

Məşğələ 22**Patogen spiroxetlərin və rikketsiyaların törətdikləri xəstəliklərin mikrobioloji diaqnostikası****Müzakirə olunan suallar:**

1. Spiroxetlərin ümumi xarakteristikası.
2. Sifilis törədicisinin morfo-bioloji xüsusiyyətləri, xəstəliyin patogenezi, immunitetin xüsusiyyətləri, anadangəlmə sifilis.
 - Sifilisin mikrobioloji diaqnostikası: mikroskopik və seroloji üsullar (treponemal və qeyri-treponemal anticisimlərin tədqiqi (RPR, DİFR, TPHA və s.) və onların diaqnostik əhəmiyyəti)
3. Epidemik və endemik qayıdan yatalaq törədicilərinin (*B.recurrentis*, *B.duttoni*, *B.persica*) morfo-bioloji xüsusiyyətləri, yoluxma yolları. Qayıdan yatalağın patogenezi, klinikası, mikrobioloji diaqnostikası, müalicəsi.
 - *Borrelia burgdorferi*, insan patologiyasında rolu, Laym xəstəliyinin patogenezi, mikrobioloji diaqnostikası
4. Leptospiraların təsnifatı, morfo-bioloji xüsusiyyətləri, yoluxma yolları, patogenezi, mikrobioloji diaqnostikası, müalicə və profilaktikası.
5. Patogen rikketsiyaların ümumi xassələri, rikketsiozların təsnifatı.
 - Epidemik və endemik səpgili yatalaq rikketsiyalarının morfo-bioloji xüsusiyyətləri, ekologiyası, yoluxma yolları. Səpgili yatalağın patogenetik xüsusiyyətləri. Səpgili yatalağın mikrobioloji diaqnostikası, spesifik müalicə və profilaktika prinsipləri
 - Brill-Zinsser xəstəliyi. Epidemik səpgili yatalaq və Brill-Zinsser xəstəliyinin fərqləndirilməsi.
 - Ləkəli qızdırma qrupu rikketsiyalarının (sıldırım qayaların ləkəli qızdırması – *R.rickettsii*, Marsel qızdırması – *R.conorii*, çiçəybənzər rikketsioz – *R.akari*, Şimali Asiya gənə rikketsiozu – *R.sibirica*) törətdiyi xəstəliklərin patogenezi və mikrobioloji diaqnostikası.
 - *Orientia tsutsugamushi* – Kol qızdırması, patogenezi və mikrobioloji diaqnostikası
 - *Ehrlichia cinsi* (monositar erlixiozlar – *E.sennetsu*, *E.chaffeensis*, qranulositar erlixiozlar – *E.ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*), törətdikləri xəstəliklərin patogenezi və mikrobioloji diaqnostikası.
 - Q-qızdırmasının törədicisi (*Coxiella burnetii*), morfo-bioloji xüsusiyyətləri, ekologiyası, ətraf mühit amillərinə davamlılığı, yoluxma yolları. Q-qızdırmasının patogenetik xüsusiyyətləri. Q-qızdırmasının mikrobioloji diaqnostikası, spesifik müalicə və profilaktika prinsipləri

Spiroxetlər (lat. Speria-qıvrım, chaite-tük) qıvrım, hərəkətli mikroorqanizmlər olub Spirochaetales sırasında birləşdirilir.

Spirochaetales sırasına iki fəsilə daxildir:

1. Spirochaetaceae fəsiləsi. Buraya spiroxeta, saprospira və kristospira cinsləri aiddir.
2. Treponemataceae fəsiləsi. Buraya *Borrelia*, *Treponema* və *Leptospira* cinsləri aiddir.

Spiroxetlərin quruluşunun əsasını elastik ox təşkil edir. Ona vint şəklində protoplazma lenti dolanmışdır. Spiroxetlərin bədənələri sitoplazmatik silindrdən ibarət olub, sitoplazmatik membran və hüceyrə divarı ilə məhdudlaşır. Sitoplazmasında nukleoid (nüvə maddəsi), ribosomlar, mezosomlar və əlavələr olur. Bakteriyalarda olduğu kimi onlarda da nüvə maddəsi bütün protoplazmaya paylanmışdır.

Spiroxetlərin əsasi oxu hüceyrə divarı ilə sitoplazmatik membran arasında yerləşərək sitoplazmatik silindrin üç hüceyrəsində yerləşən bazal cisimciklərlə-blefaroplastlarla birləşir. əsasi ox onlar üçün hərəkət aparatı olub, fibril dəstələrindən təşkil olunmuşdur. Hərəkət fibril dəstələrinin yığılıb-açılması hesabına təmin edilir.

Spiroxetlərin morfologiyasını rənglənmiş halda işıq mikroskopunda, diri halda isə qaranlıq sahəli və fəzalı –kontrast mikroskoplarında öyrənirlər. Rənglənmələrinə görə spiroxetlər bir-birindən fərqlənir. *Borrelia*lar adi anilin boyaqları ilə yaxşı boyanır. *Treponemalar* və *leptospiralar* isə xüsusi rənglənmə üsulu ilə rənglənilir. Spiroxetləri rəngləmək üçün Gimza üsulundan geniş istifadə edilir.

Sifilisin mikrobioloji diaqnostikası. Sifilis zöhrəvi və qeyri-zöhrəvi olmaqla iki qrupa bölünür. Zöhrəvi sifilisin törədicisi *Treponema pallidum*-dur. Qeyri-zöhrəvi sifilisə frambeziya, törədicisi – *Treponema pertenue*; pinta, törədicisi – *Treponema carateum* aiddir.

Treponema pallidum – yəni solğun treponema, Qram mənfi, sporsuz, kapsulsuz, 8-14 ədəd bərabər qıvrıma malik mikroorqanizmdir.

Tərkibində nukleoproteidlərin miqdarı az olduğundan treponemalar Gimza üsulu ilə 10-15 saata solğun çəhrayı rəngə boyanırlar.

