

Məşğələ 18**Anaerob infeksiyaların (botulizm, tetanus, qazlı qanqrena, psevdomembranoz kolit və bakterioidlərin törətdiyi xəstəliklər) mikrobioloji diaqnostikası****Müzakirə olunan suallar:**

1. Anaerobların ümumi xarakteristikası.
2. Botulizmin törədiciyi, morfo-bioloji xüsusiyyətləri, xəstəliyin patogenezi, mikrobioloji diaqnostikası, spesifik müalicə və profilaktika prinsipləri.
3. Tetanusun törədiciyi, morfo-bioloji xüsusiyyətləri, xəstəliyin patogenezi, mikrobioloji diaqnostikası, spesifik müalicə və profilaktika prinsipləri.
4. Qazlı anaerob infeksiyaların törədiciləri, morfo-bioloji xüsusiyyətləri, xəstəliyin patogenezi. *C.perfringens*-in törətdiyi digər xəstəliklər (qida zəhərlənməsi, nekrotik enterit). Qazlı anaerob infeksiyaların mikrobioloji diaqnostikası, spesifik profilaktika və müalicə prinsipləri.
5. *Clostridium difficile*, morfo-bioloji xüsusiyyətləri, psevdomembranoz kolitin patogenezi, mikrobioloji diaqnostikası, profilaktika və müalicə problemləri
6. *Bacteroides* cinsi (bakteroidlər), morfo-bioloji xüsusiyyətləri, insan patologiyasında rolu, xəstəliklərin mikrobioloji diaqnostika prinsipləri.

Anaerob bakteriyalar sərbəst oksigenlə tənəffüs etməyən sporlu bakteriyalardır. Onlar insan və heyvanların bağırsağının daimi sakinidir, nəcislə də ifraz olunurlar. Torpağı çirkləndirən bu bakteriyalar 18-24 saata spor hala keçərək uzun illər torpaqda qalırlar, yenidən əlverişli şəraitə düşərkən 6-8 saata sporlar, vegetativ hala keçərək xəstəlik törətmə qabiliyyətlərini bərpa edirlər.

Anaerob bakteriyalara qazlı qanqrena, tetanus və botulinus çöpləri aiddir. Bunların törətdikləri xəstəliklər 2 qrupa bölünür:

1. Postravmatik infeksiyalar (qazlı qanqrena və tetanus xəstəliyi);
2. Qida zəhərlənməsilə keçən xəstəlik (botulizm).

Botulizmin mikrobioloji diaqnostikası. *Botulizm xəstəliyi* yüksək ölüm faizi verən kəskin qida toksiko- infeksiyalarına aiddir. Xəstəliyin törədiciyi *Glostridium botulinum* adlanır. Botulizmin törədiciyi ucları dəyirmi polimorf, iri Qram müsbət çöplərdir, subterminal vəziyyətdə yerləşən spora əmələ gətirir, zəif hərəkətlidirlər, kapsulsuzdurlar.

Onlar obliqat anaerob mikrob olub, qanlı-şəkərli aqarda R-formalı, hemoliz zonası ilə əhatə olunan koloniyalar əmələ gətirir. Kitt-Tarotsi mühitində isə bulanıqlıq və qaz əmələ gətirir. Mikrob bitən mühitdən qaxsımış yağ iyi gəlir. Onlar fermentativ cəhətdən çox aktiv sayılırlar.

Mikrobun patogenlik amili bütün bioloji zəhərlərdən güclü olan ekzotoksinlə, yəni botulotoksinlə əlaqədardır. Belə ki, bu mikrob əlverişli şəraitdə çox güclü təsirə malik ekzotoksin ifraz edir. Konservləşdirilən qida məhsulları hazırlanan zaman bu, mikrobun sporları ilə çirklənsə qida zəhərlənməsinə səbəb ola bilər. Toksin mərkəzi və vegetativ sinir sistemini zədələyir. Xəstəyə vaxtında kömək göstərmədikdə ölüm baş verə bilər.

