



AZƏRBAYCAN TİBB UNIVERSİTETİ
TİBBİ MİKROBİOLOGİYA və İMMUNOLOGİYA KAFEDRASI

Məşğələ 19.

Aqqlütinasiya reaksiyası və onun variantları (təxmini və geniş). Hemaqqlütinasiya reaksiyası (HAR). Hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası (HALR). Passiv hemaqqlütinasiya reaksiyaları (PHAR). Kumbs reaksiyası. Hərəkətli bakteriyaların immobilizasiya reaksiyası. Presipitasiya reaksiyası və onun variantları (həlqə presipitasiyası, geldə immun diffuziya, immunelektroforez). Toksinin neytrallaşma reaksiyası (TNR). Radial immundiffuziya reaksiyası (RİD)

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

Müzakirə olunan suallar:

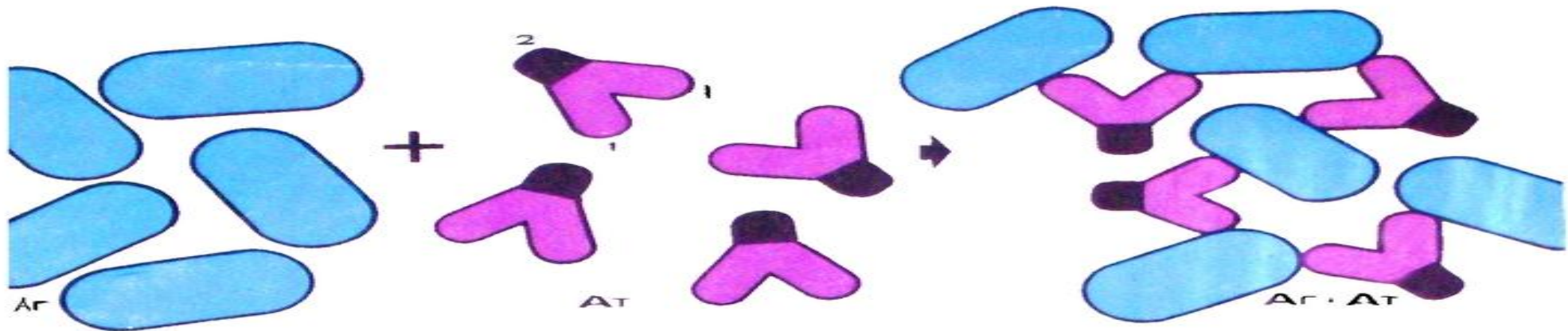
- Aqqlütinasiya reaksiyasının mahiyyəti.
- Aqqlütinasiya reaksiyasının mexanizmi.
- Aqqlütinasiya reaksiyasının növləri: təxmini, geniş. Diaqnostik titr anlayışı.
- HAR (hemaqqlütinasiya reaksiyası), HALR (hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası)
- PHAR (passiv hemaqqlütinasiya reaksiyası)
- Kumbs reaksiyası (düz və dolaylı variantlar).
- Hərəkətli bakteriyaların immobilizasiya reaksiyası.
- Presipitasiya reaksiyasının mahiyyəti.
- Presipitasiya reaksiyasının mexanizmi.
- Presipitasiya reaksiyasının variantları:
- həlqə presipitasiya.
- gəldə presipitasiya: ikiqat immundiffuziya (Ouxterlon üsulu), radial immun diffuziya.
- immunoelektroforez.
- müqabil immunoelektroforez.
- Toksinin neytrallaşma reaksiyası, mahiyyəti, tətbiqi.
- Radial immundiffuziya reaksiyası.

Məşğələnin məqsədi:

- Tələbələrə aqqlütinasiya reaksiyasının mahiyyəti, mexanizmi və növləri ilə tanış etmək və qoyulma üsullarını öyrətmək. HAR, HALR, PHAR, Kumbs və immobilizasiya reaksiyalarını izah etmək. Tələbələrə presipitasiya reaksiyalarının mahiyyəti, mexanizmi, növləri, qoyulma üsulları və tətbiqi ilə tanış etmək. Toksinin neytrallaşma reaksiyası və radial immundiffuziya reaksiyasının mahiyyətini anlatmaq.

AQQLÜTİNASIYA REAKSİYASI ***(mexanizmi)***

- Mikroorqanizmlərin, eritrositlərin, yaxud digər hüceyrələrin, bir sözlə korpuskulyar antigenlərin müvafiq anticisimlər (**aqqlütininlər**) vasitəsilə yapışaraq çökməsi hadisəsinə **aqqlütinasiya** (lat. agglutinatio - yapışma) deyilir. Antigenlərin spesifik anticisimlərlə birləşməsinə əsaslanır.
- Mikrobların bir-birinə yapışmasına səbəb olan anticisimlərə **aqqlütinin**, mikroba isə **aqqlütinogen** deyilir.



AQQLÜTİNASIYA REAKSİYASI (tətbiqi)

Aqqlütinasiya reaksiyası da digər seroloji reaksiyalar kimi məlum antigenə görə naməlum anticismi, yaxud əksinə - məlum anticismə görə naməlum antigeni təyin etməyə imkan verir.

- Xəstədən alınmış törədicinin təmiz kulturasının seroloji identifikasiyası
- Xəstənin qan zərdabında spesifik anticisimlərin aşkar edilməsi, məs., Rayt reaksiyası, Hedderson reaksiyası, Vidal reaksiyası və s.

Aqqlütinasiya reaksiyasının variantları:

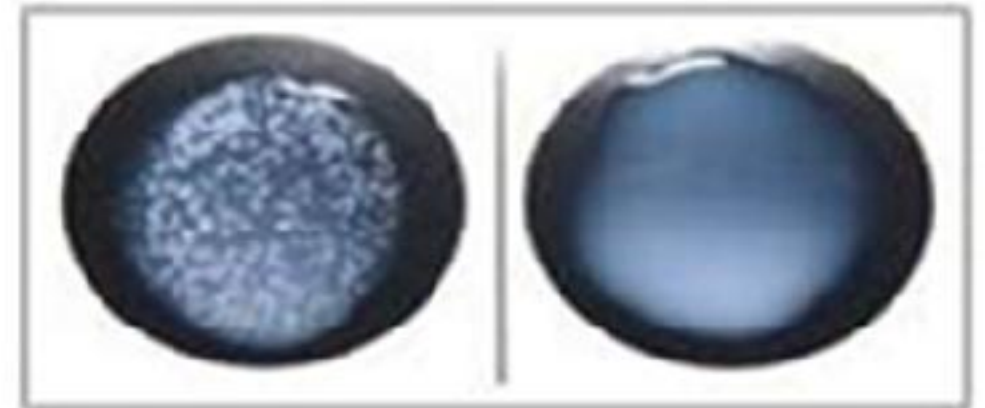
Aqqlütinasiya reaksiyasının müxtəlif variantları mövcuddur:

- **təxmini,**
- **geniş,**
- **dolayı**

Təxmini aqqlütinasiya reaksiyası

Adətən seroloji identifikasiya məqsədilə tətbiq edilir.

- Bunun üçün əşya şüşəsi üzərində bir damla diaqnostik aqqlütinasiyaedici zərdab müayinə edilən mikrobun təmiz kulturası ilə qarışdırılır.
- Zərdab və mikrob qarışığından ibarət damlada pambıqvari çöküntünün əmələ gəlməsi müsbət reaksiya kimi qiymətləndirilir.



