 1, 2 va 5 ml steril pipetkalar; fiziologik eritma; 10x10 sm qora qog'oz; farfor havoncha, maydalangan shisha dezinfeksiyalovchi eritma quyilgan stakan.

B.GATR yordamida gripp va n'yukasl kasalligi viruslarini indentifikatsiyalash uchun kerak:

Parrandalardagi gripp virusini (1 va 6 serotiplari) va n'yukasl kasalligining viruslariga diagnostik to'plamdan olingan spetsifik zardoblar; 1-mashg'ulotda yuqtirilgan tovuq homilasining virus saqlovchi ekstraembrional suyuqligi; tovuq eritrotsitlarining 1%-li aralashmasi; fiziologik eritma; Takachi asbobi yoki 1 ml li pipetka va chuqurchasi bor pleksiglas moslama; dezinfeksiyalovchi suyuqlik quyilgan stakan; rezina nokcha.

C. DPR yordamida parrandalarni yuqumli larigotraxeit virusini va tovuqlarning yuqumli bronxit virusini indentifikatsiyalash uchun kerak: diagnostik to'plamdan TYUB kasalligining virusiga spetsifik zardob; TYUB kasalligining virusiga spetsifik antigen; 1-mashg'ulotda sinalayotgan antigen yuqtirilgan tovuq homilasining XAPdan tayyorlangan suspenziyasi; YULT-virusiga spetsifik antigen-YULT virusi, VNIIBP yoki SNIIPP, klon NT vaksina shtammi yuqtirilgan tovuq homilasining XAP dan tayyorlangan suspenziya;

YuLT virusiga parrandachilik fabrikasida tovuqlarni aerosol vaksinatsiyalash yoki xo'rozlarni giperimmunlash yo'li bilan olingan spetsifik zardob (giperimmunlash uchun tovuq homilasining XAP-ga 1:10 nisbatda, YULT virusining VNIIBP yoki SNIIPP, NT-klon vaksina shtammlarining biridan tayyorlangan material venaga 1-2 ml hajmda yuboriladi)

Katta yoshdagi xo'rozlarning venasini ichiga 1-2 ml hajmdagi virus saqlovchi material yuborib giperimmunlash sxemasi:

a)bir kun oralig'ida 4 inyeksiya; b)7 kun tanaffus; c)bir kun oralig'ida 4 inyeksiya; d) 6 kun tanaffus; e)sinash uchun qon olish. Xo'rozlar qonining zardobida antitelolarning titri past bo'lgan holda qo'shimcha; f)bir kun oralig'ida 3 inyeksiya; g) 6 kundan so'ng qonsizlantirish; flakonlarda veronal buferidagi 1,5% agar pH 7,2; suv hammomi flakondagi agarlar uchun; yog'sizlantirilgan buyum oynasi; filtrlangan qog'oz to'shalgan emallangan kyuvetalar (oynadagi agar uchun namli kameralar); kyuvetalarni germetik yopib taxlash uchun polietilen paketlar; 2-5 ml graduirlangan pipetkalar; paster pipetkalari; 0,5 sm diametrli metal naychalar, agar qatlamida chuqurchalar kesish uchun (mayda kalibrli miltiq patronini ishlatga ham bo' ladi); o'quv perosi (chuqurcha ichidagi agar tiqinlarini chiqarib olish uchun).

3-mashg'ulot. A. Jo'jalardan qon olish va zardobni ajratish uchun in'ektsion ignalar kerak: Florinskiy probirkasi; shishada qotgan qonni ajratish uchun sim; paster pipetkalari; sentrifuga.

B. Juft zardoblardagi YULT va TYUB viruslariga antitelolarni va titrini DPR orqali aniqlash uchun kerak: parrandachilik fabrikasidan yoki eksperimental yo'l bilan virus yuqtirilgan kasal va kasal bo'lib tuzalgan tovuqlardan olingan (sinalayotgan) juft zardob; TYUB virusiga diagnostik to'plamdan olingan spetsifik zardob; YULT virusiga spetsifik antigen (YULT virusining SNIIPP yoki VNIIBP klon NT shtammini tovuq homilasini XAP yuqtirish natijasida olingan suspenziya) YULT virusiga spetsifik zardob (tayyorlash usuli 2-B mashg'ulotini idish va material bilan ta'minlash qismida ko'rsatilgan).

C. Tovuqlarning n'yukasl va gripp kasalligi viruslariga juft zardoblardagi antitelolarni GATR yordamida topish va titrini aniqlash uchun kerak:

Kasal va kasal bo'lib tuzalgan yoki tajriba yo'li bilan yuqtirib olingan yoki parrandachilik fabrikasidagi tovuqdan olingan (sinalayotgan) juft zardoblar; n'yukasl virusining diagnostik to'plamdan olingan spetsifik antigeni; gripp virusining 1 va 6 serotiplarini spetsifik antigeni; tovuq eritrotsitlarining 1% li aralashmasi; fiziologik eritma;

Takachi asbobi yoki 1 ml pipetka, chuqurchasi bor pleksiglas; rezina noklar.

III A. N'yukasl kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

N'yukasl kasalligini qaytadan tiklash uchun patogenligi past H vaksina shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan jo'jalar	TH	TH fibroblastlari
Yoshi	20 kunlik	9-11 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Muskul ichiga	Allantois bo'shligiga	-
Yuqtirilgan miqdori	-	10 ⁴ HO'M 50	-
Yashirin davr	3-4 kun	48-72 soat	24-60 soat
Kasallikning belgilari:			
klirik	Horg'inlik, burundan suyuqlikoqishi, falajlik, shollik	-	-
patologoanatomik	Ovqat hazm qilish traktining shilliq pardalari kataral-gemorragik yallig'lanish. Bezlioshqozondanmuskulli oshqozongao'tishjoyidaqon quyilish.	O'lim, terining qizarishi oksipital gematomalar GAR-musbat	SPT (detrit, simplast), GADR
Kasallikning davom etish muddati	6 kungacha	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	15-30%	100%	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	O'lim arafasidagi holatda	48-72 soat	48 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Miya, o'pka, taloq	Tovuq homilasining allantois, amnion suyuqligi	Kultural suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b)- 25°C	-	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta b) bir yilda 1 marta		

*Laboratoriya hayvonlari sezgir emas.

III B. Parrandalarda gripp kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Parrandalarda kasallikini tiklash uchun gripp virusining 6-jo'ja serotipi 315/70 ishlab chigarish epizootic shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada tovuq homilasida o'stirish
Sezgir ob'ekt	Jo'jalar	TH
Yoshi	20 kunlik	9-10 kunlik
Yuqtirish usuli	Burun va traxeya ichiga. Parrandani 1-2 soatdan so'ng 8-10 marta sovutish.	Allantois yoki ammion bo'shlig'iga
Yuqtirilgan miqdori	2×10^6 HIM 50/ml	-
Yashirin davr	48-72 c	48-60 c
Kasallikning belgilari:		
klinik	Ko'pincha simptomsiz, burundan suyuqlik oqishi, falajlik, shollik.	O'lim
patologoanatomik	Ovqat hazm qilish traktining shilliq pardalarini kataral gemorragik yallig'lanishi	GARmusbat
Kasallikning davometish muddati	10 kungacha	48-60 c
Oqibatio'limbilantugaydi	0,2-100%	100%
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Yuqtirilgandan so'ng 2-3 sutkada	72 c
Virus saqlovchi materialning turi	Taloq, bosh miya	Allantois suyuqligi
Virusni ajratish uchun model		TH
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) - 20°C	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta (nativ) b) bir yilda bir marta (nativ)	2 yilda bir marta liofil quritish

*Laboratoriya hayvonlari va o'stirilgan hujayralar sezgir emas.

III. C Tovuqning yuqumli bronxit kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligini qaytadan tiklash uchun Massachuzetes virusining MVA-6 shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	jo'jalar	TH	THB o'stirilgan hujayra, TH fibroblastlari
Yoshi	1 oylik	8-10 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Traxeyaning ichiga	Allantois bo'shlig'iga	-
Yuqtirilgan miqdori	10^3 IM 50	10^1 - 10^2 HIM ₅₀	-
Yashirin davr	1-3 kun	24-72 soat	24-72 soat
Kasallikning belgilari:			
klinik	Xirillash, aksa urish	-	-
patologoanatomik	Rinit, traxeit, bronxit, pnevmoniya	Homilaning o'smasdan 7-8 kunlari mumlanib qolishi	SPT sinsitiy
Kasallikning davom etish muddati	5-10 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	10% gacha	3-5-kunlar o'lim 50% gacha yetadi	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Klinik belgilari ravshan bo'lganda	72 soat	72 soat
Virus saqlovchi materialning turi	o'pka, traxeya	allantois suyuqligi	-
Virusni ajratish uchun model		TH da 3 marta passaj	-
Virusni saqlash uchun sharoit	a) 4°C b) -25°C	-	
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yarim yilda 1 marta (nativ) b) 1 yilda 1 marta (nativ) Tovuq homilasida 10 marta passaj qilingandan so'ng jo'jalarda yangilab olish	2 yilda 1 marta (liofil quritish)	

*Laboratoriya hayvonlari sezgir emas.

III D. Parrandalarning yuqumli laringotraxeit kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Parrandalarning yuqumli laringotraxeit kasalligini tiklash uchun virusning 24A patogen shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	jo'jalar	TH	O'stirilgan hujayra, TH buyrak va fibroblastlari
Yoshi	20 kunlik va undan katta	9-12 kunlik	-
Yuqtirish usuli	traxeyaning ichiga	XAP, Allantois bo'shlig'iga	
Yuqtirilgan miqdori	-	-	-
Yashirin davr	6-12 kun	4-5 kun	12-24 soat
Kasallikning belgilari:			
klinik	Mayuslik, yo'tal, xryllash, bo'g'ilish	-	SPT-
patalogoanatomik	Fibrinozli-gemoragik laringotraxeit	XAP da tugunchalar	Gigant hujayralar, detrit
Kasallikning davom etish muddati	10-15 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	25-50%	-	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	1-7 kunlar	5-kun	12-24 soat
Virus saqlovchi materialning turi	Traxeyadan qirib olish	XAP	O'stiruvchi suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	- 20°C	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	yiliga 1 marta		

*Laboratoriya hayvonlarida virus o'stirilmaydi.