Lakin mədə şirəsinin təsirinə məruz qalmayan botulotoksin, 20dəq qaynadıldıqda parçalanır. Botulotoksinin 8 tipi məlumdur, insanda bunlardan 3 tip daha çox xəstəliyin baş verməsinə səbəb olur: A, B, E. E tipi, hətta mədə şirəsinin təsirindən daha da aktivləşir. Botulotoksin, əsasən sinir sisteminə təsir göstərir (neyrotoksin), eləcə də leykotoksik, hemolotik və ləstinaza aktivliyinə də malikdir. O, mədə-bağırsaq traktından təcili sorularaq qana keçir və tez seçici təsir göstərir. Xəstə ürək və tənəffüs mərkəzinin iflicindən ölür.

Xəstənin özünün və ya yaxınlarının verdiyi məlumatlar diaqnoz üçün ilkin şübhələri yaradır. Ona görə də botulizm xəstəliyinə diaqnoz qoymaq üçün təcili xəstədən 10-12ml qan, 100-200ml qusuntu kütləsi, mədə yuyuntusu, sidik, nəcis götürülür. Müayinə üçün patoloji material xəstəyə müalicə zərərli vurulmazdan əvvəl götürülməlidir. Ölüm baş verdikdə müayinə üçün meyiddən qan, daxili üzvlərdən tikələr, mədə və bağırsaq möhtəviyyatı, baş və onurğa beyni, limfatik düyüncüklər götürülür. Xəstəliyin yoluxma mənbəyini aşkar etmək üçün istifadə olunan qidadan 200-300q götürülür.

Götürülən materillər eyni zamanda iki istiqamətdə tədqiq edilir:

- a) Materialda botulizm toksini axtarılır;
- b) Materiallardan törədicinin təmiz kulturasını almaq üçün bakterioloji müayinə aparılır.

Botulizm toksinin aşkar edilməsi. Müayinə olunan materialda botulizm toksininin aşkar edilməsinin və onun tipinin neytrallaşdırma reaksiyası vasitəsilə müəyyənləşdirilməsinin böyük müalicəvi əhəmiyyəti vardır.

Xəstənin müayinə materiallarından (mədə yuyuntusundan, qusuntu kütləsindən, nəcisdən) çıxarış hazırlanır və fizioloji məhlulla durulaşdırılır. Ancaq sitrat qan və qan zərdabı durulaşdırılmamış istifadə edilir.

Hazırlanmış müayinə materialı ilə A, B, C, E tip antitoksik zərdablar arasında neytrallaşma reaksiyası aparılır. Reaksiyadan əvvəl antitoksik zərdablar elə durulaşdırılır ki, hər 1ml-də 100-200 BV olsun.

Reaksiya aparmaq üçün 5 sınaq şüşəsi götürülür və hər sınaq şüşəsinə 1ml müayinə materialı tökülür. Sonra birinci dörd sınaq şüşəsinin hərəsinə 1ml müvafiq A, B, C, E tip botulizm əleyhinə antitoksik, 5-ci sınaq şüşəsinə isə kontrol məqsədilə 1ml normal zərdab tökülür və 30-35°C-də termostata 30 dəq saxlanılır, sonra hər sınaq şüşəsindəki qarışıqdan 1ml götürüb 16-18q çəkisində 2 ağ siçana (cəmi 10 siçana) yeridilir.

Müayinə materialı qan və qan zərdabı olduqda periton boşluğuna, digər materiallar isə dəri altına vurulur, təcrübə heyvanları 4 gün ərzində nəzarətdə saxlanılır.

Əgər müayinə materialında botulizm toksini varsa, onda siçanlardan bir cütü salamat qalır. Bir cüt siçanın salamat qalması həmin sınaq şüşəsində müvafiq toksinin antitoksik zərdabla neytrallaşması nəticəsində olur, heyvanların hamısı ölərsə neytrallaşma reaksiyası təkrar edilməlidir.

Botulizm toksininin faqositar göstərici metodu ilə aşkar edilməsi. Botulizm toksini leykositlərin faqositar aktivliyini zəiflədir. Müvafiq botulizm əleyhinə antitoksik zərdab toksini neytrallaşdırdıqda leykositlərin faqositar aktivliyinin zəifləməsi aradan götürülür. Bu metod, əsasən, toksini qanda axtardıqda tətbiq edilir (faqositoz bəhsinə bax).

