



Laboratorijska diagnostika v veterini

Bianka Mertelj



Naslov: Laboratorijska diagnostika v veterini

Izobraževalni program: VETERINARSKI TEHNIK

Avtor: Bianka Mertelj, dr. vet. med.

Strokovni recenzent: dr. Monika C. Žužek, dr. vet. med.

Lektorica: Marjana Mastinšek-Šuštar, prof. slov.

Ljubljana, 2010

© Avtorske pravice ima Ministrstvo za šolstvo in šport Republike Slovenije.

Gradivo je sofinancirano iz sredstev projekta Biotehniška področja, šole za življenje in razvoj (2008-2012).

Operacijo delno financira Evropska unija iz Evropskega socialnega sklada ter Ministrstvo za šolstvo in šport. Operacija se izvaja v okviru operativnega programa razvoja človeških virov za obdobje 2007 – 2013, razvojne prioritete: Razvoj človeških virov in vseživljenjskega učenja, prednostna usmeritev: Izboljšanje kakovosti in učinkovitosti sistemov izobraževanja in usposabljanja.

Vsebina tega dokumenta v nobenem primeru ne odraža mnenja Evropske unije. Odgovornost za vsebino dokumenta nosi avtor.

Predgovor

Razvoj veterinarske medicine je privedel do vse večje uporabe številnih laboratorijskih preiskav. Rezultati diagnostičnih preiskav so nujni za postavljanje točne diagnoze, pri spremljanju napredovanja zdravljenja in pri posredovanju prognoze stranki. Prav tako so številne laboratorijske preiskave postale rutinske za ugotavljanje rizičnih bolnikov pred uvajanjem v splošno anestezijo. Na področju veterine imamo zelo dobre specialistične laboratorije, vendar je od odvzema vzorca do določenih rezultatov potrebno počakati tudi do tri in več dni. Zato in zaradi višje cene preiskav, ko preiskujejo samo posamezne vzorce, ima večina veterinarskih ambulant svoje priročne laboratorije. Vse to zahteva poleg ustrezne laboratorijske opreme tudi večje število ustrezno izobraženega kadra. Glede na samo delo v veterinarskih ambulanzah, število bolnikov in vse večjo zahtevnost dela naj bi veterinar samo ovrednotil rezultate laboratorijskih preiskav, vse drugo pa je delo veterinarskih tehnikov.

Za področje laboratorijske diagnostike v slovenskem jeziku ni primerne gradiva, na katerega bi se lahko veterinarski tehnik oprl. Zato je za dijake drugih letnikov nastalo to gradivo, s pomočjo katerega bodo spoznali: osnovno laboratorijsko opremo, načine jemanja, shranjevanja in pošiljanja vzorcev ter osnove mikrobiologije.

Želim si, da bi naši dijaki uporabljali gradivo pri pouku in pri delu v laboratoriju.

Bianka Mertelj

KAZALO

LABORATORIJSKA OPREMA.....	9
MIKROSKOP	9
CENTRIFUGA	13
VRSTE CENTRIFUG	13
REFRAKTOMETER	15
ELEKTRONSKI ŠTEVEC CELIC	16
INKUBATOR	16
LABORATORIJI.....	19
HEMATOLOŠKI LABORATORIJ	19
MIKROBIOLOŠKI LABORATORIJ	20
<i>BAKTERIOLOŠKI LABORATORIJ.....</i>	<i>20</i>
<i>VIROLOŠKI LABORATORIJ</i>	<i>20</i>
PARAZITOLOŠKI LABORATORIJ	21
PATOHILOŠKI LABORATORIJ	21
SEROLOŠKI LABORATORIJ	22
<i>LABORATORIJ ZA HIGIENO ŽIVIL IN BROMATOLOGIJO.....</i>	<i>22</i>
<i>LABORATORIJ ZA PATOLOGIJO PREHRANE.....</i>	<i>22</i>
ODVZEM IN POŠILJANJE VZORCEV ZA LABORATORIJSKE PREISKAVE	23
<i>ODVZEM, SHRANJEVANJE IN POŠILJANJE VZORCEV KRVI.....</i>	<i>23</i>
<i>ODVZEM IN POŠILJANJE VZORCEV BLATA ZA PARAZITOLOŠKE PREISKAVE</i>	<i>25</i>
<i>JEMANJE, SHRANJEVANJE IN POŠILJANJE VZORCEV URINA.....</i>	<i>26</i>
<i>ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV ZA PTOHILOŠKE PREISKAVE.....</i>	<i>27</i>
<i>ODVZEM VZORCEV MLEKA</i>	<i>27</i>
<i>ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV S KOŽE IN SLUZNIC</i>	<i>28</i>
<i>ODVZEM IN POŠILJANJE VZOCEV NA KEMIJSKO-TOKSIKOLOŠKO PREISKAVO.....</i>	<i>29</i>
MIKROBIOLOGIJA.....	31
<i>RAZŠIRJENOST MIKROORGANIZMOV V NARAVI</i>	<i>31</i>
MIKROORGANIZMI.....	33
<i>PROKARIONTI</i>	<i>33</i>
<i>EVKARIONTI</i>	<i>34</i>
<i>IMENOVANJE MIKROORGANIZMOV.....</i>	<i>34</i>
<i>RAZDELITEV MIKROORGANIZMOV</i>	<i>34</i>
BAKTERIJE	34
<i>GOJENJE BAKTERIJ</i>	<i>39</i>
<i>RAST BAKTERIJ NA GOJIŠČIH</i>	<i>40</i>
<i>BAKTERIOLOŠKA PREISKAVA</i>	<i>42</i>

<i>SPECIALNA BAKTERIOLOGIJA</i>	45
VIRUSI	54
<i>SPECIALNA VIROLOGIJA</i>	57
<i>GOJENJE IN UGOTAVLJANJE VIRUSOV V LABORATORIJU</i>	58
GLIVE	60
PRAŽIVALI	61
STERILIZACIJA IN DEZINFEKCIJA	62
STERILIZACIJA	64
<i>STERILIZACIJA S TOPLOTO</i>	64
<i>OBSEVANJE</i>	69
<i>FILTRIRANJE</i>	70
<i>INDIKATORJI USPEŠNOSTI STERILIZACIJE</i>	70
DEZINFEKCIJA	71
<i>DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA DEZINFEKCIJO</i>	71

LABORATORIJSKA OPREMA

Kakovost posamezne veterinarske ambulante, kot tudi referenčnih laboratorijev, se poleg usposobljenosti veterinarjev in veterinarskih tehnikov meri tudi po opremljenosti. Vsak laboratorij naj bi imel najnujnejšo opremo: mikroskop, refraktometer, namizno in mikrohematokritsko centrifugo. Dodatna zahtevnejša oprema obsega: napravo za biokemično analizo krvi, štetje celic, inkubator, opremo za mikrobiološke in parazitološke preiskave, kar je odvisno od velikosti in usmerjenosti posamezne ambulante ter od geografskega položaja in interesa vodstva.

MIKROSKOP

Mikroskop je optična naprava, ki nam omogoča, da natančneje in globlje opazujemo strukturo določenega objekta kot s prostim očesom. Uporabljamo ga v različnih vedah. V laboratoriju je mikroskopiranje temeljna delovna metoda.

Mikroskope delimo na: enostavne in sestavljene. Enostavni mikroskop je zgrajen iz ene leče ali enega lečnega sistema (lupe), sestavljeni mikroskop pa je iz vsaj dveh lečnih sistemov grajena optična naprava. V praksi imenujemo sestavljeni mikroskop kratko mikroskop.

Po uporabi jih delimo na: šolske, laboratorijske in raziskovalne (elektronske, fluorescentne, faznokromatske).

Glede na število okularjev pa razlikujemo: monokularne (gledamo z enim očesom), binokularne (gledamo z obema očesoma) in trinokularne (priklopljena tudi kamera).

ZGRADBA MIKROSKOPA

Mikroskop sestavljajo:

- mehanični deli
- optični deli
- pomožni optični deli

Bistveni so optični deli mikroskopa, medtem ko mehanični predstavljajo ogrodje optičnim

delom in pomagajo pri mikroskopiranju.

MEHANIČNI DELI MIKROSKOPA

NOGA ALI PODSTAVEK je spodnji del mikroskopa, nosi preostale dele in daje mikroskopu stabilnost. Je masiven in ponavadi v obliki podkve ali črke Y. Prostor med krakoma je ponavadi zaprt in v njem je nameščen pribor za osvetljevanje (lučka).

STOJALO ALI NOSILEC TUBUSA je pritrjen na podstavek. V zgornjem delu nosi tubus, v spodnjem pa je nanj pritrjena objektna mizica. Za stojalo tudi primemo, ko mikroskop predstavljamo.

TUBUS je kovinska cev, ki ima v spodnjem koncu pritrjen revolver z objektivni, v zgornji konec tubusa pa vstavimo okular.

REVOLVER je pritrjen na spodnji del tubusa, tako da ga lahko krožno premikamo. Na njem pritrjene objektivne lahko po volji predstavljamo v optično os mikroskopa. Zareze na revolverju in pero na tubusu omogočajo, da se revolver učvrsti v trenutku, ko je objektiv natančno v optični osi mikroskopa.

MIZICA. Nanjo položimo preparat ali objekt, ki ga želimo mikroskopirati. Lahko ima mehanizem za premikanje preparata v vodoravni in tudi v vertikalni smeri.

VIJAKI. Mikroskop ima dva vijaka za fokusiranje objektivov. Večji makrometrski služi za grobo fokusiranje oz. premikanje mizice. Z mikrometrskim vijakom opravljamo le malenkostne premike, predvsem v kombinaciji z objektivni velike lastne povečave, ki imajo kratko žariščno dolžino in delovno razdaljo. Nekateri mikroskopi imajo en vijak, s katerim grobo premikamo mizico tako, da ga vrtimo, sliko pa izostrimo v vidnem polju s pomikom vijaka naprej in nazaj.

Na mikrometrskem vijaku je včasih skala, ki nam pove, za koliko μm smo mizico dvignili ali spustili. Razdalja med dvema črtama ustreza premiku za 0,002 mm oz. za 2 μm . Celoten obrat vijaka ustreza dvigu ali spustu glede na smer obračanja za 0,1 mm.

Pod mizico je pritrjen kondenzor, ki ima ob strani vijak za njegovo premikanje.

OPTIČNI DELI MIKROSKOPA

OBJEKTIV je zgrajen iz kovinskega valja, v katerega je vgrajen centriran sistem leč. V zgornjem delu kovinskega valja so navoji za pritrditev objektiva na revolver. Na objektivu je označba povečave objektiva in črta rumene, rdeče, modre ali črne barve, ki je odvisna od lastne povečave objektiva. Z menjavo objektivov menjamo povečave.

OKULAR je tudi iz kovinskega valja, ki nosi dve centrirani leči. Leži v zgornjem delu tubusa in skozenj gledamo v mikroskop. Ker mu približamo oko, ga imenujemo okular. Glede na število okularjev poznamo: monokularne, binokularne in trinokularne mikroskope (s kamero).

POMOŽNI OPTIČNI DELI MIKROSKOPA

KONDENZOR. Z njim dosežemo enakomerno osvetlitev vidnega polja. Pritrjen je na ogrodje mikroskopa z nosilcem kondenzorja, ki je gibljiv v vertikalni smeri. Kondenzor ima vijak za centriranje.

ZASLONKA je pripomoček, ki je koristen pri manjših in večjih povečavah. Z delno priprto zaslonko zavarujemo oči pred premočno svetlobo.

FILTER leži v okvirčku. Uporabljamo ga, da nam umetno svetlobo pobarva tako, da je čim bolj podobna dnevni svetlobi.

LUČKA leži v nogi mikroskopa in nam omogoča osvetlitev vidnega polja.

MIKROSKOPIRANJE S SVETLOBNIM MIKROSKOPOM

Ko gledamo neki predmet s prostim očesom, ga vidimo pod določenim kotom, ki ga določata skrajni točki predmeta, in ga imenujemo **zorni kot**. Zato se nam zdi predmet iste velikosti v različnih razdaljah različno velik. Nasprotno se nam predmeti različne velikosti v različnih razdaljah, toda pod istim zornim kotom, zdijo enako veliki. Če želimo videti predmet ostro brez naprežanja očesa, ga moramo gledati s t. i. razdalje jasnega vida. Človek jasno vidi do razdalje 25 cm. Pri krajših razdaljah se mora oko prilagajati, pri čemer se poveča zorni kot. Mikroskop pa je naprava, ki nam omogoča gledanje predmetov pod veliko večjim zornim

kotom, brez naprežanja očesa. Z optičnimi deli mikroskopa torej umetno povečujemo zorni kot.

S kombinacijo različnih okularjev in objektivov lahko sliko različno povečamo. Najpogosteje uporabljamo 40-, 100-, 400- in 1000-kratne povečave. Te so označene na vsakem okularju in objektivu. Glede na način uporabe razlikujemo suhe in imerzijske objektivne. Za prve tri uporabljamo suhe objektivne, za 1000-kratno povečavo pa imerzijski objektiv.

Pri uporabi suhih objektivov je med lečo objektiva in objektivnim stekelcem oz. pokrovnico zrak. Ta nima istega lomnega količnika svetlobe kot steklo. Zato se del svetlobnih žarkov, ki prehaja skozi opazovani predmet, razprši, torej ne pride do leče objektiva in ne tvori slike.

Pri uporabi imerzijskega objektiva uporabljamo imerzijsko olje, ki ima enak lomni količnik kot steklo. Olje prepreči lomljenje svetlobnih žarkov, zmanjša se njihova razpršenost, zato je slika jasnejša kljub večji povečavi. Vidni so predmeti v velikosti tudi 1 μm .

MERE V MIKROSKOPIJI

mm = milimeter

μm = mikrometer

nm = nanometer

$1\mu\text{m} = 0,001\text{ mm} (10^{-3}\text{mm}) = 1.000\text{ nm} (10^3\text{nm})$

$1\text{mm} = 1.000\ \mu\text{m} (10^3\mu\text{m}) = 1.000.000\text{ nm} (10^6\text{ nm})$

LOČLJIVOST

Prosto oko	do 0,1 mm
Optični mikroskop	od 1 mm do 0,1 μm
Elektronski mikroskop	od 0,1 μm do 1 nm

VELIKOST NEKATERIH CELIC IN DELCEV

0,1 mm: jajčna celica

10–2 μm : eritrociti sesalcev

3–0,8 μm : bakterije

10–0,2 nm: virusi

10–1 nm: proteini, aminokisliline

Od 0,1 nm: atomi

CENTRIFUGA

Centrifuga je v laboratoriju za veterinarske preiskave zelo pomembna naprava. Uporabljamo jo za ločevanje celic in delcev, ki so raztopljeni oz. razpršeni v tekočinah. Centrifugirano tekočino (**supernatant**), kot je serum ali plazma iz krvnega vzorca, lahko ločimo od gostejšega dela (**sedimenta**) in shranimo, pošljemo v nadaljnje analize ali sami analiziramo. Centrifuga prav tako koncentrira celice ali preostali sediment za analizo, kot sta urinski sediment ali sediment blata.

VRSTE CENTRIFUG

V večini laboratorijev imajo enega ali dva tipa centrifuge, kar je odvisno od glave centrifuge.

Centrifuga z vodoravno glavo ima posebne posode, ki se ob delovanju centrifuge postavijo vodoravno. Ko je centrifugiranje končano, se vrnejo nazaj v pokončen položaj, sediment pa se zaradi sile centrifugiranja zbere na dnu centrifugirne posodice (centrifugirke). Posodice, ki se med centrifugiranjem dvignejo vodoravno, imajo več (3 ali 4) prostorov za centrifugirke. Takšna centrifuga ima dve pomanjkljivosti. Prva je ta, da pri visokih obratih centrifugiranja (več kot 3000 obratov/min) pride v njej do dviga temperature. Poleg tega lahko pride do ponovnega mešanja sedimenta in supernatanta, ko se ročica oz. posodica iz horizontalnega položaja vrača v vertikalnega.

Drugi vrsti centrifuge pravimo **centrifuga z glavo pod kotom**. Pri tej vrsti so ob robu le-te odprtine, v katere položimo centrifugirke tako, da so pod kotom 52 stopinj. Pri tej centrifugi je lahko število obratov višje, ne da bi prišlo do dviga temperature.

Poleg *gumba za vklop in izklop* ima večina centrifug *merilec časa*, ki samodejno izklopi delovanje centrifuge po določenem oz. želenem času. Poleg tega imajo centrifuge *tahometer*,

s katerim nastavimo želeno hitrost centrifugiranja. Nekatere imajo tudi gumb, s katerim upočasnimo delovanje centrifuge po končanem centrifugiranju, novejšje pa avtomatsko zavirajo po končanem delu.

Material, ki ga želimo centrifugirati, mora biti centrifugiran določen čas z določeno hitrostjo in z največjo varnostjo. Hitrost je tukaj zelo pomembna. Če nastavimo napravo na prenizke obrate, ne bo prišlo do ločevanja sedimenta in supernatanta. Če je hitrost previsoka, lahko pride do pokanja celic in morfoloških sprememb celic v sedimentu. Hitrost in čas centrifugiranja morata biti določena v laboratorijskem postopku.

RAVNANJE S CENTRIFUGO

Pri uporabi centrifuge moramo zelo paziti na težo vzorca in uravnoteženost centrifuge. Ni nujno, da so podobne centrifugirke tudi enako težke. Zato moramo, preden vzorce centrifugiramo, le-te skupaj s centrifugirko stehtati in naslednje centrifugirke napolniti do iste teže (ne upoštevamo volumna).

Naslednji pomemben parameter je uravnoteženost. Centrifugirke postavljamo v centrifugo tako, da so druga nasproti druge. Če imamo liho število vzorcev, moramo eno centrifugirko napolniti z vodo, da bo zapolnila manjkajoči prostor. Neupoštevanje teh pravil lahko pripelje do nesreče. Novejšje centrifuge so narejene tako, da se centrifuga, če ni uravnotežena, samodejno izklopi. Prav tako ne bo delovala, če ne stoji na trdi, stabilni in horizontalni podlagi.

Med centrifugiranjem lahko pride do pokanja in razbitja centrifugirk. Če se karkoli polije ali razbije v centrifugi, jo je treba takoj očistiti. Če takoj ne odstranimo razbitih delcev, lahko ob nadaljnjem centrifugiranju pride do trajnih poškodb centrifuge.

Mikrohematokritsko centrifugo uporabljamo za ločevanje krvnih celic različnih tež oz. različnih velikosti in plazme. Zelo majhne vzorce krvi damo v mikrohematokritske epruvete. Z mikrohematokritsko centrifugo zelo hitro dobimo rezultate hematokrita (Ht oz. PCV) ter vizualno lahko ocenimo lipemijo, hemolizo, ikterus in levkocitozo, kar opazimo glede na spremembo barve plazme in širino levkocitnega pasu. Plazmo lahko iz hematokritskih epruvet prenesemo v refraktometer za determinacijo koncentracije celotnih plazemskih beljakovin. Z mikroskopom lahko na meji med krvnimi celicami in plazmo ugotovimo morebitno prisotnost

Mikrofilariae (krvnega parazita).

