

Mövzu 5.

**İNFEKSİYA HAQQINDA MƏLUMAT.
MİKROORQANİZMLƏRİN(BAKTERİYA,
GÖBƏLƏK, VİRUSLAR) TÖRƏTDİYİ
İNFEKSİYALARIN PATOGENEZİ VƏ
DİAQNOSTİKASI (MİKROSKOPİK,
KULTURAL, SEROLOJİ, MOLEKULYAR-
GENETİK ÜSULLAR).
MİKROORQANİZMLƏRİN MÜASİR
İDENTİFİKASIYA ÜSULLARI.**

İnfeksion proses

*Mikroorqanizmlərin insan və heyvan orqanizmlərində parazitizmi özünü infeksiya (latınca, infektio- yoluxma, çirklənmə) şəklində göstərir. **İnfeksiya**, yaxud **infeksion proses** patogen mikroorqanizmin daxil olması və çoxalması nəticəsində mikroorqanizmdə baş verən bütün patoloji proseslərin cəminə deyilir.*

İbtidailər, helmintlər və həşaratların törətdiyi oxşar proseslər invaziya (latınca, invazio-hücum, müdaxilə) termini ilə ifadə edilir. İnfeksion prosesdə mikroorqanizmin makroorqanizm ilə qarşılıqlı təsiri patogenetik və klinik cəhətdən özünü infeksiyon xəstəlik kimi göstərir.

İnfeksion prosesin baş verməsi üçün üç əsas şərt lazımdır.

- a) Patogen mikroorqanizm***
- b) Həssas makroorqanizm***
- c) Xarici mühit faktorlarının olması***

1. Patogen mikroorqanizm

Xəstəlik törətmə qabiliyyətindən asılı olaraq bütün mikroorqanizmləri saprofit, patogen və şərti-patogen olmaqla 3 qrupa bölmək olar.

1. Saprofit mikroorqanizmlər (yunanca, sapos-çürüntü və phyton-bitki) ətraf mühitdə, eləcə də insan və heyvan orqanizmlərində kommensal kimi yaşayaraq xəstəlik törətmirlər.

2. Patogen mikroorqanizmlər (latınca, pathos-əzab, iztirab, genos-mənşə) isə həssas makroorqanizmə daxil olaraq infeksiya xəstəlik törədirlər. Patogen mikroorqanizmlərin müəyyən müddət orqanizmdən kənarda mövcud ola bilmək qabiliyyətinə baxmayaraq, makroorqanizmdə yaşaması onların bioloji növ kimi saxlanılması üçün vacibdir.

3. Şərti-patogen (opportunist) mikroorqanizmlər ancaq müəyyən şəraitdə xəstəlik törətmə qabiliyyətinə malik olurlar. Onların xəstəlik törətmə qabiliyyəti əsasən sahib orqanizmin vəziyyətindən asılı olur. Şərti-patogen mikroorqanizmlərə insanın normal mikroflorasının xəstəlik törədə bilən nümayəndələri və bir çox sərbəst yaşayan mikroorqanizmlər aiddir. Patogen mikroorqanizmlərdən fərqli olaraq şərti-patogen mikroorqanizmlərdə xəstəlik törətmə xüsusiyyəti onlar üçün vacib yaşayış forması olmayıb, yalnız simbiyotik münasibətlərin pozulmasının nəticəsidir. Patogen mikroorqanizmlə şərti-patogen mikroorqanizm arasındakı əsaslı fərq də məhz bundan ibarətdir.

Patogen mikroorqanizmlərin əsas xüsusiyyətləri

- **Патогенлик** – микроорганизмин хясталик тюрятма габилыйятиня дейилр (ейни нув цчцн сабит яламятдир)
- **Вирулентлик** (лат. **вирулентус** -зящярли) – патогенлийин дярсясидир (мцхтялиф амиллярин тясириндян дйишиля биляр)
-- Вирулентлийя тясир едян амилляр

Patogenlik. *İnfeksiyon prosesin baş verməsi üçün ən vacib şərtlərdən biri patogen mikroorqanizmin olmasıdır. Bunlar xəstəlik törədə bilməyən digər mikroorqanizmlərdən patogenliyinə görə fərqlənirlər.*

Mikroorqanizmin patoloji proses, yaxud xəstəlik törətmə qabiliyyətinə patogenlik deyilir.

Patogenlik hər bir mikroorqanizm növünün genetik əlamətidir və əksər patogenlər üçün spesifik xarakter daşıyır, başqa sözlə, hər bir patogen mikroorqanizm özünəməxsus xəstəlik törədir.

Mikroorqanizmlərin patogenliyi onların patogenlik amilləri ilə təmin olunur. Patogen mikroorqanizmlər saprofitlərdən məhz bu amillərin olması ilə fərqlənir. Göstərilən amillər mikroorqanizmlərin orqanizmə daxil olmasını, hüceyrə və toxumalara adheziyasını (birləşməsini), həmçinin orqanizmin müdafiə amillərindən qorunmasını təmin edir. Patogenlik amillərinə mikroorqanizm hüceyrələinin morfoloji strukturları, fermentlər və toksinlər aiddir. Bu amillər adətən makroorqanizmə ayrı-ayrılıqda deyil, kompleks halda təsir göstərirlər.

- Patogen mikroorqanizm ştamlarında patogenlik xüsusiyyəti müəyyən qədər fərqlənə bilər.
- Patogenliyin dərəcəsi **virulentliklə** (latınca, **virulentus** – zəhərli) ifadə edilir.
- Müəyyən növ mikroorqanizmin bütün ştammlarını virulentliyinə görə yüksək, zəif və avirulent ştammlara ayırmaq olar.
- Bir qayda olaraq yüksək virulentli ştammlar zəif virulentli ştammlara nisbətən daha ağır gedişli xəstəliklər törədirlər.
- Mikroorqanizmlərin patogenliyi sabit əlamət olsa da, onların virulentliyi nəzərə cəpacaq dərəcədə dəyişilə bilər.
- Virulentliyin dəyişilməsi – zəifləməsi, eləcə də güclənməsi fenotipik və genotipik xarakterli ola bilər.
- Virulentliyin fenotipik olaraq dəyişilməsinə səbəb olan amil aradan qalxdıqdan sonra o, əvvəlki səviyyəsinədək bərpa olunur.
- Virulentliyin dəyişilməsi genotipik xarakterli olduqda isə o,nəsildən nəsilə ötürülür.

Mikroorqanizmlərin əlverişsiz şəraitdə inkişafı, süni qidalı mühitlərdə uzun müddətli kultivasiya, yaxud zəif həssaslıqlı heyvan orqanizminə passaj edilməsi, eləcə də onlara müxtəlif fiziki və kimyəvi amillərin təsiri virulentliyin zəifləməsinə səbəb ola bilər. Bu amillərin uzun müddətli təsiri virulentliyin stabil zəifləməsi – **attenuasiya ilə nəticələnə bilər ki, bu prinsipdən vaksinlərin hazırlanmasında istifadə olunur.**

Mikroorqanizmləri həssas heyvanların orqanizminə passaj etməklə onların virulentliyini gücləndirmək mümkündür. Güman etmək olar ki, bu halda mikroorqanizmlərin populyasiyasında virulentli fərdlərin seleksiyası baş verir.



Attenuasiya prosesi nəticəsində alınmış BCG vaksini

*Laborator şəraitində mikroorqanizmlərin virulentliyi adətən laborator heyvanlar, xüsusən ağ siçanlar üzərində qiymətləndirilir. Bunun üçün **letal və infeksiyon** dozalar təyin*
e



Letal doza – müəyyən müddət ərzində təcrübə heyvanlarının müəyyən hissəsinin ölümünə səbəb olan canlı mikroorqanizmin və ya toksinin ən az miqdarıdır. Tədqiqatın məqsədindən asılı olaraq mütləq, minimal və orta ölüm dozaları təyin edilir.

***Mütləq ölüm dozası (DCL – dosis certa latalis)** – təcrübə heyvanlarının 100% - də ölüm törədən mikroorqanizmin və ya toksinin ən az miqdarına deyilir.*

***Minimal ölüm dozası (DLM – dosis letalis minima)** – təcrübə heyvanlarının əksəriyyətinin – təqribən 90% - nin ölümünə səbəb olan mikroorqanizmin və ya toksinin ən az miqdarıdır.*

***Orta ölüm dozası (LD50)** – təcrübə heyvanlarının təqribən yarısının-50% - nin ölümünə səbəb olan mikroorqanizmin və ya toksinin dozasıdır. Virulentliyin qiymətləndirilməsi üçün bu dozadan daha çox istifadə olunur.*

İnfeksion dozalar – yoluxdurulmuş təcrübə heyvanlarının müəyyən hissəsində xəstəlik törədə bilən mikroorqanizmlərin minimal miqdarına deyilir.

***İnfeksion doza** – yoluxdurulmuş təcrübə heyvanlarının müəyyən hissəsində infeksiya xəstəlik törədə bilən mikroorqanizmlərin minimal miqdarıdır. Mütləq və orta infeksiya dozalarından daha çox istifadə olunur.*

***Mütləq infeksiya doza (ID_{100})** – yoluxdurulmuş təcrübə heyvanlarının 100% - də infeksiya xəstəlik törədə bilən mikroorqanizmlərin minimal miqdarıdır.*

***Orta infeksiya doza (ID_{50})** - yoluxdurulmuş təcrübə heyvanlarını təqribən yarısında – 50% - də infeksiya xəstəlik törədə bilən mikroorqanizmlərin miqdarıdır.*

İnfeksion prosesin mərhələləri

- *Mikroorqanizmin orqanizmə daxil olması – İnfeksiyanın giriş qapısı yoluxma*
- *Adaptasiya və adheziya*
- *Kolonizasiya (lat.colonia-məskunlaşma)*
- *Disseminasiya (lat.disseminare-yayılma)*
- *Orqanizmin müdafiə amillərinin mobilizasiyası*
- *İnfeksion prosesin sonluğu və nəticələri*
 - *sanasiya, immunitetin formalaşması, ölüm, mikrob gəzdiricilik*

Mikroorqanizmlərin patogenlik amilləri

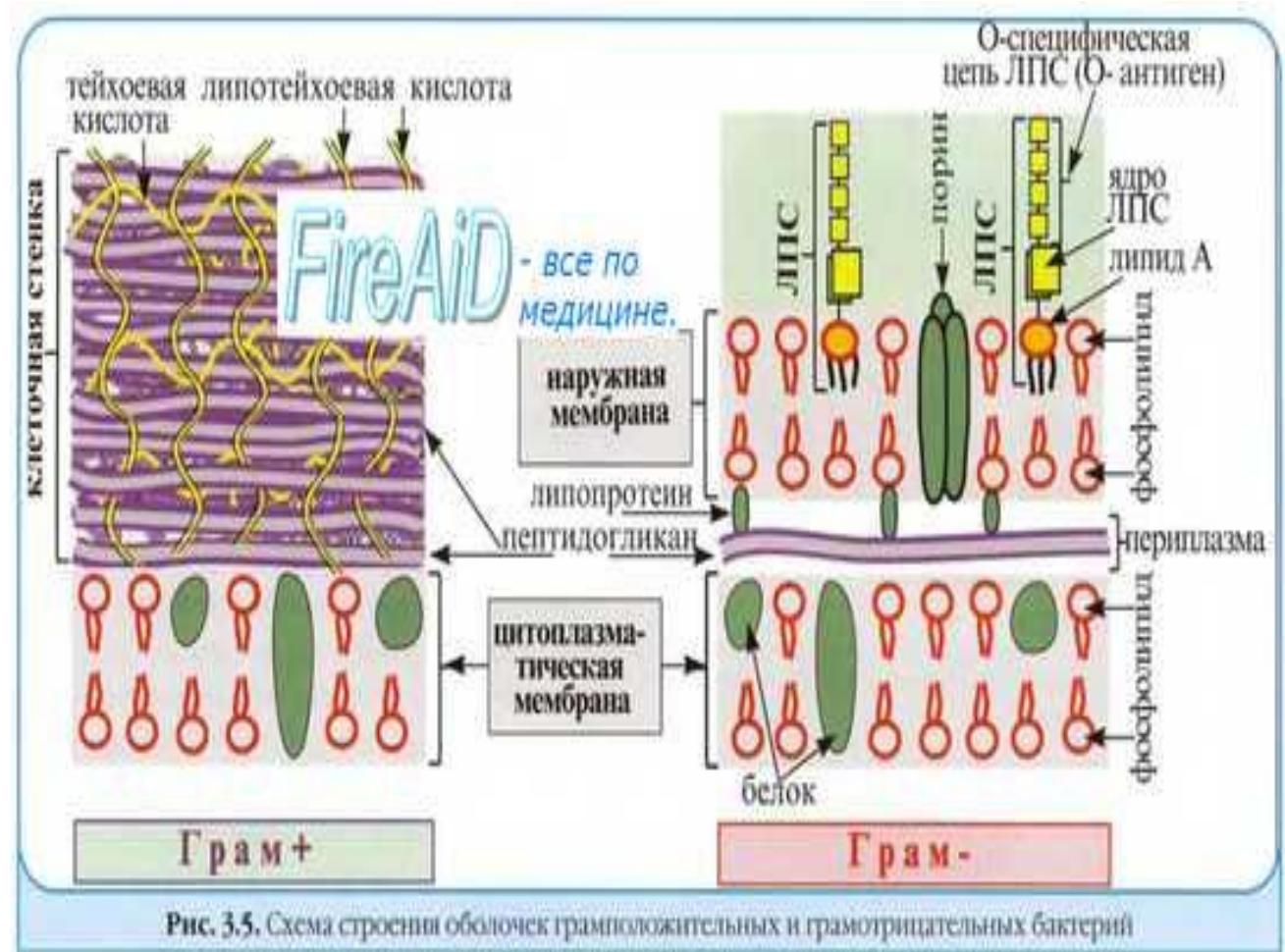
Patogenlik amillərinə

- *mikroorqanizm hüceyrələrinin morfoloji strukturları*
- *fermentlər və*
- *toksinlər aiddir.*
- *Bu amillər kompleks halda təsir göstərir.*

***Adheziya** (latınca adhesion- yapışma) – mikroorqanizmlərin müvafiq sahib orqanizmin hüceyrələrinə və toxumalarına yapışma xüsusiyyətidir. Pililərlə, adhezin və ya liqandlarla təmin olunur.*

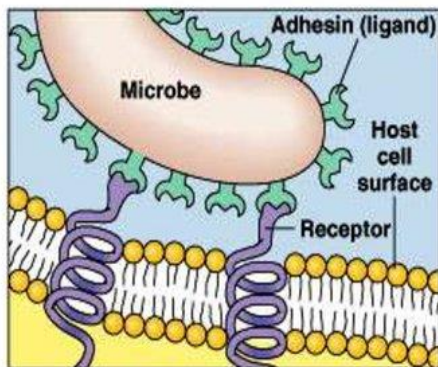
*Mikroorqanizmlərin hüceyrə və toxumalara adheziyası **liqand-reseptor birləşmə mexanizmi** ilə baş verir.*

- Qram müsbət bakteriyalarda isə bakteriyaların sahib hüceyrələrlə qarşılıqlı liqand-reseptor birləşmə mexanizmində adhezinlər rolunu əsasən səthi zülallar və teyxoat turşusu yerinə yetirir.
- Qram mənfi bakteriyalarda adhezinlər rolunu əsasən
- *adheziv pililər,*
- *xarici membranın zülalları və lipopolisaxaridləri* yerinə yetirir.

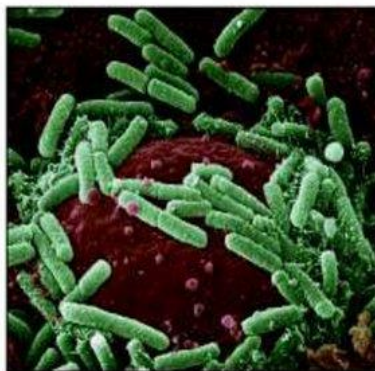


Adheziya

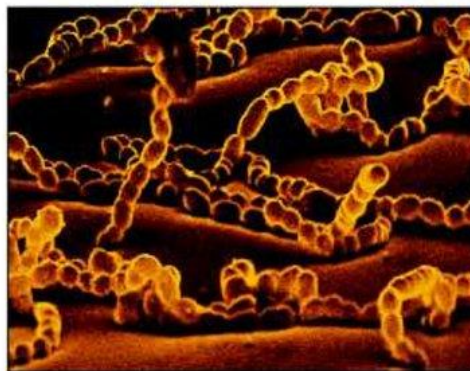
Адгезия бактерий на клетках хозяина



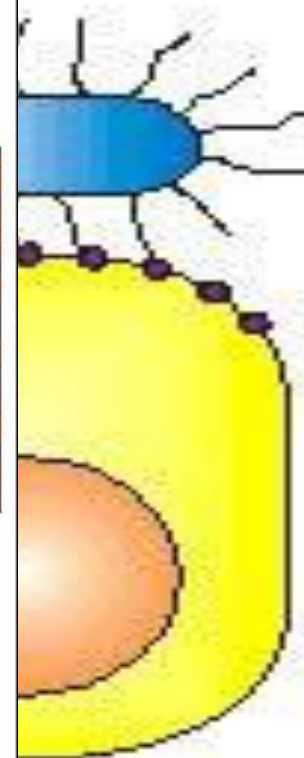
(a) Surface molecules on a pathogen, called adhesins or ligands, bind specifically to complementary surface receptors on cells of certain host tissues.



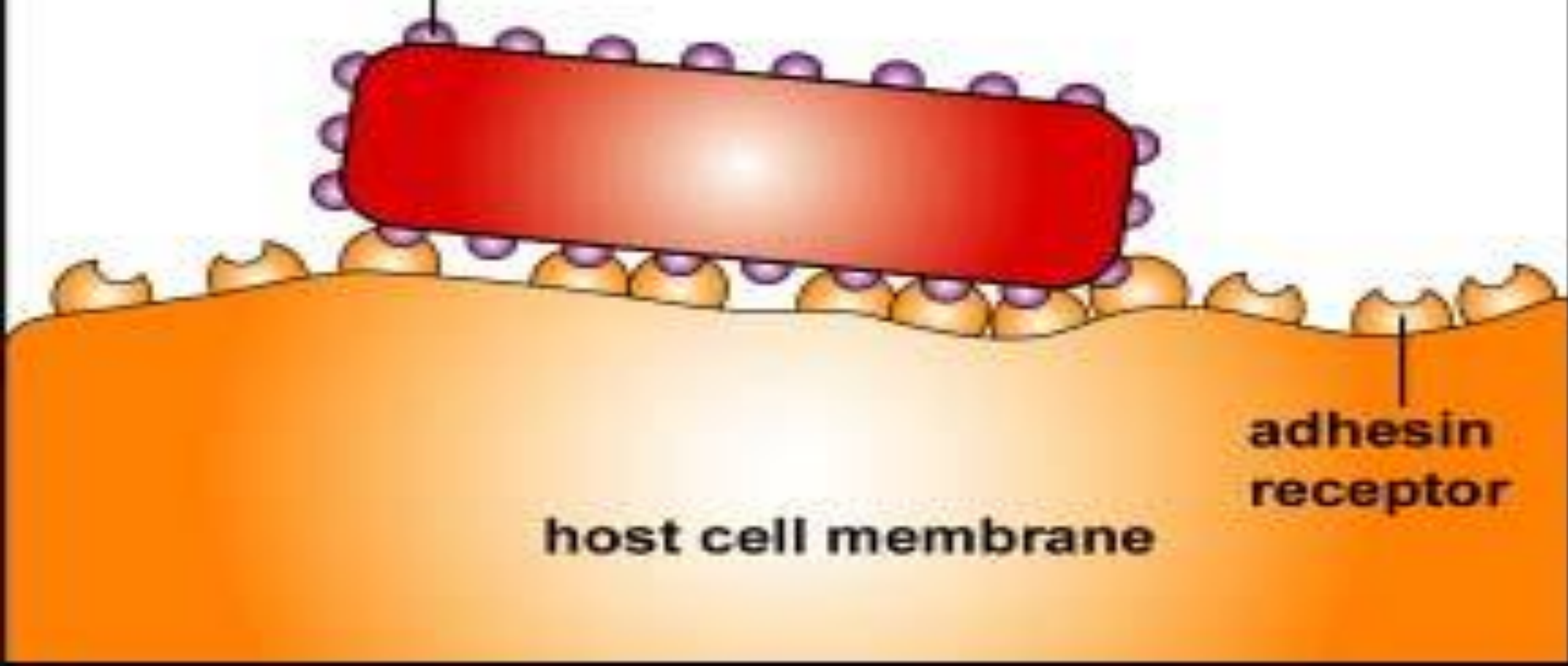
(b) *E. coli* bacteria (green) on human bladder cells.



(c) Bacteria adhering to human skin.