İşməli suda botulizm toksininin aşkar edilməsi. Bu metodda suda olan botulizm toksini talk üzərinə adsorbsiya etdirilir və sonra talk suspenziyası ağ siçanlara vurulur. Siçanlarda iflicin əmələ gəlməsi və epidemioloji məlumatın olması müayinə materialında toksinin olduğunu sübut edir, təcrübənin mənfi alınması botulizmi inkar etmir.

Bakterioloji müayinə. Bakterioloji müayinə aparmaq üçün müayinə materialı həvəngdəstədə tam xırdalanmalıdır. Hazırlanmış suspenziyadan 10-12ml Kitt-Tarotsi, ya da kazeinli-turş mühitə əkilir. Bu müayinə materialı 4 flakona əkilir. Flakonlardan ikisi qızdırılır.

Botulizm mikrobusunun E tipini almaq üçün flakonlardan biri 60°C-də 15 dəq, o biri isə 80°C-də 20dəq qızdırılır. Sonra E və F tip klostridiləri almaq üçün flakon 28°C-də termostata, A, B, C tip klostridiləri almaq üçün isə flakonlar 35°C-də termostata qoyub 48 saat saxlanılır.

Flakondakı mühitlərdə 24-48 saatdan sonra bulanıqlıq və qaz əmələ gəlir. İnkişaf olan mühitlərdən yaxmalar hazırlanır və Qram üsulu ilə rənglənilir. Axtarılan tipik klostridilər aşkar edildikdə bu maye mühitdən bərk mühitə əkilir ki, mikrobusun sərbəst koloniyaları alınsın. Botulizm törədicisi digər bakteriyalarla assosiasiya halında yaşaya bildiyinə görə təmiz kultura almaq çətin olur. Şəkərli qanlı aqarda bu mikrob hemoliz zonası ilə əhatə olunmuş hamar, ya kələ-kötür koloniya əmələ gətirir. Sütun şəklində olan şəkərli aqarın dərinliyində tiftikli, ya da mərciyəbənzər koloniya əmələ gətirir.

İdentifikasiya məqsədilə alınmış təmiz kulturanı "əlvan" sıra mühitinə əkirlər. Botulizm törədicisi əti, jelatini, zərdabı və yumurta zülalını əridir. Əksər ştammları qlükozanı, manni, maltozanı və digər karbohidratları turşu və qaz əmələ gətirməklə qıcqırdır. Antigen quruluşunu öyrənmək məqsədilə tipospesifik zərdablarla aqqlütinasiya reaksiyası qoyulur.

Alınmış kulturanın fermentativ xassələrini öyrənməklə bərabər, onun bulyon kulturasının filtratında toksinin olmasını və həm də toksinin tipini təyin edirlər. Toksin təyin etmək üçün 4-5 günlük bulyon kulturası ilə bioloji sınaq aparılır. Dəniz donuzlarında əzələlərin boşalması ilə əlaqədar "kürək" simptomu əmələ gəlir: arxası üstə qoyulmuş dəniz donuzu dönüb əvvəlki vəziyyətini ala bilmir.

Müayinə tam qurtarana qədər materialın qalan hissəsi soyuducuda saxlanılmalıdır.

Tetanusun mikrobioloji diaqnostikası. Tetanus torpaqla əlaqəli infeksiya xəstəlikdir. Xəstəlik zamanı əzələlərin kloniki və toniki qıcolmaları baş verir. Tetanus xəstəliyinin törədicisi Ql.tetani adlanan Qram müsbət, hərəkətli kapsulsuz, terminal sporlu iri çöplərdir. Onlar obliqat

anaerobdur (azacıq miqdarda O₂ ona zəhər kimi təsir edir). Bərk qidalı mühir səthində R-koloniya əmələ gətirir, Vilson-Bler mühitini qaraldır, qanlı aqarda hemoliz əmələ gətirir, Kitt-Tarotsi mühitini bulandırır.

Tetanus çöplərinin saxarolitik təsiri yoxdur, çox zəif proteolitik təsirə malikdir.

Mikrobun patogenlik faktoru ekzotoksina əsaslanır. Bu tetanolizin və tetanospasmin adlanan 2 fraksiyadan ibarətdir. Xəstəliyin baş verməsində əsas rolu tetanospazmin oynayır.