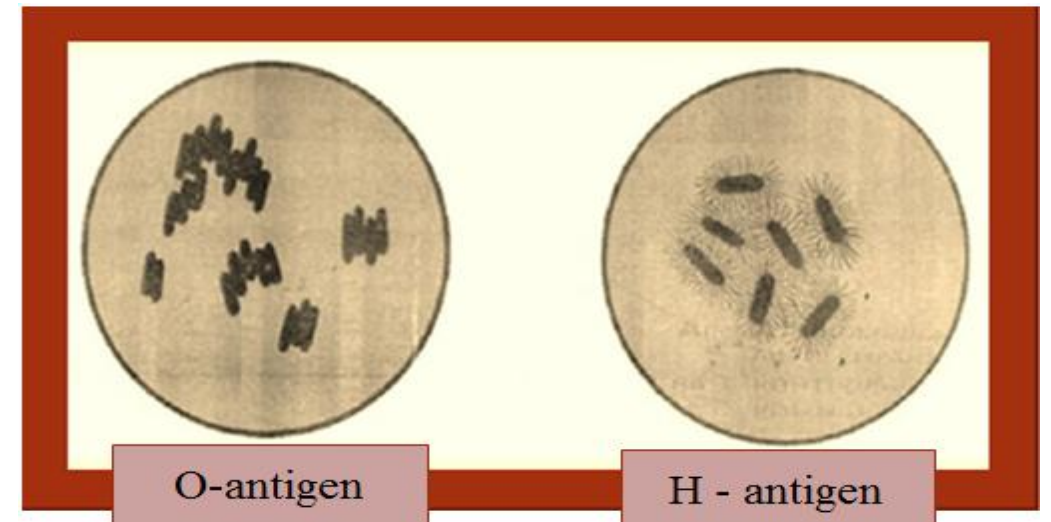
Təcrübə «+»

Kontrol «-»

O- və H-aqqlütinasiya

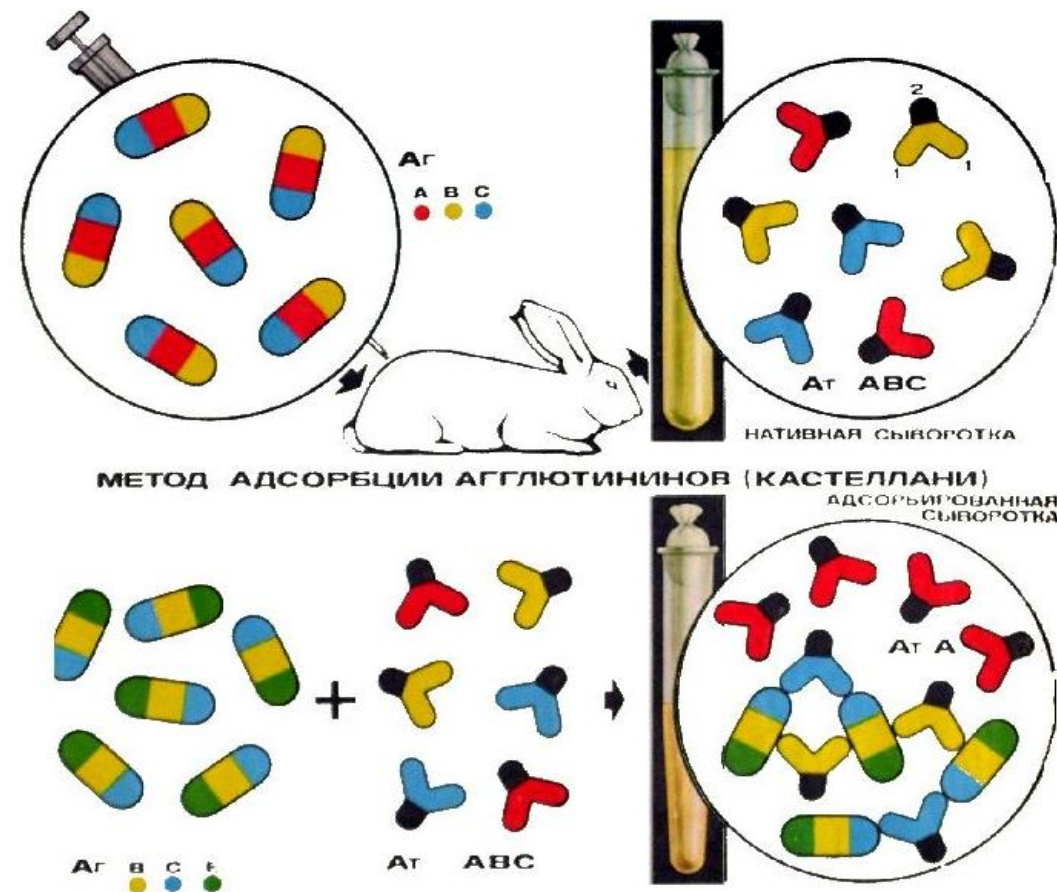
Aqqlütinasiyanın xarakteri antigenin növündən asılı olaraq müxtəlif ola bilər.

- Flagellasız bakteriyalar kiçik dənəvər çöküntü (O-aqqlütinasiya),
- flagellalara malik bakteriyalar isə iri pambıqvari çöküntü (H-aqqlütinasiya) əmələ gətirir.



Adsorbsiya olunmuş aqqlütinasiyaedici zərdabların alınması

- Bəzi mikroorqanizmlər antigen quruluşundakı oxşarlıq, yaxud çarpaz antigenlərin olması səbəbindən eyni bir aqqlütinasiyaedici zərdabla aqqlütinasiya oluna bilər.
- Bunu nəzərə alaraq təxmini reaksiyalarda **adsorbsiya olunmuş aqqlütinasiyaedici zərdablar** daha çox tətbiq edilir. Belə zərdabları almaq üçün onlar oxşar bakteriyalarla adsorbsiya edilir (**Kastellani reaksiyası**). Nəticədə çarpaz reaksiya verən anticisimlər kənarlaşdırılır, ancaq müvafiq mikroorqanizmə spesifik olan anticisimlər saxlanılır. Belə zərdablara **monoreseptor aqqlütinasiyaedici zərdablar** deyilir.
- Son zamanlar bu məqsədlə daha spesifik olan **monoklonal anticisimlər** istifadə edilir.



Təxmini aqqlütinasiya reaksiyasından həm də seroloji diaqnostikada təxmini nəticə almaq üçün istifadə edilir

- Bunun üçün xəstənin zərdabı əşya şüşəsi üzərində müvafiq diaqnostikumla qarışdırılır.
- Reaksiya müsbət olduğu təqdirdə anticisimlərin titrini təyin etmək üçün geniş aqqlütinasiya reaksiyası qoyulur.

Geniş aqqlütinasiya reaksiyası

Geniş aqqlütinasiya reaksiyası xəstələrin qan zərdabında anticisimlərin titrini təyin etməyə imkan verir.

Bunun üçün ayrı-ayrı sınaq şüşələrində, yaxud immunoloji planşetin çuxurcuqlarında 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 və s. nisbətlərində fizioloji məhlulla durulaşdırılmış qan zərdabının üzərinə diaqnostikum əlavə olunur və 37⁰C-də bir saat, daha sonra otaq temperaturunda bir gün inkubasiya edilir.

Geniş aqqlütinasiya reaksiyasını qoymaq üçün lazım olan avadanlıq və tərkiblər

- Tədqiq edilən qan zərdabı
- Müvafiq mikrobun aqar, bulyon kulturası və ya diaqnostikum (korpuskulyar antigen)
- Fizioloji məhlul
- Dərəcəli və Paster pipetkası
- Ştativdə sınaq şüşələri

Aqqlütinasiya reaksiyası üçün zərdabın əldə edilməsi

Reaksiyanı qoymaq üçün adətən dirsək venasından, yaxud barmaqdan qan götürülür. Zərdabı ayırmaq üçün qan sınaq şüşələrində 1 saat 10-15 dərəcə termostatda saxlanılır ki, yaxşı laxtalsın.

Laxtalanmış qan ucu iti Paster pipetkası ilə sınaq şüşəsinin divarından ayrılır, sonra şüşələr soyuducuda zərdab qandan tam ayrılana qədər saxlanılır, steril pipetka ilə zərdab sorulur və başqa sınaq şüşəsinə tökülür.

Zərdab bulanıq olarsa, onu sentrifuqadan keçirmək lazımdır.

Diagnostikumlarmn hazırlanması

- Aqqlütinasiya reaksiyası qoymaq üçün mikrob emulsiyası (antigen) 18-24 saatlıq aqar kulturasını fizioloji məhlulla yumaqla əldə edilir, yaxud bu məqsədlə daha çox *hazır diagnostikumlardan* istifadə edilir.
- Kulturanı yumaq üçün sınaq şüşəsinə steril pipetka ilə o qədər fizioloji məhlul əlavə edilir ki, aqarın çəp səthi örtülsün.
- Kultura islandıqdan sonra sınaq şüşəsi iki əl arasında fırladılır ki, kultura yuyulsun.
- Sınaq şüşəsi bir qədər saxlanılır, sonra emulsiya pipetka ilə sorularaq təmiz sınaq şüşəsinə tökülür.

Qan zərdabının durulaşdırılması

- Əvvəlcə müayinə edilən zərdabının işçi durulaşması hazırlanır.
- Ayrıca sınaq şüşəsində 0,2 ml zərdab 1,8 ml fizioloji məhlulla qarışdırılır, beləliklə zərdabın 1:10 nisbətində işçi durulaşması əldə edilir.