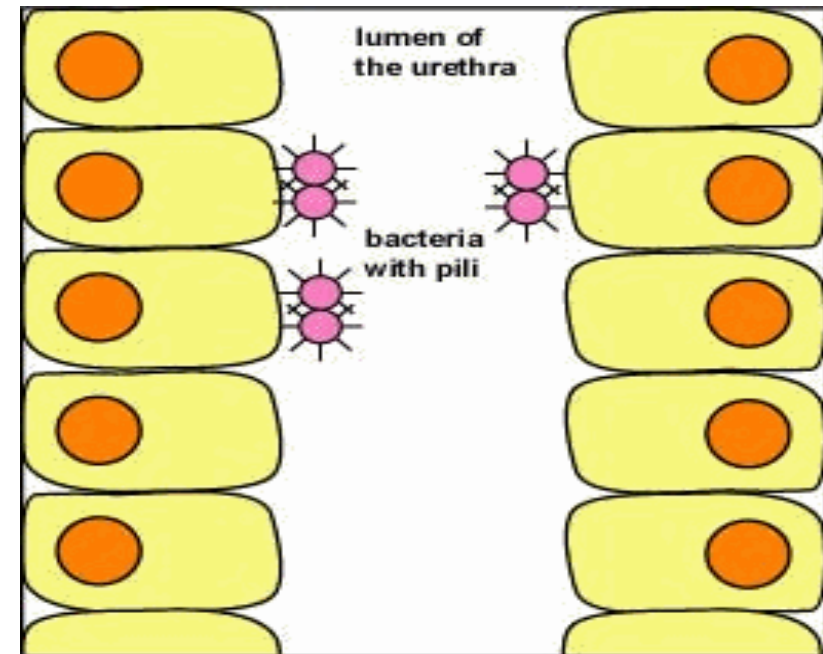
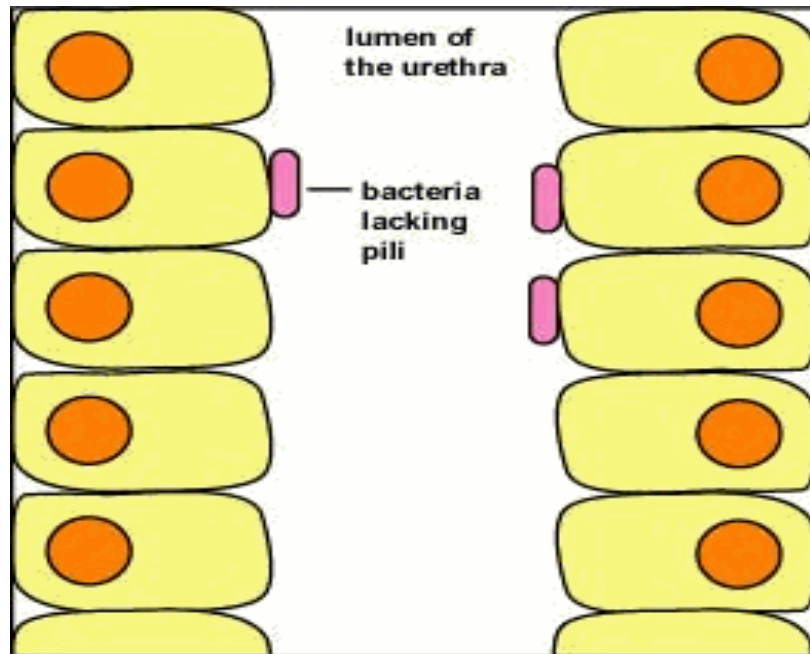
**adhesins in the
bacterial cell wall**



**adhesin
receptor**

host cell membrane

Adheziyanin patogenlikdə rolu



Kolonizasiya (latınca, **colonia-** məskunlaşma). Adheziya olunduqdan sonra mikroorqanizmlərin müəyyən sahələrdə kolonizasiyası- çoxalması və məskunlaşması başlayır. Bu hüceyrələrin həm daxilində, həm də səthində baş verə bilər. Məsələn, vəbanın törədicisi həm nazik bağırsaq epitelisinin səthində dizenteriyanın törədiciləri isə yoğun bağırsaq epitelinin daxilində çoxalırlar.

İnvazivlik – mikroorqanizmlərin toxuma və hüceyrələrə nüfuz etmək qabiliyyətidir. Penetrasiya (mikroorqanizmlərin sahib hüceyrələrə daxil olması) invazinlərlə təmin olunur. İnvazinlərin sahib hüceyrələrin səthindəki xüsusi reseptorlarla – **inteqrinlərlə** qarşılıqlı təsiri bakteriyanın endositozu – “udulması” ilə nəticələnir.

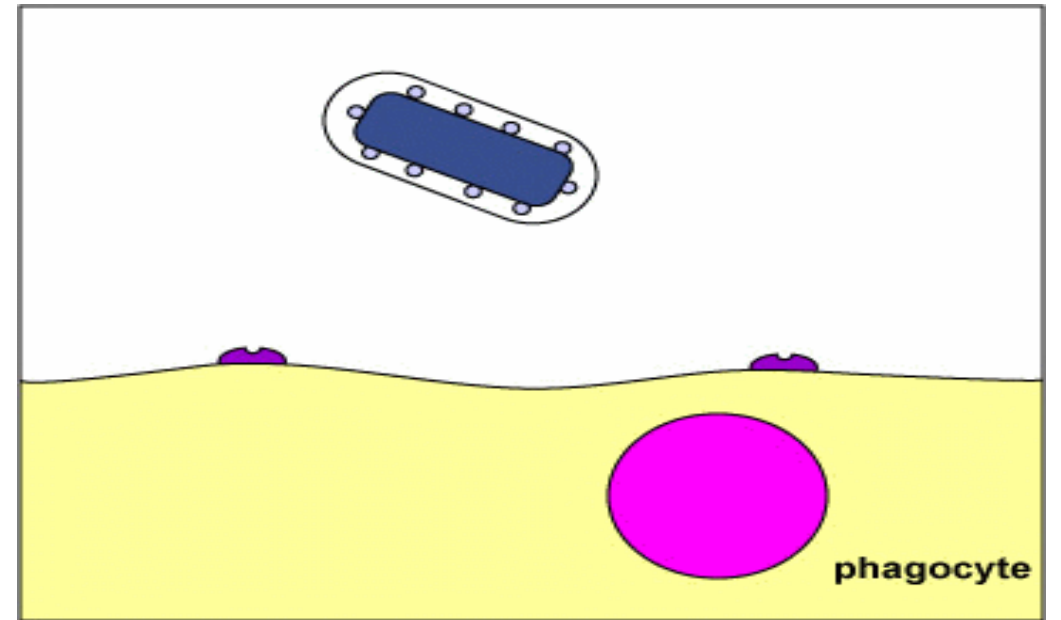
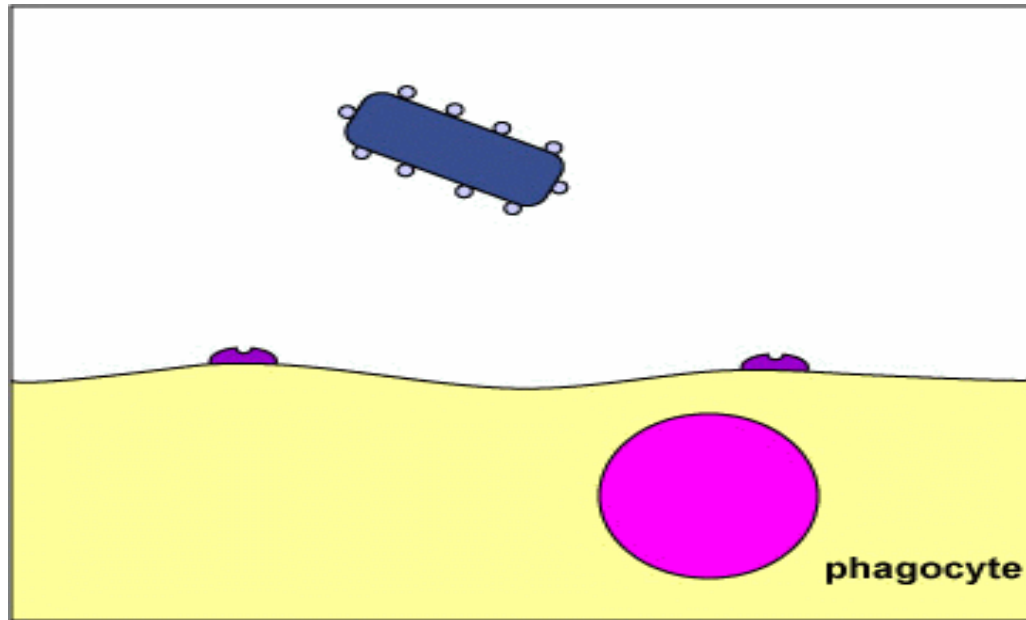
Aqressiya fermentləri

- ***Hialuronidaza***
- ***Lesitinaza***
- ***Neyraminidaza***
- ***Kollagenaza***
- ***Plazmakoaqulaza***
- ***Fibrinolizin***
- ***Sitolizin(hemolizin, leykosidin, İgA1 proteaza***

Faqositozdan müdafiə amilləri

- *Kapsula, mikrokapsula, selik*
- *Xemotaksisin zəiflədilməsi*
- *Hüceyrədaxili killinqdən müdafiənin digər amilləri*
- *Natamam faqositoz- “Troya atı”fenomeni*

Kapsula faqositozdan qoruyur



Bakteriya toksinləri

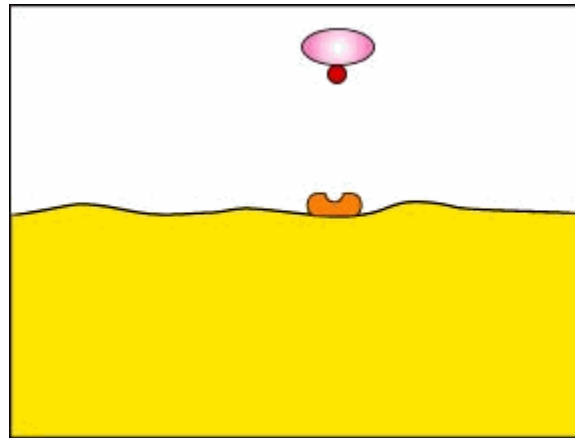
- ***Зцлали токсинляр*** – «екзотоксинляр»
 - А синиф токсинляр*** – хариси мцщитя ифраз олунур-
дифтерийа токсини
 - Б синиф токсинляр*** – микроб щцсейряси иля щиссяви ялагядар
олур вя хариси мцщитя щиссяви ифраз олунур-
тетанус вя ботулизм токсинляри
 - С синиф токсинляр*** – микроб щцсейряси иля ялагяли токсинляр,
микроб щцсейрясинин мящвиндян сонра харися чыхыр-
Сщизелла дйсентериае токсини
- ***Ендотоксинляр***

Bakteriya toksinləri

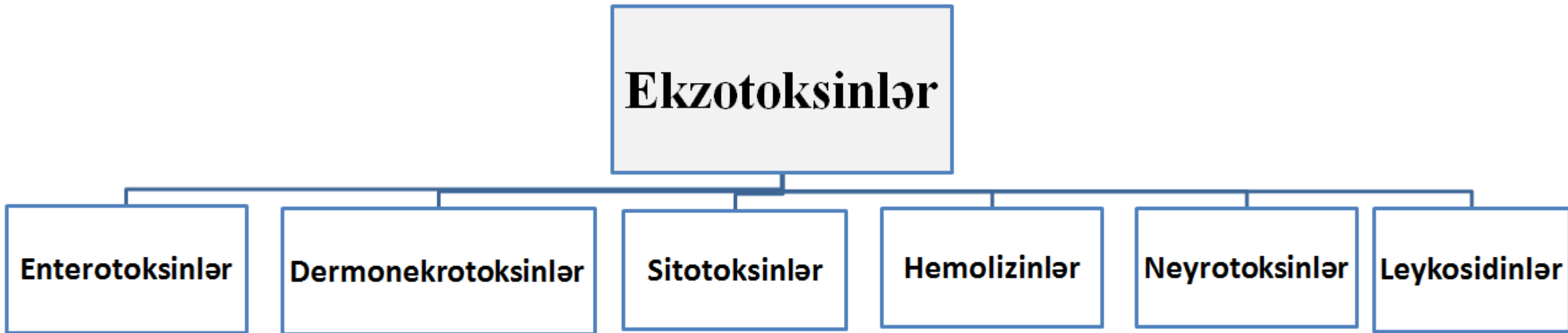
- **Sadə toksinlər**— funksional cəhətdən qeyri-aktivşəkildə, vahid polipeptid zəncir (прототоксин) şəklində sintez olunur, proteazaların təsirindən aktiv **B - A strukturuna** çevrilir.
 - **B hissə** toksik olmayaraq nəqliyyat funksiyası daşıyır, müvafiq reseptorlarla qarşılıqlı təsirdə olaraq toksik xassəyə malik A hissəsinin hüceyrəyə daxil olmasını təmin edir.
 - **A hissə** fermentativ aktiliyə malikdir, ancaq B hissə olduqda fəaldır.
- **Mürəkkəb toksinlər** hazır B və A strukturu şəklində sintez olunur.

<i>Ekzotoksinlər</i>	<i>Endotoksinlər</i>
<i>Canlı mikrob hüceyrələri tərəfindən sintez olunur maye kultivasiya mühitində yüksək konsentrasiyada toplanırlar.</i>	<i>Qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının tərkib hissəsi olmaqla bakteriya hüceyrəsi məhv olduqdan sonra xaric olurlar.</i>
<i>Həm qram müsbət həm də qram mənfi bakteriyalar tərəfindən sintez olunurlar.</i>	<i>Ancaq qram mənfi bakteriyalarda olur.</i>
<i>Molekul kütləsi 10000-900000 D olan polipeptiddir.</i>	<i>Lipopolisaxarid kompleksidir. Toksigenliyi tərkibində olan lipid A ilə əlaqədardır.</i>
<i>Nisbətən termolabildirlər 60 C-dən yüksək temperaturda tez bir zamanda parçalanırlar.</i>	<i>Nisbətən termostabildirlər 60 C-dən yüksək temperaturda bir saat müddətində toksikliyi itirmirlər.</i>
<i>Yüksək antigenlik xassəsinə malikdirlər.</i>	<i>Zəif antigenlik xassəsinə malikdir.</i>
<i>Bəzi amillərin təsiri ilə anatoksinə çevrilirlər ki bundan da vaksin kimi istifadə edilir.</i>	<i>Anatoksinə (toksoidə) çevrilmirlər.</i>
<i>Yüksək toksikliyə malikdirlər.</i>	<i>Zəif toksikliyə malikdir.</i>
<i>Orqanizmdə qızdırma reaksiyası törətmirlər.</i>	<i>İnterleykin-1 in azad olması ilə qızdırma reaksiyası törədirlər.</i>
<i>Produksiyası xromosomdan kənar genlərlə təmin oluna bilər.</i>	<i>Produksiyası ancaq xromosomdakı genlərlə təmin olunur.</i>
<i>Orqan və toxumalara seçici təsir göstərirlər.</i>	<i>Seçici təsirə malik deyillər.</i>

Ekzotoksinin(A-B) hüceyrəyə daxilolma mexanizmi



Hədəf hüceyrələrdə olan spesifik reseptorla birləşmə xüsusiyyətinə görə ekzotoksinləri bir-neçə qrupa bölmək olar.



Ekzotoksinlərin təsir mexanizmi

- *Щцсейря мембраныны зядяляйян токсинляр* - *E.coli*, *L.monocytogenes*, *S.pyogenes*, *S.aureus*, *C.perfringens*
- *Зцлал синтезинин инэибиторлары*
- *икинсили метаболитик йолларын активляшдирилмяси* - *Tetanus toksini*, *Difteriya toksini*, *Vəba törədicisinin toksini*
- *протеазалар*
- *иммум савабы активляшдирянляр- суперантеэенляр*

Нүсeүрә мембранını zәdәләүән токсинләр

Щцсейря мембранынын ферментатив щидролиз:

-С.перфринэенс алфа-токсини

Щцсейря мембранында мясамяляр ямяля эятир:

-Е.соли щемолизини,

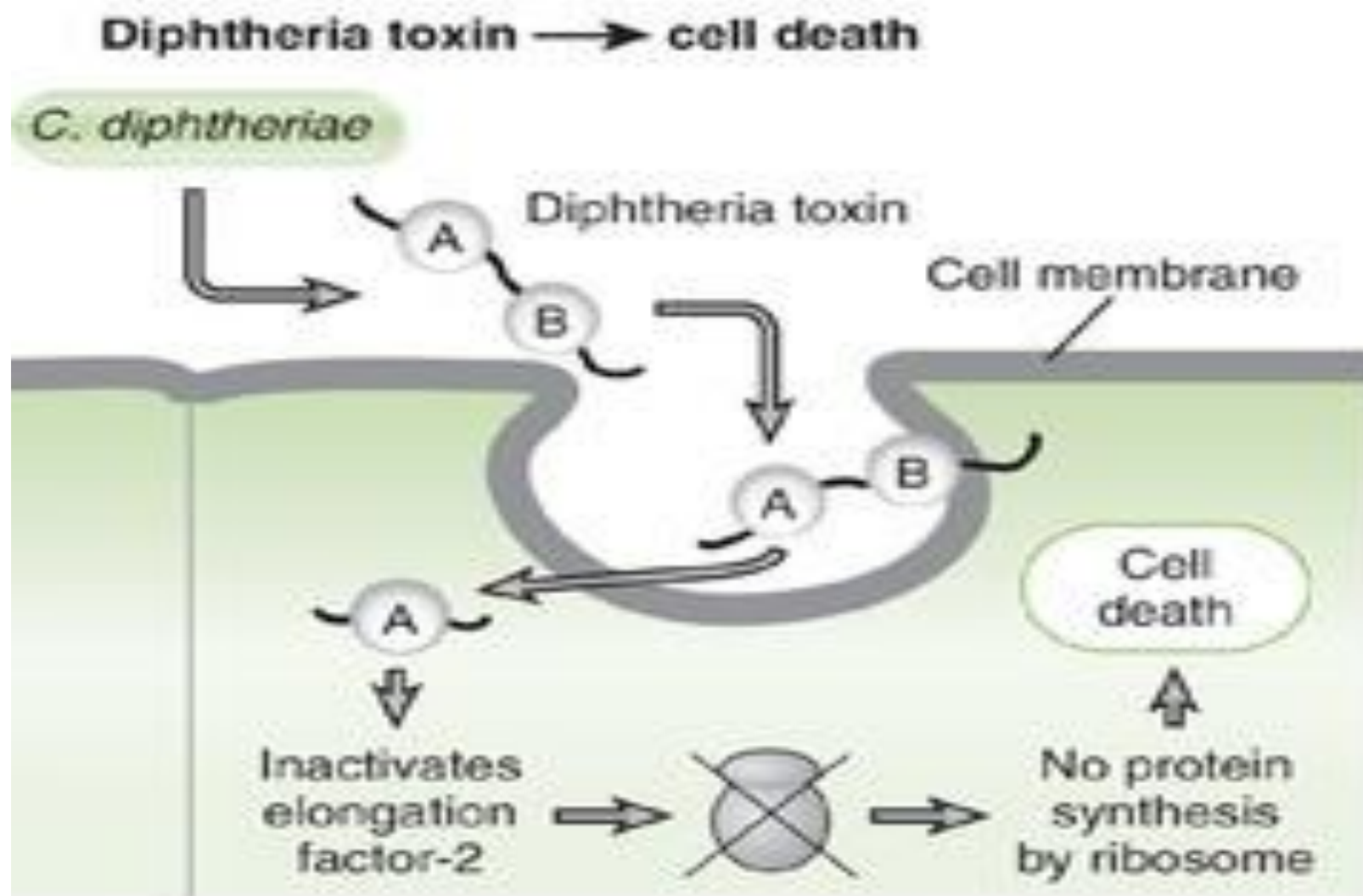
-Листерийаларын О-листериолизини,

-Стерептококларын О-стрептолизини

Zülal sintezinin inhibitorları

- *Елонгасийа аминя вя рРНТ-йя тясир:*
 - С. дипщтеридае щистотоксини
 - Щ.дйсентеридае токсини

