



AZƏRBAYCAN TİBB UNIVERSİTETİ
TİBBİ MİKROBİOLOGİYA və İMMUNOLOGİYA KAFEDRASI

Məşğələ 13.

**Virus, rikketsiya və xlamidiyaların kultivasiyası. Virusların
indikasiya və identifikasiya üsulları. Faqlar, alınması,
titrlənməsi, tətbiqi**

FAKÜLTƏ: *Müalicə-profilaktika*
FƏNN: *Tibbi-mikrobiologiya - 1*

Müzakirə olunan suallar:

- Virus, rikketsiya və xlamidiyalar - obliqat hüceyrədaxili parazitlər kimi.
- Virusların çoxalması. RNT və DNT tərkibli virusların reproduksiya xüsusiyyətləri.
- Rikketsiya və xlamidiyaların çoxalması.
- Virus, rikketsiya və xlamidiyaların kultivasiyası: həssas heyvanlar, toyuq embrionu, hüceyrə kulturaları (birqatlı, suspenziyalaşdırılmış, orqan kulturaları).
- Birqatlı hüceyrə kulturasının hazırlanma texnikası və tipləri (ilkin, köçürülən, yarımköçürülən).
- Obliqat hüceyrədaxili mikroorqanizmləri əldə etmək üçün həssas heyvan orqanizminə (qarın boşluğuna, venadaxili, əzələdaxili, intranazal, beyinə və s.) yoluxdurulma üsulları.
- Obliqat hüceyrədaxili mikroorqanizmləri əldə etmək üçün toyuq embrionuna (sarılıq kisəsinə, amnion və allantois boşluğuna, xorionallatois qışasına) yoluxdurulma üsulları.
- Obliqat hüceyrədaxili mikroorqanizmləri əldə etmək üçün toxuma kulturasına yoluxdurulma
- Yoluxdurulmuş test sistemlərdə və ya patoloji materiallarda obliqat hüceyrədaxili mikroorqanizmlərin aşkar edilməsi: indikasiya (SPT-sitopatik təsir, hemaqqlütinasiya, hemadsorbsiya, hüceyrədaxili əlavələr, rəng sınağı, piləkciklərin əmələ gəlməsi və s.) və identifikasiya (HALR-hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası, KBR-komplementin birləşmə reaksiyası və s).
- Faqlar, onların quruluşu, növləri və xassələri, molekulyar genetikada rolu.
- Faqların bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı münasibətləri və onun tipləri: virulentli və mülayim faqlar.
- Lizogen bakteriyalar və onların aşkar edilməsi.
- Faqların müxtəlif obyektlərdən alınması və titrlənmə üsulları (Appelman və Qrasiya üsulları).
- Faqların tətbiqi:
 - faqodiyagnostika: faq titrinin artması reaksiyası, patoloji materialda faqın aşkar edilməsi, faqotipləndirmə
 - faqoterapiya
 - faqoprofilaktika

Məşğələnin məqsədi:

- Tələbələri obliqat hüceyrədaxili parazit mikroorqanizmlər - virus, rikketsiya və xlamidiyaların çoxalması ilə tanış etmək, onlara virusların kultivasiyası üçün toxuma kulturası, toyuq embrionu və həssas heyvanların seçilməsi, hazırlanması, yoluxdurulma üsulları və yoluxdurulmuş test sistemlərdə onların indikasiya və identifikasiya üsulları haqqında məlumat vermək. Faqlar, onların quruluşu, növləri və xassələri, molekulyar genetikada rolu, faqların alınması, titrlənmə üsulları və tətbiqi (faqoterapiya və faqoprofilaktika) haqqında tələbələri məlumatlandırmaq.

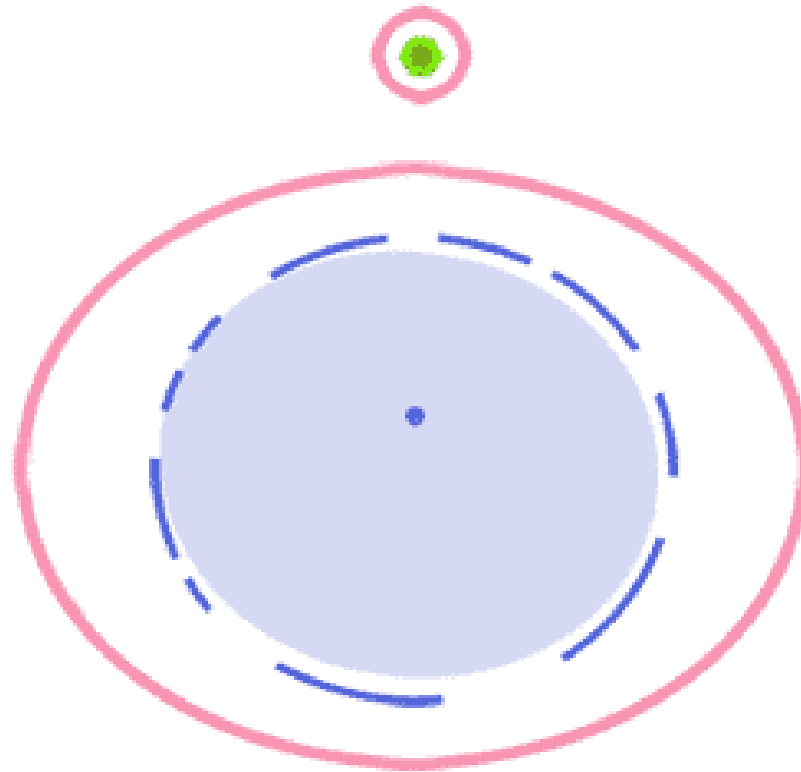
Virus, rikketsiya və xlamidiyalar - obliqat hüceyrədaxili parazitlər kimi

- Virus, rikketsiya və xlamidiyalar obliqat hüceyrədaxili parazitlər olduqları üçün ancaq sahib hüceyrələrin daxilində çoxalır və süni qidalı mühitlərdə kultivasiya olunmur
- **Rikketsiyaların çoxalması** sahib hüceyrələrin daxilində (nüvədə və ya sitoplazmada) digər bakteriyalar kimi sadə bölünmə yolu ilə gedir.
- **Xlamidiyaların çoxalması** sahib hüceyrələrin daxilində mürəkkəb inkişaf sikli ilə baş verir
- **Virusların çoxalması** sahib hüceyrələrin daxilində xüsusi üsulla - reproduksiya ilə gedir.

Virusların çoxalması - reproduksiya

- Virus orqanizmə daxil olduqdan sonra heç də bütün hüceyrələrdə çoxala bilmir, yəni hər bir virus növü üçün həssas olan hüceyrələr vardır.
- Virusların həssas hüceyrələrlə qarşılıqlı təsiri bir neçə mərhələdə gedir.

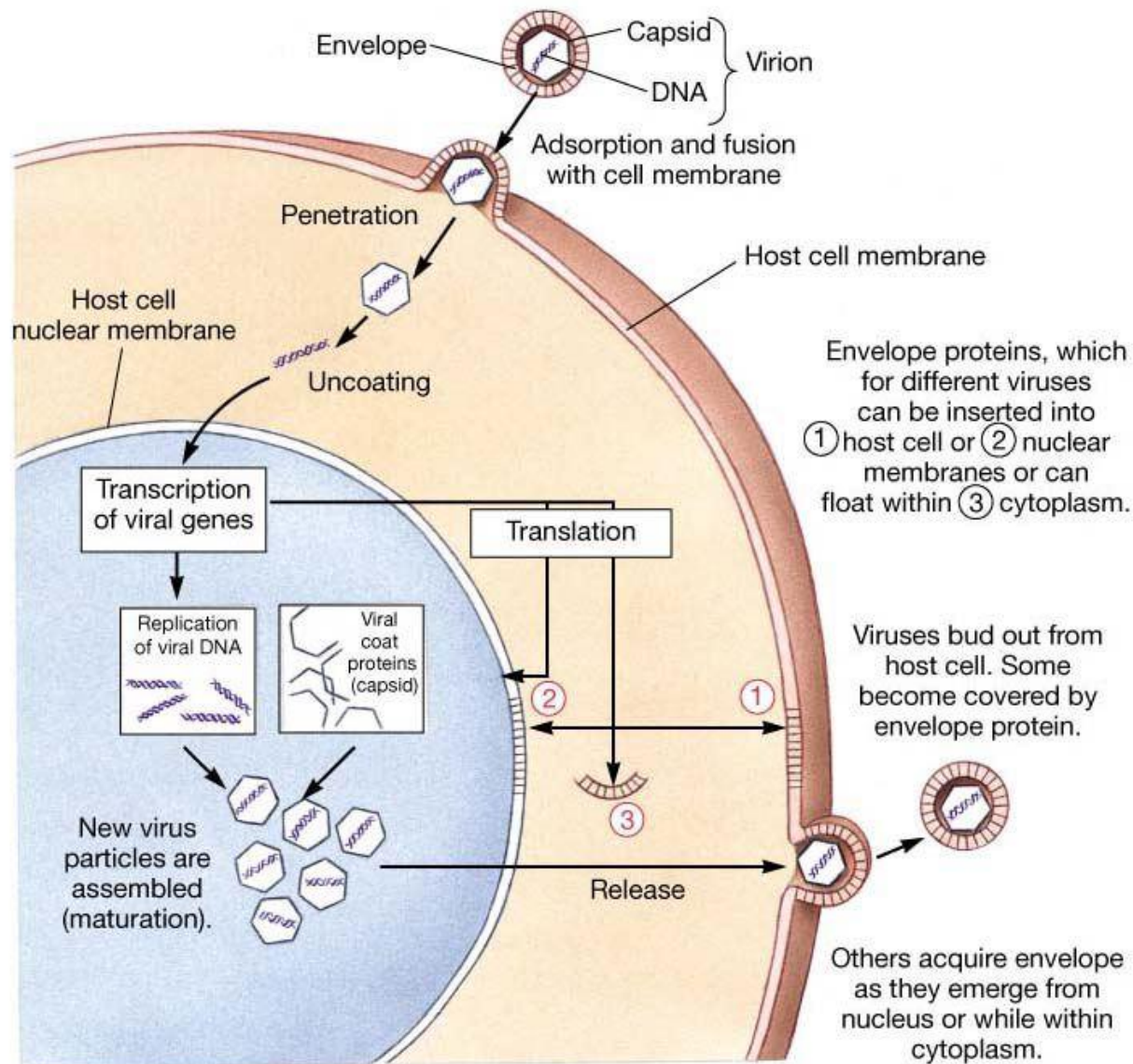
Virusların çoxalması - reproduksiya



Reproduksiyanın mərhələləri

- Virionun adsorbsiyası
- Virionun sahib hüceyrəyə daxil olması (*endositoz – viropeksis, hüceyrə qışasının virus qışası ilə birləşməsi*)
- Virionun «soyunması», dezinteqrasiyası, yaxud deproteinasiya
- Virus nuklein turşularının replikasiyası və virus zülallarının sintezi
- Virionun formalaşması
- Virusların hüceyrədən xaric olması (*sahib hüceyrənin parçalanması, «tumurcuqlanma»*)

Virusların reproduksiya



DNT və RNT tərkibli viruslarda reproduksiyanın xüsusiyyətləri:

- **DNT tərkibli viruslarda:**

virus DNT → mRNT → virus zülallarının sintezi

- **Müsbət saplı RNT tərkibli viruslarda:**

virus RNT → virus zülallarının sintezi

- **Mənfi saplı RNT tərkibli viruslarda:**

virus RNT → mRNT → virus zülallarının sintezi

- **Retroviruslarda:**

virus RNT → komplementar DNT → mRNT →
virus zülallarının sintezi

Virusların sahib hüceyrə ilə qarşılıqlı təsirinin tipləri:

