

**Алиев Ш.Р., Мухамедов И.М.**

**Тиббиёт олий билимгохлари  
талабалари учун**



**Микробиологиядан  
лаборатория машғулотларига  
доир қўлланма**

**Тошкент 2011**

Алиев Ш.Р., Мухамедов И.М.

Микробиологиядан  
лаборатория  
машғулотларига  
доир қўлланма

Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг  
Ўқув юртлари бош бошқармаси тиббиёт олий билимгохлари  
талабалари учун ўқув қўлланмаси сифатида рухсат этган.

Ибн Сино номидаги нашриёт матбаа бирлашмаси

Тошкент – 2011 й.

### **Тақризчилар:**

О.М. Миртазаев – Тошкент тиббиёт академиясининг эпидемиология кафедраси мудир, тиббиёт фанлари доктори, профессор.

М.А.Мирзаева – Тошкент педиатрия институти микробиология, вирусология ва иммунология кафедрасининг мудир, тиббиёт фанлари доктори, профессор.

Ушбу қўлланма Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш тизимини ислох қилиш давлат дастурида қайд қилинган тиббиёт олий ўқув юртларини ўзбек тилидаги қўлланмалар билан таъминлаш заруриятини инобатга олган холда ёзилди.

Қўлланмада микробиология, вирусология ва иммунологияга оид умумий ва хусусий тушунчалар, шунингдек Марказий Осиё давлатларида сўнги йилларда кўпроқ учрайдиган юқумли касалликларнинг бактериологик, иммунологик ва серологик диагностикаси ёритилган. Унда 100 дан ортиқ расм, жадвал ва схемалар берилди.

Қўлланма тиббиёт институтларининг талабалари, магистрлар, шу соҳада илмий ва амалий иш олиб бораётган мутахассислар учун мўлжалланган.

## Қисқартирилган сўзлар рўйхати:

АГ – антиген  
АТ – антитела  
АР – агглютинация реакцияси  
БССТ - Бутун дунё соғлиқни сақлаш ташкилоти  
БЦЖ- Кальмет ва Герен бациллеси  
БГАР – билвосита гемагглютинация реакцияси  
ВСА – висмут сульфит агар  
ГАР – гемагглютинация реакцияси  
ГАТР – гемагглютинациянинг тормозлаш реакцияси  
ГРА- гўштли пептонли агар  
ГПБ - гўштли пептонли бульон  
ДНК – дезоксирибонуклеин кислота  
ЗА – зардобли агар  
ИА – ишқорий агар  
ИЛ – интерлейкин  
ИФ – интерферон  
ИТГБ - Ичак таёкчаси гуруҳидаги бактериялар  
ИФУ – иммунофлюоресцент усул  
ИФА - иммунофермент анализ  
КБР – комплементни боғлаш реакцияси  
КР - кумбс реакцияси  
КТЮК – касалхонада тарқалувчи юқумли касалликлар  
КХҚБ – колона ҳосил қилувчи бирлик  
ҚА – қонли агар  
МБК - минимал бактериоцид концентрацияси  
МГ - молекуляр гибридизация  
МИК- минимал ингибиция концентрацияси  
МАТ – моноклонал антитела  
НА – нейтралаш реакцияси  
НК – нуклеин кислота  
НФА - нейтрафилларни фогацитар активлигини  
ОГВ – оддий герпес вирус  
ОИТВ – одам иммун танқислик вируси  
ОИТС - одам иммун танқислик синдроми

ПГАР - пассив гемагглютинация реакцияси  
ПЗР – полимераза занжирли реакция  
ПР – преципитация реакцияси  
РНК - рибонуклеин кислота  
СД – дифференцировка кластери  
СК - суяк кўмиги  
СКБ – санитария кўрсаткич бактериялари  
СҚТА – сут қўшилган тузли агар  
СЭС – санитария эпидемиологик станция  
ТИ - терапевтик индекси  
ТКБ - термотолерант колеформ бактериялар  
ТСТА – тухум сариғи қўшилган тузли агар  
УМС – умумий микроблар сони  
ЦМ – цитоплазматик мембрана  
ХД – хужайра девори  
ХПТ – хужайрага патоген таъсири  
ША – шокалод агар  
Ig - иммуноглобулин  
DLM - Dosis letalis minima  
LD50 - letalis dosis 50

## Кириш

Маълумки, микробишогик текшириш натижаларига асосланган ҳолда юқумли касалликларга аниқ ташҳис қўйиш мумкин. Бунда шу касалликларга сабаб бўлган микроб соф ҳолда ажратиб олиниб, унинг ҳамма хусусиятлари ўрганиб чиқилади. Шунинг учун тиббиёт институтларининг барча факультетлари талабаларига тавсия этилаётган мазкур дарсликда юқумли касалликларнинг қўзғатувчиларига батафсил тавсиф берилди ҳамда улар қўзғатадиган касалликларнинг микробиологик диагностикаси кенг ёритилди.

Дарсликда бактериялар, вируслар, риккетсиялар, спирохеталар, хламидиялар, микоплазмалар, замбуруғлар, содда жониворлар ва бошқа микроорганизмлар қўзғатадиган касалликлар, уларни бактериологик, вирусологик ва иммунологик текшириш усуллари баён этилди.

Дарсликнинг иммунология қисмини ёзишда энг сўнгги замонавий диагностика усуллари кенгроқ ёритишга ҳаракат қилинди.

Сўнгги йилларда кўпайиб бораётган ҳамда ташҳис қўйишда муаммоли ҳисобланган ҳужайра ичи бактериялари (хламидия, риккетсиялар) ва микоплазма инфекцияларининг морфобиологик хоссалари ва лаборатория диагностикаси батафсил берилди.

Дарсликнинг хусусий қисмида эса бактериялар, замбуруғлар, вируслар, спирохеталар ва патоген, энг содда бир ҳужайрали жониворлар морфологияси, антигенлик хусусиятлари ҳамда улар пайдо қиладиган касалликларнинг лаборатория ташҳиси, профилактикаси ва даволаш усуллари баён этилди.

Дарсликда клиник микробиология асослари мавзуси биринчи бор ёритилиб, унда хавfli жароҳатлар ва куйиш, турли аъзо ва тўқималар зарарланишининг этиологик омиллари, бронх-ўпка, ичакнинг шартли-патоген инфекциялари ҳамда урологик касалликлар, дисбактериоз ва касалхона ичи (ятроген) инфекциялари тўғрисида тўлиқ маълумотлар берилди.

Дарслик айрим хато ва камчиликлардан холи бўлмаслиги мумкин. Шунинг учун муаллифлар дарслик ҳақидаги танқидий фикр ва мулоҳазаларни мамнуният билан қабул қилиб, китобхонларга олдиндан чуқур миннатдорчилик билдирадilar.

## **Тек. 1 Б О Б. УМУМИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ**

Микробиология фанининг ушбу бўлимда бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларнинг тузилиши, асбоб-ускуналари, ҳамда бактериологик вирусологик текширишларда қўлланиладиган асосий усуллар: озиқа-муҳитларини тайёрлаш, стериллаш, микроорганизмларни ўстириш усуллари ва соф культураларни ажратиб олиш, микроскоп остида кўриш, идентификация қилиш баён этилган.

Юқорида кўрсатилган усуллар ёрдамида талабалар томонидан лабораторияларда бактерия ва вирусларнинг морфологик, культурал ҳамда биокимёвий белгилари ўрганилади. Атроф-муҳитдаги объектларни ҳамда озиқ-овқат маҳсулотларини санитария-бактериологик жиҳатдан баҳолаш ҳам шу усуллар асосида ўтказилади. Шу билан бир қаторда талабалар ташқи муҳитнинг физик, химик факторларини микроорганизмларга таъсири, антибиотикларнинг активлиги, бактерияларнинг уларга сезувчанлиги ҳамда бактериялар ирсиятининг асосларини текшириш усуллари ҳам кўриб чиқишади.

Ўтказилган лаборатория машғулотлари талабаларга маърузаларда олинган билимларини мустақамлаш ва бактерияли, вирусли касалликларга лаборатория ташхисини қўйишда ҳамда атроф муҳитни санитария-бактериологик жиҳатдан текширишда, эгалланган микробиологик текшириш маҳоратидан фойдаланиш имконини беради.

### **Мавзу 1. Микробиологик лабораториялар ва уларнинг жиҳозлари. Бактерияларни морфологияси**

#### **Машғулот режаси:**

1. Микробиологик (бактериологик, вирусологик ва серологик) лабораторияларни ташкил этиш ва уларда ишлаш қоидаси.
2. Микробиология лабораторияларининг асосий асбоблари ва жиҳозлари.
3. Микроскоплар ва улардан фойдаланиш усуллари.
4. Микроорганизмлар ҳақида тушунча, бактерияларни ўрганиш усуллари
5. Шарсимон бактериялар морфологияси
6. Суртма тайёрлаш техникаси, оддий бўйаш усули.

#### **Намоиш қилиш**

**1.** Микробиология лабораторияларида фойдаланиладиган асосий асбоб ва жиҳозларнинг тузилиши, қўлланилиши: термостат, центрифуга, автоклав, қуритиш шкафи ва бошқа асбоблар, идишлар.

2. Биологик микроскоплар ва уларнинг турли хиллари.
3. Бактерия, ачитқи замбуруғи препаратлари.
4. Бактериологик амалиётда қўлланилаётган бўёқлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1. Стафилококкнинг агарли культурасидан суртма тайёрлаш, генциан бинафша билан бўйаш, микроскопда кўриш, расмини дафтарга чизиш.
2. Стрептококкнинг бульонли культурасидан суртма тайёрлаш генциан бинафша билан бўйаш, микроскопда кўриш, расмини дафтарга чизиш.
3. Ичак таёқчасининг агарли культурасидан суртма тайёрлаш, сувли фуксин билан бўйаш, микроскопда кўриш, расмини дафтарга чизиш.

#### **Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларни ташкил қилиниш принциплари.**

Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораториялар санитария эпидемиологик станциялар (СЭС) таркибида, йирик шифохоналарда ва тиббиёт институтларида (талабалар билан машғулот ўтиш учун) ташкил қилинади. Бу лабораторияларда беморлардан олинган патологик материаллар асосида бактериологик, вирусологик ва серологик текширувлар ўтказилади. Шу билан бир қаторда бу лабораторияларда бактерия ташиб юрувчилар кўрикдан ўтказилади, ҳамда сув, ҳаво, тупроқ, озиқ-овқат маҳсулотлари ва турли буюмлар ҳам санитария бактериологик текширувдан ўтказилади.

Касалхоналар таркибидаги бактериологик, серологик лабораторияларда 3 ва 4 гуруҳ юқумли касалликлар ( ичак, ҳаво томчи, йирингли инфекциялар) ташхиси учун текширувлар ўтказилади. Шу билан бир қаторда шифохонанинг санитария гигиена ҳолатига баҳо беришда, стериллаш ва дезинфекция сифатлари ҳам мунтазам текшириб борилади.

Ўта хавfli юқумли касалликлар ( тоун, бруцеллёз, куйдирги, туляримия ва бош.) қўзғатувчилари диагностикаси махсус лабораторияларда олиб борилади.

Вирусологик лабораториялар республика, шаҳар, вилоят СЭС лар таркибида ва вирусология илмий текшириш институтида ташкил қилинган. Бу лабораторияларда вируслар келтириб чиқарувчи касалликлар (грипп, полиомиелит, қизамиқ ва бошқалар) хламидия (орнитоз ва бошқалар) ва риккетсиялар чақирувчи касалликларга ( тошмали тиф, КУ –иситмаси ва бошқалар) ташхис қўйилади. Вирусологик лабораторияларни ташкил этиш ва

жиҳозлашда вируслар, ҳужайра культуралари, товуқ эмбрионлари ва лаборатория ҳайвонлари билан ишлаш учун махсус бокслар кўзда тутилади ва жуда қаттиқ асептик шароитлар талаб этилиши ҳисобга олинади.

Лабораторияларни ташкил қилишда ЎзРес. соғлиқни сақлаш вазирлиги қошидаги режим ҳаётининг талаб қоидаларига қаттиқ амал қилинади. Ишнинг ҳажми ва мақсадларидан келиб чиққан ҳолда лабораторияларда бир неча хоналарга жойлашган бўлиши керак, яъни:

- а) анализларни рўйхатга олиш ва уларнинг жавобини бериш учун хона;
- б) айрим бактериялар гуруҳи ( ичак, ҳаво томчи, санитария ва бош.)

билан ишлаш учун хоналар;

- в) стерил материаллар билан ишлаш учун бокслар;
- г) серологик текширишлар ўтказиш учун хона;
- д) озиқли муҳитни тайёрлаш, стериллаш учун хона;
- з) идишларни ювиш учун алоҳида хоналар;

ж) соғлом ва тажриба қилинаётган ҳайвонлар ва уларни сақлаш учун хона (вивария).

Вирусологик лабораторияларида юқорида кўрсатилган хоналардан ташқари яна текшириладиган материалга махсус ишлов бериш ва ҳужайра культуралари билан ишлаш учун алоҳида бокслар мавжуд бўлиши шарт.

Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораториялар ҳозирги кунда кўйидаги замонавий асбоблар ва анжомлар билан таъминланган бўлиши керак, яъни: биологик ва қўшимча мосламали (ёруғлик берувчи, фазо-контраст) люминесцент, электрон микроскоплар, термостат, анаэроустат, стериллаш учун асбоблар (автоклав, қуритиш, стериллаш шкафи), сув хаммоми, рН-метрлар, дистилланган сув тайёрлайдиган асбоблар (дистиллятор), центрифугалар, техник, аналитик тарозилар, филтрлайдиган асбоблар (Зейтц филтри ва бошқалар), холодильниклар, пахта-докали пробкалар тайёрлайдиган аппарат, асбоблар тўплами (бактериологик қовузлоқлар, шпателлар, игналар, пинцет, автоматик микропипеткалар ва бошқалар), лаборатория идиши (пробиркалар, колбалар, Петри косачалари,



матрацлар, флаконлар, ампулалар, пастер пипетки ва белгиланган пипеткалар) ва бошқалар билан таъминланган. Замонавий йирик лабораторияларда бактерияларнинг идентификация (саралаш) қилишда компьютерли программалар мавжуд. Шу билан бир қаторда серологик, вирусологик лабораторияларда иммунофермент, иммуноблотинг текшириш учун асбоб анжомлар ва ПЦР аппарати зарур.

Лабораторияда микроскопик препаратларни бўйаш учун алоҳида жой ажратилган бўлади. Бу ерда бўёқлар эритмаси, спирт, кислоталар, реактивлар филтър қоғоз ва бошқалар мавжуд. Ҳар бир иш жойида газ ёки спиртли горелкалар ва дезинфекция эритмаси солинган шиша идишлар билан таъминланади. Кундалик иш учун лабораторияда етарли микдорда озиқли муҳитлар, кимёвий реактивлар, диагностик препаратлар ва бошқа керакли нарсалар бўлиши зарур.

### **Бактериологик лабораторияларда ишлаш қоидалари**

Мавжуд бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларда юқумли касалликларни қўзғатувчи, яъни патоген микроорганизмлар билан иш олиб борилади. Шунинг учун лабораторияда ишлашнинг ички тартиб қоидаларига қатъий (ходимлар ва талабалар) риоя қилишлари зарур.

1. Лабораторияларга патологик материалларни қабул қилиш ва бактериологик ишларни бажарилишида бир томонга йўналтирилган оқим қоидаларига қатъий риоя қилиниши керак.

2. Лабораториянинг барча ходимлари оқ халат, оқ қалпоқча ёки оқ рўмолча ўраб, махсус алмаштириладиган оёқ кийимида ишлашлари керак. Лабораторияга ҳалатсиз кириш мутлоқа мумкин эмас. Зарур ҳолларда ходимлар юзларига доқадан тайёрланган ниқоблар билан ишлашлари мумкин. Вирусологик ва ўта ҳафли махсус режимли лабораторияларда ходимлар махсус қабул қилинган қўлланмаларга риоя қилган ҳолда ишлашади.

3. Патологик материалларни қабул қилиш, экиш ва серологик муолажаларни бажаришда ходимлар албатта резина қўлқоп билан ишлашлари зарур.

4. Лабораторияда чекиш, овқатланиш қатъий ман қилинади. Овқатланиш, дам олиш ва ечиниш учун махсус хоналар ажратилади.

5. Фавқулотда юқумли материаллар иш столига, полга ва бошқа жойларга тушса, бу жой дезинфекция қилувчи эритма билан яхшилаб зарарсизлантирилиши зарур.

6. Микроорганизм культураларини сақлаш, кузатиш ва уларни ўлдириш махсус қўлланмалар асосида олиб борилиши лозим. Барча лабораторияга келган патоген материаллар, ажратиб олинган микроб штаммлари махсус дафтарларга рўйхатга олинади.

7. Ишни тамомлагач, иш жойи тартибга келтирилади ва қўлни яхшилаб ювиш, керак ҳолларда, дезинфекция қилувчи эритмалардан фойдаланиш лозим.

8. Ҳар бир талаба ўқув лабораториясида ўз ўрнига эга бўлиши керак.

9. Машғулот учун берилган материалларни навбатчи талаба қабул қилиб олади ва ўқитувчи назоратида талабаларга тарқатади.

10. Машғулот охирида талабалар ишлатилган материалларни навбатчи талабага, навбатчи талаба кафедра лаборантига топширади.

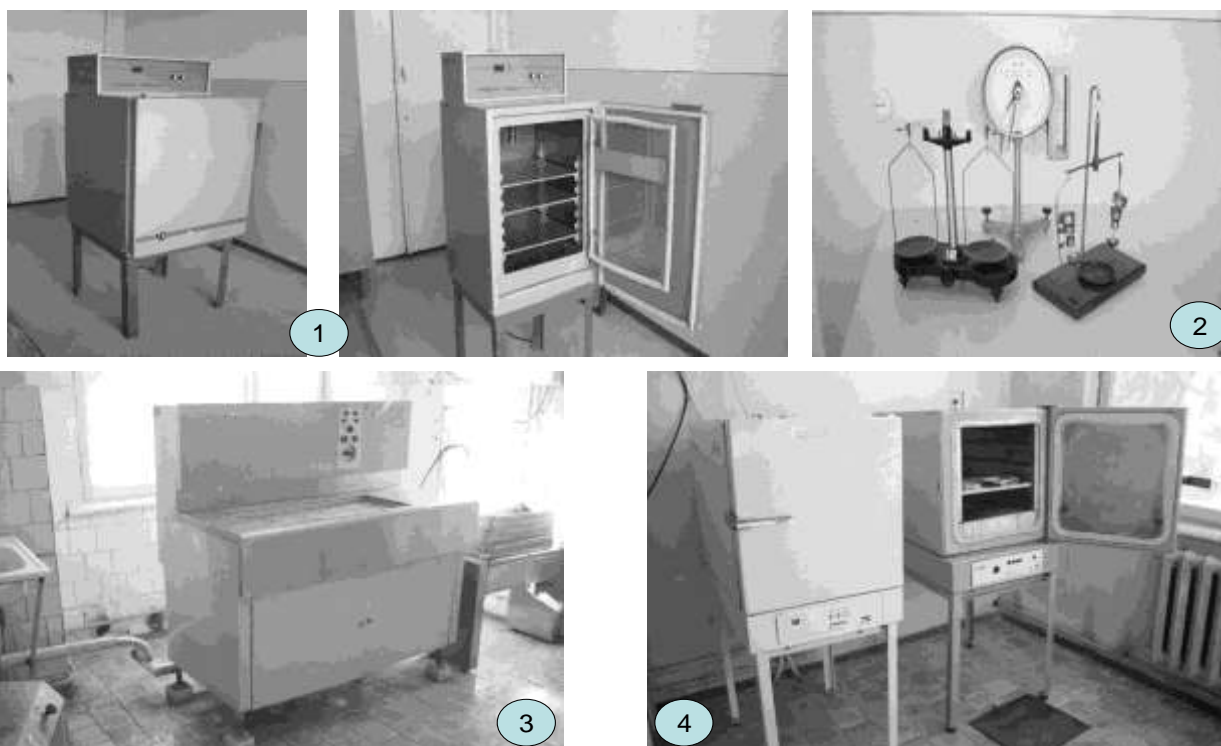
11. . Машғулот охирида талабалар ўз иш жойларини тартибга келтиришади, қўлларини совун билан ювишади, машғулот бўйича қилинган ишлар баённомалари ва расмлар чизилган дафтарга ўқитувчи имзосини қўйдиради.

### **Лабораторияларда бактерияларни ўстириш, озиқ-муҳитларни, анжомларни стериллаш ва бошқа мақсадларда қўлланиладиган асбоблар.**

**1. Термостат.** Бу аппаратда иссиқлик бир хил даражада сақланиб туради ва температурани махсус бактерияларни ўстириш учун тартибга солиб туриш мумкин. Кўпчилик бактерияларни кўпайиши учун қулай температура  $37^{\circ}\text{C}$  ҳисобланади. Термостатлар қуруқ ҳаволи ва сувли бўлади (расм 1).

Термостатлардан амалиётда бактерияларни ўстириб олишда фойданилади.

**2. Микроанаэроустат.** Ҳозирги кунда жуда кўплаб модификациялари чиқарилган. Бу асбобларнинг асосий хусусияти анаэроб бактерияларни



Расм 1. Микробиологик мақсадларда қўлланиладиган асбоблар: 1. Термостат; 2. Тарозилар; 3. Сув ҳаммоми; 4. Куритиш шкафлари.

Ўстириш учун кислородсиз шароит яратилишидан иборат. Тузилиши метал ёки оргшишадан қилинган цилиндр бўлиб қопқоғи герметик беркилади. Қопқоғида вакуумметр ва иккита кран бўлиб, бу кранлар ёрдамида цилиндр камерадан ҳаво сўриб олиниши ёки керакли газ аралашмалари юборилиши мумкин. Охирги йилларда HIMEDIA компанияси томонидан чиқарилган оргшишали микроанаэростат бактериологик амалиётда кенг қўлланилмоқда (расм 2 ).



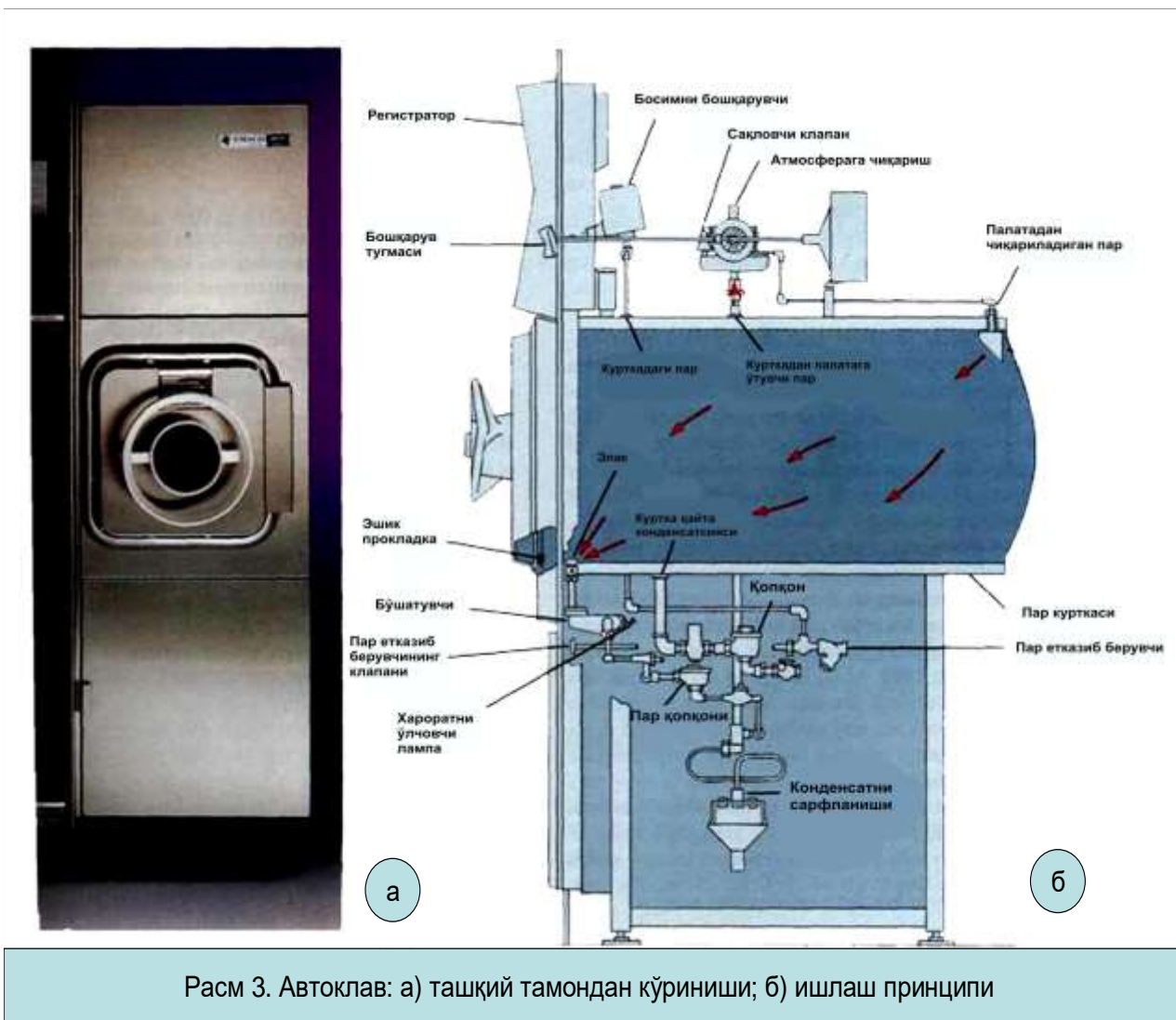
Расм 2. Микроанаэростатни тузилиши ва ишлаш принципи

**3. Автоклав.** Бу асбоб буғ ва босим билан стериллашга мўлжалланган. (расм 3). Бактериологик лабораторияларда автоклавларнинг турли модификация моделлари (горизантал, вертикал, стационар ва кўчириш мумкин бўлган турлари) ишлатилади. Асосан автоклавлар лабораторияда озик муҳитлар, лаборатория идишлари ва бошқа материалларни стериллашда ва ажратиб олинган бактерияларни ўлдиришда қўлланилади.

**4. Қуритиш шкафи ( Пастер печи).** Бу асбобларни ҳам ҳозирги кунда турли хиллари ишлатилади. Бу асбобларда ҳарорат  $180-200\text{ }^{\circ}\text{C}$  гача кўтарилиши мумкин (расм 1). Асосан ҳароратга чидамли лаборатория идишлари ва бошқа материалларни стериллаш учун қўлланилади.

**5. Холодильниклар ( Музлаткичлар).** Бактерияларни музей культурасини, озикли муҳитни, қон, вакцина, диагностик зардоблар ва бошқа биологик

жихатдан актив препаратларни паст ҳароратда ( 4°C атрофида) сақлаш учун фойдаланилади. Бундан ташқари баъзи биопрепаратлар жуда паст ҳароратли музлаткич камераларида ҳам сақланади. Бундай музлаткич камераларда ҳарорат -20 °C ва ундан ҳам паст бўлиши мумкин.



Расм 3. Автоклав: а) ташқий тамондан кўриниши; б) ишлаш принципи

**6. Центрифугалар.** Бу асбоблар ёрдамида патологик суюқ материалларда (сийдик, сув ва бошқаларда) микроорганизмларни чўктириб, уларнинг миқдорини ошириш ва бошқа хужайраларни чўктириш (қон элементлари) бир хил бўлмаган суюқликларни (эмульсияни, микроб суспензиясини) ажратиб олишда ишлатилади. Центрифугалар айниқса серологик лабораторияларда кенг қўлланилади. Лабораторияларда турли тезликда айланадиган центрифугалардан фойдаланилади.

**7. Колонияларни ҳисобловчи асбоб** (расм 4). Ярим автомат ҳисобловчи асбоб пружина мослама билан игнага уланган. Игна Петри косачасидаги колониялар устига бироз теккизилади ва косача юзасида из қолади. Бунда қўл билан ушлайдиган қисми юқорига кўтарилади, натижада занжир беркилади, асбоб ҳисоблай бошлайди.

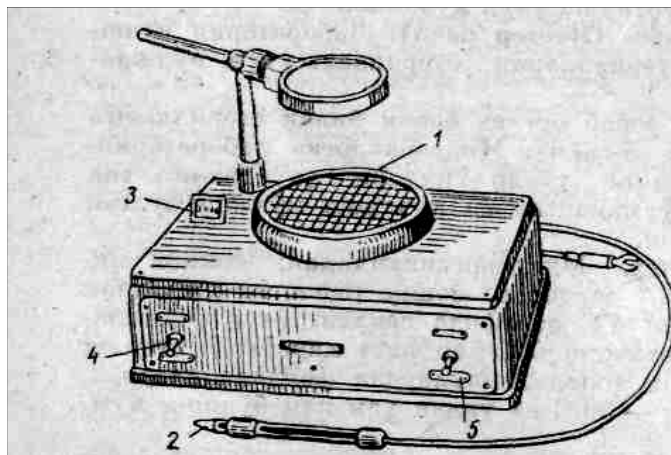
#### МИКРОСКОП ВА МИКРОСКОПИЯ ҚИЛИШ УСУЛЛАРИ

Микробиологик текширувлар учун микроскопларнинг бир неча турлари (биологик, люминесцент, электрон) ва микроскопда кўришнинг махсус усуллари ва мосламалари (фазо-контраст, қоронғи кўрув майдони) дан фойдаланилади.

**Биологик микроскоп.** Микробиология амалиётида ҳозирги кунда ишлаб чиқарилган кўплаб микроскоплар қўлланилади (МБР-1, МБИ-1, МБИ-2, МБИ-3, МБИ-6, Биолам Р-1 ва бошқалар) Улар турли микроорганизмларнинг шакли, тузилиши, ўлчами, ҳаракати ва бошқа белгиларини аниқлаш ва катталиги 0,2—0,3 мкм дан кичик бўлган микроорганизмларни кўриш учун мўлжалланган. Бактериологик амалиёда кўпроқ Биолам монокуляр ёки бинокуляр микроскопларидан фойдаланилади.

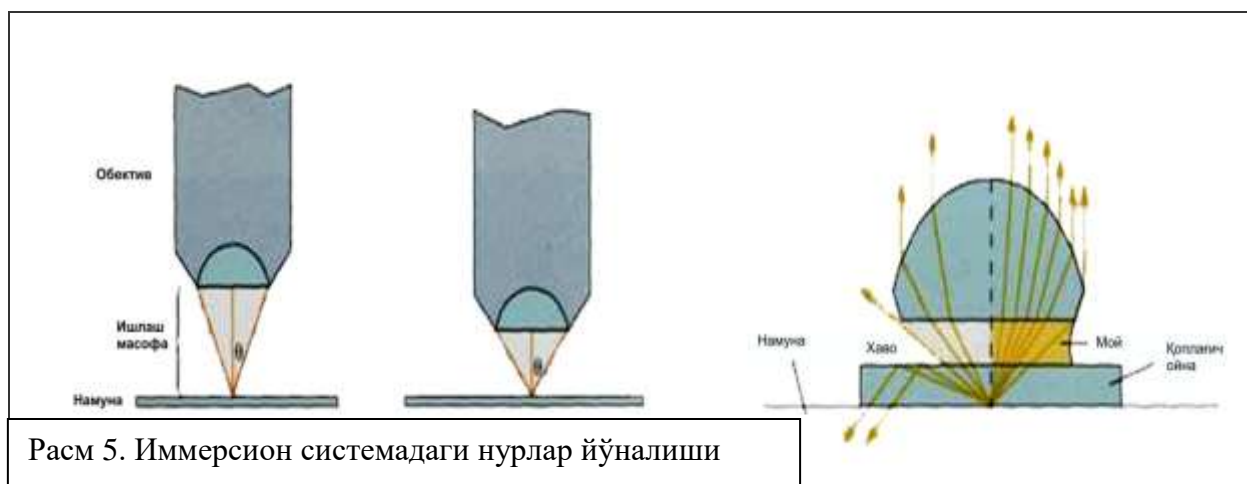
Микроскоп иккита оптик ва механик қисмлардан ташкил топган. Оптик қисмига микроскоп пастида жойлашган объективлар киради. Улар объектни катта қилиб кўрсатувчи ва оптик камчиликларни тўғриловчи линзалардан иборат. Объективлар курук ва иммерсион системага (immersia — қамраб олиш) бўлинади. Биолам микроскопларда учта курук ва битта иммерсион объектив бор. Ҳар бир объектив устида улар тўғрисидаги маълумотлар ёзилган. 1)  $\times 8$ , 20, 40, 90 ёки 100; 2) сонли апертура; 3) заводда чиқарилган номери. Булар билан бир қаторда иммерсион объективларда 90 ва қўшимча ИО ёки МИ (иммерсион объектив ёки мойли иммерсия) ҳарфли индекс ёзилган, ҳамда объективнинг пастида қора чизик ўтказилган.

Иммерсион объективнинг тўғрига йўналтирилган (фронтал) линзаси калта фокус оралиғига эга ( $f = 1,5—3$  мм). Микроскоп орқали кўрилатганда линза олдиндан томизилган мойга ботирилади. Иммерсион мойнинг нурни синдириш кўрсаткичи (1,52),



Расм 4. Микроб колонияларини ҳисоблайдиган аппарат: 1-Петри коса часи учун столча; 2-пружинага эга бўлган игна; 3-ҳисобнинг кўрсаткичи; 4- импульсли ҳисобчини улаш учун тумблер; 5-ҳисоб-чини ёритувчи лампани ёқадиган тумблер.

ойнанинг синдариш кўрсаткичига яқин. Бунда объективга тушаётган нурлар тўлик сақланади (расм 5).



Расм 5. Иммерсион системадаги нурлар йўналиши

Иммерсион микроскоп 0,2 мкм дан кичик бўлган объектларни кўрсата олиш қобилиятига эга. Микроскопнинг умумий катталаштириш имкониятини аниқлаш учун объективнинг катталаштиришини окулярнинг катталаштиришига кўпайтирилади. Масалан, иммерсион объективи 100 ва окуляри 10 бўлган микроскопнинг катталаштириш қуйидагича  $100 \times 10 = 1000$  марта. Иммерсион системадаги нурларнинг йўналиши 5-расмда кўрсатилган.

**Биологик микроскопга қўшимча мосламалар.** Бу мосламалар микроскопнинг бутун имкониятидан тўлик фойдаланиш имконини беради, ишлаш шароитини енгилаштиради ва уларни қўллаш доирасини бирмунча кенгайтиради. Микробиологик лабораторияларда асосан қуйидаги мосламалардан фойдаланилади:

1. Қоронғилаштирувчи кардиоид ва параболоид-конденсорлар.
2. Фазо-контраст мосламалар КФ-1, КФ-4 ва бошқа нусхалари.
3. Микроскопик объектларни ўлчаш учун мўлжалланган окуляр-микрометр ва объект-микрометрлар.

4. Препаратларнинг расмини чизувчи, расм оладиган асбоб. Бу асбоб ёрдамида бир вақтнинг ўзида объект ва столдаги микроскопга яқин турган қоғоз тасвирини кўриш ва қоғозга объектнинг контурларини чизиш мумкин.

5. Ёруғлик манбаи билан микроскоп оралиғига ўрнатиловчи ва микрофотографияларда, микроскопиянинг махсус усулларида қўлланилувчи рангли, нейтрал ва илиқ оптик, ёруғлик фильтрлари.

6. Микроскопик объектларнинг расмини олиш учун ишлатилувчи МФН-1, МФН-3 ва бошқа нусхадаги микромосламалар.

**Қоронғи кўрув майдонидаги микроскопия.** Қоронғи кўрув майдонида микроскоп остида кўриш. Суюқликдаги жуда майда заррачалар аралашмасини (Тиндал эффекти) ён томонидан кучли ёритилиши натижасида ҳосил бўладиган ёруғлик дифракциясига асосланган. Бунга биологик микроскопдаги оддий конденсорни параболоид ёки кардиоид-конденсор билан алмаштириш натижасида эришилади.

Параболоид конденсор ўз марказида марказий ёруғлик нурларини тутиб қоладиган,



1



2



3



4



5



6

Расм-6. Микробиологик амалиётда қўлланиладиган микроскоплар: 1, 2-бинокуляр биологик микроскоплар; 3,4- Лазерли конфокал микроскоп; 5- Интерференцияловчи компьютерли микроскоп; 6-Электрон микроскоп

қоронғиликка ва нурларни қайтариш учун ички кўзгули юзага эга. Кардиоид-конденсорда ёруғлик нурлари аввал қабарик сиртдан, сўнгра эса ботиқ сиртдан қайтарилади. Қоронғи кўрув майдонидаги конденсордан чиқадиган четки нурлар қийшиқ йўналишда ўтиб, объективга тушмаганлиги сабабли кўрув майдони қоронғилигича қолади. Объективга объектдан қайтарилаётган нурлар келиб тушади, улар препаратнинг қоронғи фонидаги микроб хужайралар ва бошқа заррачаларнинг контурларида ёруғ нурларнинг ўзига хос тасвирини ҳосил қилади.

**Фазо-контраст микроскоп остида кўриш.** Шаффоф объектлардан ёруғлик тўлқини ўтаётганда фаза ўзгаришларининг амплитуда ўзгаришларига айланишига асосланган, буни кўз билан сезса бўлади. Фазо-контраст мослама ёрдамида объектдан ўтувчи ёруғлик тўлқинларининг фазовий ўзгаришлари амплитудали ва шаффоф объектларга айланиб микроскоп остида кўринадиган бўлади. Бунда улар юқори контрастли тасвирларга эга бўлиб позитив ёки негатив бўлиши мумкин. Позитив фазо-контраст деб, ёруғ кўриш майдонида объектнинг қора, негатив фазо-контраст деб, қоронғиликда объектнинг ёруғ тасвирига айтилади. Фазо-контраст микроскопда кўриш учун оддий микроскоп ва унга қўшимча КФ-1 ёки КФ-4 мосламадан фойдаланилади.

Уларнинг комплектига қуйидагилар киради:

1. Фазо ҳалқаси бўлган махсус объективлар бўлиб, улар фазани ўзгартиради ва ёруғлик тўлқинининг амплитудасини камайтиради. Фазо объективлар гардишида қўшимча «Ф» ҳарфли индекс: Ф-10, Ф-20, Ф-40 ва ФОИ-90 белгиланган.

2. Ҳар бир объектив учун, махсус ҳалқали диафрагма револьверига эга бўлган фазо-конденсор бор. Препаратни оддий ирисли диафрагма усули билан кузатиладиган тирқиши «0» индекси билан белгиланган.

3. Кам катталаштирувчи ёрдамчи микроскоп орқали ёруғликни марказлаштириш процесси кузатилганда окуляр алмаштирилади.

Фазо-контраст микроскопда ОИ-7 ёки ОИ-19 типидagi ёритгичлардан фойдаланилади.

**Люминесцент ёки флюоресцент микроскопда кўриш.** У фотолюминесценция ҳолатига асосланган (7-расм).

Люминесценция (lumen — сўздан олинган бўлиб, ёруғликни англатади) — флюоресценция қилувчи объектларни микроскопия қилиб кузатишда қўлланилади. Люминесцент микроскопияда кучли манбадан тарқалган ёруғлик иккита филтрдан ўтади. Биринчи филтър текширилаётган намунага ёруғлик етмасдан ушлаб қолади. Лекин намунадаги флюоресценцияни активлаштирувчи ёруғликни узун тўлқинини ўтказади. Иккинчи филтър флюоресценция тарқатувчи намунанинг ёруғлик тўлқинини ўтказади. Шундай қилиб флюоресценция тарқатувчи намуна ўзига бир ёруғлик тўлқинининг узунлиги ютади ва уни бошқа ёруғлик спектрида тарқатади.



Бирламчи люминесценция объект олдиндан бўялмаса ҳам кузатилади. Иккиламчи люминесценция эса, препаратни махсус люминесцент бўёқлар — флюорохромлар билан бўялганда ҳосил бўлади. Охириги йилларда флюорохром билан нишонланган иммуноглобулинли диогностикумлар чиқарилмоқда.



Расм 7. Люминесцент микроскоп

Люминесцент микроскопия бошқа оддий усулларга нисбатан бирмунча афзалликларга эга: тирик микроорганизмларни текшириш ва текширилаётган материалда жуда кам миқдорда бўлса ҳам уларни топиш. Лаборатория амалиётида кўпчилик микроорганизмларни аниқлаш ва

ўрганиш учун люминесцент микроскоплардан кенг фойдаланилади.

**Электрон микроскопда кўриш.** Электрон микроскоп ёрдамида ёруғлик микроскопи билан кўриб бўлмайдиган (0,2 мкм) кичик объектлар кўрилади.

Электрон микроскоп вируслар, турли

микроорганизмларнинг нозик тузилиши, макромолекуляр бирикмалар ва бошқа субмикроскопик объектларни ўрганиш учун қўлланилади. Бундай микроскопларда ёруғлик нурларини электрон оқимлар эгаллайди. Ушбу электрон оқимларнинг тўлқин узунлиги маълум 0,005 нм бўлиб, деярли кўринадиган ёруғлик тўлқинининг узунлигидан 100 000 марта калта.

Электрон микроскопнинг энг кучли кўрсата олиш имконияти амалда 0,1— 0,2 нм бўлиб, умуман 1 000 000 марта катта қилиб кўрсатади ( расм 6).

«Нур тарқатувчи» электрон асбоблар билан бир қаторда сканерлайдиган электрон микроскоплардан ҳам фойдаланилади. Улар объект рельефини яхши кўрсатади. Аммо бу микроскопларнинг катта қилиб кўрсатиш имконияти «нур тарқатувчи» электрон микроскопникидан кам.

**Ҳозирги замон технологияларини микробиологик амалиётда қўлланилиши (расм 6).**

**1.Интерференцияловчи компьютерли микроскопия** –хужайраларни субмолекуляр даражада юкори тиниқликга эга бўлган тасвирларини олиш мумкин.

**2. Лазерли конфокал микроскопия-** объектларни аниқ тасвирини бутун майдон бўйлаб кўриш мумкин. Компьютер технологияларини қўллаш орқали объектни реконструкция қилиш ҳам мумкин.

### **Методик кўрсатмалар**

Микроскопдан тўғри фойдаланиш учун, аввало микроскопни тўғри ўрнатиш, кўриш майдони ва препаратдаги ёруғлик етарли даражада бўлиши керак. Сўнг микроскоп остида препаратни турли объектив ёрдамида кўриш мумкин. Ёруғлик табиий (кундузги) ёки сунъий бўлиши мумкин. Бунинг учун турли махсус ёруғлик манбаларидан (масалан, ёриткич ОИ-7 дан) фойдаланилади.




Ҳозирги микроскопларда ёруғлик манбаси мавжуд. Препаратни иммерсион объектив билан микроскопда кўрганда маълум тартибда ишни кетма-кет олиб боришга қатъий риоя қилиш керак:

- 1) тайёрланган ва бўялган суртмага иммерсион мойидан кичкина томчи томизилади ва препарат буюм столига қўйилади (қисқич билан қистириб қўйиш шарт эмас);
- 2) револьвер иммерсион объективдаги 100 белгига қадар буралади;
- 3) аста-секин микроскоп тубуси иммерсион мойга теккунча туширилади;
- 4) микрометр винти ёрдамида препаратнинг охирги фокуси аниқланадн.

Объектив препаратга тегмаслиги керак, чунки у препаратни ёки фронтал линзани синдириши мумкин (иммерсион объективнинг препарат билан бўялган оралиғи 0,1—1 мм бўлиши керак).

Иш тамом бўлгач, иммерсион объективдаги мойни махсус материал билан яхшилаб артиш ва револьверни кичик, куруқ 8-объективга айлантириб қўйиш шарт.

# Микроблар олами

ноҳужайравий формалари	Ҳужайравий формалари		
	Bakteria доменлиги	Archeae доменлиги	Eukarya доменлиги
	Прокариотлар		Эукариотлар
Прионлар	Юпқа деворли бактериялар, грамм манфий бактериялар (протеобактериялар ва бошқалар)	Архебактериялар	Содда жониворлар (Protozoa подшолиги) амёбалар споралилар хивчинлилар киприкчалилар
Вироидлар			
Вируслар	Грамм мусбат, қалин деворли бактериялар		
 	Ҳужайра девори йўқ бактериялар - микоплазмалар		

Расм 8. Микроорганизмлар классификацияси

## **Микроорганизмларни морфологияси**

Микробиология фанининг бу бўлимида турли микроорганизмлар дунёсининг асосий вакиллари: бактерия, вирус, содда жониворлар ва замбуруғларнинг морфологияларига хос хусусиятлари кўрилади. Бактериялар прокариотлар оламига киради (расм 8). Бержи классификацияси (2001) бўйича табиатдаги тирик мавжудотлар 4 оламга киритилади: эукариотлар, прокариотлар, архебактериялар, вируслар ва плазмидлар. Прокариотлар олами хужайра деворларини тузилиши характери бўйича иккита (доменга) гуруҳга Bacteria ва Archaea га киритилган.

1. Bacteria домени (эубактерия) таркибига қуйидагилар киради

1. Юпқадеворли – буларга ҳамма грамманфий бактериялар киритилган.

2. Қалиндеворли - буларга асосан граммусбат бактериялар киритилган.

3. Mollicutes - буларга хужайра девори бўлмаган бактериялар

микоплазмалар киритилган

2. Archaea домени (архебактериялар) –буларга грамманфий, граммусбат бактериялар киритилган бўлиб, уларнинг хужайра девори бор, лекин унинг таркибида пептидогликан тутмайди. Улар ўзларига хос рибосомалар тутаяди РНК (рРНК).

Микроорганизмлар классификациясида улар синф, тартиб, оила, зот ва турларга бўлинади.

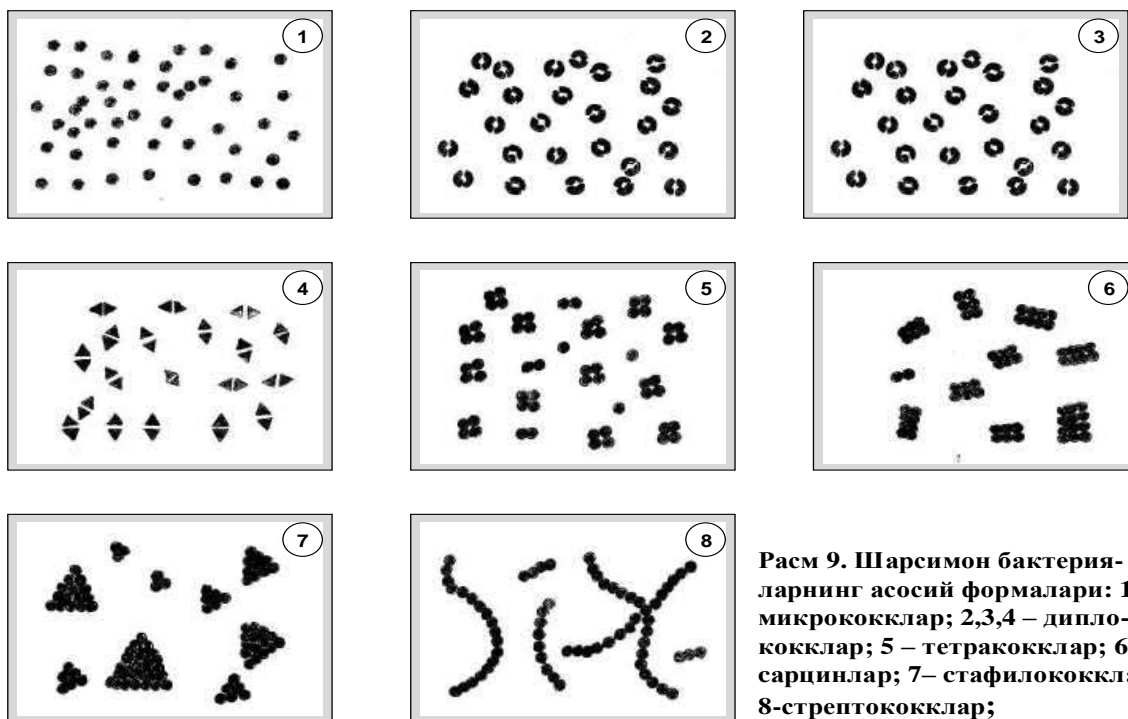
Тиббиёт микробиологиясида муҳим аҳамиятга эга бўлган қуйидаги бактериялар тўлиқ (бактериялар, спирохеталар, микоплазмалар, хламидиялар, риккетсиялар, актиномицитлар) ўрганилади.

## **Бактерияларнинг морфологияси ва тузилиши**

**Бактериялар** — бир хужайрали микроорганизмлардир. Улар турли шаклда бўлиб, мураккаб тузилишга эга, бу эса улар фаолиятининг турли-туманлигини белгилайди. Бактерияларни асосан тўрт шакли тафовут қилинади: шарсимон, таёқчасимон, бурама шакли ва ипсимон

**Шарсимон бактериялар** — к о к л а р (юнонча coccus- дон, мағиз деган сўздан олинган). бўлиниш сатҳи ва ҳар бир хужайранинг суртмада жойлашишига кўра кокклар бир-биридан фарқ қилади.

1. Аоҳида-алоҳида жойлашган коккларни микрококклар деб аталади, сапрофит касаллик келтириб чиқармайди ( расм-9).



Расм 9. Шарсимон бактерияларнинг асосий формалари: 1 – микрококклар; 2,3,4 – диплококклар; 5 – тетракокклар; 6 – сарцинлар; 7– стафилококклар; 8-стрептококклар;

2. Диплококклар – суртмада жуфт- жуфт бўлиб жойлашган кокклар. Диплококклар орасида одамда учровчи ҳар хил касалликларнинг кўзгатувчилари (пневмококклар, гонококклар, менингококклар) бор.

3. Стрептококклар – бўлингандан кейин бир-биридан ажралиб кетмасдан, занжирсимон жойлашган кокклар. Буларнинг вакилларининг кўпчилиги одам учун патоген ҳисобланади.

4. Стафилококк (узум шингилига ўхшаб жойлашган). Бўлиниши муайян тартиб билан бормаидиган бўлса, у вақтда кокклар биргаликда қолаверади ва узум шингилига ўхшаш тўпламлар ҳосил қилади. Одам учун патоген турлари мавжуд.

5 Тетракокклар (тўртта-тўртта бўлиб жойлашган кокклар) бир-бирига тик икки текисликда бўлинганда тўрта коккдан иборат бўлиб жойлашади. Одам учун патоген эмас.

6. Сарциналар (8 ёки 16 та кокклардаи ташкил топган тўпламлар) бир-бирига тик учта текисликда бўлинганда кубчалар кўринишини эслатадиган коккдан иборат бўлиб жойлашади. Одам учун патоген эмас.

**Бактерияларни морфологиясини ўганиш.** Бунинг учун бактериялар культураларидан тирик препаратлар, ёпиштирилган суртмалар тайёрланиб, анилин бўёқлари билан бўялади ва микроскопда кўрилади.

### **Методик кўрсатмалар**

Микроскоп ёрдамида текшириш учун препаратлар тайёрлаш.

**Текшириш учун материалнинг олиниши.** Препарат тайёрлаш учун пробирка, колба ёки Петри косачасидан бактериологик қовузлок ёки стерил пипетка орқали текшириладиган материал олинади. Айрим ҳолларда бу мақсадда препарат игналари ҳам ишлатилади. Бактериал культурали пробирка чап қўлга, бактериологик қовузлок эса, ўнг қўлга олинади. Қовузлок горелка алангасида қизаргунга қадар қиздирилади. Пахтали пробка пробиркадан ўнг қўлнинг IV, V бармоқлари билан кафтга сиқиб бураб, чиқариб олинади ва пробирка оғзининг четлари алангада бироз қиздирилади. Қовузлок аста-секин пробирка ичига киритилади, ички деворига теккизиб совитилади, сўнг аста ҳаракат қилиб материал олинади. Шундан кейин яна пробирка четлари қиздирилади ва пробка билан беркитилади. Препарат тайёрлангандан сўнг, қовузлок албатта горелка алангасида қиздирилиши (стериллаш) лозим. Суюқ материални пробирка ёки колбадан пипетка орқали олиш мумкин, бунда пипетка ўнг қўлда ушланади ва пипетка тешиги II бармоқ билан беркитиб турилади.

### **Суртма тайёрлаб кўриш этаплари**

1. Суртма тайёрлаш.
2. Қуритиш
3. Фиксация (қотириш) қилиш
4. Бўяш
5. Микроскопда кўриш.

**Иш тартиби.** Суртма тайёрлаш учун буюм ойнаси ёғсизлантирилади ( спиртовка алангасида), микроб култураси қовузлоқ билан олиниб ( микроб култураси агарда ўсган бўлса стерил физиологик эритма билан) буюм ойнасига суртма тайёрланади. Суртма юпка 10 сўмли тангадай бўлиши керак. Материал айнан шундай тақсимлангандагина якка-якка жойлашган бактериал хужайраларни кўриш мумкин. Агар текшириладиган материал суюқ мухитда бўлса, у ҳолда уни қовузлоқ билан тўғридан-тўғри буюм ойнасига томизилади ва суртма тайёрланади

Қуритиш- суртмалар ҳавода ёки илиқ ҳаво оқимида горелка алангаси устида қуритилади.

Фиксация қилиш- суртмани қотириш учун буюм ойнаси (суртмани юқорига қаратган ҳолда) 3 марта аста-секин (3 секунд давомида) горелка алангасидан ўтказилади. Айрим ҳолларда қон суртмаси, аъзо ва тўқималар суртма тамғалари, микроорганизм культураларидан тайёрланган суртмалар 5—20 мин метил ёки этил спирти, Никифоров аралашмаси, сулемали спирт ёки бошқа фиксация қиладиган суюқликларга солинади ва фиксация қилинади. Микроорганизмлар фиксация қилинаётганда ойна юзасига қаттиқ бириккан ҳолда ўлади ва кейинги ишловларда ювилиб кетмайди.

Фиксациядан мақсад- микроорганизмлар фиксация қилинаётганда ойна юзасига қаттиқ бириккан ҳолда ўлдирилади, зарарсизланади ва кейинги ишловларда ювилиб кетмайди ва ўлган бактериялар яхши бўйлади.

Фиксацияда рўй берувчи хатоликлар. Агар буюм ойнасини юқорида кўрсатилгандан кўпроқ қиздирилса, хужайраларнинг тузилиши кескин ўзгариб кетади.

Суртмани бўйашда 2 хил оддий ва мураккаб усуллардан фойдаланилади. Оддий усулда фақат битта бўёқ қўлланилади, мураккаб бўйашда эса бир неча бўёқлар қўлланилиши мумкин.

**Оддий усул.** Фиксацияланган суртма биргина бўёқ билан бўйлади, масалан, фуксиннинг сувли аритмаси (1—2 мин) ёки метилен кўкининг эритмаси билан (3—5 мин) бўйлади, сўнг сув билан ювилади, қуритилади ва микроскоп остида иммерсион системада кўрилади.

## **Мавзу 2. Бактериялар морфологияси ва тузилиши. Грам усулида бўйаш**

### **Машғулот режаси**

1. Бактерия шакллари ва уларни текшириш усуллари.
2. Бактериал хужайраларнинг ультура структура тузилиши
3. Мураккаб бўйаш усуллари.

### **Намоиш қилиш**

1. Бактерия культураларидан суртмалар тайёрлаш ва уларни бўйаш усули.
2. Оддий усул билан бўйланган суртмалардаги бактерияларнинг турли морфологик шакллари.
3. «Осилган», «эзилган» томчи препаратдаги бактериялар ҳаракатини аниқлаш.
4. Стафилоккок културасидан тайёрланган суртма. Грам усули билан бўйланган.
5. Ичак таёқчаси културасидан тайёрланган препаратлар. Грамм усули билан бўйланган.

6. Стафилококк, ичак таёқчаси культурасидан тайёрланган препаратлар.
7. Объект-микрометрга кўра окуляр микрометрни белгилаш билан микроб хужайрасининг ўлчамларини аниқлаш усули.
8. Бактерия хужайрасини ташкил этувчи компонентларнинг электрон микроскопик фотосуратлари, рангли албом суратлари.

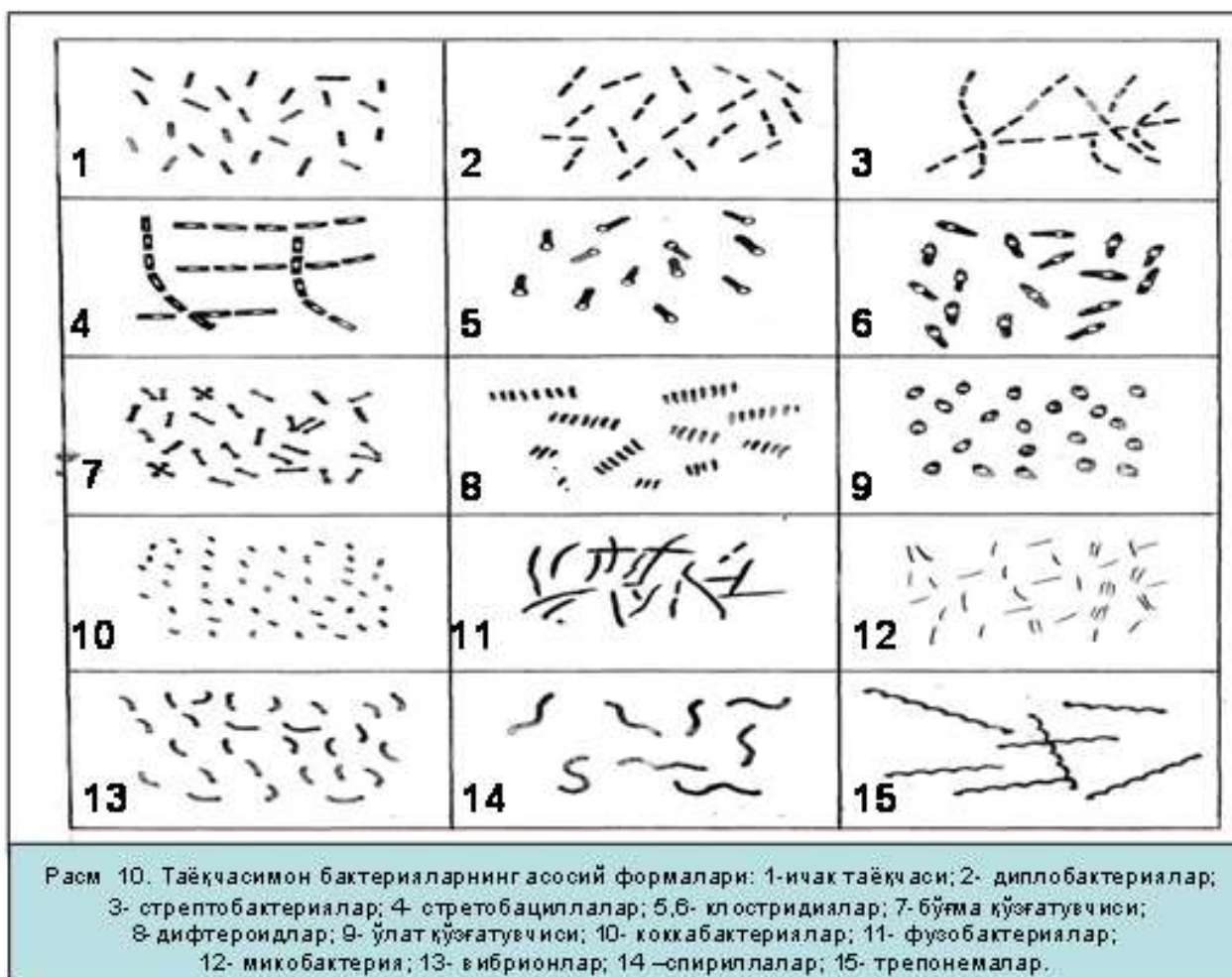
### Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ

1. Текширилаётган стафилококк культурасидан суртма тайёрлаш, Грам усули билан бўяш ва микроскопда кўриш, дафтарга тасвирини тушириш.
2. Текширилаётган стрептококк культурасидан суртма тайёрлаш, Грам усули билан бўяш ва микроскопда кўриш, дафтарга тасвирини тушириш.
3. Текширилаётган ичак таёқчаси культурасидан суртма тайёрлаш, Грам усули билан бўяш ва микроскопда кўриш, дафтарга тасвирини тушириш.
4. Текширилаётган Грам манфий ва Грам мусбат бактериялар аралашмасидан суртма тайёрлаш, Грам усули билан бўяш ва микроскопда кўриш, дафтарга тасвирини тушириш
5. Текширилаётган бактериялар ҳаракатини аниқлаш. Ўтказилган текширишлар натижаларига кўра баённома тузиш. Яқун ясаш (1-жадвалга қаралсин).

## Услубий кўрсатмалар

**Таёқчасимон бактериялар** – (юнонча *bacteria* - таёқча деган сўздан олинган).

Булар ҳам бир-бирларидан ўлчами, шакли, суртмада жойлашиши ва таёқчаларни учини кўриниши бўйича фарқ қилади (расм 10). Бактерияларнинг





ўлчами 0,1 дан 10 мкм гача бўлиши. Ўлчами бўйича 3 та кўринишда учрайди: -майда бактериялар ўлчами 0,1 -0,25 мкм буларга микоплазмалар, бортонеллалар; ўрта ўлчамли (1-3 мкм) бактериялар буларга кўпчилик таёқчасимон (ичак таёқчаси, бўғма қўзғатувчиси ва бошқалар) бактериялар; ўлчами катта (4-10 мкм) буларга газли гангрена, қоқшол қўзғатувчилари (расм 10) киради. Бактериялар формаси бўйича фарқланади – тўғри формали (ичак таёқчаси ва бош.) тўғри бўлмаган (коринебактерия ва бош.) ёки шохланган (бифидумбактерия ва бош.), овоид (ўлат қўзғатувчиси), тармоқланган ипсимон (актиномицитлар). Бактерия таёқчаларининг икки учини тузилиши бўйича ҳам улар бир биридан фарқланади. Икки учи қирқилган (куйдирги қўзғатувчиси), юмолоқлашган (ичак таёқчаси), ўткирлашган (фузобактериялар), икки учи катталашган (бўғма қўзғатувчиси) шакллари учрайди. Бактериялар бир-бирларига нисбатан суртмада жойлашувига қараб ҳам фарқланади. Кўпчилик бактериялар суртмада тартибсиз жойлашади (энтеробактериялар), суртмада жуфт- жуфт бўлиб жойлашган бўлса диплобактериялар деб аталади (клебсиеллалар), агар спора ҳосил қилса диплобациллалар деб номланади. Суртмада занжирсимон бўлиб жойлашса стрептобактериялар (юмшоқ шанкр қўзғатувчиси) спора ҳосил қилса стрептобациллалар (антарокоидлар) деб аталади. Суртмада рим цифрларини эслатиб ётиши мумкин (бўғма қўзғатувчиси), сигарет пачкасини эслатиб туриши (мохов қўзғатувчиси) мумкин.

**Б у р а м а, эгилган шаклли** бактерияларга —спириллалар, спирохеталар, кампилобактерия ва хеликобактериялар киради. Спириллалар — спирал шаклдаги бир неча бурамадан иборат. Спириллаларни кўпчилиги сапрофит, патоген турига Содоку касаллиги қўзғатувчиси киради (каламушлар тишлаши оқибатида юқади). Спирохеталар спиралсимон кўринишга эга бўлиб, спиралларини сони, букилмалари ва ҳаракатларини типлари бўйича бир бирларидан фарқ қилади. Спирохеталарга 3 та патоген авлодлар (трепонема, боррелла, лептоспира) киради (расм 19).

## Микробларнинг ўлчамини ўрганиш.

Барча микроскопик объектлар нанометр (нм) ва микро-метрлар (мкм) билан ўлчанади:  $1 \text{ мкм} = 10^{-3} \text{ мм}$ ;  $1 \text{ нм} = 10^{-6} \text{ мм}$ ;  $1 \text{ мкм} = 1000 \text{ нм}$  (расм 11). Микробларни ўлчаш учун окуляр-микрометр ва объект-микрометр ишлатилади. Окуляр-микрометр объектни тўғридан-тўғри ўлчаш учун хизмат қилади. У шиша пластинкадан иборат бўлиб, марказида 50 та бўлинган чизиғи бор. Объект-микрометр шиша кўринишда бўлиб, ўртасида 100 қисмга бўлинган эталон чизиқ (шкала) бор. Шкаланинг ҳар бир бўлинмаси ўлчами маълум ва шишада кўрсатилган. Одатда, объект-микрометр шкаласининг ҳар бўлими 10 мкм га тенг бўлади.



Расм 11. Микроорганизмларнинг қиёсий ўлчамлари

Микроорганизмлар катталиги окуляр-микрометр билан ҳам ўлчанади. У окуляр диафрагмасига, бўлинган белгилари пастга қаратилган ҳолда жойлаштирилади. Бўлинмалар катталиги эса объект-микрометр билан аниқланади. Бу пластинка бўлиб, ўртасидан 1 мм узунликда чизиқ ўтказилган. Ўз навбатида бу чизиқ 100 га бўлинган бўлиб, ҳар бири 10 мкм га тенг. Объект-микрометр микроскоп столчасига шундай жойлаштириладики, унинг

бўлинмаларидан бири, окуляр-микрометрнинг қандайдир бир бўлинмасига тўғри келиши керак.

Иккала микрометрнинг чизиғи бир-бирига параллель жойлашиши лозим. Сўнгра окуляр-микрометр бўлинмалар сонига тўғри келган, объект-микрометрнинг бўлинмалар сони белгиланади. Объект-микрометр бўлинмаларининг катталигини (10 мкм) бўлган ҳолда окуляр-микрометрнинг бўлинмалар катталиги аниқланади. Шундан сўнг объект-микрометр текшириладиган препарат билан алмаштирилади ва бактериал хужайранинг ўлчами окуляр-микрометр чизиғи билан, унинг бўлинмаси ўлчанган даражадаги катталиқда аниқланади.

Бактериал культураларни ўрганишда олинган натижаларга асосланиб, баённома тузилади (1-жадвал).

Жадвал 1.

Бактерияларнинг морфологик ва тинкториал хусусиятлари (протокол шакли)

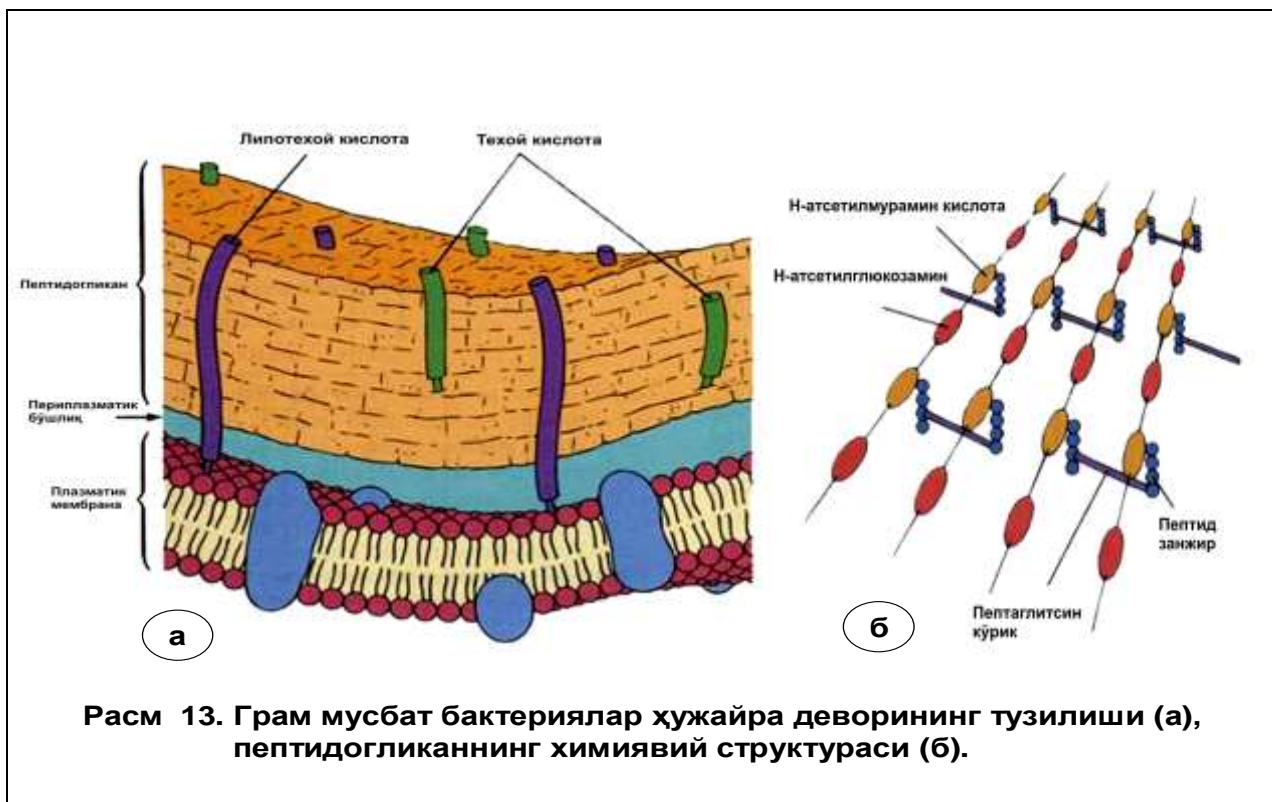
Хужайралар шакллари	Катталиги	Грам бўйича бўялган	Мавжудлиги			Кислотага чидамлилиги	Ҳаракатчанлиги	Киритмалар
			Споралар	Капсулалар	Волютин доначалари			

### Бактерия хужайрасининг ультура-структураси

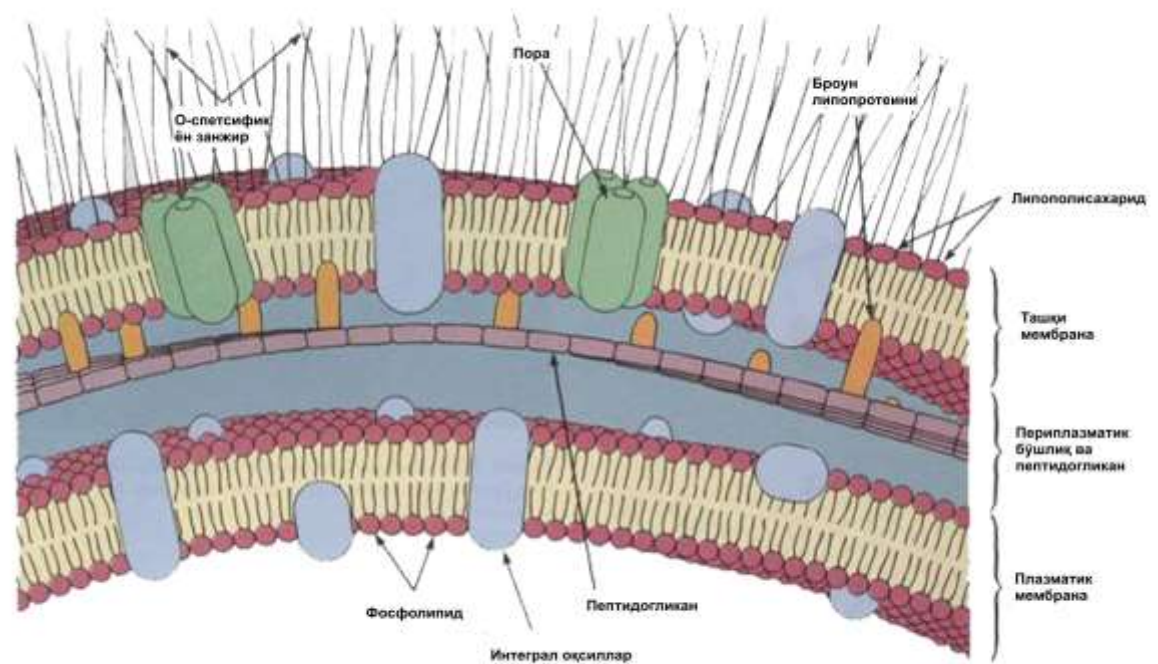
Бактерия хужайрасининг ҳозирги кунда яхши ўрганилган таркибига қуйидагилар киради; хужайра қобиғи, цитоплазма ва ташқи структуралари. Хужайра қобиғи таркибига ўз навбатида капсула, хужайра девори ва цитоплазматик мембрана киради. Цитоплазмада эса нуклеоид, рибосома ва киритмалар жойлашган. (12-расм). Айрим бактерияларда ташқи структуралар, хивчинлари ва тукчалари мавжуд. Бир қатор бактериялар споралар ҳосил қилади. Спораси бактерия танасини ўлчамидан кичик бўлиши мумкин ( Bacillus) ва тана ўлчамидан катта бўлиши мумкин ( Clostridium –сўзи юнонча

бўлиб урчук, дуксимон маъносини англатади). Спораси ҳужайрада терминал, субтерминал ёки марказий тарзда жойлашади (17-расм ).

**Бактерияларни ҳужайра девори-мустаҳкам, қайишқоқ структура бирлиги бўлиб, бактерия ҳужайрасини ташқи томондан цитоплазматик**



мембрана билан ўраб туради. Прокариот ҳужайра девори ўзининг тузилиши ва кимёвий таркиби билан эукариот ҳужайраларнинг ҳужайра деворидан фарқ қилади. Ҳужайра деворини асосий таркибидан бири прокариотларда пептидогликан (мураин, мукопептид) ҳисобланади. Эукариот ва бошқа ҳужайраларда бу мукопептид учрамайди. Пептидогликан бир –бири билан паралелл жойлашган, қайталаниб келувчи, гликозидли боғлар билан боғланувчи N- ацетилглюкозамин ва N- ацетилмурамин кислоталар қолдиғидан иборат, мураккаб полисахарид ҳисобланади (расм 13 ). Бактерия ҳужайраси деворини кимёвий таркиби ва тузилиши маълум тур бактериялар учун доимий ҳисобланиб, муҳим диагностик аҳамиятга эга. Ҳужайра тузилишига қараб прокариотларга кирувчи эубактериялар иккита катта гуруҳга бўлинади. Агар, фиксация қилинган эубактерия ҳужайраси олдин



**Расм 14. Грам манфий бактериялар хужайра деворининг тuzилиши**

кристал фиолет ва кейин йод билан ишлов берилса, бўялган комплекс ҳосил бўлади. Кейинги босқичларида эубактерияни спирт билан ишлов берсак, хужайра деворини структурасига қараб ҳосил бўлган комплексни тақдири икки кўринишда бўлади. Биринчи группа грам мусбат деб номланувчи бактерияларда комплекс спиртда ювилиб кетмайди, бинафша ранги сақланиб қолади. Грамманфий эубактерияларда эса спиртда комплекс ювилиб кетади ва рангсизланади. Маълум бўлишича комплекс эубактерияларни протопластида ҳосил бўлади, лекин спирт билан кейинчалик ювилиб кетиши, ёки, кетмаслиги хужайра деворини структурасига боғлиқ экан. Грам мусбат ва грам манфий бактерияларнинг хужайра девори ўзининг кимёвий таркиби (жадвал) ва структураси билан ( расм 13,14) фарқ қилади. Грам мусбат бактерияларни хужайра деворида пептидогликан хужайра деворини асосий массасига нисбатан (40-90%) ни, грам манфийларда эса (1-10 %) ташкил қилади. Пептидогликанни қалинлиги ҳар хил турларда фарқ қилиб 20 дан 80 нм гача бўлади, Грам манфийларда эса 2-3 нм ва хужайранинг умумий қалинлиги 10-15 нм тўғри келади.

**Грам мусбат ва грам манфий бактериялар хужайра девори ва цитоплазма компонентларининг кимёвий таркиби**

Хужайра девори ва цитоплазма компонентлари	Грам мусбат бактериялар	Грам манфий бактериялар	
		Ички (пептидогликан) қават	Ташқи липополисахаридли (ташки мембрана) қават
Пептидогликан	+	+	—
Тейхой кислота	+	—	—
Липотейхой кислота	+	—	—
Полисахаридлар	±	—	+
Ёғлар	±	—	+
Липополисахаридлар	—	—	+
Липопротеинлар	—	±	+
Магнийрибонуклеат	+	—	—
РНК ва ДНК нисбати	8 : 1	1 : 4	1 : 4
Цитоплазма рН	2,0-3,0	5,0 атрофида	5,0 атрофида

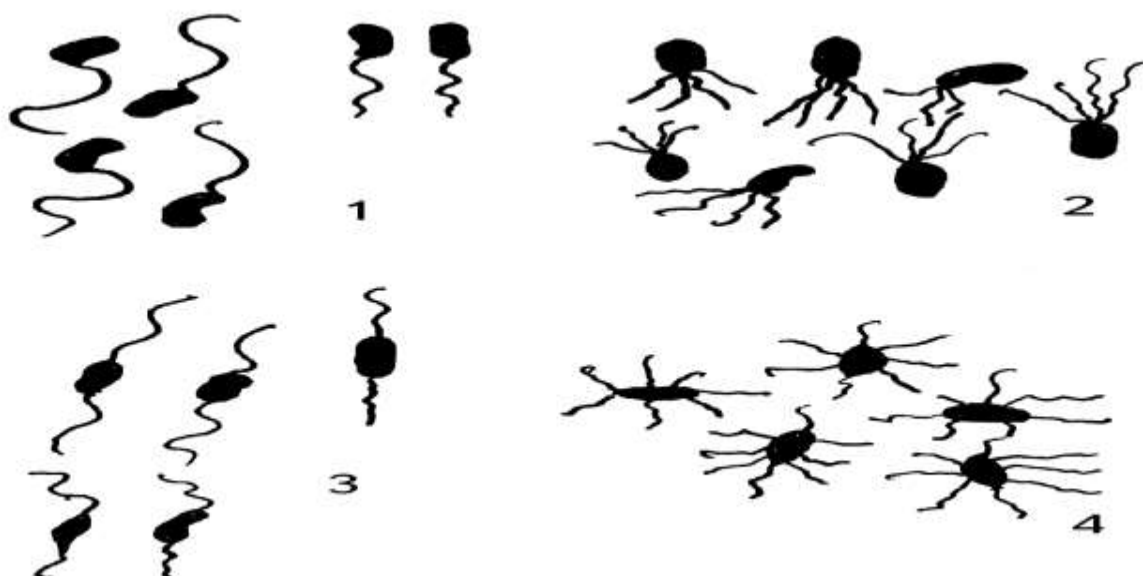
Грам манфий бактериялар хужайра деворининг Грам мусбат бактерияларга нисбатан юқалиги унинг ўтказувчанлигини юқори бўлишига олиб келади.

Шундай қилиб генциан бинафша билан бўялган, йод иштирокида хужайра протопластида ҳосил бўлган комплекс ( ГВ+магнийрибонуклеати + йод ва хужайра компонентлари) грам мусбат бактерияларда мустаҳкам бўлиб спирт билан ишлов берилганда ювилиб, рангсизланиб кетмайди. Бундан ташқари хужайра деворини қалинлиги ва унинг ўтказувчанлигини пастлиги бўёқни спиртта эриб кетмаслигига шароит яратади. Грам манфий бактерияларда эса мустаҳкам комплекс ҳосил бўлмайди ва хужайра деворини ўта юқалиги ҳам бўёқни тез (30 дақиқагача) эриб, рангсизланиб кетишига, ва фуксин билан қайта бўялишига олиб келади.

**Бактерияларни ҳаракатчанлиги, хивчинлари.**

Бактерияларни ҳаракатлари бир неча кўринишда бўлиши мумкин; сузиб юрувчи, сирғанувчи, судралувчи, ўрмаловчи. Бактерияларни ҳаракати хивчинлари ҳисобига рўй беради. Бактерияларни хивчинлари ингичка, узун оқсил ипчалари бўлиб, диаметри 12-30 нм, узунлиги эса 6-9 дан 80 нм гача бўлиши мумкин. Хивчин таркибида флагеллин оқсили бўлиб, у қисқариш

хусусиятига эга. Хивчинлар бактерия танасида жойлашувига қараб 4 гуруҳга бўлинади (расм 15). Монотрихлар- битта хивчини поляр жойлашган (V.



Расм 15. Бактериялар хивчинлари (схема). 1 – монотрих; 2 – лофотрих; 3 – амфитрих; 4 – перитрих.

cholerae). Лофотрихлар- бир тутам хивчинлари битта учида жойлашган (*Pseudomonas methanica*). Амфитрихлар- тутам хивчинлари ҳар икки учида жойлашган (*Spirillum volutans*). Перитрихлар- хивчинлари танасини ҳамма жойида жойлашади. (*E. coli*, *Salmonella typhi*).

#### Бактерияларни ҳаракатчанлигини ўрганиш.

“Осилган” томчи тайёрлаш усули. Препарат бактерия культурасидан бир томчи олиниб юпқа ёпқич ойна ўртасига томизилади. Сўнг, ўртасида чуқурчаси бўлган, атрофига вазелин суриб тайёрланган буюм ойнасига ёпқич ойна шундай ёпиштириладики, томчи чуқурчанинг ўртасида туриши керак. Тезликда буюм ойнасини айлантирилади, натижада томчи осилган ҳолатни олади. Тўғри тайёрланган препаратда томчи чуқурча устида эркин, атроф ёки тагига тегмасдан осилиб туради. Микроскоп остида кўриш учун, аввал кичик, курук 8-объектив қўлланилади, томчининг четлари топилгач, 90 объектив ўрнатилиб иммерсион мой томизилиб, препаратда бактерияларни ҳаракати кўрилади.

“Эзилган” томчи тайёрлаш усули. Ёғсизлантирилган буюм ойнаси устига бир томчи текшириладиган материал ёки бактерия суспензияси томизилади ва устидан ёпқич ойна ёпилади. Томчи катта бўлмаслиги ва ёпқич ойнанинг четларидан чиқмаслиги керак, препарат микроскоп остида кўрилади.

Микробни (вита)л тирик ҳолда бўйлаш. Микроблар суспензияси бир томчи 0,001 % ли метилен кўки ёки нейтрал қизил эритмага қўшилади. Улардан «осилган» ёки «эзилган» томчи тайёрланади ва микроскоп остида кўрилади. Микроскопиядан сўнг улар дезинфекция қилувчи моддалар эритмасига солинади.

Бактерияларни ҳаракатчанлиги бактериологик амалиётда ярим суёқ агарларга текширилаётган микроб культурасини санчиб экиш орқали ҳам аниқлаш мумкин. Санчиб

экилганда, ҳаракатчан бактериялар муҳитда тарқалиб яққол кўриниб туради, ҳаракатсиз бактериялар эса, ярим суяқ муҳитда санчув бўйлаб ўсади.

## **Бактерияларни мураккаб бўяш усуллари**

Оддий бўяш усулларида фарқ қилиб мураккаб усулда препаратларни бўяшда бир нечта бўёқлар кетма-кет қўланилади. Улар кимёвий таркиби, ранги, ишлов берувчи ва дифференцияловчи моддалари билан бир-биридан фарқланади. Бу эса, ҳужайранинг маълум тузилишини аниқлаш ва микроорганизмларнинг бир турини иккинчи туридан дифференциялаш имконини беради.

### **Грам усули билан бўяш (16 расм).**

1. Фиксацияланган суртмага генциан бинафшанинг карбол-спиртли эритмаси фильтр қоғоз устидан томизилади. 1—2 минут бўялади, сўнг қоғоз олинади, ювиб ташланмайди, бўёқ эса тўкилади.

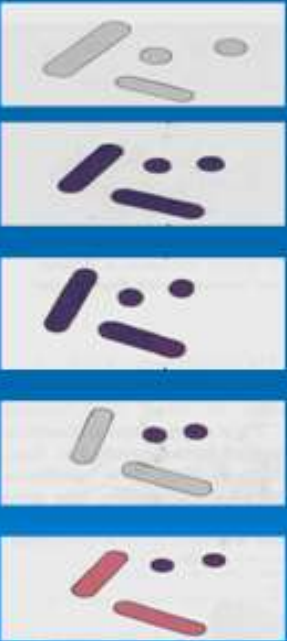
2. Ювиб ташланмасдан люголь эритмаси куйилиб, 1—2 минут давомида ушлаб турилади.

3. 20-30 секунд давомида этил спирти томизилиб, суртма рангсизлантирилади.

4. Препарат сув билан ювилади.

5. Суртма, фуксиннинг сувли эритмаси билан 1—2 мин давомида қўшимча равишда бўялади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади.

**Грам усули билан бўяш**



- Фиксацияланган суртма генциан бинафша билан 2 минут бўялади.
- Люголь эритмаси томизилиб 1 минут ушлаб турилади
- Этил спирти томизилиб 20 – 30 секунд ушлаб турилади
- Препарат сув билан ювилади, қайтадан фуксиннинг сувли эритмаси билан 1-2 минут бўялади
- Граммус бат бактериялар тўқ бинафша, грамманфийлар эса, қизил ранга бўялади.

**Расм 16. Бактерияларни мураккаб бўяш усули**



Граммусбат бактериялар тўқ бинафша, грамманфийлар эса, қизил рангга бўялади. Грам усули билан бўяш муҳим дифференциал-диагностик аҳамиятга эга ва микробиологияда кенг қўлланилади (17 -расм). Бактерияларни

Юпқа деворли грам манфий бактериялар		Қалин деворли грам мусбат бактериялар	
Менингококклар		Пневмококклар	
Гонококклар		Стрептококклар	
Вейлонеллалар		Стафилококклар	
Таёқчалар		Таёқчалар	
Вибрионлар		Бациллалар*	
Кампилобактериялар		Клостридилар*	
Спириллалар		Коринобактериялар	
Спирохеталар		Микобактериялар	
Риккетсиялар		Бифидобактериялар	
Хломидиялар		Актиномицетлар	

**Расм 17. Бактерияларнинг морфологик ва тинкториал хусусиятлари.**

**\*Спораларни жойлашуви: 1-марказий; 2-субтерминал; 3-терминал**

тинкториал хусусияти деб аталади. Грам мусбат бактерияларга стафилококк, стрептококк, дифтерия коринобактерияси, сил микобактерияси ва бошқалар киради. Грамманфий бактерияларга — гонококк, менингококк, ичак таёқчаси ва бошқаларни киритиш мумкин. Бактерияларнинг айрим турлари Грам усули билан яхши бўялмай ўзгариб туради. Бу эса уларнинг ёши, ўстириш хусусияти ва хужайра деворининг тузилишини ўзгартирувчи омилларига боғлиқ.

Грамм усули билан бўяшда йўл қўйиладиган асосий камчилик, суртмадаги бўёқни спирт билан кўпроқ ушлаш ёки кам ушлаб бўёқни яхши

кетказмасликдир. Биринчи ҳолатда граммусбат бактериялар генциан бинафша билан бўялган рангини йўқотади, сўнг (грамманфий бактерияларга ўхшаш) суртма, фуксин билан бўялиши натижасида қизил рангни қабул қилади.

Иккинчи ҳолатда эса, грамманфий бактериялар генциан бинафша билан бўялиб, кўк бинафша рангни сақлаб қолади. Тўғри бўяш учун суртмани спирт билан ювишга қатъий риоя қилиш керак (Грам билан бўяш усулини учунчи пунктига қаралсин). Бундан ташқари суртмани ўта қалин тайёрлаш ҳам бўяшни сифатига путир етказди. (Грам билан бўяш усулини учунчи пунктига қаралсин).

### **Мавзу 3. Бактерияларнинг тузилиши ва мураккаб бўяш усуллари**

#### **Машғулот режаси:**

1. Бактерия хужайраларининг ультура структура тузилиши
2. Мураккаб бўяш усуллари.

#### **Намоиш қилиш**

1. Капсула ҳосил қилувчи бактерияларнинг соф культурасидан тайёрланган суртма. Бурри-Гинс усули билан бўяш.

2. Волютин доначаси бўлган ачитқи забуруғини соф культурасидан тайёрланган суртма. Нейссер усули билан бўялган.

3. Спора ҳосил қилувчи бактерияларнинг соф культурасидан тайёрланган суртма. Ожешко усули билан бўялган.

4. Кислотага чидамли бактерияларнинг соф культурасидан тайёрланган суртма. Циль-Нельсен усули билан бўялган.

5. Бактерия хужайрасини ташкил этувчи компонентларнинг электрон микроскопик фотосуратлари.

#### **Лаборатория ишларини бажариш учун топширик**

1. Номаълум бактериал культуранинг хужайра шаклини оддий бўяш усули билан аниқлаш.

2. Текширилаётган бактериал культураларнинг аралашмасидаги турли бактерияларнинг хужайралар шаклини ва Грам билан бўяш-га бўлган муносабатини аниқлаш.

3. Бўяшнинг тегишли усулларида фойдаланиб текширилаётган бактериал культуранинг таркибидаги спора, волютин доначалари ва кислотага чидамлилигини аниқлаш. (1-жадвалга қаралсин).

### **Услубий кўрсатмалар**

Биз юқорида айтганимиздек кўпчилик грам мусбат прокариотлар ўзларини хужайра деворини кимёвий таркиби билан ҳам бир – бирларидан фарқ қилади ва бу фарқлар уларнинг грам усулда бўялишига таъсир кўрсатади. Микробиология амалиётида бу бактерияларни кислотага чидамли

бактериялар деб аталади. Бу бактериялар Грам усулида бўялмайди. Грам мусбат бактерия бўла туриб, Грам усулида бўялмаслигига асосий сабаб, уларнинг хужайра структурасининг кимёвий таркиби ҳисобланади.

Кислотага чидамлик бактерияларнинг хужайра девори ва цитоплазмасида ёғ ва ёғ кислоталарини кўп бўлишидир. Ёғлар хужайранинг умумий массасига нисбатан 40% гача бўлиши мумкин. Липидларни (ёғларни) уч хил фракцияси аниқланган; фосфолипидлар (эфирда эрувчи), ёғсимон (эфир ва ацетонда эрувчи) ва мумсимон (эфир ва хлороформда эрувчи). Липидлар таркибида жуда кўп кислотага чидамли ёғ кислоталари учрайди буларга стеарин, фтиоид ва микол кислоталари киради. Хужайра таркибида липидларни юқори бўлиши, бу бактерияларни кислотага, спиртларга ва ташқи муҳит омилларига чидамли қилиб қўяди. Шунинг учун бу бактериялар бўёқлар билан қийин бўялади. Уларни бўяш учун махсус интенсив Циль-Нильсен усули қўлланилади. Циль-Нильсен усулида кислотага чидамли бактериялар карболли фуксиннинг юқори концентрацияли эритмаси билан ва қиздириб бўялади. Карбол кислотанинг эритмаси хужайра деворини юмшатади, шу билан унинг тинкториал хусусиятини оширади, бўёқнинг юқори концентрацияси ва бўяш жараёнида қиздириш орқали бўёқ билан бактериал хужайранинг ўзаро таъсир реакцияси кучаяди ва яхши бўялади, натижада сульфат кислота билан таъсир этилса, кислотага чидамсиз бактериялар рангсизланади ва метилен кўки билан ҳаво рангга бўялади. Кислотага чидамли бактериялар эса, фуксин билан қизил рангга бўялганича қолади (18 б-расм). Расимдан кўриниб турибдики сил касаллиги кўзғатувчиси қизил рангда, кислотага чидамсиз бошқа бактериялар метилин кўки билан бўялган.

#### **Кислотага чидамли бактерияларни Циль-Нильсен усули билан бўяш.**

1. Фиксацияланган суртманинг устига тайёрланган фильтр қоғозидан кўйилади, сўнгра фуксиннинг карболли эритмаси томизилади ва буғ ҳосил бўлгунга қадар қиздирилади. Шу ҳолат уч марта такрорланади.
2. Фильтр қоғоз олинади ва суртма сув билан ювилмайди
3. Суртмага рангсизлантириш учун 5% ли сульфат кислота ёки 3% спиртли хлорид кислота эритмасидан томизилади ва 1—2 мин ушлаб турилади.

4. Сув билан ювилади.
  5. Суртма метилен кўкининг сувли эритмаси билан 3—5 мин давомида яна бўялади.
  6. Сув билан ювилади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади.
- Кислотага ва спиртларга чидамли бактерияларга сил ва мохов кўзгатувчилари киради.

### **Бактерияларнинг капсуласи**

Прокариот ҳужайраси деворини ташқи томонидан кўпчилик ҳолларда шиллиқ моддалар ўраб туради. Бундай тузилмалар структура тузилишини ўзига хос хусусияти бўйича капсула деб номлана бошланган. Буларнинг ҳаммаси биосинтез оқибатида ҳужайра атрофини ўраб олган органик полимерлардан иборатдир. Агар тузилмаларнинг қалинлиги 0,2 мкм кам бўлса, уларни фақат электрон микроскопда кўриш мумкин. Шунинг учун бундай тузилмаларни **микрокапсула** деб аталади. Тузилмаларни ўлчами 0,2 мкм катта бўлса ёруғлик микроскопида кўриш мумкин ва **макрокапсула** дейилади. Бактерия ҳужайрасини ўраб турган тузилмасини таркиби аморф ва структурасиз бўлса, бундай тузилмаларни шиллиқ қават деб юритилади.

Бактериялар капсуласининг таркиби ҳужайра деворини компонентларига ўхшаб кетади, лекин кимёвий структураси жиҳатдан улардан фарқланади. Кўпчилик бактерияларни капсуласини кимёвий таркиби гомо- ёки гетерополимер полисахарид ҳисобланади, лекин баъзи бир бактериялар капсуласи (*Bacillus*) полипептидлардан таркиб топган. Ҳамма бактерияларда ҳам капсула учрамайди. Капсула бактерияларни тур белгиси ҳисобланади. Капсуласи бор бактериялар бошқа бактерияларга нисбатан, яшаш шароитларида афзалликларга эга бўлади. Кўпчилик патоген бактериялар капсула ҳосил қилади, бу уларнинг вирулентлик белгиси ҳисобланади. Бактерияларни капсуласи уларни механик жароҳатланишдан, қуриб қолишдан сақлайди ва бактерия учун қўшимча осмотик барьер, фагларнинг кириши учун тўсиқ, кўпчилик ҳолларда озик моддалар захираси ҳам бўлиши мумкин. Бундан ташқари бактерияларда капсула авлод ва тур хусусиятини англатувчи антиген бўлиши ҳам мумкин. Бактерияларни капсуласини аниқлаш амалиётда уларни бир- бирларидан идентификация қилишда қўлланилади.

**Бурри-Гинс усули билан капсулани аниқлаш.**

1. Бурри бўйича препарат, қуйидагича тайёрланади: бир томчи туш олиниб буюм ойнасига томизилади ва унга бактериологик қовузлокда микроб культураси олиниб яхшилаб аралаштирилади, бир томони силлиқланган ойнача билан қон суртмасига ўхшаш суртма тайёрланади, сўнгра уни қуритилади ва фиксация қилинади.

2. Суртмага 1 — 2 мин давомида фуксиннинг сувли эритмаси томизилади.

3. Сув билан ювилади, ҳавода қуритилади ва микроскоп (иммерсион системада) остида кўрилади. Бунда капсулалари бактериялар туш билан бўялмайди ва қора фонда уларнинг капсулалари таналари чегараланиб қолади, фуксин билан бўялганда уларни танаси қизил рангга бўялади, бўялмаган капсулалар эса қорапушти ранг остида ажралиб туради (18 а-расм). Расмда Клебсиеллалар капсуласи Бурри-Гинс усулида бўялган.

### **Бактерияларни киритмалари, волютин доначалари.**

Прокариотларнинг цитоплазмасида турли киритмалар учрайди. Бу киритмалар ҳужайрани метаболизми натижасида чиқарилмай, йиғилиб қолган метаболитлари, ёки бактериялар учун озик овқат захираси бўлиши мумкин. Бактерияларни киритмалари бўлиши мумкин: нейтрал ёғ томчиси; мум, олтингугурт; махсус углеводлар захираси (*Clostridium*); гликоген гранулалари метаполифосфат кўринишида (*Shirillum volutans*, *Corynebacterium diphtheriae*). Бактерияларни киритмалари, волютин доначалари ҳужайралар учун доимий бўлмасдан уларнинг таркиби, кўриниши ўзгариб туриши мумкин. Бактериялар оч қолганда киритмалар йўқолиб ҳам кетади. Шу билан бир қаторда бу киритмалар, волютин доначалари доимий бўлиб тур белгисини билдиради ( бўғма кўзгатувчисида, 18 в-расм). Шунинг учун волютин доначаларини аниқлаш амалий аҳамиятга эга.

#### **Нейссер усули билан волютин доначаларини бўйаш.**

1. Фиксацияланган суртмага Нейссер синькасининг ацетати томизилади ва 2—3 мин ушлаб турилади.
2. Люголь эритмаси томизилади ва 10—30 сек ушланади.
3. Препарат сув билан ювилади.
4. Суртма везувиннинг сувдаги эритмаси ёки хризоидин билан  $\frac{1}{2}$ —1 мин бўялади.
5. Сув билан ювилади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади.

Волютин доначалари ишқорий реакцияга эга бўлган бирикма бўлиб, шу хусусиятига кўра цитоплазмадан фарқ қилади. Шунинг учун синька ацетати билан тўқ кўк рангга бўялади. Ҳужайра цитоплазмаси, нордон реакцияли бўлганлиги учун, ишқорий бўёк везувини қабул қилиб сариқ рангга бўялади .

Бактерияларни киритмалари оддий ( Лёффлер) усулда, метилен кўки билан ҳам яхши бўялади.

#### **Лёффлер усули билан волютин доначаларини бўйаш.**

1. Фиксацияланган суртмага метилен кўки 1 % эритмаси томизилади ва 1- 2 мин ушлаб турилади.

2. Препарат сув билан ювилади, куритилади ва микроскоп остида кўрилади. Волютин дончалари тўқ кўк рангга, танаси очроқ ҳаво рангга бўйлади.

**Бактерияларни спораси.** Баъзи бир бактериялар (*Clostridium*, *Bacillus*) ноқулай шароитга тушиб қолганда эндоспора ҳосил қилади. Спора бактерияларни ўзига хос бўлган тинч турувчи шакли ҳисобланади ва уларнинг метаболитик активлиги ўта паст бўлади, лекин улар ташқи муҳит омилларига (куритишга, юқори температурага, кимёвий моддаларга) ўта чидамли бўлади. Ташқи муҳитда бир неча ўн йиллар сақланиши мумкин. Спорани ташқи омилларга бунчалик чидамли бўлишини, улар таркибидаги дипиколин кислотаси ва кальций тузлари таъминлайди. Бундан ташқари спора таркибида эркин сув молекулалари учрамайди, сув фақат боғланган кўринишда бўлади. Спора яхши шароитга тушса, ундан яна вегетатив шакли ҳосил бўлади. Бактерияларда спора кўпайиш хусусияти эмас, у турни табиатда сақланишини таъминлайди. Бактерияларни спорасини аниқлаш амалиётда диагностик аҳамиятга эга.

Жадвал 3.

Номаълум культураларнинг морфологик ва тинкториал белгилари асосида аниқлаш.(далолатнома шакли)

№	Хужайра шакли	Ўлчами (мкм)	Грам бўйича бўйлиши	Мавжудлиги			Кислотага чидамлилиги	Ҳаракатчанлиги	Хулоса
				Спораси	Капсуласи	Волютин дончалари			
1.									
2									

**Спораларни Ожешко усули билан бўйаш.**

1. Фиксацияланмаган суртмага 0,5% водород хлорид кислотасининг эритмаси томизилади ва 2—3 мин давомида горелка алангасида қиздирилади.

2. Кислота тўкилади, препарат сув билан ювилади, куритилади ва горелка алангасида фиксация қилинади.

3. Препарат Циль-Нильсен усули билан бўялади. Бунда бактерия споралари қизил рангга, вегетатив шаклдагилари ҳаво рангга бўялади (18 г-расм).

## **Мавзу 5. Спирохета, Риккетсия, Хламидия, Микоплазма ва актиномицетлар морфологияси, структураси, уларни ўрганиш**

### **Машғулот режаси:**

1. Спирохеталар морфологиясини ва структурасини ўрганиш усуллари.
2. Спирохеталарни морфологик хусусиятларга кўра дифференциялаш.
3. Риккетсия, хламидия ва микоплазмалар морфологияси ва структурасини ўрганиш усуллари.
4. Актиномицитлар морфологияси ва структурасини ўрганиш усуллари.

### **Намойиш қилиш**

1. Кўрув майдони қоронғилаштирилган микроскопда спирохеталарнинг ҳаракати.
2. Лептоспираларнинг Бурри усули билан бўялган препарати.
3. Оқиш трепонеманинг Бурри усули билан бўялган препарати.
4. Боррелаларнинг Бурри усули билан бўялган препарати
5. Қоннинг катта томчили суртмасидаги Борреллаларнинг Романовский-Гимза усули билан бўялган препарати.
6. Риккетсияларнинг культурасидан тайёрланган, Романовский-Гимза усули билан бўялган препарати.
7. Хламидияларнинг культурасидан тайёрланган, Романовский-Гимза усули билан бўялган препарати.
8. Актиномицитлардан тайёрланган препаратлар
9. Замбуруғлардан тайёрланган препаратлар
10. Спирохеталар, риккетсия ва хламидияларнинг электрон микроскопик фотосуратлари

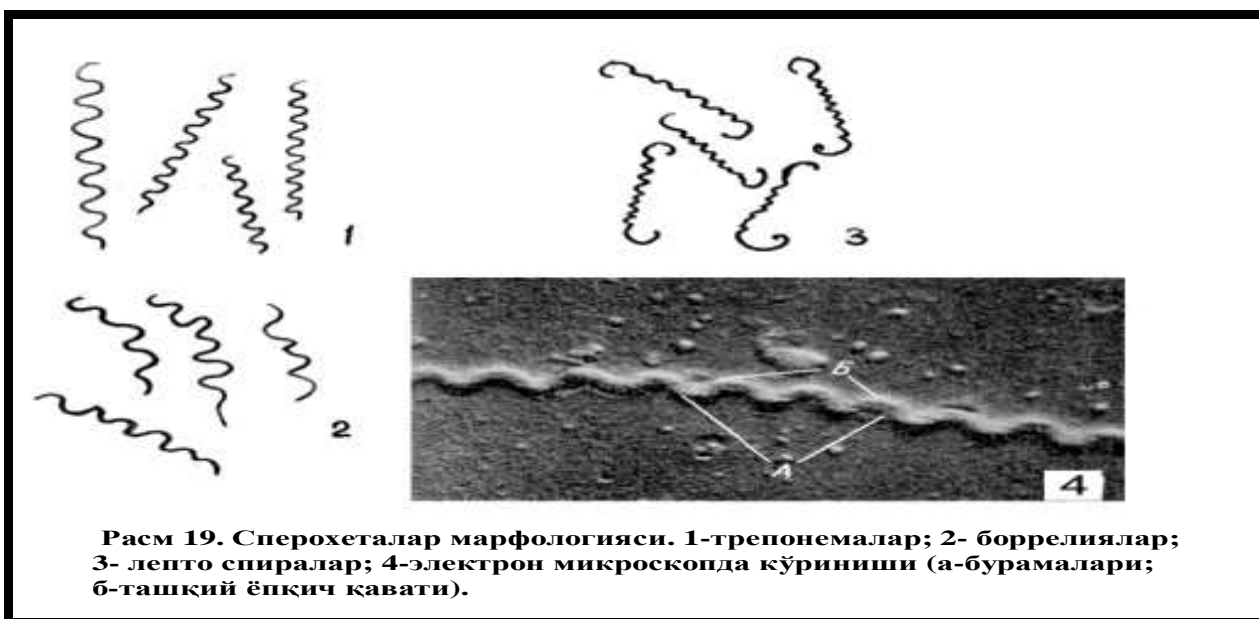
### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1. Тиш карашидан Бурри усулида суртма тайёрлаш ва микроскопда кўриш, спирохеталарни топиш.
2. 2-жадвалдаги маълумотлардан фойдаланиб, Романовский-Гимза усули билан бўялган тайёр суртмадаги спирохетанинг қайси зотга мансуб эканлигини аниқлаш.
3. Романовский-Гимза усули билан бўялган препаратларда риккетсия ва хламидияларнинг морфологиясини ўрганиш.
4. Актиномицитлар культурасидан суртма тайёрлаш ва Грам усулида бўяш микроскопда кўриш.
5. Ўтказилган текширишлар натижасига кўра далолатнома тузиш яқун яшаш. (1-жадвалга қаралсин.)
6. Кандиданинг агарли культурасидан суртма тайёрлаш. Грам усулида бўяш, микроскопда кўриш.

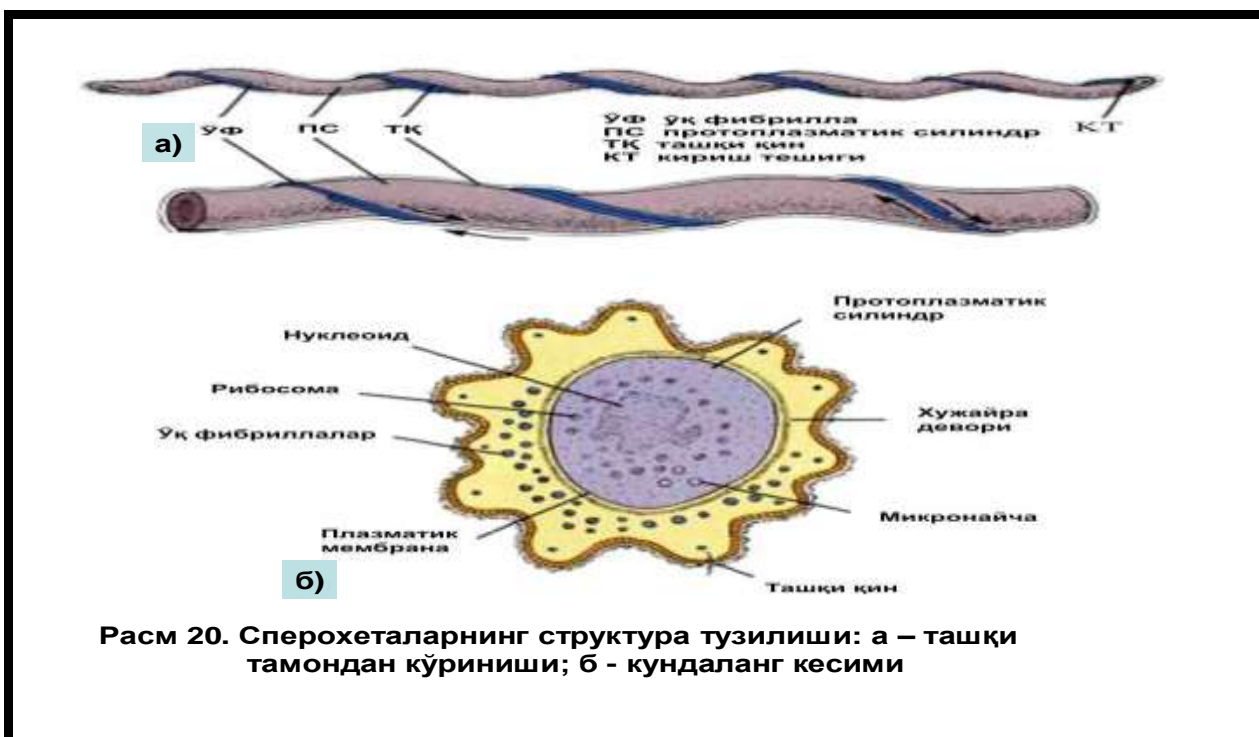
### **Услубий кўрсатмалар.**

**Спирохетлар** —ингичка, узун буралган ҳаракатчан бактериялар бўлиб, Spirochaetales тартибига, Spirochaetaceae оиласига киради, Патоген спирохеталар учта: Borrelia, Treponema, Leptospira авлодларга бўлинади.

Спирохета хужайраси буралган протоплазматик цилиндрсимон бўлиб,



цитоплазматик парда билан чегараланган цитоплазмага эга, ташқарисида бироз пептидогликан қатлами бўлган хужайра деворидан ташкил топган.



Таркиби жиҳатдан грам манфий бактерияларга ўхшаб кетади. Хужайра деворини устидан аксиал иплари фибриллалари ўраб туради. Уларнинг сони турларга қараб 2 тадан 100 бўлиши мумкин. Фибриллалар спирохеталарни бир учи, блефоробластларга маҳкамланган бўлади, иккинчи учи ҳам баъзиларида маҳкамланган, баъзиларида эса бирикмаган бўлиши мумкин,



уларнинг устидан ташқи ёпқич қават ўраб туради. ( расм 19, 20). Патоген спирохеталарнинг узунлиги 3—20 мкм ва йўғонлиги 0,1—0,5 мкм. Айрим зотларнинг вакиллари бир-биридан узунлиги ва йўғонлиги, ўраманинг сони, ҳаракат типлари ва хусусияти (4-жадвал) билан фарқланади. Спирохеталар грамманфий. Боррелиялар трепонема ва лептоспиралардан анилин бўёқлари билан яхши бўялиши орқали фарқ қилади. Трепонема ва лептоспиралар морфологияси тирик микроорганизмларни микроскоп остида кўриш усули билан «эзилган» ёки «осилган» томчи — препаратларни қоронғилаштирилган майдон ёки фазо-контраст микроскоплар ёрдамида ҳамда Романовский-Гимза ёки махсус бўяш усуллари билан ўрганилади. Масалан, суртмани кумушлантириш усуллари билан ҳам спирохеталарнинг морфологияси ўрганилади.

Жадвал 4.

#### Спирохеталарнинг морфологик белгилари

Спирохеталар авлоди	Ўрамалар сони ва хусусияти	Ҳаракат турлари	Романовский-Гимза усули билан бўялиши
Borrella	3-10 йирик нотекис	Турткисимон, букилган-илгарилама	Кўк бинафша
Treponema	8-12 майда бир текис	Букилган, илгарилама, бир текис	Оқиш пушти
Leptospira	Кўп сонли, бирламчи ўрамалари бор, иккиламчи ўрамалари С ва S шаклига эга.	Жуда тез, айланувчан, илгарилама	Пушти сиренсимон
Сапрофит(оғиз бўшлиғидаги) спирохеталар	6-10 йирикрок, бирмунча дағал, бурамаларининг катталиги ҳар – хил, нотекис	Бир текисда эмас, аввалига тўхтаб, сўнгра кескин ҳаракат қилади, ҳаракати давомида ўз шаклини ўзгартириб туради.	Кўк бинафша

**Тиш карашидан Бурри усулида суртма тайёрлаб микроскопда кўриш, спирохеталарни топиш.**

1. Яхшилаб ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир томчи туш олинади ва стерил тиш кавлагич билан тиш караши олиниб аралаштирилади, бир тамони силлиқланган ойнача

билан қон суртмасига ўхшаш суртма тайёрланади, сўнгра қуритилади ва фиксация қилинади.

2. Суртма микроскопнинг иммерсион системасида кўрилади.

Спирохеталар қоронғи фонда ялтироқ спирал шаклида кўринади (расм-21).

**Қондан суртма тайёрлаш.** Тоза буюм ойнасининг бир томонига бир томчи қон томизилади. Иккинчи бир томони силлиқланган буюм ойнасини  $45^\circ$  да ушлаган ҳолда биринчи буюм ойнасидаги қон томчисига теккизилади ва аста-секин иккинчи томонга қон билан бирга сурилади. Натижада қон буюм ойнасининг устида бир хил қалинликда сурилади. Препарат ҳавода қуритилади ва суяқ фиксаторда (метил спирти ёки этил спиртининг эфир билан аралашмаси) ойнага бириктирилади.

«Катта» томчи тайёрлаш учун буюм ойнасига 2—3 томчи қон томизилади ва 10 сўмлик танга катталигича аралаштирилади. Ҳавода қуритилгандан сўнг, эритроцитлардан гемоглобинни ажратиш учун, аста-секин бир неча томчи дистилланган сув томизилиб 10—15 мин ушлаб турилади.

**Препаратни Романовский Гимза усули бўйича** (метилен кўки, эозин ва азор аралашмаси билан) **бўяш.** Суртмага бўёқнинг эритмаси (1 мл дистилланган сувга 2 томчи бўёқ) томизилади ва 10—20 мин давомида ушлаб турилади. Сўнгра препарат сув билан ювилади ва ҳавода қуритилади.

Қайталама тиф спирохеталари Романовский-Гимза усули билан бўялганда бинафша рангга, қон эритроцитлари—пушти, лейкоцитларнинг ядроси — бинафша рангга бўялади. Трепонемалар оқ -пушти рангга, лептоспиралар эса, пушти-сирен рангга бўялади.

**Риккетсиялар-** Охирги классификация бўйича (2001 Бердже қўлланмаси) Риккетсиялар Protobacteria типига Alphaproteobacteria синфига ва бу синфга Rickettsia авлоди киритилган. Риккетсия ва хламидиялар Rickettsia синфига тегишли бўлиб, ҳужайра ичида қатъий (облигат) паразитлик қилиб яшайди. Улар иккита: Rickettsiales ва Chlamidiales тартиб-ларига бўлинади.

Риккетсиялар майда грамманфий микроорганизмлар бўлиб, облигат ҳужайра ичида яшовчи паразитлар ҳисобланади, жуда ҳам ўзгарувчандир (полиморфизм). Шунинг учун кокксимон, таёқчасимон, бациляр, ипсимон шакллари учрайди. Риккетсияларнинг ўлчами 0,5 мкм дан 3—4 мкм гача, ипсимон шаклдаги риккетсияларнинг узунлиги 10—40 мкм гача етиши мумкин. Спора ва капсулалар ҳосил қилмайди. Риккетсияларни ҳаёт цикли ҳўжайин организмнинг ҳолатига боғлиқ бўлиб, уларда икки хил яшаш



босқичи кузатилади. Вегетатив актив ва тинч турувчи шакллари. Риккетсияларнинг вегитатив формалари асосан таёқчасимон бўлиб, актив бинар йўли билан бўлинади ўта ҳаракатчан, тинч турувчи шакли сферик кўринишда бўлиб кўпаймайди. Риккетсиялар типик прокариот хужайралари бўлиб, уларнинг хужайра деворининг тузилиши грам манфий бактериялардан фарқ қилмайди. Риккетсиялар спора, капсула ҳосил қилмайди. Здродовский усули билан қизил рангга бўялади. Риккетсиялар одамларда трансмиссив юқумли касалликларни келтириб чиқаради.

**Хламидиялар** Охирги классификация бўйича (2001 Бердже қўлланмаси) *Clamydiae* типига *Clamydiae* синфига ва буларга 2 та авлод *Clamydia*, *Clamydophila* киради. Хламидиялар грам манфий шарсимон облигат хужайра ичида яшовчи паразит бактериялар бўлиб, фақат тирик хужайралардагина ҳаёт кечиради. Хламидияларни энергетик паразитлар сифатида қаралади, чунки улар ўзлари хужайра учун зарур энергия бўлган аденозинтрифосфат (АТФ) ва гуанозинтрифосфат (ГТФ) синтез қила олмайди, бу энергияни хўжайин хужайрасидан ўзлаштиради. Хламидияларни 2 та биологик шакли тафовут қилинади; элементар танача (ЭТ), сферик шаклда, метаболитик актив эмас (0,3 мкм) хужайрадан ташқарида учрайди, инфекцион, сезгир хужайраларга кира олади. ЭТ эпителиал хужайраларга эндоцитоз йўли билан киради ва хужайра ичида вакуолада шаклланади, каталашиб актив бўлинувчан ретикуляр таначага (РТ) айланади. РТ кўпайиб ЭТ айланади ва хужайрадан чиқади, янги цикл такроланади. Хламидиялар Романовский-Гимза усули билан бўялади, грамманфий, фазоконтраст микроскоп остида, тирик ҳолда тайёрланган препаратларда жуда яхши кўринади.

**Микоплазмалар** Охирги классификация бўйича (2001 Бердже қўлланмаси) *Fermicutes* типига, *Mollicutes* синфига ва буларга 2 та авлод *Mycoplasma*, *Ureaplasma* киради. Микоплазмаларни хужайра девори бўлмайди, осмотик сезгир, лекин цитоплазматик мембранаси яхши ривожланган, уч қатламли липопротеидлардан таркиб топган. Кўплаб

морфологик формалари учрайди: кокксимон, ипсимон, колбасимон. Микоплазмаларнинг ўлчами 125—250 мкм атрофида, грамманфий, спора капсула ҳосил қилмайди, ҳаракатсиз. Микоплазмалар одамларда атипик пневмония ва сийдик таносил йўллари касалликларини келтириб чиқаради.

**Актиномицетлар.** Охирги классификация бўйича (2001 Бердже кўлланмаси) Actinobacteria Типига, Actinobacteria синфига ва Actinomyces авлодига киритилган. Актиномицет ҳужайралари узун ва шохланган ипсимон, таёқчасимон грам мусбат бактериялар бўлиб, замбуруғлар сингари мицелия ҳосил қилади. Мицелия ипларининг узунлиги 100—600 мкм, эни 0,2—1,2 мкм. Актиномицетлар споралар ҳосил қилиб кўндалангига бўлиниб, куртакланиб кўпаяди. Улар капсула, хивчин ҳосил қилмайди.

Актиномицетлар ўз номини тўқима шаклига қийслаб олган, яъни жароҳатланган тўқималарда актиномицетлар друз шаклида, бир-бирига чирмашиб кетган иплар (нур сочувчи) кўринишида бўлиб марказдан бошланиб колбасимон йўғонлашиб тугайди. (юнонча actis- нур, mykes – замбуруғ). Актиномицетлар замбуруғлар сингари мицелий ҳосил қилади – бир-бирига ўралиб кетган иплар (гифлар), лекин улардан фарқ қилиб субстратли мицелий ҳосил қилади. Субстратли мицелияси ҳужайрани озик муҳитларга ўсиб киришини тامينлайди. Бошқа бактериялар сингари актиномицетлар анилин бўёқлари билан бўялади. Одатда улар оддий ёки Грам усули билан бўялади. Актиномицетлар граммусбат бактериялардир.

**Риккетсияларни Здродовский усули билан бўяш.**

1. Суртма суюлтирилган Цил фуксини билан (10—15 томчи 10 мл дистилланган сувга томизиладн) 5 мин давомида бўялади.
2. Сув билан ювилади.
3. Суртмага 0,5% ли лимон кислота ёки 0,01% ли водород хлорид кислота эритмаси томизилади.
4. Сув билан ювилади.
5. Метилен кўки билан 1 мин давомида бўялади.
6. Препарат сув билан ювилади ва қуритилади. Риккетсиялар Здродовский усули билан кизил рангга бўялади, ичида риккетсиялари бўлган ҳужайра цитоплазмаси ҳаворанг, ядро эса, кўк рангга бўялади.

