**Məşğələ 11.**

**Bakterioloji üsul. Aerob və anaerob bakteriyaların təmiz kulturasının alınması (II gün və III gün). Bakteriyaların kultural xassələri. Bakteriyaların fermentativ aktivliyə görə identifikasiyası. Müasir identifikasiya üsulları**

**Məşğələnin planı:**

1. “Mikroorqanizmlərin kultivasiyası”, “kultura”, “klon”, “koloniya” və “ştamm” anlayışları.
2. Mikroorqanizmlərin həyat fəaliyyəti məhsulları: fermentlər və piqmentlər, aromatik maddələr və onların əhəmiyyəti.
3. Bakteriyaların kultural xassələri - koloniyaların makroskopik və mikroskopik müayinəsi (ölçüsü, forması, rəngi, şəffaflığı, konsistensiyası, yerləşməsi, səthi, kənarları və strukturu).
4. Koloniyaların sayılması, KƏV-in müxtəlif patoloji materiallarda mahiyyəti.
5. Bakterial fermentlərin təsnifatı.
6. Bakteriyaların biokimyəvi xüsusiyyətləri və identifikasiyasında fermentlərin rolu.
7. Karbohidratları parçalayan fermentlər və onların təyini (Hiss və Kliqler mühitləri).
8. Proteolitik fermentlər və onların təyini (jelatin, zərdab və süddə inkişaf, indol, ammoniak və hidrogen-sulfidin təyini) və oksidləşmə-reduksiya fermentləri (oksidaza, katalaza, dekarboksilaza).
9. Aqressiya fermentləri və onların təyini (hialuronidaza, lesitinaza, fibrinolizin, plazmakoaqulaza).
10. Müasir identifikasiya üsulları (mikrotest sistemlər, Vitek analizatoru və s.).

**Təmiz kulturanın alınmasının II mərhələsi**

* II gün inokulyasiya edilmiş Petri kasaları termostatdan çıxarılır. Bakteriyaların **kultural xüsusiyyətləri öyrənilir**.
* Driqalski üsulu ilə inokulyasiya edilmiş kasalardakı qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir. Adətən ikinci, yaxud daha çox hallarda üçüncü kasadakı qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlər **təcrid olunmuş koloniyalar** halında inkişaf edir.
* 4 sektorlu inokulyasiya edilmiş kasalarda inkubasiyadan sonra ilkin materialdakı mikroorqanizmlərin sayından asılı olaraq qidalı mühitin səthində mikroorqanizmlərin ardıcıl seyrəlməsi müşahidə edilir və adətən sonuncu sektorlarda mikroorqanizmlər təcrid olunmuş koloniyalar halında inkişaf edir.
* Hesab edilir ki, bir koloniya bir bakteriya hüceyrəsindən əmələ gəlir.
* Ona görə də praktikada təmiz mikrob kulturası almaq üçün bərk qidalı mühitlərin səthində və ya dərinliyində onların təcrid olunmuş koloniyalar halında inkişafı təmin edilir.
* Təmiz kulturanın alınmasının II mərhələsində təcrid olunmuş koloniyalardan digər qidalı mühitlərə köçürülür və daha 1-2 gün inkubasiya edilir.

**Mikroorqanizmlərin kultural xassələri**

* Kultura - optimal şəraitdə bakteriyaların formalaşdırdığı özünəməxsus populyasiyaya deyilir
* Koloniya - bərk qidalı mühitlərdə bakteriyaların əmələ gətirdiyi yığıntıya (populyasiyaya) deyilir.
* Təmiz mikrob kulturası dedikdə tək bir növə mənsub olan mikroorqanizmin bərk qidalı mühitdə əmələ gətirdiyi populyasiya nəzərdə tutulur.
* Ştamm - müxtəlif (yaxud eyni) mənbələrdən müəyyən vaxtlarda alınmış eyni növdən olan mikroorqanizmlərin təmiz kulturasıdır.
* Kultural xüsusiyyətlər hər bir mikroorqanizm cinsi, yaxud növü üçün xarakter əlamət olduğundan mikroorqanizmlərin identifikasiyasında istifadə edilir.
* Bunun üçün bakteriyaların bərk və maye qidalı mühitlərdə inkişaf xarakteri öyrənilir.
* Bərk qidalı mühitlərdə bakteriyalar *koloniya* əmələ gətirir.
* Bərk qidalı mühit səthində, yaxud dərinliyində bir bakteriya hüceyrəsinin əmələ gətirdiyi populyasiya *koloniya* adlanır.