- **Produktiv infeksiya** - reproduksiya
- **Abortiv infeksiya** – natamam reproduksiya
- **İnteqrativ infeksiya** – inteqrasiya (virogeniya)

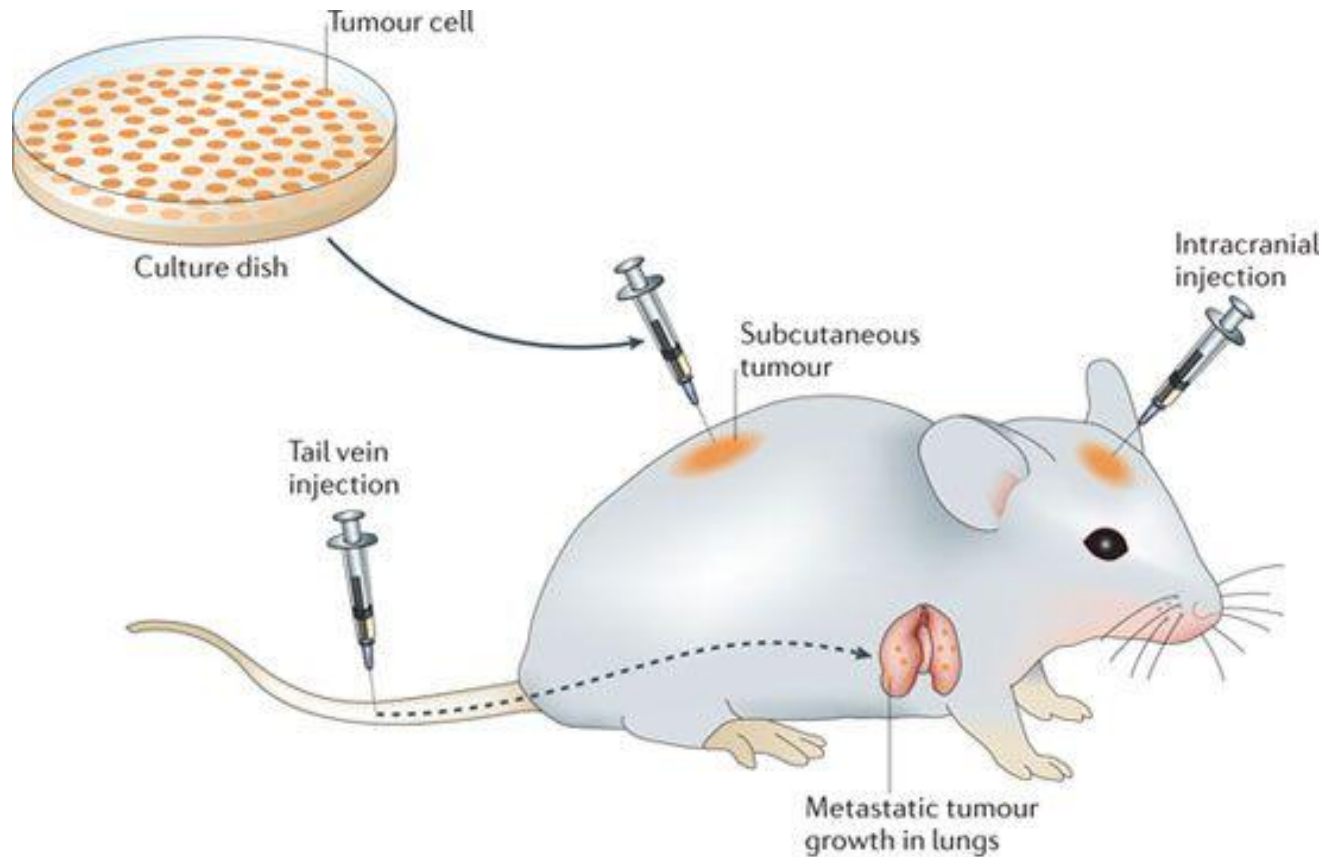
Virusların kultivasiyasının əsas prinsipləri:

- **Laborator heyvanların orqanizmində**
- **Toyuq embrionlarında**
- **Hüceyrə (toxuma) kulturalarında**

Laborator heyvanların orqanizmində virusların kultivasiyası

- Virusoloji tədqiqatlarda əsasən yenidəyişmiş ***laborator heyvanlardan*** (ağ siçanlar, siçovullar, ada dovşanları, meymunlar, dağ siçanları və s.) istifadə edilir.
- Laborator heyvanların müxtəlif üsullarla yoluxdurulması (dərialtı, əzələdaxili, damardaxili, intranazal, qarındaxili və s.) onların virus tropizmi nəzərə alınmaqla aparılır.
- Hazırda virusların indikasiyası üçün bu modelin tətbiqi heyvanların bir çox insan viruslarına yoluxmaması, onların yad mikroblarla kontaminasiyası, iqtisadi və etik səbəblərdən məhdudlaşdırılıb.

Laborator heyvanların orqanizmində virusların kultivasiyası



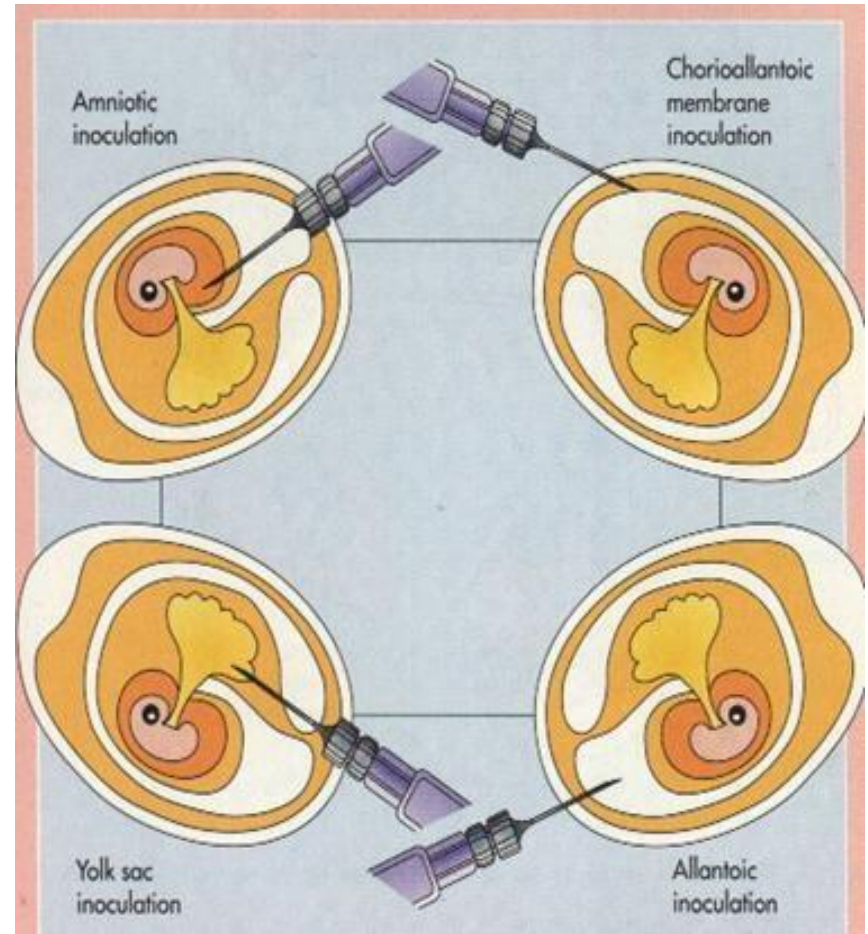
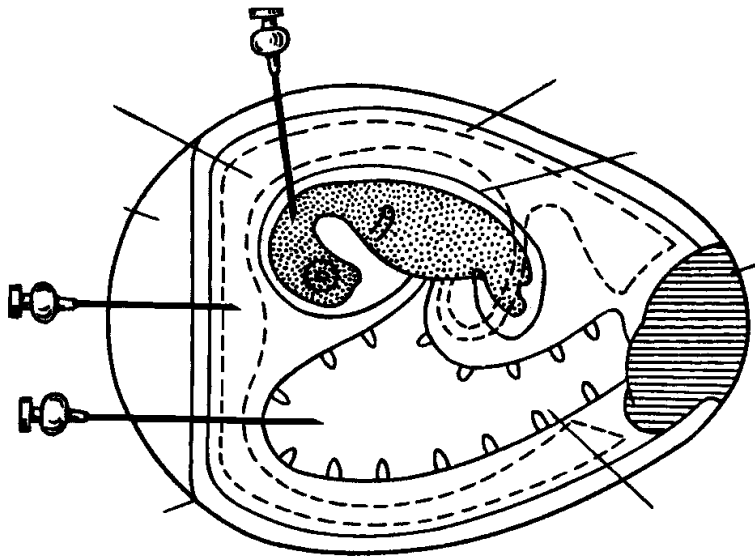
Toyuq embrionlarında virusların kultivasiyası

- Virusların kultivasiyası üçün əlverişli model olan ***toyuq embrionları*** çoxlu miqdarda virusların əldə edilə bilməsi, obyektin steril olması, sadə iş texnikası və s. ilə fərqlənir.
- Bu məqsədlə quşçuluq təsərrüfatlarında və ya adi termostatda yetişdirilən 6-12 günlük toyuq embrionları istifadə edilir.
- Lakin toyuq embrionları latent virus və bakteriyal infeksiyalarla kontaminasiya oluna bilər.

Toyuq embrionlarının yoluxdurulması

- Soyuducuda 10 gündən artıq olmayaraq saxlanılan iri, təmiz (yuyulmamış), mayalanmış ağ toyuq yumurtaları seçilir. Yoluxdurmadan öncə ovoskopla embrionun canlı olması müəyyən edilir. Canlı embrionlar hərəkətlidir, ürəyin döyünməsi görünür.
- Yoluxdurmadan öncə yumurtanın qabığı 70% etil spirti ilə silinir, alovdan keçirilir, yod məhlulu ilə silinir, sonra təkrar spirtlə silinib, alovdan keçirilir.
- Öyrənilən virusun bioloji xüsusiyyətlərindən asılı olaraq müayinə olunan material xorion-allantois qişasına, allantois və amnion boşluqlarına və ya sarılıq kisəsinə yeridilə bilər.

Toyuq embrionlarının yoluxdurulması texnikası:



Toyuq embrionlarının yoluxdurulması

- Allantois boşluğuna yoluxdurmaq üçün hava kamerası üzərində (onun sərhədləri əvvəlcədən qələmlə qeyd olunur) yumurta qabığında qayçı, və ya lansetlə kiçik dəlik açılır. Hava kamerasının sərhəddindən 2-3 mm aşağıdakı dərinliyə şpris vasitəsilə 0.1-0.2 ml virus tərkibli material yeridilir.
- Qabıqdakı dəlik əridilmiş parafinlə örtülür.
- Yoluxdurulmuş embrionların təşrihi inkubasiyadan 48-72 saat sonra virusun maksimal toplanması müddətində aparılır.

Yoluxdurulmuş embrionların təşrihi

- Spirt və 2%-li yod məhlulu ilə işləndikdən sonra hava kamerasının karandaşla qeyd olunmuş sərhəddindən bir qədər yuxarıda qabıq qayçı ilə kəsilir, bu zaman yumurta elə əyilir ki, qabığı boşluğa düşməsin.
- Yumurtanın qabığı atılır, ehtiyatla onun pərdəsi çıxarılır və zədə ocaqlarının (hemorragiyaların, ağımtıl ocaqların) olub-olmaması qeyd edilərək yoluxma yeri ətrafındakı xorion-allantois qışa gözdən keçirilir.