T. pallidum mikroaerofildir, beyinli, zərdablı mühitlərdə becərildikdə virulentliklərini itirirlər. Onu heyvana yoluxdurmaqla da təmiz kulturasını almaq mümkün olmamışdır.

Treponemlərin patogenlik amili, əsasən onun aktiv hərəkətililiyi ilə ölçülür. Bu xüsusiyyət ona dəri və selikli qişanı rahatca dəlib keçərək toxumanın dərinliyinə keçməyə və adgeziyaya imkan verir. Onların toksini olmur, lipoproteinləri xəstəliyin baş verməsinə səbəb olur.

Sifilisin mikrobioloji diaqnostikasında, əsasən mikroskopik və seroloji üsullardan istifadə edilir.

Xəstəliyin birinci dövründə mikroskopik üsuldən; ikinci və üçüncü (bəzən dördüncü dövründə də) dövrlərində isə həm də seroloji üsullardan istifadə edilir.

Mikroskopik tədqiqatlar zamanı müayinə materialı bərk şankrdan (ilkin sifilomadan) və ya sifilomanın yerləşdiyi nahiyədə limfa düyüncüklərindən götürülür. Əvvəlcə şankrın səthi (eroziyalaşmış yaraları qan çıxmasın deyə çox ehtiyatla işləmək lazımdır) natrium – xloridin steril fizioloji məhlulunda isladılmış steril tənzip tamponla diqqətlə yuyulur (tibb işçiləri əllərinə rezin əlcək taxmalıdır!). Sonra steril quru tamponla qurudulur və bir qədər qızdırılmış (çox isti olmasın) pinset, skalpel, lansetin küt tərəfilə və ya metal şpatel vasitəsilə şankr qıcıqlandırılır. Qıcıqlanmış şankr iki barmaqla bir qədər sıxılır. Bu zaman onun ətrafından az miqdarda toxuma mayesi (limfa) xaric olur. Həmin maye iti uclu steril Paster pipetkəsi ilə sorulur və əşya şüşəsi üzərinə damızdırılır. Sonra “əzilən” damla preparatı hazırlanır və “qaranlıq” görüş sahəsi mikroskopda mikroskopiya edilir. Bu zaman hərəkətli, bir-birinə bərabər, sərt döngəli qıvrımlardan təşkil olunmuş treponemlərin görünməsi diaqnoz qoymağa imkan verir.

Genital orqanlardan götürülmüş materialda qeyri-patogen spiroxetlər (*Borrelia refringens*) də təsadüf edilə bilər. Həmin qeyri-patogen spiroxetlər böyük qıvrımlı, irəliləmə hərəkəti olmayan, daha kobud cisimli hüceyrələr olması ilə patogen spiroxetlərdən fərqlənir.

Sifilisin mikroskopik diaqnostikasında boyadılmış preparatlardan da istifadə edilir. Bu məqsədlə, müayinə olunan materialdan yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərində yaxmalar hazırlanır, qurudulur və metil spirti, yaxud Nikifirov məhlulu (etil spirti ilə efirin bərabər miqdarda qarışığı) ilə fiksasiya edilir. Sonra Gimza üsulu ilə boyadılır. Gimza üsulu ilə sifilisin törədiciləri solğun çəhrayı rəngdə boyanır. Çünki bu mikrobların tərkibində nukleoproteidlərin miqdarı az olduğu üçün boyaqları yaxşı qəbul etmir. Ona görə də bunlar solğun treponema (*Treponema pallidum*) adlanır.

Burri üsulu ilə boyadılmış neqativ preparatlarda treponemlər və onların qıvrımları qara fonda yaxşı görünür.

Sifilitik dölün qaraciyərindən və digər orqanlarından götürülmüş nümunələrdən histoloji preparatlar və ya basma yaxmalar hazırlanır. Basma yaxmalar Gimza üsulu ilə, histoloji kəsiklər isə Morozov üsulu ilə (“gümüşləmə”) boyadılır. Solğun treponemlər Morozov üsulu ilə boyadılmış preparatlarda gümüşü parıltılı qara rəngdə görünür.

Xəstəliyin ikinci və üçüncü dövrlərində mikroskopik müayinələr üçün material müxtəlif dəri zədələnmələrindən (səpgilərdən, kəndilomalardan və s.) götürülür və yuxarıda qeyd olunan üsullarla müayinə edilir. Lakin qeyd etmək lazımdır ki, antibiotik tətbiq edildəndən, hətta 1 neçə saat keçdikdən sonra, mikroskopik müayinə bir nəticə vermir.

Seroloji diaqnostika sifilisin ən əlverişli diaqnostik üsulu, “qızıl üsul” hesab edilir və bu üsul xəstəliyin bütün dövrlərində diaqnoz qoymağa imkan verir. Vaxtilə sifilisin seroloji diaqnostikasında komplementin birləşmə reaksiyasından - Vasserman reaksiyasından, presipitasiya (çökdürmə) reaksiyalarından, treponemlərin immobilizasiya reaksiyasından və immunflüoresensiya reaksiyalarından istifadə edilirdi.

Hazırda sifilisin seroloji diaqnostikasında Vasserman reaksiyası geniş tətbiq olunmur. Bu məqsədlə xəstəliyin ikinci və üçüncü dövrlərində xəstənin qan zərdabından, dördüncü dövrdə, yaxud bel quruması (onurğa sütununun çürüməsi) zamanı onurğa beyni mayesindən istifadə edilir. “Qızıl standart” İFR hesab olunur, xüsusən dolayı immunflüoresensiya reaksiyası. Bu məqsədlə

flüoroxromlarla nişanlanmış antitreponemal anticisimlərlə işlənmiş yaxmalar lüminessent mikroskoplarla müayinə edilir.

Sifilisin seroloji diaqnostikasında bir sıra çöküntü reaksiyalarından da istifadə edilir. Bu reaksiyalar presipitasiya reaksiyaları olub, xəstənin qan zərdabı ilə xolesterin və ya digər maddələr vasitəsilə həssaslığı artırılmış antigenlərin (toxuma lipoidlərinin) qarşılıqlı təsiri nəticəsində baş verir. Yəni xəstənin qan zərdabı üzərinə lipoid antigenlər əlavə edildikdə gözlə görünən çöküntü əmələ gəlir. Əksər laboratoriyalarda Kan reaksiyasından və Zaks-Vitebski (sitoxol) reaksiyasından istifadə edilir.