REFRAKTOMETER

Refraktometer ali merilec specifične teže uporabljamo za merjenje specifične teže ali koncentracijo beljakovin v urinu, serumu ali drugih tekočinah. To je cilindrična naprava z vgrajeno prizmo in kalibrirano skalo. Deluje na principu, da se svetloba pri potovanju iz enega medija v drugega (npr. zrak – urin) različno lomi zaradi različne optične gostote. Mesto loma lahko odčitamo na skali.

Refraktometer je kalibriran z destilirano vodo, ki predstavlja indeks nič, pri temperaturi od 15 do 25° C.

Refraktometer meri indeks refrakcije (lom svetlobe, kar zaznamo kot mejo med temnim in svetlim poljem) raztopine, skala pa je naravnana za odčitavanje specifične teže in koncentracije beljakovin (g/dl). Specifična teža ali koncentracija proteinov v raztopini je neposredno sorazmerna koncentraciji raztopljenih snovi; torej, gostejša kot je tekočina, več je proteinov in višji bo rezultat. Tekočine, kjer zaradi prevelike specifične teže ali prevelike koncentracije proteinov ne moremo odčitati rezultata, redčimo in razredčitev upoštevamo pri ovrednotenju rezultata.

Prednost refraktometra pred drugimi podobnimi napravami je v: natančnosti, dolgi življenjski dobi, enostavnosti uporabe, nizkih stroških in uporabi majhnih količin vzorca. Za določanje specifične teže urina zadostuje že kapljica vzorca, ki jo damo na prizmo pod stekelce pokrova. Za določanje koncentracije beljakovin v plazmi pa prav tako zadostuje samo kapljica le-te, ki jo lahko dobimo iz mikropipete po centrifugiranju krvi.

Refraktometer kalibriramo pred uporabo z destilirano vodo, ki mora kazati vrednost nič. Če na skali ob uporabi destilirane vode ne kaže vrednosti nič, ročno, s premikanjem vijaka za naravnavanje naravnamo refraktometer. Nikoli ne uporabljamo refraktometra, če nam pri destilirani vodi ne kaže vrednosti nič. Po vsaki uporabi ga moramo očistiti in osušiti. Nekateri proizvajalci svetujejo, da prizmo očistimo z alkoholom.

ELEKTRONSKI ŠTEVEK CELIC

Elektronski števec celic v veterini uporabljamo za štetje krvnih celic v polni krvi in somatskih celic v mleku. Elektronski števci celic, ki jih uporabljajo v humani medicini, niso isti kot tisti, ki jih uporabljajo v veterinarski medicini. Humane so spremenili oz. prilagodili, ker domače živali nimajo enakega premera krvnih celic kot človek, pa tudi med različnimi vrstami živali so precejšnje razlike. To je pri štetju potrebno upoštevati. Običajno so te naprave, poleg določanja števila posameznih celic (E, T, L), sposobne ovrednotiti tudi druge rezultate, kot so: hematokrit, hemoglobin, eritrocitni indeksi, naredijo pa tudi diferencialno belo krvno sliko. Naprava deluje tako, da tekočina (ustrezno razredčena kri) teče skozi ozko odprtino v tankem curku mimo dveh elektrod in potem glede na odboj elektronov od celic samodejno te celice šteje. Naprava šteje le povprečno velike celice. Kri konja in drobnice mora biti zaradi značilnosti eritrocitov bolj razredčena kot kri drugih živali. Glede na razredčitev naprava preračuna število celic na enoto.

Sodobnejša naprava najprej prešteje eritrocite (E, RBC). Glede na njihovo povprečno velikost in število izračuna vrednost hematokrita (Ht, PCV). Nato, pod vplivom snovi, ki jo naprava samodejno vbrizga v vzorec, eritrociti popokajo, fotometrično izmeri še masno koncentracijo hemoglobina (Hb). Iz števila eritrocitov, vrednosti hemoglobina in hematokrita izračuna eritrocitne indekse. Ko konča štetje eritrocitov, se začne štetje levkocitov (L, WBC) in trombocitov (T, Pt).

Naprava za štetje somatskih celic v mleku je enostavnejša in dejansko šteje samo levkocite. V uporabi je naprava pod imenom Fossomatik.

Naprava za elektronsko štetje celic je zelo občutljiva in zahteva pazljivo ravnanje. Strogo je potrebno upoštevati navodila proizvajalca. Dnevno vzdrževanje naprave obsega splakovanje celotnega sistema z ustreznim belilom, ki čisti cevčice, in s sveže pripravljeno raztopino za spiranje belila, da cevčice ostanejo prehodne. Redno je potrebno opravljati servis na napravi, s čimer zagotovimo, da vakuumska črpalka potegne ustrezno količino vzorca in ustrezno količino redčila v napravo.

INKUBATOR

Inkubator je kovinska omara z dvojno steno in dnom. Vrata so na sprednji strani in dvojna.

Prednja so z debelo steno in izolirana, notranja pa steklena. Ta omogočajo pogled v inkubator, iskanje želenega, ne da bi prišlo do večjega nihanja temperature. Med obema stenama sta destilirana voda in grelec. Ob strani je okence za nadzor ravni vode. Gretje uravnava kontaktni termometer, ki je povezan z grelcem. Ob spremembi temperature, ki ne ustreza želeni, se grelec vključi oz. izključi, tako da je temperatura zraka v inkubatorju stalna. Na vratih je termostat za regulacijo temperature, prikazovalnik (display), ki kaže realno temperaturo, ter stikalo za vklop in izklop. Nekateri imajo možnost nastavitve vlage in pritiska v inkubatorju.

VODNA KOPEL

Vodna kopel je kovinska posoda z dvojnimi dnom, v katerem je grelec. Na dnu je rešetka, na katero postavljamo oz. vstavljamo vzorce, in je zalita z destilirano vodo. Material, ki ga želimo segreti tik pred samim delom z njim, vlagamo v kopel skozi pokrov. Vodno kopel uporabljamo za hitrejšo in krajšo segrevanje, ker voda hitreje segreje predmete kot zrak.

HLADILNIK IN HLADILNE OMARE

Hladilnik uporabljamo za shranjevanje: preiskovanega materiala, kultur, serumov, shranjevanje gojišč in drugega materiala, lahko tudi za inkubacijo psihrofilnih bakterij. Hladilnik v laboratoriju naj bi imel prozorna vrata.

Hladilne omare uporabljamo za daljše shranjevanje naštetih materialov (razen gojišča) pri temperaturi od -18 do -70° C. Mikroorganizme lahko shranjujemo tudi v tekočem dušiku pri -196° C.

EKSIKATOR

Eksikator je steklena posoda z brušenim robom in s pokrovom, ki mora dobro tesniti. Na dnu je nameščena steklena polička, na katero odlagamo material. Lahko ga uporabljamo kot vlažno komoro za shranjevanje kultur, da preprečimo izsušitev. V tem primeru vlijemo v dvojno dno destilirano vodo. Če ga uporabljamo kot suho komoro, da se stvari ne navlažijo,

namestimo v dvojno dno snov, ki veže vodo.

BREZPRAŠNA KOMORA

Angleži jo imenujejo »laminar flow« in zato uporabljamo tudi ime laminarij. Uporabljamo jo pri delu s posebno nevarnimi mikroorganizmi.

Obstajata dve vrsti komor. Ena ščiti delavca pred okužbo, druga pa material, s katerim dela oz. oba. Prednja stena komore je steklena in dvignjena od delovnega pulta toliko, da lahko delavec seže v delovni prostor z rokami. Pri komori, ki ščiti delavca, zrak vstopa skozi odprtino za roke in se izsesava skozi zračni filter na vrhu komore. Pri komori, ki ščiti delavca in material, prihaja zrak v komoro že filtriran na prednji strani z vrha komore in izhaja iz komore skozi filter.

LABORATORIJI

Večina dobro opremljenih veterinarskih ambulant, predvsem za male živali, ima dokaj dobro opremljen priročni laboratorij. V njem lahko opravijo: preiskavo krvi – hemogram (št. E, T, L, Hb, Ht itd.), urina (L, E, beljakovine, nitriti, specifična teža, sediment itd.), kožnih ostrižkov na garjavce, koprološke preiskave na želodčno-črevesne in pljučne zajedavce in enostavnejše bakteriološke preiskave s komercialno pripravljenimi gojišči.

Poleg ustrezno usposobljenega kadra mora tak laboratorij imeti najnujnejše naprave, kot so: mikroskop, avtoklav, centrifuga, refraktometer in ne nazadnje naprava za hemogram (elektronsko štetje celic) in biokemijo krvi. Kljub dobro opremljenim laboratorijem značilnosti določenih bolezni, zahtevnost nekaterih preiskav, želja po čim večji zanesljivosti zahtevajo specialiste za posamezna področja laboratorijske diagnostike in specialistične laboratorije.

HEMATOLOŠKI LABORATORIJ

V hematološkem laboratoriju pregledajo: kri na število posameznih krvnih celic, koncentracijo hemoglobina, vrednost hematokrita, eritrocitne indekse, vrednost sedimentacije eritrocitov in čas koagulacije krvi. V njem opravijo tudi biokemijo krvnega vzorca, ki obsega koncentracijo posameznih elementov, hormonov, encimov in beljakovin.

Čeprav že sama beseda hematološki pove, da gre za pregled krvi, v teh laboratorijih pregledujejo tudi urin: določajo vsebnost eritrocitov oz. hemoglobina, levkocitov, nitritov, beljakovin, bilirubina itd., določijo specifično težo urina in pregledajo urinski sediment.

V hematološki laboratorij pošljemo: vzorec polne krvi, serum in vzorec krvi brez antikoagulantov ter vzorec urina. Vzorci morajo biti aseptično odvzeti, v ustrezni sterilni embalaži, ki jo nepredušno zapremo, ustrezno označimo in izpolnimo spremni dopis.

MIKROBIOLOŠKI LABORATORIJ

Ker mikrobiologija obsega veliko mikroorganizmov in ker se nekatere goji na poseben način, delimo ta laboratorij običajno na dve enoti. In sicer: bakteriološki laboratorij, kjer se ukvarjajo z bakterijami in glivami, ter virološki, kjer se ukvarjajo z virusi

BAKTERIOLOŠKI LABORATORIJ

V bakteriološki laboratorij pošljemo vzorce, da dobimo etiološko diagnozo kužnih bolezni. Tam potem dokažejo prisotnost patogenih bakterij ali glivic, njihovih toksinov v vzorcu, včasih pa prisotnost protiteles na povzročitelje infekcije.

Od bolnih živali najpogosteje pošljemo na preiskavo: vzorec polne krvi, krvni serum, iztrebke, urin, mleko molznic, slino, likvor, brise kože in dostopnih sluznic, dlako, perje, punkt at abscesa, tekočino iz edema, brise fistul in bioptat organa. Od zdrave živali vzorec jemljemo samo zato, da bi ugotovili, ali je prenašalec patogenih mikroorganizmov – klicenosec. Ko žival pogine, lahko pošljemo na preiskavo celo žival, če je majhna oz. dele ali cele organe, odvisno od mesta infekcije. Na preiskavo lahko pošljemo tudi material ali predmete, s katerimi je bila v stiku ali se je preko njih okužila (hrano, vodo, vzorce in brise tal in predmete za nego živali).

Vzorci, poslani na preiskavo, morajo biti sveži. Predvsem je to pomembno, ko gre za pogin živali, ker se v truplu kmalu po smrti začnejo procesi razgradnje in gnitja. Če vzorca ne moremo takoj po odvzemu dostaviti, ga moramo ohladiti na +4 °C in dostaviti v hladilni torbi. Moramo ga tudi tako izbrati, da vsebuje povzročitelje kužne bolezni. Odvzamemo ga s sterilnim priborom na aseptični način in ga shranimo v sterilno embalažo (epruvete, stekleničke ipd.), ki se nepredušno zaprejo. Vzorec pošljemo v hladilni torbi skupaj s spremnim dopisom po kurirju, ki zna z njim ravnati in ukrepati ob nesreči.

VIROLOŠKI LABORATORIJ

V virološki laboratorij pošljemo vzorce, da bi ugotovili povzročitelja bolezni – virus oz. specifična protitelesa.

Vzorec, v katerem želimo dokazati virus, moramo vzeti živali v tisti fazi bolezni, ko pričakujemo največjo koncentracijo virusov. Običajno takrat, preden postanejo simptomi najizrazitejši. V laboratorij ponavadi pošljemo: kri, izcedek iz očesa, nosu, ust, nožnice in prepucija, blato, urin, likvor, ostružke kože, brise ali izpirke dostopnih sluznic, vsebino aft, biopstat organov, abortirane plodove in spermo (odvisno od infekcije).

Poginuli živali odvezamemo tiste organe, ki so zaradi kužne bolezni najbolj spremenjeni. Če gre za septikemijo, odvezamemo vzorec jeter, ledvic, vranice in bezgavk.

Glede načina odvzema, shranjevanja in pošiljanja vzorcev velja isto kot pri vzorcih za bakteriološko preiskavo.

PARAZITOLOŠKI LABORATORIJ

V parazitološkem laboratoriju ugotavljamo prisotnost notranjih in zunanjih zajedavcev. V laboratorij pošljemo: vzorec krvi, kože oz. ostružek, dlake, iztrebke, dele črevesja ali organov (jeter, pljuč) poginulih ali zaklanih živali.

Način odvzema je odvisen od vrste vzorca, kar je podrobneje opisano v naslednjem poglavju. Pri odvzemu upoštevamo načela asepse, vzorec damo v čisto embalažo, razen krvi, ki jo damo v sterilno epruveto. Vzorce lahko dostavimo na običajen način (ne nujno) ob upoštevanju, da imamo opravka s kužnim materialom.

PATOHISTOLOŠKI LABORATORIJ

V patohistološkem laboratoriju ugotavljajo vzrok smrti ali rakaste spremembe glede na: patološke spremembe na organih in celicah, spremembe odvzetega tkiva pri biopsiji ali spremembe celic, dobljenih pri brisu sluznice.

Na pregled lahko pošljemo: celo truplo ali njegove dele (npr. glavo), organe ali organske sisteme poginule živali. Pregled je potrebno opraviti čim prej, ker kmalu nastopijo zaradi delovanja proteolitičnih fermentov in prisotnih bakterij posmrtne spremembe. Zato moramo truplo ali vzorce poslati čim prej, po možnosti ohlajene, tako zapakirane, da ni možnosti, da bi prišli v stik z okolico. Če pošiljamo samo dele živali oz. organe ali organske sisteme, moramo

v spremnem dopisu opisati stanje preostalih delov in organov v času odvzema.

Ravnanje z vzorcem, dobljenim z biopsijo, je opisano v naslednjem poglavju.

SEROLOŠKI LABORATORIJ

V serološkem laboratoriju ugotavljajo prisotnost specifičnih protiteles na povzročitelje določenih povzročiteljev kužnih bolezni. Običajno gre za bolezni, ki jih želijo ugotoviti na širšem območju in pri velikem številu živali (odredba).

V laboratorij pošljemo kri brez dodanega antikoagulanta ali pripravljen serum. V izjemnih primerih polno kri. Kako vzorec odvezamemo, pripravimo in pošljemo, si poglejte v naslednjem poglavju.

LABORATORIJ ZA HIGIENO ŽIVIL IN BROMATOLOGIJO

Vanj pošljemo vzorce živil živalskega izvora in vode, ki jo uporabljajo pri predelavi teh živil. Podrobneje o tem pri predmetu higiena živil živalskega izvora.

LABORATORIJ ZA PATOLOGIJO PREHRANE

V ta laboratorij pošljemo vzorce hrane, krme in vode, ki jih živali uživajo. Podrobneje pri predmetu živinoreja.

ODVZEM IN POŠILJANJE VZORCEV ZA LABORATORIJSKE PREISKAVE

Za postavljanje pravilne diagnoze si veterinar pogosto pomaga z rezultati laboratorijskih preiskav. Zato so zelo pomembni:

- odvzem in priprava vzorca za določeno preiskavo
- natančno sestavljen spremni dopis
- primeren transport
- pravilno izvajanje testov

Laboratorijske preiskave običajno opravljajo v specialističnih laboratorijih. Nekatere lahko opravijo tudi v veterinarski ambulanti s komercialno dosegljivimi hitrimi testi ali z enostavno mikroskopsko preiskavo vzorcev. Nepravilno ravnanje v katerikoli fazi postopka lahko privede do nepravilnih ali pomanjkljivih rezultatov.

Laboratorijske preiskave lahko delimo na: mikrobiološke, parazitološke, histološke in biokemijske.

Za laboratorijske preiskave največkrat odvezamemo vzorce: krvi, urina, blata, kože in sluznic. Način in mesto odvzema vzorca sta odvisna od vrste bolezni in preiskave.

ODVZEM, SHRANJEVANJE IN POŠILJANJE VZORCEV KRVI

Kri jemljemo iz ven. Mesto odvzema je odvisno od: vrste živali, stanja živali (rejenost, poškodbe itd.) in rutine posameznika. Najpogosteje odvezamemo kri iz *v. jugularis*, *v. saphene*, *v. cephalice antebrahii*, *v. supcutanee abdominis*, repne vene, *v. cave cranialis*.

Kri odvezamemo aseptično, kar pomeni, da pred odvzemom odstranimo dlako in to mesto razkužimo. Žival pri tem fiksiramo tako, da jo čim manj vznemirjamo. Uporabljamo le najnujnejše prijeme za imobilizacijo, ker lahko vznemirjenost in stres povzročita spremembe na eritrocitih in levkocitih ter nepravilne rezultate tudi pri drugih parametrih. Pred in med samim odvzemom vzorca krvi mora biti žila nad mestom odvzema komprimirana (stisnjena).

Kri lahko odvzamemo na tri načine: vakuumsko (posebne igle in vakujete), z iglo in brizgo ali samo z iglo.

Debelina igle je odvisna predvsem od velikosti živali. Predebela igla lahko povzroči nastanek hematoma, pretanka pa razpad eritrocitov (hemolizo). Kri mora v epruveto teči po steni epruvete, da ne pride do pokanja eritrocitov. Vakuumsko jemanje krvi je najbolj v uporabi in je najbolj primerno za odvzem več vzorcev krvi pri isti živali. V vseh primerih napolnimo epruveto od $\frac{2}{3}$ do $\frac{3}{4}$ oz. toliko, kolikor vakuum potegne krvi v epruveto.

Preden začnemo z jemanjem krvi, moramo vedeti, kakšno preiskavo bomo naredili. Kri za običajne hematološke preiskave odvzamemo iz ven. Če želimo narediti hemogram (število eritrocitov, levkocitov, trombocitov, sedimentacija eritrocitov, hemoglobin, hematokrit itd.), bomo izbrali epruveto, ki ji je dodan antikoagulant.

Najpogostejši antikoagulanti so: EDTA (etilen-diamino-tetra-acetat), citratna sol in heparin.

EDTA je najpogosteje uporabljan antikoagulant. Veže kalcij in prepreči nastanek krvnega strdka. Epruvete s tem antikoagulantom imajo vijoličast zamašek. Uporabljamo jo za rutinske preiskave krvi, ker ohranja krvne celice morfološko nespremenjene dlje časa kot drugi antikoagulanti. Tako konzervirana kri mora biti pregledana čim prej, najkasneje v prvih dveh urah. Če to ni možno, jo damo v hladilnik na $+4^{\circ}\text{C}$ za največ 24 ur in jo občasno premešamo.

