**Məşğələ 3.**

**Bakteriyaların ultrastrukturu. Turşuya davamlı bakteriyalar və onların Sil-Nilsen üsulu ilə boyadılması. Sporlar və onların Ojeşko üsulu ilə rənglənməsi. Hüceyrə daxili əlavələr və onların Neysser üsulları ilə boyadılması**

**Məşğələnin planı:**

* Bakteriya hüceyrəsinin strukturu (turşuya davamlı bakteriyaların quruluş xüsusiyyətləri).
* Turşuya davamlı bakteriyaların Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənmə texnikası.
* Sil-Nilsen üsulunun vərəmin diaqnostikasında rolu.
* Sporlar, sporların əmələ gəlmə şəraiti və mərhələləri.
* Sporların Ojeşko üsulu ilə boyama texnikası.
* Volyutin dənəcikləri və onların Neysser üsulu ilə aşkar edilməsi.

**Turşuya davamlı bakteriyalar**

Hüceyrə divarının keçiriciliyi zəif olduğundan turşu, spirt və qələvi ilə rəngsizləşməyə davamlılıq göstərirlər. Bu xüsusiyyət onların hüceyrə divarında aşağıdakı maddələrin olması ilə əlaqədardır:

* Lipidlər
* Mikol turşusu (mumabənzər maddələr və s.)
* Oksiturşular və s.
* Mycobacterium tuberculosis (vərəm çöpləri )
* M.leprae (cüzam çöpləri)
* Actinomyces cinsinin bəzi növləri

**Sil-Nilsen üsulu ilə rəngləmə texnikası**

* Fiksasiya edilmiş yaxmanın üzərinə filtr kağızı qoyub karbol fuksin məhlulu əlavə edilir, alov üzərində buxar əmələ gələnə kimi qızdırılır, hər dəfə soyudularaq bu proses 2-3 dəfə təkrar edilir (soyuq rəng məhlulunu qaynar şüşə üzərinə əlavə edildikdə çatlamaması üçün).
* Filtr kağızı atılır, yaxma soyudulur, yuyulur və 5%-li sulfat turşusu, yaxud 3%-li xlorid turşusu məhluluna 3 dəfə salınmaqla (və ya 1-2 san. müddətində saxlamaqla) rəngsizləşdirilir.
* Diqqətlə su ilə yuyulur və 3-5 dəq müddətində metilen abısı ilə rənglənir. Sonra yenidən yuyulub qurudulur və mikroskopiyqa edilir. Turşuya davamlılar turşu ilə rəngsizləşdikləri üçün qırmızı-çəhrayı, davamsızlar isə rəngi itirdikləri üçün göy rəngə boyanır.

**Bakteriyalarda spor və spor əmələ gəlmə**

* Təyini: **SPOR** - ətraf mühitin əlverişsiz şəraitində bakteriya hüceyrəsində irsi informasiyanın saxlanılmasını təmin edən sükunət formasıdır.
* Funksiyası - müdafiə
* ətraf mühitin əlverişsiz fiziki-kimyəvi faktorlarından
* qidalı mühitin çatışmazlığı
* Quruluşu - DNT çox qatlı qişalarla, peptidoqlikan (korteks)

**Əmələ gəlmə yeri:**

* ətraf mühit (insan orqanizmindən kənarda)
* süni qidalı mühitdə

**Temperatura davamlılıq faktorları:**

- praktik olaraq sərbəst suyun olmaması

* kalsiumun konsentrasiyasının artması
* dipikalin turşusunun çox olması
* zülalın xüsusi quruluşa malik olması
* korteksin peptidoqlikanının xüsusi quruluşu

**Bakteriya sporları**

* Əlverişsiz şəraitdə növün qorunub saxlanılması forması
* Sporulyasiya təqribən 20-24 saat davam edir
* Metabolik aktivliyi çox zəifdir
* Keçiriciliyi çox zəifdir
* Turşuya, qələviyə, spirtə tempertur təsirinə davamlıdırlar
* Yalnız Qram müsbət çöpvari bakteriyalarda (klostridi və basillər) rəsadüf edilir
* Bir bakteriyadan bir spor əmələ gəlir (sporulasiya)
* Bir spordan bir bakteriya əmələ gəlir (germinasiya)
* Sporlar ətraf mühitdə uzun müddət qalma xüsusiyyətinə malikdir
* İnsan orqanizmində yalnız vegetativ formada olur və yalnız bu forma xəstəlik törədə bilir