Koloniyaların morfologiyası

* Koloniyanın morfologiyasını öyrənmək üçün aşağıdakı xüsusiyyətlər nəzərə alınır:
* Ölçüsü
* Forması
* Rəngi
* Strukturu
* Hündürlüyü
* Kənarları

Koloniyanın ölçüləri:

* Nöqtə şəkilli (1 mm-dən az)
* Kiçik (1-2 mm)
* Orta (2-4 mm)
* Böyük (4-5 mm-dən çox)

Koloniyaların konsistensiyası

* Bərk
* Yumşaq
* Yapışqan
* Mukoid

Koloniyaların rəngi

* Bəzi bakteriyalar qidalı mühitdə inkişaf etdikdə piqment əmələ gətirir

Koloniyaların şəffaflığı

* Şəffaflıq dərəcəsinə görə:

- şəffaf

- yarımşəffaf

- bulanıq

koloniyalar

ayırd edilir.

Koloniyaların sayılması

Az olduqda gözlə, çox olduqda Volf-Hügel kamerası vasitəsilə sayılır. Bu kamera dayaq üzərində yerləşən, kvadratlara bölünmüş lövhədir. Petri kasası lövhənin altına(dayağın üstünə)qoyulur və sahəsi 1sm2 olan 10 böyük kvadrata düşən koloniyalar sayılır. 1 kvadrata düşən koloniyaların ümumi miqdarı aşağıdakı düsturla hesablanır:

X=пr2 x 1sm2  п=3,14

(r-kasanın radiusu= 5sm)

1 kvadratda olan koloniyalar 10 olarsa:

X=3,14x52 x10 = 785

**Hüceyrələrin ümumi sayının təyin edilməsi – maye materialın 1 ml-də sayı**

1.“Say kamerası” - (Neybauer, Tom, Qoryayev) ilə mikroskopda hüceyrələrin sayılması

2. Sayğaclar

Elektron h.m. - Kaylter sayğacı

Nefelometriya (spektrofotometriya)

3. Membran süzgəc üsulu

**Hüceyrələrin ümumi sayının təyin edilməsi**

Hüceyrələrin ümumi sayının təyin edilməsiində dolayı üsullardan hüceyrə suspenziyasının bulanıqlığının qiymətləndirilməsinə əsaslanan ən əlverişli üsul bulanıqlıq standartları üsuludur.

Bu zaman sayılacaq nümunənin bulanıqlığı standartlarla müqayisə edilir. Hazırda ***McFarland*** bulanıqlıq standartlarından daha çox istifadə edilir.

***McFarland*** bulanıqlıq standartı:

* 1%-li sulfat turşusu (kimyəvi təmiz)
* 1.175%-li barium-xlorid

**Təmiz kulturanın alınmasının III mərhələsi**

* Təmiz kulturanın alınmasının III mərhələsi əldə edilmiş kulturanın təmizliyi yoxlanılır.
* Bunun üçün çəp aqarın səthində inkişaf etmiş kulturadan hazırlanmış yaxma Qram üsulu ilə boyadıldıqdan sonra mikroskopiya edilir. Yaxmada eyni morfologiyaya malik bakteriyaların olması kulturanın təmizliyini təsdiq edilir.
* Təmiz kultura əldə edildikdən sonra həmin kulturanın **biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətləri** öyrənilir.
* Bakterioloji müayinə üsulunun yekun mərhələsi əldə edilmiş təmiz kulturanın identifikasiyasından, yəni mikroorqanizmlərin cins və növünün təyin edilməsindən ibarətdir.
* Mikroorqanizmlərin *identifikasiyası* kultural, tinktorial, morfoloji, fermentativ, antigen və s. xüsusiyyətlər əsasında aparılır.

**Bakteriyaların biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi:**

* Bakteriyaların biokimyəvi (fermentativ) xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi **fermentlərinin** və **metabolitlərin** öyrənilməsinə əsaslanır
* Fermentativ xüsusiyyətlər mikroorqanizmlərin identifikasiyası üçün tətbiq olunan əsas taksonomik əlamətdir.
* Bu səbəbdən bakteriyaların identifiklasiyası üçün **saxarolitik, proteolitik və digər fermentlər** təyin edilir.