III E. Tovuqlarning chechak kasalligini tajribada qaytadan tiklash. Virusni ajratish va saqlash.

Kasallikni paydo qilish uchun kabutarlar chechak virusining N'yu-Djersi vaksina shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	tovuqlar	TH	TH ning hujayralari
Yoshi	2-4 oylik	10-12 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Panting follikulalariga	XAP	-
Yuqtirilgan miqdori	-	-	-
Yashirin davr	4-5 kun	3-4 kun	2-3 kun
Kasallikning belgilari:			
klinik	follikulit	XAP da oq rangli nekrozga uchragan spetsifik o'choqlar	SPT yumoloqlashish, vakuolizatsiya, gigant hujayralar
patologoanatomik	-	-	-
Kasallikning davom etish muddati	10-12 kun	-	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	Yo'q	Bo'lishi mumkin	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	5-6-kun	5-kun	3-kun
Virus saqlovchi materialning turi	Vezikulyar suyuqlik	XAP	O'stiruvchi suyuqlik
Virusni ajratish uchun model		TH	-
Virusni saqlash uchun sharoit	minus 25°C	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	yiliga 1 marta (nativ)	4-5 yilda 1 marta (lioofilizatsiyalangan)	

*Laboratoriya hayvonlari: ajratish uchun model immunlanmagan 3-4 oylik jo'jalar.

AUESKI KASALLIGI

Leksiya kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, patogenezi, har-xil turdagi qishloq xo'jalik hayvonlarida kasallikni klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

“Ayeski kasalligiga diagnoz qo'yish” mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

I. Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi (2soat)

1-soat: 1) mashg'ulotning mavzusi bo'yicha so'rash: har xil turdagi hayvonlarda Aueski kasalligining epizootologik, klinik va patologoanatomik belgilari; 2) o'qituvchining tushuntirishi yosh cho'chqalarda Aueski kasalligining xususiyati, olgan qo'zichoqdan material olish, Aueski kasalligiga laboratoriyada diagnoz qo'yish bosqichlari.

2-soat: 1) tajriba uchun virus yuqtirilgan qo' zichoqni namoyish qilish; 2) kasal quyonni namoyish qilish (bioproba); 3) Aueski kasalligini yo'qotish va profilaktika qilish uchun tadbir rejasini tuzish.

II. “Aueski kasalligiga diagnoz qo'yish” mavzusidagi mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

Tajriba uchun Aueski kasalligining “ARSKIY” shtammi yuqtirilgan 6 oylik qo'zichoq yoki immunlanmagan har qanday yoshdagi qo'y (vivariy sharoitida);

Tajriba uchun Aueski kasalligining “Arskiy” shtammi yuqtirilgan (og'irligi 2 kg) quyon.

III. Aueski kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Aueski kasalligini qaytadan tiklash uchun virulent “Arskiy” shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish		
		Laboratoriya hayvonlari	Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan qo'y	quyon	Tovuq homilalari	Tovuq homilasining buyragi va qalqon-simon bezidan tayyorlangan birlamchi fibroblastlar
Yoshi	6 oylikgacha	2 kg	9 kunlik 4-5 kunlik	-
Yuqtirish usuli	Teri ostiga, muskul ichiga	Teri ostiga, muskul ichiga	XAP, allantois bo'shlig'iga	BT, SHB
Yuqtirilgan miqdori	10^2 - 10^3 O'M 50	1 ml 10% eritrotsitlar suspenziyasi	-	-
Yashirin davr	1-3 kun	3-7 kun	3-4 kun	48-72 soat
Kasallikning belgilari:	-	-	-	-
klirik	Qichish, tirnash, qiynalib o'rnidan turadi	Bezovtalik, qichish, tirnash	-	-
patalogoanatomik	-	-	XAP nekrozli o'choqlar, terisi va bosh qismida qon quyilish, XAP tomirlari qonga to'lgan	Simplastlarga -SPT, tovuq fibroblastlari yumoloqlashgan sitoplazmasi donador
Kasallikning davom etish muddati	2-4 kun	2-24 soat	5 kun	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	100%	100%	50% gacha	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Agonal davrda	O'lgach	5 kun	48 soat
Virus saqlovchi	miyacha, o'pka, uzunchoqmiya	O'pka, jigar, bosh miya	XAP, allantois suyuqligi	

materialning turi				
Virusni ajratish uchun model	-	quyon	-	Birinchi passajdagi subkultura
Virusni saqlash uchun sharoit	a)4°C b) minus 10°C	-	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	a) 6 oyda 1 marta b)1-2 yilda 1 marta			

Qo'ylarning chechak kasalligi

Leksiya kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, patogenezi, klinik belgilari, patologoanatomik o'zgarishlari, diagnozi, spetsifik profilaktikasi, kurash choralari.

“Qo'ylarning chechak kasalligiga diagnoz qo'yish” mavzusi bo'yicha-amaliy mashg'ulot.

I.Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi (4 soat)

1-soat: 1)Mavzu bo'yicha talabalardan so'rash-qo'ylarda chechak kasalligining epizootologiyasi, klinik belgilari, laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun kasal qo'ydan patologik material olish texnikasi, qo'ylarning chechak kasalligida laboratoriya diagnostik bosqichlari.

2-soat: 1) chechak virusining “Qozoqiston” shtammi yuqtirilgan tajribadagi kasal qo'yni ko'rsatish; 2)laboratoriyada diagnoz qo'yish uchun (verikulyar suyuqlikdan) patologik material olish; 3) chechak virusining virionini ko'rish uchun vezikulyar suyuqlikdan surtma tayyorlash; 4) materialni transportda yuborish uchun tayyorlash; 5)sog'lom qo'yda virusni yuqtirish usulini ko'rsatish.

3-soat: 1) yo'llanma xatni tuzish; 2) kasal qo'ydan olingan vezikulyar suyuqlikdan tayyorlangan surtmani Morozov usulida bo'yash; 3) virusoskopiya, elementar tanachalarni chizish.

4-soat: chechak kasalligini yo'qotish va profilaktika qilish uchun tadbiriy reja tuzish.

II. “Qo’ylarning chechak kasalligiga diagnoz qo’yish” mavzusidagi mashg’ulotni material bilan ta’minlash.

Chechak virusining “Qozoqiston” shtammi yuqtirilgan qo’y; Virus yuqtirilmagan qo’y; muz solingan termos; steril flakonlar (antibiotiklardan bo’ shagan); steril instrumentlar solingan sterilizator (anatomik pinset, ko’z pinseti, 1 ml shpris inyeksiya uchun ignalar,keskich); spirt; paxta; steril fiziologik eritma; steril paxtachalar; Preparatlarni Morozov usuli bo’yicha bo’yash uchun: yog’ sizlantirilgan buyum oynalar; spirtovka; emallangan kyuveta (buyum oynalarni tutub turish uchun shisha tayoqchadan ko’prik); yoritgichli mikroskoplar; distillangan suv; reaktivlar to’plami (Ruge suyuqligi, tannin eritmasi, ammiakli kumush eritmasi, immersion moy, benzin); har bir reaktiv uchun alohida ko’z pipetkasi; filtrlovchi qog’oz.

III.Qo’ylarda chechak kasalligini qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Kasallikni tiklash uchun chechak virusining “Qozog’iston” ishlab chiqarish shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriya hayvonlarida o’stirish
Sezgir ob’ekt	Immunlanmagan qo’ylar	Qo’ylar
Yoshi	Har qanday	-
Yuqtirish usuli	Lab terisining ichiga,dum osti qatlamiga	Borrel usuli bo’yicha
Yuqtirilgan miqdori	0,1-0,15 ml dan bir necha nuqtaga	-
Yashirin davr	2-3 kun	2-3 kun
Kasallikning belgilari:	-	-
klinik	Haroratning ko’tarilishi, mahalliy chechak jarayoni, shish	-
patologoanatomik	-	-
Kasallikning davom etish muddati	14-20 kun	-
Oqibati o’lim bilan tugaydi	Yo’q	-
Virus saqlovchi materialni olish vaqti	Vezikula bosqichida	-
Virus saqlovchi materialning turi	Vezikulyar suyuqlik	-
Virusni ajratish uchun model	-	-
Virusni saqlash uchun sharoit	minus 20°C (liofilizatsiyalangan virus)	-
Tutib turuvchi passajlar soni	2 yilda 1 marta	-

*Tovuq homilalari va o'stirilgan hujayra sezgir emas.

Marek kasalligi

Leksiya kursi: epizootologiyasi, etiologiyasi, kasallikni klinik belgisi, patologoanatomik o'zgarishlari, spetsifik profilaktika, kurash choralari.

“Marek kasalligiga diagnoz qo'yish” mavzusi bo'yicha laboratoriya-amaliyot mashg'uloti.

I. Laboratoriya-amaliyot mashg'ulotini o'tkazish rejasi (4 soat)

1-soat: 1) mashg'ulotning mavzusi bo'yicha so'rash; 2) Marek kasalligining o'ziga xos patologoanatomik xususiyatini namoyish qilish (parrandachilik fabrikasidan oldindan olib kelinib past haroratda saqlanayotgan murdani yorish); 3) DPR-yordamida Marek kasalligi virusining antigenini topish uchun qanotidan, dumidan patni yulish paytida follikulalardagi to'qimani buzmaganda holda laboratoriya tekshiruvlari uchun material olinadi.