Yoluxdurulmuş toyuq embrionunda virusların indikasiya üsulları:

Yoluxdurulmuş toyuq embrionunda virusların inkişaf etməsi aşağıdakılara görə təyin edilir:

- Embrionun ölümü,
- Xorionallantois qişasında bəzi virusların əmələ gətirdiyi nekroz sahələri (ospinlər),
- Amnion və allantois mayeləri ilə hemaqqlütinasiya reaksiyası,

Xorion-allantois qışada baş verən dəyişikliklər

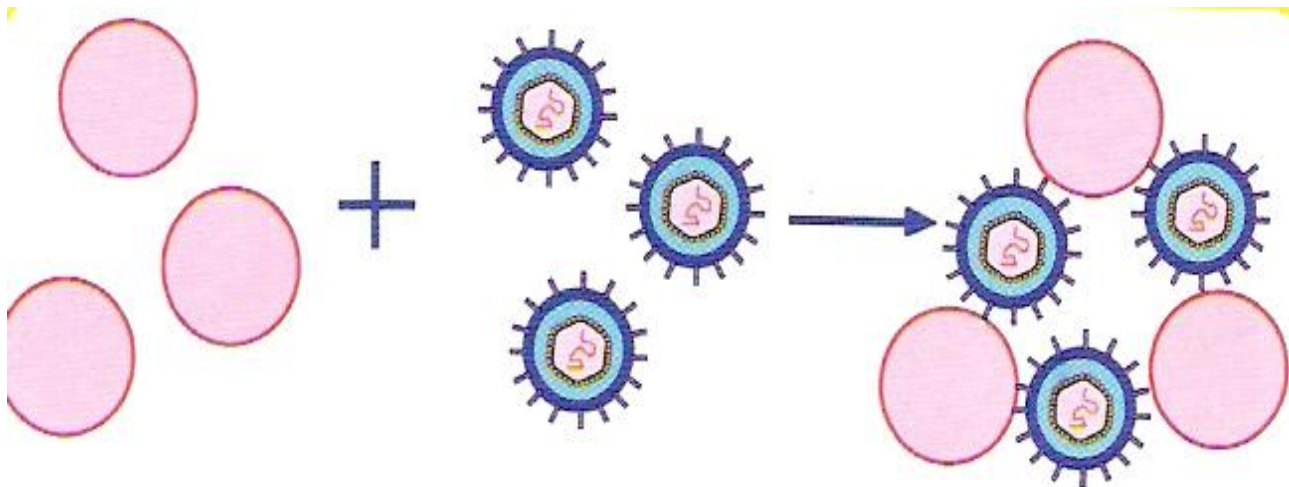
- Xorion-allantois qışada dəyişikliklərin öyrənilməsi zamanı o, qayçı ilə kəsilir və onun möhtəviyyatı Petri kasasına tökülür.
- Xorion-allantois qışa qabığının içində qalır. Onu pinset vasitəsilə çıxarır, fizioloji məhlul olan Petri kasasına yerləşdirilir, yuyulur və qaranlıq fonda ocaqlı zədələnmələrin xarakteri öyrənilir.

Allantois və amnion mayelərinin əldə edilməsi

- Paster pipeti ilə xorion-allantois qısa damarlar olmayan yerdən dəşilir və allantois mayesi sorulur, şəkərli və ya ət-pepton bulyonuna inokulyasiya yolu ilə sterilliyə nəzarət edilir, hemaqqlütinasiya reaksiyasında virusun olması yoxlanılır və -4°C temperaturda dondurulmuş vəziyyətdə saxlanılır.
- Amnion mayesini əldə etmək üçün allantois maye sorulur, sonra amnion qısa pinsetlə tutulur, yavaşca qaldırılır və paster pipeti ilə amnion mayesi sorulur.

Amnion və allantois mayeləri ilə hemaqqlütinasiya reaksiyası

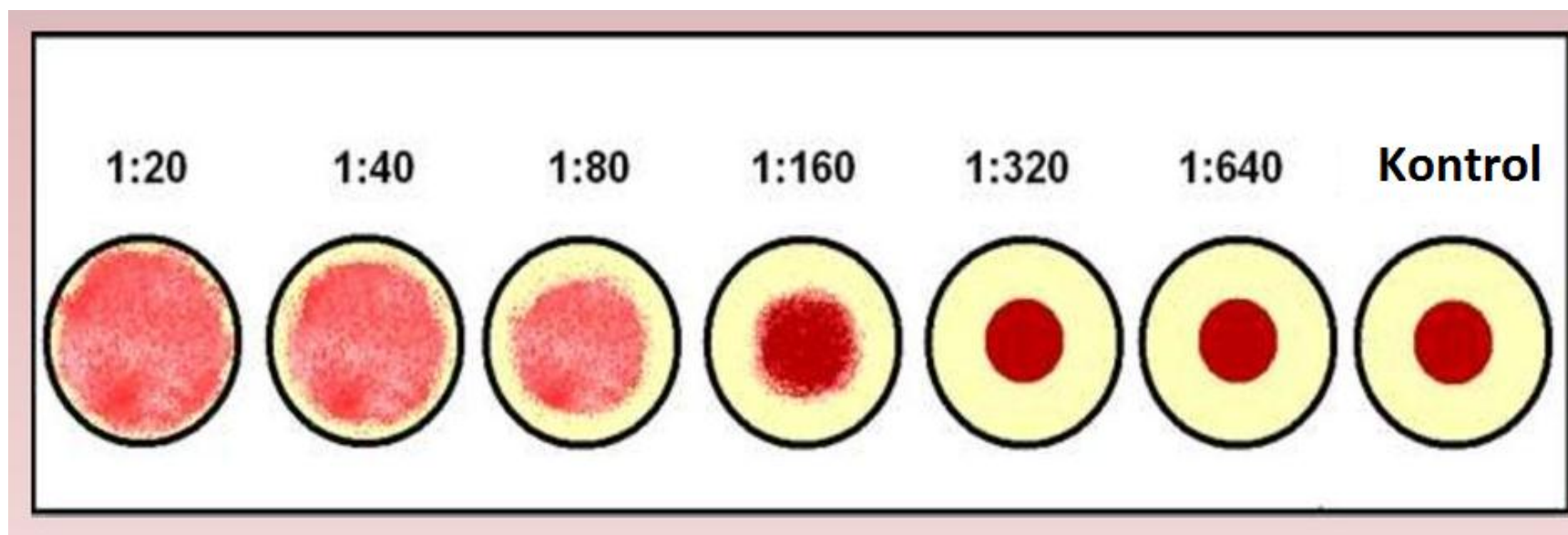
- Yoluxmuş embrionun allantois və amnion mayələrində virusun olması ***hemaqqlütinasiya reaksiyası*** vasitəsilə müəyyən edilir.
- Bu reaksiya bəzi virusların hemaqqlütinin adlandırılan antigenlərinin müxtəlif heyvanların eritrositlərini aqqlütinasiya etmək qabiliyyətinə əsaslanır və virusların indikasiyasında istifadə edilir.



Hemaqqlütinyasiya reaksiyasının texnikası

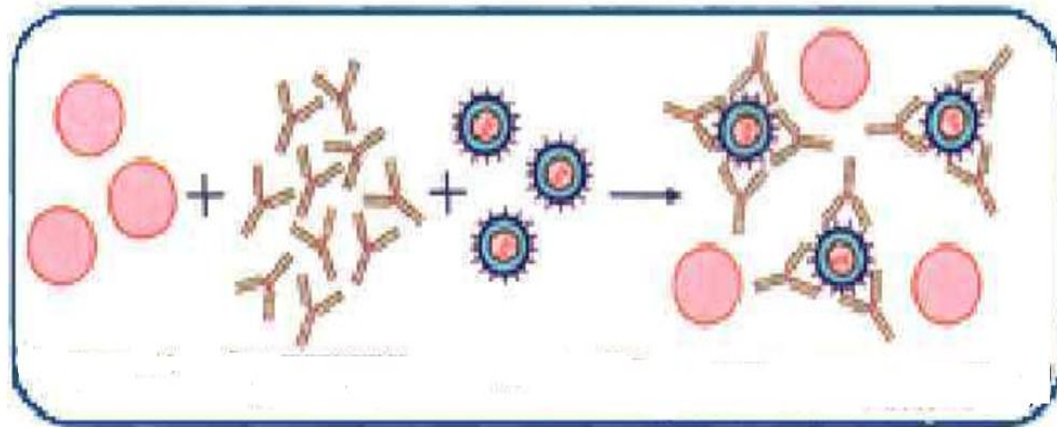
- Amnion və allantois mayesi sınaq şüşələrinə və ya pleksiqlas lövhələrin çuxurlarına 0.5 ml olmaqla tökülür (kontrol üçün yoluxmamış embrionun eyni mayesindən 0.5 ml götürülür).
- Sonra yuyulmuş toyuq eritrositlərinin 1%-li suspenziyasından 0,2 ml əlavə edilir və otaq temperaturunda saxlanılır.
- Reaksiyanın nəticələri eritrositlər çökdükdən 40 dəq sonra qeyd edilir; (++++) - kəskin hemaqqlütinasiya – sınaq şüşəsinin dibində yapışmış eritrositlərdən ibarət nazik pərdə;
- (+++) - pərdədə məsamələrin olması;
- (++) - yapışmış eritrositlərdən ibarət qırçınlı kənarları olan pərdənin olması;
- (+) - aqqlütinasiya olunmuş eritrositlərin topalarından ibarət zona ilə əhatə olunmuş eritrositlərin lopalar şəklində çöküntüsü; -- eritrositlərin kontroldan fərqlənməyən, kəskin çevrəyə alınmış çöküntüsü.
- Kontrol sınaq şüşələrdə olmadığı halda, təcrübə sınaq şüşələrində hemaqqlütinasiyanın olması tədqiq edilən mayədə virusun olduğunu göstərir.

Hemaqqlütinyasiya reaksiyasının texnikası

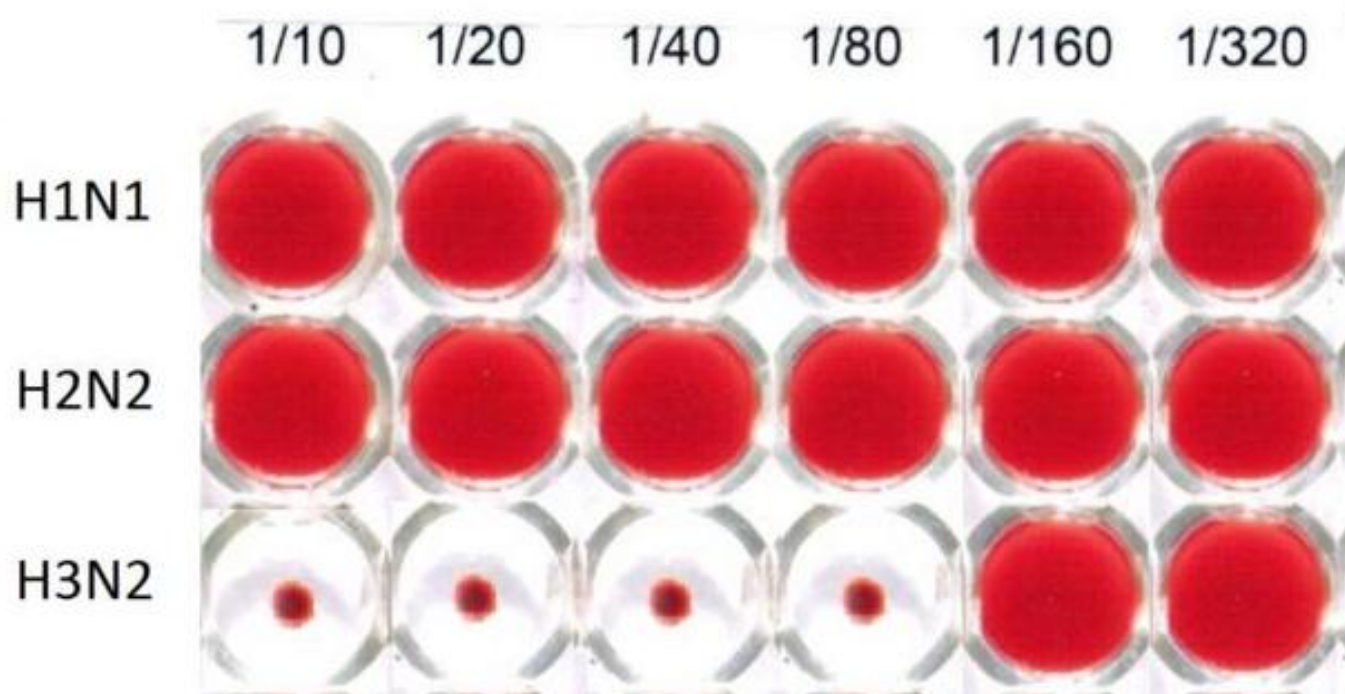


Hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası

- Bu reaksiyadan bəzi virusların (qrip, qızılca, gənə ensefaliti və s.) identifikasiyasında istifadə edilir.
- Müayinə edilən materialdakı virusların növünü təyin etmək üçün onun üzərinə tərkibində müəyyən viruslara qarşı anticisimlər olan zərdablar əlavə edilir.
- Materialda müvafiq virus olduğu təqdirdə anticisimlərinin təsirindən onlar eritrositləri aqqlütinasiya etdirmək qabiliyyətini itirir və reaksiyanın titri əhəmiyyətli dərəcədə azalır.