Tetanusun törədiciləri normada heyvanların və insanın bağırsaq möhtəviyyatında olur və nəcislə xaric olur. Torpağa düşmüş vegetativ formalar spora formasına çevrilərək, uzun müddət torpaqda öz həyat qabiliyyətlərini saxlayır. Hətta bəzi torpaqlarda artıb çoxala bilirlər.

Tetanus xəstəliyi yara infeksiyalarına aiddir. Yaralanmalar, cərrahi əməliyyatlar, müxtəlif manipulyasiyalar zamanı mikrobun spor forması insan orqanizminə düşə bilər. Mikrobun keçdiyi yerdə anaerob şərait yaranarsa, tetanus bakteriyalarının sporu vegetativ hala keçər, artıb çoxalar və xəstəliyin patogenezində əsas rol oynayan iki fraksiyadan ibarət ekzotoksin ifraz edir.

Tetanus törədicilərində invaziya qabiliyyəti yoxdur. Qanlı təhiz olunmuş orqanlarda sporlar inkişaf edə bilmir, hansı toxumada reduksiya potensialı azdır, onlar orada vegetativ hala keçərək kolonizasiya edirlər. 7-ci gündən etibarən ekzotoksinin ifrazı maksimum həddə çatır. Bu zaman əvvəlcə ənsə və mimiki, çeynəmə əzələləri qıc olur, sonra gövdə və ətraf əzələləri qıc olaraq enən tetanusun baş verməsinə səbəb olur. Beləliklə xəstə opistotonus vəziyyətinə düşür (körpü vəziyyəti). Döş qəfəsi və diafraqma əzələlərinin iflicindən xəstə ölür.

Xəstəliyin klinikası o qədər xarakterikdir ki, adətən, laboratoriya müayinəsinə ehtiyac olmur. Lakin mübahisəli, şübhəli (klinikası aydın olmadıqda) hallarda, həmçinin cərrahi materialların və parenteral yolla insana yeridilən dərman materiallarının sterilliyinin keyfiyyətini yoxlamaq məqsədilə tetanusa görə müayinə aparılır.

İnsandan müayinə məqsədilə irin, qan, yaranan kəsilib götürülmüş toxuma parçası, ölüm baş verdikdə meyidin daxili üzvlərindən tikələr, yara ətrafından toxuma və qan götürülür.

Toxumalardan, qatı irindən suspenziya hazırlanır. Müayinə olunan pambıq, təniz qayçı ilə xırdalanır və qidalı mühitə yerləşdirilir.

Bakterioskopik müayinə. Xəstədən və meyiddən götürülən materiallardan yaxma hazırlanır. Qram üsulu ilə rənglənilir (şəkil). Yaxmada Qram müsbət, dairəvi, nazik, uzun çöplərin görünməsi tetanusa şübhə yaradır. Materialda tetanus törədicisinə oxşayan *Gl.paratetanomorphum* və s. ola bilər. Ona görə də tetanus törədicisinə oxşar bakteriyaların görünməsi hələ tetanus demək deyildir.

Kultural (bakterioloji) müayinə. Müayinə materialından təmiz kultura almaq məqsədilə o, Kitt-Tarotsi bulyonuna əkilərək termostatda 37°C-də 3-4 gün saxlanılır. Sonra ayrı-ayrı koloniya almaq üçün bulyondan götürüb bərk qidalı mühitə əkir və mikroanaerostata qoyulur. Tetanus bakteriyaları qanlı şəkərli aqarın səthində kiçik koloniyalar əmələ gətirir.

Təmiz kultura alınır, identifikasiya olunur və mikrobun toksin əmələ gətirməsi yoxlanılır. Qidalı mühitdə becərmənin 4-5-ci günü bu mikrob toksin əmələ gətirir. Toksini müəyyənləşdirmək üçün Kitt-Tarotsi bulyonu sentrifüqadan keçirilir və çöküntü üzərindəki mayedən 0,3-0,4ml götürüb iki ağ siçanın quyruq venasına inyeksiya edilir. Kontrol məqsədilə iki ağ siçana əvvəlcədən tetanus əleyhinə antitoksik zərədlə qarışdırılmış və 37°C-də termostatda 1saat saxlanılmış müayinə materialı vurulur. Ağ siçanlara 4-5 gün nəzarət edilir. Müayinə materialında tetanus toksini olduqda 2-4 gündən sonra siçanlarda "qalxan" tetanus-inyeksiya yerindən başlayan qıcolmalar müşahidə olunur və tez ölüm baş verir. Kontrol siçanlarda belə hal müşahidə olunmur.

