

ლაბორატორიული - 3

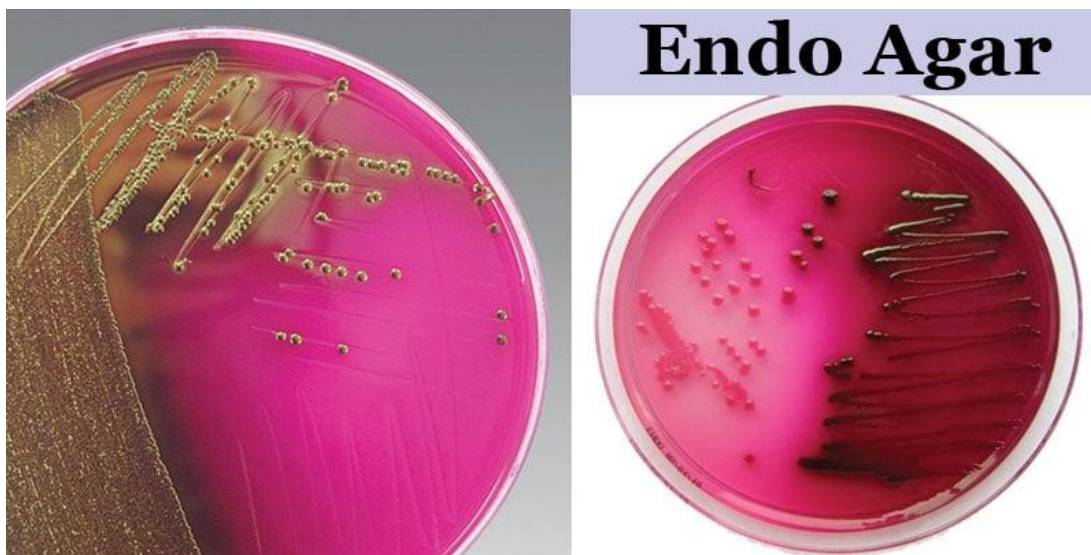
1. E. coli, Ps.aeruginosa, H. influenzae - შეღებვა

2. ლაქტოზის ფერმენტაცია ენდოს ნიადაგზე. ენდოს ნიადაგი სადიაგნოსტიკო-სადიფერენციაციო ნიადაგია, რომელიც გამოიყენება ენტერობაქტერიების დიფერენცირებისთვის ლაქტოზის ფერმენტაციის უნარის მიხედვით.

პროცედურა: მიკრობული კულტურა ითესება ენდოს ნიადაგზე (პეტრის ფინჯანზე) და ინკუბაციას ვახდენთ თერმოსტატში 37°C ტემპერატურაზე 18-24 საათის განმავლობაში.

ინტერპრეტაცია: ბაქტერიის იდენტიფიკაციას ვახდენთ კოლონიის ფერის მიხედვით.

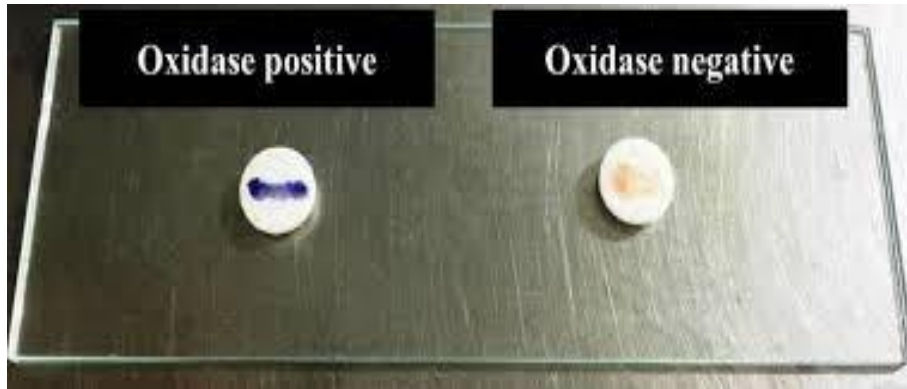
შედეგი	ვიზუალური სურათი	ინტერპრეტაცია	მაგალითი
ლაქტოზა-დადებითი (+)	მუქი წითელი კოლონიები მეტალისებრი (ოქროსფერი/მომწვანო) ბზინვარებით.	ბაქტერია ახდენს ლაქტოზის ფერმენტაციას	<i>Escherichia coli</i>
ლაქტოზა-უარყოფითი (-)	უფერო, გამჭვირვალე ან ღია ვარდისფერი კოლონიები.	ბაქტერია არ ახდენს ლაქტოზის ფერმენტაციას	<i>Salmonella / Shigella</i>



3. ოქსიდაზას ტესტი. ამ ტესტის გამოყენებით ბაქტერიების იდენტიფიკაცია შეიძლება ციტოქრომ C-ის არსებობით ან არარსებობით. ციტოქრომ C-ის ნაკლებობა განასხვავებს Enterobacteriaceae-ს სხვა გრამუარყოფითი ბაქტერიებისგან. ასევე Pseudomonas aeruginosa-ს სადიფერენციაციოდ სხვა არამაფერმენტირებელი ბაქტერიებისგან.