## **Микроорганизмлар физиологияси**

### **Мавзу 5. Озиқ муҳитлар таснифи. Озиқ муҳитларни тайёрлаш принциплари ва экиш усуллари.**

Ушбу бўлимда, микробиологик текширишларда ишлатиладиган асосий усуллар келтирилган: озиқли муҳитни тайёрлаш, экиш усуллари, лаборатория шароитида микроорганизмларни ўстириш ва соф культураларни ажратиб олиш ёзилган. Бактериялар физиологиясини ўрганиш бактерияларнинг озиқ-овқатга эҳтиёжини, пластик ва энергетик метаболизмда қатнашувчи ферментларини аниқлаш, қаттик, суюқ, ва ярим суюқ озиқли муҳитларда ўсиши ва кўпайишини текширишдан иборат. Турли микроорганизмлар метаболизмидаги умумий қонуниятлар энергетик ва конструктив метобализмда турга хос белгилар, ўзгариш усуллари ва йўлларидаги жиддий фарқлар билан бирга кечади. Микроорганизмларни бир-биридан ажратиш ва идентификация қилиш шуларга асосланган бўлиб, юқумли касалликлар микробиологик диагностикасида муҳим босқичлардан ҳисобланади.

Бактериялар метаболизмини ўрганиш фақат амалий аҳамиятга эга бўлиб қолмай, балки биокимёвий ва ирсий ахборотга жавобгар ген типларининг механизмларини ва уларни амалга ошириш йўллари, оксил синтезидаги бошқарув системасини ва микроб ҳужайрасида содир бўладиган бошқа жараёнларни билиш учун жуда кенг истиқболлар очиб берди.

#### **Машғулот режаси:**

1. Озиқли муҳитларни тайёрлаш усули.
2. Озиқли муҳитлар ва уларни тайёрлаш учун керакли ингредиентлар.
3. Озиқли муҳитларга аэроб шароитда бирламчи патологик материалларни экиш усуллари.

#### **Намойиш қилиш.**

1. Озиқли муҳитларни тайёрлаш учун ишлатиладиган ингредиентлар.
2. Озиқли муҳитларни тайёрлаш этапларини ўқув лабораториясида кўриш.
3. Асосий, дифференциал-диагностик, электив, сунъий озиқли муҳитлар уларни тайёрлаш этаплари.
4. Кукун ёки пастадан озиқли муҳит тайёрлаш.
5. Озиқли муҳитларга қўйиладиган талаблар билан танишиш.
6. Озиқли бульоннинг рН ни аниқлаш.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Петри косачасига гўштли пептонли пластинкали агар тайёрлаш.
2. Тайёрланган гўштли пептонли пластинкали агарга ҳаводан (седиментация) чўктириш усули билан экиш

3. Бактерия соф культурасини ажратиб олиш мақсадида бемор йирингини сут қўшилган тузли агар (СҚТА) га экиш.
4. Бемор нажасидан Эндо муҳитига экиш.

### Озиқли муҳитлар

Микробиологик амалиётда бактерия ёки бошқа микроорганизмларни лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитида кўпайтириш учун қўлланиладиган, турли таркибли мураккаб ёки оддий бирикмалардан ташкил топган озуқа моддаларга **ОЗИҚЛИ МУҲИТ** деб аталади.

Озиқли муҳитларга қўйиладиган талаблар:

1. Таркиби (асосий хусусияларидан бири) - маълум микроорганизмларнинг кўпайиши учун барча керакли моддалар тутиши (азот ва углеродни универсал манбаси оқсил гидролизати, пептид ва пептонлар, витамин ва микроэлементларнинг манбаси ўсимлик, хайвон оқсиллари) керак;

2. Озиқ моддаларни бактериялар осон ўзлаштиришлари зарур;

3. Қулай намлик, ёпишқоқлик ва ҳар бир бактерияларга ҳос рН га эга бўлиши;

4. Изотоник ҳолатда тиниқ бўлиши керак;

5. Ҳар бир муҳит албатта стерилланган бўлиши керак.

Таркиби бўйича оқсилли, оқсилсиз ва минерал озиқли муҳитлар ишлатилади.

Озиқли муҳитлар келиб чиқишига қараб бўлинади- **т а б и и й** ва **с у н ь и й**. Табиий муҳитлар хайвонлар маҳсулоти (қон, зардоб, ўт сапро, мол гушти, тухум ва бош.) ва ўсимликлардан ( мева ва сабзавотлар) олинади. Сунъий муҳитлар эса юқоридаги моддалардан олинган маҳсулотлардан (пептон, аминокептид, ачитқи углеводлар ва жўхори экстрактлари) тайёрланади.

Озиқли муҳитда ўстирувчи омилларнинг борлиги катта аҳамиятга эга. Улар метаболик жараёнларда катализатор вазифасини бажаради, асосан В группа витаминлари, никотин кислота ва бошқалар шулар қаторига киради.

Ю м ш о қ – қ а т т и қ л и г и г а (консистенциясига) кўра озиқли муҳитлар қаттиқ, суюқ ва ярим суюқ бўлади. Қаттиқ муҳитлар суюқ муҳитга 1,5—2% агар, ярим суюқ муҳитга 0,3—0,7% агар қўшиш натижасида тайёрланади. Агар — махсус денгиз ўсимлигини қайта ишлаш натижасида ҳосил бўлган маҳсулот бўлиб у қотирилса, муҳитни қаттиқ ҳолатга келтиради. Агар 80—86°С да эрийди, 40°С да қотади. Айрим ҳолларда қаттиқ озиқли муҳитларни олиш учун (10—15%) желатин ишлатилади. Табиий муҳитлар, ивигилган қон зардоби, тухум оксигени ўз-ўзидан қаттиқ ҳолатда бўлади.

Бактериология амалиётида кўпинча қуруқ озиқли муҳитлардан фойдаланилади. Улар саноат кўламида озиқ-овқат учун ишлатилмайдиган маҳсулотларнинг арзон гидролизатларидан (балиқ чиқиндилари, гўшт-суяк уни, -техник казеин) ва озиқли агардан тайёрланади. Қуруқ муҳитларни узок вақт сақлаш мумкин, уларни транспортда юбориш ҳам қулай, негаки таркиби стандарт, ўзгармаган ҳолда сақланади.

Озиқли муҳитлар қўлланилиши ва нима мақсадда ишлатилишига кўра сақлаб турувчи, (консервирующие) кўпайтирувчи (обогащения) асосий, электив, махсус ва дифференциал-диагностик турларга бўлинади.

**Сақлаб турувчи муҳитлар.** Патоген бактерияларни сақланишини тامينлайди ва сапрофитларни кўпайишини тўхтатиши мумкин. Амалиётда глицерин аралашмаси (Тига муҳити), гипертоник эритма, глицеринли консервант ва дезоксихолат натрий ва бош. қўланилади. Бу муҳитлар асосан бактерияларни маълум мутдатда сақлаш ва лабораторияга етказиб боришда ишлатилади.

**Кўпайтирувчи муҳитлар.** Маълум гуруҳ бактерияларни кўпайтириб олишда қўлланилади ва бирламчи экишда ишлатилади. Масалан буларга (Мюллер, Китта –Тароцци, тиогликолли муҳитлар ва селенитли бульон) киради.

**Асосий муҳитлар.** Бу муҳитлар кўпгина бактерияларни ўстириш учун қўлланилади. Булар балиқ маҳсулотларининг триптик гидролизатлари, гушт

бульонлари ёки казеинлар бўлиб, улардан суyoқ муҳит — озиқли бульон ва каттиқ озиқли агар тайёрланади. Бундай муҳитлар бошқа мураккаб муҳитларни тайёрлаш учун асос бўлади. Кўрсатилган муҳитлар қандли, қонли, зардобли ва бошқа патоген бактерияларни озиқли муҳитга талабини қондира оладиган аралаш муҳитлар тайёрлашда ишлатилади. Айрим ҳолларда муҳитнинг асоси сифатида маълум минерал тузлардан тайёрланган сунъий муҳитлар ишлатилиб, уларга аминокислоталар, витаминлар, глюкоза, пептон, жўхори ёки ачитқи экстракти ва бошда озиқли моддалар қўшилади.

**Электив муҳитлар.** Электив озиқли муҳитлар турли хил, бошқа микрофлорали материалдан маълум турни ажратиб олиш ва уни тўплашга мўлжалланган. Маълум микробларга электив озиқли муҳитни яратишда, бу микробларнинг бошқа кўпчилик микроблардан фарқлантирадиган биологик, ферментатив хусусиятларига асосланилади. Масалан қонли зардобли муҳитлар бўғма, кўк йўтал кўзғатувчисини ажратиб олишда (Клауберг II, КУА) туберкулёзда (Левенштейн-Йенсен) стафилококкларда натрий хлор тузининг концентрацияси юқори бўлган муҳити, вабо вибрионида эса — ишқорий муҳит қўлланилади.

**Дифференциал-диагностик озиқли муҳитлар.** Айрим турдаги (ёки группалар) микроорганизмларни бир-биридан ажратиш, фарқлаш учун ишлатилади.

Дифференциал-диагностик муҳит тузилиш принципига кўра, бактериялар хилма-хил турларининг ўзаро биокимёвий фаоллиги ҳамда бир хил бўлмаган ферментлар тўпламига эга бўлиши ва озиқли муҳит таркибига кирувчи субстратларнинг парчаланишига асосланган.

Дифференциал-диагностик муҳитлар таркибига қуйидаги асосий компонентлар киради: а) бактерияларнинг кўпайишини таъминлайдиган асосий органик, неорганик бирикмалар, казеин гидролизати пептон ва бош. б) қўшимча маълум кимёвий субстрат уларни парчаланиши оқибатида муҳитни рН нордон томонга (углеводлар, мочевина) ёки ишқорий (оқсиллар



парчаланишида) ўзгаради. Бу хусусият шу микробнинг диагностик белгиси ҳисобланади; в) рангли индикатор (масалан, Андреде, бромтимол кўки, бромкрезол пурпур, крезол қизил индикатори), рангининг ўзгариши содир бўлаётган биокимёвий реакциядан ва текширилаётган микроорганизмда ушбу фермент системаси борлигидан далолат беради. Агар озиқ муҳитдаги метобалитларни парчаласа муҳит нордонлашуви мумкин, Андреде индикатори бор муҳит қизариши, бром тимол кўк билан мусбат бўлиши мумкин, лекин оралиқ маҳсулот натижасида муҳит ишқорий томонга силжиса бу икки индикаторни ранги ўзгармайди.

Ҳамма Дифференциал-диагностик муҳитлар 4 та асосий гуруҳга бўлинади.

1.Таркибида оқсил тутувчи, бактериялар ферментлари таъсирида характерли ўзгарувчи муҳитлар (қон, желатина, сут ва бош.). Бу муҳитларда бактерияларни гемолитик, протолитик хусусиятлари ўрганилади, булардан энг кўп ( гушт пептонли желатина, ивителиган от қон зардоби, сутли ва қонли агар) ишлатилади.

2.Таркибида углеводлар, кўп атомли спиртлар тутувчи индикаторли муҳитлар. Бу муҳитларда бактериялар углеводларни парчалаши оқибатида кислоталар ва газ ҳосил бўлади, муҳитнинг рН нордон томонга силжийди ва индикатор муҳитни рангини ўзгартиради. Бактериологик амалиётда лакмусли сут (Минкович муҳити), Гисс (Хисса) муҳитлари кенг қўлланилади. Гисс муҳитида бактерияларни турли углеводларни ферментация қилиш хусусияти ўрганилади. Энтеробактерияларни фарқлашда пептонли углевод, Андреде индикатори қўшилган ва муҳитга газ ҳосил бўлишини аниқлаш учун узунлиги 3 см бўлган шиша найча, унинг бир томони берк, солиб қўйилади. Агар бактериялар углеводни парчаласа индикаторни ранги ўзгаради, газ ҳосил бўлса шиша найчага газ йиғилади. Гисс муҳитида бир нечта углеводлар қўлланганлиги сабабли, бактериялар бир углеводни парчалаши, иккинчисини эса парчаламаслиги мумкин. Шунинг учун углеводлар қатори олачипор (

рангли қатор) бўлиши мумкин, номлаш шундан келиб чиқган. Углеводлардан амалиётда кўпинча моносахаридлар (глюкоза, арабиноза, манноза), дисахаридлар (лактоза, мальтоза, сахароза) полисахаридлардан (крахмал, гликоген, инулин, декстрин) ва гликозидлардан эса (адонит, инозит, салицин) ишлатилади.

3. Бактериялар томонидан маълум моддаларни парчалашини, тикланишини (редуцирующие) ўрганувчи муҳитлар (метилен кўки қўшилган сутли муҳит, нитратли муҳит). Масалан энтерококклар метилен кўки қўшилган сутли муҳитда, уни редукцияга учратиб, муҳитни оқатириб қўяди, *S. pyogenis* эса муҳитни рангини ўзгартирмайди.

4. Бактериялар томонидан маълум моддаларни ўзлаштира (ассимиляция) олишини аниқловчи муҳитлар. Амалиётда энг кўп цитратли агар (Симмонс муҳити) қўлланилади. Масалан Сальмонелла авлоди вакиллари Симмонс муҳитида яхши ўсади муҳит кўкаради, ичак таёқчаси эса цитратли агарда моддаларни ассимиляция қила олмайди, муҳитни рангини ўзгартирмайди

#### **Озиқли муҳитларни тайёрлаш.**

**Асосий муҳитлар.** Триптик гидролизат пастаси маълум ҳажмдаги дистилланган сувда эритилади, рН ўрнатилади, тегишли идишларга қуйилиб, оғзи пахта-докали пробкалар билан беркитилади ва автоклавда стерилланади. Озиқли агар кукуни маълум ҳажмдаги сувга солинади ва 10—15 мин давомида қайнатилади, сўнгра озиқли Петри косачаларига ёки пробиркаларга қуйилади. Қиялантирилган озиқли агар тайёрлаш учун, ичига агар қуйилган пробиркалар стол устида қийшайтирилган ҳолда қотирилади.

**Қонли, зардобли ва асцитик муҳитлар.** Эритилган ва 45—50°C гача совутилган озиқли агарга стерил шароитда 5—10% фибринсизлантирилган қон ёки шу миқдорда қон зардоб, ёки 25% ли асцит суюқлик қўшилади, яхшилаб аралаштирилади ва тезда Петри косачасига, пробирка ёки бошқа лаборатория идишига қуйилади. Суюқ муҳит тайёрлаш учун озиқли бульонга юқорида кўрсатилган миқдорда зардоб ёки асцит суюқлик қўшилади.

**Углеводли муҳитлар.** Озиқли агар ёки бульонга 0,5—1% ди глюкоза ёки бошқа углевод қўшилади. Оқувчан буғ ёки 0,5 атм босимида буғ билан стерилланади.

**Электив озиқли муҳитлар.** 1% пептонли сув, рН 8,0. Вабо вибриони учун электив муҳит бўлиб, бошқа микробларга нисбатан жуда тез кўпаяди. Муҳитнинг ишқорий реакцияси, вабо вибрионининг ўсишига тўсқинлик қилмайди, лекин бошқа микроорганизмларнинг ўсишини секинлаштиради.

**Ишқорий агар (ИА).** Қаттиқ муҳит: озиқли агар, рН 7,8. Олдинги муҳитга ўхшаш, вабо вибрионига электив ҳисобланади.

**Мюллер муҳити.** Тиф-паратиф бактериялар учун электив ҳисобланади, чунки улар ичак таёқчасига нисбатан тетрационат натрийга (бу бирикма озиқли бульонга Люголь эритмаси ва натрий гипосульфит қўшилганда ҳосил бўлади) деярли чидамли.

**Тухум саригининг тузли а г а р и (ТСТА).** Муҳитнинг таркибида натрий хлорид юқори концентрацияда (8—10%) бўлади. Бу эса, стафилококкнинг ўсиши учун тўсқинлик

қилмай, балки муҳитни шу микроб учун электив ҳолатга келтиради. Муҳит лецитовителлаза ҳосил қиладиган стафилококкларни шундай фермент ажратмайдиган стафилококклардан фарқ қилишга ёрдам беради. Шу муҳитда лецитовителлаза мусбат микроб колониялари атрофида садаф рангли ҳалқа ҳосил бўлади (фермент товуқ тухуми сариғидаги лецитини парчалайди, шунинг учун эритилган ва 45°C гача совитилган озиқли, тузли агарга тухим сариғи қўшилади).

#### **Дифференциал-диагностик муҳитлар.**

**Гисс муҳити.** 1% ли пептонли сувга 0,5% углеводлардан бири алоҳида-алоҳида (глюкоза, лактоза, мальтоза, маннит ва бошқалар) ва Андреде индикатори (NaOH нинг 1 н. эритмасидаги нордон фуксин) қўшилади. Сўнгра пробиркаларга қуйилиб, ичига пўкак (узунлиги 3 см бўлган шиша найча, унинг бир томони берк) солинади. Пўкак шиша найча углеводларнинг парчаланиши натижасида ҳосил бўладиган газсимон маҳсулотларни йиғиш мақсадида солинади. Оқувчан буғ ёки 0,5 атм босимидаги буғ билан стерилланади; бунда пўкак озиқли муҳит билан тўлади. Муҳит 7,2—7,4 рН да рангсиз бўлиб, углеводлар парчалангандан сўнг қизил тусга киради.

Саноатда углеводли, ВР-индикаторли (сувли ҳаворанг бўёқ ва розол кислота аралашмаси) ярим суюқ муҳитлар порошок шаклида пакетларда ишлаб чиқарилади. ВР-индикатори нейтрал реакцияли муҳитда ранисиз бўлиб, нордон муҳитда кўк, ишқорий муҳитда эса, қизил рангга айланади. Ҳосил бўладиган газ ярим суюқ агар устунчасини парчалаб юборади.

**Эндо муҳити.** Порошок шаклда пакетларда чиқарилади. У қуритилган озиқли агар, 1 % ли лактоза ва индикатор -асосий фуксин, рангсизлангилан натрий сульфитдан ташкил топган. Ишлатишдан олдин маълум миқдордаги порошок дистилланган сувга солинади, қайнатилади, сўнгра Петри косачаларига қуйилади. Янги тайёрланган муҳит рангсиз ёки оқ пушти рангли бўлади.

Лактоза мусбат бактерияларнинг колониялари металлга ўхшаб ялтирайдиган, тўқ-қизил рангга бўялади; лактозоманфий бактериялар эса, рангсиз колонияларни ҳосил қиладди, чунки фуксин маълум муҳитнинг рН да рангсиз бўлса, лактоза парчаланиши натижасида ҳосил бўлган кислота муҳитнинг рН ни нордон томонга ўзгартиради ва фуксин натрий сульфитдан ажралиб қизаради, бу эса бактерия колониясини қизил рангга бўялишига олиб келади.

**Левин муҳити.** Кукун кўринишида пакетларда чиқарилади. У қуритилган озиқли агар билан лактоза, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, метилен кўки ва эозиндан ташкил топган. Эндо муҳити каби тайёрланади. Муҳит тўқ-бинафша рангга бўлади. Лактоза мусбат бактериялар тўйинган, ҳаво рангли, лактоза манфийлар — рангсиз колонияларни ҳосил қиладди. Бунинг механизми ҳам Эндо муҳитидаги каби кислота ҳосил бўлишига асосланган. Лактоза парчаланса муҳитнинг рН нордон томонга сурилиш натижасида муҳитнинг тўқ бинафша ранги ўзгариб метилин кўки таъсирида колония тўқ ҳаво рангига киради. Масалан ичбуруғ кўзгатувчилари лактозани парчаламайди, муҳит рН ўзгармайди, уларнинг колониялари рангсиз оқимтир бўлади, ичак таёқчаси колонияси эса тўқ ҳаво рангига киради.

**Плоскирёв муҳити** (Ж бактоагари). Қуруқ ҳолда чиқарилиб, лактоза, бриллиант яшили, ўт кислоталар тузлари, минерал тузлар ва индикатор (нейтрал қизил) озиқли агардан иборат. Бу муҳит фақат дифференциал-диагностик бўлиб қолмасдан, балки селектив ҳамдир. Чунки у кўп микробларнинг (ичак таёқчаси ва бошқалар) ўсишини тўхтатади ва кўпгина касал кўзгатувчи бактериялар (ич терлама, паратиф, дизентерия кўзгатувчилар) нинг ўсишини таъминлайди. Лактоза манфий бактериялар бу муҳитда рангсиз, лактоза мусбатлар эса, оч қизил колонияларни ҳосил қиладди. Бу муҳитнинг механизми ҳам кислота ҳосил бўлишга асосланган.

Жадвал 5.

**Клиник материаллардан бактерияларни ажратиб олишда кенг қўлланиладиган озикли муҳитлар**

Текширилаётган материал	Қўлланилаётган муҳитлар	Экиш тартиби
Чипқон, флегмони яраларидан йиринг, тўқима суюқлиги	ҚА, Қандли бульон, Эндо, Сабуро муҳити	Материал гомогенизацияланади ва 10-20% фосфат буфериди ёки пептонли сувда суспензия тайёрланади ва экилади.
Сийдик	ҚА, Қандли бульон, Эндо, Сабуро муҳити	0,002 мл. Гольд усулида экилади
Болғам ва бронх йўллари ювиндиси	ҚА, Қандли бульон, ША, Плоскорова, Сабуро муҳитлари	Тугинчалари бўлса гомогенизация қилинади, экилади.
Тамоқ бурын халқумдан олинган суртма	ҚА, ША, Сут ёки тухим сариғи қўшилган тузли агар	Менингококк юқумли касаллигига шубҳа қилинса ША қўлланилади.
Нажас	Эндо, Плоскорова, ВСА, Сабуро муҳитлари, ҚА	Материал гомогенизацияланади ва 10 % фосфат буфериди ёки пептонли сувда суспензия тайёрланади ва экилади.
Қин ва уретр ажралмаси	ҚА, Эндо, Сабуро	10 % фосфат буфериди ёки пептонли сувда суспензия тайёрланади ва экилади.
Ацит, орқа мия ва тўқима суюқликлари	ҚА, ША, тиогликолли бульон	Материал олдин центрифуга қилиниб кийин экилади.
Кўз, кулоқдан олинган ажралма	ҚА, ША, тиогликолли бульон, Сабуро муҳити	Экилгандан сунг, тиогликолли бульонда қолдирилади

**Эслатма: ҚА-қонли агар; ША –шоколадли агар; ВСА-висмут сульфид агар.**

**Уч қандли мочевина қўшилган (Олькеницкий бўйича) муҳит.** 100 мл дистилланган сувга 2,5 г қуриқ озикли агар, 1 г лактоза, 1 г сахароза, 0,1 г глюкоза, 1 г мочевина, 0,02 г Мора тузи, 0,03 г тиосульфат натрий, 0,4 мл 0,4% кенол қизилини сувли эритмаси. Ҳаммаси аралаштирилиб рН 7,2-7,4 кетирилиб пробиркаларга қуйилади ва 0,5 атмосферада автоклавда стерилизация қилинади. Муҳитни пробиркада қиялантирилади унинг устунчаси 2-3 см бўлиши зарур. Муҳит оқиш бинафша рангда бўлади. Бактериялар углеводни пачаласа кисота ҳосил бўлади муҳитнинг ранги сариқ самон рангига киради. Агар глюкозани парчаласа, фақат устунчани ранги ўзгаради, қиялантирилган қисми қизаради. Бактерияларда уреаз ферменти бўлса, мочевина парчланади муҳит ишқорий тамонга сурилади ва муҳит қизариб кетади. Шунинг учун уреаз мусбат бактерияларда углеводларнинг парчаланганлик натижалари бу муҳитда ўрганиб бўлмайди, бундай ҳолатларда бошқа муҳитлар қўллаш тавсия этилади. Ҳозирги кунда бу муҳитларнинг модификациялари чиқарилган. Масалан Клигер муҳити. Бу муҳитда юқоридаги хусусиятлардан ташқари темир сульфати қўшилади. Бактериялар  $H_2S$  ҳосил қилса муҳит устунчаси қораяди.

**Анаэроб микробларни ўстириш учун муҳитлар.**

**Вильсон-Блер (темир-сульфитли агар) муҳити.** Бу муҳит озикли агарда, глюкоза,  $Na_2SO_3$ ,  $FeCl_3$  (темир хлориди) қўшиб тайёрланади. Анаэроб кластридиялар (*Clostridium perfringens*) бу муҳитда  $Na_2SO_3$  нинг  $Na_2S$  билан (натрий сульфитга) қайтарилиши ҳисобига

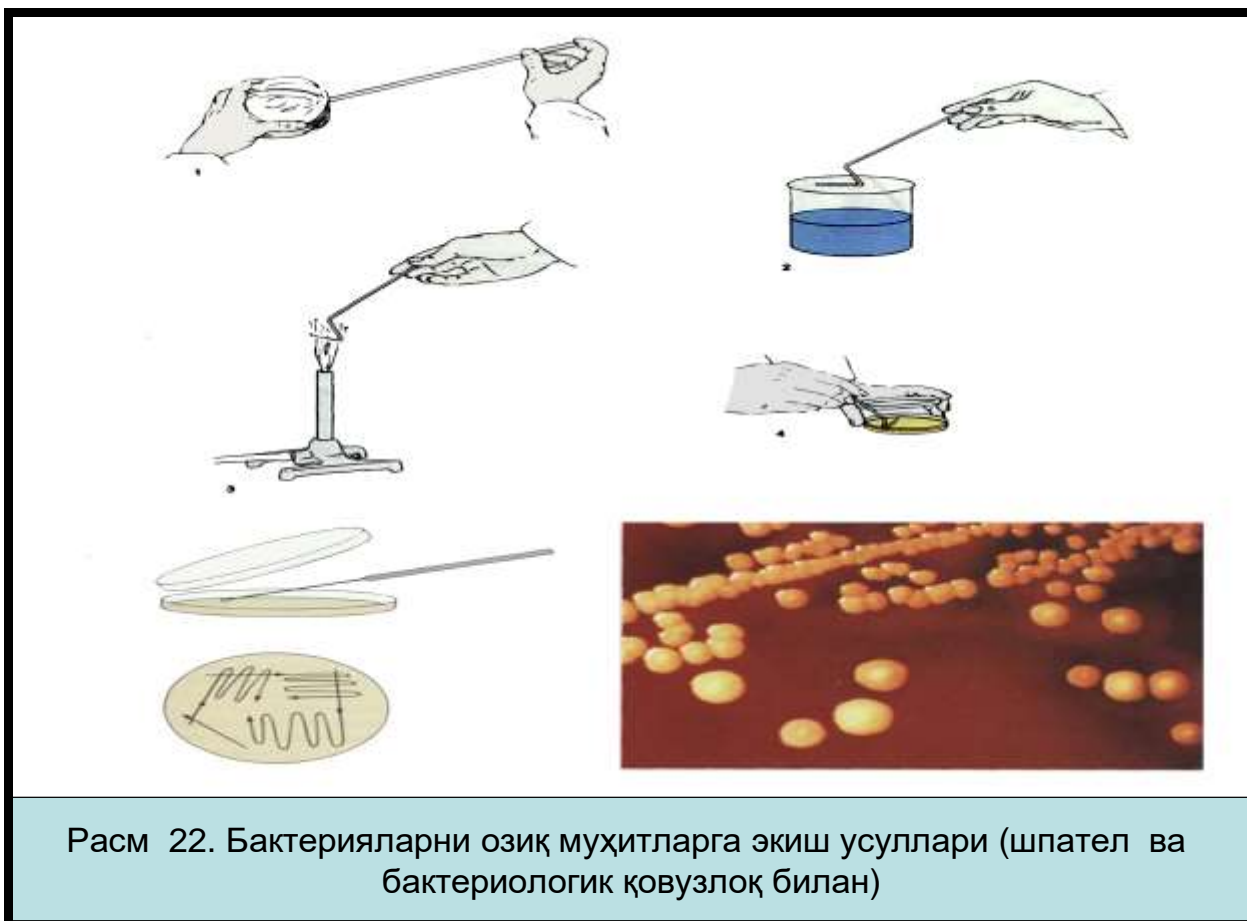
темир хлорид билан бирикиб, қора рангли темир сульфат чўкмасини бериши натижасида қора рангли колонияларни вужудга келтиради.

**Китт-Тароцци муҳити.** Унинг таркиби озикли бульон, 0,5 % ли глюкоза ва кислородни шимиб олувчи жигар бўлакчалари ёки гўшт қиймасидан иборат. Экишдан олдин ҳавони чиқариб юбориш учун муҳит сув ҳаммомида 10—15 мин давомида қайнатилади. Атмосфера ҳавосидан ажратиб туриш учун муҳитга озгина вазелин мойи томизилади

### **Патологик материалларни озикли муҳитларга экиш техникаси.**

Бактериологик қовузлоқ экиш учун энг қулай асбоб ҳисобланади. Бундан ташқари, санчиб экиш учун махсус бактериологик игна, Петри косчасига экиш учун — металлдан ёки шишадан тайёрланган шпателлар қўлланилади. Суюқ материалларни экиш учун қовузлоқ билан бир қаторда пастер ва градуирланган пипеткалар ишлатилади. Пастер пипеткалари терилланган, осон эрийдиган шиша найчаларидан оловда қиздирилиб, терилланган, осон эрийдиган шиша найчаларидан оловда қиздирилиб, капилляр шаклига келгунга қадар тортилиб тайёрланади. Стерил ҳолатни сақлаш учун капиллярнинг охири оловда тезда эритилиб беркитилади. Пастер ва градуирланган пипеткаларнинг иккинчи, яъни кенг томони пахта тиқин билан беркитилади, сўнгра улар махсус идишга (пеналларга) жойлаштирилади ёки қоғоз билан ўраб стерилланади. Бактерия культурасини қайта экишда пробирка чап ўлга олинади. Ўнг қўл билан горелка алангаси устида пахтали пробка олинади. Қовузлоқ билан экиладиган материал олиниб, сўнгра пробирка пробка билан ёпилади. Шундан сўнг қиялантирилган агарли пробиркага қовузлоқ билан экиладиган материал киритилади ва муҳитнинг пастки қисмидаги конденсатгача туширилади. Илон изи ҳаракати билан қиялатиб қўйилган агар юзасида материал тақсимланади. Қовузлоқ олингач, пробирканинг оғзи қиздирилади ва пробка билан беркитилади. Қовузлоқ горелка алангасида стерилланади ва штативга қўйилади. Экилган пробиркаларга экилган вақти, материалнинг характери (текшириш номери ёки культуранинг номи) ёзилади. Пипетка билан ишлаш вақтида аввало уни қоғоздан ажратиб олинади ёки пеналдан чиқарилади. Тезликда горелка алангаси устидан ўтказилади ва пробиркага киритилади. Сўнгра унинг ички

томони совутилади. Шундан сўнг резинали нокча орқали, юқорида ёзилган қоидага амал қилган ҳолда экиладиган материал керакли миқдорда сўриб олиниб, пробиркадаги ёки бошқа лаборатория идишидаги озиқли муҳит устига томизилади. Микроб культурасини резинали най ёки резинали нокча орқали сўриб олиш хавфсиздир. Ишлатилган пипетка дезинфекция қилувчи



Расм 22. Бактерияларни озиқ муҳитларга экиш усуллари (шпател ва бактериологик қовузлоқ билан)

эритмаси бўлган банкага солинади ва шу йўл орқали пастер пипеткалари ёрдамида эрма ҳам экилади. Петри косачасидаги озиқли агар юзасига томизилган материал шиша шпател ёрдамида газон услубида экилади (расм 22.) Бунинг учун қопқоқ бироз очилади, қовузлоқ ёки пипетка билан экиладиган материалдан озиқли агар юзасига томизилади. Сўнгра шпател горелка алангасидан ўтқазилади, қопқоқнинг ички томонида совутилади ва материал муҳитнинг бутун юзасига суртилади. Бунда чап қўл билан қопқоқ ушлаб турилади ва бир вақтнинг ўзида косача столдан ажратилган ҳолда айлантриб турилади. Эрма инкубациясидан сўнг бактериялар бир текис униб чиқади.

Микроорганизмларни соф культура холда ажратиб олишда аэроб ва анаэроб шароит яратилиши зарур.

### **Аэроб бактерияларнинг тоза культурасини ажратиб олиш усуллари.**

Текширилаётган материал ва турли микроорганизмлар аралашмасидан бактерияларнинг айрим турларини ажратиб олиш, одатда, ҳар қандай бактериологик текширишларнинг бирдан-бир, асосий бошланғич босқичи ҳисобланади.

Бу текширишлар эса, турли мақсадларда: касалликга диагноз қўйишда, атроф-муҳитдаги микробларнинг қай даражада тарқалганлигини аниқлаш учун олиб борилади. Соф культураларни ажратиб олиш билангина юқоридаги мақсадларга эришиш мумкин. Одатда текширилаётган патологик материалда изланилаётган бактериялардан ташқари бошқа кўплаб сапрофит бактериялар бўлиши мумкин. Уларнинг ичидан шубҳаланилаётган юқумли касаллик кўзгатувчи соф культурасини ажратиб олиш орқалигина юқумли касаллик кўзгатувчиларини идентификация қилиш мумкин. Соф культура ажратиб олишда қуйидаги усуллар қўлланилади:

1) Бактерия ҳужайраларини механик равишда бир-биридан ажратиш усуллари;

2) Микроорганизмларни биологик хусусиятларига асосланган ажратиш усуллар.

### **Бактерия ҳужайраларини механик равишда бир-биридан ажратиш усуллари.**

Бу усулларнинг асосий моҳияти зич озиқли муҳит юзасида бактерияларни механик равишда ёйиб ташлашга ёки текширилаётган материалдаги бактерияларни маълум миқдоргача суюлтириб камайтиришга асосланган. Материалларни экиш маҳсус шиша шпател ёки бактериологик ковузлок орқали амалга оширилади (расм 22).

**1. Материалларни Дригальский усули билан шпателда экиш.** Озиқли муҳитли 3 та Петри косачаси олинади. Биринчи косачага бир томчи текширилаётган материалдан томизилади ва уни стерилланган шиша шпател билан косача ичидаги озиқли агар юзасига суркалади. Кийин шпателда қолган культурани (шпател стерилланмайди) иккинчи ва

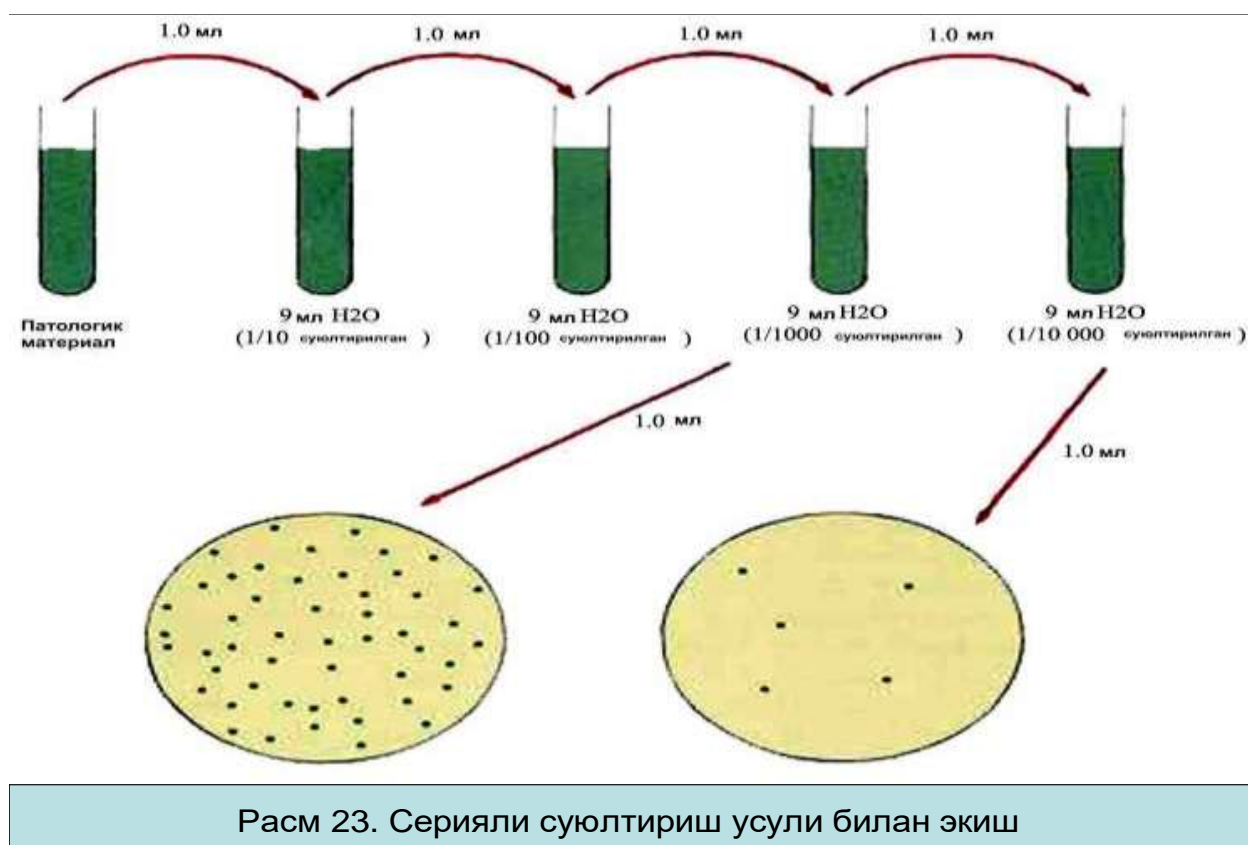
учунчи косача ичидаги озиқли агар юзасига суркаб экиб чиқилади, экилган элма термостатга (37 С°) қўйилади.

Биринчи косачадаги озиқли агар юзасида микроблар қалин ўсиши мумкин, иккинчи ва айниқса учунчи косачада алоҳида чегараланиб ётган микроб колонияларини олиш ва улардан тоза культура ажратиш олиш мумкин.

## 2. Бактериологик халқа қовузлоқ /петля/ билан штрих ва шпател билан газон усулида экиш.

Бу усул ҳам олдинги усуллардан принципал жиҳатдан фарқланмайди, лекин сезиларли тежамли. Қовузлоқ билан штрих усулида экишни бир неча модификациялари мавжуд (Экиш техникасига қаралсин). Биринчи ҳолатда қовузлоқ билан олинган материал озиқли агар юзасининг бир чеккасига кўп маротиба суркаб экилади, қовузлоқдаги кўп материал шу ерда қолади, сунгра муҳитнинг қолган қисмига бир-бирига параллель штрих қилиб экиб чиқилади. Одатда биринчи қовузлоқ билан қалин экилган соҳада микроблар кўп ўсади, уларнинг миқдори кийин экилган штрих бўйлаб камайиб боради, табиийки колониялар ҳам экмани охирироғида чегараланган ҳолда учрайди. ( 22-расм).

Иккинчи ҳолатда қовузлоқ билан олинган материални озиқли агар юзасига сектор усулида экиш мумкин. Бунинг учун Петри косачаси озиқли муҳит билан олинади ва уни 4 секторга бўлинади. Текшириладиган материал қовузлоқ билан биринчи секторга олинади ва бир-бирига параллел равишда штрих қилиб секторга экилади (чизиклар ораси 0,5 мм атрофида бўлади), шу қовузлоқ билан бошқа секторларга ҳам экиб чиқилади, экилган элма термостатга (37 С°) қўйилади.



4. Текшириладиган материални серияли суюлтириш усули билан экиш. Бу усулда соф культура ажратиш олишдан ташқари текшириладиган материалда микроорганизмларнинг миқдорий кўрсаткичлари ҳам аниқланади (23-расм ). Дастлаб стерил пробиркалар олинади ва ҳар бирига 9,0 мл стерил физиологик эритма ёки стерил сув олинади ва асосий материалдан 1.0 мл олиниб 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 ( текшириладиган материалга қараб янада кўпроқ суюлтириш ҳам мумкин) нисбатда



суюлтирилади. Тайёрланган пробиркалардан белгиланган пипетка ёрдамида 0,1 мл материал олиниб озикли агар юзасига томизилади ва шпател билан суркаб газон усулида экилади ва термостатга (37 С°) қўйилади.Текширилаётган материалдан умумий микроблар сони (УМС) қуйидаги формула орқали аниқлаш мумкин УМС= АхВхС.

А- пробиркадаги суюлтириш даражаси;

В- 0,1 экилган эхма

С- озикли агар юзасида ўсган микроблар сони

**Микроорганизмларни биологик хусусиятларига асосланган ажратиш усулар.**

**Шукевич усули.** Амалиётда Протея бактериясининг соф культурасини (*Proteus vulgaris*) ажратиб олишда, унинг озикли муҳитда «ёйилиб» ўсиш хусусиятидан фойдаланилади.Бунинг учун текширилаётган материалдан қовузлок билан янги тайёрланган қийшиқ агарни конденсацион сувига экилади ва термостатга (37 С°) қўйилади.Протея бактериялари озикли муҳитда ўрмалаб ўсиш хусусиятига эга ва кийинги кунда қийшиқ агарни юқори қисмига ўрмалаб ўсиб чиқади, унинг юқори қисмидаги културасидан олиниб, тоза култура ажратиб олиш мумкин.

**Қиздириш усули билан тоза култура ажратиб олиш.** Спора ҳосил қилувчи бактерияларни ажратиб олишда қўланилади. Бу усулда спора ҳосил қилмайдиган, аммо қўшилиб қолган микроорганизмларни вегетатив формасини йўқ қилиш учун, текшириладиган материал 80°С да қиздирилади ёки қисқа вақт давомида қайнатилади. Бу ҳолатда микроорганизмнинг спораси сақланиб қолади ва қиздирилган материални озика муҳитига экилганда, агар у шу турга мансуб бўлса, бактериянинг соф культурасини ташкил қилган ҳолда ўсиб чиқади.

**Бактериостатик усул (Ингибиция усули).** Микроорганизмларни ўсишига турли кимёвий моддалар ва антибиотиклар ва турли омилларни таъсир қилишига асосланган. Текширилаётган материални озикли муҳитга экишда, асосий микробнинг кўпайишига таъсир кўрсатмайдиган аммо ташқи микрофлоранинг кўпайишини, ўсишини тўхтатадиган температурада ўстирилади. Масалан, актиномицитлар, иерсиния бактериясининг соф культурасини ажратиб олиш учун, экилган материал 22°С температурада ўстирилади. Кўпчилик бошқа бактериялар бу ҳароратда уларни ўсиши сустлашади. Иккинчи ҳолатда озикли муҳитга, бегона бактерияларнинг кўпайишини тўхтатадиган, аммо текширилаётган микробга таъсир қилмайдиган аниқ концентрацияда маълум антибиотиклар қўшиш мумкин. Кўк йўтал қўзғатувчисини ажратиб олишда Козеинли кўмирли агарга (ККА) пенициллин антибиотиги қўшилади. Пеницилин Грам манфий кўк йўтал қўзғатувчисига таъсир кўрсатмайди, лекин грам мусбат қўшимча грам мусбат бактерияларни ўсишини тўхтатиб қўяди.

Кислотага чидамли бактерияларни тоза культурасини ажратиб олишда, текширилаётган материал 5 % сульфат кислота билан ишлов берилади, кислотага чидамсиз қўшимча флоралар ҳаммаси ўлиб кетади, кислотага чидамли бактериялар сақланиб қолади, кийин озикли муҳитларга экилганда улар яхши ўсади. Бу усулдан сил таёқчасини соф культурасини ажратиб олишда кенг қўлланилади.

**Бойитувчи усул (метод обогашения).** Текширилувчи материал бактериялар учун электив муҳитларга экилади бу муҳитларда маълум бир бактериялар яхши ўса олади. Масалан стафилококклар натрий хлор тузининг юқори концентрацияси бўлган (10-15%) муҳитда, вабо вибрионлари эса ишқорий муҳитда яхши ўсади, қўшимча флорани ўсиши тўхтаб қолади ёки сустлашади.

**Бактерияларни соф культурасини биологик усуллар билан ажратиб олиш.** Кўпгина патоген бактерияларни сапрофитлардан ажратиб олишда қўланилади. Амалиётда баъзи бактерияларни ажратиб олишда қийинчиликлар туғилади, яъни текширилаётган материалда изланилаётган бактерияни миқдори жуда кам бўлиши, ёки ҳайвонларни ўлигини текширилганда (ўлатда), чиритувчи бактеияларни кўпайиб кетганлиги, материални лабораторияга етказиб бериш вақтини чўзилиб кетиши, бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш эхтимolini камайтириб юборади. Бундай ҳолларда биологик усул муҳим аҳамият касб этади. Материални юктириш учун,

изланилаётган бактерияга сезгир бўлган лаборатория ҳайвонлари танланади. Масалан пневмакокк ва ўлат қўзғатувчиси учун энг сезгир ҳайвон оқ сичқонлар ҳисобланади. Риккетсиялар учун эса каламуш, заҳим қўзғатувчиси куён организмида яхши кўпайади. Материал юктирилган ҳайвонда касаллик белгилари кўрина бошланса, патологик анатомик текширилади ва уларнинг орган ва тўқималаридан юқоридаги усуллар ёрдамида тоза культураси ажратиб олинади.

**Лаборатория ишини бажариш:**

**Пластинкали ГПА озиқ мухитини тайёрлаш.**

1. Тоза стерилланган шиша колба тайёрланади.
2. Колбага 1 литр дистилланган сувга 40 гр ГПА кукуни солинади эритилади.
3. рН текшириб кўрилиб, оғзи пахта-докали пробка билан беркитилади.
4. Автоклавга қўйиб 10-15 минут давомида 120 °С да, 0.5 атмосфера босимида стерилизация қилинади.
5. Тайёр бўлган озиқ мухит стерилланган петри косачаларига 15-20 мл қуйилади.
6. Қиялатилган озиқли агар тайёрлаш учун, ичига агар қуйилган пробиркалар стол устида 45 ° кийшайтирилган ҳолатда қотирилади.

**Ҳавони седиментацион усул билан экиш.**

1. Тайёрланган пластинкали ГПА хонанинг маълум танлаб олинган жойига қопқоғи очиб 15-20 минут қолдирилади.
2. Белгиланган вақтдан кийин косачани қопқоғи ёпилиб, устига материал олинган сана, соати, гуруҳ номери ёзиб қўйилади.
3. Ҳаво экилган ГПА термостатга 37°С га қўйилади.

**Бактерияларни тоза культурасини ажратиб олиш мақсадида бемор йиринги ва нажасини ТСТА, Эндо мухитларига экиш.**

1. Текширилаётган бемор йиринги ва нажаси юқорида келтирилган бактерияларни экиш техникаси ва аэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олишдаги усулларга амал қилинган ҳолда ТСТА ва Эндо мухитларига экилади.
2. Экма экилган Петри косачасини қопқоғи ёпилиб, устига материал экилган сана, соати, гуруҳ номери ёзиб қўйилади.
3. Экилган ГПА термостатга 37°С га қўйилади.

Бажарилган ишлар бўйича протокол тузилади ва хулоса ёзилади.

## **Мавзу 6: Микроорганизмларни ўстириш ва соф культура ажратиб олиш усуллари. Аэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш усуллари.**

**Машгулот режаси**

1. Аэроб бактерияларнинг соф культурасини ажратиб олиш.
2. Бактерияларнинг культурал хусусиятларини ўрганиш

**Намойиш қилиш**

1. Қовузлок, пипетка, игна, шпател билан қайта экиш техникаси.
2. Аэроб культураларини ўстиришда фойдаланиладиган озиқли мухитлар, асбоблар.
3. Турли бактерияларни қаттиқ ва суяқ озиқли мухитларда ўсиши,

колонияларнинг ҳар хил типлари, биохимик хусусиятларини ўрганиш учун мухитлар «ола-чипор» қатор.

4. Анаэроб бактерияларининг соф культурасини ажратиб олиш усули.

**Лаборатория ишини бажариш учун топширқ**

1. Текширилаётган материалдан аэроб бактерияларининг соф культурасини ажратиб олиш.
2. Ҳаводан, йирингдан, нажасдан ажратиб олинган культурани морфологик, тинкториал, ўсиш хусусиятларига кўра 1-схемадан фойдаланиб, идентификация қилиш. 4-жадвалда кўрсатилганига асосланиб ўтказилган текширув бўйича протокол тузиш.

## Методик кўрсатмалар

Юқумли касалликларга диагноз қўйишда тиббиёт амалиётда бактериологик усул асосий, ҳал қилувчи ҳисобланади. Юқумли касалликларга диагноз қўйиш бир нечта этапларда олиб борилади. Биринчи этапи патологик материаллардан қўзғатувчини тоза культурасини ажратиб олиш, иккинчи этапи эса ажратиб олинган соф культурани қайси тур ёки авлодларга мансублигини аниқлаш ёки идентификация қилиш ҳисобланади.

Озиқли муҳитда ўстирилган бир турдаги ёки бир хил бактериялар популяцияси **соф культура** деб аталади. Кўп бактерияларнинг турлари биргина хусусиятига кўра биологик вариантлар— биоварларга (синоними: биотиплар) бўлинади. Кимёвий хусусиятлари билан фарқланадиган - хемоварлар, антигенлик хусусияти билан — серовар, фагларга сезувчанлиги билан фаговарлар деб аталади. Бир турнинг микроб культураси ёки биовари, турли манбалардан ёки ҳар хил вақтларда бир манбадан ажратиб олинган бўлса, улар **штамм** деб номланади. Штаммлар кўпинча номер ёки қандайдир белгилар билан белгиланади. Бактерияларнинг соф культурасини диагностик бактериологик лабораторияларда, алоҳида ажратилган колониялардан қаттиқ ёки суюқ озиқли муҳити бўлган пробиркаларга қовузлоқ орқали экиб ажратиб олинади.

Қаттиқ озиқли муҳитда бир турдаги ёки биовардаги бактериялар ўстирилганда, битта ёки бир нечта бактерия хужайраларининг кўпайиши натижасида ҳосил бўлган айрим -айрим тўпламлар ҳосил қилади, буларни амалиётда **колония** деб аталади. Колония деб бир турга ёки биоварга мансуб бўлган бактерияларни маълум вақт ичида, зич озиқ муҳит юзасида ҳосил қилган микроб тўпламига айтилади. Колониялар зич муҳитда ўстирилганда уларни ўсиши, колония ҳосил қилиши материалдаги микроблар миқдори ва экиш техникасига боғлиқ бўлади. Материалда микроблар сони кам бўлса ва тўғри техник усул қўланилса керакли микоорганизмларни алоҳида,

чегараланган колонияларини олиш мумкин. Ҳар хил турдаги бактерияларнинг колониялари бир-биридан ўзининг морфологияси, ранги ва бошқа белгиларига кўра фарқ қилади.

Бактериянинг соф культураси диагностик текширишлар ўтказиш учун ажратиб олинади. Бу эса, идентификациялаш, яъни ажратиб олинган бактерияларнинг қайси зотга, турга мансуб эканлигини аниқлаш демакдир. Бунга эса, уларнинг морфологияси, ўсиши, биокимёвий ва бошқа хусусиятларини текишириш натижасида эришилади (1-схемага қаралсин).

Кўпчилик бактерияларнинг соф культурасияи ажратиш учун 2—3 кун вақт сарф бўлади. Сил касаллиги мико-бактериясини ўстириш учун кетадиган вақт 4—5 ҳафтагача давом этади.

Соф культурани ажратиш процессини бир неча босқичларга бўлиш мумкин.

### **Аэроб бактерияларни тоза культура ажратиб олиш босқичлари.**

**Биринчи босқич** -текширилаётган материалдан суртма тайёрланади.

Грам ёки бошқа усул билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади. Керак бўлса текширилаётган материал пробиркада NaCl нинг стерилланган изотоник эритмаси билан суюлтирилади. Бир томчи суюлтирилган материални бир хилда тақсимлаб, қовузлок ёки шпател билан Петри косачасидаги озикли агар юзасига экилади. (Юқоридаги экиш техникаси ва усулларига қаралсин).

Экилгандан сўнг косача ости юқорига қилиб айлантирилади ва унга ёзилади.

У 37°C да термостатга 18—24 соатга қўйилади;

**Иккинчи босқич**- элма экилган косачалар кўрилади, якка-якка жойлашган колониялар ўрганилади. Уларнинг шаклига, катта-кичиклигига, каттик ёки юмшоқлигига ва бошқа белгиларига аҳамият берилади.

Бактерияларнинг зоти ва туригача идентификациялашда, колония ва культураларга турли ранглар берувчи пигментлар ҳам муҳим аҳамиятга эга. Масалан, *Serratia marcescens* (ажойиб қон таёқчаси) қизил пигмент, *Staphylococcus aureus* тилла рангли пигмент (тилла рангли стафилококк),

*Pseudomonas aeruginosa* кўк-яшил пигмент (кўк-яшил йирингли таёқча) ҳосил қилади.

Ҳужайранинг морфологияси ва уларнинг тинкториал хусусиятларини аниқлаш учун, текширилаётган колониянинг бир қисмидан суртма тайёрланади, Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади. Соф культурани ажратиш ва тўплаш учун битта ёки бир неча хил алоҳида жойлашган колонияларни, қиялантирилган нейтрал агарга ёки бошқа дифференциал озиқли-муҳитли (кўпроқ Клигер, Рассел муҳитлари) пробиркаларга қайтадан экилади. Бунинг учун бошқа колонияларга тегизмасдан қовузлоқ билан колониянинг бир қисми олинади.

**Учинчи босқич.** Ажратиб олинган соф культуранинг хусусиятлари қайд қилинади. Соф культура кўз билан кўрилганда бир текис ўсган бўлади. Шу культурадан тайёрланган, бўялган суртма микроскоп остида кўрилганда, морфология, тинкториал хусусияти жиҳатидан бир хил бўлган ҳужайралар кўринади. Агар бактерияларнинг айрим турларига хос рўйирост кўринадиган полиморфизм бўлса, у ҳолда соф культурадан тайёрланган суртмада, ҳақиқий ҳужайралар билан бир қаторда, бошқа ўзгарган шаклдаги ҳужайралар ҳам учрайди.

Бактерияларнинг морфологик ва тинкториал белгилари ҳаракатлари, турли усуллар билан бўялган ва бўялмаган препаратларни микроскоп остида текшириш билан ўрганилади. Учинчи босқичда ажратиб олинган бактериялар кўпчилик ҳолларда авлодгача аниқланади, уларнинг тургача идентификация қилиш учун, бактерияларнинг биокимёвий, фагларга, антибиотикларга бўлган сезгирлик хусусиятлари чуқурроқ ўрганилади. Бунинг учун бактерияларни сахаролитик активлигини ўрганишда узун Гисс қаторига, протеолитик хусусиятини аниқлаш учун ГПБ, желатинали муҳитларга экилади

Культурал (ўсиш) хусусиятлари бактериянинг озиқага бўлган талабини, каттик ва суюқ озиқли муҳитда ўсиш шароитини белгилайди. Бу хоссалар эса

колониялар морфологияси ва культуранинг ўзига хос ўсиш хусусиятлари бўйича аниқланади.

Бактерияларнинг биокимёвий хусусиятлари маълум зотга, турга, вариантга хос бир қатор конститутив ва индуцибелли ферментлар билан белгиланади. Бактериологик амалиётда бактерияларнинг сахаролитик ва протеолитик белгилари таксономик аҳамиятга эга бўлиб, дифференциал-диагностик муҳитларда аниқланади.

**Тўртинчи босқичда.** Ажратиб олинган бактерияларнинг соф культураси уларнинг биокимёвий, антигенлик, фагларга бўлган сезгирлиги натижалари асосида тўлиқ тургача идентификация қилинади ва бактериологик ташхис жавоби берилади. Агар хусусиятлари бўйича баъзида номутоносибликлар кузатилса бу хусусиятларини аниқлаш бўйича қўшимча-тадқиқот ишлари олиб борилади.

#### **БАКТЕРИЯ КУЛЬТУРАЛАРИНИ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ҚИЛИШ**

Ҳар бир турга мансуб бўлган бактериянинг морфологик, ўсиш белгиларини, биокимёвий, антигенлик ва бошқа хусусиятларини ўрганиш натижасида ажратиб олинган бактерия культурасини идентификация қилиш мумкин. (1-схема).

1. Морфологик ва тинкториал хусусияти. Ўрганилаётган культурани морфологияси ва уларнинг тинкториал хусусиятларини аниқлаш учун, текширилаётган колониядан суртма тайёрланади, Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади.

2. Культурал хусусияти (ўсиш белгилари). Уларга бактерия колониясининг қаттиқ ҳамда суюқ озиқа муҳитларда ўсиши киради.

**Жадвал 6.**

**Зич муҳитда ўсган бактерия культурал ва тинкториал хусусиятлари бўйича баённома шакли**

Паологик материал ва экилган озиқли муҳит	Колония номери	Грам бўйича бўялиши	Ўлчами	Шакли	Ранги	Юзаси	Консистенцияси	Таркиби	Қирраси	Колониялар типлари (S, R, M.)	Ажратиб олинган култура

**Бактерияларнинг қатик озиқли муҳитларда ўсиши.** Қатик озиқли муҳитларда ўсган бактериялар колонияларининг катта-кичиклиги ўлчами, шакли, ранги, қаттиқ-юмшоқлиги (консистенцияси), четларининг контури, юзасининг характери ва тузилиши (24 - расм) билан бир-биридан фарқ қилади.

**Катталиги бўйича.** колониялар йирик (диаметри 4— 5 мм. сарцинлар, кўпроқ замбуруғлар ҳосил қилади), ўртача (2—4 мм ичак гуруҳи бактериялари *E.coli*, *S. typhi*) ва майда (1—2 мм/ *Bordetella pertussis*) , майда колонияларни микроскоп остида (МБ-1) ёки каталаштириб кўрсатувчи лупа ёрдамида кўриш мумкин.

**Шаклига кўра** — юмалок, розеткасимон, дуксимон, толали, ўзгарувчин барг шаклида бўлиши мумкин.

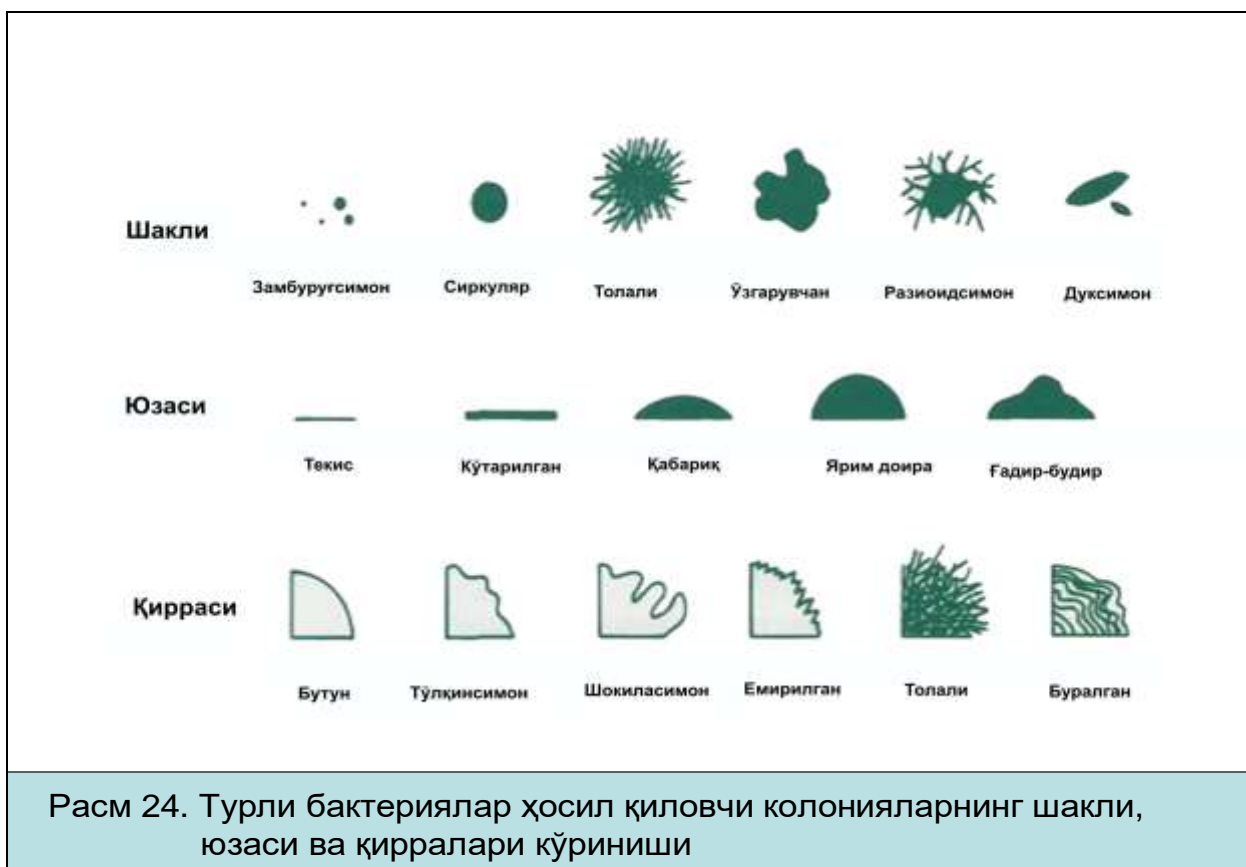
**Колонияларнинг ранги-** ишлаб чиқарилаётган оқ, сарик, қизил ва бошқа пигментларга боғлиқ. Пигмент ажратмайдиган бактерияларнинг колонияси рангсиз бўлади.

**Консистенцияси.** Қаттиқ юмшоқлиги, асосан бактериологик қовузлок билан олинганда ўрганилади. Колониялар бу жиҳатидан қуруқ (Сил кўзгатувчиси), нам (Протея бактериялари), чўзилувчан (капсула ҳосил қилувчи бактериялар Клебсиелла), енгил олинувчи юмшоқ пастасимон (кокklar: стафилококк, сарцинлар, тетракокklar) бўлиши мумкин.

**Колонияларнинг юзаси (сатҳи)-** текис силлик, кўтарилган, қабарик, буришган, чизилган, ясси, бироз кўтарилган, ботган бўлади.

**Колониянинг қирраси ( чети контури)-** текис бутун, тўлқинсимон, шокиласимон бўлади, емирилган, толали, буралган бўлади.

**Колонияларнинг таркиби (ички тузилиши)-** аморфли, донали, пастасимон, толасимон қийин агардан ажралувчи бўлиши мумкин.



Бактерияларни колонияларини ўрганиш муҳим амалий аҳамиятга эга бўлиб, бактерияларни бирламчи саралашда қўланилади. Амалиётда колонияларни бир неча типда, умумий номлар билан аташ қабул қилинган. Масалан, колониялар силлик, думалоқ шакилда, қирралари текис, юзаси силлик ялтироқ, бир жинсли бўлса S- колониялар деб аталади (инглизча smooth-силлик деган сўздан олинган). Бошқа колониялар ғадир-будир, хира, қирралари нотекис, шакли нотўғри, куриқ бўлиши мумкин, Бундай колонияларни R-колониялар деб (инглизча rooth-ғадир-будир деган сўздан олинган) аталади. Бундан ташқари колонияларни оралик формалари ҳам учрайди: шилимшиқ ( M-формалар) ёки митти (G-формалар) шулар жумласидандир.

**Бактерияларнинг суяқ озиқли муҳитларда ўсиши.** Суяқ озиқли муҳитда бактериялар ўсганда ҳам улар айрим турларга хос кўринишларда ўсади ва культурал жиҳатдан бир бирларидан фарқ қилади. Кўпчилик бактериялар суяқ бульонларда ўсганда уни лойқатиб ўсади





(ичак гурухи бактериялари ичак таёқчаси, клебсиелла), баъзилари эса муҳитни юзасида юпка парда (вабо вибриони), қалин парда ҳосил қилиб, (сил, ўлат қўзғатувчиси) ўсади, бошқа бирлари эса пробирка тагида ипир-ипир чўкма ҳосил қилиб (куйдирги қўзғатувчиси) ёки пробиркани девори бўйлаб ўсиши мумкин (пиоген стрептококк). Бундан ташқари бактерияларнинг суюқ муҳитларда ўсиши уларнинг нафас олиш типларига ҳам боғлиқдир (25-расм). Облигат аэроблар муҳитнинг энг устки юзасида, кислородга яқин жойда, факультатив анаэроблар муҳитнинг ҳамма қисмида, лекин кўпроқ юзасида, аэротолерантлар муҳитда бир хил тарқалиб кўпайса, қабътий анаэроблар муҳитнинг тагида ва микроаэрофиллар эса муҳитнинг юзасига яқин қисмида ўсишади.

**Лаборатория ишини бажариш:**

1. Седиментацион усулда экилган ҳаво экмасини натижаларини қайд қилиш:
  - зич муҳитда ўсган микробларни культурал хусусиятларини ўрганиш (колонияларини ўлчаш, формаси, юзаси, қирралари, ранги, консистенцияси, таркиби, рельефи ва бошқа хусусиятлари);
  - ўрганилган микроб колонияларидан суртма тайёрлаб Грам усулида бўйаш, микроскопда кўриш, дафтарга расмини чизиб (морфологиясини ўрганиш учун);
  - тоза культура ажратиб олиш мақсадида, шубҳали колониядан олиб ГП қийшиқ агарга экиш.
2. ТСТАга экилган йиринг экмасини натижалаш:
  - ТСТАга экилган экмани культурал хусусиятини ўрганиш (колонияларини ўлчаш, формаси, юзаси, қирралари, ранги, консистенцияси, таркиби, рельефи ва бошқа хусусиятлари);

- морфологиясини ўрганиш учун, ўрганилган колониядан суртма тайёрлаш, Грам усулида бўйш, микроскопда кўриш, дафтарга тасвирини тушириш;
  - ТСТА ўсган микроорганизмларни тоза культурасини ажратиб олиш учун қийшик ГПАга экиш.
3. Эндотухитига нажас экилган экмани культурал хусусиятларини натижалаш.
- Эндотухитига нажас экилган экмани культурал хусусиятларини ўрганиш (колонияларини ўлчаш, формаси, юзаси, қирралари, ранги, консистенцияси, таркиби, рельефи ва бошқа хусусиятлари);
  - морфологиясини ўрганиш, суртма тайёрлаб, Грам усулида бўйш, микроскопда кўриш, расмини дафтарга чизиш;
  - шубхали колониялардан 3-қандли мухитга экиш (ферментатив хусусиятини ўрганиш учун).
4. Анаэроб бактерияларни ажратиб олиш мақсадида тупроқдан Китто-Торади мухитига экиш.
- ўрганилган культурани тинкториал, морфологик ва мухитда ўсиш хусусиятлари ва жадвалда кўрсатилганларга асосланиб, ўтказилган текширулар бўйича протокол тузиш

**Мавзу 7: Анаэроб бактерияларни соф культурасини ажратиш. Микроорганизмларни ҳаёт фаолияти махсулотларини (пигментлар, ферментлар, токсинлар ва бошқ.) идентификацияда қўлланилиши.**

**Машгулот режаси**

1. Анаэроб бактерияларнинг соф культурасини ажратиб олиш.
2. Бактерияларнинг авлоди, тури ва типларини аниқлашдаги идентификациялаш усуллари.

**Намойиш қилиш**

1. Турли бактерияларни биокимёвий сахаролитик хусусиятларини (Клигер, ола-чипор каторлар) кўриш.
2. Бактерияларнинг протеолитик ( индол, водород сульфид, амиак, желатинани емириши) хусусиятларини кўриш
3. Анаэроб культураларини ўстиришда фойдаланиладиган озикли мухитлар, асбоблар, анаэроббиоз хосил қилувчи пакет.
4. Анаэроб бактерияларининг соф культурасини ажратиб олиш усули.

**Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Ҳаводан, йирингдан, нажасдан ажратиб олинган культурани морфологик, тинкториал, ўсиш хусусиятлари ва биокимёвий хусусиятларини ўрганиш ва жадвалда кўрастилганига асосланиб ўтказилган текширув бўйича протокол тузиш.
2. Анаэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш бўйича протокол тузиш.

**Услубий кўрсатмалар**

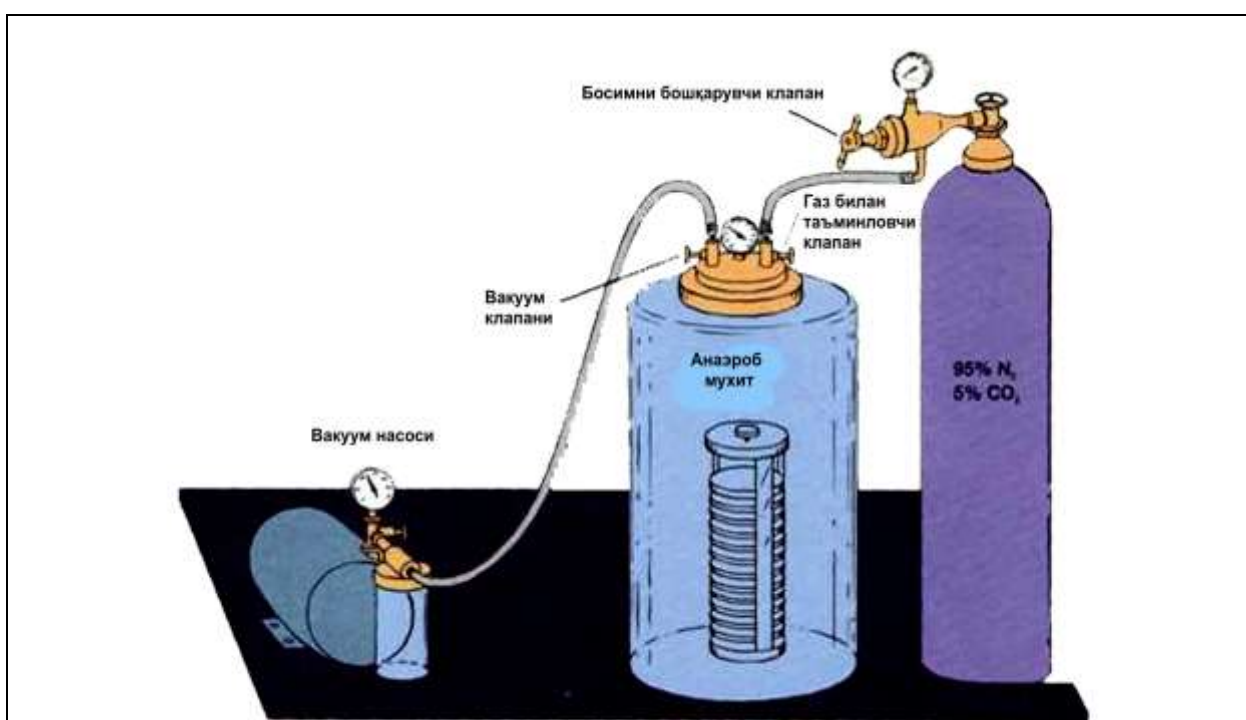
Анаэроб бактерияларни ажратиб олиш моҳияти ҳавода ёки озикли мухитдаги кислородни порциал миқдорини анаэроблар учун камайтиришга қаратилган бўлиб, буни бир неча усулларда амалга ошириш мумкин.

1. **Анаэроб культурани укол усулида экиш.** Энг оддий усуллардан бири хисобланади. Баланд қуйилган пробиркадаги ( столбик) қандли агарга

материал укол қилиб экилади. Столбикни пастки қисмида анаэроблар ўсиши мумкин.

**2. Мухитларга кислородни редукцияга (редуцирующих) учратувчи моддалар қўшиш билан ажратиш олиш.** Кўпинча Китта-Торақи муҳитидан фойдаланилади, муҳитнинг таркиби: гуштли бульон, 0,5 % глюкоза ва янги жигар бўлакчаси солиб, муҳит юзасига вазелин мойи қуйиб қўйилади. Мухитни тайёрлаш даврида ГПБ қайнатилади, яъни кислород чиқарилиб юборилади, муҳитда қолган кислородни 0,5 глюкоза ва жигар бўлакчаси редукцияга учратади ва муҳитда анаэроббиоз ҳолати вужудга келади. Мухит юзасига қўйилган мой кислородни ўтказмайди.

**3. Механик равишда кислородсиз шароит яратиш.** Бунинг учун махсус асбоблардан анаэроустат, микроанаэроустатлардан фойдаланилади.



**Расм 26 . Газлар аралашмаси манбаси ёрдамида анаэроб шароит яратиш**

Микроанаэроустатларда ҳозирги кунда кислородли шароит яратишда бир неча усуллар қўлланилади. Биринчи усулда анаэроб культурали чашкалар қўйилган микроанаэроустатга газ чиқарувчи махсус пакет қўйилади. (2-расм).

Иккинчи усулда анаэроостатдаги кислород вакуум насос билан суриб олинади ва бошқа газлар билан тўлдирилади (26-расм).

Юқорида келтирилган усулларда кислород ўрнига индифферент газлар алмаштирилади. Индифферент газ сифатида кўпинча водород, карбонат ангидритдан фойдаланилади.

**4. Кимёвий усул.** Бу усулнинг моҳияти шундан иборатки ҳаводаги кислородни кимёвий моддалар ёрдамида шимиб олишга асосланган. Лаборатория шароитида кўпинча бу усулда шиша эксикатордан фойдаланилади. Шиша эксикаторни тагига кислородни шимиб олувчи ишқор ёки пирогол ( 10 % раствори ) олинади. Унинг устига махсус чинни мослама қўйилади ва унинг устига анаэроб бактериялар экилган Петри косачалари қўйилади. Эксикаторни қопқоғига вазелин мойи суркаб яхшилаб беркитилади. Пирогол ёки ишқор эритмаси кислородни шимиб шиша эксикаторда анаэроб шароит яратади.

**5. Биологик усул.** Бу усулни моҳияти, аэроб ва анаэроб бактерияларни биргаликда экиб, анаэроб шароит яратишга асосланган. Кўпинча Фортнер усулидан фойдаланилади. Бунинг учун қалин қилиб қонли агар қуйилган Петри косачасидаги муҳитдан фойдаланилади. Қиздириб стерилланган пинцет билан агар ўртасидан кичик ариқча қилиб иккига бўлинади ва бир томонига аэроб, иккинчи томонига анаэроб культура экилади. Косача айлантрилиб қопқоғи чекаларига парафин эритиб қуйилади ва термостатга қуйилади. Озиқли муҳитда олдин аэроблар тез ўсади ва кислородни ўзлаштиришади, анаэробларга кислородсиз шароит яратишади, кийин анаэроблар ўса бошлайди.

Охириги йилларда юқорида келтирилган усулларни жуда кўплаб модификациялари қўлланилмоқда. Шулардан бири кафедрамиз ходимлари томонидан ишлаб чиқилган “ Газ тўлдирилган целофан пакет” усулидир. Бунинг учун оддий қалин целофан пакет олиниб унинг ичига анаэроб бактериялар экилган Петри косачалари қўйилади ва резина шланг ёрдамида

табий газ билан тўлдирилади. Пакет яхшилаб бураб, газ чиқиб кетмайдиган қилиб, резина билан бойланади. Бу шароитда анаэроб бактериялар яхши ўсади.

### **Анаэроб бактерияларни соф культурасини ажратиш**

Анаэроб микрофлорани ажратиш ҳам бир неча этаплардан иборадир.

**Биринчи кун.** Текширилаётган материал ( тупрок, йиринг ва бошқ.) Китта-Торац муҳитига бактериологик қовузлок ёрдамида экилади. Спора ҳосил қилувчи (кlostридиялар) бацилларни ажратишда материал экилган Китта- Торац муҳити сув ҳаммомида 20 минут 80° С да ушлаб турилади. Қўшимча бактерияларни вегитатив формасини йўқотиш учун. Спора ҳосил қилмайдиган анаэробларни (бактериоид, пептострептококлар, пептококлар) қатъий анаэроб шароитларда юқорида келтирилган усулларнинг бирини қўллаш билан ажратиб олинади.

**Иккинчи кун.** Китта-Торац муҳитига экилган экмада анаэроблар муҳитни лойқалантириб ўсади, баъзида газ пуфакчалари ҳам кўриниши мумкин. Муҳитдан суртма тайёрланади ва Грам усулда бўяб, микроскопда кўрилади. Суртмада ўлчами катта таёқча шакиллидаги бактерияларнинг спорали ва спорасиз формалари топилса чамали ташхис қилиш мумкин. Тоza культурасини ажратиб олиш учун ҚА, ёки махсус муҳитларга экилиб аэроблар сингари соф культураси ажратиб олинади. Аэроблардан фарқи ҳамма ўрганилиши зарур бўлган хусусиятлари анаэроб шароитда амалга оширилади.

### **Бактерияларни биокимёвий хусусиятларини дифференциал-диагностик мақсадда ўрганиш.**

Бактерияларни биокимёвий активлиги турли даражада бўлиб, улар таркибидаги ферментларига боғлиқдир. Бактериологик амалиётда бактерияларни ферментатив хусусиятларини аниқлаш муҳим аҳамиятга эга бўлиб, бактерия турларини ажратиб олишда ва уларни бир-биридан фарқлашда ва юқумли касаллик қўзғатувчиларига бактериологик ташхис кўйишни асосий воситаси деб қаралади. Айниқса ичак гуруҳи юқумли касаллик қўзғатувчиларини идентификациясида кенг қўлланилади.

Бактерияларни саралашда уларнинг қуйидаги биокимёвий хусусиятлари ўрганилади:

- 1) Углеводларни парчалаши;
- 2) Оқсилларни парчалаши;
- 3) Бўёқларни редукцияга (тиклаш хусусияти) учратиши.

**Углеводларни парчалаши.** Микроорганизмларнинг углеводларни парчалаш хусусиятини аниқлаш учун қисқа ва узун «ола-чипор» қатордан фойдаланилади. қисқа қаторга суюқ моно ва дисахаридли Гисс муҳити: глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза ва олти атомли спирт—маннитлар киради. Узун «ола-чипор» қаторга кўрсатилган углеводлар билан бир қаторда яна турли хил моносахаридли (арабиноза, ксилоза, рамноза, галактоза ва

бошқалар), полисахаридли (инулин, крахмал, гликоген ва бошқалар) ва спиртли (глицерин, дульцит, инозит ва бошқалар) муҳитлар киритилади. Индикатор сифатида барча муҳитга Андреде ёки ВР реактиви қўшилади.

Текширилаётган микробнинг соф культурасини қовузлоқ орқали «ола-чипор» қаторли муҳитга экилади. Экилган пробиркалар 37<sup>а</sup>С да термостатга 18—24 соат ёки узоқроқ вақтга қўйилади. Агар бактериялар углеводни кислород иштирокида парчаласа оралик маҳсулот сифатида альдегидлар, кислоталар ва газсимон моддалар (СО<sub>2</sub>, Н<sub>2</sub>, СН<sub>2</sub>) ҳосил бўлади. Факультатив ва қатий анаэроблар эса углеводларни бижғитади бунинг натижасида турли бижғиш маҳсулотлари ҳосил ( мой кислотаси, сут кислотаси, чумоли кислотаси ва спиртлар) бўлади. Бактериялар углеводларни парчалаши оқибатида ҳосил бўлган оралик маҳсулотлар муҳитнинг Ph ни ўзгартиради, бу ўз навбатида индикаторли муҳит ҳам рангини ўзгартиради, агар углеводни кислота ва газсимон маҳсулотлар ҳосил бўлгунча парчаласа, муҳитнинг ранги ўзгариши билан бир қаторда пўкакда (суёқ муҳитларда) газ пуфакчалари пайдо бўлади. Агар ярим суёқ агарли муҳитдан фойдаланилса, газ ҳосил бўлганлигини устунчанинг ёрилиши орқали анақлаш мумкин (расм-27). Углеводлар парчаланмаса муҳитнинг ранги ўзгармай қолади. Чунки бактериялар ҳамма қўлланилган углеводларни парчаламайди, балки ҳар бир тур ўзига хос бўлган углеводни (Гисс , Клигер муҳити) парчалайди. Натижада ҳар хил рангда парчаланган углеводли индикаторли муҳит ҳосил бўлади, бу эса «ола-чипор» қатор деб аталади.

**Оксилларни парчалаши.** Протеолитик ферментларни аниқлаш учун бактерия культурасини санчиб, 10—20% желатин устунига ёки гўшт пептонли бульонга экилади. Желатинга экилган материал 20—22<sup>о</sup>С бир неча кун давомида термостатда сақланади. Агар протеолитик фермент бўлса, бактериялар желатинни суёқлаштиради ва шу ерда воронкага ( вабо вибриони) ёки тўнтарилган арчага ўхшаш (куйдирги қўзғатувчиси) юқоридан пастга қараб қавватма –қавват (кўк яшил йиринг ҳосил қилувчи таёқча) емиради.

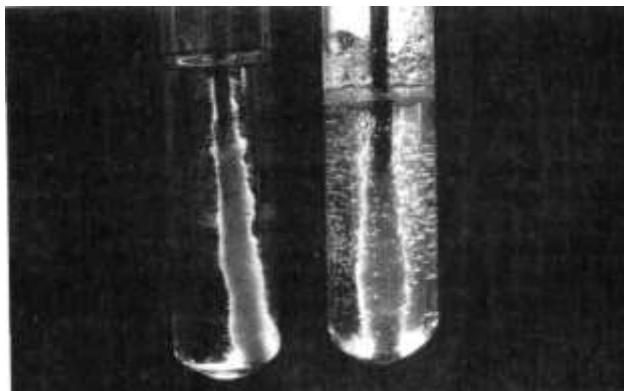
ГПБ ёки пептонли сувга экилган бактериялар 37<sup>о</sup>С ли термостатда 1—3 кун инкубация қилинган, пептоннинг парчланиши натижасида ҳосил бўлган маҳсулотларни аниқлаш учун (аммиак, индол, Н<sub>2</sub>С ) реакциялар қўйилади.

**Аммиак учун реакция.** Лакмус қоғозининг энсиз тасмасини озиқли муҳитга тегмайдиган қилиб пробканинг ёнига яхшилаб жойлаштирилади. Қоғознинг кўк ранга айланиши аммиак борлигини кўрсатади.

**Индол учун реакция.** Эрлих усули: бактерия культураси бўлган пробиркага 2—3 мл эфир қўшилади, яхшилаб аралаштирилади ва бир неча томчи Эрлих реактиви (парадиметиламидобензальдегиднинг спиртли эритмаси водород хлорид кислота билан) томизилади. Индол таъсирида пушти ранга бўялганлиги кузатилади, аста-секин томизилса пушти рангли ҳалқа ҳосил бўлади. Амалиётда кўпроқ индол ҳосил бўлишини шавел кислотаси шимдирилган фильтр қоғоз тасмаси ёрдамида аниқланади. Микроб культураси экилган ГПБ га шавел кислотаси шимдирилган фильтр қоғозни энсиз тасмасини озиқли муҳитга тегмайдиган қилиб яхшилаб жойлаштирилади. Аминокислота триптофан парчланиши натижасида ҳосил бўлган индол шавел кислота шимдирилган фильтр қоғозини қизил пушти ранга киритади.

**Водород сульфид учун реакция.** Бактерия культурасини санчиб озиқа муҳит устунчасига экилади. Озиқа муҳит таркибида Н<sub>2</sub>С ни аниқлаш учун зарур бўлган тузлар аралашмаси: темир сульфати, натрий тиосульфати, натрий сульфит киради. Агар Н<sub>2</sub>С ҳосил бўлса, агар қораяди. Водород сульфид ҳосил бўлишини кўрғошин ацетати шимдирилган филтир қоғози ёрдамида ҳам аниқлаш мумкин. Кўрғошин ацетати шимдирилган қоғоз Н<sub>2</sub>С ҳосил бўлса, қораяди.

**Каталазани аниқлаш.** Буюм ойначасига 1—3% ли водород пероксиди эритмасидан бир томчи томизилади ва унинг устига қовузлоқ билан бактерия культураси кўшилади. Каталаза



Расм 28. Каталаза активлигини аниқловчи проба. Ўнгда стафилококк – мусбат реакция; чапда стрептококк – манфий реакция.

водород пероксидини  $H_2O$  ва  $O_2$  га парчалайди. Кислород пуфакчаларининг ажралиши шу турдаги бактерияда каталаза ферменти борлигини кўрсатади. **Оксидазани аниқлаш.** Фенилендиамин шимдирилган қоғозли дискга микроб культураси томизилади. Агар оксидаза бўлса фенилендиаминни оксидлайди ва қоғоз кўк рангга киради.

**Уреаза тести.** Уреаза мусбат бактериялар мочевиани аммоний ҳосил қилиб парчалайди ва фенол қизил индикатори туган муҳит қизаради. Асосан энтеробактериялардан *Proteus*, *Klebsiella*, *Yersinia* авлоди вакиллари

ҳосил қилади, бошқа энтеробактерия авлоди вакилларидан фарқлашда қўлланилади

**Хью –Лейфсон тести.** Бактериялар глюкозани икки усулда ( оксидлаш ва ферментация) парчалайди. Бактерияларни бу хусусиятини аниқлаш учун глюкоза тутувчи озиқли муҳитга аэроб ва анаэроб шароитда экилади. Глюкозани оксидлаб парчалувчи бактериялар анаэроб шароитда глюкозани парчаламайди Ферментациялаб парчаловчи бактериялар эса анаэроб шароитда глюкозани парчалайди. Масалан кўк яшил йиринг ҳосил қилувчи бактериялар глюкозани оксидлаб, ичак таёқчаси эса ферментация қилиб парчалайди.

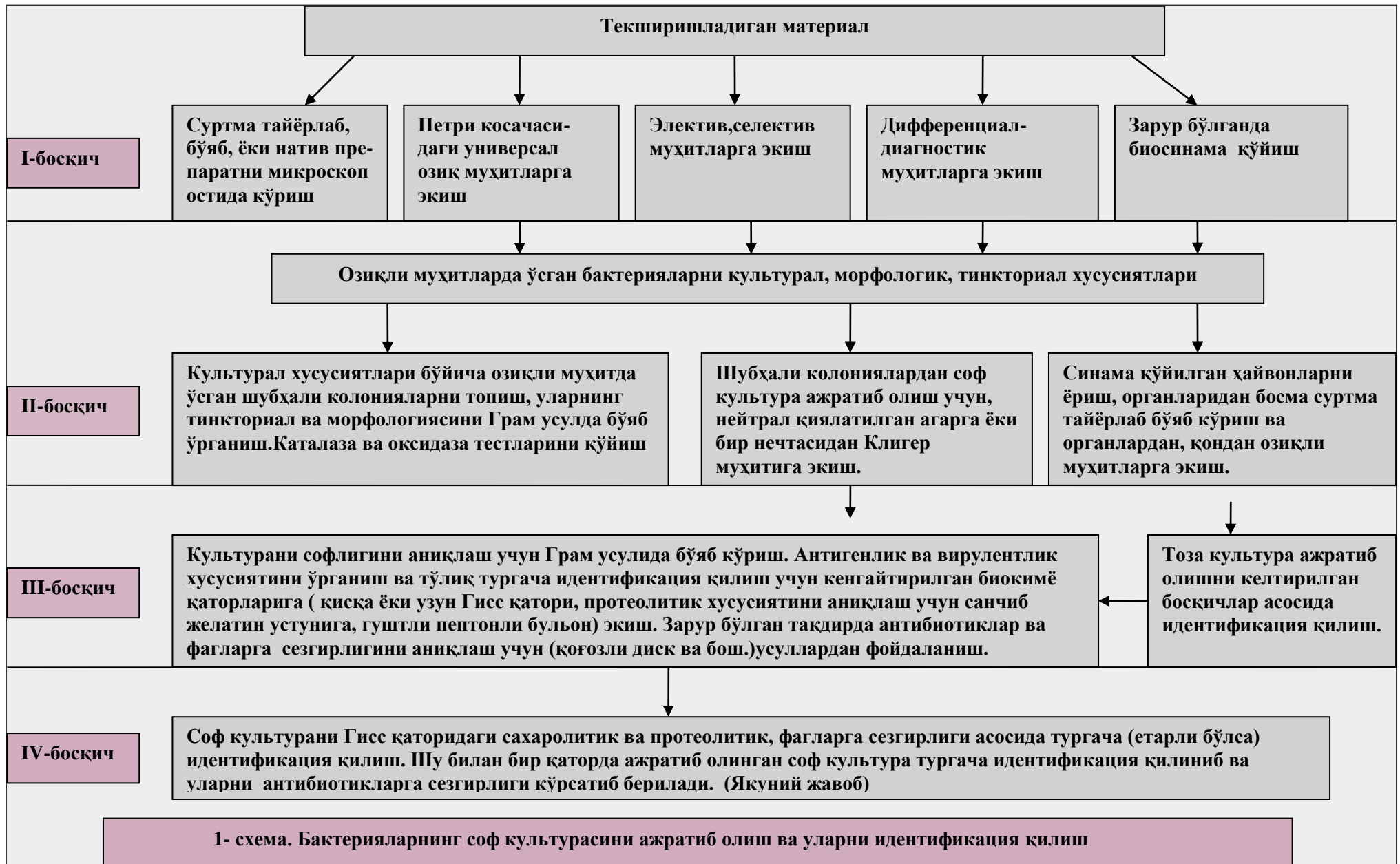
#### **Бўёқларни редукцияга (тиклаш хусусияти) учратиши**

Баъзи бактериялар органик бўёқларни редукцияга учратиш хусусиятига эга бўлиб, уларни рангсиз моддаларга айлантиради. Бундай органик бўёқларга метилин кўкки, тионин, лакмус, индигокармин ва нейтрал қизил ва бош. киради. Бактерияларни бу хусусиятини аниқлаш, идентификацияда кенг қўлланилади. Масалан, метилен кўкки кўшилган сутли агарда патоген стрептококкни, энтерококклардан фарқлашда ишлатилади. Пиоген стрептококк метилин кўккини редукцияга учратмайди, шунинг учун муҳит ранги ўзгармайди. Энтерококклар эса, метилен кўккини редукцияга учратиш муҳитни оқ ранга киритади.

**Микроблар пигменти.** Баъзи микроорганизмлар (бактериялар, замбуруғлар) бўйвчи моддалар **пигментлар** ҳосил қилишади ва бактериялар колониясини турли рангларга бўйяйди. Бактериялар пигментларни хужайра ичида ҳосил қилиши, ёки ташқарига ишлаб чиқариб озиқли муҳитни бўйяши мумкин. Пигментлар эришига қараб-сувда, спиртда ва эфирда эрувчи пигментларга бўлинади. Сувда эрувчи пигментларга кўк яшил пигмент (пиоцианин *Ps. Aeruginosa* ишлаб чиқаради) киради.

2. Сувда эримайдиган, лекин спиртда эрувчи пигментлар (масалан, продигиозин-қизил пигмент (*B. prodigiosum*, сарцинлар ишлаб чиқаради).

3. Сувда ҳам, спиртда ҳам эримайдиган, лекин, эфирда эрийдиган, бундай пигментларга қора рангли пигментлар киради. (замбуруғлар ишлаб чиқаради)





Ажратиб олинган соф культуранинг морфологик ва физиологик белгилари  
бўйича идентификация натижалари (протокол кўринишида)

Штамм №	Морфологияси	Бўялиши (грам ва бошқа усулларда)	Ўсиш характери		Биокимёвий хусусиятлари								Культура авлоди ёки турининг номи	
			Зич агарда (колонияси)		Буль-онда	Парчалаш				Ҳосил қилиш				
			S	R		глюкоза	лактоза	сахароза	маннит	индол	H <sub>2</sub> S	плазмокоагулаза		гемолизин

Бактериялар пигментларни фақат кислород иштирокида ҳосил қилишади, бундан ташқари пигмент ҳосил бўлиши озикли муҳитнинг таркибига, температура ва бошқа факторларга боғлиқ бўлади.

### Микроблар захарлари

Кўпчилик патоген бактериялар ўзларининг ҳаёт фаолиятларида ўзига хос бўлган захарли моддалар ишлаб чиқаришади. Буларни умумий ном билан “микроб захарлари” (токсин) деб номланади. Микроб захарлари юқумли касалликлар жараёнида муҳим аҳамиятга эга бўлиб, улар касалликни клиник белгиларини (енгил, оғир ўтиши, ёки ўлим билан тугаши) ва касалликни кечишини белгилаб беради. Оҳирги йилларда микроб захарларини табиатига қараб икки гуруҳга бўлишади.

1. Оқсил табиатли токсинлар.
2. Липополисахарид табиатли токсинлар.

Оқсил табиатли токсинлар (экзотоксинлар) микроблар томонидан ишлаб чиқарилади, тур белгиси ҳисобланади, бу хусусият авлоддан авлодга ўтади ва бу хусусиятни бактерия геноми бошқариб туради. Бактерияларнинг экзотоксинлари синтезини плазмидлар ва мўътадил фаглар ҳам (генетика бўлимига қаралсин) бошқариб туради. Шунинг учун баъзи бир бактерияларнинг токсиген ва токсиген бўлмаган штамmlари (бўғма кўзгатувчиси) учрайди.

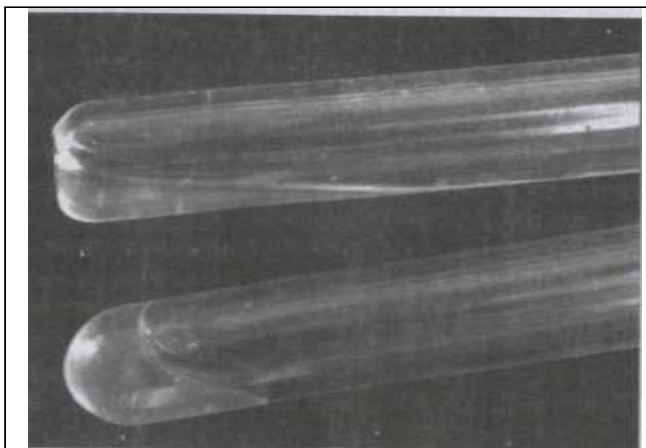
Липополисахарид табиатли токсинлар (эндотоксинлар). Асосан грам манфий бактерияларда учрайди. Бактериялар хужайра қобиғининг таркиби хисобланади. Эндотоксинлар ташқи муҳитга фақат хужайра ўлиб, парчаланганда ажралиб чиқади. (микроб захарлари тўғрисидаги тўлиқ маълумот юқумли касалликлар бўлимида берилган).

**Лаборатория ишини бажариш:**

1.Тухум сариғи қўшилган тузли агардан ажратиб олинган бактерия штаммини вирулентлик хусусиятини аниқлаш.

- культурани тозалигини аниқлаш.
- плазмокоагулаза активлигини аниқлаш.

Ажратиб олинган культурани тозалигини суртма тайёрлаб Грам усулида бўяб микроскопда кўрилади. Культура тоза бўлса бир хил морфологик типдаги бактериялар топилади.



Расм 29.Плазмакоагулаза активлигини аниқловчи проба. Юқорида – манфий; пасда --мусбат реакция;

**Культуранинг плазмокоагулаза активлигини аниқлаш.**

Бунинг усун куён қон плазмасидан фойдаланилади. 1 : 5 нисбатда суолтирилган куён плазмасидан 1,0 мл олиниб 2 та стерил пробиркаларга куйилади. Биринчи пробиркани контрол учун (К), иккинчи пробиркани тажриба учун (Т) деб ёзиб кўйилади. Биринчи пробиркага плазмокоагулаза мусбат стафилококк культурасидан қовузлок ёрдамида материал олиниб пробиркадаги суолтирилган плазмага аралаштирилади. Иккинчи тажриба пробиркасига текширилатган бактерия культурасидан

аралаштирилади. Ҳар иккала пробирка ҳам термостатга 6 -8 соатга кўйилади.

Текширилатган культура плазмокоагулаза активлигига эга бўлса куён плазмасини ивитиби котириб кўяди (29-расм).

**Бактерияларнинг гемолитик токсинини аниқлаш.** Бактерияларнинг бу хусусиятларини аниқлашда 5 - 10 % фибринсизлантилган қон қўшилган агардан фойдаланилади. Қонли агар кўпчилик бактериялар учун жуда яхши универсал муҳит бўлиб, амалиётда кенг қўлланилади. Гемолитик хусусиятли бактериялар колонияси атрофида яққол кўзга ташланувчи гемолиз зонаси пайдо бўлади ( расм). Бактерияларнинг гемолитик хусусияти, уларни вирулентлик белгилари хисобланади, амалий аҳамиятга эга.

2. Эндо муҳитидан 3- қандли муҳитга экилган экмани биокимёвий хусусиятларини (расм 27 ) натижалаш ва жадвалда кўрсатилганига асосланиб ўтказилган текширув бўйича протокол тузиш.

## **Мавзу 8: Умумий вирусология. Вирусларни кўпайтириш усуллари. Вирусли юқумли касалликларга ташхис қўйиш. Бактериофаглар.**

### **Машгулот режаси**

1. Турли вируслар ва фагларнинг морфологияси, ультра тузилишини ўрганиш.
2. Вирусларни хужайра культурасида, товук эмбрионида ва лаборатория ҳайвонлари организмида ўстириш.
3. Вирусларни хужайра культураси ва товук эмбрионида аниқлаш (индикация) усуллари.
4. Вирусларни идентификация қилиш усуллари
5. Ташқий муҳит объектларидан фагларни ажратиб олиш усуллари.
6. Фагларни аниқлаш (индикация) усуллари
7. Грация усули бўйича фагни титирлаш

### **Намойиш қилиш**

1. Вирусологик амалиётда ишлатиладиган идишлар, асбоблар (хужайра культурасини ўстириш учун шиша идишлар, матрас, овоскоп, автоматик титрлашда қўлланиладигон пипеткалар, планшеткалар).
2. Чечак вакцинаси вируси морфологиясини Морозов усули билан бўялган препаратлари.
3. Вирусларни сақланишини тامينлайдиган ва кўпайтиришда қўлланиладиган озик ( 199, Игла, Хенкс, Гидролизат ва бош.) муҳитлар.
4. Оддий ва мураккаб вирионлар тузилишини схема ва электрон-микроскопик фотосуратлари, рангли суррат, слайдалар.
5. Бирламчи хужайра культураси ва уларнинг тайёрлаш этапларининг схемаси.
6. 10-12 кунлик товук эмбриони ва унга патологик материалларни юктириш усуллари.
7. Вирусларни индикация ва идентификация қилиш усуллари.
8. Ташқи муҳит объектларидан фагларни ажратиб олиш усуллари.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Хужайра культурасида ва товук эмбрионида вирусларни репродукциясини аниқлаш (индикация).
  - а) вирусларнинг хужайрага цитопатик таъсири бўйича.
  - б) гемагглютинация реакцияси ёрдамида.
2. Риноцитоскопик усулда босма суртма тайёрлаб бўяб кўриш.
3. Стафилакокк культурасини фаготипини аниқлаш.

## **Вируслар марфологияси ва ультра структура тузилиши.**

Микроблар оламига хужайра тузилишига эга бўлган прокариот ва эукариотлардан ташқари хужайра тузилиш формасига эга бўлмаган патоген агентлар ҳам киритилган. Буларга киради:

1. Прионлар
2. Вирионидлар
3. Вируслар

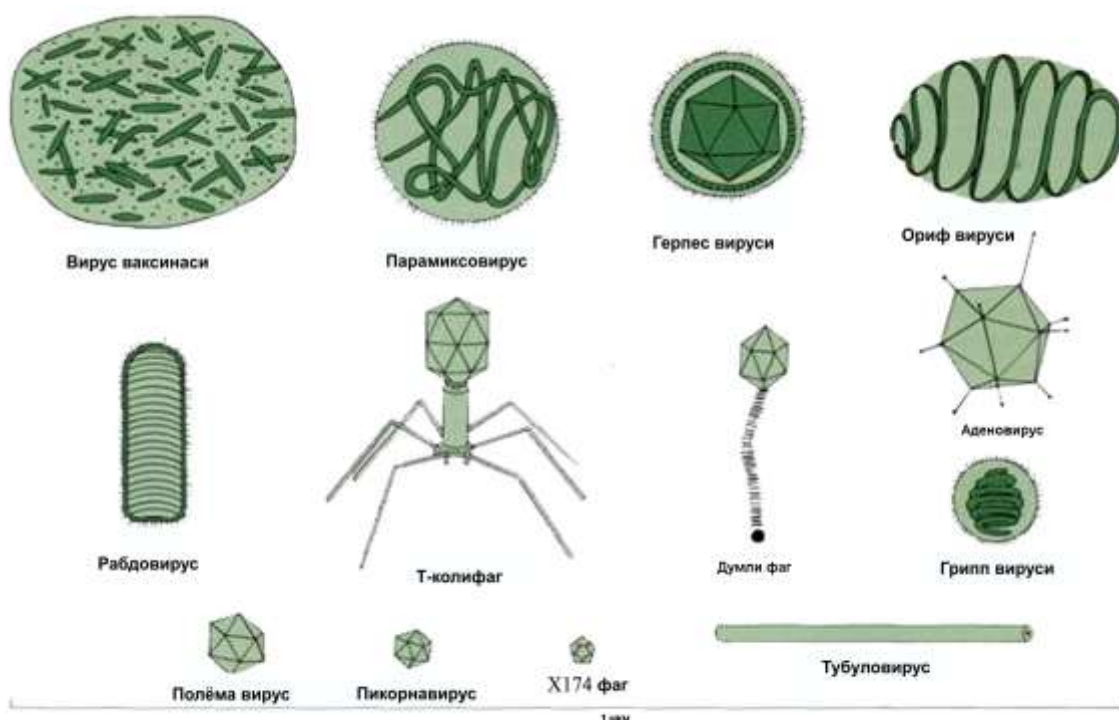
**Прионлар** ( инг.сўз prоeinaceous infectious partict – оқсилсимон юқумли бўлакча). Хужайрада нормал прион оқсил структураси бўлиб (PrP<sup>c</sup> –celluar

prion protein) таркибида нуклин кислота тутмайди. Нормал прион оксили нуклеазларга резистент бўлади, лекин протеаз ферментлар таъсирида инактивацияга учрайди. Уларни иссиқ қонли организмлардаги (одамда) 20 хромосома таркибидаги прион геноми тамонидан кодлаштирилиб, бошқарилиб туради. Узоқ давом этувчи мутация таъсирида PrP<sup>c</sup> ген ва PrP<sup>Sc</sup> иштирокида трансформацияланиб (PrP<sup>c</sup>) нормал прион оксидан протеаз ферментларга чидамли PrP<sup>Sc</sup> (scrapie prion protein) патогент агентга айланади. Прион оксиллари бошланғич юқумли агент сифатида (скрэпи) товуклардан (Кройтцфельдт-Якоба касаллиги), катта шохли қорамоллардан (спонгикўринишдаги энцефалопатия- сигир қутириши касаллиги) ажратиб олинган.

Вируслар эса ҳозирги кундаги классификациясига асосан вира (Vira) подишолигига киритилган. Вируслар ўта майда организмлар бўлиб, уларда хужайра тузилиши ва оқсил синтез қилувчи системаси шакилланмаган. Таркибида битта типдаги нуклеин кислотаси тутаяди (РНК ёки ДНК). Қаътий облигат хужайра ичида кўпайувчи паразитлар ҳисобланиб, паразитлигини генетик даражада амалга оширади. Шунинг учун вирусларни генетик паразитлар ҳам деб аташади.

Вируслар автоном генетик структуралар бўлиб, фақат вирусларга хос бўлган бир-биридан ажралган (дисъюнктив) усул билан кўпаяди, яъни вирусни нуклеин кислотаси хужайрада алоҳида синтез бўлса, унинг оксиллари бошқа жойда синтез бўлади, кийин улар ҳар бир вирус типларига хос бўлган жойда (ядро, ядро мембранасида, цитоплазма структураларида ёки цитоплазматик мембранада) йиғилади. Уларнинг йиғилишида нуклеин кислота оксилни таниши, оқсил-оқсилни таниши принциплари ётади. Вирусларнинг хужайрадан ташқарисидаги формасини **в и р и о н** деб, хужайра ичидаги формасини эса **в и р у с** деб юритилади.

Вирусларнинг морфологик ва ультраструктурасини электрон микроскоп ёрдамида ўрганилади. Вирионлар ўлчами жиҳатдан майда (22-30 нм полиомиелит), ўрта (80-120 нм грипп), катта ўлчамда (200-350 нм чин чечак)



**Расм 30. Вирусларнинг қиёсий ўлчамлари**

бўлиши мумкин. Вирионларнинг шакли ҳам (расм 30) турли кўринишларда учрайди. Шакли таёқчасимон (тамаки барги вируси), ўқсимон (кутириш вируси), шарсимон (грипп, парагрипп, гепатит В вируслари), ипсимон (флавивируслар), кубоидал (чин чечак, оспа вакцина) сперматозоидсимон (бактериофаглар) бўлиши мумкин.

Вируслар геноми гаплоид кўринишда бўлиб бир типдаги нуклеин кислотадан ДНК ёки РНК иборат, лекин ретровирусларда диплоидли геном учрайди. Вирус геноми олтитадан бирнеча юз генлар тутиши мумкин ва уларнинг нуклеин кислоталари – икки ипли, бир ипли, чизиқли (линейны), халқасимон ва фрагментланган бўлиши мумкин.

РНК сақловчи вирусларда фақат мусбат ипли (+РНК) геном тутувчи вируслар учраб, инфекцион вирус деб ҳам аталади. Бу вирусларда транскрипция кузатилмайди, вируснинг РНК си бир вақтни ўзида информатсион (иРНК) вазифасини ҳам бажаради.

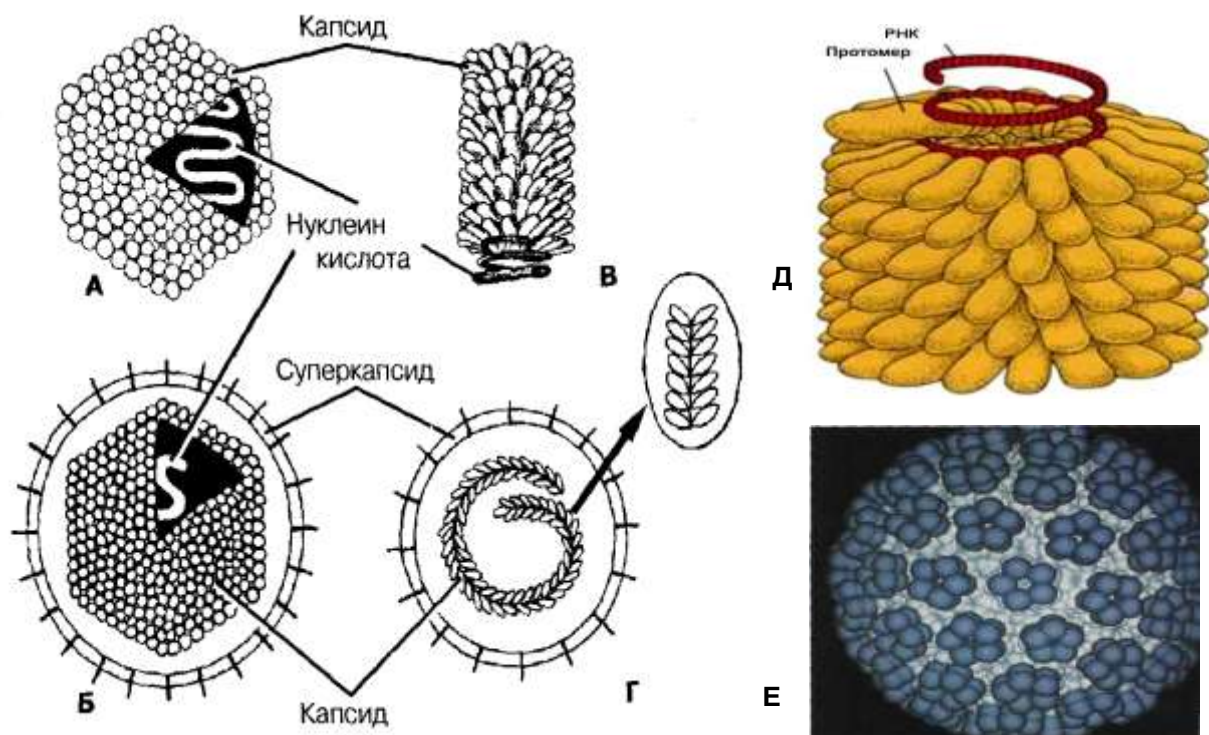
Манфий ипли РНК тутувчи вирусларда эса РНК геноми фақат наслий функцияни бажаради.

Вирионлар тузилиши жиҳатдан оддий (яланғоя) ва мураккаб (кийинган) вирусларга бўлинади. Оддий вирусларга ( шол, гепатит А), мураккаб вирусларга (қизамиқ, ОИТВ, гепатит В,) киради.

Оддий вирионлар нуклеин кислота ва уни зич ўраб турган оқсил қобиғи — капсиддан иборат (capsa- лотинча бўлиб ғилоф демакдир). Вирионларнинг капсидлари ўз навбатида кетма кет келувчи суббирликлардан иборат бўлиб уларни капсомерлар деб аталади (расм-31). Капсомерларни электрон микроскопда кўриш мумкин, ҳар бир вирионлар оиласи учун капсомерларни сони уларга хос ҳисобланади. Масалан, аденовируслар 252 та , пикорновируслар 60 та капсомерлар тутаяди. Нуклеин кислотаси ва капсомер ўзаро бирикиб вирусни нуклеокапсидни ҳосил қилади.

Мураккаб вирионларни нуклеокапсиди ташқи томондан липопротеинли қобиқ билан ўралган бўлиб —суперкапсид ёки пеплос деб номланади (расм-31). Суперкапсид таркибида оқсиллардан ташқари, ёғ ва углеводлар липо -, гликопротеинлар кўринишида учрайди. Баъзи вирусларда гликопротеинлар суперкапсид таркибида тиканак кўринишида (грипп, паргрипп вирусларда) бўлиши мумкин суперкапсид остида М, F оқсиллар бўлиб, вируслар билан зарарланган ҳужайраларнинг бир-бири билан қўшилиб кетишини таминлайди, бу эса гигант кўп ядроли симпласт ҳужайралари ҳосил бўлишига олиб келади ва ҳужайраларнинг деструкцияси билан тугайди. Бундан ташқари баъзи вируслар ўта мураккаб тузилишларга эга бўлиб вируснинг нуклеин кислотаси оқсил қобиқ билан ўралган, унинг устидан капсид ўраб туради (вирус мағизи), капсид устида эса вирусни яна бир ичкий матрикс оқсил қавати (М-қават) бўлиб у супер капсидга бирикиб кетади (ОИТВ), чин чечак вируси тузилиши эса прокариот ҳужайраларига яқин туради.

Вирионнинг капсид капсомерлари нуклеин кислотани ташқи томондан ўраб турганда маълум симметрия типларини шакллантиради. Вирионларда уч хил симметрия типлари учрайди: спиралсимон, кубсимон ва аралаш.



Расм 31. Вирусларнинг тузилиши ва симметрия типлари. А. Яланғоч икосаэдрал симметрия. Б. Кийинган икосаэдрал симметрия. В. Яланғоч спирал симметрия. Г. Кийинган спирал симметрия. Д. Тамаки мазаика вируси. Е. Полиома вируси (схематик модели)

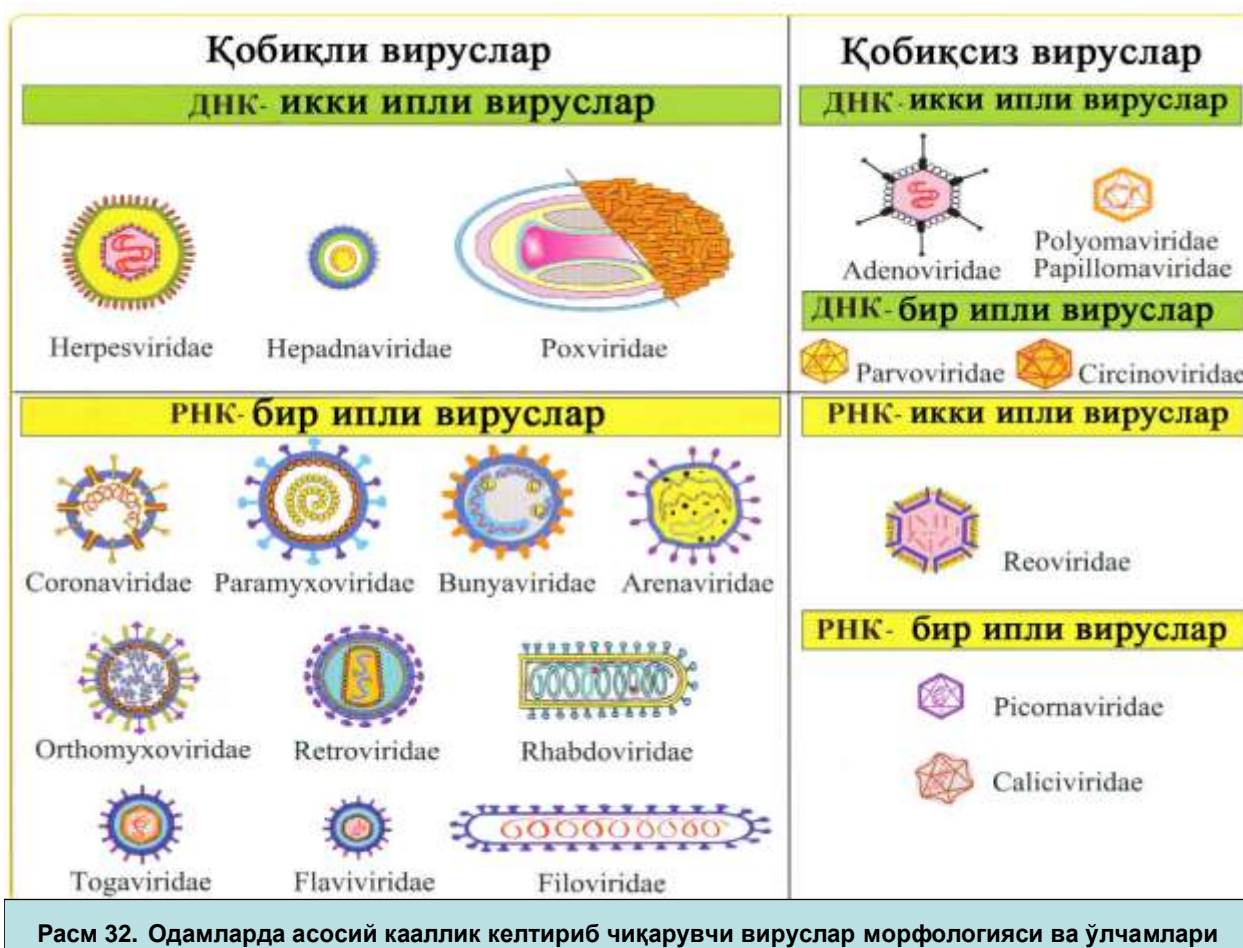
**Спиралсимон симметрия** ( тамаки мазаика, грипп, коронавирусларда) винтсимон кўринишдаги нуклеин кислотасини ташқаридан мустаҳкам оксил суббирликлари (протомер) ўраб (расм 31) туради. Шакилланган нуклеокапсид таёқчасимон ёки ипсимон кўринишда бўлади. Спирал таёқчасимон симметрия типига эга бўлган оддий вирусларга тамаки барги вируси, ипсимонларига эса баъзи бир бактериофаглар мисол бўла олади. Бу типдаги симметрия тутовчи оддий вируслар одам ва умиртқали ҳайвонларда касаллик келтириб чиқармайди.

**Кубик ёки икосаэдрик симметрия** да капсид вирионни нуклеин кислотаси жойлашган маълум кўринишдаги изометрик тана, мағизни ҳосил қилади. Кубсимон симметрияда капсид шарсимон, баъзида призмасимон шакилли капсомерлардан тузилган. Ҳар бир капсомер беш (пентомер) ёки олти (сексомер) суббирликлардан ташкил (расм 31б) топади. Кубсимон симметрия асосида, капсомерлар ҳосил қиладиган тенг тамонли бурчакли комбинациялар ётади.

Кубсимон симметрияли одий вируслар (яланғоч) кўп қиррали шакилда (гепатит А, коксаки ва бошқа энтеровируслар), суперкапсид билан ўралган мураккаб вируслар эса, асосан сферик шакилга эга (орта-, парамиксовируслар) бўлади. Лекин мураккаб вирусларнинг ўқсимон (кутириш вируси), параллелепед (чин чечак вируси) шаклларига эга типлари ҳам бор.

**Аралаш симметрия** типлари бактериофагларда кузатилади, уларнинг бош қисмида кубсимон, танасида эса спиралимон симметриялар учрайди (расм 30).

Мураккаб тузилишга эга бўлган вирионларни ичкий структураси, уларнинг мағизи (сердцевина) деб аталади. Аденовирусларда мағиз қисмида ДНК билан боғланган гистонларга ўхшаш оқсиллар учраса, реовирусларда бу ичкий капсид оқсиллидан иборат.



**Вирусларнинг таксономик тоифалари.** Вирусологияда қуйидаги таксономик тоифалар (категориялар) қабул қилинган Вируслар таснифи ва



таксономияси янги олинган маълумотлар асосида доимо тўлдирилиб борилади.

Вируслар Таксономияси бўйича Халқаро Ташкилот-ВТХТ (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) шуғилланади. Бу ташкилот Бутун Дунё Соғлиқни Сақлаш Ташкилоти билан яқин алоқада бўлади. Ҳозирги кунда ВТХТ да 1550 хилдан ортиқ вируслар хусусиятлари ёзилган реестр тузилган ва маълумотлар базаси ICTV dB яратилган. Вируслар таксономиясининг замонавий тизими Линней таснифининг принципларига асосланади ва қуйидаги таксономик мезонлардан иборат: тартиб, оила, оилача, авлод, тур.

**Тартиб** – геномнинг типига боғлиқ равишда вирус оилаларини бирлаштиради ва уларнинг лотинча номланишига “ –viralis” қўшимчаси қўйилади, масалан *Mononega viralis* (бир ипли манфий РНК ипли).

Оила – умумий эволюцион келиб чиқишига эга бўлган вируслар гуруҳларидан (авлодлардан) ташкил топади. Оила номнинг охирига *viridae* сўзи қўйилади, масалан *Roxviridae*.

Оилача- бир оилага кирувчи вирусларни ўрганишда уларнинг умумий эволюцион келиб чиқишига қарши янги маълумотлар олинган тағдирда бу токсон қўлланилади. Оилача “-virinae” қўшимчасига эга. Масалан, чин чечак вируси оиласи 2 та оилачага *Chordoroxvirinae* (умуртқалиларда чин чечак кетириб чиқарувчи) ва *Entomoroxvirinae* (ҳашоратларда чин чечак кетириб чиқарувчи) бўлинади.

Авлод - умумий эволюцион келиб чиқишига эга ва умумий кўплаб хусусиятлари ўхшаш бўлган вирусларни жамлаштиради. Авлод сўзи (*virus*) сўзи билан тугайди. Масалан *Chordoroxvirinae* оилачасига 6 авлод киритилган, булардан *Orthoroxvirs* ва *Pararoxvirs* авлод вакиллари тиббий амалиётда ахамиятлироқ.

Тур –вирусларнинг авлод ичидаги бўлиmidир. Тур бу нуклеотид таркиби ўхшаш ва маълум бир экологик муҳитни эгалловчи бир авлодга мансуб вируслар йиғиндисидир. Турни номлашда-“ *virus*” қўшимчаси ишлатилади.