Bioloji müayinə. Lazım olan hallarda bakterioloji müayinə ilə yanaşı, bioloji müayinə də aparılır. Müayinə materiallarının bir hissəsi ağ siçanlara vurulur. Siçanlarda toksinin yeridilməsindən sonra kliniki mənzərənin əmələ gəlməsi müayinə materialında tetanus törədicisinin olmasına bir daha sübutdur.

Faylds metodu ilə tetanus törədicisinin təmiz kulturasının alınması. Müayinə materialında tetanus törədicisi digər mikroblarla birlikdə olduğuna görə onun təmiz kulturasını almaq üçün xüsusi üsuldən istifadə edilir. Bunun üçün ən çox *Faylds* metodu işlədilir. Belə ki, laxtalanmış zərədlə kondensasiya suyuna Şukeviç üsulunda olduğu kimi material inokulyasiya edilir, anaerob şəraitdə kultivasiya aparılır. Materialda tetanus çöpləri olduqda o, çəp zərədlə aqarının səthi ilə yuxarı qalxır. Çəp səthin qutaracağından olan mikrobdan götürüb mikroskopik müayinə aparılır. Əgər tetanus çöpləri təmiz halda olarsa ordan götürüb yeni zərədlə çəp aqara inokulyasiya edilir və ya Kitt-Tarotsi bulyonuna əkilərək onun təmiz klulturası əldə edilir.

Qazlı qanqrena xəstəliyinin mikrobioloji diaqnostikası. *Qazlı qanqrena* xəstəliyi, adətən, yaralanmalardan sonra əmələ gələn anaerob infeksiyadır. Qazlı anaerob infeksiya polietologiyalı xəstəlikdir. Xəstəliyin əmələ gəlməsində *Glostridium* cinsinə aid olan ayrı-ayrı növlər iştirak edir: *Gl.perfringens*, *Gl.septicum*, *Gl.sordelli*, *Gl.novy*, *Gl.fallax*. Yaranın stafilokoklar, protey, *pseudomonas* və s. bakteriyalarla çirklənməsi xəstəliyin sürətlə yayılmasına səbəb olur. *Gl.perfringens* həm də qida toksiko infeksiyası törədir.

Qazlı qanqrenanın əsas törədici *Gl.perfringens*-dir, yəni 80-90% bu mikroba rast gəlinir. Qazlı qanqrenanın törədicilərinin hamısı Qram müsbət, sporlu çöplərdir. *Gl.perfringens* hərəkətsiz, kapsullu, qalanları isə hərəkətli, kapsulasız çöplərdir.

Gl.perfringens aerotolerantdır. Anaerobların hamısı Kitt-Tarotsi mühitində yaxşı inkişaf edirlər: mühiti bulandırır və orada qaz əmələ gətirirlər. Qanlı qidalı mühitdə hemoliz zonalı koloniyalar əmələ gətirirlər. Zülalları parçaladıqlarına görə anaerobların inkişaf etdikləri (bitdikləri) mühitlərdən üfunətli iy gəlir. Onlar fermentativ cəhətdən çox aktivdirlər.

Qazlı qanqrena törədiciləri şiddətli ekzotoksin və aqressivlik fermentləri ifraz edirlər (hətta kollageneza) ki, bunlar da sümüyə qədər bütün toxumaları didib-parçalayırlar. Ona görə də üfunətli iy, qaxsımsı yağ iyi verirlər. Onların enterotoksini var ki, bu da qida zəhərlənməsinə və enteritə səbəb olur.

Xəstədən müayinə üçün zədələnmiş və nekrozlaşmış toxuma qırıqları, yaradan ödəm mayesi, irin, eksudat, yaraya düşmüş yad cisimlər və s. götürülür. Meyitdən isə müayinə üçün yara möhtəviyyatı, ürəkdən qan, dalaq və qara ciyərdən tikələr, prosesə qoşulmuş əzələdən kiçik tikə kəsilib götürülür. *Gl.perfringens* etiologiyalı qida zəhərlənməsi olduqda isə xəstədən qusuntu kütləsi, mədə yuyuntusu, nəcis, qan və xəstəliyin epidemiologiyasını aydınlaşdırmaq məqsədilə xəstənin istifadə etdiyi qidanın qalığı müayinə edilir.