C.diphtheria toksininin təsir mexanizmi



İkincili metabolik yolların aktivləşdirilməsi

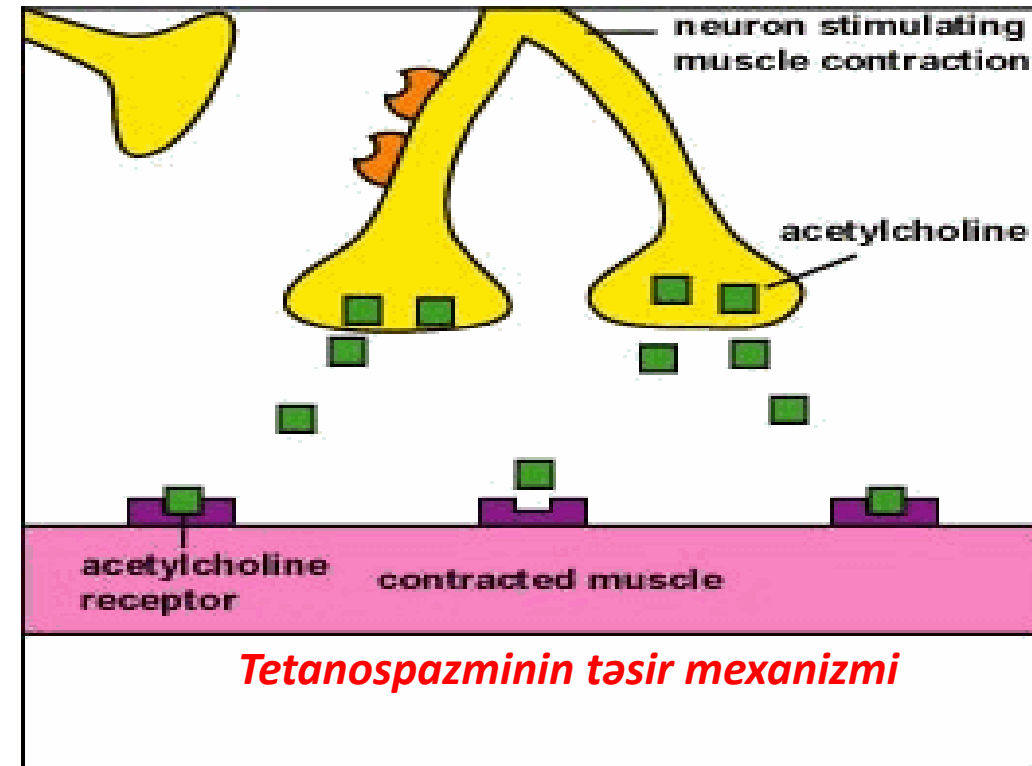
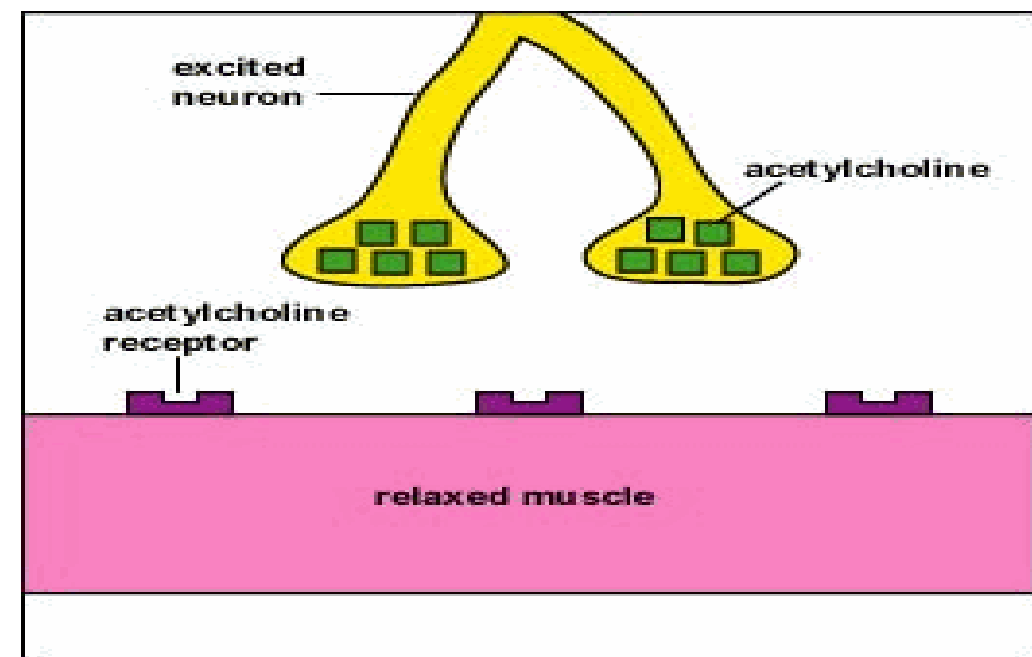
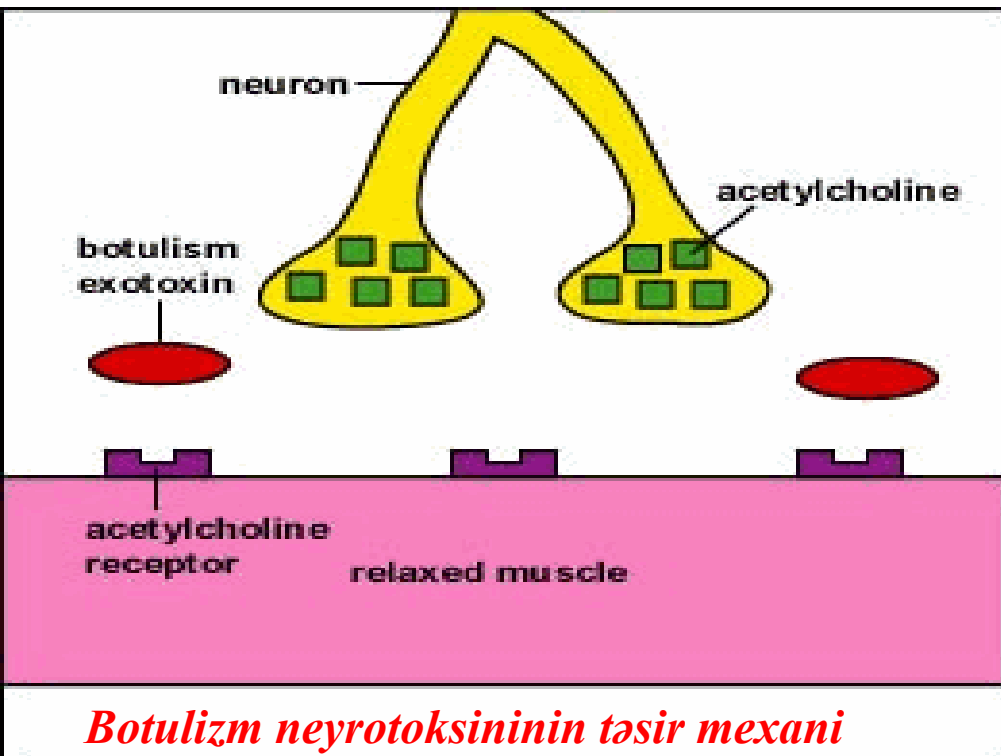
- *Щцсейряляри юлджрмядян онун айры-айры зцлалларынын функцийасына тясир едирляр. Бу заман икинсили метаболитик йолларын активляшдирилмяси щесабына щцсейрянин функцийасынын дяйишмяси (артмасы вя йа азалмасы, щабеля тящрифи) баш верир*
- ***В.щолерае -холероэен токсин***
- ***Б.антищрасис - юдем амили***

Hüceyrədaxili hədəflərə təsir göstərən toksinlər

-- *Neyrotoksinlər*

➤ *Tetanus*

➤ *Botulizm*



İmmun cavabin aktivatorlari- superantigenlər

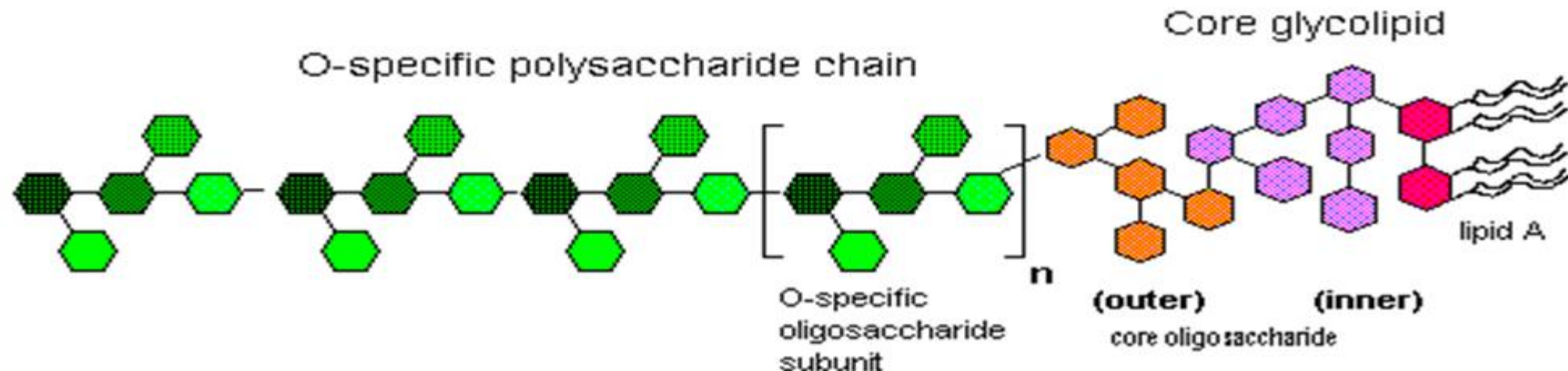
- *Тясирляри иммуностимулятор эффектля ялагядардыр.
Макрофагларын вя / вя йа Т-лимфоситлярин сятщиндя олан МНС-II sinif) антиэенляри иля бирляширляр.
Бу, илтищаби реаксийаларі тюрядян ситокинлярин массив
продуксийасына сябяб олур*
- *--С.ауреус токсинляри*

Endotoksinlər

Lipopolisaxarid kompleksindən ibarət olaraq qram mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının tərkibiünə daxildir, hüceyrə məhv olduqdan sonra təsir göstərir.

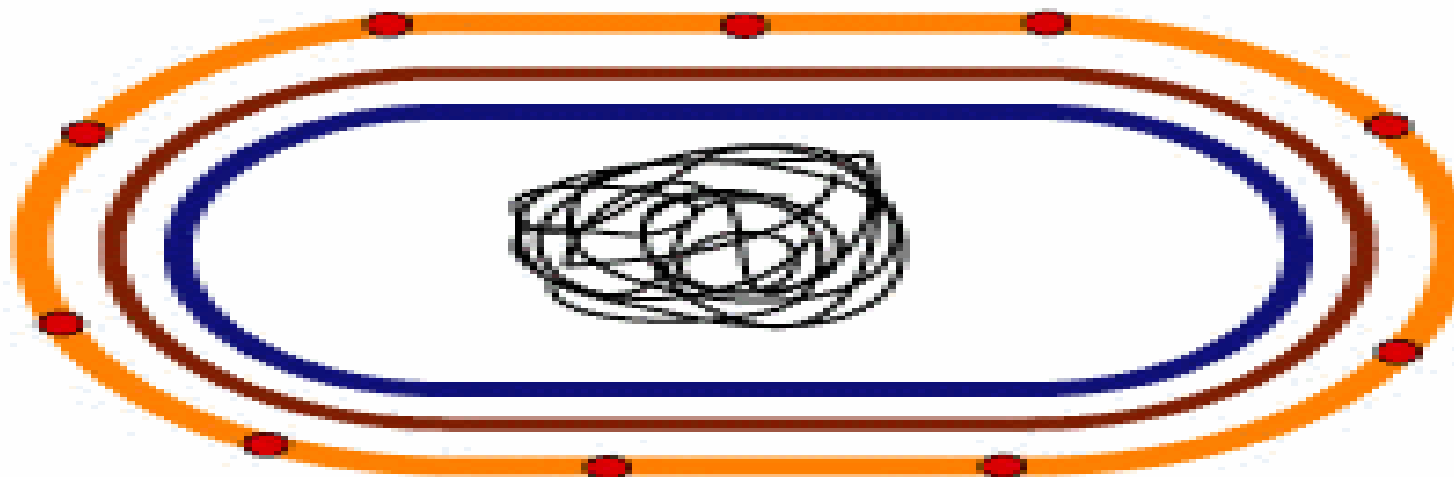
--- polisaxarid kompleksi immunogenliyi təmin edir

----lipid kompleksi (lipidA) toksigenliyi təmin edir



Endotoksinin təsir mexanizmi

DEATH OF GRAM-NEGATIVE BACTERIUM
AND RELEASE OF LPS (ENDOTOXIN)



2. Həssas makroorqanizm

- Yaşın rolu (*«uşaq infeksiyaları»*)
- Sinir sisteminin vəziyyəti
- Endokrin sisteminin vəziyyəti
- Qidalanmanın rolu
- Cinsin əhəmiyyəti
- Irsi amillər
- Immun sistemin vəziyyəti
- Normal mikrofloranın rolu
(*kolonizasiya rezistentliyi*)

Xarici mühit amillərinin rolu

- **Temperaturun təsiri** («soyuqlama» xəstəlikləri)
- **Şüalanmanın təsiri**
- **İctimai amillərin təsiri** («ictimai xəstəliklər»)
- **Antropogen və ekoloji amillərin təsiri** (təbii fəlakətlər)
- **Yatrogen amillərin təsiri**

infeksiya mənbəyi

- Antroponoz infeksiyalar*
- Zoonoz infeksiyalar*
- Sapronoz infeksiyalar*

İnfeksiyanın yoluxma mexanizmləri

- ***Hava-damcı mexanizmi*** - törədici əsasən yuxarı tənəffüs yollarında lokalizasiya olunur, danışdıqda, öskürək və asqırma zamanı xarici mühitə yayılır, hava-damcı, yaxud hava-toz yolu ilə yoluxur. Tənəffüs yolları infeksiyalarının törədiciləri bu mexanizmlə yoluxur.
- ***Fekal-oral mexanizm*** – törədici əsasən bağırsaqlarda lokalizasiya olunur, ətraf mühitə nəcislə xaric olunur və alimentar yolla (qida yolu, su yolu) yoluxur. Bağırsaq infeksiyaları bu mexanizmlə yoluxur.
- ***Təmas mexanizmi*** – törədicilər müxtəlif yerlərdə lokalizasiya oluna bilər, eləcə də müxtəlif yollarla xarici mühitə yayıla bilər.
 - *Birbaşa və dolayı təmas* vasitəsilə yoluxma mümkündür.
- ***Transmissiv mexanizm***. Törədici xəstə insanın, yaxud heyvanın qanında olur və qansoran həşaratlar vasitəsilə yoluxur (malyariya, səpgili yatalaq və s.).
 - *Parenteral yoluxma yollarını* da transmissiv mexanizmə aid etmək olar.

İnfeksion xəstəliyin formaları

- *Ekzogen və endogen(autoinfeksiya)*
- *Kəskin və xroniki*
- *Tipik və atipik*
- *silinmiş, simptomsuz(latent) ildırımvari(fulminant), abortiv*
- *Mono, qarışıq və ikincili infeksiyalar*
- *Reinfeksiya, superinfeksiya və residiv*
- *Yerli və generalizasiyalı*
- *Bakteriemiya, toksinemiya, virusemiya, sepsis*

İnfeksiyon xəstəliklərin xüsusiyyətləri

- Hər bir infeksiyon xəstəliyinin **özünəməxsus törədicisi (etioloji amili)** vardır, başqa sözlə hər bir patogen mikroorqanizm yalnız müəyyən xəstəlik (yaxud, xəstəliklər) törədir.
 - Bakterial infeksiyalar, virus infeksiyalar, mikozlar
 - Protozoolar, helmintozlar, infestasiyalar
- İnfeksiyon xəstəlik **yoluxuculuq xüsusiyyətinə** malikdir.
 - **Kontagiozluq indeksi** -infeksiya mənbəyi ilə təmasda olmuş şəxslər arasında xəstələnənlərin sayının təmasda olan şəxslərin sayına olan nisbətini ifadə edir.
- İnfeksiyon xəstəlik **dövrü gedişə** malikdir
- İnfeksiyon xəstəlikdən sonra **qazanılmış immunitet** formalaşır

İnfeksiyon xəstəliyinin dövrləri

- ***Gizli (inkubasiya) dövrü***
- ***Prodromal dövr***
- ***Klinik əlamətlər dövrü***
- ***Rekonvalesensiya dövrü(sanasiya, xronizasiya, mikrob
gəzdiricilik, ölüm)***

Virus infeksiyalarının xüsusiyyətləri

- ***Produktiv tip***
- ***Abortiv tip***
- ***İnteqrativ tip***

İnfeksiyon xəstəliyinin yayılma formaları

- ***Pandemiya***
- ***Epidemiya***
- ***Endemiya***
- ***Sporadiya***

İnfeksiyon xəstəliklərin DİAQNOSTİKASI

Kliniki diaqnoz

Etioloji diaqnoz

Birbaşa

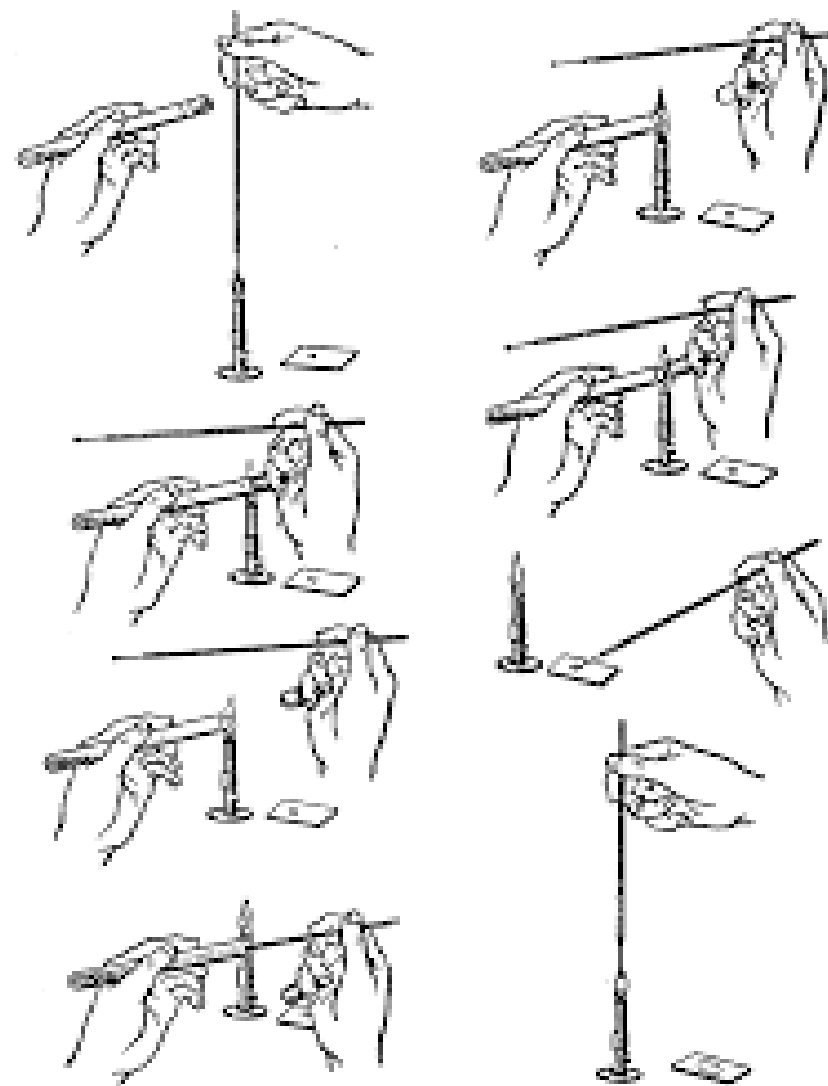
- mikroskopik
- kultural

Dolay

- Seroloji
- Dəri sınaqları
- Molekulyar-genetik üsullar (ZPR)

Mikroskopik üsul

- Mikroskopik üsulun köməylə müayinə materialında mikroorqanizmlərin olması və onların morfolojiyası müəyyən edilir.
- Əlavə elementlər - kapsula, spora, flagellalar, başqa əlavələr - volyutin dənəcikləri də təyin edilir.
- Bir çox mikroorqanizmləri morfoloji və tinktorial xüsusiyyətlərinə əsasən təyin etmək mümkün olmadığından mikroskopik üsul təxmini diaqnostik üsul hesab edilir.



Mikroskopik müayinə üsulu

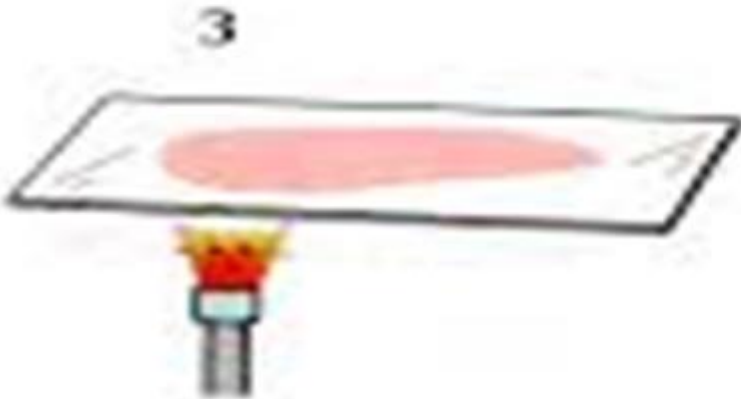
Yaxmanın hazırlanma mərhələləri



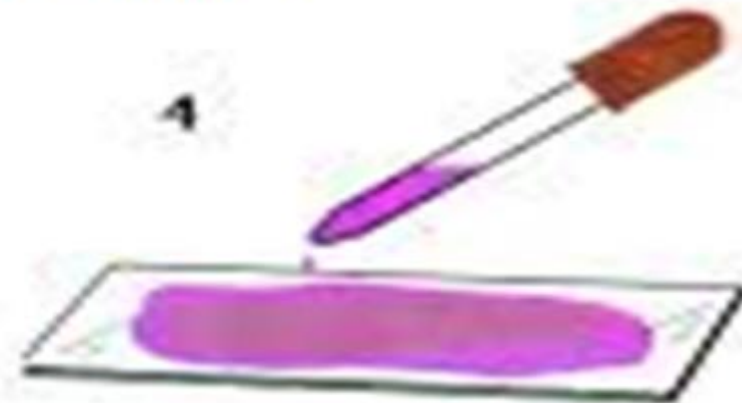
Əşya şüşəsinin üzərinə 1 damla fizioloji məhlul qoyulur



üzərinə bioloji material qoyaraq yayılır



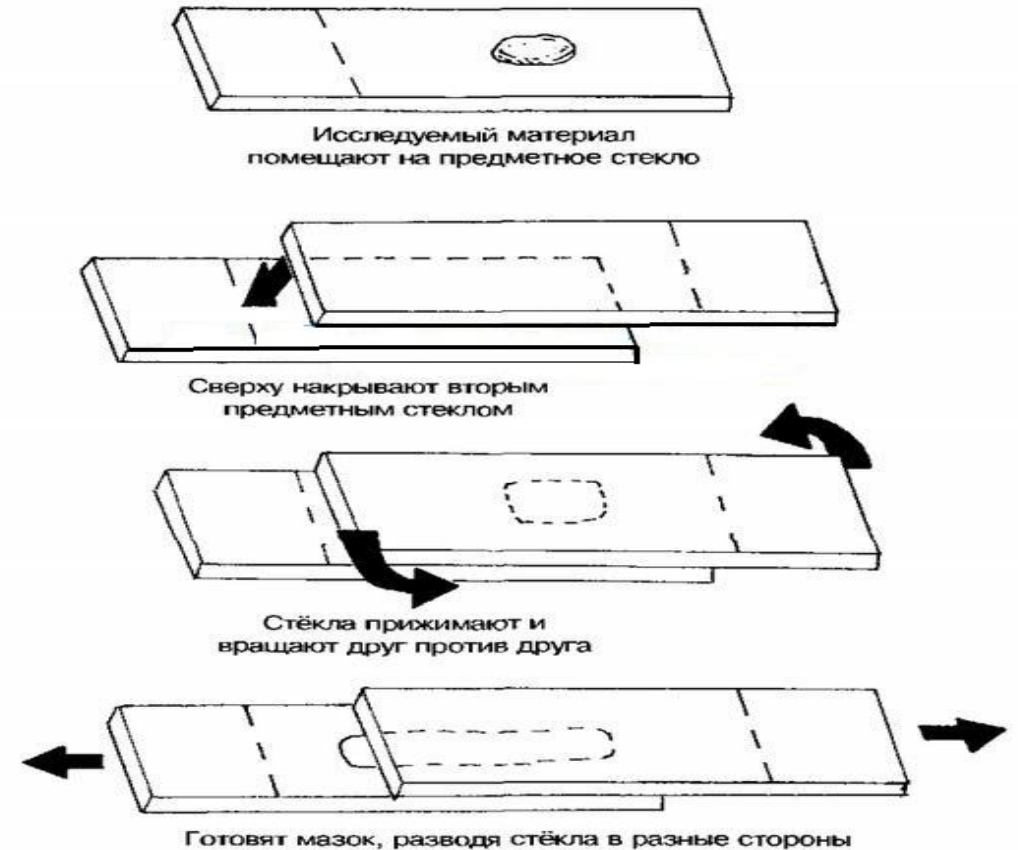
qurudulur və fiksasiya olunur



Üzərinə boyaq əlavə edərək rənglənilir

İrindən və bəlğəmdən yaxmanın hazırlanması

- İrindən və bəlğəmdən yaxma hazırlamaq üçün hər iki əşya şüşəsi yağsızlaşdırılır.
- Birinin üzərinə ilgəklə bir damla material qoyulur, ikinci əşya şüşəsi birincinin üzərinə qoyulur, yüngülcə sıxılır, toxuma və ya material əzilir, əks istiqamətdə hərəkət edirməklə yaxma hazırlanır