Масалан Чин чечак вируси, Грипп вируси, Poliovirus, лекин ҳамма вирусларда оила ости категорияси берилмаган ва бактерияларга ўхшаш биноменал (қўшолоқ) номлаш ҳам вирусологияда қўлланилмайди.

Вирусологик амалиётда вируслар турлари кенжа тур, серовариантлар, генетик вариантлар, штамлар каби расмий қабул қилинмаган кўрсаткичлар ҳам кенг қўлланилади.

Вирусларнинг тартиб, оила, оилача, авлод, турларини аниқлашда асосий мезонлар қуйидагилархисобланади:

1. Вирус геномини ташкилий тузилиши ва тури.
2. Вирус репликациясининг стратегияси.
3. Вирионнинг тузилиши.

Авлод ичида турни саралаш мақсадида қуйидаги мезонлардан фойдаланилади:

- геном таркибидаги ўхшашлик;
- табиий ҳўжайини (экологик манба);
- тўқима ва ҳўжайраларга трапизми;
- патогенлик ва цитопатология;
- инфекциянинг юқиш йўли;
- вирионнинг физик-кимёвий хусусияти;
- симметрия типлари;
- вируснинг антигенлик хусусиятлари.

Замонавий тасниф бўйича одам учун патоген бўлган вируслар 20 та оилага киритилган. Булардан 13 таси РНК геномли вируслар ва 7таси эса ДНК геномли вируслар хисобланади (расм 32).

### **Вирусологияда қўлланиладиган текширув усуллари.**

Д.И. Ивановский чинни шам филтрларни қўллаб вируслар оламини кашф қилди. Электрон микроскопни кашф қилиниши, вирусларни кўриш, уларнинг ультра структураларини ўрганишни очиб берди. Градиент зичликларда ўта тез ультра центрифугаларни қўллаш орқали вирусларнинг тозаланган препаратларини олиш имкониятини ва уларнинг кимёвий

таркибини ўрганишга олиб келди. Вирусология фанини ривожланишидаги асосий омиллардан бири, вирусларнинг ўстириб олиш усуллари ишлаб чиқилганлиги ҳисобланади. Вируслар облигат паразитлар бўлиб, фақат тирик ҳужайралардагина кўпая олиши мумкин.

Вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликлар диагностикасида замонвий усуллар билан бир қаторда синалган турли хил вируслогик текшириш усуллари қўлланилади:

- электрон микроскопия усули;
- цитоскапик, иммунофлюорисцент усуллар;
- ҳужайра культураларида вирусларни ўстириш ва ажратиб олиш;
- ривожланаётган товуқ эмбрионида вирусларни ўстириш ва ажратиб олиш;
- гемагглютинация реакцияси ёрдамида вирусларни аниқлаш;
- серологик реакциялар, анъанавий серологик реакциялар (КБР, ПР, НР) билан бир қаторда замонвий (ИФА, РИУ, иммунблотинг) усуллар;
- молекуляр-генетик текшириш усуллари- молекуляр гибридизация (МГ) ва полимераза занжирли реакция (ПЗР).

Асосан вирусларни лаборатория шароитида ажратиб олишда қуйидаги усуллардан фойдаланилади: сезгир лаборатория ҳайвонларга юқтириш, ривожланувчи товуқ эмбрионида ва ҳужайра культурасида ўстириш.

Вирусларни ундириб олишда ҳужайра культуралари муҳим аҳамиятга эгадир.

Ҳужайра культураси- сунъий шароитда ўсиш ва кўпайиш қобилятига эга бўлган, одам ва ҳайвонларнинг тўқима ҳужайраларидир.

Ҳужайра культураларини олиш, қўллашда 4 та муҳим бўлган муоммаларни ҳал қилишга тўғри келади, буларга киради:

1. Бир-биридан чегараланиб ётган, миқдорий жиҳатдан етарили ҳужайраларни олиш.

2. Бу ҳужайраларни сақлаш ва кўпайишини тامينловчи озик муҳитларни қўллаш.

3. Хужайра культураларида бактерияларнинг кўпайиб кетмаслиги учун чора тадбирлар қўллаш.

4. Вирусларни хужайра культураларида кўпяётганлигини (индикация) аниқлаш ва уларни бир-бирдан (идентификация) саралаш.

Вирусологик амалиётда қўлланиладиги озиқли муҳитлар. Хужайра культурасини сақлаш ва кўпайтиришда мураккаб таркибга эга бўлган муҳитлар қўлланилади. Бу муҳитлар таркибига аминокислоталар, витаминлар, одам ёки ҳайвон қон зардоби, минерал тузлар киради ва уларнинг рН буферли эритмалар стабил сақлайди.

Хужайра культуралари учун тайёрланган кўпгина озиқли муҳитлар таркиби тузли эритмалардан иборат. Вирусологик амалиётда турли эритмалар хужайра культураларни организмдан ташқарида яшашини таминлайди ва уларни тайёрлаш жараёнида тўқима ва хужайраларни ювишда қўлланилади ва вирусологик озиқ муҳитларни тайёрлашда асосий манба бўлиб ҳисобланади. Амалиётда энг кўп Хенкс ва Эрл тузли эритмалари ишладилари (жадвал 8).

Вирусологик амалиётда қўлланиладиги озиқли муҳитлар келиб чиқишига қараб фарқланади:

1. Табиий озиқ муҳитлар (кам қўлланилади);
2. Оқсил моддаларнинг ферментатив гидролизатлари;
3. Сунъий озиқ муҳитлар.

Жадвал 8.

Вирусологик амалиётда қўлланиладиган тузли эритмалар ва уларни таркиби (грамм литрда)

Тузли эритмани таркиби	Хенкс эритмаси	Эрл эритмаси
NaCl	8.0	6.8
KCl	0.4	0.4
CaCl <sub>2</sub>	0.14	0.2
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.1	0.1
MgSO <sub>4</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0.1	-
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.06	-

NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	-	0.125
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.06	-
Глюкоза	1.0	1.0
Фенолрот (доим эмас)	0.02	0.05
Na HCO <sub>3</sub>	0.35	2.2

**Табиий озик муҳитлар** асосан тузли эритмалар асосида тайёрланилади ва уларга одам ва ҳайвонлар зардоби, амниотик суюқлик ва эмбрионал экстракт қўшилади.

Зардоблар соғлом одам, от, сигир, бузоқ, товуқ, қуён ва бошқаларнинг қон зардоблари ишладилади. Зардоблар олингандан кийин уларни ҳужайра культураларига токсик таъсирга эга эмаслиги аниқланади ва узоқ мутдат совуткичларда сақланиши мумкин.

Амнион суюқлиги ҳомиладор ҳайвонлардан, аёллардан асептика қоидаларига риоя қилган ҳолда олинади. Амнион суюқлиги резина тиқинли флоконларда совуткичларда сақланади.

Эмбрионал экстрактлар асосан 10-12 кунлик товуқ ёки ҳайвонлар эмбрионидан тайёрланади. Эмбрион танаси қондан тозаланиб, майдаланилади ва тенг ҳажмда бирор тузли эритма (қўпинча Хенкс) қўшилади 30 минут центрифуга (3000 айланма/мин.) қилинади. Олинган чўкма усти суюқлиги пипеткалар ёрдамида ажратиб олиниб музлаткичларда сақланади.

Ферментатив гидролизат сақловчи озик муҳитлар. Кўпроқ сут лактоальбуминининг гидролизати ва козеин ва шохли ҳайвонларни оқсил гидролизатлари ишлатилади. Бу гидролизатлардан озик муҳит тайёрлашда уларга тузли эритмалар ва 2, 4 ва 10% гача зардоблар қўшилади.

Сунъий муҳитлар. Булар маълум кимёвий моддалардан тайёрланилади, шунинг учун улар доимий ва аниқ таркибга эга бўлади. Улар табиий моддаларга ўхшаб балласт (бегона оқсиллар) тутмайди. Бу муҳитлар анча мураккаб таркибга (аминокислоталар, витаминлар, пиримидин, углеводлар,

минерал тузлар ва бош. моддалар) эга бўлади. Буларга 199, Игла муҳитлари киради.

**Хужайра культуралари.** Хужайра культураси одам, ҳайвонлар, ёки парандалар ва бошқа биологик объектлар тўқимасидан тайёрланади. Хужайра культурасини тайёрлаш қуйидаги бир неча кетма-кет босқичдан иборат:

- тўқимани олиш, қондан, кераксиз тўқималардан тозалаш ва майдалаш.
- трипсин таъсир эттириб, хужайраларни бир-биридан ажратиш.
- ҳосил бўлган бир жинсли хужайралар суспензиясини ювиб,

трипсиндан тозалаш.

- тайёрланган хужайра культураларини санаш ва хужайрани маълум миқдордаги суспензиясини тайёрлаш.

- хужайра культураларини вирусларни ундиришда қўлланиладиган маҳсус шиша пробирка, флокон (матраслар) ларда, хужайраларнинг ўсишини таъминлаб берадиган озикли муҳитлар қўшиб сақлаш.

Хужайра культураларини олишда ва сақлашда юқорида келтирилган озикли муҳитлардан фойдаланилади.

Хужайра культураларини бактериялар билан ифлосланиб қолмаслиги учун, хужайра культуралари билан ишлашда қабтий асептик қоидаларга риоя қилган ҳолда маҳсус стерил боксларда иш олиб борилади ва текширилаётган материаллардаги қўшимча микрофлорани кўпайиб кетишини олдини олиш мақсадида озикли муҳитларга антибиотиклар қўшилади.

Хужайра культураларини тайёрлаш усуллари бўйича фиксацияланган тўқима бўлакчалари культураси, бир қаватли, суспензияланган ва орган культураси тафовут қилинади.

1) Бир қаватли хужайра культураси- кимёвий нейтрал шиша, пластика лаборатория идишлари юзасига бир қават бўлиб ( монослой) бирикиб олувчи ва кўпайувчи хужайра культураларидир. Вирусология амалиётида энг кўп қўлланилади.

2) Суспензияли хужайра культураси- озикли муҳитнинг ҳамма ҳажмида кўпайувчи хужайралар йиғиндиси бўлиб, улар ҳар доим айланттирувчи магнит ёрдамида аралаштириб турилади. Бундай хужайра культуралари вирусологик амалиётда вакцина препаратлари олишда қўлланилади.

3) Фиксацияланган тўқима бўлакчалари культураси- майдаланган тўқима бўлакчалари товук плазмасига солинади. Плазмада ҳосил бўлган чўкмага тўқима бўлакчалари фиксацияланади. Унинг устига антибиотиклар ва Хенкс эритмаси, эмбрион экстрактдан

тайёрланган суюқ суспензия кўшилади. 1-2 кундан кийин тўқима бўлакчалари атрофида плазма фибринларидан ҳосил бўлган тўрда янги хужайралар ўса бошлайди.

Фиксацияланган тўқима бўлакчалари культурасини олиш ва сақлаш анча мураккаб жараён бўлганлиги сабабли бу усулда олинган хужайра культураларини бир қаватли хужайра культураси амалиётда сиқиб чиқармоқда.

3) Орган культураси – Бирламчи структураси ўзгармаган маълум орган бўлакчалари ёки тўқима. Чегараланган ҳолда қўлланилади.

Хужайра культураси ва уларни ундириб олиш жараёнида бир қанча ўнлаб генерациялар (бир кўпайиш цикли) кузатилади. Хужайра культураларининг ҳаёт фаолияти сақланиб қолувчи генерация сонларига қараб бўлинади: бирламчи хужайра культуралари, ундириладиган ва ярим ундириладиган.

**Бирламчи хужайра культуралари** – тўқималардан ажратиб олингандан кийин кўпайиш генерацияси 5-10 марта қайта ундириб олишга ярайдди. Бундай хужайра культуралари лаборатория шароитида эмбрионал, нормал тўқималарини бўлакчаларидан махсус протеолитик ферментлар ( трипсин) таъсир этирилиб хужайра культуралари олинади. Бирламчи трипсинланган хужайра культураларни камчилиги асосан уларни бир неча генерациядан кийин кўпайишини тўхтаб қолиши ҳисобланади.

**Ундириладиган ёки стабил хужайра культуралари** – бундай хужайра культуралари лаборатория шароитида бир неча 10 йиллар кўпайиш хусусиятини йўқотмайди ва кўплаб қайта ундиришларга чидайдди. Бу хужайра культуралари юқори кўпайиш потенциалига эга бўлган ўсма ёки эмбрионал тўқималардан олинади Буларга хавфли ўсма хужайралари HeLa (биринчи марта бачадон бўйнидаги карциномадан), Нер-3 (лимфоид карциномасидан), ҳамда одам амнионининг нормал хужайралари, маймун буйраги ва бошқалардан тайёрлапган хужайралар киради ва улар бирламчи хужайра культураларига нисбатан қатор авфзалликларга эга. Буларга киради: узоқ йиллар ундирилиши ва юқори кўпайиш потенциалига эга бўлиши, кам меҳнат талаби, узоқ йиллар музлатиб қўйилганда ҳам ўзининг хусусиятини йўқотмаслиги, халқаро хужайра культура линияси бўйлаб кўплаб дунёдаги лабораторияларда қўлланилиши. Лекин, бу хужайраларнинг кўплаб генерациялари натижасида хавфли кўпайиш характери ва соматик

мутацияларга учраш эҳтимоллиги бу хужайраларни вирус вакциналари олиш жараёнларида қўллашни чегаралаб қўйишга олиб келган.

**Ярим ундириладиган (диплоид) хужайра культуралари** – кўпайтирилиб ундирилиши чегараланган 40 ва 50 генерацияга чидайдди. Бу хужайралар асосан одам эмбриони диплоид хужайраларидан олинади. Ундирилиш жараёнида бу хужайралар ўзларини бирламчи авлодлари сингари таркибида диплоид хромосома тўплами сақлашоди ва ҳавфли хужайра формасига трансформацияланмайди. Шунинг учун бу хужайра культураларидан вирусологик амалиётда диогностик ва вакциналар олиш мақсадларида кенг қўлланилади.

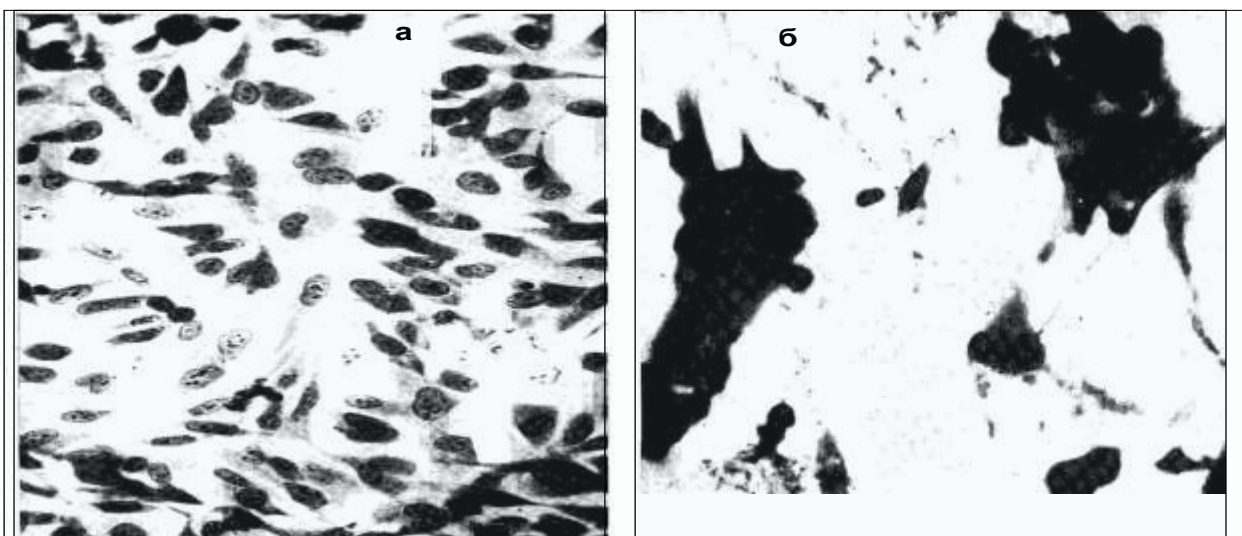
**Вирусларни индикация қилиш усуллари.** Вирусологик амалиётга хужайра культураларининг кириб келиши , олдин номаълум бўлган кўплаб касаллик қўзғатувчи вирусларни ажратиб олиш ва уларни идентификация қилиш имкониятларини очиб берди. Ҳозирги кунда ҳар бир вируслар учун сезгир хужайра культураларини танлаш имкониятлари мовжуд.

Хужайра культураларига вирус сақлувчи материални юқтирилганда, вируснинг кўпайиши (репродукцияси) натижасида хужайраларда турли ўзгаришлар ( деструкция) киритмалар ҳосил бўлиши кузатилади. Вирусларнинг бундай хусусияти ЦПТ (cito патологик таъсири) яъни хужайрани морфологиясини ўзгариши, ҳатто унинг ўлимига сабаб бўлувчи фактор деб қаралади. Уларни қуйидаги феноменлар асосида аниқлаш (индикация) мумкин:

1. Вирусни хужайрага цитопатологик таъсири (эфекти)
2. Вирусни хужайрада киритмалар ҳосил қилиши
3. Пилакчалар (бляшек) хужайра культурасида ҳосил қилиши
4. Гемадсорбция реакцияси
5. Гемагглютинация реакцияси
6. Рангли реакция
7. Интерференция феномени



**Вирусни хужайрага цитопатологик таъсири (эффекти).** Вирусларнинг хужайра культурасида кўпаяётганлиги (репродукцияси), уларнинг хужайрага ЦПТ асосида микроскоп остида кўриш билан аниқланади ва морфологик ўзгаришларнинг содир бўлганлигига қараб баҳоланади. Бунда уларнинг бир қисми ҳалок бўлиб, пробирка деворидан кўчади. Айрим хужайраларнинг емирилиши оқибатида ажралиб чиққан вируслар бошқа хужайраларга юқади. Маълум вақтдан сўнг бу хужайралар ҳам ўлади. Натижада бир қаватли яхлит хужайра қатлами ўрнида алоҳида-алоҳида хужайрасиз зонада хужайра оролчалари ҳосил бўлади. Турли вируслар ҳосил қилган (ЦПТ) нинг

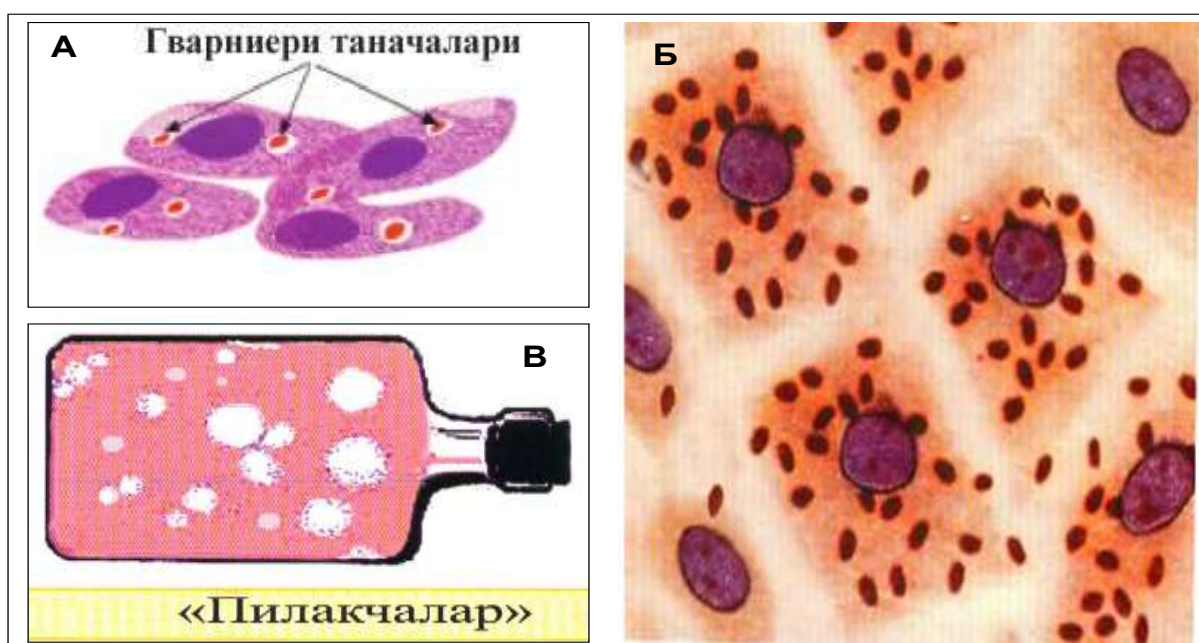


Расм 33. Вируснинг хужайрага цитопатик таъсири: а- маймун буйрагидан олинган нормал хужайра культураси; полиомелит вируси юктирилгандан кийин морфологик ўзгарган шу хужайраларни микроскоп остида кўриниши

характери бир хил эмас. Бир хил вируслар (поливируслар, Коксаки ва бош.) майда донадор бир хил типдаги хужайра деструкциясини келтириб чиқаради (расм 33), ўчоқли майда донадор деструкцияни (грипп, кана энцефалити) вируслари, катта донадор бир хил кўринишдаги деструкцияни (герпес) вируслар, симпласт кўп ядроли хужайраларни ( ретровируслар, морбилловируслар, респиратор-синцитиал) вируслар келтириб чиқаради. Вирусларнинг ЦПТ амалиётда вирусларнинг бирламчи индикация қилишда ва олдиндан тахминий ташхис қўйишда қўлланилади.

**Вирусни хужайрада киритмалар ҳосил қилиши.** Кўпчилик вируслар хужайраларда кўпайганда хужайрада илгари кузатилмаган киритмалар ҳосил

килишлари мумкин. Масалан кутириш вируси нерв хужайраларнинг цитоплазмасида эозинофилли киритмалар ҳосил қилади (Бабеш-Негре таначаси), вирус нуклеокапсидларини цитоплазмада (ядро олдида) йиғилиб қолиши натижасида кузатилади. Чин чечак вируси хужайин хужайрасининг цитоплазмасида кўпаяди ва цитоплазмада катта хужайралар ва уларнинг цитоплазмасида Гварниери таначаларини ҳосил қилади. Ёруғлик микроскопида ҳам аниқлаш мумкин (расм-34).



Расм 34. Вирусларнинг хужайрага цитопатик таъсири. А - Куён кўз мугиз пардасидан олинган гистологик кесма препарат (чин чечак вируси юқтирилган) цитоплазмада, ядро атрофида критмалар. Б – гемадсорбция реакцияси. В - вирус юқтирилганда хужайра культурасидаги вируслар колонияси (пилакчалари) ҳосил бўлиши

### ***Пилакчалар (бляшек) хужайра культурасида ҳосил қилиши.***

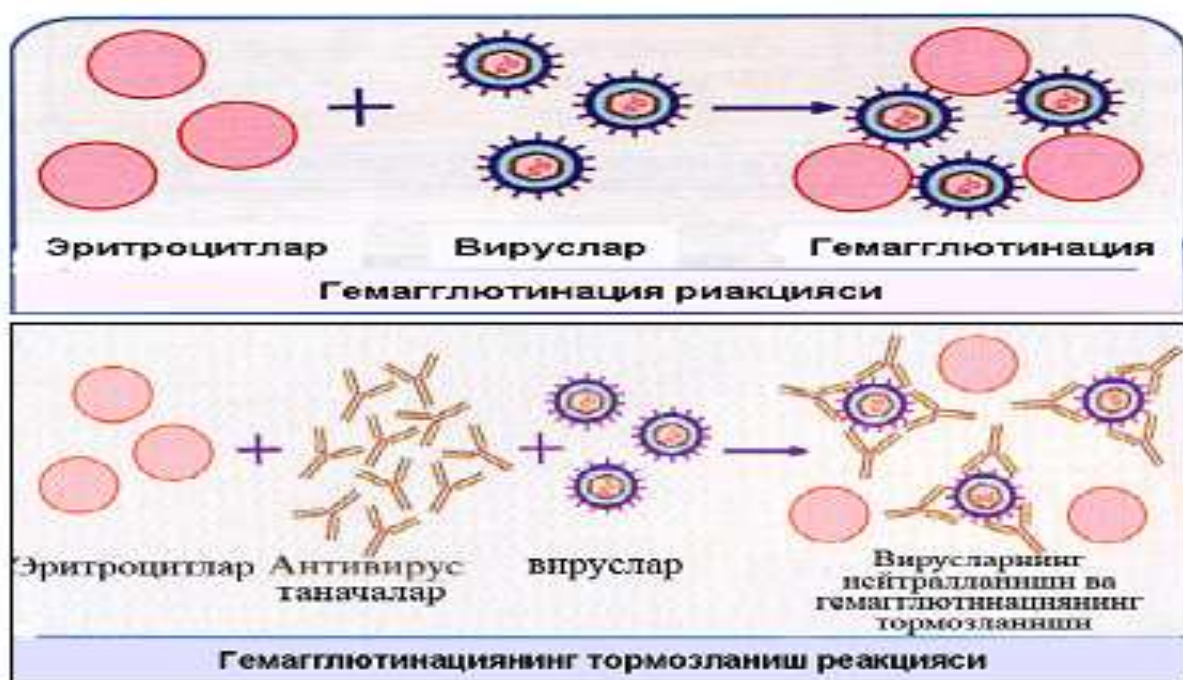
Вирусларнинг миқдори жиҳатдан аниқ сонини ҳисобга олиш усули ҳисобланади (34-расм). Вирусларни ажратиш олишда бир қаватли хужайра культурасидаги озикли муҳит олиб ташланиб вирус сақловчи материал сақловчи материал билан хужайра культурасига вирус юқтирилади, сўнгра нейтрал қизил индикатор қўшилган юпқа агар қатлами билан қопланади.. Термостатда бир неча кун сақлаб турилгандан сўнг, агар қопламасида маълум шаклдаги оқ-оқ доғлар моноқатлам фонида (пилакча) пайдо бўлади. Бу эса, бир текисда ўсган хужайра культураси таркибида вирус кўпайиши натижасида ҳосил бўлган жонсизланган хужайралар тўпландир. Ҳар бир

пилакча биргина вирус заррачасининг кўпайиши натижасида ҳосил бўлиб, нейтрал қизил билан бўялган хужайралар фониди юмалоқ оқ доғлар шаклида кўринади.

Шу усул билан аниқланган вируснинг титри 1 мл текширилаётган материалда пилакча ҳосил қилувчи бирлик (ПХБ) билан белгиланади. Пилакчанинг катта-кичиклиги, морфологияси ва унинг пайдо бўлиш вақти, вируснинг ҳар хил турида турлича бўлади, хатто шу турнинг ичидаги айрим штаммларида ҳам фарқланади. Вирусларнинг бу хусусияти штаммларни селекция қилишда ва уларнинг соф линиясини ажратиш олишда қўлланилади.

**Гемадсорбция реакцияси.** Вирусларни индикация қилиш усулларида бири, улар кириб кўпаяётган (репродукция) хужайранинг юзаси эритроцитларни адсорбция қилиш қобилиятига асосланган, бу эса гемадсорбция реакцияси дейилади (34 -расм). Гемадсорбция ҳам гемагглютинация реакциясига ўхшаш механизмга эга. Гемадсорбциялаш хосасига эга бўлиши вирус юқтирган хужайра мембранасида вирусга хос махсус оқсилларнинг –гемагглютининларнинг жойлашганига боғлиқ бўлиб, эритроцитларда бу оқсилларга комплементар рецепторлар бўлади ва шунинг учун ҳам улар вирус билан зарарланган хужайралар юзасига адсорбцияланади. Бу реакцияни қўйиш учун вируслар билан зарарланган хужайра культурасига эритроцитлар (кўпроқ товук, денгиз чўчкачаси, маймун ва одамнинг О (I) эритроцитлари ишлатилади) суспензияси қўшилади. Маълум вақтдан сўнг хужайралар натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан ювилади. Таркибда вируслар бўлган хужайралар юзасида эритроцитлар ёпишганича қолади. Ёруғлик микроскопида кўриш мумкин. Вирус юқтирилган хужайра культурасига тип махсуслигини наъмаён қиловчи зардоб қўшилиб сақланса, хужайралар гемадсорбция қилиш қобилиятини йўқотади, яъни гемадсорбция тормозланиб қолади. Бу феномен вирусларнинг идентификациясида қўлланилади.

**Гемагглютинация реакцияси.** Бу реакция суюқликдаги хужайра культураси ёки товук эмбрионининг хорион-аллантоис ёки амниотик суюқликдаги вирусларни индикация қилиш учун қўлланилади.



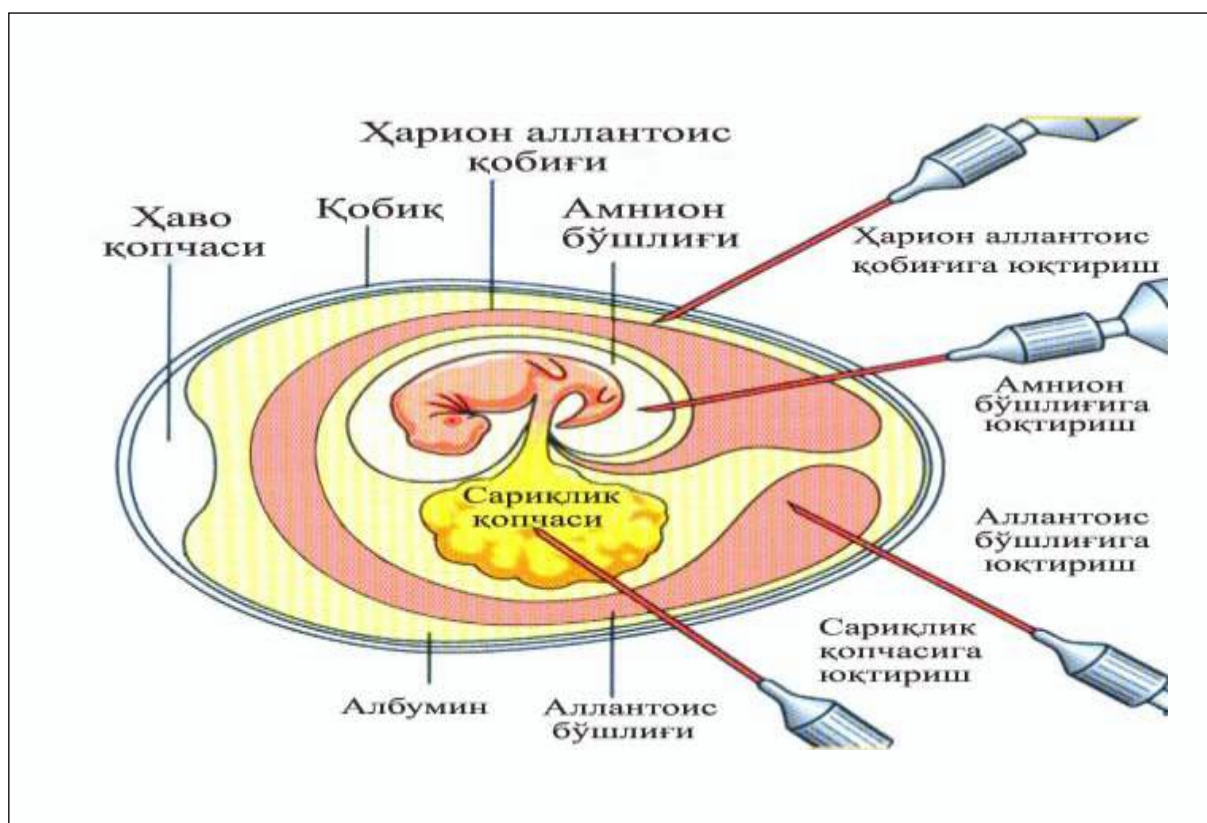
Расм 35 . Вирусларнинг индикацияси ва идентификациясида гемагглютинация ва гемагглютинациянинг тормозланиши реакциялари (схемаси) механизми

Гемагглютинация реакциясида вирус суперкапсиди таркибида гемагглютинин ферменти бўлган вируслар (грипп, парагрипп) келтириб чиқаради, яъний вирус кўпайган хужайра культурасига товук, ғоз, денгиз чўчқачалари эритроцитлари қўшилса, вируслар эритроцитларни бир-бирига ёпиштириб (расм 35) қўяди. Бу усулда вирусларнинг суюқликдаги титрини суюлтириш даражасига қараб аниқлаш мумкин. Вирусологик амалиётда вирусларнинг индикация қилишда кенг қўлланилади.

**Рангли реакция.** Хужайра культураларида вирусларни кўпайишини рангли реакция орқали ҳам индикация қилиш мумкин. Бунинг аниқлаш, нормал кўпаюувчи хужайра культураси учун қўлланилган озикли муҳитдаги индикатордан фойдаланилади. Агар хужайрада вирус кўпаймаса тирик хужайра культураларда нормал метобалитик жараён кузатилади ва бу жараён натижасида нордон махсулотлари йғилиб қолади, индикатор ранги ўзгаради.

Хужайра культурасида вирус кўпайса, хужайранинг метобализими бузилади (нобуд бўлишига олиб келади) индикатор ранги ўзгармайди.

**Интерференция феномени.** Бу усул асосан хужайра культураларида кўпайиб, лекин аниқлаб бўлмайдиган ХПТ хусусиятга эга бўлган вирусларни индикация қилишда қўлланилади. Хужайра культурасига вирус сақловчи материал юктирилади кейин эса индикатор вирус (везикуляр стоматит вируси ВСВ) юктирилади. Агар текшириляётган материалда изланиляётган вирус бўлса индикатор вирусни ХПТ кузатилмайди (хужайра изланиляётган вирус томонидан эгалланган) . Ёруғлик микроскопида визуал кўриш мумкин. Текшириляётган материалда вирус бўлмаса ВСВ хужайрага патологик таъсир кўрсатади.



Расм - 36. Товуқ эмбрионинг (8-10 кунлик) схематик кўриниши

**Вирусларни ундириб олишда товуқ эмбрионидан фойдаланиш (расм 37).**

Вирусологик амалиётда товуқ эмбриони хужайра культураси ва тажриба қилинаётган хайвонларга нисбатан бактериялар билан ифлосланиш даражаси

кам ва қўшимча микроорганизмлар билан камдан-кам ҳоллардагина зарарланган бўлади. Бундан ташқари, турли таъсиротларга ҳам жуда чидамлидир. Риккетсия, хламидия ва бир қатор вирусларнинг диагностика мақсадларда, соф культурасини олиш ва турли препаратлар (вакцина, диагностикаумларни) тайёрлаш учун 8—12 кунлик товуқ эмбрионларидан фойдаланилади. Юқорида кўрсатилган микроорганизмларнинг кўпайганлиги эмбрион қобикларининг очилганидан сўнг пардаларида ҳосил бўлган морфологик ўзгаришлар орқали ўрганилади. Масалан чин чечак юқтириган эмбрион танасида, қобиғида қон қуйилишлар кузатилади, эмбрион нобуд бўлади. Бундан ташқари вирус кўпайиши натижасида аллантоис, амнион суюқлигида вируслар йиғилиб қолади ва гемагглютинин ферменти бор вирусларни ГАР орқали индикация қилиш мумкин.

Ривожланаётган товуқ эмбрионида вирусларни кўпайтириш саноат миқёсида қўлланилади, аммо кўпчилик вируслар товуқ эмбрионида кўпаймайди, бундан ташқари текширилаётган вирусларни эмбрионини очмай туриб аниқлаб бўлмайди, шунингдек унда кўп миқдордаги оқсил ва бошқа ёд бирикмаларнинг борлиги, тайёрланган препаратларни аллергия хусусиятини оширади, уларни тозаланишини қийинлаштиради.

**Вирусларни кўпайтиришда лаборатория ҳайвонларидан фойдаланиш.** Амалда кўпинча турли хил зотсиз лаборатория ҳайвонларидан (вояга етган, эмадигон сичқон болалари, қуён, маймун, денгиз чўчқачалари ва бош) фойдаланилади. Ҳайвонларнинг маълум турдаги вирусларга берилувчанлиги ва уларнинг ёши вирусларнинг кўпайиш қобиляти тажрибада ҳисобга олинади. Кўпинча янги туғилган ҳайвонларгина у ёки бу вирусга (масалан, эмадигон сичқон болалари — Коксаки вирусига, сичқон, қуён- кутириш вирусига, оқсим (яшур) вирусига, денгиз чўчқачаси ва грипп вирусига—сичқон ва оғмахон) сезгир бўлади.

Бу усулнинг афзалликлари ва камчиликлари мавжуд. Афзаллиги шуки, бунда культура ёки товуқ эмбрионида яхши репродукция қилинмайдиган вирусларни ажратиш олиш мумкин бўлади. Бу усулнинг камчилиги эса,

тажриба қилинаётган ҳайвон организмидаги микроорганизмларнинг бегона вирус ва микоплазмалар билан аралашиб кетишидадир. Бундан ташқари экономик этикавий жиҳатлари, шунингдек, вируснинг “соф” линиясини олиш учун кейинчалик ҳужайра культурасига ҳайвондан олинган материал юктирилади, бу эса текшириш муддатини чўзиб юборади.

Вирус сақловчи материалларни лаборатория ҳайвонларга юктиришни турли (тери остига, тери ичига, мускул ичига, қорин пардасига, субдурал ва бош.) усуллари қўлланилади.

Вирусларнинг лаборатория ҳайвонлар организмида репродукция бўлганлигини касалликни кўзга ташланадигон клиник ривожланиши, орган ва тўқималарнинг патоморфологик ўзгариши, органлардан олинган суспензияларда вирус борлигини гемагглютинация (ГАР), нейтрализация (НР) реакциялари орқали (агар вирус ўз таркибида гемагглютинин ферменти тутса) аниқлаш мумкин.

### **Методик кўрсатмалар**

#### **Вирусларни морозов усулида бўяш.**

Вирусларни Морозов усули билан бўяш учун урта реактив тайёрланади:

- 1) 1 мл музли сирка кислотасига 40% ли 2 мл формалин эритмаси қўшилади ва дистирланган сув билан унинг ҳажми 100 мл га етказилади;
- 2) 1 мл карбол кислотасига 5 г танин қўшилади ва дистирланган сув билан унинг ҳажми 100 мл га етказилади;
- 3) 5 мл кумуш нитрати эритмасига аммиак эритмаси бироз қуйқа ҳосил бўлгунга қадар томчилаб томизилади.

Бўяш усули: 1) тайёрланган суртма — 1-эритма билан 1 мин давомида фиксацияланади, сўнг реактив тўкилади ва суртма сув билан ювилади;

2) 2-эритма билан 1—2 мин давомида буғ пайдо бўлгунча қиздирилади, сўнг сув билан ювилади;

3) 3-эритма билан суртма тўқ жигар ранг ҳосил бўлгунга қадар қиздирилади, сўнг сув билан ювиб, қуритилади ва микроскоп остида

кўрилади. Бунда вирус элементар таначалари қора рангга бўялади. Морозов усулида бўялганда оспа вакцина вирусни ўлчами 0.2 мкм бўлиб кокксимон кўринишда бўлади.

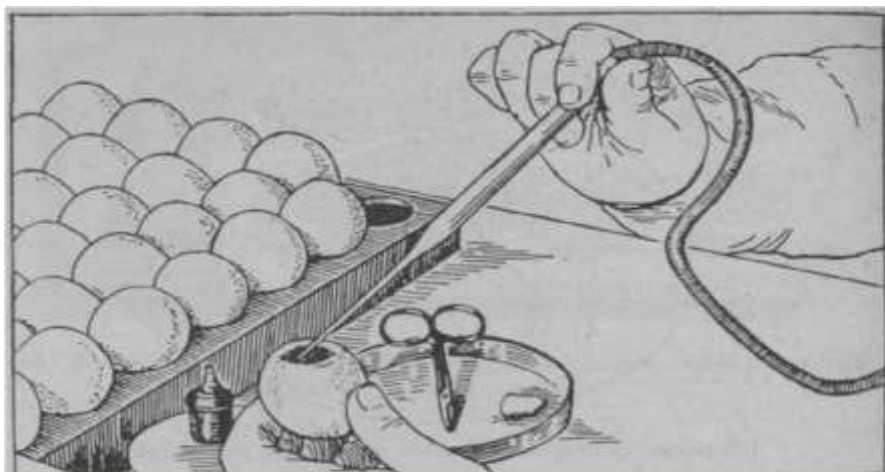
**Вирусларнинг ЦПТ ни ўрганиш.** Пробиркадаги ҳужайра культурасини текшириш учун микроскопнинг буюм столчасига пробирка шундай қўйиладики, ундаги бир қаватли ҳужайра қатлами юқорига қараган ҳолда бўлиши керак. Бир қаватли ҳужайра ёпишган жойи пробирканинг қарама-қарши томонидан қалам билан белгилаб қўйилади.

Ҳужайрадаги морфологик ўзгаришлар культурали пробиркани микроскоп остида культурали пробиркани микроскоп остида 8-объектив билан конденсор туширилган ва диафрагмаси бироз бекитилган ҳолда текширилади. Вирус билан юктирилган бир қаватли ҳужайра қатламини, вирус билан юктирилмаган контроль пробиркадаги культуралар билан солиштириб кўрилганда вирус юктирилган ҳужайра қатламида тўлиқ ёки оролча

шаклидаги хужайранинг (деструкцияси) парчаланганлиги ёки бошқа ўзгаришлар қайд этилади, бу эса вируснинг хужайрага патогенлик таъсирини кўрсатади.

**Ривожланаётган товук эмбрионига юктириш.** Текшириладиган материал товук эмбрионининг аллантоис ва амниотик бўшлиғига, хорионаллантоис қобиғига ёки сариглик халтачасига (37-расм) юборилади.

Материални юктиришдан олдин тухумнинг ҳаволи камера устидаги пўстлоғи 70° ли спирт билан тозаланади, алангада қиздирилади, 2% ли йод эритмаси суртилади, иккинчи марта спирт билан артилади ва қиздирилади. Аллантоис бўшлиғига юктириш учун ҳаволи камера (овоскопда



Расм - 37. Вирус сакловчи материални ривожланаётган товук эмбрионига юктириш

тухумга ёруғлик туширилганда унинг чегараси олдиндан калам билан чизиб қўйилади) устидаги тухум пўчоғи қайчи, скальпель ёки махсус асбоб ёрдамида эҳтиётлик билан тешилади. Шприц билан 0,1—0,2 мл вирусли материал (антибиотик қўшилиб ишлов берилган) ҳаво камераси чегарасидан 2 — 3 мм чуқурликка юборилади. Тухум пўчоғидаги тешикка эритилган парафин қуйилади.

Зарарланган эмбрион вирус жуда кўпайган вақтда, яъни 48—72 соат 37 °С да термостатда сақлангандан сўнг очилади. Тухум спирт билан артилади ва унга 2% ли йод эритмаси суртилади. Сўнгра қайчи билан ҳаво камера атрофи бўйлаб чизилган белгидан бироз юқорирокдан тухум пўчоғи кесилади. Бунда тухум пўчоғи бўшлиққа тушмаслиги учун, қийшайтирилган ҳолда ушланади (37-расм). Пўчоқ олиниб, аста-секин унинг пардаси ҳам олинади ва хорион-аллантоис пардасининг вирус юктирилган жойида геморрагик, оқимтир шикастланиш ўчоқларининг бор-йўқлиги қайд қилинади. Сўнгра пастер пипеткаси билан хорион-аллантоис пардасининг қон томири кам бўлган жойидан тешилади ва аллантоис суюқлиги сўриб олинади. Кейин хорион-аллантоис пардаси ажратиб олиниб, икки марта натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан ювилади, Петри косачасига ўрнатилади ва қора фонда, махсус (специфик) зарарланиш борлиги аниқланади.

**Гемагглютинация реакциясини қўйиш (ГАР).** Товук эмбриони очилгандан сўнг аллантоис суюқлиги сўриб олинади ва пробиркаларга ёки плексигласдан тайёрланган пластинкалар чуқурчасига 0,5 мл ҳажмда (контрол учун 0,5 мл юктирилмаган эмбрионнинг шундай суюқлигидан) қуйилади. Сўнгра унинг устига 0,2 мл 1 % ли ювилган товук эритроцитидан қўшилади ва уй температурасида сақланади. Реакция натижаси 40 мин. дан сўнг, яъни эритроцитлар чўкма ҳосил қилгандан кейин текширилади. Реакция мусбат бўлса пробирканинг остида бир –бири билан ёпишган эритроцитлардан ташкил топган юпка парда зонтик ҳосил бўлади. Реакция натижалари 4 тагача мусбат белги билан аниқланади. Яхши гемагглютинация + + + + — бу ҳолатда пробирканинг остида парда зонтик яқол кўринишида бўлади; + + + парданинг ораларида очик жойлар қолади; + + эритроцитларнинг бирлашишида вируслар камайганлиги сабабли парда четлари текислашади; + кам агглютинацияланган эритроцитлар бирикмалари билан ўралган эритроцитларнинг чўкмаси; — эритроцитлар чўкмасининг атроф чегараси яққол кўриниб туради, аммо контролдан (эритроцитлар тугмача формасини олади) фарқ қилмайди- Агар тажрибадаги пробиркаларда гемагглютинация бўлиб, контроль пробиркаларда бўлмаса, бу — текшириляётган суюқликда вирус борлигини кўрсатади.



Вирусларни индикация қилишда текширилаётган суюқликларда вирусларнинг титрини (микдорий кўрсаткичини) аниқлаш муҳим амалий аҳамиятга эга. Вирус сақловчи материални максимал суюлтирилганда вирус ўзининг (ЦПТ, ГАР, хайвонларни нобуд қилиш ва бош.) инфекцион активлигини наъмоён қила оладиган микдорига вирус титри деб аталади. Титр 1 бирлик қилиб олинган, яъний шу титрда вируслар 50% юктирилган культураларда ЦПТ келтириб чиқаради. ГАР вирус титри деб ++ (1 АЕ – битта агглютинация берувчи бирлик) дан кам бўлмаган эритроцитларни агглютинациясини берувчи энг кўп суюлтирилган эритмасига айтилади. Вирусларни титрларини аниқлаш, вирусларнинг ишчи, юқиш дозалари ишлаб чиқишда ва кейинчалик вирусларни идентификацияси қилишда муҳим амалий аҳамиятга эга.

#### **Гемагглютинация реакцияси билан вирусларни титрини аниқлаш**

ГАР товук эмбрионидан олинган аллантоис суюқлигидаги вирус титрини аниқлаш, ҳамда вирусни идентификация қилишда ГАРТ усулидан фойдаланиш учун қўлланилади.

Жадвал 9.

#### **Вирусни титрини аниқлаш учун қўйиладиган ГАР**

Суюлтирилган вирус сақловчи материал	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	Эритроцит контроли
Товук эритроцитларини 1 % суспензияси	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4 + ф/р
Олинган натижа ГАР +/-	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—

Қўйилган тажрибадан кўриниб турибдики аллантоис суюқлигида вирусни титри 1/64 га, ГАРТ учун ишчи дозаси эса 1/32 га тенг экан.

#### **Вирусларни идентификация (типларини аниқлаш) қилиш.**

Вирусларнинг идентификация қилиш асосида уларнинг биологик активлигини тип махсусликка эга бўлган зардоблар билан нейтраллашга асосланган. Унинг охирги натижаси қуйидаги белгилар асосида аниқланади:

- 1) Цитопатик таъсирини нейтраллаш
- 2) Гемадсорбция реакциясини нейтраллаш
- 3) Рангли реакцияни ўзгариши
- 4) Гемагглютинация реакциясини тормозлаш
- 5) Нейтраллашни тажриба хайвонларида аниқлаш

Бундан ташқари вирусларнинг идентификациясида иммунофлуоресценция ва ДНК- ДНК ( РНК- РНК) – гибридизация усуллари қўлланилади.

#### **Гемагглютинация реакциясини тормозлаш усули билан вирус типларини аниқлаш**

Амалиётда таркибида гемагглютинин тутувчи вирусларнинг типини аниқлашда (ортомиксовирус, парамиксовирус) идентификацияда қўлланилади.

Жадвал 10.

Вирус типларини аниқлаш учун қўйиладиган ГАРТ

Суюлтирилган диагностик зардоб	Тажрибадаги					Контролдаги			
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Зардоб	Вирус	Эри- тро- цит	
1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	
2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	
3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	
Вирус ишчи дозаси (1/32)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	0.2	—	
Товуқ эритроцитларини 1 % суспензияси	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Хона ҳароратида 60 минут сақланади									
Олинган натижа ГАР +/-	1	+	+	+	+	+	—	+	—
	2	—	—	—	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	—	+	—

Қўйилган тажрибадан кўриниб турибдики товуқ эмбриони аллантоис суюқлиғидаги вирус 2 чи қатордаги типга хос диагностик зардоб билан 1:10 — 1:160 нисбатида нейтралланди, яъни текширилаётган вирус шу типга мансуб экан.

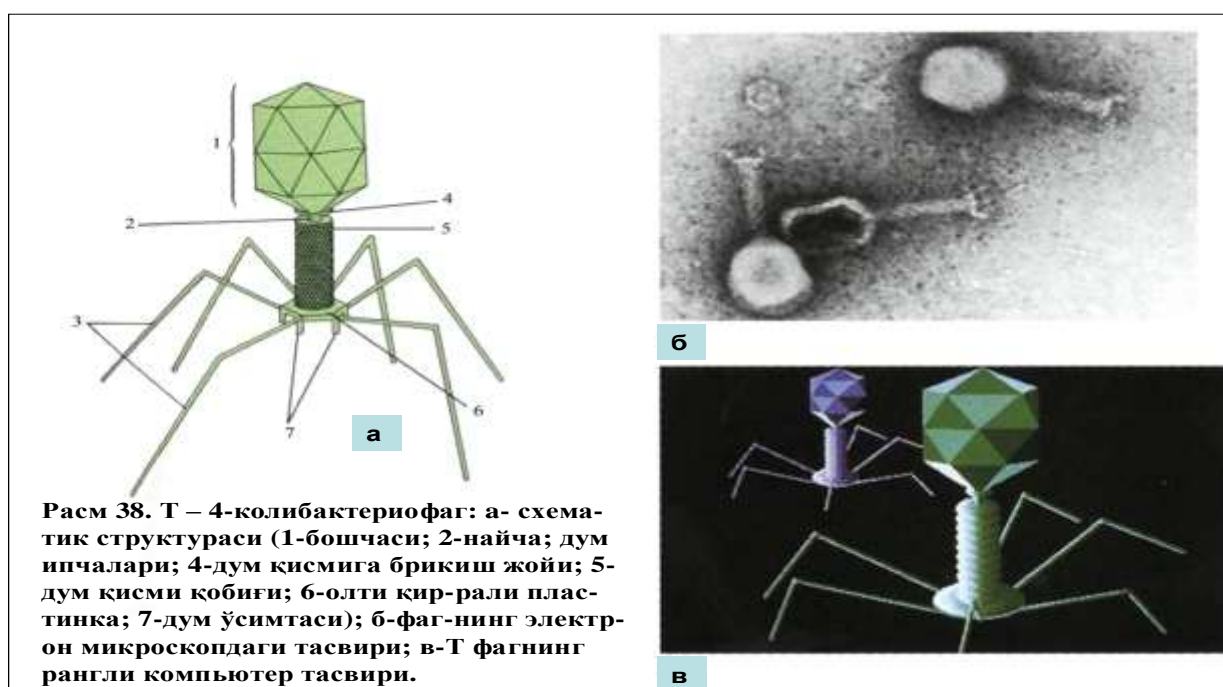
**Бактерия вируслари (Бактериофаглар)**

Бактериофаглар ( “бактерия ва юнонча сўз phagos еб юборувчи) – бактерия ҳужайраларига махсус кириши ва уларда паразитлик қилиб, лизисга, ўлимга олиб келувчи бактерия вируслари хисобланади.

Бактериофаглар атроф-муҳитда, сув ҳавзаларида, тупроқда кенг тарқалган. Шу билан биргаликда уларни кўпчилиги бактерияларда ва бошқа микроорганизмларда ва замбуруғларда топилган. Шунинг учун бактериофаглар кенг маънода умумий сўз билан фаг деб номланади. Фагларни номлашда лотин, юнон ва рус алфавити ҳарифларидан, цифрлардан фойдаланилади ва уларнинг олдида бактерия авлоди ва тури ёзилади ( E. coli T2 ). Қариндош авлод ва тур вакилларини номлашда, уларнинг ажратиб

олинган манбаси номи берилади: колифаглар, стафилофаглар, актинофаглар ва бош.

Фагларни асосан электрон микроскопда уларнинг ултраструктураси ўрганилади (расм 38). Фаглар шакли ва структура тузилиши жиҳатдан бир нечта морфологик типларга бўлинади: ипсимон; майда кубсимон (баъзиларида ўсимталар аналоги бўлиши мумкин); сперматозоидсимон фаглар, яъний кубсимон боши ва дум қисмидан иборат бўлиб, устида қисқарувчи ва қисқармайдиган ёпқичлар мавжуд бўлади. Фагларни ўлчам 20 дан 800 нм гача бўлади.



Фаглар ўзларини таркибида ДНК ёки РНК тутди. Фагларни нуклеин кислоталари икки ипли, бир ипли, чизиқли ҳалқасимон бўлиши мумкин. Кўпчилик фаглар икки ипли ҳалқасимон ДНК тутди. Структура тузилишлари вирусларга ўхшаш капсид ва капсомерлар фаглар шакилланишида қатнашади, лекин фагларда симметрия типлари аралаш бўлади. Бош қисми кубсимон симметрияга эга бўлса дум қисмида спираллсимон симметрия типлари учрайди.

Фагларни антиген хусусияти. Бактериофаглар группоспецифик ва типоспецифик антигенлар тутди ва улар иммуноген хусусиятга эга,

организмда махсус антителалар ҳосил қилади. Бу антителалар фаглар билан бирикиб уларни бактерияга қарши литик хусусиятини нейтраллаши мумкин. Типоспецифик хусусияти бўйича фаглар серотипларга бўлинади.

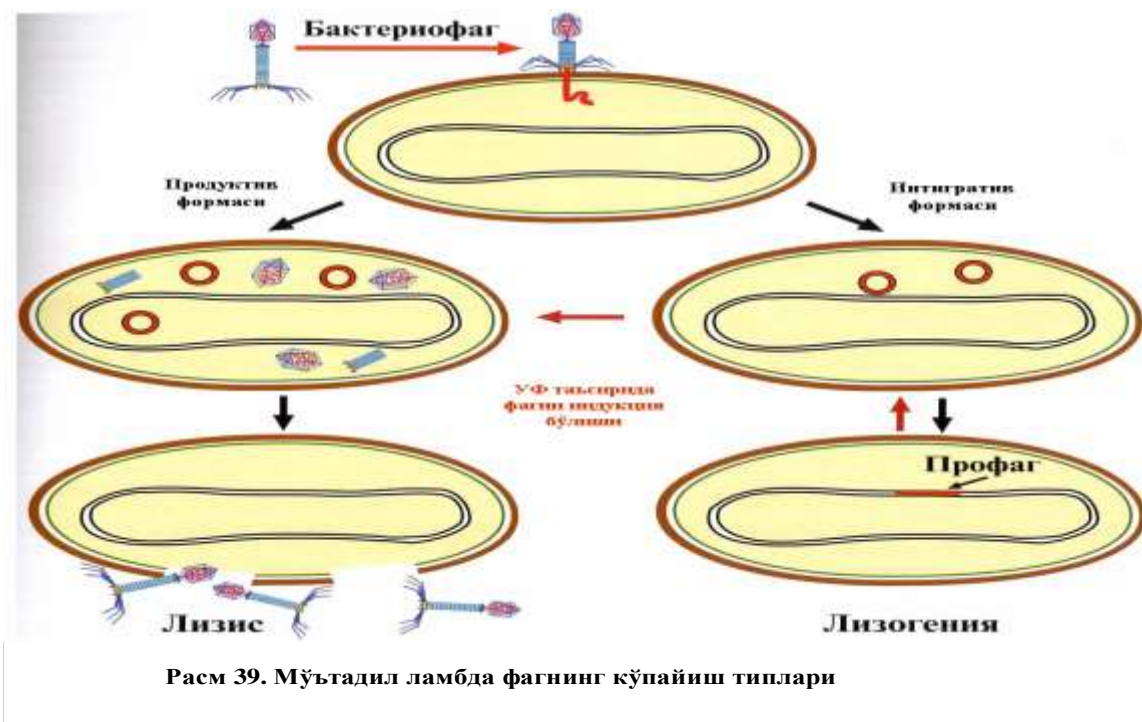
Резистентлиги (чидамлилиги). Вирусларга қараганда ташқий муҳит факторларига анча чидамли. Температура тасирида 65-70°C ўлади, бундан ташқари УФ нурлари ва радиациянинг юқори дозалари, кислота, фармолинларга чидамли. Узоқ вақт паст температурада, қуритганда сақланиб қолади.

Фагларнинг юқумлилиги ўта махсус бўлиб, маълум бактерияларда кўпаяди. Уларни махсус структурасига нисбатан сезгир бактерияларда рецепторлар мавжуд. Фагларни сезгир бактериялар билан махсус ўзаро муносабатига асосан фаглар куйидаги кўринишларда бўлади: поливалент – қариндош бактерияларда кўпайя олади; моновалент- маълум тур бактерияларда кўпаяди; типовой – бактерия турларининг алоҳида типларида кўпая олади.

Фагларни бактерия билан ўзаро муносабати вирусларга ўхшаб продуктив, абортив ва интегротив кўринишда кузатилади. Продуктив формада фаг бактерияни тўлиқ лизисга учратади ва фагнинг авлодлари ҳосил бўлади. Абортив формада, бактерия лизисга учрамайди ва фагнинг авлодлари ҳам ҳосил бўлмайди. Интегротив типда эса фаг бактериянинг хромосомасига кириб олади ва у билан бирга (профаг) туради. Шунинг учун фагларни бактериялар билан ўзаро муносабати натижасида улар икки хил кўринишда, вирулент ва авирулент (мўътадил) бўлади.

Вирулент фагларни бактериялар билан ўзаро муносабати продуктив типда кузатилади. Уларнинг репродукциясида 200-300 та янги фаглар ҳосил бўлади.

Мўътадил фаглар вирулент фаглардан фарқланиб уларнинг бактериялар билан муносабати продуктив ёки интегротив бўлиши мумкин (расм -39). Продуктив кўринишда вирулент фагдан репродукциясида фарқ кузатилмайди ва бактериянинг лизиси билан тугайди. Интегротив типда фаг



геноми бактерия хромосомасига кириб олади ва синхрон кўринишда кўпаяётган бактерия геноми билан бирга репликация бўлади, бактерияни лизисга учратмайди. Шундай ДНК сақловчи фаглар п р о ф а г деб аталади, бактерия эса “л и з о г е н” ли культура деб номланади, чунки бундай лизогенли бактерияларда ҳар доим профаг активланса лизисга учраш эҳтимоли юқори бўлади.. Бундай бактериялар профагни ўз авлодларига ўтказидади. Лекин, фаг репликацияга учрамайди ва ўз наслини қолдирмайди. Бунинг сабаби бактерия хужайрасида фагни транскрипциясини тўхтатиб турувчи паст молекуляр оқсил репрессор ишлаб чиқилади. Репрессорлар биоцентизини фаг генлари бошқаради. Шунинг учун бундай лизогенли бактерияларда бошқа фагларга нисбатан иммунитет хосил бўлади, яъни бошқа яқин қариндош фаглар бактерияга кира олмайди. Аммо, лизоген термини шу бактерияларни ҳар доим лизисга учраши мумкинлигини билдиради. Бунинг исботи сифатида, бактериялар таркибидаги фаг ўз-ўзидан спантан равишда, ёки физик, кимёвий факторлар таъсирида вегитатив формага ўтиши ва бактерия хужайрасини лизисга учратиши мумкин. Бактерия хромосомасидан

ажраб чиқган фаг, бактериядан маълум информация сақловчи генларни ўзига бириктириб олиши ва бу маълумотларни бошқа бактерияларга (трансдукция ходисаси) ўтказиши мумкин. Бактериялар олдин ўзларида кузатилмаган белги ва хусусиятларни наъмоён қилиши мумкин. Профаг таъсирида бактерияларни хусусиятларини ўзгариши “ фагли конверсия” деб номланган ( лот. conver-sio-ўзгартирмок).

Бактериофаглар амалиётда қуйидаги мақсадларда қўлланилади; фаготерапияда, фагопрофилактикада, фагоидентификацияда ва фаготиплашда. Бундан ташқари ичак таёқчасини колифаги ташқи муҳит объектларини ифлосланишини аниқлашда санитар кўрсаткич (индикатор) микроорганизм сифатида қўлланилади:

1) фаготерапия — айрим юқумли касалликларни келтириб чиқарадиган (шигелла, протей, стафилококк, кўк йиринг таёқчаси) бактерияларга қарши даволашда ишлатилади.

2) фагопрофилактикада — эпидемик ўчоқда бўлган кишилар орасида айрим касалликларнинг олдини олишда (масалан, дизентерия, вабо);

3) фагоидентификацияда — фаг ёрдамида бактерия культурасини қайси турга мансублигини аниқлаш;

4) фагодиагностика касал организмдан (масалан, нажасдан) фагни ажратиб олишдан иборат бўлиб, организмда шу фагнинг микроби борлигини кўрсатади, яъни фаг билан диагноз қўйиш;

5) фаготиплаш - бактерияларни фаготипини аниқлашда, яъни фаготипнинг, бир турдаги бактерия штамминини шу типга хос фаглар билан лизис қилиш орқали аниқланади; бу эса текшириляётган культураларни белгилаганда, касалликни эпидемиологик текширишда айниқса муҳимдир.

Амалиётда бульонда ўстирилган бактериялар хужайраларидаги вирулент фаглар репродукцияси бу хужайраларнинг лизисга учраши ва муҳитнинг тиниқ, ялтироқ тусга айланиши билан тугайди. Петри косачасидаги агарли муҳитда сезувчан бактерияни газон усули билан ўстирилганда фаглар лизис ўчоқли ёки яхлит зоналарини ҳосил қилади. Бу эса, фагнинг копцентрациясига

боғлиқдир. Лизиснинг ўчоқли зоналари фагнинг негатив колониялари ёки стерил доғлар — пиллакчалар деб номланади. Улар маълум фагларга хос морфологияга эга бўлиб, биргина фаг заррачасидан ҳосил бўлади ва бошқа хужайраларга кириши ва кейинчалик кўпайиши натижасида ҳосил бўлади.

Фагнинг «соф линиясини» (бошқа фаглар аралашмасидан ҳоли) олиш учун морфологик жиҳатдан бир хил бўлган негатив колонияларнинг қатор пассаждлари бир хил бактериял штамм газонининг айнан ўзида олиб борилади.

#### Методик кўрсатмалар

**Фагни атроф-муҳитдан ажратиб олиш.** Вирулентли фаг олиш учун дастлабки материал (сув, нажас суспензияси ва бошқалар) бактерия филтридан ўтказилади. Сўнг филтрат тайёрланади. Олинган филтрат маълум бактерия культураси билан биргаликда бульонга экилади ва термостатда 37°C да 18—24 соат давомида сақланади. Культура лизисга учрагандан сўнг, қолган бактерия хужайраларидан фаг центрафуга ёрдамида ёки филтрдан ўтказиб тозланади. Филтратда фагнинг борлигини сифат ва сон жиҳатидан аниқлайдиган усуллар билан текширилади.

**S.aureus фагини сифатини аниқлаш усули** Озиқли агарли Петри косачасига **S.aureus** суткали, бульонли культураси газон билан экилади ва 37°C да 10—15 мин давомида қуритилади. Сўнг газон юзасига бир томчи фаг томизилади ва иккинчи четига томчи етиб боргунча Петри косачаси қийшайтирилади. Термостатда бир сутка давомида инкубация қилинганидан сўнг, косача кўздан кечирилади, бунда фаг томчиси теккан ерда лизис зонасининг борлиги белгиланади.

#### Микдорий усул — Грациа усули билан фагнинг титрини аниқлаш.

Усулнинг моҳияти. Пробиркадаги суюлтирилган ГПА га индикатор микробидан ва суюлтирилган маълум фаг сақловчи материалдан 1.0 мл қуйилади ва яхшилаб аралаштирилади сўнг Петри касачасига қуйиб инкубация қилингандан кийин косачадаги негатив колониялар саналади ва 1.0 мл текшириладиган материалдаги вирус микдори ҳисоблаб топилади. Тажриба ўтказиш учун олдиндан қуйидаларни тайёрлаш дозим:

а) озиқли агар Петри косачасига қуйилади, термостатда қуритилади;

б) 3—4 мл дан пробиркага қуйилган, 0,7% ли ярим суюқ озиқли агар сув ҳаммомида эритилади.

Текшириладиган фаг ўн мартадан ( $10^{-2}$ - $10^{-7}$  ва яна ҳам фагнинг тахминий титрига кўра кўпроқ суюлтириши мумкин) натрий хлориднинг изотоник эритмасида суюлтирилади. Сўнг энг охириги суюлтирилган ( $10^{-7}$ ) фагдан 0,5 мл олиб, шу ҳажмдаги фагга сезувчан бактериянинг суткали бульонли культураси билан аралаштирилади ва 45 С гача совутилган, ярим суюқ агарли пробиркага қуйилади. Бу аралашма тезликда агарли Петри косачасига қуйилади, надижада юпқа қават ҳосил қилиб қолади. Бактериялар ва ярим суюқ агар билан кейинги ( $10^{-6}$ ) суюлтиришдаги фаг аралашмаси ҳам худди шундай тайёрланиб, бошқа косачадаги агар юзига қуйилади, кейин —  $10^{-5}$  суюлтирилган жойдан аралашма тайёрланади. Агарнинг иккинчи қуйилган қавати қотганидан сўнг косача 37°C да

29	52	52A	79	80
3A	3C	56	71	
6	42E	47	53	54
75	77	83A	84	85
42D				

Расм - 40. Стафилококк культурасининг фаготипини аниқлаш схемаси. Рақамлар билан стафилококк фаг типлари белгиланган.

инкубация килинади. Фаг билан зарарланмаган бактериялар кўпайиб, озикли агар юзасида бир текис ўсиб, газон ҳосил қилади.

Фаг билан зарарланган ҳар бир бактерия лизисга учрайди ва натижада бир неча юз янги фаг заррачаларни ажралиб чиқади. Улар бутун хужайраларга яна кирадилар ва цикл қайтадан бошланади. Хужайралар лизиси натижасида яхлит бактериал газон ичида «стерил» доғлар ёки фагнинг негатив колониялари ҳосил бўлади. Шу доғларнинг сони аралашмадаги экилган фаг заррачаларининг сонига тенг. Яъни 1 мл текширилаётган суспензиядаги миқдорини кўрсатади, бу эса унинг титри деб аталади. Масалан  $10^{-7}$  суюлтирилган намунадан экилганда ҳосил бўлган фагнинг “стерил” доғлар сони 5 та экан, бунда 1 мл текширилаётган суспензиядаги фаг миқдори  $5 \times 10^7$  тенг бўлади.

**Стафилококк культурасини фаготипини аниқлаш.** Текширилаётган суткалик стафилококкни бульонли культурасини Петри косачасидаги озикли агарга газонли усулда экилади, термостатда бир оз қуритилади, сўнгра Петри косачаси орқаси квадратларга бўлинади қўлланилаётган фаг типлари ёзилади ва ҳар бир квадратга пастер пипеткаси билан бир томчидан ёзилган рақамга хос бўлган стафилококкни 4 гуруҳ фаглар типлари томизилади. Бир сутка термостатда ўстирилгандан сўнг, қайси квадратларда лизис бўлганлиги кўздан кечирилади. Стафилококк культурасининг фаготипи лизисни келтириб чиқарадиган фаг типини билан аниқланади (40-расм).

## **МАВЗУ 9: Микроорганизмларга ташқи муҳит омилларининг таъсири. Стериллашнинг сифатини, дезинфекция ва антисептик моддаларнинг таъсирини ўрганиш усуллари.**

### **Машгулот режаси**

1. Физик ва кимёвий омилларнинг микробларга таъсири.
2. Стериллаш усуллари.
3. Стериллаш учун фойдаланиладиган асбоблар.
4. Стериллашнинг сифатини, антисептик ва дезинфекция қиладиган моддаларнинг таъсирини аниқлаш усуллари.

### **Намойиш қилиш**

Стериллаш учун ишлатиладиган аппаратлар (автоклав, қуриқ иссиқлик билан ишлувчи шкафлар, филтрлайдиган мослама).

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Физик омилларни бактерияларга таъсирини ўрганиш.  
- автоклавда ва қуриқ иссиқлик йўли билан стериллашнинг сифатини назорат қилиш учун бактериал тест объектлар билан қўйилган тажриба натижаларини ҳисобга олиш.

Хулоса чиқариш.

- бактериялар (стафилококк ва ичак таёқчаси) культурасини ўсишига ультрабинафша нурларнинг таъсирини аниқлаш.

2. Кимёвий омилларни бактерияларга таъсирини ўрганиш.

- антисептик ва дезинфекция қиладиган моддаларнинг бактерияларга қарши таъсирини ўрганиш учун қўйилган тажрибаларнинг натижасини аниқлаш.

Хулоса чиқариш.

**Ташқи муҳит омилларининг микроорганизмларга таъсири.** Ташқий муҳитнинг физик, кимёвий ва биологик факторлари микроорганизмларга турлича таъсир кўрсатади: бактериоцид- бактерияларни ўлимига олиб келади; бактериостатик – бактерияларни кўпайишини тўхтатиб қўйади; мутаген-наслий белгиларини ўзгартиради.

Физик факторларга киради



1. Температура таъсири
2. Қуритишни таъсири
3. Нурлар таъсири.

**Температура таъсири.** Бактерияларнинг турли вакиллари маълум температура диопазонида ҳаёт кечиришади. Паст температурада яшувчи микроорганизмларни **психрофиллар** (-10 дан 40° С гача). Психрофилларга асосан катта гуруҳ сапрофит бактериялар киради, лекин баъзи патоген бактериялар паст температурада кўпая олади ( масалан псевдотуберкулез вўзғатувчиси 4 ° С да кўпаяди).

Иккинчи гуруҳ микроорганизмлани **мезофил** бактериялар деб юритилади. Уларни температура яшаш диопазони 10 - 47 °С , оптимал яшаш мезони 37 °С.

Учунчи гуруҳ микроорганизмлар **термофил** бўлиб 40 -90 °С яшай олади. Окиан тубидаги қайноқ сув манбаларида яшувчи баъзи бир бактериялар 250 - 300 °С яшай олади. Уларнинг ичида патогенлари учрамайди.

Юқорида келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики асосий патоген бактериялар мезофиллар бўлиб 50 °С дан юқори температура омили бактерияларнинг вегитатив формасига салбий таъсир кўрсатади ва оксил, нуклеин кислоталарини денатурацияга учратиб бактерияларни ўлимига сабаб бўлади.

**Қуритишни таъсири.** Сувсизлантириш кўпчилик бактерияларни метоболитик жароёнларига салбий таъсир кўрсатади. Қуритишга нисбатан чидамсиз патоген бактерияларга гонококк, менингококк, вабо, қорин тиф ва бош. киради. Қуритишга чидамли бактерияларга эса, шиллик қатлам билан химояланган бактериялар киради. Масалан сил кўзғатувчиси болғамда 90 кун сақланиши мумкин. Бундан ташқари бактерияларни спораси қуритишга ўта чидамли ҳисобланади. Микробиология амалиётида қуритиш лиофилизациядан фойдаланилади. Лиофилизация вакуум шароитида бактерияларни паст температурада сувсизлантиради, бу анабиоз ҳолатида бактериялар, бир неча

йил ўзининг бирламчи хусусиятини ўзгартирмасдан сақланади. Бактериологик иммунологик препаратларни сақлашда қўлланилади.

**Нурлар таъсири.** Нурларни табиатига қараб икки гуруҳга бўлиш мумкин: ионлаштирувчи (радиоактив- рентген, гамма) ва ионлаштирмовчи (ультрабинафша, инфрақизил, қуёш нурлари).

Радиоактив нурлар- гамма ва рентген нурлари бактерияларнинг НК ларига таъсир этади, радикаллар ҳосил қилади ва ўлимга олиб келади. Амалиётда бу нурлардан бир маротиба қўлланиладиган пластик микробиологик идишлар, шприцлар, доривор моддаларни стерилизация қилишда фойдаланилади.

УФ- нурлар радиоактив нурларга нисбатан амалиётда кенг қўлланилади. Бактерияларга қисқа тулқинли 250-270 нм тенг бўлган УФ нурлари таъсир этади. Бу нурлар бактерияларни нуклеин кислоталарига таъсир этиб улардаги Н- боғларини узади. УФ нурлар микробиологик амалиётда ишдан олдин, кийин, иш жойлари, бокслар, клиникаларда туғриқ заллари, операция олди, операция ва бошқа хоналар, микробиологик амалиётда бактериологик, вирусологик бокс хоналари ҳавосини зарарсизлантиришда қўлланилади. Бу мақсадда тулқин узунлиги 200-400 нм тенг бўлган УФ лампалари ишлатилади.

Физик омилларнинг микроорганизимларга таъсири тиббиёт амалиётида асептик мақсадларда қўлланилади.

**Асептика** – жаррохлик операциялари вақтида, жароҳатларни, яраларни боғлашда, жароҳат юзасига ёки организмга, диагностик, даволаш манипуляциялар қўллашда, ҳамда микробиологик амалиётда текширилаётган материалларга, озиқли муҳитга, бактерияларни ажратиб олишда, қайта экишларда микроорганизимларнинг тушишига қарши кўриладигон чора тадбирлар системасидир. Асептик чора тадбирлар системасига стерилизация киради.

**Стерилизация** (Стериллаш)- ташқий муҳит объектидаги микроорганизимларнинг вегетатив ва спорали формаларини тўлиқ йўқ қилишга қаратилган усуллар йиғиндисига айтилади. Стериллаш физикавий, кимёвий усуллар билан амалга оширилади:

- 1) юқори температура таъсири остида;
- 2) нурлар билан (рентген, радиоактив ва ультрабинафша нури);
- 3) механик йўллар, яъни бактериал фильтрлар орқали ҳамда кимёвий усуллар билан стерилланади.

Стериллашнинг физикавий усуллари.

**1. Спиртовка ёки газ горелкаси алангасида чўғлантириш.** Бу усулдан асосан бактериологик қовузлок, препаратлар игна, пинцетларни стериллаш учун фойдаланилади.

**2. Қайнатиш йўли билан стериллаш.** Бу усул ҳозирги кунда кам қўлланилади майда жарроҳлик резина асбоблари (катетир, хирургик буш , эндоскоп), буюм ва ёпқич ойналар, шунингдек бошқа айрим буюмлар стерилланади. Улар стерилизаторларга солинади ва устидан сув кўйилади. Сувни юмшатиш ва қайнаш температурасини ошириш учун бикарбонат натрийнинг 1—2% ли эритмаси қўшилади. Сўнг 30 мин давомида қайнатилади. Аммо бу усул тўлиқ стериллаш имконини бермайди, чунки айрим вируслар (масалан, гепатит вируси) ва бактериянинг споралари яшаш қобилиятини сақлаб қолиши мумкин.

**3. Қуриқ иссиқлик билан стериллаш** юқори температурали шкафларда (Пастер печи) қуриқ иссиқ ҳаво орқали стериллаш. Бу усул 165—180°C гача қиздирилган ҳавода микроорганизмларни ўлдириш (бактерицид) хусусиятига асосланган. Юқори температурада пахтали пробка, идиш ўралган қоғозлар бироз куйиб, жигаррангга айланади. Паст температурада эса, узоқ вақт стериллашга тўғи келади. Қуруд иссиқлик билан шиша идишлар: Петри косачаси, пробирка, пипетка, колбалар ва бошқалар стерилланади.

**4.Автоклавда буғ билан босим остида стериллаш** ( -расмга қаралсин).

Бу энг самарали стериллаш усулларида бири бўлиб, фақатгина микробиология амалиётида эмас, балки клиник медицинада ҳам кенг тарқалган. Автоклавда ишлаш учун махсус қўлланма ва хавфсизлик қоидаларига қатъий риоя қилиш лозим. Автоклавда босимнинг ошиши қайнаш температурасини ошишига олиб келади.

## Атмосфера босимининг қайнаш тепературасига таъсири

Атмосфера босими	Қайнаш теператураси
0,5 атм	80° С
1 атм	100° С
2 атм	121° С
3 атм	136° С

Бактерияларга юқори иссиқликдан ташқари атмосфера босими ҳам таъсир этади, бактерияларни спораси 120° С ўлади. Энг кўп тарқалган режим 2 атм – 121° С -15 – 20 мин. Бу режимда кўпчилик коррозияга учрамайдигон метал инструментлар, боғлаш учун ишлатиладиган материаллар, ҳалатлар қилинади. Углеводли озиқли муҳитлар 0,5 атм да 15 мин, микроб тушган материалларни зарарсизлантириш учун 2 —2,5 атм босимида 20—25 мин (11-жадвал) давомида стерилланади.

Бугнинг теператураси автоклавга ўрнатилган махсус юқори даражали термометр билан ўлчанади ва стериллаш сифати юқори температурада эрийдиган кимёвий моддалар: бензонафтол (110°С), бензол кислотасидан (120°С) фойдаланилади.

##### 5. Кох аппарати ёки автоклавда оқувчи буг б и л а н стериллаш.

Стериллашнинг бу тури бугнинг бактерия вегетатив шаклларига таъсир қилиш кучига асосланган. Бу усул билан юқори температурада стериллаш мумкин бўлмаган материаллар, витаминли ва қандли, озиқли муҳитлар стерилланади. Микроорганизмларни тўлиқ йўқотиш учун бўлиб-бўлиб стериллаш усули қўлланилади. Материаллар 100°С да (ёки 80—90°С) 20—30 минут давомида 3 кун сурункасига стерилланади. Бу ҳолда вегетатив хужайралар ўлади, споралар эса қолади ва бир сутка ичида вегетатив хужайраларга айланади. Кейинги икки марта қайтадан стериллаш натижасида улар бутунлай ўлади ва материал тўлиқ стерилланган ҳисобланади.

6. **Тиндализация.** Материаллар 5—6 кун бир соат давомида 56—58°С да сурункасига бўлиб-бўлиб стерилланади. Бу усул юқори температурада тез бузиладиган моддаларни (қон зардоби, витамин ва бошқалар) стериллашда қўлланилади.

**7. Пастеризация.** Бу усул, температуранинг бактерия сопорасига эмас, фақат вегетатив хужайрасига таъсир қилиш хусусиятига асосланган. Материал 50—65°C да 15—30 мин ёки 70—80°C да 5—10 мин қиздирилади, сўнгра тезликда совутилади. Кўпинча ичимликлар ва озиқ-овқат маҳсулотлари (вино, пиво, шарбат, сут ва бошқалар) пастеризацияланади.

**8. Ультрабинафша нурлар билан стериллаш.** Бу усул 260—300 нм тўлқин узунлигидаги ультра-бинафша (УФ) — нурларининг микроорганизмларни ўлдириш хусусиятига асосланган. Бокслардаги, операция хоналаридаги, болалар ташкилотларидаги ҳавони стериллаш учун турли қувватдаги (БУВ-15, БУВ-30) махсус бактерияларни ўлдирувчи (бактерицид) лампалар қўлланилади.

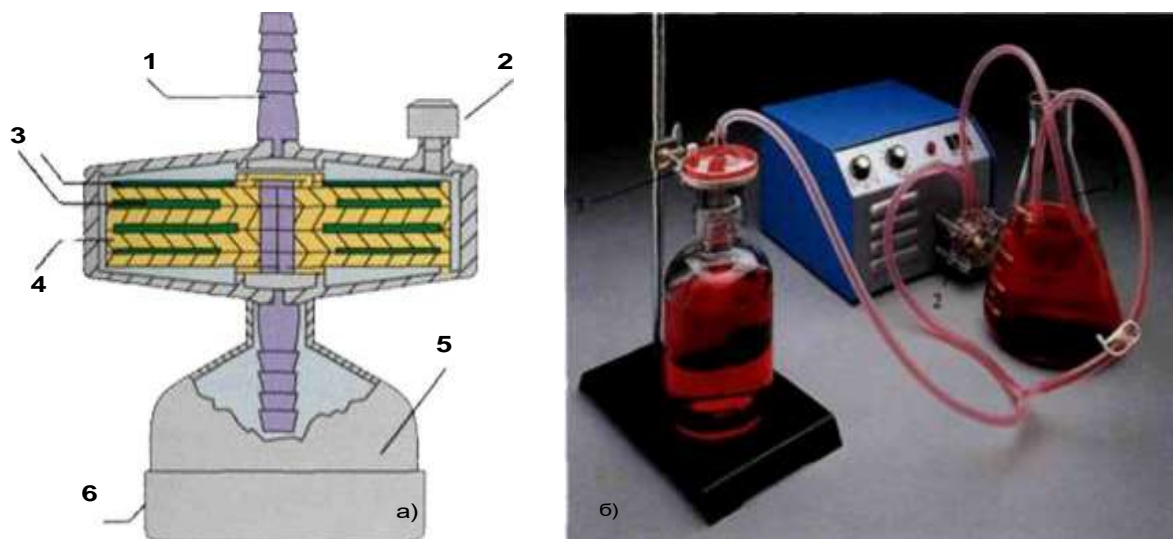
**Механик (фильтрлаб) стериллаш.** Бу усул маълум диаметрли майда-майда тешикка эга бўлган фильтрлар бўлиб, микроорганизм ва уларнинг споралари шу филтрдан ўтмай қолишига асосланган. Амалий лабораторияларда материалларни турли диаметрдаги тешикка эга бўлган асбест, керамик, шишали ва мембранали фильтрлар билан филтрлаш кенг йўлга қўйилган.

Бактериологик амалиётда Зайтц фильтери ва асбест филтirlар қўлланиб келинган. Бу фильтрлар Зейтц воронкасининг цилиндр бўлимидаги ажраладиган қисмига ўрнатилади. Сўнгра иккала қисм болтлар билан бирлаштирилади. Воронканинг трубкали томони резина пробкадан ўтказилади ва пробка Бунзен колбасига мустаҳкам ўрнатилади. Филтрлашдан олдин асбест филтр ўрнатилган система автоклавда стерилланади. Мембранали филтрлар алоҳида қайнатиш усули билан стерилланади, бирлаштирилади ва унинг ёрдамида суяқлик филтрланади.

Мембрана филтirlарнинг турли модификациялари ишлаб чиқилган (расм 41). Расмда замоновий мембрана филтр устанoвкaсини ишлаш принципи келтирилган (б). Шиша колбадаги стериллашга мўлжалланган (1) раствoр қисқариб ишловчи насос ёрдамида (2) мембран филтр устанoвкaсидан бoсм oстида ўтказилади (стериллаш сифатли бўлиши учун

фильтрловчи установкага бир нечта фильтр қўйилган) ва стерилланган суyoқлик махсус контейнерга (3) йиғилади.

Асбестли фпльтрлар 35 ва 140 мм диаметрда чиқарилади; улар фильтрлайдиган (Ф) ва стериллайдиган (СФ) турга ажралади. Мембранали фильтрлар юпқа пластинкадан иборат бўлади, қалинлиги 0,1—0,5 мм, диаметри 35 мм ни ташкил этади ва улар нитроклетчатка ёки ацетилцеллюлозадан тайёрланган. Бу фильтрлар тешикларнинг ўлчамига кўра 1—5 гача (тешиклар ўлчами 350—1200 нм) белгиланади. Иккала турдаги фильтрлар бир марта фойдаланиш учун мўлжалланган.



Расм 41. Мембрана филтър билан стериллаш. а) мембрана филтърлаш аппаратини кўндаланг кесими: 1-  $\frac{1}{4}$  кадамли уланувчи трубка; 2-совутиш мосламаси; 3- ўрнатилган филтърлар; 4- филтър ўрнатиловчи маслама; 5-филтрат йиғиловчи идиш; 6- идиш копкағи. б) филтърловчи установка кўриниши

Филтърлаш усулидан суyoқ, қиздиришга чидамсиз материалларни (қон зардоби, антибиотиклар) стериллашда фойдаланилади. Бундан ташқари, бу усул ёрдамида бактериянинг токсинлари, фағлари ва ҳаёт фаолиятида ажралиб чиқадиган турли маҳсулотлари олинади.

**Кимёвий факторларнинг микроорганизмларга таъсири.** Кимёвий факторлар ҳам микроорганизмларга бактериоцид ва бактериостатик таъсир кўрсатади. Кимёвий модалар амалиётда стериллашда, антисептикада ва дезинфекцияда кенг қўлланилади

**Кимёвий стериллаш усули.** Бактерияларни ўлдириш (бактерицид) хусусияти бўлган турли кимёвий моддалардан фойдаланилади. Аммо, амалий лабораторияларда кенг қўлланилмайди. Бу усулларда захарли газлардан (этилин оксиди, оксид этилин ва бромметил аралашмаси, фармальдигд) фойдаланилади. Бу моддалар сув иштирокида бактериялар ферментларини актив группаларини, бошқа оксилларни, ДКН ва РНК ларни активлигини йўқотади ва бактерияларни ўлимига сабаб бўлади.

Газ билан стериллаш махсус камераларда 18 дан 80° С температурада олиб борилади. Клиникаларда фармальдегид газидан, саноат миқёсида эса этилин оксиди ва аралашмаси қўлланилади.

Кимёвий стериллаш олдидан стериллашга тайёрланган объектлар ишлов берилиб курилади. Стериллашни бу усули ходимлар ва беморлар, ҳамда ташқий муҳит учун ҳафсиз ҳисобланади, чунки асосий стериллувчи агентлар предметларда қолмайди.

Охирги йилларда медицинада кўплаб температурага чидамсиз бўлган материаллардан тайёрланаётган инструментлар ( оптик мосламалар, эндоскоп, бронхоскоп) кенг қўламда ишлатилмоқда. Бу инструменларни стериллашда термик, газ қўллаш усуллари асбобларни оптик мосламаларига таъсир қилишини ҳисобга олиб, бу инструменларни кимёвий растворлар билан стериллаш таклиф қилинмоқда. Инструментлар тозалангандан ва дезинфекция қилингандан кийин маълум вақт (45 дан 60 минутгача) растворларда стерилланади. Бу приборлар стериллашдан сўнг стерилланган сув билан ювилади. Стерилланган инструменлар махсус стерил беркилувчи идишларда сақланади. Ҳамма бажарилаётган ишлар стерил боксларда ва асептик қойидаларга қатъий риоя қилинган ҳолда бажарилади.

Кимёвий моддалар амалиётда асосан антисептик ва дезинфектант сифатида қўлланилади.

**Антисептика** — бу жароҳатланган ёки соғлом тери ва шиллик қаватларда юқумли процессни қўзғатиш қобилиятига эга бўлган, микроорганизмларни ўлдиришга қаратилган комплекс даволаш ва

профилактика тадбирларидир. Антисептика сифатида турли микробларга карши таъсир кўрсата оладиган кимёвий бирикмалардан фойдаланилади

**Дезинфекция** – ташқий муҳит объектларидаги патоген микробларнинг вегетатив формасини тугатишга, камайтиришга қаратилган тадбирлар йиғиндисига айтилади. Дезинфекция маълум мақсадларга мувофиқ қилинади. Масалан кундалик дезинфекция ишлари опреаци хоналари, бокслар иш жойларини ( профелактик ) ва юқумли касаллик чиқган жойни ( тугалланган) дезинфекция қилинади. Антисептик ва дезинфектант моддаларга киради:

**1.Спирт ёки алкогольлар** (этанол, изопронол ва бош.). Антисептик сифатида спиртни 60-70° сувли эритмаси қўлланилади. Спиртлар хужайра оқсилларни чўктириш ва хужайра девори ёғларини ювиб юборади. Тўғри қўлланилганда кўпчилик бактерияларни вегетатив формаларига эффеktiv бактериоцид таъсир кўрсатади, лекин бактериялар спораси ва замбуруғларга таъсир кўрсатмайди.

**3. Гологенлар** ва гологен тутувчи (йод ва хлор препаратлари) препаратлар оқсилларнинг гидроксил группалари билан бирикиб, уларни структурасини бузади антисептик сифатида қўлланилади:

- йод тутувчи препаратлар – йоднинг 5 % спиртли эритмаси, йодинол ( 1% сув ва 0,1% йод тутуди), 0,3% калий йодид, йоданид, люгол эритмаси шиллик қаватларни ишлов беришда қўлланилади.

Хлор сақловчи моддалар амалиётда дезинфектант сифтида қўлланилади.Кенг тарқалган дезинфекция қилувчи моддаларга хлорли оҳак (0,1—10% ли зритма), хлорамин Б таркибида 25-29% актив хлор тутуди (0,5—5% ли эритма), хлоргексидин биглюканат, гипохлорат кальцининг учдан икки асосий тузи—ДТСГК (0,1 — 10% ли эритма) киради. Дезинфекция қилувчи моддаларни танлаш ва унинг концентрациясини аниқлаш дезинфекция қилинадиган объектга ва материалларга боғлиқ.

**4. Фенол-** препаратлари дезинфектант ва кам концентрацияси антисептик сифатида ишлатилади (резорцин,хлорофен,тимол)



**5. Альдегидлар** – микроорганизмларни оқсил, аминокислаталари сульфгидрил ва корбаксил групаларига таъсир этади, уларни структурасини бузади, бактерияларни ўлимига сабаб бўлади. Альдегидлар медицинада консервант сифатида қўлланилади ( фармальдегид 8%, глутаральдигид 2-2,5%). Формальдегид раствори ва мази, совуни (лизоформ) -хирургик практикада қўлланилади. Уротропин (гексаметилинтетрамин) нордон муҳитда ундан формальдегид ажралиб чиқади урологик практикада қўлланилади

**6. Оксидловчилар**- таъсири асосан метаболитларинива ферментларни оксидлашлари мумкин ёки уларни денатурацияга учратади ( водород пероксиди, калий перманганат) жаррохлик амалиётида кенг қўлланилади.

**7. Кислоталар**– антисептик сифатида қўлланилади ва бундан ташқари, бензой, уксус, салицил кислоталари кўпроқ тери касалликларини даволашда қўлланилади.

**8. Ишқорлар**- кўпроқ аммиакни спиртли раствори хирургик практикада ишлатилади.

**9. Бўёвчи моддалар** кенг ( бриллиант кўкки, метилин кўкки, риванол) тиббиёт амалиётида антисептик препаратлар сифатида фойдаланилади.

**10. Металлар ва уларни тузлари** - оқсил ва бошқа органик бирикмаларни чўктириб қўйиш хусусиятига эга, антисептик ва дезинфектант сифатида: мис сульфат (мис купорос); кумуш нитрати (ляпис) қўлланилади.

### **Методик кўрсатмалар**

**Юқори температуранинг бактерияга қарши таъсирини текшириш.** Ичида озикли бульони бўлган учта пробиркага спорали ва спорасиз культура аралашмаси шимдирилган ипак ип солинади. Биринчи шробирка автоклав қилинади, иккинчиси—қайнатилади; учинчи (контрол) пробиркага ҳеч қандай таъсир кўрсатилмайди. Пробиркалар 37°С да 24 соат давомида термостатга қўйилади. Қўйилган тажрибанинг натижаси аниқланади. Агар юқори температура бактерияларни вегитатив ва спорали формасига автоклавда бактерицид таъсир кўрсатган бўлса бульон ўзгармайди тиниклигича қолади, агар таъсир кўрсатмаган бўлса бульон лойқаланади. Шундай натижалар қолган икки пробиркаларда ҳам ўрганилади ва хулоса чиқарилади.

**Ультрабиофа ша нурларининг бактерияларга қарши таъсирини текшириш.** Иккита ГПА қўйилган Петри косачасига стафилококк ёки *E. coli* культураси экилади ва биринчи косачани қопқоғи очик қолдирилади, иккинчи косачани қопқоғи ёпилиб қўйилади. Сўнгра БУВ-30 лампаси билан 15 мин давомида лампа марказидан 10—20 см оралиқда косачаларга нур таъсир этилади. Нурлатилган ва нурлатилмаган (кониrol) бактериялар культураси 37°С да 16—24 соат давомида термостатга қўйилади. Сўнгра натижалар кўрилади: агар очик қолдирилган Петри косачасида бактерияларни ўсиши кузатилади, УФ нури таъсир этган бўлса нурланган бактериялар

культураси агар юзасида ўсмайди. Иккинчи контрол чашкада озикли мухит юзасида, бактерия культураси кўпайган бўлади. Ҳар иккала натижа бўйича хулоса чиқарилади.

#### **Антисептик ва дезинфекция қиладиган моддаларнинг бактерияга қарши таъсирини аниқлаш.**

1. Кимёвий омиллардан фенолни *E.coli* бактериясига таъсирини ўрганиш. а) *E. coli* культураси; б) спора ҳосил қилувчи (*B. anthracoidis*) культуралари, (5%) фенол, (5%) лизол, эритмаси солиниб тайёрланган қиялантирилган ГПА ва контрол сифатида кимёвий моддаларсиз мухитларга экилиб, кейинги кунгача термостатга қўйилади. Қўйилган тажриба натижалари аниқланади ва хулоса чиқарилади.

2. Текшириладиган моддалар эритмасига фильтр қоғоз дисклари шимдирилади ва улар Петри косачасидаги озикли агар юзасига экилган тест стафилококк ёки ичак таёқчаси культураси устига қўйилади. Косачалар бир сутка давомида 37°C да термостатда сақланади. Дисклар атрофида бактериялар ўсма, у ҳолда текширилаётган моддаларнинг бактерияларга қарши таъсири ҳақида хулоса чиқарилади.

### **МАЗУ 10: Хемотерапевтик моддалар ва антибиотиклар. Микроорганизмларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш**

#### **Машгулот режаси**

1. Антибиотикларни биологик келиб чиқиши, химиявий таркиби, таъсир механизми, таъсир доирасига қараб қилинган замоний классификацияларини муҳокама қилиш.

2. Муҳим антибиотик группаларининг бактерияларга қарши таъсир механизмларини (жадвал ва схемалар орқали) муҳокама қилиш.

3. Бактерияларнинг антибиотикларга сезувчанлигини сифат ва миқдор жиҳатидан аниқлашни замоний усуллари.

4. Антибиотик активлигини одам организмидаги суюқликларда (қон, сийдик ва бошқалар) аниқлаш усули.

5. β- лактамазани аниқлаш усули.

#### **Намойиш қилиш**

1. Антибиотикларнинг ҳар хил препаратлари.

2. Бактерияларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш учун ишлатиладиган, антибиотиклар билан шимдирилган, стандарт қоғозли дисклар.

3. Муҳим группадаги антибиотикларнинг ҳозирги замон классификацияларини (биологик келиб чиқиши, кимёвий таркиби, микробга таъсир механизми ва таъсир доираси) кўрсатувчи жадвал ва схемалар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1 Диск усули бўйича стафилококкнинг ҳар хил антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш учун тажриба ўтказиш.

2. Ўтказилган тажрибалар бўйича қуйидагиларни аниқлаш керак: а) қатор суялтириш усули билан антибиотикнинг жуда ҳам паст концентрациясини ҳар хил бактерия культураларига таъсир килишини; б) бемор қон зардобдаги, сийдикдаги антибиотикни МИК мкг/мл аниқлаш; в) пенициллин таъсирини йўқ қилувчи турли хил стафилококк штаммларининг β- лактамазани ҳосил қилишдаги хусусиятини.

**Хемотерапевтик препаратлар**- юқумли касалликларнинг этиотроп даволашда қўлланилувчи кимёвий моддалар бўлиб, микроорганизмларга танлаб таъсир кўрсатади ва макроорганизмларга нисбатан зарарсиздир. Ҳар бир антимиқроб препаратларни қўллашда унинг физиологик имитация принципи тузилади, яъний кўзғатувчи учун махсус бўлган физиологик

бошқарув жараёнларига препаратнинг таъсир қиловчи молекуляр конфигурацияси, қўшилмалари аниқланади. Ҳозирги кунда бир неча ўн минглаб препаратлар олинган бўлиб, улар юқумли касаллик қўзғатувчи бактерияларнинг ҳаёт фаолиятини тўхтатиб қўйиши мумкин. Лекин фармакологик хусусиятлари, талаблари бўйича бир неча юз антибиотиклар амалиётда қўлланилади. Препаратларнинг эффе́ктивлиги, терапевтик таъсир доирасини таминовчи хусусиятлар йиғиндиси билан ифодаланади. Яъний, организмга киритилганда унинг структура доимийлигини сақлаши ёки актив метобалитлар ҳосил қилиши, тўқималарга ва биологик суюқликларга адсорбция ва элиминация қилиниш тезлиги, танлаб таъсир қилиши ва микроорганизмларни сезгирлиги инобатга олинади.

Препаратларнинг эффе́ктивлик критериясини асосини активлик спектори ҳам ташкил қилади.

**Активлик спектори**- антимикроб препаратлар бактерияларнинг фақат вегетатив формасига таъсир кўрсата олади, уларнинг спора ва циста формаларига таъсир этмайди. Препаратлар ўзининг антибактериал биологик активлигини наъмаён қилиши учун қуйидаги хусусиятларга эга бўлиши зарур:

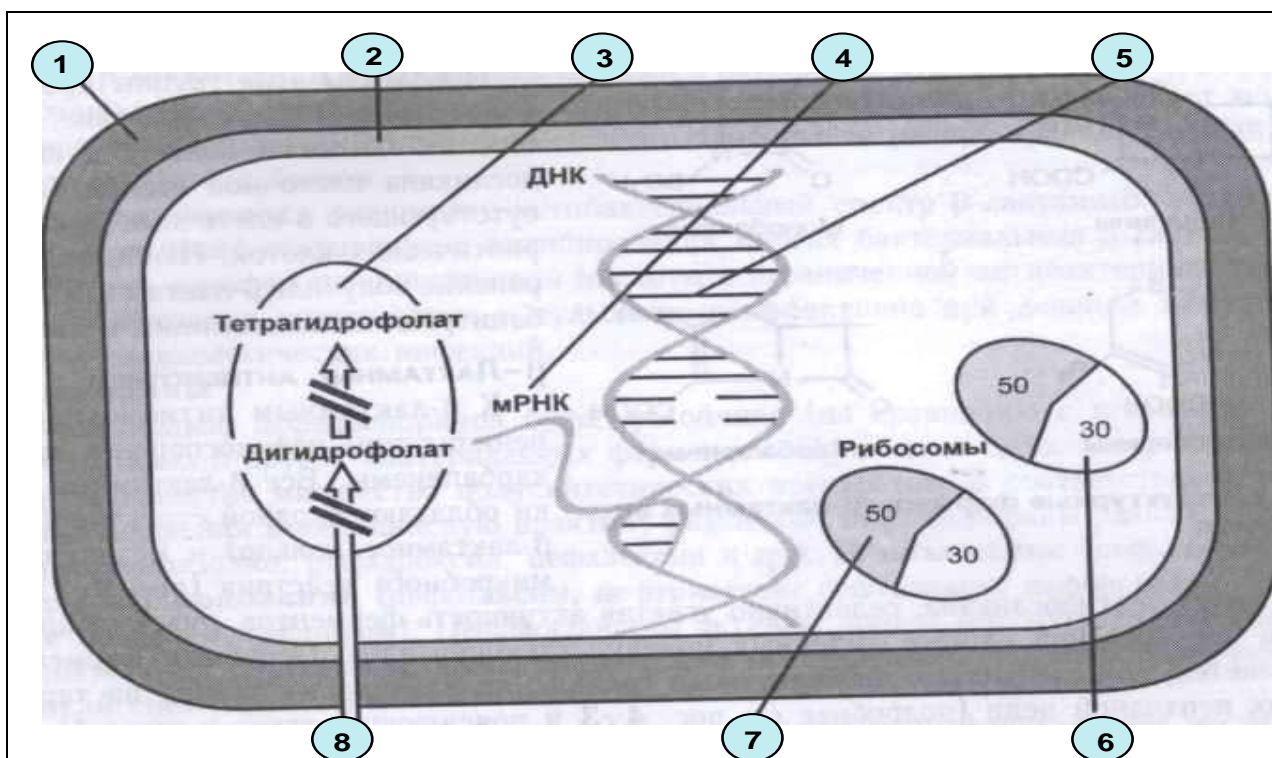
- микроб ҳужайрасига кира олиши
- маълум нишон структуралар билан бирикиши ва уни ўзгартириши
- шу билан бир қаторда ўзини структурасини сақлаши ёки

метобалитларга айланиши.

Хемотерапевтик препаратларни танлашда унинг активлик спектори ва микроорганизмларнинг сезгирлик хусусияти ҳисобга олинади. Препаратлар махсус активлиги бўйича бактерияларга, замбуруғларга, содда жониворларга ва вирусларга қарши бўлиши мумкин. Бундан ташқари таъсир қилиш спектр доирасига қараб бўлинади:

- тор доирада таъсир қиловчи препаратлар ( маълум группа микроорганизмлар учун актив бўлади)
- кенг доирада таъсир қиловчи препаратлар ( катта гуруҳ бактериялар учун актив ҳисобланади).

- Хемотерапевтик препаратлар бактериостатик (кўпайиш ва ўсишини тўхтатиши) ёки бактерицид (уларни ўлдириши) таъсирга эга бўлади ва микроорганизмларнинг турли структураларига танлаб таъсир кўрсатади (расм-42).



Расм 42.Хемиотерапевтик препаратларнинг бактериалар ҳужайрасига таъсир этиш механизми. 1. Ҳужайра деворига (пенициллин, цефалоспорин, ванкомицин). 2. Цитоплазматик мембранага (полимиксинлар). 3. Фолийвой кислотаси синтезига (сульфаниламидлар, триметоприм). 4. РНК синтезини бузувчи (рифампицин). 5. ДНК синтезини бузувчи (фторхнолинлар). 6. 30 S рибосома суббирлиги ингибиторлари (аминогликозидлар, тетрациклин). 7. 50 S рибосома суббирлиги ингибиторлари (эритромицин, линкомицин). 8. р-аминобензой кислотаси.

Хемотерапевтик препаратлар таъсир қилиш омиллига қараб бўлинади:

- 1) содда жониворларга таъсир қиловчи (противопротозойные)
- 2) замбуруғларга қарши (противогрибковые)
- 3) вирусларга қарши (противовирусные)
- 4) бактерияларга қарши (антибактериальные)

Хемотерапевтик препаратлар кимёвий структураси бўйича ҳам бир неча гуруҳларга бўлинади:

- 1) сульфаниламидлар-сульфанил кислотаси хосилалари. Бу препаратлар бактериялар учун зарур бўлган ўсиш факторларини ингибиция қилиб

(фолиевой кислота ва бош.) қўяди. Уларга киради стрептоцид, норсульфазол, сульфаметизол, сульфаметаксазол ва бош.

2) нитрофуран асослари – таъсир механизмилари бактерияларнинг бир нечта ферментлар системасини блакировка қилиб қўяди. Буларга киради – фурацилин, фурагин, фуразолидон, нитрофуразон ва бош.

3) имидазон асослари азоллар- замбуруғларга қарши таъсирга эга. Стероидларнинг биоцентизини ингибица қилади ва хужайра цитоплазматик мембранаси ўтказувчанлигини ошириб юборади. Буларга нистатин, клотримазол, кетоконазол, флуконазол ва бош.киради.

4) диаминопиримидинлар – микроб хужайраси метобализимини бузади. Буларга киради триметоприм, пириметамин.

5) хинолинлар – микроб хужайрасида ДНК синтезини турли этапларини бузади. Буларга киради налидиксов кислотаси, циноксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин.

6) антибиотиклар – буларга табиий, сунъий ва сентетик антибиотиклар киради.

### **Антибиотиклар**

Антибиотиклар турли бактерия юқумли касалликларини даволашда қўлланилаётган химиятерапевтик воситалар орасида асосий ўринни эгаллайди. Антибиотиклар келиб чиқиши, кимёвий тузилиши, бактерияга қарши таъсир механизми ва уларга сезгир бактериялар сонига (таъсир доирасига) кўра қатор группаларга бўлинади. Тор таъсир доирасига эга бўлган антибиотиклар (пенициллин, цефалоспоринлар) билан бир қаторда кенг таъсир кучига эга бўлган антибиотиклар (аминогликозидлар, тетрациклин, левомицетин ва бошқалар) ҳам қўлланилади.

Антимикроб препаратларни амалиётда кенг (баъзида нотўғри) қўлланиши, бактерияларнинг препаратларга нисбатан чидамли (резистентли) вариантларини шакилланишига олиб келади. Ҳозирги кунда бактерияларнинг антимикроб препаратларга нисбатан резистентли штаммларини пайдо

бўлишини иккита асосий механизми мавжуд: табиий ва ҳаёт давомида ортирилган.

Табиий резистентлик тур белгиси хисобланади ва авлодан авлодга ўтади. Буларнинг ҳужайраларида, асосан препаратлар учун нишонлар бўлмайди. Ёки препаратлар ҳужайраларга кира олмайди.

Ҳаёт давомида бактерияларда шакилланган резистентлик амалиётда муҳим аҳамиятга эга бўлади. Бактерияларни резистентлиги уларнинг препаратларни фаолсизлантирувчи ферментлар ишлаб чиқаришига ёки препарат таъсир қилувчи метобалитини ўзгартириши модификация қилишига боғлиқ бўлади.

Баъзи ҳолларда бактериялар ўзининг наслий хусусиятларига боғлиқ бўлмаган ҳолда резистентлик белгиларини наъмаён қилади. Кўпчилик антибактериал препаратлар актив ўсайётган, бўлинаётган бактериаларга таъсир қилади. Баъзи бактериалар эса организмда латент формага кириб олади ва тўқималарда узоқ йиллар яшаши мумкин (сил қўзғатувчиси). Баъзи бактериялар эса ўзининг ҳужайра таркибидаги антибактериал препаратлар таъсир қилувчи нишон структураларини камайтириши мумкин. Масалан, пенициллин таъсирида маълум бактериялар трансформацияланиш хусусиятига эга бўлиб L-формага ўтиб олишади (ҳужайра деворисиз). Бу эса бактерияни пенициллинга нисбатан чидамли бўлишига олиб келади.

Бактериялар ўзларини геномини ўзгартиришлари оқибатида ҳам антибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусиятини шакиллантиришлари мумкин. Масалан мутация натижасида бактерия ўзининг препарат таъсир қилувчи структурасини, препарат кировчи поринларини, препарат билан боғланувчи оқсилларини ёки ферментларини ўзгартириши мумкин (масалан рибосомадаги 30 S суб бирликни, ДНК га таллуқли РНК полимераза ).

Микроорганизмлар бундан ташқари резистентликни антибактериал препаратларга нисбатан штамmlарини селекциялаши оқибатида ҳам наъмаён қилишлари мумкин. Баъзи бактериялар популяциясида антибактериал

препаратларга нисбатан чидамли штамлари пайдо бўлиши, кийнчалик бу штамлар популяцияда доменант бўлишига олиб келиши мумкин. Шундай усул билан олтинсимон стафилококкни метициллинга нисбатан чидамли штамми ҳосил бўлган MRSA ( инг. methicillin resistant S.aureus).

Бундан ташқари бактерияларнинг антибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусиятини бактерияларнинг хромосомасига таллуқли бўлмаган ирсий маълумотларни ташиб юровчи плазмидлар ҳам бошқаради. Плазмидлар таркибидаги транспазонлар бактерияларни бирқанча препаратларга нисбатан чидамлигини наъмаён қилиши мумкин. Шундай қилиб бактерияларнинг антибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусияти уларнинг хромосомасига ёки таркибидаги плазмидларга (R-плазмид, англ. Resistant, чидамли) боғлиқдир, бу хусусиятлар кийинги популяцияларга ўтказилади (генетика бўлимига қаралсин).

Юқорида келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики амалиётда антибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусиятини наъмаён қилувчи бактерияларнинг кенг тарқалганлиги, юқумли касалликларни даволашда кўплаб муаммоларни келтириб чиқармоқда. Шунинг учун, беморни даволаш мақсадида аввалам бор ажратиб олинган қўзғатувчи шу антибиотикка чидамсизми-йўқми, билган ҳолда дорини танлай билиш зарур.

Ҳозирги вақтда бактериялар антибиотикларга бўлган сезувчанлиги даражасига кўра учта котигорияга бўлинади: сезгир, ўртача чидамли ва чидамли.

### **Методик кўрсатмалар**

Микроорганизмларни антимиқроб препаратларга аниқлаш клиник бактериологни асосий вазифаларидан бири ҳисоблангади. Ажратиб олинган бактерияларнинг антибактериал препаратларга сезгирлик даражасини билиш, юқумли касалликларни эффектив даволашда антибактериал препаратни рационал танлашда ва касалликни тарқалиши, юқишини олдини олишда (профилактикада) аҳамиятлидир. Бошқа томондан бу текширувлар бактерияларни антибиотикларга нисбатан (резистограммаси) натижаларни

олиниши эпидемиологик текширувлар учун муҳим маркер бўлиши мумкин. Ҳар қандай шароитда ҳам бактерияларнинг антибиотикларга сезгирликларини ўрганишдаги натижа миқдорий кўрсаткичда берилиши керак. Ажратиб олинган юқумли касаллик қўзғатувчисини антибиотикларга сезгирлиги ҳар доим ва даволаш жараёнида аниқланиб турилиши керак. Бу мақсадда бир неча усуллар қўлланилади: дискодиффузия усули агарда, серияли қатор суюлтириш усули, Е- тест ва бошқа усуллар.

Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлашда, қайси усулларни қўллашдан қабтӣ назар, унинг кўрсаткичи МИК (минимал ингибиция концентрацияси) ҳисобланади, яъни хемотерапевтик препаратларни минимал концентрацияси, стандарт шароитда текширилаётган культурани ўсишини тўхтатиб қўйувчи миқдори ва МБК (минимал бактерицид концентрацияси) препаратларни минимал концентрацияси, стандарт шароитда текширилаётган культурага бактериоцит таъсир кўрсатишига айтилади. МИК ва МБК каталигини сезгирлик критерияси терапевтик индекси ҳисобланади (ТИ). ТИ ни серияли суюлтириш, дискодиффузия Е –тестлар орқали аниқлаш мумкин.

Жадвал 12.

**Ўртача терапевтик доза юборилганда антибиотикларнинг қондаги концентрацияси (К - мкг/мл)**

<b>Антибиотик</b>	<b>К</b>	<b>Антибиотик</b>	<b>К</b>
Ампициллин	15-25	Полимиксин В	10-15
Бензилпенициллин	0,52 (ЕД/мл)	РИфампицин	15-25
Ванкамицин	10-15	Стрептомицин	20-25
Гентамицин	6-8	Тетроциклин	3-5
Канамицин	15-20	Тобрамицин	6-8
Линкомицин	10-15	Фузидин кислота	10-20
Метициллин	10-15	Хлорамфеникол	5-10
Оксациллин	4-6	Цефалексин	15-25
Олеадомицин	3-5	Эритромицин	3-5

**Терапевтик индекс (ТИ)**  $ТИ = МИК/К$  - минимал ингибиция концентрацияси. К –терапевтик дозада қўлланилган антибиотикнинг касаллик ўчоғида ёки қондаги (мкг/мл) миқдори. Терапевтик индекс нормада 0.3 дан



юқори бўлмаслиги керак. Индекс кўрсаткичи қанчалик кичик бўлса препаратни эффективлиги шунчалик юқори бўлади.

Жадвал 13.

**Бактерияларни антибиотикларга сезgirлигини серияли суюлтириш усули билан аниқлаш схемаси.**

Ингредиентлар	Пробиркалар										Бактерия конт роли	Антибиотик конт роли	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Гўштли пептонли бульон объёми мл.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Антибиотик ( таркибида 100 мкг/мл сақловчи раствор)	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	*	1
Серияли суюлтириш	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	—	—	—
Антибиотик концентрацияси мкг/ мл	50	25	12.5	6.2	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	—	—	50
Бактерия суспензияси, мл	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	—
Термостатда 18-24 соат мабойнида 37° С инкубация қилинади													
Натижалар	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—

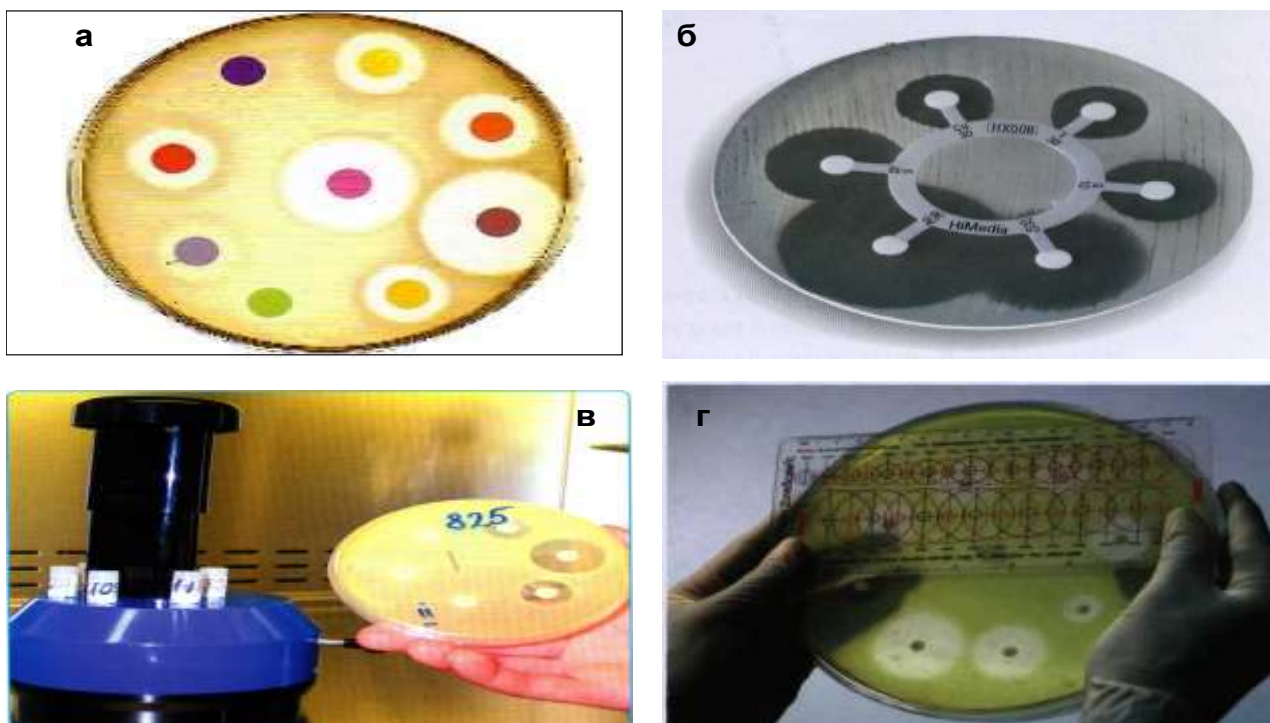
Эслатма: \*- 1 мл пробиркадан олиб ташланади, ҳама пробиркаларда бир хил миқдорда суюқлик бўлиши учун. + текширилаётган бактерия культурасини ўсганлиги; — ўсмаслиги; антибиотикнинг минимал ингибиция концентрацияси (МИК) 0,8 мкг/мл.

**Қон зардобидаги эришилган миқдори** – қўлланилган антибиотикнинг ўртача терапевтик дозасини юбориш орқали эришилади. Антибиотикнинг қондаги концентрацияси беморни тана массасига, препарат дозасига, организмга юбориш йўли ва схемасига ҳамда препаратнинг организмдан чиқиб кетиш тезлигига боғлиқ.. Ҳозирги кунда бу критерия препаратни абсолют кўрсаткичи ҳисобланмайди, чунки баъзи тўқималарда препаратни концентрацияси, қондаги миқдоридан юқори бўлиши мумкин.

**Қатор суюлтириш усули билан антибиотикларга бўлган бактериялар сезгирлигини аниқлаш.** Бу усул билан антибиотикнинг минимал ингибиция концентрацияси (МИК) ва минимал бактерицид концентрацияси (МБК) аниқланиши мумкин. Текширишни озикли муҳитларнинг турли миқдорида (1-10 мл) ўтказиш мумкин. Тажрибада бактерияларнинг озикланиш талабига қараб суяқ муҳитлар ишлатилади. Пробиркалардаги (кўпроқ ўнта) суяқ озикли муҳитда препаратни (тетроциклин) серияли суюлтирилади. Препаратни концентрацияси 100 дан 0,1 мкг/мл камайиб боради (препаратни бошланғич дозаси унинг активлигига боғлиқ бўлади). Ҳар бир пробиркада муҳитни миқдори 1 мл бўлиши керак. Тажрибада контрол сифатида микроб култураси ва антибиотик олинади, сўнгра ҳар бир суюлтирилган пробиркага (0,1 мл дан) таркибида 1 мл да  $10^6$  бактерия хужайраси бўлган (*S. aureus*) бактерия суспензияси қўшилади. Охириги 11 чи пробиркага 1мл бульон ва 0,1 мл бактерия суспензияси (културанинг контроли) 12 пробиркага 1мл бульон ва антибиотик қўйилади (жадвал 13). Экилган пробиркалар  $37^{\circ}\text{C}$  да кейинги кунга қадар термостатда сақлангач, қўйқалашиб ўсган озук муҳит контрол културага - солиштирилади ва тажриба натижаси аниқланади.

Маълумки тетрациклинни ўртача терапевтик дозаси юборилганда унинг К кўрсаткичи 4 мкг/мл тенг (максимал юборилганда 10 мкг/мл). Шундан келиб чиққан ҳолда тетрациклинни  $\text{ТИ} = 0,8 : 4,0 = 0,2 (> 0,3)$ , яъни ўрганилган қўзғатувчи тетрациклинга сезгир экан. Агар максимал дозаси билан даволонса ( $0,8 : 10 = 0,08$ ) жуда яхши натижа бериши мумкин (жадвал 13).

Ичак гуруҳи бактерияларни бу усулда аниқлашда глюкоза ва индикатор қўшилган бульондан фойдаланиш ҳам мумкин. Бактериялар муҳитда глюкозани кислота ҳосил қилиб парчалайди ва муҳит рН нардон тамонга силжайди, бу эса индикаторни рангини ўзгаришига олиб келади. Охириги пробиркадаги озикли муҳит тиниқ ва ялтироқ бўлади, бу эса текшириляётган бактерия култураси ўсишини жуда кам дозадаги антибиотик тўхтатганини кўрсатади



Расм 43. Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш. а - стафилакокк културасини антибиотикларга сезгирлигини диск диффузия усулида аниқлаш; б - битта антибиотикнинг турли дозаси шимдирилган дисклар қўллаш; в- антибиотик дискларни диспенсор ёрдамида қўйиш; г – бактерияларни ўсиши тўхталиб қолган зона диаметрини махсус линейка ёрдамида аниқлаш

**Диск диффузия усули бўйича бактериянинг антибиотикларга сезгирлигини**

**аниқлаш.** Текширилаётган бактерия культураси “газон” усулида озикла агарли Петри косачасига экилади, масалан стандартлаштирилган микроб ( $10^6$  КОЕ/мл) суспензиясини стерил тампон билан ҳўллаб экилади, сўнгра пинцет билан маълум миқдорда антибиотиклар шимдирилган қоғоз дисклари бир хил ораликда агар юзасига жойлаштирилади (43а-расм). Экилган косачалар 37°C да бир кун давомида термостатда сақланади. Диск атрофидаги стафилококк культурасининг ўсиши тўхтаган зона диаметрига кўра, унинг маълум антибиотикларга бўлган сезгирлиги белгиланади.