Xəstəliyə diaqnoz qoymaq üçün bakterioskopik, bakterioloji və bioloji müayinə üsullarından istifadə edilir.

Bakterioskopik müayinə. Götürülən materiallardan yaxmalar hazırlanır və Qram, Gins-Burri üsulları ilə rənglənilir. Yaxmada iri Qram müsbət, kapsullu və kapsulasız çöplərin görünməsinə diqqət yetirilir. Xarakter klinik mənzərə olduqda və materialdan hazırlanan yaxmada göstərilən mənzərə aşkar olunarsa diaqnoz təsdiq olunur. Lakin diaqnoza 100% əminlik üçün törədicinin növünü və toksinin tipini aydınlaşdırmaq məqsədilə müayinə davam etdirilir.

Bakterioloji və bioloji müayinələr. Materialın qalan hissəsi kazeinli və ya ətli maye və bərk mühitlərə (Kitt-Tarotsi mühiti, qanlı aqar, Vilson-Bler mühiti, süd) əkilir, eləcə də anaerob, atmosfer yaradan Qaspakdan istifadə edilir. Bütün bunlar mikroanaerostata, mikroanaerostat isə termostata yerləşdirilir. Material əkilmiş sınaq şüşələrinin ikisi 80°C-də 30 dəq qızdırılır ki, spor əmələ gətirməyən bakteriyalar məhv olsun. Sonra material əkilmiş mühitlər 37°C-də anaerob şəraitində termostatda inkubasiya edilir. Materialda *Gl.perfringens* olduqda südlü mühit 3-4 saatdan sonra laxtalanır və şəffaflaşır. Vilson-Bler mühiti qaralır və güclü qaz əmələ gəlir.

Qidalı mühitlərdən yaxmalar hazırlanıb mikroskopiya olunur. Təmiz kultura almaq məqsədilə maye mühitlərdən bərk mühitlərə əkilir.

İlkin kulturalardan toksini və onun tipini aydınlaşdırmaq məqsədilə kulturanın filtratı və sentrifugatı *Gl.perfringens*-in, *Gl.septicum* -un, *Gl.novy*-nin diaqnostik zərdabı ilə işlənib ağ siçanlara yeridilir. Bu neytralizasiya reaksiyasının aparılmasının böyük diaqnostik və müalicə əhəmiyyəti vardır.

Müayinənin 3-cü günü bərk qidalı mühitlərdə bitən koloniyalara fikir verilir. Materialdan alınmış bakteriyanın morfologiyası, hərəkəti, karbohidratları qıcqırtması, lakmuslu südə əkdikdə rəngin dəyişməsi, zülalları parçalaması və toksin əmələ gətirməsi öyrənilir.

Xəstəliyə təcili diaqnoz qoymaq üçün müayinə materialını sentrifugadan keçirir və sentrifugatla spesifik antitoksik zərdab arasında neytralizasiya reaksiyası aparılır.

Xəstəliyə təcili diaqnoz qoymaq üsuluna həmçinin filtratda lesitinazanın aşkar edilməsi və onun tipospesifik zərdabla neytrallaşdırılması da daxildir. Əsasən *Gl.perfringens*in toksinini bu üsulla təyin edirlər.

Bunun üçün materialı sentrifugadan keçirir, çöküntü natrium-xloridin izotonik məhlulu ilə 1:2, 1:4, 1:8.... nisbətində durulaşdırılır və onun üzərinə xüsusi aktivator (0,005M CaCl_2) əlavə edilir. Hər durulaşmadan 1ml götürüb üzərinə 0,1ml tipospesifik zərdab əlavə edib qarışdırılır. Qarışıq 20°C-də 40dəq saxlanılır və sonra onun üzərinə 0,2-1ml lesitin əlavə edilib təzədən termostatda 37°C-də 2 saat saxlanılır.