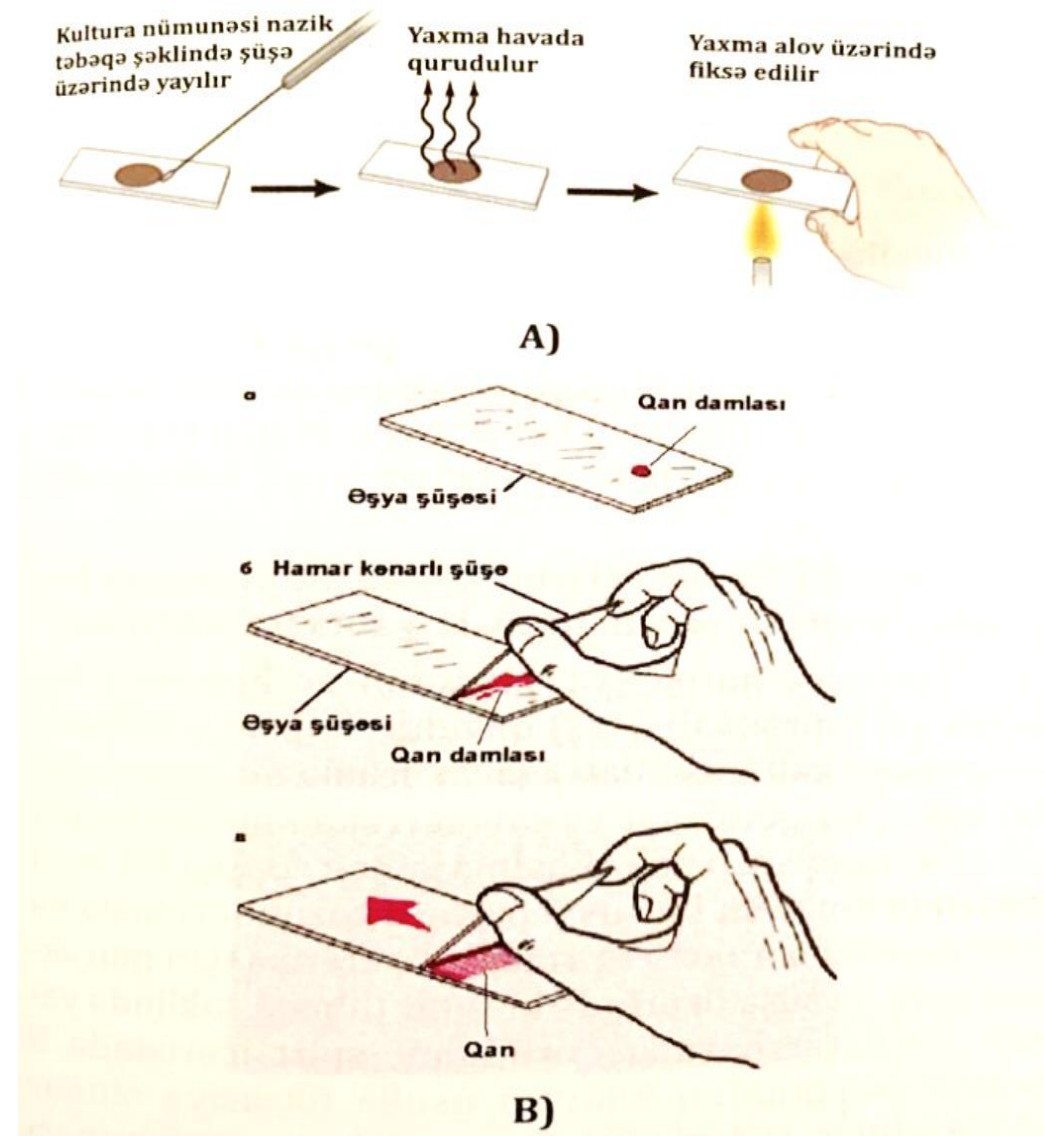
Qandan yaxmanın hazırlanması

➤ **“Qalın” damla preparatı** –hazırlamaq üçün əşya şüşəsi üzərinə 1-2 damla qan qoyulub, ilgəklə təqribən 1 sm diametr böyüklükdə yayılır.

➤ Qanda parazitləri görmək üçün hazırlanır.

➤ **“Nazik” qan yaxması** – yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsinin kənarına 1 damla qan qoyulub 45° bucaq altında digər əşya şüşəsi ilə yayılır.

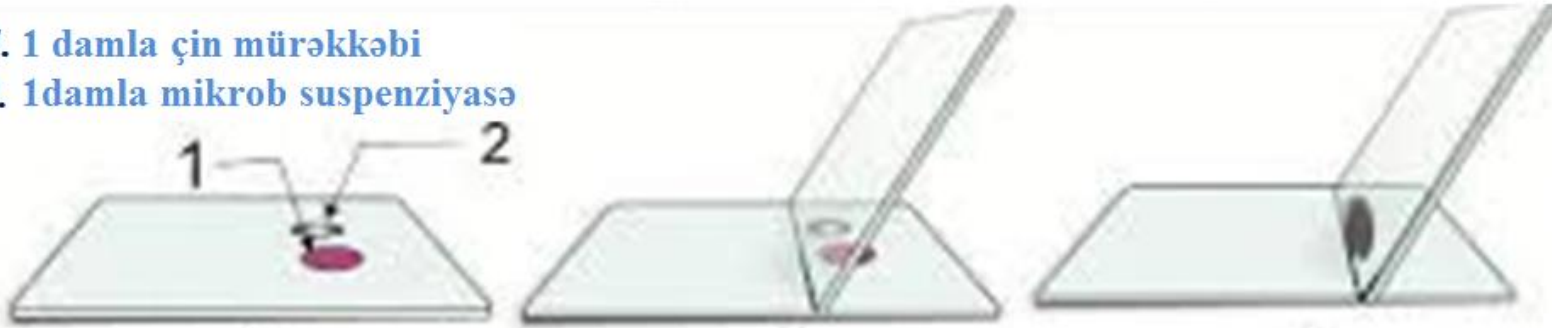
➤ Törədicilərin növünü təyin etmək mümkündür.



Kapsulanın aşkar edilməsi

Kapsulanı aşkar etmək üçün Gins–Burri üsulundan istifadə edilir.

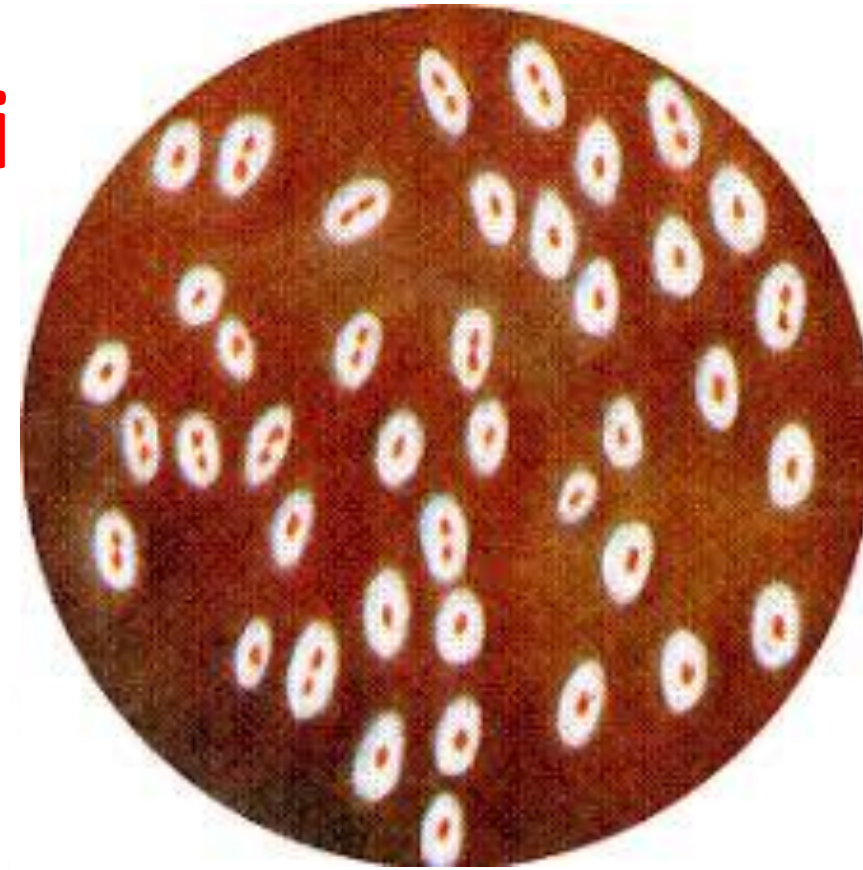
1. 1 damla çin mürəkkəbi
2. 1 damla mikrob suspenziyası



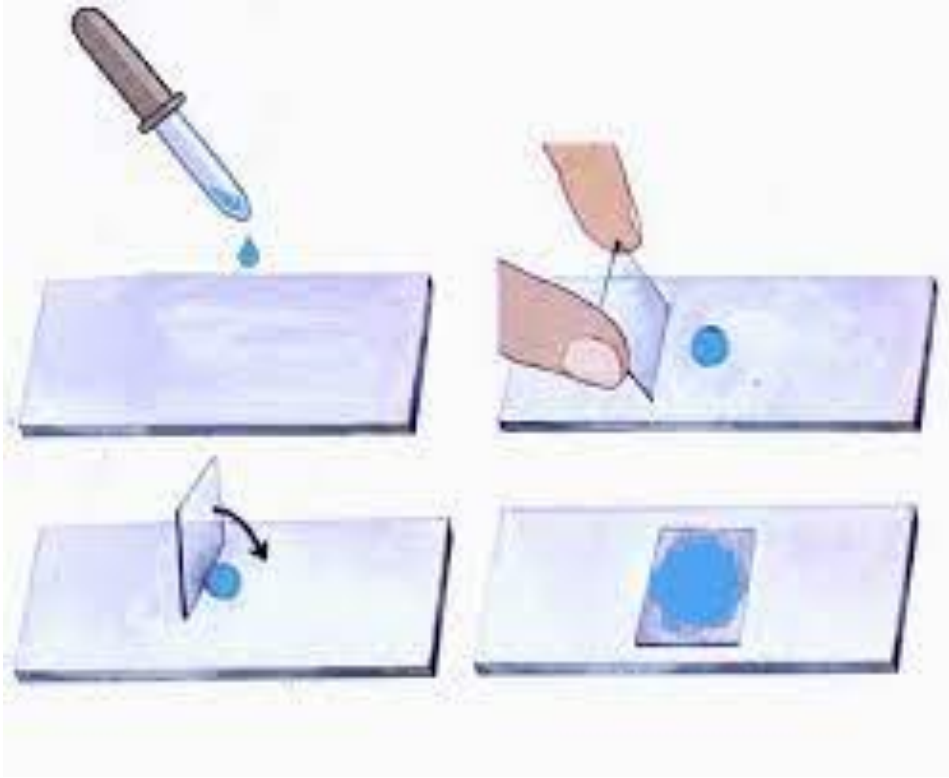
Qurudulma,

Fiksasiya,

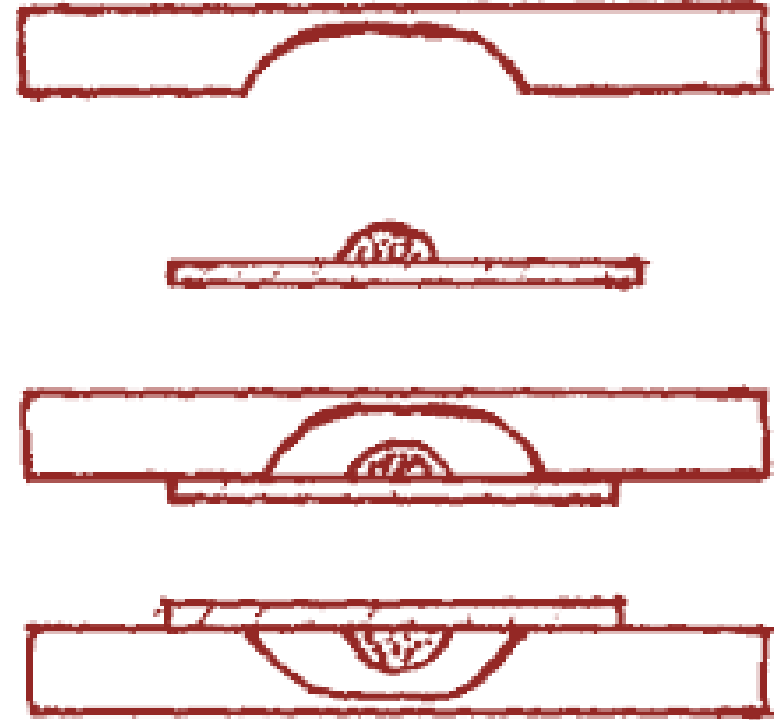
Sulu fuksinlə boyama



Bakteriyaları diri halda öyrənmək üçün preparatların hazırlanması



«əzilən» damla preparatı



«asılan» damla preparatı

Yaxmaların qurudulması

- Yaxmalar əsasən otaq temperaturunda havada qurudulur.
- Əgər qalındırsa termostatda və alov üzərində qurudulur.
- Yaxma sağ əlin baş və şəhadət barmağı ilə səthi üstə olmaqlıq şüşənin kənarından tutulur.
- Yaxma belə qurudularsa hüceyrənin quruluşu pozulmur
- **Qandan hazırlanmış preparatlar** otaq temperaturunda qurudulmalıdır.

Yaxmanın fiksasiyası (fiziki, kimyəvi, qarışıq)

- 1.Yaxma əşya şüşəsinə yapışdırılır ki, yuma və rəngləmə zamanı axıb getməsin
- 2.Mikroorqanizmlər öldürülür. Ölmüş mikroblar dirilərə nisbətən yaxşı rənglənir
- 3.İşləyən şəxs və ətrafdakılar üçün təhlükəsiz olur

Fiziki – termiki fiksasiya zamanı yaxma 3 dəfə alovdan keçirilir.

Kimyəvi metil spirtində --5 dəq, etil spirti və Nikifirov qar 10 dəq, osmium turşusu buxarında – 2-3 dəq, formalin məhlulunda bir neçə saniyə, asetonda 5 dəq fiksasiya edilir.

Qan və orqan basma yaxma fik.ed.

Fiziki-kimyəvi-qarışıq fiksasiya



Anilin boyaları. Rəng məhlulları və onların hazırlanması.

➤ *Kimyəvi rənglər daş kömürdən alınır və anilin boyaları adlanır.*

➤ *Ən çox qələvi rənglər işlənir.*

➤ *Qələvi rənglər hüceyrənin nüvəsini, turş rənglər isə protoplazmasını rəngləyir.*

Turş

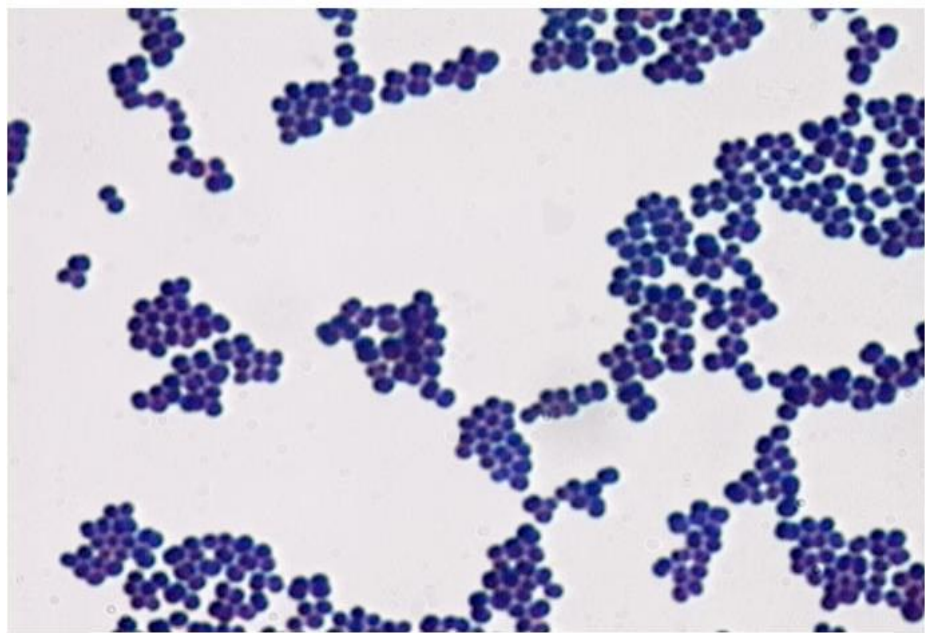
- *turş fuksin*
- *eozin*

Qələvi

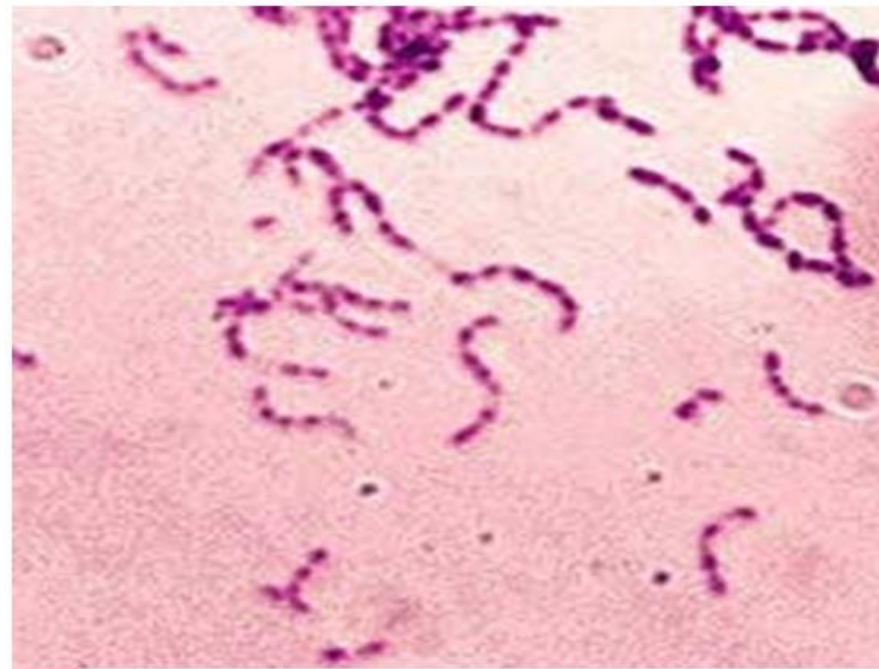
- *Metilen abısı, sulu fuksin, safranin, nrytral-rot, gensian-violet, vezuvin, xrizoidin*

Sadə üsulla boyama

**Sadə üsulla boyama zamanı bir rəng məhlulundan istifadə edilir.
Bu üsulla mikrobun yalnız morfolojiyası öyrənilir.**



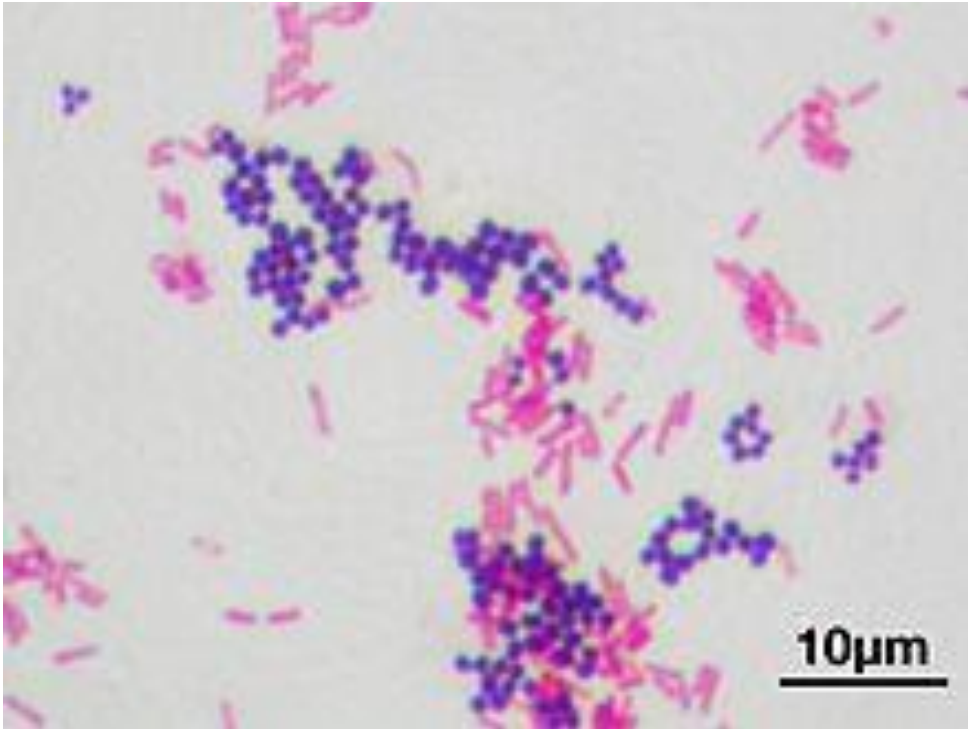
Metilen abısı ilə (3-5 dəq) rəngləmə



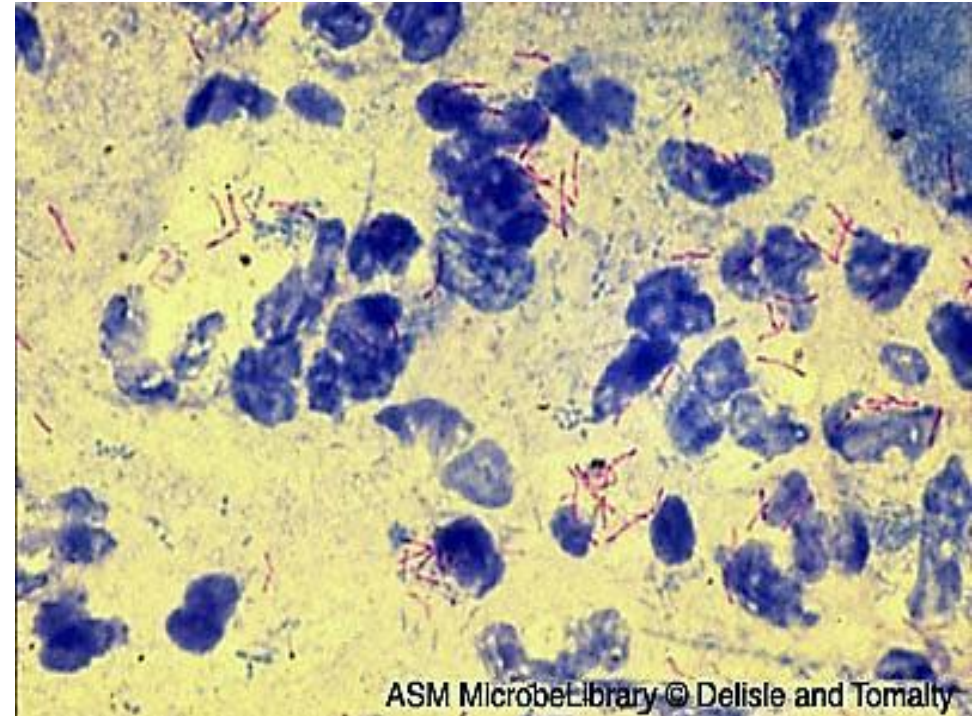
Sulu fuksinlə (1-2dəq.) rəngləmə

Bakteriyaların tinktorial xüsusiyyəti

*Tinktorial xüsusiyyət – bakteriyaların rəng məhlullarını qəbul etmək qabiliyyətidir
Bakteriyaların morfoloji identifikasiyasında isitfadə edilir: Qram üsulu, Gimza üsulu, Sil-Nilsen üsulu, Ojeşko üsulu və s.*