**Mikrob fеrmеntləri:**

* Mikroorqanizmlər genom səviyyəsində determinasiya olunan müxtəlif fermentlər sintez edirlər. Mikrob hüceyrəsində gedən bütün metabolik reaksiyaların əsasını təşkil edən fermentlər 6 sinifə aiddir:

1. oksireduktazalar (oksidləşmə-reduksiya reaksiyaları kataliz edirlər),
2. transferazalar (ayrı-ayrı atomları molekuldan molekula keçirir),
3. hidrolazalar (suyun molekulalarını birləşdirməklə proteinlərin, karbohitratların, lipidlərin parçalanmasına səbəb olur),
4. liqazalar (iki molekulu yeni kimyəvi rabitə əmələ gətirməklə birləşdirir),
5. liazalar (qeyri-hidrolitik yolla kimyəvi qrupları ayırır),
6. izomerazalar (karbohidrat metabolizmində iştirak edir).

* Fermentlər bakteriya daxilində yerləşən – **endofermentlər** və ətraf mühitə ifraz olunan – ekzofermentlərə ayrılır.
* ***Еndofеrmеntlər*** hücеyrə hüdudunda fəaliyyət göstərir, ***еkzofеrmеntlər*** isə mikrob hücеyrəsindən хaricə ifraz еdilməklə buradakı makromolеkulları parçalayır və onların hücеyrə daхilinə kеçməsini asanlaşdırır.
* ***Konstitutiv və induktiv fеrmеntlər***
* ***Mеtabolitik fеrmеntlər*** – oksirеduktazalar, transfеrazalar, liazalar, liqazalar, hidrolazalar və izomеrazalar
* ***Aqrеssiya, yaxud patogenlik fеrmеntləri*** – hialuronidaza, nеyraminidaza, lеsitinaza və s.

**Mikroorqanizmlərin fermentativ fəallığının öyrənilməsi:**

* Fermentativ xüsusiyyətlər mikroorqanizmlərin identifikasiyası üçün tətbiq olunan əsas taksonomik əlamətdir.
* Bakteriyaların identifiklasiyası üçün **saxarolitik, proteolitik və digər fermentlər** təyin edilir.

**Mikroorqanizmlərin karbohidratları fermentasiya etmək qabiliyyətinin *(saxarolitik xüsusiyyətlərin)* öyrənilməsi**

* Bunun üçün **Hissin “əlvan” sıra mühitlərindən** istifadə etmək olar. Bu mühitlər içərisində maye, yaxud yarımmaye qidalı mühitlər olan sınaq şüşələri sırasından ibarətdir. Hər bir sınaq şüşəsindəki qidalı mühitin tərkibində bir karbohidrat olur. Bütün sınaq şüşələrinə karbohidratların parçalanması nəticəsində əmələ gəlmiş turş mühitin təsirindən rəngini dəyişən indiqator əlavə edilir.
* Müayinə edilən kultura hansı karbohidratı parçalayırsa, ona müvafiq sınaq şüşəsində rəng dəyişikliyi müşahidə edilir, karbohidrat parçalanmayan sınaq şüşələri isə əvvəlki rəngini saxlayır (əlvan sıra).