Kontrol məqsədilə yuxarıdakı qayda ilə qarışıq hazırlanır, ancaq ona zərər əlavə edilmir. Kontrol şüşədə lesitinaza olduqda sınaq şüşəsində bulanıqlıq əmələ gəlir, təcrübə sınaq şüşələrində zərər olduğu görə bulanıqlıq əmələ gəlmir.

Gl.perfringens etiologiyalı qida zəhərlənməsinə şübhə olduqda diaqnoz anaerob infeksiyaların diaqnozu kimi aparılır, təcili diaqnoz isə aşağıdakı sxem üzrə aparılır:

1. Müayinə materialını, 80°C-də 15dəq qızdırır və sonra tərkibində 0,5% qlükoza olan yağsızlaşdırılmış südə əkilir 37°C-də termostatda yerləşdirilir
2. Materialda *Gl.perfringens* olduqda bir neçə saatdan sonra süd laxtalanır.
3. Süd laxtalandıqda onun zərər hissəsi sentrifüqadan keçirilir və 0,5-1ml olmaqla ağ siçanların periton boşluğuna inyeksiya edilir. Toksin aşkar edildikdə neytralizasiya reaksiyası vasitəsilə toksinin tipi təyin edilir.

Pseudomembranoz kolitin mikrobioloji diaqnostikası. Bu xəstəliyin törədicisi *Gl.difficile*, Qram müsbət, subterminal sporlu, peritrix bakteriyalardır. Ən çox kiçik yaşlı uşaqların bağırsağının normal mikroflorasına daxildir. Uzun müddət antibiotik, xüsusən klindomisin, sefalosporin almış uşaqların bağırsağında dominantlıq və pseudomembranoz kolit əmələ gətirir.

Obliqat anaerobdur. Sikloserin və sefoksitin əlavə olunmuş yumurta-sarılı-fruktozal qidalı mühitin səthində sarı rəngli tutqun koloniyalar əmələ gətirir. Bitməsi çətin olduğundan mikroorqanizm diffiçili, yəni çətin adını almışdır.

Biokimyəvi cəhətdən passivdir: lesitinaza aktivliyinə malik deyildir, indol əmələ gətirmir, qlükozanı parçalayır. Xəstəliyin törənməsində ekzotoksin əsas rol oynayır: sulu və qanlı ishalə səbəb olur. Nekrozlaşmış selikli qışa pseudomembran əmələ gətirir, nekroz baş verir, temperatur qalxır və sancı şəkilli ağrı tutmaları olur.

Mikrobioloji diaqnostika nəcisin mikroskopiyası və bakterioloji müayinəsinə əsaslanır. Bu bakteriyalar nəcisin normal mikroflorasına aid olduğundan onu sayı nəzərə alınmalıdır, yəni 1q nəcisdə, təxminən 100-dən az *Gl.difficile* olmalıdır, kolit zamanı isə onun sayı 10^4 və 10^5 -ə qalxır.

Nəcisdən bu mikrobun təmiz kulturasını almaq çətin olduğundan, mütləq əkmə CCFA (Cycloserin-cefoxitinli, yumurta sarılı, fruktozal aqara) aparılmalıdır, yəni 10 dəfə durulaşdırılmış nəcis içərisində maye ekstraktı olan 10 ədəd sınaq şüşəsindən 10^{-1} - 10^{-9} -dək durulaşdırılır. Sonra hər durulaşmadan 3 damla götürüb bir-birindən aralı kasalara qoyulur, bakterial ilgəklə yayılır və bu quruduqdan sonra, anaerob şəraitdə 37°C termostatda 48saat saxlanılır, sonra müşahidə edilir. Qızılı-sarı koloniyalar sayılır və bir damladan bitən koloniyalar hesablanır (0,1ml-də).

Gl.difficile-nin identifikasiyası kultural və biokimyəvi xüsusiyyətlərə əsaslanır. Onun toksinini təyin etmək üçün həssas hüceyrə kulturalarından istifadə edilir.