Treponemlərin immobilizasiya reaksiyası. Bu reaksiya ekspres (təcili) diaqnostika kimi sifilisin diaqnostikasında daha yüksək spesifikliyə malik olan reaksiya hesab edilir.

Reaksiyanın mahiyyəti odur ki, hərəkətli solğun treponema kulturası üzərinə sifilisli xəstənin qan zərdabı əlavə edildikdə treponemlər hərəkətsizləşir.

Hərəkətli treponema kulturası, yoluxdurulmuş dovşanın xayası xüsusi qidalı mühitdə (bu qidalı mühitdə treponemlər hərəkətli qalır) xırda-xırda doğranılmaqla alınır.

Qayıdan yatalağın mikrobioloji diaqnostikası. Qayıdan yatalağ, törədicinin bioloji xassələrinə, keçiricinin növünə və xəstəliyin epidemioloji xüsusiyyətlərinə görə iki cür olur: 1.Epidemik qayıdan yatalağ, yaxud bit vasitəsilə yayılan qayıdan yatalağ; 2.Endemik qayıdan yatalağ, yaxud gənə vasitəsilə yayılan qayıdan yatalağ.

Epidemik qayıdan yatalağın törədicisi *Borrelia recurrentis*, keçiricisi baş və paltar bitləri, infeksiya mənbəyi isə xəstə insanlardır.

Endemik qayıdan yatalağın törədicisi *Borrelia duttoni*, *Bor.caucasica*, *Bor.latyschevi*, *Bor.persica* və s. keçiricisi gənələr, təbii mənbəyi isə gəmiricilərdir.

Qayıdan yatalağ – törədicisi-*Borrelia recurrentis*, sap şəkilli, qeyri-bərabər qıvrımlı, spor və kapsul əmələ gətirməyən hərəkətli mikroorqanizmdir. Gimza üsulu ilə bənövşəyi boyanır, Qram mənfidir.

Borreliyalar ciddi anaerobdurlar, zərdab və toxuma ekstraktlı mühitlərdə, toyuq embrionunun sarılıq kisəsində çoxala bilirlər, lakin bu zaman onlar virulentliklərini itirirlər.

Epidemik və endemik qayıdan yatalağın törədiciləri morfoloji, kultural, biokimyəvi, antigen və bir sıra digər xassələrinə görə bir-birindən fərqlənir. Ancaq gəmiricilər üçün endemik qayıdan yatalağın törədiciləri patogen, epidemik qayıdan yatalağın törədiciləri isə qeyri-patogenidir.

Borreliyalar qidalı mühitlərdə çətin bitdiklərinə və bitmiş kultura öz antigen və başqa xassələrini dəyişdiyinə görə qayıdan yatalağın diaqnostikasında bakterioloji üsuldən istifadə edilmir.

Qayıdan yatalağın laborator diaqnostikasında, əsasən mikroskopik üsuldən istifadə edilir. Bu məqsədlə xəstəliyin tutma dövründə, yəni qızdırmalı dövrdə və ya təkrar tutmaya az qalmış xəstənin barmağından qan götürülür və ondan “qalın” damla və “nazik” yaxma preparatları hazırlanır. Əvvəlcə hazırlanmış “qalın” damla fiksasiya edilmədən Gimza üsulu ilə boyadılır. Gimza boyağı distillə olunmuş suda hazırlandığı üçün preparatın üzərinə töküldükdə bir neçə dəqiqə ərzində eritrositlər hemolizə uğrayır. Ona görə də 5 dəq sonra ehmalca yuyulur və üzərinə yenidən Gimza boyağı töküüb 35-45 dəq saxlayırlar. Sonra preparat ehtiyatla su ilə yuyulur, qurudulur və mikroskopiya edilir.

Mikroskopiya zamanı borreliyalar göy-bənövşəyi rəngdə boyanmış bir neçə böyük qıvrımlı nazik tüklər şəklində görünür. Borreliyaların uzunluğu 10-30 mkm arasında təəddüd edir. Bəzən onların uzunluğu leykositlərin diametrindən bir neçə dəfə artıq olur. Borreliyalar çoxlu miqdarda olduqda (bu, epidemik qayıdan yatalağın tutma dövrü üçün xarakterikdir) onlar bir yerə toplanıb dolaşmaq saçı xatırladır. Bu cür preparatlarda borreliyalı fibrin tellərindən fərqləndirmək çətin olur. Ona görə də diaqnozu dəqiqləşdirmək üçün “nazik” qan yaxmaları boyadılıb mikroskopiya edilməlidir.

“Nazik” qan yaxmalarını tədqiq etdikdə, əvvəlcə hazırlanmış və qurudulmuş preparatlar spirtə və ya Nikiforov qarışığında fiksasiya edilməlidir. Sonra onlar Pfeyffer fuksini və ya Gimza boyağı ilə boyadılır. Preparatda borreliyalar olduqda onlar fuksinlə çəhrayı, Gimza boyağı ilə göy-bənövşəyi rəngdə boyanır. Borreliyaların uzunluğu eritrositlərin diametrindən iki dəfədən də artıq olur.

Apireksiya (tutmalar arası dövr) zamanı əksər hallarda, adi üsullarla mikroskopiya etdikdə borreliyalı aşkar etmək olmur. Belə halda zənginləşdirmə üsullarının tətbiq edilməsi daha yaxşı nəticə əldə etməyə imkan verir. Bu məqsədlə xəstənin dirsək venasından 8-10 ml qan götürülür, laxtalandırılır, zərdabını ayıraraq 45-60 dəq müddətində 3000 dövr/dəq sürətlə sentrifüqadan keçirilir.