Serologik tekshirish uchun kasal parrandadan (parrandachilik fabrikasida) kamida 1-1,5ml qon zardobi olinadi; zardoblar steril probirkalarga olingach konservatsiyalanadi (1ml zardobga 100 birlikda streptomitsin va penitsillin yoki 0,01% mertiolat qo'shiladi), shishli jarohatlangan organlardan (jigar, buyrak, bezli oshqozon, tuxumdon, yurak, o'pka va plexus brachialis, Truncus ischiadicus nervlaridan gistologik tekshirish uchun namunalar olinadi.

Kattaligi 1x2x2sm namunalar 10% formaldegid eritmasida fiksatsiyalanadi;

4) materialni transportda laboratoriyaga yuborish uchun joylash;

5) ilova xatini tuzish.

2-soat:1) pat follikulalari ekstraktida Marek kasalligi virusining antigenini topish uchun patning uchidan tayyorlangan suspenziyadan DPR qo'yish uchun antigen tayyorlash, DPR buyum oynasida yoki Petri kosachasida qo'yish markazdagi chuqurchaga spetsifik, atrofdagilarga tekshirilayotgan ekstrakt quyiladi; 2) tekshirilayotgan zardoblarda Marek kasalligi virusiga qarshi antiteloni topish. Markazdagi chuqurchaga spetsifik antigen, atrofdagilarga esa tekshirilayotgan zardob quyilib DPR qo'yiladi.

Petri kosachasi yoki oyna 37⁰ C nam kamerada 24 soat qoldirilib so'ngra xona haroratidagi sharoitga o'tkaziladi.

3) Parrandalarning Marek va leykoz kasalliklariga differensial diagnoz qo'yish uchun sinalayotgan zardoblar spetsifik leykoz-sarkoma

guruhi viruslarining antigeni mavjudligiga, parrandalarning leykoz kasalligiga diagnoz qo'yishda ishlatiladigan preparatdan foydalanib buyum oynasida bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi qo'yib tekshiriladi.

Zardoblarni sinashda 5-oylik va undan katta yoshdagi tovuqlardan foydalaniladi. (Parrandalarni leykoz kasalligiga diagnoz qo'yish yo'1-yo'riqlariga qaralsin).

3-soat: Marek kasalligini profilaktika qilish va yo'qotish tadbirlari uchun reja tuziladi.

4-soat: Oldingi mashg'ulotda o'tkazilgan tekshiruv natijalari hisob-kitob qilinadi.

“Marek kasalligiga diagnoz qo'yish” mavzusi bo'yicha mashg'ulotni material bilan ta'minlash.

Mashg'ulotni o'tkazish uchun kerak: Marek kasalligiga xos patologoanatomik o'zgarishlari bor tovuq murdasi, DPR uchun spetsifik zardob. Zardob xo'rozlarni 12-15 oylik yoshida maxsus sxema bo'yicha giperimmunlash yo'li bilan olinadi: 1-kun 0,5 ml hajmda virus (virus yoki kasal parrandaning parenximatoz organlari, qoni) bargaklarga yuboriladi; 7-kun - 0,5 ml son qismining terisini ostiga yuboriladi; 14-kun -1ml muskul ichiga yuboriladi. 45-kun - xo'rozlar qonsizlantiriladi.

Marek kasalligi virusining spetsifik antigeni (DPR uchun) quyidagi usulda olinadi:

Marek kasalligining ZK shtammi yuqtirilgan (yaxshisi 90 kunlik) kasal parrandaning qon va parenximatoz organlaridan suspenziya tayyorlanadi, suspenziya paxta-doka filtr orqali filtrlanadi, suspenziyaning hajmiga qarab 0,2% kristall holdagi fenol qo'shish tufayli virusni aktivligi yo'qoladi va 4⁰C 16-17 soat davomida ekstraksiyalanadi. Olingan antigen yuqumli emas (A.B.Kononenko, 1987). Yaroqlilik muddati 1 oydan ortiq; Marek kasalligining belgilari bor tovuqning sinalayotgan qon zardobi; kasal tovuq patining uchidan tayyorlangan antigen, DPR ni qo'yish uchun quyidagi usulda olinadi: patning uch qismi uch marta muzlatilib eritiladi, qirqib havonchada maydalangan patga (3-4 patning uchiga 1 ml) fiziologik eritma qo'shiladi, gomogenlangan pat uchlari Florinskiy probirkasiga o'tkazilib 4⁰C 17 soat davomida ekstraksiyalanadi, cho'kma ustidagi suyuqlik DPR uchun antigen sifatida ishlatiladi. O'quv vaqtini qisqartirish maqsadida antigen tayyorlashdagi muzlatish-eritish jarayonlarini mashg'ulot boshlanguncha bajariladi, natijada ekstraksiyalash vaqti ham qisqaradi.

Agar gel-tozalangan agar aralashmasi 10 g, yaxshisi Difko agari, 910 ml suvda 80 g natriy xlorid qo'shib suv hammomida tayyorlanadi, ikki qavatli dokadan o'tkazilib filtrlanadi va 1 M natriy gidrookisi yordamida pH 7,2-7,4 gacha yetkaziladi; murdaning organlaridan olingan namuna uchun idishlar (flakonlar, Petri kosachalari, Paster pipetkalari, 2 va 50 ml graduirlangan pipetkalar, bakteriologik probirkalar);

Instrumentlari bor sterilizator (14 sm 2 dona qaychi, ko'z qaychisi 2 dona, anatomik pinset); kasal tovuqning patini to'plash uchun polietilen xalta; natriy xlorning (steril) izotonik eritmasi; ustida agar qatlami bor buyum oynasi, nam kamera.

III. Marek kasalligini tajribada qaytadan tiklash.

Virusni ajratish va saqlash.

Marek kasalligini qaytadan tiklash uchun virusning epizootik 3K shtammi tavsiya etiladi.

Virus bilan ishlash uchun sharoit	Kasallikni tajriba yoli bilan qaytadan tiklash	Laboratoriyada o'stirish	
		Tovuq homilalari	O'stirilgan hujayra
Sezgir ob'ekt	Immunlanmagan tovuq(go'shtzotlisi)	TH	TH buyrak, jo'ja fibroblastlari
Yoshi	1 kun	a)4 kunlik b)10-12 kunlik	24 soatlik o'stirilgan hujayra kulturasi
Yuqtirish uchun material	Qon, organlardan suspenziya	a) organlar suspenziyasi + qon b) pat uchidan olingan ekstrakt	pat uchidan olingan ekstrakt
Yuqtirish usuli	Qorin pardasining ichiga, teri ostiga, muskul ichiga	a) sariq xaltaga b) XAP ga	-
Yuqtirilgan miqdori	10 ³ BHB / jo'ja	-	
Yashirin davr	120-150 kun	-	48-96 soat
Kasallikning belgilari:		-	
klirik	Falajlik, shollik, kulrangko'z (chag'irko'z)	-	-
patologoanatomik	Ichki organlarda o'smalar, periferiyadagi nervlar shishgan	XAP blyashkalar, spleno megaliya, jigarni	SPT blyashkalar, sinsitiy

		jarohatlanishi	
Kasallikning davom etish muddati	30-90 kunlar	a)13-14 kunlar b)7-8 kunlar	-
Oqibati o'lim bilan tugaydi	0,2-80%	-	-
Virus saqllovchi materialni olish vaqti	Virusni ajratish uchun 2-hafta, antigenni topish uchun 3-8-haftalar	a) sariq xaltaga yuqtirilganda 4-5-kun b) XAP yuqtirilganda 72 soat	-
Virus saqllovchi materialning turi	O'sma, qon, pat	Jigar, buyraklarda XAP da o'choqlar	
Virusni ajratish uchun model	-	Virus passaj qilingandan jo'jalar uchun patogenligini yo'qotadi	O'stirilgan hujayra
Virusni saqlash uchun sharoit	a) qon, organlar 170°-196°C suyuq azot solingan idishlarda. b) teri va pat follikulalarining epiteliysi minus -20°C da c) liofilizatsiyalangan virus minus 20 ⁰ C da	-	-
Tutib turuvchi passajlar soni	a) yiliga 2 marta b) oyiga 1 marta c) yiliga 1 marta	-	-

Hayvonlarning virus kasalliklarini o'rganish uchun zarur diagnostikumlar ro'yxati:

1. Yirik shoxli hayvonlarning yuqumli rinotraxeit diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
2. Yirik shoxli hayvonlarning adenovirus infeksiyasi diagnostikumlarining quritilgan to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
3. Yirik shoxli hayvonlarning paragripp-3 diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).
4. Yirik shoxli hayvonlarning virusli diareya diagnostikumlarining to'plami (Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).

5. Yirik shoxli hayvonlarning respirator-sinsitial infeksiya diagnostikumlari-ning to'plami(Privolj biofabrikasi ishlab chiqaradi).

6. Parrandalarning N'yukasl va gripp kasalligi viruslarini identifikatsiyalash uchun to'plam (Pokrov biozavodi ishlab chiqaradi).

7. Tovuqlarning yuqumli bronxit kasalligiga diagnoz qo'yish uchun antigen va zardoblar to'plami (Vitebsk biofabrikasi ishlab chiqaradi).