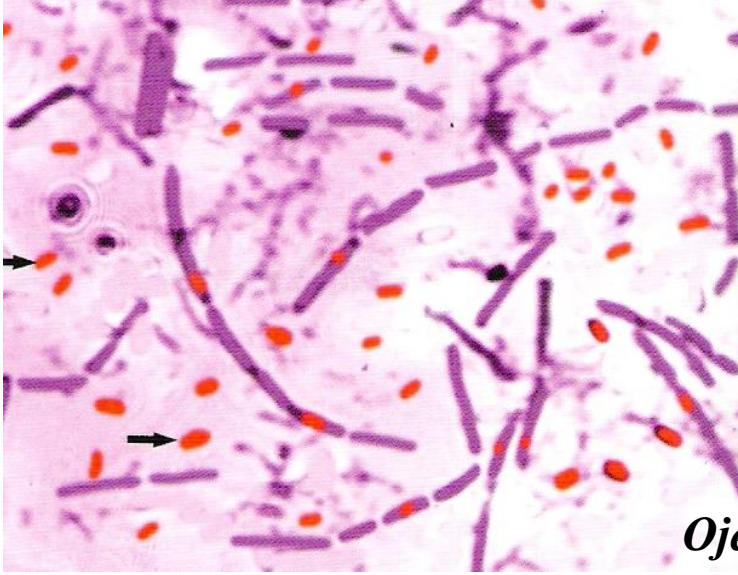


Qram üsulu



Sil-Nilsen üsulu

Əlavə strukturların aşkar edilməsi



Ojeşko üsulu



Neysser üsulu



“Əzilən” damla preparatının mikroskopik görüntüsü

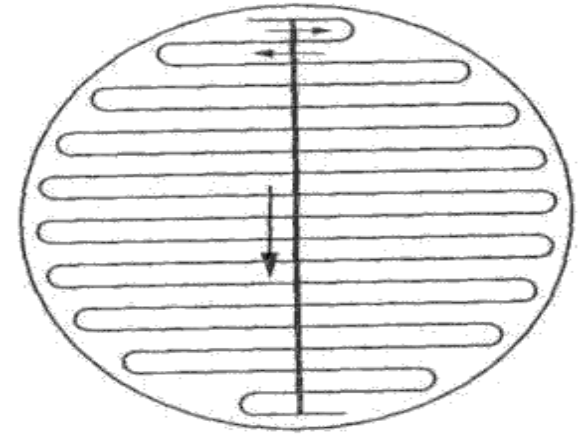
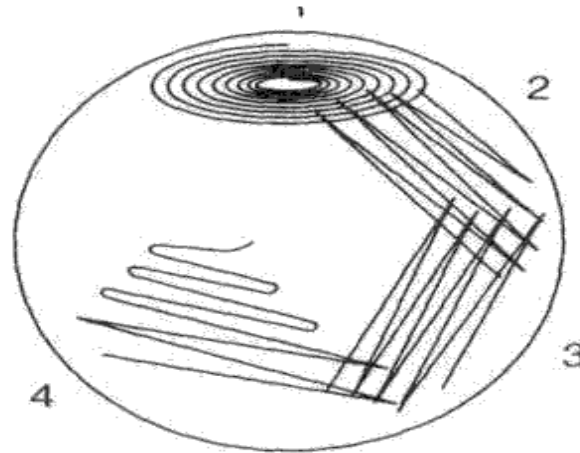
Kultural üsul

1. Bakterioloji üsul
2. Virusoloji üsul
3. Mikoloji üsul
4. Protozooloji üsul

Kultural (bakterioloji) üsulun mahiyyəti müayinə olunan patoloji materialdan törədici bakteriyaların təmiz kulturasının əldə edilməsindən və onun morfoloji, tinktorial, kultural, biokimyəvi, toksigen və antigen xüsusiyyətlərinə görə identifikasiyasından ibarətdir.

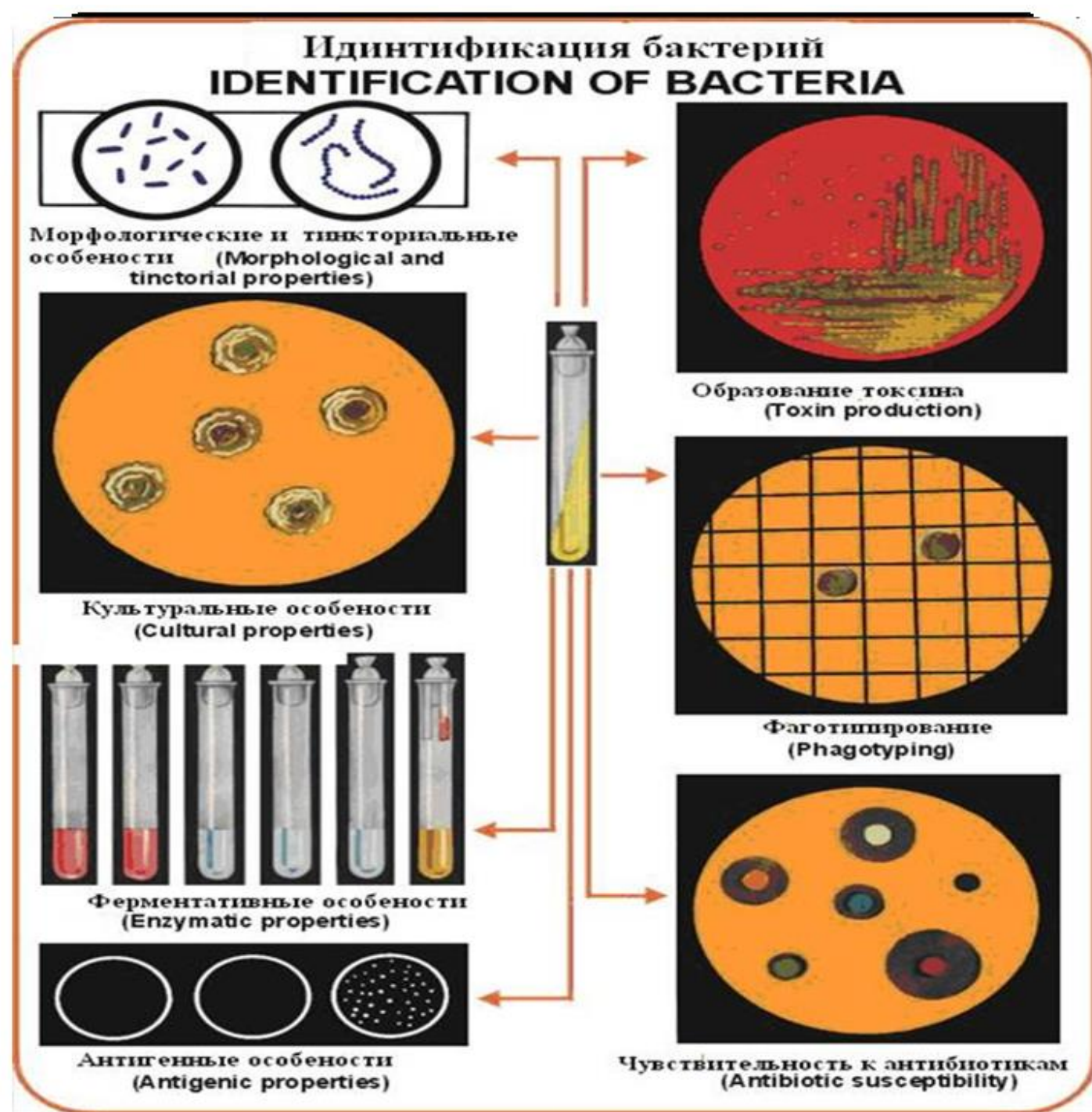
Təmiz kulturanın alınması

- ❖ Kultivasiyanın məqsədindən asılı olaraq kasadakı bərk qidalı mühitin səthinə müxtəlif üsullarla inokulyasiya etmək olar.
- ❖ Məqsəd izolə olunmuş koloniyaları almaq və KƏV –i müəyyən etməkdir.



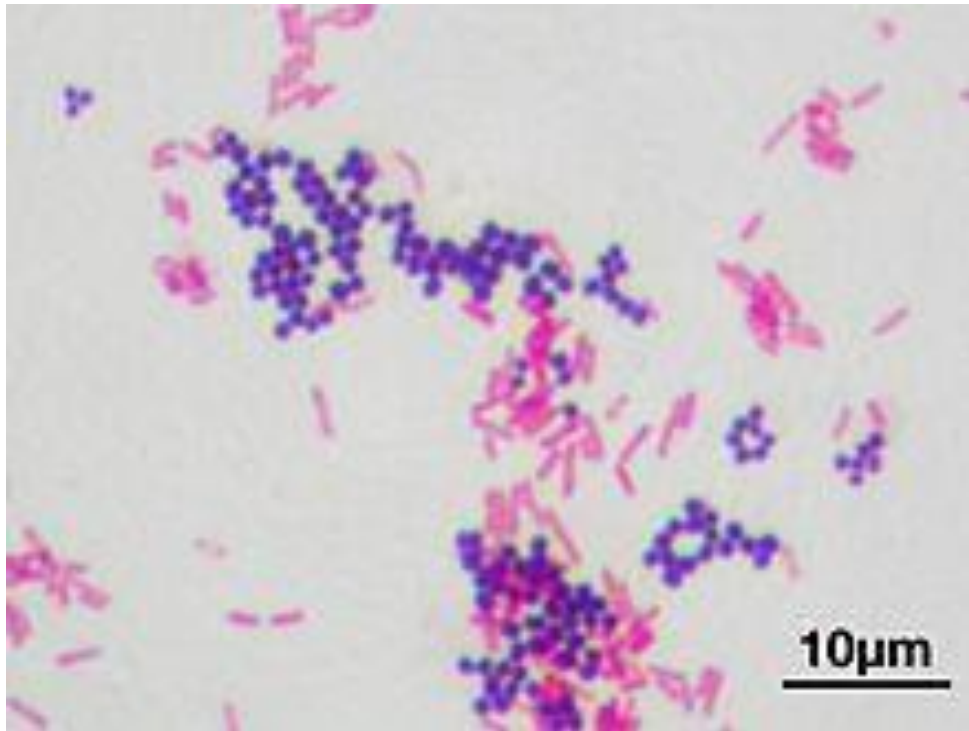
Alınmış təmiz kulturanın identifikasiyası

Mikroorqanizmlərin identifikasiyası morfoloji, kultural, biokimyəvi, antigen, toksigenlik xüsusiyyətlərinə görə, bəzən də faqotipləndirməklə identifikasiya edilir.

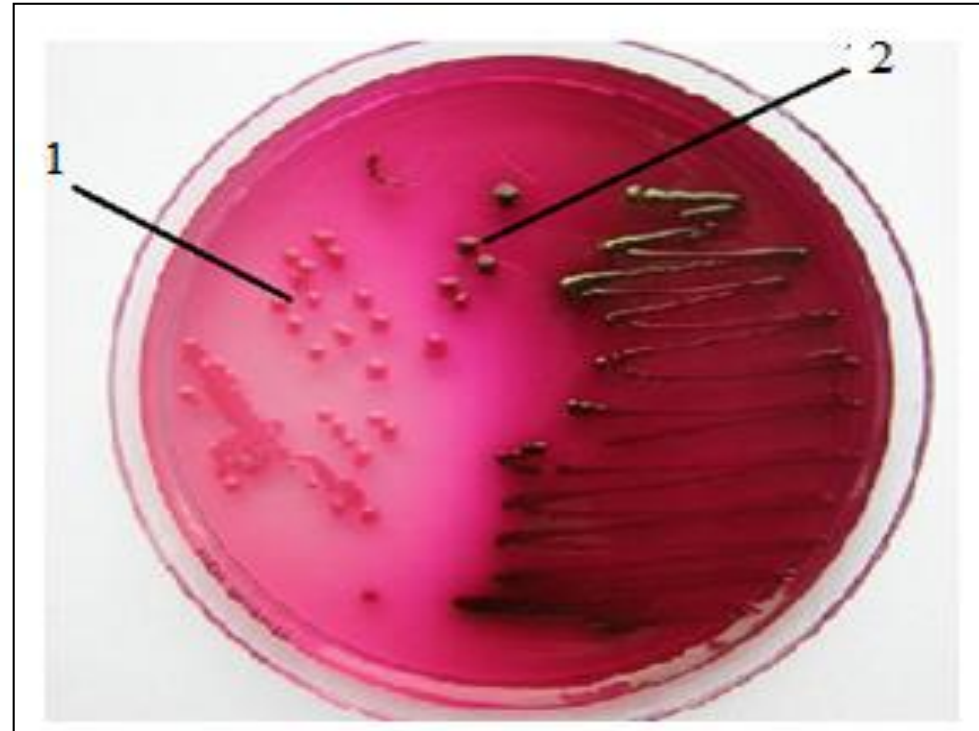


Mikroorqanizmlərin identifikasiyası

- Morfoloji



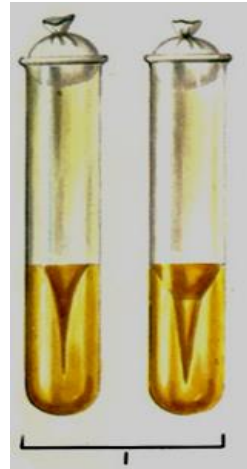
- Kultural



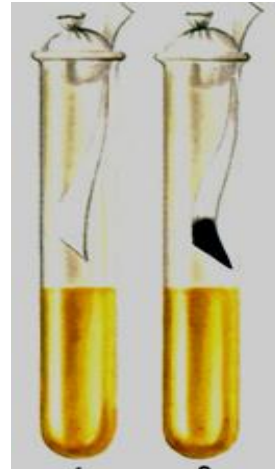
Bakteriyaların saxarolitik, proteolitik və digər fermentlərə görə identifikasiyası



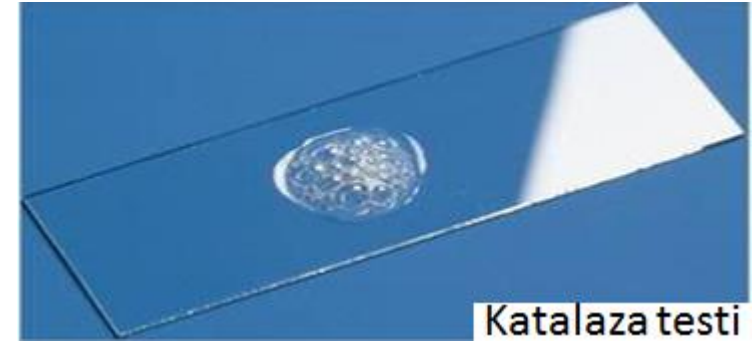
Hiss mühit



Jelatinli mühit

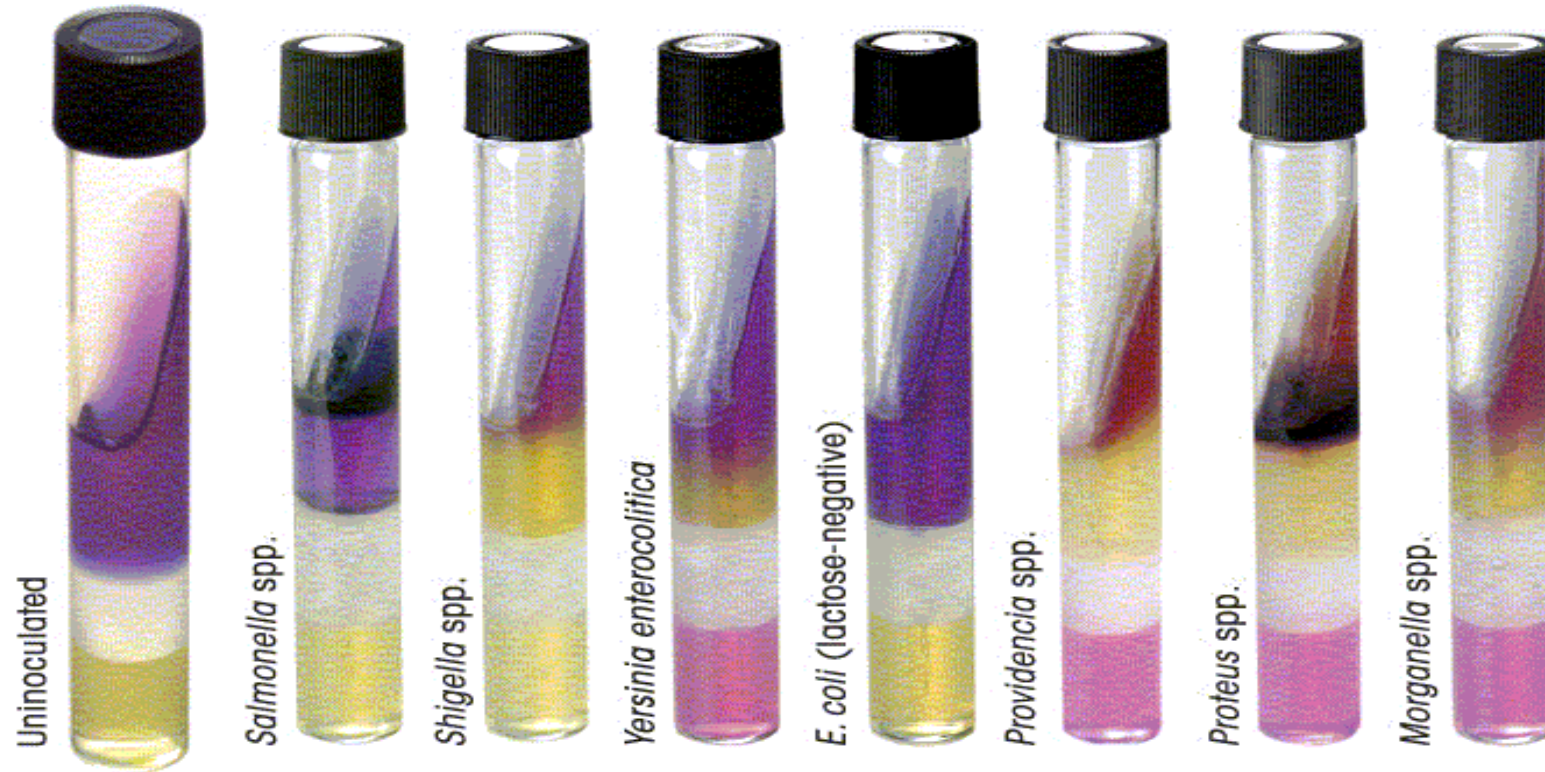


H₂S testi



Katalaza testi

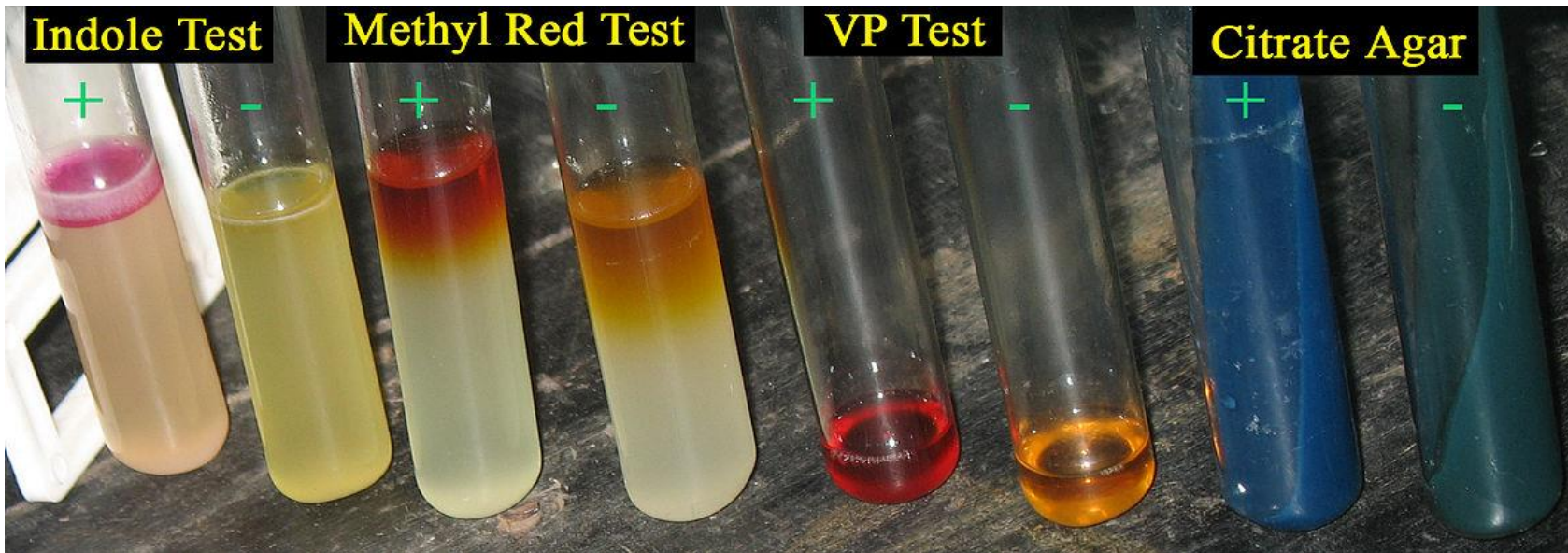




Üç şəkərli aqar və dəmir (TSI), lizin və dəmirli aqar (LIA), nəcisdən alınmış laktoza fermentləşdirməyəyn kulturaların skriningi üçün ictifadə olunan karbomidli aqar.