**Hissin “əlvan” sıra mühitləri:**

* Bəzi bakteriyalar karbohidratları **ancaq turşu** əmələ gətirməklə, bəziləri isə **həm turşu, həm də qaz** əmələ gətirməklə parçalayirlar ki, bunu da identifikasiyada nəzərə almaq lazım gəlir.
* Qaz əmələ gəlməsini müəyyən etmək üçün əlvan sıra mühitlərinin olduğu maye qidalı mühitin daxilində bir ucu qapalı ağzı aşağı çevrilmiş şüşə boru olur. Əmələ gəlmiş qaz borunun dibində toplanır.
* Yarımmaye Hiss mühitlərində qaz əmələ gəlmə mühitdə qaz qabarcıqlarının olmasına əsasən müəyyən edilir.
* ***Saxarolitik xüsusiyyətləri*** müəyyən etmək üçün bakterioloji müayinənin 3-cü günü bakteriyaların əldə edilmiş təmiz kulturası ilgəklə **“əlvan” sıra mühitlərinə** inokulyasiya edilir, 37°C temperaturda 18-24 saat və ya daha uzun müddət ərzində inkubasiya edilir.
* Bakteriyalar karbohidratları turş məhsulların əmələ gəlməsinə qədər fermentasiya etdiyi halda, mühitin rənginin dəyişməsi müşahidə edilir: karbohidratın turşu və qaza qədər parşalanması zamanı, rəngin dəyişməsi ilə yanaşı üzgəclərdə qaz qabarcığı əmələ gəlir. Yarımmaye mühitlərdən istifadə edildiyi təqdirdə mühitin dərinliyində qaz qabarcıqlarının əmələ gəlməsi müşahidə edilir. Fermentasiya baş vermədikdə mühitin rəngi dəyişmir. Bakteriyalar yalnız Hiss mühitinə daxil olan hər növ üçün müəyyən karbohidratları fermentasiya etdiyindən əlvan rənglər müşahidə edilir, ona görə də karbohidratlı və indikatorlu mühitlər **“əlvan” sıra** adlanır.
* Hissin qısa və uzun “əlvan” sıra mühitlərindən istifadə olunur.
* **Qısa “əlvan” sıraya** mono- və disaxaridlər olan qlükozalı, laktozalı, saxarozalı, maltoza və altıatomlu spirtli – mannitli maye Hiss mühitləri aiddir.
* **Uzun “əlvan” sıraya**, yuxarıda qeyd olunan karbohidratlarla yanaşı, müxtəlif monosaxaridlər (arabinoza, ksiloza, ramnoza, qalaktoza və s.), polisaxaridlər (inulin, nişasta, qlikogen və s.) və spirtlər (qliserin, dulsit, inozit və s.) əlavə edilir.
* Bütün mühitlərə indikator kimi Andrede reaktivi əlavə edilir.

**Mikroorqanizmlərin zülalları parçalama qabiliyyətinin *(proteolitik xüsusiyyətlərin)* öyrənilməsi:**

* Proteolitik fəallığı müəyyən etmək üçün bakteriya kulturasının jelatini parçalama və zülalların son parçalanma məhsulları olan ammonyak, indol, hidrogen sulfid və s. əmələ gətirməsi öyrənilir.
* ***Proteolitik fermentləri*** müəyyən etmək üçün bakteriya kulturasını 10-20%-li jelatin sütununa iynə ilə və pepton suyuna inokulyasiya edirlər. İnokulyatları 20-220C temperaturda bir neçə gün ərzində inkubasiya edirlər. Proteolitik fermentlər olduqda bakteriyalar jelatini mismar və ya tərsinə çevrilmiş şam ağacını xatırladan formalar şəklində əridir.
* Pepton suyu inokulyatlarında peptonun parçalanma məhsullarını 370C temperaturda 2-3 gün ərzində inkubasiya etdikdən sonra ammonyak, indol, hidrogen-sulfid və s. reaksiyalarının qoyulması ilə müəyyən edirlər.

**İndolun****müəyyən edilməsi:**

* ***Erlix üsulu*:** bakteriya kulturası olan sınaq şüşəsinə 2-3 ml efir əlavə edilir, qarışdırılır və bir neçə damcı Erlix reaktivi (para-dimetil-amid-benzaldehidin xlorid turşusu ilə spirt məhlulu) əlavə edilir. İndol əmələ gələrsə qarışıq çəhrayı boyanır.
* ***Morel üsulu*:** oksalat turşusu hopdurulmuş süzgəc kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin. İnkubasiyadan sonra kağızın aşağı hissəsinin çəhrayı rəng alması indolun əmələ gəlməsini göstərir.
* İndol əmələ gətirməni təyin etmək üçün bakteriya maye triptofanlı qidalı mühitə kultivasiya olunub 18-24 saat 37°C-də inkubasiya edilir.
* 1-2 damla Kovac reaktivi (para dimetil amino benzaldehid) əlavə edilir.
* Qidalı mühitin səthində qırmızı həlqənin əmələ gəlməsi pozitiv reaksiyanı göstərir.