Geniş aqqlütinasiya reaksiyasının qoyuluşu

Reaksiyanı sınaq şüşələrində, yaxud immunoloji planşetlərdə aparmaq olar.

- Bir neçə sınaq şüşəsinin hər birinə ayrı-ayrılıqda 1 ml fizioloji məhlul əlavə edilir.
- Sonra zərdabın işçi durulaşmasından 1ml 1-ci sınaq şüşəsinə əlavə edilir, qarışdırılır, buradan 1ml götürüb eyni qayda ilə 2-ci sınaq şüşəsinə, 2-cidən 3-cüyə, 3-cüdən 4-cüyə və s. əlavə edilir, sonuncu sınaq şüşəsindən isə 1 ml kənar edilir. Beləliklə, zərdabın 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 və s. durulaşmaları alınır.
- Ayrıca sınaq şüşəsinə zərdabın kontrolu kimi zərdabın işçi durulaşmasından 1ml əlavə edilir. Digər sınaq şüşəsinə antigenin kontrolu kimi 1ml fizioloji məhlul əlavə edilir.

Aqqlütinasiya reaksiyasının nəticəsinin qeydiyyatı

Aqqlütinasiya reaksiyası müxtəlif intensivliklə təzahür edə bilər. Reaksiyanın təzahür intensivliyini (+) müsbətlərlə işarə etmək qəbul edilmişdir.

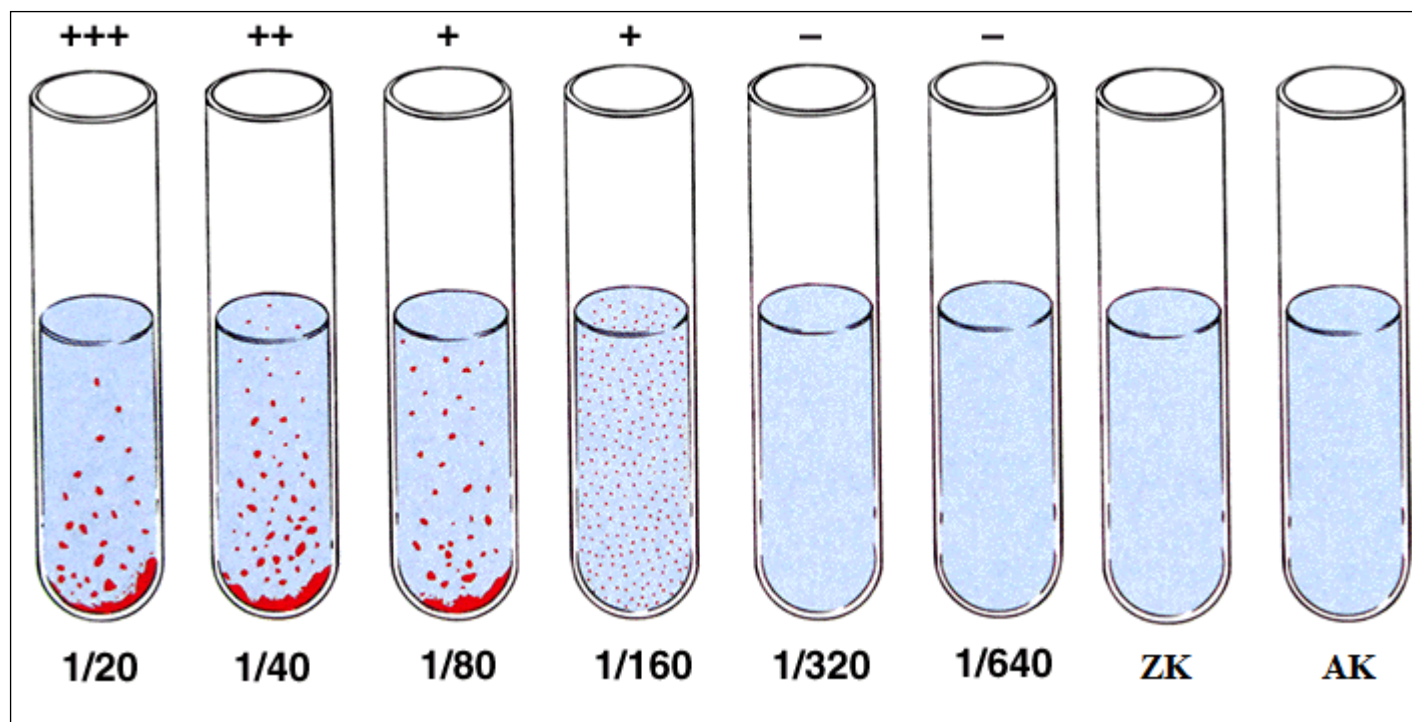
- Tam aqqlütinasiya (++++) zamanı məhlul şəffaf olur, şüşənin dibində çöküntü yaxşı görünür;
- natamam aqqlütinasiya (+++) zamanı məhlul zəif bulanıq olur, çöküntü yaxşı görünür;
- hissəvi aqqlütinasiya (++) zamanı məhlul bulanıq olur,
- çöküntü az miqdarda olur; zəif aqqlütinasiya (+) zamanı məhlul bulanıq olur, çöküntü çox az miqdarda müşahidə olunur.
- Məhlulda bərabər bulanıqlıq olduqda, çöküntü olmadıqda aqqlütinasiya reaksiyası getməmişdir, yəni reaksiya mənfidir.

Aqqlütinasiya reaksiyasının titri

- Təcrübə sınaq şüşələrində aydın görünən aqqlütinasiya (++) olduqda, kontrol sınaq şüşələrində aqqlütinasiya olmadıqda reaksiya müsbət hesab edilir. Qan zərdabının aqqlütinasiya əmələ gətirən ən böyük durulaşması – ***aqqlütinasiya reaksiyasının titri*** qeyd olunur.
- Diaqnostik məqsədlə reaksiyanın titrinin təyini çox mühümdür. Belə ki, zərdabdakı normal anticisimlər kiçik durulaşmalarda aqqlütinasiya reaksiyasının baş verməsinə səbəb ola bilər. Məhz buna görə də hər bir xəstəlik zamanı reaksiyanın «diaqnostik titri» anlayışı mövcuddur. ***Diaqnostik titr*** elə titrdir ki, bu titrdə və bundan yüksək titrlərdə reaksiyanın müsbət olması xəstəlik halı kimi qiymətləndirilir.

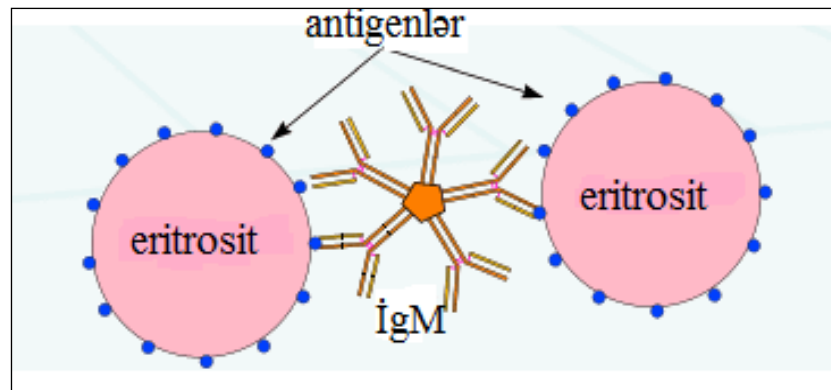
Geniş aqqlütinasiya reaksiyası

(ZK-zərdabın kontrolu, AK-antigenin kontrolu)



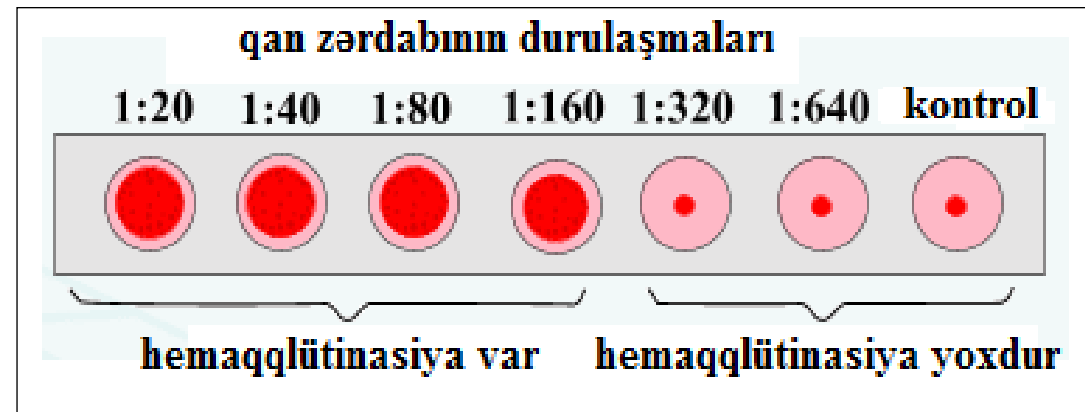
Dolayı, yaxud passiv aqqlütinasiya reaksiyaları