**Bakteriyalarda sporların yerləşmə formaları**

sentral – qarayara törədicisində (B.antracis)
terminal – tetanus törədicisində (C.tetani)
subterminal – botulizm (C.botulinum) və qazlı qanqrena (C.perfringens)

**Sporulyasiya**

* Əlverişsiz şəraitdə, ətraf mühitdə (torpaq və s.) baş verir
* Təqribən 20-24 saat davam edir
* Protoplazma nukleoid olan hissəyə sıxlaşır. Bu hissə sporanın özəyi adlanır.
* Fermentlərin aktivliyi artır.
* Unikal fermentlər- dipikolinsintetaza (5-10%).
* Özəyin tərkibində dipikolin turşusunun kalsium duzu əmələ gəlir
* Özək peptidoqlikandan ibarət spora divarı adlanan qişa ilə əhatə olunur və prospora adlanır.
* Bu qatlar arasına peptidoqlikan ibarət qabıq qatı - korteks formalaşır.
* Korteks qatının üzərində keratinə bənzər zülallardan ibarət örtük qatı formalaşır
* Sporanın ən səthi qişası ekzosporium təkibində lipoprotein və az miqdarda karbohidratlar var.

**Germinasiya**

Əlverişli şəraitdə (insan orqanizmində) sporalar vegetativ formaya çevrilir. Bu proses germinasiya adlanır və 3-5 saat davam edir. İlk növbədə korteks qatı lizosim tərəfindən parçalanır, vegetativ forma xaric olur. Sonra hüceyrənin böyümə və bölünməsi prosesi gedir.

 **Ojeşko üsulu ilə sporun rənglənmə texnikası**

* Hazır (qurudulub fiksasiya olunmamış) yaxmanın üzərinə 0,5%-li xlorid turşusu (HCl) tökülür və alovda buxar əmələ gələnə qədər qızdırılır (2-3 dəq.). Bu proses zamanı əşya şüşəsi soyuduqdan sonra turşu əlavə edilir.
* Turşu axıdılır, soyudulur, su ilə ehtiyatla yuyulur, qurudulur, alovda fiksasiya edilir.
* Sil-Nilsen üsulu ilə rənglənir. Sporlar qırmızı, vegetativ formalar isə göy rəngə boyanır. Karbol turşusu sporun qişasını zəiflətdiyi üçün onun tinktorial xüsusiyyətlərini artırır və hər iki forma qırmızı rəngə boyanır. Vegetativ formalar sulfat turşusu ilə rəngsizləşdiyinə görə metilen abısının rəngini götürüb, göy rəngə boyanır.

**Volyutin dənələri**

* Mikroorqanizmlərdə polifosfart qranullar şəklində sitoplazmatik əlavələrdir. İlk dəfə Spirillum volutans (adı oradan götürülmüşdür) bakteriyasında təsvir edilmişdir
* Volyutin fosfatların daxili ehtiyat maddəsi olub, mühitdə fosfor çatışmadıqda hüceyrə onun hesabına bir neçə dəfə bölünür
* Bir çox bakteriyalar bəzi qida komponentləri çatışmadıqda volyutin toplayırlar. Maya göbələkləri, korinebakteriyalar, mikobakteriyalar adətən böyümənin son mərhələlərində əlavələr əmələ gətirirlər.
* Polifosfat qranullar-metaxromatik dənələr (Babeş-Ernest cisimcikləri) korinebakteriyalarda (Corynebacterium diphteria, Gardnrella vaginalis və s.) aşkar edilir və bu bakteriyaların tanınma əlamətidir.
* Neysser üsulu ilə təyin edilir.
* Elektron mikroskopiyada volyutin dənələri ölçüsü 0,1-1 mkm olan bərk qranul şəklində görünür.

**Neysser üsulu ilə rəngləmənin texnikası**

* Yaxma Neysserin sirkə turşulu metilen abısı ilə rənglənir. 2-3-dəq. saxlanıldıqdan sonra yuyulur
* Lüqol məhlulu əlavə edilib 30 san-1 dəq. saxlanılır
* Lüqol məhlulu atılır, vezuvin və ya xrizoidin ilə rənglənir. Yaxma 5-7 dəq. saxlanıldıqdan sonra yuyulur, qurudulur, mikroskopiya edilir.
* Volyutin dənələri qələvi reaksiyalı olduğundan asetat abısının rəngini qəbul edərək tünd göy rəngə boyanır.
* Sitoplazma turş reaksiyalı olduğundan vezuvinin rəngini götürür və sarı rəngə boyanır