**Hidrogen-sulfidin təyini**

* Qurğuşun asetat hopdurulmuş süzgəc kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin.
* İnkubasiyadan sonra kağızın aşağı hissəsinin qaralması (quğuşun sulfidin əmələ gəlməsi hesabına) H2S əmələ gəlməsini göstərir.
* Digər bir üsulda bakteriya kulturasını tərkibində dəmir sulfat, natrium tiosulfat, natrium sulfit olan qidalı mühit sütununa iynə ilə inokulyasiya edirlər. H2S əmələ gəldikdə aqarın qaralması baş verir.

**Ammonyakın təyini**

* Lakmus kağızının nazik zolağını (parçasını) tıxac altında elə bərkidirlər ki, qidalı mühitlə təmas etməsin.
* İnkubasiyadan sonra kağızın göyərməsi ammonyakın əmələ gəlməsini göstərir.

**Katalazanın müəyyən edilməsi**

* Əşya şüşəsi səthinə bir damla 1-3% hidrogen peroksid məhlulu qoyulur və bakteriya kulturası əlavə edilir. Katalaza hidrogen peroksidi oksigen və suya parçalayır.
* Qaz qabarcıqlarının ayrılması katalaza fermentinin olmasını göstərir.

**Oksidaza sınağı**

* **Testin prinsipi**. Bəzi bakteriyalar sitoxromoksidaza, ya da indofenoloksidaza əmələ gətirir. Bu fermentlər elektronların hidrogen donorlarından oksigenə verilməsini təmin edir.
* Oksidaza testi rəngsiz boya olan fenildiamin dihidroxloridin (oksigenin süni akseptoru) oksidaza təsirindən göy rəngli indofenola çevrilməsinə əsaslanır.
* **Testin aparılması**. Steril applikator, yaxud ilgəklə kulturadan götürüb indikatorlu kağız zolağın, yaxud diskin üzərinə sürtülür.
* Müsbət nəticə olduqda 10-30 san. ərzində göy, yaxud bənövşəyi rəng əmələ gəlir.

**Diffеrеnsial qidalı mühitlərin tətbiqi**

* Məlum olduğu kimi diffеrеnsial qidalımühitlər mikroorqanizmləri bir-birindən diffеrеnsiasiya еtməyə (fərqləndirməyə), bəzən hətta onu idеntifikasiya еtməyə imkan vеrir.
* Bеlə mühitlərdə mikroorqanizmlərin fərqləndirilməsi başlıca olaraq onların fеrmеntativ хüsusiyyətlərinə əsaslanır.
* Laboratoriya şəraitində Hiss mühitlərindən əlavə **Еndo mühiti, *MacConkey,* eozin və metilen abısı (EMB)** mühitləri və s. də tətbiq edilir.

**Еndo mühiti**

Tərkibində 1% laktoza və indikator (natrium tiosulfitlə rəngsizləşdirilmiş əsasi fuksin) vardır.

İstifadə üçün hazırlanmış Endo aqarı cəhrayı rəngdə olur.

Laktozanı parçalayan bakteriyalar bu mühitdə metal parlaqlığına malik qırmızı koloniyalar əmələ gətirir (laktozanın turşuya parçalanması hesabına),

laktozanı parçalamayanlar isə rəngsiz koloniyalar halında inkişaf edir.

**Kliqler mühiti**

**Tərkibi**: 1% laktoza, 0,1% qlükoza, Na-tiosulfat, Fe-sulfat, indikator

**Hazır mühit** sınaq şüşələrində çəp aqar şəklində cəhrayı rəngdə olur,

**İnokulyasiya** – çəp səthə ilgəklə, aqar sütununa iynə vasitəsilə

* Ancaq qlükoza parçalandığı təqdirdə aqar sütunu saralır, çəp hissə rəngini dəyişmir
* Həm qlükoza, həm də laktoza parçalandığı təqdirdə (E.coli) bütün aqar saralır,
* H2S əmələ gəldikdə (salmonella, protey) aqar qaralır.