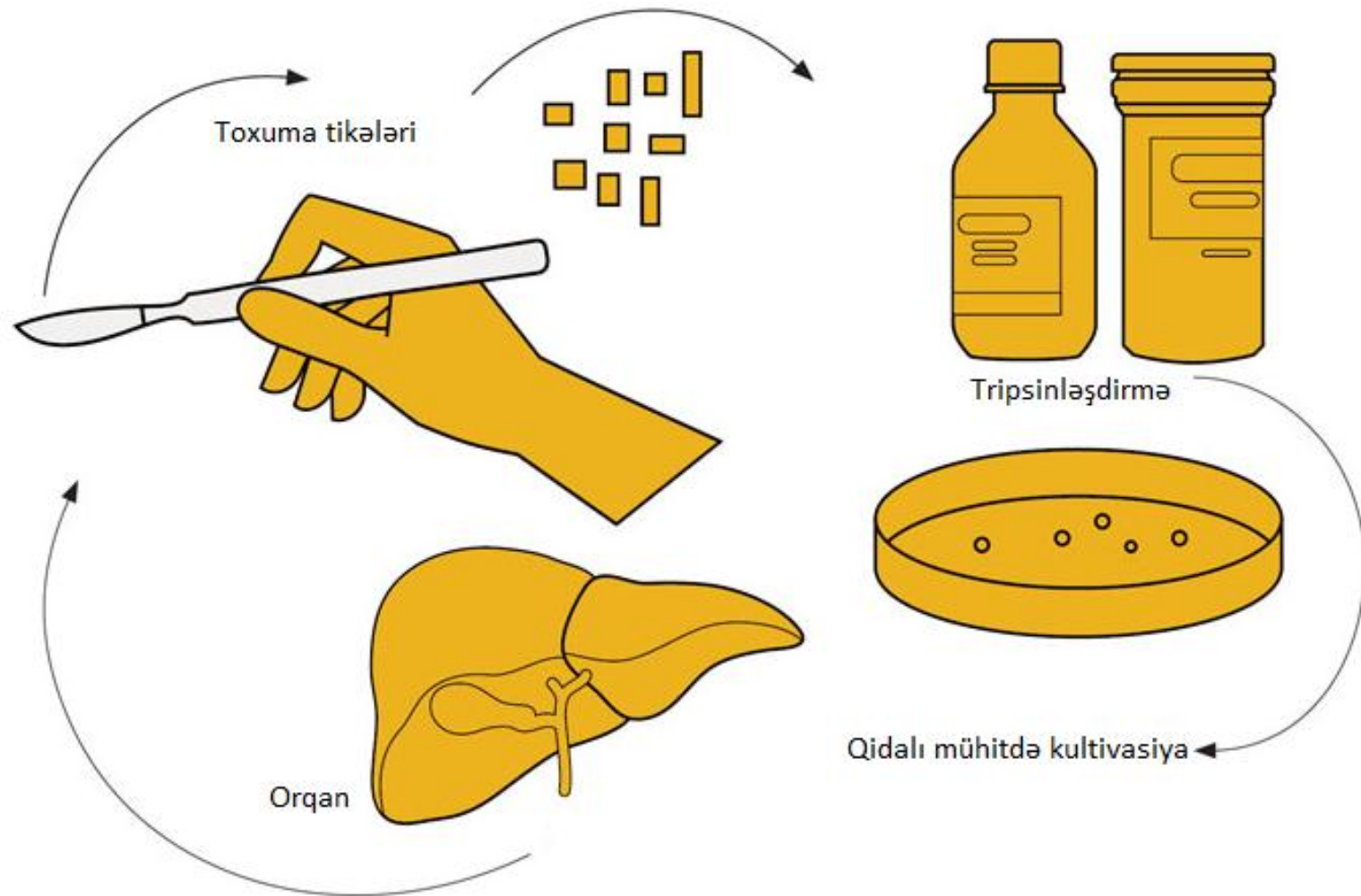
Hemaqqlütinyasiyanın ləngimə reaksiyasının texnikası



Hüceyrə (toxuma) kulturalarında virusların kultivasiyası

- Hüceyrə (toxuma) kulturası qidalı mühitlərdə həyat fəaliyyətlərini saxlayan və çoxalan orqan və ya toxumanın bir parçası və ya ayrı-ayrı hüceyrələrindən ibarətdir.
- Bu məqsədlə insan, heyvan, quş və digər bioloji obyektlərin müxtəlif orqan və toxumalarından alınan hüceyrələr xüsusi laboratoriya şəraitində süni qidalı mühitlərdə kultivasiya edilir.

İlkin kulturanın alınması texnikası:



Hüceyrə (toxuma) kulturalarında virusların kultivasiyası

- **Hüceyrə (toxuma) kulturaları:**

1. Birqatlı
2. Suspenziyalaşdırılmış
3. Orqan kulturaları

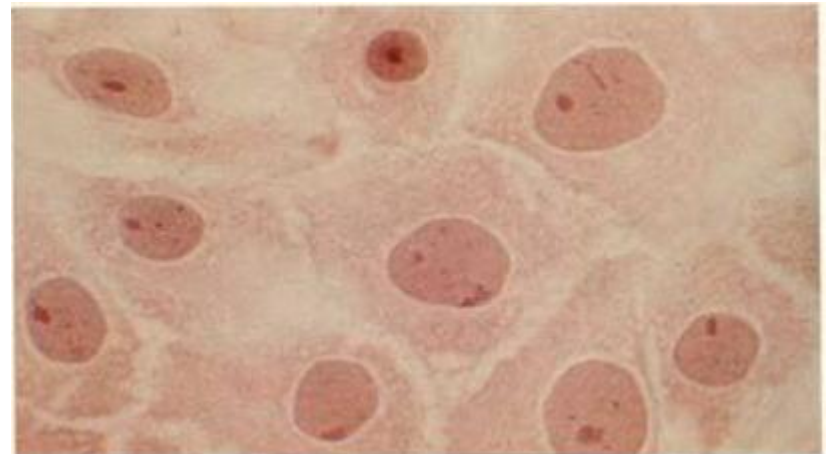
Birqatlı hüceyrə kulturasından daha çox istifadə edilir.

- **Birqatlı hüceyrə kulturaları:**

1. İlkin hüceyrə kulturaları
2. Köçürülə bilən, yaxud fasiləsiz hüceyrə kulturaları
3. Yarımköçürülən hüceyrə kulturaları

İlkin hüceyrə kulturaları

- *İlkin hüceyrə kulturaları* bilavasitə heyvan və ya insan toxumasından hüceyrəarası maddənin proteolitik fermentlərlə (tripsin, kollagenaza) parçalanması yolu ilə əldə edilir.
- Qidalı mühitdə dezaqreqasiya olunmuş hüceyrələr bir qat formalaşdıraraq kultural qabın səthinə yapışib çoxala bilir.
- Tripsin və ya versenin köməyi ilə hüceyrələri bir qabdan alaraq digərinə köçürmək mümkündür. İlkin kulturalar formalaşmış, yüksək differensiasiyalı hüceyrələrdən alındığına görə, onların bölünmə və çoxalma qabiliyyəti məhduddur, onları ancaq 5-10 dəfə passaj etmək (köçürmək) mümkündür.

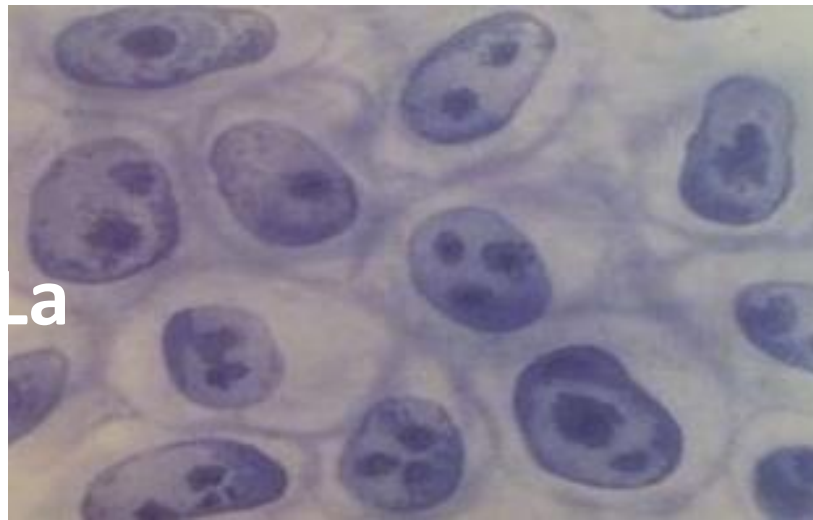


İlkin hüceyrə kulturaları

- İlkin hüceyrə kulturaları heyvan və insanın hər hansı bir embrion toxumasından hazırlanır, çünki embrion hüceyrələri daha yaxşı böyüyür və çoxalır.
- Çox hallarda hüceyrə kulturalarını bir neçə toxuma qarışığından, məsələn, dəri, sümük və əzələ toxumasından hazırlayırlar.
- Bu qayda ilə insan embrionunun fibroblastları (İEF) və toyuq fibroblastları (TF), insanın böyrək hüceyrələri (İBH) və s. əldə edilir. Hüceyrə kulturalarının alınması üçün insanın embrional toxuması (hamiləlik dayandırıldıqda), həmçinin 8-12 günlük toyuq embrionlarından istifadə edirlər.
- Hüceyrələrin kultivasiyası müxtəlif forma və ölçüdə olan şüşə və ya plastmas qablarda və bütün mərhələlərdə aseptika qaydalarına ciddi riayət edilməklə aparılır.