Bakteroidlərin törətdiyi xəstəliklərin mikrobioloji diaqnostikası. Bakteroidlər fəsiləsinə Qram mənfi, kiçik, spor əmələ gətirməyən çöpvari anaerob bakteriyalar aiddir. Bunların 13 cinsi məlumdur, lakin təbabət üçün maraq doğuran 2 cinsdir: *Bakteroides* və *Fuzibakterium*. Bunlar ətraf mühidə çox yayılmışdır. Ən çox isə ağız boşluğunun selikli qışasında, mədə-bağırsaq traktının, sidik cinsiyyət yollarının selikli qışalarında rast gəlinir. Müəyyən şəraitdə onlar apendisit, peritonit, sepsis, parapraktit, yara infeksiyaları və s. kimi xəstəliklər törədirlər.

Bakterioides cinsi 22 növdən ibarətdir. Onlar ucları dəyirmi olan çöp formalı bakteriyalardır. Düz və ya azca əyri olub tək-tək, cüt-cüt, zəncir şəklində yerləşir, bəzi növləri kapsulludur. Bəzisi isə hərəkətlidir. Əsas xəstəlik törədən növləri *B.fragilis* və *B.melaninogenicus*-dur.

B.fragilis obliqat anaerobdur, maye və bərk mühitlərdə 5-7 günə çoxalır, mühitə qan zərər əlavə edildikdə onların inkişafı sürətlənir. Qanlı aqarda "S" formalı hemoliz zonası olmayan koloniyalar əmələ gətirir, jelatini ərictir, zülalları parçalayır, bulyonu bulandırır.

B.fragilis - ə daha çıx rast gəlinir. Ağız boşluğu və yüngün bağırsağın daimi sakinidir. Digər bakteriyalarla birlikdə peritonit, apendisit, ağ ciyər xəstəlikləri, urogenital infeksiyalar törədirlər.

B.melaninogenicus da obliqat anaerobdur. Qanlı aqarda hemoliz zonalı koloniya əmələ gətirir, jelatini ərictir, zülalları parçalayaraq indol əmələ gətirir, koloniyası tünd qəhvəyi rəngdə olur. Bakteroidlərin əmələ gətirdiyi xəstəliklərə mikrobioloji diaqnoz qoymaq üçün patoloji materialdan əvvəlcə yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilir və mikroskopiyaya zamanı solğun çəhrayı, bəzən bipolyar boyanmış çöplər görünür. Əsas diaqnostika üsulu bakterioloji üsul sayılır. Belə ki, material anaerob şəraitdə qanlı aqara, eləcə də qanlı-ödlü aqara (kanamisin qatılmış) əkilir, 37°C temperaturu termostatda 2-3 gün inkubasiya edilir. Yuxarıda qeyd olunan kultural xassələrə əsasən diaqnoz təsdiq edilir.

Fuzobakterium cinsinə 16 növ bakteroidlər daxildir. Bunlar iltihabi-nekrotik proseslər törədirlər. Fuzobakteriyalar yuxarı tənəffüs yollarının, cinsi orqanların və s. normal mikroflorasına aid olan uzun, “i” şəkilli sporsuz çöplərdir, obliqat anaerobdur, qanlı aqarda α -hemolitik koloniyalar əmələ gətirir. Əsas növləri *F.necrophorum*, *F.nucleatum*-dur. Bunlar Qram mənfi, polimorf, hərəkətsiz, kapsulsuz çöplərdir. Qara ciyərli bulyonu bulandırır və iylənmiş pendir iyi əmələ gətirir. Qanlı aqarda hemoliz zonası ilə əhatə olunmuş “S” formalı koloniyalar əmələ gətirir, zülalları parçalayaraq indol və H_2S əmələ gətirirlər, Fuzobakteriyaların törətdiyi xəstəliklərə diaqnoz qoymaq üçün əvvəlcə mikroskopik üsuldən istifadə edilir, yəni dəri və selikli qişalardan material götürüb yaxma hazırlanır, Qram üsulu ilə rənglənilir. Bakterioloji üsulda isə material laboratoriyaya anaerob şərait yaradılmış xüsusi konteynerlərdə çətdirilir və qanlı aqara əkilib, mikroanaerostata qoyulur, sonra təmiz kultura əldə edilib identifikasiya aparılır. Yuxarıda göstərilən bütün anaerob bakteriyaların qidalı mühitlərdə kultivasiyası bu qayda üzrə aparılır. Bəzən bioloji üsuldən də istifadə olunur. Bunun üçün ağ siçanlar yoluxdurulur.