Epruvete s heparinom imajo zelen zamašek in jih uporabljajo za rutinske preiskave krvi ali plazme. Taka mora biti pregledana takoj, ker heparin kmalu poškoduje krvne celice.

Kri s citratno krvjo uporabljamo danes samo za koagulacijske teste, včasih tudi za izdelavo krvnih agarjev. Ta antikoagulant ni nadomestek za prva dva antikoagulantna, ker hitro spremeni morfologijo krvnih celic. Epruvete s citratom imajo moder zamašek.

Takoj po odvzemu epruveto narahlo obračamo, da se kri in antikoagulant premešata. Tako kri imenujemo polna kri.

Če želimo narediti serološke preiskave (količina encimov, uree, mikroelementov, glukoze ali prisotnost protiteles), odvzamemo kri v epruveto brez antikoagulantna, ki ima rdeč zamašek. Vsebine epruvete v tem primeru ne smemo premešati. Za serološke preiskave lahko kri pošljemo v laboratorij v 24 urah ali pa najprej iz krvi pripravimo serum in pošljemo samo tega.

PRIPRAVA KRVNEGA SERUMA IN SHRANJEVANJE

Epruveto s krvjo pustimo 24 ur na sobni temperaturi, da koagulira. Nato jo damo čez noč v hladilnik, da se koagulum skrči in iztisne še preostali serum. Naslednji dan epruveto s koagulirano krvjo centrifugiramo (3 min pri 3000 obratih). Serum, ki se je izločil, odlijemo ali odpipetiramo v sterilno epruveto. Takšen serum je primeren za takojšnje preiskave, lahko pa ga tudi shranimo, in sicer v hladilniku pri +4° C največ 4 dni, v zamrzovalniku navadnega hladilnika do 7 dni ali na -25° C več mesecev. Ponovno odtajanje in zamrzovanje ne vplivata bistveno na koncentracijo serumskih sestavin. Če moramo narediti preiskavo takoj, pustimo kri v epruveti na sobni temperaturi eno uro in nato vzorec centrifugiramo.

Encimske serumske preiskave morajo biti opravljene najkasneje v 7 dneh, kajti aktivnost nekaterih encimov se nato zelo zmanjša.

PRIPRAVA KRVNE PLAZME

Plazmo pripravimo tako, da polno kri (kri z antikoagulantom) centrifugiramo 3 minute pri 2000 obratih. Plazmo odpipetiramo ali odlijemo v drugo sterilno epruveto in ga lahko shranjujemo tako kot serum. Razlika med plazmo in serumom je v fibrinogenu, ki ga serum ne vsebuje.

ODVZEM IN POŠILJANJE VZORCEV BLATA ZA PARAZITOLŠKE PREISKAVE

Za parazitološke preiskave jemljemo vzorce blata za posamezne ali skupinske preiskave. Za posamezne preiskave vzamemo vzorec blata ene živali v velikosti oreha in ga ustrezno zavarujemo tako, da ga shranimo v za to namenjeno posodico ali vrečko in označimo. Vzorec naj bi bil čim bolj svež. Lahko ga vzamemo neposredno iz danke pri večjih živalih. Za skupinski vzorec se odločimo, ko imamo večjo skupino iste vrste in kategorije živali na nekem območju. Približno na 20–40 mestih vzamemo nekaj blata tako, da bo končni vzorec težek približno 1 kg. Ker nas zanima samo invadiranost z zajedavci, ni potrebno sterilno jemanje in shranjevanje vzorcev. Prav tako se z izvedbo same preiskave ne mudi, ker se rezultati ne bodo spremenili v nekaj dneh, mogoče bo potrebno samo spremeniti vrsto preiskave.

JEMANJE, SHRANJEVANJE IN POŠILJANJE VZORCEV URINA

Preiskave urina nam pomagajo pri ugotavljanju zdravstvenega stanja urogenitalnega trakta. Urin lahko odvzamemo na tri načine: z odvzemom srednjega curka, s kateterizacijo in cistocintezo.

Najenostavnejši način je odvzem srednjega curka pri uriniranju ali stiskanju mehurja. Tak vzorec je manj primeren za bakteriološko preiskavo urina kot odvzet s kateterizacijo ali cistocintezo. Najbolje je odvzeti srednji curek urina, izogibamo pa se jemanju začetnega curka, ki lahko vsebuje bakterije iz izvodil sečil ali končnega curka. Pred jemanjem je treba očistiti vulvo ali prepucij, vendar ne z razkužilnimi sredstvi. Urin lahko pridobimo pri spontanem uriniranju ali uriniranje spodbudimo s pritiskom in masiranjem sečnega mehurja preko trebušne stene ali pa veterinar s stiskanjem mehurja spodbudi uriniranje pri psih in mačkah.

Urin odvzamemo s pomočjo katetra, ki ga preko sečnice vstavimo v sečni mehur. Postopek in tip katetra je odvisen od spola živali. Tako za samice uporabljamo kovinske, za samce pa mehke silikonske katetre. V obeh primerih mora biti kateter steril. Urin ujamemo v brizgo, ki jo lahko pritrdimo na konec katetra ali pa enostavno v pripravljeno posodo. Postopek moramo izpeljati aseptično in previdno, da ne povzročimo poškodb ali vnesemo mikroorganizmov s katetrom v mehur.

Cistocinteza je postopek, ko odvzamemo vzorec urina psom ali mačkam neposredno iz sečnega mehurja preko trebušne stene. Postopek mora biti izpeljan aseptično, da ne pride do infekcij. Priporočljivo ga je izvajati le pri polnem mehurju, da pri jemanju vzorca preprečimo poškodbe sosednjih organov. Tako lahko vzamemo samo en vzorec na dan, ker bi pri naslednji cistocintezi v vzorcu našli sledove krvi in zaradi tega dobili netočne rezultate. Pri tem načinu se izognemo kontaminaciji vzorca iz spodnjih sečnih poti, zato je tak vzorec najprimernejši za bakteriološko preiskavo.

Pri urinu najpogosteje opravimo fizikalne in biokemijske preiskave, za katere je potreben svež urin. Večino preiskav je mogoče opraviti v veterinarski ambulanti senzorično in s komercialno pripravljenimi hitrimi testi. Urin za bakteriološko preiskavo je najbolje odvzeti s cistocintezo v sterilno epruveto, stekleničko ali pa vzorec pustimo v brizgi. Za ugotavljanje števila bakterij v urinu (preiskava po Sanfordu) priporočajo 10 ml vzorca. Najmanjša količina, s katero je preiskava še mogoča, je 1 ml. Vzorec mora biti dostavljen v laboratorij v čim

krajšem času. Med transportom mora biti hlajen. Obstajajo tudi gojišča, na katerih del preiskave opravimo v ambulanti in samo ob pozitivnem rezultatu gojišče pošljemo v nadaljnjo preiskavo v referenčni laboratorij.

Pomembno diagnostično vrednost ima tudi mikroskopski pregled urinskega sedimenta. Za to preiskavo moramo urin centrifugirati 3–5 minut pri 1000 do 2000 obratih na minuto. Supernatant previdno odlijemo ali odpipetiramo. Za preiskavo si pustimo približno 0,3 ml vzorca. Sediment moramo pripraviti do pol ure po jemanju urina. Če to ni možno, urin zamrznemo v nepredušni embalaži.

ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV ZA PATOHISTOLOŠKE PREISKAVE

S patohistološkimi preiskavami ugotavljamo patološke spremembe tkiv. Največkrat jih uporabljajo za potrditev diagnoze pri razteleshvanju pa tudi za postavitev ali potrditev diagnoze, ko patološko spremenjeno tkivo, največkrat rakasto, najdemo pri pregledu ali operaciji. Če lahko vzorec tkiva pošljemo v patohistološki laboratorij isti dan, lahko pošljemo nativni preparat. Če te možnosti nimamo, moramo vzorec fiksirati v 10 % formalinu, ki je puferiziran. Vzorci za fiksacijo naj bodo veliki 1 x 1 x 0,5 cm, da lahko formalin hitro prepoji celotni vzorec. Formalina mora biti vsaj 10-krat toliko, kolikor je tkiva. Pri tkivih, ki plavajo, moramo paziti, da sega formalin do vrha transportne embalaže. Tkiva za patohistološko preiskavo ne smemo zamrzniti, ker bi kristali, ki ob zamrzovanju nastajajo, povzročili poškodbe celic, ki se težko ločijo od patoloških procesov.

ODVZEM VZORCEV MLEKA

Za mikrobiološko preiskavo mleka potrebujemo sterilne epruvete, ki so ustrezno označene: krava in četrta (1/I, 1/II, 1/III, 1/IV, 2/I itd.). Pred odvzemom vzorca vime očistimo z razkužilom in do suhega obrišemo. Nato s kosmičem vate, namočenim v 70 % etanol, razkužimo vršičke seskov od I. do IV. četrti. Vzorce mleka namolžemo v epruveto od IV. do I. četrti, da se ne bi z dlanjo dotaknili že razkuženih seskov.

Prve curke namolžemo v posebno posodo. Nato sterilno epruveto odmašimo tako, da z mezinem leve roke objamemo zamašek in epruveto odpremo ter jo preprimemo s preostalimi

prsti iste roke. Z desno roko namolžemo mleko v epruveto in pri tem pazimo, da vzorca ne okužimo. Epruveto nato zamašimo in po istem postopku odvezamemo mleko še iz preostalih četrti.

Vzorec mleka za štetje celic s Fossomaticom odvzame veterinarski tehnik zjutraj v zbiralnicah mleka (skupinski vzorec). Pri sistematičnem zatiranju mastitisa vzamemo skupne vzorce posameznih krav v hlevu, lahko pa tudi posameznih četrti pred molžo. Skupinske vzorce dostavimo takoj v diagnostični laboratorij. Kadar to ni možno, fiksiramo vzorec mleka s 3 kapljicami nasičene raztopine kalijevega bikromata in pustimo prek noči v hladilniku pri +4° C.

ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV S KOŽE IN SLUZNIC

Vzorce s kože največkrat pregledujemo na prisotnost bakterijskih, glivičnih in parazitskih povzročiteljev bolezni. Na sluznicah iščemo najpogosteje bakterijske povzročitelje. Vzorec odvezamemo v obliki brisov, kožnih ostružkov in dlake.

ODVZEM IN POŠILJANJE BRISOV

Za odvezem brisov za mikrobiološko preiskavo uporabljamo sterilne vatirane palčke, ki jih dobimo že komercialno pripravljene ali jih sami pripravimo in steriliziramo v avtoklavu. Z vatirano paličico podrgnemo po zelenem mestu in jo zapremo v sterilno embalažo. Če je mesto odvezema suho, lahko vato namočimo s sterilno fiziološko raztopino. Za odvezem določenih brisov, ko želimo ugotoviti prisotnost nekaterih zelo občutljivih bakterij, uporabljamo transportna gojišča. Takoj po odvzemu brisa vatirano paličico vtaknemo v to gojišče in s tem onemogočimo njihov propad oz. omogočimo bakterijam, da se začnejo razmnoževati.

ODVZEM KOŽNIH OSTRUŽKOV IN DLAKE

Kožne ostružke običajno jemljemo za ugotavljanje kožnih zajedavcev (garjavcev). Vzorec odvezamemo z roba spremenjene kože med zdravim in prizadetim tkivom.

Postopek:

1. s prsti fiksiramo kožo na robu spremembe;
2. s skalpelom strgamo po koži toliko časa, dokler se površina ne zarosi s serumom oz. se ne pokažejo kapljice krvi. Pri tem moramo paziti, da ne zarežemo v kožo;
3. ostružek kože s skalpela naneseemo na objektno stekelce, kanemo kapljico parafinskega olja in pregledamo mikroskopom ali damo v transportno epruveto in pošljemo v referenčni laboratorij.

Dlako za preiskavo na dermatofite (povzročitelje glivičnih obolenj na koži) odvezamemo z roba patoloških sprememb tako, da populimo dlake skupaj z dlačnimi mešički. Vzorec damo v ustrezno čisto transportno embalažo. Če patološki procesi niso izraženi ali če lastnik želi pregled živali, ker je nekdo od domačih zbolel, lahko vzorec dlake odvezamemo tudi s krtačno tehniko. Uporabljamo zobno ščetko ali košček grobe tkanine (itison), s katero prečešemo žival dovolj grobo po celem telesu, da ostane na njej zadostna količina dlake.

ODVZEM IN POŠILJANJE VZOCEV NA KEMIJSKO-TOKSIKOLOŠKO PREISKAVO

Zaradi možnosti zastrupitve živali z velikim številom potencialnih strupov, nespecifične klinične slike in negativnih mikrobioloških izvidov je potrebno včasih narediti tudi preiskavo na prisotnost kemikalij ali strupov in to v zadostni koncentraciji.

Od žive živali pošljemo na preiskavo: vzorec krvi, urina, blata, izbruhano vsebino in pri molznicah vzorec mleka. Če imamo opravka z majhno poginulo živaljo, pošljemo le-te cele; veliki živali pa odvezamemo vzorec seruma ali krvi iz srca, urin iz mehurja, vsebino želodca in črevesja oz. cel želodec in tanko črevo skupaj z vsebino, tkivo ledvic, jeter, možgane, maščobno tkivo, kost, kožo in včasih dlako.

Če obstaja sum, da se je žival zastrupila s hrano oz. vodo, je treba poslati tudi te vzorce. Če sumimo na zastrupitev s snovjo, ki se nahaja v okolici (npr. z umetnimi gnojili), pošljemo to snov oz. njeno embalažo.

V spremni dopis je poleg drugih podatkov potrebno napisati podatke o področju, s katerega je žival, podatke o uporabi pesticidov, rodenticidov in insekticidov na posestvu, podatke o bližnjem odlagališču odpadkov idr. Vzorec, vzet za toksikološke analize, moramo zaščititi

pred onesnaženjem iz okolja (prahom, dlako) in z ničimer ga ne smemo spirati, da ne bi sprali tudi strupa. Tkivne vzorce je potrebno zamrzniti tako, da pridejo tudi v laboratorij zamrznjeni. Vzorce posameznih organov je potrebno pakirati ločeno v označene neuporabljene vrečke ali posebne folije. Tekoče vzorce, razen krvi, pošiljamo v steklenih ali plastičnih posodah, ki se dobro zaprejo. Od vsakega tkiva pripravimo dva vzorca. Vse skupaj je potrebno zapakirati v kartonsko ali plastično škatlo in če pričakujemo sodni postopek, tudi zapečatiti.

POŠILJANJE VZORCEV

Vzorce pošljemo v embalaži, ustrezni za posamezno vrsto vzorca. Paziti moramo, da ne pride do spremembe vzorca (vročina, mraz), in tudi, da vzorca ne razlijemo v okolico, saj je lahko kužen. Skratka, vzorec ne sme vplivati na okolje in ne okolje na vzorec.

Priložiti moramo spremni dopis ali zapisnik o vzorcu, lahko je standardiziran ali napisan ob odvzemu. Glede na vrsto vzorca, posebnosti bolezni in vrsto preiskave moramo upoštevati posebnosti, ki jih določeni laboratoriji zahtevajo. Da ne bi naredili napake, je priporočljivo, da pošljemo neobičajen ali za nas nov vzorec, da prej pokličemo v ustrezen laboratorij in se prepričamo o pravilnosti našega ravnanja in upoštevamo njihove zahteve.

Spremni dopis mora vsebovati:

- podatke o pošiljatelju vzorca,
- podatke o lastniku živali,
- podatke o živali,
- klinično diagnozo oz. opis sprememb in morebitnih predhodnih zdravljenj,
- kakšne preiskave želimo,
- mesto, način in čas odvzema vzorca,
- komu naj pošljejo izvide in komu račun,
- datum in podpis.

V zapisnik lahko vpišemo tudi druge podatke, ki bi lahko bili koristni za potek preiskave in interpretacijo rezultatov. Če pošljamo v laboratorij kužni material, moramo to posebej označiti, transportno embalažo pa ustrezno zaščititi, da onemogočimo njegov raztros. Priporočljivo je, da tak material pošljamo po kurirju, ki je seznanjen z vsebino pošiljke in ukrepi ob nesreči.

MIKROBIOLOGIJA

Mikrobiologija je veda o najmanjših živih bitjih. Poimenovanje je nastalo iz treh grških besed: *mikros* – majhen, droben, *bios* – življenje in *logos* – veda, ki skupaj pomenijo vedo o majhnih živih bitjih. Ta so tako majhna, da jih ni moč opazovati s prostim očesom, ampak le z mikroskopom (navadnim svetlobnim mikroskopom). Obstajajo še manjša živa bitja, ki jih tudi z navadnih mikroskopom ne vidimo, opazujemo jih lahko le z elektronskim.

Poleg tega delimo mikrobiologijo na različna področja, v katera posega. Za nas so pomembne predvsem:

- splošna mikrobiologija: preučuje splošne značilnosti mikrobov, npr. obliko, biološke značilnosti; vpliv zunanjih fizikalnih in kemičnih dejavnikov na mikrobove; ekologijo in genetiko mikrobov;
- medicinska mikrobiologija: preučuje patogene mikroorganizme, ki povzročajo bolezni pri ljudeh (humana medicinska mikrobiologija) in pri živalih (veterinarska medicinska mikrobiologija);
- tehnična mikrobiologija: preučuje mikrobove, ki pomagajo fermentirati živilo (kislo mleko, siri, kruh, pivo, kislo zelje itd.), tiste, ki povzročajo kvarjenje živil in tiste, ki jih uporabljajo v farmaciji (antibiotiki).

Medicinska in veterinarska mikrobiologija preučujeta mikrobove, ki povzročajo bolezni, skupne ljudem in živalim, t. i. zoonoze. To so torej bolezni, ki se prenašajo s človeka na žival in obratno. Ukvarjata se tudi s preučevanjem mikrobov v okolju, v katerem živijo ljudje in živali, in s patogenimi mikrobi v hrani, vodi in odplakah.

RAZŠIRJENOST MIKROORGANIZMOV V NARAVI

Mikrobi so v naravi zelo razširjeni, najdemo jih v zraku, vodi, zemlji in v ali na živalskem ali človeškem organizmu.

V zraku so le začasno, ker nimajo dovolj hrane. Vanj pridejo predvsem z delci prahu ali vode. Kjer so bolne živali ali ljudje, je v zraku veliko bakterij, medtem ko je v gozdovih na višjih nadmorskih višinah mikroorganizmov malo ali nič.

V vodi je mikrobov veliko. V stoječe vode pridejo z atmosfersko vodo, iz zemlje ali drugih

organizmov. V vodi se lahko razmnožujejo, če je dovolj hrane (gnitje organskih snovi, plankton), kisika, soli, sončne svetlobe, primerna temperatura itd.

V tleh je sestava mikroflore odvisna od: količine in vrste hranilnih snovi, vlage, količine kisika, temperature in pH reakcije tal.

MIKROORGANIZMI V ŽIVALSKEM ORGANIZMU

Koža in sluznice živali in človeka so tudi naseljene z mikrobi, medtem ko so notranja telesna tkiva in organi zdravega organizma brez mikrobov, torej sterilna. Vsaka žival se rodi v mikrobiološkem smislu sterilna. Šele po prvem vdihu in s prvo hrano in stikom z okolico pridejo v telo tudi mikrobi. Naselijo se na koži, sluznicah in telesnih odprtinah. Prehranjujejo se z različnimi izločki kože in sluznic, z odmrliimi celicami, vsebino črevesja ipd.