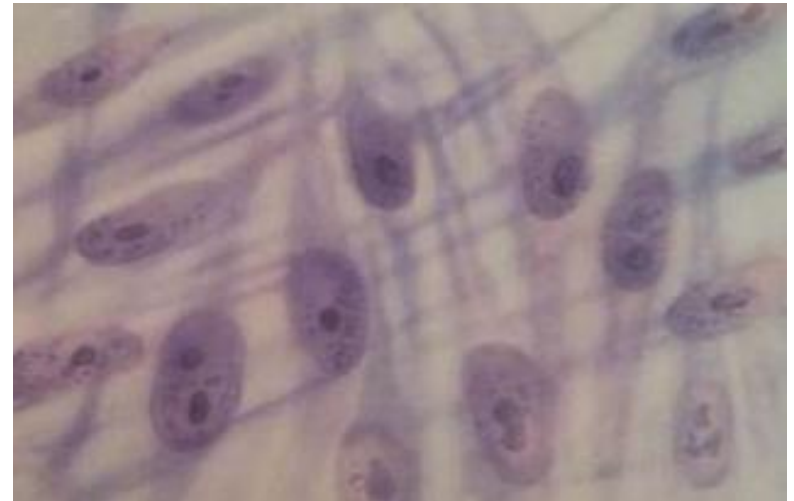
Köçürülən hüceyrə kulturaları

- Köçürülən (*fasiləsiz, sabit, daimi*) hüceyrə kulturaları qeyri-məhdud sayda passaj edilməyə tab gətirmək qabiliyyətindədir.
- Onlar differensiasiyanı itirmiş və artım məhdudiyyəti olmayan şiş hüceyrələrindən əldə edirlər.
- Köçürülən hüceyrə kulturaları insanın müxtəlif normal və şiş toxumalarından əldə edilmişdir: amnionun (A-0, A-1, FL), böyrəklərin (Rh, PPÇ), uşaqlıq boynunun karsinomasından (HeLa), qırtlaq xərçəngindən (Hep-2), ağciyər xərçəngi olan xəstənin sümük iliyindən (Detroit-6), insan embrionunun rabdomiosarkomasından (RD) və s.



Diploid (yarımköçürülən) hüceyrə xətti

- *Diploid (yarımköçürülən) hüceyrə xətti* – 75%-dən çox hüceyrəsi əsas növün normal hüceyrələrinin kariotipinə malik olan hüceyrə xəttidir.
- Onların bəziləri 50-80 və daha çox bölünmə ərzində diploid statusunu saxlaya bilir.
- Hüceyrələrin diploid kulturasını əldə etmək üçün insan və heyvanın embrional toxumasından alınmış fibroblast hüceyrələrdən istifadə edirlər.



Hüceyrə kulturaları üçün qidalı mühitlər

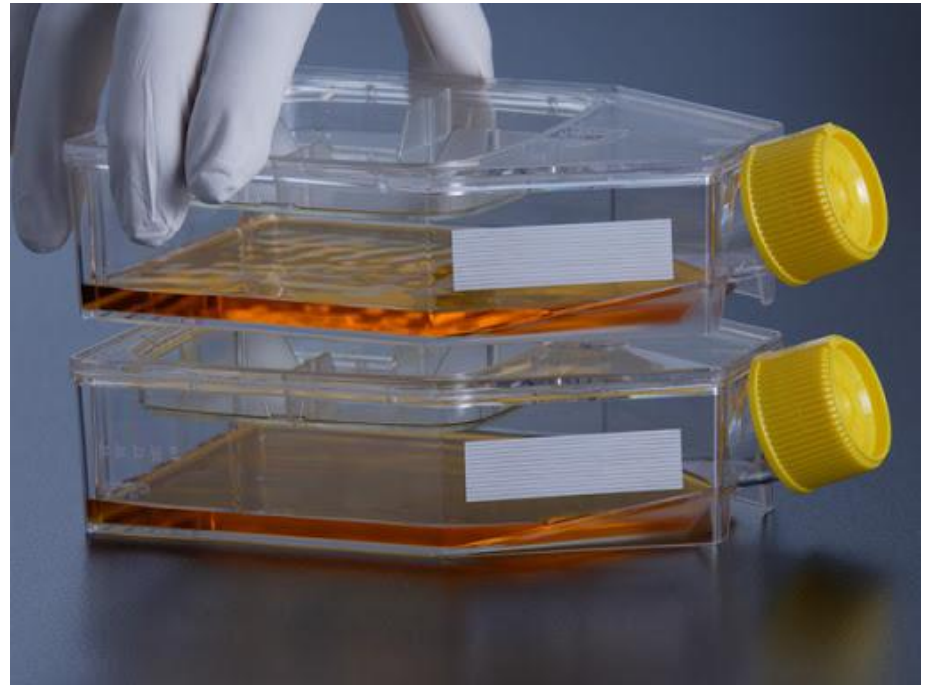
- Bu mühitlərin tərkibində amin turşuların, vitaminlərin, boy amillərinin tam dəsti mövcuddur.
- Quru mühitlər və ayrı-ayrı komponentlərlə yanaşı hazır maye mühitlər (199, İqla, laktalbumin hidrolizat, quru mühitlər və konsentratlar) da istehsal edilir.
- Kultural mühitlər inkişaf və konservasiya mühitlərinə ayrılır. Hüceyrə kulturalarının kultivasiyası üçün heyvan və insan zərdabı (məsələn, öküz zərdabı, fetal inək zərdabı və s.) ilə zənginləşdirilmiş *inkişaf mühitləri* tətbiq edilir. Qidalı mühitdə zərdabların miqdarı adətən 2-30% təşkil edir, hüceyrə kulturalarının xüsusiyyətlərindən və mühitin tərkibindən asılıdır.

Hüceyrə kulturaları üçün qidalı mühitlər

Mühitlərə fenol qırmızı indikator əlavə edir, turş mühidə o, narıncı-sarı, qələvi mühidə isə moruğu (tünd qırmızı) rəngdə olur.



Kultivasiya qabları



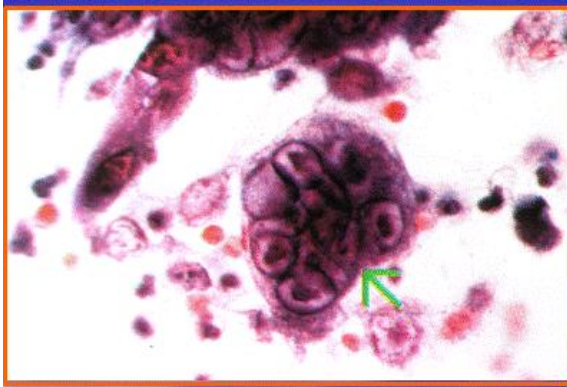
Kultivasiya qabları



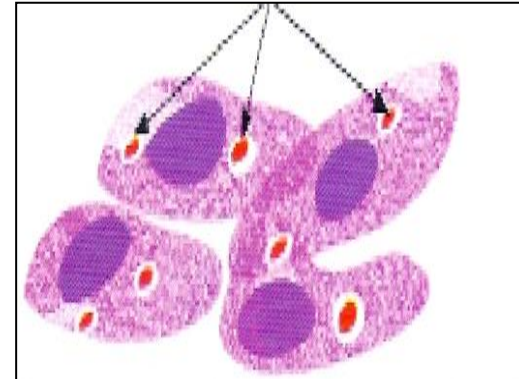
Hüceyrə kulturalarında virusların indikasiya üsulları:

- Hüceyrə kulturalarını viruslu materialla yoluxdurduqdan sonra virusların çoxalması heç də həmişə müşahidə edilmir.
- Hüceyrə kulturalarında virusların çoxalmasını aşkar etmək (indikasiya etmək) üçün orada baş verən *dəyişikliklər* nəzərə alınır.

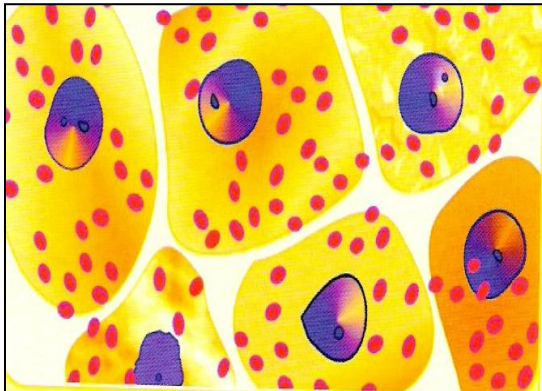
Hüceyrə kulturalarında virusların indikasiya üsulları:



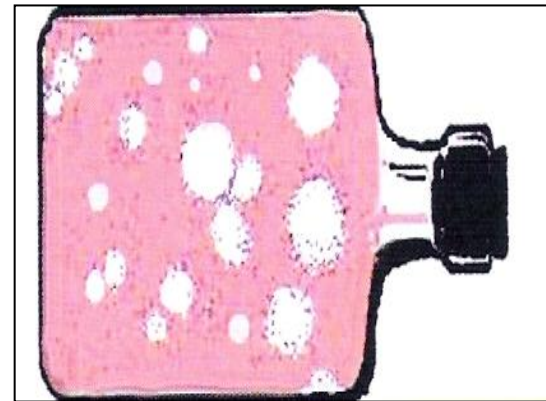
Sitopatik təsir (SPT)



hüceyrədaxili əlavələr (cisimciklər)



hemadsorbsiya fenomeni

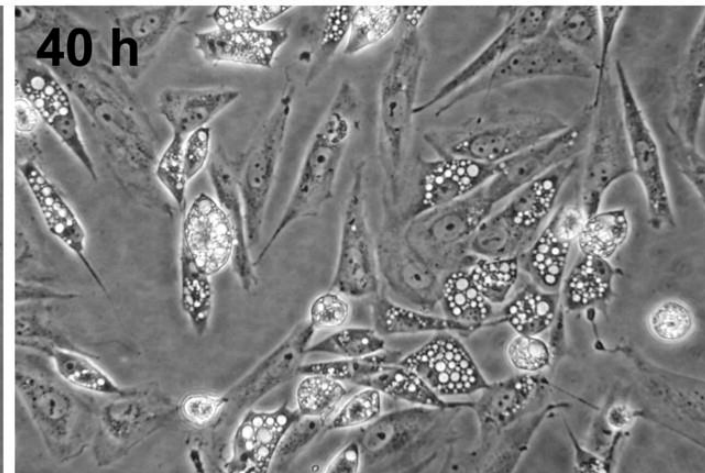
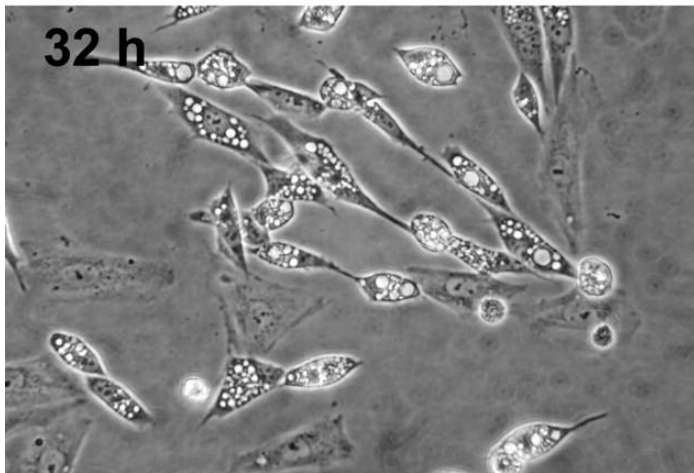
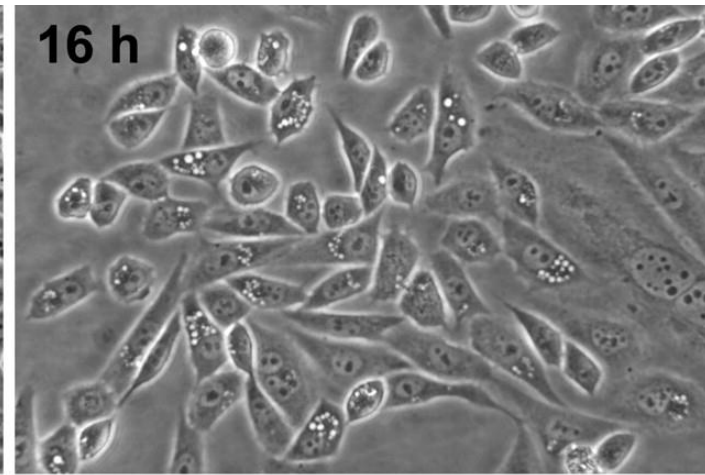
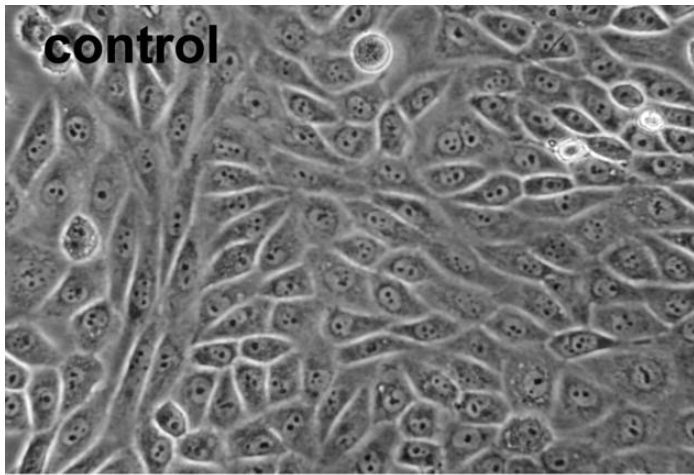