iMViC testi (4 testdən ibarətdir)

- indol testi
- Metil qırmızısı testi
- Voges-proskauer testi
- Sitrat testi



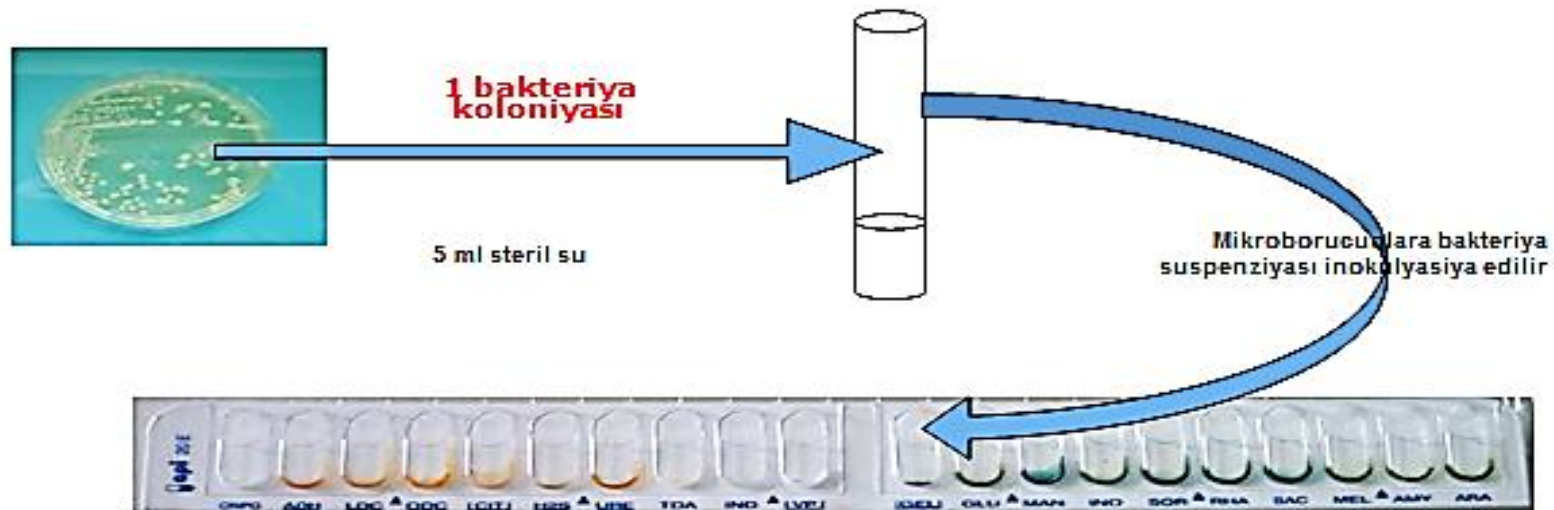
	I	M	Vi	C
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	+
<i>Enterobacter spp.</i>	-	-	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	-	+
<i>Citrobacter koseri</i>	+	+	-	+

API sistem

(Application programming interface)

test 1 : Gram üsulu ilə boyadılmış yaxmanın mikroskopiyaşının nəticəsi (Qram-, qram+, çöp, kokşəkilli və s.)

test 2 : Respirator enzim testləri → oksidaza, katalaza və s.



API sistem



API Strep

→ *Streptococcus* növlərinin identifikasiyası



API Staph

→ *Staphylococcus* növlərinin identifikasiyası



API 20NE

→ qeyri-Enterobacterales növlərinin identifikasiyası
(*Pseudomonas*)



API 20E

→ **E**nterobacteria növlərinin identifikasiyası

API sistem

24 saat 37 dərəcədə inkubasiyadan sonra API sistemin görüntüsü



Azotun metabolizmi

Karbohidratların metabolizmi

24h / 37° C.....

API sistem

(nəticələrin interpretasiyası)

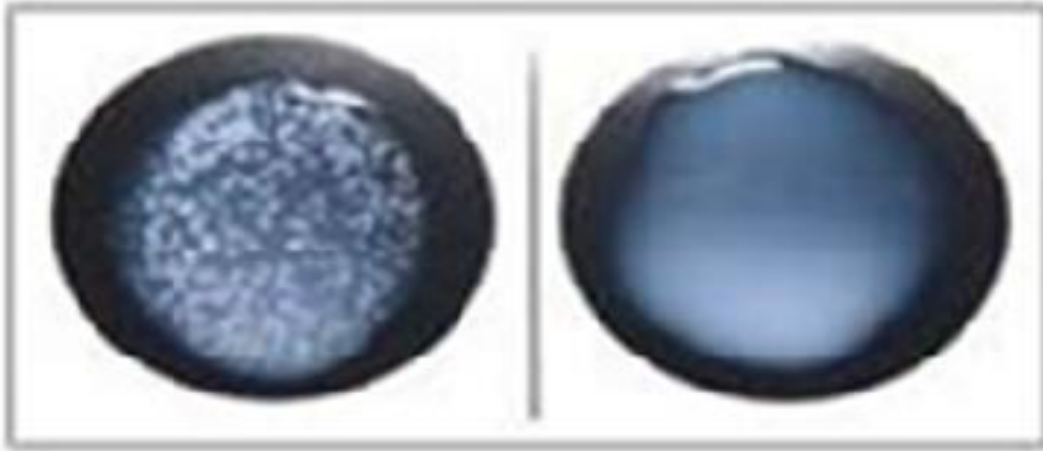
Expression of results by software :

EXCELLENTE IDENTIFICATION						
Galerie	API 20 E V4.1					
Profil	4 7 0 4 7 5 2					
Note(s)	CONFIRMER PAR DES TESTS SEROLOGIQUES					
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
Salmonella spp	99.9	0.95				

İdentifikasiya
edilmiş bakteriya

İdentifikasiya
keyfiyyəti

Seroidentifikasiya



Təcrübə «+»

Kontrol «-»

- Seroidentifikasiya mikroorqanizmlərin
 - növlərini
 - seroqruplarını
 - serotiplərini
 - toksinlərini təyin etmək üçün istifadə edilir.
- Müvafiq immun zərdablar vasitəsilə mikroorqanizmlərin tanınması **seroloji identifikasiya** adlanır.

Mikroorqanizmlərin müasir avtomatik identifikasiya üsulları

- **Vitek 2 Compact** analizatoru – 5-8 saat müddətində mikroorqanizmlərin (bakteriyaların və mayayabənzər göbələklərin) identifikasiyasını və onların antimikrob preparatlara qarşı həssaslığının müəyyən edilməsini təmin edən tam avtomatik sistemdir.
- İdentifikasiya mikroorqanizmlərin biokimyəvi xüsusiyyətlərinin avtomatik təyin edilməsi ilə aparılır, tam identifikasiya mümkün olmadığı təqdirdə kompyuter proqramı təhlili əsasında identifikasiya edilən mikroorqanizmin hansı mikroorqanizm ola bilməsi ehtimalı (faizlə) göstərilir.

Mikroorqanizmlərin müasir avtomatik identifikasiya sistemləri

- Bu və digər avtomatik identifikasiya sistemləri identifikasiya ediləcək mikroorqanizmlərin ideal təmiz kulturasının alınmasını tələb edir.
- Əldə edilmiş təmiz kultura (inokulyat) cihazın kassetinə yerləşdirilir, bundan sonra cihazın inkubasiya etməsi və nəticələri müəyyənləşdirməsi üçün müəyyən müddət vaxt tələb olunur.
- Analizin sonunda inokulyatdakı mikroorqanizmin cins və növ mənsubiyyəti, eləcə də hansı antimikrob preparata həssas, yaxud rezistent olması göstərilir.
- Analizator eləcə də antimikrob preparatın minimal inhibisiya konsentrasiyası (MİK) və rezistentlik mexanizmləri haqqında nəticə çıxarmağa imkan verir

BioMerieux (ABŞ) firmasının *Vitek-2 Compact* avtomatik mikrobioloji analizatoru



Matriks aktivləşdirilmiş lazer desorbsiyası / ionlaşması (MALDI-TOF)

Mass-spektrometriyasına əsaslanan avtomat sistemdir – kimyəvi analizə əsaslanır. Naməlum molekulun kütləsini ionlaşma yolu ilə müəyyən etmək üçün istifadə edilir.

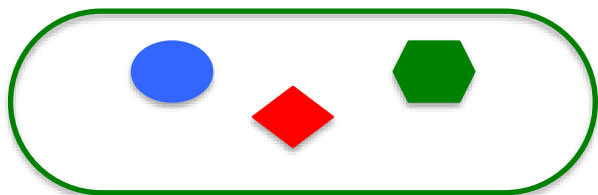
Prinsipi

Mass spektrometriya vasitəsilə hüceyrə proteinlərinin kimyəvi təyini

+ əldə edilən spektr profili məlumat bazası ilə qarşılaşdırılır

MALDI-TOF

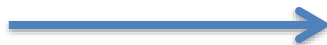
Bakteriya



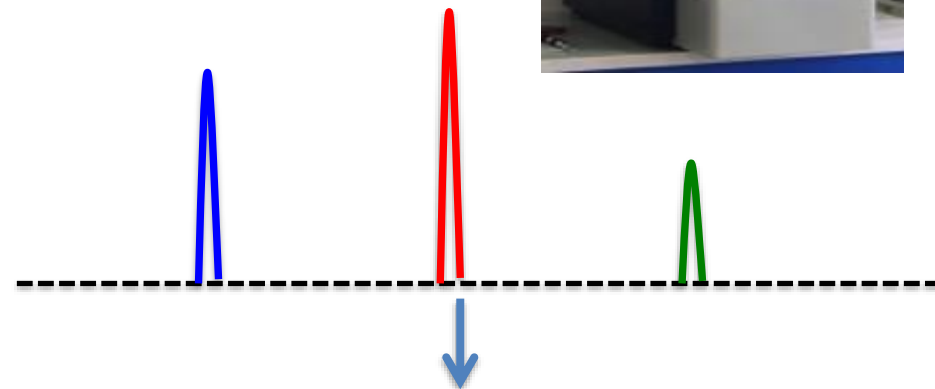
Hüceyrənin lizisi



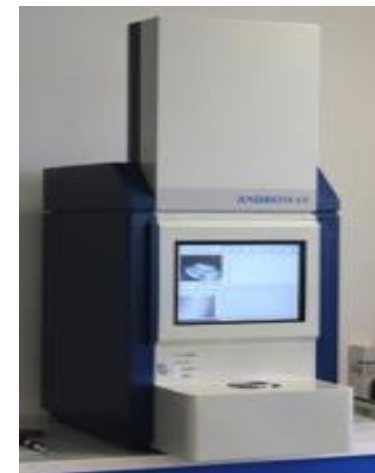
Molekulların ekstraksiyası



Mass-spektrometriya vasitəsilə
molekulların deteksiyası və
spektrın tərtibi

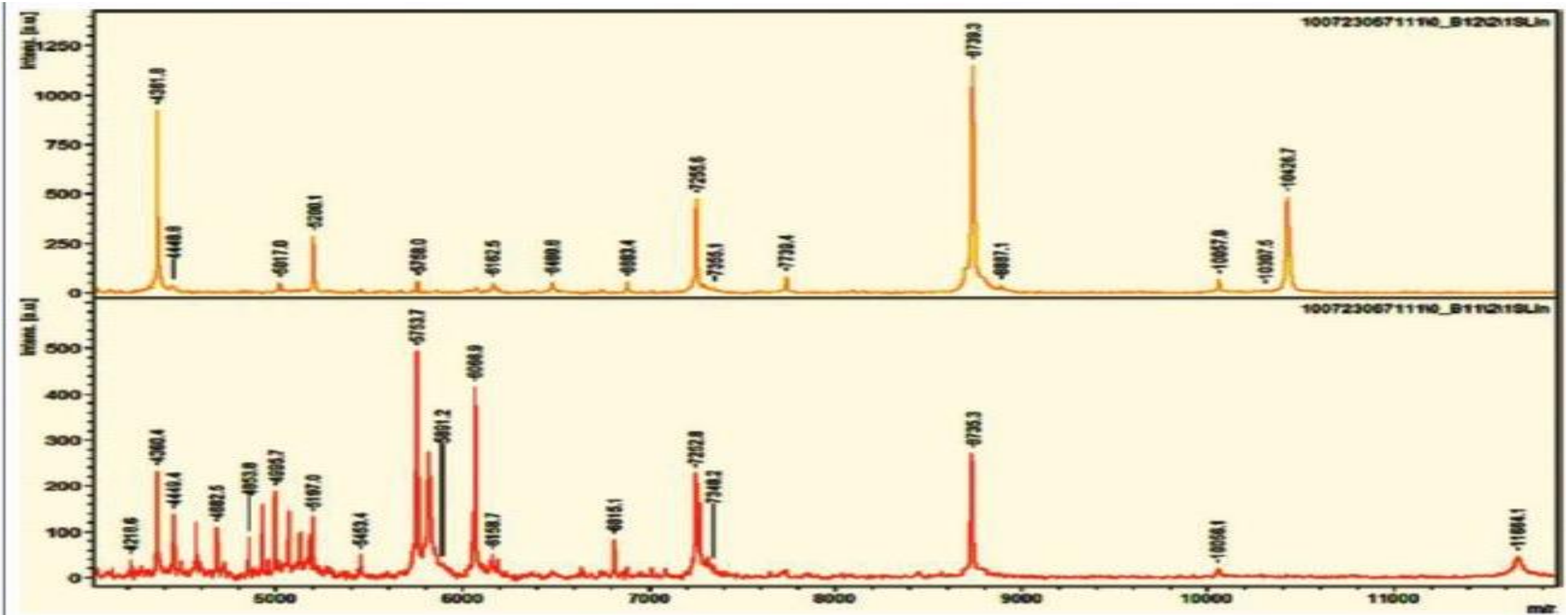


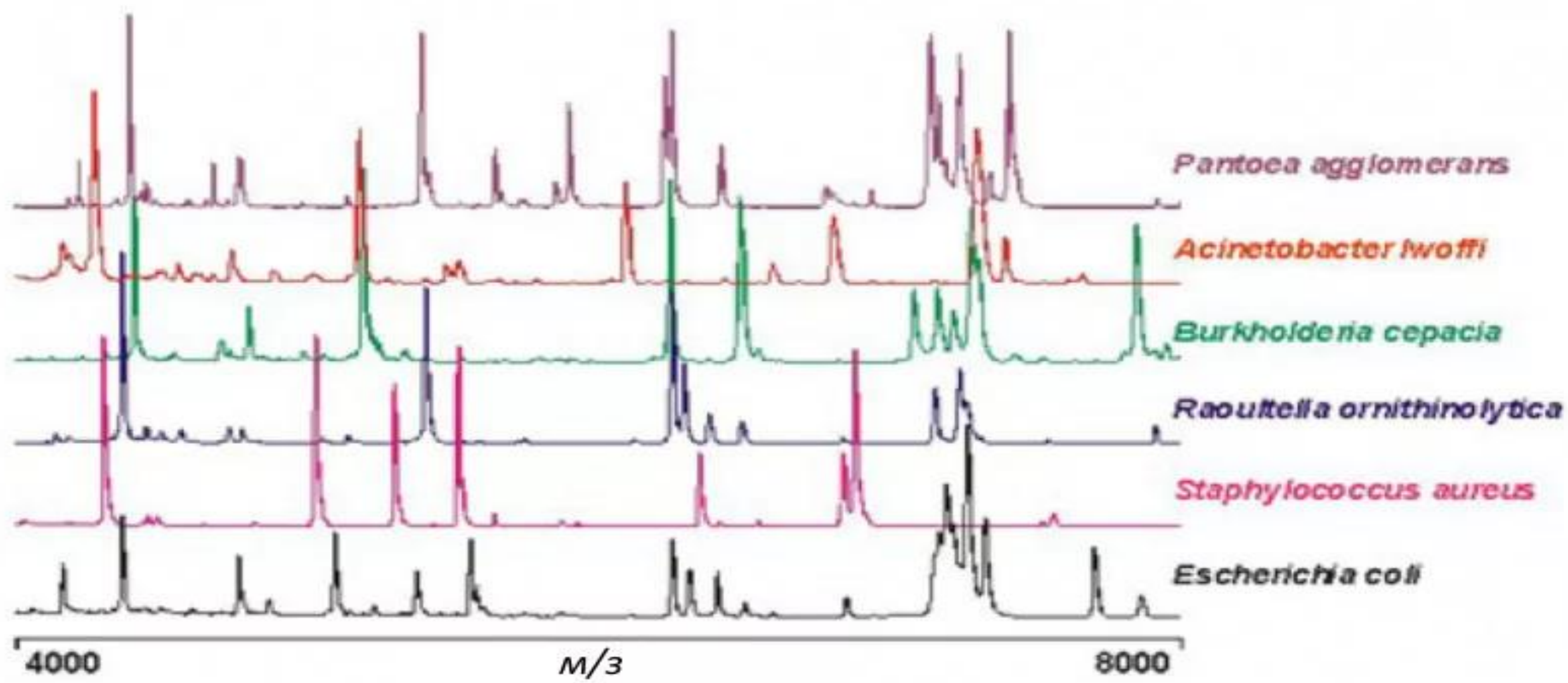
Əldə edilən spektrın məlumat bazası
ilə qarşılaşdırılması və identifikasiya



MALDI –TOF

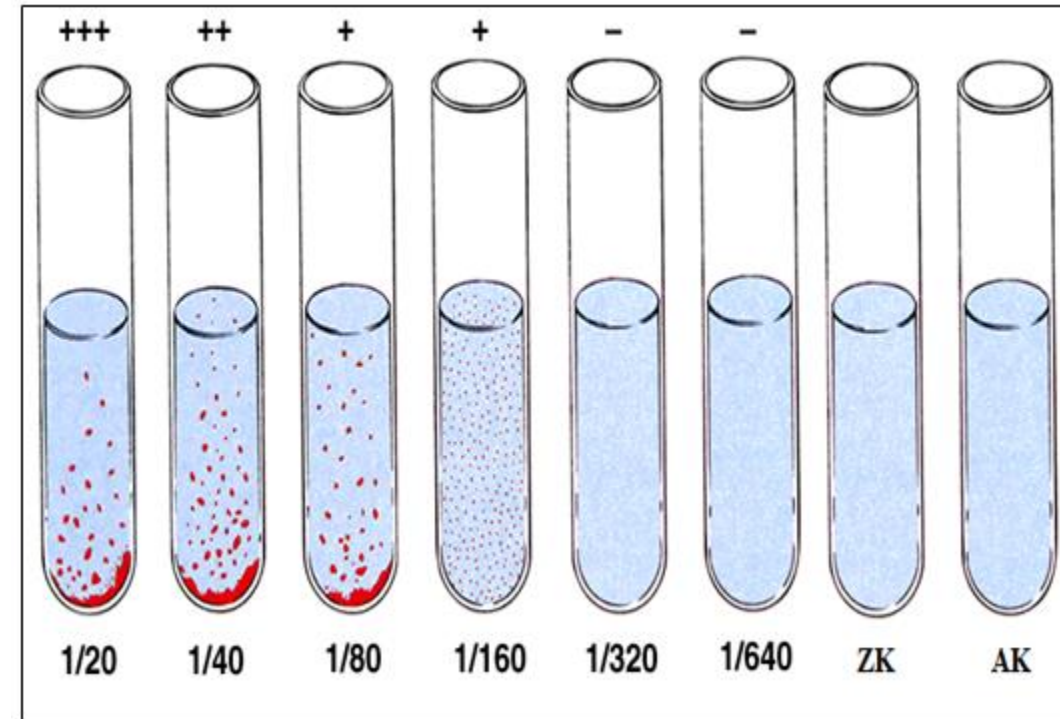
(bakteriya spektrləri)



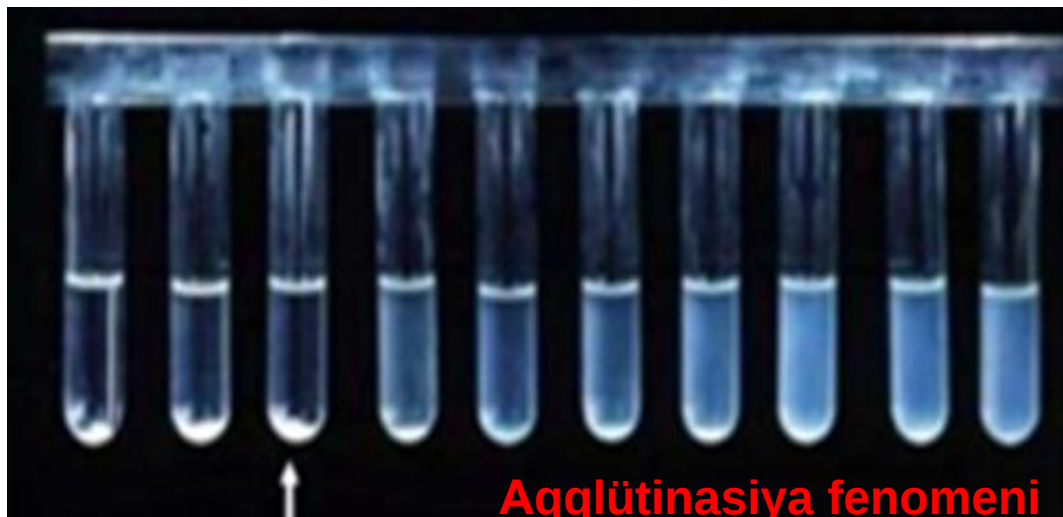


Seroloji üsul

- Naməlum anticisimləri təyin etmək üçün məlum antigenlərdən, yaxud mikroorqanizmlərdən (diaqnostikumlardan) istifadə edilir.
- Diaqnostikum kimi daha çox etalon mikroorqanizm ştammları, yaxud onlardan alınmış antigenlər tətbiq edilir.
- Xəstələrin qan zərdabında naməlum anticisimlər təyin edilir.
- Qan zərdabında törədici əleyhinə müvafiq titrlərdə anticisimlərin mövcudluğu əksər hallarda xəstəliyin göstərdiciləri olduğu üçün buna **seroloji diaqnostika üsulu** deyilir.