Охирги йилларда Республикамизда Ўзбекистон- Америка қўшма (“Феникс Интернешнл ЛТД” “Hei Media”) компанияси томонидан ишлаб чиқилган ва антибиотик шимдирилиган дисклар ва уларни қўйишда ишлатиладигон асбоблар кенг қўлланилмоқда (расм 43).

Ҳозирги кунда антибиотиклар шимдирилиб чиқарилаётган қоғоз дискларни бактерияларни ўсишни тўхтатиш зонаси (сезгир, ўртача чидамли ва чидамли) диаметри кўрсатилади. Шунга асосан бактерияларни антибиотикларга сезгирлиги махсус линейкаларда аниқланиб махсус жадваллар ёрдамида унинг сезгирлик даражаси аниқланиб берилади.

Антибиотикларни бактерия экилган агар юзасига қўйишда диспенсор асбобдан фойдаланиш мумкин, унинг авзалиги шундан иборатки, қўйилаётган антибиотиклар бир хил масофага ва уларнинг стериллиги тўлиқ тaminланади ва вақтдан ютилади (расм 43в).

Бундан ташқари махсус ҳалқасимон дисклар бир антибиотикнинг ҳар хил концентрацияси билан шимдирилган бўлса (расм 43б), у ҳолда текширилаётган бактерия культурасининг қўлланилаётган препаратнинг МИК ёки МБК дозаси аниқланади.

**Антибиотикларни одам организмидаги қон, сийдик ва бошқа суюқликларда аниқлаш.** Штативга икки қатор пробиркалар ўрнатилади. Биринчи қаторда эталон антибиотиклар суюлтирилади, иккинчи қаторда эса, текширилаётган суюқлик. Кейин ҳар бир пробиркага Гисс муҳитида глюкоза билан тайёрланган тест-бактерия томизилади. Текширилаётган суюқликда пенициллин, тетрациклин, эритромицин аниқланаётган бўлса, тест-бактерия сифатида Staph. aureus-нинг стандарт штамми, агар стрептомицин аниқланса, у ҳолда — E. coli қўлланилади. Экилган пробиркалар 37°C да 18—20 соат давомида термостатга қўйилади. Кейин муҳитнинг қўйқалашганлиги, ҳамда тест-бактериялар глюкозани парчалаши натижасида индикатор таъсири остида муҳит рангининг ўзгаришига кўра, тажрибадан хулоса чиқариш мумкин. Антибиотик концентрацияси тест-бактериялар ўсишини тўхтатадиган, текшириладиган суюқликнинг энг юқори концентрациясини худди ўша тест-бактериялар ўсишини тўхтатадиган эталон антибиотикнинг минимал концентрациясига кўпайтириш йўли билан аниқланади. Масалан, текширилаётган суюқликнинг тест-бактериялар ўсишини тўхтата оладиган максимал концентрацияси 1:1024 га тенг бўлиб, эталон антибиотикнинг тест-бактериялар ўсишини

Жадвал 14.

Ўсиши тўхтаган зона диаметрининг талқини ва МИК (мкг/мл) нинг эквивалент кўрсаткичи (баъзи бир тез кўпайувчи, учровчи бактериялар учун).

Антибиотик	Дискдаги миқдори (мкг)	Ўсиши тўхтаган зона диаметри, мм			МИК (мкг/мл) нинг эквивалент кўрсаткичи	
		Чидамли	Ўртача чидамли	Сезгир	Чидамли	Сезгир
Ампициллин						
Энтербактериялар учун	10	≤13	14-16	≥17	≥32	≤8
Стафилококклар учун	10	≤28	—	≥29	β –лакт.	≤0.25
β- гемол. Стрептококклар	10	≤18	19-25	≥26	≥8	≤0.25
Бензилпенициллин						
Энтербактериялар учун	10 ЕД	—	—	—	—	—
Стафилококклар учун	10 ЕД	≤28	—	≥29	β –лакт	≤0.25
β- гемол. Стрептококклар	10 ЕД	≤19	20-27	≥29	≥4	≤0.12
Корбенициллин						
Энтербактериялар учун	100	≤19	20-22	≥23	≥64	≤0.16
Стафилококклар учун	—	—	—	—	—	—
β- гемол. Стрептококклар	—	—	—	—	—	—
Ванкомицин						
Энтербактериялар учун	30	≤19	10-11	≥12	≥32	≤4
Стафилококклар учун	30	—	—	≥15	≥32	≤4
β- гемол. Стрептококклар	30	—	—	≥17	—	≤1
Цефпризол						
Наеmophilus spp.	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Стафилококклар учун	30	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
β- гемол. Стрептококклар	30	—	—	≥24	—	≤0.5
Рифампицин						
Наеmophilus spp.	5	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1
S. pneumoniae	5	≤16	17-18	≥19	≥4	≤1
Стафилококклар	5	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1
Канамицин	30	≤13	14-17	≥18	≥25	≤6
Гентамицин	10	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
Стрептомицин	10	≤11	12-14	≥15	—	—
Эритромицин	15	≤13	14-22	≥23	≥8	≤2
Доксициклин	30	≤12	13-15	≥16	≥16	≤4
Норфлоксацин	10	≤12	13-16	≥17	≥32	≤4
Хлорамфеникол	30	≤12	13-17	≥18	≥32	≤8

тўхтата оладиган минимал копцентрацияси эса 0,313 мкг/мг га тенг бўлса, у холда 1 мл текширилаётган суюқликдаги антибиотик копцентрацияси  $1024 \times 0,313 = 320$  мкг/мл ни ташкил этади.

**Staph. aureus** бактериясининг  $\beta$ -лактамаза ишлаб чиқариш хусусиятини аниқлаш.

Қўлланиб келинаётган кўплаб усуллар ичида энг кенг тарқалган  $\beta$ -лактамаза тести хисобланиб, бу усулда нитроцефин - цефалоспорин шимдирилган дисклар қўлланилади, антибиотик гидролизга учраса ранги ўзгаради. Петри косачасидаги озикли муҳитда ўсган микроблар колонияси устига нитроцефин шимдирилган диск қўйилади, 10 дақиқадан (стафилококк учун 60 дақиқа) кийин  $\beta$ -лактамаза ишлаб чиқарувчи бактериялар дискни сариқ рангдан жигар рангига ўзгартиради. Мусбат реакция, текширилаётган культура  $\beta$ -лактамаза ҳосил қилиш хусусиятга эга деб хулоса чиқариш мумкин ва бу культура, ҳамма  $\beta$ -лактамазага сезгир пенциллинларга чидамли хисобланади. Лекин, бу усул билан аниқланган резистентликда культуранинг цефалоспоринларга чидамли экан деган хулоса чиқармаслик керак.

**Бактерияларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлашни янги усуллари.** Охирги йилларда бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлашда компьютерлаштирилган ва автоматлаштирилган системалардан фойдаланилмоқда. Ажратиб олинган культуранинг идентификацияси ва антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш компьютерлаштирилган ва автоматлаштирилган. Бу усулларнинг авзаллиги, асосан бактериология мутахассисларининг ўзоқ давом этувчи идентификация жароёнидаги қўл ишларидан озод қилиш ва юқумли касалликларга ташхис қўйишни ҳам мутдатини камайтиришга қаратилган. Бу усулларнинг қўлланилишининг чегараланиши фақат уларнинг қимматлигидир. Ишлаб чиқилган усулларнинг ичида СНГ давлатларида кенг тарқалган қуйидаги (BaxterScan AutoCAN-4, Система Alamar, E-тест) усуллардир.

**Серияли суялтириш билан антибиотикларга бактерияларни сезгирлигини автоматлаштирилган (Baxter Scan AutoCAN-4) системаси орқали аниқлаш.** Ажратиб олинган культура микропанелларга томизилиб 24 соат ичида антибиотикларга сезгирлигини аниқлаб берилди. Усулнинг моҳияти, муҳитда ўсаётган бактерияларни фотометрия, нефелометрия усулларда уларнинг ўсишини аниқлашга, яъний микропанел лункасида бактерияни ўсиши ёки ўсмаслиги улар ўртасидаги оптик зичликни фарқланишига асосланган. Охирги йилларда кўплаб янги қурилмалар ишлаб чиқилмоқда, масалан VITEK қурилмасида 4-6 соат ичида жавоб олиш мумкин. **E-тест орқали бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш.** Усулнинг моҳияти шундан иборатки лентали маҳсус қоғозга антибиотикларнинг камайиб (128, 64, 32, 16, 8, 4 мкг/мл) боровчи дозаси шимдирилади. Бу усулда ҳам антибиотик шимдирилган лентали қоғозлар стандарт агарга “газон” усулида экилган текширилаётган культура юзасига қўйилади. Инкубация

килингангдан кийин антибиотик шимдирилган лентали қағоз атрофида эллипсисмон ўсиши тўхтаган зона ҳосил бўлади, яъни унинг размери антибиотикни кам дозаси тамонга қараб торайиб боради ва ўсиш зонаси бошланган жойдан олдинги кўрсаткич, препаратни МИК ҳисобланади.

### **Мавзу 11. Микроорганизмлар экологияси. Тупроқ, сув, ҳаво микрофлораси. Атроф муҳит объектларини санитария-бактериология жиҳатдан баҳолаш**

#### **Машғулот программаси**

1. Атроф-муҳитдаги микрофлорани ўрганиш усуллари.
2. Сув, ҳаво ва тупроқни санитария-бактериология усуллари билан баҳолаш.
3. Мембран филтър усули бўйича сувнинг коли-индексини аниқлаш.
4. Кротов аппарати ва седиментация усули билан ҳаводаги микроб сонини аниқлаш.
5. Тупроқнинг перфрингоис-титри ва коли-титрини аниқлаш усуллари.

#### **Намоиш қилинади**

1. Гемолитик стрептококкнинг қонли агарда ўсиши.
2. *Staph. aureus* нинг тухум сариғи ва сут қўшилган тузли агарда ўсиши.
3. *Clostridium perfringens* Китто торади муҳитига экилганда ўсиши.
4. Кротов аппарати, мембранали филтърлар
5. Тупроқ, сув ва ҳавонинг санитария-бактериологик баҳо беришда қўлланиладигон

усулларниг схемалари.

#### **Лаборатория шши бажариш учун топшириқ**

1. Қуйидаги тажрибалар натижасига асосан ҳаво, сув, тупроқнинг санитар бактериологик ҳолатини баҳолаш;
  - а) ҳаводаги микроблар сонини седиментация усулида аниқлаш;
  - б) водрпровод суви ва очик сув ҳавзаларидаги сувнинг умумий микроблар сонни аниқлаш;
  - в) сувнинг коли -титри ва коли-индексини ҳисоблаб топиш;
  - г) тупроқнинг коли-титри ва перфрингенс-титри, микроб сонини ҳисоблаб топиш.

#### **Микроорганизмларнинг экологияси – микроорганизмларнинг ўзаро ва**

ташқий муҳит билан алоқаларини, муносабатларини ўрганувчи фан ҳисобланади. Тиббиёт микробиологиясини ўрганиш объекти бўлиб микроорганизм билан инсон организми ўртасидаги комплекс муносабатлар ҳисобланади.

**Микроорганизмларнинг табиатда тарқалганлиги.** Микроорганизмлар табиатдаги ҳамма (сув, ҳаво, тупроқ) муҳитлард учрайди. Уларнинг бунчалик кенг тарқалишига асосий сабаб уларнинг озикланиш механизмларининг турли кўринишда бўлишидир.

Микроорганизмлар табиатдаги ташқий муҳит омилларига тез мослашади, шунинг учун бошқа организмлар яшаши мумкин бўлмаган шароитларда ва муҳитларда ҳам улар ҳаёт кечиришади. Микроорганизмларнинг бунчалик

табиатда кенг тарқалишига яна бир сабаб, уларнинг ўлчамини ўта кичиклиги ва ҳаво оқимлари сув билан узоқ масофаларга тез тарқалишидир.

Микроорганизмлар маълум яшаш минтақаларда биоценоз (юнон. bios- ҳаёт, + koīnos- бирга яшаш) шакиллантиради. Ҳар бир микроблар биоценози ўзининг аниқ микроорганизмлар таркибига эга бўлиб, шу муҳитнинг аутохтон (юнон. autos- ўзиники + chthon- жой, мамлакат) микроорганизмлари деб юритилади, яъни бу микроорганизмлар шу яшаш муҳитида доим учрайди. Бу микробларни яшаш муҳитига бошқа аллохтон (юнон. allos - бегона, + chthon- жой, мамлакат) бактериялар, паразит микроорганизмлар тушиб қолиши мумкин. Табiiйи биоценозларда (тупроқ, сув, ҳаво) микроорганизмларнинг яшаши ташқий муҳит факторларини таъсирига боғлиқ бўлиб, агар ташқий факторлар уларнинг яшашига ижобий таъсир қилиши ёки факторларнинг таъсирисалбий тамонга ўзгарса, бу биоценоздаги микробларнинг яшаши, кўпайиши тўхтаб қолиши мумкин.

**Биоценоздаги микроорганизмларнинг ўзаро муносабатларини типлари.** Микроорганизмлар бир-бирлари билан ўта кучли рақобатда яшайди. Микроорганизмларнинг биоценозда ўзаро яшаш муносабатлари симбиоз кўринишларда бўлиши мумкин.

**Симбиоз** (юнон. symbiosis- бирга яшамок) микроорганизмларнинг узоқ йиллар маълум муҳитларда бирга ҳаёт кечириши бўлиб, хўжайин хужайрасидан ташқарида яшаса эктосимбиоз: хужайра ичида ҳаёт кечирса эндосимбиоз деб аталади. Эктосимбиозни типик вакилларига ичак бактериялари (E. Coli, Bacteroides ва бош.) мисол бўла олади. Эндосимбиоз вакилларига эса плазмидлар, провируслар, профаглар киради. Табiiйи шароитда симбиозни бир қанча формалари учрайди.

**Мутализм** – (лот. mutuus, ўзаро) симбиозда яшовчи микроорганизмлар ўзаро фойда келтириб яшашлари мумкин. Масалан ичакни нормал микрофлораси, одам учун фойда келтиради (модалар алмашувинида, витаминлар синтезларида ва бош.), шу билан бир қаторда бу

микроорганизмларни доимо муҳитнинг ноқулай шароитларидан (қуриб қолишдан, экстремал температурадан) химояланиб ва озикли муҳитлар етарли бўлишини таъминлаб туради.

**Комменсализм** –симбиоз формаси бўлиб, муҳитда яшовчи микроорганизмлардан бири фойда кўради, лекин иккинчи гуруҳ бактерияларга зиён келтирмайди. Типик комменсал микробларга ичак таёқчаси, лактобактерияларни киритиш мумкин. Лекин кўпчилик комменсал бактериялар шартли патогенлар ҳам бўлиши мумкин, яъни маълум ҳолатларда касаллик келтириб чиқариши мумкин.

**Паразитизм**- антагонистик симбиоз формаси бўлиб, бир гуруҳ бактериялар бошқа организмлар ҳисобига яшаб (текинхўр), унга зиён етказиши (юнон. *para*, олдида, + *sitos*, овқат) тушинилади. Паразит бактериялар хўжайин организмга кириб касаллик келтириб чиқариши мумкин, шунинг учун буларни патоген микроорганизмлар ҳам деб аталади. Паразитларни хужайра ичида яшовчи (вируслар, хломидиялар, риккетсиялар) ва хужайрадан ташқарида яшовчи (кшпчилик бактерия, замбуруғлар) формалари бўлиши мумкин. Баъзи бактериялар яшаш шароитига қараб паразит типига ёки сапрофит бўлиб яшаши кузатилади. Бундай бактерияларни **факультатив паразитлар** ҳам деб аталади. Агар бактериялар ўзлари учун керакли метаболитларни бошқа организмлар ҳисобига тўлиқ ўзлаштиришса бундай микроорганизмларни **облигат паразитлар** деб юритилади.

**Сателлизм**- баъзи бир микроорганизмлар ишлаб чиқарган метаболитлари бошқа бактерияларни кўпайишини стимуллаши мумкин. Масалан сарцинлар ва стафилококклар ўсганда ўсиш фактори ишлаб чиқаришади ва *Naemophilus* авлоди бактерияларини ўсишини стимуллайди. Типик сателлитларга гепатит В вирусини ҳам киритиш мумкин, гепатит дельта вируси гепатит В вируси иштирокида кўпайяди.

**Тупроқ микрофлораси.** Тупроқ микроорганизмлар учун асосий табиий яшаш муҳити ҳисобланиб, табиатнинг шакилланишида, тозаланишида ва



моддалар алмашинувида (азот, углерод, олтингугурт, темир) актив қатнашади. Тупроқ микрофлорасининг таркиби тупроқнинг турига, ишлов берилишига, географик зонасига, намлик, тепература ва органик моддалар билан қанчалик ифлосланишларига ва бошқа хусусияларга боғлиқ.. Тупроқнинг микрофлораси жуда ҳам кўп ва турли бактериялар вакиллари бўлиши мумкин. Тупроқнинг аутохтон микробиоценозига қўйидаги бактериялар киради: микобактериялар, псевдомонандлар, спорахосилқиловчи, азотбириктирувчи, бактериялар, актиномицетлар, замбуруғлар. Бу микроорганизмлар ҳар доим ўсимликлар ва бир –бирлари билан симбиоз қўринишларида яшайди.

Тупроқнинг аллохтон микрофлорасига асосан одам ва хайвонларнинг нормал ва патоген микрофлораси кириши мумкин, лекин бу микроорганизмлар тупроқда кўпаймайди ва маълум давиргача сақланиб туриши мумкин. Шунинг учун тупроқнинг юқумли касалликни манбаси бўлишини эътироф этган ҳолда, патоген бактерияларни тупроқда қанча вақтгача сақланишини билиш ва тупроқни эпидемиологик нуқтаи назардан ҳафсиз эканлигини аниқлашда муҳим практик аҳамиятга эга.

Жадвал 15.

#### Тупроқнинг патоген микроорганизмлари

Тупроқда доимий яшайдиган (резидент) микроблар	Одам ва хайвон чикиндилари билан тупроққа тушадиган микроблар	
	Узоқ вақт сақланадиган микроблар	Қисқа вақт сақланадиган микроблар
Clostridium botulinum, тери ости микозини кетириб чиқарувчи Actinomycetes тури ва баъзи бир микотоксикозлар	Bacillus anthracis, Clostridium tetani, Clostridium - анаэроб юқумли касаллик (гази гангрена) қўзғатувчилари	Salmonella, Shigella, Vibrio, Brucella, Francisella, Mycobacterium, Leptospira, Pseudomonas, энтеровируслар, яшур вируси

**Сув микрофлораси.** Сув ҳам микроорганизмларнинг таббii яшаш муҳитлаидан бири ҳисобланади. Сувнинг микрофлорасининг таркиби шўр

денгиз, океан сувлари ва чучук сув ҳавзаларига боғлиқ. Сувда микроорганизмларнинг токсонмик грппаларининг қарийиб ҳамма вакиллари учрайди. Сув микрофлоралари мажмуасини микроблар планктони деб юритилади.

Сувнинг аутохтон микрофлорасига сувда доимо яшовчи микроблар мажмуаси киради ва кўроқ туроқ микрофлорасига ўхшаб кетади, чунки сув ва тупроқ ўртасида доимо табиий мунособатлар рўй бериб туради (қор, ёмғир). Сувнинг махсус микрофлорасига киради: *Micrococcus candidans*, *M. roseus*, *Sarcina lutea*, *Bacterium aquatilis communis*, *Pseudomonas*, *Leptospira*, *Proteus* анаэроблардан *Clostridium* б *Chromobacterium violaceum*. Аллохтон флорасини эса асосан сувга тасодифан ташқий муҳитдан тушган микроорганизмлар йиғиндиси ташкил қилади ва улар сувда нисбатан узоқ сақланиб турмайди.

Очиқ сув ҳавзаларининг микрофлораси микдорий кўрсаткичлари доим ўзгариб туради, унинг ўзгариб туриши асосан сув ҳавзасини типига, унинг ифлосланиш даражасига, метерологик ҳолатга ва йил фаслларига боғлиқ бўлади.

Сувнинг бактериялар билан ифлосланиши асосан унга ишлатилган чиқинди сувларни тозаланмасдан тушиши оқибатида рўй беради. Сувга бу ифлос сувлар билан одам ва ҳайвонларнинг нормал микрофлорасидан ташқари шартли патогенлар ва патоген микроорганизмлар ҳам тушиши ( ичак юқумли касаллик кўзғатувчилари, туляремия, иерсиниозлар, лептоспирозлар, вируслар полиомиелит, гепатит А ва бош.) мумкин. Бундан ташқари одамлар ва ҳайвонларнинг чўмилиши оқибатида ҳам сувга аллохтон микроорганизмлар тушади. Сув патоген бактерияларнинг кўпайиши учун ноқулай муҳит ҳисобланади. Сув табиий шароитда доимо тозаланиб туради, чунки сувнинг аутохтон микрофлораси кучли антогонистик хусусиятга эга, шу билан биргаликда бу микрофлоралар сувга тушган органик модаларни тез ўзлаштириб олишади ва бу ўз навбатида сувни одам ва ҳайвонлар чиқиндиларидан тозаланишига олиб келади. Лекин сув биоценозида

микроорганизмларнинг миқдорий ва сифат кўрсаткичлари бир хил кўринишда бўлмайди ва турли факторлар таъсирида доимо ўзгариб туради, яъний сапроблик ҳолатига боғлиқдир. Сапроблик (сапроность) термини сув ҳавзасидаги умумий хусусиятлар ва шулар билан бирга сувдаги микроблар таркиби, миқдори ва сувдаги маълум органик, неорганик моддаларнинг концентрациясини белгилайди. Сувнинг доимо тозаланиб туриши оқибатида сувнинг биоценози ўзгариб туради. Ифлосланиш даражасига қараб сув ҳавзаларида полисапроб, мезосапроб, олигосапроб зоналар қабул қилинган.

Полисапроб зонада (ўта ифлосланган) катта миқдорда енгил парчаланувчи органик моддалар сақланади, кислород концентрацияси минимал даражада ва 1 мл сувда миллиондан кўп микроблар учрайди.

Мезосапроб зонада эса оксидланиш ва нитрификацияланиш жараёнлари устин туради, сув тозаланиб боради 1 мл сувда 100 минг атрофида микроблар бўлиши мумкин.

Олигосапроб зонада сувнинг ўз-ўзидан тозаланиши ниҳоясига етган, органик моддалар сув таркибида диярли бўлмайди ва 1 мл сувда 10 дан 1000 микроб бўлиши мумкин.

Патоген бактериялар полисапроб зонада жуда кўп учрайди, секин аста ўлиб, тозаланиб мезосапроб зонада камроқ ва олгосапроб зонада эса диярли учрамайди.

### **Ҳаво микрофлораси**

Сув ва тупроқдан фарқлироқ, ҳавода микроблар фақат ҳаёт қобилиятини вақтинча сақлаб туради, сўнгра нам етишмаслиги, қуёш нурларининг таъсири, ҳарорат ўзгариши, озик моддалар йўқлиги каби ноқулай факторлар таъсирида ўлиб кетади. Микробларни ҳавода сақланиб туришини маълум даражада муоллақ турувчи сув, чанг зарралари таминлаб туради. Уй, турар жой хоналари ҳаво микрофлораси таркиби ва миқдори жиҳатдан атмосфера флорасидан тубдан фарқ қилади. Бактериялар ва уларнинг патоген формалари уй, турар жой хоналарида учраши бирмунча атмосфера ҳаво микрофлорасидан

кўп учрайди, чунки бу муҳитларга касал одам ва ҳайвонлар, бактерия ташиб юривчилардан тушиши мумкин.

Ҳаво микрофлораси ҳам шартли доимо (резидент) топиловчи (*Micrococcus roseus*, *M. flavus*, *M. candidans*, *Sarcina . flava*, *S. alba*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces* ва *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* замбуруғлар ва спорадик доимо топилмайдигон (сув ва чанг зарралари билан тушовчи ) микроорганизимларга бўлинади.

Патоген микроорганизимлар оғиз бўшлиғи ёки нафас йўллари касалланганда атрофдаги ҳавога патоген микроорганизимлар: стафилококк, стрептококк, бўғма, кўк йўтал, сил қўзғатувчилари, вируслардан грипп, кизомиқ қўзғатувчилари тарқалади. Бу микроорганизимлар ҳавода аэрозол таркибида учрайди. Аэрозол- бу коллоид система бўлиб, асосий таркиби ҳаво, суюқлик ёки қаттиқ моддалар, зарраларидан иборат бўлади. Аэрозол ўлчами 10 дан 2000 нм тенг бўлиши мумкин. Одам аксирганда 40 000 дан ортиқ аэрозоллар ҳосил бўлади. Аэрозоллар ўлчами,электрик заряди, ҳаводаги ҳаракат тезлиги бўйича томчи, чангли ва томчи ядроли фазаларга бўлинади. Биз учун энг муҳими томчи ядроли аэрозол бўлиб унинг ўлчами 100 нм атрофида бўлади, аэрозолни бу фазаси узоқ вақт ҳавода сақланиши таркибида маълум миқдорда намлик бўлганлиги учун чидамли аэродисперс системани ҳавода шакиллантиради. Улардаги намлик бактерияларни ҳавода узоқ вақт сақланишини тامينлайди. Масалан, ядроли аэрозолда бўғма қўзғатувчиси 1 суткагача, гемолитик стрептококк 2 кунгача, сил қўзғатувчиси 18 кунгача ҳаёт фаолиятини сақлаб қолиши мумкин. Бу эса одатда ёпиқ биноларда юқумли касалликлар қўзғатувчиларини ҳаво-томчи йўли билан тарқалиши учун қулай шароит яратилади, чунки ҳона ҳавосида патоген бактериялар миқдори кўп бўлиши мумкин.

### **Атроф муҳит объектларини санитария-бактериология жиҳатдан баҳолаш**

Атроф - муҳитдаги турли объектлар: сув, тупроқ, ҳаво ва озиқ-овқат маҳсулотларининг санитария-гигиена ҳолатини баҳолаш учун санитария-

бактериологик текширувлар ўтказилади. Текширув ўтказишдан мақсад кўрсатилган объектларнинг эпидемиология жиҳатидан ҳавфсиз эканлигини аниқлаш. Улардан патоген микроорганизмларни ажратиб олиш, эпидемиологик нуқтаи назардан ҳавфли эканлигини кўрсатади. Бу микроорганизмлар объектларда кам миқдорда бўлиб, улар ҳаво, сув ва тупроқда кўпаймайди, уларни тўғридан-тўғри ажратиб олиш ҳам жуда қийин. Шу боисдан, санитария-микробиология амалиётида ташқий муҳитнинг патоген микроблар билан ифлосланиш эҳтимолини билвосита кўрсаткичлар- санитария-кўрсаткич микроорганизмларини топилиши асосида аниқланади.

Объектнинг микроблар билан зарарланганлигини умумий микроблар сони, (УМС) бўйича аниқлаш мумкин. Яъни, текширилаётган объектларнинг маълум ҳажми ёки массасидаги (1 мл сувда, 1 г тупроқда, 1 м<sup>3</sup> ҳавода) микроорганизмнинг умумий сони аниқланади. Тупроқ ва сувдаги мезофил аэроб ва факультатив бактерияларнинг умумий миқдори бўлиб, агарли муҳитда 37° С ва 24 соатда 2 маротиба каталаштирилганда кўзга кўриновчи колониялар ҳосил қилиши Санитария кўрсаткичли бактерияларнинг борлиги иккита кўрсаткич — (т и т р в а и н д е к с) орқали баҳоланади. Битта санитар кўрсаткич бактерияси топилган сув ва тупроқнинг энг кам миқдorigа титр ва 1 л суюқликда; 1 г тупроқда ёки зич моддада, 1 м<sup>3</sup> ҳавода топилган санитария-кўрсаткичли бактериялар сонига — **индекс** дейилади.

Санитария-кўрсаткичли бактерияларга одам ва ҳайвон организмидаги доимий микрофлоранинг вакиллари кирадн. Улар ичак ёки нафас йўлларида яшайди. Улар қуйидаги хусусиятларга эга:

1) микроорганизмлар доимий равишда одам ва ҳайвонлар организмида яшаши ва ташқий муҳитга , кўп миқдорда нажас ёки нафас йўлларида шилимшиқ томчилар билан ажралиши;

2) микроблар ташқи муҳитда кўпайя олмаслиги (озиқ овқатлардан ташқари) ёки унинг кўпайиши жуда қисқа бўлиши;

3) атроф-муҳитда, ичак ёки нафас йўлида паразитлик қилувчи патоген бактериялар қанча вақт яшаса, улар ҳам шунча вақт мобайнида ёки улардан кўпроқ яшаш қобилиятига эга бўлиши;

4) ташқи муҳитга уларнинг чидамлиги ўзлари сингари яшаш муҳитларига эга бўлган патоген бактерияларга ўхшаш бўлиши ёки улардан устун туриши ва ўз хусусиятини ўзгартирмаслиги;

5) ташқи муҳитда уларга яшаш хусусиятлари яқин бўлган, ўхшаш бактерияларнинг бўлмаслиги;

6) уларни аниқлаш, ажратиб олиш ва идентификация усуллари осон ва экономик жиҳатдан қулай бўлиши;

Келтирилган хусусиятлар бир қатор бактерияларга хос бўлиб, атроф-муҳитдаги турли объектлар учун санитария-кўрсаткич бактериялар деб қабул қилинган (16-жадвал).

Жадвал 16.

Ташқи муҳитнинг хилма-хил объектларида аниқланадиган санитария – кўрсаткич микроблари

Текширилаётган объект	Ифлосланиш характери	Санитар кўрсаткич бактериялар
Сув	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар ( <i>E. coli</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> ) <i>Str. fecalis</i> .
Тупроқ	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар ( <i>E. coli</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> ) <i>Str. fecalis</i> , <i>Clostridium perfringens</i>
	Чирийдигон ташландиқлар	Термофил бактериялар, <i>Proteus vulgaris</i>
Озиқ-овқат махсулотлари	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар, <i>Str. fecalis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
	Оғиз ажралмаларидан	<i>Staph. aureus</i> , <i>St. pyogenis</i>
Кундалик фойдаланиладиган предметлар ва рўзғор буюмлари	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар, <i>Str. fecalis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
	Оғиз ажралмаларидан	<i>Staph. aureus</i> , <i>St. pyogenis</i>
Ҳаво	Оғиз ажралмаларидан	<i>Staph. aureus</i> , <i>St. pyogenis</i>

Ичак таёкчаси гуруҳидаги санитария-кўрсаткичли бактериялар (ИТГБ) *Enterobacteriaceae* оиласининг турли авлодларига мансубдир. Ташқи муҳитнинг хилма-хил объектларига санитария-бактериологик баҳо беришда унга қўйилган мақсад ва вазифаларга асосланиб ИТГБ аниқланадиган санитария – кўрсаткич микроблари нисбатан 3 та груҳга бўлинади.

А. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ қуйидаги талабга жавоб бериши; улар умумий мезофил аэроб ва факультатив анэроб бактериялар бўлиб, озиқли муҳитларда лактоза ва глюкозани ёки фақат глюкозани 37° С кислота ва газ ҳосил қилиб парчалаши ва оксидаза активлигига эга бўлмаслиги керак. Бу ИТГБ га *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* лар киради ва буларни колиформ бактериялар (КБ) деб юритилади. СКБ га бундай талаб табиатан “тоза” бўлган ( сув) ёки термик ишлов берилгандан кийин тоза бўлган объектларга қўйилади. Бундай маҳсулотларда ҳеч қандай ИТГА бўлмаслиги шарт. Бундай маҳсулотларга ичимлик сувлари (артезан, хлорланган водопровод сувлари, дистилланган сув), термик ишлов берилган озиқ-овқат маҳсулотлари ( колбаса, котлетлар, балиқ ва бош.), сут ва сут маҳсулотлари ва дезинфекция сифатини текшириш учун олинган(смывы) ювиндиларда. Ҳамма текшириш, экиш усуллари билан 37° С олиб борилади.

Б. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ бактерияларни аниқланиши ташқи муҳитни вақти маълум бўлмаган давирда нажас билан ифлосланганлигини билдиради. Булар ҳам лактоза ва глюкозани ёки фақат лактозани 43-44, 5° С кислота ва газ ҳосил қилиб парчалаши ва оксидаза активлигига эга бўлмаслиги, яъни бу бактериялар юқори температурада ҳам глюкозани кислота ва газгача парчалаш хусусиятини йўқотмаслигига асосланган, термотолерант колеформ бактериялар (ТКБ). Бу ИТГБ га *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* лар киради. Бундай талаб ИТГБ ташқи муҳит объектларини ифлосланиш эҳтимлидан сақлаб бўлмаслик ҳолатларида қўйилади. Бундай объектларга киради; сув (очиқ ҳавзалардаги, чиқинди сувлар) тупроқ ва термик ишлов

берилгандан кийин ҳам ифлосланиш эҳтимоли юқори бўлган озиқ-овқатлар. Ҳамма текшириш, экиш усуллари 43-44,5° С олиб борилади.

В. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ ни аниқланиши объектларни янги (яқинда) нажас билан ифлосланганлигини билдиради. Бу гуруҳ ИТГБ нинг, олдинги гуруҳлардан фарқи E. coli лактозани 43-44,5° С да кисота ва газ хосил қилиб парчалайди. Шундай қилиб СКБ ҳисобланади:

1. ИТГБ лактоза ва глюкозани кисота ва газ хосил қилиб 37° С да парчаласа.

2. Колиформ бактериялари (ИТГБ) ҳисобланади, қачонки улар лактоза ва глюкозани кисота ва газ хосил қилиб 37° С да 24 соатда парчаласа.

3. Нажас термотолерант колиформ бактериялари (ИТГБ) ҳисобланади, фақат лактозани кисота ва газ хосил қилиб 43-44,5° С да парчаласа.

**Энтерококклар** –энтерококкларнинг ҳамма турлари ва вариантлари санитар кўрсаткич хусусиятни наъмаён қилади ва бир қатор СКБ талабларига жавоб беради:

А. Энтерококклар ичакнинг доимий микрофлораси ҳисобланади, улар ичак таёқчаси миқдоридан кам бўлса ҳам.

Б. Энтерококклар ташқий муҳитда кўпая олмайди.

В. Энтерококклар ташқий муҳитда ўз хусусиятларини ўзгартирмайди ва енгил ажратиб олиш мумкин.

Г. Ташқий муҳитларда энтерококкларни аналоглари йўқ

Д. Энтерококклар ичак таёқчасига нисбатан ташқий муҳитда тезроқ ўлади, шунинг учун уларни аниқлаш, ташқий муҳит объектларини янги нажас билан ифлосланганлигидан дарак бюеради.

Е. Энтерококкларнинг энг асосий хусусиятларидан бири, уларнинг ташқий муҳит омилларига чидамлиги бўлиб, шу асосда уларниг дифференциацияси Шерман тестлари асосида қилинади:



1. Энтерококклар қиздиришга чидамли, 60° С да 30 минутгача чидайди. Шунинг учун уларни термик ишлов бериш ва пастеризацияни сифатини аниқлашда қўлланилади.

2. Энтерококклар юқори концентрацияли ош тузига (6,5-17%) чидамли. Шунинг учун денгиз сувлари ва тузланган маҳсулотларни текширишда қўлланилади.

3. Энтерококклар рН муҳит катта (3 дан 12 гача) фарқланганда ҳам яшашга чидамли ҳисобланади. Шунинг учун нордон маҳсулотларни нажас билан ифлосланганлигини аниқлашда ва шундай маҳсулотлар, чиқинди сувлар ишқорий бўлганда индикатор бактерия сифатида қўлланилади. Бундай шароитларда ичак таёқчаси ўзини типик хусусиятини йўқотиб қийин ажратиб олинади.

4. Энтерококкларни идентификация қилиш учун юқори эликтив муҳитлар ишлаб чиқилган. Ҳозирги кунда сувни миқдорий энтерококкометрияси ҳалқаро стандарт бўйича ишлаб чиқилган бўлиб, қўшимча нажас билан ифлосланиш кўрсаткичи бўлиб хизмат қилади.

5. Очиқ сув ҳавзаларини нажас билан ифлосланиш даражасини аниқлашда нажас ичак таёқчасининг (НИТ), нажас энтерококкларига (НЭ) бўлган нисбатини аниқлаш таклиф қилинган. Агар коэффициент юқори бўлса, яъни НИТ/НЭ нисбати 11 ва ундан юқори, бунда сув ҳавзасига хлорланмаган чиқинди суви тушаётганлигини билдирса, коэффициент 1 ва ундан кам бўлса зарасизлантириш эффе́ктив олиб борилаётганлигини кўрсатади.

**Clostridium perfringens**- ташқий муҳит объектларни ичак микрофлораси билан ифлосланганлигини индикация қилишда кенг қўлланилади. 1925 йилда Уилсон ва Блэйр темир сульфитли муҳитни кластридияларни ажратиб олишда қўллашни таклиф қилишди. Бу муҳитда нажас кластридияларини ташқи муҳитда яшовчи кластридияларидан фарқлаш мумкин. Ичак кластридиялари сульфитни тиклаш хусусиятига эга бўлиб улар кўпайганда муҳит қорайяди, эркин шароитда яшовчи кластридияларда сульфит редуктаза йўқ, шунинг

учун муҳитни рангини ўзгартимайди. Лекин шуни айтиш жоизки муҳитни *E. coli* ҳам қорайтириши мумкин, шуни учун қўшимча микробларни ўсишини тўхтатиш мақсадида экилган экмалар 80° С 15-20 минут сақланади.

Тупроқдан *Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* ва бошқа кластридиялар топилса, у ҳолда тупроқ нажас билан ифлосланганликка анча бўлганлигини кўрсатади. Бу эса уларнинг яқин вақт ичида ёки узоқ давр мобайнида споралар ҳосил қилгани учун, атроф-муҳитда (хусусан, тупроқда) узоқ вақт яшашига имкон беради.

Иссиқни севувчи (термофил) бактерияларга турли- гуруҳдаги бактерияларни (*Lactobacillus lactis*, *Str. thermophilus* ва бошқалар) киритиш мумкин. Улар 60°С да ва ундан ҳам тоқори температурада кўпаяди.

Улар одам ичагида доимо яшамайди ва муҳитни нажас билан ифлосланган деб баҳо беришда критерия ҳам эмас. Қизиган гўнглarda ва компостларда ушбу бактериялар сонининг кескин кўпайиб кетиши тупроқнинг чирийдиган чиқиндилар билан ифлосланганлигини кўрсатади.

*Enterobacteriaceae* оиласи, *Proteae* авлодига (*Proteus vulgaris* ва бошқалар) кирувчи бактериялар табиатда кенг тарқалган. Улар чиритувчи бактериялар бўлиб, кўп миқдорда ҳайвон ва ўсимликларнинг чириётган қолдиқларида учрайди. Қандайдир озик-овқат маҳсулотларидан бундай бактерияларнинг топилиши, чириш жараёни бораётганлигидан дарак беради.

**Гемолитик стрептококклар** (*Str. pyogenes*), нажас стрептококки каби *Streptococcaceae* оиласига киради. Улар бурун-ҳалқум, томоқдаги вақтинчалик микроорганизмлар бўлиб, оғиздаги суяқ томчилар орқали ташқарига тушади. Гемолитик стрептококкларнинг ташқи муҳитда яшаш вақти, нафас йўлидаги ҳаво-томчи инфекциясининг бошқа кўзгатувчилари яшаш вақтидан деярли фарқ қилмайди. Гемолитик стрептококкларнинг уй ҳавосидан топилиши, унинг томоқ, бурун-ҳалқум, одам нафас олиш органларининг юқори қисмидаги ҳаво-томчи инфекциясининг кўзгатувчилари билан зарарланганлигини кўрсатади.

**Staph. aureus** томоқ, бурун-ҳалқум ҳамда одам терисида яшовчи факультатив бактерия ҳисобланади. *Staph. aureus* нинг уй ҳавоси ёки у ердаги предметлардан топилиши, уларни оғиздаги суюқлик томчилари билан зарарланганини билдиради.

Бир вақтнинг ўзида тилла ранг стафилококк ва гемолитик стрептококкларнинг топилиши эса, ҳавонинг жуда ҳам ифлосланганлигидан далолат беради.

### **Тупроқни санитар-микробиологик текшириш**

Тупроқни санитар-микробиологик текширишнинг асосий мақсади қуйидагича:

- янги қурилаётган турар жойлар, касалхоналар, санаториялар, болалар лагерлари, мактабгача ва мактаб бинолари, сув омборларининг тупроқ ҳолатига санитар-микробиологик баҳо бериш;

- аҳоли яшаш пунктларини сув билан тامينланиши, канализация ва чиқиндиларни тозалаш муаммоларини ечиш;

- тупроқ кимёвий моддалар билан ифлосланганда, унга санитар-микробиологик баҳо бериш;

- тупроқ биологик чиқиндилар билан ифлосланганда ундаги табиий тозаланиш жараёнини текшириш;

- тупроқ орқали тарқаловчи юқумли касалликларга эпидемиологик текширувлар ўтказиш.

Кўпгина юқумли касалликларда ва уларни тарқалишида, юқишида тупроқ маълум ролни (сальмонелла, шигелла, патоген клостридиялар, куйдирги касаллиги ва бош.) ўйнайди. Шунинг учун тупроқдаги бу касаллик кўзгатувчилари аниқланади, идентификация қилинади ва тупроқга эпидемиологик жиҳатдан баҳо берилади.

Тупроқни санитар микробиологик текширув усуллари қўйилган мақсад бўйича олиб борилади ва қисқа ва тўлиқ текширувлар ўтказилади.

**Тупроқ наъмунасини олиш.** Санитар бактериологик текшириш учун тупроқ наъмунаси қўйилган мақсад асосида текширилаётган участкани маълум квадратларидан ( 5 х 5 м. кам бўлмаслик керак) “конверт” усулида ( 4 та наъмуна диагональ бўйича ва 1 та

марказдан) олинади. Наъмуналар тупроқни 20-30 см. чуқурлиғидан 200 г, тупроқни бактериологик ифлосланганини аниқлаш учун эса 20 см чуқурлиғидан олинади. Олинган наъмуналар махсус стерил идишларга солиниб лабораторияга жўнатилади. Тупроқ наъмуналари зарур шароит келиб чиққанда 24 соат музлаткичларда сақланишига рухсат берилади.

**Тупроқни текшириш учун тайёрлаш.** Бешта нуктадан олинган тупроқ наъмуналари махсус идишда аралаштирилиб ундан 10-30 г тортиб олинади ва 1 : 10 нисбатда стерилланган водопровод суви билан тупроқ суспензияси тайёрланади ( 10 г тупроқ + 100 мл сув). Бу асосий суспензиядан қўйилган мақсад асосида суюлтирилган (  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ва х.) наъмуналар тайёрланилади. Тупроқни санитар-микробиологик баҳо беришда тупроқдаги УМС ва СКБ коли-титри ва перфрингенс титри аниқланади.

**Тупроқдаги умумий микроблар сонини топиш** — охириги 2 та суюлтирилган наъмунадан озикли муҳитнинг юзасига 0,1 мл олиниб шпател билан (ГПА ёки сусло-агарга) экилади. Экилган эма 48 соат термостатда сақланиб, озикли муҳитларда ўсиб чиққан колониялар сонига қараб 1 г тупроқдаги УМС топилади. Масалан  $10^{-4}$  нисбатда суюлтирилган наъмунадан экилган чашкада 41 колония топилди,  $10^{-5}$  дан эса 33.

$$\text{УМС} = \frac{8 \times 10\,000 + 3 \times 100\,000}{2} \times 10 = 190\,000$$

**Тупроқни коли-титри ва перфрингенс титрини аниқлаш.** Тупроқни коли ёки перфрингенс титри деб, битта ичак таёқчаси ёки перфрингенс топилган тупроқни энг кам миқдорига айтилади. Тупроқдаги ичак таёқчасини коли —титрини аниқлашда электив муҳитлар ишлатилади. Бу муҳитлар таркиби қўшимча микробларни ўсишини тўхтатиб қўйувчи ўт сапроби, генциан виолет тутати, лекин ичак таёқчасини ўсишига тўсқинлик қилмайди. Энг кўп қўлланиладиган суюқ Кисслер муҳити хисобланади, унинг таркибида юқорида айтилган компонентлардан ташқари *E. coli* бижғитиб газ ҳосил қилиши учун пептон ва лактоза тутати. Газ ҳосил бўлганини аниқлаш учун муҳитга бир тамони паятланган шиша пўкак солиб қўйилади, ҳосил бўлган газ пўкакга йиғилади. Тупроқ суспензиясининг суюлтирилганидан 1 мл дан Кисслер муҳити бўлган пробиркаларга экилади ва термостатда 43°C да 48 соат давомида сақланади. 48 соатдан кийин Кисслер муҳити кўздан кечирилади ва мусбат реакцияли пробиркалар (*E. coli* муҳитда газ ҳосил қилиб, лойқатиб ўсади) ажратиб олинади ва Эндо муҳитига мусбат наъмуналардан қайта экилади ва термостатга 37° С 24 соатга қўйилади. Муҳитда тўқ қизил метал сингари товланиб турган колониялар ҳосил бўлса ва суртма тайёрланиб бўяб кўрилганда грам манфий таёқчалар топилса *E. coli* деб хулоса қилинади. Кейинчалик сувнинг коли-титрини аниқлашда қўлланиладиганн схема бўйича анализ ўтказилади ва тупроқни коли титри топилади.

Тупроқ суспензиясининг перфрингенс-титрини топиш учун, турли даражада суюлтирилган суспензиядан 1 мл ( спорсиз бактериялар ўсмаслиги учун суюлтирилган тупроқ суспензияси 80°C да 10-15 минут қиздирилади) дан ёғсиз, стерил сут ёки тайёрланган темир сульфитли Вильсон-Блер муҳит қуйилган пробиркаларга *ex tempore* (тезликда) экилади.

Бу экмалар 43°C да термостатда 24—48 соат давомида сақланади, сўнг сутнинг чириши ёки Вильсон-Блер муҳитининг агарли устунчасида ҳосил бўлган *Cl. perfringens* қора колонияларга кўра хулоса чиқарилади. Колониялардан суртмалар тайёрланиб, Грам усули билан бўялади. Микроскоп остида кўрилгандан сўнг, перфрингенс титри аниқланади.

**Мухит таркиби.** Кесслер мухити 1% пептонли сув, 5% ўт сапро, 0,25% лактоза ва граммусбат бактерияларнинг ўсишини тўхтатиш учун генциан бинафшадан иборат.

**Темир сульфитли Вильсон-Блер мухити** 3% озикли агар, 1% глюкоза, 2% натрий сульфит, 0,08% темир хлориддан қўшилган.

Термофил (иссиқни севувчи) бактерияларни аниқлаш учун суюлтирилган тупроқ суспензиясидан 1 мл Петри косачасига томизилади, устидан эритилган ва совутилган озикли агар қуйилади. Экмалар 60°C да термостатда 1 кун сақланади. Сўнг ҳосил бўлган колониялар саналиб, 1 г тупроқдаги бактерия сони аниқланади.

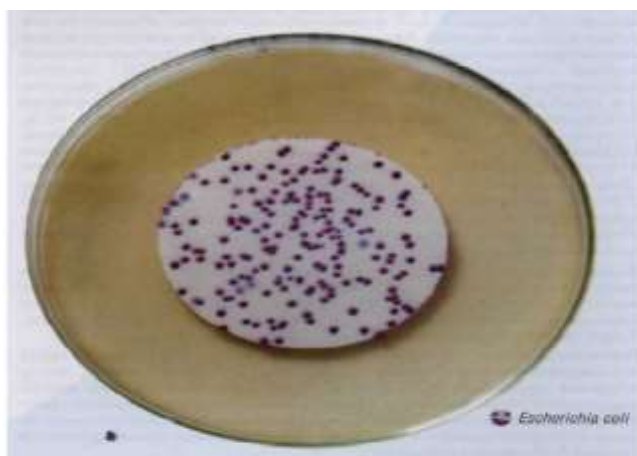
Тупроқнинг санитария-микробиологик ҳолати комплекс кўрсаткичлар бўйича унинг нажас билан ифлосланган даражасига қараб аниқланади ( 17 жадвал).

Жадвал 17.

Тупроқнинг СКБ бўйича тозалик кўрсаткичлари

Тупроқ категорияси	Ичак таёқча титри	Нитрификация-ловчи бактериялар титри	Сl. Perfringens титри	Термофил бактериялар микдори (1,0 г)
Тоза	1,0 ва юқори	0,1 ва юқори	0,01 ва юқори	100-1000
Ифлосланган	0,9-0,01	0,1-0,001	0,009-0,0001	1001-100 000
Ўта ифлосланган	0,009 ва кам	0,0001 ва кам	0,00009 ва кам	10 001-4 000 000

**Сувни санитар-микробиологик текшириш.** Сувнинг умумий микроблар сонини аниқлаш. Усулни моҳияти текшириляётган сувни иккитадан кам бўлмаган наъмунаси 1,0 мл олиниб, озикли муҳитга экиб, ўсган колонияларни санаб ҳисоблашга асосланган. Тадқиқот усулини бажарилиши – текшириляётган сув яхшилаб аралаштирилиб 1,0 мл дан



Расм 44 . Текшириляётган сув наъмунаси фильтрилланган, мембрана филтлда ўсган ичак таёқчаси колониялари

олинган сувлар стерилланган Петри косачасига ( диаметри 90-100 мм) қуйилади, устига 10—12 мл эритилган, 45—49°C гача совутилган озикли агар қуйилади ва яхшилаб сув билан аралаштирилади. Сўнгра экилган материаллар 37°C да термостатда 24 соатга қуйилади. Сўнг ҳар иккала косачадаги агар юзасида ва ичида ўсиб чиққан колониялар сони саналади, қўшилиб иккига бўлиниб, сувнинг 1 мл даги умумий микроблар сони аниқланади (ҳисоблаб топиш тупроқнинг УМС аниқлашга ўхшаш, фақат наъмуна 1.0 мл лингани учун 10 кўпайтирилмайди)

Натижа 1 мл сувда топилган бактерияларни колония ҳосил қилувчи бирлигида (КХҚБ) берилади.

**Умумий ва термотолерант колиформ бактерияларни мембра филтрлаш усулида аниқлаш.** Усулни моҳияти текшириляётган сувни махсус мембрана филтридан ўтказилиб, лактоза тутувчи дифференциал муҳитда ўстириб, культурал ва биохимик хусусиятлари бўйича идентификация қилишга асосланган. Тадқиқот усулини бажарилиши. 3-номерли мембранали филтр Бунзеп колбасига ўрнатилган Зейтц воронкасига жойлаштирилиб, сўнгра вакуум-насос билан бирлаштирилади Мембранали филтрлар олдиндан дистилланган сувда қайнатилиб, стерилланади. Ичимлик сувлари учун наъмуна 300 -500 мл, очик сув ҳавзасидан олинган тоза сув 5, 10, 40, 100, 150 мл ҳажмда филтрланади (расм 40).

Агар сув ниҳоятда ифлослапгаи бўлса, филтрлашдан олдин стерил дистилланган сув билан суюлтирилади.

Ичимлик сувни текширишда 3 объём 100 мл дан олинади, ҳар бир объём сув филтрдан ўтказилади. Филтрлар Петри косачасидаги Эндо муҳити юзасига қўйилади ва 37°C да термостатда 24 соат сақланади. Агар филтр юзасида 24 соат мабойнида колониялар ўсмаса ёки колиформ бактерияларга хос бўлмаган моғар замбуруғлари колонияси топилса, умумий колиформ бактерия (УКБ) ва термотолерант колиформ бактерия (ТКБ) топилмади деб натижа берилади.

Агар мембрана филтрда типик алоҳида ётган лактозамусбат, кизил метал сингари ялтироқ, ёки рангсиз колониялар топилса, ҳар иккала тип колониялар алоҳида саналиб уларнинг УКБ ва ТКБ мансублиги аниқланилади. УКБ тасдиқлаш учун филтрда 5 тадан кам, лекин 3-4 тадан ҳар бир типдаги колониялардан, ТКБ ни тасдиқлаш учун ҳамма типик алоҳида колониялардан 10 тадан ошмаган ҳолда оксидаза активлиги, Грам усулида бўялиши ва лактозани кисота газ ҳосил қилиб ферментлаши аниқланади. Оксидаза тестини қўйишда оксидаза дискларидан фойдаланилади (диметил-п-фенилендиамин шимдирилган филтр қоғози). Мембрана филтрларда колониялар қалин ўсган бўлса, оксидаза диски тўғридан тўғри филтр устидаги колонияларга дистилланган сув билан намлаб қўйилади, кўк ранга кирса реакция мусбат бўлади. Агар филтр юзасидаги ҳамма колониялар оксидазамусбат бўлса текшириш тўхтатилади ва наъмунадан УКБ ва ТКБ топилмади деб жавоб берилади. Агар колониялар оксидаза манфий бўлса текширилаётган колониялар қайта экилиб алоҳида колониялар олинади ва уларни УКБ ва ТКБ мансублиги ўрганилади. Колонияларни УКБ мансублиги грам манфий бактериялар колонияси оксидаза манфий ва лактозани кисота, газ ҳосил қилиб 37°C да ферментация қилса, уларни УКБ мансублиги тасдиқланади. ТКБ мансублиги эса шу тестларни 44°C да аниқланади. Бошқа ҳолларда агар наъмуналардан УКБ ва ТКБ топилмаса текширилган 100 мл сувда КХҚБ УКБ ва 100 мл сувда ва КХҚБ ТКБ топилмади деб жавоб берилади.

Агар мембрана филтрда ўсган колониялар ҳаммаси идентификация қилинган бўлса, ҳамма филтрдаги КХҚБ қуйидаги формула орқали ҳисоблаб чиқилади.

$$X = \frac{A \cdot 100}{V}$$

X — 100 мл сувда топилган колониялар; A — филтрда саналган колониялар суммаси; V — филтрдан ўтказилган сув объёми.

Мисол: 100 мл дан филтрланган 3 та экилган филтрни битасида 1 та колония ўсиб чиқди, қолган 2 та филтрда колониялар ўсмади. Бу ҳолда умумий ва ТКБ миқдори қуйидагича бўлади.

$$X = \frac{1 \cdot 100}{300} = 0,3 \text{ КХҚБ УКБ ва ТКБ } 100 \text{ мл.}$$

Мисол: 10, 40, 100, 150 мл сув филтрланиб экилган филтрладан 40 мл да 4 колония, 100 мл да 3 та алоҳида колониялар аниқланди 10 ва 150 мл сув филтрланган мембрана филтрларда колониялар санаб бўлмади. УКБ ва ТКБ нинг КХҚБ фақат алоҳида колониялар ҳосил бўлган филтрлар олинади ва 100 мл объёмга ҳисобланади.

$$X = \frac{(4 + 3) \cdot 100}{1000} = 5 \text{ КХҚБ } 100 \text{ мл.}$$

Сувнинг коли- индекс ва коли-титрини аниқлаш. Биринчи мисолда УКБ ва ТКБ нинг КХҚБ ги 0,3 -100 мл да бўлса, сувни коли –индекси 1000 мл - 3 га тенг, у ҳолда коли-титр 333

(1000: 3) ташкил этади. Ичимлик суви талабга жавоб беради. Иккинчи мисолда сувни коли-индекси 100мл сув учун 5 га тенг бўлса 1000 мл -50 га тенг, у ҳолда коли-титр 20 мл (1000: 50) ташкил этади. Сув ўта ифлосланган экан.

Умумий ва термотолерант колиформ бактерияларни титрлаш усулида аниқлаш.

Сувдаги умумий ва термотолерант колиформ бактерияларни борлигини ва миқдорини, фильтрлаш усуллари учун зарур асбоблар бўлмаган тағдирда титрлаш (бижғитиш) усулидан фойдаланилади.

### Сувни микробиологик кўрсаткичлари ва уларни назорат усуллари

Жадвал 18.

(Ичимлик суви гигиеник талаблар ва сифатини назорат қилиш ЎЗДС 950: 2000)

Кўрсаткичлар	Ўлчов бирлиги	Нормативлар	Назорат усули
1. Умумий микроблар сони	1 мл сувда микроблар сони	100 дан кўп бўлмаган 1)	ГОСТ 18963-73 ИСО 8360/1-2-88
2. Ичак таёқчалар гуруҳи бактериялар сони (коли индекс)	1000 мл сувда ичак таёқчалари гуруҳи бактериялари (БГКП)	3 дан кўп бўлмаган 1) 2) 3)	ГОСТ 18963-73 ИСО 9308/1-2-90
3. Эширихиялар (янги нажасли (фекал) ифлосланиш кўрсаткичи)	300 мл сувда эширихиялар сони	Йўқ 3) 4)	ГОСТ 18963-73 ИСО 9308/1-2-90
4. Колифаглар	200 мл сувда япроқчалар ҳосил қилиш бирлиги (ЯХБ) сони	Йўқ 4) 7)	ЎзРССВда тасдиқланган услубий кўрсатма

**Бижғитиш усули.** Усулни моҳияти, текшириладиган маълум объёмдаги сувни суюқ озиқли муҳитларга экиб, ўстириб, лактоза тутувчи дифференциал муҳитга қайта экиб ажратиб олиш ва ИСКБ хос бўлган колонияларни культурал ва биохимик хусусиятлари бўйича идентификация қилишга асосланган.

Ичимлик сувини жорий санэпид ишчи назорат кўригидаги сифат текширувда 3 та 100 мл объёмда экилади. Агар сувни УКБ ва ТКБ га миқдорий текширилса, у ҳолда сув 100 мл 3 та, 10 мл 3 та ва 1 мл дан 3 та объёмдан экилади. 100 ва 10 мл объёмли наъмуналардан 1 мл сув концентрацияси юқори бўлган суюқ лактоза пептонли муҳитга экилади, 1 мл объёмли наъмуна эса оддий усулда экилади.

Экилган материаллар 37°C да термостатга бир суткага қўйилади. Пўкакчада газ пуфакчаларининг ҳосил бўлиши, унда бижғиш жараёни кетаётганлигини кўрсатади. Бижғиган ва қуйқа ҳосил қилган намуналардан Эндо муҳитига экилади. Ҳосил бўлган колониялардан суртма тайёрланади, Грам усули билан бўялади ва Escherichia, Citrobacter, Enterobacter оиласига кирувчи бактерияларни сувда яшайдиган грамманфий Pseudomonasceae ҳамда бошқа оксидаза мусбат бактериялардан ажратиш учун окспдаза тести қўйилади. Шу мақсадда муҳит юзасидан шиша таёқча орқали 2—3 та айрим-айрим

жойлашгап колониялар олинади ва диметил-п-фенилендиамин шимдирилган филтър қоғозга штрих билан суртилади. Агарда оксидаза тести манфий бўлса, қоғознинг ранги ўзгармайди ва аксинча мусбат бўлса, қоғоз 1 мин давомиди кўк рангга киради.

Жадвал 19.

**Текширилаётган сувдаги ичак таёқчаси гуруҳининг индексини аниқлаш**

Текширилган сувдаги мусбат наъмуналар кўрсаткичи			Коли индекс	Индекс кўрсаткичи (ишонарли чегара)		Коли титр
3 та наъмуна 100 мл дан	3 та наъмуна 10 мл дан	3 та наъмуна 1 мл дан		Пастки кўрсаткич	Юкори кўрсаткич	
0	0	0	Кам 3	-	-	Кўпроқ 333
0	0	1	3	0.5	9	333
0	1	0	3	0.5	13	333
1	0	0	4	0.5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
1	1	0	7	1	23	143
1	1	1	11	3	36	91
1	2	0	11	3	36	91
2	0	0	9	1	36	111
2	0	1	14	3	37	72
2	1	0	15	3	44	67
2	1	1	20	7	89	50
2	2	0	21	4	47	48
2	2	1	28	10	149	86
3	0	0	23	4	120	43
3	0	1	39	7	130	26
3	0	2	64	15	379	16
3	1	0	43	7	210	23
3	1	1	75	14	230	13
3	1	2	120	30	380	8
3	2	0	93	15	380	11
3	2	1	150	30	440	7
3	2	2	210	35	470	5
3	3	0	240	36	1300	4
3	3	1	460	71	2400	2
3	3	2	1100	150	4800	0.9
3	3	3	Кўп 1100	-	-	0.9 кам

Оксидаза ҳосил қилмайдиган, грамманфий таёқчалар қайтадан бижғитиш усули билан текширилади. Улар 0,5% глюкозали, ярим суюқ, озиқли агарга экилади. ва 37°C да бир сутка давомиди термостатда сақланади. Мусбат натижаларга асосланиб (-жадвал) жадвалига кўра коли-титр ва коли-индекс аниқланади.

**Ҳавони санитар-микробиологик текшириш**



Ҳавони миқдорий микробиологик текшириш усуллари седиментация (чўктириш), аспирация ёки филтрлаш принципига асосланган. Ҳаво микрофлорасини текшириш икки йўналишда олиб борилади. Биринчи йўналиш атмосфера ҳавосига санитар-бактериологик баҳо бериш. Атмосфера ҳавосида СКБ ( стафилококк ва стрептококк) 3,7% ҳоллардагина аниқланади, асосан бу зоналарда одамлар (шаҳарлар) кўп тўпланиши, зич яшашлари мумкин. Ҳаво микрофлорасида асосан тупроқ микрофлораси доменантлик қилади. Атмосфера ҳавосининг бактериал ифлосланганлигини боҳолайдиган нормативлар йўқ.

Ёпиқ хоналар ҳавосини санитар-бактериологик жиҳатдан текшириш планли тартибда яслилар ва болалар боғчаларида, мактаблар, касалхоналар, операция хоналари, дорихоналар, кинотеатрларда олиб борилади.

Даволаш муассасаларининг ҳавоси ҳар бир кварталда бир маротиба давлат СЭС тамонидан жорий текширув ўтказилади. Касалхона бактериологик лабораторияси эса эпид кўрсатма асосида ҳар ойда бир маротиба жорий текширув ўтказади. Гигиеник ва эпидемияга қарши ўтказилаётган жорий текширувларда 1м<sup>3</sup> ҳавосидаги УМС ( умумий микроблар сони) ва СКБ (олтинсимон стафилококк, гемолитик стрептококк ва грам манфий таёқчалар, замбуруғлар ( аптекаларда) аниқланади.

Касалхона хоналари ҳавосида асосан олтинсимон стафилококк, гемолитик стрептококклар 70-30% ҳолларда учрайди. Шу билан бир қаторда операция олди, операция залларида, операциядан кийинги палаталарда, туғриқ залларида ва реонимацияларда бу микроорганизмлар топилмаслиги керак. Ҳаво микрофлорасига санитар –бактериологик баҳо беришда қуйидаги усуллар қўлланилади.

**Седиментацион ( Кох усули) усул.** Асосан ёпиқ хоналар ҳавосини текширишда қўлланилади. Бу усулнинг моҳияти шундан иборатки, озикли агар куйилгап Петри косачаси хонани бир неча жойига очик ҳолда маълум вақтга очик қолдирилади ( кўпроқ 20-30 мин.). Сўнг 37°С да термостатга жойлаштирилади. Косачалардан ўсиб чиққан колониялар сонига қараб 1 м<sup>3</sup> ҳаводаги УМС Омелянский формуласи ёрдамида топиш мумкин.

$$x = \frac{\dots}{b \cdot 10 \cdot t}$$

Бу ерда  $x$  —  $1 \text{ м}^3$  ҳаводаги микроблар миқдори;  $a$ - Петри косачасидаги озикли муҳитда ўсган микроблар сони;  $b$ - Петри косача юза майдони ( $\text{л}^2$ );  $t$  –косача очик турган вақт, минутларда; 5- Омилянсий ҳисоблашидаги вақт; 10- микроорганизмлар чўкиши зарур бўлган ҳаво объёми; 1000 – изланилаётган ҳаво объёми литрда. Ҳисоб қилишда хонага қўйилган ҳар бир косачалардаги микробларо сони аниқланиб унинг ўртача миқдорий кўрсаткичи ( $a$ ) олинади. Текширилаётган хоналарда топилган УМС 250 дан кам колония ўсиб чиқса, ҳаво тоза ҳисобланади. Колониялар сони 250—500 та бўлса, ҳаво ўртача ифлосланган, агар 500 дап ортиқ бўлса ниҳоятда ифлосланган бўлади.

**Аспирацион усул.** Бу ҳаводаги УМС аниқлашда жуда ҳам аниқ усул ҳисобланади. Ҳаво аппарат ёрдамида экилади.

Жадвал 20.

Шифохона хоналарининг функционал вазибалари ва тозалик класслари бўйича, уларнинг ҳавосидаги бактериялар тарқалишининг руҳсат этилган даражаси

№	Тозалик класс	Хоналар номи	Санитар микробиологик кўрсаткич					
			1 м <sup>3</sup> ҳаводаги микробларнинг умумий миқдори (КҲҚБ м <sup>3</sup> )		1 м <sup>3</sup> ҳаводаги Staphylococcus aureus колонияси сони (КҲҚБ м <sup>3</sup> )		1 м <sup>3</sup> ҳаводаги моғар замбуруғларининг миқдори	
			Ишдан олдин	Иш вақтида	Ишдан олдин	Иш вақтида	Ишдан олдин	Иш вақтида
1	Ўта тоза (А)	Операция хонаси, туғриқ заллари, асептик гематологик бокслар, куйганлар, чала туғилган болалар палатаси, аптекалар асептик блоки, бактериологик, вирусологик бокслар	200 дан кўп эмас	500 дан кўп эмас	Бўлмас - лиги керак	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас-лиги керак
2	Тоза (Б)	Операция олди, процедура, боғлаш хоналари, реанимация зали, болалар палаталари, аптека, бактериологик ва клиник лаборатория ишлаш хоналари	500 дан кўп эмас	750 дан кўп эмас	Бўлмас - лиги керак	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас - лиги керак
3	Шартли тоза (В)	Жаррохлик бўлим палата-лари, йўлаклар, операция ва туғриқ залларига туташган хоналар, юқумли касалхна бўлими палатала-ри, бокслар, саматик палаталари ва шифокорлар хонаси, тоза	750 дан кўп эмас	1000 дан кўп эмас	Бўлмас - лиги керак	2 дан кўп эмас	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас-лиги керак

		киймлар ва чойшаблар омборхонаси.						
4	Ифлосланган (Г)	Административ бино хоналари ва йўлаклар, даволаш диогностик бино-ларининг йўлаклар, сани-тар хоналар, хожатхона ва ифлосланган киймлар чойшаблар омборхонаси.	Норма белги-ланма-ган	Норма белги-ланма-ган	Норма белги-ланма-ган			

Кротов аппарати шундай тузилганки, ҳаво маълум тезликда озикли-агарли косача ёпиб турган плексиглас пластинканинг тор ёриғидан сўрилиб, урилади. Бунда микроорганизмларга эга бўлган аэрозол заррачалари бир текис агар юзасига жойлашади, чунки косача ёриғнинг тагида доимий айланиб туради.

Термостатга қўйилгандан сўнг формула бўйича умумий микроб сони ҳисобланади.

$$x = \frac{a \cdot 1000}{v}$$

a — косачада ҳосил бўлган колониялар сони; v— аппарат орқали сўриб ўтказилган ҳавонинг ҳажми, л; 1000—токширилувчи ҳавонинг ҳажми, л.

Ҳаводаги умумий микроблар сонини аниқлаш учун нейтрал озикли агардан, гемолитик стрептококклар учун эса генциан бинафша қўшилган қонли агардан, стафилококклар учун тухим сариғи қўшилган тузли агардан фойдаланилади. Кейинчалик колониялар микроскоп остида кўрилади. Гумон қилинган колониялар эса, қайтадан қонли агарга экилади ва ажратиб олингандан кийин идентификация қилинади.

Қўлланиладиган муҳитлар. Генциан бинафшали қонли агарнинг таркиби-2% озикли агар ва 5—10% фибринсизлантирилган от, куён ёки қўй қони ва генциан бинафшадан (1 :50 000) иборат. Тухум сариғили-тузли агар қуйидагилардан ташкил топган: 2% озикли агар 10% NaCl билан, 20% (ҳажмига кўра) тухум сариғи аралашмаси (200 ил NaCl изотоник эритмасига бир дона товук тухуминини сариғи қўшилади).

Ҳавони текшириш учун бошқа аппаратлардан (Дьяков, Речменский, Киктенко, ПАБ-1 — аэрозол бактериологик намуна олувчи, ПОВ-1 — ҳаводан текшириш учун намуна олувчи аппарат) ҳам фойдаланилади.

Бу аппаратлар ёрдамида маълум ҳажмдаги ҳаво, суюқлик ёки филтрлардан ўтказилади. Сўнгра ўлчаб, озикли муҳитга экилади. ПАБ-1 ва ПОВ-1 аппаратлари ёрдамида кўп ҳажмдаги ҳавони текшириш орқали патоген бактерия ва вирусларни топиш мумкин. Ҳозирги вақтда касалхоналар ичида юқадиган инфекцияларнинг қўзғатувчилари бўлмиш патоген ва шартли-патоген бактсриялари (стафилококклар, кўк-йиринг таёқчалари ва бошқа

грамманфий бактериялар) бевосита жарроҳлик, акушер-гинекологик ва бошқа бўлимларнинг ҳавосини текшириш мобайнида топиш мумкин.

Касалхона ичида стафилококк этиологияли инфекция пайдо бўлганида, текширишлар инфекция манбаини, тарқалиш йўллари аниқлашга қаратилади. Атроф-муҳитдаги объектлардан, шунингдек беморлар ва касалхона хизматчилардан ажратиб олинган стафилококк культураси наъмунасини бир хиллигини уларни фаготипларини текшириш йўли билан аниқланади. Касалхона биноларидаги ҳаволарга мўлжалланган УМС ва *Staph. aureus* сонининг норматив кўрсаткичлари 20 -жадвалда келтирилган.

### **МАВЗУ 12: Одам организми нормал микрофлораси. Болаларда микрофлорани шаклланиши ва уларни ўрганиш усуллари.**

#### **Машғулот программата**

- Одам организмнинг нормал микрофлораси ўрганиш.
- Одам организмдаги индиген ва факультатив микроорганизмларни билиш.
- Нормал микрофлорани инсон организми учун фойдали ва зарали томонлари.
- Дисбактериоз тушунчаси. Дисбактериозга олиб келувчи сабаблар.
- Дисбактериозларни бактериологик диагностикаси.

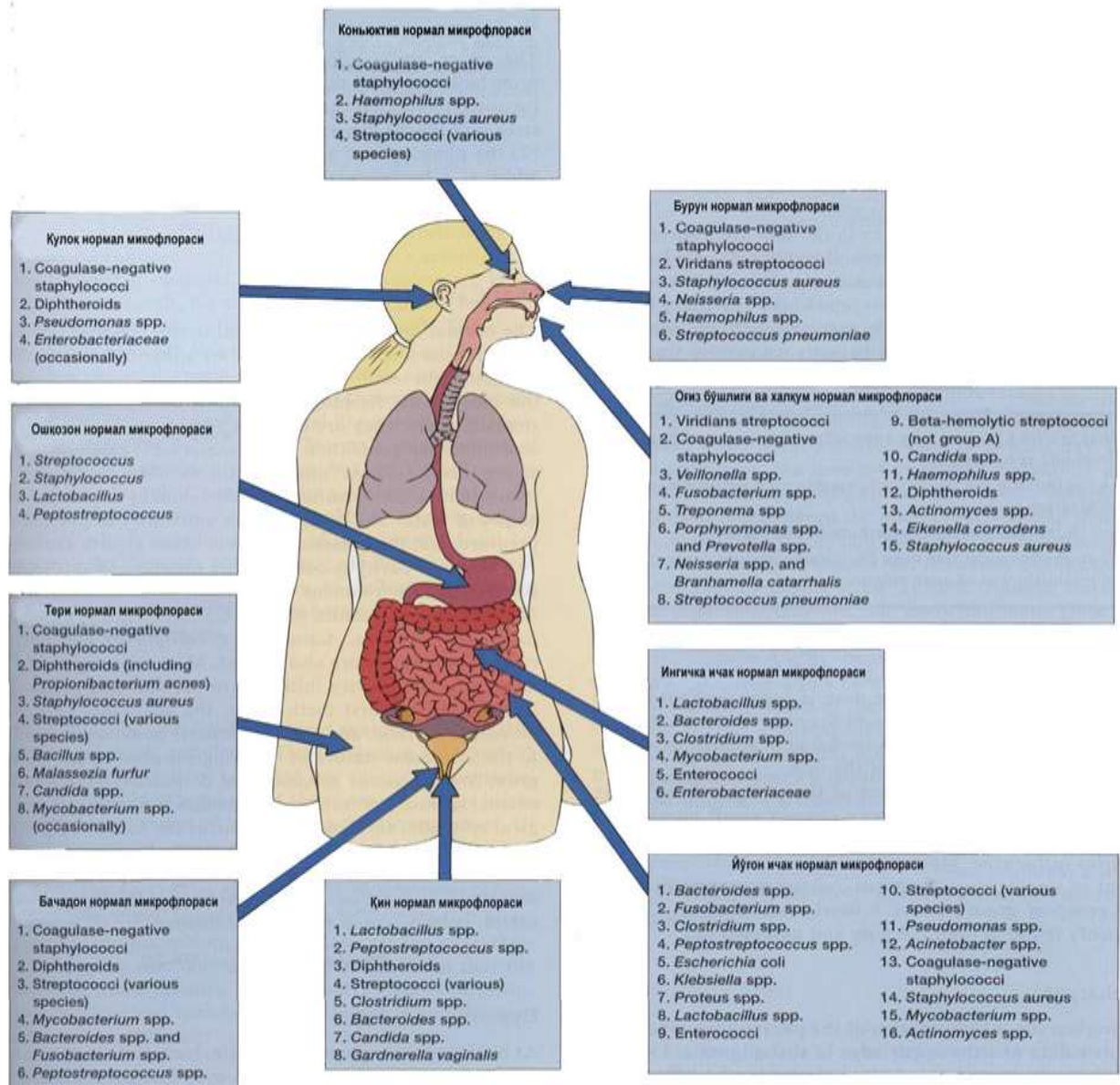
#### **Намоиш қилинади**

- Тери, кўз шиллик қавати, қулоқ, нафас йўллари, оғиз бўшлиғи, ошқозон-ичак ва сийдик таносил органлари нормал микрофлораси акс этирилган жадваллар, расимлар.
- Дисбактериозни аниқлаш учун материаллар олиш ва уларни суюлтириш озиқли муҳитларга экиш усуллари.
- Дисбактериозни аниқлашда қўлланиладиган озиқли муҳитларни

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

- Ичак ва қин микробиоценози сифат ва микродорий таркибини ўрганиш усуллари
  - Оғиз бўшлиғи микрофлорасини ўрганиш учун тиш қарашидан суртма тайёрлаш.
- Бурри ва Грам усулларида бўйаш, микроскопда кўриш.
- Қўл микрофлорасини ўрганиш учун бармоқлардан босма усулида НА ли муҳитига экиш.

**Одамнинг нормал микрофлораси.**Инсон ҳаётини биринчи кунидан бошлаб жуда кўп сон-саноксиз микроорганизм вакиллари билан фавқулотда алоқада бўлиб туради. Она бачадонида ҳомила стерил бўлади. Бола туғилишидан бошлаб, бир неча йиллар ичида ҳар бир биотипга хос микрофлора шаклланади Турли бактериялар ва микроҳаётнинг бошқа вакиллари чақолоқнинг териси ва шиллик қавватлари билан контакта бўлади.Буларнинг баъзилари организм учун патоген бўлса, буларга қарши организм курашиши зарур, бошқалари эса организм билан узвий алоқада



Расм 45. Одамнинг нормал микрофлораси

(симбиоз) яшаб, фойда келтиради, кўпчилиги эса комменсал ҳисобланиб организмга на фойда келтиради на зиён. Инсон организмидаги асосий микроорганизмлар макроорганизм ҳисобига яшайди у билан жуда яқин узвий алоқада бўлиб одамнинг ҳаёт фаолиятида жуда муҳим вазифаларни бажаради. Соғлом одамларда учровчи микроорганизмлар йиғиндиси одамнинг нормал микрофлорасини ёки микробиоценозини ташкил қилади. “Нормал микрофлора” термини асосан соғлом одам организмидан доимо ва кўпроқ

топиладигон микроблар йиғиндисига айтилади. Одамнинг нормал микрофлораси таркибига кирувчи бактериялар 45 расмда келтирилган.

Нормал микрофлора асосан одамларнинг терисида ва ташқий муҳит билан бевоста алоқада бўлган органларида ( юқори нафас йўллари, ошқозон ичак системаси, сийдик таносил органлари) учрайди ва шу органларда микроорганизмларнинг маълум биотопларини, микробиоценозини шакиллантиради. Ҳар бир одам битопида учровчи микроорганизмлар ўзларининг таркиби ва миқдори жиҳатдан бошқа биотоплардан тубдан фарк қилади. Энг кам микроорганизмлар терида учрайди ва организмнинг умумий микроорганизмларга нисбатан 2% ташкил қилади, 9% гача урогенитал трактга, 15-16 % ҳалқум –оғиз бўшлиғига тўғри келса 60-70 % ошқозон ичак трактида учрайди. Микроорганизмларга энг бой органлар оғиз бўшлиғи, қин ва йўғон ичак ҳисобланади.

**Ичак микрофлораси унинг болаларда шакилланиши ва дисбактериоз.** Чақалоқ микрофлора билан туғилмайди, микробиоценозлар болаларнинг ҳаёти жараёнида шакилланади. Она бачадонида ҳомила стерил бўлади. Бола туғилишидан бошлаб, бир неча йиллар ичида ҳар бир биотипга хос микрофлора (онанинг туғиш йўллари, териси, сути, ташқи муҳит – ҳаво, тупроқ озиқ овқатлар микрофлораси ҳисобига) шакилланади.

Меърий ичак микрофлорасининг ҳолатига эндоген ва экзоген омиллар доимий равишда таъсир этиб туради. Экзоген омилларга климатогеографик, экологик, касбий-маиший шароитлар ва бошқалар киради. Эндоген омилларига эса соматик касалликлар, организмнинг турли биотоплардаги шартли-патоген бактериялар келтириб чиқарувчи касалликлар, туғма иммун танқисликлар ва б. киради. Охирги вақтларда микрофлоранинг бузилиши, иммун ва асаб тизимидаги касалликлар билан биргаликда намоён бўлиши кузатилмоқда.

Физиологик шароитда ичак шиллиқ қавати биопленка - бактериал гликокаликс билан қопланган бўлиб, унинг таркибида микробларнинг экзополисахаридлар матрикси ва шиллиқ қават қадахсимон ҳужайраларнинг

муцини мавжуд. Бу пленканинг қалинлиги 1-10 микрон бўлишига қарамасдан, ундаги индиген флора микроколонияларининг миқдори бир неча юз-мингтани ташкил қилиб, бу пленка ичидаги бактерияларнинг ноқулай омиллар таъсирига чидамлилиги бошқа бактерияларга нисбатан ўн, юз мартаба юқоридир.

Нормал ичак микрофлораси 450 дан ортиқ микроорганизмлардан ташкил топиб, ҳужайин организмнинг метаболизмида ва ичакда колонизацион резистентликни шаклланишида иштирок этади. Ичакнинг микроблар тўплами макроорганизмда моддалар алмашинуви жараёнларининг ҳолатини аниқлайди, бир томондан, биологик фаол бирикмаларни зарарсизлантириб, ҳазм бўлмаган озуқа моддаларини ўзлаштиради, иккинчи томондан В гуруҳ витаминларини, витамин К, никотин, фолин ва аскорбин кислоталарни, айрим ферментларни синтезлайди.

Макроорганизмнинг иммунобиологик реактивлигини шаклланишида микрофлоранинг муҳим ўрни эътироф қилинади, бунинг натижасида организмда умумий иммуноглобулинлар миқдори бошқарилади. Шундай қилиб, меърий ичак микрофлорасининг ўзига хос - ҳимоя, модда алмашинуви, иммун фаоллаштирувчи вазифалари аниқланган ва уларнинг бирортасининг издан чиқиши метоболизмнинг бузилишига, натижада микронутриентларнинг - витаминларнинг, микроэлементларнинг, минерал моддаларнинг етишмовчилигига, ҳамда иммун ҳолатнинг пасайишига, бу эса макроорганизм аъзо ва тизимларида қайтмас жараёнларни келиб чиқишига сабаб бўлади.

Меърий ичак микрофлорасининг сифатий ва миқдорий бузилишлари «дисбактериоз» ёки «дисбиоз» термини билан номланади. Бу термин тиббиёт амалиётига 1916 йили А.Нисле томонидан киритилган. Дисбактериоз- инглиз тилида - бактерияларнинг ортиқча ўсиб кетиши синдроми (bacterial overgrowth syndrome), немис тилида эса - бактерияларнинг ҳато ўрнашиши (bakterielle Fehlbesiedlung) деб номланади. Дисбактериоз мустақил нозологик шакл бўлмай, клиник-лаборатор синдром сифатида кўрилади. Унинг пайдо бўлишида турли - туман сабаблар мавжудлиги аниқланган; - одамнинг овқатланиш тури, ёши,

йил фасли, атроф- муҳит ҳолати, сурункали касалликлар мавжудлиги, ошқозон-ичак тизими, ичакнинг жароҳатланиши билан кечувчи ўткир ичак инфекциялари, сурункали колитлар ва энтероколитлар, носпецифик ярали колитлар, ичак инвазиялари, узоқ вақт антибиотиклар, гормонлар ва нур билан даволаниш патологияси ва х.к. Чақлоқларда ва кўкрак ёшидаги болаларда ичак дисбактериози чала туғилганлик, сунъий овқатлантиришга эрта ўтиш, ҳамда онадаги патологиялар (хомиладорлик давридаги оғир токсикоз ҳолат, маститлар ва б.к.) натижасида пайдо бўлади.

Ичак дисбактериозига баҳо бериш буйича кўпгина қулланмалар яратилган ва уларда дисбактериозни аниқлашнинг турли усуллари ва баҳолаш мезонлари мавжуд, чунки мутахассислар турли клиник-лаборатор усулларни ишлатадилар. Ичак дисбактериози шакли, оғирлиги ва компенсация даражаси буйича тавсифланади. Шакли буйича:

- латент (субклиник)
- маҳаллий
- тарқалган (бактериемия, генерализациялашган сепсис инфекцияси, септикопиемия)

Компенсация даражаси буйича :

- компенсацияланган
- субкомпенсацияланган
- декомпенсацияланган

РФ да ичак микрофлорасининг дисбиотик бузилишларини туртта даража буйича баҳолаш таклиф қилишган:

I - даража - бифидо- ва лактофлора меъёрда бўлиб, анаэроб флорадан устун туради.

II - даража - анаэроблар миқдори камайиб, тўлақонли ичак таёқчасининг атипик шакллари пайдо бўлади, қолган микроблар миқдори  $10^3$  -  $10^4$  КХҚБ/г (1г нажасдаги колония ҳосил қилиш бирлиги) ташкил қилади.



III- даража — анаэроб флоранинг кескин пасайиб кетиши, бифидо-ва лактобактерияларнинг умуман бўлмаслиги, бирор бир шартли - патоген флора вакиллари  $10^5$ - $10^7$  КХҚБ/г ва ундан кўп миқдорда пайдо бўлиши.

IV- даража- шартли-патоген микроорганизмлар тўпламининг  $10^6$ - $10^7$  КХҚБ/г ва ундан кўп миқдорда ўсиб кетиши.

Қозоғистон олимлари ичак дисбактериозини уч даражада баҳолашни таклиф қилишган:

I даражали - дисбактериоз ( яширин, компенсацияланган шакли) бунда, аэробларнинг оз миқдорда камайиши, нормал ичак таёкчанинг, коккларнинг сезиларсиз камайиши ёки кўпайиши, анаэробларнинг миқдори эса меъёрнинг пастки чегарасида бўлади. Ичак дисфункцияси кузатилмайди.

II даражали - дисбактериоз (субкомпенсацияланган шакли) бунда, анаэроблар миқдорининг камайиши, ичак таёкчасининг сифатий ва миқдорий ўзгариши ва шартли-патоген микроорганизмларнинг кўпайиши кузатилади. Ичак дисфункциялари пайдо бўлади.

III даражали - дисбактериоз (декомпенсация шакли) облигат анаэроблар миқдорининг камайиб кетиши, ичак таёкчасининг сифатий ва миқдорий ўзгариши ва шартли-патоген микроорганизмларнинг миқдори кўпайиши кузатилади. Кучли ичак дисфункцияси билан кечади.

Ўзбекистон шароитида юқорида таклиф қилинган усуллардан ташқари, дисбактериозни, олимлар Гариб Ф.Ю., Одилов Ш.К., Нарбаева И.Э., ва бошқалар, таклиф қилган усул буйича ташхисланади. Бунда ичак микрофлорасининг ўзгариши икки даража орқали аниқланади:

I - даражали дисбактериозда - ўзгаришлар фақат индиген гуруҳ вакиллари орасида руй беради, бифидо- ва лактобактериялар нормал хусусиятга эга ичак таёкчага нисбатан камайиб кетади. Ичак дисфункцияси намоён бўлмайди.

II- даражали дисбактериозда - нафақат индиген бактериялар миқдори камаяди, балки факультатив гуруҳга кирувчи шартли - патоген бактериялар миқдори ошиб кетади. Ичак дисфункцияси белгилари яққол кўринади.

Бу даражалар дисбактериоз индекси (ДИ) ёрдамида аниқланади.

$$\text{ДИ I} = \frac{\text{E.coli КХҚБ/г}}{\text{Индиген бактериялар КХҚБ/г}} < 0, 1;$$

$$\text{ДИ II} = \frac{\text{Факультатив бактериялар КХҚБ/г}}{\text{Индиген бактериялар КХҚБ/г}} \leq 0, 5;$$

Агар ДИ I > 0,1 ; ДИ II ≤ 0, 5; бўлса, бу дисбактериоз биринчи даражаси хисобланади. Агар ДИ II > 0,5 ; ДИ I нечи бўлишидан қатъий назар дисбактериознинг иккинчи даражаси деб қаралади.

Бу усул оддийлиги билан ажралиб туради, унда микрофлора бузилиши иккитагина кўрсаткич орқали аниқланади. Яъни, нормал микрофлоранинг вакиллари миқдорини меъёрдан пасайиши кузатилса - дисбактериознинг биринчи даражаси, индиген флора миқдори пасайиб, аксинча шартли-патоген флора вакиллари меъёрдан кўпайиб кетса - дисбактериознинг иккинчи даражаси деб қабул қилинди.

### **Қин (вагинал) микрофлораси, унинг қиз болаларда шакилланиши ва ундаги дисбиотик ҳолатлар**

Аёллар жинсий йуллари ички томондан ясси эпителий билан қопланган қин, цилиндрсимон эпителий билан қопланган, бачадон буйни ва морфофизиологик ҳамда биохимик аҳамиятга эга бўлган вагинал секретдан иборат. Шунинг учун ҳам, бу ҳар қайси биотопда маълум бир турдаги микроорганизмлар жойлашган.

Вагинал тузилма кўп қаватли ясси эпителий бўлиб, базал қавати етилиш жараёнида қин ички юзасига ҳаракат қилади. Эпителиоцитлар физиологик

ривожланиш жараёни, уларнинг кўчиши ва юза қаватнинг қалинлиги тухумдонлар гормонлари назорати остида бўлади. Вагинал секрет сероз трансудат ҳисобланиб, таркибида лейкоцитлар, кўчган эпителий хужайралари, бачадон буйни шиллиқ қавати ва бартолин безлари ажратган моддалар бўлади.

Янги туғилган қиз болаларда қин нормада ҳаётининг 1 - соатларида стерил бўлади. 1-сутканинг охирларига келиб, аэроб ва факультатив анаэроб микроорганизмлар тўпланади. Бир неча кундан сўнг лактобактериялар кўпайиши бошланади. Буни қуйидагича тушунтириш мумкин: онадан болага трансплацентар йўл билан ўтган эстрогенлар вагинал эпителийда гликоген тўпланишига олиб келади ва гликоген лактобактериялар кўпайиши учун субстрат ролини бажаради. Бунга қўшимча равишда, гормонлар вагинал эпителийнинг лактобактерияга нисбатан рецептор фаоллигини кучайтиради. Лактобактериялар гликогенни сут кислотагача парчалаб, рН нинг кислотали тарафга (4,4 —4,6 гача) силжишига олиб келади ва кислотали муҳитга сезгир бўлган микроорганизмларнинг ўсиши ва кўпайишига тўсқинлик қилади. Бу даврда чақалоқларнинг микрофлораси соғлом аёл қин микрофлорасига ўхшаш бўлади.

Туғилишдан 3 ҳафтадан сўнг онадан ўтган эстрогенлар тўлик, парчаланиб бўлади ва эпителий юпқа ва "етилмаган" ҳолга келади. Ундаги гликоген миқдорининг камайиши органик кислоталарнинг ҳам камайишига олиб келади ва вагинал муҳит рН 4,5 дан 7,0 гача кўтарилади. рН нинг нейтрал курсаткичга яқинлашуви оксидланиш-қайтарилиш потенциали камайишига ва лактобактериялар миқдорининг пасайишига сабаб бўлади. Бунинг натижасида қатъий анаэроб микроорганизмлар микрофлорада доминантликка эришади. 2 ойлик қиз бола чақалоқларда янги туғилган чақалоқларга нисбатан қин микрофлорасидаги умумий микроблар сони сезиларли даражада паст бўлади.

Пубертатлик даврида қизлар организмида овариал функция ривожланиши натижасида эндоген эстрогенлар пайдо бўлади ва эстроген таъсирида вагинал эпителий хужайраларида гликоген тўпланади. Эпителий қават қалинлашади ва лактобактериялар адгезияси учун рецепторлар сони кўпаяди. Шу даврдан бошлаб, қин микрофлорасида лактобактериялар доминантликка эришади ва бу аёллар бутун репродуктив давригача сақланиб қолади.

Соғлом туғруқ, ёшидаги аёлларда эстрогенлар менструал ҳайз даврининг пролифератив босқичида, прогестерон гормони эса секретор босқичида таъсир этиб туради. Шу сабабли вагинал микрофлора ҳайз даврининг турли давларида (босқичларида) ўзгариб туради. Энг кам микроорганизмлар сони ҳайз даврида аниқланади.

Нормал микрофлоранинг турли аэроб ва қатъий анаэроб микроорганизм вакиллари секретор босқичга нисбатан пролифератив босқичда кўп учрайди. Ҳайз циклининг пролифератив босқичида аёллар организмида инфекцияларга мойиллик ортади. Ҳайз даврининг 2-14 кунларида қинда аэроб бактериялар қатъий анаэроб микроорганизмлардан сон жиҳатдан кўп бўлади, лекин ҳайз даври олдида қатъий анаэроблар аэроб бактериялардан деярли 100 баравар ошиқ бўлади.

Ҳомиладорлик даврида қинда гликоген миқдори ошиб борганлиги туфайли лактобактериялар ҳаёт фаолияти учун қулай шароит юзага келади. Ушбу даврда бактериоидлар, спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроблар ва аэроб Грам (+) шарсимон ва Грам (-) таёкчасимон бактериялар сони камаёди. Бу ўзгаришлар ҳомиладорликнинг 3 триместрида энг юқори нуктага эга бўлади.

Туғруқ қин микрофлораси таркибини сифат ва миқдор жиҳатдан ўзгаришларига сабаб бўлади; спора ҳосил қилмайдиган Грам (-) анаэроб бактериоидлар, эшерихийлар кўпайиб, лакто- ва бифидобактериялар сони камаёди. Туғруқдан 3-4 кун ўтгач, вагинал микрофлора бузилишлари турли

хил асоратлар ривожланишини енгиллаштиради. Лекин бу микрофлора ўзгаришлари транзитор бўлиб, туғруқдан 6 ҳафта ўтгач меъёргача тикланади.

Менопауза даврида генитал трактда эстрогенлар, гликоген ва оксидланиш-қайтарилиш потенциали сезиларли пасайиши бошланади, бифидо- ва лактобактериялар миқдори камайиб, рН нейтрал кўрсаткичга эга бўлади. Микрофлора таркиби сифат ва миқдор жиҳатдан энг паст курсаткичларни ташкил қилади. Қин микрофлорасининг асосий қисмини облигат анаэроб бактериялар эгаллайди.

Аёлларда нормал қин микрофлораси таркибини назорат қилувчи бир қатор омиллар мавжуддир.

Аёллар ҳаётининг маълум босқичларида гормонга боғлиқлик кузатилади; вагинал физиологик ўзгаришлар ва шунга боғлиқ ҳар ойдаги циклик жараёнлар вагинал микрофлоранинг сифат ва миқдорий таркибининг ўзгаришларини келтириб чиқаради. Вагинал микрофлора Грам (+) ва Грам (-) аэроб, факультатив анаэроб ва қатъий анаэроб микроорганизмларни ўз ичига олади (Жадвал 21). Улар вагинал эпителийга адгезия бўлиш ва муҳит учун курашиш каби хусусиятларга эга.

Вагинал микрофлоранинг асосий вакилларидадан бўлган лактобактериялар микроаэрофиллар бўлиб, аёллар қинида уларнинг *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri* турлари кўп учрайди. Соғлом аёлларда лактобактериялар фақат қинда учрамай, балки уретранинг дистал бўлимларида ҳам топилади. Уроэпителиал ҳужайраларда жойлашган лактобактериялар сийдик-таносил трактининг пастки бўлимларини уропатоген бактериялар колонизациясидан ҳимоя қилади. Лактобактериялар қинда  $10^7$  -  $10^9$  КҲҚБ/мл да учрайди. Улар вагинал трактда экзоген микроорганизмлар адгезиясига тўсқинлик қилиб, бошқа бактерияларнинг пролиферациясини чегаралайди.

Лактобактерияларнинг вагинал микробиоценозни назоратининг бир қанча механизмлари аниқланган. Шулардан бири, бу лактобактерияларнинг метаболизми жараёнида сут кислота ва бошқа органик кислоталарнинг ҳосил бўлишидир. Кислоталар қин муҳит рН ни кислотали бўлишини таъминлайди. Вагинал суяқлик муҳит рН ининг паст бўлиши, унинг редокс-потенциалини оширади, шу сабабли, янада шартли патоген анаэроб микроорганизмларнинг ўсишини тўхтатади. Иккинчидан, бу лактобактерияларнинг  $H_2O_2$  ишлаб чиқаришидир. Водород пероксиди *G.vaginalis*, *P.bivia*, *P.disiens*, *Mobiluncus spp.* каби микроорганизмларнинг колонизациясига қаршилик қилади. Учинчидан лактобактерияларга нисбатан вагинал эпителий ҳужайралари юзасидаги юқори адгезивлик хусусиятли омилларнинг борлигидир. Лактобактерияларнинг адгезин моддаси - липотейхоевая кислотади. Булардан ташқари, лактобактериялар бактериоцин, лизоцим, лактацидин, лактацин, ацидолин каби моддаларни ишлаб чиқаради. Қолган вагинал флоралар ҳам ҳар бири ўзига хос функцияларни бажаради.

Жадвал 21.

### Қин биоценозининг микроскопик таснифи

(Е.Ф.Кира бўйича)

Биоценоз ҳолати (типи)	Белгилар тавсифи	Нозологик шакл
Нормоценоз	Лактобактериялар кўп, грам (-) бактериялар, споралар, мицелийлар, псевдогифлар, лейкоцитлар учрамайди, кам миқдорда “тоза” эпителий ҳужайралар бор	Қин биотопининг меъёрий ҳолати
Оралик тип	Лактобактериялар сони кам, грам (+) кокклар, грам (-) таёқчалар учрайди. Лейкоцитлар, моноцитлар, макро-фаглар, эпителиал ҳужайралар мавжуд.	Кўпинча соғлом аёлларда кузатилади, баъзан субъектив шикоятлар ва клиник белгилар юзага келади
Қин дисбиози	Лактобактериялар жуда кам ёки умуман бўлмайди, кўплаб полиморф грам (+) ва грам (-) таёқчали ва коккли микрофлора; “асосий” ҳужайралар бўлади. Лейкоцитлар сони ўзгарувчан, фагоцитоз кузатилмайди ёки тугалланмаган ҳолда бўлади. Суртманинг полимикроб кўриниши.	Бактериал вагиноз

Вагинит (суртманинг яллиғланишга хос тип)	Лейкоцитлар, моноцитлар ва эпителиал хужайралар сони жуда кўп, яққол фагоцитоз кузатилади. Гонококклар, трихомонада, мицелийлар, псевдогифлар ва споралар учрайди.	Номахсус вагинит, сўзак, трихомоноз, микотик вагинит
---	--	--

Қин микрофлораси ҳолатини баҳолаш муҳим аҳамиятга эга бўлиб, ҳозирги кунда кўплаб бактериологик таснифлар таклиф қилинган. Булардан Е.Ф.Кира 1994 йилда ишлаб чиққан қин биоценозини микроскопик характеристикасининг оригинал таснифи алоҳида ўрин тутди. Бу таснифда қин биоценозининг 4 та типига тавсиф берилган ва ҳар бир типга мос келувчи нозологик шакл кўрсатилган (21-жадвал).

Эпидемиологик текширувлар маълумотларига кўра, аёллар жинсий аъзолари юқумли-яллиғланиш касалликлари орасида меъёрий микрофлора таркибий қисмини ташкил этган шартли патоген бактериялар ва замбуруғлар (*U.urealyticum*, *Bacteroides* spp., *Candida* spp. ва бошқ.) келтириб чиқарган яллиғланиш касалликлари асосий ўринни эгаллайди. Бу касалликлар яллиғланишнинг махсус белгиларисиз (симптомларсиз) кечганда ташҳис қўйиш қийинлашади ва касалликнинг сурункали шаклга ўтиши ҳамда асоратлар ривожланиши кузатилади. Вагинал микрофлора таркибида микроорганизмларнинг алоҳида турлари аниқланганда микробиоценоз ҳолатига объектив баҳо бериб бўлмайди ва этиотроп даволаш чора-тадбирлари ўтказиш зарурлиги ҳақидаги саволни ечиш қийинлашади. Фақатгина алоҳида тур микроорганизмларнинг нисбатини аниқловчи микдорий текширувлар ўтказилганда ва уларнинг биологик хоссалари ўрганилгандагина вагинал микробиоценозга характеристика бериш мумкин бўлади.

#### **Ичак ва вагинал микробиоценозининг сифат ва микдорий таркибини ўрганиш усуллари**

Микробиологик текширишлар натижасига таъсир этадиган муҳим омиллардан бири бу, пациентдан биологик материални тўғри олиш ва лабораторияга ўз вақтида етказиш масаласидир. Материални олиш, уни лабораторияга жўнатиш ва керакли озик муҳитларга экиш мавжуд қоидаларга асосланган ҳолда ўтказилади.

Одам микрофлорасида доминант микроорганизмлар ҳисобланган спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроб бактерияларни ажратиш олишда, материал олиб, экишгача бўлган вақтда бу микроорганизмлар  $O_2$  нинг летал таъсиридан ҳимояланган бўлиши лозим. Шунинг учун бемор нажаси транспортировкасида резина тиқинли пробиркалардан

фойдаланилади. Вагинал материал махсус транспорт озик муҳити ҳисобланган – тиогликол озик муҳити солинган резина тиқинли пробиркада олиб келинади. Маълумки, материал олиниб, экишгача бўлган вақт 2 соатдан ошмаслиги керак.

Лабораторияга олиб келинган нажаснинг чуқур қисмидан 1 г тортиб, вагинал суюқлик бўлса 1 мл оламиз ва 9мл буфер эритмасида аралаштирилади. Бу ҳам аэроб, ҳам анаэроб бактерияларнинг бир текис тарқалиши ва уларнинг тирик сақланиши учун шароит яратади. Бу эритмаларни  $10^1$  дан  $10^{10}$  даражасигача суюлтирилади ва уларнинг ҳар биридан тегишли озика муҳитларига турли аэроб, ҳамда анаэроб микроорганизмларни ажратиш олиш учун экилади (22-жадвал)

Анаэроб бактериялар нормал ичак микрофлорасининг 98-99% ни, аэроб флора эса 1-2% ни ташкил қилишини ҳисобга олиниб, уларни ўстиришда кимёвий модда тутадиган газ пакетчалари жойлаштирилган микроанаэроостатдан фойдаланиш мумкин(анароб бактерияларни ажратиш олиш усуллари қаралсин).

Гр (-) спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроб бактериялар натрий-азид кўшилган қонли ва бактериоидлар учун агарларда ўстиралди. Инкубация вақти  $35^{\circ}\text{C}$  да 72 соат Бу озик муҳитларда бактериоидлар яхши ўсади. Бактериоидлар кулранг, тўқ жигарранг, қора колониялар ҳосил қилиб, шакли - грамманфий полиморф таёқча, спора ҳосил қилмайди, каталаза манфий. Бактериоидлар қатъий анаэроб ҳисобланиб, анаэроостатларда 2-4 кун ўстирилади.

Грам (+) қатъий анаэроб бактериялар “Блоурокко” ва “Нime-dia” фирмасининг “Бифидобактериялар учун агар” озик муҳитларида  $37,5^{\circ}\text{C}$ - $38^{\circ}\text{C}$  да 48 соат анаэроб шароитда ўсади. Бифидобактериялар диск кўринишдаги колониялар ҳосил қилади. Бу агарда бошқа анаэроблар ҳам ўсиши мумкин. Шунинг учун колониялардан суртма тайёрланиб кўрилди.

Жадвал 22.

Аэроб ва анаэроб бактерияларни ажратиш олишда суюлтириш даражаларидан фойдаланиш\*

	Озика муҳитлар	Ўсувчи бактериялар	Суюлтириш даражаси									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	БҚА	Бактериоидлар						+		+		+
2.	Блаурокка	Бифидобактериялар					+		+		+	
3.	Карамли муҳит МРС-4	Лактобактериялар				+		+		+		
4.	Эндо	Энтеробактериялар			+		+		+			
5.	5% қонли агар	Кокклар, бактериялар (гемолиз. хус.)			+		+		+			
6.	Тухум сариғи кўшилган тузли агар	Патоген стафилококклар		+		+		+				
7.	Калина муҳити	Стрептококклар D-гурухи			+		+		+			
8.	Шоколадли агар	Гарднерелла		+		+		+				
9.	Сабуро муҳити	Замбуруғлар			+		+					
10.	Вильсон-Блер	Клостридиялар			+		+		+			



муҳити											
--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Эслатма: Тошкент Тиббиёт академияси микробиология кафедраси амалиёт лабораториясининг узоқ йиллик тажрибаси асосида тузилган

Суртмада бифидобактериялар хитой иероглифлари сингари тўғри ёки шоҳланган, X, Y, V кўринишдаги, четлари йўғонлашган таёқча шаклида бўлади. Бифидобактериялар индол ва каталаза ҳосил қилмайди. Нитратларни қайтармайди. Дульцит, глицерин, эритрит, рамнозани парчаламайди.

Лактобактериялар СРМ-4 муҳитида ўстирилади. Бу муҳитда замбуруғлар ўсмаслиги учун унга сорбин кислотаси қўшилди. Экилгандан сўнг Петри косачаси микроанаэрокатга жойлаштирилди, O<sub>2</sub> ни ютувчи катализатор қўйилмади. 37°C да 48 соат термостатда сақланди. Лактобактериялар озик муҳитда йирик, силлик, оқ рангли колониялар ҳосил қилади.

Лактобактериялар – Грам (+) таёқчасимон, микроаэрофил бактериялар бўлиб, улар оксидаза ҳосил қилмайди, ҳаракатсиз, спораси йўқ.

*Gardnerella vaginalis* – Грам (-) ёки грамвариабел коккобациллалар, микроаэрофил бактериялардир. Гарднереллалар *Gardnerella vaginalis* агар ва шоколадли агарда микроаэрофил шароитда ўстирилади. β- гемолизинни аниқлаш учун муҳитга 10% қон қўшилади. Бу муҳитда гарднереллалар кулранг, ялтироқ, силлик, думалок, диаметри 0,25-0,45 мм, атрофида β- гемолизли колония ҳосил қилади

Энтеробактериялар – Грам (-), спора ҳосил қилмайдиган, факультатив анаэроб бактериялардир. Уларни ўстириш учун Эндо муҳитидан фойдаланилади. Лактозонегатив ва лактозопозитив ичак таёқчаси алоҳида-алоҳида ҳисобга олинади. Бу микробларни биохимиявий идентификация қилиш учун Клиглер дифференциал-диагностик озик муҳитидан фойдаланилади. Ҳар бир ичак дисбактериози учун олинган таҳлилда сальмонелла ва шигелла бор-йўқлигига текширилади. Шунинг учун текшириш учун олинган фекалий висьмут-сульфит агар ва Плоскирева муҳитларига ҳам экилади.

Стафилококклар *Staphylococcus agar* № 110 ёки тухум сариғи қўшилган тузли ва қонли агарда ўстирилади. Бу озик муҳитлар 7,5% NaCl, маннит ва желатин тутати. Патоген микроб ҳисобланган *St. aureus* озик муҳитда сариқ пигмент ҳосил қилади. Маннитни парчаланганлигини билиш учун, колонияга 0,04% ли бром-тимол кўки томизилади. Бўёқ сариқ ранг ҳосил қилса, реакция (+) ҳисобланади. Желатинни парчаланганлигини билиш учун колонияга 20% ли сульфосалицил кислотаси (Stone реакцияси) томизилади. Колония атрофида тиниқ, ёруғ зона пайдо бўлса, реакция (+) ҳисобланади. Бундан ташқари стафилококкларни гемолитик ва плазмокоагулаза ҳосил қилиш хусусияти ўрганилди.

Стрептококклар 5% ли қон қўшилган агарда ўстирилди. Бу муҳитда стрептококклардан ташқари каталаза позитив стафилококклар ҳам ўсади. Шунинг учун бактериялар идентификациясида каталаза борлигини аниқловчи тест ўтказиш шарт.

Энтерококклар – стрептококкларнинг Д гуруҳига мансуб микроорганизмлар бўлиб, улар ўтли-эскулинли муҳитда ўстирилади. Энтерококклар эскулинни гидролизга учратиб, эскулетин ва глюкоза ҳосил қилади. Эскулетин темир цитрат билан бирикиб, қора ранг ҳосил қилади.

*Candida* авлоди замбуруғлари хлорамфеникол (400 мг/л) қўшилган Сабуро муҳитида ўстирилади. Бу муҳитда замбуруғлар 24-48 соатдан кейин қаймоксифат, думалоқ, четлари текис колония ҳосил қилади.

Вильсон-Блер муҳити спорали анаэробларни устириш учун мўлжалланган бўлиб, улар қора колониялар ҳосил қилиб ўсади. Шакли грамусбат йирик таёқча, спораси марказда ёки субтерминал жойлашиши мумкин, 0,9 - 9 мкм ўлчамли, якка ҳолда, ёки тўплам ҳолида бўлиши мумкин. Каталаза ҳосил қилмайди.

Мико- ва уреоплазмалар ЭД-1 ва микоплазма учун ишлаб чиқилган агарларда ўстириш мумкин. ЭД-1 озик муҳити куён гўшти ва жигари экстрактдан тайёрланади. Тайёр

экстрактга 2% ли агар-агар, 1% ли пептон, 0,5% ош тузи солиниб, автоклавда 0,5 атмосфера босимида 121<sup>0</sup>С да 20 дақиқа стерилизация қилинади. 2-босқичда иккиламчи ингредиентлардан микоплазма ўсиши учун 40% от зардоби ва асцит суюқлиги, витаминлар, микроблар ва замбуруғларга қарши антибиотиклар қўшилади. Уреаплазмалар ўсиши учун 2 мл 10% ли мочевино ва 0,5 гр. 30% ли линкомицин гидрохлорид қўшилади. Бу муҳитларда мико- ва уреаплазмалар ўсиш натижалари 48-72 соатдан кейин ўрганилди. Кузатишлар бактериоскопик усулда ўтказилди.

Петри косачаларида ўсиб чиққан микроорганизмлар миқдори қуйидаги формула буйича ҳисобланади:

$$M = N \times 10^{n+1}$$

Бу ерда, M-1 г нажасдаги микроблар сони; N- Петри косачасида ўсиб чиққан колониялар сони; n- материални суюлтириш даражаси.

Масалан, агар Петри косачасида 10<sup>6</sup> даражали суюлтиришдан 31 та колония ўсиб чиққан бўлса, юқоридаги формуладан фойдаланиб 1 г материалдаги микроблар сонини топиш мумкин:

$$M = 31 \times 10^{(6+1)} = 31 \times 10^7 \text{ ёки } 3,1 \times 10^8 \text{ КХҚБ/г}$$

Қўлланилган муҳитларда охириги суюлтиришга асосан ўсган микроорганизмлар миқдори аниқланади ва меъёр билан солиштирилади. Меъёрий миқдор кўрсаткичларига нисбатан бузилишларни дисбактериоз деб ҳисобланиб, унинг даражаси аниқланади.

Одам нажаси ёки вагинал суюқлигидан лабораторияда экилган экилмаларни натижалаш. 1 грам нажасда ёки 1 мл вагинал суюқликдаги бактерияларнинг КХҚБ/г ёки млда ҳисоблаб топиш.

**Оғиз бўшлиғи микрофлорасини ва уни ўрганиш.** Оғиз бўшлиғи микрофлорасини ўрганишда бактериологик, яъни 1 мл суюқликда ёки 1 г таркибидаги микроорганизмлар ўрганилади, шиллик қават микрофлораси эса тамға суртма усулида бактериоскопик аниқланади.

Бактериологик текшириш учун материал овқатланмасдан олдин эрталаб ёки овқатланишдан 2 соат кийин оғиз бўшлиғи сўлак суюқлиги стерил пробиркаларга йиғилади. Лабораторияда сўлакдан 1 мл оламиз ва 9мл буфер эритмасида аралаштирилади. Бу эритмаларни 10<sup>1</sup> дан 10<sup>10</sup> даражасигача суюлтирилади ва уларнинг ҳар биридан тегишли озика муҳитларига турли аэроб, ҳамда анаэроб микроорганизмларни ажратиб олиш учун экилади. Текширишни қолган этаплари юқорида келтирилган усуллардан фарқ қилмайди. Оғиз бўшлиғидаги микроблар ва ҳар бир бактерияларнинг 1,0 мл сўлакдаги миқдори ҳисоблаб топилади.

**Оғиз бўшлиғи микрофлорасини бактериоскопик ўрганиш.** Талабалар бир-бирларидан стерил чўп (стерилланган тиш кавлагич чўпи) билан тиш карашидан олиб суртма таёрлашади, Бурри ва Грам усулларида бўяб, микроскопда кўришади ва бактерияларни таъсирини чизиб, оғиз бўшлиғи микрофлораси буйича хулоса қилишади.

**Тери микрофлорасини ва уни ўрганиш.** Тери микрофлорасини ўрганишда ҳам бир неча усуллар қўлланилади. Тери микрофлорасини миқдорий ўрганилганда 1 см<sup>2</sup> тери юзаси микрофлорси аниқланади. Бунинг учун стерил тампон озикли бульон билан намлаб олиниб 1 см<sup>2</sup> тери юзасидан суртиб олинади ва керакли озикли муҳитларга экилади. Озикли муҳитда ўсган колониялар саналиб 1 см<sup>2</sup> теридаги микроблар миқдори (КХҚБ) кўрсатилади. Санитария эпидемиологик текширувларда, нейтрал бульон билан намланган стерил тампон билан бармоқлардан ва теридан ювинди олинади. Бундан ташқари талабалар бармоқлардан тамға суртма усулда ГПА экишади ва тери микрофлорасига эпидемиологик баҳо беришади.

## **Мавзу 13. Бактериялар генетикаси, юқумли касалликлар ва юқумли касалликлар жараёнлари.**

### **Машгулот режаси:**

1. Бактериялардаги модификациялар ва уларни аниқлаш усуллари.
2. Бактериялардаги мутацион ўзгаришлар ва уларни аниқлаш усуллари.
3. Трансформация, трансдукция ва конъюгация тажрибалари ёрдамида бактериялардаги наслий рекомбинацияларни ўрганиш.
4. Бактериоциногенцияни (*E. coli* колицин ва колициноген типини аниқлаш) ўрганиш усуллари.
5. Бактериялардаги патогенлик омилларини.
6. Лаборатория ҳайвонларига экспериментал юктириш ва биологик синамалар қўйиш усуллари.

### **Намойиш қилиш**

- 1, *E. coli* ва бошқа бактерияларнинг S ва R шаклдаги колониялари.
2. *Bac. subtilis* трансформация тажрибаси орқали  $Str^r$  (стрептомицинга чидамлик) хусусиятига эга бўлган трансформантлар (рекомбинантлар) ҳосил бўлиш тезлигини аниқлаш усуллари.
3. Фаг  $\lambda$  dgal билан ўтказиладиган махсус трансдукция тажрибаларига кўра, *E. coli* трансдуктантларининг ҳосил бўлиш тезлигини аниқлаш усуллари
4. *E. coli*  $Hfr$  штаммининг ва *E. coli* F- штаммининг хужайралари билан қўйилган конъюгация тажрибаси натижасида олинган  $leu^+$  рекомбинантларнинг ҳосил бўлиш тезлигини аниқлаш усуллари.
5. Кўпчилик антибиотикларга чидамликни контрол қиладиган R-плазмидани *E. coli* нинг бир штаммидан иккинчисига ўтишида пайдо бўлган рекомбинантларнинг (трансконъюгантларнинг) ҳосил бўлиш тезлигини аниқлаш усуллари.
6. Бактерияларнинг ирсиятига таллуқли албом, расмлар, схемалар, слайдлар.
7. Организмдаги ҳимоя механизмларини тўхтатувчи патоген омилларни: бактерияларда капсулани, агрессив ферментларни, патоген микобактерияларда эса корд-факторни аниқлаш усуллари.
8. Лаборатория ҳайвонларига биологик материалларни юктириш, биологик синамалар қўйиш усуллари.

Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.

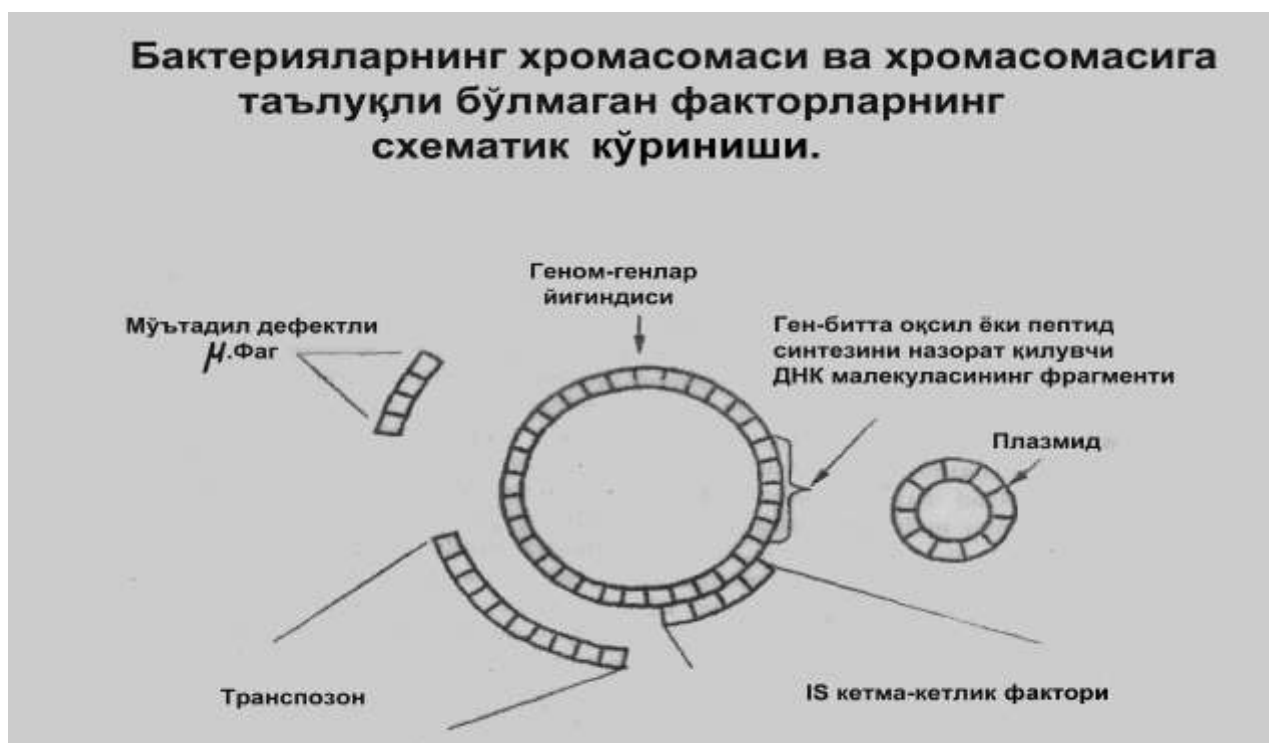
1. *Proteus vulgaris* бактериялари ҳаракатчанлиги йўқотилишининг модификацион ёки мутацион табиатини аниқлаш.
2. Ҳар хил *E. coli* штамларида ўтказилган тажрибалар натижасига кўра Col— плазида борлигини ва уларнинг колициногенотипини аниқлаш.
3. Стафилококкларни патоген омилларини аниқлаш ( плазмокоагулаза, лецитиназа, гемолизин) учун экилган экмаларни натижаларини қайд этиш ва тегишли хулоса чиқариш.

### **1. Бактерияларнинг ирсий материални тузилиши.**

Микроорганизмларда ҳам худди бошқа тирик жониворлар сингари, муайян турга хос белгилар наслдан - наслга ўтиб боради. Бактерияларнинг ирсий маълумотлари хужайрани ДНК сида (хромосомаси ҳам дейилади) мужассамлашган бўлиб, спиралсимон ҳалқа кўринишида бўлади (расм 46). Бу ҳалқа битта нуқтаси билан цитоплазмага бирикиб туради. Хромосома маълум генлардан иборат бўлади. Бактерия хромосомасининг функционал бирлигидан

ташқари бактерияларда, хромосомалардан ҳоли турадиган ирсий маълумотлар сақловчи кичик ДНК фрагментлари учрайди, буларга киради:

Расм 46.



1. Плазмидлар
2. Траспозонлар
3. Мўътадил фаглар ( $\mu$  – фаг)
4. Is- элементлар

**Плазмидлар**- қўшимча ирсий материал бўлиб, икки ипли халқасимон ДНК малекуласидир (расм 46). Улар таркибидаги генлар бактерия хужайрасига қўшимча белги ва хусусиятларни шакллантиради ва уларни селектив имкониятини оширади.