8. Parrandalarning leykoz kasalligiga diagnoz qo'yish uchun preparat (Vitebsk biofabrikasi ishlab chiqaradi).

IZOHLI LUG'AT

Abortiv	- (lot.abortivus-kasallikka xos belgilarsiz)-kasallikning qisqa davom etib, yengil shaklda kechishi. Masalan, kasallikning klinik begilari aniq yuzaga chiqmasdan o'tsa (antibiotiklar, bakteriofaglar, vaksinalar yoki immun zardoblar ta'sirida), bunga kasallik abortiv o'tdi, deyiladi.
Absorbentlar	- (lot. absorbentia-yutuvchi) - absorbsiyalovchi, yutuvchi, so'rib oluvchi, shimuvchi moddalar. Masalan, aktivlangan ko'mir, eritrotsitlar.
Absorbsiya	- (lot. absorbere- shimib olish) - fizikaviy jarayon bo'lib gaz, nur yoki suyuq muhitdagi biror moddaning yutuvchi jism (absorbent)ning butun hajmiga yutilishi.
Adaptatsiya	- evolyutsion takomillashtirish davrida tirik organizmning tashqi muhitning doimo o'zgarib turadigan sharoitlariga moslashishi.
Aftalar	- (yarachalar) shilliq pardalar epiteliyning o'lgan (nekrozga ushragan) kichikroq joylari. Asosan og'iz bo'shlig'ining shilliq pardalarida paydo bo'ladi.
Agar	- dengiz suv o'tlaridan olinadigan mahsulot, suvdagi eritmasi ilvira hosil qiladi. Mikrobiologiyada mikroorganizmlarning yashashi va ko'payishi uchun qattiq, yarim suyuq ozuqa muhitlari tayyorlashda va emlash vositalari (vaksinalar) samaradorligini oshiruvchi modda sifatida ishlatiladi.
Agglyutinatsiya	- (lot. agglutinatio - yopishmoq) - korpuskulyar zarrachalar-viruslar, bakteriyalar, eritrotsitlar, leykotsitlar, trombotsitlar, to'qima hujayralari, korpuskulyar kimyoviy faol zarrachalarning ularga qarshi hosil bo'lgan antitelolar – agglyutininlar ta'sirida bir-biriga yopishib qolib, cho'kmaga tushishi.
Agglyutinatsiya (bevosita)	- bevosita yopishish, qon zardobidagi immun tanachalarning mikroblar bilan o'zaro birikish

Agglyutinatsiya (bilvosita)	jarayoni - bilvosita yopishish. Immun tanachlar qizil qon tanachalari vositasida antigenlar bilan yopishadi. Bunda immun tanachalariga (eritrotsitlarga) birikadi, so'ngra antigenlar bilan yopishadi.
Agressivlik	- tajovuzkorlik, masalan psixopatik holatlarda yuz beradi.
Allantois	- embrion qovug'i (siydik pufagi)
Amnion	- qog'onoqni o'rab turadigan ichki parda.
Anaeroblar	- kislorodsiz muhitdagina yashaydigan mikroorganizmlar (bakteriyalar).
Anafilaksiya	- organizmga parenteral yo'l bilan allergen yuborilgan zahoti kelib chiqadigan allergik reaksiyaning turi.
Anatoksinlar	- maxsus ishlov berilgandan so'ng o'z zaharli xususiyatlarini yo'qotib, antigen va immunogen xossalarini saqlab qolgan bakterial toksinlar.
Antibiotiklar	- mikroblar, hayvonlar va o'simliklar chiqaradigan moddalar; ayrim bakteriyalarning rivojlanishiga yo'l qo'ymaydi yoki ularni qirib yuboradi.
Antigenlar	- organizmga tushib, immunologik javob reaksiyasi paydo qiladigan har qanday moddalar o'ziga xos maxsus antitelolar hosil qilish bilan ifodalanadi.
Antikoagulyantlar	- qonnig ivish sistemasi aktivligini susaytiradigan moddalar.
Antitelolar	- organizmda antigenlar tushganda qon va to'qimalarda paydo bo'ladigan oqsil immun moddalar.
Aseptika	- xirurgik operatsiyalar, yaralarni bog'lash, endoskopiya va davolash hamda diagnostika maqsadlarida qilinadigan boshqa ishlarda bemorning (yaradorning) yarasi, to'qimasi, organlari, bo'shliqlariga mikro organizmlar tushurmaslikka qaratilgan tadbirlar sistemasi.
Auto..., Avto	- ma'nosiga ko'ra "o'ziniki", "asli" so'zlariga yoki "o'z-o'zidan" negizga mos keladigan

Autogemoterapiya	- murakkab so'zlarning tarkibiy qismi.
Autointoksikatsiya	- hayvonni o'z qoni bilan davolash.
Autoreproduksiya	- normal hayot faoliyatida, shuningdek turli kasalliklarda organizmda ishlanib chiqadigan zaharli moddalardan zaharlanish.
Avtoklav	- organizm yoki bo'laklarining takror ishlab chiqarish qobiliyatiga egaligi, shuningdek viruslarning ma'lum muhitda dastlabkiga o'xshash tuzilmalar sintez qila olishi.
Bakteriofag	- bosim ostida to'yingan suv bug'i bilan sterilizatsiya qilish uchun apparat.
Bunya viruslar	- bakterial hujayraga o'tib yashab, talay nasl qiladigan va shu jarayonni eriyib yuborib, bakteriyalar yashaydigan muhitga fag zarralar chiqarish qobiliyatiga ega bo'lgan virus.
Buyum shishasi	- bunyaviridae - oilasiga mansub 200 dan ortiq viruslarni birlashtiruvchi qon so'ruvchi hasharotlar orqali hayvon va odamlarga o'tadigan kasalliklarni qo'zgatadi. Masalan, Rift istimasi, Nayrobi kasalligi va boshqalar.
Detrit	- qalinligi 2-3 mm, eni 2,5 sm va bo'yi 5 sm bo'lgan shisha bo'lib, mikroskopik tekshirishlar o'tkazishda, virusologik, bakteriologik, gemotologik, gelmintologik va gistologik preparatlarni tayyorlashda ishlatiladi.
Dezinseksiya	- 1) yemirilib ketgan to'qimalarning qoldig'i; 2) chinchechak vaksinasi (chinchechak detriti).
Dezinfeksiya	- bo'g'im oyoqlilarga qarshi kurash chora-tadbirlari.
Dezoksiribonuklein kislotalari (DNK)	- (yuqumsizlantirish) - yuqumli kasalliklarni qo'zgatuvchi viruslarni fizikaviy va kimyoviy ta'sir etish yo'li bilan yo'qotish.
Ekologiya	- dezoksiriboz turidagi nuklein kislotalari, har bir hujayrada, DNK saqlovchi viruslarda, mikro-organizmlarda bo'ladi.
Epikriz	- biologiyaning organizmlarning tashqi muhit bilan o'zaro munosabatlarini o'rganadigan bo'limi.
	- kasallanish tugagandan so'ng kasallik

	hodisasini muhokama qilish; shu kasallik hodisasining sabablari, uni davolash va nima bilan tugaganligini tushuntiradigan oxirgi xulosa.
Epizootiya	- birorta infeksiyon kasallikning anchagina tarqalishi.
Epizootologiya	- epizootiyaning paydo b'lish va rivojlanish qonunlarini, ularni oldini olishni va kurashish bo'yicha tadbirlarni o'rganadigan fan.
Eritrotsitlar	- qizil qon tanachalari.
Etiologiya	- kasalliklarning sabablari va kelib chiqish sharoitlari to'g'risidagi ta'limot.
Fenotip	- organizmning individual rivojlanish davrida shakllangan hamma sifatlari va belgilari yig'indisi.
Filtrat	- filtrdan o'tgan suyuqlik.
Gastroenterit	- me'da va ingichka ichakning yallig'lanish kasalligi.
Gemagglyutinatsiya	- qizil qon tanachalarining yopishish va so'ng cho'kmaga cho'kish jarayoni, buni gemagglyutinlar (eritrotsitlarni yopishishga olib keluvchi antitelolar) bakteriya va viruslar, eritrotsitlar yuzasiga so'rilib qolish xususiyatiga ega bo'lgan moddalar keltirib chiqaradi. Gemagglyutinatsiya reaksiyasi qon quyish va qon guruhini aniqlash qonuniyatlariga asoslangan.
Gematogen	- (lot. haematogenous - qon orqali) - kasallik qo'zgatuvchisining qon orqali tarqalishi.
Gemoliz	- (gr. haima-qon, lysis-erish) - qondagi eritrotsitlarning parchalanib, ichidagi gemoglobinning tashqi muhitga chiqishi. Masalan, leptospiroz kasalligida uchraydi.
Gemolizinlar	- (gr. haemolysina)-qizil qon tanachalaridan (eritrotsitlardan) gemoglobinning ozod bo'lishiga olib keladigan, ya'ni gemoliz keltirib chiqaradigan moddalar (antitela).
Gemorragik diatez	- zaharlanish natijasida to'qimalarda ko'plab qon quyilishlar sodir bo'lishi. Bu holat ko'pincha virusemiya va bakteriemiya bilan kechadigan

	infeksion kasalliklarda (cho'chqalar o'lati, otlarning YUAN kasaliligi va h.k.) uchraydi.
Gen	- (gr. genos- avlod, kelib chiqish)- ajdodlarning irsiy axboroti mujassamlashgan DNK yoki RNK molekulalarining bir bo'lagi, irsiyatning eng oddiy birligi. Gen xromosomalarning uzunligi bo'yicha farq qiladigan maxsus qismlar (lokuslari)dan iborat bo'ladi. Hujaralar va umuman organizmning rivojlanishidagi har qanday belgining yuzaga chiqishi ana shu genlarga bog'liq.
Generalizatsiya	- kasallik jarayonining dastlab chegaralangan o'choq'idan butun organizm yoki a'zolarga tarqalishi.
Genetika	- irsiyat va organizm o'zgaruvchanligi haqidagi fan
Genotip	- (gr. genis-obraz, tip)- organizmning hamma irsiy omillari, ya'ni genlarning majmuasi-avloddan-avlodga beriladigan irsiy axborot, organizmning irsiy asosi.
Gen injeneriyasi	- DNKning rekombinant molekulalarini yaratish qonuniyatlarini va uning hujayraga ta'sirini o'rganadigan fan. Gen injeneriyasining maqsadi yangi rekombinant molekulali irsiy ajdodni yaratish, ya'ni hujayra irsiy molekulasiga virus DNKsining zarur irsiy qismini ulab, hujayrani tegishli moddani ishlab chiqarishga majbur qilish.
Gerpes	- virusli teri kasalliklari; morfologik jihatdan terida to'da-to'da pufakchalar toshishi bilan ta'riflanadi.
Gerpes viruslar	- (herpes virus)- ko'pchiligi yashirin kasallikka sabab bo'ladigan DNKli, hujayra yadrosida ko'payadigan viruslar oilasi.
Gidrofobiya	- (gr. hydor-suv, phobos-qo'rqish, suvdan qo'rqish)- suvdan qo'rqish, odam va hayvonlarda uchraydigan quturish kasalligida shunday belgi kuzatiladi.
Giperimmunizatsiya	- bakteriyalarga yoki toksinlarga qarshi maxsus