Aqqlütinasiya fenomeni



qan zərdabının durulaşmaları

1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 kontrol



hemaqqlütinasiya var

hemaqqlütinasiya yoxdur

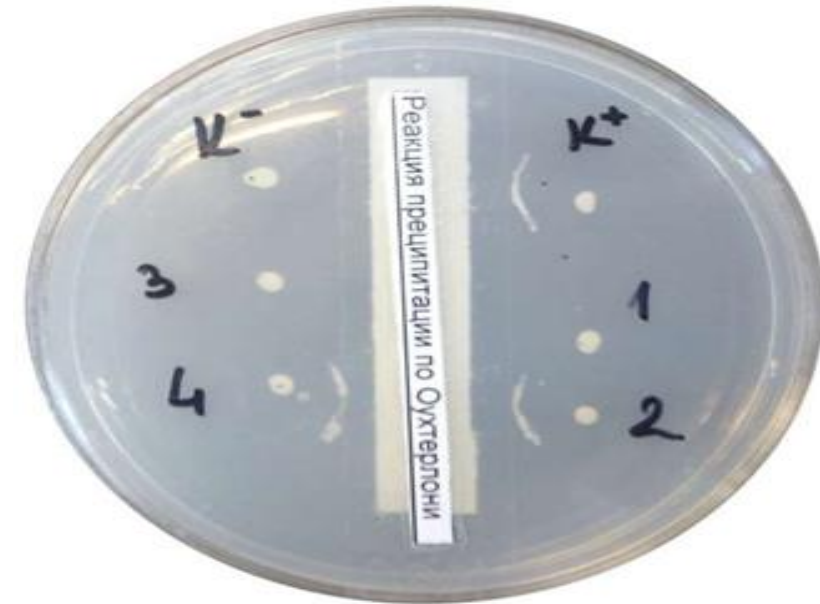
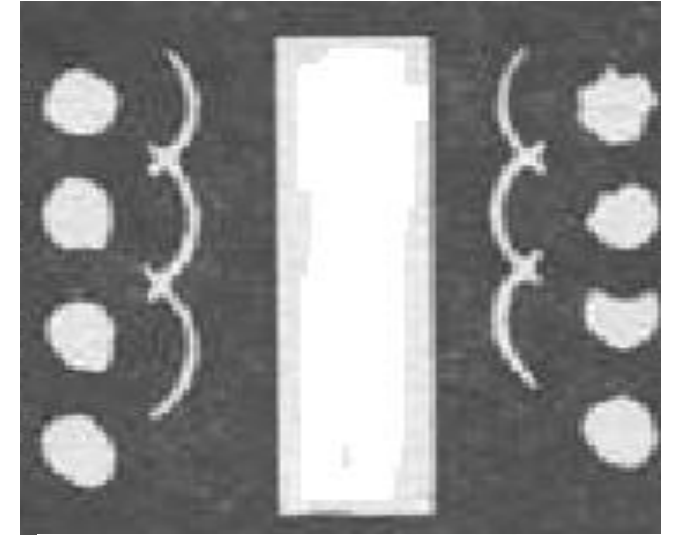
PHAR

Həlqə presipitasiyası



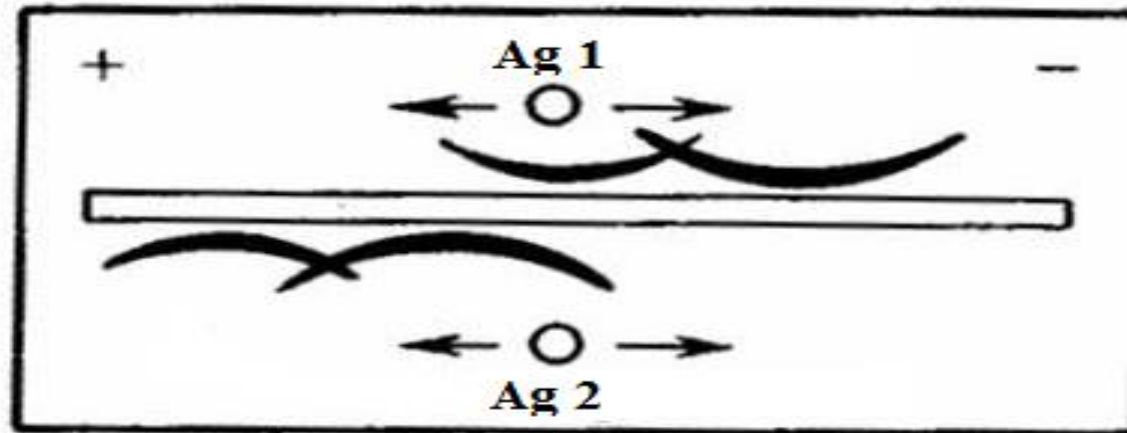
Aqarda presipitasiya reaksiyası

- **Elek üsulu** xəstələrdən alınmış difteriya törədicilərinin 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.



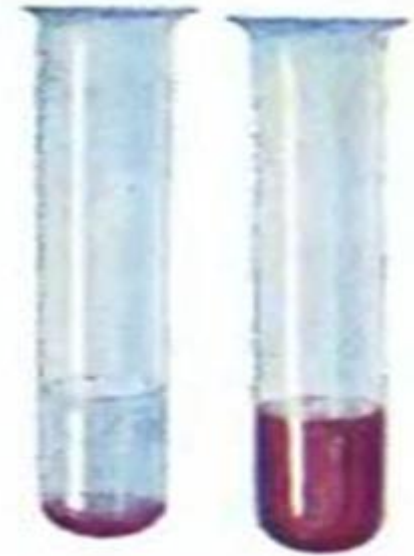
İmmunoelektroforez

- **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 gəldəki çuxurcuğa tökülür və gəldə elektroforez vasitəsilə ayrılır.
- Sonra elektroforez oxuna paralel açılmış kanalciqlara immun zərdab əlavə edilir. Gələ diffuziya etmiş anticisimlərin antigenlərlə görüşmə yerində presipitat xətləri müşahidə edilir

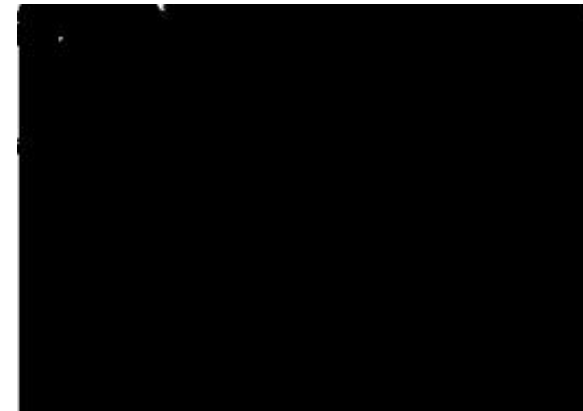
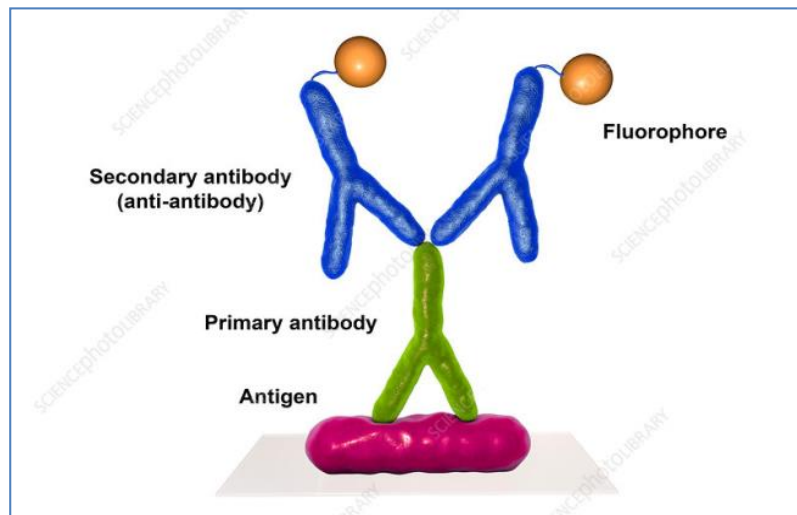
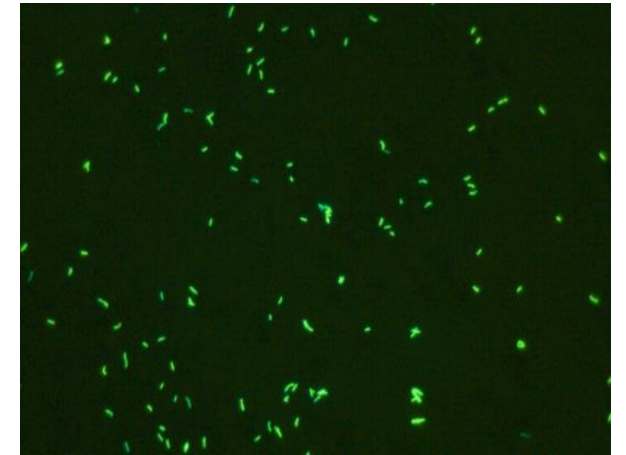
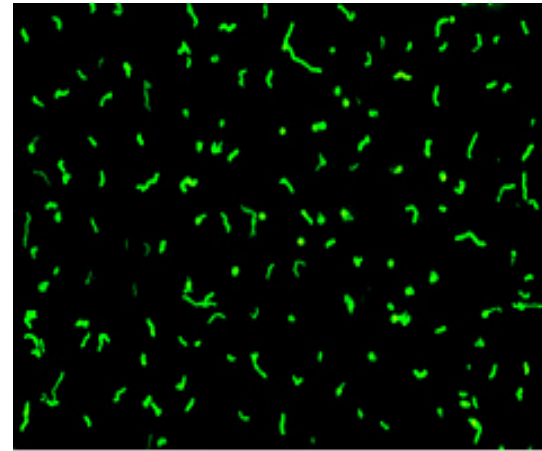
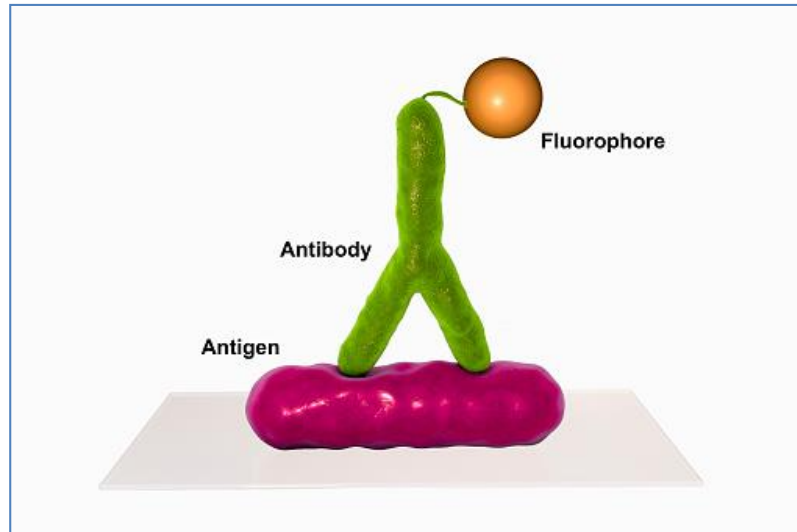


KBR (nəticənin qeydiyyatı)

- **KBR nəticəsi** hər bir sınaq şüşəsində hemolizin olub-olmaması qeyd edilməklə qiymətləndirilir.
- Hemoliz olmadıqda reaksiya müsbət hesab olunur, bu zaman eritrositlər çökdüyündən sınaq şüşəsindəki maye rəngsizləşir.
- Reaksiya mənfi olduqda eritrositlərin lizisi müşahidə olunur, nəticədə sınaq şüşəsindəki məhlul müxtəlif intensivlikli qırmızı rəng alır.
- Hemolizin dərəcəsi mayenin rənglənmə intensivliyindən və eritrositlərin dibə çökməsi miqdarından asılı olaraq qiymətləndirilir (++++, +++, ++, +).
- Hemoliz müşahidə olunmayan sonuncu sınaq şüşəsindəki zərdabın durulaşması **komplementin birləşmə reaksiyasının titri** kimi qəbul edilir.

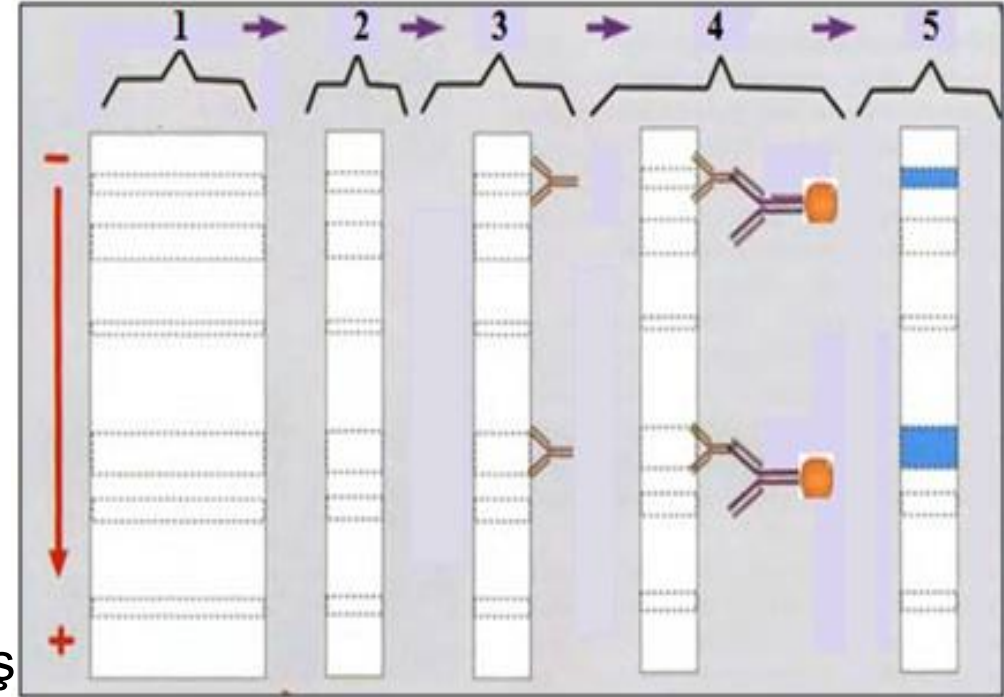


İmmunoflüoresensiya reaksiyası (İFR)



İmmunoblotting

İmmunoblotting (ing. *blot* - ləkə) – əvvəlcədən elektroforez üsulu ilə tərkib hissələrinə ayrılmış antigenlərin İFA, yaxud RİM vasitəsilə aşkar edilməsinə əsaslanır. Bunun üçün antigeni poliakrilamid gelində elektroforez vasitəsilə tərkib hissələrinə ayırır (1), sonra onu gəldən nitrosellüloz membran zolaqlara köçürülər (2). Xəstənin qan zərdabını belə zolaqlara əlavə edir (3), müəyyən müddət inkubasiyadan sonra birləşməmiş anticisimləri kənarlaşdırmaq üçün diqqətlə yuyur və üzərinə insan immunoqlobulininə qarşı fermentlə nişanlanmış antiqlobulin zərdab əlavə edirlər (4). Müayinə edilən qan zərdabındakı anticisimlər nitrosellüloz membran zolaqlarda olan antigenlərlə birləşdiyindən burada antigen-anticisim-nişanlanmış antiqlobulin kompleksi əmələ gəlir. Belə zolaqlara substrat və xromogenin əlavə edilməsi müvafiq sahələrdə rəngli ləkələrin əmələ gəlməsinə səbəb olur (5).



Genetik metodların diaqnostikada tətbiqi

- Zəncirvari polimeraza reaksiyası
- Molekulyar hibridləşdirmə üsulu
- Restriksion analiz
- Sekvenləşdirmə üsulu

Zəncirvari polimeraza reaksiya (ZPR)

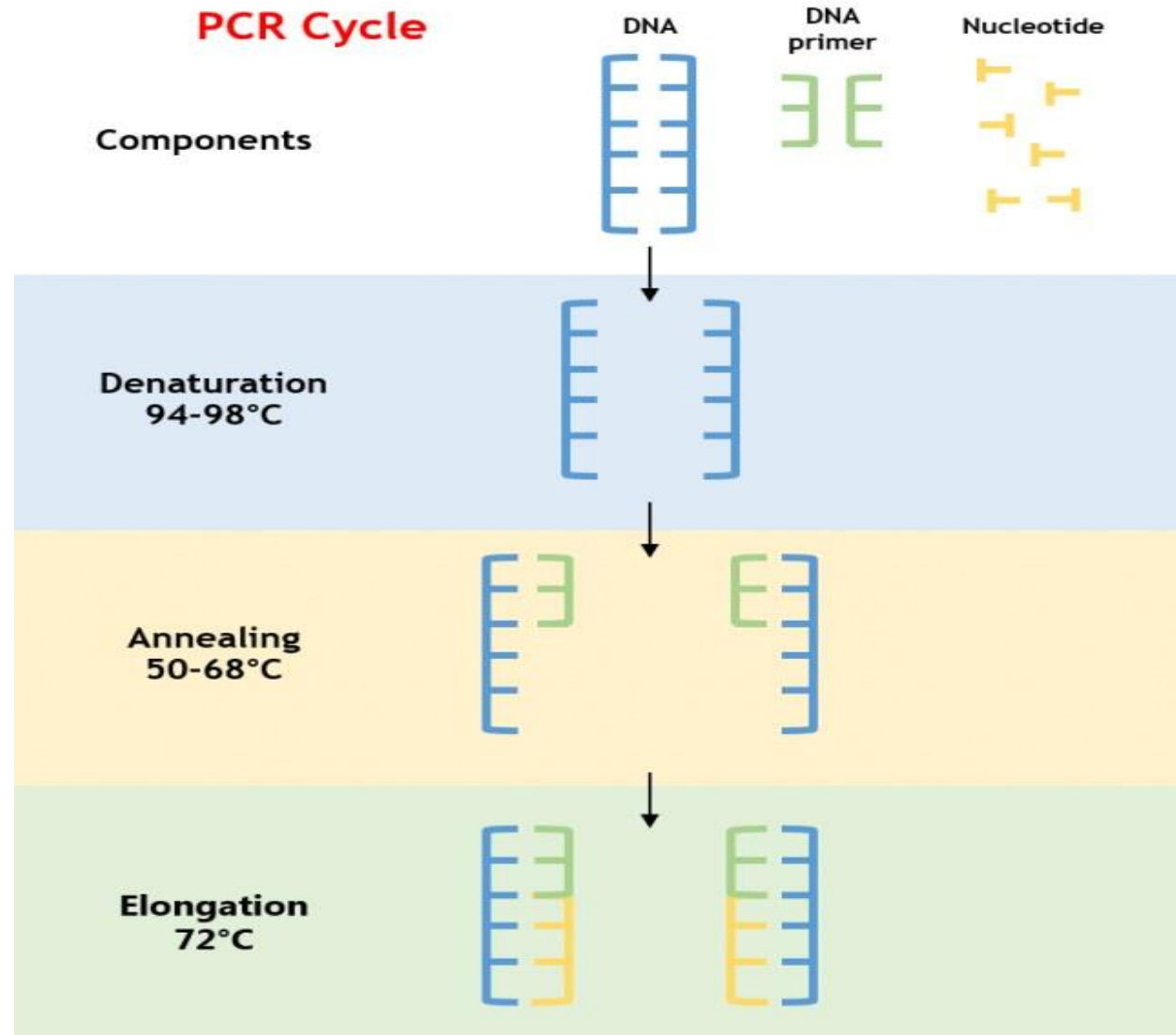
- müayinə olunan materiallarda törədicinin DNT, yaxud RNT fraqmentlərinin sürətlərinin çoxaldıaraq aşkar edilməsinə əsaslanan üsuldur. ZPR yüksək həssaslıq və spesifikliyə malik olmaqla müayinə olunan materiallarda törədicinin DNT, yaxud RNT fraqmentlərinin çox kiçik hissələrini belə aşkar etməyə imkan verir. ZPR aparmaq üçün xüsusi avadanlıq dəstindən istifadə edilir.
- Əvvəlcə ikizəncirli DNT-matriksini 0.5-2 dəq müddətində 92-96 °C-yə (yaxud, termiki stabil polimeraza istifadə edildikdə - 98°C-yə qədər) qədər qızdırırlar ki, DNT zəncirləri ayrılınsın. Bu mərhələ denaturasiya adlanır, DNT zəncirləri arasındakı hidrogen əlaqələri pozulur. Adətən, birinci sikldən əvvəl matriks və praymerlərin tam denaturasiyası üçün reaksiya qarışığı 2-5 dəq ərzində qızdırılır.
- Bundan sonra axtarılan DNT praymeri və polimeraza fermenti əlavə edilir, praymer DNT zəncirinə komplementar olduqda onunla birləşir. Göstərilən sikl adətən 70-80 dəfə təkrar edilir. Müayinə materialında axtarılan DNT fraqmentləri olduğu təqdirdə yeni DNT zəncirlərinin əmələ gəlməsi hesabına onun miqdarı dəfələrlə artır (amplifikasiya).
- Bundan sonra DNT-nin elektroforetik identifikasiyası aparılır.