- Bəzi hallarda aqqlütinasiya reaksiyası məqsədilə istifadə edilən antigenlərin dispersliyi yüksək olduğundan, reaksiya nəticəsində əmələ gəlmiş antigen-anticisim kompleksi adi gözlə görünür.
- Reaksiyanın nəticəsini adi gözlə qiymətləndirmək üçün belə antigenləri iri hissəciklərin – eritrositlərin, lateks hissəciklərinin və s. səthinə adsorbsiya edirlər.
- Nəticədə reaksiya özünü bu hissəciklərin aqqlütinasiyası kimi göstərir. Adsorbsiya edilmiş antigenlər müvafiq anticisimlərlə birləşdikdə aqqlütinasiya baş verir.
- Adsorbentin növündən asılı olaraq *dolayı (passiv) hemmaqlütinasiya reaksiyası (DHAR, yaxud PHAR), lateks aqqlütinasiya reaksiyası (LAR)* və s. mövcuddur.



Dolayı (passiv) hemaqqlütinasiya reaksiyasının texnikası

- Bu reaksiya daha çox qan zərdabında spesifik anticisimləri təyin etmək üçün istifadə olunur. Reaksiyada diaqnostikum kimi səthinə antigenlər adsorbsiya edilmiş eritrositlərdən – ***eritrositar diaqnostikumlardan*** istifadə olunur.
- Polisterol planşetlərin çuxurlarında zərdabın bir sıra ardıcıl durulaşmaları hazırlanır. Axırıncıdan əvvəlki çuxura 0,5 ml müsbət zərdab və axırıncıya 0.5 ml fizioloji məhlul (kontrol) əlavə edilir. Sonra bütün çuxurlara 0,1 ml həll olunmuş eritrositar diaqnostikum əlavə edilir, qarışdırılır və 2 saat müddətində termostata saxlanılır.
- ***Müsbət nəticədə*** eritrositlər tərsinə çevrilmiş çətir əmələ gətirir, ***mənfi nəticədə*** isə düymə şəklində çuxurun dibinə çökür.



Hemaqqlütinasiya reaksiyası

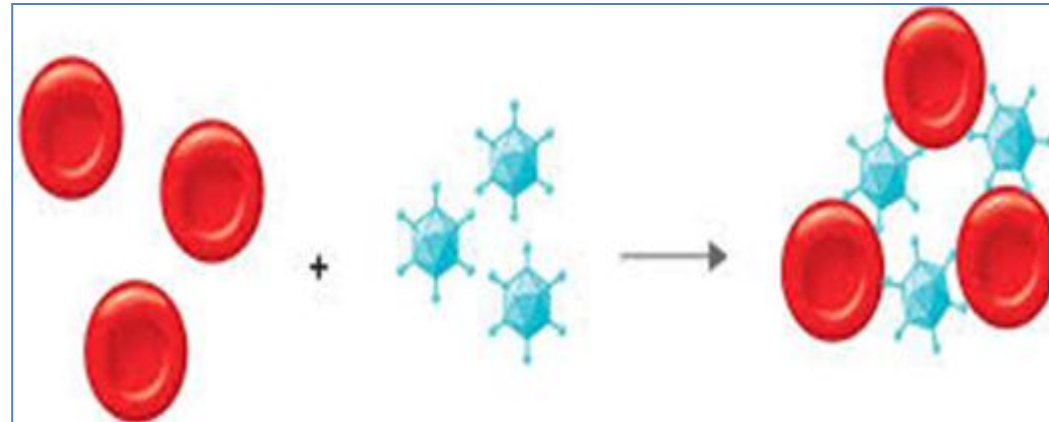
Hemaqqlütinasiya reaksiyası - eritrositlərin aqqlütinasiyasına deyilir.

Hemaqqlütinasiya reaksiyası seroloji və qeyri-seroloji olmaqla iki cür olur.

- ***Seroloji hemaqqlütinasiya reaksiyası*** eritrositlərdəki antigenlərin (hemaqqlütinogenlərin) qan zərdabındakı anticisimlərlə (hemaqqlütininlərlə) qarşılıqlı təsirinə əsaslanır və qan qruplarını təyin etmək üçün istifadə edilir.
- ***Qeyri-seroloji hemaqqlütinasiya reaksiyası*** isə bəzi virusların hemaqqlütinin adlandırılan antigenlərinin müxtəlif heyvanların eritrositlərini aqqlütinasiyaya uğratmaq qabiliyyətinə əsaslanır və virusların indikasiyasında (aşkar edilməsində) istifadə edilir.

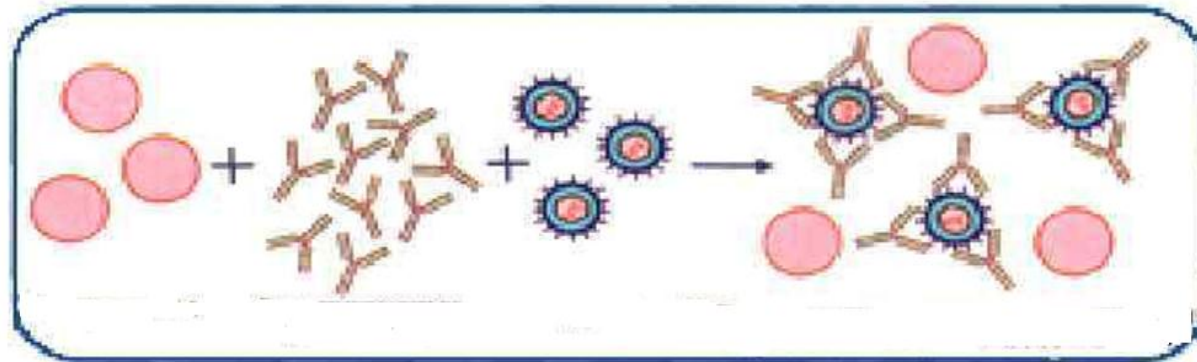
Qeyri-seroloji hemaqqlütinasiya reaksiyasının texnikası

- Viruslu materialla yoluxdurulmuş toyuq embrionlarını təşrih etdikdən sonra allontois mayesindən 0,5 ml götürüb polisterol planşetin çuxurlarında ikiqat artan durulaşmalar hazırlanır.
- Kontrol kimi planşetin ayrıca çuxuruna yoluxdurulmamış toyuq embrionundan götürülmüş allontois mayesindən 0,5 ml əlavə edilir. Sonra hər bir durulaşma üzərinə 1%-li yuyulmuş toyuq eritrositləri suspenziyasından 0,5 ml əlavə edilir. Reaksiyanın nəticəsi kontrol çuxurda eritrositlər çökdükdən 40 dəq sonra qeyd olunur.
- **Müsbət nəticədə** eritrositlər tərsinə çevrilmiş çətir, **mənfi nəticədə** isə düymə şəklində çuxurun dibinə çökürlər. Kontrol çuxurda hemaqqlütinasiya olmadığı təqdirdə təcrübə çuxurlarında hemaqqlütinasiyanın olması tədqiq olunan mayədə virusun olmasını göstərir.