«neqativ koloniyalar»

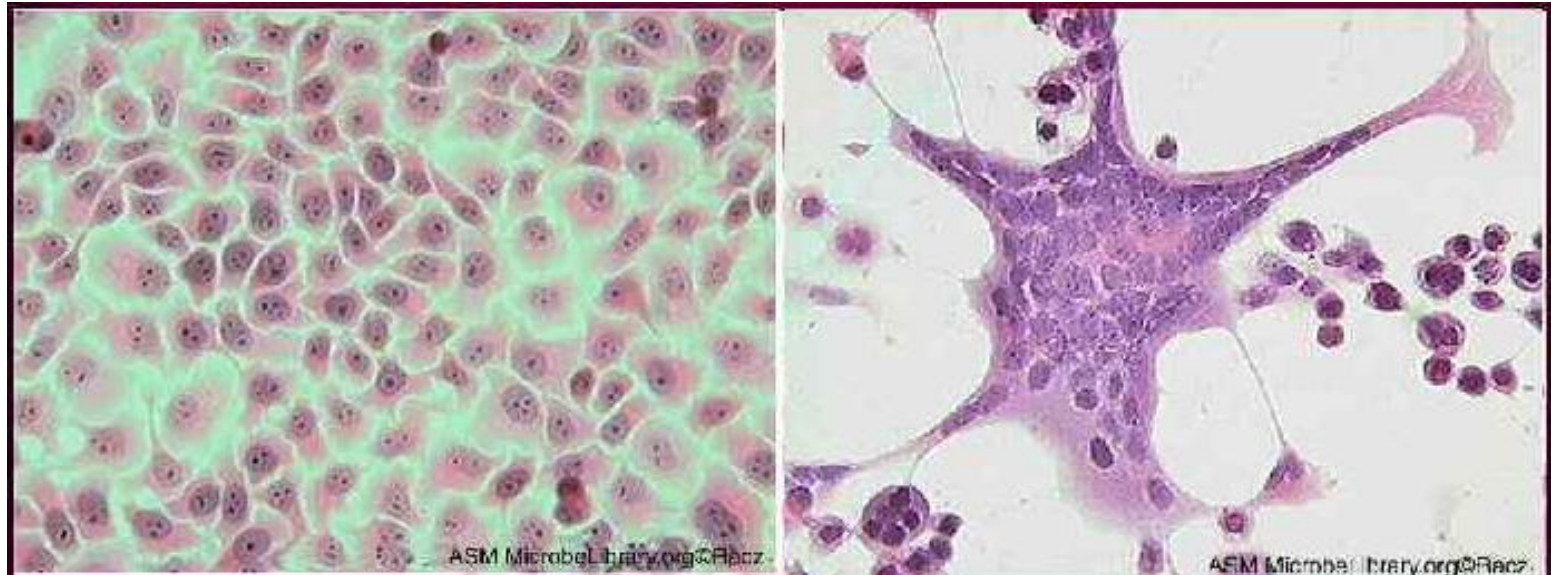
Sitopatik təsir (SPT)

- Hüceyrə kulturasında reproduksiya zamanı bəzi viruslar onların degenerasiyasına, yəni ***sitopatik təsirə (SPT)*** səbəb olur.
- SPT virusla yoluxmadan sonra toxuma kulturası müxtəlif vaxtlarda mikroskop altında öyrənilməklə, dinamikada qiymətləndirilir. SPT aşkar edilməsi virusların indikasiyası və identifikasiyası üsullarından biridir.
- Müxtəlif viruslar üçün müxtəlif SPT xasdır.

Sitopatik təsir

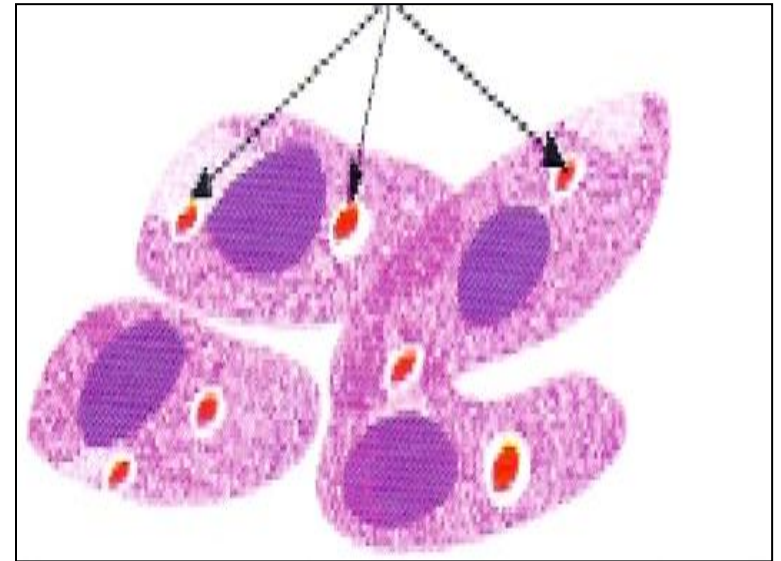


Sadə herpes virusunun SPT



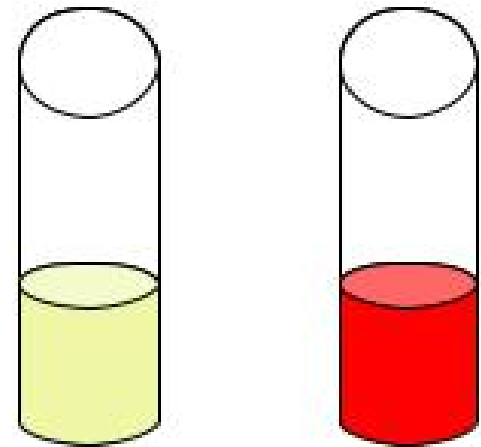
Hüceyrədaxili əlavələr (cisimciklər)

- Bəzi virusları yoluxmuş hüceyrələrin sitoplazması və nüvəsində əmələ gətirdikləri əlavələrə görə aşkar və identifikasiya etmək mümkündür.
- Əlavələrin forması müxtəlifdir, ölçüləri isə 0.25 mkm-dən 25 mkm-ə qədər dəyişir.
- Onlar virus hissəciklərinin toplaşma yerlərini ifadə edir, Gimza üsulu ilə və flüoroxromla boyanmış preparatlarda aşkar edilir.



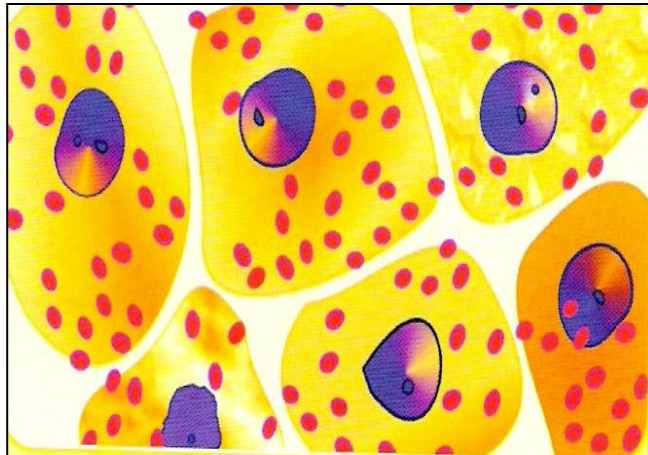
«Rəng sınağı»

- Hüceyrə kulturalarında virusların inkişafını «*rəng sınağı*» vasitəsilə indikasiya etmək olar. Bunun üçün indiqatorlu (məsələn, metil qırmızısı) qidalı mühitdə kultivasiya edilən hüceyrə kulturasından istifadə edilir.
- Virus inkişaf edərkən hüceyrələr məhv olur, ona görə də mühitin ilkin rəngi dəyişməz qalır.
- Virus inkişaf etmədiyi təqdirdə hüceyrələrin metabolitik məhsullarının təsiri nəticəsində mühitin rənginin dəyişməsi müşahidə olunur.



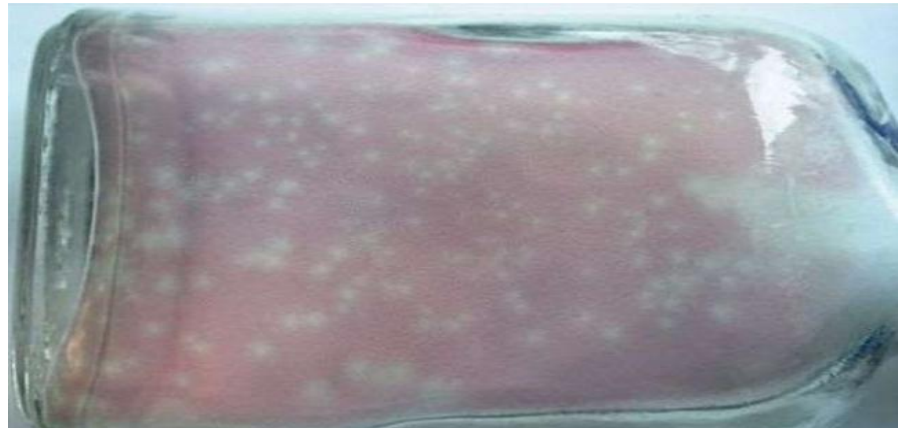
Hemadsorbsiya fenomeni

- Hüceyrə kulturlarında virusların indikasiyasının daha bir üsulu **hemadsorbsiya** fenomenidir. Bəzi virusların çoxaldığı hüceyrələr müəyyən eritrositləri öz səthlərinə yapışdırır. Buna səbəb həmin virusların (paramiksoviruslar, ortomiksoviruslar və s.) səthində hemaqqlütininlərin olmasıdır.
- Viruslar daxilində çoxaldığı hüceyrələrin səthinə çıxaraq eritrositlərlə birləşir, nəticədə hemadsorbsiya fenomeni baş verir. Beləliklə, bu fenomen hemaqqlütinasiya reaksiyasının bir variantıdır.



«Neqativ koloniyalar»

- Hüceyrə kulturalarında bəzi virusların inkişafı müvafiq nahiyyədə hüceyrələrin məhvi ilə nəticələnir ki, bu sahələri («**neqativ koloniyaları**») aşkar etməklə virusları indikasiya etmək mümkündür.
- Hüceyrə kulturasını yoluxdurduqdan sonra onun üzərinə aqar təbəqəsinin əlavə edilməsi virusların reproduksiya ocaqlarını məhdudlaşdırır.
- Nəticədə onların əmələ gətirdikləri nekroz ocaqları bir-birindən təcrid olunmuş şəkildə təzahür edir.