პროცედურა: პეტრის ფინჯნიდან ავიღოთ კოლონია და შევიტანოთ ფილტრის ქაღალდზე, რომელზეც არის დაწვეთებული ოქსიდაზას რეაგენტი. 10 წამის შემდეგ ქაღალდის გალურჯება მიუთითებს

დადებით შედეგზე. შესადარებლად გამოვიყენოთ მაგალითად *Pseudomonas aeruginosa* (ox+) და *Escherichia coli* (ox-).



4. ტესტი ინდოლზე. ინდოლის ტესტი ბაქტერიოლოგიაში ფართოდ გამოიყენება ბაქტერიის უნარის დაშალოს ამინომჟავა ტრიპტოფანი ფერმენტ ტრიპტოფანაზას მეშვეობით დასადგენად. ეს ტესტი გადამწყვეტია *Enterobacteriaceae* ოჯახის წარმომადგენლების (მაგალითად, *E. coli*-ს) იდენტიფიკაციისთვის. ბაქტერიები, რომლებიც გამოიმუშავენ ფერმენტ ტრიპტოფანაზას, ახდენენ ტრიპტოფანის ჰიდროლიზს, რის შედეგადაც წარმოიქმნება **ინდოლი**.

პროცედურა: ინდოლის აღმოჩენა ხდება კოვაცის (Kovacs) ან ერლიხის (Ehrlich) რეაქტივით, რომელიც ინდოლთან რეაქციისას წარმოქმნის წითელ/ალუბლისფერ რგოლს.

ტესტის ჩასატარებლად საჭიროა:

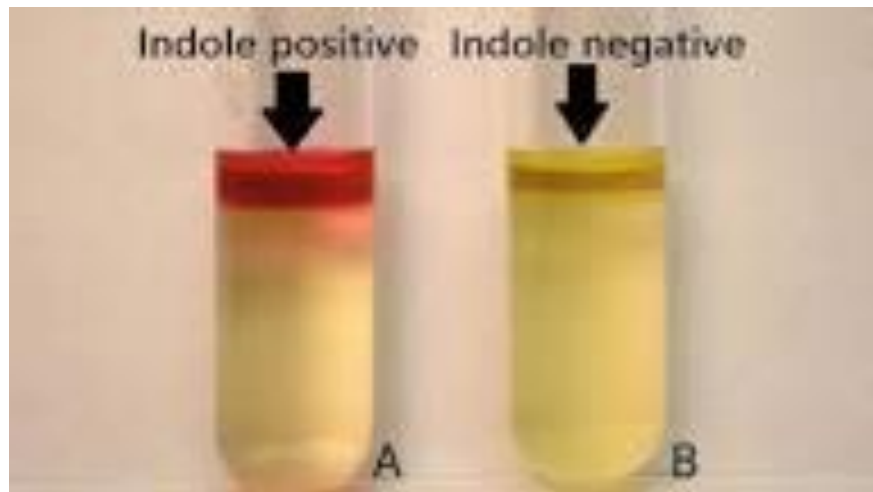
- საკვები ნიადაგი: ტრიპტოფანით მდიდარი ბულიონი (მაგ: Peptone Water ან Tryptone Broth).
- რეაქტივი: კოვაცის რეაქტივი (Kovacs' reagent).
- ვიღებთ საკვლევ ბაქტერიის სუფთა კულტურას (18-24 საათიანი ნაზარდი).
- ვახდენთ ბაქტერიის ინოკულაციას ტრიპტოფანის ბულიონში სტერილური მარყუჟის გამოყენებით.
- სინჯარას ვახურავთ თავსახურს (არაჰერმეტიულად).
- სინჯარას ვათავსებთ თერმოსტატში 35-37° C ტემპერატურაზე **24-დან 48 საათამდე**.

ტესტირება (რეაქტივის დამატება)

- ინკუბაციის შემდეგ სინჯარაში ვამატებთ **0.5 მლ** (დაახლოებით 5 წვეთი) კოვაცის რეაქტივს.
- სინჯარას ვანჯღრევთ ნაზად.
- 2-5 წუთის გასვლის შემდეგ ვაკვირდებით ფერის ცვლილებას სითხის ზედაპირზე.