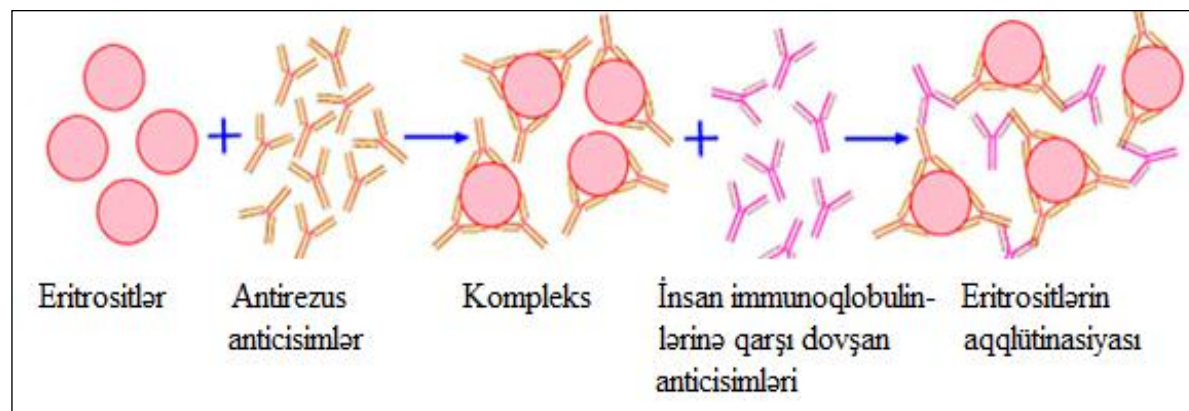
Hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası

- 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.



Kumbs reaksiyası

- Bəzi infeksiyalar zamanı qan zərdabında natamam anticisimlərin təyini diaqnostik əhəmiyyət kəsb edir. **Natamam anticisimlər** elə anticisimlərdir ki, müəyyən səbəbdən onun aktiv mərkəzlərindən biri olmur, yaxud maskalanmışdır. Belə anticisimlər müvafiq antigenlərlə birləşdikdə antigen-anticisim kompleksi əmələ gəlsə də, onu müşahidə etmək mümkün olmur. Belə ki, natamam anticisimlər ancaq bir aktiv mərkəz vasitəsilə antigenlə birləşərək onu sanki blokada edirlər («blokadaedici» anticisimlər adı bununla əlaqədardır).
- Ona görə də, bu anticisimləri təyin etmək üçün Kumbs reaksiyasından istifadə edilir: müayinə edilən qan zərdabını diaqnostikumla inkubasiya etdikdən sonra bu qarışıqın üzərinə tərkibində insan immunoqlobulinlərinə qarşı anticisimlər (antiqlobulin) olan zərdab əlavə edilir. Müayinə edilən qan zərdabında müvafiq anticisimlər olduqda, onlar diaqnostikumla birləşərək antigen-anticisim kompleksi əmələ gətirir. Bu kompleksin tərkibindəki anticisimlər isə öz növbəsində insan qlobulinlərinə qarşı anticisimlərlə birləşərək gözlə görünən çöküntünün əmələ gəlməsinə səbəb olur.



Kumbs reaksiyası

Kumbs reaksiyasından həm də **rezus konfliktinin diaqnostikasında** istifadə edilir, belə ki, rezus antigeninə qarşı anticisimlər də natamam anticisimlərdir.

- Rezus mənfi ananın bətnində rezus müsbət döl inkişaf etdiyi təqdirdə, bəzən ananın qan zərdabında antirezus anticisimlər əmələ gəlir. Antirezus anticisimlər əvvəlki doğuş zamanı, yaxud plasentada qüsurlar olduqda rezus antigenlərinin ananın qanına daxil olması nəticəsində əmələ gəlir. Bu anticisimlər transplasentar yolla dölün orqanizminə daxil olaraq onun ölümünə, yenidoğulmuşların hemolitik xəstəliyinin baş verməsinə və s. səbəb ola bilər.
- Ananın qan zərdabında antirezus anticisimləri təyin etmək üçün onun üzərinə rezus-müsbət eritrositlər, daha sonra isə antiqlobulin zərdab (insan immunoqlobulinlərinə qarşı anticisimlər) əlavə olunur. Reaksiya müsbət olduqda eritrositlərin aqqlütinasiyası müşahidə edilir.

İMMOBİLİZASİYA REAKSİYASI

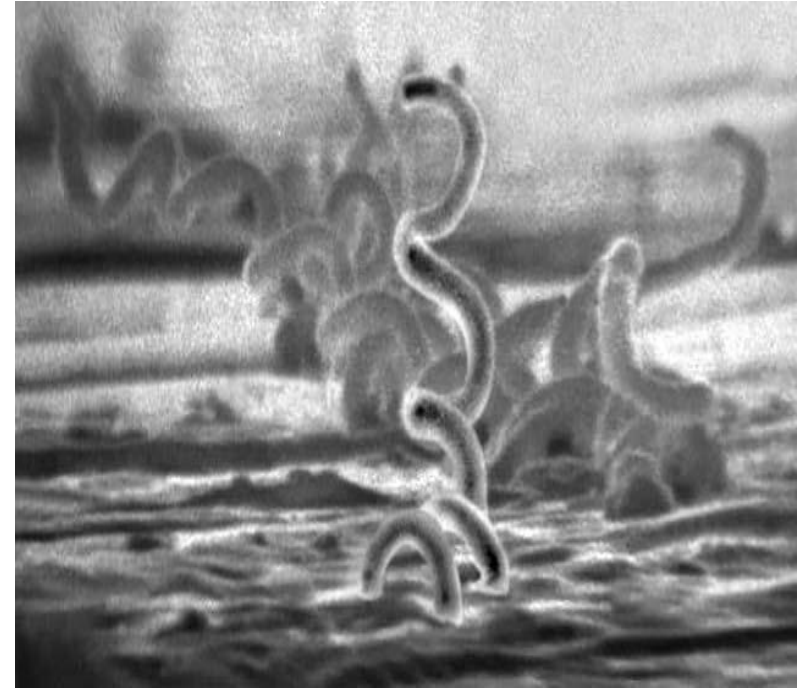
Hərəkətli bakteriya + anticisimlər + complement



Bakteriyaların hərəkətsizləşməsi

Hərəkətli bakteriyaların immobilizasiya reaksiyası

- İmmun zərdabın hərəkətli mikroorqanizmləri hərəkətsizləşdirmə xüsusiyyəti spesifik anticisimlərlə əlaqədardır, bu anticisimlərin təsiri komplementin iştirakı ilə təzahür edir.
- Bu anticisimlər sifilis, vəba və digər infeksiyon xəstəliklər zamanı aşkar edilir
- Sifilisin laborator diaqnostikasında treponemaların immobilizasiya reaksiyası işlənilib hazırlanmışdır. Bu reaksiya həssaslığına və spesifikliyinə görə digər seroloji reaksiyalardan geri qalmır.



Solğun treponemaların immobilizasiya reaksiyası

İnqredientlər (ml)	Təcrübə					İnqredientlərin kontrolu			
	Sınaq borularının nömrəsi								
	1 təcrübə	2 kontrol	3	4	5	6	7	8	9
İnaktivləşdirilmiş tədqiq olunan qan zərdabı	0,05	0,05							
Aktiv komplement	0,15		0,15		0,15		0,15		
İnaktiv komplement		0,15		0,15		0,15		0,15	
Antigen	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
İnaktivləşdirilmiş müsbət qan zərdabı			0,05	0,05					
İnaktivləşdirilmiş mənfi qan zərdabı					0,05	0,05			

Presipitasiya reaksiyası

- Korpuskulyar antigenlərin müvafiq anticisimlərlə birləşməsi aqqlütinasiya reaksiyasına səbəb olur. Həllolan antigenlər (*presipitinogenlər*) isə müvafiq anticisimlərlə (*presipitinlərlə*) birləşdikdə ***presipitasiya reaksiyası*** müşahidə edilir.
- Presipitasiya reaksiyası ***presipitat*** adlanan bulanıqlığın əmələ gəlməsilə təzahür edir (latınca, *praecipito* – çökmək). Antigen və anticisimlərin ekvivalent miqdarda qarışdırılması zamanı presipitat daha tez əmələ gəlir, bulanıqlığın intensivliyi isə daha yüksək olur.

Presipitasiya reaksiyası

- Seroloji reaksiyanın getdiyi mühitdən asılı olaraq presipitasiya fenomeni müxtəlif cür təzahür edir.
- ***Maye mühitlərdə*** bulanıqlıq kimi təzahür edən presipitasiya reaksiyası, ***bərk mühitlərdə*** presipitat xəttlərinin əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunur.
- Buna müvafiq olaraq reaksiyanın müxtəlif variantları mövcuddur.