Бактерия хужайрасида плазмидлар икки кўринишда, автоном ва геномга интеграция бўлган ҳолда учрайди. Плазмидлар бактерия хромосомаси бошқарувисиз ўзлари автоном ҳолида репликацияга учраши кузатилади ва уларда ампликация ( битта плазмидни бир неча нусхаси) ҳодисаси наъмоён бўлади ва улар ташиб юрган белги хусусиятларни наъмоён бўлишини кучайтиради. Плазмидлар бактерия хужайраларида кодлаштирилган ва

бошқарувчи функцияларни бажаради. Кодлаштирилган функциясида бактерия хужайрасига янги бир маълумотни ёки белги хусусиятни олиб киради. Бошқарувчилик функциясида эса бактерия метоболизмида рўй берувчи дефектларни ёки геном жароҳатларини тиклаш билан уларни функцияларини мувофиқлаштиради. Ўзларининг таркибидаги белги хусусиятларининг кўринишига қараб плазмидлар фарқланади (жадвал 23).

Жадвал 23.

Плазмидларни хусусиятлари бўйича классификацияси

Категорияси (турлари)	Хусусиятлари.
F- плазмидлар	Донорлик функцияси.(F+ бактерияни эркак типиди.Бактерия мембранасида махсус F-ворсинкаларни синтезини бошқаради, конъюгацияда қатнашади).
R- плазмидлар	Хемотерапевтик препаратларга чидамлилиги хусусиятини шакллантиради.
Col- плазмидлар	Бактериоцинлар( колицин) синтезини амалга оширади.
Ent- плазмидлар	Энтеротоксинлар синтезини амалга оширади.
Hly – плазмидлар	Гемолизинлар синтезини амалга оширади.
Tox - плазмидлар	Экзотоксинлар синтезини амалга оширади
Биодеградатив плазмидлар	Турли кўринишдаги органик ва неорганик бирикмаларни, шунингдек оғир металлларни парчалашда қатнашади.

Бактериялар плазмидларини йўқотиши уларни ўлимига олиб келмайди. Битта бактерия хужайрасида бир нечта функцияларни бажарувчи плазмидлар бўлиши мумкин.

**Миграцияга учровчи элементлар (МУЭ)** – ДНК бўлакчаси бўлиб, геномда кўчиб юриш хусусиятига эга (транспозиция). МУЭ геномда кўчиб юришини улар таркибидаги махсус фермент транспозаза синтезини амалга оширувчи генлар бошқаради. Буларга транспозонлар ва Is- элементлар киради.

**Транспозонлар**- ўзини таркибида 2000-25000 жуфт нуклетид тутувчи ДНК фрагменти бўлиб, икки учиди Is- элементлар ва махсус генлар тутади.

Транспозонлар бактерия геномига бирикканда дупликация, геномдан чиқиш даврида маълум қисмида делеция ва қайта чиқиши ва кириш даврида

180° бурилиш оқибатида инверсия келтириб чиқаради. Транспозонлар ўзлари репликацияга учрамайди, фақат геном таркибида кўпайиши мумкин. Ҳар бир транспозон таркибида махсус структура генлари тутганлиги учун бактерияларда фенотибида янги белги ва хусусиятлар намоён бўлади.

Масалан, антибиотикларга чидамлилиқ хусусиятини намоён қилувчи генлар тутиши мумкин. Битта бактерия ўзининг таркибида бир нечта транспозонлар тутади.

**I<sub>s</sub>- элементлар** – кичик ДНК фрагменти бўлиб, таркибида 800-1400 жуфт нуклеотид тутади. Уларда структура генлари учрамайди, фақат бошқарувчи, транспозицияга учратувчи генлар тутади, яъни транспозон, плазмид, мўътадил фагларни ва ўзини бактерия геномга кириши, чиқишини координация қилиб бошқаради.

**Мўътадил фаглар (μ – фаг)** – плазмидларга ўхшаш бўлиб бактерия хромосомасига интеграция бўлиши ёки автоном ҳолда цитоплазмада учраши мумкин. Бактерия геномига бирикиши (профаг) бактерияда янги белги хусусиятларни ҳосил қилиши мумкин. Мўътадил фаг тутувчи бактериялар лизогенли бактериялар деб аталади ва бошқа фагларга нисбатан толерант бўлиб қолади.

### **Бактериялардаги ўзгарувчанлик турлари**

Бошқа организмлар, жумладан юқори даражали организмлар генетиканинг қайси қонунларига бўйсунса, микроорганизмларнинг ўзгарувчанлиги ва ирсияти ҳам ўша қонуниятларга бўйсунди.

Микроорганизмларда фенотипик ва генотипик ўзгарувчанлик тафовут қилинади.

**Фенотипик ўзгарувчанлик ёки модификациялар**- бу ўзгарувчанлик геномга алоқадор бўлмайди, ўзгаришлар наслдан-наслга ўтмайди ва уларни келтириб чиқарувчи омиллар таъсири тўхтатилиши билан бартараф бўлади ва бактериялар асл хусусиятига ёки кўринишига қайтади.

**Генотипик ўзгарувчанлик** – хужайра геномида ўзгаришлар рўй беради ва геномдаги ахборотларга таъсир кўрсатади. Бунда бактерияларда янги белги хусусиятлар вужудга келиши ёки уларни йўқотиши кузатилади ва бу хусусиятлар наслдан – наслга ўтиши мумкин. Генотипик ўзгарувчанлик асосида мутация ва рекомбинациялар ётади.

Мутациялар жойлашувига қараб бўлинади:

1. Генли (нуқтали)
2. Хромосомали
3. Плазмидли

Келиб чиқишига қараб:

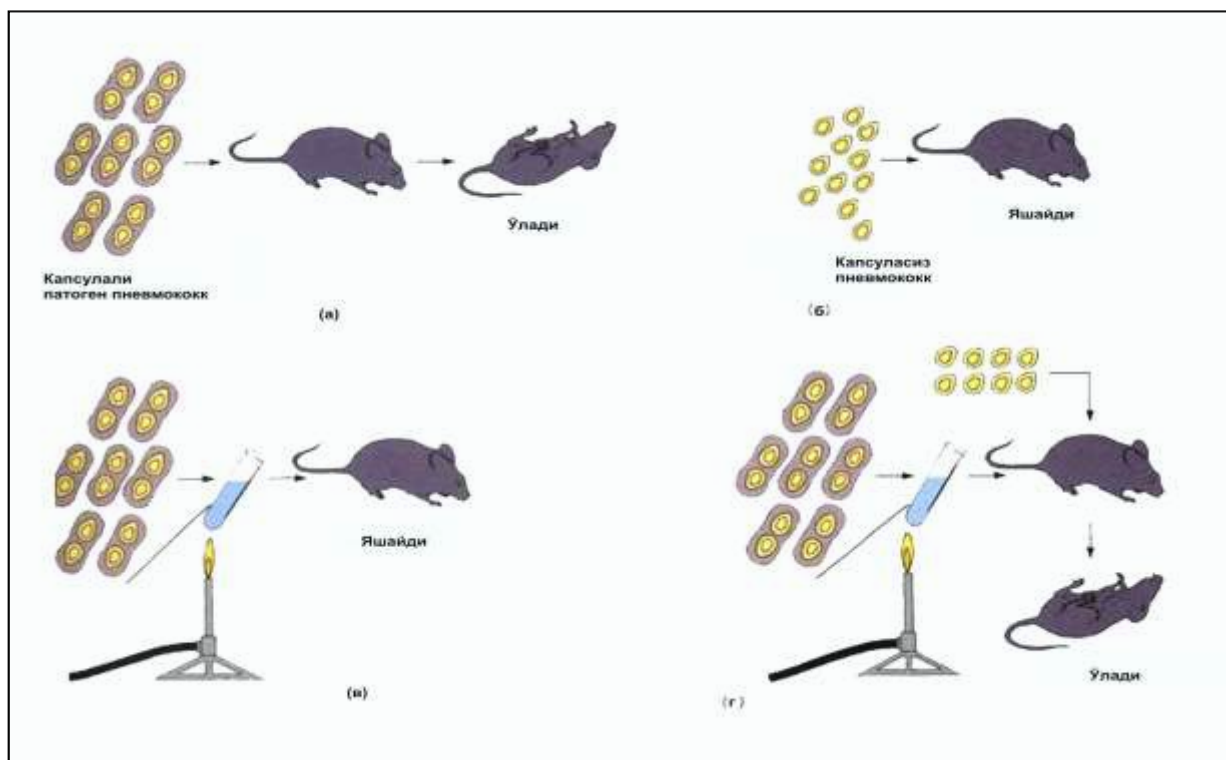
1. Спонтан (келиб чиқиши номаълум)
2. Индукцияланган бўлиши мумкин

Рекомбинациялар- бактериялар ўртасида генетик материал алмашинуви бўлиб, маълум бир белги хусусиятга эга бўлган рекомбинат бактериялар ҳосил бўлади. Бактерияларда қуйидаги рекомбинация турлари тафовут қилинади.

1. Конъюгация
2. Трансформация.
3. Трансдукция.
4. Протопластларни ёпишиши (слияние).

**Конъюгация**- генетик материални донордан реципиентга бевосита бактериялар тўқнашишида ўтишига айтилади. Генетик материални бир бактериядан иккинчисига ўтказишни F- плазмидлар бошқаради (инглизча fertility-пуштлилик деган сўздан олинган). Донор билан реципиент ўртасида ҳосил бўлган конъюгацион кўприкча қанчалик узоқ турса, шунчалик ирсий маълумот кўпроқ ўтади.

**Трансформация**- ДНК донор сақловчи муҳитдан ДНК маълум ажралган фрагментини реципиент хужайрасига ўтказилишига айтилади. Трансформация тажрибасини сичқонларда кўриш мумкин (расм 50). Расмдан кўриниб турибдики сичқон (а) капсулалари патоген пневмококк юктирилганда



Расм 47. Трансформация ҳодисасини сичқонларда тажрибада кўриш

ўлади, капсуласиз пневмакокк юборилганда (б) ўлмаган, капсулали формаси қиздирилганда эса (в) сичқонлар яна ўлмай қолган, қиздирилган капсулали ва тирик капсуласиз формаси аралаштириб юқтирилганда сичқон ўлиб (г) унинг организмидан тирик капсулали пневмакокк ажратиб олинган.

Трансформация даврида реципиент ҳужайралар ўзига хос бўлган компетентлик ҳолатида бўлади. Бу ҳолат реципиент бактерияларнинг актив бўлиниш даврига тўғри келиб, уларда айнан шу даврда ўзининг нуклеин кислотасини репликацияси рўй бераётган бўлади. Бактерия ҳужайраларини бу даврида махсус компитенцион фактор таъсир этади – бу оқсил ҳужайра деворлари ва цитоплазматик мембранани ўтказувчанлигини ошириб юборади. Шунинг учун ДНК фрагменти реципиент ҳужайрасига кириши ва геномига бирикиши кузатилади.

**Трансдукция** – донор ҳужайрасидан генетик маълумотни реципиент ҳужайрасига мўътадил фаглар ёрдамида ташиб ўтказилишига айтилади. Трансдукцияловчи фаглар донордан битта ёки бир нечта генларини ўтказиши мумкин. Трансдукция бўлади:



1. Махсус трансдукция ( мўътадил фаглар хромосоманинг доим бир кисмидан жой олади ва ўзи билан ёнма-ён жойлашган маълум генни олиб ўтказди).

2. Махсус бўлмаган трансдукция (мўътадил фаглар хромосомани турли кисмларига жойлашиши ва турли генларни ўтказиши мумкин).

**Протопластларни ёпишиши** – генетик материални алмашинуви хужайра девори йўқ бактерияларнинг цитоплазматик мембраналарни ўзаро контакти натижасида рўй беради.

### **Юқумли касалликлар ва юқумли касаллик жараёнлари.**

Юқумли касаллик (инфекция) ва жараёнлар- организмга патоген кўзгатувчиларнинг кириши ва тўқималарнинг уларга ҳамда улар ишлаб чиқарадиган токсинларга биологик жавоб реакциялар йиғиндиси ҳисобланади. Юқумли касалликнинг диопазони турлича бўлиб, унинг охириги кўриниши кўйидагича бўлади:

1. Бактерия ёки вирус ташувчилик (персистенция -геномга вирусларни кириб олиши).

2. Юқумли касаллик ( касалликни клиник жиҳатдан намоён бўлиши);

Юқумли касаллик келиб чиқиши кўйидаги факторларнинг ўзаро муносабатларига боғлиқ:

1. Микроб агентини бўлишига;

2. Макроорганизмнинг берилувчанлигига;

3. Муносабатлар рўй бераётган муҳитга;

### **Юқумли касаллик кўзгатувчиси ва уларнинг хусусиятлари**

Бактериялар ичида кўйидагилари касаллик келтириб чиқаради:

1. Патоген турлари;

2. Шартли патоген турлари.

Патоген турлар- нисбий юқумли касаллик келтириб чиқариш хусусиятига эга микроорганизмлар, микроорганизмларнинг касаллик келтириб чиқариши уларнинг патогенлик ва вирулентлик хусусиятларига боғлиқдир.

**Патогенлик** – тур белгиси бўлиб организмга патоген қўзғатувчиларнинг кириши ва тўқималарда патологик ўзгаришларни келтириб чиқариши тушунилади. Патогенлик хусусияти бактерия геномида ёки уларнинг таркибидаги плазмидлар, транспозонлар таркибида бўлиши мумкин.

Шартли патогенлар касаллик келтириб чиқариши мумкин, қачонки организмнинг ҳимоя резистентлиги пасайиб кетиш оқибатида. Бактериялар ўзларини патогенликларини вирулентлик хусусиятлари орқали амалга оширишади.

**Вирулентлик**-штамм белгиси бўлиб, бу хусусиятни миқдорий ҳисоблаш мумкин. Вирулентлик патогенликни фенотипдаги кўриниши ҳисобланади. Вирулентлик факторларига қуйидагилар киради:

1. Адгезивлик- бактерияларнинг эпителийлар юзасига ёпишиб олиши. Адгезив факторларга бактерияларни киприкчалари, адгезив оқсиллари, грам манфий бактерияларда полисахаридлар, грам мусбат бактерияларда тейхой кислотаси, вирусларда махсус суперкапсид оқсиллари, гликопротеинлар киради;

2. Колонизация- бактерияларнинг шиллик қават ва ҳужайра юзаларида кўпайиб йиғилиб қолиш хусусияти;

3. Пенетрация- ҳужайраларга кириш қобилияти;

4. Инвазивлик- тўқималардан ўтиш ва тарқалиш қобилияти. Бактерияларда бу хусусиятни улар ишлаб чиқарувчи патоген ферментлар (гиалуронидаза, нейраминидаза) амалга оширади.

5. Агрессив хусусияти- организмнинг номахсус ва махсус иммун ҳимоя омилларига қарши курашиши. Агрессив факторларга киради:

1. Ҳужайранинг юза структурасига кирувчи турли табиатли моддалар (бактериялар капсуласи, юза оқсиллари ва бош., бу структуралар лейкоцитлар миграцияси ва фагоцитозни сустлаштириши мумкин);

2. Патоген ферментлар- протеазалар, коагулаза, фибринолизин, лецитиназа, РНК-за, ДНК-за;

3. Бактериал токсинлар- бактерияларнинг касаллик келтириб чиқарувчи захарли моддалар ҳосил қилиши. Токсинлар эндо- ва экзотоксинларга бўлинади (Жадвал 24).

Жадвал 24.

#### Бактериал токсинлар характеристикаси

Хусусиятлари	Экзотоксинлар	Эндотоксинлар
Учраши	Грам мусбат ва грам манфий бактерияларда	Грам манфий бактерияларда
Жойлашуви	Ҳужайра ичида ва ташқарида	Ҳужайра ичида
Кимёвий табиати	Оқсил, пептидлар	“ЛПС-оқсил” комплекси
100° С стабиллиги	Стабил эмас	Стабил
Формальдегид билан инактивацияга учраши	Инактивацияга учрайди	Инактивацияга учрамайди
Гомологик АТ билан нейтралзация бўлиши	Тўлиқ нейтралзация бўлади	Қисман нейтралзация бўлади.
Биологик активлиги	Ҳар бир токсин учун индивидуал	Ҳамма токсинлар учун умумий.
Заҳарлилиги*(токсичность)	100- 1 000 000	0,1

\*Стрихнинга нисбатан олинган (стрихнинни активлиги шартли 1 деб кўрсатилган)

#### Услужий кўрсатмалар (генотипик ўзгарувчанлик бўйича амалий кўрсатмалар)

**Proteus vulgaris** бактериялар культурасининг ҳаракатига фенолнинг таъсир қилиш механизмини аниқлаш бўйича тажриба ўтказиш.

Бир кеча-кундузлик культура озикли бульон солинган иккита пробиркага экилади; уларнинг бирига олдиндан концентрацияси 1:100 бўлган фенол эритмаси томизилади.

Термостатда 37°С да 18—20 соат давомида ушлангандан сўнг, улардан «осилган» томчи препарати тайёрланади ва бактериал ҳужайралар ҳаракати текширилади. Протея культурасининг ҳаракати модификацион ёки мутацион ўзгариш натижасида бўлганми-йўқлигини аниқлаш учун фенол Қўшилмаган пробиркадан бульонли бошқа пробиркага экилади ва бир сутка давомида термостатга қўйилади. Сўнгра шу культурадан «осилган» томчи препарати тайёрланиб, ҳаракати текширилади. Йўқолган белгининг қайтадан тикланиши (реверсия) модификацион ўзгариш эканлигини кўрсатади.

**Трансформация тажрибасини ўтказиш.** Рецепиент — *Vac. subtilis Str<sup>s</sup>* (беда таёқчаси, стрептомицинга чидамсиз) штамми. Донор — *Vac. subtilis Str<sup>s</sup>* (стрептомицинга чидамли) штаммдан ажратиб олинган ДНК, таркибида 100 ТБ/мл стрептомицин бўлган озикли агар, рекомбинантларни (трансформантларни) ажратиб оладиган селектив муҳит бўлиб хизмат қилади.

1 мл *Vac. subtilis* бульонли культурасига 1 мкг/мл донорнинг ДНК қўшилади. Аралашма 37°С да 30 мин давомида термостатда сақланади. Сўнгра пробиркага 0,1 мг/мл дан ДНК аза эритмаси 0,5 мл магний хлорид билан томизилади ва 5 мин ушлаб турилади,

бу ўз навбатида рецепиент штаммининг бактериал хужайраларига кира олмаган ДНК ни парчалайди. Ҳосил бўлган стрептомицинга чидамли рекомбинантларни (трансформантларни) аниқлаш учун 0,1 мл суюлтирилмаган аралашмадан (чунки трансформацияланган хужайралар сони жуда ҳам кам) Петри косачасидаги селектив муҳитга экилади. Рецепиент культуранинг хужайра сонини аниқлаш учун натрий хлориднинг изотоник эритмасида  $10^{-5}$ — $10^{-6}$  гача (санаш мумкин бўлган колониялар сонини олиш учуи суюлтирилади) ва 0,1 мл дан стрептомицинсиз, озикли агарга экилади, контрол учун эса стрептомицинли агарга ҳам экилади. Охирги муҳитда рецепиент культура ўсмайди, чунки у стрептомицинга чидамсиз. Экмалар  $37^{\circ}\text{C}$  да инкубация қилинади. Кейинги куни тажрибанинг натижаси кўрилади ва трансформация тезлиги, ҳосил бўлган рекомбинант хужайралар сонининг, рецепиент бактериялар сонига бўлган нисбати билан аниқланади.

Масалан, 0,1 мл рецепиент штаммининг  $10^{-5}$  даражагача суюлтирилган культураси экилганда 170 та колониялар ўсиб чиқди, суюлтирилмаган культурасидан 0,1 мл экилганда — 68 та рекомбинант штаммлар колонияси пайдо бўлди. Ҳар бир колония бир дона бактериянинг кўпайишга натижасида ҳосил бўлганлиги учун 0,1 мл экилган рецепиент штаммининг культурасида яшаш қобилятига эга бўлган  $170 \cdot 10^5$  та хужайра, 1 мл да эса —  $170 \cdot 10^3$  ёки  $1,7 \cdot 10^8$  та бўлади. Шу вақтнинг ўзида 0,1 мл аралашмада 68 рекомбинант хужайра, 1 мл да эса — 680 ёки  $6,8 \cdot 10^2$  хужайра мавжуд бўлади. Шундай қилиб, трансформация тезлиги юқоридаги тажрибага кўра қуйидагига тенг бўлади:

$$\frac{6,8 \cdot 10^2}{1,7 \cdot 10^8} = 4,0 \cdot 10^{-6}$$

**Специфик трансдукция тажрибасини ўтказиш.** Рецепиент — лактоза ферментациясини назорат қилувчи  $\beta$ -галактозидаза оперонидан маҳрум бўлган *E. coli lac (-)* штаммидир. Трансдукция қилувчи фаг — фаг X dgal геномидаги генларнинг бир қисми *E. coli* нинг  $\beta$ -галактозидаза *E. coli* оперони билан алмашган. Бу фаг нуқсонли фагдир, яъни у ичак таёқчаси ичига кираб, уни лизис қила олмайди ва d ҳарфи ҳамда унга кўшиб айтиладиган геномидаги бактерия оперонининг номи — gal билан белгиланади ( $\lambda$  dgal фаг). Эндо муҳити селектив муҳит бўлиб, унда штаммлар рангсиз колониялар ҳосил қилади, чунки бу бактериялар лактозаманфийдирлар. Рекомбинант штаммининг колониялари эса, шу муҳитда лактозамусбат бўлганликлари учун қизил рангли металлга ўхшаш ялтироқ колониялар ҳосил қилади.

1 мл 3 соатли, бульонли рецепиент штаммининг культурасига 1 мл трансдукция қилувчи 1 мл да  $10^6$ — $10^7$  заррача бўлган  $\lambda$  dgal фагдан кўшилади. Аралашма  $37^{\circ}\text{C}$  да 60 мин давомида термостатда сақланади. Сўнгра ўн мартадан айрим-айрим колониялар олиш мумкин бўлгунича суюлтирилади.  $10^{-6}$  даражага суюлтирилган пробиркадан 0,1 мл дан Эндо муҳити солинган учта Петри косачасига экилади ва шпател билан бир текис ёйилади. Косачалар бир кун давомида термостатда сақланади, сўнг тажриба натижаси қайд этилади ва трансдукция тезлиги рекомбинант (трансдуктантлар) хужайраларининг сони, рецепиент штамм хужайралар сонига нисбатан аниқланади. Масалан, 0,1 мл аралашманинг  $10^{-1}$  марта суюлтирилганидан Эндо муҳитига экилганда 138, 170 ва 160 рецепиент штаммининг рангсиз колониялари ҳосил бўлди. Биринчи ва охирги косачаларда — бешта ва битта қизил рангли трансдуктант колониялар пайдо бўлди. Шунга кўра, трансдукция тезлиги қуйидагига тенг:

$$\frac{(5+1) \cdot 10 \cdot 10^6}{(138+170+160) \cdot 10 \cdot 10^6} = \frac{6}{468} = 1,3 \cdot 10^{-2}$$

**Лейцин — синтезини назорат қилувчи, leu генга эга бўлган хромосома фрагментининг берилишини аниқлаш мақсадида конъюгация тажрибаси ўтказиш (-расм).** Донор-штамм *E. coli* K<sub>12</sub> Hfr leu<sup>+</sup> Str.<sup>s</sup> Рецепиент-штамм—*E. coli* K<sub>12</sub> F<sup>-</sup> leu<sup>+</sup>Str<sup>r</sup>. Рекомбинантларни ажратиш олиш учун минимал глюкоза-тузли, яъни (KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> — 6,5 г, MgSO<sub>4</sub> — 0,1 г, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — 1 г, Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> — 0,001 г, FeSO<sub>4</sub> — 0,0005 г, глюкоза — 2 г, стрептомицин — 200 ТБ/мл, дистилланган сувдан — 1 л) иборат бўлган, селектив муҳитдан фойдаланилади.

2 мл 3 соатли рецепиент культурасига 1 мл донорнинг бульонли культураси қўшилади. Аралашма 37°C да 30 мин давомида термостатга қўйилади. Сўнг аралашма 10<sup>-2</sup>—10<sup>-3</sup> даражада суюлтирилади ва 0,1 мл дан Петри косачасидаги селектив агарли муҳитга экилади, бу муҳитда фақатгина рекомбинант колонияси ўсади. Назорат сифатида шу муҳитга донор ва рецепиент штаммлар экилади, аммо улар ўсмайди, чунки, биринчи штамм стрептомицинга чидамсиз, иккинчиси эса, лейцинга муҳтож (ауксотроф). Бундан ташқари, донор штаммининг культураси стрептомицинсиз селектив муҳитга экилади, рецепиент штамм культураси эса — тўлиқ, антибиотикли, озикли агарга ўса оладиган хужайралар сонини аниқлаш учун экилади. Экиланган косачалар кейинги кунгача 37°C да термостатда сақланади. Ўсиб чиққан колониялар сони ҳисоблангандан сўнг рекомбинациянинг тезлиги рекомбинант хужайралар миқдорининг рецепиент хужайралари сони нисбатига кўра аниқланади.

Масалан, 0,1 мл донор ва рецепиент культуралар аралашмасидан 10<sup>-2</sup> даражагача суюлтириб экилганда 150 та рекомбинант колония, 0,1 мл рецепиент культураси 10<sup>-6</sup> тача суюлтириб экилганда 75 та колония ҳосил бўлди. Шундай қилиб, рекомбинация тезлиги қуйидагига тенг бўлади:

$$\frac{150 \cdot 10 \cdot 10}{75 \cdot 10 \cdot 10^4} = \frac{1,5 \cdot 10^5}{7,5 \cdot 10^4} = 2,0 \cdot 10^{-4}$$

**Кўпчилик антибиотикларга: стрептомицин (Str<sup>r</sup>), тетрациклин (Tc<sup>r</sup>) ва хлорамфеникол (Cm<sup>r</sup>) га чидамлиликни назорат қилувчи R-плазмидани ўтказиш учун конъюгация тажрибасини қўйиш.**

Донор-штамм *E. coli* K<sub>12</sub> R<sup>+</sup> Ieu<sup>-</sup> Str<sup>r</sup> Tc<sup>r</sup> Cm<sup>r</sup>. Рецепиент-штамм *E. coli* K<sub>12</sub> R<sup>-</sup> Ieu<sup>+</sup> Str<sup>r</sup> Tc<sup>r</sup> Cm<sup>s</sup>. Селектив муҳит минимал глюкоза тузли муҳит бўлиб, таркибида юқорида кўрсатилган антибиотикларнинг ҳар биридан 50 мкг/мл бор. Стерил пробиркага 1 мл дан 3 соатли донор ва рецепиент бульонли культурасидан қўйилади. Аралашма 37°C да 2 соат давомида термостатга қўйилади ва 0,1 мл дан таркибида учта антибиотик бўлган селектив муҳитга экилади. Бу муҳитда фақат рекомбинант колониялар (транс-конъюгантлар) ўсади, чунки улар антибиотикларга бўлган чидамлиликни қабул қилган. Донор ва рецепиент штаммлар бу муҳитда ўсмайди, чунки биринчиси лейцинга муҳтож, иккинчиси эса антибиотикка чидамсиз. Трансконъюгантларнинг шаклланиш тезлиги трансконъюгант хужайралар сонининг рецепиент штамм хужайралари сони нисбатига кўра аниқланади. Масалан, 0,1 мл рецепиент штаммининг 10<sup>-4</sup> суюлтирилган культурасидан глюкоза-тузли ва лейцинли муҳитда 20 та колония, 0,1 мл суюлтирилмаган аралашмадан экилганда — 60 та трансконъюгант колонияси ҳосил бўлди. Шундай қилиб, трансконъюгантлар ҳосил бўлиш тезлиги қуйидагича:

$$\frac{60 \cdot 10}{20 \cdot 10 \cdot 10^4} = \frac{6 \cdot 10^2}{2 \cdot 10^6} = 3,0 \cdot 10^{-4}$$

**Колициноген факторларни аниқлаш.** Текширилаётган *E. coli* культуралари озикли-агардан иборат Петри косачаларига санчилиб (бир косачасига 7—8 та) экилади. Экилган косачалар 37°C да бир суткага термостатга қўйилади, сўнгра косача қопқоғининг ички томонига хлороформ билан шимдирилган пахта қўйилади, натижада бактериялар ҳалок бўлади. Сўнгра агар устига 3 мл эритилган ва 45°C гача совутилган, ярим суюқ (0,7%) озикли агарга 0,1 мл 4-соатли бульонли индикатор культураси аралаштирилиб, бир текис қилиб қўйилади. Индикатор культура учун колициннинг шу типига сезгир бўлган *E. coli* культураси танлаб олинади. Улар 18—24 соат 37°C ли термостатда сақлангандан сўпг, тажрибанинг натижаси кўрилади. Экилган, текширилаётган культураларнинг атрофида, агар колицин ҳосил қилса, тиниқ-ялтироқ зоналар ҳосил бўлади. Бу эса, индикатор штаммининг ўсиши колицин билан тўхтатилганлигини кўрсатади.

Колицин типини аниқлаш. Петри косачасидаги озикли-агарга колицин-генотиби аниқ бўлган бактерияларнинг эталон штамми санчиб экилади. Материал 37°C да 24 соат давомида термостатга қўйилади, сўнгра хлороформ буғи билан бактериялар ўлдирилади. Кейин агар устига 3 мл эритилган ва совутилган 0,1 мл ноъмалум колицин генотибли (масалан, Col A, Col B ва бошқалар) *E. coli* нинг 4 соатли бульонли культураси билан аралаштирилган ярим суюқ агар бир текис қилиб қўйилади. Орадан 18—24 соат ўтгандан сўнг эталон штаммининг атрофида текширилаётган культуранинг ўсиш ва ўсмаслигига кўра, тажрибадан хулоса чиқарилади. Агар иккала культура (текширилаётган ва индикаторли) бир хил колицин-генотипга, яъни бир хил Col -плазмидаларга эга бўлса, у ҳолда культуралар ўсади. Ёки аксинча, эталон штаммининг атрофида тиниқ зоналар ҳосил бўлади, бу эса бактериялар ўсишнинг тўхтаганлигини кўрсатади.

#### **Юқумли касалликлар диагностикасида замонавий молекуляр генетик усуллар.**

Охирги йилларда молекуляр генетика фанининг ютуқлари тиббиёт амалиётида ва шу жумладан микробиологияда ҳам қўлланилмоқда. Микробиология амалиётида диагностика мақсадда молекуляр гибридизация ва полимераз занжирли реакциялари қўлланилиб, улар ўзининг махсуслиги ва ўта сезгирлиги туфайли юқумли касалликлар диагностикасида кенг қўлланилмоқда. Бу усул патологик материалда изланилаётган бактерия ёки вируснинг ягона ген нусхаси (бир молекула ДНК ёки РНК) бўлганда ҳам унинг мавжудлигини аниқлашга имкон беради ва юқумли касаллик кўзгатувчиси патологик материалда борлигини исботлайди.

#### **Молекуляр гибридизация (молекуляр зонд усули)**

Бу усул икки ипли ДНК молекулясини қиздириш ( 80 -100° С), денатурация ёки ишқор билан ишлов бериш натижасида ДНК занжирининг ажралиши ва унинг ҳароратнинг (ренатурация) пасайиши (40-60 ° С) оқибатида Н боғлари ёрдамида ДНК занжирнинг даслабки икки ипли кўринишини тикланиши механизмига асосланган.

Ажралган ДНК занжирлари нуклеотидлар жойлашишида комплементар бўлакка эга бўлган бошқа ДНК фрагментлари билан гибридизацияга қодир. Комплементар ишлар гибридизациясига шунингдек, РНК ҳам қодир, ДНК – РНК ёки РНК-РНК комплексини ҳосил қилади.

Молекуляр гибридизация учун зарур бўлган ДНК ва РНК бўлаклари ёрдамида текширилаётган материалда нуклеин кислотанинг комплементар ишлари бор-йўқлиги аниқланади ва бу бўлақлар молекуляр зонд деб аталади.

Молекуляр зонд турли хил бактерия ва вируслардан ажратиб олинган нуклеин кислоталаридан тайёрланади ва баъзида вирус иРНК сидан ҳам фойдаланилади. Охирги йилларда ДНК нинг клонлаштирилган рекомбинанти зонд бўлиб хизмат қилмоқда.

Ҳозирги кунда кўпчилик вирусларни ва бактерияларни аниқлаш учун рекомбинант зонд тўпламлари мавжуд ва улар актив ишлаб чиқилмоқда.

Молекуляр гибридизация реакциясини қўйишда зондлар радиактив (P-32), флюоресцент ёки биотинли белгилар билан нишонланади ва аниқланаётган текширилувчи материал билан бирлаштирилади (материал изланилаётган агентни нуклеин кислотасини

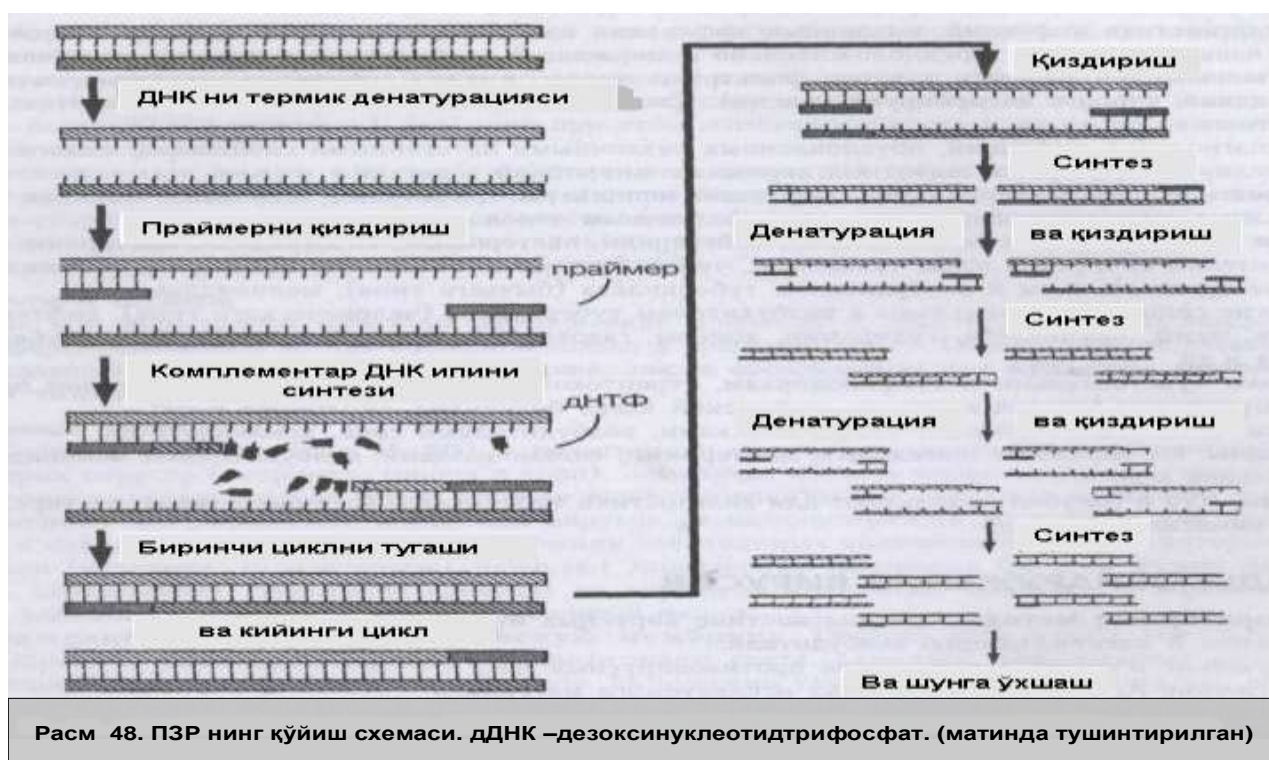
тутиш мумкин). Агар зонд изланилаётган агентни нуклеин кислотасига комплементар бўлса, унда комплементар участкада гибридизация содир бўлади.

Қайта тикланиш босқичидан сўнг зонд ренатурацияланган нуклеин кислотага бирлашади, қайта тикланишда қатнашади ва бунда нишонланган белгиси билан аниқланади.

Молекуляр гибридизациянинг аниқланиши изланилаётган вирус табиатини билишга имкон беради. Бу усул клиник материалдан, биринчи навбатда, латент вирусли инфекцияларда персистентланган вирусларни ва ҳужайра культурасида ривожланмайдиган вирусларни аниқлашда қўлланилади. Молекуляр гибридизация- юқори махсусликка эга бўлган усул бўлиб, унинг сезгирлиги иммункимёвий усуллар даражасида туради, масалан иммунофермент усулининг сезгирлик даражаси  $10^{-14}$  г/л атрофида бўлади.

### Полимераза занжирли реакция (ПЗР)

Полимераза занжирли реакция молекуляр гибридизация каби, ДНК нинг денатурация (ДНК занжирининг ажралиши) ва денатурация бўлиш (ДНК занжирининг тикланиши) хусусияти ва ДНК занжирининг комплементарлигига асосланган. ПЗР да ҳам дастлаб икки ипли ДНК молекуласи алоҳида занжирларга термик ажралади. Сўнгра совуган муҳитга ҳар бир занжир нуклеотидлари кетма – кет комплементарлиги асосида праймерлар “затравка” бириктирилади. Реакция амалга ошиши учун синтетик праймерлар–олигонуклеотидлар (10-20 нуклеотидлардан иборат, мисол учун дезоксинуклеотидтрифосфат) қўлланилади (расм 51), улар 50 -1000 асосдан иборатдир. Сўнгра термостабил tag- полимераза қўшилади. Термостабил ДНК полимераза эркин нуклеотидлардан фойдаланиб ДНК занжирини кейинги нусхаси (копия) кўчирилиши- амплификациясини амалга оширади.



Шундан сўнг икки ипли ДНК молекуласи қайта қиздирилади. Алоҳидалашган занжирлар фаоллашади, праймерларни қабул қилади ва яна қизиш ва совиш жараёнларини амалга оширади, бунда tag- полимераза термостабил бўлганлиги учун уни қайта қўшилиши талаб этилмайди.

ПЗР нинг битта циклидан кейин изланилаётган ДНК молекуласи икки маротаба ортади (битта ДНК матрицасидан икки нусха пайдо бўлади). Одатда амплификациянинг 25-

40 та цикли ўтказилади ва 2-3 соатда изланилаётган микроб ёки вирусни ДНК си ёки унинг махсус бўлагининг миллионлаб нусхалари олинади.

Реакция натижасида текшириб изланилаётган ирсий материал кўп миқдорда унинг нусхаси синтезланиб, тўпланиб қолади ва осон аниқланиб идентификация қилинади. Бу реакциянинг юқори сезгирлиги айнан ДНК ёки унинг бўлақларининг амплификациясига асосланган. Реакцияда қуйидаги ингредентлар қатнашади:

1. Текширилаётган биологик материалдаги изланилаётган инфекцион агентни ДНК си;
2. 2 хил типдаги праймерлар (олигонуклеотидлар) нуклеотидлар кетма-кетлигига эга ДНК нинг қисқа занжири. Бу занжир изланилаётган ДНК нинг ҳар иккала ипига ҳам комплементар бўлади. Праймерлар турли хилдаги бактерия ва вируслар нуклеин кислотасидан ва синтетик олинади.
3. Эркин нуклеотидлар- амплификацияни амалга ошириш учун керак бўлган материал;
4. Термостабил ДНК – полимераза ферменти- эркин нуклеотидлардан комплементар ДНК занжирини ҳосил қилади; бу фермент фақатгина *Thermus aquaticus* бактериясидан эмас, балки, ген инженерия усули билан ҳам олинади.

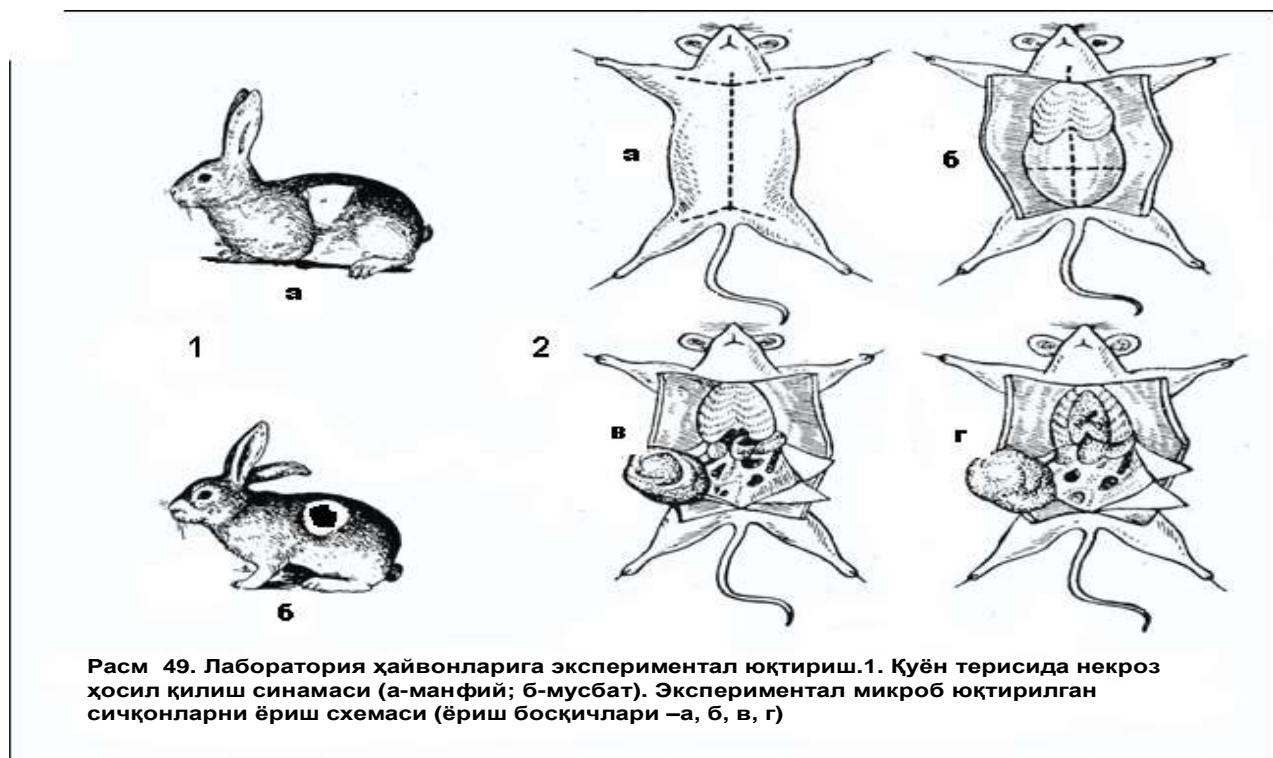
Полимераза занжирли реакция ўрганилувчи ДНК фрагментининг кўп қисмини, ҳаттоки, текширувчи фақат битта молекула ДНК геноми билан қизиқаётганда ҳам уни ўрганиш имконини беради.

Изланилаётган ДНК нусхасининг идентификацияси полиакриламид гелда электрофорез ёрдамида ёки автордиография (изотоплар билан нишонланган эркин нуклеотидлар иштирок этадиган реакция) усулида аниқланади.

ПЗР ўта сезгир усул бўлганлиги учун юқумли касалликларнинг диагностикасида, кўпроқ латент вирусли инфекцияларда, ОИВ-инфекциясида ва қатор бактериал инфекцияларда (бруцеллёз, легионеллёз, микобактериоз, хламидиоз) қўлланилмоқда.

Охириги йилларда ПЗР юқумли касалликлар лаборатория ташҳисида экспресс- усул сифатида катта аҳамиятга эга бўлиб бормоқда.

**Лаборатория ҳайвонларга микроорганизмларни экспериментал юқтириш.** Инфекцион жараёни сунъий равишда лаборатория ҳайвонларига юқтириб олиб бориш





мумкин: қуён, денгиз чўчқачаси, оқ сичқон, оқ каламуш ва бошқаларда юкумли жараёни қўзғаш мумкин. Ҳайвонларга экспериментал юктириш қуйидаги мақсадларда амалга оширилади:

1) микроорганизмларнинг патогенлик ва вирулентлик хусусиятларини текшириш;  
2) қўзғатувчининг соф культурасини турли материаллардан ажратиш олиш (биосинама);

3) экспериментал равишда инфекцияни келтириб чиқариш, даволаш учун ишлатиладиган химиятерапевтик препаратларнинг таъсирини ўрганиш ва бошқалар.

Ҳайвонларнинг териси устига, териси ичига, териси остига, мускули орасига, венасига, оғзига, бурнига, трахеяларига, миясига ва қорин пардасига бактерияларни юбориш билан

уларга касаллик юктирилади. Тажрибани бошлашдан олдин ҳайвонлар танланади, тортилади ва белгиланади. Сичқонга юктиришда уни думидан ушлаб, стол устига қўйилади, танаси иккала бармоқ билан столга босилади, сўнгра сийпалаб туриб, бошидаги териси ушланади, чап қўл билан тортилган ҳолатда жойлаштирилади. Маълум концентрациядаги микроб шприцга игна билан тортиб олинади. Шприц ручка перосини ушлангандек, ўнг қўлда ушланади. Тери остига юктирилганда елкадаги тери қаватига ёки дум илдизига игна

санчилади ва аста-секин шприц ичидаги микроб юборилади. Сўнгра игна тезда тортиб олинади, ўрнига спирт билан хўлланган пахта қўйилади.

Қорин ичига юктирилганда ҳайвон боши пастга қаратилади, чунки бу ҳолатда ичаклар диафрагма томон сурилади, қориннинг чап томонидаги пастки учдан бир қисмига игна санчилади, сўнгра ўткир бурчак остида игнани ушлаб турган ҳолда шприц қорин деворига перпендикуляр ҳолатга келтиради ва туртиб қорин пардаси тешилади, сўнгра шприцдаги материал юборилади. Инструментлар қайнатиш усули билан стерилланади.

**Оқ сичқон жасадини бактериологик текшириш (52-расм).** Ҳайвон ўлимига сабабчи бўлган микробни, унинг организмда жойлашган ўрнини аниқлаш ва соф культурасини ажратиш олиш учун микроб юктирилган ҳайвон ўлган заҳоти бошқа микроблар тушмаслиги учун тезлик билан асептика қоидаларига риоя қилган ҳолда ёрилади. Ўлган сичқон тагига дезинфекция қилувчи моддалар шимдирилган дока билан парафин солинган идиш қуйилиб, қорни тепага қаратилган ҳолда ётқизилади ва бошчаси оёқлари тўғноғич билан туғнаб қўйилади.

Антисептикларнинг бири билан териси яхшилаб артилади. Ёриш эса, стерилланган инструментлар билан амалга оширилади

Пастки жағидан, қовуғига қадар тўғри кесилади, эҳтиётлик билан тери икки томонга ажратилади. Тери остидаги клетчатка ва лимфа тугунлари ҳолати текширилади; керак бўлганда улардан суртма (тамға) тайёрланади ва материал экилади.

Кўкрак бўшлиғи эса тўш суягининг ханжарсимон усимтаси тагидан ва қовурғалардан кўндалангига, тўшга параллел равишда кесиб олинган бўлакча ажратиш олиниб, кўкрак бўшлиғидаги органлар текширилади, экссудат бор ёки йўқлиги эса, баённомага ёзилади (-расм). Юракдан қон олиб экиш учун унинг юза қисми қиздирилган пинцет учи билан куйдирилади ва стерилланган пастер пипеткаси ёрдамида капилляр юрак бўшлиғига киритилади. Сўнгра пипеткадаги қон томчилари муҳитли пробиркага қуйилади. Ўпка тўқимасидан суртма-тамға тайёрланади ва экилади.

Қайчи билан тўғри қилиб қорин бўшлиғи очилади, бунда ичаклар жароҳатланмаслиги керак. Қорин бўшлиғидаги органлар текшириладп. Протоколда экссудат борлиги, жигар, талоқ, буйрак усти беши, мезентериал лимфа безларининг катталиги, ранги ва консистенцияси кўрсатилади.

Зарур бўлганда шу органлардан озикли муҳитларга экилади. Суртма-тамға тайёрлаш учун жигар, талоқ, буйракдан кичкина бўлаги кесилади ва пинцет билан олиниб, буюм ойначасига уларнинг юзаси теккизилади. Суртма-тамға суяқ фиксаторда фиксацияланади

ва метилен кўки билан бўялади. Микроскоп остида кўрилганда орган ва тўқималарда микроб борлиги аниқланади. Экилган материаллар натижаси бир суткага термостатга қўйилгандан сўнг кўрилади. Жасад ёрилганда олинган маълумотлар баённомага ёзилади. Хайвон танаси ёрилгандан сўнг йўқ қилиниши лозим.

## **Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсинлар кучини баҳолаш усуллари**

Бактерияларни токсигенлиги тўлиқ ёки қисман атроф-муҳитда ажралувчи фенотипик тарзда оқсил токсинларининг ҳосил бўлиши билан намоён бўлади.

Хужайра деворидаги липополисахарид қаватининг компоненти ҳисобланган эндотоксинлар бактерия хужайраси парчалангандан сўнггина ажралади ва макроорганизм тўқималарига захарли таъсир кўрсатади.

Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсигенлиги ўзича ҳар хил, аммо патоген генотиби кўринишларининг ўзаро боғлиқ формаларидир. Улар махсус бирликларда, яъни энг кам ўлдирадиган миқдор — доза (*Dosis letalis minima*) —DLM билан ўлчанади. Оқсилдан иборат токсиннинг ёки қўзғатувчининг энг кам дозаси 95% юқтирилган лаборатория ҳайвонини ўлдирса—1 DLM деб қабул қилинади. Кўпинча аниқ, миқдор ҳисобланган LD50, яъни юқтирилган ҳайвоннинг 50 фоизини ўлдирадиган бирликдан фойдаланилади.

### **Бактериялар вирулентлиги ёки токсиннинг таъсир кучини аниқлаш.**

Текшириладиган препаратлар маълум дозаларда бир группа лаборатория ҳайвонларига юборилади. Кейинчалик улар ҳалокатини руйхатга олиб борилади ва препаратнинг ўлдирадиган миқдори аниқланади. Бу тажрибани ўтказишда шароитлар мумкин қадар стандарт: ҳайвонларнинг тури, жинси, оғирлиги, уларнинг яшаш шароити, овқатланишининг тўлиқлиги ва бошқалар бир хил бўлиши лозим. Ун мартадан суюлтирилган бир қатор токсин (ёки бактерия культураси) бир группа ҳайвонларга юборилади. Маълум вақт ўтгандан сўнг улар бир гурпуада ўлган ҳайвонлар сони белгиланади ва LD50 ҳисоблаб чиқарилади.

**Дермотонекротик синама.** Қуён териси орасига ингичка игнали туберкулин шприци билан 0,2 мл бульонли текширилаётган культура юборилади. 2—3 суткадан сўнг культура юборилган ерда — терида некроз ҳосил бўлса, у ҳолда намуна мусбат ҳисобланади (52-расм).

Кератоконъюнктивал синама. Бактериянинг бир кеча-кундузли, агарли культурасини диаметри 5 мл бўлган стандарт қовузлоқ билан денгиз чучқачаси кўзининг пастки қисмига юборилади. 2—4 кундан сўнг кўзнинг шиллик қаватлари қизаради, мугуз парда хиралашади, йиринг пайдо бўлиб, яра ҳосил бўлиши мумкин (Шерен синамаси), яъни кератоконъюнктивит намоён бўлади.

### **Бактерияларнинг инвазивлик хусусиятини таъминлайдиган ферментларни аниқлаш.**

1. Гиалуронидаза гиалурон кислотани гидролиз қилади, натижада гиалурон кислота сирка кислотаси билан биргаликда муцин ҳосил қила олмайди. Бу ферментни аниқлаш учун, таркибида гиалурон кислотаси бўлган субстратли пробиркага бир суткалик бактерия культураси ёки бульонли культуранинг филтрати томизилади ва 15 мин давомида 37°C да термостатга қўйилади. Сўнгра устига 2—3 томчи кучли сирка кислотаси томизилади. Гиалуронидаза бор пробиркада ивиш ҳосил бўлмайди.

2. Плазмакоагулазани аниқлаш учун текширилаётган культурани, қуённинг (1:5 нисбатда суюлтириган) 0,4 мл стерил цитрат плазмасига экилади. 2—5 соатга 37°C да термостатга қўйилади. Агар фермент бўлса, плазма ивийди ва контрол пробиркада плазма суюқ ҳолда сақланади (29-расмга қаралсин).

3. Гемолизинни аниқлаш мақсадида текширилаётган культурани Петри косачасидаги қонли агарга экилади. Улар 37°C да термостатда бир сутка давомида

сақланади. Агар натижа мусбат бўлса у ҳолда микроб колонияси атрофида гемолиз зоналари ҳосил бўлади.

4. Лецитовителлазани аниқлаш учун тухум сариғини тузли агарга текширилаётган культура экилади ва термостатда бир сутка давомида сақланади. Муҳитда лецитовителлаза ҳосил қилган бактериялар колонияси атрофида садаф рангли ҳалқа ҳосил бўлади (текширилаётган бактерия ферменти товуқ тухуми сариғидаги лецитинни парчалайди (68 - расмга қаралсин).

## 2 Боб. Иммунология

### Мавзу 14. Иммуниет хақида тушунча. Иммуниет турлари. Организмнинг махсус ва номахсус ҳимоя омиллари.

#### Машғулот праграмаси

1. Иммуниет хақида тушунча, иммуниетнинг турлари.
2. Организмнинг махсус ва номахсус бўлмаган ҳимояланиши (тери, шиллиқ пардалар, лимфа тугунлари, фагоцитоз ҳужайралари, лизоцим, комплемент ва х.к) турлари.

#### Намоиш қилиш

1. Комплементнинг гемолитик хусусиятини кузатиш (пробиркада махсус антитела иштирокида).
2. Сўзак (гонорея) билан оғриган беморнинг сийдик йўлидан олинган йирингдан тайёрланган ва метилин кўкки билан бўялган суртмада гонококкларнинг тугалланмаган фагоцитозини кўриш.
3. Схемалар, таблицалар ва расмлар, слайдалар.

#### Лаборатория ишини бажариш учун топширик

1. Сўлакдаги лизоцим ферментининг титрини аниқлаш.
2. Одам қони таркибидаги нейтрофиллар фагоцитар активлиги , фагоцитар кўрсаткични (индекс) аниқлаш
3. In vivo фагоцитози кўринишларини ўрганиш учун оқ сичқон қорин пардасига стафилококк суспензиясини юбориш ва НФА %, фагоцитар индексни аниқлаш.
4. Опсон фагоцитар реакцияни қўйиш ва олдиндан қўйилган тажрибалардан тайёрланган суртмалардаги фагоцитар кўрсаткичларни аниқлаш ва хулоса чиқариш

#### **Иммуниет ва организмнинг ҳимояланиш омиллари**

Иммуниет ва унинг асосий хусусиятлари ва муаммоларини –

иммунология фани ўрганади.

Иммуниет – индивидумнинг ичкий муҳити таркибини (гомеостаз) доимо бир ҳилда сақланишини таъминловчи биологик омиллари бўлиб, организмнинг генетик бегона ҳужайра ва юқумли касаллик агентларига қарши ҳимояланиш хусусиятларига айтилади. Иммуниетнинг кўриниши кўп қиррали бўлиб, унинг асосий вазифаси ўзиникидан бегонани ажратиш хисобланади.

Иммуниет бўлиши мумкин; юқумли касалликларга (инфекционным), ўсмаларга (противоопухолевым) қарши ва трансплантацион. Иммуниетнинг асосий реакцияларини иммун система келтириб чиқаради, унинг асосида махсуслик меҳанизимлари ётади.

Инфекцион иммуниетни турлари:

- 1) антибактериал (бактериаларога қарши);
- 2) антитоксик (токсинларга қарши);
- 3) вирусларга қарши;

4) замбуруғларга қарши;

5) содда жониворларга қарши (антипротозой);

Инфекцион иммунитет икки хил кўринишда бўлиши мумкин;

1. Стерилл иммунитет (қўзғатувчи организмда йўқ, лекин, унга қарши иммунитет бор.
2. Ностерилл иммунитет (қўзғатувчи организмда бўлади).

Организмнинг химояланиш турлари;

1. Организмнинг маҳсус химояланиши (иммунитет)
2. Организмнинг номаҳсус химояланиши

Организмнинг маҳсус химояланиши (иммунитет)- туғма ва ҳаёт давомида ортирилган бўлади.

Туғма иммунитет- юқумли касалликларга туғма берилмаслик ҳолати, турга хос ва индивидуал бўлиши мумкин.

**Турга хос иммунитет** — бир турга мансуб бўлган ҳайвон ёки одамнинг, бошқа тур вакилларида юқумли касаллик келтириб чиқарувчи қўзғатувчиларга берилмаслик ҳолати тушинилади. Турга хос иммунитет одамнинг тур белгиси хисобланади ва авлотдан –авлодга ўтади. Шунинг учун одам баъзи бир ҳайвонлар оғрийдигон юқумли касалликлар билан касалланмайди (товуқ вабоси). Турга хос иммунитет ҳар доим актив бўлади. Индивидуал туғма иммунитет эса пассив бўлиб, онадан иммуноглобулинлар кўринишида йўлдошдан ҳомилага ўтиши (IgG –плочентар иммунитет) мумкин. Шунинг учун янги туғилган чақолоқлар бир неча ой юқумли касалликлардан химояланган бўлади.

Ҳаёт давомида ортирилган иммунитет- химояланишни бу тури ўта маҳсус бўлиб ҳар бир индивид ўзининг ҳаёти давомида юқумли касаллик қўзғатувчиларига берилмаслик хусусиятларини шакиллантиради ва табиий ва сунъий бўлади. Ҳаёт давомида ортирилган табиий иммунитет ўз навбатида актив ва пассив шакилланиши мумкин.

Ҳаёт давомида ортирилган табиий актив иммунитет юқумли касаллик билан оғриб ўтилгандан кийин, узок вақтга ёки бир умирга шакилланади ( қизомиқ, кўк йўтал, бўғма касалликларига қарши).

Ҳаёт давомида ортирилган табиий пасив иммунитет- она сути орқали чақолоқга иммуноглобулин, лимфоцит, лейкоцитлар ва бош. факторлар кўринишида ўтказилади.

Ҳаёт давомида ортирилган суъний иммунитет ҳам ўз навбатида икки кўринишда актив ва пасив шакилланади. Ҳаёт давомида ортирилган суъний иммунитет актив формаси турли антиген препарат-вакцина ва анатоксинларни юбориш орқали шакиллантирилади, пасив формаси эса тайёр иммун зардоблар ва иммуноглобулинлар юбориш билан ҳосил қилинади. Ҳаёт давомида ортирилган суъний иммунитетни шакиллантириш орқали юқумли касалликларни олди олинади.

**Организимнинг номахсус ҳимояланиши** – ҳимояланишни бу тури эволюцион жараёнда юқумли касалликларга қарши шакилланган бўлиб куйидаги кўринишда бўлади:

- механик тўсиқлар (барьерлар);
- физико-химик;
- иммунобиологик

Бу омилларга киради:

- 1) тери ва шиллиқ қаватларни ҳимоя омили;
- 2) лимфотик тугинлар, оғиз бўшлиғи ва ошқозон ичак тизимида;
- 3) лизоцим ва бошқа ферментлар оғиз бўшлиғи, ошқозон ичак тизими ва сийдик таносил органларида;
- 4) нормал микрофлора;
- 5) яллиғланиш омиллари;
- 6) фагоцитловчи хужайралар;
- 7) табиий киллер хужайралари;
- 8) комплемент системаси;

9) интерферонлар;

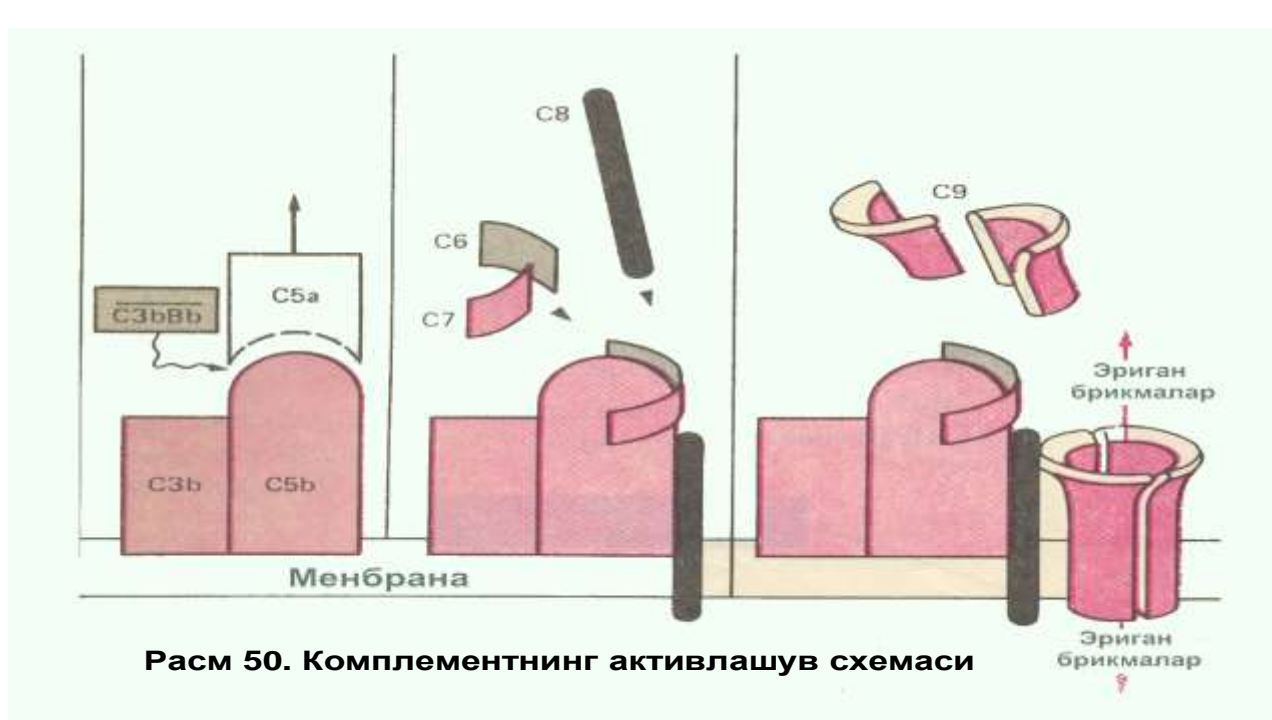
**Тери ва шиллик қаватлар.** Бу омиллар механик ва физико-химик резистентликларга киради. Микроблар асосан организмга тери ва шиллик қаватлар орқали киради. Юқори қават эпителий хужайраларининг доимо янгилашиши, тери ва ёғ безлари ажратмалари, шиллик қават суяқликлари микробларининг киришига тўсқинлик қилиб, тери ва шиллик қаватларни тозалаб туради. Тери фақат механик тўсиқ вазифасини ўтаб қолмай, бактерицид (микробларни ўлдирувчи) таъсирга ҳам эга. Бу тери муҳитининг кислотали эканлиги (рН–5,5) (сут, сирка ва ёғ кислоталари ҳисобига) ва тери безлари ишлаб чиқарадиган ҳар хил омилларга боғлиқ. Бундан ташқари шиллик қаватлар ҳам маълум тўсиқ вазифасини ўтайди.

Махсус бўлмаган ҳимояланишга қон ва бошқа суяқликлардаги биологик актив моддалар (лизоцим ферменти, комплемент, препердин ва лизинлар, эритроин, лейкоинлар, С-реактив оксил ва ошқозон суяқлиги киради.

**Лизоцим ферменти**- кимёвий жихатдан ацетилмурамидаза бўлиб, асосан организмда суяқликларда учраб, кўз ёшида, сўлак таркибида, балғамда, қонда, кўкрак сутида кўп миқдорда бўлади. Лизоцим грам мусбат бактерияларни деворидаги пептидогликан полисахаридини дисахаридларгача парчалаб, бактерияларнинг хужайра деворини эритиб юборади. Грам манфий бактерияларнинг хужайра деворидаги пептидогликан полисахариди хужайра деворининг ички қобиғида жойлашганлиги учун, лизоцим ферменти бу бактерияларга кучли таъсир эта олмайди. Лизоцимга вируслар ҳам инерт ҳисобланади.

**Комплемент** – Одам ва ҳайвон қон зардобининг таркибида учрайди. Оксил бирикмаларидан таркиб топгандир, Қонда 20 тадан ортиқ оксил фракцияси учрайди, шулардан 9 таси яхши ўрганилган С1, С2,...С9. Комплемент иссиққа чидамсиз бўлиб, 56 °С да 30 минут қиздирилганда, ўзининг активлигини йўқотади. Комплемент системасидаги унинг қатор компонентлари «С» ҳарфи билан ва сон тартиб белгиси билан белгиланади. Бу

тартиб сонлар комплементнинг активлашиш тартиби асосида белгиланган эмас. Комплемент организмдаги турли омиллар таъсирида активлашади, активлашган бир фракцияси иккинчи фракцияни активлаштирувчи омил бўлади ва охириги фракцияни активлашуви натижасида мембранага хужум қилувчи фактор (МХФ) ҳосил бўлади (расм 50), бу эса комплементни активлашувига сабаб бўлган омилни (хужайра, эритроцит, бактерия ва бош.) ҳалок қилади.



Қон зардобида комплементнинг энг кўп миқдорли компоненти С3 (1,2 мг/мл) ҳисобланади. Комплемент организмда маҳсус ва маҳсус бўлмаган химояланишларда қатнашади. Комплементни организмда ҳосил бўлган маҳсус (АТ+АГ) комплекси активлаштириши мумкин. Комплементни бу активлашувини классик активлашув дейилади ва организмнинг маҳсус химояланишида қатнашади, яъни бу активлашув организмга патоген микроорганизмларни кириши унга қарши антителалар ҳосил бўлиши билан боғлиқ. Комплементни иккинчи активлашуви альтернатив деб аталади, чунки комплементнинг бу активлашуви классикдан кийин кашф қилинган, лекин бу активлашув классик ативлашувдан анча илгари шакилланган.Шунинг учун ҳам кўплаб микроорганизмлар комплементни АТ+АГ комплекси бўлмаса ҳам



активлаштириши мумкин, бунда ҳам юқоридаги активлашув сингари бўлади, лекин унинг интензивлиги анча паст бўлиб, биринчи махсус бўлмаган ҳимоя омилларига киради.

Организм суюқликларида лизоцим ва комплемент моддалардан ташқари, секретор иммуноглобулин А ва интерферонлар ҳам бўлиб, маҳаллий иммунитетни таъминлашда бу моддаларнинг аҳамияти катта. Секретор IgA бактерия ва вирусларга ёпишиб, уларни эпителиал хужайраларнинг юза қисмига ёпишишини (адгезияни) камайтиради. Организмда механик тўсик вазифасини sIgA дан ташқари қўшувчи тўқималар таркибидаги гиалурон ва нейрамин кислоталари ҳам бажаради. Микробларнинг бириктирувчи тўқима ичига кирмаслигини гиалурон кислотаси, маълум бир бактерия ва вирусларнинг хужайра ичига кирмаслигини эса нейрамин кислотаси таъминлайди.

**Лимфа тугунлари.** Тери ва шиллик қават “тўсиқларини” енгиб ўтган микроорганизмлар лимфага тушади, лимфа тугунлари патоген бактерияларни тутиб қолади ва ҳалок қилади.

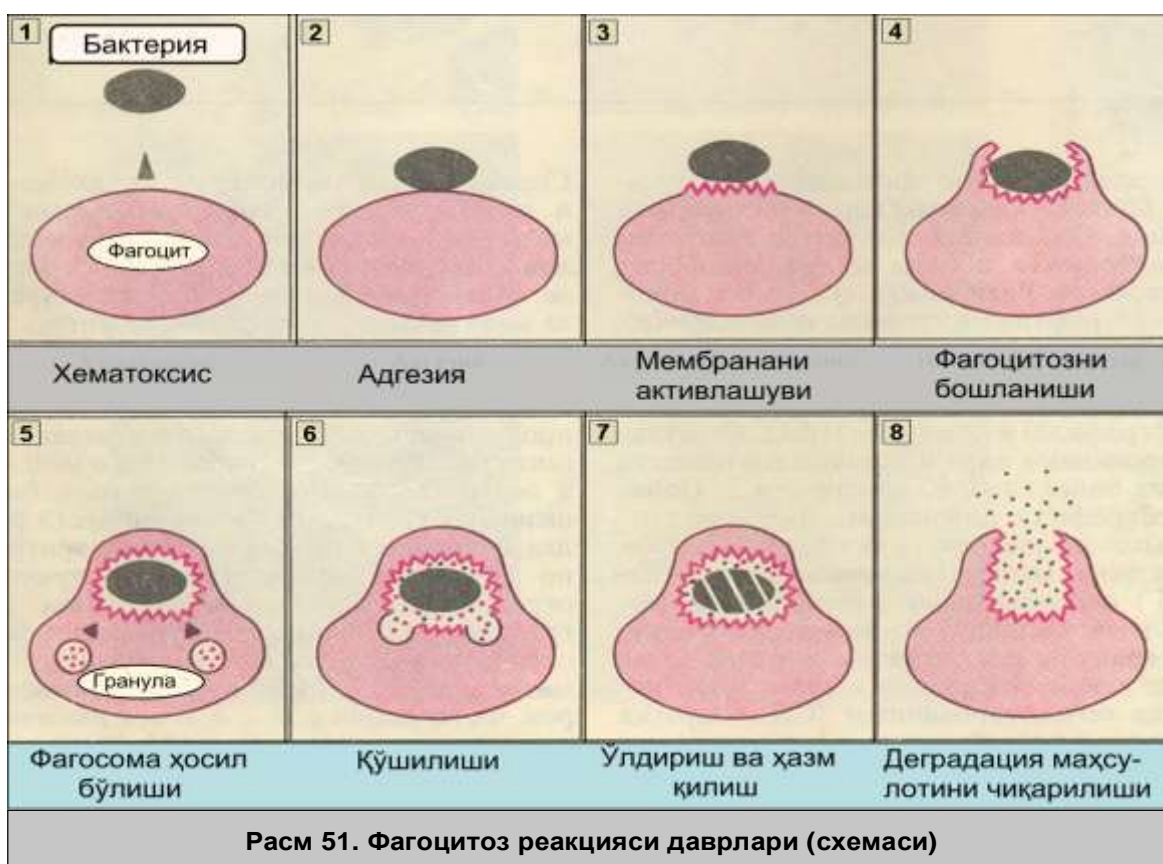
Патоген микроорганизмлар лимфа тугунларига тушгач, у ерда яллиғланиш жараёни юзага келади. Бунда тўқималардан лейкотоксин, лейкопеник омил, гистамин, серотонин ва бошқа моддалар ажралади, булар лейкоцитларга таъсир этиб, уларнинг фаоллигини оширади. Лейкоцитлар яллиғланган жойда тўпланиб микробнинг тўқима, қон ва аъзоларга тарқалишига йўл қўймайди.

Яллиғланиш натижасида гавда ҳарорати кўтарилади, ацидоз, гипоксия ривожланади, булар ҳам ўз навбатида патоген микроорганизмларга бактерицид таъсир кўрсатади.

Организмнинг махсус бўлмаган ҳимояланишига қондаги ва тўқималарда учровчи фагоцит хужайралари ҳам киради. Лейкоцитар ва ретикулоэндотелиал системасидаги хужайраларнинг биологик реакцияси туфайли, организмга кириб олган микроблар ва ёд зарралар, юқорида қайд қилинган хужайралар томонидан актив қамраб олиниб йўқ қилинади. Бу

хужайраларнинг микроб ва ёд зарраларга қарши организмда курашиш фаолиятини **фагоцитоз** ходисаси деб аталади.

И.И.Мечников фагоцит хужайраларини ишчанлик фаолиятига караб 2 гурпуага бўлган: микрофагларга ва макрофагларга. Микрофаглар ёки гранулоцитлар (нейтрофиллар ва эозинофиллар), бу хужайралар биринчи бўлиб микроблар кирган жойда ҳозир бўлишади. Макрофагларга эса ҳаракатчан моноцитлар, полибластлар, гистоцитлар ва бир жойда турадиган талокда, лимфа тугунларида, суяк кўмигида, жигарда учровчи хужайралар киради.



Фагоцитоз реакциясининг босқичлари: Фагоцит хужайрасини объектга яқинлашуви, мусбат хемотаксис, адгезия – объектни хужайра рецепторлари билан тутилиши, хужайра мембранасини активланиши, объектни ютилиши, фагоцит хужайрасида фагосомани ҳосил бўлиши, фагосома билан фагоцит хужайрасидаги гранулаларни бирикиши, объектни парчаланиши ва парчаланган (деградация) объект парчаларини хужайрадан чиқариб ташланиши (расм- 51).

Фагоцитоз ходисасининг тугалланган ва тугалланмаган турлари тафовут қилинади. Тугалланган фагоцитоз ходисасида, фагоцит хужайраси камраб олган микробни ёки майда заррани бутунлай эритиб, парчалаб юборади. Баъзи бир юқумли касалликларда (сўзак, сил, мохов, лейшманиоз) фагоцитоз тугалланмай қолади. Бу ҳолатда фагоцитоз қилинган микроорганизм фагоцит хужайраси таъсирида халок бўлмасдан, балки фагоцит хужайрасида узоқ вақт ушланиб қолиниши ва кўпайиши мумкин. Тугалланмаган фагоцитозда патоген бактерияларни салбий таъсири натижасида фагоцит хужайраси халок бўлиши ёки патоген бактериялар учун кўпайиш, яшаш манбасига айланиши мумкин. Организмнинг носпецифик ҳимояланишидаги бу камчилиги юқорида баён қилинган касалликларда, шу касалликни уткир формасидан сурункали формасига утишига олиб келади. Бемор эса шу касалликни кузгатувчисини ташиб юрувчисига айланади.

Одам организмида бир қанча моддалар ва факторлар фагоцитоз ходисасини тезлаштиради, буларга: комплемент, гистамин, гетероген моддалар, электролитлар калсий ва магний тузлари, лимфокинлар, антителалар – опсонинлар ва бактериотропинлар шулар жумласига киради. Фагоцитоз хужайралари, организмда фақат маҳсус бўлмаган ҳимояланишни бажарибгина қолмай, балки маҳсус иммун жавобда ҳам қатнашади, яъний Т ва В лимфоцитлар учун микроорганизмлар антигенини аниқлаб берувчи (антиген презентант) хужайралар ҳисобланади.

Организмнинг нормал микрофлораси ҳам маҳсус бўлмаган ҳимояланишда қатнашади. Нормал микрофлоранинг баъзи бир вакиллари патоген микроорганизмларга нисбатан антогонистик муносабатда бўлади. Масалан, ичак таёкчаси «Сo1» фактор ишлаб чиқаради, бу фактор антибиотик таъсир механизмига эгадир (қорин тифи, ичбуруғ касалликларида).

Методик кўрсатмалар

Лизоцим ферменти организмнинг бошқа гуморал носпецифик ҳимоя факторлари билан бир қаторда организмда кетаётган патологик жараёнларни

ривожланишини баҳолашда муҳим аҳамиятга эгадир. Лизоцим ферментини биологик суяқликларда аниқлашни бир неча усуллари мавжуддир.

**Сўлак таркибидаги лизоцим ферментини тажрибада қоғозли диск усулида аниқлаш.**

Текширилаётган сўлак фильтр қоғозли дискга стерил пинцет ёрдамида олиб шимдирилади ва *M. Lizodecticus* нинг 1 млрд/мл культураси газон усулида Петри косачасидаги агарга экилган юзага жойлаштирилади ( битта косачадаги агар юзасига 8-10 та сўлак шимдирилган дисклар қўйилиши мумкин). Тажриба қўйилган косача 37° С да бир кун давомида термостатда сақланади. Сўлак шимдирилган диск атрофидаги микрококк культурасини ўсиши тўхтатган зона диаметри ўлчанади ва стандарт лизоцим билан аниқланган тажриба натижаси асосида формула асосида топилади.

Жадвал 25.

Стандарт лизоцим концентрациясини қоғозли диск усулда аниқланиб олиган натижаси

Қўлланилган стандарт лизоцим концентрацияси (мг%)	<i>M. lizodecticus</i> культурасини ўсишини тўхтатган зона диаметри (мм)
50 мг%	27 мм
25 мг%	21 мм
12,5 мг%	14 мм
6,25 мг%	9,0 мм

Илова; текширилаётган сўлакдаги лизоцим 9 мм гача микрококкни ўсишини тўхтатиш зонаси ҳосил қилса, сўлак таркибидаги лизоцимни топиш учун 9 мм қўлланилади, агар 9 мм дан юқори бўлса 14, ундан юқори бўлса 21 ва кийин 27 қўлланилади.

Масалан, текширилаётган сўлак шимдирилган диск атрофида микрококк культурасини ўсиш зонаси тўхтаган диаметри 16 мм. Лизоцимнинг миқдорини топиш учун пропорция тузамиз;

$$\frac{21 \text{ мм} - 25 \text{ мг}\%}{16 \text{ мм} - x} = \frac{16 \times 25}{21} = 19,05 \text{ мг}\%.$$

Сўлакдаги лизоцим ферментини титрини аниқлаш.

Сўлак пробикаларда кетма-кет (жадвал 26) суюлтирилади. Ҳар бирга 1мл дан 1млрд/мл микроб танасига эга бўлган *M. Lizodecticus* –нинг бир кеча кундузлик культураси суспензиясидан томизилади

Жадвал 26.

Сўлак таркибидаги лизоцим ферментини тажрибада серияли суюлтириш усулида аниқлаш.

Компонентлар	Пробиркалар			
	1:100	1:1000	1:10000	Контроль
Физиологик эритма	3,6	2,0	2,0	2,0
Сулак 1:10	0,4	2,0	2,0	-
<i>M. lizodecticus</i> (1млрд/мл культураси)	1,0	1,0	1,0	1,0

45<sup>0</sup>С да 14 минут сув ҳаммомида қиздирилади. Инкубациядан сўнг, охириги суюлтирилган пробиркадаги натижага кўра, ундаги бактериялар тўлиқ эриган (лизисланган), суюқлик тиниқ бўлса, шунга қараб лизоцим титри аниқланади. Лизоцимнинг титрини, активлигини фотоэлектроколориметр ёрдамида куйқалик даражасига кўра ёки микроб суспензиясидаги оптик зичлик бўйича нефелометрик усул билан ҳам аниқлаш мумкин.

### **Одам периферик қонидаги нейтрофилларни фагоцитар активлигини (НФА аниқлаш)**

Бу усул қон таркибидаги нейтрофилларни бегона микроб ва бошқа агентларини қамраб, фагоцит қилиб олишига асосланган. Аҳамиятликлиги

шундан иборатки *in vitro* да 30 дақиқа ичида нейтрофиллар микробларни камраб фагоцит қилиши мумкин.

#### Тажрибани қўйиш

Гепарин қўшиб олинган қондан 0,2 мл стерил пробиркага олинади. Сўнгра унга, 1 мл 1млрд *S. aureus* нинг бир-кеча кундузли культурасидан тайёрланган ва сув ҳаммомида 80°C да бир соат давомида ўлдирилган бактерия суспензиясидан 0,1 мл қўшилади. Тайёр аралашма 5 минут 800, 1 мин. айланиш тезлигида центрифуга қилинади ва 30 минут термостатда сақланади. 30 минут инкубациядан кийин пробиркани устки қисмидаги суюқлик эҳтиётлик билан пастер пипеткаси ёрдамида олиб ташланади ва чўкма секин аста аралаштирилади. Суртма тайёрланилади, қуритилиб, метил спирти ёки Никифорова эритмасида (5-10 мин.) фиксация қилинади ва Романовский-Гимза усулида 15-30 минут бўялади. Суртма имерсион системада микроскопда кўрилади ва 100-200 нейтрофиллар саналади. Саналган нейтрофиллар ичида фагоцит қилганлари НФА % ифодаланилади. Ҳар бир нейтрофилдаги фагоцит қилинган микробларнинг ўртача миқдори (фогацитар индекс) ҳисоблаб топилади. Нормада ўрта яшар одамларда НФА 50-65%, фогацитар индекс эас 5-9 бўлиши мумкин.

**Оқ сичқонларда фагоцитоз тажрибасини ўтказиш.** Тажриба бошланишдан 24 соат олдин оқ сичқонлар қорин пардасига 2—3 мл стерил, 1 фоизли крахмал эритмаси юборилади. Бу қорин бўшлиғида фагоцитоз қилувчи хужайраларнинг тўпланишига олиб келади. Бу ҳолат крахмалга бўлган септик яллиғланиш ва фагоцитлар хемотаксиси натижасида содир бўлади. Сўнгра сичқонларнинг қорин пардасига 1 мл дан иборат икки миллиардли стафилококк культураси юборилади. 30 мин. ўтгандан сўнг оқ сичқонларнинг қорин деворига пастер-пилеткаси капиллярининг ингичка томони билан санчилади ва бир неча томчи экссудат олинади. Ундан буюм ойначасида суртма тайёрланади, ҳавода қуритилади, фиксация қилинади ва метилен кўки эритмаси билан 3—4 мин давомида бўялади.

Суртмалар микроскоп остида кўрилганда стафилококкларни қамраб олган микрофаглар (полиморф-ядро хужайралари) ва макрофаглар (мононуклеарлар, оч-ҳаво рангли фагоцитлар цитоплазмаси фонида тўқ кўк рангга бўялган ҳолда кўринади. Препаратда фагоцитознинг айрим босқичлари ёпишиш, қамраб олиш, қисман ҳазм қилишни кўриш мумкин.

**Опсонфагоцитар реакциясини кўйиш.** Пробиркага, бир ҳажмли стерилланган 2 фоизли натрий цитрат эритмаси устига икки ҳажмли янги олинган қон ва бир ҳажмли 1 млрд/мл микроб хужайрасига эга бўлган, 80°C да бир соат давомида ўлдирилган бактерия суспензияси қуйилади.

Пробиркадаги суюқликлар аралаштирилади, 37°C да 30 мин давомида термостатда сақланади, кейин Романовский-Гимза усули билан бўялади.

Суртмада 25 та нейтрофилларнинг ҳар бири қамраб олган бактериялар сони ҳисобланади. Олинган натижаларга кўра қуйидаги фагоцитар кўрсаткичлар топилади: фагоцитар кўрсаткич (индекс) — фагоцитловчи нейтрофиллар фоизи, фагоцит сони бир нейтрофилга фагоцитланган бактерияларнинг ўртача сонига тўғри келади. Опсонфагоцитар реакциясининг курсаткичи (ОФРК) қуйидаги формула билан аниқланади:  $OORK+3a + 2b + 1c+Od$ , бу ерда а — таркибида 41 дан кўп бактериялар сақлайдиган нейтрофиллар сони; b — 21—40 бактериялар сақлайдиган нейтрофиллар сони; c — 1 дан 20 гача бактериялар сонига эга бўлган нейтрофиллар сони; d — таркибида бактериялари бўлмаган нейтрофиллар сони. Бу системада ҳисобланганда энг юқори курсаткич 75 ни ташкил этади.

Тахминан, кўрсаткич 10—24 ни ташкил этса — реакция кучсиз мусбат, 25—49 бўлса — аниқ., 50—75 бўлса — кучли мусбат реакция ҳисобланади. Аниқ, сезиларли ва кучли мусбат реакциялар бемор зардобидеги опсонинлар ва фагоцитлар фаолиятининг активлигини белгилайди.

**Мавзу 15. Антиген ва антителолар. Серологик реакциялар ҳақида тушунча. Агглютинация реакцияси, кўйилиши, аҳамияти.**

#### **Машғулот программаси**

1. Антигенлар ҳақида тушунча, уларнинг хусусиятлари, кимёвий таркиби ва махсуслиги.

2. Бактерия, вирус хужайраларининг антигенлари, уларнинг хусусиятлари.
3. Антителалар (иммуноглобулинлар) уларнинг кимёвий тузилиши, синфлари ва вазибалари..
4. Антиген ва антитела бирикиши, реакциялари, механизми.
5. Агглютинация реакцияси, уларнинг махсуслиги ва амалиётда қўланиши.

#### **Намоиш қилиш**

1. Кенгайтирилиб қўйилган агглютинация реакцияси.
2. Схема, албом расимлари ва таблицалар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1. Касал қон зардобадаги антитела титрини аниқлаш учун кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш.
2. Номаълум культурани аниқлаш учун буюм ойнасида агглютинация реакциясини қўйиш.
3. Реакциялар натижасида олинган маълумотларни таҳлил қилиш.

### **Антигенлар**

Организмнинг ҳаёт фаолияти давомида орттирилган иммунитет асосида, иммун системанинг шу организмга бегона ирсий молекулалар тузилишини таниб, ажратиб олиб, уларга қарши махсус жавоб бера олиш ётади. Мана шу жавоб беришда антигенлар иштирок этади. Антигенлар – табиий ва сунъий, синтетик (оқсил, полисахарид ва бош.мод.) моддалар бўлиб, организмга юборилганда иммункомпетент лимфоид хужайраларнинг махсус активлигини ошириб, махсус иммун жавобни ёки толерантлик ҳолатини келтириб чиқаради (берилмаслик). Антигенлар ўзларининг тузилишида ирсий бегоналик хусусиятини ташиб юради (анти-қарши, ген-тур). Антигенлар қуйидаги хусусиятлари билан фарқланади:

1. Антигенлик – яъни антигеннинг сифат кўрсаткичи. Масалан, кўпроқ ёки камроқ антителалар, сезувчанлиги ошган лимфоцитлар ҳосил қила олиши.
2. Иммуногенлик – антигеннинг иммунитет ҳосил қилиш хусусияти, ёки кучи. Антигеннинг бу хусусияти кўпроқ микроорганизмларнинг антигенига таллуқлидир, чунки микроорганизмларнинг антигенлари организмнинг касалликка берилмаслигини шакиллантиради. Масалан, ичбуруғ қўзғатувчиси, юқори даражадаги антигенлик хусусиятига эга, лекин, иммуногенлик хусусияти сус, шунинг учун узоқ кўринишдаги иммунитетни ҳосил қила олмайди, аксинча, қорин тифи эса юқори даражали антигенлик ва иммуногенлик хусусиятига эга, шунинг учун вакцинацияда қўлланилади.



3. Махсуслиги – антигеннинг асосий хусусияти бўлиб, шу хусусиятлари билан антигенлар бир-бирларидан фарқланади. Антигенларнинг махсус кўринишларига қуйидагилар киради: - тур махсуслиги; груҳ махсуслиги; типга хос махсуслик; гетеромахсуслик; орган махсуслиги; функционал махсуслик; босқичли махсуслик; гаптен махсуслиги; патологик махсуслик; антиген мимикрия.

4. Антигеннинг коллоид хусусияти – (таркиби, эриши) антигенлар коллоид ҳолида организмга юборилганда яхши сўрилади.

Антигенлик хусусияти бор моддаларга оқсиллар, микроорганизмлар, уларнинг махсулотлари (заҳарлари), илон, чаён заҳарлари, ўсимликларда учрайдиган моддалар (рицин, абрия), ҳужайра ва тўқима элементлари ёд зарралар ва х.к. киради.

Антигенлар тўла қимматли ва тўла қиммасизларга бўлинади. Тўла қимматли антигенлар – (оқсиллар, полисахаридлар, липопротеинлар, комплекс моддалар), организмга юборилганда махсус антителаларни ҳосил қилиб иммункомпетент лимфоид ҳужайраларнинг активлигини оширади, яъни шулар билан муайян тарзда ўзига хос бирика олади.

Тўла қимматсиз антигенлар – гаптенлар бўлиб, организмга юборилганда организмда махсус антителалар ва сезгирлиги ошган лимфоцитлар ҳосил қила олмайди. Гаптенларга ёғлар, кичик молекулали органик моддалар киради, лекин шу гаптенларнинг таркибига оқсил бириктирилса ёки организмдаги оқсиллар, ферментлар билан бирикса, бу тақдирда гаптенлар тўла қимматли антигенларга айланади. Иммун жавоб гаптенга қарши ҳосил бўлади (гаптен махсуслик). Гаптен билан бириккан оқсил молекуласи кузатувчилик (ташиб юрувчи) вазифасини бажаради ва «шлепер» деб аталади. (нем. *Slheber* кузатади).

Антиген махсуслиги, антиген таркибидаги оқсилларнинг бирламчи тузилишига, яъни аминокислоталарнинг ҳилма ҳиллигига, кетма-кет

келишига, аминокислоталарни ён занжирга ва устки қисмида жойлашган детерминанд группаларнинг сонига боғлиқдир.

Оқсил аминокислоталарининг устки қисмида жойлашган бу детерминанд группалар оқсилга маълум бир шакл (конфигурация) фазовий ковушқоқлик ва кутблилик хусусиятларини беради. Битта электрон зарядини ўзида ташиб юради. Детерминантлар сони шу оқсилнинг валентлигини, сифатини (антигенлигини), кучини (иммуногенлигини) билдиради. Масалан, одам қон зардобидаги альбумин оқсили ўз таркибида 6 та детерминант группасини тутди. Глобулин оқсилнинг таркибида эса 8 та детерминант группаси бор. Шунинг учун ҳам глобулин оқсили альбумин оқсалига нисбатан кучли антигенлик ва иммуногенлик хусусиятига эгадир.

**Бактерияларнинг антигенлари.** Микроорганизмларнинг антигенлари уларнинг кимёвий ва структурал тузилишига қараб турлича бўлади. Бактерияларда хивчин антигени (Н-антиген), тана (соматик) О-антигени, капсулани бактерияларда капсула (К-антиген) антигени тафовут қилинади. Бундан ташқари баъзи бир патоген бактерияларга хос бўлган Vi, M, W – антигенлар ҳам учрайди. Микроб антигенларидан яна бир антигенни айтиб ўтиш, диққатга сазвордир, масалан, куйдирги кўзгатувчисидан биринчи мартаба ажратиб олинган «протектив» (ҳимоя) антигени, бу антиген энг юқори иммуногенлик хусусиятига эгадир. Вирусларнинг антигенлари ҳам уларнинг структурасига ва кимёвий таркибига боғлиқ. Кўпчилик вирусларда капсид, нуклеокапсид ва суперкапсид антигенлари тафовут қилинади.

Микроорганизмларда умумий авлодга, оилага ва маҳсус турга ва типга хос антигенлар тафовут қилинади.

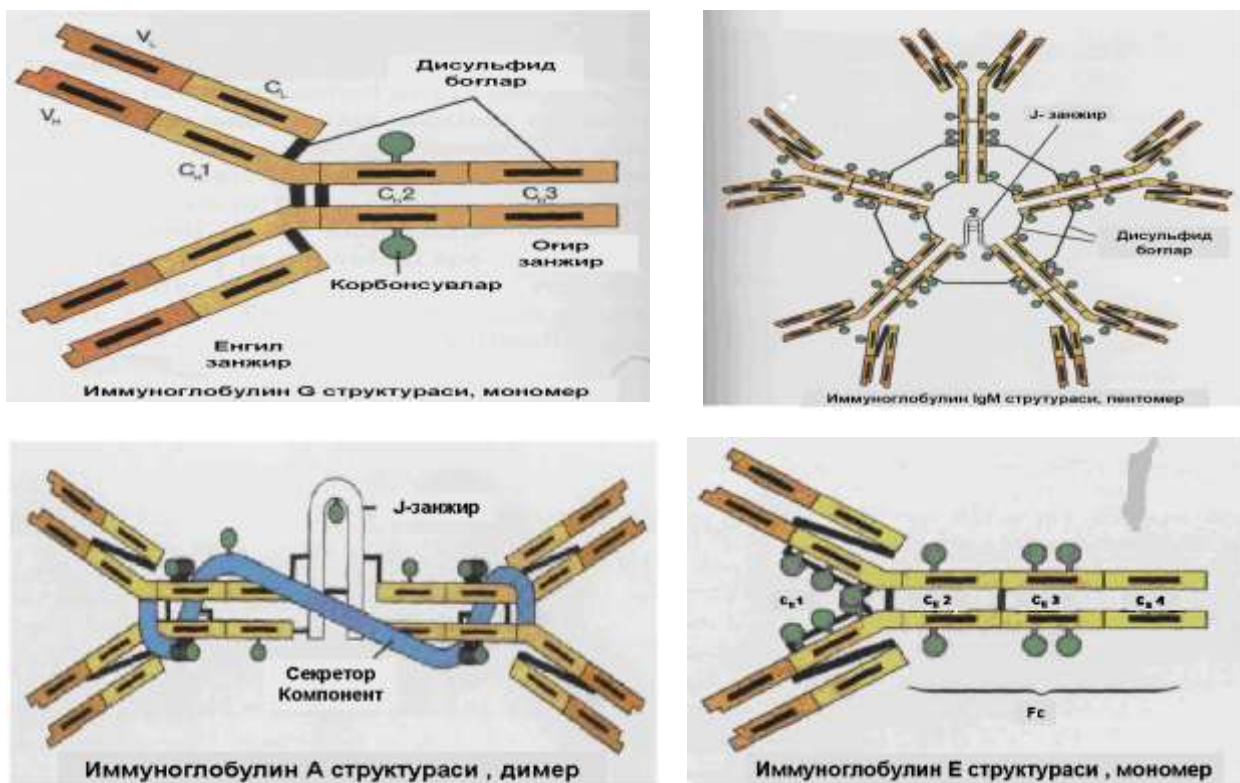
Бактерияларнинг экзотоксинлари ва эндотоксинлари ҳам кучли антигенлик хусусиятига эгадир. Микроорганизмларнинг антигенлик хусусиятини ўрганиш микробиология амалий практикасида муҳим аҳамиятга эгадир, яъни юқумли касалликларни диагностикасида ва даволашда қўлланилади.

Антигенлар организм учун генетик бегона моддалар бўлгани учун организмга тушганда, унинг ички турғунлик ҳолатини бузиб, қуйидаги иммун реакцияларини келтириб чиқаради.

1. Антитела ишлаб чиқариш ва организмни гуморал иммунитет билан таъминлаш.
2. Дорҳол юзага чиқадиган аллергик реакциялар.
3. Аста-секин юзага чиқадиган аллергик реакциялар.
4. Имунологик толерантлик .
5. Имунологик ҳотира.

### Антителалар

Антителалар деб макроорганизмларга антигенлар юборилганда шу антигенлар таъсири остида ҳосил бўладиган махсус оксил глобулинларга айтилади. Антителаларнинг хусусиятлари, ўзининг пайдо бўлишида иштирок



Расм 52. Имуноглобулинларнинг структураси

қилган антигенлар билан махсус бирикишидир. Антителалар имуноглобулинлар деб ҳам аталади, уларнинг қон зардобдаги глобулинлардан фарқи антигенлар билан махсус бирикишидир. Халқаро

классификация буйича иммуноглобулинлар 5 синфга бўлинган: IgC, IgM, IgA, IgE, IgD.

Имуноглобулинлар молекуласи 2 та оғир ва 2 та енгил занжирдан таркиб топган. Оғир – H (heav-инглизча) ва енгил I (heght-инглизча) занжирлар бир-бири билан дисульфид боғлари билан бириккандир (расм 52). Масалан, иммуноглобулин M 5 та алоҳида юқорида кўрсатилган структурал элементлардан ташкил топган бўлиб, пентомер деб аталади. Агар иммуноглобулинлар молекуласига папаин таъсир эттирилса, уларнинг молекуласи папаин таъсирида 2 та фрагментга (Fab-ўзгарувчан ва Fc-ўзгармасга) бўлинади.

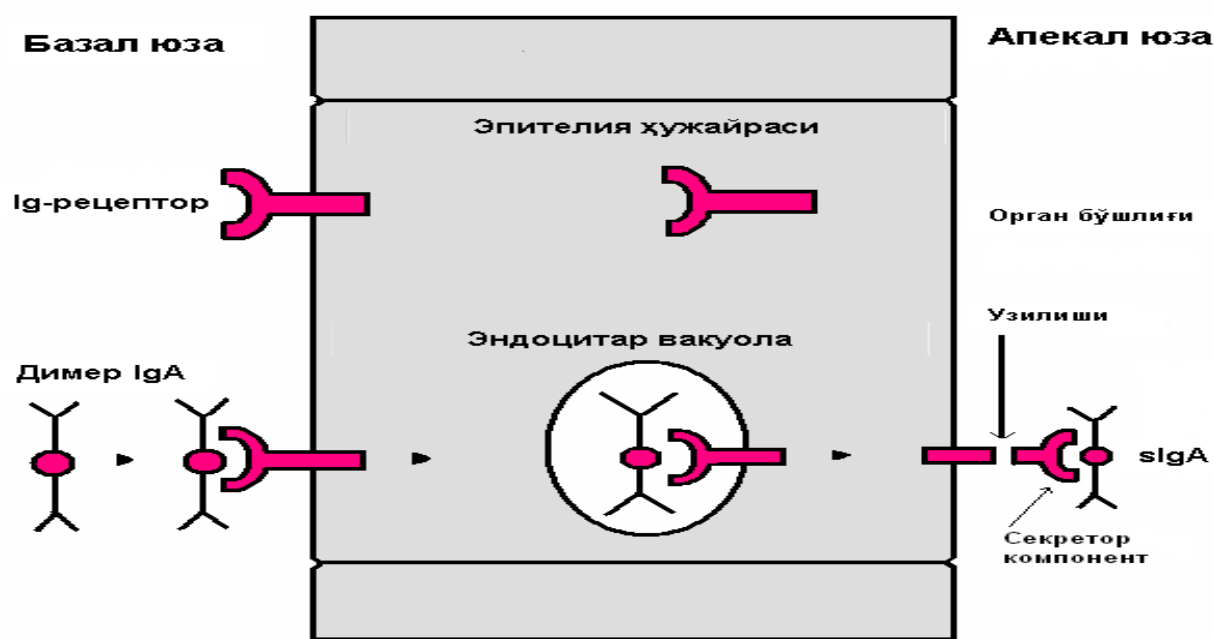
Антителаларнинг махсуслиги уларнинг активлик марказига боғлиқдир. Активлик маркази иммуноглобулинларнинг оғир ва енгил занжирларини Fab - бўлакчасида қарор топган бўлиб, шакли ва тузилиши жиҳатидан антигеннинг детерминант группасининг аксидир (қўлқопни қўлга, калитни эса қулфга тўғри келишига ўхшаш). Антителалар антигенни бириктириб олишда асосан уларнинг активлик марказлари иштирок этади, бу бирикиш антитела ва антиген молекулаларининг ўзаро тортишиш кучига боғлиқдир.

Уларнинг махсус бирикиши эса, антителаларнинг оғир ва енгил занжирларининг активлик маркази қисмидаги охириги аминокислоталарнинг жойлашув тартибига боғлиқдир.

Антиген биринчи бор организмга тушганда, организм шу антигенга қарши биринчи бўлиб IgM ва 5-6 кундан бошлаб IgG синтез қила бошлайди. Бу иммуноглобулин қон зардобидаги ҳамма иммуноглобулинларни 80% ташкил қилади. IgG йулдош оркали чақалоққа ўтади.

Имуноглобулин A миқдори жиҳатдан қон зардобида IgG дан кейинда туради ва икки хил кўринишда учрайди, қон зардобида ва организмда ишлаб чиқариладиган турли хил суюқликларда (секретларда), шунинг учун ҳам секретор иммуноглобулин деб аталади . Секретор IgA ошқозон ва ичак йўлларида, ўпкада, жинси органларнинг шиллиқ қаватида учрайди. Бу

иммуноглобулин диммер ҳолатида бўлиб, секретор компоненти орқали мономер билан бириккандир ва шунинг эвазига протеолитик ферментлар таъсирида эриб кетмайди. IgA организмда вазифаси жуда муҳим бўлиб, организмга патоген бактерияларни киришига тўсқинлик қилади, бошқача қилиб айтилганда, IgA организмда химояни биринчи чизиғини ташкил қилади (расм 53). Иммуноглобулин E ёки реаген антителалар, қон зардобидида унинг миқдори кўп эмас (расм 52). Организмда жуда кам бўлган плазматик



Расм 53. Иммуноглобулин А, шиллик қаватларга чиқиш механизми

хужайралар уни ишлаб чиқаради. IgE нинг Fc бўлағи цитофил (хужайрани севиши) хусусиятига эга, шунинг учу антиген билан бирикканда семиз хужайраларга бирикиб олади ва семиз хужайраларни дегранулятцияга учратиши мумкин. Бунинг натиласида семиз хужайралар вазоактив аминларни ажратиб чиқара бошлайди, бу эса организмда бичан истмаси, бронхиал астма ва шунга ўхшаш симптомларни келтириб чиқаради.

Иммуноглобулин E асосий физиологик функцияси организмнинг шиллик қаватларида юқорида кўрсатилган яллиғланиш жараёнларини келтириб чиқариш билан бирга, организмни патоген микроорганизмлардан химоя қилади, яъни патоген бактериялар IgA нинг қаршилигини шиллик қаватлар орқали енгиб ўтса, бу ҳолатда IgE дуч келиши мумкин. IgE семиз

хужайралар билан бирикиб яллиғланиш жараёнини келтириб чиқаради ва шу билан биргаликда бошқа лимфоцитларни яллиғланиш ўчоғига миграция бўлишига сигнал беради. Яллиғланиш ўчоғига қон зардобдаги IgG, лимфоцит ва макрофаглар ёғилади ва патоген агентни йўқотади. Шу билан биргаликда IgE асосан аллергия касалликларни келтириб чиқаришда организмда қатнашади.

Иммуноглобулин (IgD) функцияси яхши ўрганилмаган, охири маълумотларга қараганда лимфоцитларнинг мембрана рецептори вазифасини бажариши мумкин.

Организмдаги антителаларнинг миқдори уларнинг организмда қанча муддат сақланиб туришга, антиген миқдорига ва унинг неча марта, қандай усулда юборилганлигига боғлиқ. Мана шу жараёни организмда генотип бошқариб туради, шунинг учун ҳам бир хил антигенга ҳар -хил генотипга эга бўлган организмлар ҳар- хил жавоб беради.

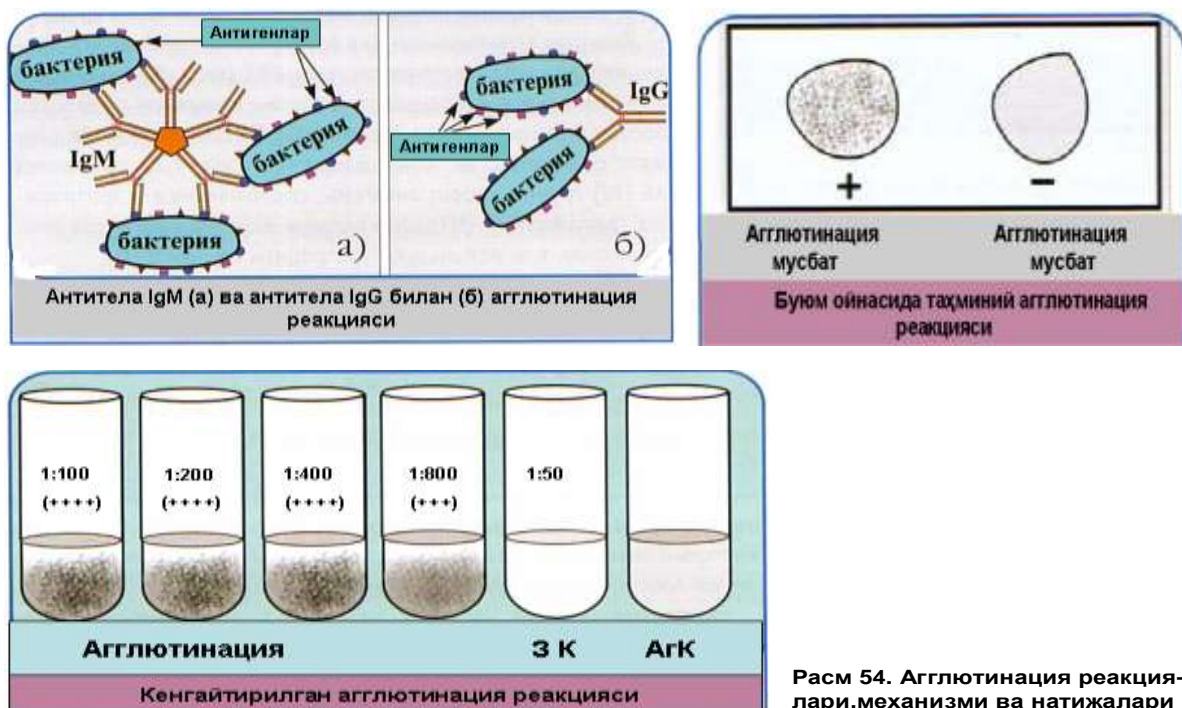
Антиген ва антителаларнинг организмда махсус бирикишидан ташқари, антиген ва антителаларнинг бирикиши (*in vitro*) пробиркаларда ҳам кузатиш мумкин. Бундай махсус иммунологик реакцияларни серологик реакциялар деб аталади. Буларга: агглютинация, преципитация, лизис, комплементни боғлаш, гемагглютинация ва бошқа реакциялар киради. Бу серологик реакциялар махсус бирикиши ва ўта юқори сезувчанликка эга бўлганлиги сабабли медицина практикасида юқумли касалликларни диагноз қилишда ва бактериологик практикада (ажратиб олинган культурани) саралашда ишлатилади.

Ҳамма серологик реакциялар икки фазада боради. Биринчи фазаси махсус, яъни антигеннинг детерминант группаси билан антителаларнинг актив марказларини бирикиши. Иккинчи фазаси махсус бўлмай бундай реакциялар турига қараб чўкмага тушиши ёки антигеннинг эриши кузатилади. Агар антителалар кам дисперсли ва корпускуляр антигенлар (микроб, спирохеталар) билан бирикса, бу ҳолда изотоник суюқликда мустахкам

бирикма ҳосил қилиб, пробирка тагига чўкма (агломерат) ҳолида тушади (расм 54). Бу иммунологик реакцияни агглютинация ходисаси деб аталади.

### Агглютинация реакцияси

Агглютинация реакциясида (лот. agglutinatio-ёпишиш) антителолар ёрдамида микроб, эритроцит, лейкоцит, тромбоцит, тўқима ҳужайралари ва устига антиген адсорбция қилинган корпускуляр заррачалар электролитли (0,85% NaCl эритмаси) муҳитда бир бирига ёпишиб чўкмага тушади. Корпускуляр антиген "агглютиноген" деб аталади. Агглютинация реакциясининг механизми "панжарани" эслатади, бунда икки валентли антителонинг бир фаол маркази бир антиген билан, антителонинг иккинчи фаол маркази иккинчи антиген билан бирикишидан (расим ) бирикма



Расм 54. Агглютинация реакциялари, механизми ва натижалари

(агглютинат) ҳосил булади. Бир бирига яқин микроблар ёпишса гуруҳ, агглютинация реакцияси кузатилади. Бу гуруҳ, тур ва вариант антигенлари ҳисобига рўйёбга чиқади.

Махсус специфик иммун зардобни бактерия аралашмасига қўшилганда улар ёпишади агглютинация ҳосил бўлиб, пилакчасимон ёки майда доначаларга ўхшаш чўкмалар ҳосил бўлади. Агглютинация реакцияси

моносистемаси, тўғридан-тўғри содир бўладиган икки компонентли бўлиб, антитело (агглютинин) ва корпускуляр антиген (агглютиноген) қатнашади. Реакция антитело ва антигенлар микдорининг маълум нисбатида ва электролит (0,85% NaCl нинг эритмаси) иштирокида содир бўлади. Агглютинация реакцияси махсус, агглютинация берувчи зардоб, бактерия билан спецификдир. Аммо қардош, яқин микроорганизмлар билан ҳам кам микдорда бўлса ҳам агглютинация бериши мумкин.

Соматик (O), ҳивчинли (H) ва Vi антигенлар тутувчи ҳаракатчан бактериялар билан иммунизация қилинган ҳайвонлар организмида O-,H-,Vi-агглютининлар ҳосил бўлади. Агар турли бактерияларда гуруҳ, ва турга хос антигенлар бўлса, улар битта гуруҳ антигенларга қарши антителолар тутувчи иммун зардоб билан агглютинация бериши мумкин. Бу микроорганизмлар идентификациясини қийинлаштиради. Шундай ҳолатларда Кастелланинг агглютининларни адсорбция қилиш реакцияси ўтказилади. Бунда бир бирига яқин гетероген бактериялар иммун зардобидан гуруҳ, антителоларни ўзларига бириктириб оладилар, зардобда эса турга хос антителолар қолади. Битта антиген рецепторига антителолар тутувчи бундан зардоблар "монорецептор" зардоблар, деб аталади. Улар бактерия сероварларини аниқлашда ишлатилади.

Агглютинация реакцияси амалиётда асосан юқумли касалликларга серологик ташҳис (қорин тифи, паратиф А-В, бруцеллёз, туляримия, риккетсиоз касалликларида) қўйишда ва ажратиб олинган микроб культураларини серологик идентификация қилишда қўлланилади. Биринчи ҳолатда изланувчи учун антиген (диогностикум) маълум, шунинг учун бемор қонидан номаълум антитела изланилади (кенгайтирилган агглютинация реакцияси) ва изланилаётган атителани титри аниқланади. Юқумли касалликларга бу усулда ташҳис қўйишда албатта қўш зардоб қўлланилади. Биринчи маротиби қўйилгандан сўнг иккинчи маротиба 1-1,5 ҳафтадан кийин қўйилади, агар беморда изланиб топилган



АТ титри, биринчи ҳафтадаги титрдан 2 ва ундан кўп баробар ошган бўлса, титрни ошишига қараб беморга ташҳис қўйилади, агар титр ошмаса (кўпчилик ҳолларда эмланганларда, касал бўлиб ўтганларда) ташҳис қўйилмайди. Ажратиб олинган культураларни серологик идентификация қилишда поливалентли ва моновалентли агглютинацияга учратувчи кон зардоблар (расм 54) қўлланилади ва реакциялар буюм ойначасида қўйилади.

### **Методик кўрсатмалар**

Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш. Беморнинг кон зардобидан изланилаётган АТ титрини аниқлаш учун қўйилган реакциянинг схемаси жадвалда келтирилган. Даслаб зардобнинг асосий эритмаси тайёрланилади, бунда зардоб титрига кўра: 1:100, 1:200, 1:400, 1: 800 нисбатда суюлтирилади, бунинг учун 1 мл асосий эритмадан олиниб биринчига, биринчи пробиркадан-иккинчисига, иккинчидан учунчисига ва х.к қатор эритмаси суюлтирилиб тайёрланилади.

Ҳамма пробиркалар тенг ҳажмда бўлиши учун охириги пробиркадан 1 мл суюлтирилган зардоб олиниб дезинфекцияловчи эритмага қуйилади. Контрол пробиркага (антиген контроли) натрий хлоридни 1 мл изотоник эритмаси қуйилади. Суюлтирилган зардобли ҳар бир пробиркага ва контрол пробиркага пипетка билан 2 -3 томчидан (0,15 мл) 1 мл да 3 млрд микроб танаси бўлган бактерия (диогностикум) суспензияси томизилади. Пробиркалар яхшилаб силкитилиб 37° С да 2 соат термостатга қўйилади, сўнг уй ҳароратида бир сутка давомида сақланади.

Шундан сўнг ҳивчинли антиген билан қўйилган реакциянинг натижаси кўрилади. 18-48 соатдан сўнг соматик антиген билан қўйилган реакциялар натижаси аниқланади. Реакция натижаси қуролланмаган кўз орқали ёки агглютиноскоп билан текширилади. Бунда пробиркалар секин-секин силкитилиб кўрилади. Агар натижа мусбат бўлса, чўкмага тушган бирикма ипир-ипир бўлиб туради (Н-агглютинация), дона-дона бўлиши мумкин (О-агглютинация).

**Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш схемаси.**

№	Ингредиентлар	Пробиркалар					
		1	2	3	4	5	6
		Суюлтириш					
		1:100	1:200	1:400	1:800	Контроль (Аг)	Контроль (зардоб)
1	Натрий хлориднинг изотоник эритмаси	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2	Қон зардоби (касалники) 1:10 нисбатда суюлтирилган	0,5	-	-	-	-	0,5 (1:10)
3	Диагностикум (1-2 млрд. микроб эритмаси).	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	-

Агглютинация реакциясининг қай миқдорда бораётганини ёки даражасини аниқлаш учун турт (4) мусбат белги қўйиш билан олиб борилади. Турт мусбат (++++) белгили реакцияда ҳамма антигенлар чўкмага тушиб суюқлик тиниқ бўлиб қолади. Уч мусбат (+++) белгили реакцияда суюқлик озгина лойқаланиб қолиши мумкин, чўкма аниқ кўриниб туради. Икки мусбат (++) реакцияда эса антигенларнинг ярми чўкмага тушади, суюқлик ярим лойқаланган ҳолда бўлади. Тўртта ва учта белгили реакцияда мусбат натижа қайд қилинади. Белигини иккитаси аниқланса, реакция манфий деб қаралади.

**Буюм ойнасида агглютинация реакциясини қўйиш.** Ажратилиб олинган микроорганизмларни кайси турга ва серо гуруҳларга мансублигини аниқлаш учун агглютинация буюм ойнасида қўйилади. Бунинг учун маълум агглютинацияга учратувчи зардобдан Пастер пипеткаси ёрдамида 1-2 томчи буюм ойначасига томизилади, контрол учун натрий хлоридни изотоник эритмаси 1-2 томчи олинади ва бактериологик ҳалка (петля) ёрдамида

текширилаётган микроб культураси олиниб, буюм ойнасидаги махсус зардоб билан аралаштирилади. Реакциянинг натижаси 3-10 минутдан сўнг кўрилади. Мусбат агглютинация реакциясида буюм ойначаси устида яққол кўринувчи агломерат заррачалари ҳосил бўлади. Шу билан бир қаторда контрол ойначада физиологик суюқлик билан текширилаётган антиген реакция бермайди.

**Мавзу 16. Серологик реакциялар: комплементни боғлаш, бевосита, билвосита гемагглютинация, иммунофлюоресцент ва Кумбс реакциялари, қўйилиши ва аҳамияти.**

**Машғулот программаси**

1. Комплементни боғлаш реакцияси (КБР), унинг қўйилиш йўллари ва медицина практикасидаги аҳамияти.
2. Билвосита гемагглютинация реакцияси (БГР), унинг келиб чиқиш механизми ва медицинада қўлланилиши.
3. Кумбс реакцияси ва унинг практикада қўлланилиши.

**Намойиш қилиш**

1. КБР ишлатиладиган ингредиентлар, реакцияни қўйишини акс этирилган рангли расим схемалар.
  2. Мусбат ва манфий натижали гемагглютинация реакцияси.
  3. Кумбс реакцияси, реакцияни қўйишини акс этирилган рангли расим ва схемалар.
- Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ
1. Комплементни боғлаш реакциясини қўйиш:
    - а). Комплементни ишчи дозасини аниқлаш
    - б). Гемолитик системани тайёрлаш
    - в). Текширилаётган зардобдаги специфик антителолар борлигини аниқ антиген билан аниқлаш учун КБР биринчи ва иккинчи фазасини қўйиш.
  2. Касал қон зардобдаги антиген ёки антителани аниқлаш учун билвосита гемагглютинация реакциясини қўйиш.

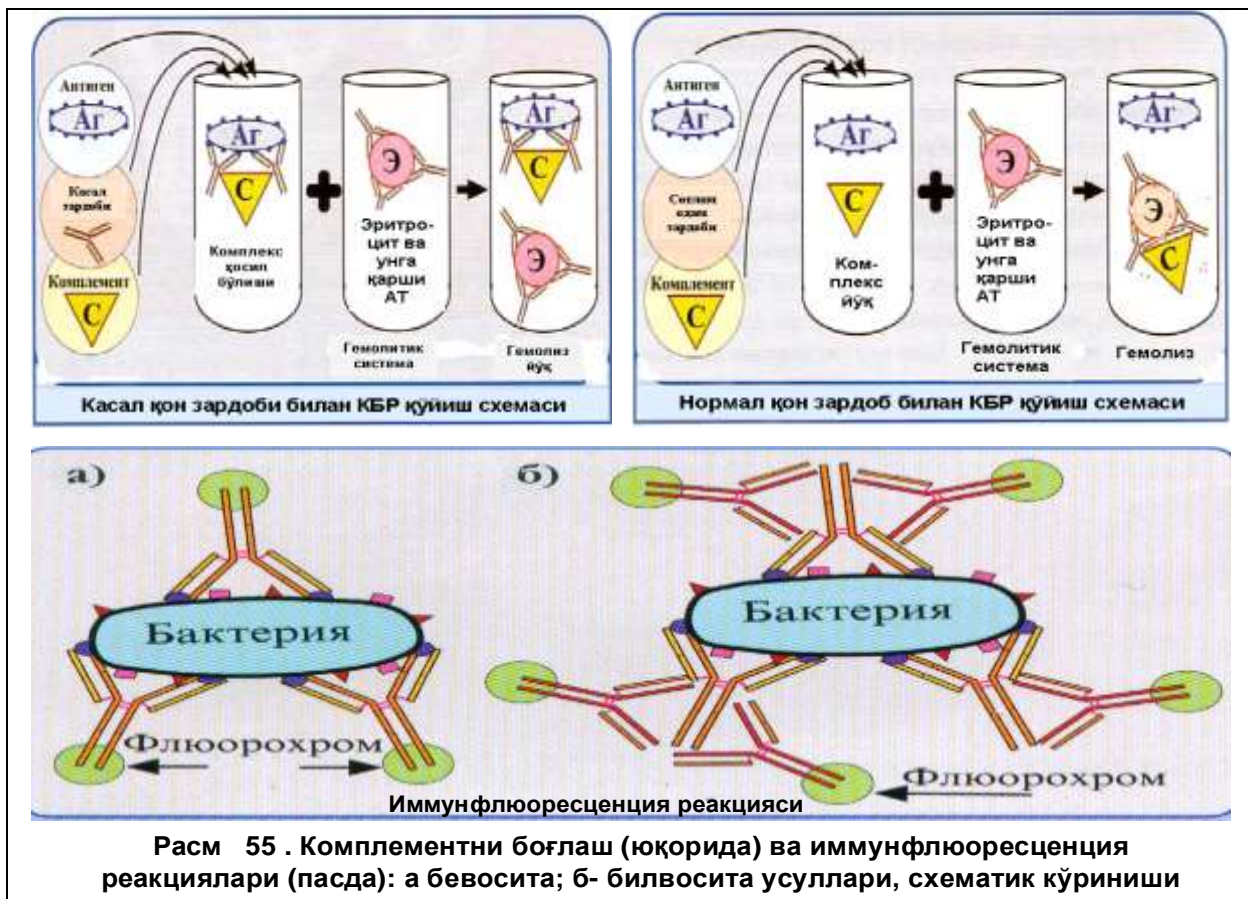
**Методик қўлланмалар**

**Комплементни боғлаш реакциясини қўйиш.** КБР мураккаб серологик реакциялар жумласига киради, бу реакцияда антиген, антитела ва комплементдан ташқари реакция натижасини кўрсатиб берувчи гемолитик система ҳам қўлланилади. КБР юқори сезгирликка эга бўлганлиги сабабли кенг қўламда юқумли касалликларни диагностикасида қўлланилади. (Масалан: вируслар, риккетсиялар ва бактериялар келтириб чиқарадигон касалликларда). КБР кўпинча беморлардан ажратиб олинган вирусларни аниқлаш ва турини белгилашда ишлатилади.