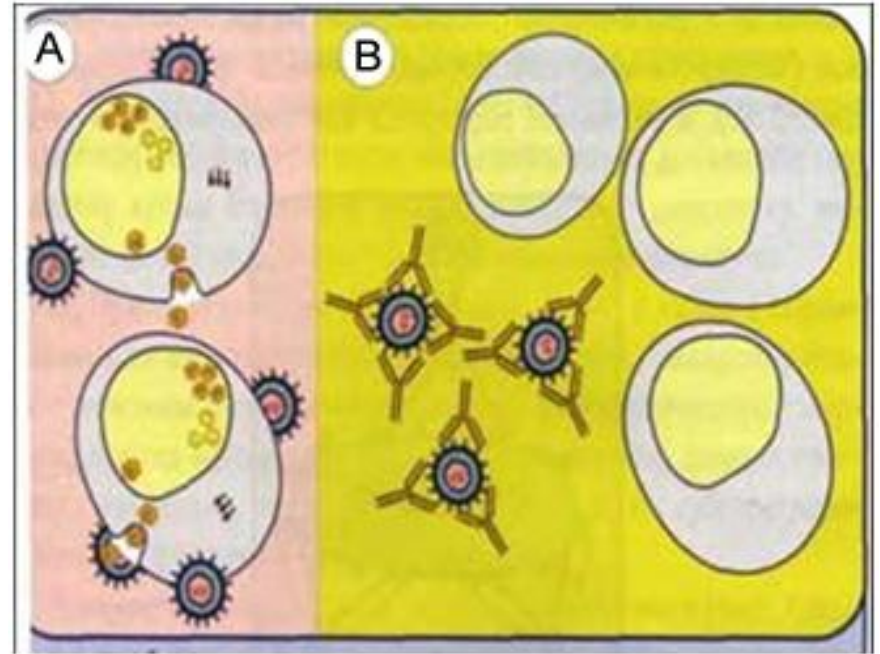


İnterferensiya fenomeni

- Bəzi hallarda, xüsusən kultivasiya edilərkən SPT törətməyən virusları indikasiya etmək üçün ***interferensiya fenomenindən*** istifadə edilir. Interferensiyanın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, bir növ virusla yoluxmuş hüceyrə digər viruslara qarşı rezistent olur.
- Məs., məxmərək virusu müxtəlif hüceyrə kulturalarında kultivasiya olunmasına baxmayaraq SPT törətmir. İlk toxuma kulturalarında bu virusu interferensiya fenomeninə görə aşkar etmək olur.
- Bunun üçün məxmərək virusu ilə yoluxdurulmuş hüceyrə kulturası SPT əmələ gətirən indikator virusla, məsələn, vezikulyar stomatit virusu ilə də yoluxdurulur. Məxmərək virusunun hüceyrə kulturasında çoxalması indikator virusun replikasiyasına mane olduğundan SPT müşahidə edilmir. Lakin məxmərək virusu hüceyrə kulturasında inkişaf etmədikdə indikator virus çoxalmağa başlayır və bu, SPT ilə təzahür edir.

Virusların neytrallaşma reaksiyası

- ***Virusların neytrallaşma reaksiyası*** (bioloji neytrallaşma reaksiyası) virusları identifikasiya etməyə imkan verir.
- Müvafiq anticisimlərin təsirindən viruslar həssas laborator heyvanlarda xəstəlik törətmir, hüceyrə və toxuma kulturlarına sitopatik təsir göstərmir, eləcə də toyuq embrionlarında çoxalmırlar



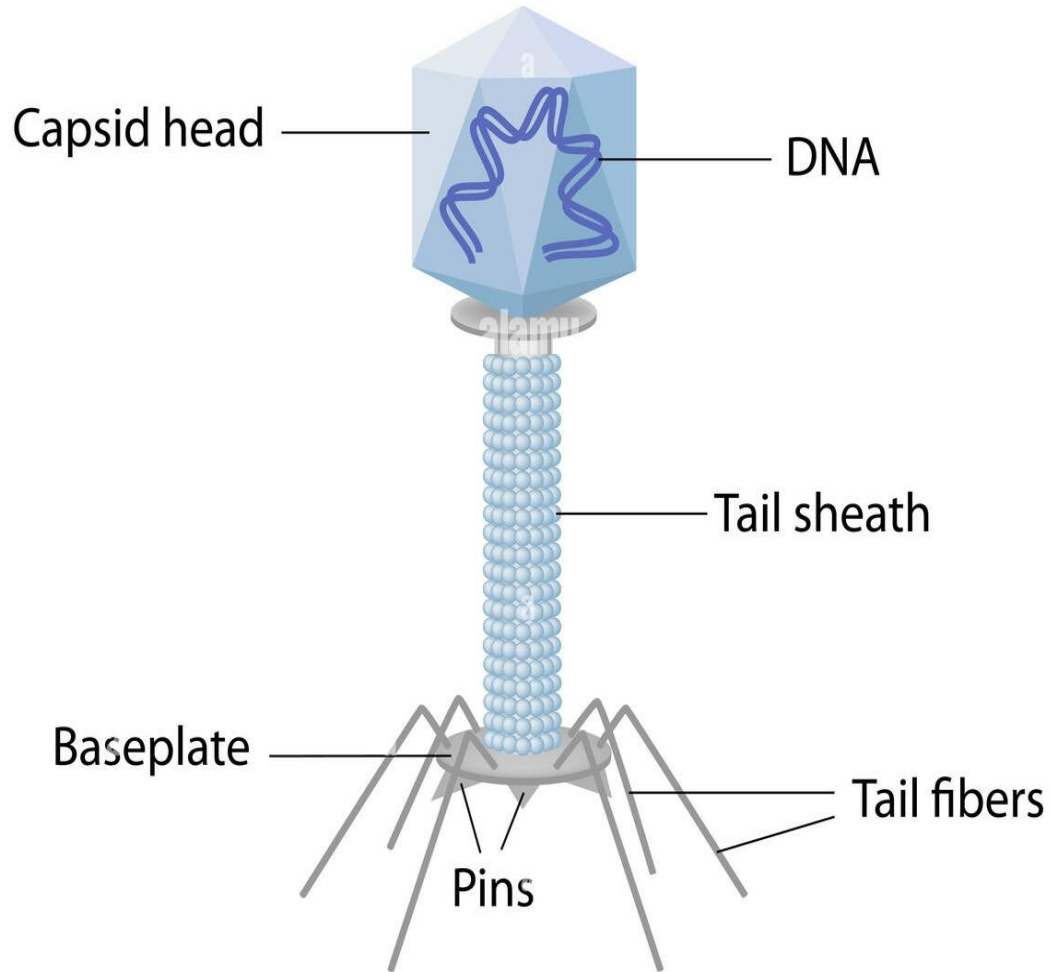
Faqlar

- Bakteriyaların və digər mikroorqanizmlərin daxilində inkişaf edərək çoxalır və müəyyən şəraitdə onların məhvində (lizisinə) səbəb olurlar.
- 1917-ci ildə fransız alimi F.D'Erell dizenteriyalı xəstədən əldə edilmiş törədicinin kulturasının bu xəstənin nəcisindən alınmış filtratın təsirindən lizisə uğramasını müşahidə etmişdir.
- D'Erell lizisedici amilin bakterial filtrlərdən süzülə bilən virus olması qənaətinə gəlmişdir. D'Erell bu virusu ***bakteriofaq*** («bakteriyanı yeyən»), hadisəni isə ***bakteriofagiya*** fenomeni adlandırmışdır.

Faqların quruluşu

- Faqların ölçüləri digər viruslara müvafiqdir və 20-800 nm arasında təbəddüd edir. Onlar morfolojiyasına görə sapşəkilli, kubşəkilli, spermatozoidşəkilli ola bilər.
- Bağırsaq çöplərinin faqları (T qrup faqlar) daha yaxşı öyrənilmişdir. T (*type* - tip) qrup faqların 7 nümayəndəsi vardır, onların 4-ü tək (T1, T3, T5, T7) və 3-ü isə cüt faqlardır (T2, T4, T6).
- T-cüt faqların, xüsusən T2 faqının quruluşu daha mürəkkəbdir.

Faqların quruluşu



Bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsirinin xarakteri:

- Bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsirinin xarakterinə görə **virulentli** və **mülayim** faqlar ayırd edilir.
- **Virulentli faqlar** bakteriya hüceyrəsinə daxil olaraq çoxalır və nəticədə bakteriya hüceyrəsi parçalanır – ***lizisə*** uğrayır.
- Bu, mikroorqanizmin bulyon kulturasının şəffaflaşması – faqolizatın əmələ gəlməsi ilə xarakterizə olunur. Bərk qidalı mühitdə inkişaf edən kulturalarda isə adi gözlə görünə bilən şəffaf lizis sahələri – ***faqların neqativ koloniyaları*** əmələ gəlir.

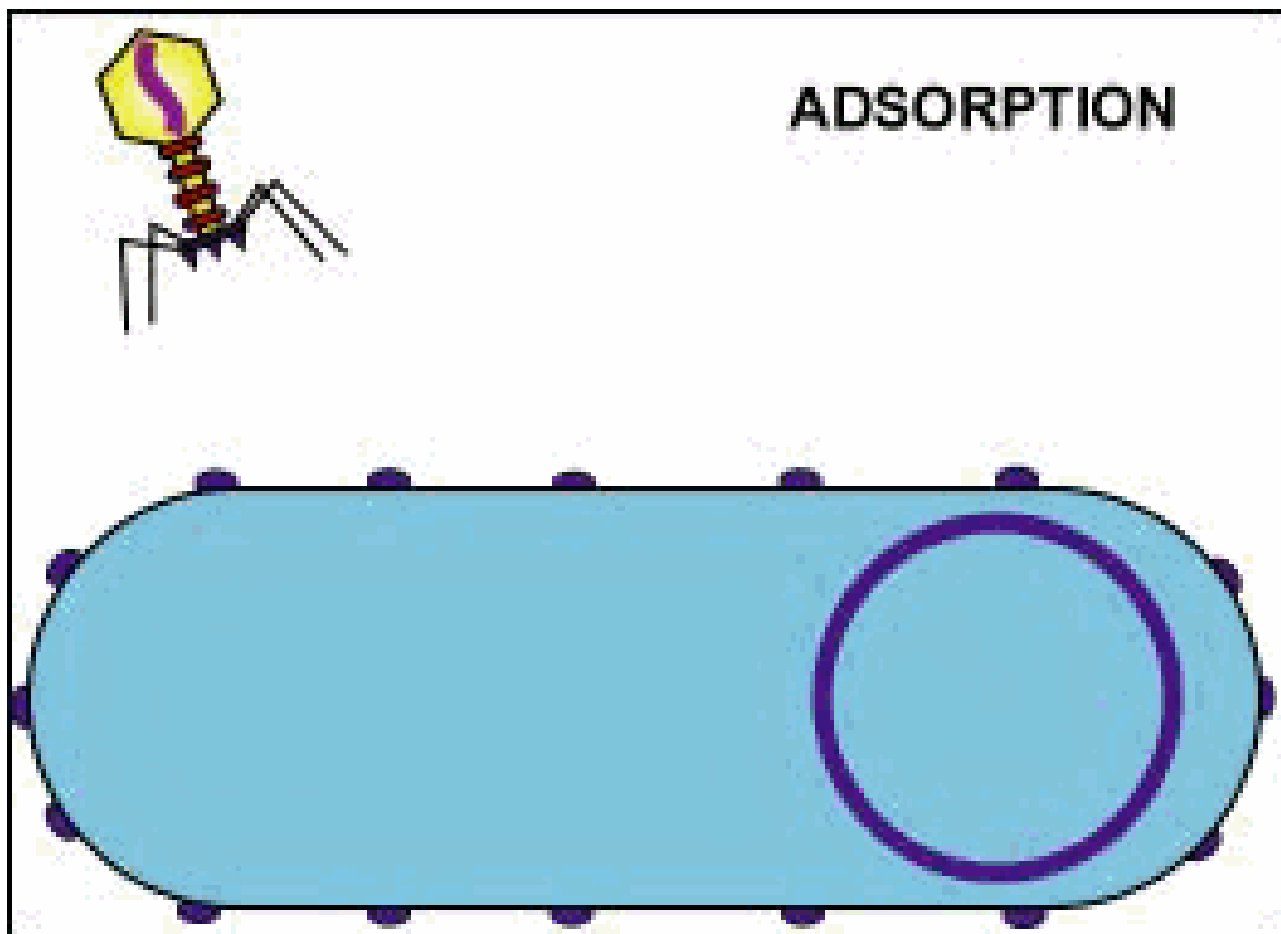
Virulentli faqın bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsiri

1. Faqların bakteriya hüceyrəsinə adsorbsiyası
2. Faq nuklein turşusunun bakteriya hüceyrəsinin daxilinə keçməsi
3. Faq nuklein turşusunun reproduksiyası və faq zülallarının sintezi
4. Faq hissəciyinin formalaşması
5. Faqın bakteriya hüceyrəsindən çıxması

Mülayim faqın bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsiri

- Mülayim faq bakteriya hüceyrəsinə daxil olduqdan sonra onun nuklein turşusu bakteriya hüceyrəsinin xromosomu ilə **integrasiyalaşır**. Bu zaman bakteriya hüceyrəsi məhv olmur.
- Bakteriya xromosomu ilə birləşmiş vəziyyətdə olan faq nuklein turşusu **profaq** adlanır.
- Bakteriya hüceyrəsinin faqla (profaqla) belə simbiozu **lizogeniya**, tərkibində profaq saxlayan hüceyrə isə **lizogen bakteriya** adlanır.
- Lizogeniya vəziyyətində profaqın bakteriya hüceyrəsi xromosomundan ayrılaraq virulentli faqa çevrilmək qabiliyyəti saxlanılır. Belə hallarda lizogen bakteriya yetkin faq hissəciklərinin əmələ gəlməsi ilə lizisə uğrayır.
- Profaqın virulentli faqa çevrilməsi və beləliklə də, lizogen bakteriya kulturasının lizisi müxtəlif amillərin, xüsusən radioaktiv şüaların təsirindən kifayət qədər sürətlənir.

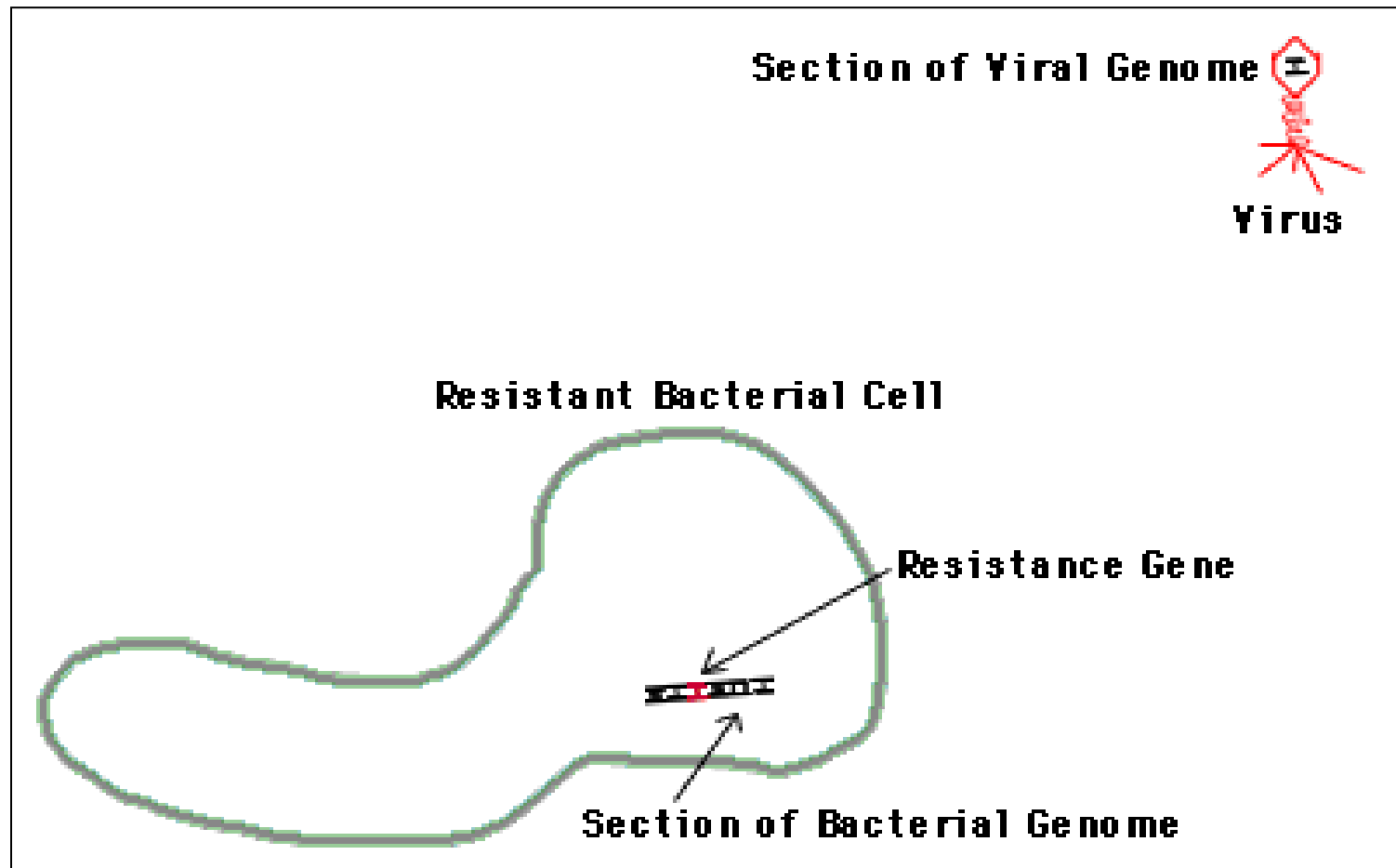
Faqların bakteriya hüceyrəsi ilə qarşılıqlı təsiri



Qüsurlu faqlar

- Tərkibində bakteriyaların müəyyən bir əlamətini təmin edən geni daşıyan **qüsurlu faqlarla** lizogeniya baş verdiyi təqdirdə lizogen bakteriya yeni bir xüsusiyyət qazanır.
- Qüsurlu faqlar yetkin faq hissəcikləri əmələ gətirmək qabiliyyəti olmayan mülayim faqlardır.
- Bu yolla bakteriyalar toksin əmələ gətirmə xüsusiyyəti kəsb edə bilər, eləcə də yeni morfoloji, antigen və s. xüsusiyyətlər kəsb edə bilər. Buna **faq konversiyası**, yaxud **lizogen konversiya** deyilir.
- Transduksiyaedici faqlar kimi onlar gen mühəndisliyində istifadə edilir

Qüsurlu faqlar



Bakteriofaqların əldə edilməsi

- tədqiq olunan material (su, nəcis, yara möhtəviyatı) suspenziyalaşdırılır və filtrasiya olunur. Filtrat və homoloji test-kultura qidalı bulyona inokulyasiya edilir və 37⁰C-də 18-24 saat inkubasiya olunur.
- inkubasiya edilmiş material sentrifüqalaşdırma və süzülməklə bakteriyalardan azad edilir.
- filtrat test-kultura ilə birgə qidalı aqar olan kasalara əkilir, inkubasiya olunur. Bakterial kulturanın inkişafı fonunda aqarda dəyirmi ləkələr (neqativ koloniyalar) əmələ gəlir.
- neqativ koloniyalardan alınan material qidalı bulyon olan sınaq şüşəsinə yerləşdirilir, test-kultura əlavə edilir, inkubasiya edilir. Bakteriyalarda çoxalan faqlar onların lizisinə səbəb olur və sınaq şüşəsində çoxsaylı faqlardan ibarət faqolizat əldə olunur.
- faqolizat tamamilə bakteriyalardan azad olunur.

Bakteriyaların faqa həssaslığının “axan damla” üsulu ilə təyini

Faqa həssaslığın təyin edilməsi onların təsirinin ciddi spesifikliyinə əsaslanır.

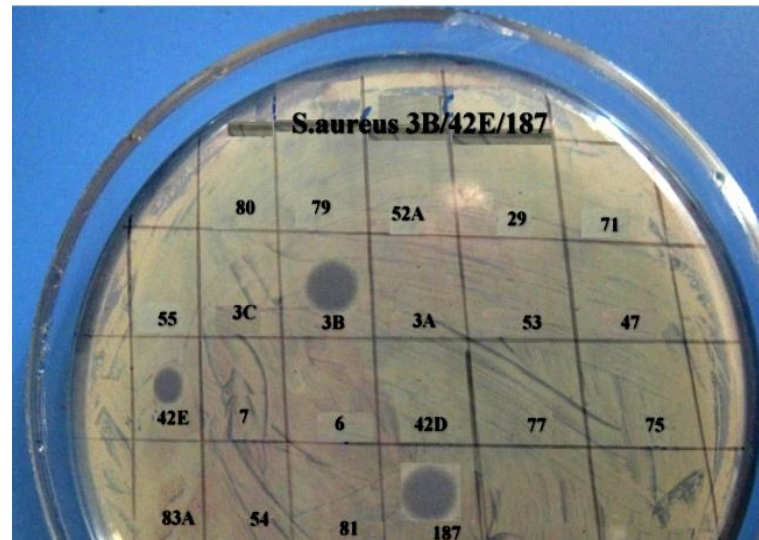
- Məlum (diaqnostik) faqlardan istifadə etməklə naməlum mikrob kulturasını identifikasiya etmək mümkündür.
- Müayinə ediləcək bakterianın kulturası Petri kasasında olan bərk qidalı mühitin səthinə çox qalın (qazonla) inokulyasiya edilir. Sonra aqarın səthinə bir damla məlum faq suspenziyası qoyur, kasanın bir tərəfini qaldırmaqla damcının axmasına şərait yaradılır.
- İnkubasiyadan sonra faq əlavə edilmiş sahədə inkişafın olmaması həmin bakterianın məlum faqa həssaslığını göstərir .



Faqotiplərin təyin edilməsi (faqotipaj)

İnfeksiya mənbəyini aşkar etmək üçün bakterianın faqotiplərini təyin edirlər.

- Arxa hissəsi əvvəlcədən kvadratlara ayrılmış Petri kasasında olan bərk qidalı mühitin səthinə müayinə ediləcək bakterianın kulturası çox qalın (qazonla) inokulyasiya edilir.
- Sonra aqarın səthinə hər bir kvadrata müxtəlif tipospesifik faqlarlardan bir damla əlavə edilir.
- İnkubasiyadan sonra faqotipə müvafiq kvadratlarda bakteriyaların lizisi müşahidə edilir.



- Bakteriofaqın aktivliyini bilmək üçün onu titrləyirlər.
- Bakteriofaqın titri *Appelman və Qrasiya* üsulları ilə təyin edilir.

Faqların praktikada tətbiqi

- Faqların spesifikliyi ***faqodiagnosticsikanın*** əsasında durur.
 - Məlum (diagnostik) faqlardan istifadə etməklə naməlum mikrob kulturasını identifikasiya etmək mümkündür
 - Faqotiplərin təyini, yaxud ***faqotipaj*** infeksiya mənbəyini təyin etmək üçün istifadə edilir.
- ***Faqoprofilaktika*** və ***faqoterapiya*** faqların həssas bakteriya hüceyrələrini xəstənin orqanizmində məhv etməsi xüsusiyyətinə əsaslanmışdır. Bu məqsədlə faqlar dərman preparatları şəklində hazırlanır

Faqodiqnostika