Sonra sınaq şüşəsini cəld əyməklə maye hissəsi boşaldılır. Çöküntüdən “əzilən” damla preparatı və “qalın” yaxma hazırlanılır. “Əzilən” damla qaranlıq görüş sahəsində, “qalın” damla preparatı isə fiksasiya edildikdən sonra Gimza üsulu ilə boyadılıb mikroskopiya edilir.

Apireksiya dövründə seroloji sınaqlardan da istifadə etmək olar. Əşya şüşəsi üzərinə bir damla qayıdan yatalağın tutma dövrünü keçirmiş xəstənin qan zərdabı qoyulur və onun üzərinə tərkibində borreliyalı olan (tutma dövründə) bir damla qan əlavə olunur.

Sonra damlalar bir-birilə qarışdırılır və üzərinə örtük şüşəsi qoyulur. Hazırlanmış “əzilən” damla 37°C-də termostatda 30-60dəq saxlanılır.

Preparatın qaranlıq görüş sahəli mikroskopda mikroskopiyası zamanı anticisimlərin təsirindən borreliyalıların hərəkətinin itməsi və ya ölməsi müşahidə edilir.

Qayıdan yatalağın diaqnostikasında trombositlərin borreliyalara “yükləmə” reaksiyasından da (Rikkenberq-Brusin reaksiyası) istifadə edilir. Xəstənin qan zərdabı normal dəniz donuzunun sitratlı plazması ilə bərabər miqdarda qarışdırılır. Həmin qarışığın üç hissəsi üzərinə bir hissə borreliya kulturası əlavə edilir və yaxşı-yaxşı qarışdırılır. 37°C temperaturda 15dəq saxlandıqdan sonra pipetka ilə sınaq şüşəsinin dibindən bir damla götürüb, əşya şüşəsi üzərinə qoyulur, örtük şüşəsilə “əzilən” damla hazırlanılır və qaranlıq görüş sahəsində immersion obyektivlə müayinə edilir. Xəstənin qan zərdabında spesifik anticisimlər olduqda dəniz donuzunun trombositləri borreliyalıların üzərinə adsorbsiya (yüklənmə) olunub onların hərəkətinə mane olur.

Endemik qayıdan yatalaq zoonoz xəstəlik olduğu üçün onu, epidemik qayıdan yatalaqdan xəstədən götürülmüş qanla dəniz donuzlarını və ya ağ siçanları yoluxdurmaqla ayırmaq olar.

Dəniz donuzları dərialtı (1-2ml xəstənin qanı heyvanın dərisi altına yeridilir) və yaxud gözdaxili (1-2 damla qan göz konyuktivitinə damızdırılır) üsulla yoluxdurulur. Yoluxmuş heyvan 5-7 gündən sonra xəstələnir. Bu zaman heyvandan qan götürülüb müayinə edilərsə, preparatda çoxlu miqdarda borreliyalı görünəcəkdir.

Borreliyalı tez-tez antigen quruluşunu dəyişdiyinə görə seroloji üsulla diaqnoz qoymaq əlverişli sayılmır.

Laym xəstəliyinin mikrobioloji diaqnostikası. Laym xəstəliyinin törədici B.burqdorferi-dir. Bu xəstəlik zoonoz xəstəlikdir. Təbii şəraitdə törədicilər xırda meşə siçanlarında tapılırlar. İxodes gənələri onları dişlədikdə yoluxurlar və həmin gənələrin ağız suyu ilə, onlar dişləmə zamanı insana keçirlər. Gənənin dişlədiyi yerdə ətrafa yayılan eritema (iltihablı qızartı) görünür, əvvəl papula əmələ gəlir, sonra dalgavari qızartı olur, 20-30 günə xəstədə oynaq ağrıları, meningitə bənzər əlamətlər, üz sinirinin iflici və s. baş verir.

Bu xəstəliyin törədicilərinin bütün bakteriyalardan fərqli olaraq, DNT-si xətti quruluşludur. Onların morfoloji və kultural əlamətləri digər borreliyalarda olduğu kimidir, lakin ölçücə nisbətən böyükdür.

Xəstəliyin laborator diaqnozu. Xəstənin dərisindəki eritemalar o qədər xarakterikdir ki, hətta laborator diaqnoza çox da ehtiyac qalmır. Lakin xəstəliyin 2-ci, 3-cü dövrlərində laborator üsullara ehtiyac duyulur. Bunun üçün xəstədən sinovial maye, onurğa beyni mayesi, qan zərdabı götürülür: əsasən ZPR, dolayı İFR, İFA reaksiyaları qoyulur.

Leptospirozun mikrobioloji diaqnostikası. Leptospiroz təbii ocaqlı zoonoz infeksiya xəstəlikdir. Təbii şəraitdə leptospirozun əsas mənbəyi müxtəlif növ məməlilərdir (gəmiricilər, həşərat yeyənlər, kisəliklər, yırtıcılar, cütdırnaqlılar və başqa dəstələrə aid olan məməlilər). Onlardan ev heyvanları, kənd təsərrüfatı heyvanları və quşlar yoluxur. İnsanlar isə həm vəhşi və həm də ev heyvanlarından müxtəlif yollarla, xüsusilə xəstə heyvanların və leptospira gəzdirən heyvanların sidiyi ilə çirklənmiş su ilə yoluxur.

Leptospirozun yoluxmasında su o qədər mühüm rol oynayır ki, hətta əvvəllər bu xəstəlik sarılıqlı və sarılıqsız su qızdırmasına bölünürdü. Sarılıqlı su qızdırmasının törədici L.icteroheorrhagiae, sarılıqsız su qızdırmasının törədici isə L.rippotyphosa hesab olunur.

Leptospiralar çox zərif, qıvrımları çox (40-a dək) və sıx olan, ucları ilgək və ya qarmaqla sonuclanan mikroorqanizmlərdir. Onlar Qram mənfi, sporsuz, kapsulsuz, çox aktiv sıçrayışlı hərəkətə malik olurlar. Fibrilləri hüceyrənin hər 2 qütbündən çıxır. Gimza üsulu ilə zəif çəhrayı boyanır. Gümüşləmə üsulu ilə yaxşı rənglənilir, qaranlıq görüş sahəli mikroskopda aktiv sıçrayışlı hərəkətə malik leptospiralar yaxşı görünür.