КБР икки фазани ўз ичига олади:

1. Антиген, антитела ва комплементнинг бирикиш фазаси.
2. Гемолитик система фазаси.

Биринчи фазанинг моҳияти шундан иборатки, (расм ) бу фазада антиген ва антитела бир-бирига махсус мос келганида бирикиб, бирикма ҳосил қилади, натижада бу бирикма ўзига комплементни боғлаб олади (комплемент сарфланади). Бу реакция пробиркада қўйилганида, уни кузатиб бўлмайди. Шунинг учун иккинчи фазадан, яъни гемолитик системадан фойдаланилади.



Гемолитик система реакцияда индикаторлик вазифасини бажаради. Гемолитик система, қўй эритроцитларидан ва уларга қарши (антигемолитик) гемолитик антителалардан иборатдир, яъни гемолитик зардоб. Бу гемолитик зардобни олиш учун қўй эритроцитларини лаборатория хайвонларига (куёнга) бир неча мартаба юборилади ва улардан гемолитик зардоб ажратиб олинади. Гемолитик зардоб 56<sup>0</sup>С да сув ҳаммомида инактивация қилинади (56<sup>0</sup>С да қон зардобдаги комплемент активлигини йўқотади).

КБР бошқа серологик реакцияларга ўхшаб икки фазада боради:

Антиген - антитела.

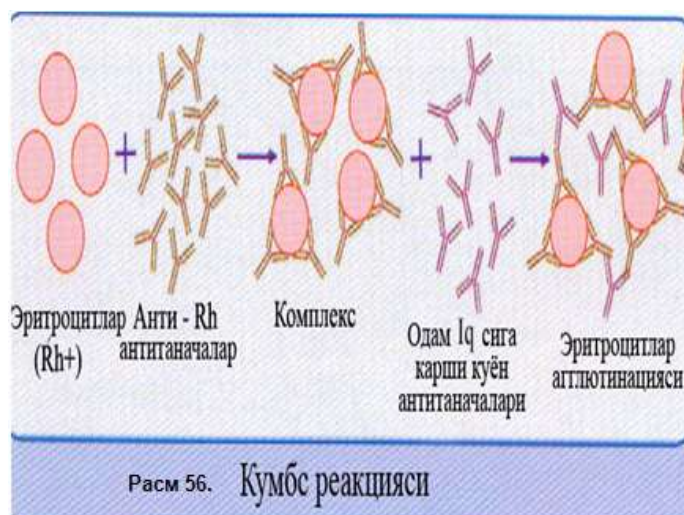
Комплементнинг адсорбция қилиниши.

Агар касал қон зардобида шу реакцияда ишлатилаётган антигенга мос келадиган антителалар бўлса, у вақтда ҳосил бўладиган антиген-антитела бирикмаси ўзига комплементни бириктириб олади, яъни боғлайди. Унга гемолитик система қўшилганда, эритроцитларнинг гемолизи рўй бермайди (расм 55), чунки комплемент боғланган ҳолатда бўлади (тўғрироғи сарф бўлади), иккинчи гемолитик системага (Аг + Ат) комплемент қолмайди. Шунинг учун гемолиз пробиркада рўй бермайди. КБР мусбат деб ҳисобланади.

Иккинчи ҳолатда касал қон зардобида антигенга мос келувчи антителалар бўлмаса, антиген-антитела бирикмаси ҳосил бўлмайди ва комплемент боғланмасдан ( сарф бўлмасдайки) эркин ҳолатда қолади. Гемолитик система қўшилганида комплемент шу система билан бирикади, натижада эритроцитларнинг гемолизи рўй беради. Бу эса шу пробиркада реакцияни манфий деб ҳисоблашга асос бўлади.

### Кумбс реакцияси (КР).

Бу реакция ёрдамида тўлиқ бўлмаган, яъни бир валентли антителалар аниқланади. Бу Ат корпускуляр ёки эритма ҳолидаги антигенлар билан махсус бирикади, бу реакцияни макроскопик кузатиб бўлмайдиган агглютинация, преципитация ёки комплементни бириктириш феноменлари кузатилмайди. Тўлиқ бўлмаган антителалар ўзининг бир валентлилиги туфайли (бир актив маркази бор), антигеннинг детерминант жойини қоплаб олиб, бошқа Аг детерминантлар билан бирика олмайди.



Шунинг учун уларни қуршаб олувчи (блокирующие) антителалар деб ҳам аталади.

ҚР усулида асосан махсус антиглобулин қон зардоблари ишлатилади. Бу зардобларни олиш учун қуённи одам қон зардобининг глобулинлари билан иммунизация қилинади. Бу антиглобулин тўлик, яъни икки валентли антителалар группасига киради. Агар текширилаётган қон зардобиди тўлик бўлмаган антителалар бўлса, улар антиген билан бирикиб, унинг устки қисмига адсорбция бўлади. Шу ҳосил бўлган бирикмага диагностик антиглобулинли қон зардобни қўшилса, ундаги антителалар, антиген-антитела комплекси (антиген

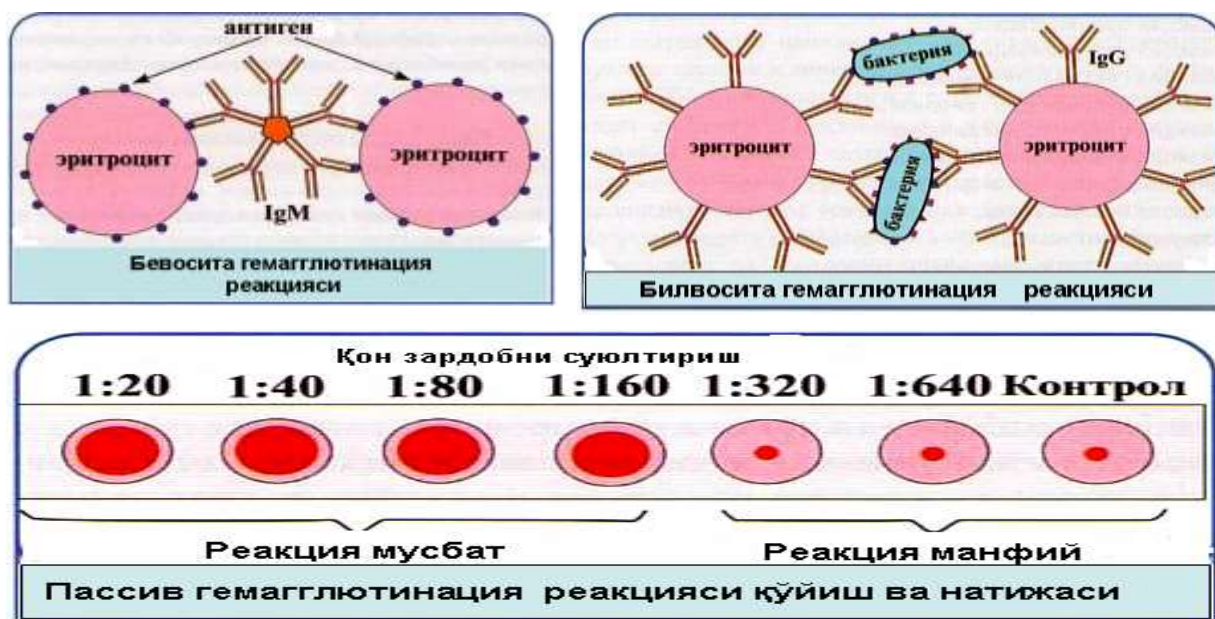
билан бириккан тўлик бўлмаган антителалар) билан махсус бирикади. Натижада, макроскопик кўринмайдиган реакция тўлик ва тўлик бўлмаган антителаларнинг бирикиши ёрдамида гемагглютинация юз беради ва реакция кўринади.

Нотўлик Ат аниқлаш учун, масалан, ҳомиладор аёллар зардобиди эритроцитларнинг резус –антигенига қарши ҳосил бўлган Ат аниқлаш икки босқичда қўйилади (расм 56). Биринчи босқичда икки мартадан суюлтирилган, текшириладигон зардобга резус-антигенига эга эритроцитлар қўшилади ва 37° С да термостатда бир соат сақланади ва олиниб уч маротиба центрифуга ёрдамида натрий хлорни изотоник эритмасида ювилади. Иккинчи босқичда яхшилаб ювилган эритроцитларга (олдиндан ишчи эритмада титрланган) қуённинг одам глобулинларига қарши олинган зардобни қўшилади. 30 мин 37° С да термостатда қўйилгандан сўнг гемагглютинация борлигига кўра (мусбат реакция) натижаси ҳисобга олинади. Реакцияда қуйидаги контроллар қўйилади: 1) антиглобулинли зардоб + олдиндан сенсibiliзация қилинган эритроцитлар; 2) нормал зардоб + эритроцитлар + антиглобулинли зардоб; 3) текшириладигон зардоб + резус манфий эритроцитлар + антиглобулинли зардоб.

### **Бевосита ва билвоста гемагглютинация реакцияси (БГР)**

Бевосита гемагглютинация реакциясининг (БГР) моҳияти шундан иборатки, турли антигенлар билан олдиндан сенсibilланган эритроцитларга иммун зардоб ёки тегишли антигенларга эга бўлган касал зардоби қўшилса, шу сенсibilлашган эритроцитлар бир-бирига ёпишиб агглютинацияга учрайди. Шунинг эътиборига эришилганда, эритроцитларни қайси антиген билан сенсibilзация қилинса, шу антигенга махсус бўлган антителалар билан реакцияга киришади (расм 57).

Бевосита гемагглютинация реакцияси (пассив) сезгирли ва махсуслиги жиҳатидан бошқа серологик реакциялардан устун туради. Ҳозирги кунда жуда кўп модификациялари бактериялар, риккетсиялар қўзғатадиган юқумли касалликларнинг диагностикасида кенг қўлланилади. Бу реакцияларда қуй, маймун, денгиз чучкаси, қушлардан (хуроз, ғоз) ва одамнинг 1(0) группаси эритроцитларидан фойдаланилади. Антиген сифатида эса тозаланган микроб,



Расм 57 . Гемагглютинация реакциялари, механизми ва натижалари

вирус ва бошқа микроорганизмларнинг антигенлари, уларнинг токсинлари ва турли ҳил оксил моддалари ишлатилади. Антигенлар билан сенсibilзация қилинган эритроцитлар медицина саноатида эритроцитар диагносикумлар қўринишида чиқарилади. Бундай эритроцитар

диогностикумлар ёрдамида бемор қон зардобдаги махсус Ат титри аниқланиб касалликга серологик ташхис қўйилади (қорин тифи, иерсиенозларда, ОИТВ, бруцеллёз ва бош.касалликларда). Бу усулни билвосита (пассив) гемагглютинация реакцияси (расм 57) деб ҳам аталади.

Кўпчилик ҳолларда эритроцитлар антиген билан эмас, балки махсус антителалар билан сенсibiliзация қилинади. Одатда гетроген Ат лар эритроцитларга адсорбция бўлмайди, уларни эритроцитлар мембранасига бириктиришда кимёвий бириктиривчи ( CrCl<sub>3</sub>, глутар альдигит) моддалардан фойдаланилади. Бундай антителали эритроцитар диогностикумлар ҳам саноатда чиқарилади. Бундай эритроцитар диогностикулар билан антигенларни аниқлаш қайта билвосита гемагглютинация реакцияси деб аталади (расм 57) ва кўпчилик касалликларда (гепатит В, С, ОИТВ, вабо, ич буруғ, ўлат ва бош.) қўлланилади.

**Иммунфлюоресцент усул.** Юқумли касаллик агентларини патологик материаллардан, инфекция юққан ашёлардан, ҳайвон тўқималаридан ва хужайра культураларидан флюоресценция қилувчи антителалар (зардоблар) ёрдамида аниқлашдан юқумли касалликларга диогноз қўйишда амалиётда кенг қўлланилади. Иммунфлюоресцент усул тезкор (экспресс) диогноз қўйиш усули бўлиб, ўзининг сезгирлиги ва спецификлиги билан бошқа серологик реакциялардан қолишмайди.

Флюоресценция қилувчи зардобларни тайёрлаш, айрим флюорохромларнинг (масалан флюоресценциянинг изотиоцианати) зардоб оқсилларнинг иммунологик махсуслигига таъсир қилмай улар билан кимёвий бирикишига асосланган. Иммунфлюоресцент усулни Кунс реакциялари деб ҳам аталади. Иммунфлюоресцент реакцияни бевосита ва билвосита усуллари тафоут этилади (расм 55).

Кунсинг бевосита иммунфлюоресцент усулида, флюоресценция қилувчи антителолар (флюорохром билан нишонланган) микроб антигенлари билан бирикиб, комплекс ҳосил қилади. Бу комплекслар люминесцент микроскоп



остида кўрилганда ўзига хос яшил рангда нур тарқатади (расм 55а). Бу реакциянинг камчилиги шундан иборатки, ҳар бир текширилувчи микроб ёки вирунга қаша флюоресценция қилувчи махсус зардобларнинг кенг тўпламини тайёрлаш зарур.

Кунснинг билвосита усулида эса, фақатбиргина, уневерсал, таркибида қуён глобулинларига қаршиантителалари бўлган флюоресценция қилувчи антиглобулинли махсус зардоб кўзда тутилади. Диагностик антизардоб (АТ) таркиби қуён глобулинлари бўлганлиги учун (чунки антиген қуёнларни иммунлаш йўли орқали олинади), улар флюоресценция қилувчи антиглобулинли зардоб билан антиген сифатида махсус бирикади (расм 55б) ва комплекс (изланилаётган микроб + микробга қарши АТ + нишонланган антиглобулин зардоб) ҳосил қилади. Ҳосил бўлган комплекс люминесцент микроскопда нур тарқатади.

**Комплементни боғлаш реакциясини қўйиш:**

КБР қўйиш учун қуйидагилар зарур:

Беморнинг қон зардоби;

Изланаётган антителага махсус бўлган маълум антиген;

Комплемент. 3% қўй эритроцитлари. Гемолитик қон зардоби;

Натрий хлориднинг изотоник суюқлиги. Пробиркалар ва пипеткалар.

**Комплемент**, титри ва ишчи дозасини белгилаш. Комплемент тариқасида денгиз чўчкасининг янги қон зардобидан (24-48 давомида) ёки ишлаб чиқилган ампулалардаги қуруқ комплементдан фойдаланилади. Реакция қўйиш олдидан комплемент 1:10 нисбатда (керакли микдорда) суюлтирилади, (эритроцитларни гемолизга учратувчи комплементнинг энг кам микдори). Шунингдек, антигеннинг антикомплементар хусусиятлари бўлиши мумкинлигини назарда тутиб, комплементнинг аниқланган ишчи титрига 20-30 процент қўшимча қўшилади. Масалан: комплементнинг ишчи титри 0,15 мл. тенг бўлса, унинг ишчи титрини 0,2 мл қилиб олинади.

**Антигенлар** КБР антиген бўлиб ишлаб чиқариш институтларида ўлдирилган бактерияларнинг эмульсиялари, шу эмульсиялардан тайёрланган экстрактлар ва микроб ёки вирус хужайраларидан кимёвий йўл билан ажратиб олинган фракциялари хизмат қилади. Ишлатиладиган антигенларнинг антикомплементар хусусиятини аниқлаш учун, комплемент, реакцияда ишлатиладиган антиген иштирокида қўшимча равишда титрланади

ва антигеннинг ишчи дозаси аниқланади. Агар антиген комплемент иштирокида титрланиб, комплементнинг титри 30 процентга камайса, бу холда антиген ишлатишга лаёқатсиздир. Антигенни титрлаш учун уч қатор пробиркалар олинади ва шу пробиркаларнинг ҳар бирига, яъни қаторига антигеннинг икки мартаба ошириб борилган эритмасидан 0,5 мл миқдорда олинади. Биринчи қатор пробиркаларга тенг миқдорда (0,5 мл) специфик қон зардоби қўшилади, бу қон зардобининг суюлтирилиши эса турт мартаба оширилиб

Жадвал 28 .

Комплементни суюлтириш схемаси.

Ингредиентлар	Пробиркалар									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Комплемент 1:10 нисбатда суюлтирилган (мл).	0,05	1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	-
Натрий хлориднинг изотоник суюқлиги (мл).	0,95	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
Гемолитик система (37 <sup>0</sup> термостатда 30 минут сакланган, мл)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Пробиркалардаги аралашмалар яхшилб силкитилиб, 37 <sup>0</sup> С термостатда 30 минут давомида ушлаб турилади.										
Реакцияларнинг натижалари	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Илова: гемолиз (+), гемолиз (-)

борилади. Иккинчи қатордаги пробиркаларга тенг миқдорда ва шу суюлтирилган миқдорда нормал қон зардоби қўшилади (антиген спецификлигини контроль қилиш учун). Учинчи қатор пробиркаларга 0,5 мл натрий хлориднинг изотоник суюқлигидан қўшилади. Ҳамма пробиркаларга икки мартаба суюлтирилган комплементдан 0,5 мл қушиб, яхшилаб аралаштирилади ва 37<sup>0</sup> термостатга 60 минутга қўйилади. Антиген қўшилмаган қон зардоби иккинчи контроль бўлиб хизмат қилади. Пробиркалар термостатдан олиниб, ҳаммасига 1мл гемолитик система қўшилади ва яна термостатга 30 минутча қўйилади. Антиген бирлиги деб унинг энг юқори суюлтирилган миқдори олинади ва шу суюлтирилган миқдорда специфик қон зардоби иштирокида эритроцитларни икки мусбат (++) белгигача гемолизга учратмайдиган миқдори олинади. Антигеннинг ишчи фазаси эса унинг кам суюлтирилган миқдори бўлиб, шу суюлтирилган миқдорда специфик қон зардоби билан бирга реакцияда

иштирок этади ва эритроцитларнинг гемолизини нормал қон зардоби ва хлорид натрий суюқлиги ёрдамида ушлаб қололмайдиган миқдорига айтилади.

**Гемолитик система** - Гемолитик қон зардоб+ қўй эритроцитлари (1:1 нисбатда), гемолитик қон зардоб, инактивация қилинган ( $56^{\circ}\text{C}$  30 минут сув ҳаммомида сақланган) қўённинг қон зардоби бўлиб (таркибида гемолизн сақлайди), қўй эритроцитлари билан қўённи гипер иммунлаш йули билан олинади. Гемолитик зардоб 1:1200 титрда чиқарилади, шунинг учун 1:400 нисбатда суюлтирилади.

Қўй эритроцитлари суспензияси фибринсизлаштирилган қўй қонидан тайёрланади, эритроцитлар натрий хлориднинг изотоник эритмасида бутунлай рангсизлангунча тиник ҳолига келгунча центрифуга ёрдамида ювилади ваундан натрий хлориднинг изотоник эритмасидаги 3 % суспензияси тайёрланилади.

КБР ни қўйиш учун ишчи доза сифатида гемолитик зардобнинг 3 марта юқори титри олинади. Асосий тажрибани қўйиш. Барча ингредентлар титри ва ишчи дозалари аниқлангандан сўнг КБР асосий тажрибаси қўйилади (жадвал )

Текширилаётган ва контрол қилинаётган қон зардоблар олдиндан  $56^{\circ}\text{C}$  30 минут сув ҳаммомида комплементи активсизлантирилади.

КБР нинг биринчи фазасида, яъни  $37^{\circ}\text{C}$  да 30 минут давомида антигеннинг текширилаётган зардоб ва комплемент билан бирикишини тақозо этади. Агар КБР совук шароитда ўтказиладигон бўлса, бу фаза  $0-4^{\circ}\text{C}$  да 18-20 соат давомида ўтказилади, бу эса реакция сезгирлигини оширади.

Ҳар бир пробиркага 0,4 мл дан гемолитик система қўшилгач, пробиркалар силкитилади ва  $37^{\circ}\text{C}$  да 20-30 мин давомида сақланади.

Пробиркаларда гемолиз содир бўлган ёки бўлмаганлигига кўра тажриба натижаси аниқланади (жадвал ). Агар пробиркадаги суюқлик тиник бўлиб, эритроцитлар чўкмага тушса ( $0-4^{\circ}\text{C}$  да 18-20 соат инкубацияда) ва гемолиз бутунлай бўлмаса, реакция мусбат, агар эритроцитларнинг барчаси эриб, суюқлик қизил рангга бўялса, реакция манфий ҳисобланади. Ҳар иккала инкубация усулларида ҳам реакциянинг натижаси тўрт мусбат белги қўйиш системаси билан аниқланади:

(++++) – гемолиз йўқ,

(+++) – гемолиз 25%,

(++) – гемолиз 50%,

(+) – гемолиз 75%,

(+) – ҳамма эритроцитлар гемолизга учрайди.

Биринчи ва иккинчи кўринишларда реакция мусбат ҳисобланилади.

Жадвал 29.

Комплементни боғлаш реакциясининг асосий тажрибаси (схема)

Ингредиентлар, мл	Пробиркалар №						
	1	2	3	4	5	6	7
1:5 нисбатда суюлтамирилган текшириладигон зардоб	0.2	-	-	0.2	-	-	-
Мусбат зардоб	-	0.2	-	-	-	-	-
Манфий зардоб	-	-	0.2	-	-	-	-
Антиген	0.2	0.2	0.2	-	0.2	-	-
Натрий хлоридни изотоник эритмаси	-	-	-	0.2	0.2	0.4	0.6
Комплементни ишчи дозаси	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-
37° С да 30 мин инкубация қилиш	ёки 0-4° С даги совуқ шароитда инкубация қилиш						
Гемолитик система	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
20-30 мин давомида 37° С да инкубация қилиш							
Натижалар							

Контрол сифатида (2 ва 3 пробиркалар) олдиндан мусбат ва манфий реакция берадиган зардоблар ҳисобланади: 4 ва 5 пробиркалар зардоб ва антигеннинг комплементга қарши хусусиятини аниқлаш учун хизмат қилади: 6 ва 7 пробиркалар комплемент ва гемолитик системанинг сифатини текширилади.

#### **Билвосита гемагглютинация реакциясини қўйиш.**

Лабораторияда БГР қўйиш учун стандарт эритроцитли диагностикаумлардан фойдаланилади (30 жадвал). БГР ҳозирги вақтда чуқурчали пластинкаларда, пробиркаларда ёки кўпроқ микропланшеткаларда қўйилади. Тажриба натижаси ва унинг даражасини аниқлаш учун тўрт мусбат (++++) белги қўйиш системаси ишлатилади. Реакция натижаси 2 соат 37°С термостатда турганидан кейин текширилади. Агар реакция юқори мусбатли, яъни (++++) бўлса, эритроцитлар бир-бирига ёпишиб, пробирка тубида зонтик шаклини эслатувчи чўкма ҳосил бўлади. 3 мусбатли (+++) реакцияда эса зонтик шаклини ҳосил бўлиши билан бирга эритроцитлар шу зонтикнинг ўртасида тугмачага ўхшаб йиғилиб қолади. 2 мусбатли (++) реакцияда эса тугма каттароқ бўлади. Агар реакция манфий (-) бўлса, эритроцитлар бир-бирига ёпишмайди ва пробиркалар ўртасида тугмачага ўхшаш чўкма ҳосил қилади. Тўрт ва учта (+) реакциялар мусбат ҳисобланади. Реакция 2 контрол билан қўйилади, яъни диагностикаум ва зардоб.

## БҒР нинг қўйилиш схемаси

Ингредиентлар	Пробиркалар								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	Суюлтириш даражаси							Контроллар	
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	Зард.	Диагн.	
Натрий хлориднинг изотоник эритмаси (мл)	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Касалнинг қон зардоби 1:10 (мл) (1,8 эритмаси – 0,2 зардоб)	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	
Эритроцитли диагностикаум (мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25	

**Илова:** 7 пробиркадан 0,5 мл суюқлик дез.растворга тўкилади.

Пробиркалар яхшилаб аралаштирилиб, 37<sup>0</sup>С ли термостатга 2 соат қўйилади, натижаси дафтарга ёзилади.

**Мавзу 17. Серологик реакциялар: Преципитация реакцияси, ИФА, иммуноблотинг реакциялари ва бошқа серологик реакцияларнинг қўйилиши ва аҳамияти.**

**Машғулот режаси:**

1. Преципитация реакцияси (ПР), унинг қўйилиш йўллари ва тиббиёт амалиётидаги аҳамияти.

2. Иммунофермент анализ (ИФА), унинг келиб чиқиш механизми ва медицина амалиётида қўлланилиши.

3. Иммуноблотинг реакцияси ва унинг практикада қўлланилиши.

**Намойиш қилиш**

1. ПР ишлатиладиган ингредиентлар, реакцияни қўйишини акс эттирилган рангли расм, схемалар.

2. ИФА реакцияларининг қўйилиши акс эттирилган рангли расм, схемалар.

3. Иммуноблотинг реакцияси, реакцияни қўйиш акс эттирилган рангли расм ва схемалар.

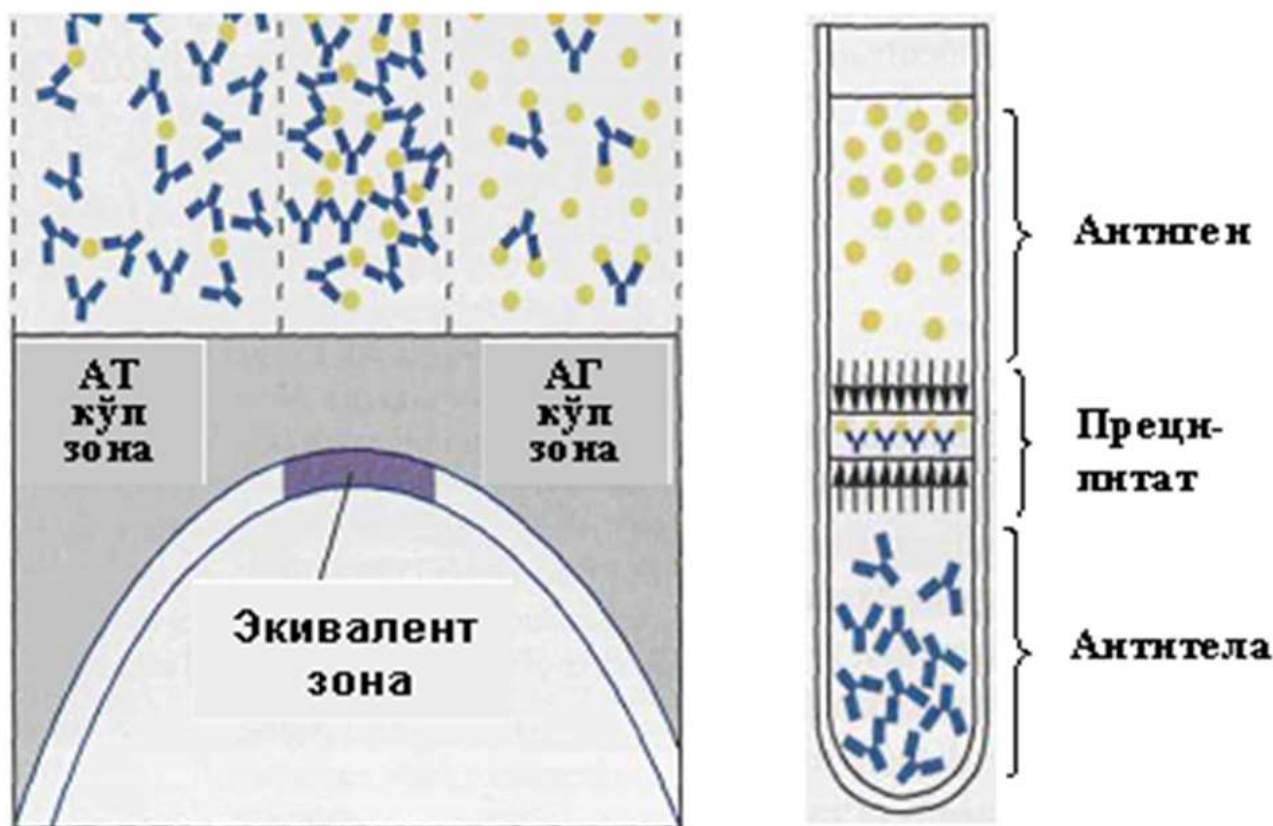
**Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Ҳалқасимон преципитация (Асколи) реакциясини қўйиш.

2. Иммунофермент (ИФА) анализ реакциясини қўйиш.

**Преципитация реакцияси:** агглютинация реакциясидан фарқли ўлароқ, дисперс коллоид ҳолатидаги антиген (преципитиноген) билан қўшилиб, электролит (0,85% NaCl) иштирокида преципитат (майда чўкма) ҳосил қилувчи антителолар преципитинлар деб аталади (расм 58).

Антиген, яъни преципитиноген бўлиб, турли хил оқсил моддалар (хайвон, ўсимлик ва микроорганизм оқсиллари) ва иссиқликка чидамли баъзи бир микроорганизмларнинг антигенлари (куйдирги) ва туляремия касалининг кўзгатувчилари) киради. Преципитация реакцияси (ПР) жуда сезгир ва махсус усул бўлиб, бу реакция ёрдамида 1:10 гача суюлтирилган антиген ёки гаптенни аниқлаш мумкин. Преципитация реакциясининг юқори даражада сезгирлиги, маълум антизардоблар ёрдамида кўпгина антигенларни аниқлаш имкониятини беради. Бунинг учун махсус пробиркалардаги стандарт суюлтирилган диагностик зардобларга кетма-кет суюлтирилган антиген аста секин пробирка деворига томизилади, бир неча дақиқа ўтгандан сўнг икки муҳит чегарасида антиген антителио бирикмаси оқ, ҳалқа кўринишида намоён бўлади. Бунда преципитация қилувчи зардобнинг титри, деб максимал суюлтирилган антиген ишлатилганда яққол намоён бўладиган преципитация реакцияси тушунилади.



Расм 58. Преципитация реакция механизими (схемаси)

ПР қуйидаги амалий ишларда қўлланилади:

1. Юқумли касалликлар диагностикасида (куйдирги, туляремия, тоун ва бошқалар).

2. Баъзи бир бактерияларнинг турини ёки типини аниқлашда.

3. Суд медицинаси экспертизаси амалиётида. Масалан: кон доғи, сперма қайси турга мансублигини аниқлашда кенг қўлланилади.

4. Санитария экспертизасида эса, қалбаки озик-овқат маҳсулотларини (сут, гўшт, балиқ, асал ва бошқалар) аниқлашда ишлатилади.

Биологияда эса турлар ўртасида ирсий боғланиш борлигини (ўсимликлар, микроорганизмлар ва ҳайвонлар) аниқлашда қўлланилади.

ПР нинг ҳозирги кунда кўплаб модификациялари ишлаб чиқилган. Асосан икки йўналишда, эликтролит муҳитда ва гелда қўйилади. Электродит муҳитида энг кўп ҳалқасимон ПР қўлланилади. Бу жуда содда реакция бўлиб, осон қўйилиши билан ажралиб туради. Реакция кўпроқ куйдирги касаллигини диагностикасида кенг қўлланилади. Куйдирги қўзғатувчисини ҳужайра деворида икки тоифа антигени учрайди. Биринчи тоифа антигенлари иссиқликга чидамсиз, юқори ҳароратда парчаланиб кетади, иккинчи тоифа антигени эса иссиқликга чидамли ҳисобланади. Шу антигени топишда ПР қўлланилади. Шунинг учун бу реакцияни термопреципитация реакцияси ҳам деб аталади. Антиген сифатида куйдирги касаллигидан ҳалок бўлган ҳайвоннинг териси, юнги ва бошқа жойидан олинган материаллар ишлатилади. Улар қайнатилиб, филтратлар тайёрланади, уни махсус ПР учун мўлжалланган пробиркаларга қўйилади.

Филтратнинг устига секин-аста шошмасдан пробирканинг деворидан махсус преципитацияга учратувчи иммун зардоб қоплаб тушурилади. Агар ПР мусбат бўлса, икки суюқлик чегарасида ҳалқа, яъни преципитат пайдо бўлади (расм ), бу эса тегишли антиген борлигидан дарак беради. Преципитация зардобини титри энг юқори антиген суюлтиргани билан ифода қилинади. Бу ҳолда пробиркада аниқ ПР рўй беради. Иммун зардобининг дисперслиги антигенниқидан кам бўлгани учун уларни тенглаштириш мақсадида антиген

суюлтирилади. Бундан ташкари гелдаги (агардаги) преципитация реакцияси ҳам бор. Агарли Петри косачасида бир-бирдан оралиғи тенг бўлган чуқурчалар ҳосил қилинади. Марказий чуқурчага таркибида антителолар бўлган зардоб томизилади, қолганларига эса, текширилувчи материаллар ёки антигеннинг ҳар хил даражада суюлтирилгани қўйилади. Агарда моддалар диффузия бўлади ва тенг миқдорда бўлган жойда антиген ва антителолар учрашади ва хира рангли чизиқлар яъни преципитация ёйлари ҳосил бўлади. (Расм 58). Бу реакция дифтерия кўзғатувчисининг захарли штампларини аниқлашда фойдаланилади.

Преципитация реакциясининг 20 дан ортиқ турлари мавжуд булиб, пробирка ичида, капиллярларда, буюм ойначаларида, фильтр қоғозида, ацетат целюлозали плёнкада, гелда қўйиладиган ПР ларга бўлинади. Шулардан бири флоккуляция реакцияси. Бунда антитоксин тутувчи зардобли пробиркага токсин қўшилса, бирикма ҳосил бўлади ва натижада пробиркадаги суюклик хиралашади. Флоккуляция реакцияси зардоб ишлаб чиқаришда антитоксик зардобларнинг фаоллик даражаси ёки таъсир кучини аниқлашда ишлатилади. Антитоксик зардобларнинг таъсир кучини ўлчам бирлиги сифатида халқаро бирлик (ХБ) қабул қилинган. Халқаро бирлик, бу маълум бир миқдордаги токсинни Dim (*dosis letalis minimalis* - ўлимга олиб келувчи энг кам миқдор) нейтраллай оладиган антитоксик зардобнинг энг кам миқдоридир. Антитоксик зардоблар бир неча марта анатоксин билан иммунизация қилинган ҳайвонларнинг қон зардобидан ажратиб олинади. Олинган зардоблар тозаликка, апирогенликка, (ҳайвон организмига юборилганда тана ҳарорати юқорига кўтарилмаслиги керак) текширилади. Уларнинг титрлари *in vivo* (ҳайвонларда) ва *in vitro* (флоккуляция) усуллари ёрдамида аниқланади.

Клиник иммунологияда ҳам ПР кенг қўлланилади. Қон зардобиги ҳар хил иммуноглобулинларнинг миқдорини аниқлашда преципитация



реакциясини гелда қўйиладиган яна бир тури ишлатилади. Бу усул Оухтерлони ва Манчини гелдаги иммунодиффузия реакцияси деб аталади.

Жадвал 31.

### ПР нинг пробиркада қўйилиш схемаси

Ингредиентлар	Пробиркалар				
	1	2	3	4	5
	Суюлтирилган антиген				
	1:100	1:200	1:400	КАг	КАт
Натрий хлориднинг изотоник суюқлиги (мл)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Текширилаётган экстракт (антиген мл 1:50, 0,1-4,9)	0,5	0,5	0,5	0,5	
Махсус преципитацияга учратувчи қон зардоб 0,5 мл қолаб томизилади					
Диагностик қон зардоб	0,5	0,5	0,5	-	0,5

Реакция натижаси 5-10 минут ўтганидан кейин кўрилади.

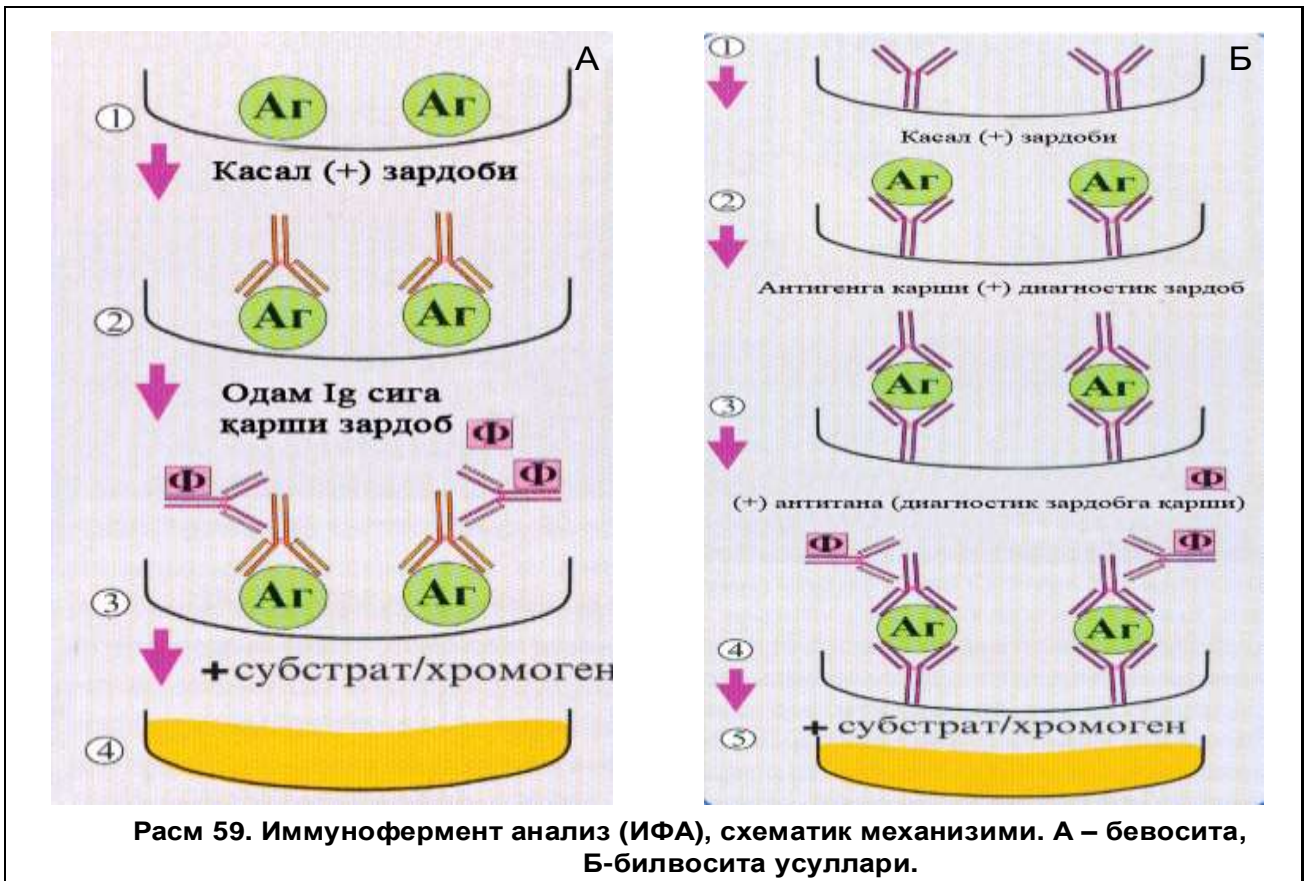
**Контроллар:** Текширилаётган антиген- нормал қон зардоби.

Диагностик қон зардоби – натрий хлориднинг изотоник суюқлиги.

**Имунофермент анализ усули (ИФА).** Кўп жиҳатлари билан РИА ўхшаб кетади, бироқ ундан қўшимча реагентлар –АГ ва АТ, нишонланган ферментлар (пероксидаза, ишқорий фосфатаза) қўлланилиши билан фарқланади (расм 59). Иммунокомплекс ҳосил қилингандан сўнг ушбу системага ферментлар билан бойитилган субстракт қўшилади, бунда муҳит сарғиш (пероксидаза иштирокида)

ёки сарғиш-яшил (фосфатаза иштирокида) ранга киради. Охириги йилларда ИФА

нинг турли модификациялари ишлаб чиқилган. Клиник иммунология амалиётида ИФА нинг қаттиқ фазали "сендвич" вариантдан кўпроқ фойдаланилади. ИФА бу вариантини бевосита ва билвосита усуллари ишлаб чиқилган.



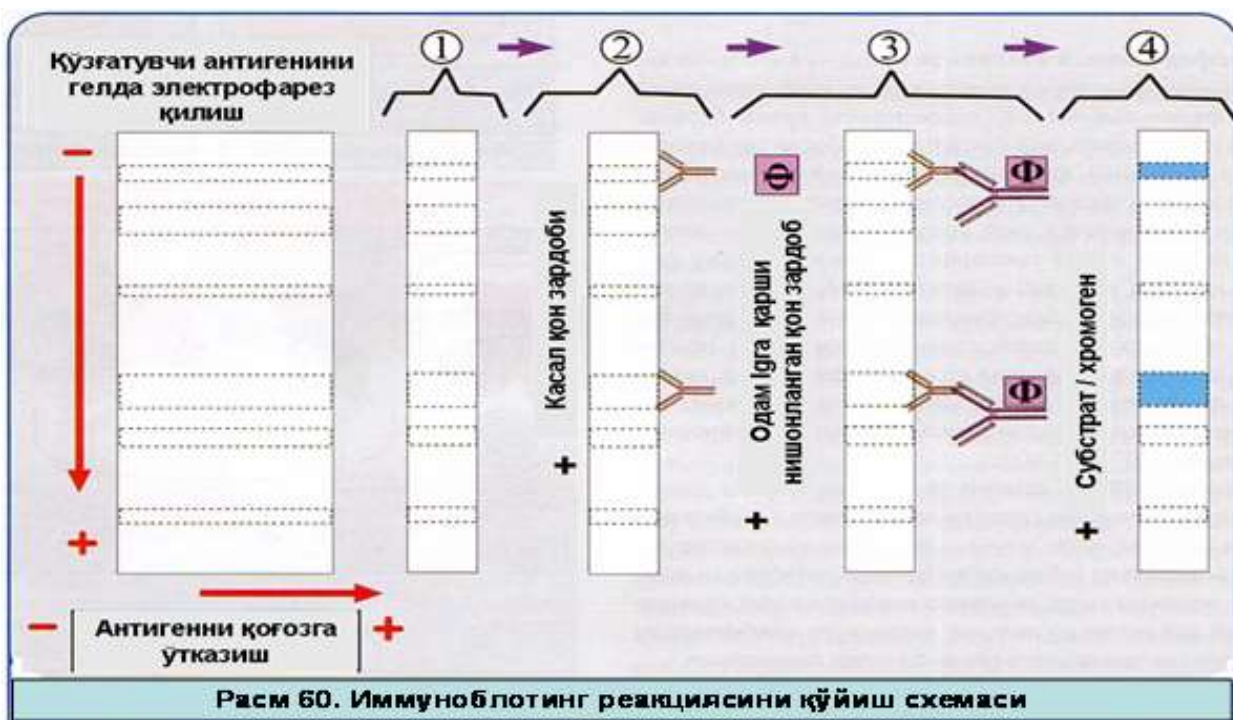
**ИФА нинг бевосита усули.** Антиген адсорбция қилинган (полистерол планшетка) қаттиқ субстратга изланилаётган антитела аралашмали зардоб қўшилади. Агар изланилаётган Ат қон зардобда бўлса Аг билан махсус бирикади. Иккинчи этапида антигенга боғланмаган Ат лар кўп мартаба ювиш билан чиқариб ташланади. Учинчи босқичда эса антиген билан бирикган антителага қарши фермент билан нишонланган антиглобулин (конъюгат) қон зардоб қўшилади. Тўртинчи босқичда антитела билан бирикган фермент маркёр миқдори аниқланади.

**ИФА нинг билвосита усули.** Бу реакциянинг бевосита усулдан фарқи антитела адсорбция қилинган (полистерол планшетка) изланилаётган Аг бўлиши эҳтимоли бор қон зардоб қўшилади. Агар изланилаётган зардобда антиген бўлса антитела билан бирикади ва унинг устига диогностик қон зардоб қўшилади, инкубация қилингандан кийин уни кўп мартаба ювиб ташланади. Иккинчи босқичда махсус антителани фермент билан нишонланган варианты (конъюгат) қўшилади. Агар изланилаётган зардобда

антиген бўлса фермент билан нишонланган конъюгат антиглобулин антитела билан бирикади ва субстрат хромоген қўшилганда ранги ўзгаради. Боғланган конъюгатнинг миқдори текшириладиган намунадаги Ат ёки Аг миқдорига тўғри пропорционал (ИФА қўйилиши 37 машғулота келтирилган).

**Иммуноблотинг реакцияси.** Иммуноблотинг (инг. blot, доғ) усули юқори даражада сезгирлиги билан ажралиб туради. Антигенни ёки антителани аниқлашда бир бирига мос келувчи маълум зардобдан (ёки Аг)

фойдаланишга асосланган. ОИТВ инфекциясини ташҳисда қўлланилади. Дастлаб электрофорезда вирус антигенлари махсус полиакрил гел ёрдамида ажратиб олинади (амалиётда махсус олинган реагент қўлланилади). Сўнгра преципитат чизиқларига махсус материал (нитроцеллюлоза плёнкаси ёки активлаштирилган қоғоз) бириктирилади ва электрофорез давом эттирилади. Антиген шимдирилган махсус материаллар тасмаси амалиётга чиқарилади Ушбу тасмаларга бемор қон зардоби қўшилиб инкубацияланади. Агарда Аг қарши антителалар бўлса, бу АТ лар тасмада жойлашган ўзи учун махсус Аг билан бирикиб доғ ҳосил қилади.



АТ лар ферментлар ва махсус субстрат билан нишонланган, ёки ўзгарувчи бўёқ билан бириккан бўлганлиги сабабли ҳосил бўлган Аг+Ат комплекси электрофорез плёнкасида ажралиб туради (расм 60).

**Мавзу 18. Иммуно органлар. Т ва В лимфоцитлар системаси ва уларнинг субпопуляциялари, уларнинг организмдаги иммуно реакциялардаги аҳамияти. Иммуно тизимга баҳо бериш усуллари.**

**Машғулот режаси:**

1. Иммуно тизимнинг Т-системасини баҳолаш усуллари.
2. Иммуно тизимнинг В-системасини баҳолаш усуллари.
3. Организмнинг махсус сезувчанлигини баҳолаш усуллари.

**Намойиш қилиш**

1. Макрофаглар миграциясини тўхтатиш тести, олинган расм ва натижалар.
2. Т-лимфоцитларни миқдори бошқарувчи субпопуляциялари-Т-супрессор ва Т-хелперларни СД4 ва СД8 антителалар билан оқиб ўтувчи цитофлюориметрия усулида аниқлашнинг схема, расмлари.
3. В-лимфоцитларни функционал активлигини (ЛПС митогени билан В- бласт трансформация усули ва иммуноглобулинлар G, M, A, E, D қон зардобидан, иммуноглобулинлар синтезини *in vitro*) аниқлаш схема, расмлари.

**Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Периферик қондан лимфоцитларни тоза популяциясини градиент зичлик орқали ажратиб олиш.
2. Периферик қондаги Т-лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорини аниқлаш учун, Е-РОК ва моноклонал антителалар билан (СД3, СД4, СД8) билвосита розетка ҳосил қилиш усулларида қўйилиб тайёрланган суртмалардан Т-лимфоцитларни санаш ва натижалаш.
3. Периферик қондаги В-лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорини аниқлаш учун, ЕМ-РОК ва моноклонал антителалар билан (СД19, СД20) билвосита розетка ҳосил қилиш усулларида қўйилиб тайёрланган суртмалардан В-лимфоцитларни санаш ва натижалаш.
4. Периферик қондаги ТК-лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорини аниқлаш учун, моноклонал антителалар билан (СД16) билвосита розетка ҳосил қилиш усулларида қўйилиб тайёрланган суртмалардан ТК-лимфоцитларни санаш ва натижалаш.
5. Радиал иммунодиффузия усулида қон зардоби таркибидаги асосий (IgM, IgG, IgA) аниқлаш.

**Методик кўрсатма**

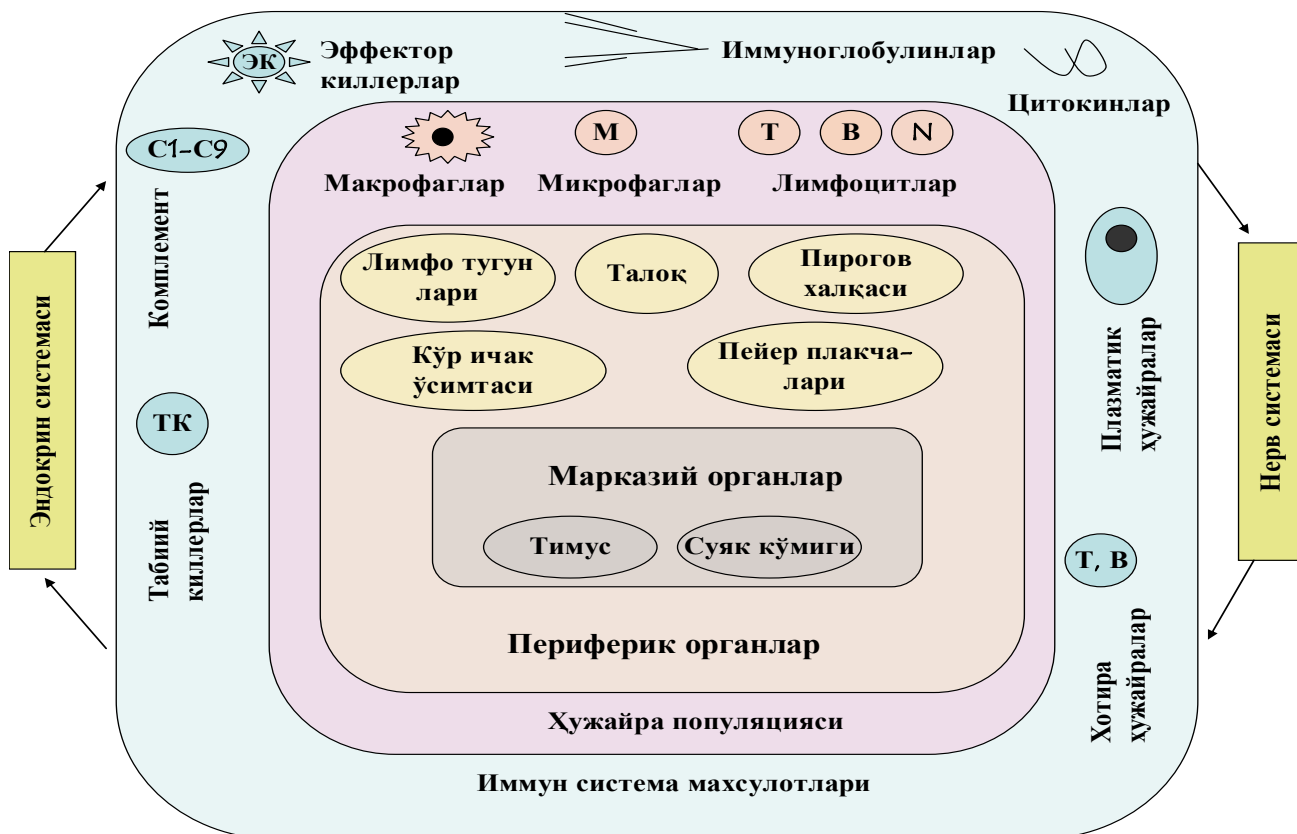
Тирик мавжудотларда иммунитетни эволюцияси, ўртача 500 млн. йилдан бери шаклланиб келмоқда. Табиатнинг бу мўжизаси ўзининг табиий уйғунлиги, мақсадга мувофиқлиги билан ажралиб туради. Турли йўналишда олиб борилган илмий изланишлар, бизга иммунитетнинг қонуниятларини ва унинг функционал хусусиятларини очиб берди ва “Тиббиёт иммунология” сини шакллантирди.

Ҳар йили тез ривожланаётган медицинани бу йўналишида кўплаб кашфиётлар қилинмоқда. Афсуски ҳозирги кунгача биз учун асосий бўлган- нима учун иммун система керак? деган саволига тўлиқ жавоб олингани йўқ. Мантикий қараганимизда иммунитет бизни юқумли касаллик агентларидан- бактерия, вирус, содда жонивор, замбуруғлардан ва организм учун бегона бўлган ҳар қандай генетик омиллардан ҳимоя қилади. Лекин, нима учун иммунитетга ўта юқори даражадаги махсус аниқлаш тизими зарур, яъни антиген бегоналигини аниқлашдан ташқари оксил структураси ва унинг таркибидаги аминокислалар ҳам махсус аниқланишдан четда қолмайди. Иммун системани бу ўта махсус “сезгирлиги” шунинг учун зарур экан-ки, яъни иммунитет, биринчи навбатда организмни “ўзиники” - ёки тўғрироғи “бегона” бўлган “ўзиники” дан ҳимоя қилар экан. Чунки бизнинг организмизда ҳар куни милёнлаб мутант ҳужайралар ҳосил бўлади ва булар кўплаб дефектли биомолекулалар синтез қилиши оқибатида, организмдаги моддалар алмашинувини тормозлаши ва энг ҳавфлиси бу мутантлар рақ ҳужайраларига айланиши мумкин.

Юқоридаги айтилганлардан келиб чиқиб, ҳозирги кунда иммун системанинг асосий вазифаси – организмнинг ички структураси тозаллигини, яъни гомеостазни доимийлигини сақлашдан иборатдир деб тушинилади.

Инсон организми олдиға қўйилган бу ўта мураккаб вазифани организмда “Иммун система” амалға оширади. Шунинг учун бу система организмнинг ҳамма тўқима, суюқликлари ва уларни таркиби, ҳужайраларға кира олиш хусусиятиға эға бўлиши зарур. Одам иммун системаси лимфотик ва қон системаси бирлашишидан ташкил топган (расм 61).

Марказий орган-айрисимон без(тимус) ва периферик органлар-талок, лимфатик тугун, пейер пиллакчаси ва лимфоид йиғилмаларда лимфоцитларнинг кўпайиши ва шаклланиши рўй бериб туради. Ўз навбатида суяк кўмиги ўзақ



Расм 61. Иммун системани структура ва функционал тузилиши

хужайраларнинг пайдо бўлиш манбаси бўлиб, бу хужайралардан иммунокомпетент ҳамма хужайралар ( Т ва В лимфоцитлар, фагоцитлар, табиий киллерлар ва бош. хуж.) шаклланади.

Талок қонни, лимфотик тугунлар эса тўқима суюқлиги ва лимфани филтрлайди. Шунинг учун организм суюқликларида пайдо бўлган ҳар қандай “бегона” биомолекулалар дарҳол аниқланади ва улар органларда нейтрализация

қилинади. Бу жараёнда фагоцитлар, нормал антитело, комплемент, монооксидаза системаси ферментлари ва бошқа факторлар қатнашади. Агар организмга антигенлар кўп миқдорда тушса, яна улар кўпайса (инфекцион агентлар, рак хужайралари), неспецифик ҳимоя системасини курашишга кучи етмаса бу жараёнга организмда махсус ҳимоя системасидаги юқори махсусликга эга бўлган лимфоцит ва макрофаглар кўшилади, уларнинг жавоб реакцияларини маҳсулоти махсус антителалар, киллер лимфоцитлар,

эффектор лимфоцитлар, цитокинлар ва бошқа организмни яллиғланиш реакциялари бўлиши мумкин. Бегона антигенлар организмда тугатилгандан сўнг, иммун жавоб сустлашади, лекин лимфоид хотира хужайраларда бу антигенларни антиген хусусиятлари (детерминанти) сақланиб қолади. Агар шу антиген организмга қайтадан тушса, иммун жавоб олдинги жавобдан бир канча кучли ва тез рўй беради.

Шундай қилиб махсус жавобда иммун системанинг асосий хужайралари макрофаг ва лимфоцитлар экан.

Организмдаги лимфоцитларни ҳамма популяцияси классга: Т-, В ва “нол” лимфоцитлар ва булар ўз навбатида 3 та хужайра асосидаги системасига бўлинади. Бундай бўлинишлар хужайраларни келиб чиқиши, функционал фарқлари ва рецептор аппаратлари асосида қилинган.

**Т-лимфоцитлар системаси** тимус ва лимфоид органларни тимусга алоқадор зонасидан иборат бўлиб, кўпаётган ва шаклланаётган Т-лимфоцитлар тутади. Тимус- бу системани асосий органи ҳисобланади. Тимусда ўзак хужайраларидан Т-лимфоцитлар шакилланади. Тимусда махсус хужайралар (эпителиал энага, дендрит) ва тимус гормонлари иштирокида бу лимфоцитлар шаклланиб, турли функциялар бажарувчи Т-лимфоцитлар субпопуляциясига айланади.

Буларни кўпчилиги Т-хелпер номини олишган (инг.сўз to help-ёрдам бериш). Бу лимфоцитлар В- лимфоцитларни антитела секрет қилувчи ва Т - эффектор хужайраларни шаклланишига ёрдам беради. Иккинчи гуруҳ лимфоцитлар Т-супрессор деб номланади (инг.сўз to suppress-босувчи) иммун жавобни босиб туради, яъни иммун жавобни антигенга қарши кучи ва муддатини бошқаради. Учинчи гуруҳ лимфоцитлари Т-киллер (инг.сўз to kill-ўлдирувчи) деб номланган. Т-эффекторлар ҳисобланади. Бу лимфоцитлар олд фаолиятли (предшественники) хужайралар бўлиб тимусда шаклланиб, тимусни ташлаб чиқади ва қон орқали организмдаги ҳамма лимфоид органлардаги тимус зонасига боради ва антиген таъсирида эффектор

хужайраларга айланади. Т-лимфоцитлар ва уларни субпопуляциялари организмда хужайра типдаги иммун жавобни шакллантиради. Тимусни ташлаб чиққан Т-лимфоцитлар тимусни доимо таъсирида бўлади, чунки тимусда ишлаб чиқарилаётган бир қатор бошқарувчи пептидларга нисбатан бу лимфоцитларда рецепторлар мавжуд.

**В-лимфоцитлар**- марказий органи суяк кўмиги (СК) ҳисобланади. СК да В-лимфоцитлар шаклланади ва қон билан организмдаги ҳамма лимфоид органлардаги В- зонасига боради ва бу ерда антиген таъсирида антитела синтез қилувчи плазматик хужайраларга айланади. В-лимфоцитлар организмда гуморал иммун жавобни шакллантиради.

**“Нол” лимфоцитлар** -бундай номланишни Т ва В лимфоцитларга нисбатан альтернатив қилиб олинган. Булар ҳам СКда шаклланади ва бутун организмдаги лимфоид орган ва тўқималарга тарқалади.

Уларнинг асосий қисмини табиий киллерлар ташкил қилади ва организмда жуда муҳим бўлган функцияларни (рак, вирус билан зарарланган хужайраларни ўлдиради) бажаради. Ваҳоланки бу жараён жуда қисқа 4 соат ичида амалга оширилади. Иккинчи қатор “нол” лимфоцитларга К-хужайралар киради, уларни биринчи тип хужайралардан фарқи бегона хужайраларни антитела ёрдамида топади (мембранасида антителани Fc фрагментига нисбатан рецептор мавжуд) ва йўқ қилади.

**Макрофаглар** - иммун жавобда қатнашувчи асосий хужайралардан бири ҳисобланади. Макрофаглар антигенни фақат фагоцит қилибгина қўймай, унинг асосий антиген хусусиятларини аниқлаб, бу ўта муҳим информацияни Т-хелпер ва В –лимфоцитларга етказди ва иммун жавобни хужайралараро коперацияларида қатнашади. Шунинг учун макрофагларни антиген презентант хужайралар (антигенни намоиш қилувчи) деб ҳам аталади.

Иммун яллиғланиш реакцияларини кўплаб цитокинлар бошқаради ва қайси хужайралар ишлаб чиқарилишига қараб интерлейкинларга (IL 1 -16),



монокинларга ва лимфокинларга бўлинади. Биологик активлигига қараб ҳамма цитокинлар 3 та гуруҳга бўлинади:

1. Яллиғланиш жараёнларини бошқарувчи – цитокинлар. Буларга киради: IL-8, PAF (тромбоцитар фактор), MIP-1a ( макрофагал яллиғланиш оқсили), MCP-1(макрофагал хемотоксик фактор), PD-GF (тромбоцитар ўсиш фактори), IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CSF, TGF- $\beta$  (трансформацияловчи ўсиш фактори).

2. Асосий цитокинлар- антигенспецифик “хужайра” типдаги иммун жавобни бошқарувчи. IL-1, IL-6, INF- $\gamma$ , IL-12, TGF-  $\gamma$ , IL-10.

3. Асосий цитокинлар- антигенспецифик “гуморал” типдаги иммун жавобни бошқарувчи. IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, INF- $\gamma$ , TGF-  $\gamma$ .

Цитокинлар таъсири организмдаги физиологик, патофизиологик реакциялар билан узвий боғлиқдир. Бу эса организмнинг локал ва системали химоя механизмларини модуляция қилади.Цитокинларни асосий вазифаси организмнинг патоген агентга нисбатан иммун, эндокрин, нерв ва яллиғланиш системаларни ишини мувофиқлаштиришга қаратилгандир.

**Иммун тизимга баҳо бериш усуллари.** Медицина иммунологиясининг фан сифатида шаклланиши одам иммун тизимига баҳо беришни махсус усуллари ишлаб чиқилиши билан узвий боғлиқдир. Охириги йилларда Бутун дунё соғлиқни сақлаш ташкилоти (БССТ) иммунологлар олдига бир неча бор, иммун тизим фаолиятидаги бузилишларни аниқлашда қатор вазифалар қўйган. Бунинг натижасида аниқ таклифлар вужудга келди ва БССТ техник маърузаларида ўз аксини топди.

Одам иммун тизимининг фаолиятини тўлақонли функционал баҳолаш тўғрисида маълумот олиш қуйидагича режалаштирилиб ўрганилади: Т- система ва В-система лимфоцитлар; табиий киллерлар; организм тўқима, касаллик қўзғатувчиларни антигенларига қаратилган махсус хужайра ва гуморал реакциялар; резистентлик факторлари, интелейкинлар, интерферонлар. Одам иммун системаси фаолиятига баҳо бериш қуйидаги группаларга бўлинади:

- айланиб юрүвчи умумий Т-лимфоцитларни аниқлаш (кўй эритроцитлари билан Е-розетка ҳосил қилиш, анти-Т –зардоб билан цитотоксик тест, оқиб ўтувчи цитофлюориметрия ёки иммуномагнит маржон қўллаш орқали СДЗ, СД11 маркерларни регистрация қилиш);

- Ф га ва Кон-А ёрдамида Т- лимфоцитларни митогенлик активлигини бласт трансформация усулида аниқлаш;

- Т-лимфоцитларни миқдори бошқарувчи субпопуляциялари-Т-супрессор ва Т-хелперларни (IgG ва IgM иммуноглобулинларни эритроцитларга адсорбция қилиниб розетка ҳосил қилиш, СД4 ва СД8 антителалар билан оқиб ўтувчи цитофлюориметрия усули) аниқлаш;

- В- лимфоцитларни активлиги ва миқдорини аниқлаш (ЕАС –РОК, антиглобулин антитела билан иммунофлюоресценция, ЕМ-РОК ва , СД19 ва СД20 антителалар билан оқиб ўтувчи цитофлюориметрия усули);

- В -лимфоцитларни функционал активлигини аниқлаш (ЛПС митогени билан В- бласт трансформация усули ва иммуноглобулинлар G, M, A, E, D қон зардобидан, иммунглобулинлар синтезини *in vitro*);

- киллер реакциялари ёрдамида табиий киллерларни функционал активлигини аниқлаш;

- антигенга қарши хужайра эффектор реакциялари ( миграцияни ингибция қилувчи фактор, Т-лимфоцитларни киллер активлигини, антиген боғловчи лимфоцитларни, антиген ёрдамида Т-лимфоцитларни ўстириш орқали бласт трансформация усулида аниқлаш);

- ўта сезгирликнинг тез ва секин аста юзага чиқувчи реакциялари интенсивлигига баҳо бериш;

- турли антигенларга ( тўқима ва касаллик қўзғатувчилари) қарши антителаларни аниқлаш орқали гуморал эффектор реакцияларни ўрганиш;

- резистентлик факторларини ўрганиш (фагоцитоз, қон зардобини комплементар активлиги, семиз хужайраларни функционал активлиги, эозинофиллар, базофиллар);

- цитокин ва уларга нисбатан эрувчан рецепторларни аниқлаш (интерлейкинлар, интерферонлар);
- иммуногистологик текширувлар;
- иммуногенетик антизардоб ёки занжирли полимераза реакцияси орқали текширувлар (HLA);
- генотипик ва фенотипик типларини, зардоб оқсилларини аллотипини, иммун системанинг генотипик нуқсонларини аниқлаш.

Юқорида келтирилган ёндошувлар иммун тизим фаолиятига ва унинг функционал ҳолатига тўлиқ баҳо бера олади. Аммо, шуни айтиш лозимки келтирилган усулларни тўлиқ қўллаб одам иммун тизимига баҳо бериш клиник амалиётда деярли мумкин эмас. Шунинг учун россия олимлари Р.В. Петров бошчилигида иммунологик усулларни ўрганиб чиқиб, уларни бажариш мураккабликларини ҳисобга олган ҳолда иммун тизимга баҳо бериш тестларини иккита даражага бўлишган.

I- даражаси, дастлабки баҳо, II- даражасида эса иммун тизимга чуқурлаштириб текшириш орқали баҳо берилади.

Иммунологик текширувларнинг I- даражаси қуйидаги усулларда баҳо берилади:

- 1) периферик қондаги лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорига баҳо бериш;
- 2) Т ва В лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорига Е ва ЕМ –розетка ҳосил қилиш тестлари орқали аниқлаш;
- 3) қон зардоби таркибидаги асосий иммуноглобулинлар классини (G, M, A) миқдорини аниқлаш;
- 4) нейтрофилларни фагоцитар активлигини ўрганиш.

Агар I- даражали дастлабки баҳо беришда иммун тизимда камчиликлар кузатилса махсус лабораторияларда II- даражада иммунологик текширувлар ўтказилади.

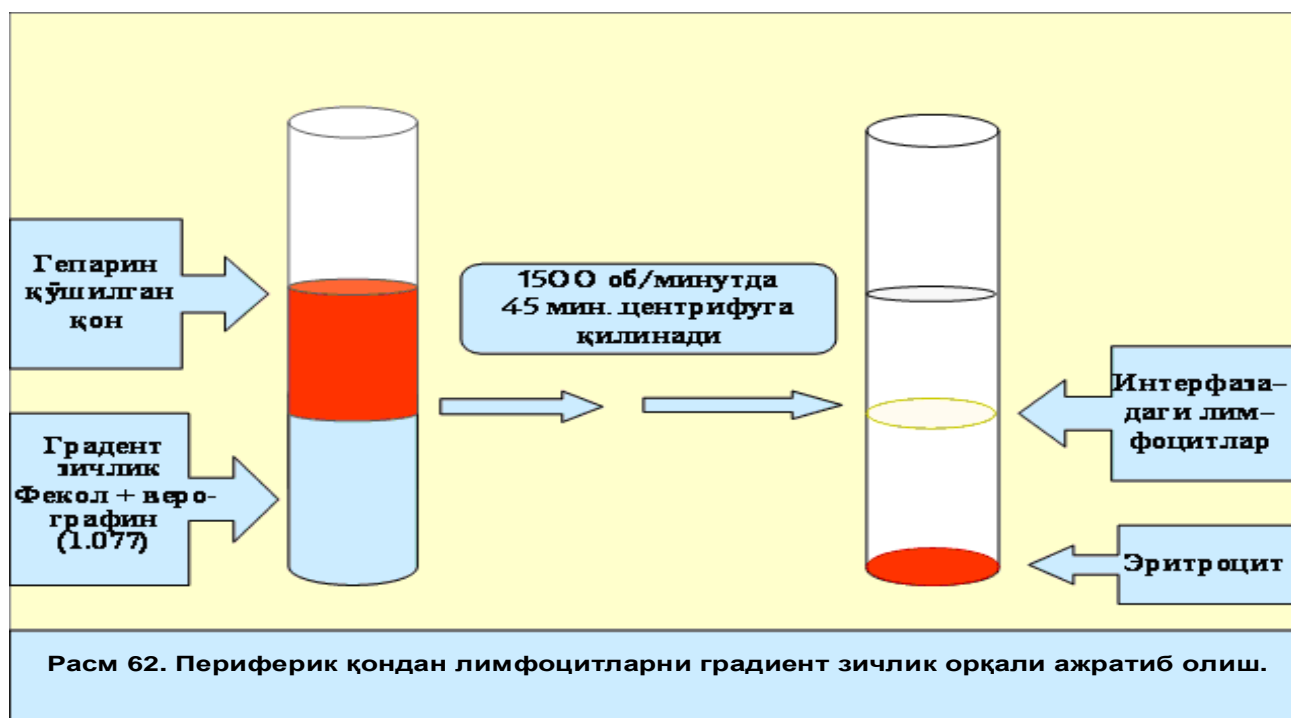
### **Услубий кўрсатмалар**

T ва B лимфоцитларга баҳо беришда текширув объекти лимфоцитлар ҳисобланади. Шунинг учун лимфоцитларни тоза популяциясини ажратиб олиш муҳим аҳамиятга эга.

Лимфоцитларни фикол-верографин зичлиги градиентда ажратиб олиш.

1. Текшириш учун тирсак венасидан қон (2-5 мл), ивиб қолмаслиги учун гепарин (25 бирл/мл) қўшилган пробиркага олинади. Олинган гепаринли қонни 199 муҳитда 2-3 маротаба суюлтириш мумкин

2. Гепаринли қон пробиркага олинган (1-1,5 мл) фиколл-верографин зичлиги градиентига (1,077) секин аста пробирка девори бўйлаб қатламлаштирилади. Градиент зичлик билан қон ўртасидаги нисбат 1:3 тенг бўлиши керак.



3. Пробирка 1500 айлн/мин 30 минут центрифуга қилинади. 4. Ҳалқа ҳосил қилиб интерфазада қолган лимфоцитларни пастер пипеткаси билан линиб икки маротаба 199 муҳитида 800 айлн/мин 10 мин центрифугада ювилади. Лимфоцитлар Гараева камерасида саналади ва уларнинг концентрацияси 1 мл да 2 млн хужайрага етказилади (расм 62)

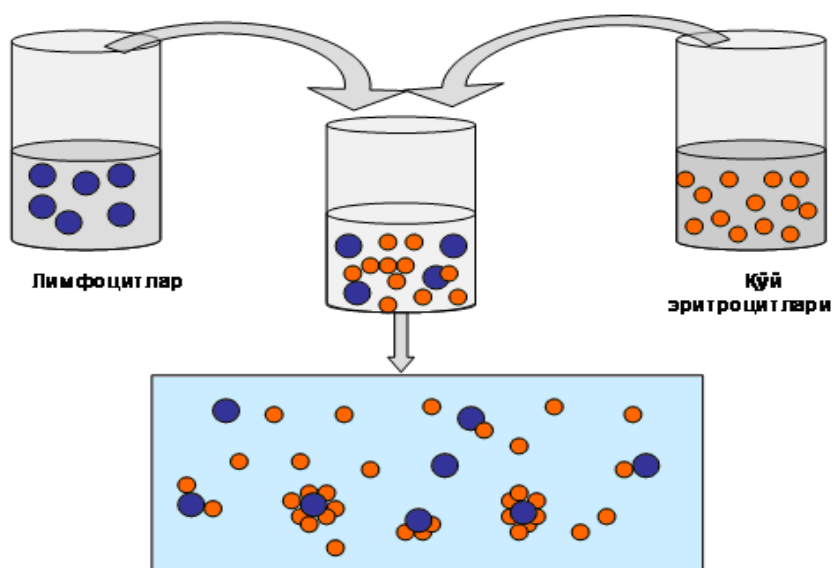
Лимфоцитларни ишлатишдан олдин уларни яшаш фаолияти ўрганилади. Бунинг учун лимфоцит суспензияси Пастер пипеткасида буюм ойнасига бир

томчи олиниб, унинг устига 1% трипан кўкини эритмаси томизилади ва устига ёпқич ойнача қўйилиб 2-3 минутдан кейин микроскопда лимфоцитлар 100 тагача саналиб чиқилади (ўлган лимфоцитлар кўк рангга бўялади). Тирик лимфоцитлар 95% кам бўлмаслиги керак.

**Т-лимфоцитларни қўй эритроцитлари билан Е-розетка ҳосил қилиш усули ёрдамида аниқлаш.**

1. 0.1 мл лимфоцит аралашмасига 0.1 мл 1% қўй эритроцитлари қўшилади, аралашма 5 минут  $37^{\circ}\text{C}$  термоатга қўйилади, сўнга 800 айлан/мин 5 минут центрифуга қилинади ва  $0-4^{\circ}\text{C}$  музлаткичда 30-60 минут сақланди.

2. Чўкманинг устки қисмидаги суюқлик пастер пипеткаси билан секин сўрилиб ташланади, аралашма ўта эҳтиёткорлик билан пробиркада аралаштирилади ва 2.5% совутилган глютар-алдегид қўшилади, яни охириги концентрацияси 0.6% бўлгунча. Хона температурасида 10 минут сақланади.



Расм 63. Т-лимфоцитларни периферик қондаги миқдорини (Е-РОК усулида, схема) аниқлаш

3. Чўкмадан препарат- суртма тайёрланиб, метил спиртида 10 минут фиксация қилинади. Суртма Романовкий-Гимза усулида бўялади.

4. Суртма ёруғлик микроскопида (иммерсион) кўрилади, 100-200 тагача лимфоцитлар саналади. Розетка ҳосил қилувчи Т лимфоцит деб учта ва ундан

ортиқ кўй эритроцитларни ўзига бириктириб олган лимфоцитларга айтилади (расм 63). Соғлом одамларда Т-лимфоцитларнинг бу популяцияси 50- 70 фоизни ташкил қилади.

### **В- лимфоцитларни ЕАС-розетка усулида аниқлаш.**

Одам қонидаги В-лимфоцитларни аниқлашдаги энг оддий усуллардан бир ҳисобланади. В лимфоцитлар мембранасида комплементнинг С3 фракциясига рецептор мавжуд, реакция шу комплементни В-лимфоцитлар томонидан бириктириб олишга асосланган. В-лимфоцитлар С3 комплементни бириктириб олса реакция кўзга кўринмайди. Реакция кўриниши учун комплемент эритроцитларга адсорбцияланади.

Комплементни эритроцитар антитела комплексини тайёрлаш.

а) одам эритроцитлари (1-группа ва резус манфий) уч маротаба 199 озиқли муҳитда центрифугада ювилади(1000 айлн/мин).

б) ювилган эритроцитни 2.5% аралашмасидан 2 мл олинади ва субагглютинациягача нисбатан суюлтиралган куённинг қон зардоби тенг микдорда қўшилади ва 30 минут 37<sup>0</sup>С термостатда сақланади.

в) аралашмага 0.1 мл сичқоннинг нормал қон зардобидан томизилади (комплемент манбаси) ва 30 минут яна термостатда сақланади.

г) аралашма бир маротаба 199 озиқли муҳит билан 800 айлн/мин, 5 минут центрифугада ювилади. Комплемент бириктирилган эритроцитнинг 1 мл даги микдори 100x10<sup>6</sup> га етказилади.

**ЕАС-розеткани кўйиш.** 0.1 мл лимфоцит аралашмасига 0.1 мл 1% комплемент бириктирилган эритроцитлар қўшилади, аралашма 5 минут 37<sup>0</sup>С термостатга қўйилади, сўнгра 800 айлан/мин 5 минут центрифуга қилинади ва 0-4<sup>0</sup>С музлаткичда 30-60 минут сақланади. Қолган босқичлари Т-лимфоцитларни аниқлаш каби қўйилади. Комплемент бириктирилган эритроцитлар комплементга рецептор бўлган В- лимфоцитларга танлаб бирикиб розетка ҳосил қилади. Соғлом одамларда В-лимфоцитларнинг бу популяцияси 15-25% ташкил қилади.

Охирги йилларда лимфоцитлар таркибидаги махсус антиген детерминантларга қарши моноклонал антителалар (мАТ) ишлаб чиқарилмоқда. Булардан СД (кластер дифференцировка) дифференциялановчи моноклонал антителалар коллекцияси бўлиб, лимфоцитлар мембранасидаги махсус биомолекула маркерларни аниқлайди. Бу мАТ ёрдамида оқиб ўтувчи цитофлюориметрия ёки флюорохром билан нишонланган АТ билан иммунофлюорисценция усулида Т ва В лимфоцитлар, уларнинг субпопуляцияларини аниқлаш йўлга қўйилган. Лекин шуни айтиш зарурки юқорида келтирилган усулларни қўллаш учун лабораторияларда махсус аппаратуралар ва реактивлар зарур. Охирги йилларда ватанимиз олимлари томонидан моноклонал антителалар ёрдамида билвосита розетка ҳосил қилиш усули ёрдамида Т-, В ва табиий киллер хужайраларига баҳо бериш йўлга қўйилган.

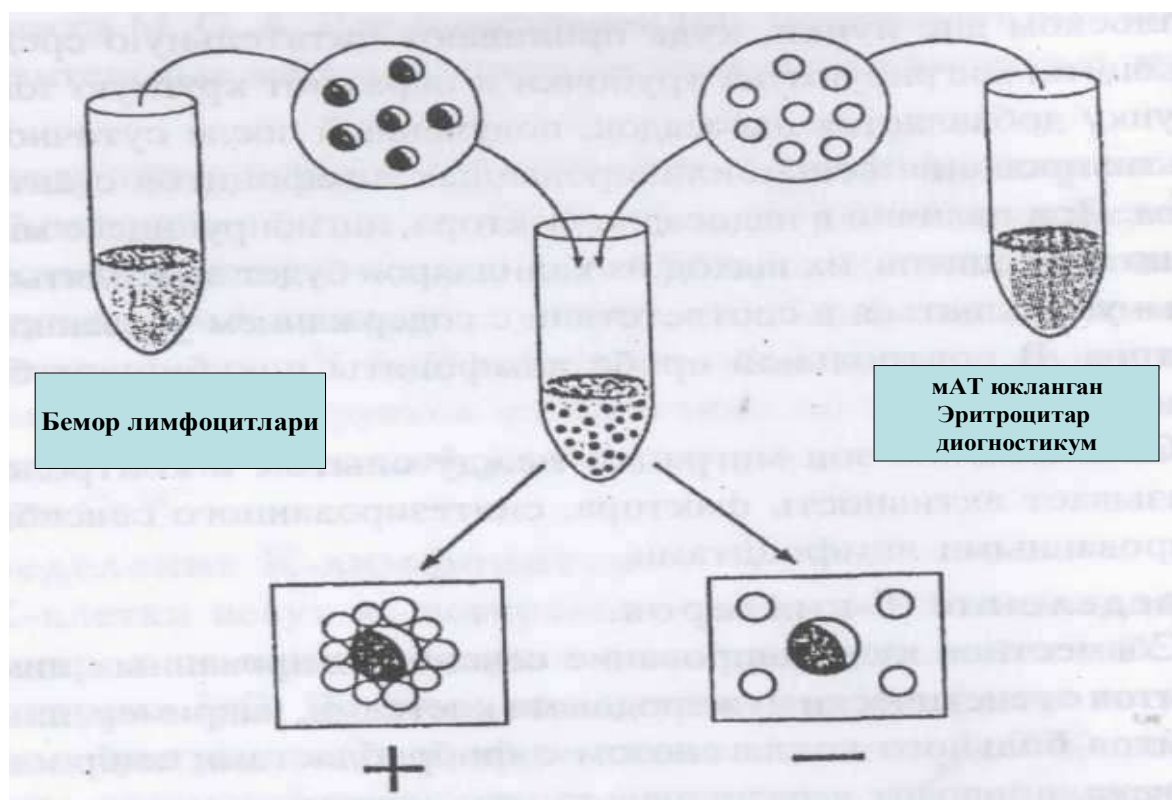
**Иммунокомпетент хужайраларни моноклонал антителалар билан билвосита розетка ҳосил қилиш усулида аниқлаш.**

Усулнинг моҳияти шундан иборатки лимфоцитлар моноклонал антитела рецептори бўлса, юзасида мАТ бўлган эритроцитларни бириктириб розетка ҳосил қилади. Бу усул ўзининг осон қўйилиши, етарли махсуслиги билан ажралиб туради ва клиник лабораторияларда кенг қўлланилиб келинмоқда. Ҳозирги кунда кўпроқ қуйидаги иммункомпетент лимфоцит хужайраларнинг маркерлари мАТ лар билан аниқланди. СД3 -Т-лимфоцитлар, СД4-хелпер/индукторлар, СД8- Т супрессор/цитотоксик лимфоцитлар, СД19- В-лимфоцитлар, СД16-табиий киллерлар. Қўлланилаётган усулда ООО Сорбент, Россия (Москва) ишлаб чиқарган моноклонал антителалардан фойдаланиш мумкин.

**Иммунокомпетент хужайраларни аниқлаш учун мАТ ли эритроцитар диагностикалар тайёрлаш.**

Т-лимфоцитларни (СД3) эритроцитар диагностикалари қуйидаги усулларда тайёрланди. 1% одамини I (0) гуруҳ Rh(-) эритроцитларига (0,1мл) 5мкл

моноклонал антитела ва устига 50 мкл 0,3% хлорид хром эритмаси қўшилди. Ҳосил бўлган суспензия 5 дақиқа силкитиб турилиб, уч маротаба центрифугада 1500 ай/мин. физиологик эритмада ювилди. Сўнгра суспензия 5 дақиқа 1% альбумин эритмасида (носпецифик реакцияларни олдини олиш учун) инкубация қилиниб 2 маротаба физиологик эритмада центрифугада 1500 ай/мин қайта



Расм 64 . Иммунокомпетент хужайраларни мАТ юкланган эритроцитар диогностикум билан билвоста розетка ҳосил қилиш усули билан аниқлашни схематик кўриниши.

ювилди ва эритроцитар диогностикумни ишчи концентрацияси 2,5% етказилди. Шундай усулда СД4- хелпер/индукторлар, СД8- Т супрессор/цитотоксик лимфоцитлар, СД19- В-лимфоцитлар, СД16-табiiй киллерлар ўзларига мос моноклонал антителалар қўлланилиб тайёрланади.

Ҳар бир лимфоцитларга баҳо бериш қуйидагича амалга оширилади. Лимфоцитларни ишчи суспензияси ва ҳар бир тайёрланган моноклонал антителали диогностикумдан 0,1 мл олиниб аралаштирилди ва 800 ай/мин центрифуга қилиниб 1 соат музлаткичда сақланади. Суспензия секин-секин



силкитиб ресуспензия қилинади ва розеткалар стабил бўлиши учун 2,5% гулитар алдегид эритмаси томизилиб, чўкмадан суртма тайёрланади, фиксация қилиниб, бўялади ва микроскопда саналади. Бу усулда ҳам лимфоцитлар ўз атрофида 3 ёки ундан кўп эритроцитларни бириктириб олса розетка деб ҳисобланди. Умумий лимфоцитлар 100 дан 200 саналади. Имунокомпетент хужайраларни МАТ юкланган эритроцитар диагностика билан билвоста розетка ҳосил қилиш усули билан аниқлашни схемаси 64 расмда келтирилган.

**Имунокомпетент хужайраларни абсолют кўрсаткичлари қуйидаги формула бўйича аниқланади.**

$$X = \frac{A \times B}{100}$$

Бу ерда: А- 1 мкл қондаги лейкоцитлар миқдори

Б- лимфоцитларни нисбий миқдори, %

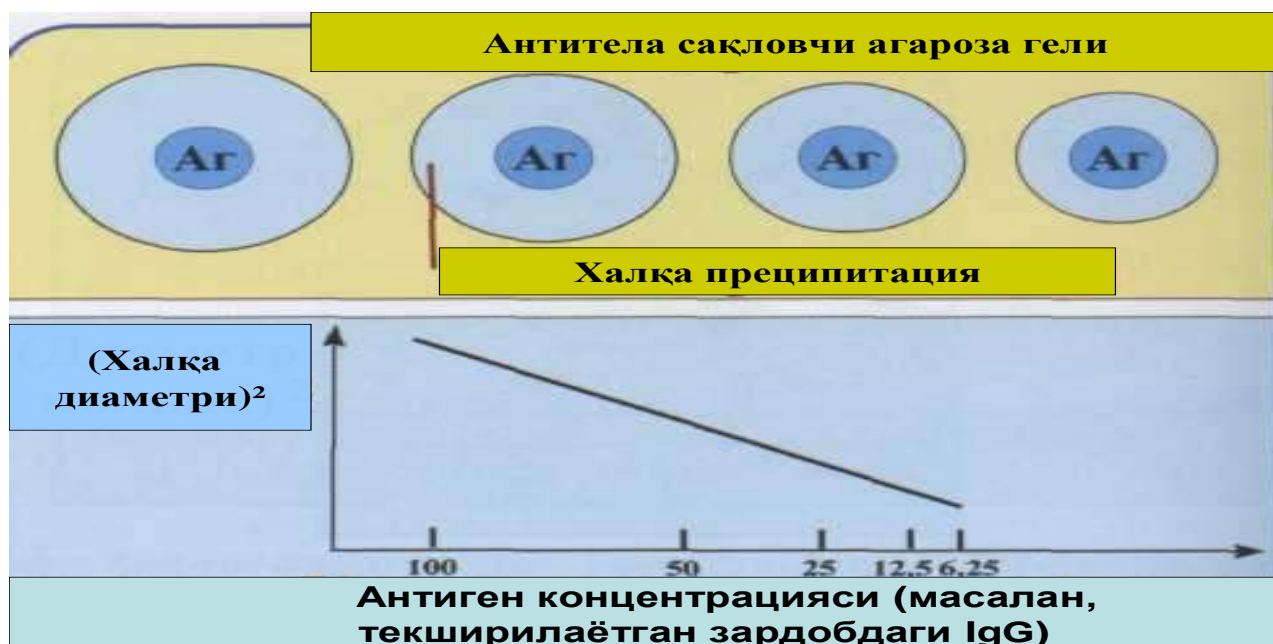
Масалан: 1 мкл қонда лейкоцитларни миқдори 6200, лимфоцитлар 28%

$6200 \times 28 : 100 = 1736$  яъни 1 мкл қонда 1736 та лимфоцитлар бор экан.

Шу формула орқали Т ва В лимфоцитларни абсолют миқдорини аниқлаш мумкин, формуладаги лейкоцитлар ўрнига лимфоцитларни абсолют миқдори ва лимфоцитларни нисбий миқдори ўрнига Т ёки В лимфоцитларни нисбий миқдори қўйилади. Масалан Т – лимфоцитлар периферик қонда 57% топилди, унинг абсолют миқдори  $1736 \times 57 : 100 = 989$  1 мкл тенг. Қолган лимфоцитларнинг абсолют миқдори ҳам шундай усулда ҳисоблаб топилади.

**Радиал иммунодиффузия усулида қон зардоби таркибидаги асосий (IgM, IgG, IgA) аниқлаш.** 45-50° совутилган агарозали гелга маълум концентрацияда IgM, IgG ёки IgA га қарши иммун зардоб қўшилади ва ойна юзасига қўйилади, қотгандан сўнг унда чуқурчалар қилинади. Текширилаётган зардоб суюлтирилиб, ҳар бир суюлтирилган наъмуналардан чуқурчаларга томизилади. Агарга шимилган иммунглобулинлар глобулинларга қарши антителолар билан преципитация ҳалқасини ҳосил қилади (расм 65). Преципитация ҳалқасини диаметри қон

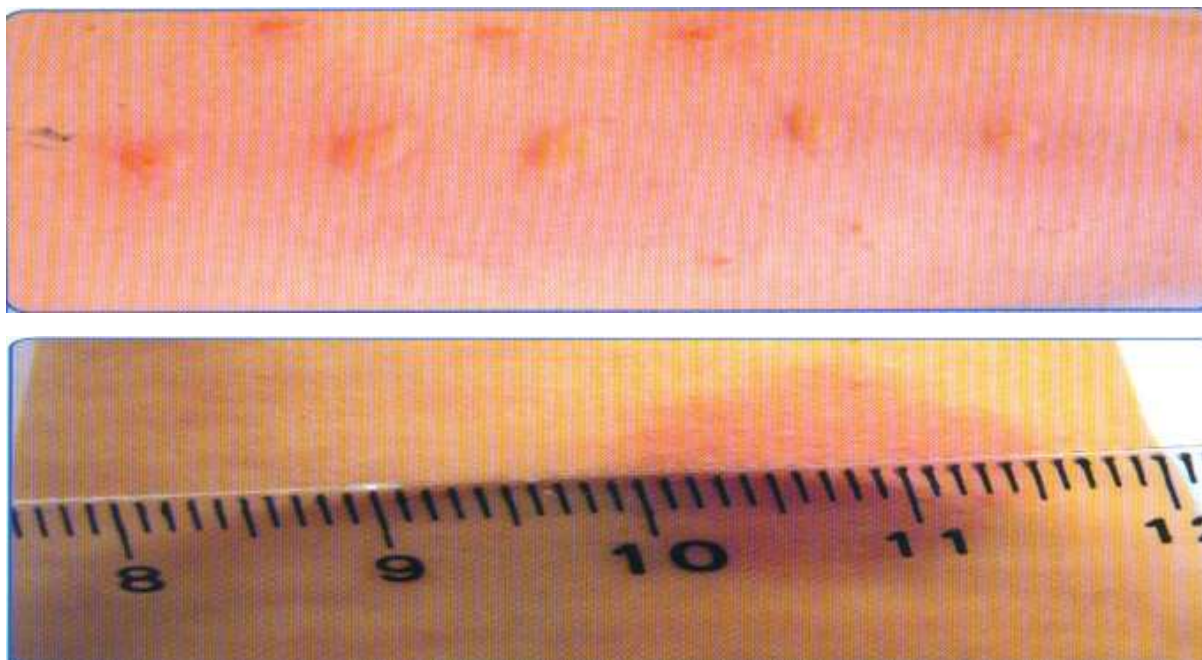
зардоби таркибидаги иммуноглобулинларнинг концентрациясига тўғри пропорционал. Қон зардобидagi иммуноглобулинлар кўрсаткичи иммун



Расм 65. Радиал иммунодиффузия усулида қон зардоби таркибидаги иммуноглобулинларни аниқлаш тизимдаги В-лимфоцитларни функционал активлигини билдиради.

**Тери-аллергик синамасини қўйиш ва баҳолаш.** Махсус индивидуал сенсбилизацияни (сезувчанликни) аниқлаш учун сил, бруцеллёз ва бошқа (аллергенни тирнаб терига киритиш) йўл ( расм 66а) ва тери орасига (расм 66б) қўйилади. Масалан, Манту реакциясини қўйишда, туберкулин шприци билан тери орасига туберкулиннинг маълум концентрацияси юборилади. Реакция 24 ва 48 соатдан сўнг, қизариш даражасига кўра аниқланади. Синама юборилган жойда қизариш (папула) ёки инфилтратнинг катталиги 5 мм бўлса +, 1 см гача ++, 1 см ва ундан катта +++ бўлса реакция мусбат ҳисобланади ҳамда везикулалар ва лимфангитлар борлиги билан **ҳам** аниқланади. (расм 66). юқумли ва бошқа аллергия касалликларда тери-аллергия синамаси қўйилади. Аллергик синамалар кўпинча билакнинг ички юзасига скарификациян (аллергенни тирнаб терига киритиш) йўл ( расм 66а) ва тери орасига (расм 66б) қўйилади. Масалан, Манту реакциясини қўйишда, туберкулин шприци билан тери орасига туберкулиннинг маълум концентрацияси юборилади. Реакция 24 ва 48 соатдан сўнг, қизариш даражасига кўра аниқланади. Синама юборилган

жойда қизариш (папула) ёки инфилтратнинг катталиги 5 мм бўлса +, 1 см гача ++, 1 см ва ундан катта +++ бўлса реакция мусбат ҳисобланади ҳамда везикулалар ва лимфангитлар борлиги билан ҳам аниқланади. (расм 66).



Расм 66. Скарификацион аллергик тери синамаси (а). Манту реакцияси (билакнинг ички юзаси тери орасига туберкулин юборилган (б)).

## Мавзу 19. Иммунопрофилактика ва иммунотерапия

Машғулот режаси

1. Иммунопрофилактика ва иммунотерапиянинг ҳозирги замон асослари.
2. Иммунопрофилактик ва иммунотерапевтик препаратлар.
3. Вакциналар олиниши ва қўланилиши.
4. Иммунопрофилактик ва иммунодиагностик препаратлар, олиниши ва ишлатилиши.
5. Иммунотерапевтик препаратлар, олиниши ва ишлатилиши.

**Намойиш қилиш**

1. Вакциналар, анатоксинлар, иммуноглобулинлар ва иммунзардоблар турлари бўйича наборлар. Адьювантлар. Схемалар, расм ва рангли албомлар, слайдлар, видеороликлар.

**Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1. Стафилококк аутовакцинасини тайёрлаш.
2. Маълум токсин билан антитоксинли зардоб кучини, токсинни антитоксин билан нейтраллаш (флоккуляция реакцияси) реакцияси ёрдамида аниқлаш.

Иммунопрофилактика деб юқумли касалликларни олдини олиш мақсадида иммун (вакцина, зардоб) препаратларни қўллаш усулларига айтилади. Иммунотерапия деб даволаш мақсадида иммун препаратларни (АТ,

ИНФ, цитокинлар ва бош.) қўллаш усуллари тушинилади. Инсоният 100 йиллар давомида эмперик равишда юқумли касалликларга қарши курашиб келган (чин чечак, ўлат, вабо). Иммунопрофилактиканинг илмий асосини фанга Л. Пастер олиб кирди. У биринчи бўлиб микроорганизмларни турли факторлар таъсирида кучсизлантириш (аттенуации) мумкинлигини кашф қилди ва буни илмий даражада асослаб қўйдирди, кутириш касаллигига қарши вакцина олди. Бутун иммун системага таъсир қилувчи қўлланиладиган препаратларни иммунобиологик препаратлар деб юритилади. Буларга келиб чиқиши, табиати ва қўлланилиши жиҳатдан қуйидаги препаратлар киради:

1. Бактериялардан олинган иммунопрофилактик ва иммунотерапевтик препаратлар (масалан, вакциналар, бактериофаглар, эубиотиклар, анатоксинлар).

2. Иммунотерапевтик препаратлар (масалан, иммуноглобулинлар, антитоксинлар, цитокинлар).

3. Диагностик иммун препаратлар (масалан, антизардоблар), ҳамда диагностик бактериофаглар ва аллергенлар.

4. Иммуномодуляторлар (кўплаб синтетик препаратлар, табиий биостимуляторлар).

Иммунобиологик препаратлар одам организмига актив, пассив, махсус ва номахсус таъсир қилиши мумкин.

Актив таъсири деганимизда, препаратлар иммун тизим реакциясини келтириб чиқара олиши тушинилади. Бундай хусусиятга асосан тирик, ўлдирилган микроблардан тайёрланган вакциналар ва анатоксинлар эга бўлади.

Пассив таъсири деганимизда, препаратларни эффекти асосан иммункомпетент хужайраларни эффектор маҳсулотларини кучайтиришга қаратилади. Бундай таъсирга цитокинлар ва бошқа иммунобиологик препаратлар эгадир.

Махсус таъсири, маълум бир аниқ юқумли касалликдан ҳимоя қилишда қўлланиладиган (масалан, силга, қизамиқ, қоқшол анатоксин зардоби ва бош.) препаратлар.

Номахсус таъсири, яъни препаратлар танламасдан иммун тизимни, иммункомпетент хужайраларни активлаштириши мумкин. Бундай таъсирга иммуномодуляторлар ва биостимулятор препаратлар эгадир.

**Вакциналар** – иммунобиологик препаратлар бўлиб, актив иммунопрофилактик мақсадда қўлланилади, яъни аниқ юқумли касалликга нисбатан организмни берилмаслик хусусиятини шакллантиради. Вакцина препаратлари БСБ тамонидан юқумли касалликларни олдини олишда идеал усул деб тан олинган. Вакциналар қуйидаги кўринишларда олинади:

- бактерия ва вирусларни мукамал танасидан (тирик ва ўлдирилган);
- бактерия ва вирусларни алоҳида антигенларини ажратиб олиш (кўпроқ протектив антигенлар, vi-Аг қорин тифида, HBs-Аг гепатит В вирусидан) орқали;
- микроорганизмлар токсинларидан (анатоксинлар, қоқшол, газли гангрена, бўғма);
- микроорганизмлар Аг ни сунъий синтез қилиш орқали;
- генли инженерия усулларида олинган вакциналар.

Тирик вакциналар вирулентлик хусусияти бутунлай пасайтирилган, лекин иммуноген хусусиятларини сақлаб қолган микроорганизмлардан тайёрланади (куйдирги, бруцеллэз, полиомиелит, Ку –иситмаси, грипп, қизамиқ, паратит ва бош.)

Дивергент вакциналар тирик вакциналар бўлиб патоген бактерияларга яқин бўлган бошқа авлод микроорганизмлардан фойдаланилади. Бу бактерияларни антигенлари бир-бирига яқин бўлиб, эмланганда ҳосил бўлган иммунитет асосий юқумли касалликдан ҳам ҳимоя қилади. Бундай вакциналарга чин чечак вакцинаси (сигир чечак вирусидан), БЦЖ (сил қўзғатувчисини қорамол типидан тайёрланади) мисол бўла олади.

Инактивация қилинган вакциналар. Ҳозирги кунда микроорганизмлардан турли усулларда тайёрланган, ўлдирилган, микроб метаболитларидан, алоҳида антигенлардан, биосинтетик ва химиявий усулларда олинган вакциналар қўлланилади. Инактивация қилинган вакциналарни иммуногенлик хусусияти паст бўлади, шунинг учун вакцинацияни бир неча бор қилишга тўғри келади. Шу билан бир қаторда бу вакциналар тирик вакциналарга нисбатан хавфсиз ҳисобланади ва камроқ асоратлар беради.

Корпускуляр вакциналар. Уларни бактерияларни вирулент штаммларидан ўлдириб (юқори температура) ёки кимёвий моддалар (масалан, формалин, ацетон) таъсирида тайёрланилади. Бундай вакциналар микроб ва вирусларни тўлиқ антиген наборини сақлайди. Ҳозирги кунда корпускуляр вакциналар бактериялардан олинган (ўлат) ва вируслардан (кутириш) вакциналари қўлланилади.

Компонентли (субъединичные) вакциналар. Бу ҳам ўлдирилган вакциналарни бир тури бўлиб, микроорганизмнинг асоси ёки махсус иммуноген антиген компонентларидан тайёрланади ва организмнинг касалликга берилмаслик ҳолатини шакллантиради. Уларни тайёрлашда кўплаб химик ва физик усуллардан фойдаланилади. Шунинг учун бу вакциналарни химиявий вакциналар деб ҳам аталади. Ҳозирги кунда компонентли вакциналар пневмакокка қарши (асоси капсула полисахариди), қорин тифига (O-, H- Vi-Ag), куйдиргига (полисахарид ва капсула полипептиди), гриппга (вирус нейроминидаза ва гемагглютинини) қарши ишлаб чиқилган.

Ген инженерли усулда олинган (рекомбинант) вакциналар. Ҳозирги кунда бу вакциналар ген инженерли усулни бир қанча вариантлари ва ёндашувлари асосида олинади. Бу усулларга киради:

1. Бактерия ёки вирусларнинг юқори иммуногенликка эга бўлган антиген синтезида қатнашувчи генларини ген инженерия усулида олиниб бошқа микроорганизмларга киритиш йўли билан (масалан, гепатит В вирусини HBs-Ag ачитқи замбуруғларни геномига киритиб) олинган вакциналар.

2. Вирулент иммуноген хусусиятини намоён қилувчи генларни авирулент ёки кучсиз вирулент штаммларга киритиш йўли билан (одам учун патоген бўлмага сальмонеллаларга гепатит В вирусини HBs-Ag, қоқшол экзотоксинини синтезини амалга оширувчи генни) олинади. Бошқа мисол, сил кўзгатувчисини генини БЦЖ вакцина штаммига киритиш, яъни дивергент вакцинани активлигини ошириб юборади. Бундай вакциналарни векторли вакциналар ҳам деб аталади.

3. Бактерияларни вирулент хусусиятини намоён қилувчи генларни олиб ташлаш ва бу бактерияларни корпускуляр вакциналар сифатида қўллаш. Селектив йўл билан вирулент генларни олиб ташлаш усулида чидамли кучсизлантирилган вакциналарни (қорин тифи, ичбуруғ, вабо, токсиген ичак таёқчаси) тайёрлаш муаммоларини ечиб бермоқда.

Синтетик вакциналар. Усулнинг моҳияти шундан иборатки синтетик усулда патоген бактерияларни нуклеин кислотаси ёки Ag-детерминантини намоён қилувчи полепептидларни синтез қилиб олишга асосланган. Устунлиги ўта хавфсиз, камчилиги олинган нуклеин кислотаси ёки Ag-детерминантини намоён қилувчи полепептидлар кучсиз иммуноген хусусиятга эга. Шунинг учун бундай вакциналарни қўллашда адъювантлар ишлатилади. Бу йўналишда кенг илмий ишлар олиб борилмоқда.

Молекуляр вакциналар (анатоксинлар). Бундай препаратлар микроб метаболитларидан, кўпроқ молекуляр бактериал экзотоксинлардан формалин таъсир эттирилиб тайёрланилади. Кўпроқ токсик юқумли касалликларда (қоқшол, ботулизм, бўғма, газли гангрена ва стафилакокк) қўлланилади.

Моно – ва поливалент вакциналар. Кўпчилик ҳолларда вакцина ёки анатоксин битта кўзгатувчига қарши қўлланилади- моновакцина (масалан, стафилакокк анатоксини, қизамиқ вакцинаси). Агар бир йўла иккита кўзгатувчиларга қарши вакциналар ишлатилса- дивакциналар (АДС-вакцина бўғма ва қоқшол анатоксини), ундан ортиқ вакциналар қўлланилса тривакцина (АКДС-вакцина кўк йўтал бўғма ва қоқшол анатоксини,) ва тетровакцина

(қорин тифи, паратиф А ва В, ҳамда қоқшол анатоксини) деб номланади ва амалиётда қўлланилади.

Вакциналар суяқ ва куруқ. ҳолда ишлаб чиқарилади. Қуритиш асосан вакциналарни лиофилизация усули билан амалга оширилади.

Барча вакцина препаратларининг зарарсизлиги, иммуногенлиги ва стериллигини (ўлдирилган вакциналар учун) аниқлаш юзасидан давлат контрол назорати ўтказилади.

Агар ампулалар синган бўлса ёки препаратларнинг физик хусусияти ва ранги ўзгарган бўлса, унда турли заррача, чўкмадар пайдо бўлганда бундай вакциналар ишлатилмаслиги лозим.

Вакцинапрофилактика қилиш усуллари. Вакцина препаратларини қўллаш қўйидаги усулларда олиб борилади: вакциналарни per os (ичиш) қилинади (полиомиелит), териостига, териорасига (АҚДС, БЦЖ), парентерал (қизамиқ), интерназал (грипп) ва ингалацион.

Вакцинапрофилактика давлат тамонидан назорат қилинади. Бизнинг Ўзбекистон Республикасизда 2003 йил 1 январдан кучга кирган “Ўзбекистон Республикасизда юқумли касалликларнинг иммунопрофилактикасини ташкил қилиш ва ўтказиш тўғрисидаги Санитария қоида ва меъёрлари” ишлаб чиқилган (жадвал 32).

Юқумли касалликларга қарши иммунизация қилиш давлатимиз томонидан олиб борилаётган баркамол авлодни тарбиялаш сиёсатини бир кўринишидир. Шунинг учун вакцинация қилиш ҳар бир оила учун осон ва муаммоларсиз ва албатта бепул бўлиши шарт.

Чақалоқ туғруқхонада туғилиши билан, болага “Болалар ва ўсмирлар шахсий дафтарчаси” олиб борилади. Бу дафтарчада мажбурий иммунизация қилиш вақтлари кўрсатилади. Иммунопрофилактика икки усулда олиб борилади: мажбурий ва эпид кўрсатмага асосан.

Жадвал 32.

Календар профилактик эмлашлар схемаси



№	Вакцина олувчиларни ёшлари	Вакцина препаратлар номи
1.	1 кун	ВГВ-1 (гепатит В-вирусига қарши)
2.	2-5 кун	БЦЖ (силга қарши) ОПВ-0 (шол-полиомиелитга қарши)
3.	2-ойда	АҚДС-1 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-1 (шол-полиомиелитга қарши) ВГВ-2 (гепатит В-вирусига қарши)
4.	3-ойда	АҚДС-2 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-2 (шол-полиомиелитга қарши)
5.	4-ойда	АҚДС-3 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-3 (шол-полиомиелитга қарши)
6.	9-ойда	Қизомиқ – 1 ВГВ-2 (гепатит В-вирусига қарши)
7.	16 ойда	АҚДС-4 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-4 (шол-полиомиелитга қарши)
8.	1 синф (7 ёш)	АДС-м-5 (бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-5(шол-полиомиелитга қарши) БЦЖ R-1(силга қарши ревакцинация)
9.	8 синф (14-15 ёш)	БЦЖ R-2(силга қарши ревакцинация)
10.	16 ёшда	АДС-м-6 (бўғма ва қоқшолга қарши)
11.	26 ёшда	АДС-м-7 (бўғма ва қоқшолга қарши)
12.	46 ёшда	АДС-м-8 (бўғма ва қоқшолга қарши)

Эпид кўрсатмага асосан профилактик календар эмлашлар асосан бирнеча йўналишларда олиб борилади. Масалан энзоотик территорияларда (ўлат, туляримия), махсус лаборатория хизматчиларига (ўта хавфли юкумли касалликлар), профессионал ишчилар ва хизматчиларга (куйдирги, бруцеллез), чет элга чикувчиларга (сарик истма) ва кўпроқ юкумли касалликлар рўй берганда (бўғма, қизамиқ ва бош.) эмланмаган контингент одамларга қилинади.

**Зардобли иммун препаратлар.** Буларга асосан иммун зардоблар ва иммунглобулинлар киради. Иммун зардоблар амалиётда даволаш, профилактик, диагностик мақсадларда ишлатилади. Профилактик ва терапевтик мақсадда қўлланилганда бу препаратлар инсон организмида пассив орттирилган иммунитетни ҳосил қилади. Препаратларни таъсир қилиш механизми махсус АТ ни агглютинацияловчи, преципитацияловчи, комплемент боғловчи, литик ва нейтрализация қилувчи хусусиятларига асосланган. Бошқача қилиб айтилганда инсон организмига тайёр эффектор АТ лар киритилади. Шунинг учун бу препаратларни профилактикада ва терапияда қўллаш мумкин. Иммун зардоблар асосан организмга парентерал йўл билан киритилади, уларни эффекти узоқ (2-6 ҳафта) бўлмайди.

Даво-профилактика зардоблари ва иммунглобулинлар бир неча марта антиген юборилган (гипериммунизация қилинган) отлар ёки эмланган, юқумли касалликни бошидан кечирган кишилар қонидан тайёрланади.

Диагностик зардоблар (антизардоблар) эса, куёнларни эмлаш йўли билан олинади. Бу зардоблар агглютинация, преципитация ҳосил қилувчи ва эритроцитларни эритувчи (гемолитик) зардобларга бўлинади. Улардан серологик реакцияларда микроорганизмларни идентификация қилишда фойдаланилади.

Организмнинг у ёки бошқа бир юқумли касалликга ва турли аллергенларга нисбатан сезувчанлигини ошиб қолганлигини аниқлаш мақсадида қўлланилувчи препаратлар “аллерген” лар деб аталади. Аллерген сифатида микроорганизмлардан ва бошқа табиий, суъний моддалардан ажратиб олинган Аг-аллергенлар қўлланилади. Организмни аллергик ҳолатини (сезувчанликни ошганлигини) аллергик синамалар орқали аниқлаш мумкин. Кўпчилик юқумли касалликларда касаллик кўзгатувчисига нисбатан организмнинг сезгирлиги ошиб қолади, шунинг учун аллергик синамалар юқумли касалликлар диагностикасида ҳам (сил касаллигида Манту, Пирке, бруцеллезда Бюрне, расм 66) қўлланилади.

**Иммуномодуляторлар.** Охирги йилларда клиникада ва клиник

Жадвал 33.

Иммуномодуляторларни асосий группалари

Келиб чиқиши		Иммуномодуляторлар препаратлар
Эндоген	Цитокинлар,	ИЛ, ИФН, колонаактивлаштирувчи фактор, ФНО, эритропозтин ва бош.
Экзоген	Табиий бирикмалар (микроорганизмлар ва уларни компонентлари)	Бактерия ва вирус вакциналари, ЛПС, гликанлар, продигазан, сальмазан, прогенал, рибомунил, иммудон ва бош.
	Синтетик юқори ва паст молекуляр препаратлар	Полифасфатлар, поликарбосилатлар, полисульфатлар, левамизол, инозиплекс, диуцефон ва бош.

иммунологияда кўплаб иммун тизимга актив таъсир кўрсатувчи препаратлар қўлланилмоқда (жадвал 33, 34). Иммунотуляторларни “таъсир иммун нуқтаси” мавжуд, яъни бу препаратлар учун нишон иммункомпетент ҳужайралар ҳисобланади.

Бу препаратларни клиник кўрсатмадан келиб чиққан ҳолда даволашда ва профилактикада қўллаш мумкин.

Жадвал 34.

Клиник аҳамияти мавжуд бўлган иммунотуляторлар

Препаратлар	Асосий таъсир механизми
Диуцефон	ИЛ-2 секрециясини активлаштиради
Левамизол	Т лимфоцитлар ва фагоцитларни функциясини коррекциялаш хусусиятига эга
Изопринозин	Т-лимфоцитларни фаоллаштириш хусусиятига эга
Миелопептид	В-лимфоцитларни фаоллаштириш хусусиятига эга
Дибазол, метилурацил, пентоксил, пирогенал, продигиазан, энтеробактериялар-ЛПС, сальмазан	Фагоцитлар, В-лимфоцитларни хусусиятини лейкопоз, моноцитларни цитотоксик хусусиятини фаоллаштиради
ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6	В-лимфоцитларни шаклланишини фаоллаштиради
Т-активин, тимозин, тимотропин, тималин, иммунотулин	Т-лимфоцитлар функциясини коррекциялайди, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3 ва лимфоид ҳужайраларни синтези ва цитотоксик активлигини оширади.
Полифасфатлар ва поликарбоксиллар	Иммункомпетент ҳужайраларни поликлонал фаоллаштиради
ИФН индукторлари	ИФН синтезини фаоллаштиради
ИФН	100 ортиқ эффектлари аниқланган.

**Эубиотиклар** – одам нормал микрофлорасидан олинган тирик микроб культуралари бўлиб, дисбактериоз касаликларни даволашда кенг қўлланилади. Асосан эубиотик сифатида кўпроқ лиофилизация қилинган

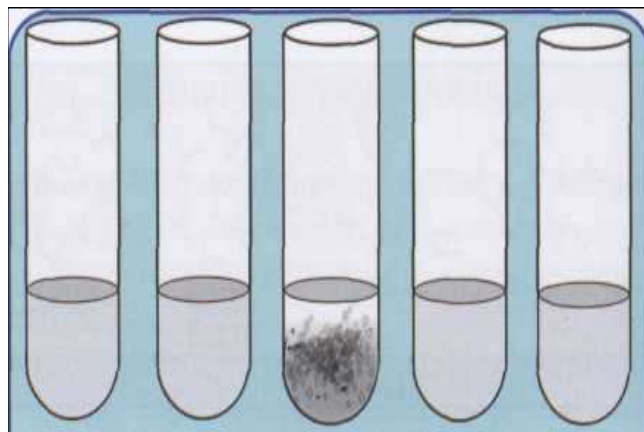
микроб культураси ишлатилади (Леникс, бификол, бифидумбактерин, бактерин, лактобактерин ва бош.).

**Стафилакокк аутовакцинасини тайёрлаш босқичлари.** Ўлдирилган аутовакцина бемор организмдан бевосита ажратиб олинган қўзғатувчи штаммидан тайёрланади:

1. Стафилококк қиялантилган озиқли агарга экилади;
2. Ўстирилган культуранинг тозалигини (микроскоп остида суртма тайёрлаб) текширилади;
3. Микроб хужайрасининг бирламчи суспензияси натрий хлориднинг 5 мл изотоник эритмаси билан ювиб тайёрланади;
4. Бактерия суспензияси 70—80° С да бир соат давомид сув ҳаммомида қиздирилади;
5. Қиздирилган суспензияни озиқли муҳитга экиб, унинг стерилланганлиги текширилади;
6. Оптик стандарт ёрдамида вакциналар стандартланади: 1 мл қиздирилган микроб суспензияси натрий хлориднинг маълум миқдордаги стерил изотоник эритмаси билан

суултирилади, қўқалиги оптик стандарт билан солиштирилади 1 млрд/1мл; бактерия суспензиясининг қолган қисмига натрий хлориднинг изотоник эритмасидан тегишли миқдорда қўшилиб суултирилади.

**Флоккуляция реакцияси.** Токсин ёки анатоксиннинг токсинга қарши зардоб билан ўзаро бирлашиши натижасида парча-парча флоккулят чўкмаси ҳосил бўлади (67-расм) Антиген ва антитело эквивалент нисбатда бўлган пробиркада флоккуляция («инициал») эрта содир бўлади ва яққол кўринади.



Расм 67. Флоккуляция реакцияси

Реакция 2 та босқичда қўйилади:

1. Стандарт қон зардоби ёрдамида токсиннинг 1 мл даги Lf (Limes flocculationis) сони аниқланади. Lf токсини, унинг миқдори, яъни («инициал») флоккуляция бера оладиган халқаро бирлик (ХБ) билан аниқланади. Токсин кучи аниқлангач, зардоб кучи аниқланади

.Жадвал 35.

Флокуляция реакциясини қўйиш схемаси

Ингредиентлар, мл	Пробиркалар №						
	1	2	3	4	5	6	7
1 мл да 20 Lf бўлган токсин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Текширилаётган қон зардоби	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	-	0.6

	45° С да 30 минут давомида термостатда сақланади.						
«Инициал» флоккуляция натижалари	-	-	+	-	-	-	-

Кучи маълум бўлган токсин ва синалаётган антитоксик зардоб 35-жадвалда кўрсатилганидек, маълум ҳажм пробиркаларга қуйилади. Пробиркалар чўкма ҳосил бўлгунига қадар сув ҳаммомида 45°С да 30 мин давомида қиздирилади. Агар токсин миқдори зардобнинг халқаро бирлигига тенг бўлса, шу пробиркада инициал флоккуляция содир бўлади. Масалан, агар флоккуляция 3-пробиркада содир бўлган бўлса, у ҳолда 0,4 мл зардоб 40 ХБ бўлади. Демак 1 мл зардоб  $40:0,4=100$  ХБ га эга экан.

### **3 БОБ. ХУСУСИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ**

#### **ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРГА МИКРОБИОЛОГИК, ВИРУСОЛОГИК, МИКОЛОГИК ВА ПАРАЗИТОЛОГИК УСУЛЛАР БИЛАН ДИАГНОЗ ҚЎЙИШ, ҲАМДА КЛИНИК МИКРОБИОЛОГИЯ**

Микробиологиянинг хусусий бўлимда биз бактерияли, вирусли замбуруғли ва протозойли инфекцияларга лаборатория ёрдамида диагноз қўйиш билан танишиб чиқамиз.

Бу эса, бемор организмдан ажратиб олинган патоген микроорганизмларни юқумли касаллик келтириб чиқаришдаги этиологик ва патогенетик роли, организмдаги клиник ўзгаришлар ва иммуно-аллергик ҳолатни аниқлашда, самарали химиятерапия ва иммунология препаратларини танлашда муҳим рол ўйнайди.

Ҳозирги кунгача патоген микроорганизмларни дарҳол ажратиб олиш ва уларни патоген бўлмаган микроорганизмлардан идентификация қилиш охиригача ишлаб чиқилмаган. Маълумки микробиологик текширувдан олдин, аниқ диагностик усулни танлаш, даволовчи шифокорни юқумли касаллик билан оғриган беморга вақтинчалик қўйган диагнозига асосланади. Бактериологик текширув кўп этапли бўлиб, кўпчилик ҳолларда микроорганизмлар жуда секин ўсади, даволовчи шифокорлар эса бактериологик ташхис натижасини кутмасдан қўлланиб келинаётган хемопрепаратлар билан даволашни бошлайди, лекин даволаш жараёнида бактериологик ташхис натижаси асосида даволашни самарали коррекция қилишади. Шу билан бир қаторда юқумли касалликларни микробиологик ташхиссиз зўр бериб антибиотиклар билан даволаш ва бошқа сабабларга кўра организм иммунологик реактивлигининг кескин сусайиши кузатилади. Бунда шартли-патоген бактериялар ва айниқса *Candida* зотидаги замбуруғлар келтириб чиқарган касалликлар алоҳида ўрин тутаяди.

Бундай касалликлар кўпинча жарроҳлик, терапевтик, болалар ва бошқа бўлимларга жойлаштирилган беморларда ҳамда акушерлик клиникаларда янги туғилган болалар ўртасида кўпроқ учрайди.

Клиника ва бўлимларида юқумли касалликларнинг қўзғатувчилари ҳисобланган шартли-патоген ва айрим патоген бактерияларни ўрганувчи микробиология бўлими — клиник микробиология деб аталади

Клиник микробиологиянинг асосий вазифаси:

- касаллик қўзғатувчиларини беморлардан ажратиб олиш ва идентификация қилиш, ташхисда иммун усуллардан фойдаланиш (АТ, тери синамалари)

- бактериологик ташхис натижаларига асосланиб эффектив хемотерапевтик препаратларни аниқлаш.

Талабалар билан олиб борилаётган диагностик микробиологик текширувларни даволовчи шифокорнинг амалий фаолиятига яқинлаштириш ва клиник микробиологиянинг хусусий масалаларини ҳал қилиш мақсадида ўрганиш зарур бўлган микроорганизмларни алоҳида гуруҳларга бўлинди. Патоген бактерияларни гуруҳларга бўлишда уларни микробиологик классификацияси ҳисобга олинмасдан, асосан қўзғатувчиларнинг қандай касаллик келтириб чиқариши, патогенези ва эпидемиологиясини ҳисобга олинди ва улар йиринг пайдо қилувчи, жароҳат ярали, ҳаво-томчи, қон орқали юқувчи, ичак, ўта хавфли зооноз, трансмиссив ва таносил юқумли касалликларининг қўзғатувчиларига бўлинган. Бу эса касалликнинг аввалги клиник диагнозига кўра микробиологик текшириш учун қандай патологик материаллар олиш кераклигини аниқлаш ва тез ташхис қўйиш имконини беради. Вируслар ва замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар алоҳида бўлимларда берилди.