**TSİ (triple sugar iron) aqar**

* Tərkibi:
* 1% laktoza
* 1% saxaroza
* 0,1% qlükoza (parçalayırsa aqar sütunu sarı rəngə çevrilir)
* Fe-sulfat - H2S əmələ gəlməni yoxlamaq üçün (əmələ gətirirsə qaralır)
* pH-indikator-fenol qırmızı

**İMVİC testi (4 testdən ibarətdir)**

* **İndol testi**
* **Metil qırmızısı testi**
* **Voges-Proskauer testi**
* **Sitrat testi**

**API sistem *(Application programming interface)***

APİ testinin aparılmasından əvvəl təmiz kultura əldə edilməli və bəzi ilkin identifikasiya testləri aparılmalıdır

**Test 1** : Qram üsulu ilə boyamadılmış yaxmanın mikroskopiyasının nəticəsi (Qram-, Qram+, çöp, kokşəkilli və s.)

**Test 2** : Respirator enzim testləri 🡪 oksidaza, katalaza

**Qramla boyamanın nəticəsinə, oksidaza və katalaza testlərinin nəticəsindən asılı olaraq müxtəlif APİ-panellrəindən istifadə edilir**

**Mikroorqanizmlərin müasir avtomatik identifikasiya sistemləri**

* ***Vitek-2 Compact*** analizatoru – 5-8 saat müddətində mikroorqanizmlərin (bakteriyaların və mayayabənzər göbələklərin) identifikasiyasını və onların antimikrob preparatlara qarşı həssaslığının müəyyən edilməsini təmin edən tam avtomatik sistemdir.
* İdentifikasiya mikroorqanizmlərin biokimyəvi xüsusiyyətlərinin avtomatik təyin edilməsi ilə aparılır, tam identifikasiya mümkün olmadığı təqdirdə kompyuter proqramı təhlili əsasında identifikasiya edilən mikroorqanizmin hansı mikroorqanizm ola bilməsi ehtimalı (faizlə) göstərilir.
* Bu və digər avtomatik identifikasiya sistemləri identifikasiya ediləcək mikroorqanizmlərin ideal təmiz kulturasının alınmasını tələb edir.
* Əldə edilmiş təmiz kultura (inokulyat) cihazın kassetinə yerləşdirilir, bundan sonra cihazın inkubasiya etməsi və nəticələri müəyyənləşdirməsi üçün müəyyən müddət vaxt tələb olunur.
* Analizin sonunda inokulyatdakı mikroorqanizmin cins və növ mənsubiyyəti, eləcə də hansı antimikrob preparata həssas, yaxud rezistent olması göstərilir.
* Analizator eləcə də antimikrob preparatın minimal inhibisiya konsentrasiyası (MİK) və rezistentlik mexanizmləri haqqında nəticə çıxarmağa imkan verir.

**Matriks aktivləşdirilmiş lazer desorbsiyası / ionlaşması (MALDİ-TOF)**

**Prinsipi**

**Mass spektrometriya vasitəsilə hüceyrə proteinlərinin fiziki təyini**

**+** əldə edilən spektr profili məlumat bazası ilə qarşılaşdırılır

***MALDI-tof mass spektrometriya***

* MALDI-tof mass spektrometriya (*ing.* Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Matrisin aktivləşmiş lazer desorbsiyası (ionlaşması)
* Lazer şüalarının matriksdəki analiz olunan maddə ilə qarşılıqlı təsiri nəticəsində maddə ionlaşır
* Uçucu olmayan yüksək molekullu birləşmələr (peptid, zülallar, oliqonukleotid, karbohidratlar) təyin edilir.
* MALDİ-tof cihazını yaratdığına görə yapon mühəndis K.T.Şimadzu 2002-ci ildə Nobel mükafatı almışdır.

***Biomerieux VİTEK-2 - bakterioloji analizator***

 Vitek-2 Compact analizatoru avtomatik sistemdir.

Mikroorqanizmlərin identifikasiyası

Antimikrob preparatlara həssaslığı təyin edilir (1 gün ərzində)

64 çökəkli plastik kartdan ibarətdir

Qram mənfi bakteriyalar

Qram müsbət bakteriyalar

Maya göbələkləri

Anaerob bakteriyalar, neysseriyalar, hemofil çöplər

Yüksək virulentli mikroorqanizmlərdən: *Brucella melitensis, Burkholderia pseudomallei, Francisella tularensis, Burkholderia mallei, Escherichia coli O157, Vibrio cholerae, Yersinia pestis* təyin edilir.

Nəticənin əldə edilmə vaxtı 6-8 saatdır.