Leptospiralar aerob şəraitdə 28°C temperaturda 5-7 günə inkişaf edir, əsasən Ulenhut mühitində (1 hissə zərdab+3 hissə su), 5-10%-li dovşan zərdabı qatılmış mühitlərdə çoxalır. Duru

mühitlərdə bulanıqlıq əmələ gətirmir, yarım maye mühitlərdə isə səthə yaxın yerdə inkişaf zonası əmələ gətirirlər.

Mikroorqanizmin əsas patogenlik faktoru, onun ümumi intoksikasiya və qan sızma əmələ gətirən endotoksini ilə əlaqəlidir. Törədici dəri və selikli qışadan daxil olur, qan dövrünü ilə qara ciyər, böyrək, dalağa keçir, hematoensefal baryeri keçərək MSS-nə gəlir.

Leptospirozun törədiciləri Spirochaetales sırasının Spirochaetaceae ailəsinin Leptospira cinsinin Leptospira interrogans növünə aiddir. Bu növə 26 seroloji qrup, 160-dan artıq seroloji variant daxildir.

Leptospiraların mikrobioloji diaqnostikasında mikroskopik, bakterioloji, bioloji və seroloji üsullardan istifadə edilir.

Mikroskopik müayinələr. Xəstəliyin birinci həftəsində leptospiraları qanda, 10-14-cü günlərdən sonra sidikdə, meningial təzahürlü ağır formalarda onurğa beyni mayesində aşkar etmək olar. Ona görə də müayinə üçün xəstələrdən qan, sidik və onurğa beyni mayesi götürülür. Ölmüş heyvanlardan (ürəkdən) qan, daxili orqanlardan, xüsusilə böyrəklərdən tikələr kəsilib götürülür. Epidemioloji göstərişlə əlaqədar olaraq su, qida maddələri və heyvanların ifrazatı müayinə olunur.

Qan 2-3 ml miqdarında venadan götürülür və qanın laxtalanmasının qarşısını almaq üçün həmin həcmdə 2%-li natrium sitratla qarışdırılır. Sonra sentrifüqadan keçirilir. Alınmış plazma yenidən 3000 dövr/dəq sürətlə sentrifüqadan keçirilib çöküntü əldə edilir. Əmələ gələn çöküntü mikroskopiya edilir.

Sidik, onurğa beyni mayesi ya bilavasitə götürülən kimi, yaxud da 2 saat müddətində 4000 dövr/dəq sürətli sentrifüqadan keçirildikdən sonra alınmış çöküntü mikroskopiya edilir.

Müayinə olunan materialdan bir damla nazik (1mm-dən qalın olmayan) əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və üzəri örtük şüşəsi ilə örtülüb “əzilən” damla preparatı hazırlanır. “Əzilən” damla preparatı quru obyektivlə (40 dəfə böyüdən), yandan düşən işıqla, qaranlıq görüş sahəli mikroskopda tədqiq edilir. Mikroskopiya zamanı olduqca hərəkətli, nazik, xırda və sıx qıvrımlı leptospirlər görünür. Onların ucları qarmaq şəklində əyilmiş olur. Sürətli aşma hərəkəti zamanı qarmaqlar bəzən ilgək formasında görünür. Leptospirlər hərəkət etdikdə onlarda ikincili qıvrımlar da əmələ gəlir. Bu da onlara “S”-ə bənzər, yaxud dırnağa bənzər forma verir.

Qanın mikroskopik müayinəsi təsadüfi hallarda müsbət nəticə verir. Ona görə də digər üsullardan da istifadə edilməlidir.

Gəmiricilərin, kənd təsərrüfatı heyvanlarının daxili üzvləri, xüsusilə parenximatoz orqanları da mikroskopik üsulla müayinə edilir. Bu məqsədlə nazik əşya şüşəsi üzərinə ucu iti steril Paster pipetkəsi ilə natrium-xloridin steril izotonik məhlulundan bir damla qoyulur. Sonra həmin pipetka müayinə olunan parenximatoz orqana 2-3 mm dərinlikdə batırılır. Pipetkanın içərisinə daxil olmuş toxuma əşya şüşəsi üzərinə qoyulmuş NaCl-un izotonik məhlulu damlasının içərisinə üfürülür, üzəri örtük şüşəsi ilə örtüldükdən sonra “əzilən” damla preparatı kimi qaranlıq görüş sahəli mikroskopda mikroskopiya edilir.

Müayinə üçün götürülmüş orqanlarda leptospirlər tez öldükləri üçün həmin materialı uzun müddət saxlamaq olmaz. Təcili müayinə edilmədikdə hərəkətini itirmiş (ölmüş) leptospirləri toxuma qırıntılarından seçmək mümkün olmur.

Kultural (bakterioloji) üsul. Leptospirlər tərkibində dovşan zərdabı olan maye qidalı mühitlərdə yaxşı inkişaf edir. Bu məqsədlə bir sıra elektiv qidalı mühitlər təklif edilmişdir. Mikrobioloji laboratoriyalarda ən çox Ulenhut, Fervort-Volf, Kortkof, Terskix, Ellenhauzen və başqa qidalı mühitlərdən istifadə edilir.

Müayinə olunan material (qan, sidik, onurğa beyni mayesi və s.) bir neçə sınaq şüşəsinə əkilir. Sınaq şüşələrinə 5-7 ml miqdarda qeyd olunan qidalı mühitlərdən biri tökülür və müayinə olunan materialdan hər sınaq şüşəsindəki qidalı mühitə 5-10 damla əkilir. Leptospirlər anaerob şəraitində daha yaxşı inkişaf etdikləri üçün bəzən materila əkildikdən sonra anaerob şərait yaratmaq məqsədilə sınaq şüşələrinə, qidalı mühitin səthinə bir qədər steril vazelin yağı əlavə olunur. Sonra həmin sınaq şüşələri 28°C temperaturda termostata qoyulur.