Na koži vedno najdemo mikroorganizme. Pred vdorom mikroorganizmov je dobro varovana z dlako ali s perjem, povrhnjico, z ustreznim pH ter epitelnimi oz. žleznimi izločki. Večina patogenih mikroorganizmov lahko prodre v notranjost le skozi poškodovano, ranjeno kožo. Nekaj vrst patogenih mikroorganizmov parazitira na zdravi koži in vdirajo v organizem skozi lojnice in znojnice ter povzročajo furunkulozo in abscese (stafilokoki, streptokoki, brucele, francisele itd.).

Največ mikroorganizmov se nahaja v prebavilih, kjer so potrebni, ker pomagajo pri prebavi v črevesju, sintezi nekaterih vitaminov, prebavi celuloze v vampu in se tudi izločajo z blatom. Na sluznico ust in dihal prihajajo s hrano, z vodo in vdihanim zrakom. Ustna sluznica je zavarovana pred vdiranjem mikrobov z večslojnim ploščatim epitelom. Patogeni mikroorganizmi prodrejo v telo skozi usta preko tonzil in žrela. Poškodovana sluznica prav tako predstavlja mesto vdora mikrobov.

Obrambo pred vdorom mikroorganizmov predstavljajo v prebavilih: epitelij sluznice, kisel pH v želodcu in naravna mikroflora. Prav tako predstavlja vsaka poškodba sluznice in porušeno razmerje med bakterijami možnost vdora mikrobov v notranjost organizma.

V dihalih je mikroflora odvisna od mikroflore v zraku. Večina mikrobov se ustavi na sluznici nosa, grla in traheje (migetanke, lepljivost). Bronhiji in pljuča so praviloma brez mikroorganizmov. V trebušni in prsni votlini, krvi, žolču in urinu v normalnih okoliščinah ni

mikroorganizmov. Na sluznici spolnih organov je bolj ali manj specifična mikroflora.

V mleku je tudi pri aseptičnem odvzemu vzorca vedno prisotnih nekaj mikrobov. To so večinoma mlečnokislinske bakterije in enterobakterije. Lahko pa so prisotne tudi patogene bakterije, ki se zaradi lokalnega ali sistemskega obolenja izločajo z mlekom (*Str. agalactiae*, stafilokoki, brucele, mikobakterije, antraksa itd.).

V svežem živalskem gnoju je vedno prisotno večje število bakterij, ki se izločajo s fekalijami iz črevesja. Tukaj lahko najdemo tudi patogene mikrobove, ki pri pravilno pakiranem gnoju zaradi dviga temperature odmrejo (biološka sterilizacija).

MIKROORGANIZMI

Pomembno vlogo v svetu mikroorganizmov imajo enocelični organizmi, ki jih glede na zgradbo, sestavo in dedno zasnovo delimo na prokariote in evkariote.

PROKARIONTI

Prokarioti so manjše in preproste celice. Obdajata jih citoplazmatska membrana in celična stena. Vsebujejo ribosome, vendar so ti manjši kot v evkariotskih celicah. DNK ni urejena v kromosomih in ni obdana z membrano, tako da prokarioti nimajo pravega jedra, temveč govorimo o jedrni snovi, ki je lahko na enem ali več mestih v celici. Prokariotska celica nima mitotičnega (delitvenega) aparata, temveč se podvojena DNK loči, citoplazmatska membrana pa začne vraščati v citoplazmo in s tem celico razdeli. Nekatere prokariotske celice imajo tudi krožne DNK, ki jih imenujemo plazmidi. Ti so za nas pomembni, ker se lahko prenesejo v druge celice in s tem tudi določene lastnosti prokariotske celice (npr. odpornost na antibiotike). Ker je prokariotska celica v primerjavi z evkariotsko veliko preprostejša, se tudi veliko hitreje razmnožuje. Delitev evkariotske celice traja 18–24 ur, prokariotske pa manj kot 15 minut.

EVKARIONTI

Evkarionti vsebujejo številne organele (mitohondrije, endoplazmatski retikulum, golgijev aparat, lizosome, kloroplaste), ki so tudi glavna značilnost te celice. Organele obdaja posebna membrana, ki jih ločuje od preostale citoplazme in ohranja njihovo obliko. V jedru DNK oblikuje kromosome, ki se med mitozo podvojijo. Samo jedro je obdano z dvoplastno membrano, ki ga loči od citoplazme.

IMENOVANJE MIKROORGANIZMOV

Vsak mikroorganizem ima dve imeni, ki sta latinskega izvora. Najprej je ime rodu (*genus*) in se piše z veliko začetnico. Drugo ime je ime vrste (*species*) in ga pišemo z malo začetnico. Ime lahko opisuje značilnosti mikroorganizmov, določa kraj, kje je bil odkrit, ali nosi ime znanstvenika. Npr. *Streptococcus pyogenes*: prvi del imena določa obliko, drugi pa način delovanja (gnojenje). Včasih lahko zapišemo samo vrsto, kot npr. *Mycobacteria spp.*, ki zajema vse predstavnike te vrste.

RAZDELITEV MIKROORGANIZMOV

Najpogostejša je razdelitev mikroorganizmov po njihovih fenotipskih lastnostih. Tako jih delimo na: bakterije, viruse, glive in praživali. Z bakterijami se ukvarja bakteriologija, z virusi virologija, z glivami mikologija in s praživalmi protozoologija

BAKTERIJE

Bakterije so najštevilnejši organizmi na svetu. So zelo prilagodljivi, tako da jih najdemo skoraj povsod (v zraku, zemlji, vodi, na ledenikih, v globinah morja, vrelih, v tkivih rastlin in živali). Njihova celotna masa presega maso vseh rastlin in živali skupaj. Bakterije lahko vidimo samo pod mikroskopom. Z običajnimi laboratorijskimi mikroskopi, povečave do 400-krat, vidimo večino bakterijskih celic, vendar zelo težko ločimo podrobnosti.

Osnovna merska enota v mikrobiologiji je μm . Večina bakterijskih celic je velika 3–0,8 μm .

Če vzamemo bakterije, ki so dolge 1 μm , bi jih lahko nanizali kar 2000 na razdalji premera bučikine glavice.

MORFOLOGIJA BAKTERIJ

OBLIKA BAKTERIJ

Glede na obliko ločimo tri temeljne skupine bakterij:

- okrogle ali jajčaste imenujemo koki,
- paličaste imenujemo bacili,
- zavite imenujemo vibrio, spirili ali spirohete.

Večina bakterij ima stalno obliko. Posamezne vrste, npr. korinebakterije, se lahko pojavljajo v različnih oblikah. Četudi rastejo na neustreznih gojiščih, lahko spremenijo obliko.

Bakterije se delijo nespolno, z enostavno delitvijo na dvoje. Potomci so navadno po svojih dednih značilnostih enaki starševskemu osebku. Razen ko gre za prenos delcev DNK (plazmid), se spremeni tudi sama bakterijska celica.

ZGRADBA BAKTERIJSKE CELICE

Glavni sestavni deli bakterijske celice so:

- glikokaliks
- bički
- resice
- celična stena
- citoplazmatska membrana
- citoplazma

Glikokaliks je snov, ki obdaja celice. Bakterijski glikokaliks je lepljiv, želatinast, sestavljen iz polisaharidov in polipeptidov. Najpogosteje nastaja v celici in se izloča na površino. Če je njegova zgradba čvrsta in se tesno prilagaja celični steni, jo imenujemo **kapsula**; če je bolj ohlapna in nepravilne oblike, jo imenujemo **sluzav ovoj**. Kapsula preprečuje izsušitev celice in vdor bakterijskih virusov v celico ter delovanje obrambnih mehanizmov gostitelja in okolja. Sluzast ovoj pa omogoči bakterijski celici, da se prilepi na zelo različne, tudi zelo

gladke površine.

Veliko bakterij je gibljivih. Gibanje jim omogočijo nitasti priveski, ki jih imenujemo **bički** ali **flagele**. Ti so običajno daljši od same celice, vendar zelo tanki. Če jih želimo videti, jih moramo posebej obarvati, da jih s tem odebelimo. Bakterije imajo lahko en biček, po en biček na vsaki strani, dva ali več bičkov na eni strani, ali bičke okoli in okoli cele celice. Po tem se posamezne vrste tudi ločijo med seboj. Spirohete imajo aksialne filamente. To je v bistvu biček, ki poteka krožno s strani celice, od enega do drugega konca. Nekatere bakterijske celice se premikajo s krčenjem citoplazme. Tako premikanje imenujemo drseče ali polzeče. Gibljivih je polovica paličastih bakterij in skoraj vse svedraste, medtem ko so koki praviloma negibljivi.

Številne bakterije imajo priveske, resice ali mikrofibrile, ki jih imenujemo **fimbriji** ali **pile** glede na funkcijo, ki jo opravljajo, in so podobne bičkom. So dosti krajše in tanjše od bičkov. Bakterije se s fimbriji sprijemajo med seboj in tudi na celico gostitelja. So tudi vzrok patogenosti, saj lahko bakterije, ki imajo fimbrije, povzročijo bolezen, medtem ko njihovi mutanti brez fimbrijev ne. Pili so po zgradbi podobni fimbrijam, vendar je njihova naloga predvsem v prenosu bakterijske dedne snovi med konjugacijo (združitvijo).

Celična stena je precej toga in daje obliko bakterijski celici. Varuje citoplazmatsko membrano in notranjost celice pred škodljivimi vplivi okolja. Pri grampozitivnih bakterijah je celična stena debela in trdna, sestavljena iz več plasti. Gramnegativne bakterije imajo steno sestavljeno iz ene plasti. Nekatere bakterijske celice (*Mycoplasme*) sploh nimajo celične stene. V nekaterim neugodnih razmerah, npr. če je v okolici penicilin, ki moti sintezo celične stene, se razvijejo L-oblike teh mikroorganizmov brez celične stene.

Citoplazmatska membrana neposredno obdaja citoplazmo in se nahaja na notranji strani celične stene. Nadzoruje prenos skoraj vseh snovi (hrano in njeno spreminjanje v kemično energijo, izločanje encimov in kislin itd.) in porazdelitev jedrne snovi pri delitvi celice. Snovi prehajajo skozi citoplazmatsko membrano aktivno ali pasivno. Pri pasivnem prehodu gredo snovi s področja večje koncentracije k področju z manjšo koncentracijo. Pri aktivnem gibanju se porablja energija.

Celični sok ali **citoplazmo** neposredno obdaja citoplazmatska membrana. Sestavljena je iz: 80 % vode, nukleinskih kislin, beljakovin, ogljikovih hidratov in maščob. Vsebuje tudi številne ione in različne snovi majhne molekularne mase, ribosome, lahko tudi pigmente pri

bakterijah, ki so sposobne fotosinteze in/ali tvorbe spore. Vsebuje DNK, ki jo dopolnjujejo majhne količine RNK, **plazmid**, ki je majhni krožni odlomek DNK in je neodvisen od osrednje DNK. Plazmid se lahko samostojno podvaja, je nosilec številnih dodatnih nalog (npr. odpornosti na antibiotike) in se lahko prenaša na druge celice ob konjugaciji. DNK je zbrana na enem ali več mestih v citoplazmi kot jedrna snov.

SPORE

Bakterije iz rodov *Bacillus* in *Clostridium* lahko oblikujejo posebne mirujoče celice, ki jih imenujemo spore. Te bakterije povzročajo bolezni pri ljudeh in živalih, kot so: tetanus, botulizem in šumeči prisad. Pri nastanku teh bolezni je odločilnega pomena sposobnost ustvarjanja spor. Ta je majhna in zelo odporna. Razvije se v neugodnih razmerah in ko se te spremenijo, se razvije nova vegetativna bakterija, sposobna razmnoževanja.

Spora nastane tako, da se znotraj bakterijske celice loči del citoplazme in jedrne snovi. Pri tem se citoplazmatska membrana vrašča v citoplazmo in obda predprostor z dvojnimi ovojem. Ta se še dodatno okrepi in se razvije zelo debel ovoj, ki ga imenujemo skorja. Citoplazma, ki je v skorji, dehidrira (voda izstopa), kopičijo se kalcijeve snovi in spora je pripravljena, da se izlušči s pomočjo litičnih encimov od matične celice. Iz te spore v ugodnih razmerah ponovno nastane vegetativna oblika celice, ki se začne hitro razmnoževati, in se spet iz nje v neugodnih razmerah lahko tvorijo spore. Premer spore je lahko enak, večji ali manjši kot pri vegetativni celici. Lahko leži v sredini celice, bolj proti koncu ali povsem na koncu celice, kar je odvisno od vrste bakterije. Ko se celica spreminja v sporo, ustvarja tudi nekatere nove encime in nima vode. Zato ima spora nekatere lastnosti, kot so odpornost na vročino in kemične snovi, ki jih vegetativna oblika celice nima.

RAZMERE ZA UGODNO RAST BAKTERIJ

Za uspešno rast bakterij v laboratoriju je potrebno vedeti, v katerih razmerah določena bakterijska celica najbolj in najhitreje raste.

Večina bakterij raste pri pH blizu nevtralnega (pH 6,5–7,6), nekatere v kislem okolju pH 6 in zelo redke v zelo kislem okolju pod pH 4. Prav tako v okolju s pH 8 raste zelo malo bakterij

(*Vibrio cholerae*).

Večina bakterij živi v določenem temperaturnem območju. Glede na temperaturo in idealno rast delimo bakterije v:

- **psihrofilne** ali **kriofilne** pri temperaturi 0–20° C (*Corynebacterium*)
- **mezofilne** pri temperaturi 20–40° C (*Salmonella*, *Clostridium*)
- **hemotermofilne** pri temperaturi 37° C (patogene bakterije)
- **termofilne** pri temperaturi nad 45° C (*Bacillus*, *Clostridium*)

Bakterije skoraj vse hranilne snovi dobijo iz vodne raztopine, zato vodo nujno potrebujejo za obstoj in rast. Same vsebujejo več kot 80 % vode. Visok ozmotski pritisk povzroči izstopanje vode iz celic in s tem plazmolizo. Tako delujeta na bakterijsko celico sol ali sladkor (konzerviranje živil).

Glede na potrebe po kisiku delimo bakterije na:

- **aerobne**, ki rastejo v običajnih atmosferskih razmerah (*Pseudomonas*);
- **anaerobne**, ki rastejo samo, ko v atmosferi ni kisika (*Clostridium*);
- **mikroaerofilne**, ki rastejo v atmosferi z zmanjšano količino kisika (*Campylobacter*);
- **fakultativno anaerobne**, ki rastejo v aerobnih in anaerobnih razmerah.

Bakterije potrebujejo za rast še hrano, ki jo dobijo na hranilnih podlagah.

RAST IN RAZMNOŽEVANJE BAKTERIJ

Ko govorimo o rasti bakterijske celice, mislimo na povečevanje števila njenih celic. V ugodnih razmerah večina bakterij raste zelo hitro. Razmnožujejo se z binarno delitvijo ali z delitvijo na dvoje. Rezultat tega je eksponencialno naraščanje števila bakterij: 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 itd.

Čas, v katerem se celica razdeli, imenujemo generacijski čas in je za različne bakterijske celice različen. *E. coli* se razmnoži v manj kot 20 minutah, *M. tuberculosis* pa v 15–20 urah. Pri večini bakterijskih celic je ta čas krajši od ene ure. Odvisen je od: vrste mikrobov, količine in vrste hranilnih snovi, temperature, pH, ozmotskega pritiska idr.

Najprej se bakterijska celica prilagaja na okolje, v katerem se nahaja, nato se začne deliti.

Nekaj časa se bakterije delijo hitro, nato pa razmnoževanje počasi upade. Vzrok za to je v spremembi okolja (npr. zmanjša se količina hranilnih snovi). Ko hrane zmanjka in je v okolju veliko odpadnih snovi, razmnoževanje preneha in začne se propad bakterijskih celic.

GOJENJE BAKTERIJ

V laboratoriju gojimo bakterije na posebnih t. i. bakterijskih gojiščih. Vsako gojišče mora biti sterilno, zato ga ali steriliziramo ali sterilno pripravimo in vlijemo v sterilne posode. Do uporabe ga hranimo v hladilniku. Nekatera gojišča za gojenje bolj zahtevnih bakterij pa pripravimo neposredno pred uporabo.

Gojišča uporabljamo za:

- izolacijo bakterij iz kužnine,
- gojenje čistih kultur,
- determinacijo ali identifikacijo bakterijskih vrst,
- za njihovo shranjevanje,
- za izdelavo antibiograma.

Gojišča morajo vsebovati takšne snovi in biti tako pripravljena, da bodo bakterije na njih najhitreje rasle. Vsebovati morajo določene hranilne snovi v pravem razmerju, dovolj vode, imeti morajo primeren pH in imeti morajo ustrezen redoks potencial.

Po sestavi delimo gojišča na naravna in umetna. Naravna gojišča so: krompir, korenje, mleko, meso, riž ipd. Taka gojišča niso standardizirana, ne poznamo točne kemične sestave in zato lahko iste bakterije na njih rastejo različno. Umetna gojišča so že pripravljena za nadaljnjo obdelavo in vsebujejo določene snovi v stalnem razmerju.

Po konsistenci delimo gojišča na:

- tekoča (bujon, mleko)
- poltrdna oz. poltekoča
- trdna (agar, meso)

Umetna gojišča imajo točno poznano kemično sestavo, so standardizirana in njihova kakovost je vedno enaka. Delimo jih v:

- **osnovna** (peptonska voda, nevtralni agar in bujon),
- **posebna** ali **specialna**, te pa na **selektivna** in **diferencialna**;
- **obogatitvena**

Pri pripravi gojišč moramo poleg hranilnih snovi upoštevati še: pH, ozmotski pritisk, količino kisika itd. Mikroorganizmom naj bi nudila idealne razmere za rast in razmnoževanje.

Osnovna gojišča so po sestavi najenostavnejša in zadoščajo za rast mnogih bakterij. Ko želimo izolirati ali gojiti zahtevnejše bakterije, jim dodamo določene snovi, ki jih te bakterije potrebujejo za svojo rast. Tako dobimo **posebna** ali **specialna gojišča**. Posebna gojišča so torej osnovna gojišča z dodano snovjo, ki jih določene bakterije potrebujejo za rast.

Selektivna gojišča pripravimo tako, da osnovnem gojišču dodamo takšne snovi, ki jih prenesejo samo določene bakterije, druge pa na tem gojišču ne morejo rasti. Take snovi so lahko: žolč, sol, antibiotiki in druge snovi.

Diferencialna gojišča so tista, na katerih lahko različne vrste bakterij ločimo glede na njihovo rast na gojišču (agar po Endoju in agar po Drigalskem: po barvi prepoznamo bakterije, ki razgrajujejo laktozo; SS: salmonela-šigela agar, kjer se rast salmonel razlikuje od drugih bakterij). Diferencialnim gojiščem dodajamo sladkorje (glukozo, laktozo, saharozo itd.), alkohole (inozitol, manitol itd.), glikozide (salicin, eskulin) in indikatorje, ki spreminjajo običajno barvo glede na pH okolja (ko bakterije razgradijo sladkor in nastane kislina, ki spremeni barvo indikatorja).