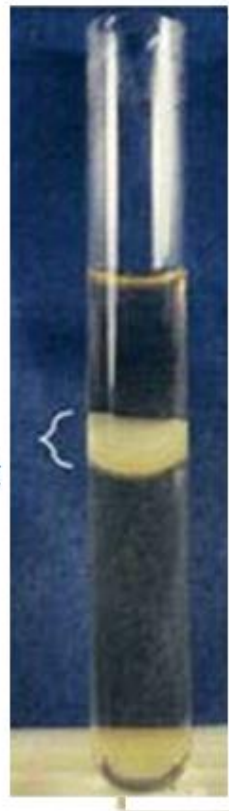
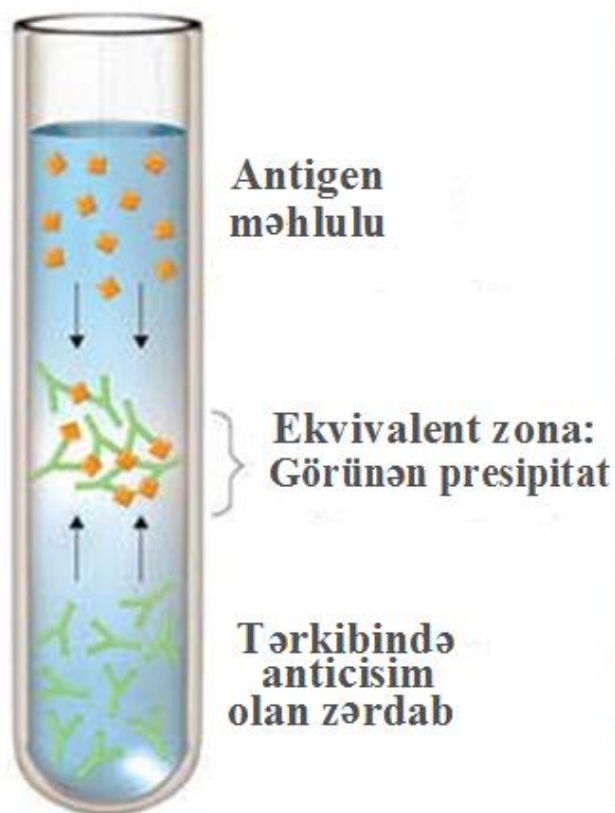
Həlqə presipitasiyası

- Kiçik diametrli sınaq şüşəsindəki immun zərdabın üzərinə həllolan antigenin şüşənin divarı ilə ehtiyatla əlavə edilməsi iki məhlulun görüşdüyü sərhəddə ***bulanıq presipitat həlqəsinin*** əmələ gəlməsi ilə nəticələnir.
- Reaksiyanın həlqə presipitasiyası kimi görünməsi üçün antigen və immun zərdab biri-birilə qarışmamalıdırlar. Əks təqdirdə diffuz bulanıqlıq əmələ gəlir.
- Reaksiyadan müxtəlif materiallarda qarayara törədicisinin termostabil antigenlərini təyin etmək üçün istifadə olunur (Askoli reaksiyası).

Həlqə presipitasiya reaksiyasının qoyuluşu

- Həlqə presipitasiyası diametri kiçik (0,5 sm) olan dar sınaq şüşələrində qoyulur. Sınaq şüşələrinə 0.3-0.5 ml miqdarında presipitasiyaedici zərdab əlavə edilir. Sonra sınaq şüşəsini maili vəziyyətdə tutmaqla onun üzərinə pipet vasitəsilə şüşənin divarlarından sızdırmaqla eyni miqdarda antigen məhlulu tökülür. Bu zaman immun zərdab və antigen məhlulu biri-birilə qarışmamalıdır.
- Kontrol sınaq şüşəsindəki immun zərdabın üzərinə isə müvafiq miqdarda fizioloji məhlul əlavə edilir. Mayeləri qarışdırmadan, sınaq şüşələri şaquli vəziyyətdə ehtiyatla ştativə qoyulur.
- Reaksiyanın nəticələri antigen və anticismin növündən asılı olaraq 5-10 dəqiqə, 1-2 saat və ya 20-24 saat sonra nəzərə alınır. Sınaq şüşəsində müsbət reaksiya olduqda zərdab və tədqiq olunan antigen məhlulunun (ekstraktın) sərhədində ağ rəngli ***həlqə şəklində presipitat*** əmələ gəlir.

Həlqə presipitasiyası



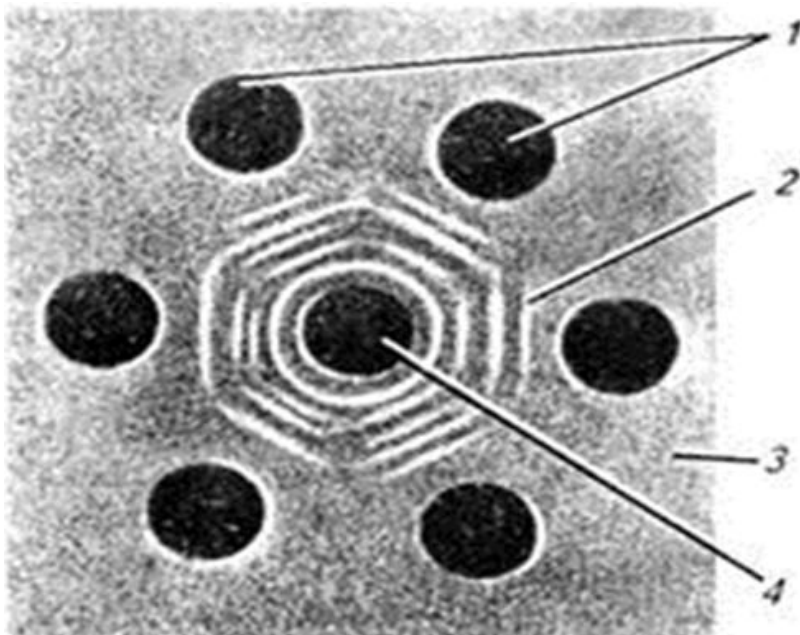
Aqarda (geldə) presipitasiya reaksiyası

- Reaksiya aqardan, yaxud geldən ibarət bərk fazada aparılır.
- Həlqə presipitasiyasından fərqli olaraq antigen və anticisim bilavasitə deyil, ancaq bərk fazaya diffuziya olunduqdan sonra görüşürlər.
- Nəticədə müvafiq sahədə presipitat xətləri əmələ gəlir. ***İkiqat immunodiffuziya, radial immunodiffuziya və immunoelektroforez üsulları*** daha çox istifadə edilir.

İkiqat immunodiffuziya (Ouxterlen üsulu)

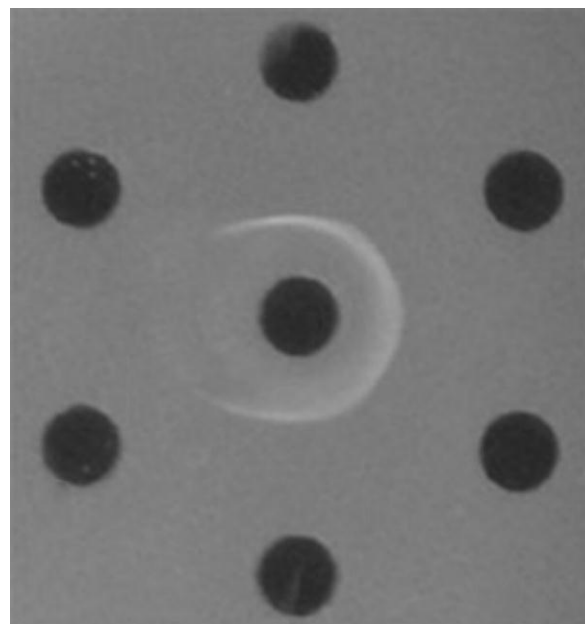
- Reaksiya şüşə üzərindəki şəffaf aqar təbəqəsində aparılır.
- Aqar təbəqəsində bir-birindən müəyyən məsafədə açılmış, bir neçə millimetr diametrli çuxurcuqlara ayrı-ayrılıqda antigen və immun zərdab tökülür.
- Antigen və anticisim aqara diffuziya edir, onların görüşdüyü yerdə ağ xətt şəklində presipitat əmələ gəlir

İkiqat immunodiffuziya (Ouxterlen üsulu)