Leptospirlər qidalı mühitlərdə inkişaf etdikdə, həmin mühitlərdə gözlə görünən heç bir dəyişiklik baş vermir. Ona görə də müayinə materialı əkilmiş qidalı mühitlər termostata qoyulduqdan 5-7 gün sonra hər sınaq şüşəsindəki qidalı mühitdən “əzilən” damla preparatı hazırlanır və qaranlıq görüş sahəli mikroskopda tədqiq edilir. Leptospirlər bəzən qidalı mühitlərdə çox gec bitir. Bunu nəzərə alaraq, əkilmiş materialı termostata 4-5 həftə saxlamaq və hər həftədə bir dəfə “əzilən”

damla hazırlayıb leptospiirlərin bitib-bitmədiyini təyin etmək lazımdır. Əgər bu müddət ərzində leptospiirlər inkişaf etməsələr, demək həmin yoxlanılan materialda leptospir yoxdur və material tullanmalıdır.

Heyvanların daxili üzvlərindən qidalı mühitlərə əkmək lazım gəldikdə daxili orqanlardan material tam sterilliyi gözləməklə mikroskopiyada qeyd olunmuş qayda üzrə götürülür və hər orqandan götürülmüş material 3-4 sınaq şüşəsinə tökülmüş qidalı mühitlərə əkilir. Leptospiirlərin inkişafı yuxarıda göstərilən qayda üzrə yoxlanılır.

Bioloji üsul. Leptospiroza bioloji üsulla diaqnoz qoymaq məqsədilə eksperimental heyvan kimi 7-8 günlük dovşan balalarından, dovşan balaları olmadıqda cavan (çəkisi 200 q –a qədər) dəniz donuzlarından və ağ siçanlardan (çəkisi 14 q-a qədər) istifadə olunur.

Müayinə olunan material heyvanlara qarın boşluğu və ya dərialtı üsulla yeridilir. Xəstəliyin 5-6-cı gününə qədər qan (3 ml), 8-ci günündən sonra meningial əlamətlər olduqda onurğa beyni mayesi (10 ml qədər), 12-ci günündən sonra isə sidik (1-3 ml) yeridilir. Daxili orqanlardan götürülmüş materialı heyvanlara yeritmək lazım gəldikdə əksər hallarda qaraciyər və böyrəklərdən tikələr kəsilir və steril həvəngdəstədə natrium –xloridin steril izotonik məhlulunda əzilir. Sonra alınan məhlul bir qədər sakitcə saxlandıqdan sonra onun üst hissəsindən 1-2 ml götürülür və heyvanlara yeridilir.

Yoluxdurulmuş heyvanlar 15 günə qədər ciddi nəzarət altında saxlanılır. Hər gün onların temperaturu ölçülür, çəkisi yoxlanılır.

Müayinə materialında leptospiirlər olduqda yoluxdurulmuş heyvan 5-7 gündən sonra xəstələnir. Yəni çəkisi azalır, temperaturu artır, görünən selikli qişalar saralır. Bir neçə gündən sonra xəstələnmiş heyvanlar ölür (bəzən sağalır). Ölmüş heyvan yarıldıqda onun bütün daxili üzvlərinin sarılması və bəzən də qansızmalar müşahidə olunur.

Leptospiirlər ən çox heyvanın qara ciyərində, ağ ciyərlərində, böyrəklərində və böyrəküstü vəzilərində toplanır.

Seroloji üsul. Aqqlütininlər və lizinlər insanların qanında xəstəliyin 6-8-ci günlərindən sonra 1:100 nisbətində və ondan yuxarı titrlərdə aşkar olunur. Anticisimlərin ən yüksək titri xəstəliyin 14-17-ci günlərində müşahidə olunur. Xəstəlik qurtardıqdan sonra xəstəliyi keçirmiş şəxsin qanında anticisimlər uzun müddət (hətta ömrün axırına qədər) aşkar edilə bilər. Ona görə də leptospirozun retrospektiv diaqnostikasında seroloji üsulun çox böyük əhəmiyyəti vardır.

Müayinə üçün götürülmüş qan sınaq şüşəsində, yaxud filtr kağızına hopdurulduqdan sonra (kağızı quruyana kimi gözləmək lazımdır) laboratoriyaya göndərilir. Laboratoriyada qan, yaxud qan zərdabı adi qayda üzrə 1:50, 1:100 və s. nisbətində NaCl-un steril izotonik məhlulunda durulaşdırılır. Əgər qan filtr kağızına hopdurubsa kağızda qan damlaları olan yerlər qayçı ilə kəsilir və sınaq şüşəsinə salınır, üzərinə kağızlardakı qan damlalarının miqdarı qədər NaCl–un steril fizioloji məhlulundan (damla ilə) əlavə olunur. 10-30 dəq sonra alınmış sarımtıl-çəhrayı rəngli məhlul NaCl-un steril fizioloji məhlulunda adi qayda üzrə 1:50 nisbətindən başlayaraq 1:800 nisbətinə qədər durulaşdırılır. Qan durulaşdırıldıqdan sonra hər durulaşmadan steril pipetka vasitəsilə 0,2 ml götürüb ayrı-ayrı steril sınaq şüşələrinə və ya plastik lövhə üzərində olan yuvacıqlara tökülür və üzərinə həmin miqdarda 7-10 günlük fəal hərəkətli diri leptospir kulturası əlavə edilir. Təcrübə bir neçə cərgə sınaq şüşələrində aparılır. Çünki hər cərgədəki sınaq şüşələrinə - leptospiirlərin ayrı –ayrı seroloji qruplarına daxil olan etalon ştammlarının kulturası əlavə olunur. Sınaq şüşələrinin cərgələrinin miqdarı təcrübə üçün istifadə olunan leptospiirlərin seroloji qruplarının miqdarından asılıdır. Sonra həmin sınaq şüşələri 30-37°C temperaturda 30-60 dəq müddətində inkubasiya edilir. Təcrübənin nəticəsi mikroskop vasitəsilə yoxlanılır. Bu məqsədlə hər sınaq şüşəsindən bir damla götürülür, “əzilən” damla hazırlanır və qaranlıq görüş sahəli mikroskopda baxılır.