ინტერპრეტაცია:

შედეგი	ვიზუალური სურათი	ინტერპრეტაცია	მაგალითი
დადებითი (+)	ზედაპირზე წარმოიქმნება წითელი/ალუბლისფერი რგოლი.	ბაქტერია წარმოქმნის ტრიპტოფანაზას	<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
უარყოფითი (-)	ზედაპირზე რჩება რეაქტივის ფერი (ყვითელი/ნარინჯისფერი).	ინდოლი არ წარმოიქმნა.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella</i> spp.



ხარისხის კონტროლი

ტესტის სიზუსტის გადასამოწმებლად გამოიყენება საკონტროლო შტამები:

- დადებითი კონტროლი: *Escherichia coli* ATCC 25922.
- უარყოფითი კონტროლი: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

5. API 20E - ნაწლავური ჯგუფის ბაქტერიების და სხვა გრამუარყოფითი ჩხირების საიდენტიფიკაციო სისტემა. API (Analytical Profile Index) წარმოადგენს სტანდარტიზირებულ სისტემას.

პრინციპი

სტრიპი შედგება 20 მიკროსინჯარისგან, რომლებიც შეიცავენ დეჰიდრირებულ სუბსტრატებს. სტრიპში შეგვაქვს ბაქტერიული სუსპენზია, რომელიც რეაქციაში შედის მოცემულ სუბსტრატებთან. ინკუბაციის დროს იცვლება ფერი, რაც შეიძლება განისაზღვროს ან პირდაპირ ან რეაგენტების დამატების შემდეგ. ამ ტესტებიდან მიღებული რიცხვითი კლასტერებით ხდება სხვადასხვა შტამის იდენტიფიკაცია .

ინტერპრეტაცია

რეაქციების წაკითხვა წარმოებს სათანადო საინტერპრეტაციო ცხრილის გამოყენებით. დადებითი შედეგების შეჯამებით მიიღება ციფრობრივი პროფილი და ელექტრონული ვერსიით ისაზღვრება გამომწვევის გვარი და სახეობა.



6. KOH-ის ტესტი

დერმატოლოგიაში KOH ტესტი არის სწრაფი და მარტივი სადიაგნოსტიკო მეთოდი, რომელიც გამოიყენება კანის, ფრჩხილისა და თმის **სოკოვანი ინფექციების** სადიაგნოსტიკოდ. **ბაქტერიოლოგიაში KOH-ის ტესტი** (იგივე 3%-იანი კალიუმის ჰიდროქსიდის ტესტი) სულ სხვა დანიშნულებით გამოიყენება, ვიდრე დერმატოლოგიაში. ის წარმოადგენს სწრაფ ალტერნატივას ან დამხმარე მეთოდს **გრამის წესით შეღებვისთვის**.

მისი მთავარი მიზანია ბაქტერიების ორ ჯგუფად დაყოფა: **გრამდადებით** და **გრამუარყოფით** ბაქტერიებად. KOH ტესტს აქვს უპირატესობები გრამის წესით შეღებვასთან შედარებით. **სისწრაფე** - არ სჭირდება ფიქსაცია, შეღებვა და ხანგრძლივი რეცხვა (როგორც გრამით შეღებვისას) და **სიზუსტე ძველი კულტურების შემთხვევაში** - ხანდახან ძველი გრამდადებითი ბაქტერიები შეღებვისას გრამუარყოფითად ჩანან (ცრუ პასუხი). KOH ტესტი ამ დროს უფრო სანდოა, რადგან ის უშუალოდ უჯრედის კედლის სისქეზე რეაგირებს.

პროცედურა: ტესტი ძალიან მარტივია და სულ 60 წამს იკავებს:

- სასაგნე მინაზე ვათავსებთ 1 წვეთ **3%-იან KOH-ის ხსნარს**.
- ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ხსნარში შეგვაქვს ბაქტერიის სუფთა კულტურა.
- ვურევთ ინტენსიურად 30-60 წამის განმავლობაში.
- ნელა ვწევთ მარყუჟს ზემოთ.

ინტერპრეტაცია:

- **დადებითი რეაქცია (გრამუარყოფითი ბაქტერია):** ხსნარი ხდება ბლანტი და მარყუჟის აწევისას წარმოიქმნება წებოვანი "მაფი". ეს ნიშნავს, რომ უჯრედები დაიშალა და დნმ გამოთავისუფლდა.
- **უარყოფითი რეაქცია (გრამდადებითი ბაქტერია):** ხსნარის კონსისტენცია არ იცვლება, ის რჩება თხევადი და "მაფი" არ იწელება.