	zardob olish maqsadida hayvonlarni vaksinalar, toksinlar yoki tirik mikroblar bilan ma'lum tizim bo'yicha bir necha bor emlash.
Hujayra	- ikki asosiy qism – sitoplazma va yadro (mag'iz)dan tashkil topgan va barcha hayvon va osimlik organizmining tuzilishi, taraqqiyoti va faoliyatining asosi bo'lgan eng oddiy jonli sistema.
Immunitet	- organizmning infeksiyani yoki biror bir infeksiyon moddani o'ziga yuqtirmasligi
Immunizatsiya	- odam va hayvonlar orasida yuqumli kasalliklarning oldini olish choralari sifatida ularda immunitet hosil qilish usuli.
Immun zardoblar	- virus va virussiz antigen bilan immunlangan hayvonlar qonidan olinadigan va ichida tegishli spetsifik antitelolari bo'lgan zardoblar.
Immunologiya	- immunitet haqidagi ta'limot.
Immunoterapiya	- yuqumli kasalliklarni biologik preparatlar (vaksinalar, immun zardoblar yoki gamma globulinlar) bilan davolash usuli
Inyeksiya	- davolash yoki kasalni aniqlash maqsadida eritmalarini organizmga yuborish (teri ichiga, teri ostiga, mushaklar ichiga, qon tomiriga, bo'shliqlarga yoki chiqarish yo'llariga).
Ingredient	- biror murakkab birikma yoki qorishmaning tarkibiy qismi, komponent.
Infeksiya	- (infectio - yuqish, yuqtirish)- kasallik qo'zg'atuvchi virus va mikroblarning organizmga kirishi. Bu hol ma'lum klinik belgilari bilan o'tadigan yuqumli kasallikni keltirib chiqaradi. Belgisiz infeksiyalar ham mavjud. Kasallik qo'zg'atadigan virus va mikroblarning o'zi ham ba'zan infeksiya deyiladi.
Infeksion kasallik	- hayvon organizmida parazitlik qilishga evolutsion moslashgan virus va mikroorganizmlar qo'zg'atuvchi yuqumli kasallik. Odatda, bu kasallik bir hayvondan boshqasiga o'tishi, bosqichli rivojlanishi,

	makroorganizmning virus va mikroblarga qarshi maxsus reaksiyalari (allergiya va antitelalar) va kasallikdan tuzalgandan so'ng immunitet hosil qilishi bilan xarakterlanadi.
Infeksiya (alimantar infeksiya)	- (lot. alimentarus - oziq-ovqat)- kasallik qo'zg'atuvchisining og'iz orqali organizmga kirishi.
Infeksiya (aralash infeksiya)	- organizmga ikki va undan ortiq kasallik qo'zg'atuvchilari tushgan paytda yuzaga keladigan kasallik (har xil virus va bakteriyalar).
Infeksiya (assosialangan infeksiya)	- (associatio - birlashgan)- hayvon organizmiga kirgan har xil virus va mikroorganizmlarning birgalashib qo'zg'atadigan infeksiyasi. Bu holda sinergizm, ya'ni bir turdagi mikroblar kasallik qo'zg'atish xususiyatining ikkinchi turdagi mikroblar evaziga kuchayishi kuzatilishi mumkin. Masalan, qotma kasali mikrobini kasallik qo'zg'atish qobiliyatini stafilakokklar oshirib yuboradi. Ammo ayrim hollarda bu hodisaga qarama-qarshi hodisa mikroblar antagonizmi ham kuzatilishi mumkin. interkurent kasalligiga qarang.
Infeksiya (aerogen infeksiya)	- (gr. aer - havo, genes - hosil bo'lish)- kasallik qo'zg'atuvchilarining havo orqali organizmga tushishi evaziga hosil bo'lgan infeksiya.
Infeksiya (bakterial infeksiya)	- bakteriyalar qo'zg'atadigan infeksiya.
Infeksiya (belgisiz infeksiya)	- ko'rinmaydigan, yashirin, klinik belgilar namoyon qilmaydigan yuqumli kasallik. Uni immunobiologik reaksiyalar, mikrobiologik, virusologik usullar yordamida aniqlanadi.
Infeksiya (ekzogen infeksiya)	- (lot. exo - tashqari, genes - tug'ilish, hosil bo'lish) - hayvon organizmiga tashqi muhitdan tushgan patogen virus va mikroblar paydo qilgan kasallik.
Infeksiya (jarohat infeksiyasi)	- yaralarga, ayniqsa, chuqur yaralarga ayrim kasallik qo'zg'atuvchi mikroblar kirishi natijasida yuqtirilgan infeksiya. Bu holat

	ko'proq qotma kasalligi misolida namoyon bo'ladi.
Infeksiya zamburug'li infeksiya)	- patogen zamburug'lar paydo qiladigan infeksiya.
Infeksiya (yiringli infeksiya)	- yiring hosil qiluvchi mikroorganizmlar infeksiyasi.
Infeksiya (oddiy infeksiya, monoinfeksiya)	- virus yoki mikroorganizmning bir turi paydo qilgan infeksiya.
Infeksiyalangan	- hayvon organizmida kasallik qo'zg'atuvchi mikroblar va viruslarning mavjudligi.
Infeksion ekzantema	- (gr. exanthema-toshma) - terining o'choqli yallig'lanib shikastlanishi bo'lib, ayrim yuqumli kasalliklar natijasida paydo bo'ladi. Masalan, hayvonlarning chechak kasalligida shunday holat kuzatildi.
Inkubatsion davr	- organizmga infeksiya tushgan vaqtdan kasallikning klinik alomatlari yuzaga chiqquncha o'tgan davr.
Inkubatsiya	- ma'lum bir belgilangan haroratda parranda tuxumidan jo'ja chiqishi. Virusologik tekshirishlarda 8-12 kunlik tovuq embrioni va viruslarni me'yorida o'stirish uchun ularni tegishli haroratda hamda ma'lum muddatlarda saqlash.
Interferon	- (lot. inter- o'zaro, ferio-zarba, zararlash)- virusli kasalliklarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladigan, virus bilan zararlangan hujayrada bo'ladigan oqsil, past molekulali glikoproteid. Uning molekulyar o'g'irligi 20-40 ming dal'ton, virusni o'ldirmaydi, hujayralar uchun zaharsiz. Umumiy chidamlilik shakllanishida interferon muhim ahamiyatga ega. Bir virusga hosil bo'lgan interferon ikkinchi boshqa viruslarning ko'payishiga ham to'sqinlik qiladi.
Intoksikatsiya	- (lot. in-da gr. toxsikon- zahar)- organizmga tashqaridan kirgan (ekzogen) yoki organizmning o'zida hosil bo'lgan (endogen)

	moddalarning umumiy ta'siri natijasida vujudga kelgan zaharlanish holati.
Iridoviruslar	- iridoviridae oilasiga mansud DNKli virus. Masalan, cho'chqalarda Afrika o'lati kasalligi qo'zg'atuvchisi.
Kalitsiviruslar	- (lot. calyx-tovon)-caliciviridae oilasiga mansub RNKli virus. Shakli qavariq, diametri 35-39 nm, sirtida 32 kosachasimon o'ymasi ikosaedr tartibida joylashgan. Cho'chqalarda vezikulyar ekzantema kasalligini qo'zg'atadi.
Kasallanish	- biror bir kasallik bilan og'rigan hayvonlar sonini xarakterlovchi ko'rsatkich, kasalga uchragan hayvonlarning shu kasalga moyil u yoki bu guruhdagi hamma hayvonlarga nisbatii. Bu ko'rsatkich 100, 1000, 10000, hayvonga nisbat qilib olinadi. Masalan, shu kasallikka moyil 1000 boshdan 15 tasi kasal bo'lsa, 1,5 foizni tashkil etadi.
Kasallik qo'zg'atuvchisining yuqish mexanizmi	- evolutsion taraqqiyot davrida biologik moslashgan kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlardan har bir turning tegishli manbadan shu mikrobgga moyil sog'lom hayvonlarga o'tishining ma'lum yo'llari kasallik qo'zg'atuvchisining yuqish mexanizmi uning hayvon organizmidan chiqishi, tashqi muhitda turishi va yangi organizmga kirib, kasallik paydo qilish jarayonlarini o'z ichiga oladi.
Kaprinlashganlik	- (lot. caprinus-echki)- echki organizmida viruslarni o'stirish va saqlash natijasida ularning shu orgaizmga moslashishi.
Kapsid	- (lot. capsula-quti) - virionning tarkibiy qismi, qobig'i, uning nuklein kislotasini tashqi muhitdan himoya qiladi, kapsomerlar birikmasidan tashkil topgan.
Kapsomerlar	- (lot. capsula, meros- qism) - virion kapsidini hosil qiluvchi shakily birlik, virion tarkibining assimmetrik guruhlari, bir va bir necha assimmetrik oqsil molekulasidan tuzilgan.