Umetnim gojiščem lahko dodajamo tudi naravne snovi, ki gojišča obogatijo (**obogatitvena gojišča**) in na njih lahko rastejo zelo zahtevne bakterije ali je njihova rast številčnejša. Za rast patogenih mikroorganizmov gojišču dodajamo: eritrocite, serum, ekstrakt roževine, ekstrakt kvasa, glukozo, glicerin ipd. (krvni, čokoladni agar). Za gojenje mlečnokislinskih bakterij dodamo gojišču mleko ali sirotko.

RAST BAKTERIJ NA GOJIŠČIH

Večina bakterij zraste na umetnih gojiščih pri optimalnih razmerah inkubacije v 24 urah. Nekatere bakterije potrebujejo za vidno rast 48 ur, nekatere več dni (*Campylobacter*) ali več tednov (*Mycobacterium*). Večina raste pri pH 7,2–7,6. Patogene bakterije rastejo na

temperaturi 37° C, medtem ko druge gojimo na temperaturi, ki jim najbolj ustreza (kriofilne, termofilne). Glede potrebe po kisiku jim na umetnih gojiščih zagotovimo ustrezne razmere glede na njihovo naravo (aerobne, anaerobne).

V **tekočih gojiščih** rastejo bakterije tako, da povzročajo enakomerno motnost gojišča, prahasto ali vlečljivo usedlino na dnu, kosmiče, ki plavajo ali se usedajo po steni ali na dno ali delajo kožico na površini.

Na **trdnih gojiščih** rastejo bakterije v kolonijah. Kolonija je skupek bakterijskih celic, ki nastane po določenem času inkubacije iz ene bakterijske celice, ki smo jo cepili na gojišče in jo sestavljajo samo njeni potomci. Z nadaljnjim gojenjem potomcev ene celice vzgojimo sev. Sevi iste vrste bakterije se lahko razlikujejo po nekaterih lastnostih (občutljivosti na antibiotike, izdelavi nekaterih encimov ali toksinov, tvorbi bičkov, pigmentov idr.).

Bakterije skupaj z gojiščem tvorijo **kulturo**. Če je ta sestavljena iz bakterij iste vrste, je to **čista kultura**. Če je v njej več vrst bakterij, jo imenujemo **mešana kultura**. Pri tekočih gojiščih je težko brez preiskave ugotoviti, ali je kultura čista ali mešana. Tudi pri trdnih gojiščih je včasih težko določiti, ali gre za čisto ali za mešano kulturo, ker lahko določene bakterije rastejo v enakih ali zelo podobnih kolonijah. Čisto kulturo vzgojimo s presajanjem posameznih kolonij iz mešane kulture na nova gojišča.

Primarna kultura zraste na gojišču po nasajanju kužnine. Lahko je čista, vendar je pogosteje mešana, ker je redko v kužnini samo ena vrsta bakterije. Kulture, ki jih dobimo s presajanjem kolonij z gojišča na gojišče, imenujemo subkulture ali **pasaze**. Kadar je v kužnini veliko bakterij, nam na gojišču zrastejo kolonije preveč skupaj ali prerastejo druga čez drugo. Zato pri nasajanju uporabljamo posebne tehnike razredčevanja bakterij na trdnem gojišču.

Pri kolonijah razlikujemo: velikost (izražamo v milimetrih premera), barvo, konsistenco, izbočenost (ploščate, kupolaste, z izbočenim centrom itd.), površino (gladka, hrapava itd.), obliko robu (raven, nazobčan, razvejan) in čas rasti. Kolonije lahko rastejo po celi površini gojišča ali pa so komaj vidne s prostim očesom. Nekatere vrste bakterij izločajo pigment, ki obarva kolonijo ali prodira v gojišče. Kolonije so lahko ploščate, bolj ali manj kupolasto izbočene, z izbočenim ali vdolbenim centrom, nagubane, vlečljive, sočne, drobljive ali suhe, nekatere vraščajo v gojišče.

Glede na rob in površino razlikujemo:

- **S** kolonije (smooth) – raven rob in bleščeča površina
- **M** kolonije – mukozne, vlečljive
- **R** kolonije (rough) – motna površina brez sijaja in nazobčan rob
- **D** kolonije (dwarf) – pritlikave kolonije zaradi neugodnih razmer
- **I** kolonije (intermedium) – prehodna oblika med S in R

Nekatere bakterije rastejo lahko samo, če imajo v svoji bližini snov, ki jo izločajo druge bakterije (*Haemophilus parasuis* in *Staphylococcus aureus*). Ker rastejo samo v bližini teh bakterij, pravimo taki rasti satelitska rast.

Nekatere bakterije tvorijo toksine, ki lizirajo eritrocite v gojišču. Imenujemo jih **hemolizini**. Nekatere tvorijo tudi več hemolizinov hkrati, kar opazimo kot dvojno ali trojno hemolizo. Hemoliza je lahko tudi nepopolna (hemoliza alfa), kjer so eritrociti okoli kolonije zelenkasto obarvani. Pri popolni hemolizi (hemolizi beta) so eritrociti popolnoma razgrajeni in je to videti kot prozoren pas gojišča okoli kolonije.

Bakterije, ki jih ne moremo gojiti na umetnih gojiščih, gojimo na poskusnih živalih (*Mycobacterium leprae*). Razmnoževanje bakterij v tem primeru poznamo po kliničnih znakih, tvorbi protiteles ali patoanatomskih spremembah. Prenašanje mikroorganizma z ene poskusne živali na drugo imenujemo tudi pasaža. Poskusne živali uporabljamo tudi za gojitev virusov in nekaterih praživali.

BAKTERIOLOŠKA PREISKAVA

Pri bakteriološki preiskavi moramo opraviti:

- mikroskopsko preiskavo kužnine
- gojiščno preiskavo oz. izolacijo povzročitelja
- njegovo determinacijo
- biološki poskus glede na patogenost mikroorganizma (po potrebi)
- antibiogram (po potrebi)

Če iz kužnine ni možno izolirati povzročitelja, ki je viden pod mikroskopom, opravimo še preiskavo na prisotnost antibiotikov v kužnini. V določenih primerih, predvsem ko imamo

opravka s pogojno patogenimi bakterijami, določimo še število bakterij v kužnini.

ANAMNEZA. Poleg kužnine mora v laboratorij prispeti zapisnik z natančno anamnezo. Iz njega zvedemo: vrsto živali, spol, starost, način reje, podatke o bolezni, klinično sliko, način odvzema vzorca, čas in način transporta vzorca itd.

MIKROSKOPSKA PREISKAVA. Iz kužnine najprej naredimo razmaz na objektnem stekelcu, ga ustrezno obarvamo (po Gramu, Giemsi) in preiščemo pod mikroskopom. Z mikroskopsko preiskavo ugotovimo: prisotnost bakterij, njihovo obliko (paličaste, okrogle itd.), približno velikost, način obarvanja (gram + ali gram –), posebne strukture (bičke, spore, kapsule itd.) in medsebojno lego bakterij (gruče, verige itd.). Če v razmazu ni videti bakterij, lahko gre za mikoplazme, rikecije, viruse ali celo zastrupitve, ki so po poteku podobne kužnim boleznim.

GOJIŠČNA PREISKAVA. Če želimo bakterije izolirati, cepimo kužnino na ustrezno gojišče. Pogosto primarna kultura ni čista, zato posamezne kolonije precepimo na drugo gojišče. Za determinacijo moramo vedno vzgojiti čisto kulturo bakterij. Da lahko prepoznamo povzročitelja, moramo poznati tudi njegovo rast oz. njegove kolonije na posameznih gojiščih.

DETERMINACIJA (IDENTIFIKACIJA). Determinacijo opravimo na podlagi ene ali več metod:

1. biokemične preiskave
2. ugotavljanja antigenske zgradbe bakterije
3. fagotipizacije
4. genetske metode
5. ugotavljanja specifičnih toksinov

Z biokemijsko preiskavo ugotavljamo, katere encime ima preiskovana kultura. Pri determinaciji bakterij ugotavljamo: encime za razkroj sladkorjev, beljakovin, aminokislin, maščob, amidov, prisotnost reduktaze, katalaze, oksidaze idr.

Bakterije, ki razkrajajo ogljikove hidrate, imenujemo **saharolitične**, proces pa saharoliza. Bakterijske encime, ki razkrajajo ogljikove hidrate, imenujemo karbohidraze. Končni produkti razkroja so lahko kisline (mravljična, očetna itd.) ali pa CO₂ in H₂O. Nekatere bakterije imajo encime za razkroj beljakovin in aminokislin. Imenujemo jih **proteolitične** bakterije. Aminokisliline razkrojijo z dekarboksilacijo ali z dezaminacijo, pri čemer nastaja

amoniak ali ketokislina. Bakterije, ki razkrajajo maščobe, imenujemo **lipolitične**.

Pri seroloških reakcijah z znanimi specifičnimi protitelesi ugotavljamo antigeno zgradbo bakterij ali obratno, z znanimi antigeni ugotavljamo specifična protitelesa.

S fagotipizacijo ugotavljamo, na katere specifične bakteriofage je občutljiva preiskovana kultura. Bakteriofag pomešamo s kulturo in cepimo na trdno gojišče. Če bakteriofag kulturo lizira, bomo po inkubaciji opazili plake. To so mesta brez rasti kulture v sicer strnjeni rasti. Na teh mestih se je virus razmnožil in liziral bakterije.

Z genetskimi metodami pregledujemo določene odseke nukleotidov na bakterijski DNK, ki ima za določeno vrsto bakterije kodo za specifično lastnost.

Nekatere vrste bakterij tvorijo različne toksine, po katerih jih lahko razvrščamo v skupine znotraj vrste (*Clostridium perfringens*). Določeni toksini ali kombinacija teh lahko povzročata obolenja pri živalih in človeku. Zato je ugotavljanje njihove prisotnosti nujno za popolno determinacijo preiskovane kulture.

BIOLOŠKI POSKUS. Z biološkim poskusom ugotavljamo predvsem patogenost preiskovane bakterije. Kužnino ali izolirane mikroorganizme vcepimo s/c, i/m, i/p, p/o, i/cer, i/okul poskusni živali. Patogene bakterije bodo pri poskusni živali povzročile tvorbo specifičnih protiteles, značilno klinično sliko za bolezen ali pogin poskusne živali. Iz organov ali telesnih tekočin poskusne živali lahko izoliramo čisto kulturo povzročitelja. Saprofite, ki so morebiti bili prisotni v kužnini, je obrambni mehanizem poskusne živali uničil. Zato lahko uporabimo poskusne živali kot filtre, kjer nepatogene bakterije propadejo zaradi obrambnih mehanizmov gostitelja, patogene pa se razmnožijo, četudi jih je bilo v kužnini zelo malo.

ANTIBIOGRAM. To je postopek, s katerim ugotavljamo, na katere antibiotike ali kemoterapevtike je občutljiva preiskovana kultura in v koliko. Na gojišče nasadimo preiskovano kulturo, nanesimo različne vrste antibiotikov ali kemoterapevtikov in inkubiramo v idealnih razmerah določen čas. Potem odčitamo širino inhibicijske zone okoli antibiotikov oz. kemoterapevtikov in ocenimo delovanje antibiotikov.

UGOTAVLJANJE ANTIBIOTIKOV V KUŽNINI. Včasih posumimo, da je bila žival pred odvzemom kužnine že zdravljena z antibiotikom, kar nam otežuje preiskavo. Takrat v gojišče dodamo kulturo bakterij, ki so zelo občutljive na antibiotike in sporulirajo. Na strjenem gojišču nato naredimo vdolbinice, v katere damo kužnino (mleko, delčke tkiva,

serum itd.). Gojišče inkubiramo in po določenem času odčitamo rezultat. Če bakterije, ki smo jih dodali gojišču, niso zrasle okoli kužnine, pomeni to prisotnost antibiotikov ali kemoterapevtikov.

UGOTAVLJANJE ŠTEVILA BAKTERIJ V KUŽNINI. Včasih je potrebno ugotoviti število določenih bakterij v kužnini (npr. *Escherichia coli* v črevesju). Najprej naredimo desetkratne razredčitve kužnine, in sicer tako, da v serijo epruvet odpipetiramo po 9 ml sterilne fiziološke raztopine. V prvo epruveto odpipetiramo 1 ml homogenizirane suspenzije bakterij. Premešamo in prenesemo en mililiter v naslednjo epruveto in nadaljujemo tako do zadnje. Iz vsake epruvete nato naneseemo s kalibrirano zanko na gojišče razredčeno suspenzijo. Po inkubaciji preštejemo število kolonij, ki so zrasle iz vsake celice, in izračunamo povprečno število kolonij za vsako epruveto. Če smo cepili z bakteriološko zanko, ki zajame 0,01 ml, dobljeno število bakterij pomnožimo s 100. Gostoto preiskovane suspenzije izračunamo iz povprečja tistih razredčin, pri katerih smo lahko prešteli število kolonij (do 400).

SPECIALNA BAKTERIOLOGIJA

Specialna bakteriologija se ukvarja z bakterijami, ki povzročajo bolezni pri ljudeh in živalih. Preučuje zgradbo in obliko posameznih bakterij, sposobnostjo povzročanja bolezni, z diagnostiko, širjenjem, zdravljenjem in preprečevanjem bakterijskih okužb ter njihovim gojenjem.

Že prej smo omenili, da delimo bakterije po obliki na okrogle, paličaste in zavite. Nadalje jih lahko delimo glede na barvanje po Gramu. V nadaljevanju bomo opisali značilnosti nekaterih bakterij, ki lahko povzročajo bolezni.

KOKI

Koke pod mikroskopom vidimo kot drobne kroglice, razvrščene v pravilne ali nepravilne skupine. Če so posamične, jih imenujemo mikrokoki, po dve skupaj diplokoki, v verižici streptokoki, če so v gručah, pa stafilokoki.

Vsi koki niso pravilne okrogle oblike, lahko so tudi ovalni, jajčasti ali podobni krofom. Ker nimajo bičkov, so negibljivi in ne tvorijo spore. Nekateri imajo kapsulo. Pogosto povzročajo gnojne infekcije, zato nekatere imenujemo tudi piogene bakterije. Če jih barvamo po Gramu, se lahko obarvajo modrovijolično (grampozitivni koki, npr. iz rodu *Staphylococcus* in *Streptococcus*) ali rdečkasto (gramnegativni koki, npr. iz rodu *Neisseria*).

STAFILOKOKI (rod Staphylococcus)

Stafilokoki so grampozitivni, imajo premer približno 1 µm in so urejeni v nepravilne gruče, podobne grozdom. So zelo razširjene bakterije in se nahajajo v zraku, zemlji, vodi, na koži, sluznicah zgornjih dihal v črevesju, gnoju in gnojnih izcedkih. V laboratoriju jih lahko gojimo na hranilnem agarju pri temperaturi 22–37° C. Bolje uspevajo na krvnem agarju, kjer se kolonije tudi lepše vidijo.

Stafilokoki so odporni proti sušenju, visokim temperaturam (60° C 30 min), večji koncentraciji sladkorja in soli ter nekaterim kemoterapevtikom. Po infekciji s stafilokoki ne nastane dolgotrajna imunost, zato so lahko pogoste zaporedne infekcije.

Nekateri stafilokoki tvorijo toksine in encime, ki lahko škodijo gostitelju in jih izkoriščamo za identifikacijo. Toksini so lahko: hemolizini (razkrajajo encime), levkoidini (uničujejo nekatere levkocite), enterotoksini (povzročajo zastrupitve z živili), eksfoliatini (povzročajo luščenje kože) idr.

Najbolj pogosti encimi, ki jih izločajo stafilokoki, so koagulaza (povzročajo nastanek krvnega strdka), nukleaza (razkrajaja DNK), hialuronidaza (razkrajaja hialuronsko kislino) idr.

Poznamo približno 30 različnih vrst rodu *Staphylococcus*. Zelo pomembna vrsta je *S. aureus*, grampozitivna bakterija, ki povzroča gnojne okužbe kože, ran, vnetja srednjega ušesa in očesne veznice. Če vdre v kri, lahko pride do endokarditisa, meningitisa, vnetja pokostnice in sepse. Lahko povzroča pljučnice in vnetja vimena.

Stafilokoke v laboratoriju izoliramo iz kužnine in gojimo na krvnem agarju 24 do 48 ur na temperaturi 35-37° C. Vrsto se določi na osnovi rasti na gojišču, mikroskopski sliki ter dokazovanju encimov in toksinov.

Stafilokoki so zelo odporni in nezahtevni za razmnoževanje, zato lahko tudi več tednov preživijo v okolju. Naslednji problem je, da je veliko ljudi in živali klicenoscev (do 30 %). V bolnišnicah že nekaj časa povzroča velik problem predvsem *S. aureus* (MRSA). Zadnja leta je ta bakterija prisotna tudi v veterinarskih ambulantah in veterinarskih klinikah.

STREPTOKOKI (rod Streptococcus)

Streptokoki so grampozitivni koki, razporejeni v krajše ali daljše verižice. Najdemo jih lahko povsod v naravi. Kot predstavnike normalne mikroflore jih najdemo v mleku in mlečni žlezi, na sluznici zgornjih dihal in ustne votline.

V laboratoriju jih gojimo na obogatitvenih gojiščih, včasih tudi v mikroaerofilnih razmerah, zato pravimo, da so zahtevni za gojenje. Nekateri sevi izdelujejo hemolizine. Po delovanju na eritrocite ločimo α , β in γ hemolitične streptokoke.

Gama hemolitični ali nehemolitični streptokoki ne razkrajajo eritrocitov, so del normalne črevesne mikroflore in povzročajo težave le, če se preveč namnožijo v drugih delih telesa (enterokoki). Povzročajo okužbe ran, rodil, sepsa itd.

Alfa hemolitični streptokoki delno lizirajo eritrocite, zato ostane zelen kolobar okoli kolonij. So del ustne in nosne mikroflore in zelo redko povzročajo vnetja (npr. *Streptococcus pneumoniae*). *S. pneumoniae* je pravzaprav diplokok (po dva koka skupaj v paru).

Beta hemolitični streptokoki popolnoma lizirajo eritrocite in so zelo patogeni (npr. *Streptococcus pyogenes*). *S. pyogenes* povzroča številne gnojne infekcije ust in žrela, srednjega ušesa, pljučnice ter vnetja podkožja in mišic. Povzroča okvare na sklepkih in srcu. Ko prodre v kri, pride do sepse in tudi smrti živali. Po preboleli infekciji je imunost slaba.

Streptokoka determiniramo v laboratoriju po rasti na krvnem gojišču in vrsti hemolize ter mikroskopski preiskavi.

BACILI

Bacili so valjaste ali paličaste bakterije različnih velikosti. Eni so podobni cigaretam, tisti z zaobljenimi konicami pa cigaram. Nekateri so skoraj okrogli in jih imenujemo kokobacili, v parih so diplobacili, če so nanizani v verižice, pa streptobacili.