Лабораториядан олинган бу маълумотлар, даволовчи шифокорларга касалликка аниқ, диагноз қўйишда, беморларни антибиотиклар ҳамда иммун препаратлар билан самарали даволашда жуда ҳам зарур. Эпидемиолог-шифокор эса, юқумли касаллик манбаини аниқлаш мақсадида касалликни эпидемиологик жиҳатдан муҳокама қилиш, унинг юқиш йўллариини белгилаш, микроб ташиб юрувчиларни топишда ва шу каби турли мақсадларда

микробиологик ҳамда иммунологик текширув натижаларидан фойдаланади.

## МИКРОБИОЛОГИК ТЕКШИРИШ УЧУН МАТЕРИАЛЛАР ОЛИШ

Юқумли касаллик билан оғриган бемордан патологик материални олиш ва ўз вақтида бактериологик лабораторияга етказиш, юқумли касалликларни бактериологик диагностикасида энг асосий ташкилий ишлардан бири ҳисобланади. Чунки, юқумли касалликларга микробиологик тез ва самарали диагноз қўйиш асосан бемордан патологик материални тўғри олишга ўз вақтида лабораторияга етказиб беришга боғлиқдир. Даволовчи шифокор касалликнинг дастлабки клиник кўриниши, диагнози ва унинг клиник босқичларига кўра материал танлайди.

Юқумли ва бошқа микроорганизмлар келтириб чиқарувчи касалликларнинг клиник босқичига кўра микроорганизмлар ўпкада, томоқда, бурун-ҳалқумда, лимфа тугунларида, қонда, ичакда, орқа мияда, сийдикда, таносил органларида бўлиб, атроф муҳитга балғам, нажас, сийдик ва биологик суюқликлар орқали ажралади. Масалан, қорин тифи ва паратифларда бактериялар касаллик бошида қонда тўпланади, сўнгра нажас ва сийдик билан ажралади, реконвалесцент даврида эса, ўт йўлларида учрайди, полиомиелитда вирус касалликнинг биринчи босқичида нажас ёки бурун-ҳалқум суюқлиги билан ажралади, сўнг қисқа муддат қонда учрайди, бактериомия, сепсисда эса микроорганизмлар доимо қонда бўлади; юқори нафас йулларидаги (респиратор) инфекцияларда бактерия ва вируслар одатда балғам орқали, ичак касалликларида эса нажас билан ажралади.

Лабораториядан олинган маълумотларни баҳолашда текшириладиган материал характери муҳим аҳамият касб этади. Масалан, стерил (соғлом одамларда) суюқликларда (қон, перитонеал, плеврал, орқа мия суюқлиги, катетер ёрдамида қовуқдан олинган сийдик) микроорганизмлар одатда бўлмайди, агар улардан ажратиб олинса, юқумли касалликлар борлигидан дарак беради. Шу билан бирга, нажас, балғам, томоқ шиллик қаватлари,



сийдик ва таносил органлари йўллари, тери ва шиллик қаватлардан патоген микроорганизмлар ажратиб олинганда, бактериологлар шу органларда учровчи нормал микроорганизмлардан албатта уларни дифференциация қилиши зарур. Лекин нормал баъзи ҳолларда шу органларда учровчи шартли патоген микроорганизмлар ҳам касаллик келтириб чиқаради. Шунинг учун, тегишли бўшлиқ ва органлардан ажратиб олинган бактерияларнинг турини аниқлаш билан бир қаторда уларнинг миқдорий кўрсаткичини ҳам аниқлаш зарурдир. Масалан, кўпчилик шартли патоген бактериялар (стафилококклар ичак бактериялари) 1 мл сийдикда  $10^3$ -  $10^4$  учрайди. Сийдикда  $10^4$  даражадан юқори бўлиши, шу бактерияни касаллик келтириб чиқариш эҳтимолидан дарак беради.

Бемор, реконвалесцент ва бактерия ташувчи кишилардан текшириладиган материал олишда шифокорлар маълум қоидаларга амал қилиш талаб этилади.

1. Беморлардан патологик материалларни антибиотиклар ва бошқа хемотерапевтик препаратларни қўллашдан аввал олиш зарур.

2. Патологик материалларни мумкин қадар атроф - муҳитдаги микроорганизмлар билан ифлослантмаслик учун асептика қоидаларига риоя қилиш талаб этилади.

3. Патологик материалларни олишда ва лабораторияга жўнатишда замонавий талаблар асосида HiMedia ва бошқа компаниялар таклиф қилган стерил материал олиш ва уларни жўнатиш воситаларидан фойдаланиш зарур.

4. Кўпчилик юқумли касалликларда патологик материални бемордан олиш ва шу жойда бемор ўрнида экиш, (кўк йўтал, мененгит, ичбуруғ) яхши натижа беради ва патоген кўзғатувчиларни ажратиб олиш фоиз кўрсаткичини оширади.

Стерил материаллар (қон ва бошқалар) организмдаги нормал микрофлора вакиллари билан ифлосланмаслиги учун материал олиш ва экиш тартиб қоидаларига қатъий риоя қилиш зарур, чунки жуда кичик хатолик ҳам текшириш натижасига салбий таъсир кўрсатиши мумкин.

Йирингли-яллиғланиш жараёнларида, материал яранинг чуқур қисмидан яллиғланган тўқимага суркаб олинади; респиратор касалликларда эса, балғамнинг йирингли, қонли бўлаги, бронхларнинг чайинди сувлари ёки биопсияда олинган тўқима парчалари текширилади. Сийдик йуллари касалликларида эса, сийдикнинг ўрта миқдори йиғилади ёки қовуқдан катетер ёрдамида сийдик олиб текширилади. Ичак инфекцияларида нажас стерил банкаларга йиғилади, меъданинг чайинди сувлари ва ўт сафро зонд орқали олиниб, ўрганилади. Ичак юқумли касалликларида патологик материал махсус консервант қўшилган стерил пробиркаларга олинади; таносил касалликларида сийдик йўлларида ёки жинсий аъзодан, аёлларда спринцовка қилинганч (антисептиклар қўлланмаган ҳолда) олинади; томоқ ва бурун-ҳалқумдан эса материал махсус тампонлар (HiMedia ва бошқа компаниялар материал олиш ва уларни жўнатиш воситалари) ёрдамида олиниб, стерил пробиркаларга солинади ёки бемор ўрнида экилади. Стерил материаллар (соғлом одамларда) қон ва бошқа микробсиз суюқликлар) бемор тўшаги олдида экилгани маъқул. Серодиагностика текширувлари учун бармоқ, ёки вена томиридан қон олиниб, лабораторияда ундан зардоб ажратилади.

Текшириладиган материални мумкин қадар зудлик билан бактериологик, микологик, вирусологик ёки серологик лабораторияларга юбориш зарур. Материални юбориш вақти 2 соатдан ошмаслиги зарур, агар юборишни иложи бўлмаса, баъзи касалликларда 24 соат музлаткичда сақлаш мумкин. Материал, лаборатория идишида ёки махсус контейнерларда (HiMedia ва бошқа компаниялар материал олиш ва уларни жўнатиш воситалари) дастлабки ўз ҳароратини сақлаган ҳолда (кўк йўтал, менингит 22° паст ҳароратда қўғатувчи ўлиб қолади) ёки аксинча қуруқ муз ёрдамида совутилган ҳолда (материал характериға кўра) лабораторияга жўнатилади. Лабораторияга юборилган барча материалда, албатта тегишли йўлланма бўлиши шарт. Унда бемор фамилияси, исми, отасининг исми, материал тури,

олинган вақти, касалликнинг дастлабки клиник диагнози кўрсатилиши лозим.

## **МАТЕРИАЛНИ ЛАБОРАТОРИЯГА ЮБОРИШ ВА ТЕКШИРИШ УСУЛЛАРИ**

Лабораторияга юборилган материални текширув йўналиши ва усуллари даволовчи шифокорнинг касаллик кўзғатувчилари — бактерия, замбуруғ ёки вирус бўлиши мумкин деган тахминига, касалликнинг дастлабки клиник диагнозига асосланиб белгиланади. Шунга мувофиқ тегишли текширув усуллари қўлланилади. Барча клиник микробиология ва иммунология усуллари 4 группага бўлиш умкин: 1) микроскопик (бактериоскопик, вирусоскопик); 2) микробиологик (бактериологик, микологик, вирусологик); 3) биологик ёки биосинама; 4) иммунологик (серодиагностика, тери-аллергия синамаси, иммунологик ҳолатни аниқлаш учун тестлар). Юқорида кўрсатилган усуллар мураккаблиги, текшириш муддатлари, сезгирлиги, спецификлиги ҳамда етарли маълумотлар бериши билан бир-биридан фарк қилади.

**Микроскопик усул.** Асосан текшириладиган материалдаги бактерия, содда жониворлар ва замбуруғларни аниқлаш учун қўлланилади. Вирусоскопик текшириш камроқ ва маълум касалликларда диагностик мақсадларда олиб борилади. Жумладан вирус заррачалари ва уларнинг киритмаларини топиш орқали қутуриш касаллигида Бабеш-Негри, чечакда — Пашен ва Гварниери таначаларини аниқлаш орқали диагноз қўйилади. Кўпчилик вирусологик касалликларда микроскопик усул вирусларни индикация қилишда ишлатилади (масалан, гриппда риноцитоскопик текширув усуллари қўлланилади).

Микроскопик усулнинг асосий ижобий хусусияти патологик материалда қандай кўзғатувчилар борлигини олдиндан билиш ва кейинги текширув режаларини шунга асослаб тузиш мумкин. Яна бир афзаллиги шундаки,

текшириладиган материални кўриш учун 30—60 мин етарлидир. Шу билан бир қаторда микроскопик усулнинг камчиликлари ҳам мавжуд, бундай камчиликларидан бири, микроскоп остида кўрилган микробларни морфологик идентификация қилишнинг мураккаблигидир, айрим ҳолларда эса, уларни дифференциация қилиш имконияти мутлақо бўлмайти (масалан, ичак таёқчаларини сальмонелла ёки шигелларда). Айрим бактерияли инфекцияларда, микозларда ва паразитлар келтириб чиқарган касалликларда микроскопик текширишнинг диагностикаси ниҳоятда юқори аҳамиятга эга бўлади ва бу усул қуйидаги: лептоспироз, қайталама тиф, бирламчи захм, сўзак, теридаги замбуруғли касалликлар (дерматомикоз), кандидоз, чуқур замбуруғли микоз, безгак, лейшманиёз касалликларида яқунловчи диагноз қўйиш учун асос бўлади.

Микроскопик усулга бўлган ишонч, унинг махсуслигини оширувчи нишонланган МАТ дан фойдаланиб иммунфлюоресцент текшириш усулини қўлланилганда янада ортади.

Ҳозирда иммунфлюоресцент усул (ИФУ) патологик материалдаги турли микроорганизмларни аниқлашда, айниқса ўта хавфли касалликларни аниқлашда кенг қўлланилмоқда.

**Микробиологик** (бактериологик, микологик, вирусологик) усуллар касаллик қўзғатувчиларининг соф культурасини ажратиб олиш ва кейинчалик улар морфологиясини, ўсишини, биокимёвий, антигенлик ва бошқа хусусиятларини текшириб идентификация қилишга асосланган. Бактериологик усул асосий усулларда бири хисобланади.

Микробиологик диагностика икки ёки ундан ортиқ патоген ёки шартли-патоген бактериялар культураси ажратилган ҳолда жуда мураккаблашади. Бактериянинг соф культураси олинганда, унинг патоген белгиларини лаборатория ҳайвонлари ёки *in vitro*- да текшириб кўрилади ва антибиотикларга бўлган сезувчанлиги аниқланади.

**Микологик** текширувлар, бактериологик текширувларга нисбатан камроқ; ўтказилади, чунки уларнинг микроскопик диагностикаси етарли даражада ишончлидир. Бактериологик текширувлар кандидоз касалликларига диагноз қўйишда кўпроқ ишлатилади. Бунда *Candida* зотига кирувчи ачитқисимон замбурутлар ажратиб олиниб идентификация қилинади.

**Вирусологик усул**, вируслар қўзғатган юқумли касалликларга диагноз қўйишда ишончли усул ҳисобланади. Вирусологик лабораторияларда олиб борилади. Аммо, хужайра культураларини тайёрлаш, текшириладиган материалга ишлов бериш, кўпинча ижобий натижалар олмаслик ва бошқа сабаблар бу усулдан кенг фойдаланишга имкон бермайди. Бундан ташқари бу усул айниқса номаълум («кўр») пассажлар қилинганда кўп вақтни талаб этади. Охириги йилларда вирусли юқумли касалликларга диагноз қўйишда замонавий усуллардан полимер занжирли реакция (ПЗР), имунфлюоресцент усуллар (ИФУ) кенг қўлланилмоқда. Кўпинча вирусология усулидан вирусли юқумли касалликларга ретроспектив диагноз қўйишда фойдаланилади.

Барча микробиологик текширувлар етарли даражада маълумотларга эга бўлиб, айниқса, қўшимча серологик натижалар билан тасдиқланганда (ажратиб олинган касаллик қўзғатувчиларига қарши антителолар аниқланганда) янада ишончлидир. Лекин шунини алоҳида таъкидлаш лозимки, тибий микробиологияга ўта сезгир серологик усулларни (радиоиммун, имунфермент, имунблотинг) киритилиши ва қўлланилиши юқумли касалликлар диагностикасида янги йўналишларни очиб бермоқда. Шу билан бир қаторда бу серологик усулларда касаллик қўзғатувчиларига диагноз қўйиш мумкин, лекин қўзғатувчиларнинг (бактериал инфекцияда) патогенлик ва хемотерапевтик препаратларга сезгирлик хусусиятларини аниқлаб бўлмайди. Шунинг учун бактериологик усул ҳозирги кунда ҳам ўз моҳияти ва долзарблигини йўқотган эмас.

Бактерияли юқумли касалликлар тарқалишини эпидемиологик анализ қилиш учун бемор ва бошқа манбалардан (сув, овқат маҳсулотлари ва х.к.)

ажратиб олинган культураларнинг турлари аниқланади. Бу эса, культураларнинг биовар, серовар, фаговарларини аниқлашга ҳамда биокимёвий, антигенли хусусиятлари ёки фагларга сезувчанликни текширишга асосланади.

Бундан ташқари, болалар, катталар, шу қаторда медицина ва озиқ-овқат соҳасида хизмат қилувчи ходимлар орасида бактерия ташувчиларни аниқлаш мақсадида ҳам микробиологик текширувлар олиб борилади.

Микробиологик амалиётда **биосинамалар** кенг қўлланилади. Биосинамалар турли лаборатория ҳайвонларининг маълум микроорганизмларга бўлган ҳар хил берилувчанлигига асосланган. Бу усул микробларнинг соф культураси ёки текшириладиган материалларни бир турдаги, бир ёшдаги, бир хил тана оғирлигидаги ҳайвонларга юктириб амалга оширилади. Биринчи ҳолда, биосинама патоген микроорганизмларни дифференциация қилиш мақсадида қўлланилади. Улардан баъзилари ҳайвонларда касаллик қўзғатади ёки уларни ҳалок этади, бошқалари эса, таъсир кўрсатмайди (масалан, ичбуруғ қўзғатувчилари қуёнларда кератоконъюнктивит келтириб чиқаради энтеропатоген ичак таёқчаси эса келтириб чиқармайди). Биосинама усули вирусли ва риккетсиёз юқумли касалликларида, қўзғатувчиларни бир-биридан фарқлашда кенг қўлланилади. Иккинчи ҳолда, патологик материалдаги касаллик қўзғатувчилари жуда кам бўлиши (ўлат, пневмакоккларда) натижасида бактериологик усулда қўзғатувчини ажратиб олиб бўлмайди, бундай ҳолатда қўзғатувчи учун сезгир лаборатория ҳайвонларига (оқ сичқонларга) юктирилиб, улардан кейин тоза культураси ажратиб олинади. Бундан ташқари патологик материалда изланилаётган микроб бошқа микроорганизмлар билан аралашган бўлиши мумкин, бундай ҳолда ҳам биосинамадан фойдаланилади. Кўпчилик ҳолларда, биосинама, ажратиб олинган соф культуранинг вирулентлик хусусиятини, токсигенлигини (бўғма, вабода) аниқлашда ҳам қўлланилади.

**Иммунологик усуллар.** Бунга серодиагностика, тери-аллергик синамалар, ҳужайра (Т-системалар) ва гуморал (В-системалар) иммун тизимларини баҳолаш усуллари киради.

**Серодиагностика** бемор қони зардобдаги антиген ва специфик антителолар ва касалланиш жараёнида уларнинг ортиб боришини аниқлашга асосланган. Серодиагностикада кўпчилик ҳолларда жуфт қон зардобдан фойдаланилади. Биринчи маротаба қўйилгандан сўнг 1-2 ҳафта ўтказилиб қайта қўйилади, агар аниқланилаётган АТ титри биринчи қўйилгандаги титрдан икки ёки ундан кўп маротаба ошса касалликни ўткир формасини серологик диагнози тасдиқланади, агар титри ошмаса бундай ҳолат кўпинча касал бўлиб ўтганларда, эмланганларда кузатилади. Баъзи ҳолларда антителоларнинг тўпланиши суст бирмунча узоқ давом этади (захмда, гепатит В вирусини HBs-Ag ни аниқлашда) шунинг учун серологик жавоб ҳам касалликнинг тузалиш (реконвалесценция) даврига тўғри келади. Бу эса, ушбу усулнинг ретроспектив характерга эга эканлигини кўрсатади.

Вирусли касалликларга лаборатория ёрдамида диагноз қўйишда, одам организмидан кўпчилик вирусларни ажратиб олишда ва уларни идентификация қилишда қийинчиликлар содир бўлган ҳолларда, серологик текширувлар муҳим аҳамият касб этади. Серологик текширувлар юқумли касалликларни эпидемиологик тарзда анализ, қилишда кўпроқ қўлланилади. Шу мақсадда соғлом кишиларда специфик антителоларнинг мавжудлиги аниқланади (ретроспектив), бу эса уларнинг шу юқумли касалликни бошдан кечирганликларини ёки унинг қўзғатувчиси билан алоқада бўлганликларини кўрсатади.

Охирги йилларда тибий микробиологияга ўта сезгир серологик усулларни (радиоиммун, иммунфермент, иммунблотинг) киритилиши ва қўлланилиши юқумли касалликлар диагностикасида янги йўналишларни очиб бермоқда.

**Тери аллергик синамалар,** организмнинг турли антигенларга (аллергенларга) юқори даражада сезувчанликни ошиб қолиши, бир қанча касалликларда (сил, бруцеллёз, туляремия ва бошқалар) кузатилади. Шунинг учун бундай касалликларни инфекцион-аллергик касалликлар ҳам деб номланади. Агар сезгирлиги ошган беморларга микроб антигени киритилса тери орасига аллергик реакция келиб чиқади (Манту, Пирке, Бюрне синамалари) диагноз қўйишда ҳамда атопия ва бошқа аллергик ҳолатларни аниқлашда тери аллергик синамалар кенг қўлланилади.

**Одам организмнинг иммунологик ҳолатини аниқлаш усуллари** биринчи ва иккинчи даражали тестлардан иборат бўлиб, уларда асосан Т- ва В- лимфоцитларнинг сони ва функционал активлиги аниқланади (18 мавзуга қаралсин).

Хусусий, клиник микробиология ва иммунологияни ўргангандан сўнг, талабалар олган билимларига асосан, бактерияли, замбуруғли ва вирусли касалликлар этиологияси ва патогенезида микроорганизмлар ролига баҳо берадилар. Улар шунингдек, касалликнинг кечиш босқичларига кўра, микробиологик, вирусологик ва иммунологик усуллари билан ўтказилган лаборатория текширувлари етарли даражада аниқ маълумотлар беришига ишонч ҳосил қиладилар.

## **Мавзу 20. Йирингли-яллиғланиш касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар**

### **Машғулот режаси**

1. Стафилококк ва стрептококкли инфекцияларнинг микробиологик диагностика схемасини ўрганиш.
2. Стафилококк ва стрептококклар келтириб чиқарган касалликларнинг бактериоскопик ва бактериологик диагностикаси.
3. Касалхона ичида учрайдиган стафилококк инфекциясида касалликнинг юқиш манбаларини аниқлаш.
4. Кўк йиринг таёқсаси келтириб чиқарган касалликларнинг бактериоскопик ва бактериологик диагностикаси.
5. Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар келтириб чиқарган йирингли-яллиғланиш касалликларнинг бактериоскопик ва бактериологик диагностикаси.
6. Йирингли-яллиғланиш касалликлар диагностика, профилактика ва даволашда қўлланиладиган препаратлар.

### **Намойиш қилиш**



1. Стафилококк ва стрептококкларнинг соф культурасидан тайёрланган суртмалар.
2. Йирингдан тайёрланган суртмалардаги стафилококк ва стрептококклар.
3. Стафилококк ва стрептококкларнинг қонли агарда ўсган соф культураси гемолитик стафилококк ва стрептококкларнинг қонли агарда ўсиши ( $\alpha$  ва  $\beta$  гемолизлар).
4. Стрептококклар серогруппасини А, В, С, D зардоблари билан преципитация реакцияси ёрдамида аниқлаш схемалари.
5. Стафилококкларни тухум сариғи кўшилган тузли агарда лецитиназа активлигини кўриш.
6. Сепсисда бактериологик текширув босқичлари.
7. О- стрептолизин билан антистрептолизин реакциясини кўйиш схемалари.
8. Кўк йиринг таёқчанинг соф культураси ва ундан тайёрланган суртмалар.
9. Йирингли-яллиғланиш касалликларни келтириб чиқарувчи спора ҳосил қилмайдиган анаэроб (*Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Bacterioides* sp., *Veillonella* sp.) бактериялар культурасидан тайёрланган суртмалар
10. Стафилококк фағларининг халқаро тўплами, стафилококк аутовакцинаси, стафилококк анатоксини, Дик токсини, преципитация реакциясини ҳосил қилувчи стрептококк зардоблари, лиофилизация қилинган О- стрептолизин. Антибиотиклар.
11. Даволаш учун қўлланиладиган стафилофаг стрептофағлар ва бошқа препаратлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Тухум сариғи кўшилган тузли (ТСТА) (ва қонли агарларга (ҚА) йирингдан экилган экмаларда стафилококкларни аниқлаш:
    - стафилококкларни муҳитдаги культурал хусусиятларига қараб баҳо бериш;
    - ТСТА стафилококкларни лецитиназа активлигини аниқлаш;
    - ҚА стафилококкларни гемолитик хусусиятларини аниқлаш;
    - шубҳали колониялардан суртма тайёрлаш. Грам усулида бўяш ва микроскопда кўриш;
    - шубҳали колониялардан стафилококкларни тоза культурасини ажратиб олиш учун қиялантирилган НА га экиш;
    - стафилококкларни плазмакоагулаза активлигини аниқлаш мақсадида пробиркадаги 1:10 суюлтирилган қуён плазмага культурани аралаштириш;
  2. Қонли агарга ва қандли бульонга экилган стрептококкларни культурал хусусиятларини ўрганиш:
    - қонли агарда ўсган стрептококкларни гемолитик хусусиятларни ўрганиш;
    - бульонда стрептококкларни ўсиши ва ўсиши бўйича уларни бир-бирдан фарқларини аниқлаш;
    - стрептококкларни қонли ва бульонли культураларидан суртма тайёрлаш Грам усулида бўяш, микроскопда кўриш;
    - кўк йиринг ҳосил қилувчи таёқчани НА культурал хусусиятларини ўрганиш ва пигмент ҳосил қилишига баҳо бериш;
    - кўк йиринг таёқча культурасидан суртма тайёрлаш, бўяш микроскопда кўриш; ўрганилган натижаларни баённома кўринишида дафтарга ёзиш;
- Ҳозирги кунда йирингли-яллиғланиш ва жароҳат юқумли**

касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар жарроҳлик, акушер-гинекология, педиатрия, болалар клиникалари ва бошқа бўлимларда кўп учрайди. Кўпинча улар касалхона ичида тарқалган бўлиб госпитал инфекция характерига эга бўлади.

Йирингли-яллиғланиш ва жароҳат юқумли касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар кўзгатувчилари ҳар хил бактериялар бўлиб, улар турли тартибга, оилага, зотга ва турларга киради. Улар орасида аэроб ва анаэроб шаклдаги граммусбат ва грамманфий таёқчалар ва кокклар учрайди (36 жадвал). 36-жадвалда келтирилган бактериялар турли систематик ўринда туришига қарамасдан, умумий патогенетик, яъни йирингли-яллиғланиш жараёнини келтириб чиқариш хусусиятига эга. Улар турли аъзоларни: юқори нафас йуллари, ичак, сийдик-таносил аъзолари, тери қатламларини шикастлайди, сепсисни кўзгатади. Улардан баъзилари фақатгина йирингли ва жароҳат инфекциялар кўзгатувчилари бўлмай, балки нозологик шаклдаги касаллик кўзгатувчилари бўлиб ҳисобланади. Масалан, стрептококклар йирингли инфекциялар ҳисобланган стрептодермия, чипқонлар билан бир қаторда, скарлатина, катарал ангина, гломерулонефрит ва сарамасларни кўзгатади.

Жадвал 36.

Йирингли-яллиғланиш ва жароҳат юқумли касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар

Аэроб бактериялар	Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар	Спора ҳосил қиладиган анаэроб бактериялар
Staphylococcus sp. Streptococcus sp. Pseudomonas aeruginosa Escherichia. coli ва бош.	Peptococcus sp. Peptostreptococcus sp Bacterioides sp. Veillonella sp.	Cl. perfringens, Cl oedematiens Cl.sordellii, Cl. novyi, Cl.histolyricum, Cl. septicum, Cl.romosum, Cl. tertium, Cl.difficile, Cl. bifermentans. Cl. tetani

Стафилококклар, стрептококклар, протейлар, ичак таёқчалари ва анаэроб бактериялар кўпинча ўзаро ёки бошқа микроорганизмлар — вируслар, замбуруғлар билан биргаликда (жаррохлик операциялар асоратларида) аралаш инфекцияларни келтириб чиқаради.

Йиринг ёки ажралаётган бошқа суюқлик чегараланган жароҳатларда (флегмони, абцесс, корбонкул, пеританит ва бош.) текшириш учун материал бўлиб ҳисобланади. Инфекциянинг тарқоқ формаларида эса (сепсис, септикопиемияда) венадан экиш учун стерил равишда қон олинади.

Анаэроб бактериялар (бактероидлар, пептококклар, пептострептококклар ва вейлонеллалар ва спора ҳосил қилувчи *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. sordellii*, *Cl. novyi*, *Cl. histolyticum*, *Cl. septicum*, *Cl. tetani*) қатъий анаэроб шароитларда, материал олишнинг муайян қоидаларига амал қилинган ҳолда озиқли муҳитларга экилади ва анаэроб шароитларда инкубация қилиниб ажратиб олинади.

### **Стафилококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси.**

Стафилококклар *Micrococaceae*- оиласига ва бу оилага 3 авлод киради: 1. *Staphylococcus* 2. *Micrococcus* 3. *Stomatococcus*. Булардан одам учун *Staphylococcus* авлоди вакиллари ичида патогенлари мавжуд. Ҳозирги кунда *Staphylococcus* авлодига 20 ортиқ турлар киради: *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. hominis*, *St. haemolyticus*, *St. warneri*, *St. capitis*, *St. saccharolyticus*, *St. auricularis*, *St. simulans*, *St. cohnii*, *St. xylophilus*, *St. lugdunensis* ва бошқалар. Булардан одамларда асосан *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus* касаллик келтириб чиқаради. Охириги йилларда *St. haemolyticus* ни ҳам касаллик келтириб чиқариётганлиги манбаларда ёзилмоқда.

**Бактериоскопик текширув (2 -схема).** Текшириладиган материалдан (қондан ташқари) бирламчи бактериоскопия учун суртма тайёрлаб, Грам усули билан бўйаб, микроскоп остида кўрилади. Препаратларда грам мусбат, тўда-тўда бўлиб, узум шингили шаклида жойлашган кокклар (-расм) кўрилган пайтда стафилококк инфекциясининг дастлабки диагнозини қўйиш мумкин.

**Бактериологик текширув. 1-кун.** Текшириладиган материал- йиринг, экссудат, балғам, қовузлоқ ёрдамида, якка-якка колониялар олиш учун, косачадаги қонли, тухум сариғи қўшилган ва сут қўшилган тузли агарга штрих

уsulда экилади. Сийдик, томоқдан ва бурундан олинган суяқликдаги стафилококкларни миқдорий аниқлаш мақсадида, муҳитларга сектор (Гольди) усулида экилади. Сепсисга шубҳаланилганда бемор қони экиб кўрилади. Билак венасидан шприц билан 5—10 мл қон олиниб, колбадаги 50—100 мл қандли бульонга экилади (1:10 нисбатда) ва ҳамма экмалар 37°C да термостатда сақланади.

**2- кун.** Озиқли муҳитларда ўсган колониялар текширилади. Қонли агарда гемолиз бўлган ёки бўлмаганлиги аниқланади (расм 68). Тухум сариғли-тузли агарда *Staph. aureus* тилла рангли, қабарик, юмалоқ, хирароқ колониялар ҳосил қилади. Пигмент ҳосил қилиши туз қўшилган тузли агарда янада равшанроқ кўринади. Лецитиназа активлигига эга бўлган стафилококк

Жадвал 37.

*Micrococcaceae* оиласи вакиллари бир-биридан фарқлиниши

Белгилари	<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Stomatococcus</i>
Каталаза	+	+	+
Капсуласи	-	-	+
5% NaCl ли муҳитда ўсиши	+	+	-
Глюкозали муҳитда анаэроб шароитда ўсиши	+	-	+
Клизостафинга сезгирлиги	+	-	-
Бацитрацину (0,04 ЕД) сезгирлиги	-	+	+

колониялари атрофида ТҚТА садаф рангли хиралашган зоналар ҳосил (расм 68) бўлади. Шубҳали колониялардан бир нечта суртмалар тайёрланиб Грам

узулида бўяб микроскопда кўрилади ва каталаза тести кўйилади. Каталаза *Micrococcaceae* оиласи вакилларида мусбат бўлади.

**Стафилококкларни** материалдаги миқдорини аниқлаш мақсадида, муҳитларга экилган экмаларда стафилококкларга шубҳали колониялар саналиб 1мл текшириляётган материалда стафилококкларни миқдори ҳисоблаб топилади. Стафилококкларни микрококк ва стоматоккокклардан фарқланиши жадвалда келтирилган.

Шу кунни стафилококкларнинг турини аниқлаш учун ўрганилган шубҳали колониялардан 2—3 та колония олиниб, қиялантирилган нейтрал агарли пробиркаларга экилади ва унинг соф культураси ажратиб олинади.

Қон экилган қандли бульон ҳам кўздан кечирилади (экилган бульон 10 кун давомида сақланиб турилади) вақт-вақти билан бактериоскопия учун суртма тайёрланиб, бўяб кўрилади ва Петри косачасидаги қонли агарга экиб турилади. Ижобий натижа олинганда, стафилококкнинг соф культураси ажратиб олиниб, қолган боқичлари кўрсатилган белгилар асосида идентификация қилинади. Агар ижобий натижа олинмаса 10 кундан сўнг жавоб бериледи.

**3-кунни** стафилококк авлоди вакиллариини бир бирларидан фарқланиш хусусиятларини аниқлаш учун дифференциал диагностик муҳитларга экмалар экилади (38-жадвал).

**Стафилококк культурасининг плазмокоагулаза активлигини аниқлаш.** Бунинг учун қуён қон плазмасидан фойдаланилади. 1:5 нисбатда суюлтирилган қуён плазмасидан 1,0 мл олиниб 2 та стерил пробиркаларга қуйилади. Биринчи контрол учун (К), иккинчи пробиркани тажриба учун (Т) деб ёзиб қўйилади. Биринчи пробиркага текшириляётган стафилококк культурасидан қовузлок ёрдамида материал олиниб пробиркадаги суюлтирилган плазмага аралаштирилади. Иккинчи тажриба пробиркасига бактерия культураси аралаштирилмайди. Ҳар иккала пробирка ҳам термостатга 6 -8 соатга қўйилади. Текшириляётган культура плазмокоагулаза активлигига эга бўлса қуён плазмасини ивитиб қотириб қўйди, контрол пробиркада плазма қотмайди (расм 29).

**2- схема. Стафилококк юқумли касалликларини бактериологик текшириш**

Текшириш учун материал: йиринг, қон, экссудат, балғам, томоқдан ва бурундан олинган суюқлик ва бошқалар

Бактериоскопик текширув

Бактериологик текширув

Гемокультура (сепсисда)

Биринчи кун

Суртма, грам усулида бўяш, грам мусбат узум шингилига ўхшаш жойлаган кокклар топилса  
*Бирламчи жабоб*

ТСТА, сут қўшилган тузли агар ва ҚА экиш

Қандли бульонга экиш

Иккинчи кун



Суртма, грам усулида бўялган

Каталаза пробаси (+)

Қиялантирилган НА экиш (соф культура)

Колонияларни характери, пигмент, гемолиз ҳосил қилиши ва лейцитиназа активлигини ўрганиш

Суртма, Грам усулида бўяш мусбат бўлса ҚА экиш.

Учинчи кун

Манитни анаэроб шароитда парчалаши (±)

Глюкозани аэроб, анаэроб шароитда парчалаши (±)

Плазмакоагулаза тести (±)

Клигер муҳитига экиш

Антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш

Фагларга бўлган сезгирлигини аниқлаш (±)

Зарур бўлса фибринолизин, ДНК за аниқланади (±)

*Яқуний жавоб*

Баъзи ҳолларда, плазмокоагулаза ва лецитовителлаза билан бир қаторда бошқа ферментлар — фибринолизин, гиалуронидазалар ва қуёнда ўтказиладиган дермонекротик синама қўйиб аниқланади.

Жадвал 38.

### Стафилококларни дифференциал белгилари

Белгилари	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
5% NaCl ли муҳитда ўсиши	+	± (кучсиз)	+
15° С	+	-	+
45° С	+	+	±
ўсиши			
Маннитни анаэроб шароитда ферментациялаши	+	-	±
Гиалуронидаза	+	±	-
Коагулаза	+	-	-
Фибринолизин	+	- (кучсиз)	-
Гемолизин	+	- (кучсиз)	-
Новобиоцинга сезгирлиги	+	+	

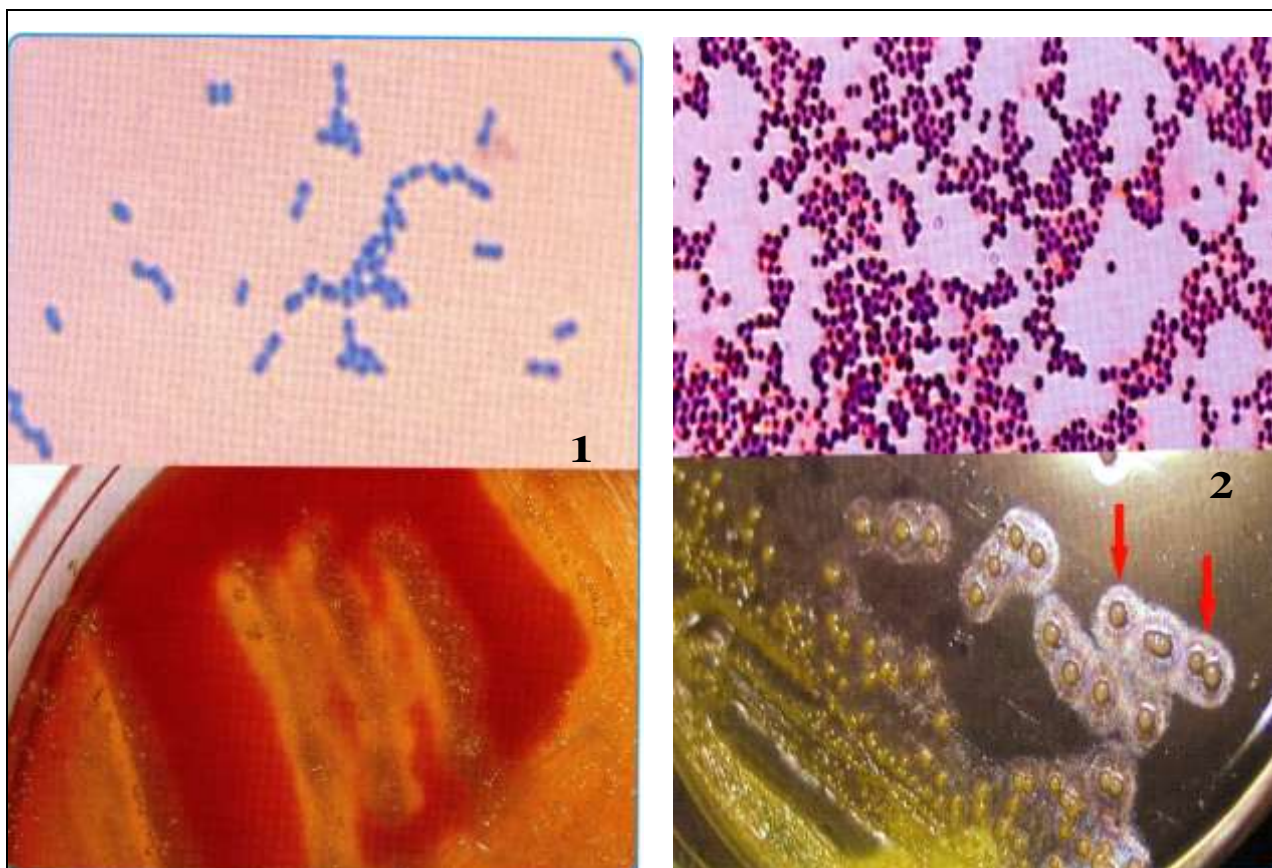
**Қуёнда дермонекротик синамани қўйиш.** Бунинг учун қуённинг ён томонидаги териси тозаланади ва тери орасига, оптик стандарт буйича 2 млрд/мл ҳужайрага эга бўлган 0,2 мл текшириладиган культура суспензияси юборилади. Микроб юборилган жойда аввал инфилтрат, 24—28 соатдан сўнг некроз ҳосил бўлади, бу эса ижобий натижа ҳисобланади (расм 49).

Госпитал инфекция манбаини аниқлаш эпидемиологик жиҳатдан муҳим бўлганлиги учун бемор ва бактерия ташувчилардан стафилококкнинг соф культураси ажратилиб, стафилококк типини аниқлаш учун қўлланиладиган фаглар тўплами ёрдамида фаготип аниқланади.

**Стафилококк культурасини фаготипини аниқлаш.** Текшириладиган суткали стафилококкни бульонли культурасини Петри косачасидаги озикли агарга газонли усулда экилади, термостатда бир оз қуритилади, сўнгра Петри косачаси орқаси квадратларга бўлинади қўлланиладиган фаг типлари ёзилади ва ҳар бир квадратга Пастер пипеткаси билан бир томчидан кўрсатилган титргача суюлтирилган, ёзилган рақамга хос бўлган стафилококкни 4 гуруҳ фаг типлари томизилади. Бир сутка термостатда сақлангандан сўнг,

қайси квадратларда лизис бўлганлиги кўздан кечирилади. Стафилококк культурасининг фаготипи лизисни келтириб чиқарадиган фаг типи билан аниқланади (расм 40).

Стафилококкларнинг антибиотикларга сезувчанлигини аниқлаш 10 - мавзуда қўрсатилган.



Расм 68. Патоген кокклар. 1. Стрептококкни тоза культураси (метилин кўкида бўялган) юқорида, қуйида ҚА унинг колониялари. 2. Стафилококкни тоза культураси (Грам усулида бўялган) юқорида, қуйида ТСТА унинг колониялари (лецитовитилаза мусбат колонияла стрелка билан кўрсатилган).

Яқиний жавобда ажратиб олинган стафилококк тури, керак бўлса фаготиплари ва унинг антибиотикларга сезгирлиги ва титри албатта кўрсатилади.

### **Стрептококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси.**

Ҳозирги кунда Streptococcaceae оиласига 7 авлод киритилган, булардан одам учун нисбатан патогенларига киради: Streptococcus, Enterococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Pediococcus df Lactococcus. Булардан энг муҳим аҳамиятга Streptococcus, Enterococcus лар эга ҳисобланади. Қолганлари асосан спорадик касалликлар келтириб чиқаради.



Одамда асосий касаллик келтириб чиқарувчи Streptococcaceae оила вакиллари

Келтириб чиқарувчи касалликлари	Қўзғатувчилари	Текшириш учун материал олиш
1. Фарингитлар	Стрептококклар груҳи А, С, G	Томоқдан суртма, қон зардоби
2. Тери ва юмшоқ тўқимани жароҳати ва жароҳат инфекцияси	Стрептококклар груҳи А, С, G ва яшил стрептококклар	Жароҳатдан суртма, йиринг, ажралма
3. Туғруқдан кейинги инфекция	Стрептококклар груҳи В, С ва G	Эндометрия тўқимаси ёки унинг аспиратлари
4. Неонатал сепсис	Стрептококклар груҳи В, ва G	Қон
5. Бактериемия	Стрептококклар груҳи А, В, С, G, Д	Қон
6. Эндокардитлар	Стрептококклар груҳи А, В, С, G ва энтерококклар, S. pneumoniae, яшил стрептококклар	Қон, клапан биоптатлари
7. Менингит	Стрептококклар груҳи А, В, С, G ва S. pneumoniae	Орқа мия суюқлиги
8. Артритлар	Стрептококклар груҳи А, В, С, G, S. pneumoniae	Синовиал суюқлик
9. Сийдик таносил система инфекцияси	Стрептококклар груҳи В, энтерококклар	Сийдик, ажралмалар
Зотилжам (пневмония)	Стрептококклар груҳи А, В ва S. pneumoniae	Балғам, бронх ва трахеа ювиндиси, плеврал суюқлик
Синуситлар	Стрептококклар груҳи А S. pneumoniae	Пазухлардан олинган суюқлик
Ўрта кулоқ отити	S. pneumoniae	Тимпаноцентездан
Ревматик атакалар	Стрептококклар груҳи А	Томоқдан суртма ва қон
Ўткир гломерулонефрит	Стрептококклар груҳи А	Томоқдан суртма ва қон

Стрептококкларни классификация қилинишида уларни турли хусусиятлари асос қилиб олинган, лекин амалиётда кенг қўланилаётган классификация

Р.Лэнсфелд таклиф қилган классификация ҳисобланади. Бу классификация стрептококкларни ҳужайра девори полисахарид антигени таркибига кўра 20 серологик гуруҳларга ажратади. Улар латин алифбосидаги А дан V гача бўлган ҳарфлар билан белгиланади.

Патоген стрептококкларнинг кўпчилиги А серологик гуруҳга мансуб. Патоген тури *S. piogenes*. Қолган гуруҳларидан В группаси вакили *S. agalactiae*. D гуруҳи вакили *S. fecalis* амалиётда аҳамиятга кўпроқ эга. Қолган вакиллари шартли патоген ҳисобланади (жадвал 39). Стрептококклар келтириб чиқарувчи касалликларни бактериологик диагностикаси схемада келтирилган.

**Бактериологик текширув.1-кун.**Текшириладиган материал Петри косачасидаги қонли, зардобли, қандли агарларга ва экилади ва материал (тампон) қандли булонда қолдирилади. 37°С да 24 соат давомида термостатда сақланади.

Жадвал 40

Энтерококкларни пиоген стрептококклардан фарқи

Белги ва хусусиятлари+	<i>S. piogenes</i>	<i>S. fecalis</i>
Ҳаракатчанлиги	–	+
6,5 % NaCl муҳитда ўсиши	–	+
0,1 % метилин кўкки қўшилган муҳитда ўсиши	–	+
10 0 С ўсиши	–	+
450 С ўсиши	–	+
Ўт сапроли булонда ўсиши	–	+
Маннитни парчалаши++	–	+
Инулинни парчалаши	–	+
Сарбитни парчалаши	–	+
Гемолизин тутиши	α, β ва бош.	базида β

### 3- схема. А гуруҳ Стрептококкларни бактериологик текшириш

Текшириш учун материал: йиринг, қон, экссудат, балғам, томоқдан ва бурундан суртма, секцион материал ва бош.

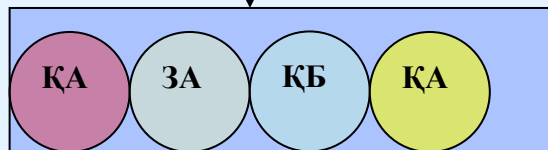
Бактериоскопик текширув

Бактериологик текширув

Гемокультура (сепсисда), ревматик лихорадка, гломерулонефритда қон зардобиди

Биринчи кун

Суртма, грам усулида бўйш, грам мусбат занжирсимон жойлашган кокклар топилса  
**Жавоб**



Серологик О-стрептолизинга АТ ни аниқлаш

ҚБ га экиш

Иккинчи кун

Суртма, Грам усулида бўйш

Каталаза пробаси (-)

ҚБ га экиш (соф культурда)

Колонияларни характери, гемолиз ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) ҳосил қилиши

Суртма, Грам усулида бўйш мусбат бўлса ҚА экиш.

Учинчи кун

ГПБ, рН= 9,2 (-)

ЎС мухит (-)

МКҚС мухит (-)

Фибринолизин (+)

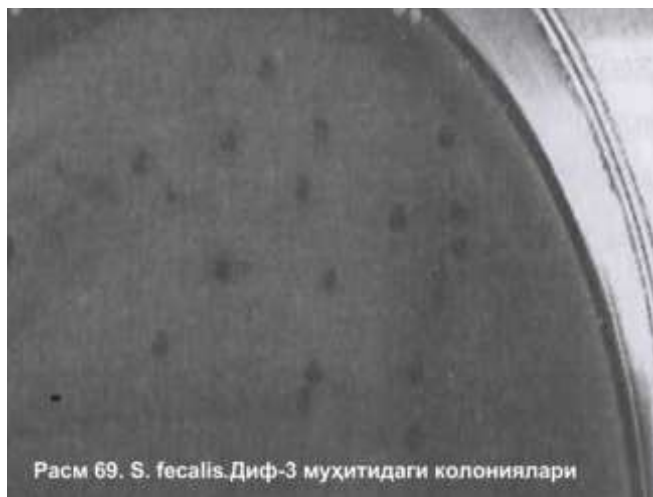
Антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш

Бактрацинга сезгирлиги аниқлаш (99% сезгир) (+)

Зарур бўлса Лэнсфилд бўйича сероидентификация

**Якуний жавоб**

**2- кун.** Қонли агарда *Str. pyogenes* уч ҳил колониялар ҳосил қилади: биринчи типи каттароқ, ялтироқ, сал чўзилувчан, сув томчисини эслатади (янги ажратиб олинган изолятларида), кўпроқ майда, тўғноғич бошчасидек келадиган хирароқ,, қирралари нотекис, шарсимон колониялар (янги ажратиб олинган М-Аг тутувчи изолятларига хос) ҳосил қилади. Қаварик,

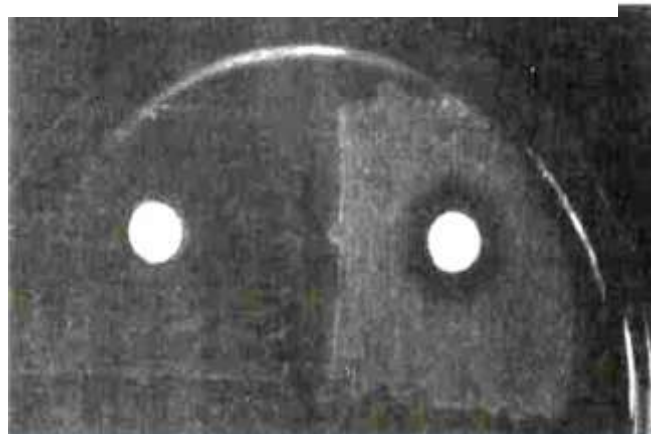


Расм 69. *S. fecalis*. Диф-3 муҳитидаги колониялари

тиниқ 0,1 -0,3 мм диаметри колонияли изолятлар вирулент лаборатория штамларига хос бўлади. Энтерококклар эса озиқли муҳитларга талабчан эмас, қонли агарда 18-24 соатдан сўнг 0,4-1,0 мм диаметри, кулранга мойил колониялар ҳосил қилади.

Энтерококклар учун селектив-дифференциал Диф-3, Диф-5 муҳитлари ҳисобланади. Диф-3, Диф-5 муҳитлари таркибида теллурит калий сақлайди. Энтерококклар теллуритни қайтаргани учун колониялари қора ранга киради (расм 69). Стрептококкларнинг бошқа турлари теллуритни қайтармайди ва колониялари рангсиз бўлади.

Стрептококклар, стафилококклардан фарқли равишда бульонда доначалар ва парча-парча чўкмалар ҳосил қилди. *Str. pyogenes* пробирка деворига ёпишган ҳолда ўсади, пробиркадаги муҳит эса, тиниқ, бўлади, энтерококклар эса бульони лойқатиб ўсади.



Расм 70. Стрептококкларни бацитринга сезирлигини аниқлаш тести. А гуруҳга кирувчи стрептококклар (унгда). В гуруҳга кирувчи стрептококклар (чапда). Бацитрин диски атрофида А гуруҳи стрептококкларнинг кўпайиши тўхтаган зона кўриниб турибди.

Стрептококклар гемолитик хусусиятлари бўйича ҳам бир-бирларидан фарқлана. Қонли агардаги стрептококклар гемолиз қилишига кўра 3 гуруҳга: 1) ногемолитик; 2)  $\alpha$ - гемолитик ёки қисман яшил гемолиз доирасини ҳосил қилувчи; 3)  $\beta$ -гемолитик, колония атрофида тўлиқ, тиниқ

гемолиз доирасини ҳосил қилувчиларга бўлинади. *Str. pyogenes* асосан β-гемолиз, колония атрофида яққол, тиниқ ва микроб колонияси размеридан бир неча мартаба катта бўлади. Энтерококклар тўлиқ бўлмаган (5-15% изолятлари) гемолиз бериши мумкин. Кўпчилик стрептококклар α-гемолитик деб аталади, гемолиз зонаси яшил рангда бўлади, чунки улар гемоглобинни метгемоглобинга айлантиради. Шунинг учун уларни яшил стрептококклар ҳам деб (*S. veridans*) аталади, юқори нафас йўлларида кўп учрайди. Биринчи куни стрептококкларни стафилококклардан фарқлаш учун каталаза тести қўйилади (расм 28). Стрептококклар каталаза манфий ҳисобланади.

Колониянинг бир қисмидан суртма тайёрлаб, Грам усулида бўяб, микроскоп остида кўрилади. Соф культурасини ажратиш учун 2—3 та шубҳали колониядан олиб, пробиркалардаги қандли бульонларга экилади.

**3-кун.** Стрептококк авлоди вакиллари бир бирларидан фарқлашниш хусуси-ятларини аниқлаш учун дифференциал диагностик муҳитларга экмалар экилади (жадвал 40) ва идентификация қилинади.

Стрептококкларни бацитрацинга сезгирлигини аниқлаш. *Str. pyogenes* бошқа стрептококклардан фарқланиб унинг 99% изолятлари бацитрацинга сезгир ҳисобланади. Стрептококк культураси газон усулида экилиб, культура устига бацитрацин шимдирилган қоғозли диск қўйилади. Стрептококк сезгир бўлса диск атрофида стрептококкнинг ўсиши тормозланади (расм 70).

*Str. pyogenes* ни энтерококклардан фарқлашда жадвалда келтирилган тестлар қўйилади. Ўт сафро қўшилган муҳит *Str. pyogenes* ни ўсишини ингибиция қилади, энтерококклар эса яхши ўсади. 6,5% NaCl қўшилган муҳитга *Str. pyogenes* лабил ҳисобланади, энтерококкларда бундай хусусиятга эга эмас. Бундан ташқари сезгир тестлардан яна бири лакмусланган сутни



энтерококклар томонидан рангсизлантириши. Энтерококклар ишқорий хусусиятли сутни нордон томонга суради, бунинг натижасида лакмус реагенти 0.1% метилен кўки) қўшилган сут оқариб рангсизланади. *Str. ruogenes* сут рангини ўзгартирмайди (расм 71). Бактериологик текширувларнинг яқунловчи босқичида ажратиб олинган культуранинг антигенлик хусусиятига асосланиб идентификация қилинади. Шу хусусиятига кўра барча стрептококклар серологик группаларга (А, В, С, D ва х.к) бўлинади.

Стрептококкларнинг серогруппаларини текширилувчи культурадани олинган полисахарид преципитоген С ва зардоблар (асосан кенг тарқалган А, В, С ва D серогруппа зардоблари) билан преципитация реакциясини қўйиб аниқланади. Одам учун патоген бўлган кўпчилик β-гемолитик стрептококклар А-серологик группага киради. Протеиндан ташкил топган типларга хос антигенларнинг миқдори β-гемолитик стрептококклар бир қанча сероварларга бўлинади, улардан 47 таси А группага киради. Стрептококклар серовари агглютинация реакцияси ёрдамида аниқланади. Кенг миқёсда серологик текширишлар ва стрептококкларнинг типини аниқлаш асосан эпидемиологик жиҳатдан аҳамиятга эга бўлган текширувларда ўтказилади.

Ажратиб олинган стрептококк культурасининг антибиотикларга сезувчанлиги диск усули билан аниқланади.

Сепсисга шубҳаланганда бемор қони қандли бульонга экилади ва тоза культураси ажратиб (стафилококкларга ўхшаш) олинади.

**Серодиагностика.** Стрептококкли инфекцияларнинг баъзи нозологик турларида КБР ёки преципитация реакциялари ёрдамида бемор қонидаги специфик антителолар аниқланади. О-стрептолизинга қарши антитело асосан ревматизм диагнозини тасдиқлаш учун текширилади. Реакция, агар бемор қонида О-стрептолизинга қарши антителолар бўлса, уларнинг аниқлаш О-стрептолизиннинг эритроцитларни эритиш хусусиятини нейтраллашига асосланган. Реакция стандарт, қуритилган О-стрептолизин билан қўйилади.

Ҳозирги кунда О-стрептолизинга қарши антителоларни аниқлашни ИФУ ишлаб чиқарилган.

**Дик реакцияси.** Скарлатинадан олинган стрептококкларнинг эритроген токсинига қарши антитоксинли антителани аниқлашда қўлланилади. Дик токсини биланнинг олд қисми соҳасидаги тери орасига юборилади ва 24-соатдан сўнг маҳаллий яллиғланиш реакциясига асосланиб натижаси натижаланади. Мусбат Дик реакцияси скарлатинага қарши антитоксинли иммунитет йўқлигидан дарак беради, аксинча реакция манфий бўлса, иммунитет борлиги маълум бўлади, чунки юборилган токсин организмда ҳосил бўлган антитоксин билан нейтралланади.

**Стафилококк ва стрептококк юқумли касалликлари диагностикаси, профилактикаси ва даволашда ишлатиладиган препаратлар**

**Стафилококк анатоксини** (тозаланган ва шимдирилган) натив анатоксинни уч хлор сирка кислотаси билан чўктириб, сўнгра этил спирти билан қўшимча тозалаш ва алюмин гидроксидига шимдириш орқали олинади. У юқори иммуногенли хусусиятга эгадир. Анатоксин стафилококкли инфекцияларнинг (юқиш ҳавфи бўлган кишилар — хомиладор аёллар ва янги туғилган чақалоқлар, айрим корхоналарда хизмат қилувчилар) олдини олиш учун эмлашда ҳамда стафилококк касалликларини даволаш мақсадида қўлланилади.

**Стафилококк вакцинаси** тилла рангли коагулаза мусбат стафилококкнинг қиздириш йўли билан активлиги йўқотилган суспензиясидан иборат препаратдир. Бу препарат узоқ, ва сушт кечувчи стафилококк касалликларини даволаш мақсадида, актив эмлашда қўлланилади. Кўпинча аутовакцина ҳам ишлатилади

**Стафилококк антифагини:** патоген стафилококклар культурасидан олинган, 100°С да қиздирилиб, бактериал филтрдан ўтказилган экстракт таркибида температурага чидамли бўлган стафилококк антигенларини сақлайди. Стафилококк касалликларини специфик даволашда фойдаланилади.

**Стафилококкга қарши одам иммунглобулини.** Стафилококк антитоксинга эга бўлган қон зардобининг гаммаглобулин фракциясидан иборат препаратдир. У стафилококк анатоксини билан эмланган, юқори титрда антителолар тутган донорлар ёки одамлар қонидан тайёрланади. Стафилококк иммунглобулини стафилококк касалликларини специфик даволашда қўлланилади.

**Суяқ ҳолдаги стафилококк бактериофаги.** Стафилококкнинг фаглар ёрдамида эритиб олинган фильтратидан иборат. Стафилококк касалликларини даволаш мақсадида тери ва мускуллар орасига юборилади ёки сиртдан қўлланилади.

Диагноз қўйишда қўлланилувчи стафилококк фаглари. Стафилококклар фаготипини аниқлашда типга хос фаглардан иборат бўлган тўплам.

**Дик токсини.** Пиоген стрептококклардан тоза ҳолда ажратиб олинган эритроген токсин. Препаратнинг активлиги терига таъсир кўрсатувчи дозалар билан белгиланади. Болаларда токсинга қарши иммунитет мавжудлигини аниқлаш мақсадида, тери орасига юбориб аниқланадиган Дик синамаси қўлланилади.

**Стрептококк бактериофаги (суяқ.).** Стрептококк фаголизатининг фильтрати. Сиртдан тери, мускул орасига юборилиб, стрептококк касалликларини даволашда қўлланилади..

**Қуруқ ҳолдаги О-стрептолизин.** О-стрептолизинини актив ишлаб чиқарувчи стрептококк бульонли культурасининг лиофил усулда қуритилган фильтрати. У серологик реакциялар қўйишда стрептококк инфекциялари булган бемор қон зардобиди (кўпинча ревматизмда) анти-О-стрептолизинни аниқлашда қўлланилади.

Стафилококк ва стрептококклар билан бир қаторда йирингли яллиғланиш касалликларини грам манфий таёқчалар (*P. aeruginosa*, *E. coli* *Proteus* ва бош.) ва спора ҳосил қилмайдиган анаэроб (*Peptococcus* sp. *Peptostreptococcus* sp. *Bacterioides* sp. *Veillonella* sp.) бактериялар ҳам келтириб чиқаради.



### **Кўк яшил йиринг таёқчаси юқумли касаллиги кўзгатувчисини бактериологик диагностикаси.**

Бу бактериялар Pseudomonadaceae оиласига Pseudomons авлодига киради. Буларни кўпчилиги ташқи муҳитда яшайди, тибий аҳамиятга (*P. aeruginosa*, *P. mallei*, *P. pseudomallei*) лар молик. Булардан *P. aeruginosa* энг кўп касаллик келтириб чиқаради. Кўк яшил йиринг таёқчаси бошқа грам манфий ичак гуруҳи бактерияларидан физиологик хусусиятлари билан фарқ қилади, аниқроғи улар углеводларни парчалайди, лекин улардан энергия сифатида фойдаланмайди, чунки углеводларни улар ферментация қилмайди, балки оксидлаш орқали парчалайди. Шунинг учун бу бактерияларни ферментация қилмайдиган (неферментирующие) бактериялар деб аталади. Булардан фарқланиб ичак группа бактериялари (хаммаси грам манфий) углеводларни ферментация қилади, оксидлаб парчаламайди. Бактерияларни бу хусусиятини Хью-Лейфсон тести орқали осон аниқланади. Хью-Лейфсон тести бактериялар углеводларни ферментация ёки оксидлаш йўли билан парчалашини аниқлаб беради. Бунинг учун глюкозали баланд устунли муҳитга текшириляётган культура укол қилиб экилади. Биринчи пробирка анаэроб шароитда, иккинчиси эса аэроб шароитда ўстирилади. *P. aeruginosa* глюкозани фақат аэроб шароитда оксидлаб (кислород иштирокида) парчалайди, анаэроб шароитда парчаламайди, яъни ферментация қилмайди. Ичак группа бактериялари углеводни ферментация қилганлиги учун анаэроб шароитда ҳам парчалайди. Бу тест бу гуруҳ бактерияларни бир-биридан фарқлашда ишлатилади.

### ***Pseudomonas aeruginosa* (кўк яшил йиринг таёқчаси) бактерия культурасини ажратиб олиш.**

Кўк яшил йиринг таёқчаси озиқли муҳитларга талабчан эмас, оддий муҳитларда яхши ўсади. Ўсиш диапазони 2-42°C бўлади. Шунинг учун ташқи муҳитда узоқ сақланади, одам организмнинг юқори температураси ҳам таъсир қилмайди. Ўзига хос хусусиятларидан яна бири озиқли

муҳитларга бўлган минимал чегараланганлиги бўлиб, озиқли муҳитлар умуман бўлмай қолганда ҳам ўзини ҳаёт фаолиятини йўқотмайди.

1-кун. Патологик материаллар (йиринг, экссудат, балғам, сийдик, қон ва бош.) қонли ва НА экилади. Қондан ажратиб олиш стафилококк ва стрептококклардан фарқ қилмайди. Экмалар 37°C да бир сутка давомида термостатга қўйилади.

2-кун. *Pseudomonas aeruginosa* қонли ва НА яхши ўсади ва “шиллик” ҳосил қилади, вирулент изолятларини хусусияти ҳисобланади, бу эса бульонни ва колонияларини шилимшиқ бўлишига олиб келади. *P. aeruginosa* таёқчалари юмалок, ясси, шилимшиқ ҳолдаги кўк-яшил пигментли колониялар (S-колония) ҳосил қилади. Баъзи ҳолларда *P. aeruginosa* кирралари тўлқинсимон, юзаси нотекис (маргаритки) колониялар ҳосил қилади. Пигмент ҳосил қилиши муҳим диагностик аҳамиятга эга бўлиб, пигменти бактерияни колониялари бўйлаб агарга тарқалади. Агарни ранги, беморлардаги боғловчи материаллар шу пигмент рангига кўк яшил рангга киради, таёқчани номи ҳам шундан келиб чиқган.

Колониядан олиб тайёрланган натив — «осилган» ёки «эзилган» томчи препаратлар микроскоп остида кўрилганда ҳаракатчан, бироз букилган, Грам усули бўйича бўялган суртмада грамманфий таёқчалар кўринади. Ажратиб олинган соф культураларнинг турини аниқлаш учун уларнинг биокимёвий белгилари бўйича солиштириб кўрилади. Биокимёвий хемоорганотроф қабтий аэроб каталаза мусбат. Бошқа аэроблар сингари цитохромоксидаза синтез қилади ва оксидазани аниқлаш, ичак гуруҳи бактерияларидан идентификация қилишда асосий тест бўлиб хизмат қилади. Сахаролитик хусусияти ўта суст фақат глюкозани оксидлаши мумкин. Лекин, протеолитик активлиги ўта юқори. Бактерия желатинани емиради, тўғнатиш қон зардобини эритиб юборади, казеинни гидролиз қилади ва кўпчилик штамлари ҚА β-гемолиз беради. *P. aeruginosa*-нинг патоген штамлари оқсил табиатли токсинлар (экзотоксинлар) ҳосил қилади. Жумладан хужайрага таъсир қилиш хусусиятига эга бўлган гистотоксин ҳамда одам

лейкоцитларини эритувчи биологик синама ёрдамида аниқланиши мумкин бўлган — лейкоцидинлардир.

*P. aeruginosa* ўз ҳаёт фаолиятида пиоцинлар-бактериоцинлар синтез қилади. Бу моддалар грам мусбат, грам манфий бактерияларга бактериоцид, ҳамда сезиларли фунгоцит таъсирга ҳам эгадир.

*P. aeruginosa* яқунловчи ташхиси морфологик, культурал (характерли пигмент ҳосил қилиши), биокимёвий (оксидаза тести), углеводларни ферментламаслиги (глюкозани анаэроб шароитда парчаламайди Хью-Лейфсон тести) ва желатинани емириши ва бошқа хусусиятларига асосланиб берилади ва бошқа бактериялар сингари антибиотикларга сезгирлиги аниқланади.

Йирингли яллиғланишларни ичак гуруҳига мансуб бўлган бактериялар (*E.coli*, *Proteus sp.* ва бош.) ва спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар ҳам келтириб чиқаради.

**Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар келтириб чиқарган йирингли – яллиғланиш жараёнларининг микробиологик диагностикаси**

Турли хил йирингли-яллиғланиш жараёнларининг қўзғатувчилари бўлиб кўпинча спора ҳосил қилмайдиган, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* зотига кирувчи бактериялар ҳисобланади. Улар бир хил ва аралаш инфекцияларни ўзаро биргаликда, ҳамда аэроб бактериялар — *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *E. coli* лар ва кокклар билан ҳам касалликга сабаб бўлади.

Ушбу касалликларга микробиологик диагноз қўйишда бактериологик текширувлар асосан қатъий анаэроб шароитларда олиб борилади, чунки жуда оз миқдорда ҳаводаги кислород ҳам шу бактерияларнинг кўпайишига тўсқинлик қилади. Натижада улар озикли муҳитларда ўса олмайди.

Текширилувчи материаллар (йиринг, яра ва шишлардан ажралаётган суюқликлар) шприц ёрдамида, ҳавоси чиқариб юборилиб олинади. Сўнгра

шприц инерт газлар ( $N_2 + H_2$ ) билан  $CO_2$  аралашмали пробирканинг резина пробиркасига ўрнатилган игнага уланади ва унга текширилувчи материал юборилади. Юқорида келтирилган усул махсус лабораторияларда амалга оширилиши мумкин, кўпчилик ҳолларда патологик материал оддий, газсиз стерил пробиркаларда келтирилади. Кўпчилик мутахассисларни фикрича бемордан олинган патологик материал 1-2 соат ичида лабораторияга келтирилса мақсадга мувофиқ бўлади ва анаэробларни ажратиш олиш фойдасига унчалик таъсир қилмайди.

**Бактериологик текшириш.** Текширилувчи материаллар олдиндан тайёрланган БҚА (бактериоидлар учун қонли агар) ва ҚА агарларга экилади ва анаэроостатга қўйилади. Анаэроостатда махсус анаэробноз шароитини яратиш учун уч газ компонентидан (80% азот, 10% водород, 10% углевод оксиди) аралашмаси ёки табиий газ билан тўлдирилиши мумкин. Охириги йилларда анаэроостатда анаэробноз шароитини яратиш учун махсус чиқарилаётган газ пакетчаларидан фойдаланилмоқда (анаэроб бактерияларни ажратиш олиш усуллари бетда келтирилган).

**Бактероидлар учун қонли агар.** Таркиби: тиогликол кислота-34 гр, агар-36 гр, одам цитратли қони-50 мл, лизисланган қон-50 мл ва гемин-15 гр.

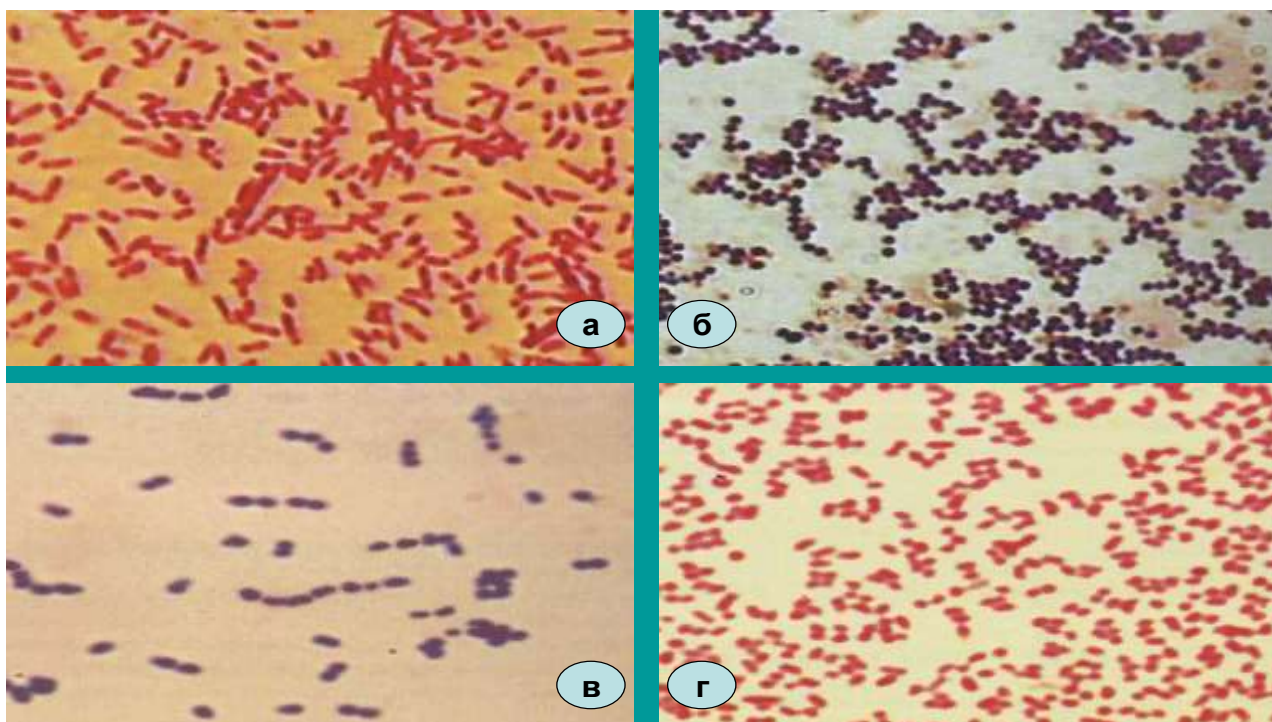
Тайёрлаш: 1 литр дистилланган сувга тиогликол кислота, агар қўшилиб, қайнатилади, филтрланади, автоклавда  $112 \pm 1^\circ C$   $30 \pm 1$  мин. Стерилизация қилинади. Сўнг совутилиб, унга одам цитратли қони, лизисланган қон ва гемин қўйилади ва яхшилаб аралаштирилиб, стерил Петри косачаларига қалин қилиб қуйилади. Бу муҳит кислород билан тўйиниб қолмаслиги учун олдин тайёрланиб қўйилган асосий муҳитга кейинги компонентлари (цитратли қон, лизисланган қон ва гемин) экишдан олдин қўшилиб керагича тайёрланилади.

Бундан ташқари бу бактерияларни ажратиш олишда классик усуллардан ҳам фойдаланиш мумкин. Яъни, текширилувчи материаллар қайнатилиб тайёрланган пробиркалардаги Китт-Тароцци ва ярим суюқ ҳолдаги тиогликолли агарга экилади.

Унинг таркибига ачитки экстракти, триптон, цистеин, натрий хлориди, тиогликол кислотаси, метилен кўки ва 0,75 % ли агар киради. Экмалар эксикатор ёки анаэроустатларга жойлаштирилиб уларни кислородсиз газли аралашма, палладийли катализатор билан тўлдирилади ва 37°C да 2-4—сутка давомида термостатга қўйилади.

Ўсиб чиққан бактерияларни культурал ва морфотинкториал хусусиятлари ўрганилади.

**Bacteroides** шартли патоген, асосан йўғон ичакнинг нормал микрофлораси, аёлларда генитал органда ҳам учрайди. Характерли тури *Bacteroides fragilis*, озиқли муҳитларга талабчан БҚА муҳитида кулранг, тўқ жигар ранг, қора колониялар ҳосил қилади. Шакли- грам манфий полиморф таёқча (расм 72а), спора ҳосил қилмайди, ҳаракатчан, каталаза мусбат.



Расм 72. Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб йирингли-яллиғланиш жараёнларининг кўзгатувчиларининг морфотинкториал хусусиятлари: а - *Bacteroides fragilis*; б - *Peptococcus niger*; в- *Peptostreptococcus anaerobius*; г- *Veillonella parvula*

**Veillonella** шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида яшайди. Характерли турлари 7 та улардан энг кўп *Veillonella parvula*, *V.atypica*.*V.dispar* учрайди. *Veillonella* қонли агарда яхши ўсади, колониялари майда рангсиз, гемолитик

хусусияти йўқ, грам манфий, қисқа занжирли коклар, ҳаракатсиз, капсула спора ҳосил қилмайди (расм 72г).

**Peptostreptococcus** шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида, юқори нафас йўлларида ва таносил органларида яшайди. *Peptostreptococcus* ларни 9 та тури учрайди. Ҳарактерли тури *P. anaerobius*. Турли тўқималарда йирингли касалликларни келтириб чиқаради. *Peptostreptococcus* лар қонли агарда яхши ўсади, сферик шаклдаги кокк, ўлчами 0.5-1,2 мкм, грам мусбат, суртмада жуфт-жуфт, йиғилган ёки занжирсимон бўлиб жойлашади, (расм 72в) ҳаракатсиз, капсула спора ҳосил қилмайди.

**Peptococcus** шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида ва урогенитал органларда яшайди. Фақат битта тури учрайди *Peptococcus niger*, сферик шаклдаги кокк, ўлчами 0.5-1,3 мкм, грам мусбат, суртмада жуфт-жуфт, йиғилган ёки қисқа занжирсимон бўлиб жойлашади, (расм 72б) ҳаракатсиз, капсула спора ҳосил қилмайди. Культурадан суртма тайёрланиб, Грам усуларда бўяб, микроскоп остида кўрилади.

Бактериоскопия культураларнинг бир ёки бир нечта турларга мансублигини аниқлаш имконини беради. Ҳужайралар морфологияси ва Грам усулида бўялиши эса уларнинг тахминан қайси зотга мансуб эканлигини аниқлашда ёрдам беради.

Ажратиб олинган культураларни уларга хос бўлган дифференциал белгилари асосида қатъий анаэроб шароитларда ўстириб (-жадвал)

Жадвал 41.

Спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроб бактерияларнинг дифференциал белгилари

Белгилари	<i>Bacteroides</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Peptococcus</i>
Бактерия ҳужайраларининг шакли ва жойлашиши	Майда полиморф таёқчалар	Қисқа занжирли коклар	Занжирсимон жойлашган коклар	Қисқа занжирсимон якка-якка жойлашган коклар

Ҳаракатчанлиги	±	-	-	-
Споралар	-	-	-	-
Грам усулида бўялиши	-	-	+	+
Карбон сувларни парчалаши	+	+	-	-
Сутни ивиши ёки пептонланиши	-	+	-	+
H <sup>2</sup> S ҳосил қилиши	±	-	-	-
Индол ҳосил қилиши	±	-	-	-
Желатинни суюлтириши	±	+	-	+
Нитратларни тиклаши	±	-	-	-
Эритроцитлар гемолизи	-	-	-	-
Токсин ҳосил қилиши	-	-	-	-

Шартли белгилар: + белги борлиги; – белги йўқлиги; ± белги доимий эмаслиги; х- кучсиз парчалаши.

идентификация қилинади. Антибиотикларга сезгирликлари ҳам қатъий анаэроб шароитларда ўстириб ўрганилади.

## **Мавзу 21. Жароҳат анаэроб инфекциялар: газли гангрена, қоқшол қўзғатувчилари**

### **Машгулот режаси**

1. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологик диагностика схемасини ўрганиш.
2. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологик диагностикасида қўлланиладиган бактериологик, бактериоскопик ва серологик усуллар.
3. Диагностика, профилактика ва даволаш препаратлари.

### **Намойиш қилиш**

1. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологик диагностикасида қўлланиладиган озикли муҳитлар, аппаратлар.
2. Анаэроб инфекциялар, газли гангрена, қоқшол қўзғатувчиларидан тайёрланган тайёр суртмалар.
3. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг морфологиясига, культурал хусусиятларига, микробиологик диагностикасига бағишланган рангли расмлар, схемалар, видеороликлар.
4. Жароҳатдан ажратиб олинган суяқликдаги перфрингенс токсинини лецитовителлаза синамаси ёрдамида аниқлаш.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1. Жароҳат анаэроб инфекцияларига (газли гангрена) шубҳаланган бемор ярасидан ажралган суяқликни Китт-Тароцци муҳитига экилган, экмани натижасини баҳолаш.
  - ўсиш характерини тасвирлаш;
  - Грам ва Циль-Нильсен усулида бўялган препаратда морфологиясини ўрганиш.
  - олинган натижалар асосида дастлабки хулоса чиқариш ва ўтказиладиган текширув режаларини тузиш.
2. Китт-Тароцци муҳитига экилган боғлов материали натижасини баҳолаш.
  - ўсиш характерини тасвирлаш.
  - Грам усулида бўялган препаратда морфологиясини ўрганиш.
  - бактериологик лабораторияда олинган бактериоскопик, бактериологик, биокимёвий ва бошқа маълумотлар асосида жароҳат анаэроб инфекциялар тўғрисида яқунловчи хулосалар чиқариш.

Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг қўзғатувчилари BACILLACEAE оиласи, CLOSTRIDIUM уруғига мансуб бўлиб табиатда кенг тарқалган, одам ва ҳайвонлар йўғон ичагида учрайди. Ташқи муҳитга нажас билан тушади, улар спора ҳосил қилади, спораси кўпроқ терминал ва субтерминал жойлашади. Шунинг учун уларни кўриниши дуксимон бўлади (лот. clostridium- дук), номи ҳам шундан келиб чиққан. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг қўзғатувчилари Clostridium авлодига киради. Бу зотга Cl. perfringens, Cl. novyi, Cl. septicum, Cl. sordellii, Cl. histolyticum, C. Difficile, C. tetani C. botulinum лар киради. Булардан Cl. perfringens, Cl. novyi, Cl. septicum, Cl. sordellii, Cl. histolyticum, C. difficile газли гангрена касалликларини, Cl.tetani қоқшол касаллигини ва C. botulinum овқатдан захарланиш токсикоинфекцияни келтириб чиқаради.

#### **Газли гангрена жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси.**

Асосан касалликни 90% ни Cl. perfringens келтириб чиқаради (жадвал 42) Қолган турлари ичида Cl. novyi, Cl. septicum кўпроқ касалликларда рол ўйнайди. Қўзғатувчи жароҳатга таркибида кластридий споралари бўлган тупроқ, ёки чанг тушганда юқади. Касалликни фақат битта газли гангрена қўзғатувчилари келтириб чиқариши камдан- кам ҳолларда учрайди. Асосан анаэроб жароҳат инфекцияларида кластридийлар билан биргаликда стафилококклар, кўк-йиринг таёқчаси, протей ва бошқа кластридий бўлмаган анаэроб бактериялар ҳам иштирок этиб, касаллик кечишини бирмунча оғирлаштиради.

**Бактериоскопик текширув.** Шиш суюқликлари ёки некроз тўкимасидан олиб тайёрланган суртмаларни Грам ва Гинс усулларида бўяб микроскоп остида кўриш йули орқали ўтказилади. Препаратларда йирик (1 — 1,5 x 3—10 мкм) граммусбат таёқчаларнинг борлиги (расм 72a), ҳамда улардан бир қисмининг (Cl. perfringens) капсула ҳосил қилиши дастлабки диагноз қўйиш имконини беради.



Газли гангрена кўзгатувчиси *Cl.perfrenens* нинг асосий биологик белги ва хусусиятлари

МОРФОЛОГИЯСИ	ЎСИШИ	ФЕРМЕНТАТИВ ХУСУСИЯТИ	ТОКСИН	АНТИГЕН ТУЗИЛИШИ	ПАТОГЕНЕЗИ	ИММУНИТЕТ	ЛАБ. ДИАГ.
Гр (+), тўғри таёқча, спора ҳосил қилади, субтерминал жойлашади. Характсиз. Капсула ҳосил қилади.	Қатъий анаэроб. рН 7.2-7.4 бўлган озик муҳитларида R- ва M колониялар ҳосил қилиб ўсади. Вильсон-Блеер муҳитида эса 1-3 соатда қора колониялар ҳосил қилиб ўсади. Қонли агарда олдин силлик, кейинчалик ғадир –будир колониялар ҳосил қилиб ўсади.	Қандларни кислота ва газ ҳосил қилиб парчалайди. Желатинани суюлтиради. Сутни тез ивитади. Нитратни нитритга қайтаради, индол ҳосил қилади.	экзотоксин ажратади: 1. α-гемолизин 2. β-некротоксин 3.нейротоксин 4.энтеротоксин	А, В, С, Д, Е, F серологик вариантларга бўлинади. А-одам ичаги НМга киради қонга тушса. Д- энтеротоксиемия одам ва ҳайвонларда, Е-некротик энтерит ва В ва С гуруҳлари асосан ҳайвонларда касаллик келтириб чиқаради. F тури яхши ўрганилмаган.	Жараҳат билан тушган микроб спораси, яралинг чуқур қисмида вегетатив формага айланади ва турли хил токсинлар ва ферментлар ишлаб чиқаради. Бу моддалар мускул ва тўқималарни парчалайди ва чиритади.	Кучли иммунитет ҳосил бўлмайди. Антитоксик антителолар организмни маълум вақтгача ҳимоя қилиши мумкин.	Бактериоскопик Бактериологик Серологик Биологик
							<b>Даволаш ва профилактикаси</b>
							Поливалент антитоксик зардоб қўлланилади. «Диаферм-3» Кислород терапия усулидан ҳам фойдаланилади. Махсус профилактикаси йук!

**Бактериологик текшириш. 1-кун.** Текширилувчи материал Китт-Тароцци солинган иккита пробиркага, сут солинган иккита пробиркага ва темир сульфитли агарга (Вильсон-Блэр мухити) экилади. Китт-Тароцци мухити ва сут солинган икки пробирканинг бири ёт бактерияларнинг вегетатив формаларини йўқотиш учун 80°C да 20 минут давомида сув хаммомида қиздирилади.

**2-кун.** Сутга экилганда 3—4 соатдан сўнг таркибида кўпиксимон газ пуфакчалари ва ажралаётган тиниқ сут зардобидан иборат булутсимон куйқа ҳосил бўлади. Келгуси суткаларда Китт-Тароцци мухитида лойқаланиш ва газ ҳосил бўлади, Вильсон — Блэр мухитли агарда эса, бироз кечроқ агар устунчасининг пастки қисмида қора колониялар пайдо бўлади ва пробиркадаги устунчали мухит қораяди ( $\text{Na}_2\text{S}$  ва  $\text{FeCl}_3$  дан темир сульфид ва  $\text{CO}_2$  ҳосил бўлади), мухит четлари кесилиб, ёрилади (расм 73б)



Расм 73. Анаэроб жароҳат касаллик кўзгатувчилари. а - *Cl. perfringens* ни тоза культураси, грам усулида бўялган; б- Вильсон - Блэр мухитли агарда *Cl. Perfringens* ўстириган, мухит қорайган четлари кесилиб, ёрилган (юқорисида); в-қоқшолнинг классик кўриниши

Клостридийларнинг бошқа тур культураларини ажратишда ниҳоятда қатъий анаэроб шароитлар яратиш талаб қилинади.

Барча ажратиб олинган культуралардан суртмалар тайёрланиб, Грам усулида бўялади ва микроскоп остида кўрилади.

Ижобий натижаларда йирик граммусбат *Cl, perfringens* таёкчалари суртмаларда кўрилади.

Соф культураларни ажратиб олиш учун Петри косачасидаги қанд, қон қўшилган ва тухум сариғи қўшилган агарларга экилиб, 37°C да 2-3 кун давомида қатъий анаэроб шароитда ўстирилади. Ўсган колониялар пробиркалардаги Китт-Тароцци муҳитларига қайта экилади.

Соф культура қўзғатувчиларнинг биокимёвий белгилар асосида идентификация қилинади.

**Токсигенлигини биопробада аниқлаш.** Китт-Тароцци муҳитида ўстирилган, текширилувчи культуранинг токсигенлик хусусиятини аниқлаш учун муҳит центрифугада айлантирилади, чўкманинг устки қисмидаги суюқлик олиниб денгиз чучқачаларига ёки оқ сичқонлар қорин бўшлиғига юборилади, ижобий натижада токсинлар таъсирида улар ҳалок бўлади. Шу мақсадда патологик материаллар оқ сичқонлар ёки денгиз чучқачаларининг мускуллари орасига ёки қорин бўшлиғига юбориб текшириш мумкин. Анаэроблар бўлса, инъекция қилинган ҳайвонларда анаэроб инфекциянинг юқорида тасвирлаб ўтилган манзараси пайдо бўлади.

Лецитиназани аниқлаш. Ажратиб олинган культура таркибидаги *Cl. perfringens* токсинини тезда аниқлаш учун унинг лецитиназа активлиги текширилади. Бунинг учун текширилаётган культура олиниб тухум сариғи қўшилган Петри косачасидаги муҳитни ярмига экилади, қолган ярмига экилган культурага махсус антизардоб эҳтиётлик билан қаватлантирилади. Биринчи ярмига экилган зонада  $\alpha$ -токсин (лецитиназа) ҳосил бўлса қўзга кўринадиган булутсимон преципитат ҳосил бўлади, иккинчи ярмида эса антитоксин зардоб  $\alpha$ -токсинни ингибиция қилганлиги учун преципитат ҳосил бўлмайди.

## Патоген анаэроблар – газли гангрена қўзғатувчиларининг характеристикаси

Микроб турлари	Харакатчанлиги	Ҳайвонлар устидаги тажрибалар	Культурал хусусиятлари		Сутда ўсиши	Углеводларни ферментация килиши					
			Қонли агарда	Устунчали агарда		глюкоза	лактоза	маннит	сахароза	мальтоза	глицерин
<i>Cl. perfringens</i>	–	Классик газли гангрена	R-форма, сершира кулрангнамо колониялар, гемолиз зонаси бўлади. Колониялар ранги кейин ўзгариб яшилнамо бўлиб қолади,	Характерли дисклар, пахта бўлаги кўринишида	Зўр бериб ивитади	+	+	–	+	+	+
<i>Cl. novyi</i>	+	Лиқилдоксимон-серозли шиш	Четлари кертилган ва гемолиз зонаси булган гадир-будур кулранг колониялар	Ўртаси зич бўлиб турган пахта бўлаги кўринишида	Аста секин ивитади	+	–	–	–	+	+
<i>Cl. septicum</i>	+	Серозли қонли шиш	Нозик тўрга ўхшаб ўсади, гемолиз зонаси бўлади.	Пахта бўлаги кўринишида	Бу ҳам шундай	+	+	–	–	+	–
<i>Cl. histolyticum</i>	+	Тўқиманинг эриши кузатилади	Майда-майда силлик, колониялар, гемолиз зонаси бўлмайди	Нотўғри шаклли зич пахмоқ колониялар	Пептонларгача тез парчалайди	–	–	–	–	–	–

Ҳар турдаги клостридийларнинг токсинлари турли антигенлик хусусиятларига эга. Шунинг учун уларни серологик усулда идентификация қилиш лаборатория ҳайвонларида нейтраллаш реакциясига асосланган ҳолда олиб борилади.

Нейтрализация реакцияси орқали газли гангрена қўзғатувчиларини турини аниқлаш. Бунинг учун қўзғатувчиларни бульонли культурасининг филтрати пробиркаларга қуйилиб, турга хос антитоксик антиперфрингенс, антинови антисептикум ва ҳоказо зардоблар қўшилади. Уй температурасидаги термостатда 30—40 минут сақланади, сўнгра ҳайвон венасига юборилади. Қўзғатувчи турига мос келадиган зардоб қайси ҳайвонга юборилган бўлса, ўша ҳайвон тирик қолади. Токсин нейтралланмаган ҳайвонлар 30 минутдан 4 соат ичида ҳалок бўлади.

#### **Қоқшолни бактериологик диагностикаси**

Қоқшол қўзғатувчиси *Cl. tetani* (расм 72в) одам организмига шикастланган тери юзаси ва жароҳат, яра орқали, аёлларда аборт қилинганда, янги туғилган болаларда эса, киндик яралари орқали ўтиши мумкин.

Аёлларда қоқшолга шубҳаланган ҳолларда уларнинг жинсий аъзолари шиллик қаватидан ва абортдан сўнг бачадондан ажралаётган суюқликлар олиб текширилади.

Инфекциянинг клиник манзараси типик бўлганлиги учун қоқшолда лаборатория текшируви камдан-кам ўтказилади. Асосан профилактик ва шубҳали ҳолларда олиб борилади.

Шубҳали ҳолларда жароҳатдан чиққан йиринг, мускул туқимасидан кесиб олинган булакчалар, аёлларда қоқшолга шубҳаланган ҳолларда уларнинг жинсий аъзолари шиллик қаватидан ва абортдан сўнг бачадондан ажралаётган суюқликлар ва мурдани ёриб олинган материал текшириб кўрилади. Текшириш йўли газли гангренада ўтказиладиган текшириш билан бир хил.

Тез диагноз қўйиш учун флюорохром билан нишонланган антизардоб ёрдамида иммунофлюоресценция реакцияси ва текшириладиган

материалда қоқшол токсинини топиш учун биопроба қўйилади.

**Биосинама қўйиш.** Биосинама қоқшол касаллигининг лаборатория диагнозини аниқлашда асосий усул ҳисобланади ва текширилувчи материалда қоқшол микробининг токсинини аниқлаш учун ишлатилади. Бунинг учун материал ҳовончада эзилиб, физиологик эритма қўшилади, 1 соат мобайнида сақланиб қўйилади, филтрланади. Филтрат иккита оқ сичқон орқа оёғининг сонидаги мускуллар орасига юборилади; яна иккита бошқа (контрол) сичқонга филтрат қоқшолга қарши антитоксик зардоб билан бирга юборилади. Текшириладиган материалда токсин бўлса, тажриба сичқонлари юқорига кўтарилиб борувчи типик қоқшол манзараси билан 2—4 сутка давомида ўлиб қолади. Контрол сичқонлар тирик қолади, чунки анатоксин таъсирида токсиннинг нейтралланиш реакцияси бўлиб ўтади.

Бактериологик текширув. 1 – кун. Текширилувчи материал Китт-Тароцци муҳитига экилиб, анаэроб шароитларда 37°С да 3—4 сутка давомида ўстирилади.

2 кун. *C. tetani* бактерияларнинг чўкма ҳолда ўсганлиги кузатилади. Материалдан суртма тайёрланиб грам усулида бўяб микроскопда кўрилади. Сўнгра улар Петри косачасидаги қанд, қон қўшилган агарга ва пробиркадаги қанд қўшилган озиқли агар устунчасига қайта экилади. Экмалар анаэроб шароитларда инкубация қилинади.

3-кун. Қоқшол таёқчалари қонли агар сатҳида нозик, тиник, атрофида бироз гемолиз ҳалқаси бўлган колонияларни ҳосил қилади. Бактериоскопик текширув яна ўтказилади.

Шубҳали колониялардан соф культура ажратиб олиш учун улар пробиркалардаги Китт-Тароцци муҳитларига қайта экилади ва вазелин

## Патоген анаэроблар - қоқшол қўзғатувчисининг характеристикаси

МОРФОЛОГИЯСИ	ЎСИШИ	ФЕРМЕНТАТИВ ХУСУСИЯТИ	ТОКСИН	АНТИГЕН ТУЗИЛИШИ	ПАТОГЕ-НЕЗИ	ИММУНИТЕТИ	ЛАБ.ДИАГ.
Гр (+), туғри таёкча, хужайра ўртаси ва четларида киритмалар жойлашган. Спораси бактерия учуда терминал жойлашади. Перитрих, капсула ҳосил қилмайди.	Қатъий анаэроб. рН 7.0-7.9 бўлган қандли, қонли агарда нозик парда, айримлари R-колониялар ҳосил қилиб ўсади. Агар устунчасига экканимизда ясмиққа ўхшаш R-колония ҳосил қилади. Китт-Тароцци муҳитида бир хил қуйқа ҳосил қилиб ўсади.	Қандларни парчаламайди. Нитратларни нитритларга қайтаради. Желатинани секин суюлтиради. Сутни аста-секин ивитади. Фибринларни эритади.	Жуда кучли экзотоксин ажратади: 1.тетанализин 2.тетанаспазмин Касаллик патогенизида асосий ролни тетаноспазмин ўйнайди. ТС синепслардаги тормозловчи нейромедиаторларни ажралишини тўхтатиб қўяди. Натижада ҳар қандай импульслар КТ мускулларни кучли қисқартиради.	О-, К-, Н-антигенларига эга. 10 та серологик варианты мавжуд. О-антигени бўйича серологик вариантларга бўлинади.	От ва қорамоллар касалланади. Касаллик манбаи ҳайвон ва одамлар. Шикастланган тери орқали юқади. Нерв системасини зарарлайди. Ўлим ҳолати 35-70%ни ташкил қилади.	Антитоксик кучсиз иммунитет ҳосил бўлади.	Бактериоскопик Бактериологик Серологик Биологик
							<b>Даволаш ва профилактик аси</b>
							Вакциналар: АҚДС ва АДС-М Даволаш-антитоксик қон зардоби, отларни эмлаб олинади.

мойи остида ёки инерт газлар аралашмаси тўлдирилган анаэроустатларда сақланади идентификация қилинади. Биосинама қўйиш мумкин. Олинган натижалар асосида яқуний жавоб берилади.

### **Профилактика ва даволаш препаратлари**

Антитоксинли зардоблар — антиперфрингенс, антинови, антисептикум ва бош. Булар суёқ\_ ёки қуритилган ҳолда, отларни тегишли анатоксинлар билан кўп марта эмлаб антитоксинли зардобни ферментатив гидролиз (Диаферм-3) усули билан тозалаб ва концентрация қилиб бўлингач олинади. Жароҳат анаэроб инфекциялар (газли гангрена) профилактикасида ва специфик даволашда қўлланилади.

Адсорбция (шимдирилган) қилинган қоқшол анатоксини. Қоқшол токсинини формалин билан зарарсизлантириш, сўнгра тозалаш, концентрациялаш ва алюминий гидрат оксидига шимдириш йўли билан олинган.

Ассоциациялашган (бирлаштирилган) кўк йўтал-бўғма-қоқшол вакцинаси ва бошқа препаратлар таркибига киради. Қоқшолга қарши актив эмлаш учун қўлланилади.

Қоқшолга қарши зардоб, қоқшол токсини билан гипериммунизация қилинган отлар қонидан олинган. Диаферм-3 усули билан тозаланган ва концентрацияланган. Активлиги ҳалқаро бирлик билан белгиланади. Қоқшол профилактикаси ва даволашда қўлланилади.

Қоқшолга қарши одам иммунглобулини, тозаланган, адсорбцияланган қоқшол анатоксини билан қайта эмланган донор — кишилар қон зардобининг гамма-глобулин фракциясидан олинган. Тери қаватлари шикастланганда қоқшолга қарши зудлик билан иммунитет ҳосил қилишда ишлатилади. Қоқшол анатоксини билан биргаликда касалликнинг бошланиш даврида даволаш учун ҳам қўлланади.



## **Мавзу 22. Ҳаво-томчи инфекциялари: пневмококк, менингококк, клебсиелла, легионеллалар микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси:**

1. Турли хил бактериялар келтириб чиқарган ўткир нафас йўллари инфекциялари ва зотилжамнинг микробиологик диагностикаси.
2. Стрептококк пневмония, клебсиелла пневмония келтириб чиқарган зотилжамнинг бактериологик диагностикаси.
3. Менингококк ва легионеллалар келтириб чиқарган касалликларни бактериологик диагностикаси.
4. Ушбу касалликлар диагностикасида, профилактикасида ва даволашда қўлланиладиган препаратлар.

### **Намойиш қилиш**

1. Зотилжам қўзғатувчилари бўлмиш стрептококк ва клебсиеллалар соф культурасидан ва патологик материалдан тайёрланган суртмалар.
2. Озиқли Эндо ва қонли агардаги клебсиелла пневмония ва стрептококкларнинг колониялари.
3. Менингококкларнинг орқа мия суюқлигидан тайёрланган ва метилен кўки, Грам усулларда бўялган тайёр суртмалари.
4. Легионеллалар тоза культурасидан тайёрланган суртмалар ва диагностик схемалар
5. Менингококк, легионеллалар, клебсиелла пневмония ва стрептококкларнинг ажратиб олишда қўлланиладиган озиқли муҳитлар
6. Мавзуга бағишланган слайдлар, албом, рангли расм , слайд ва чизмалар.
7. Диагностика, профилактика ва даволашда қўлланиладиган препаратлар.
8. КҚАга “йўтал пластинкаси” усулида экиш.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Озиқли Эндо муҳитидаги клебсиелла ва қонли агардаги стрептококклар культурасининг натижалаш:
  - текшириладиган культурада клебсиеллаларни культурал хусусиятини ўрганиш;
  - текшириладиган культурада клебсиелла морфологиясини ўрганиш мақсадида Грам ва Гинс усулларида суртма тайёрлаш микроскопда кўриш.
  - текшириладиган культурада қонли агарда стрептококк пневмониянинг культурал хусусиятини ўрганиш;
2. Бурун ҳалқумдан Шоколадли агарга экилган экмадан нейссерия авлодига мансуб коккларни топиш ва улардан суртма тайёрлаб грам усулида бўяш микроскопда кўриш.
3. Менингококк инфекциясига ташувчанликни аниқлаш мақсадида бурун-ҳалқумдан босма суртма тайёрлаш, Грам усулида бўяш, микроскопда кўриш.
4. Мавзудаги қўзғатувчиларни тайёр суртмаларини микроскопда кўриш ва бактериоскопни ва бактериологик текширувлар натижасида лабораториядан олинган (талабалар тегишли анализ натижалари билан тўлдирилган бланкалар оладилар) маълумотлар асосида мавзудаги инфекция қўзғатувчилари ҳақида хулоса чиқариш.

### **Ҳаво томчи инфекцияларининг қўзғатувчилари.**

Ҳаво-томчи йўли билан тарқалувчи инфекция қўзғатувчиларига бактериялар, риккетсиялар, хламидиялар, микоплазмалар ва вируслар киради. Бу қўзғатувчиларни одамларга асосан юқиши юқори нафас йўллари орқали

кечади (жадвал 45). Лекин, уларни кўпчилиги фақат ҳаво йўли орқали юқмасдан, балки контакт ва маиший рўзғор буюмлари, болалар ўйинчоқлари орқали ҳам юқиши мумкин (*Corynebacterium diphtheria*, *Mycobacterium tuberculosis* паратит ва бош.)

Жадвал 45.

Ҳаво томчи инфекцияларини кўзгатувчи микроорганизмлар

Касаллик кўзгатувчилари	Келтириб чиқарган касалликлари
<p><b>Бактериялар</b>  <i>Str. pneumoniae</i>  <b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>  <i>Bordetella pertussis</i>  <i>Bordetella parapertussis</i>  <i>Corynebacterium diphtheria</i>  <i>Mycobacterium tuberculosis</i>  <i>Neisseria meningitidis</i></p> <p><i>Actinomyces bovis</i></p> <p><b>Риккетсиялар ва хламидиялар</b>  <i>Coxiella burnetii</i>  <i>Chlamydia psittaci</i></p> <p><b>Микоплазмалар</b>  <i>Mycoplasma pneumoniae</i></p> <p><b>Вируслар</b>  Грипп вируслари  Парагрипп вируслари  Чин чечак, сув чечак вируси  Қизамиқ вируси  Паратит вируси  Аденовируслар  Риновируслар</p>	<p>Зотилжам, юқори нафас йўллари касалликлар  Зотилжам, юқори нафас йўллари касалликлар  Кўк йўтал  Кўк йўтал  Юқори нафас йўллари касалликлар, бўғма  Ўпка сили  Юқори нафас йўллари касалликлар, назофарингит</p> <p>Ўпка актиномикози</p> <p>15% ҳолларда зотилжам  Зотилжам</p> <p>Зотилжам</p> <p>Грипп касаллигини келтириб чиқаради  ЎНК (ўткир нафас йўллари касалликлар)  Чечак ва сув чечак касалликларини  Қизамиқ касаллигини  Тепки касаллигини  ЎНК, зотилжам, ўрта қулоқни яллиғланиши.  Ренит, бронхит ва ЎНК</p>

Юқорида келтирилган микроорганизмлар турли оила, зот ва турларга киради. Улар бир-бирларидан морфологик, ўсиши, биокимёвий хусусиятлари, антиген тузилиши билан алоҳида фарқланади.

Уларнинг кўпчилиги (*Str. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Mycoplasma pneumoniae*), асосан пневмонияни; бошқалари эса

(*Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis*) юқори нафас йуллари инфекциялари билан бир қаторда бошқа органларда ҳам касалликлар чақиради

Турли микроорганизмлар томонидан қўзғатилган юқори нафас йўли инфекцияларининг клиник белгиларига кўра, уларга ўткир нафас йули касаллиги ёки зотилжам деб диагноз қўйилади. Уларнинг қўзғатувчиларини эса, микробиологик текширувлар ёрдамидагина аниқлаш мумкин.

Биз бу бўлимда бактериал ҳаво йўли инфекциялари қўзғатувчилари билан танишиб чиқамиз.

### **Пневмококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси**

*Str. pneumoniae* Streptococcaceae оиласига киради. Булар оғир турдаги зотилжам ҳамда кўзнинг шох пардасида тарқалувчи яра, баъзи ҳолларда эса, сепсис ва йирингли яллиғланиш жараёнларини (отит, ринит, менингит ва бошқалар) ҳам қўзғатади. Касаллик манбаси касал одам ва ташиб юрувчилар (20-50% мактабгача ёшдаги болалар ва 20-25% катталар). Кўпроқ касаллик организмни резистентлиги пасайиб кетганда ( қанд касаллиги, ОИДВ ва бош.) кузатилади. *Str. pneumoniae* капсула антигени бўйича 84 сероварларга бўлинади. 1, 2 ва 3 типлари одамда касаллик келтириб чиқаради.

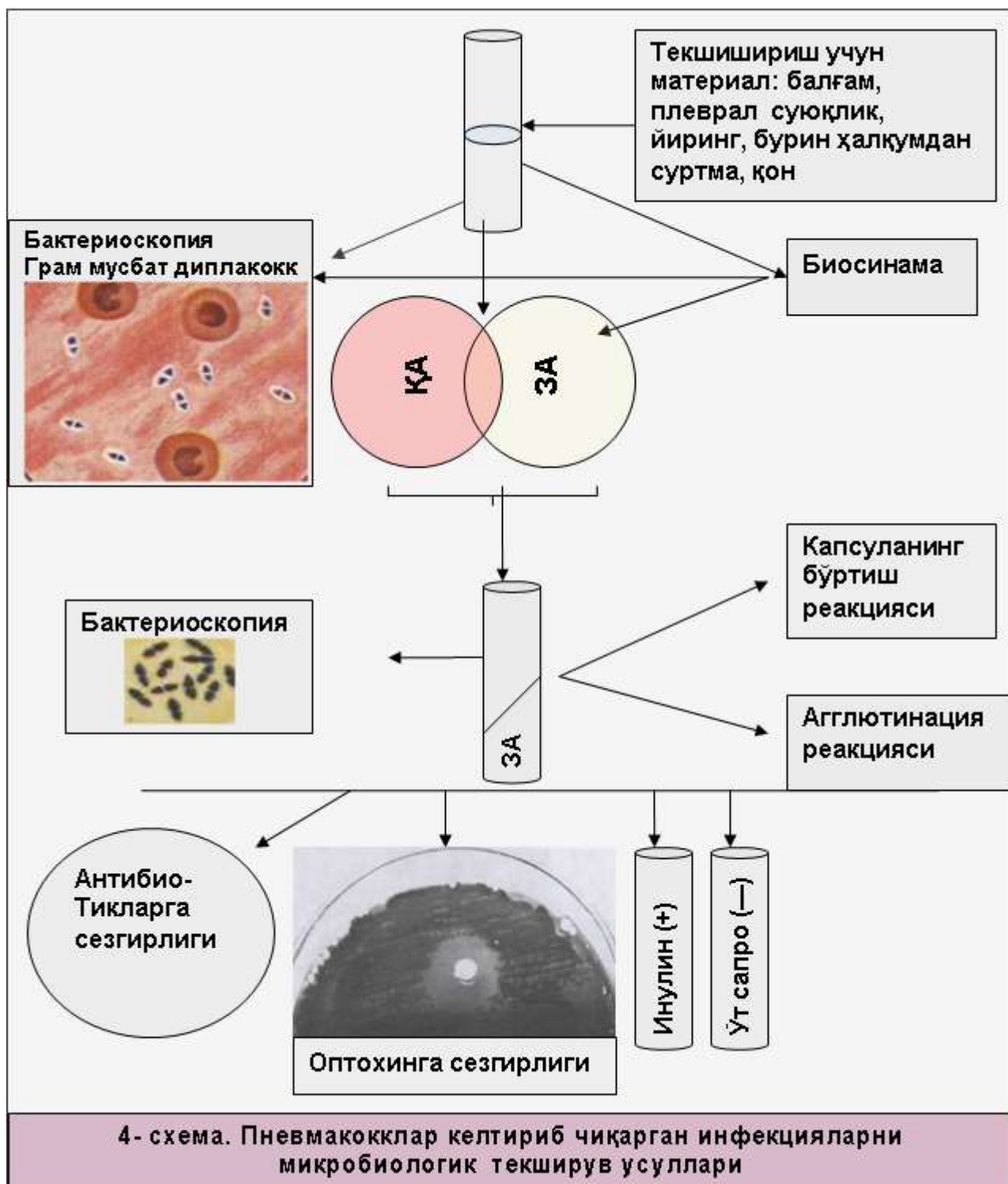
Текшириш учун материал: балғам, йиринг плевра суюқлиги ва бошқалар (схема 4).

Текшириш усуллари :

1. Микроскопик. 2. Биологик. 5. Бактериологик. 4. Серологик.

**1-кун.** Балғам стерил Петри косачасига қуйилади ва йирингли тугунчалардан олиниб буюм ойнасига қўйилади иккинчи буюм ойначаси билан эзгилаб суртма тайёрланади ва қуритилиб, қотирилиб Грам ва Гинс усулларида бўялади. Микроскопда кўрилади. Агар суртмада грам мусбат ланцетсимон капсулани диплококклар топилса (схема 4) дастлабки диагноз қўйиш имконини беради. Текшириш учун олинган материални қонли ва зардобли агарларга экилади. Қолган томпондаги материални қандли бульонга солиб қўйилади. Экилган экмалар термостатга 37° С 18-20 соатга

қўйилади. Кўпчилик ҳолларда материалдаги бошқа микроорганизмлар пневмакоккларни суъний озик муҳитларда кўпайишига таъсир кўрсатади. Шунинг учун пневмакоккларни ажратиб олишда биологик синама қўйилади. Пневмакокклар оқ сичқон организмда жуда тез кўпайди.



**Биосинама қўйиш техникаси.** Озрок балғам (3-5 мл) стерил бульон билан эритилади ва шу эритмадан 0,5 мл оқ сичқонларни қорин бўшлиғига юборилади. 5-6 соатдан кейин сичқон

касалланади, қорин бўшлиғида йиғилган экссудатдан стерил шприц билан олиниб бактериоскопия учун суртмалар тайёрланади ва Грам усулида бўяб микроскопда кўрилади, ижобий натижа бўлса экссудат озикли муҳитларга экилади ва экмалар термостатга 37° С 18-20 соатга қўйилади.

**2-кун.** Экмалар термостатдан олиниб кўрилади. Пневмакокклар ҚА да майда, нозик, бироз кўкимтир рангдаги  $\alpha$  -гемолиз ҳалқа билан ўралган колониялар ҳосил бўлади. Морфологик ва тинкториал хусусиятларини ўрганиш учун эса, шубҳали колониядан суртма тайёрланади, сўнгра соф культура ажратиш мақсадида қиялантирилган қонли агарга ёки зардобли бульонга экилади ва экмалар термостатга 37° С 18-20 соатга қўйилади. Биринчи куни бульонга солиб қўйилган томпондан суртма тайёрланади, Грам усулида бўяб кўрилади.

**3-кун.** Экмалар кўздан кечирилади ва культурани софлиги аниқланади - суртма тайёрланиб Грам усулида бўяб микроскопда кўрилади ланцетсимон диплококклар топилса қўйидаги хусусиятлари бўйича озикли муҳитларга экилиб идентификация қилинади:

1. Инулинли муҳитга;
2. Ўт сафроли муҳитга;
3. Оптохинга сезгирлигини аниқлаш;
4. Капсулани бўртиш реакцияси

**Инулин синамасини қўйиш.** Текширилаётган культура инулин қўшилган лакмус настойкали муҳитга экилади ва термостатга қўйилади. 18-20 соатдан кейин пневмококк бўлса муҳит қизаради (бошқа стрептококклар муҳитни рангини ўзгартрмайди).

Оптохинга сезгирлигини аниқлаш. Текширилаётган культура 10% қонли агарга газон усулида экилади ва эхма юзасига оптохин шимдирилган диск қўйилади. Бошқа стрептококклардан фарқлироқ пневмококк оптохинга сезгир бўлади (схема 4).

Ўт сафрога сезгирлигини аниқлаш. Иккита агглютинация учун мўлжалланган пробиркаларга 1 мл дан текирилаётган бульонли культурадани олинади. Биринчи пробиркага қуённи ўт сафроси (40%) бир неча томчи

томизилади, иккинчи пробирка контрол бўлади. Экмалар термостатга қўйилади. 18-20 соатдан кейин биринчи пробиркадаги лойқа бульон (ўт сафро пневмококкларни эритиб юборади) тиниклашиб қолади, контролда ўзгариш кузатилмайди.

Жадвал 46.

*Str. pneumoniae* ва бошқа пиоген стрептококкларнинг дифференциал белгилари.

Гемоллиз характери	Гемоллиз характери	Инулинни парчалаши	40% ўт сафро эритмасида эриши	Оптохинга сезгирлиги
<i>Str. pneumoniae</i>	$\alpha$	+	+	+
<i>Str. pyogenes</i> ва бош.	$\beta$ ва $\alpha$	—	—	—

**Тез диагноз қўйиш усуллари.** Бунинг учун биосинамадан (ок сичқонни қорин бўшлигидан олинган экссудат) фойдаланилади.

Нейфельд бўйича капсулани бўртиш реакцияси. Буюм ойнасига 3 томчи экссудат олинади. Ҳар бир томчига пневмококка қарши анти қон зардоб қўшилади: биринчи томчига I типи, иккинчисига II чи ва учунчисига III типи. Шундан кейин ҳар бир аралашмага бир томчидан метилен кўки қўшилади ва яхшилаб қовузлоқ билан аралаштириб. Сўнг ҳар бир аралашма алоҳида ёпқич ойна билан ёпилиб микроскопда иммерсион системада кўрилади. Мусбат реакцияда пневмококк типига мос келган эзилган томчи препаратда пневмококкнинг капсуласини бўртганлиги (набухания) кўринади.

**Микроагглютинация реакциясини қўйиш.** Пневмококк типини микроагглютинация реакцияси орқали ҳам аниқлаш мумкин. Буюм ойнасига 4 томчи экссудат олинади. Ҳар бир томчига пневмококка қарши агглютинацияга учратувчи қон зардоб қўшилади: биринчи томчига I типи, иккинчисига II чи ва учунчисига III типи, 4 томчи контрол бўлади. I ва II тип қон зардоблари 1:10 ва III типи эса 1:5 нисбатда олдиндан суюлтирилган

бўлиши керак. Мусбат реакцияда пневмококк типига мос келган аралашмада агглютинация реакцияси кузатилади.

Ажратиб олинган культура антибиотикларга сезgirлиги аниқланади ва яқуний жавоб берилади.

### **Менингококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси**

Менингококк инфекциясининг кўзгатувчиси (цереброспинал менингит, назофарингит, менингококкемия) - *Neisseria meningitidis*, *Neisseria* авлодига *Neisseriaceae* оиласига киради. Ушбу инфекцияларнинг лаборатория диагностикасида асосан бактериологик усулдан фойдаланилади, чунки бактериоскопия усулида менингококкларни ажратиб бўлмайди.

Касалликнинг экспресс диагностикасида имунфлюоресцент усул қўлланилади. Менингококкларнинг табиий манбаси одамнинг бурун ҳалқуми ҳисобланади. Менингококклар полисахарид капсула антигени бўйича 13 серогуруҳларга бўлинади, булардан А серогруппаси эпидемия кўринишида касаллик чақиради, В ва С типлари спорадик касаллик келтириб чиқаради.

#### **Микробиологик усул**

Эпидемик цереброспинал менингитда бемор ва бактерия ташувчилар ҳалқумидан, орқа мия суюқлигидан менингококклар топилади.



Расм 74. Бурун ҳалқумдан менингит ва кўк йутал касалликларида патологик материални олиш усули. 1- шпател; 2- материал олиш учун тампон

Олинган материални лабораторияга юборишда уни совуқдан ва қуришдан сақлаш лозим, чунки менингококклар бу омиллар таъсирига ниҳоятда чидамсиз. Бемордан ликворни орқа мия каналидан асептика қоидаларига амал қилиниб пункция қилиш йўли билан 2—5 мл миқдорда олинади ва 2 қисмга бўлинади;

бир қисми центрифуга қилинади ва ҳосил бўлган чўкма бактериоскопик текширилади, иккинчи қисмига эса ярим суюқ ҳолатдаги озикли муҳит қўшилиб, 37°С да микробларни кўпайтириш учун термостатга қўйилади.

Бактерия ташувчиларнииг ҳалқумидан текшириш учун материал махсус тампон (унинг 3/4 қисми 45° гача букилади) ёрдамида ҳалқумнинг юқори қисмидан (расм 74) олинади. Бунинг учун стерил шпателни чап қўлга олиб тилни илдизи томонга босиш зарур, ўн қўлдаги стерил тампонни эгилган қисми юқорига қилиниб, юмшоқ танглай ости билан бурун ҳалқумга киритилади ва енгил ҳаракат билан шиллиқ олинади.

Текшириш усуллари :

1. Микроскопик. 2. Биологик. 5. Бактериологик. 4. Серологик.

**1 –кун. Бактериоскопик текширув (5-схема).** Ликвор чўкмасидан тайёрланган суртмалар Грам усулида ёки метилен кўки билан бўялиб микроскоп остида кўрилади. Кўпинча йиринг бўлган характерли ҳолатда лейкоцитлар ичида жойлашган ҳақиқий грамманфий диплококкларнинг кўриниши менингококк инфекцияси ҳақида даслабки хулоса чиқариш имконини беради.

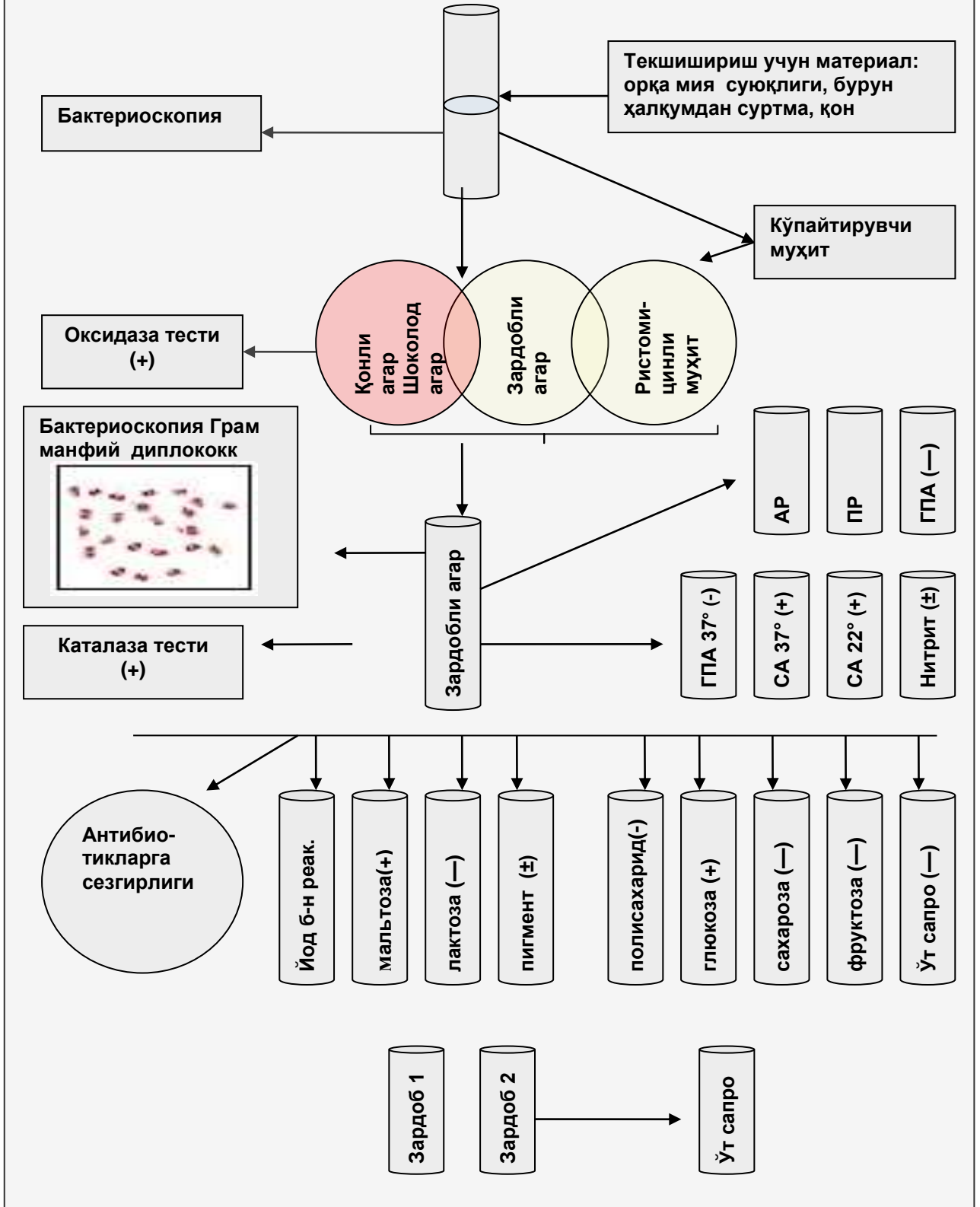
Бактерия ташувчиларнииг ҳалқумидан олинган материалдан суртмалар тайёрлаб кўрилганда менингококклар билан бир қаторда грамусбат стафилококклар ва стрептококкларни ҳамда патоген бўлмаган нейссериялар — бронхамеллалар ва бошқа бактерияларни ҳам учратиш мумкин. Уларни суртмадаги морфологик хусусиятларига кўра дифференциация қилиб бўлмайди.

**Бактериологик текширув** менингококкларнинг ўсишига имкон берувчи, таркибида қон, қон зардоби ёки асцит суюқликлари бўлган озикли агарга текшириладиган материал қовузлок ёрдамида Петри косачаларига экилади. Бундан ташқари, таркибига текширилувчи материалдаги грамусбат коккларнинг ўсишини тўхтатувчи ва шу билан бирга менингококкларнинг соф культурасини ажратиб олиш имконини берувчи, ристомицин антибиотиғи (150 ТБ/мл) қўшилган муҳит ҳам қўлланади.