Karantin	- (itl. <i>quarantia giorni</i> - qirq kun) - vaqtinchalik tadbirlar tizimi bo'lib yuqumli kasalliklarning tarqalishini cheklash, kasallikni aynan paydo bo'lgan o'choqda saqlab uni butunlay tugatishga imkon yaratish.
Karantinli kasalliklar	- Davlat veterinariya Bosh Boshqarmasi tomonidan ro'yxat qilingan yuqumli kasalliklar bo'lib ular paydo bo'lganda, albatta karantin qo'yiladi. Bunday kasalliklarga oqsil, kuydirgi, o'lat, qorason, otlar manqasi, cho'chqalar saramasi va boshqalar kiradi.
Kiritma tanachalari	- virus bilan zararlangan hujayralardagi xarakterli morfologik o'zgarishlar. Bularning shakllari va o'lchamlari har xil bo'ladi. K.t. hujayralar yadrosi yoki sitoplazmasida joylashishi mumkin. Ayrim virus kasalliklariga diagnoz qo'yishda juda katta ahamiyatga ega. Masalan, quturish kasalligida – Babesh - Negri K.t., odamlarning chechagida - Gvarnieri, tovuqlar chechagida – Bollinger, itlar o'latida Lentsa, tovuqlarning yuqumli laringotraxeit kasalligida Zeyfred, qo'ylarning chechak kasalligida Borrel, K.t. va h.k. Virus bilan zararlangan hujayralar maxsus usullar bilan bo'yaladi va bu K.t. oddiy mikroskopda ko'riladi.
Klon	- (gr. <i>klon</i> – nasl, urug') - bir bakteriya, hujayra yoki virusning nasli, shuningdek, virus yoki bir hujayrali (ko'p hujayrali) organizmning vegetativ yo'l (jinssiz ko'payish yo'li) bilan hosil qilingan, irsiy jihatdan bir xil xususiyatga (belgiga) ega bo'lgan ajdodi.
Kontaminatsiya-	- (lot. <i>contaminatio</i> , aralashma) - em - xashak, suv, tuproq, ish qurollari va hayvon tanasining tashqi qismlari va boshqa ob'ektlarni patogen mikroorganizmlar, viruslar bilan ifloslanishi, infeksiyon moddalarning yuqishi;
Kontagiozlik	- (lot. <i>contagiosis</i> - yuqumli) - yuqumli kasalliklarning nechog'lik tez yuqa olishini

	ifodalaydigan atama. Juda tez va keng tarqaluvchi kontagioz kasalliklarga oqsil, chechak, cho'chqalarning o'lati, otlarning gripp kasalliklari kiradi.
Konservalash	- (lot.conservare-saqlash)- fizikaviy va kimyoviy ta'sir etib, ayrim narsalarni (mikroorganizmlar, viruslar,qon, organ yoki to'qima va h.k.larni) uzoq vaqt ichida o'z xususiyatlarini o'zgartirmay turgun holda saqlash usuli.
Laboratoriya hayvonlari	- oq sichqon, kalamush, dengiz cho'chqachasi, quyon singari mayda hayvonlar ilmiy, amaliy maqsadlar uchun foydalaniladi.
Lapinlashgan shtammlar	- (fr. lapin - quyon) quyon organizmiga moslashgan, uning organizmida ko'paygan mikroorganizmlar yoki viruslar.
Lateks	- (lot. latex - nam, suyuqlik) - sutsimon suyuqlik, kauchukli va boshqa daraxtlarda bo'ladi. Antigenlar ushbu manbadan tayyorlangan tanachalarga biriktiriladi va adsorbent sifatida serologik reaksiyalarda foydalaniladi.
Lateks test	- agglyutinatsiya usuli, bunda antigen yoki antitelolarni shimdirish uchun neytral moddalardan foydalaniladi, bu esa reaksiya sezgirligini keskin oshiradi.
Latent davr	- (lot. latentis - yashirin) - kasallikning yashirin davri, kasallik qo'zg'atuvchisi organizmga kengandan keyin kasallikning biror klinik yoki morfologik belgisi paydo bo'lgunicha oradan o'tadigan davr.
Letal doza	- (LD-50) (lot. letalis - o'lim)- virus va mikro-organizmlarning tajribadagi hayvonlarning 50 foizini o'ldiradigan miqdori.
Letallik	- kasallikning nechog'lik og'ir o'tayotganini ifodalaydigan intensiv ko'rsatkich bo'lib, kasallikdan o'lgan hayvonlar bosh sonining kasallangan hayvonlar umumiy soniga bo'lgan nisbatidir.
Leykoviruslar	- parranda, mushuk, sichqon, yirik shoxli hayvonlarda leykoz kasalligini qo'zg'atadigan

	RNKli viruslar, Retroviridaye oilasi, onkornaviruslar birinchi guruhli S turiga mansub.
Leykoz	- (gr. leukosis – leykemiya - turg'un leykotsitoz) - o'sma tabiatli yuqumli virus kasallik, oq qon tanachalari hosil qiladigan to'qimalarning ortiqcha faoliyati natijasida qonda to'la shakllanmagan leykotsitlarning haddan tashqari ko'payib ketishi bilan ta'riflanadi. RNKli onkovirus qoramol, qo'y va parrandalarda leykoz kasalligini qo'zg'atadi.
Leykemiya	- (oq qonlik) - sistema kasalligi bo'lib, oq qon tanachalari hosil qiladigan to'qimalarning o'sib ko'payib ketishi bilan ta'riflanadi.
Monovaksinalar	- (gr. monos - bir) - bir turdagi kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlangan vaksina. Masalan, kuydirgiga, o'latga, saramasga qarshi vaksinalar.
Mutagen faktorlar	- mutatsiyalar paydo bo'lishiga olib boradigan tashqi muhit omillari (ionlashtiruvchi nurlanish, ultra binafsha nurlar, qator kimyoviy birikmalar va b.)
Mutatsiya	- (lot. mutatio - o'zgarish) - gen va gen turkumlarining irsiy xususiyatlari boshqacha bo'lib qolgan o'zgarishlar, ya'ni organizmda vujudga keladigan har qanday irsiy o'zgarishlar. M. nuklein kislotalarning tarkibidagi o'zgarishdir. M. hamma tirik mavjudotlarga - viruslardan odamlargacha xosdir.
Neyraminidaza	- ortomiksoviruslar tarkibiga kiruvchi ferment-enzim katalizator bo'lib, uning ishtirokida eritrotsitlardagi virus retseptorlari yemiriladi va viruslarning hujayradan chiqib, erkin tarqalishiga imkon tug'iladi.
Neyrogen	- (gr. nueron - asab, nerv - genes) - asab to'qimalarining zararlanishi natijasida kasallikning vujudga kelishi. Asab tolalari orqali virusning yo'nalishi. Masalan, quturish

Neyrotrop	kasalligi virusi N. virusdir. - (gr. neuron + tropos - yo'llanish) - zaharli moddalar, mikroblar va viruslarning asab to'qimalariga tanlab ta'sir etish xususiyati. Masalan, quturish, skrepi, ensefalomielit, aueski viruslari.
Nomukammal viruslar	- nuklein kislotasi bo'lmagan, lekin antigen xususiyatini saqlab qolgan virionlar. Bunday virionlar birinchi marta ortomiksoviruslarda qayd qilingan.
Nukleoid	- (lot. nucleus - yadro, gr. eidos - tur) - virusning nuklein kislotali markaziy qismi, bakteriyalarning o'zagi – yadrosi. N. mukammallashmagan mikroorganizmlarda (prokariotlarda) ham mavjud. Prokariotlarning yadrosi katta xromosomadan tashkil topgan, ya'ni protoplazmadan membrana bilan chegaralanmagan bo'ladi.
Oqsil	- odatda kasal hayvonlardan o'tadigan, viruslar qo'zg'atadigan o'tkir infeksiyon kasallik. Isitma, og'iz, burun, til shilliq pardasida, tuyoqlar orasida yarachalar hosil bo'lishi bilan o'tadi.
Organizm reaktivligi	- (lot. re-yana, aktivus-ta'sirli, faol) – Organizmning tashqi muhitning yot ta'sirlariga o'z faoliyatini o'zgartirish bilan javob berish xusu-siyati. Reaktivlik tashqi muhitning yot sharoitiga organizm moslashuvini ta'minlaydi. Reaktivlik patologik ta'sirlar ostida organizm faoliyatida kuzatiladigan o'zgarishlardir.
Organizmga qo'zg'atuvchining kirish yo'llari	- hayvon organizmiga kasallik qo'zg'atuvchisining kirish yo'llari turlitumandir. Terining jarohatlangan yuzasi va shilliq pardalar infeksiya darvozasi hisoblanadi. Aksariyat kasallik qo'zg'atuvchilari hayvon organizmiga kirish yo'llarida evolutsion tarzda moslashib olgan.
Organizmdan kasallik qo'zg'atuvchisining	- kasallik qo'zg'atuvchilari tashqi muhitga hayvon organizmidan turli mahsulot va chiqindilar (sut, so'lak, siydik, najas hamda