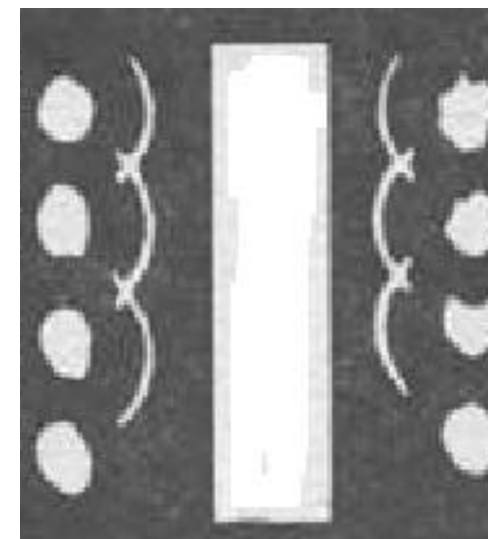
1. müayinə olunan antigenlər olan çuxurcuqlar
2. presipitasiya sahəsi
3. aqar geli tökülmüş lövhə
4. immun zərdab olan çuxurcuq

İkiqat immunodiffuziya (Ouxterlen üsulu)



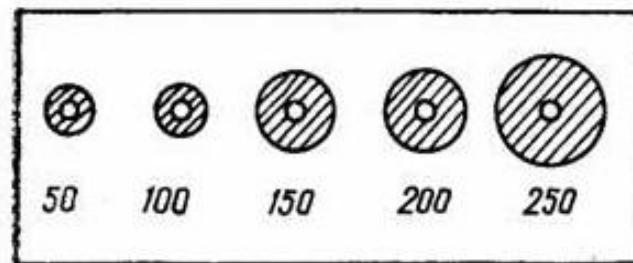
Aqarda presipitasiya reaksiyası vasitəsilə difteriya törədicisinin toksigenliyinin təyini

- **Elek üsulu** adlanan bu üsuldən xəstələrdən əldə edilmiş difteriya törədicisinin toksin ifraz etməsini müəyyənləşdirmək üçün istifadə edilir.
- Bunun üçün Petri kasasındakı qidalı mühitin səthinə kasanın diametri boyunca difteriya əleyhinə antitoksik zərdab hopdurulmuş steril süzgəc kağızı zolağı qoyulur. Qurudulduqdan sonra kağız zolağın kənarından 1 sm məsafədə kulturalar inokulyasiya edilir. Bu qayda ilə bir kasaya 3-10 kultura inokulyasiya etmək mümkündür.
- Kontrol kimi toksin ifraz etməyən kulturadan istifadə olunur.
- Kasalar 37⁰C-də 24-48-72 saat müddətində termostatda inkubasiya edilir. Kultura toksin ifraz etdiyi təqdirdə onun ətrafında kağız zolağından bir qədər məsafədə presipitat xətləri əmələ gəlir.

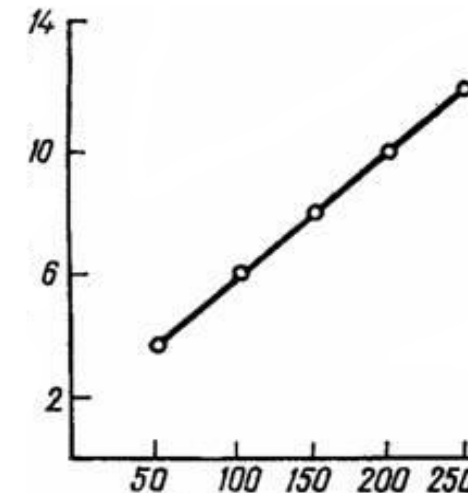


Radial immunodiffuziya reaksiyası

- İmmun zərdab əridilib 40°C -yə qədər soyudulmuş aqar geli ilə qarışdırılır.
- Aqar şüşə lövhə üzərinə tökülür, bərkidikdən sonra burada açılmış çuxurcuqlara antigenin müxtəlif durulaşmaları əlavə edilir.
- Antigen aqara diffuziya edərək anticisimlərlə birləşir, nəticədə çuxurcuğun ətrafında həlqəvi presipitasiya zonası əmələ gəlir.
- Presipitasiya həlqəsinin diametri antigenin konsentrasiyasından asılı olduğundan, kalibrli qrafik vasitəsilə onu hesablamaq mümkündür.
- Bu reaksiyadan qanda immunoqlobulinlərin miqdarını təyin etmək üçün istifadə edilir (Mançini üsulu).



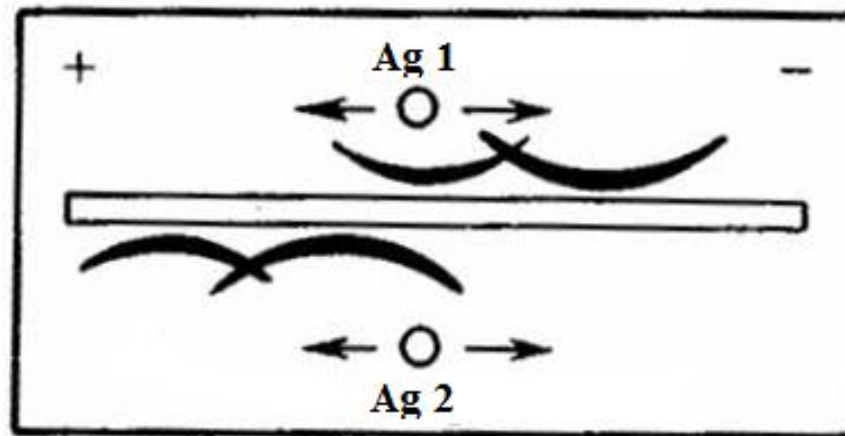
A



B

İmmunoelektroforez

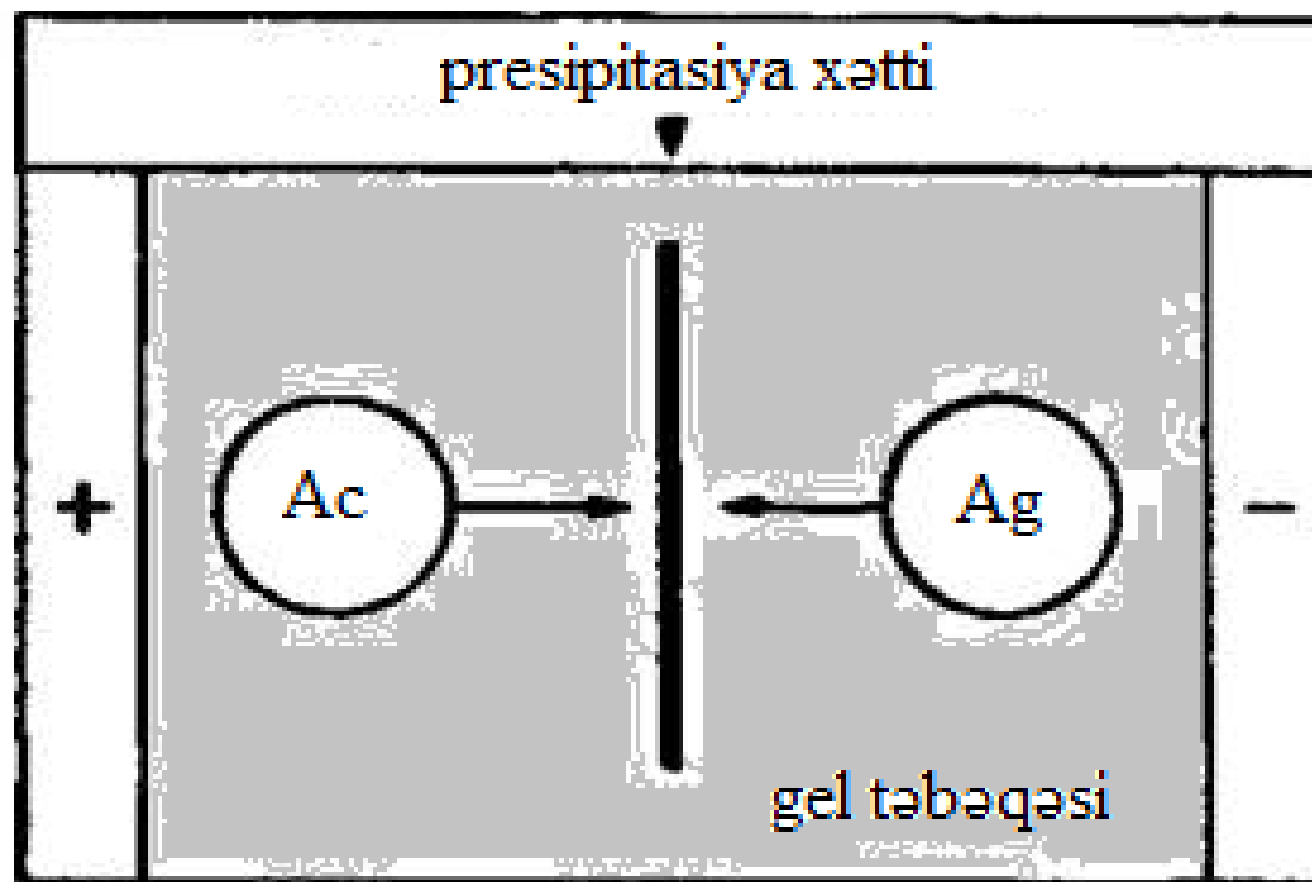
- **İmmunoelektroforez** mürəkkəb maddələrin antigen tərkibini öyrənmək üçün istifadə edilir. Əvvəlcə aqar təbəqəsində elektroforez vasitəsilə tərkib hissələrinə ayrılmış antigen presipitasiya reaksiyası vasitəsilə aşkar edilir.
- Bunun üçün antigen qarışığı geldəki çuxurcuğa tökülür və geldə elektroforez vasitəsilə ayrılır.
- Sonra elektroforez oxuna paralel açılmış kanalcıqlara immun zərdab əlavə edilir. Gelə diffuziya etmiş anticisimlərin antigenlərlə görüşmə yerində presipitat xətləri müşahidə edilir.