ENTEROBAKTERIJE (družina Enterobacteriaceae)

To so gramnegativni bacili, ne tvorijo spor in so fakultativni anaerobi. V to družino spadajo bacili iz rodu: *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Eddwardsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Haffnia*, *Serratia*. Nahajajo se v črevesju živali in ljudi in povzročajo onesnaženje z iztrebki. Rastejo na hranilnem agarju, kjer tvorijo velike, sive in vlažne kolonije. Nekatere enterobakterije so pogojno patogene in so del črevesne mikroflore (*Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*). *Salmonella*, *Shigella* in *Yersinia* so patogene.

EŠERIHIIJA (rod Escherichia)

E. coli je gramnegativni bacil, ima fimbrije, vendar je slabo gibljiv. Nekateri sevi imajo kapsulo. Je pomemben predstavnik normalne črevesne mikroflore, ki sodeluje pri prebavi in pri nekaterih živali sodeluje pri nastajanju vitamina K in vitaminov B-kompleksa.

Za gojitev je zelo nezahtevna bakterija, raste na temperaturi 0–45° C. Nekateri sevi tvorijo hemolizin, nekateri enterotoksin. Ko propadejo, se lahko izloči endotoksin. Patogena je šele, kadar se naseli v druge dele telesa (sečila, trebušno votlino, pljuča, kri).

PROTEUS (rod Proteus)

Proteusi so gramnegativni bacili, imajo bičke in so gibljivi. So predstavniki normalne črevesne mikroflore. Najdemo jih tudi v gnoju, gnojnicah in zemlji. Gojimo jih na selektivnih gojiščih. Največkrat povzročajo sekundarne infekcije sečil, potrebušnice, srednjega ušesa in driske.

SALMONELE (rod Salmonella)

Salmonele so gramnegativni bacili, večinoma gibljivi in lahko imajo kapsulo. Najdemo jih v črevesju zbolelih živali in klicenoscev, v vodi, v živilih živalskega izvora, v zemlji in drugje.

Obstaja veliko seroloških (serotipov) salmonel. Vse bolezni, ki jih povzročajo, imenujemo salmoneloze. To so predvsem bolezni prebavil.

Salmonele so relativno odporne, razen na toploto in klor.

Salmonele izoliramo najpogosteje iz iztrebkov, redkeje iz krvi in urina. Gojimo jih na obogatitvenih, selektivnih in diferencialnih gojiščih. Ta gojišča omogočajo rast salmonel in zavirajo rast drugih bakterij oz. že po sami rasti kolonij lahko ločimo salmonele od drugih bakterij.

JERSINIJE (rod Yersinia)

Jersinije so gramnegativni kokobacili. Obstaja več vrst, npr. *Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*. So zelo odporne bakterije, vendar nezahtevne za rast. Najbolje uspevajo pri 28° C na posebnem gojišču.

PSEUDOMONASI (rod Pseudomonas)

Pseudomonasi so gramnegativni bacili in imajo bičke. Nahajajo se predvsem v zemlji in vodi in niso del normalne mikroflore. Poznanih je več vrst, za nas je najpomembnejši *Pseudomonas aeruginosa*, ker povzroča kronične bolezni sečil, prebavil, ušes, dihal, ran možganskih ovojnic, sepso in je tudi smrtno nevarna. Običajno pride do infekcije, ko se uniči del normalne mikroflore in je dovolj vlage in hranilnih snovi (rane, sluznice, ušesa itd.).

Pseudomonas aeruginosa je nezahtevna bakterija in raste na navadnih gojiščih v aerobnih in anaerobnih razmerah. Proizvaja pigment fluorescein, ki obarva gojišče rumenozeleno do modrozeleno. Kultura diši po lipovem cvetju. Nekateri sevi hemolizirajo eritrocite na krvnem agarju. Sprošča endotoksine in snovi, ki imajo antimikrobni učinek na druge bakterije. Bakterija je odporna na toploto, razkužila in nekatere kemoterapevtike.

KORINEBAKTERIJE (rod Corynebacterium)

Korinebakterije so grampozivni, rahlo ukrivljeni bacili. Na enem ali obeh koncih so

zadebeljeni in niso gibljivi. Pri barvanju po Ljubinskem se obarvajo tipično rjavo. V razmazu so razporejeni v skupinah, podobnih črki V ali kitajskim črkam.

So zelo odporni na vplive okolja, vendar občutljivi na razkužila.

LISTERIJE (rod Listeria)

Listerije so grampozitivni, kratki in gibljivi bacili. Nahajajo se v vodi, na rastlinah, v iztrebkih ter živilih (v mleku, sirih, mesu). Tvorijo številne encime in toksine, kar jih naredi zelo virulentne.

Listerije rastejo na krvnem agarju v majhnih sivobelih, gladkih kolonijah in obdaja jih tanek pas hemolize beta. Najbolj jim ustreza temperatura 20–30° C. Lahko jih dokazujemo tudi z dokazovanjem specifičnih protiteles.

MIKOBAKTERIJE (rod Mycobacterium)

Mikobakterije se po Ziehl-Neelsnu obarvajo rdeče. Čeprav jih ne barvamo po Gramu, jih uvrščamo med grampozitivne bacile. So negibljivi in brez kapsule. Včasih, ko se zelo razmnožijo, so razvejani in podobni glivam. Poznamo več vrst, ki povzročajo bolezni pri živalih: *M. bovis*, *M. ovis*, *M. suis*, *M. canis*, *M. tuberculosis*.

Mikobakterije so odporne proti izsušitvi in razkužilom, ker imajo v celični steni vosku podobne snovi. Občutljive so na toploto in UV-žarke. So zahtevne za gojitev in rastejo zelo počasi (8–10 dni) na obogatenem selektivnem gojišču.

SPOROGENE BAKTERIJE

BACILUS (rod Bacillus)

Predstavniki rodu *Bacillus* so saprofiti v zemlji, vodi in na rastlinah. Za nas najpomembnejši predstavnik je *Bacillus anthracis*. Je negibljiv bacil, grampozitiven, anaeroben in izdeluje spore, ki ležijo sredi celice. V razmazu so lahko obdani s kapsulo, lahko so razporejeni v verižicah in zato izgledajo kot bambusove palice.

Dobro raste na krvne agarju na 37° C v kolonijah, ki so velike, sivobeke, z nazobčanim robom in dvignjenim središčem, tako da so podobne meduzam. Ne povzroča hemolize eritrocitov na gojišču. Bakterija, predvsem pa njene spore, je zelo odporna. Spore preživijo v zemlji več deset let (antraksovi distrikti).

Bacillus anthracis povzroča pri živalih antraks. Prizadeta je predvsem vranica in bolezen poteka kot kratkotrajna težka sepsa.

KLOSTRIDIJI (rod Clostridium)

Klostridiji so grampozitivni gibljivi bacili in rastejo v anaerobnih razmerah. V aerobnih pa tvorijo spore, ki so širše od same celice in se nahajajo centralno, proti konici in na sami konici bacila.

Klostridiji se nahajajo v zemlji, vodah, prahu, rastlinah in celo v živilih. Večina je saprofitov. Tisti, ki tvorijo toksine in encime, povzročajo nevarne bolezni pri ljudeh in živalih. Najpomembnejši predstavniki tega rodu so: *C. tetani*, *C. perfringens*, *C. botulinum*. Sami klostridiji ne vdirajo v gostiteljevo telo, ampak so vneseni pasivno; ponavadi se vnesejo le njihove spore. Ko se v gostiteljevem telesu ustvarijo anaerobne razmere, se iz spore spremenijo v vegetativno obliko, ki tvori toksin. Ta je kriv za bolezenske znake in posledice okužbe.

V laboratoriju jih gojimo v anaerobnih razmerah na krvnem agarju, kjer tvorijo hemolizo.

SPIRALNE BAKTERIJE

Spiralne bakterije so lahko različno zavite. **Spirili** so svedrasto ali polžasto zaviti in razmeroma togi. Premikajo se z bički. **Spirohete** so tudi svedrasto zavite, vendar so prožne in se premikajo z vrtenjem okoli svoje osi ali z zvijanjem. **Vibriji** so kot vejice upognjene paličice. Nekateri jih uvrščajo med bacile. Eden od predstavnikov je *Vibrio cholerae*. Je gramnegativna bakterija z enim bičkom, neodporna je na delovanje okolja, vendar zelo virulentna.

KAMPILOBAKTRI (rod Campylobacter)

Kampilobaktri so gramnegativne svedraste bakterije z enim ali več zavojem in bičkom na enem ali obeh koncih. Povzročajo predvsem infekcije spolnih organov.

Rastejo na posebnih gojiščih za kampilobaktre, pri temperaturi 37–42° C 48 ur. Potrebujemo višjo koncentracijo ogljikovega dioksida in nižjo kisika, kot je v okolju.

SPIROHETE (družina Spirochetaceae)

Spirohete so gramnegativne, kot vijačnica zvite in gibljive bakterije. Premikajo se s snopi fibril, ki so oviti okoli celice. Poznanih je več rodov, od katerih so patogeni: *Leptospira*, *Borrelia* in *Treponema*.

LEPTOSPIRE (rod Leptospira)

Leptospire so gramnegativne tanke spirohete s konci, zavitimimi navznoter. Povzročajo vnetja ledvic, zlatenico (zaradi okvare ledvic), visoko vročino, okvaro možganskih ovojnic in notranje krvavitve.

Za rast potrebuje posebno obogatitveno gojišče in temperaturo 28° C. Rastejo zelo počasi, več kot 6 tednov. Mikroskopski razmaz iz kužnine lahko pregledamo nativno pod temnim poljem ali ga pobarvamo po Gramu, Giemsi ali s srebrom.

BORELIJE (rod Borrelia)

Borelije so gramnegativne spiralne bakterije in so zelo gibljive. Povzročajo boreliozo, ki poteka v blagi do hudi obliki, ki prizadene živčevje, sklepe, srce, limfatični sistem, jetra, ledvice itd.

Borelije so zahtevne za rast, ker rastejo v mikroaerofilnem okolju in pri temperaturi 30–35° C zelo počasi. V laboratoriju lahko neposredno dokazujemo njeno DNK ali posredno dokazujemo specifična protitelesa.

NEOBIČAJNE BAKTERIJSKE VRSTE

RIKECIJE (družina Rickettsiaceae)

Rikecije so gramnegativne kokoidne ali paličaste bakterije, dolge 1–2 μm in široke 0,3 –0,7 μm . Povzročajo številne bolezni pri ljudeh in živalih (pegavi tifus, vročico skalnega gorovja, mrzlico Q). Zunaj živega organizma ne preživijo dolgo, kar potrjuje dejstvo, da jo prenašajo od gostitelja do gostitelja antropodi (klopi). Večina rikecij je obligatnih intracelularnih parazitov (obvezno zajedajo znotraj celice).

Rikecije lahko gojimo le v specializiranih laboratorijih na kokošnjih embriih, na celičnih kulturah in poskusnih živalih (podobno kot viruse). Diagnostika temelji na seroloških preiskavah, kjer dokazujemo specifična protitelesa.

KLAMIDIJE (rod Chlamydia)

Klamidije so prav tako obvezni znotrajcelični zajedavci. So gramnegativne in negibljive bakterije. Povzročajo številne bolezni pri ljudeh in živalih (psitakozo, trahom, zvriganje ovc in vnetje prebavil pri govedu, boleznih dihal). Razmnožujejo se tako, da majhne celice premera 0,3 μm prodrejo v celico, se preoblikujejo v večje celice in se razmnožujejo z delitvijo. Po 24–48 urah se spet preobrazijo v majhne celice in, ko celica razpade, napadejo druge celice.

Klamidije gojimo na celičnih kulturah. Z neposrednim imunofluorescenčnim testom dokazujemo v kužnini klamidijske antigene.

ERLIHIJE (rod Erlichia)

Erlihije so gramnegativni kokobacili in obvezno zajedajo znotraj celice ter običajno napadajo levkocite. Prenašajo jih klopi. Bolezni imenujemo erlihioze in so zoonoze.

Erlihije lahko gojimo na celičnih kulturah. Za diagnostiko običajno uporabimo metodo imunofluorescence.

MIKOPLAZME (družina Mycoplasmataceae)

Mikoplazme so najmanjše znane bakterije (0,2–0,3 μm). Lahko se razmnožujejo zunaj celice. Nimajo stalne oblike, ker nimajo celične stene. Pravimo, da so pleomorfne, od nitaste do oblaste. Povzročajo atipične pljučnice.

Za gojitev so zelo zahtevne, vendar rastejo na bakterijskih gojiščih, posebej prilagojenih za rast mikobakterij. Rastejo zelo počasi, celo do 6 tednov. Kolonije so podobne jajcu, pečenem na oko (dvignjena sredica). Vsakodnevna diagnostika obsega dokazovanje specifičnih protiteles.

VIRUSI

Na grobo lahko rečemo, da so virusi obligatni intracelularni paraziti (obvezno zajedajo znotraj celice), lahko pa obstajajo tudi zunaj celice, vendar so nedejavni in se ne razmnožujejo. Virusni delec ali **virion** vsebuje nukleinsko kislino, obdano z beljakovino. Nimajo lastne presnove, temveč izkoriščajo celice za svojo dejavnost. Virion je določena virusna zgradba, v kateri se virusna nukleinska kislina prenaša iz celice, v kateri je nastala, v drugo dovzetno celico. V novi celici gostiteljici se začne virus na novo razmnoževati. Nastaja nova nukleinska kislina in nove beljakovine virusnega plašča, ki se združijo v nove viruse. To imenujemo infekcija ali okužba.

Virusni genom je zelo majhen in uravnava le tiste naloge, ki jih mora opraviti sam in mu celica gostiteljica ne more pomagati. Za vse drugo izkorišča celico gostiteljico, npr. za razmnoževanje.

Virus se lahko ustrezno preoblikuje, neodvisno prenaša iz celice v celico, zaradi razmnoževanja uničuje celico gostiteljico in s tem povzroča bolezen. Dedna snov virusa je ali DNK ali RNK, lahko sta ali enojno- ali dvojnovijačni; zato delimo viruse na DNK in RNK viruse.

Glede na gostitelja, ki ga okužuje, jih delimo na: bakterijske, rastlinske in živalske. Tiste, ki napadajo bakterije, imenujemo bakteriofagi.

ZGRADBA VIRIONA

Virion je končna razvojna stopnja virusa ali zrel virus. Virioni se razlikujejo po obliki in velikosti.

Viruse merimo v nm (nanometri – 10^9 mm) in jih ne moremo videti s svetlobnim mikroskopom, ampak le z elektronskim. Veliki so 20–250 nm. Če jih primerjamo z bakterijami, bi na dolžino premera bučikine glavice lahko razvrstili 2.000.000 virusov, velikih 200 nm. Glede na vrsto virusa zelo niha tudi velikost molekule nukleinske kisline.

Virusna nukleinska kislina je vedno znotraj virusa in obdana z beljakovinskim plaščem, ki jo imenujemo **kapsida**. Zgradba nukleokapside je vedno simetrična. Lahko je vijakaste ali polžaste oblike, kot ikozaedri, podolgovata ali oblata, v obliki puškinega naboja ipd. Nukleinska kislina in beljakovinski ovoj tvorita t. i. **nukleokapsido**. Tako je zgrajena večina virusov, nekateri pa imajo kompleksnejšo zgradbo. Ti imajo zunanjo lipidno ovojnico, lahko pa tudi nekatere virusne encime, ki so pomembni pri okužbi in razmnoževanju virusa. Ti encimi sodelujejo pri okužbi tako, da ali pospešijo vdor v celico gostiteljico ali pa sproščanje zrelih virusov iz celice gostiteljice.

Kompleksni virusi so pogosto povzročitelji bolezni pri ljudeh in živalih in večina je bakteriofagov.

RAZMNOŽEVANJE VIRUSOV

Razmnoževanje virusov obsega več faz, in sicer:

- pritrjevanje
- vdiranje ali penetracijo
- sproščanje virusnega genoma
- biosintezo virusov
- dozorevanje in sproščanje virusov

PRITRJEVANJE. Virusi imajo na svoji površini različne izrastke, s katerimi se pritrdijo na celico gostiteljico in so tkivno specifični (določeni virusi napadejo samo celice določenega tkiva).

Receptorji za virus na celični membrani gostiteljice so lahko pri različnih osebkih različni in se dedujejo; torej je dovzetnost za okužbo z določenim virusom odvisna od posameznega organizma (človeka ali živali). Določena protivirusna zdravila preprečujejo pritrjevanje virusa na celico gostiteljico.

VDIRANJE ALI PENETRACIJA. Ko se virus pritrdi, začne vdirati v celico. Lahko vdre tako, da ga celica prepozna kot hrano in ga z uvihavanjem membrane prenese v celico kot mehurček v citoplazmi. Lahko pa se zunanja lipidna ovojnica virusa spoji s celično membrano, gola kapsida pa zdrkne v celično citoplazmo. Tretji način je neposreden vstop v celico.

SPROŠČANJE VIRUSNEGA GENOMA. V citoplazmi celice gostiteljice se pod vplivom encimov sprosti virusni genom. Ti encimi so lahko celični ali virusni.

BIOSINTEZA VIRUSOV. DNK virusi se tvorijo tako, da se virusna nukleinska kislina podvaja v jedru celice, medtem ko kapside in druge beljakovine nastajajo v citoplazmi celice gostiteljice. Gotove kapside prodrejo v jedro in tam skupaj z novonastalo nukleinsko kislino oblikujejo nove virione.

RNK virusi lahko svojo nukleinsko kislino podvajajo kar na ribosomih v citoplazmi. Lahko se najprej RNK prepíše v DNK in se podvaja v jedru. Ko je podvajanje končano, se novonastale DNK prepíšejo nazaj v RNK. Virusno sintezo nadzira sam virus, pri čemer lahko vzporedno s sintezo virusa poteka tudi sinteza celice ali pa ta popolnoma zamre.

DOZOREVANJE IN SPROŠČANJE VIRIONOV. Ko se virusna nukleinska kislina obda z beljakovinskim ovojem, mora zapustiti celico gostiteljico. Lahko se obda tako, da celice gostiteljice ne uniči takoj. Takrat se virioni skozi celično membrano (pore) sproščajo v okolico in lahko na tej poti pridobijo lipidni ovoj, ki je del jedrne ali celične membrane.

Drugi način sproščanja virusov iz celice omogočajo litične beljakovine, ki razkrojijo gostiteljsko celico, da se lahko iz nje sprostijo zreli virusi. Ta način je za celico gostiteljico takoj usoden.

VRSTE VIRUSNE OKUŽBE

1. Uničujoča ali litična okužba: razmnoževanje virusov znotraj celice povzroči njen razpad, ki časovno sovpada s sproščanjem novo nastalih virusov iz celice (herpes virusi).
2. Trajna ali perzistentna okužba: virusi ostanejo znotraj celice dolgo časa in se neprestano razmnožujejo. Iz celice izstopajo tako, da brstijo iz njene površine, vendar pri tem ne poškodujejo same celice (virus hepatitisa).
3. Prikrita ali latentna okužba: celice, v katerih so virusi, so nepoškodovane, vendar se virusi le delno zgradijo. Do sinteze novih virusov pride le občasno, kar povzroči tudi celični propad (herpesvirusi).
4. Rakava transformacija celic nastane kot nadaljevanje prikrite ali trajne okužbe. Take celice se začnejo nenadzorovano razmnoževati in nastanejo maligni tumorji, ki se vraščajo in lahko metastazirajo (retrovirusi).