chiqarilishi	ko'z, burun, shuningdek, jinsiy a'zolaridan oqib chiqayotgan va h. k.) orqali ajralib chiqadi. Bundan tashqari, yo'tal paytida, shuningdek, teri yaralaridan va qon orqali ham kasallik qo'zg'atuvchisi ajralib chiqadi.
Pandemiya	- (gr. pan – hamma, pandemos-umumiy, umumxalq) – bir necha mamlakatlarni qamrab olgan, halq orasida keng tarqalgan epidemik kasalliklar. Masalan gripp, OITS va boshqalar.
Panzootiya	- (gr.pan + zoon - hayvon) - epizootik jarayonning eng shiddatli yuqori darajasi bir necha mamlakat va qit'alarni qamrab oladigan hayvonlar kasalliklari epizootiyasi. Masalan, oqsil, qoramollar o'lati.
Papula-	- teri sathidan ko'tarilib turadigan zich tuguncha; teriga toshadigan toshma elementi.
Papovaviruslar	- Papovaviridae oilasiga mansub DNKli viruslar, ikki avlodni o'z ichiga oladi: papilomavirus va poliomavirus. Hayvonlarning ko'p turlarida 20 xildan ziyod so'gal o'sma paydo qiladi.
Papullalar	- (lot. papula - tuguncha) - yuqumli ekzantema ko'rinishlaridan biri bo'lib, terida uncha katta bo'lmagan qattiq tugunchalarning paydo bo'lishi. Masalan, chechak kasalligida bo'ladi.
Paraagglyutinatsiya	- (gr. para - yaqinida) kasallangan va kasallikdan sog'aygan hayvonlarning qon zardobi bilan shu kasallik qo'zg'atuvchisi bo'lmagan mikroblarning agglyutinatsiyalanishi.
Paraallergiya	- (gr. para + lot. alleus - boshqa ta'sir) – sensibillangan hayvon organizmi sezuvchanligining maxsus bo'lmagan allergenlar ta'siri ostida o'zgargan holati.
Paraimmunitet	- (gr. para) – asosiy qo'zg'atuvchi: virus va mikrobg'a nisbatan immunitet hosil bo'lishi bilan bir qatorda asosiy bo'lmagan, ya'ni unga yaqin hamroh virus va mikroblarga ham immunitet hosil bo'lishi.
Parainfeksiya	- (gr. para + lot. infektio - yuqish) - ayrim mikroblar to'dasi ta'siri ostida boshqa bir

	mikro-organizmlarning xususiyatini o'zgarishi tufayli vujudga kelgan infeksiya
Parenteral	- (gr. para + enteron - ichak) - hamma dorivor narsalarni ichak oshqozon yo'lidan emas, bosh- qa yo'l bilan organizmga yuborish. Masalan, teri ichiga, teri orasiga, mushak orasiga, qon tomiriga va h. k.
Passaj	- (fr. passage - o'tish) – mikroorganizm va viruslar bilan ularga moyil bo'lgan hayvonlarni, tovuqlar embrioni va o'stirilgan hujayralarni kasal qo'zg'atuvchilari bilan ketma-ket yuqtirish. P. viruslarni sof holda saqlash, ajratib olish, sonini ko'paytirish va faolligini doimo bir me'yorda saqlash uchun imkoniyat yaratadi.
Pasterizatsiya	- pasterlash, maxsus idishlarda sutni ma'lum bir issiqlik (65° - 70° C) ta'sirida zararsizlantirish P. bir necha daqiqa davom etadi va sut tezlik bilan $10-11^{\circ}$ C gacha sovutiladi. Bu rejimda mikroblarning vegetativ shakllari faolsizlanadi.
Patogenezi	- (gr. pathos – dard, kasallik va genos) kasallikning avj olib borishi, rivojlanish yo'li.
Patogenlik	- mikroorganizmlar va viruslarning kasallik qo'zg'atish qobiliyati. Patogenlik mikroor- ganizm va viruslarning o'simliklar, hayvonlar, odamlar, umuman tirik mavjudotlar organiz- mida tekinxo'rlikka moslashish jarayonida vujudga kelgan murakkab kasallik qo'zgata olish xususiyatlari majmuasi. P. ma'lum bir tur mikrobning o'ziga xos belgisidir, ya'ni har bir mikrob faqat ma'lum bir yuqumli kasallikni qo'zg'atadi, xolos. Ammo aynan shu tur mikrobning har xil shtammlari shu patogenlik- ka ega bo'lishi mumkin. P. mikroorganizm va viruslarning virulentligini belgilaydi.
Pepllos	- (gr. peplos - palto) - peplomerlardan tashkil topgan ayrim tur viruslarning tashqi qobig'i.
Peplomerlar	- lipidlardan tashkil topib, virionning lipoproteid qobig'ida bo'rtma hosil qiluvchi shakliy birlik.
Permissiv harorat	- (ing. permissive - imkoniyat yaratish) –

viruslarni maxsus muhitlarda ko'payishi uchun 37°C permissiv harorat hisoblanadi. P. H. viruslardan mutant olish uchun imkoniyat yaratadi.

Pikornaviruslar

- (gr. piccolo- kichik)- picornoviridae oilasiga mansub RNKli kichik o'lchamli viruslar, to'rt avlodni o'z ichiga oladi (enteroviruslar, kardioviruslar, rinoviruslar, aftoviruslar). Bu viruslarning kapsidi ikosaedrik shaklda, diametri 25-40 nm, lipoproteid qobig'i yo'q. Virionlar sun'iy sharoitda bir xil shaklda o'sadi, hujayralarda yaxshi ko'payadi.

Pretsipitinlar

- pretsipitatsiya reaksiyasida qatnashadigan antitelolar. Pretsipitatsiyada hosil bo'lgan cho'kma.

Prionlar

- (proteinli infeksiyon zarrachalar) - sekin rivojlanuvchi yuqumli kasalliklarning qo'zg'atuvchilari. P. oqsil bo'lib, ular tirik hujayralarda ko'payadi, lekin ularda RNK va DNK borligi aniqlanmagan, qoramollarda yuqumli ensefalopatiya, qo'ylarda skrepi va odamlarda Kreysfeld -Yakoba, kuru kasalliklarini qo'zg'atadi. P. Tashqi muhit omillariga juda chidamli. Masalan, 30 daqiqa qaynatish uning faolligini pasaytirmaydi. P. Formalin, fermentlarga: DNKaza, RNKaza pepsin, tripsinga chidamli. P.ning kattaligi 17-27 nm, San-Fransiskodagi Kaliforniya universitetining tibbiyot maktabida 1984 yilda S.P.Prusner birinchi marta aniqlagan.

Provirus

- to'la yetilmagan virus zarrachasi, har xil omillarning (ultrabinafsha nurlari, har xil moddalar) hujayralarga ta'siri natijasida virus genomi bilan birikkan xromosomalardan ajralgan DNKdan hosil bo'lgan. U odatdagidek reproduksiya bosqichlarini o'tib, virus avlodlarini paydo qiladi. Proviruslarda yangi virus vujudga kelishi uchun kerak bo'lgan barcha axborotlar mavjud.

Produtsent	- (lot. producentis - ishlab chiqaruvchi) - bu atama veterinariya fanida keng ishlatiladi. Masalan, ayrim zaharli mikroskopik zamburug'lar rivojlanib ko'payishi davrida mikotoksinlarni ishlab chiqaradi, ular produtsent hisoblanadi.
Prolongatsiya	- (gr.prolongation - uzaytiruvchi) - ta'sir muddatini uzaytirish. Aksariyat hollarda dori-darmonlarning organizmga ta'sirini uzaytirishni ifodalaydigan ibora. Buning uchun har xil ad'yuvantlardan, polimerlardan foydalaniladi.
Properdin	- (pro-uchun, perdere-o'ldirmoq, halok qilmoq, buzmoq) - o'zida komplementning ayrim komponentlarini va magniy ionlarini saqlovchi, normal qon zardobining oqsili bo'lib, mikrobg qarshi omildir. P. termolabil immunoglobulin deb faraz qilinadi, lekin ular antitelolardan farq qilib, maxsus ta'sir qilmaydi. Ko'pchilik mikroorganizmlarga va viruslarga halokatli ta'sir etadi. Qonning bakteritsidlik xususiyati properdinga bog'liq.
Profilaktik tadbirlar	- (gr. prophylaktikos - oldini olish) - yuqumli kasalliklar paydo bo'lishi va tarqalishining oldini olishga qaratilgan tadbirlar majmuasi.
Poliomielit-	- markaziy nerv sistemasining viruslar keltirib chiqaradigan o'tkir kasalligi.
Poliribosomalar- (polisomalar)	xabar beradigan RNK molekulasi yordamida - kompleks bo'lib birikkan bir nechta (5-70) ribosomalar. Poliribosomalar yirik oqsil molekulalarining sintezlanish jarayonida hosil bo'ladi.
Proliferatsiya-	- hujayralarning bo'linib ko'payish yo'li bilan yangitdan hosil bo'lishi.
Profilaktika-	- kasalliklarning paydo bo'lishi va tarqalishining oldini olish, aholi va hayvon sog'lig'i va jismoniy taraqqiyotini muhofaza qilish va mustahkamlashga qaratilgan tadbirlar majmuasi.
Psevdoagglyuti-	- (gr. pseudes - soxta, lot. agglutinatio, onis -

natsiya	yopishtirish, to'plash) - muhitdagi kislota, ishqor, tuz konsentratsiyasi, harorat va boshqa omillar muvozanatining o'zgarishi natijasida bakteriyalar, eritrotsitlar, leykotsitlar, trombositlarning yopishishi va cho'kmaga tushishi.
Psevdovirionlar	- hujayra DNK sining parchasidan hosil bo'lgan, virus qobig'iga o'ralgan virus zarrachasi. P. biosferada irsiy axborot tashuvchisi bo'lishi mumkin.
Pustula	- ba'zi dermatozlar va yuqumli kasalliklarning - elementi sifatida terida paydo bo'ladigan moddacha, yiringli pufakcha.
Rabdoviruslar	- RNKli silindrsimon viruslar bir uchi qayrilgan bo'lib uzunligi 170 nm, diametri 70 nm keladi, Rhabdoviridae oilasiga kiradi. Lipoproteidli qobig'i bo'rtib chiqqan peplomerlar bilan qoplangan, g'ilofi o'qsimon. Bu oilaga hayvonlarda kasallik qo'zg'atadigan viruslardan (lyssavirus, Vesiculovirus) tashqari hashorotlar va o'simliklarning ayrim viruslari ham kiradi.
Radioimmunologiya usuli (RIU)	- viruslar qo'zg'atadigan kasalliklarni aniqlashda qo'llaniladigan immunologik usul bo'lib, uning yordami bilan patologik materialda virus antigeni aniqlanadi. Shu usulda hayvonning virusga chidamliligi, toq va juft qon zardoblarda immunoglobulin (antitelolar) miqdorining oshishi tekshiriladi.
Rekonvalessensiya	- kasallikdan tuzalib kelayotgan davr, bunda kasallikning klinik belgilari bo'lmasada, lekin organizmning dastlabki holati to'liq tiklanmagan bo'ladi.
Remissiya	- kasallikning yengillashishi
Retseptorlar	- sezuvchan (afferent) nerv tolalarining oxirgi qabul qiluvchi qismlari hisoblangan maxsus tuzilmalar.
Rezistentlik	- (chidamlilik) - qarshilik: 1) organizmning patogen omillar ta'siriga chidamliligi;