Qeyd etmək lazımdır ki. göstərilən üsulla qoyulan təcrübə zamanı sınaq şüşələrində eyni zamanda həm lizis, həm də aqqlütinasiya reaksiyaları gedir və reaksiyanın nəticəsi mikroskopla yoxlanılır. Ona görə də bu reaksiya mikroaqqlütinasiya və lizis reaksiyası adlanır. Əgər tədqiq olunan qanda lizinlərin miqdarı çox olarsa, onda leptospiirlər lizisə uğrayır. Bu zaman “əzilən” damla preparatında su üzərində yağ damlalarını xatırladan dənəli damlalar görünür. Lizinlərin miqdarı az, aqqlütininlərin miqdarı çox olarsa, onda bir neçə (üçdən artıq) leptospir bir ucu ilə bir-birinə birləşir və “hörümçək” şəkilli birləşmə (aqqlütinat) əmələ gəlir.

Zərdabla qoyulan reaksiyalarda 1:100 və ondan yuxarı nisbətlər, filtr kağızına hopdurulmuş qan damlaları ilə qoyulan reaksiyalarda 1:40 və ondan yuxarı nisbətlər diaqnostik titr hesab edilir.

Leptospirozların seroloji diaqnostikasında komplementin birləşmə reaksiyasından da istifadə edilir. Xəstənin qanında komplement birləşdirici anticisimlər xəstəliyin 5-6-cı günlərində əmələ gəlir və xəstəlik qurtardıqdan sonra 8-10 aya qədər qalmaqla davam edir.

Ona görə də mikroaqlütinasiya reaksiyasından fərqli olaraq, komplementin birləşmə reaksiyası vasitəsilə xəstəliyə həm erkən və həm də xəstəlikdən 8-10 ay keçənə kimi seroloji diaqnoz qoymaq mümkündür. Reaksiya adi qayda üzrə qoyulur. Yalnız antigen kimi 11 serovardan ibarət qurudulmuş leptospir kulturalarından istifadə edilir.

Rikketsiozların mikrobioloji diaqnostikası. Rikketsiyalar sırf hüceyrədaxili parazitdirlər. Morfoloji xüsusiyyətlərinə görə bakteriyalara bənzəyirlər, yəni onlar da kok şəkilli, cüt dənəli, çox dənəli olurlar. Fizioloji xüsusiyyətlərinə görə isə virusları xatırladırlar, yəni süni qidalı mühitlərdə çoxalmırlar, yalnız toyuq embrionunun sarılıq kisəsində və toxuma kulturasında asanlıqla inkişaf edirlər.

Rikketsiyalar 1909-cu ildə Amerika alimi Rikkets tərəfindən ləkəli qızdırmaya tutulmuş şəxsin qanından alınmışdır. Quruluşuna görə Zdradovski onları aşağıdakılara bölmüşdür: kokabənzəri (tək dənəli), qısa çöpvari, uzun şöpvari, sapvari.

Rikketsiyaların 4 cinsi məlumdur: Rickettsia, Orientia, Ehrlichia, Coxiella.

Rikketsiyaların törətdiyi xəstəliklər rikketsioz adlanır. Bunlardan ən geniş yayılanı səpgili yatalaq və Ku qızdırmasıdır.

Səpgili yatalağın mikrobioloji diaqnostikası. Epidemiologiyasına görə səpgili yatalaq xəstəliyi epidemik (yəni bitlə yayılan) və endemik (gənə ilə yayılan) olur. Bunların ayrı-ayrı törədiciləri mövcuddur: epidemik səpgili yatalağın törədicisi – Rickettsia prowazekii, endemik səpgili yatalağın törədicisi – R. typhi adlanır.

Epidemik səpgili yatalağı R. Prowazekii törədir. Bunlar Qram mənfi sporsuz, hərəkətsiz, qantel şəkillidir. Süni qidalı mühitlərdə çoxalmır, tərkibində toxuma yerləşdirilmiş Tirode mühitində, toyuq embrionunun sarılıq kisəsində, laboratoriya heyvanlarının orqanizmində, paltar bitlərində becərilir.

Rikketsiyaların təmiz kulturası xüsusi laboratoriyalarda əldə edilir. Bunun üçün qızdırmalı dövrə xəstənin venasından qan götürüb laxtalandırılır və həmin laxtanın suspenziyası ilə erkək dəniz donuzları qarın boşluğundan yoluxdurulur, endemik səpgili yatalaq zamanı heyvanda periorxit əmələ gəlir. Epidemik səpgili yatalaq olduqda isə əvvəlcə xəstə qanı ilə paltar bitləri yoluxdurulur, eləcə də toyuq embrionunun sarılıq kisəsinə yeridilir. Sonra rikketsiyaları aşkar etmək üçün preparatlar hazırlayıb Zdradovski üsulu ilə rənglənilir. Yoluxmuş hüceyrənin nüvə və sitoplazmasında rikketsiyanın müxtəlif morfoloji tipləri aşkar olunur.

Adi şəraitli laboratoriyalarda seroloji diaqnostika aparılır. Bunun üçün aqlütinasiya, PHAR, KBR qoyulur. Bütün rikketsiozlar zamanı aqlütinasiya reaksiyası (Veyl-Feliks) spesifikliyi ilə fərqlənir və demək olar ki, xəstələrdə bu reaksiya 100% müsbət nəticə verir. Bunun üçün xəstəliyin ilk günlərində venadan və ya 4-7-ci gün barmaqdan qan götürüb zərdabı ayrılır, sonra 1:20 nisbətindən başlayaraq iki qat durulaşma aparılır. 1:160 nisbətində hemolizin getməməsi retrospektiv diaqnozu, yəni şəxsin xəstə olduğunu təsdiq edir.