Müqabil immunoelektroforez

- Bu üsul aqar gelində elektrik sahəsinin təsiri altında antigen və anticisimlərin qarşı-qarşıya (müqabil) diffuziyası nəticəsində presipitasiya xətlərinin əmələ gəlməsinə əsaslanır.
- Şəffaf aqar geli təbəqəsində bir-birindən müəyyən məsafələrdə iki çuxurcuq açılır, bunlardan birinə antigen, digərinə isə zərdab əlavə edilir.
- Antigen əlavə edilmiş çuxurcuq anoda, zərdab əlavə edilmiş çuxurcuq isə katoda yaxın olmaqla sabit elektrik sahəsində yerləşdirilir.
- Müsbət reaksiya antigen və zərdab əlavə edilmiş çuxurcuqlar arasında presipitat xətlərinin əmələ gəlməsi ilə təzahür edir

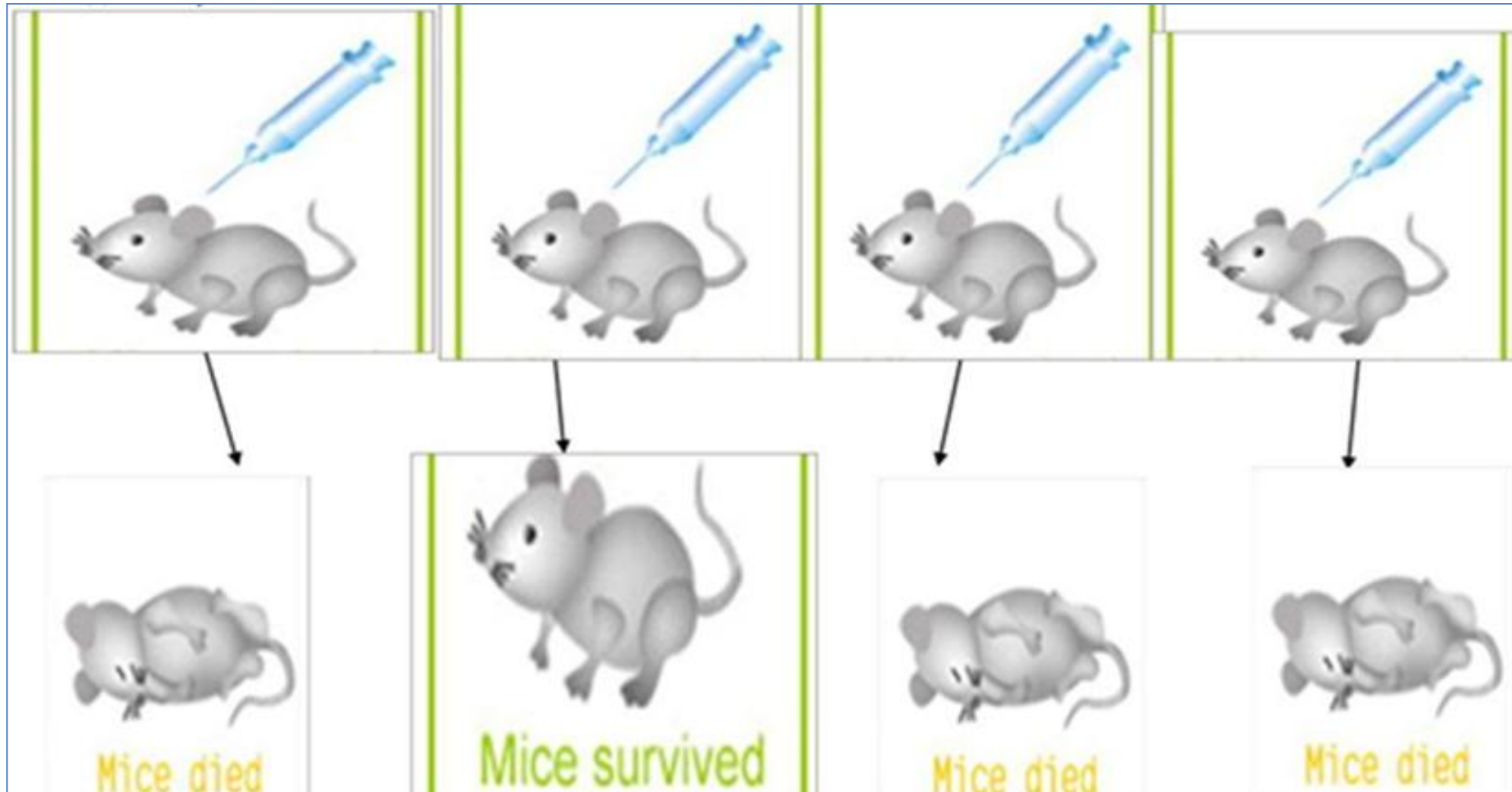
Müqabil immunoelektroforez



Neytrallaşma reaksiyaları

- Müvafiq anticisimlər mikroorqanizmlərin, yaxud onların toksinlərinin həssas bioloji obyektlərə – laborator heyvanlara, hüceyrə və toxuma kulturalarına, toyuq embrionlarına təsirini aradan qaldırır. Bu fenomen mikroorqanizmlərin, yaxud onların toksinlərinin müvafiq anticisimlərlə birləşərək neytrallaşması ilə əlaqədardır.
- ***Virusların neytrallaşma reaksiyasında*** müvafiq anticisimlərin təsirindən viruslar həssas laborator heyvanlarda xəstəlik törətmir, hüceyrə və toxuma kulturalarına sitopatik təsir göstərmir, eləcə də toyuq embrionlarında çoxalmırlar (müvafiq mövzuya bax!).
- ***Toksinin antitoksinlə neytrallaşma reaksiyasında*** tərkibində toksin olması ehtimal edilən material antitoksik zərdabla qarışdırılır, müəyyən müddət inkubasiya edildikdən sonra laborator heyvanlara yeridilir. Toksin neytrallaşdığı təqdirdə laborator heyvanlar sağ qalırlar, əks təqdirdə onların ölümü müşahidə edilir.

Toksinin antitoksinlə *in vivo* neytrallaşma reaksiyası



Flokulyasiya reaksiyası

- **Flokulyasiya reaksiyası** sınaq şüşəsində (*in vitro*) toksinin, yaxud anatoksinin antitoksinlə neytrallaşma reaksiyasıdır.
- Bu reaksiyadan antitoksik zərdabın, toksinin, yaxud anatoksinin aktivliyini təyin etmək üçün istifadə edilir. Aktivliyi əvvəlcədən məlum olan antitoksik zərdaba görə toksinin aktivliyini, yaxud da əksinə təyin etmək mümkündür.
- Məsələn, aktivliyi məlum olan antitoksik zərdabın müxtəlif durulaşmaları üzərinə müayinə edilən toksinin (anatoksinin) müəyyən miqdarı əlavə edilir. Bu zaman antigen və anticismın ekvivalent miqdarı olan sınaq şüşəsində presipitasiya reaksiyası (bulanıqlıq) daha tez müşahidə edilir (ilkin flokulyasiya). Buna əsasən toksinin aktivliyi təyin edilir.