Ribonuklein kislota-	- 2) mikroblarning antibiotiklar, sulfanilamidlar va boshqa kimyoviy moddalarga chidamliligi (RNK) polimer modda bo'lib katta molekulasi polinukleotid spiralsimon zanjirlardan iborat. RNK hujayra sitoplazmasi va yadrocha tarkibiga kiradi.
Ribosomalar-	- sitoplazmada erkin joylashgan, tarkibida ribosoma RNKsi bo'ladigan va sitoplazmada oqsillar sintezlanadigan markaz hisoblanadigan sferik elektron - tig'iz donalar.
Rikketsiozlar-	- odam va hayvonlarning rikketsiyalar qo'zg'atadigan yuqumli kasalliklari guruhi.
Sensibilizatsiya	- organizmning biror allergenga sezuvchanligini orttirish jarayoni.
Sepsis	- odatda organizmda mahalliy infeksiyon jarayon borligi tufayli kelib chiqadigan umumiy infeksiyon kasallik.
Serologiya	- immun zardoblar bilan bog'langan diagnostik va eksperimental usullar haqidagi fan.
Seroprofilaktika	- immun zardoblar yordamida odam va hayvonlar yuqumli kasalliklarining oldini olish usuli.
Seroterapiya	- kasalliklar (asosan yuqumli kasalliklar)ni immun zardoblar yordamida davolash usuli
Simptomlar	- vrach kasal hayvonni tekshirganda topiladigan va kasallikni aniqlashda hamda uning oqibatini bilishda foydalaniladigan belgilar.
Simptomatik davolash	- kasallikning sababi va rivojlanish mexanizmlariga maqsadga muvofiq ta'sir qilmasdan turib simptomlar (belgilari)ni davolash.
Stress	- tashqi yoki ichki muhitning turli noqulay omillari ta'siriga javoban paydo bo'ladigan ruhan zo'riqish holati.
Tolerantlik	- ummun barqarorlik, ma'lum antigenlarga nisbatan spetsifik reaktivlikning bo'lmasligi.
Toun (o'lat)	- antropozoonozlar guruhiga kiradigan o'tkir yuqumli kasallik.
Transduksiya	- irsiy ma'lumotni bir hujayradan ikkinchi

	hujayraga o'tish mexanizmi.
Transplantatsiya	- odam va hayvonlar organizmi qismlarini (organ va to'qimalarini) ko'chirib o'tqazish
Transformatsiya	- o'zgarish, o'zgartirish, shakl yoki tuzilishning o'zgarishi
Tripsin	- proteinazalar guruhiga kiradigan ferment. Me'da osti bezi ishlab chiqaradigan shiradagi proferment tripsinogenga enterokinaza ta'sir qilganda ichakda hosil bo'ladi.
Vaksina	- (lot. vaccinum) - maxsus biologik preparat bo'lib, kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlanadi. Asosan kasallikning oldini olish uchun ishlatiladi.
Vaksina (alimantar vaksina)	- ozuqa, suvga qo'shib hayvonga beriladigan yoki g'ilof, zond bilan ovqat hazm qilish yo'li orqali yuboriladigan vaksina.
Vaksina (deponent vaksina)	- tarkibiga sekin so'riluvchi moddalar (achchiqtosh, yog' eritmalari) qo'shilgan vaksina
Vaksina (monovalent vaksina)	- bitta yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi antigenidan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (polivalent vaksina)	- bir nechta yuqumli kasallik qo'zg'atuvchi antigenidan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (tirik vaksina)	- kuchsizlantirish yoki zaiflatish tufayli kasallik paydo qilish xususiyatini yo'qotgan, ammo immunogenlik xususiyatini saqlagan kasallik qo'zg'atuvchilaridan tayyorlangan vaksina.
Vaksina (fa'olsizlantirilgan vaksina)	- mikroorganizmlar va viruslarning antigenlik xususiyatlarini yo'qotgan holda ularning infeksiyon faoliyatini kimyoviy yoki fizikaviy ishlov berish yo'li bilan butunlay yo'qotib tayyorlangan vaksina.
Vaksinapofilaktika	- yuqumli kasalliklarning oldini olish maqsadida vaksina bilan emlash.
Vaksinoterapiya	- vaksina bilan davolash.
Vakuola hosil qiluvchi virus	- papovaviridae oilasiga mansub, hujayralarning morfologik xususiyatini o'zgartiruvchi virus. Ular hujayrada bo'shliq hosil qiladi.

Vezikula	- (lot. vesicula, at, f – toshma - pufakcha) - teri toshmalarining dastlabki morfologik elementlaridan biri; teri tashqi qavati (epidermis)da ekssudat (suyuqlik) to'planishidan hosil bo'lgan pufakcha.
Virulentlik	- muayyan infeksiya agentning (mikrob stammi yoki virusning) kasallik chaqirish (patogenlik) darajasi.
Virusologiya	- viruslar va virusli kasalliklar haqidagi ta'limot.
Viruslar	- turli xil yuqumli kasalliklarni keltirib chiqaruvchi hujayralar ichida bo'ladigan kichik mikroorganizmlar.
Vital bo'yoq	- tirik hujayra va to'qimalarni amalda ziyonsiz va bir qator bo'yoqlar (qizil neytral, tripan ko'ki va b.) bilan bo'yash; bo'yoq moddasi organizmga yuboriladi.
Xromosomalar	- hujayra yadrosining ipsimon, o'z-o'zidan paydo bo'ladigan murakkab ixtisoslashgan, irsiyat faktorlari (genlar)ni chiziqli tartibda tutgan struktur elementlar.
Yo'riqnoma	- biologik preparatlarni, kimyoviy terapevtik dori-darmonlarni ishlatish to'g'risida Davlat veterinariya Bosh Boshqarmasi tomonidan qabul qilinib tasdiqlangan hujjat, yo'riqnoma.
Zardob	- 1) suyuqlikning (mas., qon, limfa, sut va h.k) suvli tarkibiy qismi; 2) seroz pardalar yuzasini namlab turadigan tiniq suyuqlik .

MUNDARIJA

UMUMIY VIRUSOLOGIYA

- 1-MAVZU. Viruslarning asosiy xususiyatlari, virus saqllovchi material bilan ishlash qoidalari va xavfsizlik texnikasi.....
- 2-MAVZU. Patologik materialni olish va ishlov berish.....
- 3-MAVZU. Patologik materialda virionlarni va kiritma tanachalarni uchratish yo'li bilan viruslarni indikatsiyalash.....
- 4-MAVZU. Laboratoriya hayvonlari va ularni virusologiyada qo'llanilishi.....
- 5-MAVZU. Tovuq homilalarining virusologiyada qo'llanilishi.....
- 6-MAVZU. O'stirilgan hujayralar va ularni virusologiyada qo'llanilishi
- 7-MAVZU . Viruslarni titrlash
- 8-MAVZU. Viruslar uchun gemagglyutinatsiyani to'xtatish reaksiyasi (GATR) yordamida antitelolarni titrlash.....
- 9-MAVZU. Neytrallash reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....
- 10-MAVZU. Gelda diffuziyali pretsipitatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....
- 11-MAVZU. Bilvosita gemagglyutinatsiya reaksiyasi va uning virusologiyada qo'llanilishi.....
- 12-MAVZU. Nurlanuvchi antitelolar usuli (NAU) va uning virusologiyada qo'llanilishi.....
- 13-MAVZU. Diagnostik masalalarni echish.....

XUSUSIY VIRUSOLOGIYA

- 1-MAVZU. Quturish kasalligiga laboratoriyada diagnost qo'yish.....
- 2-MAVZU. Chechak kasalligiga laboratoriyada diagnost qo'yish.....
- 3-MAVZU . GATR-yordamida parrandalardagi gripp virusini, N'yukasl kasalligi virusidan differentsiatsiyalash.....
- 4-MAVZU. KBR yordamida oqsil kasalligining turini aniqlash.....
- 5-MAVZU . Yirik shoxli hayvonlarning paragripp kasalligiga laboratoriyada diagnost qo'yish
- 6-MAVZU. Biofabrikalarda ishlab chiqilgan diagnostik to'plamlar yordamida buzoqlarning pnevmoenterit kasalligini differentsiallashtirish.....
- ILOVA. Virus kasalliklarini o'rganish uchun o'tkaziladigan mashg'ulotga uslubiy tavsiyanoma.....

Hayvonlarning viruslar qo'zg'atadigan kasalliklarini modellashtirilgan holda diagnostik tekshirish.....	
Buzoqlarning virusli pnevmoenteritlari.....	
Parrandalarning virusli respirator kasalliklari	
Aueski kasalligi.....	
Qo'ylarning chechak kasalligi.....	
Marek kasalligi.....	
Hayvonlarning virus kasalliklarini o'rganish uchun zarur diagnostikumlar ro'yxati.....	
Izohli lug'at.....	