RAZVRŠČANJE IN POIMENOVANJE VIRUSOV

Virusi še niso dovolj raziskani in zato zanje ni enotnega uradnega poimenovanja. Tako so nekateri virusi dobili ime po bolezni, ki jo povzročajo (herpes virus), drugi po kraju (virus *Coxsackie*) ali po raziskovalcih določenega virusa (virus Epstein-Barr). Spet drugi razvrščajo viruse glede na tkiva, ki jih napadajo. Tako dobimo štiri skupine virusov, ki napadajo dihala, kožo, notranje organe ali živčevje.

SPECIALNA VIROLOGIJA

Specialna virologija obravnava viruse, ki povzročajo bolezni pri ljudeh in živalih. Preučuje zgradbo in obliko posameznih virusov, sposobnost povzročanja bolezni, diagnostiko, ukvarja se s širjenjem, zdravljenjem in preprečevanjem virusnih infekcij ter gojenjem virusov.

Glede na nukleinsko kislino delimo viruse na DNK in RNK viruse.

DNK VIRUSI: *Herpesviridae*, *Poxiviridae*, *Adenoviridae* in *Hepadnaviridae*. Povzročajo različne bolezni pri domačih živalih, kot so npr. slinavka in parkljevka, IBR/IPV, virusni hepatitis idr.

RNK VIRUSI: *Togaviridae*, *Paramyxoviridae*, *Arenaviridae*, *Philoviridae*, *Flaviviridae*, *Picornaviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Rotaviridae*, *Retroviridae* in *Rhabdoviridae*.

GOJENJE IN UGOTAVLJANJE VIRUSOV V LABORATORIJU

V laboratoriju gojimo viruse iz različnih razlogov. Najpogosteje je treba ugotoviti vzrok oz. etiologijo virusne bolezni. Uporablja se postopke, s katerimi je lahko dokazati virus neposredno v tkivu, sekretu ali ekskretu zbolele živali. Velikokrat pa je potrebno sum, da gre za virusno bolezen, potrditi z izolacijo virusa. Viruse gojijo tudi za pripravo vaccine.

Virus se razmnožuje le v živih celicah, zato uporabljajo poskusne živali, oplojena kokošja jajca ali celične kulture.

GOJENJE VIRUSOV NA POSKUSNIH ŽIVALIH

Danes zelo redko gojijo viruse na poskusnih živalih, pogosteje uporabljajo oplojena kokošja jajca ali celične kulture. Poskusne živali največkrat uporabljajo, ko želijo s pasažami atenuirati, tj. oslabiti virus, da ne bi povzročal bolezni, ohrani se pa sposobnost, da izzovejo v organizmu imunski odgovor (izdelava vakcin). Laboratorijske živali so primerne za preučevanje klinične slike in poteka bolezni ter patoanatomskih sprememb, ki jih virus povzroča. Pomembne so tudi za izdelavo antiserumov. Pri teh preiskavah in posegih je pomembno, da žival ni okužena z drugimi patogenimi mikrobi, predvsem z bakterijami. Te odstranimo s filtracijo materiala ali z dodajanjem antibiotikov materialu.

Slaba stran gojenja virusov na laboratorijskih živalih je ta, da je sposobnost virusa izzvati imunski odgovor in nastanek bolezni pogosto odvisna od imunskega stanja živali. Zato moramo uporabljati več živali. Poleg tega je delo s poskusnimi živalmi nevarnejše, dražje in tehnično zahtevnejše od drugih metod. Živali s sekreti in ekskreti izločajo virus v okolico,

zato take živali vzgajamo v izoliranih prostorih.

GOJENJE VIRUSOV V OPLOJENIH KOKOŠJIH EMBRIIH

V primerjavi s poskusnimi živalmi so jajca zelo redko okužena z mikroorganizmi in lažje jih obvarujemo pred naknadnimi infekcijami. Najpogosteje uporabljajo jajca kokoši iz SPF jat (specific pathogen free – jat, ki niso okužene s povzročitelji za to živalsko vrsto specifičnih bolezni) in so bele barve zaradi lažjega presvetljevanja.

Mesto in način inokulacije virusa v oplojeno jajce sta odvisna od vrste virusa. Mesto inokulacije je običajno na horioalantoisno membrano, amnijsko vrečo ali alantoisno vrečko. Uporabljamo embrie stare 9–11 dni. Količina kužnine, ki ji je dodan antibiotik, je običajno 0,1 mL. Antibiotik dodamo, da bakterije, ki se razmnožijo hitreje kot virusi, ne bi ubile in razgradile embria, preden se virus v njem lahko razmnoži. Jajca inkubiramo 3–5 dni pri 37 °C. Preden izločimo viruse, postavimo jajca za nekaj ur v hladilnik, da embrio zamre.

GOJENJE VIRUSOV NA KULTURAH ORGANOV, TKIV IN CELIC

Za gojenje celic *in vitro* lahko uporabljamo naravne tekočine (plazmo), najpogosteje pa umetna gojišča. Umetna gojišča niso inficirana, so brez protiteles in so standardizirana. Vsebujejo tudi antibiotike, ki preprečujejo kontaminacijo celičnih kultur. Celice gojimo v obliki suspenzij ali celičnega sloja, ki ga pritrdimo na steklo ali plastiko. Poznamo gojišča za razmnoževanje celic in gojišča za vzdrževanje celic.

Celične kulture imenujemo celice nekega tkiva, ki jih razmnožujemo *in vitro*. Kultura organa je košček organa (sapnika, pljuč), ki ga določen čas (do 1 meseca) vzdržujemo v gojišču za celično kulturo. Nanjo lahko inokuliramo virus, ki je bil že predhodno vzgojen na celični kulturi, ali pa na kulturo inokuliramo vzorec, poslan v preiskavo. Če želimo iz določenega organa izolirati virus, moramo najprej pripraviti suspenzijo organa v fiziološki raztopini. Suspenzijo centrifugiramo, supernatant filtriramo, da odstranimo bakterije in potem filtrat inokuliramo na celično kulturo. Inokulirane celične kulture vsak dan opazujemo pod mikroskopom. Nekateri virusi povzročajo morfološke spremembe celične kulture, kar imenujemo citopatski efekt (nekroze, piknoze, lize, granularne degeneracije itd.). Pri

nekaterih celicah po obarvanju opazimo inkluzije; to so spremenjena mesta v jedru ali citoplazmi, kjer se je virus razmnožil.

TITRIRANJE VIRUSOV. Titriranje je kvantitativno določanje virusne aktivnosti. Metodo imenujemo titracija. Pri titriranju določimo tisto največjo razredčino virusa, ki povzroči spoznavna znamenja v občutljivem gostitelju. Infektivna doza je najmanjša količina virusa, ki še povzroči odziv gostitelja. **Titer** virusa je največja razredčina virusne suspenzije, ki še povzroči citopatski efekt na 50 % sloja celične kulture.

GLIVE

Glive so evkariontski mikroorganizmi, grampozitivni, katerih velikost posameznih celic je 1–30 μm . Delimo jih na: enocelične (kvasovke) in večcelične (plesni in prave gobe).

Glive lahko živijo kot gniloživke ali paraziti. Gnuloživke ali saprofiti se prehranjujejo z odmrlimi organskimi snovmi, paraziti pa z organskimi. Parazitske glive povzročajo bolezni, imenovane mikoze.

Glive v naravi opravljajo več nalog. Nekatere razkrajajo organske snovi in so del simbioze z drugimi organizmi. Človek jih izkorišča v prehrabeni industriji za izdelavo kruha, sirov, piva idr. ter v farmacevtski industriji za izdelavo zdravil. Nekatere povzročajo škodo na živilih in bolezni pri ljudeh in živalih.

Kvasovke so okrogli, ovalni ali podolgovati enocelični mikroorganizmi, ki se razmnožujejo z brstenjem. Samo nekatere povzročajo bolezni pri živalih in ljudeh. Druge spreminjajo ogljikove hidrate v etilni alkohol in jih zato izkoriščamo, npr. pri peki kruha in pridelavi alkoholnih pijač. Veliki so 3–15 μm . Na umetnih gojiščih rastejo kot vlažne, mazave ali voskaste kolonije, ki so podobne bakterijskim, le da so nekoliko večje. Nekatere imajo vonj po kvasu.

Plesni rastejo v obliki nitk ali hif, ki so debele 2–10 μm . So bolj zapleteno sestavljene kot kvasovke. Hife tvorijo micelije, ki so vidni s prostim očesom (plesen na obleki, kruhu in drugje). Na gojišču zgledata kot pajčevine, prah ali kosmi. Za identifikacijo plesni je pomemben izgled hif, ki so lahko septirane ali neseptirane (posamezne celice so ločene s pregrado). V prehrabeni industriji uporabljajo t. i. plemenite plesni (siri), v farmacevtski

industriji pa uporabljajo plesni pri izdelavi antibiotikov. Lahko se razmnožujejo spolno ali nespolno ali na oba načina. Redke plesni povzročajo bolezni pri ljudeh in živalih.

Glive proizvajajo spore (konidije), ki so pomembne za identifikacijo. Lahko so spolne ali nespolne, so enocelične ter različnih barv in oblik. Glive gojimo v laboratoriju na podoben način kot bakterije. Uporabljamo lahko različna bakterijska gojišča, le da jim priskrbimo pH 5–6 in več vlage.

ZDRAVJU NEVARNE GLIVE

Večina patogenih gliv živi kot saprofiti pri živalih in ljudeh. So pogojno patogeni in povzročajo bolezni, ko je imunski sistem gostitelja oslavljen ali po dolgotrajni terapiji z antibiotiki. Redke glive so obligatni paraziti in v določenih okoliščinah sprožijo izbruhe bolezni. Ponavadi so to nekateri dermatofiti (*Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*). Ti povzročajo pri živalih spremembe na koži, dlaki in roževinastih delih. Dermatomikoze povzročajo tudi kvasovke (*Candida* in *Malassezia*).

Sistemske mikoze so najpogostejše okužbe, ki jih povzroča *Aspergillus fumigatus*. Povzroča bolezni dihal (vdihavanje spor plesni plesnive hrane). Poznane so mikotoksikoze ali zastrupitve s strupi gliv kot posledica hranjenja s krmo, ki vsebuje te strupe.

Glede na mesto vnosa v organizem delimo mikotoksikoze na alimentarne (vnos s hrano) in respiratorne (z vdihavanjem).

PRAŽIVALI

Praživali so enocelični evkarionti. Poznanih je veliko, le posamezni (okoli 20) so tudi nevarni za zdravje živali in ljudi. Nekateri so vidni s prostim očesom, večina pa samo pod mikroskopom.

V primerjavi z bakterijami imajo bolj zapleteno zgradbo. Izrazito je celično jedro, razvitejši so tudi nekateri organi in organele, kot npr. za premikanje, sprejemanje in izločanje hranilnih

snovi idr. Razmnožujejo se nespolno (enostavna delitev, dvojna delitev, poliembrioniranje in shizogonija) in spolno (gametogonija). Razmnoževanje je ciklično, izmenjujejo spolni in nespolni način razmnoževanja. Prehranjujejo se z že pripravljeno hrano rastlinskega ali živalskega izvora, ne morejo je sami sintetizirati. Živijo aerobno ali anaerobno. Vmesni gostitelji so najpogosteje členonožci (muhe, komarji, brenclji, stenice), lahko tudi klopi.

Praživali, ki parazitirajo živali in lahko tudi človeka, so: *Trypanosoma*, *Lishmania*, *Tritrichomonas*, *Coccidiae*, *Toxoplazma*, *Babesia* idr. (več pri predmetu zdravstveno varstvo domačih živali).

STERILIZACIJA IN DEZINFEKCIJA

Ko so znanstveniki začeli ugotavljati povzročitelje kužnih bolezni, njihovo razmnoževanje in širjenje, jim je postalo jasno, da bodo kužne bolezni lažje obvladali, če bodo znali zavreti njihovo rast in razmnoževanje. Tako sta se razvili dve temeljni obliki nadzora nad mikrobi, in sicer nadzor s fizikalnimi in kemičnimi sredstvi. Da bi odstranili mikrobo z inštrumentov, opreme in iz različnih tekočin, so strokovnjaki začeli uporabljati segrevanje, sevanje, filtracijo in druge fizikalne postopke. Postopoma so začeli razvijati metode za preprečevanje kvarjenja in ohranjanje higienske neoporečnosti živil, kot je pasterizacija idr. Zdravniki so začeli uporabljati različna kemična sredstva za razkuževanje ran in pri kirurških postopkih. V pitno vodo so začeli dodajati klorove pripravke in s tem preprečili širjenje številnih bolezni. V želji, da bi obvladovali predvsem kužne mikrobo v našem okolju, so razvili različne metode sterilizacije in dezinfekcije.

Sterilizacija pomeni popolno uničenje vseh mikroorganizmov, tudi bakterijskih spor. Dobeseden prevod pomeni preprečevanje razmnoževanja, saj latinska beseda *sterilis* pomeni neploden.

Baktericiden, viruciden, fungiciden itn. je postopek ali snov, s katerim uničimo bakterije, viruse in glive. Priponi -cid, -ciden pomenita ubit; priponi -statik, -statičen pa snov ali postopek, ki zavira rast (bakteriostatičen, fungistatičen).

Razkuževanje ali **dezinfekcija** je postopek, s katerim lahko uničimo do 99 % mikroorganizmov. Pri tem želimo uničiti vse patogene in pogojno patogene mikroorganizme

ter zmanjšati skupno število mikroorganizmov z različnih površin in predmetov, ki jih razkužujemo.

Dezinficiens ali **razkužilo** je sredstvo za dezinfekcijo oz. razkuževanje.

Antiseptik je kemična snov, s katero razkužujemo živo tkivo (npr. kožo, sluznico), da bi preprečili rast ali uničili mikroorganizme. Oba tuja strokovna izraza, tako dezinficiens kot antiseptik, lahko nadomeščamo s slovenskim pojmom razkužilo.

Izraz sterilizacija običajno v praksi uporabljamo za uničevanje mikroorganizmov s fizikalnimi sredstvi, dezinfekcijo pa za razkuževanje s kemičnimi.

STERILIZACIJA

Sterilizacija je postopek, s katerim uničimo vse mikroorganizme in bakterijske spore. Stvari, ki so sterilizirane, ne vsebujejo nobenih mikroorganizmov. Glede na način poznamo fizikalne in kemične vrste sterilizacije.

Fizikalni načini sterilizacije so: s toploto, z ionizirajočimi žarki in s filtracijo.

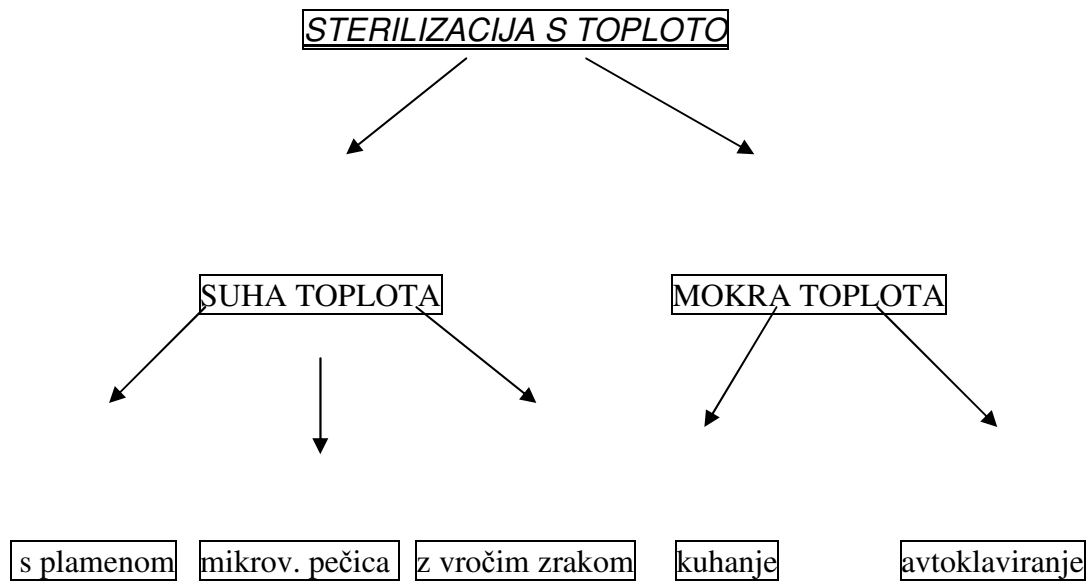
Za sterilizacijo uporabljamo:

1. toploto (suho ali vlažno)
2. sevanje (UV-žarke, γ -žarke)
3. ultrazvok
4. pline
5. mehanično odstranjevanje mikroorganizmov s filtracijo

STERILIZACIJA S TOPLOTO

Toplota deluje na mikroorganizme škodljivo, nekatere ubije že temperatura nad 50° C. Vendar obstajajo tudi t. i. termofilne bakterije, ki preživijo višje temperature. Še bolj trdožive so spore, ki jih nekatere bakterije tvorijo v neustreznem okolju (*Bacillus anthracis*). Ugotovili so, da je mikrob tem bolj občutljiv na toploto, čim več vode vsebuje njegova citoplazma, in obratno. Ravno zato so bakterijske spore tako odporne.

Zaradi delovanja vlažne toplote prihaja do koagulacije beljakovin, pokanja membran in iztekanja snovi iz celice. Suha toplota povzroči izsuševanje, denaturacijo beljakovin, poškodbe zaradi povečane koncentracije elektrolitov v celici. Vlažna toplota pri 60° C v 30 minutah uniči večino mezofilnih bakterij. Temperatura 80° C usmrti v 5–10 minutah vse vegetativne oblike bakterij, kvasovk in plesni. Spore klostridijev odmrejo pri 100° C šele v petih urah in pol, pri 120° C pa v 4 minutah.



Shema 1: Sterilizacija s toploto

STERILIZACIJA S PLAMENOM

S plamenom lahko steriliziramo le predmete, ki so termostabilni, npr.: kovinski predmeti, predmeti iz posebnega stekla, skalpeli, kovinske igle idr. Popolno sterilizacijo dosežemo, ko material položimo v kovinsko posodo, prelijemo z alkoholom in zažgemo. V ognju morajo biti predmeti vsaj 3 minute. S to metodo steriliziramo opremo samo v nujnih primerih, ko jo potrebujemo takoj in nimamo druge možnosti za sterilizacijo. Ko se material ohladi, ga lahko takoj uporabimo.

Slabe strani sterilizacije s plamenom so: da nikoli nismo prepričani, ali je bila sterilizacija izvedena uspešno in da se inštrumenti vedno nekoliko poškodujejo.

Sterilizacije s sežiganjem v praksi ne uporabljamo prav pogosto. Izjema je mikrobiološki laboratorij, kjer redno uporabljamo plamen kot sterilizacijsko sredstvo (ožiganje bakteriološke zanke pred uporabo in po njej, ožiganje vratu epruvet in druge posode). Primer sterilizacije s plamenom je tudi sežiganje trupel živali, ki so poginule ali bile evtanazirane zaradi kužne bolezni (npr. stekline), in ožiganje čebeljih panjev.