Real time PCR

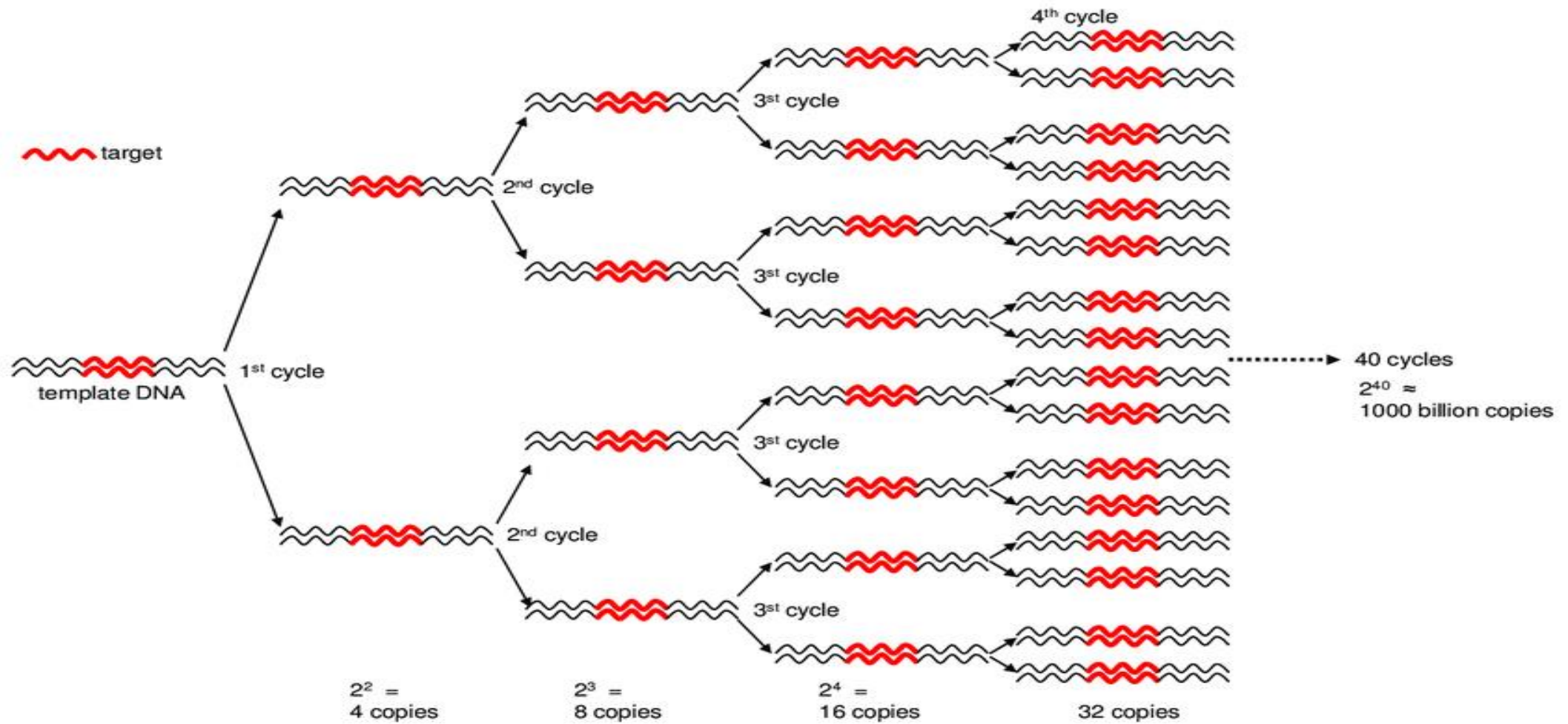
- **Real vaxtda ZPR (*real time PCR*)** amplifikasiya məhsullarının bilavasitə amplifikasiya zamanı toplanmasını aşkar etməyə imkan verir.
- Amplikonların toplanmasının kinetikasi bilavasitə tədqiq olunan matriks nüsxələrinin sayından asılı olduğundan, törədicinin DNT və RNT-nin kəmiyyət ölçülərini aparmağa imkan verir.
- Əldə edilmiş məlumat aparılan müalicənin effektivliyinə nəzarət üçün istifadə edilə bilər



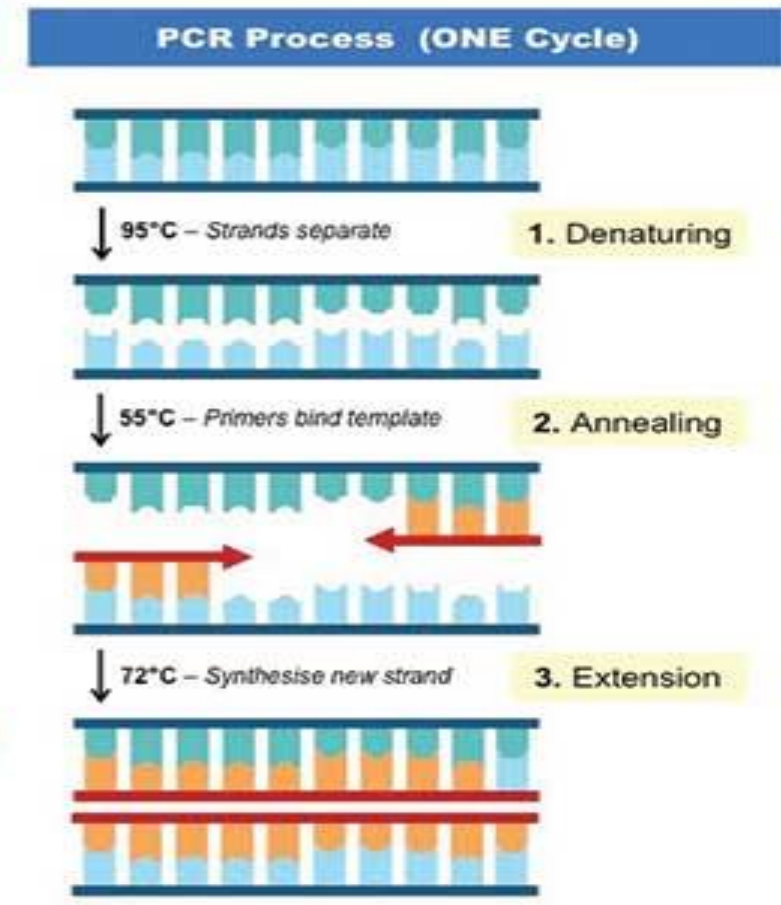
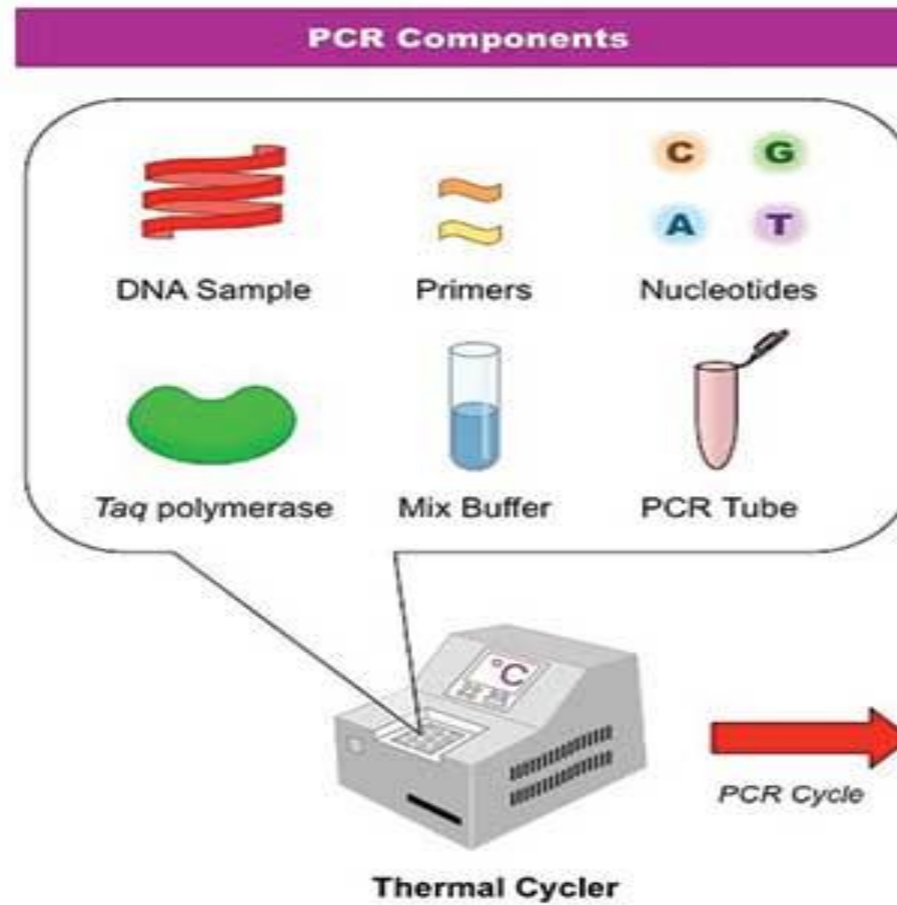
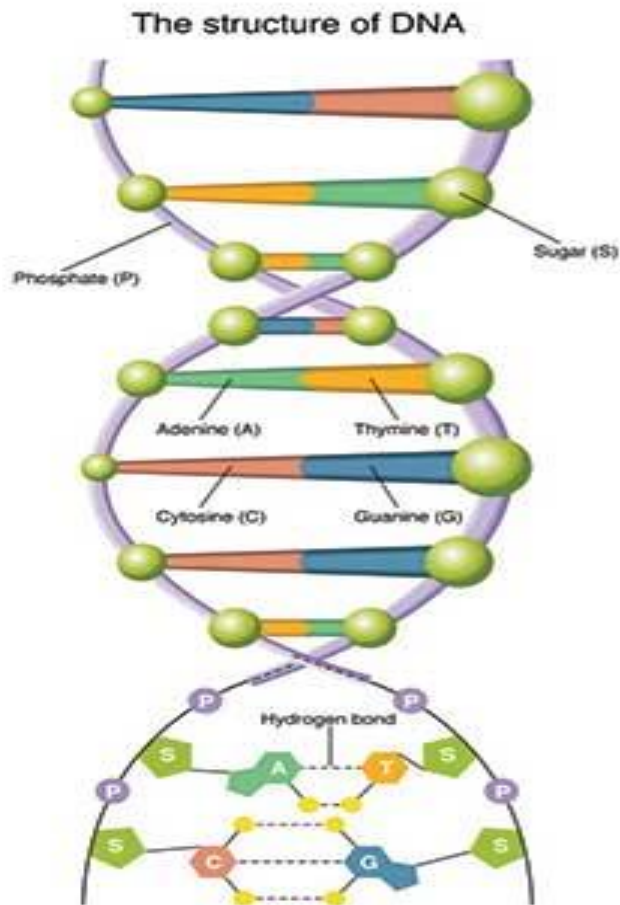
Amplifikasiyanın prinsipi



Amplifikasiyanın sxemi

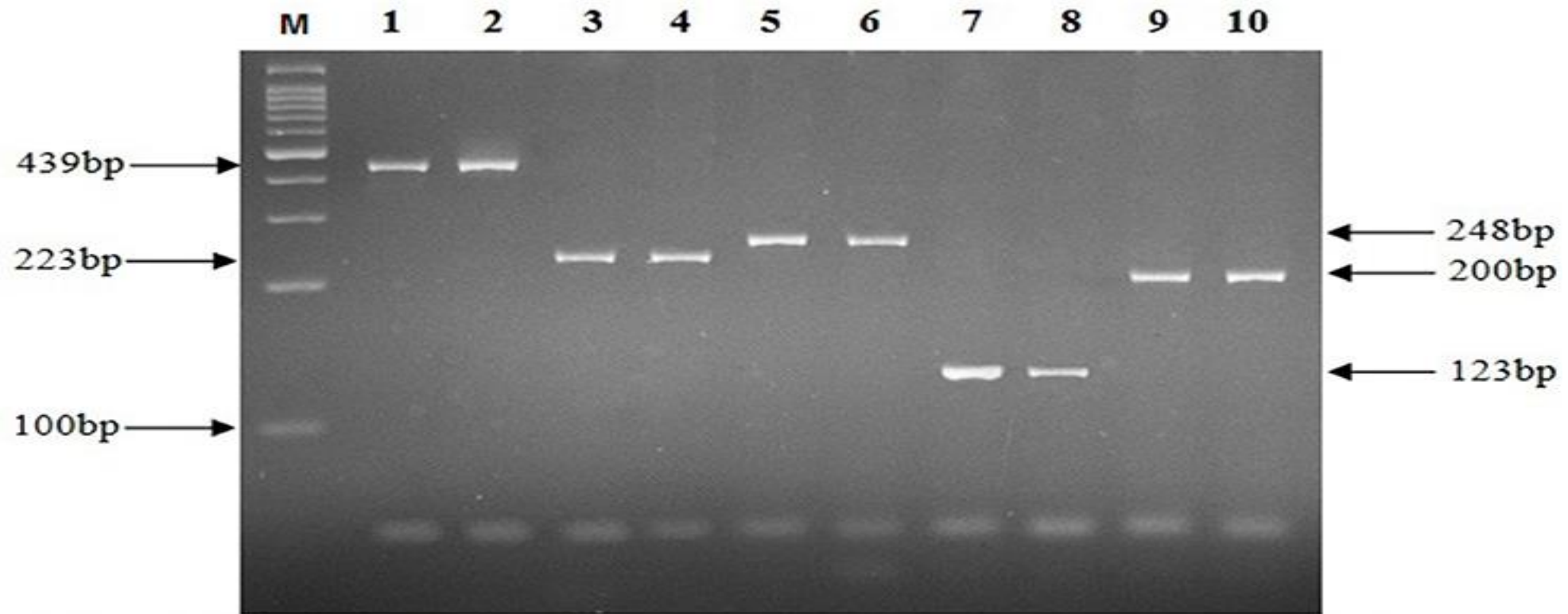


Zəncirvari polimeraza reaksiyasının prinsipi



DNT-nin elektroforetik identifikasiyası

(2%-li aqaroza gelində elektroforez)



M, Molecular size marker; Lanes 1, 2, 439 bp fragment of *hsp65* gene; Lanes 3, 4, 223 bp fragment of *mtp40* gene; Lanes 5, 6, 248 bp fragment of *IS1081* gene; Lanes 7, 8, 123 bp fragment of *IS6110* gene; Lanes 9, 10, 200 bp fragment of *mpb64* gene

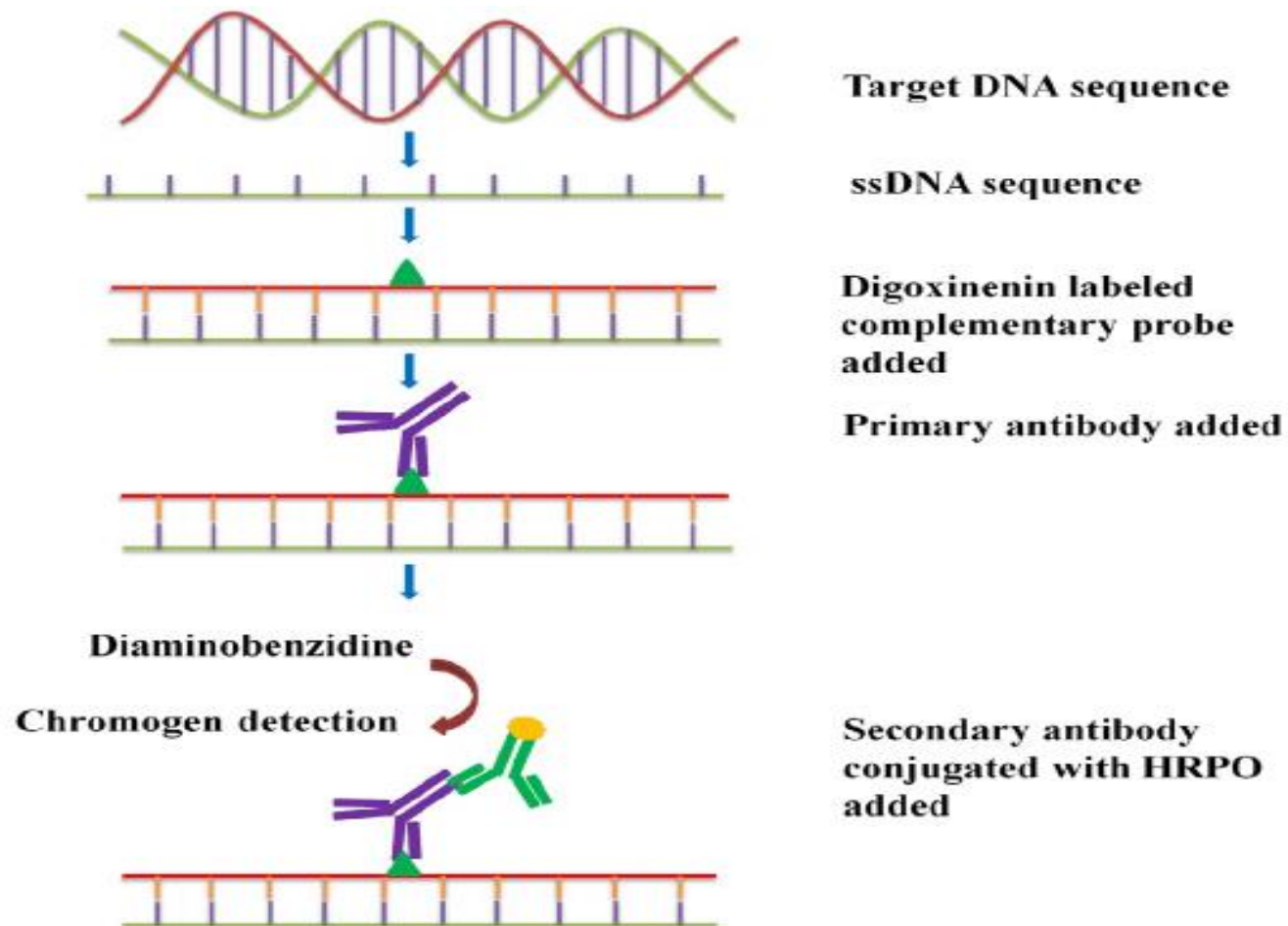
ZPR amplifikator cihazı



Molekulyar hibridləşdirmə üsulu

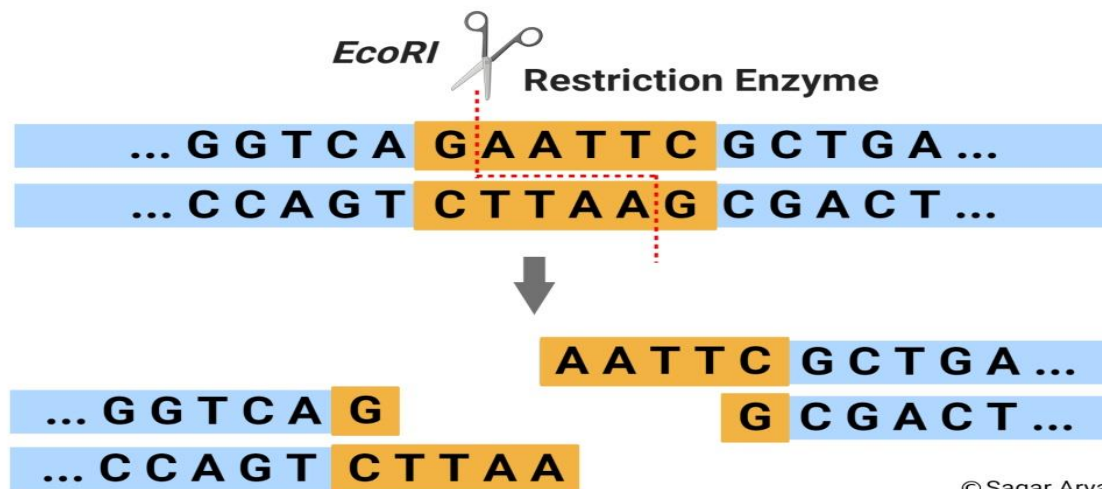
- Bu üsulla müayinə edilən materialda nuklein turşuları radioaktiv izotopla, yaxud fermentlə nişanlanmış zondlar vasitəsilə aşkar edilir.
- Zond kimi axtarılan nuklein turşusu molekuluna komplementar olan təkzəncirli DNT, yaxud RNT molekulundan istifadə edilir.
- Müayinə materialında zonda müvafiq (komplementar) nuklein turşusu olduğu təqdirdə onlar öz aralarında birləşir (hibridləşir) və ikili spiral əmələ gətirir.
- Hibridləşmiş molekullar radioimmün, yaxud immunoferment analizlərin köməyi ilə aşkar edilir.

DNT hibridləşdirmənin sxemi



Restriksion analiz

- **Restriksion analiz** əsasən mikroorqanizmlərin identifikasiyasında tətbiq edilir.
- Analizin prinsipi restriktazalar vasitəsilə parçalanmış DNT fraqmentlərinin elektroforetik üsulla identifikasiyasından ibarətdir.
- **Restriktaza** adlanan fermentlər endonukleazalara aid olub, DNT molekulunu ancaq müəyyən yerlərdən parçalamaq qabiliyyətinə malikdirlər.
- Restriksiya fraqmentinin uzunluq polimorfizmi (**restriction fragment length polymorphism - RFLP**) adlanan metod alınmış restriksiya fermentlərinin aqaroza gəldə elektroforezi və etidium bromid ilə boyadıldıqdan sonra gəldə əmələ gələn DNT ləkələrinin yeri və sayının standartla müqayisə edilməsinə əsaslanır.



Restriksion analizin mexanizmi

ETAPLAR:

1. DNT-nin alınması
2. DNT-nin restriksiyası
3. elektroforez



Sekvenləşdirmə üsulu

DNT molekulunda nukleotidlər ardıcılığını təyin etməyə imkan verir (ingiliscə, *sequence* – ardıcılıq).

Sanger üsulu ilə sekvenləşdirmə daha çox tətbiq edilir. Bunun üçün əvvəlcə müayinə edilən DNT molekulu qələvi hidroliz vasitəsilə müxtəlif uzunluqlu təkzəncirli fraqmentlərə parçalanır.



Sangerə görə sekvenləşdirmə

- Alınmış qarışığa müxtəlif cür nişanlanmış didezoksinukleotidlər (adenin, timin, qvanin və sitozin) əlavə edilir. Nişanlanmış didezoksinukleotidlər hər bir DNT-fraqmentinin 3'-sonluğunda olan komplementar nukleotidlərlə birləşir. Beləliklə, müxtəlif uzunluqlu təkzəncirli DNT fraqmentləri 3'-sonluğunda hansı nukleotidin olmasından asılı olaraq fərqli nişanlanmış olur.
- Sonra nişanlanmış DNT fraqmentləri vertikal poliakrilamid gelində elektroforezə məruz qoyulur. Bu zaman fraqmentlər molekul kütlələrindən asılı olaraq müxtəlif məsafələr qət edir və sonda nişanlanmış didezoksinukleotidlər müayinə edilən fraqmentdəki nukleotidlər ardıcılığına müvafiq olan qaydada düzülürlər. Elektroforez prosesi kompüter təhlilinə malik avtomatik rejimli xüsusi qurğularda – **sekvenatorlarda** aparılır

Sanger üsulu ilə sekvenləşdirmə