Seroloji diaqnostikada passiv hemaqqlütinasiya reaksiyası da qoyulur. Xəstəliyin 4-5-ci günlərində xəstədən qan götürüb, zərdabı ayrılır, 1:250 nisbətindən başlayaraq 1:64000 nisbətində durulaşdırılır. Antigen kimi toyuq embrionunun sarılıq kisəsində becərilmiş və vaakumda qurudulmuş rikketsiyalardan istifadə edilir. Reaksiya qoyulan gün antigen qoyun eritrositlərinə adsorbsiya etdirilir. 1:250 nisbətində durulaşdırılmış zərdabla reaksiya müsbət nəticə verdikdə şəxs xəstə sayılır. Kontrollarda hemaqqlütinasiya getmişsə, reaksiya düzgün sayılmır. Son zamanlar dolayı İFR –dən də istifadə olunur.

Səpgili yatalağın bir növü də endemik səpgili yatalaqlar, bunu R. typhi törədir. Yuxarıda dediyimiz kimi, bu iki xəstəlik həm bioloji üsulla fərqlənir, həm də seroloji. Seroloji üsulda Provaçek rikketsiyaları kimi, Muzer rikketsiyalarından da istifadə olunur, endemik səpgili yatalaqda Muzer rikketsiyaları ilə diaqnostik titr 3-4 dəfə artıq olur (1:1280 nisbətində). Hər sınaq şüşəsində 0,2 ml həcmdə zərdab olur və üzərinə də 0,2ml diaqnostikum əlavə edilir, (dəməli, reaksiya 0,4 ml həcmdə aparılır), 18-20 saat termostatda saxlandıqdan sonra nəticəyə baxılır. Reaksiya müsbət olduqda sınaq şüşəsinin dibində xırda dənəli çöküntü olur, mühit isə tam şəffaf qalır (++++), natamam şəffaf olduqda (+++), (++) və s. hesab olunur. 1:40, 1:80 nisbətlərində (++)-dən yuxarı çöküntü olduqda şəxs xəstə sayılır (diaqnostikum kimi Proteus OX₁₉ ştammindən istifadə edilir).

Rikketsiyaların patogenliyi, əsasən piliqlərlə əlaqədardır, çünki onlar adheziyada mühüm rol oynayır. Sonra isə endotoksin fəaliyyətə başlayır.

Bəzən səpgili yataqdan sağalma zamanı rikketsiyalar L-formaya keçərək, heç bir patoloji proses əmələ gətirmədən uzun müddət limfa düyünlərində qalır (persistensiya edir) və uzun illərdən sonra xəstəlik yenidən residiv verir – bu Brill-Zinsser xəstəliyi adlanır.

Brill xəstəliyi insanlarda səpgili yatağın residivi hesab olunduğundan onu da diferensasiya etmək üçün seroloji üsuldan istifadə edilir. Belə ki, Brill - Zinsser xəstəliyində Veyl-Feliks reaksiyası, yəni yuxarıdakı aqqlütinasiya reaksiyası mənfi olur. Komplementin birləşmə reaksiyası isə həm xəstəliyin aktiv formasında, həm də əvvəlcə xəstəlik keçirmişlərdə, eləcə də Brill xəstəliyində düzgün diaqnoz qoymağa imkan verir. Xəstəliyin 5-7 –ci günü qan götürüb zərdabı ayrılır, 1:10-dan 1:2560 nisbətində durulaşdırılır. Antigen sifətilə yaxşıca təmizlənmiş və vaakumda qurudulmuş rikketsiya kütləsi, yəni korpuskulyar antigen götürülür. Reaksiya ümumi qəbul edilmiş qayda üzrə aparılır.

Ku qızdırmasının mikrobioloji diaqnostikası. Bu xəstəliyin adı Quari – “aydın olmayan” sözünün ilk hərflərindən götürülmüşdür. Törədici Coxiella burneti-dir. Bunlar kiçik, polimorf, hərəkətsiz, sporasız, kapsulsuz, Qram mənfi mikroblardır. Toyuq embrionunun sarılıq kisəsində çoxalır.

Xəstəliyin pnevmoniya, qrippoz, meninqoensefalit formaları olur, bu da yoluxma yolundan asılıdır. Xəstəliyə diaqnoz qoymaq üçün seroloji, bioloji və allergik üsullardan istifadə edilir.

Xəstəliyin 1-ci həftəsinin sonundan etibarən komplement birləşdirici anticisimlər aşkar edilir, lakin 3-cü həftədə bunların konsentrasiyası daha çox olur. Ona görə də mühüm diaqnostik əhəmiyyət kəsb edir. Reaksiyanın gedişi səpgili yataqda olduğu kimidir.

Xəstəliyin 2-ci həftəsində, xüsusən 10-12-ci günlərində aqqlütinasiya reaksiyası qoyulur. Xəstədən qan götürüb, zərdabı ayrılır və fizioloji məhlulla 1:4 nisbətindən 1:64 nisbətində durulaşdırılır. Hər sınaq şüşəsinə 0,25 ml həcmində tökülür və hərəsinə də 0,25 antigen əlavə olunur, 18-20 saat termostata saxlandıqdan sonra nəticə qeyd olunur. Əgər 1:4 nisbətində çöküntü varsa reaksiya müsbət hesab olunur. Son zamanlar İFA-dan da istifadə olunur.

Bəzən Ku qızdırmasının diaqnozunda dəri-allergik üsuldan da istifadə edilir, belə ki, dəri içində 0,1ml allergen yeridilir. 2 gündən sonra iynənin yerində əmələ gələn qızartı və infiltratın diametri 2 sm olarsa, şəxs xəstə sayılır.

Xəstəliyin törədicisini təmiz halda əldə etmək üçün dəniz donuzları yoluxdurulur. Qızdırmalı dövrdə xəstədən 3-5 ml qan götürüb dəniz donuzlarının qarın boşluğuna yeridilir. Yoluxmuş heyvanın patoloji materialı ilə də Koks üsulu ilə toyuq embrionu yoluxdurulur. Bu zaman rikketsiyalar gözə görünən hala keçir və Gimza üsulu ilə də, eləcə də Zdradovski üsulu ilə rəngləndikdə aşkara çıxarılır.