STERILIZACIJA Z VROČIM ZRAKOM

Sterilizacijo z vročim zrakom opravljamo v posebnih **suhih sterilizatorjih**, v katerih instrumente in steklovino izpostavimo visoki temperaturi za določen čas. Tako lahko steriliziramo kovinske predmete, steklovino in tudi tkanino, ne smemo pa gume, plastike in predmetov, ki so sestavljeni iz stekla in kovine, saj se slednje širi hitreje od stekla in bi le-to počilo.

Zrak segrevamo z električnimi grelci ali s plinom, podobno kot v navadni pečici, ki jo uporabljamo v kuhinjah. V suhem sterilizatorju naj se temperatura dviga počasi, ker prenaplo dviganje lahko škoduje inštrumentom in steklovini, ki jih steriliziramo.

Sterilizacija v suhem sterilizatorju traja 30–90 minut pri temperaturi 160–200° C. Postopek se začne takrat, ko v sterilizatorju dosežemo temperaturo, ki smo jo nastavili na termostatu. Po končanem postopku se inštrumenti in steklovina ohlajajo 1–2 uri. V tem času ne smemo odpirati vrat sterilizatorja.

Prednosti sterilizacije z vročim zrakom:

- delo s sterilizatorjem je varno in enostavno,
- sterilizirane predmete lahko hranimo v sterilizatorju do njihove uporabe,
- sterilizacija s suhim zrakom ne poškoduje inštrumentov kot sterilizacija s plamenom,
- možna je kontrola uspešnosti sterilizacije.

MIKROVALOVNA PEČICA

Mikrovalovno pečico uporabljamo za manjše količine steklovine, plastike in gume (1000 W, 3 minute). Ne smemo je uporabljati za sterilizacijo kovin in tekočin.

STERILIZACIJA S KUHANJEM

Tako kot plamen je tudi kuhanje najbolj poznan postopek za sterilizacijo. Že naše praprababice so prekuhale obleke in določene predmete, da bi uničile povzročitelje bolezni oz. preprečile nastanek bolezni.

Dejansko kuhanje v vodi, kjer dosežemo največ 100° C, uniči vse vegetativne oblike celic, viruse in druge mikrobe, ne uniči pa bakterijskih spor. Če se nahajajo mikrobi v kakšni umazaniji, bodo preživeli dlje časa, zato morajo biti predmeti pred sterilizacijo očiščeni.

Najpogosteje se odločamo za ta način sterilizacije, ko gre za manjše predmete, namenjene večkratni uporabi (injekcijske in kirurške igle, brizge, skalpeli itd.). Če s kuhanjem steriliziramo predmete, ki plavajo na vodi, jih moramo zapreti v posebne kovinske posode z luknjicami, saj mora biti predmet, ki ga steriliziramo na ta način, pokrit z najmanj štirimi centimetri vode. Sterilizacija s kuhanjem traja 30 minut od trenutka, ko je voda zavrela. Za pogostejše kuhanje predmetov uporabljamo destilirano vodo.

STERILIZACIJA S PARO IN PRITISKOM – AVTOKLAVIRANJE

Avtoklav je naprava za sterilizacijo, kjer predmete steriliziramo s paro pod pritiskom. Princip delovanja je isti kot v loncu na pritisk. Aparat je grajen na osnovi kotla, ki je delno napolnjen z vodo. Med segrevanjem se ustvarja vodna para, ki iztisne zrak iz avtoklava. Zato se v napravi dvigne pritisk za 1 atmosfero nad atmosferski pritisk in s tem tudi temperatura nad 120° C. Nekateri boljši avtoklavi imajo vakuumsko črpalko, ki najprej izčrpa zrak iz avtoklava, nato se napolni z že pripravljeno paro. S tem se močno skrajša čas celotnega postopka sterilizacije.

V laboratoriju uporabljajo avtoklav za sterilizacijo: tekočin, kužnega materiala, rabljenih gojišč in različnih drugih predmetov. V njem lahko steriliziramo še porozne materiale, kot so: operacijske halje, obveze in druge tkanine, sete za kirurške posege idr.

Ko napolnimo avtoklav z zelenim materialom za steriliziranje, se zrak v komori najprej zamenja s paro. Zrak je gostejši in hladnejši, zato odteka skozi odtočno cev, medtem ko priteka para. Temperatura in pritisk raste in ko dosežeta zahtevano raven, se avtoklaviranje začne. Po končanem postopku para odteče. Avtoklavi lahko paro ustvarjajo sami, takrat potrebujejo za delovanje destilirano vodo ali pa zahtevajo poseben dovod.

Pri delu z avtoklavom je potrebna določena previdnost. Temperatura mora pasti na 60° C in pritisk na 0, preden ga lahko odpremo. Čas avtoklaviranja začnemo meriti, ko temperatura doseže 121° C. Takrat traja sterilizacija 10–15 minut; če se odločimo za sterilizacijo pri 134° C, pa 5–10 minut.

PASTERIZACIJA

Pasterizacija je postopek segrevanja hrane, navadno mleka in mlečnih izdelkov, da uničimo patogene mikroorganizme in zmanjšamo število saprofitskih (nepatogenih) bakterij, da bi zavarovali živila pred gnitjem in vrenjem. Postopek se imenuje po Luisu Pasteurju.

Pasterizacija je npr. 30-minutno segrevanje mleka pri temperaturi 62,8–65,6° C. Kratkotrajna pasterizacija je vsaj 15-sekundno segrevanje pri temperaturi najmanj 71,7° C. Postopek uporabljamo tudi za druga živila, ki vsebujejo mikroorganizme in katerim bi se spremenila okus in sestava z drugačnimi postopki uničevanja mikroorganizmov.

TINDALIZACIJA

Imenujemo jo tudi postopna ali frakcionirana sterilizacija, ker ta proces izvajamo postopoma. Uporabljamo jo za tista živila, ki morajo biti sterilna, ne smemo pa za to uporabljati visokih temperatur.

Sestoji iz treh zaporednih pasterizacij:

1. dan izvedemo pasterizacijo in s tem uničimo vegetativne oblike mikroorganizmov;
2. dan postopek ponovimo in uničimo preostale, na novo iz spor zrasle vegetativne oblike mikroorganizmov;
3. dan še enkrat ponovimo pasterizacijo.

Snovi, ki bi jih visoka temperatura spremenila, tindaliziramo; torej jih segrevamo tri dni zapored 30 minut pri 80–100° C. Taka temperatura uniči vegetativne oblike in nekatere spore, odpornejše preživijo in naslednji dan vzklijejo. Bakterije torej uniči šele drugo ali tretje segrevanje.

LIOFILIZACIJA

Liofilizacija je postopek hitrega zamrzovanja in izsuševanja obenem.

Mikroorganizmi rastejo v vlažnem okolju in pomanjkanje vode prepreči njihovo razmnoževanje. Proti izsuševanju so odporne le bakterijske spore, ki brez vlage lahko

preživijo več let. Tudi virusi so precej odporni na izsuševanje, medtem ko večina bakterij ne preživi enournega izsuševanja.

Zamrzovanje preživi večina bakterijskih celic, zato je neprimerno za sterilizacijo. Zamrzujemo le bakterijske kulture, ki jih želimo shraniti za daljši čas. Bakterijsko celico uničita predvsem večkratno zamrzovanje in odmrzovanje, ker nastanejo veliki kristali, ki jo poškodujejo.

OBSEVANJE

Sevanje lahko uniči mikroorganizme tako, da jih ubije ali v njihovih genomih povzroči spremembe in s tem škodljive mutacije. Za uničevanje mikroorganizmov uporabljajo dve temeljni vrsti sevanja: ionizirajoče (žarke X, γ -žarke, katodne žarke) in ultravijolično (UV).

Neposredna **sončna svetloba** ubija predvsem vegetativne oblike bakterij, medtem ko so bakterijske spore proti delovanju sončnih žarkov odpornejše. Nekatere spore lahko preživijo zelo dolgo tudi na neposredni sončni svetlobi, difuzna (razpršena) pa jih sploh ne ubije. Ugotovili so, da so nekateri deli spektra sončne svetlobe bolj baktericidni od drugih. Najbolj baktericidni so **UV-žarki (ultravijolični)**, ki delujejo najverjetneje na bakterijske nukleinske kisline in nekatere beljakovine tako, da prekinejo njihovo sintezo in s tem ustavijo nadaljnji razvoj bakterije.

UV-žarke lahko proizvajamo tudi z umetno UV-žarnico. Take luči uporabljamo za sterilizacijo prostorov (operacijskih dvoran, mikrobioloških laboratorijev idr.). Pri takšni sterilizaciji moramo paziti na predmete, ki mečejo senco, saj UV-svetloba deluje le, če pade neposredno na mikroorganizme. Poleg tega je potrebno biti pozoren na to, da po 1,5 metrih učinek UV-žarkov začne padati. Zato je potrebno razmišljati o zadostnem številu lučk glede na velikost prostora.

Tudi **X-žarki** imajo baktericidno delovanje. Njihova moč je približno 100-krat večja kot moč UV-žarkov. Na mikrobo delujejo tako, da jim odvzamejo elektrone (ionizacija), zato preneha sinteza nukleinske kisline in beljakovin, kar povzroči propad mikroorganizmov.

Gama (γ) žarke uporabljajo predvsem za industrijsko pripravljene in na ta način sterilizirane pripomočke, kot so: petrijevke za enkratno uporabo, kirurške rokavice, šivalni material idr.

FILTRIRANJE

Filtriranje uporabljamo samo za sterilizacijo tekočin, in to v primeru, ko bi drugi načini povzročili neželene učinke (koagulacijo beljakovin). Tako mikrobov ne uničimo, temveč jih s posebnimi filtri odstranimo in tekočine postanejo sterilne.

Filtre ločimo po velikosti por in sestavi. Po sestavi poznamo filtre iz: posebne zemlje, porcelana, drobljenega stekla idr. Filtracijo pospešimo s povečanjem pritiska nad filtrom oz. z izsesavanjem tekočin skozi filter s pomočjo vakuuma. Lahko si pomagamo tudi s centrifugalno silo, ki pospeši prehod tekočine skozi filtrirno mrežo.

INDIKATORJI USPEŠNOSTI STERILIZACIJE

Nadziranje je lahko: fizikalno, kemično in biološko.

Fizikalno nadziranje opravljajo različne naprave, ki so priključene na sterilizatorje in avtoklave, nadzirajo pa: temperaturo, tlak, čas, koncentracijo vlage in plinov, vakuum, prepustnost komore.

Kemični indikatorji so kemične snovi z znanimi tališči (žveplo pri 115° C, acetanilid pri 116° C). Pomešani so z barvo in zaprti v kapilarah ali nanieseni na papirnate trakove. Nad določeno temperaturo spremenijo barvo in tako smo prepričani, da so bili predmeti izpostavljeni tej temperaturi in nič drugega.

Biološko nadzorujemo sterilizacijo z **bioindikatorji**. To so standardizirane spore določenega mikroorganizma z ugotovljeno stalno odpornostjo. Bioindikator za avtoklave je *Bacillus stearothermophilus*. Ampule s sporami morajo biti uničene pri 15-minutnem avtoklaviranju pri 121° C. Suhe sterilizatorje nadzorujemo s sporami *Bacillus subtilis var. niger*. Spore, ki so na vrvcici, zavite v filtrni papir in aluminijasto folijo, morajo biti uničene pri 180° C v 15 minutah. Po opravljeni sterilizaciji je treba pripravke s sporami inkubirati v bujonu pri primerni temperaturi, da ugotovimo, ali so bile spore uničene.

DEZINFEKCIJA

Dezinfekcija je postopek, pri katerem s kemičnimi sredstvi uničimo patogene mikroorganizme. Dezinfekcijsko sredstvo lahko mikroorganizme uniči ali zavre njihovo razmnoževanje in rast. Večina razkužil je lahko mikrobicidnih in mikrobistatičnih. Kakšen bo njihov princip delovanja, je odvisno od koncentracije razkužila, časa delovanja, temperature, števila in vrste mikroorganizma ter sestave snovi, ki jo razkužujemo.

Da je razkužilo učinkovito, mora škodljivo delovati na življenjsko pomembne sestavne dele mikroorganizmov, npr. na citoplazmatsko opno, encime ali strukturo beljakovin. Vse žive celice imajo polprepustno membrano, ki nadzoruje in ureja prehod snovi v celico in iz nje. Če je membrana poškodovana, bodo iz celice lahko iztekale pomembne snovi in vdirale škodljive. To lahko povzroči motnjo v rasti ali celo smrt celice. Podobno se dogaja s celico, če poškodujemo druge njene dele. Večina razkužil deluje tako, da poškoduje dva ali več celičnih delov.

S podaljševanjem oz. z zaporednim ponavljanjem dezinfekcije lahko dosežemo sterilnost.

DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA DEZINFEKCIJO

Koncentracijo določenega razkužila pripravimo glede na material, ki ga razkužujemo, in na mikroorganizme, ki jih želimo uničiti. Razkužilo višje koncentracije deluje baktericidno, nižje pa bakteriostatično. Izjeme so alkoholi, od katerih je npr. etilni alkohol najučinkovitejši pri 70 % koncentraciji.

Čas delovanja je povezan s koncentracijo razkužila. Višja koncentracija pomeni, da je lahko material krajši čas izpostavljen delovanju razkužila. Tudi takrat, ko so bakterije izpostavljene koncentriranim razkužilom, ne odmrejo vse naenkrat, pač pa postopoma.

Višja **temperatura** omogoča krajši čas razkuževanja oz. pospešuje kemijske reakcije. Če dvignemo temperaturo razkužila za 10° C, se običajno podvoji število mrtvih bakterij.

Kislost in snovi v okolju močno vplivajo na učinkovitost dezinfekcije. **Organski material** (kri, serum, gnoj, urin) oslabi ali celo prepreči delovanje sicer zelo učinkovitega razkužila.

FENOL

Fenol ali karbolna kislina pri visoki koncentraciji popolnoma uniči citoplazmatsko opno in obori celične beljakovine. V manjših koncentracijah (0,1–2 %) membrano poškoduje in zaustavi encimske reakcije v bakterijski celici. Uničuje vegetativne oblike bakterijskih celic in večino gliv, ne deluje pa na bakterijske spore. Delovanje na virus je odvisno od tega, ali je virusna kapsida obdana z ovojem ali ne. Goli virusi so na fenol precej odporni.

Fenol danes uporabljajo le kot standardno snov pri preizkušanju novih razkužil. Uporabljajo pa njegove derivate, kot je **heksaklorofen**, ki je manj toksičen in manj jedek. Heksaklorofen uporabljajo kot sestavni del razkužilnih mil.

KREZOL

Krezol je fenolu podobna spojina z močnim baktericidnim delovanjem. Njegova prednost je, da organske spojine v okolju ne zmanjšujejo njegove učinkovitosti. Slaba stran je, da dražijo tkiva in jih zato uporabljamo predvsem kot razkužila. V uporabi je le 1 % krezol, zmešan v milu, ki ga imenujemo **lizol** in ga lahko uporabljamo za razkuževanje rok.

ALKOHOLI

Alkohole običajno uporabljamo kot antiseptike. Najpogosteje uporabljen je **etilni**, manj **izopropilni** in **bencilni**. Alkohol deluje na mikroorganizme tako, da denaturira beljakovine. Učinkovitost je odvisna od koncentracije: 70 % raztopina etilnega alkohola je najbolj učinkovita. Čisti alkohol preveč izsuši bakterijsko celico in ji tako poveča možnost preživetja.

Alkoholi ne uničujejo spor in jih zato ne moremo uporabljati kot sredstvo za sterilizacijo. Ko ga uporabljamo za dezinfekcijo kože, moramo upoštevati, da zaradi hitre hlapljivosti deluje prekratek čas, da bi bil učinkovit. Z njim odstranimo s kože maščobo in umazanijo in tako nedvomno večino bakterij.

Postopek pri uporabi alkohola, preden damo injekcijo, bi bil naslednji: najprej področje aplikacije premažemo z alkoholom, da odstranimo maščobo in umazanijo in z njo večino mikrobov. Nato uporabimo alkoholno raztopino joda, ki ubije preostale kužne klice in na

koncu kožo premažemo ponovno z alkoholom, da odstranimo večino joda. Za razkuževanje kože je posebej učinkovit 80 % propilni alkohol.

HALOGENI

Najpogosteje uporabljamo klor in jod.

Jod je učinkovit antiseptik za kožo, ker uničuje bakterije in glive pa tudi spore in viruse. Je dokaj prijazen do kože, razen da jo obarva. Z njim razkužujemo tudi določene inštrumente. Jod zavira delovanje encimov, ki vsebujejo aminokislino tirozin, na katero se veže. Hkrati je tudi močan oksidant.

Jodofori so kemične spojine, ki vsebujejo aktivni jod. So topni v vodi in ko se počasi raztapljajo, postopoma sproščajo jod.

Klor uporabljamo predvsem za razkuževanje: pitne vode, vode v bazenih in v predelavi živil. Razkužila, ki vsebujejo klor, reagirajo z vodo in tvorijo hipoklorid, ki je močan oksidant.

SOLI TEŽKIH KOVIN

Najpogosteje so to: **sol živega srebra, srebra in arzena**. Sem sodijo še soli različnih barvil, kot so: kristal vijolična, metilno zelena in briljantno zelena.

FORMALDEHID

Formaldehid je odlično razkužilo. Če ga uporabljamo kot plin, deluje v zaprtih prostorih, in sicer baktericidno in fungicidno. Formaldehid in **formalin** (raztopina formaldehida v vodi) uničita tudi spore. Uporabljajo ju pri konzerviranju vzorcev v laboratorijih, njuno alkoholno raztopino pa tudi za razkuževanje nekaterih inštrumentov.

VODIKOV PEROKSID

Vodikov peroksid je nežen antiseptik z lastnostmi oksidanta. Pogosto ga uporabljamo za čiščenje ran, predvsem globokih, ki jim grozi okužba z anaerobnimi bakterijami v 3 % koncentraciji. Vodikov peroksid zavira delovanje nekaterih encimov, predvsem katalaze.

LITERATURA

1. Batis, J. in Brglez, I.: *Mikrobiologija za veterinarje*. Biotehniška fakulteta, VTOZD za veterinarstvo, 1984.
2. Bavdek, S.: *Mikroskop in mikroskopiranje*. Biotehniška fakulteta, VTOZD za veterinarstvo, 1980.
3. Brglez, J.: *Parazitologija za veterinarje*. Biotehniška fakulteta, VTOZD za veterinarstvo, 1982.
4. Bole–Hribovšek, V. in Hostnik, P.: *Osnove dela v mikrobiološkem laboratoriju*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta, 1996.
5. Jurca, J.: *Splošna mikrobiologija*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta, 1998.
6. Pratt, P. W.: *Laboratory procedures for veterinary technicians*. Massachusetts, ZDA, by American veterinary publication, Inc. third edition Mosby, Inc., 1997.
7. Skušek, F.: *Osnove klinične diagnostike za veterinarje*. Biotehniška fakulteta, VTOZD za veterinarstvo, 1988.
8. Srebočan, V. in Gomerčič, H.: *Veterinarski priručnik*. Veterinarski priručnik, Zagreb, Jugoslavenska medicinska naklada, 1989.
9. Kapun-Dolinar, A.: *Mikrobiologija*. Zavod Republike Slovenije za šolstvo, Ljubljana 2001.
10. Orožen Adamič, A. in Sermec, K.: *Mikrobiologija*. Ljubljana, DZS, 2005.