Текширилувчи материал экилиб, сўнгра бу муҳитлар 48 соат давомида 37°С да термостатда сақланади.



**5 - схема. Менингококк лар келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик текшириш усуллари**



**2-кун.** Менингококк колониялари 48 соатдан сўнг ҳосил бўлади. Бошқа кокклар колониясидан менингококк колониялари тиниқ, кўкимтир ялтирок, четлари текис, катталиги тўғноғич бошчасидек бўлиши билан фарқланади. Шоколад агарда менингококк колониялари кулранг бўлиб дала сичқони рангини эслатади. Менингококк колонияларини ўрганиш билан бир қаторда оксидаза аниқланади. Колониялар йиғилиб қолган жойга бир томчи диметил-парафенилдиамин томизилади. Агар оксидаза мусбат бўлса колония пушти ранга киради. Бунинг учун диметил-парафенилдиамин шимдирилган қоғоз дисклар ҳам ишлатилиши мумкин.

Жадвал 47.

Бактериал менингит келтириб чиқарувчи қўзғатувчиларни текширишни 24 соатидан кейинги биологик хусусиятлари.

Шубҳаланган микроорганизмлар	Мухитларда ўсиши		Морфологياجси	ША да колониялар атрофини ўзгариши	Колонияларни 3% КОН билан ишлов бериш*	Грам усулида бўйш	Ферментацияси		
	ЗА	ША					Оксидаза	Каталаза	Уреаза
<i>N. meningitidis</i>	+	+	Капсулали полиморф диплококк	—	+	—	+	+	—
<i>H. influenzae</i>	—	+	Майда полиморф таёқча	—	+	—	—	+	+
<i>Str.pneumoniae</i>	+	+	Капсулали ланцетсимон диплококк	Яшил сариқ	—	+	—	—	—
<i>Str.veridans</i>	+	+	Занжирсимон кокклар	Яшил	—	+	—	—	—
<i>Listria monocytogens</i>	+	+	Қатор ёки бурчак ҳосил қилиб жойлашган майда таёқча	Яшилсимон жигар ранг	—	+	—	+	—

Эслатма: ЗА-зардобли агар; ША- шоколад агар; \*- 3% КОН эритмасидан бир томчи олиниб, устига қовузлоқ билан микроб колонияси аралаштирилади, агар ҳосил бўлган масса қовузлоқ билан олганда чўзилиб чиқса грам манфий бактериялар борлигидан дарак беради. Грам мусбат бактериялар бўлиниб –бўлиниб кетган масса ҳосил қилади.

Ўрганилган колониялардан соф культура ажратиб олиш учун қиялантирилган зардобли агарга экилади.

**3-кун.** Ажратиб олинган соф культура идентификацияси бурун халқумда яшайдиган сапрофит нейссериялардан ва менингит касаллигини келтириб чиқарувчи бошқа бактериялардан дифференциация қилиш ва уларнинг қатор белгилари асосида ўтказилади.(5-схемада ва 47-жадвалда кўрсатилган хусусиятлар бўйича ўрганилади). Жумладан менингококк фақатгина табиий оқсил қўшилган муҳитдагина ўсади, бошқа нейссериялар эса оддий муҳитларда ўсиб, пигмент ҳосил қиладилар; қон зардоби қўшилган Гисс муҳитида эса, менингококклар глюкоза ва мальтозаларни кислота ҳосил қилиб парчалайди. Шу билан бир қаторда ажратиб олинган соф культуранинг антибиотикларга сезгирлиги ҳам ўрганилади. Менингококкларни бошқа ўхшаш кокклардан фарқлари 47-жадвалда келтирилган.

Юқорида келтирилган хусусиятлари ва серологик реакция (ПГАР) асосида яқуний диагноз қўйилади.

### **Легионеллалар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси**

Легионеллалар ҳозирги кунда Legionellaceae оиласига ва Legionella авлодига киритилган ва бу авлодга 30 ортиқ тур ва сероварлар киради. Одамларда асосий касалликни Legionella pneumophila келтириб чиқаради.

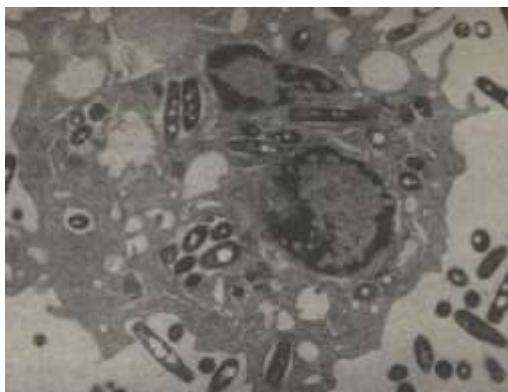
АҚШ ҳар йили легионеллаларни билан 25000 киши касалланади. РФ эса 100 спорадик ҳолат, йилда кузатилади. Легионеллаларни бундай кам аниқланишига асосий сабаб, кўпчилик олимларни фикрича, легионеллалар диагностикасини мураккаблиги ва лабораторияларни замонавий таъминланмагани ҳисобланади.

Легионеллалар бошқа бактериялардан қуйидаги хусусиятлари билан фарқ қиладди:

1. Улар спора ҳосил қилиш хусусиятига эга эмас;
2. Уларнинг ўсиши кўпайиши учун махсус ўсиш факторлари зарур;
3. Ўстириш шароитига ўта талабчан (махсус муҳитлар ва шароитлар ўстиришда ёки ўстириш вақтини чўзишни талаб қилинади).

## Микробиологик усул асосан бактериологик ва серологик усулларни ўз

ичига олади.



Расм 75. Legionella pneumophila альвеоляр мак - рофаглар цитоплазмасида.

Легионелларни клиник материалдан балғам ва қондан ажратиб олиш амалий жиҳатдан мумкин эмас. Кўпроқ қўзғатувчи биоптатларда ёки труп материалдан ўпка, талоқ, жигарда) топиш мумкин (расм 75).

Текширилувчи материал транспорт қилинувчи муҳитларда (буферли,

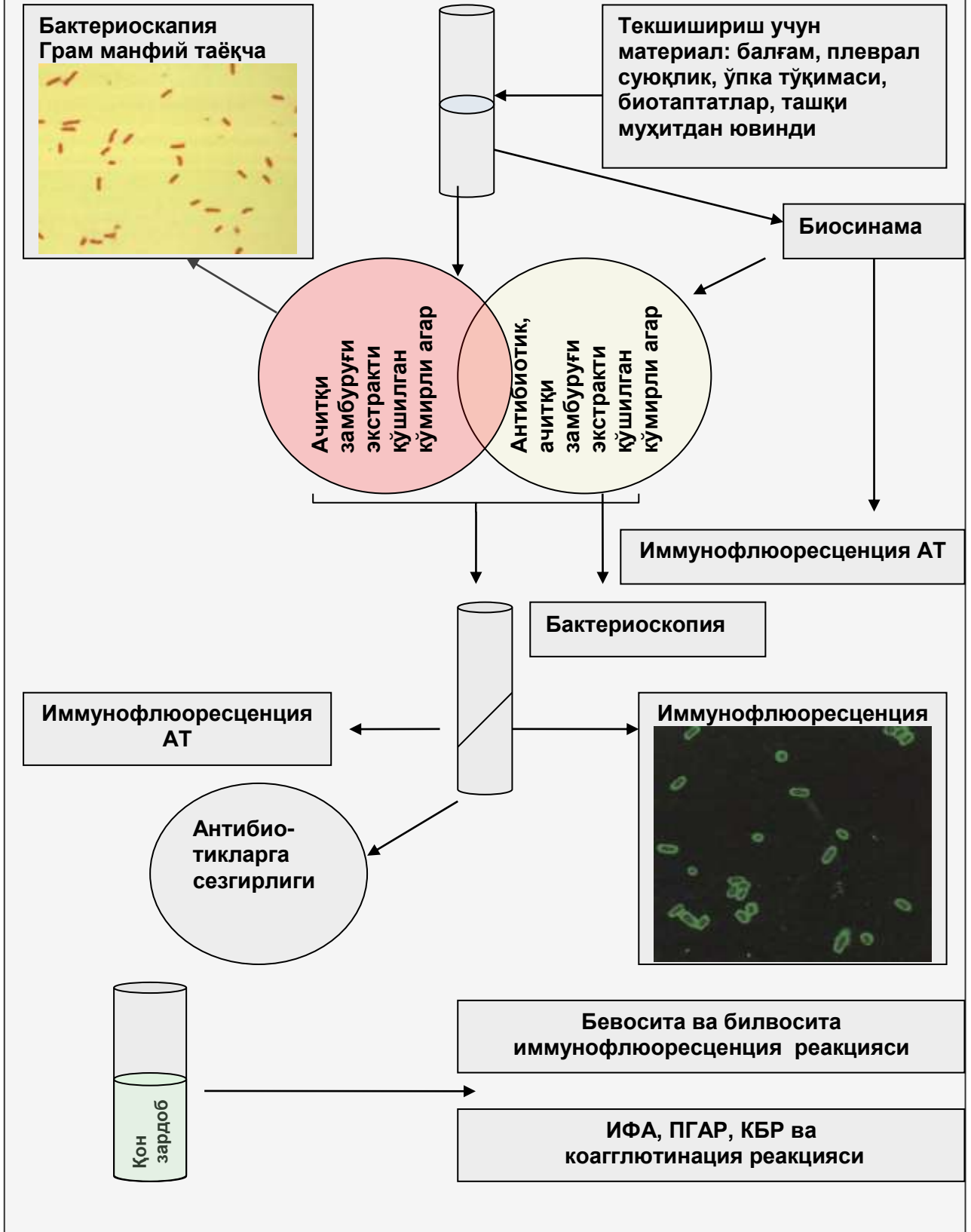
физиологик) ташилмайди. Олинган материал 1 соат ичида озикли муҳитларга экилиши зарур. Патологик материалдаги бошқа микроблар кантаминациясини ҳисобга олиб, ўстиришда полимиксин ёки ванкомицин қўшилган ачитқи замбуруғи экстракти, цистеин, темир пирофосфат тутувчи кўмирли агар қўлланилади. Бундан ташқари биосинамада денгиз чўчқачасига юқтириш ва босқичли соф культурасини ажратиб олиш ҳам мумкин. Охирги йилларда легионелларни ажратиб олишда товуқ эмбриони ва амёбалардан фойдаланилмоқда. Легионелларни диагностикаси схемада келтирилган (схема 6).

Легионелларни озикли муҳитларда 3-5 кунлари ўсиб чиқади.

Колониялар 3-4 мм диаметрда, текис қиррали, юзаси силлик, ранги кул ранг шишасимон. Суяқ муҳитларда ўсмайди. Бактериоскапик усулда озикли муҳитда ўсган колонияларидан суртма тайёрланиб Грам усулида бўяб кўрилади, суртмада грам манфий майда, бетартиб жойлашган таёқчалар учрайди. Ҳаракатчан, спора ва капсула ҳосил қилмайди. Легионелларни тур ичида идентификация қилиш уларни узун тўлқинли (360нм) УФ нурлатишда флюоресцент нур тарқатишига асосланган.

Экспресс- диагностикада текшириляётган патологик материалдаги легионеллар АГ ни ДНК гибридизация усулида ёки легионелларни эрувчан АГ ни сийдикдан топишда иммунофлюоресценция усулидан фойдаланиш Экспресс- диагностикада текшириляётган патологик

**6- схема. Легионеллар келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик текширув**



материалдаги легионеллалар АГ ни ДНК гибридизация усулида ёки легионеллаларни эрувчан АГ ни сийдикдан топишда иммунофлюоресценция усулидан фойдаланиш мумкин.

Бемор қонидан АТ аниқлаш ( АТ 2-3 ҳафтасида пайдо бўлади) ПГАР, КБР, ИФУ ва коаггутинация реакцияси билан кўпроқ эпидемиологик аҳамиятга эга.

Жадвал 48.

#### Легионеллаларни авлодини биохимик белгилари

Белгилари	<i>Legionella pneumoniae</i>	<i>Legionella bozemanii</i>	<i>Legionella micdadei</i>	<i>Legionella dumoffii</i>	<i>Legionella gormanii</i>
Na гипшурат гидролиз қилиши	+	—	—	—	—
Оксидаза	+	—	+	—	—
Каталаза	+	+	+	+	+
Желатина емириши	+	+	+	+	+
β- лактамаза	+	+	—	+	+
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	—	—	—	—	?
Уриаза	—	—	—	—	—
Крахмални парчалаши	+	+	+	+	?

Юқорида келтирилган хусусиятлари ва серологик реакция (ПГАР, КБР, ИФУ) асосида яқуний диагноз қўйилади.

#### **Клебсиеллалар нафас йўлларида келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик диагностикаси**

Клебсиеллалар Enterobacteriaceae оиласига ва *Klebsiella* авлодига киради. Юқори нафас йулини шикастловчи клебсиеллаларга *Klebsiella pneumoniae* — зотилжам қўзгатувчиси, *K. ozaenae* қўланса ҳидли тумов ёки озена касаллигининг қўзгатувчиси ва *K. rhinoscleromatis* — риносклерома ёки склерома қўзгатувчилари киради.

#### **Услубий кўрсатмалар**

##### **Бактериоскопик текширув.**

**Биринчи кун.** Бирламчи бактериоскопик усул учун суртмалар балғам, бурундан шиллиқ олинади Грам ва Бурри-Гинс усуллари буйича бўялади. Суртмаларда грамманфий, капсулалли бактерияларнинг аниқланиши (7- схемага қаралсин) дастлабки диагноз қўйиш имконини беради. Склеромаларда бурундан олинган гранулематоз тўқималар гистологик тарзда текширилганда таркибида клебсиеллалар тутган ўзига хос жуда катта Микулич хужайралар борлиги аниқланади.

**Бактериологик текширув.** Бегона микрофлораларнинг ўсишини тўхтатиш учун, таркибига пенициллин қўшилган озикли агар ёки лактоза ва бромтимол

Жадвал 49.

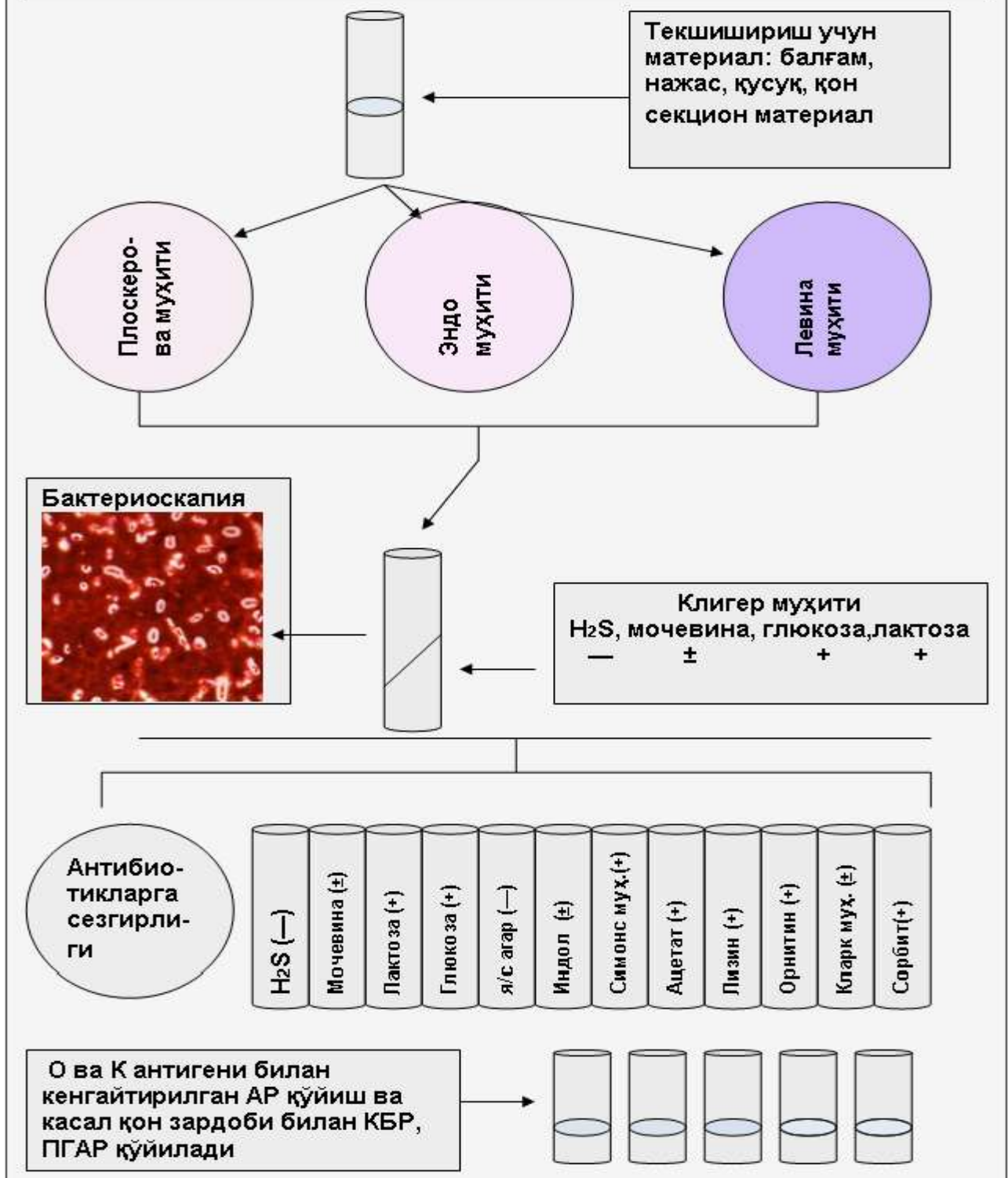
**Клебсиеллаларни бир-бирларидан идентификация қилиниши**

Белгилари	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. rinoscleromatis</i>
Глюкозани парчалаши	КГ	X	—
Лактозани парчалаши	К	(+)	—
Дульцитни парчалаши	X	—	—
Фогес Проскауэр реакцияси	+	—	—
Цитратни ўзлаштириши	+	X	—
Мочевинани парчалаши	+	X	—
Лизиндекарбоксилаза ҳосил қилиши	+	X	—
Метил қизил билан қўйилган реакция	—	+	+
Малонатни ўзлаштириши	+	—	+

Шартли белгилар: КГ- кислота газ ферментацияда ҳосил қилиши; К-кислота ҳосил қилиб парчалаши; (+)- султ Ферментация; X- баъзи штаммлари;

қўки солинган дифференциал-диагностик муҳитларга (Эндо, Плоскорова) материал экилади ва термостатга 18-24 соатга 37°C қўйилади. Озикли агарда

7-схема. Клебсиеллалар юқори нафас йўлларида келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик текширув усули



клебсиеллалар ялтироқ бўртган, шиллиқ колониялар ҳосил қилади.

Дифференциал бромтимолли муҳитда лактозани парчаламайдиган, склерома ва



озена клебсиеллалари муҳит рангига хос ҳаво рангга, бромкрезоллисида эса — бинафша рангга колониялари бўялади.

*Klebsiella pneumoniae* лактоза мусбат бўлганлиги сабабли сарик рангдаги колонияларни ҳосил қилади. Эндю муҳитида эса юқоридаги турлари оч пушти, *Klebsiella pneumoniae* эса қизил колониялар ҳосил қилади.

**2-кун**и шубҳали колониялардан суртма тайёрланади, Грам, Бурри-Гинс усуллари буйича бўялади ва соф культурани ажратиб олиш учун қиялантирилган агарга ва Клигер муҳитига эса бир неча колониялар олиб экилади. Қиялантирилган Клигер муҳитига олдин қовузлоқ билан укол қилиб, кейин штрих қилиб экилади.

**3-кун**и уларнинг агар ва Клигер муҳитидаги ўсиш характери ўрганилади.

Лактоза манфий бактериялар муҳит устунчасини сарик рангга, лактоза позитивлари эса — бутун муҳитни сарик рангга бўйяди ва кўпинча глюкоза парчаланиши сабабли газ ҳосил бўлиши натижасида муҳитни ёриб юборади.

Ажратиб олинган культурани идентификация қилишда, уларнинг капсула ҳосил қилиши, ҳаракатсизлиги ва бошқа белгилари ҳисобга олинади (-жадвал).

Ажратилган культуранинг сероварини аниқлаш учун эса, агглютинация реакцияси ёки типга хос капсулага қарши зардоб ёрдамида иммунофлюоресценция усули қўлланилади.

Серодиагностика. Беморлар зардоби билан комплементни боғловчи ёки пасив гемагглютинация реакцияси склероманинг кимёвий диагностикамидан фойдаланган ҳолда қўйилади.

Клебсиеллаларни морфотинкториал, культурал, биокимёвий ва антиген хусусиятлари асосида якуний хулоса қилинади.

## **Мавзу 23. Ҳаво-томчи инфекциялари: бўғма (дифтерия), кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Бўғманинг микробиологик диагностикаси, схемаларини ўрганиш.
2. Бўғмада бактериоскопик ва бактериологик текширувлар.
3. Кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларининг диагностика, схемаларини ўрганиш
4. Кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларини бактериоскопик, бактериологик ва серологик текширувлар
5. Бўғма, кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларни даволашда қўлланиладиган диагностик, профилактик препаратлар.

### **Намойиш қилиш**

1. Бўғманинг соф культурасидан тайёрланган, Нейссер ва Грам усулларида бўялган суртмалар.
2. Бўғманинг соф культурасидан ажратиб олишда қўлланиладиган озиқли муҳитлар (теллуритли, қон зардоби қўшилган ва Пизу муҳитлари)
3. Дифтерия культураларининг агардаги преципитация реакцияда токсигенлик хусусиятини аниқлаш.
4. Кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларининг культурасидан тайёрланган суртмалар.
5. Кўк йўтал ва пара-коклюш қўзғатувчиларининг культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган озиқли муҳитлар (КУА, Сут қўшилган қонли агар, Борде –Жангу муҳити).
6. Бўғма ва кўк йўтал, пара-коклюшлар акс эттирилган рангли расм, албом ва схемалар.
7. Бўғма ва кўк йўтал, пара-коклюшларларни даволашда, олдини олишда ва диагностикада қўлланиладиган препаратлар.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

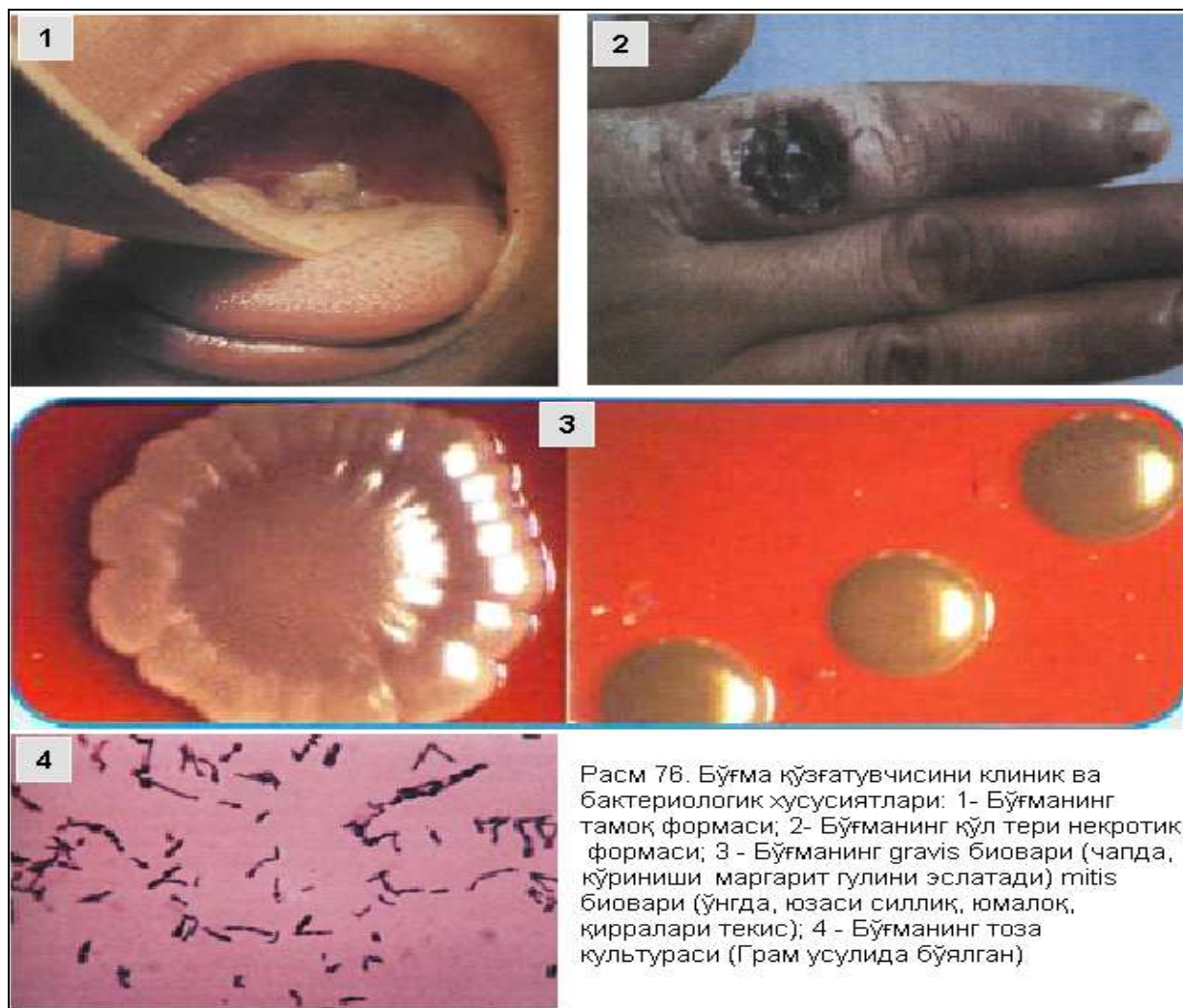
1. ККАга “йўтал пластинкаси” усулида экилган экма натижасини баҳолаш. Культурал ва морфологик хусусиятларига баҳо бериш.
2. Бўғма диагностикаси: бурун-халқумдан стерил тампон билан суртма олиш, Грам ва Нейссер усулларида бўяш, микроскопда дифтероидларни топиш.
3. Бўғмага шубҳа қилинган кишилар ёки бактерия ташувчилар томоғидан олинган материаллардан тайёрланган суртмаларни микроскоп остида кўриш; бўяш натижаларига асосланб, дастлабки жавобни бериш. Бактериоскопик диагнозни тасдиқлаш учун кейинги текширувлар йўналишини белгилаш.
4. Бўғма диагностикаси: зардобли агарга экилган экма натижасини баҳолаш. Культурал ва морфологик хусусиятларига баҳо бериш.

5. Ажратиб олинган культураларни идентификация қилиш асосида бактериоскопик ва бактериологик текширув натижаларини солиштириб, яқунловчи микробиологик диагноз қўйиш.

### **Бўғма (дифтерия) кўзгатувчисининг микробиологик диагностикаси**

Бўғма (дифтерия) кўзгатувчиси — *Corynebacterium diphtheriae* Actinomycetales тартибига алоқадор бўлиб, бирор-бир оилага кирмайдиган *Corynebacterium* зотига киради.

Дифтерия таёқчаларидан ташқари, бу зотга нормал микрофлора вакилларидан бўлган псевдодифтерия таёқчаси *C. xerosis* ҳамда дифтероидлар — *C. pseudodiphtheriticum* ва бошқалар киради. Коринебактериялар учун умумий белгиларга киради: тузилишининг полиморфлиги; спора ҳосил қилмаслиги; кислород бўлганда яхши ўсиши; хивчинларини йўқлиги.



Дифтерия кўзгатувчисининг асосий биологик белгиларидан бири, унинг касаллик патогенезини белгиловчи токсин ишлаб чиқариш хусусиятидир, бу

хусусият билан бошқа дифтериодлардан фаркланади. Касалликда маҳаллий патологик жараён одатда томоқда жойлашади, бўғма қўзғатувчиси терида, кўзда, жинсий органларда ҳам дифтерия касалликни келтириб чиқариши мумкин (расм 76). Лаборатория диагностикаси бактериоскопик ва бактериологик текширувлар буйича олиб борилади.

### **Услубий курсатмалар**

Дифтерияда текшириш учун материал олганимизда қўзғатувчини қайси органларда жараённи келтириб чиқаришига боғлиқ. Шу билан бир қаторда тамоқ дифтерияси энг кўп учрайди. Текшириш учун материал 2 та стерил пахтали тампон билан олиниб, биридан суртма тайёрлаш, иккинчисидан экиш учун фойдаланилади. Материал овқатланмасдан олдин ёки овқатлангандан кейин 2 соат ўтказилиб олинади. Антибиотиклар билан даволанмасдан туриб олинса ажратиб олиш фоизи юқори бўлади. Олинган материал 2 соат ичида лабораторияга етказилиши ва экилиши керак, агар уни иложи бўлмаса тампон 5% глицерин ёки физиологик эритма билан хўллаб олинади.

**1 –кун.** Олинган материал дарҳол биринчи тампон билан буюм ойнасига бир неча суртмалар тайёрланилади, суртмалар қуритилиб, қотирилиб Нейссер ва Грам усуллари билан бўялади. Бўғма суртмада енгил эгилган таёқчалар бўлиб ўлчами 3-6 мкм. Таёқчани икки учида волютин доначалари (Бабеш-Эрнест) жойлашган бўлиб, таёқчага тўғноғич шаклини беради. Бундан ташқари бўғма қўзғатувчилари суртмада характерли «X» ва «V» ҳарфи шаклида ёки иероглиф кўринишида жойлашади (расм 76, 7-схема). Шу билан бир қаторда бўғма қўзғатувчиси ўта полиморфизм хусусиятига эга. Суртмада типик формалари билан бир қаторда кокксимон, учлари йўғонлашган колбасимон, ипсимон ва шохланган формалари ҳам учрайди.

Дифтероид ва псевдодифтерия таёқчаларида волютин доначалари бўлмайди ёки улар таёқчалар учида эмас, балки таначаси бўйлаб жойлашади. Бундан ташқари бу бактериялар суртмада тўда-тўда, қатор-қатор (частакол) бўлиб жойлашиши мумкин.

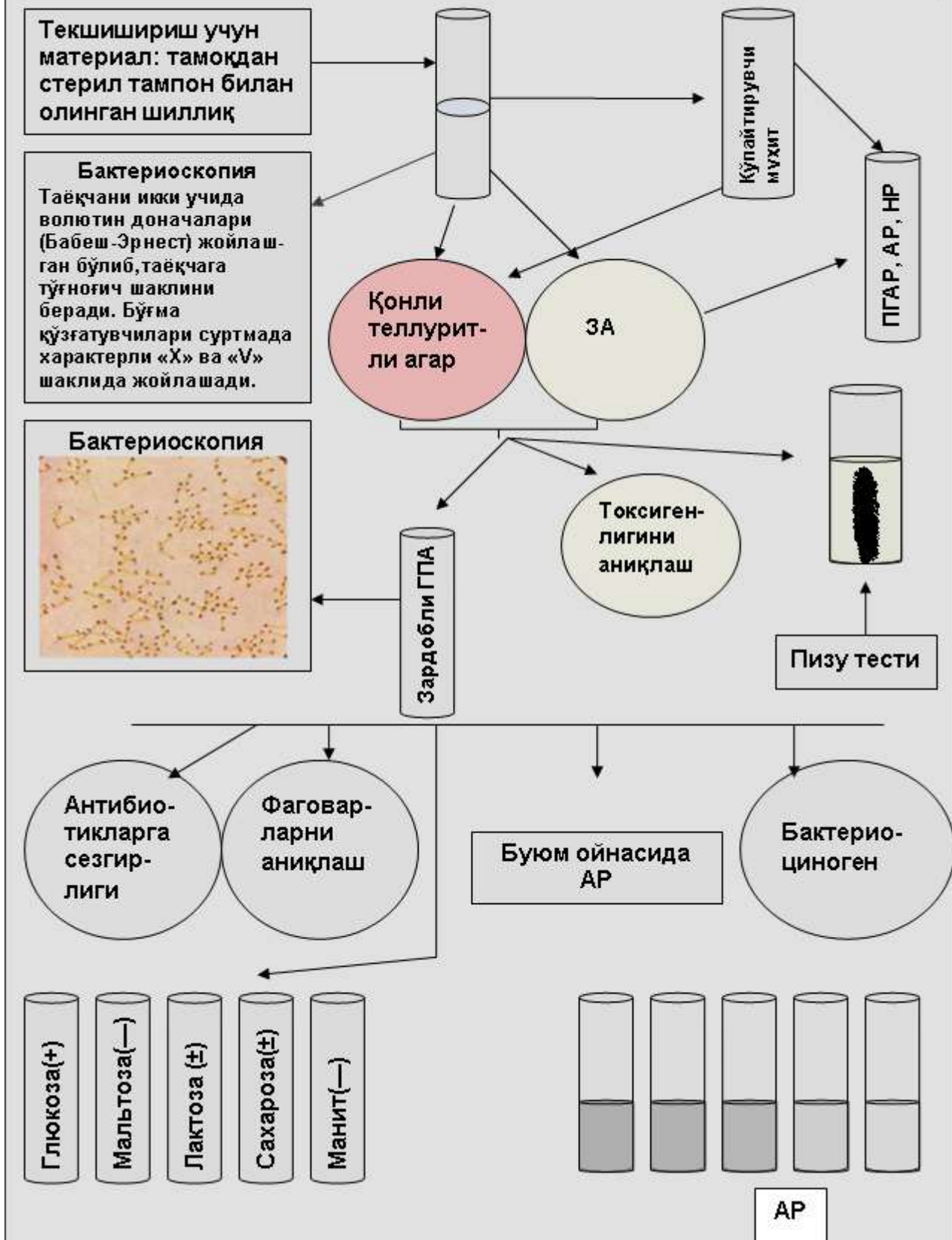
Люминесцент микроскопик усул текшириш самарадорликни ошириш имконини беради. Бунда бўғма таёқчалари псевдодифтерия таёқчаларидан улардаги волютин доначаларининг корифосфин-флюорохром билан бўялгандан сўнг жигарранг қизил рангда нурланишидан фарқлаш мумкин. Бу бактерия цитоплазмалари яшил ёки сариқ рангда нурланади. Аммо бўғма таёқчалари ўзининг морфологиясини тез-тез ўзгартириб туради, жумладан, томоқ дифтериясини антибиотиклар билан даволаганда, бу эса касалликка морфологик хусусиятлари бўйича диагноз қўйишни қийинлаштиради. Шунинг учун касаллик қўзғатувчисини аниқ, идентификация қилиш мақсадида бактериологик текширув ўтказилади.

**Бактериологик текширув.** Текширилувчи материалдан соф культура ажратиб олиш учун материал махсус электив — ивителиган қон зардобли агарга ва Клауберг муҳитига (теллурит натрийли озиқли агарга глицерин ва фибринсизлангантирилган қон қўшилган) экилади (схема 7). Бу муҳитларда кокklar ва томоқда учрайдиган бошқа микрофлораларнинг ўсиши тўхтатилиб, бўғма бактерияларининг ўсиши учун эса имкон яратилади. Экмалар термостатга 37°C 18-48 соат қўйилади.

**2-кун.** Бўғма таёқчалари зардоб қўшилган ГПА юмалоқ, майда, маркази зичлашган колонияларни ҳосил қилади. Колониялар баравар ўсганда муҳит юзаси саҳтиён терисини эслатади. Бу муҳитда ўсган колониялардан суртма тайёрланиб Грам, Нейссер усулларида бўялади, суртмада типик бўғма таёқчалари топилади.

Теллуритли муҳитда (бу муҳит бўғмани кўпайишини ҳам секинлаштиради, 24 соат ичида колониялари ўсмаслиги мумкин, шунинг учун 48 соатга термостатда қолдирилади) бўғма бактериялари, теллуритни метал теллуритгача қайтаради ва муҳитда колониялари қора жигарранг бўлиши мумкин. Бу муҳитда бўғма қўзғатувчиси культурал хусусияти бўйича 3 биовари тафовут қилинади: *gravis* биовари кулранг қора рангдаги юзаси радиал марказдан периферияга кетган чизикчали, кўриниши “Маргарит” гулига ўхшаш (R-колония); *mitis* типини эса — майда, юмалоқ, бўртган юзаси

7- схема. Бўғма қўзғатувчиси келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик текширув усуллари



силлик, қирралари (S-колония); intermedius майда, қуруқ, қора кулранг четлари нотекис (RS ёки SR яқин). Охирги йилларда бўғманинг тўртинчи биовари (билфантис) ҳам тафовут қилинмоқда. Бу биовар митис типига яқин туради (76-расм). Теллуритли муҳитда ўсган колониялардан одатда суртма тайёрлаб, бўяб ўрганилмайди, чунки теллурит бактериялар морфологиясига ҳам таъсир этиб, уларни ўзгартириши мумкин. Соф культурасини ажратиб олиш учун зардоб қўшилган ГПА экилади (зардоб қўшилган муҳитларда қўзғатувчи ўзининг морфологик ва бошқа хусусиятларини тиклаб олади) ва термостатга қўйилади.

**3-кун.** Ажратиб олинган культуралар ўзига ўхшаш, аммо патоген бўлмаган коринобактериялардан морфологик хусусиятлари, сахароза, глюкоза, крахмалларни парчалаши, цистиназа ферменти ва токсигенлик ва антигенлик хусусиятлари бўйича фарқланади (50-жадвал).

Бўғма бактерияларининг токсин ишлаб чиқариш хусусиятларини аниқлаш диагностикада энг муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади, чунки бўғма қўзғатувчисини табиатда икки хил штамми учрайди. Биринчиси токсиген одамда бўғма касаллигини келтириб чиқаради, иккинчи тип штамми эса токсиген бўлмаслиги мумкин, амалий аҳамияти йўқ. Шунинг учун бўғманинг токсигенлиги албатта аниқланади ва шу асосда асосий ташҳис қўйилади. Охирги йилларда бўғманинг токсигенлик хусусиятини аниқлашни бирқанча усуллари таклиф қилинган (лаборатория ҳайвонларида, ҳужайра культурасида ва гелда диффузия преципитация реакцияси). Амалиётда кўпроқ гелда диффузия преципитация реакцияси қўлланилади.

**Бўғма қўзғатувчисини токсигенлигини аниқлаш.** Бунинг учун Петри косачасидаги (таркибига 15 — 20% от зардоби, 0,3% мальтоза ва 0,03% цистин қўшилган) озикли сатҳига, 5000 АЕ/мл тутувчи бўғмага қарши антитоксинли зардоб шимдирилган 1,5 х 6 см катталикдаги фильтр лентаси қўйилади.

Косачалар 30 минут 37°C да термостатда тургандан сўнг текширилувчи культурадани қовузлоқ билан олиниб, фильтр қоғозига перпендикуляр равишда 0,6 - 0,8 см масофада пиллакча қўринишида экилади. (текшириляётган культурадани камида 4-5 колония олиб экилилиши керак). Иккинчи томонига контрол сифатида

маълум бўлган токсиген штамми экилади. Экмалар 37°C да термостатга келгуси кунгача қолдирилади.

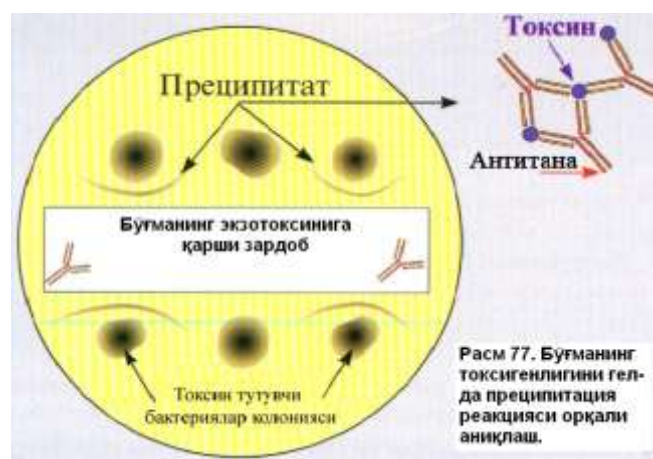
Жадвал 51.

Бўғма таёқчалари ва уларга ўхшаш коринебактерияларнинг биологик хусусиятлари

Коринобактерия вакиллари	Волютин доначалари	Гемолиз	Парчалаши			Токсигенлиги	Цистиеназа	Уриаза	Махсу қон зардоб билан АР қўйиш	Одамда дифтерия келтириб чиқариши
			Сахарозани	Глюкозани	Қрахмални					
<i>C. diphtheriae</i>	+	-	-	+	+	±	+	-	+	+
<i>C. xerosis</i>	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	±	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Токсиген хусусиятга эга бўлган культуралар ўсганда, ажралиб чиққан токсин ва филтер қоғоздаги антитоксин агарга шимилади, улар учрашган зонада преципитат, яъни озиқли муҳитда кўзга кўринадигон оқ чизикчалар (мўйловчалар) ҳосил бўлади (расм 77). Токсиген бўлмаган штамларида преципитат ҳосил бўлмайди.

Бўғманинг идентификациясида қўшимча, равишда цистиеназа, уреаза синамалари ва агглютинация қилувчи бўғма зардоб билан агглютинация реакцияси қўйилади.



Расм 77. Бўғманинг токсигенлигини гелда преципитация реакцияси орқали аниқлаш.

**Цистиеназани аниқлаш учун**

(Пизу синамаси) цистин қўшилган пробиркадаги ЗА устунчасига текширилувчи культура санчиб экилади. Экма 37°C да келаси кунгача термостатга қўйилади. Чин бўғма таёқчалари санчиб экилган йуналишда кўрғошин сульфид ҳосил бўлиши натижасида муҳит қораяди, муҳит сатҳидан 1 см пастроқда қорамтир «булутча» пайдо бўлади.



*Corynebacterium diphtheriae* қўзғатувчиси бошқа дифтероидлардан фарқлашиб токсигенлик хусусиятга, цистин активлигига эга ва махсус қон зардоби билан АР мусбат бўлади, Бундан ташқари қўшимча ферментатив хусусиятлари ва эпидемиологик жиҳатдан зарур бўлса фаготиплари ўрганилиб якуний жавоб берилади.

Жадвал 52.

*Corynebacterium diphtheriae* биоварларини бир –бирларидан фарқлари.

Хусусиятлари	Биоварлар		
	gravis	mitis	intermedius
Ферментацияси:			
глюкоза	+	+	+
сахароза	±	—	—
крахмал	+	—	—
гликоген	+	—	—
Цистин активлиги	+	+	+
Гемоллиз қилиши	±	+	+
Теллуридли муҳитда ўсиши	Катта, қуруқ, кулранг қора, ўртаси кўтарилган ясси, юзаси ғадир будир (R-коллония)	Майда, юмалок, бўртган юзаси силлик, кирралари (S-коллония) текис	Майда, қуруқ, қора кулранг четлари нотекис (RS ёки SR яқин)
Бульонда ўсиши	Лойқатади, плёнка ҳосил қилади, чўкмага майда ёки катта-катта бўлакча бўлиб пробиркани тагига тушади	Лойқатади, қийинчалик бульон тиниқлашади ва майда бўлакча бўлиб пробиркани тагига тушади	Бир хил кўринишда лойқатади ва порошоксимон бўлиб чўкмага тушади

### Коклюш ва паракоклюш (кўкйўталларни) қўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси

Кўкйўтал қўзғатувчиси — *Bordetella avlodiga* (бироп бир оилага киритилмаган) мансуб бўлиб, буларга 3 та тур киради: *Bordetella pertussis*; *Bordetella parapertusis*; *Bordetella bronchoseptica*. Бордетеллалар ёш болаларнинг юқумли касаллигида муҳим роль ўйнайди.

Асосий касалликни юқори нафас йўллари яллиғланиши билан ва тўхтовсиз йўтал билан борувчи коклюш касаллигини *Bordetella parapertusis*

(кўкйўтал) келтириб чиқаради. *Bordetella parapertusis* эса одамларда паракоклюш (коклюшга ўхшаш) касаллик келтириб чиқаради. *Bordetella bronchoseptica* асосан ит, мушук, қуёнларни бурун ҳалқумида коклюшни эслатувчи респиратор касалликлар келтириб чиқаради. Кам ҳолларда одамларда респиратор касаллик келтириб чиқариши мумкин.

Бордателлаларнинг асосий ўзига хос хусусиятлари: майда грам манфий коккобактерия, хемоорганотроф, оксидлаш метаболизми устун туради, қабътий аэроб. Характерли хусусиятларидан бири улар ташқи муҳитга ўта чидамсиз ҳисобланади.

### **Услубий кўрсатмалар**

**Бактериоскопик текширув (8-схема).** *Bordetella pertussis* ни тезда аниқлаш ва идентификация қилиш учун иммун-флюоресцент усулдан фойдаланилади. Текширилувчи материал стерил пахтали тампон ёрдамида бемор боланинг бурун-ҳалқумидан олинади. Кичик ёшли болалардан эса, материал ингичка эгилувчан симлардан тайёрланган махсус тампонлар ёрдамида бурундан олинади.

Тампондан иккита суртма тайёрланади, улар ҳавода қуритилиб, алангада қотирилади. Биринчи суртмага флюоресценция қилувчи кўкйўталга қарши зардоб билан, иккинчисига эса парақўкйўтал (паракоклюш) зардоби билан ишлов берилади. Препаратлар люминесцент микроскоп остида кўрилади; бу ҳолда камида 50 та кўриш майдони текширилади. Ижобий ҳолларда *B.pertussisra* хос қора рангдаги хужайралар, улар атрофида эса, нурланувчи-ҳошия кузатилади.

**Бактериологик текширув. 1-кун.** Кўкйўталнинг лаборатория диагностикасида асосий усул ҳисобланади. Экиш учун материал бурун-ҳалқумдан тампон ёки «косачаларга йўталиш» усули (юқорида кўрсатилганидек) билан олинади. Бунинг учун бемор болаларда йўтал бошланган вақтда озиқа муҳитли очиқ ҳолдаги Петри косачасини оғизга яқин келтириб, 6—8 маротаба йўталгунга қадар ушлаб турилади. Материални тўғри ва барвақт олиш, кўкйўтал микробларини касалликни

бошланиш даврида юқори фоизларда беморлардан ажратиб олиш имконини беради.

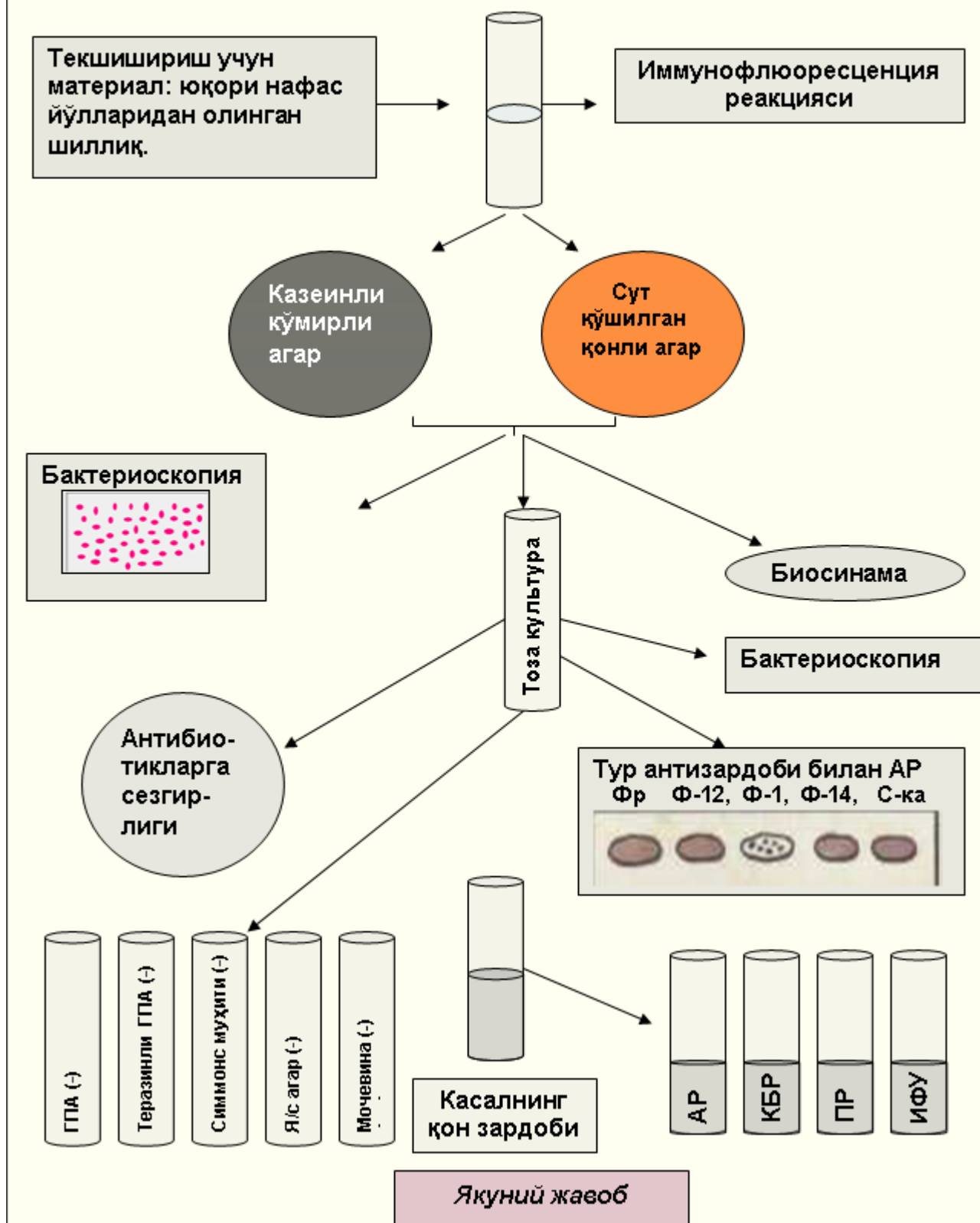
Тампон билан олинган материални кўмир қўшилган казеинли агар (КҚА), сут қўшилган қонли агар ёки картошка — глицеринли, қонли агарга (Борде-Жангу муҳитга) экилади. Ёт микрофлораларнинг ўсишини тўхтатиш учун озика муҳитларига пенициллин қўшилади. Экиш учун муҳитга тампон билан бир неча сектор қилинади, сўнг тампон айлантрилиб муҳит юзасига штрих қилиб экиб чиқилади. Экмалар термостатга 37°C 2-5 кун қўйилади.

**2- кун.** *V.pertussis* колониялари кўрсатилган муҳитларда одатда 48—72 соатдан сўнг, парақўкйўтал колонияларда эса бирмунча барвақт — 24—48 соатдан сўнг пайдо бўлади. Шунинг учун бир кунлик инкубация коклюш бактерияларини ўсишига етарли бўлмайди. Бордетеллаларни колониясини кўришда стереоскопик бинокуляр микроскопдан фойдаланилади.

**3-кун** Бордетеллалар стереоскопик бинокуляр микроскопда кўрилганда жуда майда (0,5-1 мм га яқин диаметрли) Борде-Жангу муҳитида гумбазсимон нам, ялтироқ, симоб ёки шудринг томчисини эслатадиган ва марвариддек товланадиган колониялар ҳосил қилади. КҚА да эса ранги бир оз кулранг бўлиши мумкин. Парақўкйўтал колониялар бирмунча йирик бўлади.

Охирги йилларда коклюшни ажратиб олиш жуда қийинчилик билан амалга оширилмоқда, чунки бемор болалар шифокорларга мурожат қилмасдан туриб, уйда ота-оналари антибиотиклар даволашади. Шунинг учун шифохонага тушган беморлардан *V.pertussis* ни ажратиб олиш фоизи жуда паст. Экмаларда методик кўрсатмаларда ёзилган қўзғатувчиларнинг кўплаб колониялари топилмайди. Шунини эътиборга олган ҳолда экмалар жуда аҳамият берилиб кўздан кечирилади, агар бирорта шубҳали колония топилса, муҳитнинг материал экилмаган жойига қовузлоқ билан суркаб

8 - схема. Кўкйўтал қўзғатувчиси келтириб чиқарган касалликларни микробиологик текширув усуллари



экиб колонияларини кўпайтириб олиш мумкин ёки қиялантриган КҚА дан соф культура ажратиб олишда фойдаланилади. КҚА да эса ранги бир оз

кулранг бўлиши мумкин. Паракўкйўтал колониялар бирмунча йирик бўлади.

Охирги йилларда коклюшни ажратиб олиш жуда қийинчилик билан амалга оширилмоқда, чунки бемор болалар шифокорларга мурожат қилмасдан туриб, уйдаёқ ота-оналари антибиотиклар беришади. Шунинг учун шифохонага тушган беморлардан *B.pertussis* ни ажратиб олиш фоизи жуда паст. Экмаларда методик кўрсатмаларда ёзилган кўзғатувчиларнинг кўплаб колониялари топилмайди. Шунини эътиборга олган ҳолда экмалар жуда аҳамият берилиб кўздан кечирилади, агар бирорта шубҳали колония топилса, муҳитнинг материал экилмаган жойига қовузлоқ билан суркаб экиб колонияларини кўпайтириб олиш мумкин ёки қиялантириган КҚА дан соф культура ажратиб олишда фойдаланилади.

Борде-Жангу ва сутли-қонли агарларда улар катта бўлмаган гемолиз ҳалқасини ҳосил қилади. Шубҳали ўсган колониялардан суртма тайёрлаб, Грам усулида бўяб, микроскоп остида кўрилади. Суртмаларда овоид (тухум) шаклдаги грамманфий таёқчалар кўрилганда (8-схема), кўкйўтал ва паракўкйўтал зардоблар билан агглютинация реакцияси қўйилади. Сўнгра шубҳали колониялардан бордетеллаларнинг соф культурасини ажратиб олиб, келгусида ўрганиш учун пробиркалардаги дифференциал муҳитларга экилади (53-жадвал).

**4-кун.** *B. pertussis* бошқа бордетеллалардан фарқ қилиб, оддий озиқли агарда ўсмайди ва махсус озиқли муҳитларда ўсганда рангини ўзгартирмайди.

**Уреазани аниқлаш.** Бунинг учун агглютинацион (майда) пробиркаларга 0,3 мл 2% ли мочевина эритмаси, қовузлоқда микроб культураси аралаштирилади ва 2—3 томчи фенолфталеиннинг 0,1% спиртли эритмаси аралаштирилади. Агар реакция мусбат бўлса, 20—30 минутдан сўнг малина рангига бўялади, бу эса мочевивани уреазани парчалаганлигини кўрсатади.

**Тирозин синамасини кўйиш.** 0,1% тирозин кўшилган қиялантирилган ГПА текшириладиган культура экилади ва термостатга келгуси кунгача қолдирилади. Паракклюш бу муҳитда ўсади, муҳит жигар рангига киради, коклюш кўзғатувчиси тирозинли муҳитда ўсмайди.

## Бордетеллаларнинг дифферинциал (фарқловчи) белгилари.

Белгилари	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i> ;	<i>B. bronchoseptica.</i>
Харакатчанлиги	—	—	+
Цитратни ўзлаштириши	—	—	+
Уреаза ҳосил қилиши	—	+	+
Нитратларни редукцияга учратиши	—	—	+
ГПА ўсиши	—	+	+
Борде-Жангу муҳитида: 24-48 соатда ўсиши;	—	+	+
72-96 соатда ўсиши	+		
Гистаминга сичқони сезгирлигини ошиши	+	—	—
Махсус термолабил АГ: фактор 1	+	—	—
фактор 12	—	—	+
фактор 14	—	+	—

Бордетеллаларнинг серологик жиҳатдан ўзига хослигини, турларга ажралишини ва сероварларини аниқлаш учун буюм ойнасида тур махсусликка эга зардоблар ёрдамида агглютинация реакцияси қуйилади. Бунда 7-антиген (омил) авлод, 1-антиген фактор (омил) *B. pertussis*, 14-антиген *B. parapertussis* ва 12-антиген — *B. bronchiseptica* га тегишлидир.

Бактериологик текширув энг камида 5 кун давом этади.

Кўкйуталнинг бактериологик диагностикасида бордетеллаларнинг *Haemophilus* зотига кирувчи гемоглобинофил бактерия *Haemophilus influenzae* дан дифференциация қилишга тўғри келади. Инфлюэнц нафас йўлининг шиллик қаватларида учраб, айрим яллиғлантирувчи касалликларни келтириб чиқаради. *H. influenzae* бордетеллалардан фарқланиб, фақат қонли озиқли муҳитлар — қонли агар, таркибида Х фактори (гемин) ва V фактори (коэнзим дегидрогеназа) бўлган Левинталнинг «шоколад» агарларидагина

ўсади. Ажратиб олинган культураларни морфологик, культурал, биокимёвий ва серологик хусусиятларини ўрганиш асосида идентификация қилинади.

**Серодиагностика.** Агглютинация ва КБР асосан ретроспектив диагнозни аниқлаш учун ва кўкйўталнинг нотипик формаларини дифференциация қилишда қўлланилади. Беморлар қонида агглютининлар касалликнинг 3—4-ҳафтасида, 1:20 ва ундан юқори титрларда пайдо бўлади. Охирги йилларда иммунофермет усули (ИФУ) ишлаб чиқилган. Диагностик титри 1:20 ва ундан ортиқ ҳисобланади. Серологик диагностикада шунга аҳамият бериш зарурки, болалар кўкйўталга қарши оммавий вакцинация қилинганда (эмланганда) антителолар қонда топилиши мумкин. Шунинг учун АТ титрининг касаллик динамикасида маълум даражада ортиши диагностик аҳамиятга эга бўлади. Шунини ҳисобга олган ҳолда 4—5 кундан сўнг реакция яна қайта қўйилади, агар биринчи мартаба қўйилганда АТ титри икки боробар ёки ундан юқори бўлса диагноз қўйиш мумкин.

#### **Диагностика, пролфилактика ва даво препаратлари.**

**Шик токсини** бўғма бактерияларининг соф ҳолдаги экзотоксинидан иборат. У болаларда бўғмага қарши антитоксинли иммунитетни аниқлаш учун тери орасига юборилади. Агар болаларда иммунитет бўлса (антитоксик) киритилган жойда реакция кузатилмайди, бўлмаса қизариб реакция рўй беради.

**Адсорбция қилинган, тозаланган бўғма анатоксини (АД)** формалин билан зарарсизлантирилган, қиздирилиб, сўнгра тозаланган ва алюмин гидрат оксидида адсорбция ва концентрация қилинган (куюлтирилган) дифтерия экзотоксинидир. Бўғмага қарши актив эмлашда қўлланилади. Адсорбция қилинган бўғма — қоқшол (столбняк) анатоксинлари (АДС) ва АКДС таркибига киради.

**Бўғмага қарши антитоксинли зардоб.** Бўғма анатоксини билан бир неча марта эмланган от қонидан олиниб, диаферм — 3 усули билан тозаланади ва концентрацияланади. Зардоб фаоллиги халқаро бирлик

билан белгиланади. Бўғмани даволашда ва профилактика қилишда қўлланилади.

**Бўғмага қарши агглютинация қилувчи зардоб** (поливалентли ва типларга хос). Бўғма бактериялариини дифтероидлардан фарқлашда қўлланилади.

**АКДС вакцинаси.** Шимдирилган (адсорбция қилинган) кўкйўтал-бўғма ва қоқшол вакцинаси. Бу формалин ёки мертиолат таъсирида ўлдирилган кўк-йўтал бактериялари, алюмин гидроксидга шимдирилган, тозаланган, концентрация қилинган бўғма ва қоқшол анатоксинлари аралашмасидан иборат. Болаларни кўкйўталга, бўғмага ва қоқшолга қарши биргаликда эмлаш учун қўлланилади.

**Одамнинг нормал иммуноглобулини.** Бу одамнинг йўлдоши ёки вена қонидан олинган. Таркибида кўпчилик юқумли касалликларни қўзғатувчилари, жумладан кўкйўтал қўзғатувчиларига қарши специфик антителолар бор. Кўкйўтални даволашда ва пассив профилактикада қўлланилади.

Агглютинация ҳосил қилувчи, адсорбция қилинган (омилли) зардоблар. Кўкйўтал бактерияларини серологик дифференциация қилишда қўлланади.

## **Мавзу 24. Ҳаво-томчи инфекциялари: туберкулёз, мохов ва актиномикоз қўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

6. Силнинг микробиологик диагностикаси, схемаларини ўрганиш.
7. Силда бактериоскопик ва бактериологик текширувлар.
8. Мохов ва актиномикоз қўзғатувчиларининг диагностика, схемаларини ўрганиш
9. Мохов ва актиномикозда бактериоскопик, бактериологик ва серологик текширувлар.
10. Сил, мохов ва актиномикозларни даволашда қўлланиладиган диагностик, профилактик препаратлар.

### **Намойиш қилиш**

1. Силнинг соф культурасидан тайёрланган , Циль –Нельсен усулларида бўялган суртмалар.
2. Силнинг соф культурасидан ажратиб олишда қўлланиладиган, Hi Media Laboratories Pvt ltd компания тақдим этган лаборатория, техник воситалар ва озикли муҳитлар: клиник материални олиш (полипропилли бир марта қўлланиладиган пахтадан тайёрланган стерил тампонлар) воситалари; материални йиғиш ва лабораторияга етказиб беришда қўлланилувчи воситалар набори; озикли муҳитлар ва уларни тайёрлаш усулари.



3. Мохов ва актиномицитларнинг қўзғатувчиларининг соф культурасидан тайёрланган суртмалар.  
4. Актиномицитларнинг культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган озикли муҳитлар ва уларни тайёрлаш усуллари.

5. Сил, мохов ва актиномикозлар акс этирилган рангли расм, ведио фильм, албом ва схемалар.

6. Сил, мохов ва актиномикозларни даволашда, олдини олишда ва диагностикада қўлланиладиган препаратлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик.**

1. Сил касаллигида бактериосопик текширув. Сил микобактериялари морфологиясини ўрганиш мақсадида силга шубҳа қилинган бемордан олинган балғамидан препарат тайёрлаш, Циль-Нельсен усулида бўяш, микроскоп остида кўриш. Хулоса чиқариб, бактериоскопик диагнозни тасдиқлаш учун бактериологик текширув режаларини тузиш.

2. Сил касаллигида бактериологик текширув схемасини ўрганиш: -текширилувчи культурани Левенштейн—Иенсен муҳитида ўсиш характерини, ниацин синамаси натижаларини, сил микобактерияларининг антибиотиклар ва химиятерапевтик препаратларга бўлган сезувчанлигини аниқлашни замонавий усулларини. Силга қарши препаратларнинг турли концентрацияси қўшилган Левенштейн—Иенсен муҳитида микобактерияларнинг ўса олиши ёки ўса олмасликларини. Ўтказилган текширишлар асосида яқунловчи хулоса чиқариш.

3. *Actinomyces* зотига тахмин қилиниб, (Сабуро муҳитида) ажратиб олинган культуранинг морфологияси, культурал ва биокимёвий хусусиятларини ўрганиш натижасида олинган лаборатория маълумотларига кўра хулоса чиқариш.

4. Колиэнтерит ва иерсиниозларни бактериологик диагностикаси –биринчи босқич: колиэнтерит ва иерсиниозларга шубҳа қилинган бемор нажасини Эндо ва Левина муҳитларига экиш.

### **Сил касаллигининг микробиологик диагностикаси**

Сил касаллиги кўплаб мамлакатнинг соғлиқни сақлаш тизимида асосий муаммолардан бири бўлиб қолмоқда ва ўлим кўрсаткичини юқорилигини сақлаб келмоқда. Сил касаллиги қўзғатувчиси *Mycobacteriaceae* оиласига ва *Mycobacterium* авлодига мансуб бўлган кислота ва спиртларга чидамли, аэроб, ҳаракатсиз, тўғри ёки бироз эгилган грам мусбат таёқчасимон бактериялардир.

Микобактериялар таркибида 60% гача ёғлар ва мум тутади. Шунинг учун бу бактериялар грам усулида бўялмайди ва махсус усулларда бўялади. Тип хусусиятини намоён қилувчи тури *Mycobacterium tuberculosis* ҳисобланади. Микобактериялар табиатда жуда кенг тарқалган, баъзи маълумотларга қараганда уларни 200 ортиқ паразит ва сапрофит турлари маълум. Ҳозирги кунда 30 та тури яхши идентификация қилинган. Микобактерияларни ҳозирги кунда кенг

тарқалган классификацияси уларнинг иккита хусусиятига асосланади: колония рангига ва ўсиш тезлигига. Шу асосда уларни (Раньон) 5 группага бўлишади. Биринчи группасига патоген микобактериялар (*M.tuberculosis*, *M. bovis*, *M.microti*, *M. leprae*, *M. lepraemurium*) ва қолган 4 группасига эса атипик микобактериялар киритилган. Одамларда сил касаллигини асосан *M. tuberculosis* келтириб чиқаради, *M. bovis* қора молларда касаллик келтириб чиқаради ва одамлар учун ҳам патоген ҳисобланади. *M. leprae* эса мохов касаллигини келтириб чиқаради.

Касаллик асосан ҳаво-томчи йўли орқали, айрим ҳолларда меъда-ичак йўли билан ҳам юқиши мумкин. Асосий одам учун патоген бўлган микобактериялар жадвалда келтирилган.

Силнинг микробиологик диагностикасида қўлланиладиган асосий усуллар -схемада келтирилган.

### Услубий курсатмалар

Текшириш учун материал: балғам, экссудат, йиринг, меъда, бронхлардан ювиб олинган чайинди сувлар, ликвор, сийдик. Консервация қилиш ва бирга учрайдиган микрофлораларнинг ўсишини тўхтатиш учун, патологик материалга лабораторияга юборишдан олдин натрий фосфатнинг 10 фоизли эритмаси қўшилади.

Жадвал 54.

Секин ўсадиган патоген микобактерияларнинг биологик белгиси

Хусусияти	<i>M.tuber- culosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M.microti</i>	<i>M. leprae</i>	<i>M. avium</i>	<i>M.scrofu- lfceum</i>
Манбаси	Одам	Ҳайвонлар	Кемирувчи	Одам	Қушлар	Таш. муҳит
Одам учун патогенлиги	+++	++	±	+++	+	+
Касаллик кўриниши	Сил	Сил	Тери гра- нулёмаси	Мохов	Силга ўх- шаш	Лимфоденит- лар
Одадан- одамга юқиш мумкинлиги	Юқади	Жуда кам ҳолларда	Юқмайди	Юқади	Юқмайди	Юқмайди

Колониясини кўриниши	R- колония	Майда тиник ®	S-колония		S-колония	S-колония
Уреаза активлиги	+	+	+		-	+
Нитратларни тиклаши	+	-	-		-	±
Каталаза	-	-	±		±	+
Ниацини аккумуляцияси	+	-	-		-	-

**Бактериоскопик текширув (9-схема).** Сил касаллигини диагностикасида асосий усуллардан бири ҳисобланади. Балғам Петри косачасига солиниб, қора фон устига қўйилади. Қовузлоқ ёки ажратиб олувчи махсус шпателлар билан йирингли бўлакчалар олиниб, буюм ойначасининг бир чеккасига яқинроқ қўйиб, иккинчи ойнача билан эзиб, суртма тайёрланади. Лабораторияга келтирилган ликворни музлаткичга қўйиб тиндирилади, сил микобактериялари ва хужайра элементларидан ташкил топган нозик фибрин пардасидан олиб суртма тайёрланади.

Сийдик центрифуга қилинади, ҳосил бўлган чўкмадан суртма тайёрланади.

Сийдикдан тайёрланган препаратлар, сил микобактериясини, соғлом одам сийдигида учраши мумкин бўлган *M. smegmatis* дан дифференциация қилиш учун фақат кислота билангина эмас, балки спирт билан ҳам ишлов бериб рангсизлантирилади. Суртмалар Циль-Нельсен усулида бўялиб, микроскоп остида препаратдаги 100 тагача бўлган кўриш майдончаларидаги микроблар текширилади. Сил микобактериялари тўқ, қизил рангга бўялиб, якка ёки кичик тўдачалар ҳолида жойлашади (9-схемага қаралсин).

Суртмадан сил қўзғатувчисини топиш анча мураккаблик туғдиради, чунки бу усул билан топиш учун қўзғатувчи 1 мл балғамда  $10^5$  дан кам бўлмаслиги керак, ундан кам бўлса аниқлаш эҳтимоли камаяди, чунки битта

буюм ойнасида тайёрланган суртма майдони, иммерсион системада кўрилганда 10 000 кўриш майдонини ташкил қилади. Агар 1 мл микроблар сони кам бўлса биз кўраёган 100-200 кўриш майдонидан микроскопда сил кўзгатувчисини аниқлаш мумкин бўлмай қолади. Шу сабабли текширилувчи материалда сил микобактериялари ниҳоятда кам учраганда «бойитиш» усулидан фойдаланилади. Бу усулни асосини — гомогенизация ва флотация усуллари ташкил қилади.

Гомогенизация (майдалаш, эритиш) усули бир кеча-кундуз давомида йиғилган балғам миқдори стерил колбага солинади ва гомогенизация қилиш учун унга тенг миқдорда 1 % натрий ишқори (ёки антиформин) қўшилиб, колба резина пробка билан маҳкам ёпилади. 10—15 минут давомида чайқатилади. Центрифуга ва кислота билан нейтрализация қилингандан сўнг, чўкмадан суртма тайёрланади ва Циль-Нельсен усули билан бўялади.

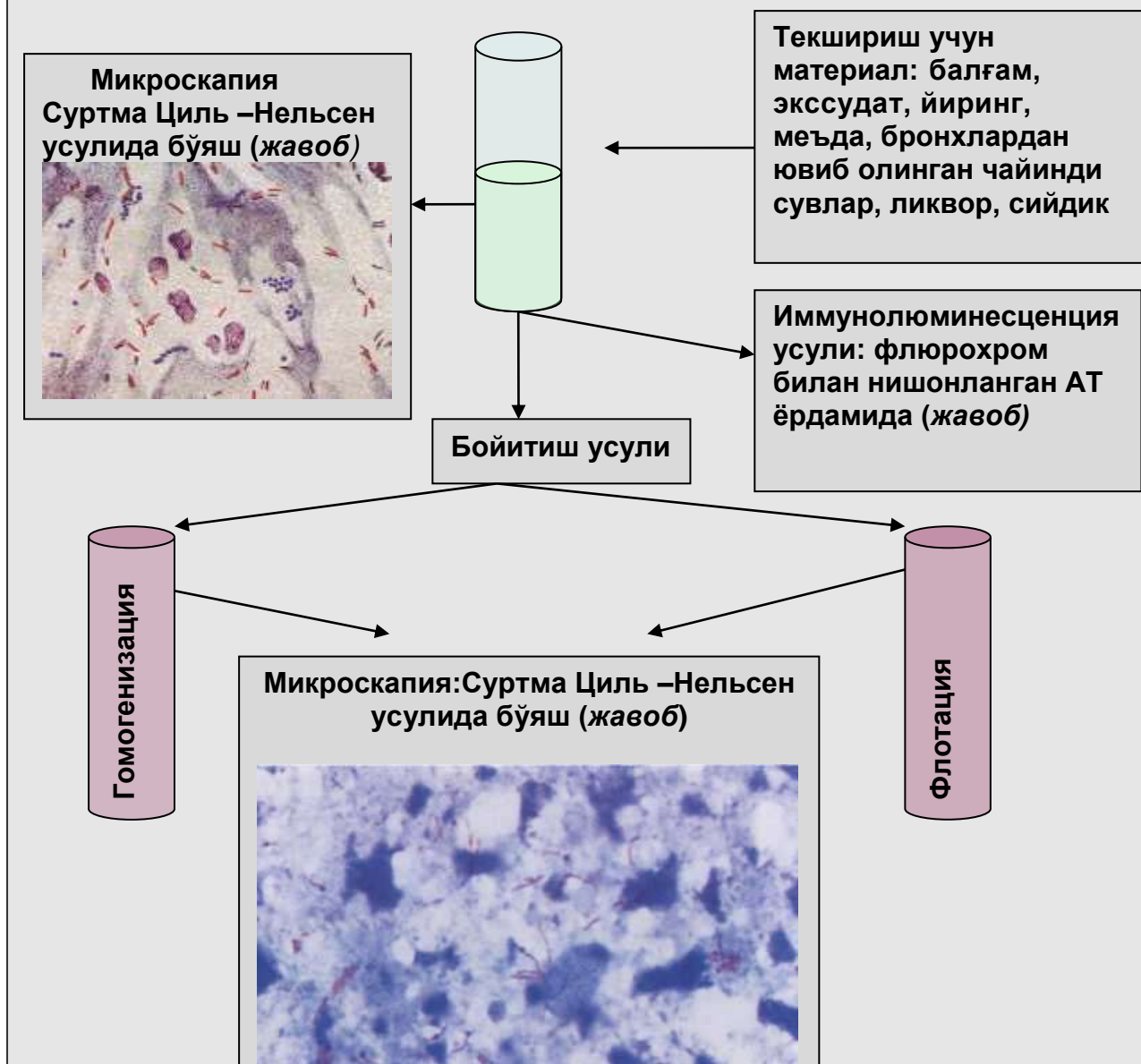
Флотация усули. Балғам гомогенизация қилинади ва 55°C да 30 минут давомида сув ҳаммомида қиздирилади. Сўнгра 1—2 мл ксилол, дистилланган сув солиниб 10 минут давомида қайтадан чайқатилади ва 20 минут уй ҳароратида қолдирилади. Натижада, юза сатҳида сузиб чиққан ксилол томчиларига микроблар бирлашган кўпик ҳосил бўлади.

Пипетка ёки қовузлоқ билан кўпиксимон қисми олиниб, бир неча буюм ойнасига суртиб, ундан суртма тайёрланади. Суртма эфир билан мойсизлантирилади, сунгра қиздириб фиксация қилинади ва Циль-Нельсен усули билан бўялади.

Люминесцент микроскопия усулини қўллаш, патологик материалда сил микобактерияларини кўп ҳолларда топиш имконини беради.

Микроскопик текширув усули тахминий бўлиб, текширилувчи материалда кислотага чидамли бактерияларни аниқлашга ёрдам беради. Аммо, уларнинг қайси тур ва типга тегишли эканлигини аниқлай олмайди.

9 - схема. Сил касаллигида бактериоскопик текширув



**Бактериологик текширув.** Силга диагноз қўйишда асосий усуллардан ҳисобланади. Экиш учун олдиндан  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  билан ишлов берилган текширилувчи материалдан фойдаланилади; ишлов берилмаган материал экишдан олдин 10% ли сульфат кислота ёки 4—6% ли  $\text{NaOH}$  эритмаси билан бир неча дақиқа бирга учрайдиган микроблардан озод қилши учун ишлов берилади, сўнгра кучли чайқатиб, центрифугаланади. Ҳозирги кунда бошқа микробларни контаминацияси учун Хай медия компанияси таклиф қилган “Микопрен” препаратидан фойдаланилади.

Микопрен ўз таркибида муколитик хусусиятга эга бўлган ва балғамни тез суюлтириб юборувчи N-ацетил- L- цистеин (NALC) тутати. Бошқа бактерияларни деконтаминациясини препаратга қўшилган NaOH бажаради, препарат таркибидаги фосфатли буфер ишқор таъсирини минимумга келтиради ва шу билан бир қаторда материални центрифуга қилганда микобактерияларни чўкиш эффективлигини оширади.

Препарат билан ишлов берилган текширилувчи материал махсус Хай медия компанияси таклиф қилган флакондаги қиялантирилган Левенштейн-Йенсен ( муҳит тайёр ҳолда чиқарилади, 1 коробкада 25 флокон бўлади) ёки бошқа муҳитларга экилади ( 9- схема).

Левенштейн-Йенсен муҳити янги тухум суспензияси, картошка уни, глицерин, аспарагин, калий дигидрофосфат, магний сульфати ва цитрати, малахит кўклари қўшиб тайёрланади. Финн-II муҳити бизнинг мамлакатимизда микобактерияларни ажратиш олишда иккинчи стандарт муҳит ҳисобланади. Левенштейн-Йенсен муҳити асосида тайёрланади, ундан фарқи L- аспарагин ўрнига глутаминат натрий ва тузлар шундай олинганки муҳитнинг охири  $pH = 6,3-6,8$  тенг бўлади ва Левенштейн-Йенсен муҳитига нисбатан анча юқори стабилликка эга. Экиланган флаконлар бир неча соат вертикал ҳолатда (экиланган материал бир меъёрда агар юзасига тарқалиши учун) сақланади ва  $37^{\circ}C$  да 3—4 кун горизонтал ҳолатда, сўнг қолган муддатга термостатда вертикал ҳолатда сақланади. Микобактериялари биринчи генерациялари айниқса секин ўсади.

Ушбу микобактерия культуралари грануляцияланган, нотекис оч-крем рангда бўлиб, ғадир-будур, куруқ парда кўринишида бўлади (схема 10).

Ажратиш олинган сил микобактериясини идентификация қилишда ва уни потенциал-патоген микобактериялардан дифференциация қилишда морфологик

10 - схема. Сил касаллигида бактериологик текширув

Текшириш учун материал: балғам, экссудат, йиринг, меъда, бронхлардан ювиб олинган чайинди сувлар, ликвор, сийдик. Бойитилган материал

Озиқли муҳитларга экиш



Левенштейн-Йенсен ва Финн 2



Гемолизланган цитратли қонда 7-14 кун ўстириш. Тез диагноз қўйиш (Прайс усули). Суртмалар Циль-Нельсен усулида бўялиб микроскопда кўрилади

Биосинама: денгиз чўчқачалари тери орасига 2-3 мл юборилади

Озиқли муҳитларда ўсиши



Корд фактор



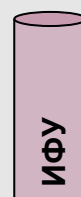
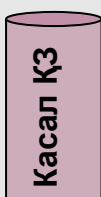
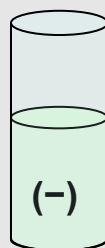
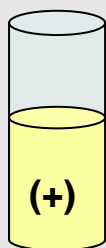
Мурда ёрилади паталогоанатомик текширув. Аъзолардан суртма тайёрлаш ва муҳитларга экиш

Антибиотикларга сезгирлиги



1-рН контроли 6,8; 2- рН контроли 5,5; 3-Изиниазид; 4- Этамбутол; 5-Пиразинамид; 6-Рифампицин; 7-Стрептомицин

Ниацин синамаси



ва тинкториал хусусиятлари (расм-78), озикли муҳитлардаги ўсиш муддатлари ва характери, биокимёвий белгилари ва лаборатория ҳайвонлари учун вирулентлик хусусиятлари ҳисобга олинади. Кўпинча биокимёвий белгиларидан текширилувчи культураларнинг никотин кислотани синтез қилиши (Кононин ниацин синамаси) аниқланади. Бу муҳим хусусиятлардан бири бўлиб, унинг ёрдамида никотин кислотасини яхши синтез қилувчи *Mycobacterium tuberculosis* ни бу кислотани кам миқдорда ҳосил қилувчи *M. bovis* таёқчаларидан фарқлаш мумкин.

**Ниацинни аниқлаш.** Бунинг учун суюқ муҳитдаги микобактериянинг культурасига 1 мл KCN ва 1 мл % ли хлорамин эритмалари қўшилади. Агар ниацин топилса, бир неча дақиқадан сўнг тиниқ.-сарғиш ранг пайдо булади. KCN нейтралланиши учун пробиркадаги натижалар кўрилгач, унинг таркибига 10% ли натрий гидрокарбонатидан 3—5 мл қўшилади.

Сил бактерияларига тез диагноз қўйиш учун Прайс микрокультура усули қўлланилади.

**Прайс микрокультура усулини қўйиш.** Бир неча буюм ойначасида (бир чеккасига яқин) текширилувчи материалдан қалин суртма тайёрланади. Суртма қуригач, унга бир неча минут давомида 2—6% ли сульфат кислота эритмаси билап ишлов берилади ва нейтрализация қилинади. Сўнгра буюм ойначалари флакондаги 1:4—1:8-суюлтирилган, гемолизланган цитратли қонга солинади ва термостатга қўйилади. 7—14 кундан сўнг буюм ойначалари олиниб, препарат фиксация қилинади, Циль-Нельсен усулида бўяб, микроскоп остида кўрилади (схема 10).

Вирулент штаммлари, кўриниши арқон ёки ўрилган сочга ўхшаш (корд-фактор) микрокультуралар ҳосил қилади.

Сил микобактерияларининг антибиотик ва химиятерапевтик препаратларга бўлган сезувчанлиги қатор суюлтириш усули орқали аниқланади.

Шу мақсадда биринчи ва иккинчи тартибдаги бактерияга қарши препаратларнинг турли концентрацияси 5, 10, 50 мкг/мл стрептомицин; 5, 10, 50 мкг/мл ПАСК; 1,5, 10, 25 мкг/мл тубазид; 30 мкг/мл циклосерин ва этионамидлар қўшилган пробиркалардаги Левенштейн — Йенсен муҳитига 0,1 мл сил микобактерия суспензияси экилади. Натижалар инкубациянинг



12—21-куни кўрилади. Сил микобактериялари чидамлилигининг клиник чегаралари: стрептомицин — 5 мкг/мл, ПАСК — 10 мкг/мл, тубазид — 1 мкг/мл, циклосерин ва этионамид — 30 мкг/мл. Ҳозирги кунда Сил кўзғатувчиларини хемопрепаратларга сезгирлигини ўрганиш учун препаратлар набори тутувчи қиялантирилган Левенштейн-Йенсен муҳити чиқарилади (схема 10). Текшириладиган культуралар флакондаги препарат тутувчи муҳитларга экилади. Препарат таъсири текшириладиган культуранинг чидамлилигининг клиник чегарасидан юқори бўлса сил таёқчалари ўсмайди, таъсири паст бўлса ўсиши давом этади.

**Биосинама.** Бу усул текширилувчи материал юборилган ҳайвон аъзоларидан сил микобактериясининг соф культурасини биринчи диагноз қўйишдаёқ ажратиб олиш, ҳамда уларнинг вирулентлик хусусиятини аниқлашда қўлланилади.

Текширилувчи материалга ёт микрофлорадан қутилиш мақсадида сульфат кислота билан ишлов берилади, нейтралланади, туберкулин реакцияси манфий бўлган денгиз чўчқачаларига 2—3 мл миқдорда териси остига юборилади. Агар улар 4 ойдан сўнг ҳалок бўлмаса, у ҳолда ўлдирилади, ёрилади ва органлари макро ва микроскопик усул билан текширилиб, озиқли муҳитларга экилади. *M.tuberculosis* денгиз чўчқачалари учун юқори патогенлик хусусиятига эга, қуёнларга эса кам патогендир. *M.bovis* эса, денгиз чўчқачалари ва қуёнларга нисбатан патоген эмас.

**Серодиагностика.** КБР ва ПГАР лари қўлланилади. Мусбат натижалар организмда сил касаллиги авж олган пайтда ҳамда сил микобактериялари организмда бўлган тақдирда ва БЦЖ билан эмланганда қайд этилади.

**Тери-аллергик** синама. Туберкулин — сил микобактериясидан олинган соф оқсил фракциясидан иборат бўлиб, одамлардаги аллергия ҳолатни характерлаш учун касаллик юққан ёки юқмаганлигини аниқлаш, силнинг юққанлигини, кечиш жараёнини билиш, эмлашнинг самарадорлигини аниқлашда, силга қарши ревакцинация (қайта эмлаш) ўтказишда контингентларни танлаш мақсадларида қўлланилади. Туберкулин тери орасига қатъий белгиланган дозада юборилади. Реакция натижалари 24—48 соатдан сўнг ҳосил бўлган қизариш (гиперемия) ва папулалар асосида аниқланади ( бб-расмга қаралсин).

**M.leprae.** Мохов (проказа) сурункали юқумли касаллик бўлиб асосан терининг ёпқич қавати эндодерма ва периферик нерв системасини жароҳатланиши билан боради.

Моховнинг микробиологик диагностикаси асосан бактериоскопик ва гистологик кесмаларни бўйб кўришга асосланган. *M.leprae* озикли муҳитларда ўсмайди, лекин охириги йилларда баъзи бир маълумотларда моховнинг

бактериологик усулда ажратиб олинганлиги эълон қилинмоқда.

Лаборатория ҳайвонлари ҳам *M. leprae* га сезгир эмас,

экспериментал касаллик келтириб

чиқариб бўлмайди. 1974 йилда

Сторрса ўз муаллифдошлари билан

армадил броненосларда мохов

касаллигини экспериментал

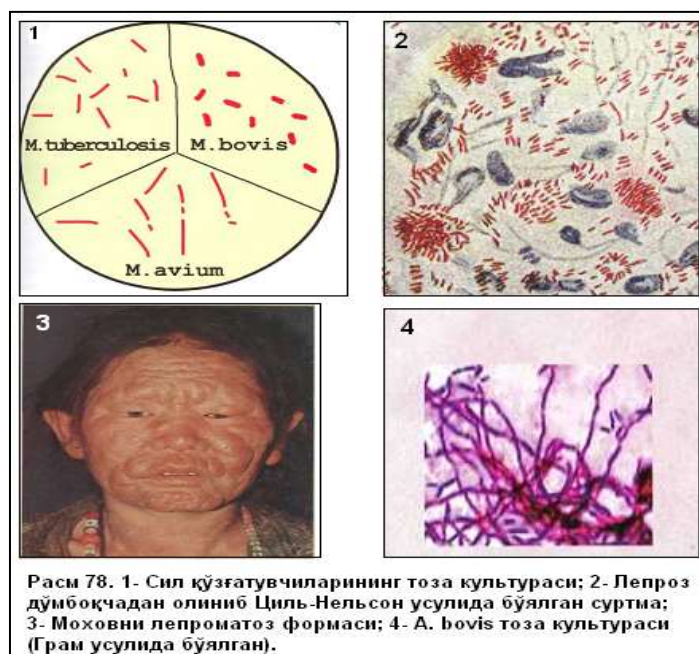
келтириб чиқарганлигини эълон

қилди. 40 % ҳайвонларда моховни

тарқалган формаси келиб чиққан ва моховни тўқималардаги миқдори одамнинг тўқималарида учраши эквивалентидан 100 мартаба кўп бўлган.

**Моховни микроскопик диагностикаси.** Кўпчилик мутахассисларнинг фикрича, микроскопик усулда мохов микобактериялари топилмаса, даволовчи шифокор касалликнинг клиник манзарасига қараб диагноз қўйиши мумкин (расм 78). Аммо лаборатория текширувида мохов микобактериясининг топилиши диагноз аниқ бўлишини таъминлайди.

Моховнинг лепроматоз хилида бошқа хилларига нисбатан микобактериялар кўпроқ топилади. Юқори нафас йуллари, масалан, бурун шиллиқ қаватидан олинган суртмалардан препарат тайёрланади. Бунинг учун бурун бўшлиғи яхшилаб тозаланади, буни беморнинг ўзи бажарса ҳам бўлади. Сўнгра аввалдан тайёрлаб кўйилган дока тампон ўралган таёқчалар билан буруннинг ички деворидан суртмалар олинади ва бир нечта буюм



ойнасига қалинлиги бир хил қилиб суртилади. Бурундан одатдаги ажраб турган шилимшиқни олиш ярамайди. Уларда мохов микобактерияси жуда кам ёки умуман бўлмаслиги мумкин. Суртмаларни олишда жуда эҳтиёт бўлиш ва бурун деворини шикастлаб қўймаслик керак. Акс ҳолда суртмага қон аралашиб, микобактерияларни топиш мушкуллашади.

Мохов микобактерияларини топишда зарарланган тери туки пиёзининг суюқлигидан тайёрланган суртмаларни микроскоп остида текшириш яхши натижа беради. Терининг зарарланган қисмидан тўқима суюқлигини олишдан аввал шу жой спирт ёки эфир билан яхшилаб артиб тозаланади. Бунда биринчидан, асептикага риоя қилинса, иккинчидан, теридаги кислоталарга чидамли баъзи сапрофит микобактериялардан тозаланади.

Мўлжалланган тери сатҳини чап қўл бармоқлари билан қисиб туриб, стерилланган ўткир жарроҳлик пичоғи (скальпел) билан узунлиги 5 мм, чуқурлигини 2,5—3 мм қилиб тилинади. Сўнгра ажралган суюқликни скальпелда қириб олиб, буюм ойнасида бир неча суртмалар тайёрланади.

Қисиб турган бармоқлар қўйиб юборилганда тилинган жойдан одатда бир оз қон чиқиб туради, бу тилиш туғри бажарилганидан далолат беради. Тўқима суюқлиги қош, пешона, кулоқ супраси, бел ва думба соҳасида жойлашган лепромалардан олинади. Ярага айланган лепромалардан ҳам суртмалар тайёрлаш мумкин. Суртмалар Циль—Нельсон усулида бўялади. Аммо мохов микобактериялари сил микобактерияларига нисбатан кислоталарга чидамсиз бўлиб препаратни рангсизлантиришда эҳтиёт бўлиш керак. Бўялган суртмаларда мохов микобактериялари қизил ёки пушти рангда бўлиб, тўда-тўда (расм -78), баъзан эса якка-якка ҳолда жойлашади. Сил микобактериялари бурчак ёки рим ҳарфи шаклида кўринса, мохов микобактериялари параллел таёқчалар шаклида бироз узунроқ бўлиб кўринади.

Суртмада мохов микобактерияларини топиш асосан текширилаётган материалдаги мохов бактерияларининг миқдорига боғлиқ. Уларни топиш учун текшириладиган 1 мл материалда камида 10.000—100.000 микобактерия

бўлиши керак. Бунинг учун битта суртмада 60— 100 та кўриш майдонини кўздан кечириб чиқиш керак. 1—2 дона микобактерияларни топиш диагнозни тасдиқлай олмайди. Кўриш майдонидаги микобактериялар сонини схема буйича қуйидагича белгиланида: 0—микобактериялар йуқ, + шубҳали, кўриш майдонида 1—2 та бор, ++ кўриш майдонида анчагина, + + + кўриш майдонида жуда кўп.

Текширишни бир неча марта такрорлаган маъқул. Ишлатилган асбоблар ва буюм ойналари аввал алангада, сўнг автоклавда стерилланади.

### **Актиномикознинг микробиологик диагностикаси**

Актиномикоз кўзгатувчилари *Actinomyces bovis*, *Actinomyces israelii* лардир. Улар ўпка, баъзан бошқа аъзо ва тўқималарни шикастловчи касалликларни авж олдиради.

Актиномикознинг лаборатория диагностикасида асосан бактериоскопик ва бактериологик текширув усуллари қўлланилади.

### **Услубий кўрсатмалар**

Текшириш учун материал: ажралаётган йиринг, балғам, сийдик, пунктат ва шикастланган ўчоқларнинг ёпиқ ва чуқур қисмидан олинган тўқима биоптатлари.

**Микроскопик текширув.** Патологик материалдаги шубҳали қаттиқ бўлакчалар 10—20% ли гидрокарбонат натрий эритмаси томчисига қўшилиб бироз қиздирилади ва «эзилган» томчи препарати тайёрланади, сўнгра 8 ва 40 объективи ёрдамида микроскоп остида кўрилади. Мусбат ҳолларда препаратларда актиномицетлар атрофи зич ипсимон, нурсимон хужайралар билан ўралган доначали друзлар шаклида кўринади. Друзлар билан бирга нотекис бўялган шохсимон алоҳида жойлашган граммусбат бактериялар ҳам учрайди. (расм 78)

**Бактериологик текширув.** Актиномицетлар факультатив аэроб ва анаэроб бактериялар ҳисобланади. Анаэроб усулда ўстирилганда мухитда  $\text{CO}_2$  миқдорини кўп бўлишини талаб қилади. Хемоорганотроф бўлиб углеводларни ферментацияга учратади ва уксус, чумоли, янтар ва сут кислоталари ҳосил

қилади. 35-37° С яхши ўсади. Текширилаётган патологик материал Сабуро, Чапека, Қонли агар ва Сахарозали агарларга экилади ва термостатга қўйилади, анаэроб шароитда ҳам ўстириш мумкин. 7-10 кундан кейин кўзга кўринувчи колониялари шаклланади. Микроколониялар тарқалган структурага эга бўлиши ёки донадор марказдан периферияга шохланувчи ипчаларнинг тарқалиши характерли белгилар бўлиб ҳисобланади. Етилган колониялар ясси, ғадир-будир, нотекис ёки пардали бўлиши мумкин. Колонияларни субстракт мицелалари яхши ривожланган шунинг учун қовузлоқ билан олинганда, культура қовузлоққа чиқмайди, агар билан қўшилиб чиқади. Колониялар характери ва ҳужайралар морфологияси кўпинча текширилувчи культурани *Actinomyces* зотига киритиш имконини беради.

Культураларни туригача идентификация қилиш уларнинг биокимёвий ва антигенлик хусусиятлари асосида олиб борилади (55-жадвал).

Иммунфлюоресцент усул билан текшириш тез ва специфик натижалар беради.

**Серодиагностика:** КБР бемор қони зардоби ва кўп валентли актинолизатдан иборат антиген билан қўйилади. 80% беморларда мусбат реакция кузатилади.

Жадвал 55.

Актиномицет авлоди вакилларининг дифференциал белгилари

Белгилари	<i>A. bovis</i> ,	<i>A. israelii</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>A. naeshundii</i>
Аэроб шароитда ўсиши	+	–	+	+
Микроколонияси:				
ўргимчаксимон	–	+	+	+
силлик	+	–	–	–
Крахмални гидролизи	+	–	–	–
Каталаза	–	–	+	–
Уреаза	–	–	+	+
Арабиноза	–	+	–	–
Инозит	–	+	+	+
Ксилоза	–	+	–	–

Маннит	–	+	–	–
--------	---	---	---	---

**Тери аллергик синамаси.** Актиномицетлардан олинган экстракт билан қўйилади.

**Сил, мохов ва актиномикозларда қўлланиладиган диагностик, профилактик ва даво препаратлари.**

**Қурук соф туберкулин.** Микобактерияларнинг бульондаги культуралар филтратидан оқсилларни чўктирувчи кимёвий моддаларнинг қўшилиши, сўнгра тозаланиши натижасида олинган препаратдир. Тери аллергик синамасини (Манту реакцияси) қўйишда қўлланилади.

**БЦЖ вакцинаси** француз олимлари Кальметт ва Геренлар томонидан олинган бўлиб, сил микобактерияларининг нопатоген штаммини лиофил тарзда қуриштириб олинган тирик культурасидир. У силнинг махсус профилактикаси учун тери орасига (туғруқхонада 2- 5 кунлари 0.05 мг ёки 0,1 мл ) юборилади.

Силни даволаш учун қўлланиладиган антибиотик ва химиятерапевтик препаратлар. Биринчи тартибдаги силга қарши асосий препаратларга: стрептомицин, ПАСК ва ГИНК, тубазид, фтивазид, меназидлар; иккинчи тартибдаги препаратларга — циклосерин, канамицин, этионамидлар киради. Беморларни даволашда касалликнинг клиник характеристикаси ва сил микобактерияларининг дори препаратларига сезувчанлигини ҳисобга олган ҳолда одатда биринчи ва иккинчи тартибдаги препаратлар биргаликда қўлланилади.

**Актинолизат.** Актиномицетларнинг ўз-ўзидан эриган штамmlарининг бульонли культураси филтратидир. Махсус иммунотерапияда ва КБР учун антиген сифатида қўлланилади.

Ўлдирилган поливалент **актиномицет вакцинаси.** Актиномицетларнинг спора ҳосил қилувчи штамmlаридан тайёрланади. Даволаш мақсадида қўлланилади. Антибиотик ва химиятерапевтик препаратлар: тетрациклин, стрептомицин, левомецетин, ристомидин, канамицин, сульфаниламидлар.

## Ичак инфекциялари қўзғатувчилари

Ичак инфекциялари қўзғатувчилари Enterobacteriaceae оиласига киради. Бу оиллага ҳозирги кунда 20 дан кўпроқ авлодлар киритилган ва 100 ортиқ турлари маълум. Бу бактериялар вакиллари табиатда энг кўп тарқалган бактериялар ҳисобланади. Уларнинг баъзи авлодлари одам ва ҳайвонларда ичак инфекциялари қўзғатувчилари (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Iersinia*) ҳисобланса, баъзилари эса шартли патоген (*Proteus*, *Citobacter*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Morganella*, *Serratia*, *Ewingella*) қолган турлари (*Budvica*, *Leminorella*, *Cedecae*, *Kluuvera*, *Koserella*, *Rohnella*) сапрофитдир.

Жадвал 56.

Enterobacteriaceae оиласи бактерияларининг юқумли касалликлар келтириб чиқариши

Касалликлар	Қўзғатувчилари		Текшириш учун материал
	Кўп тарқалган	Кам тарқалган	
Ич кетиш (диарея)	<i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	<i>Iersinia</i> турлари	Нажас, тўғри ичакдан суртма ва қон зардоби (серодиогностикага)
Қорин тифи ва паратифлар	<i>S.typhi</i> , <i>S.para typhi</i> <i>A.B</i>	–	Нажас, қон ва суяк кўмиги
Ўлат	<i>Iersinia pestis</i>	–	Бубондан йиринг, қон, балғам
Септицемия	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> турлари	Қон
Бактериемия	<i>S.typhi</i> , <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> турлари	<i>I. pestis</i> ва <i>Shigella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i>	Қон
Менингит	<i>E.coli</i> ,	<i>S.typhi</i> , <i>Serratia</i> <i>Salmonella</i> , турлари	Орқа мия суюқлиги
Сийдик йўллари инфекцияси	<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i> турлари	Сийдик
Жароҳат инфекцияси	<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i> турлари	Йирингли ажралмалар
Юқори нафас йўллари касалликлари	<i>Klebsiella</i> , <i>Serratia</i> <i>Enterobacter</i> турлари ва <i>E.coli</i>	<i>S.typhi</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Iersinia</i> турлари	Балғам, плеврал суюқлик,, қон
Остеомиелит ва артритлар	<i>Salmonella</i> , <i>Iersinia</i> турлари	<i>Serratia</i> турлари	Синовиал суюқлик
Мезинтрал лимфоденитлар	<i>Iersinia</i> турлари	-	Мезинтрал лимфо тугунларидан биоптат

Энтеробактериялар асосан ҳаммаси грам манфий таёқчалар бўлиб, кўпчилик вакилларида перитрих хивчинлари мавжуд (ҳаракатчан), капсула ҳосил қилмайди (клебсиелла, иерсиниялардан ташқари) спораси йўқ. Энтеробактериялар аэроб ва факультатив анаэроб, кўпчилик вакиллари озикли муҳитларга талабчан эмас, оддий муҳитларда яхши ўсади. Хемоорганотроф, углеводларни ферментация йўли билан парчалаб, ўзлаштиришади. Шунинг учун бу группа бактерияларни “ферментация” қилувчи бактериялар гуруҳига классификацияда киритилган. Бу бактерияларда каталаза мусбат оксидаза манфий ҳисобланади.

Ичак юқумли инфекциялари қўзғатувчиларини аниқлаш катта диагностик ва эпидемиологик аҳамиятга эгадир.

Бу касалликнинг клиник диагнозини тасдиқлаб, бактерия ташувчиларни, юқиш манбалари ва ўтиш йўллари аниқлаш, эпидемияга қарши ўз вақтида чоралар кўриш имконини беради. Касаллик қўзғатувчининг турини аниқлашда бактериологик текширув асосий (баъзи ичак инфекцияларида қорин тифи, паратифлар, ич буруғ ва бош. эса ягона) усул ҳисобланади.

Чунки ичак касалликларининг клиник кечиши, ҳар доим ҳам аниқ диагноз қўйиш имконини бермайди.

## **Мавзу 25. Ичак инфекциялари: ичак таёқчаси ва иерсиниялар келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Ичак юқумли инфекциялари қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.
2. Энтеропатоген *E.coli* инфекциялари қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемасини ўрганиш.
3. Иерсиниозлар қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемасини ўрганиш.
4. Энтеропатоген *E.coli* ва иерсиниозларни серологик диагностикаси.
5. Энтеропатоген *E.coli* ва иерсиниозларда қўлланиладиган диагностика, профилактика ва даво препаратлари.

### **Намойиш қилиш**

1. Энтеропатоген *E.coli* ва иерсиниозларни тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.
2. Энтеропатоген *E.coli* ва иерсиниозларни тоза культурасини дифференциал озик муҳитларда ажратиб олинган культуралари.



3. Энтеропатоген *E.coli* ва иерсиниозларни биокимёвий хусусиятларини намоён этувчи калта ва узун Гисс қаторлари.

4. Агглютинация қилувчи *E.coli* ва иерсиниозларни поли ва моно рецепторли зардоблари, профилактик ва даволаш препаратлари.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Энтеропатоген *E.coli* диагностикаси: колиэнтритга шубҳа қилинган бемор материали экилган Эндо муҳитидаги ўсиш натижасини баҳолаш:

а) *E.coli* нинг культурал хусусияти, ўсиш характерига баҳо бериш;

б) суртмалар тайёрлаб Грам усулида бўяб, микроскоп остида кўриш;

в) шубҳали колониялардан олиб буюм ойнасида поливалентли ОК-антизардоблар (ОКА, ОКБ, ОКС, ОКД ва ОКЕ) билан агглютинация реакциясини қўйиш.

г) соф культура ажратиб олиш учун шубҳали колониялардан Клигер муҳитига экиш;

2. Ичак иерсиниози диагностикаси: ичак иерсениозига шубҳа қилинган бемор қонидан специфик антителоларни аниқлаш мақсадида иерсиниоз эритроцитар диагностикаси билан БГАР ни қўйиш.

3. Қорин тифи ва паратифлар диагностикаси: биринчи босқич – қорин тифи ва паратифларга шубҳа қилинган бемор нажасини Эндо ва Левин ва қонини Рапапорт муҳитларига экиш.

### **Энтеропатоген *E.coli* келтириб чиқарувчи касалликлар**

#### **диагностикаси.**

*E.coli* одам йўғон ичагини нормал микрофлораси ҳисобланади, лекин ҳозирда унинг кўплаб серологик типлари одам учун патоген ҳисобланади. 57-жадвалда касаллик келтириб чиқаруви серологик типлари келтирилган. *E.coli* нинг энтеротоксиген серовариантлари- одамда вабога ўхшаш диарея ва токсикоинфекцияларни келтириб чиқаради. Бу бактериялар термолабил ва термостабил энтеротоксин ишлаб чиқаради. Токсин ишлаб чиқаришини мўътадил фаглар бошқаради.

*E.coli* нинг энтеропатоген серовариантлари асосан болаларда диарея келтириб чиқаради. Ҳамма сероварлари плазмид тутаяди, бу плазмидлар ичак микроворсинкаларини эпителий хужайраларига бирикиб (адгезия) қилувчи махсус оқсил структуралари синтез қилади. Бу серовариантлари энтероинвазивлардан фарқ қилиб эпителий хужайраларига кирмайди. Касаллик болаларда оғир ўтади.

*E.coli* нинг энтероинвазив серовариантлари - одамда ичбуруққа ўхшаш касаллик келтириб чиқаради. Булар ичбуруққа ўхшаб ичакнинг эпителий хужайраларига кириб кўпаяди.

## E.coli ни одамларда касаллик келтириб чиқарувчи сероварлари.

Жароҳатлаши	С е р о г р у п п а л а р и		
	О - антиген	Н - антиген	К - антиген
Ичакда Энтеротоксиген (E.T.E.C)	O6, O8, O11, O15, O27, O63, O78, O80, O85, O114, O115, O126, O128 ac, O139, O148, O153, O159, O166, O167	H4, H7, H9, H11, H12, H19, H20, H21, H28, H40.	
Энтеропатоген (E.P.E.C)	O18, O26, O44, O55, O86, O111ав, O112, O114, O119, O125ac, O127, O128ав, O142, O158	H2, H6, H7, H11, H12, H14, H18	
Энтероинвазив (E.Э.E.C)	O28ac, O29, O112ac, O115, O124, O135, O136, O143, O144, O152, O164, O167,		
Энтерогеморагик (E.Г.E.C)	O26, O111, O157	H6, H7, H8, H11	
Сийдик таносил йўлларида касаллик келтириб чиқарувчи (E.coli)	O1, O2, O4, O6, O7, O8, O11, O18, O22, O25, O62, O75	-	K1, K2, K5, K12, K13.
Бактериemia келтириб чиқарувчи (E.coli)	O1, O2, O4, O6, O7, O8, O9, O11, O18, O22, O25, O62, O75,	-	K1, K2, K5, K12, K23,
Менингит келтириб чиқарувчи (E.coli)	O1, O6, O7, O16, O18, O83	-	K1

E.coli нинг энтерогеморагик серовариантлари эса одамларда оғир ўтувчи геморрагик колитни келтириб чиқаради.

Бу касалликларнинг микробиологик диагностикаси фақатгина бактериологик усулларда аниқланади. Бактериоскопик ва серологик усуллар қўлланилмайди. Бактериологик текширув.

**1 кун.** Касаллардан патологик материал (нажас, сийдик, қон, қусуқ, секцион материал ва бош.) махсус бойитувчи, кўпайтирувчи муҳитли (глицеринли аралашма, селенитли муҳит) тампонли пробиркаларга йиғилади, пробиркалар албатта резина қалпоқча билан маҳкам беркитилган бўлиб, лабораторияга жўнатилади (11- схема). Материал тампонни ўзи билан ёки

қовузлоқ билан Эндо, Плоскирев, Левин муҳитларидан бирига экилади ва термостатга 37° С да келаси кунгача қолдирилади.

**2-кун.** Материал экилган муҳитлар термостатдан олиниб кўздан кечирилади. Эндо муҳитида ичак таёқчалари лактозани парчалашига қараб икки хил рангда колониялар ҳосил қилади. Лактозапозитив (лактозани парчалайди) колонияси тўқ қизил рангда (асосан нормал *E.coli*) ва лактозанегатив (лактозани парчаламайди) колонияси рангсиз оқ пушти рангда бўлади. Асосан энтеропатоген ичак таёқчалари иккинчи типдаги колониялар ҳосил қилади.

Жадвал 58.

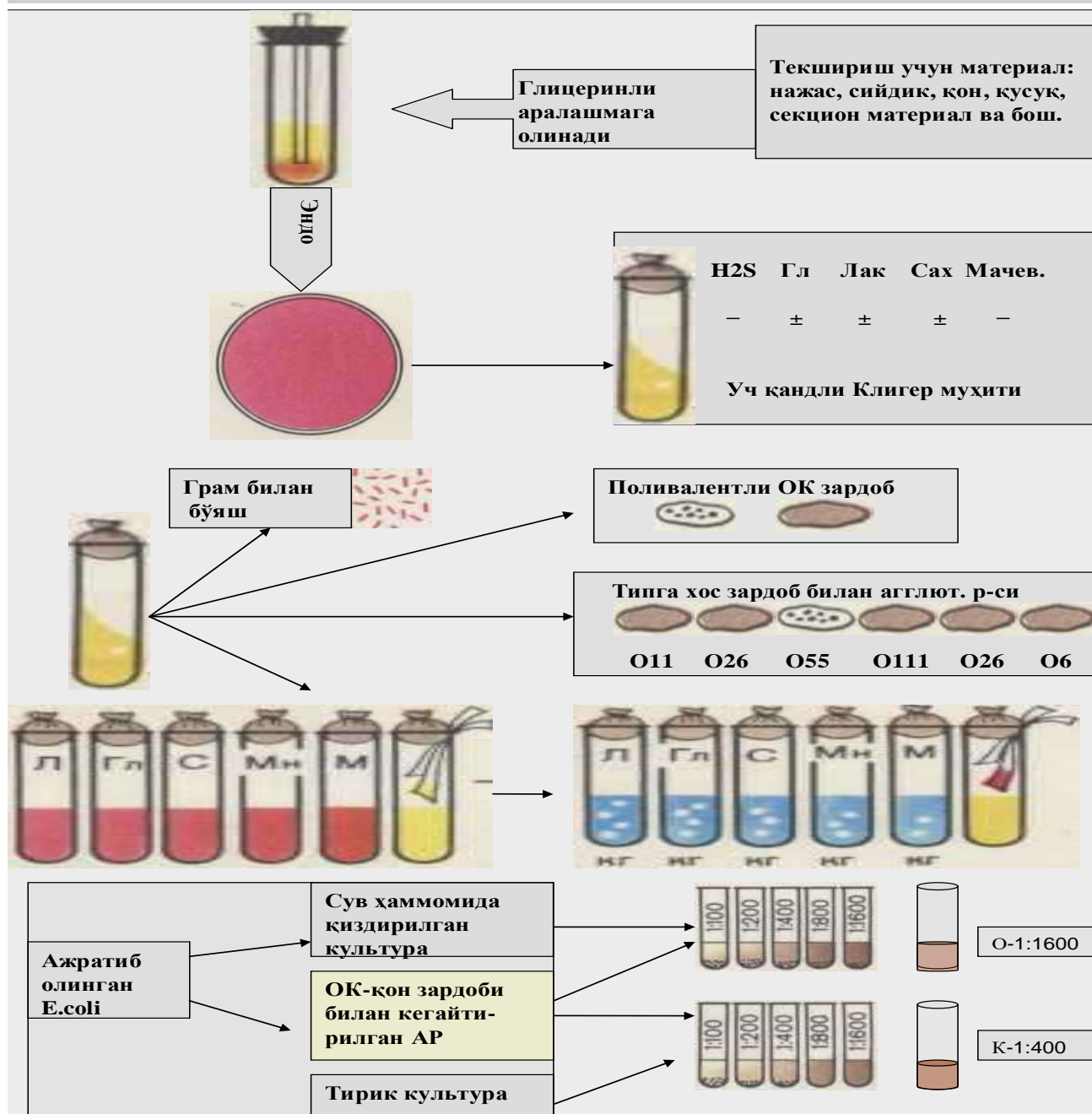
*E.coli* нинг асосий биокимёвий хусусиятлари

Симмонс цитрати	–	Кристенсен цитрати	±	Инозит	±
Уреаза	–	Ацетон ҳосил қилиши	–	Ксилоза	±
Натрий малонат	–	Желатина гидролизи	–	Лактоза	±
H <sub>2</sub> S	–	Аргинин дегидролаза	±	Маннит	±
Фенилаланин	–	Орнитин декорбаксилаза	±	Рамноза	±
Натрий ацетат	–	Адонит	±	Рафиноза	±
Ҳаракатчанлиги	±	Арабиноза	±	Салицин	±
Лизин декорбаксилаза	±	Глюкоза	±	Сахароза	±
Метилен қизил б-н реак.	+	Дульцит	±	Сорбит	±

бўлади. Асосан энтеропатоген ичак таёқчалари иккинчи типдаги колониялар ҳосил қилади. Шубҳали колониялардан суртма тайёрлаб грам усулида бўяб кўрилади. Суртмада грам манфий тартибсиз жойлашган таёқчалар (ичак таёқчаси ичбуруғ, қорин тифи кўзгатувчиларидан морфологик жиҳатдан фарқ қилмайди) топилади. Келгуси диагностик режаларни чамалаш (ориентация) мақсадида шубҳали колониялар билан буюм ойнасида поливалентли ОК –

антизардоб билан чамали агглютинация реакцияси қўйилади. Агглютинация реакцияси камида 10 та шубҳали колониялар билан қўйилади, мусбат натижа

### Схема 11. Энтеропатоген E.coli нинг микробиологик диагностикаси



бўлса даслабки чамали жавоб берилади. Тоза культура ажратиб олиш учун бир нечта агглютинация мусбат колониялардан уч қандли Клигер муҳитига экилади ва термостатга қўйилади.

**3-кун.** Клигер муҳити кўздан кечиради. Бу муҳитда нормал ичак таёқчалари углеводларни (глюкоза, лактоза ва сахароза) кислота ва газ ҳосил қилиб парчалайди, муҳитни ранги сомон рангига киради, кўп газ ҳосил

қилганлиги учун агар устунчалари ёрилиб кетади. Водород сульфид ва мочевиани парчаламайди. Бундай культуралар билан чамали поливалентли зардоб билан агглютинация реакцияси қўйилади, манфий бўлса текшириш тўхтатилади. Энтеропатоген ичак таёқчалари кўпинча лактозани сахарозани парчаламайди, глюкозани эса кислота ҳосил қилиб, газсиз парчалайди. Булар билан ҳам чамали поливалентли ОК зардоб билан агглютинация реакцияси қўйилади, агар мусбат бўлса алоҳида (ОКА, ОКВ ва х.к) сероидентификация қилинади. Мусбат натижа олинган ҳолда, пробиркаларда тегишли ОК зардоблар билан кенгайтирилган агглютинация реакцияси қўйилади.

**Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш.** Бунинг учун икки қаторда агглютинация берган ОКА ёки ОКВ қон зардоблар суюлтирилади 1:1600 мартабагача (схема 11). Биринчи қатордаги пробиркаларга текширилувчи *E.coli* нинг тирик культура суспензиялари, иккинчи қаторга эса шу культурани сув ҳаммомида олдиндан бир соат давомида қиздирилган культуралари ( 2-млрд.ли культурадан 2-3 томчи томизилади) қўшилади. Чунки ичак гуруҳи бактерияларида О-Аг ни юзасидан К-капсула антигени ўраб туради, бундай культуралар билан агглютинация реакцияси қўйилса, реакция манфий бўлиши мумкин, К-Аг ташқи юза томонда О-Аг ни тўсиб қўяди. О-Аг термостабил, К-Аг эса термолабил 70-80° С парчаланиб кетади. Бундай қиздирилган культура билан О-Аг аниқлаш мумкин. Реакция мусбат бўлса кенгайтирилган Гисс муҳитларида биокимёвий хусусиятларини ўрганиш учун экилади ва антибиотикларга сезгирлигини ўрганилади.

**4-қуни** ҳамма олинган натижалар ўрганилиб керак бўлган тақдирда қўшимча биокимёвий хусусиятлари ўрганилади (жадвал 58) ва якуний жавоб берилади.

#### **Иерсинозлар микробиологик диагностикаси**

Иерсинозлар *Iersinia* авлодига мансуб бўлиб, ташқи муҳитда кенг тарқалган, табиий ҳолатда улар кўпроқ ҳайвонларда, жумладан кемирувчиларда ва одамларда касаллик келтириб чиқаради. Шунинг учун уларниг ҳаммасини биринчи манбаси табиатда ҳайвонлар, кемирувчилар (зооноз касалликлар) ҳисобланади, одамлар иккиламчи манбаси бўлиши мумкин. Булар хемоорганотроф, оксидаза манфий ва каталаза мусбат бактериялардир. Булардан *I. pestis* ўлат, *I. pseudotuberculosis* – псевдотуберкулёз ва *I. enterocolitica* – энтерокалит касалликларини келтириб чиқаради.

**I. enterocolitica** табиатда жуда кенг тарқалган, уларни таббий шароитда ажратиб олиш (ҳашоратлар, моллюскалар, совуқ қонлилар, қушлар, кемирувчилар, ит, мушук, хонаки ва ёввойи ҳайвонлар) мумкин. Одамларда асосан куз-қиш ойларида касаллик гастроэнтерит кўринишида ўтади. I. enterocolitica О-Аг бўйича 34 та сероварлари учрайди, Одамларда асосан О3 ва О9 сероварлари ва кам ҳолларда О5-О8 сероварлари касаллик келтириб чиқаради.

**I. pseudotuberculosis** нинг таббий манъбаси асосан хонаки ва ёввойи ҳайвонлар ҳисобланади. Касаллик одамларда ўткир мезинтериал аденит кўринишида ўтади, кўпроқ аппендицит синдромлари кузатилади.

Жадвал 59.

#### Иерсинозларни дифференциал белгилари

Белги ва хусусиятлари	I. pestis	I. pseudotuberculosis	I. enterocolitica
Ҳаракатчанлиги	–	+	+
Индол ҳосил қилиши	–	–	±
Ацетон ҳосил қилиши	–	–	±
Симмонс цитрати	–	–	–
Уреаза активлиги	–	+	+
Орнитин декорбасилаза	–	–	+
Мелибиозани парчалаши	±	+	–
Рамноза парчалаши	–	+	–
Рафиноза парчалаши	–	±	–
Мукатни парчалаши	–	–	–
Сахароза парчалаши	–	–	+
Сорбит парчалаши	–	–	+

#### Бактериологик текширув.

**1 кун.** Касаллардан патологик материал (нажас, сийдик, кон, кусук, секцион материал ва бош.) махсус бойитувчи кўпайтирувчи муҳитли (глицеринли аралашма) тампонли пробиркаларга йиғилади, пробиркалар албатта резина қалпоқча билан маҳкам беркитилган бўлиб, лабораторияга жўнатилади. Материал тампонни ўзи билан ёки қовузлоқ билан Эндо, Левина муҳитларини бирига экилади ва термостатга 37°C да келаси кунгача қолдирилади.

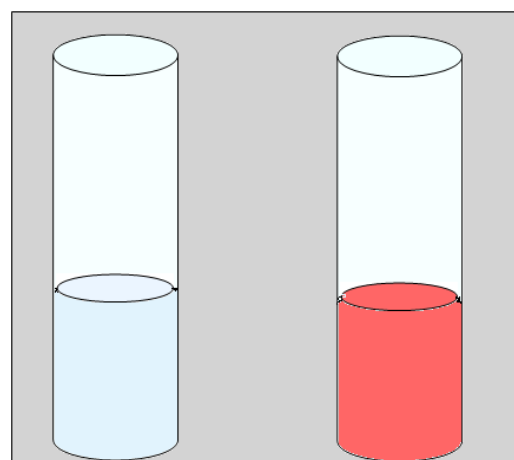
**2-кун.** Материал экилган муҳитлар термостатдан олиниб кўздан кечирилади. Эндо муҳитида *I. enterocolitica* лактозани

парчаламайди, шунинг учун рангсиз оқ пушти рангда S-колония ҳосил қилади. *I. pseudotuberculosis* эса Эндо муҳитида рангсиз оқ пушти рангда R-колония ҳосил қилади.

Шубҳали колониялардан суртма тайёрлаб грам усулида бўяб кўрилади. Суртмада грам манфий тартибсиз жойлашган овоид биполяр бўялган таёқчалар топилади.

Тоза культура ажратиб олиш учун бир нечта шубҳали колониялардан уч қандли Клигер муҳитига экилади ва термостатга қўйилади.

**3-кун.** Клигер муҳити кўздан кечирилади. Бу муҳитда ҳар иккаласи ҳам углеводлардан глюкозани кислота ҳосил қилиб парчалайди ва уреаза мусбат бўлади. Иерсиниозларни бир-биридан идентификация қилиш учун биохимик хусусиятлари (жадвал 59) ўрганилади. *I. enterocolitica* ни псевдотуберкулёздан фарқлашда Фогес-Проскауэр реакцияси (ацетон ҳосил қилиши) турли температурали режимда қўйилади. *I. enterocolitica* 25°C да ўсганда Фогес-Проскауэр реакцияси мусбат, 37°C эса маънфий бўлади. *I. pseudotuberculosis* ҳар қандай температура режимида ҳам ацетон ҳосил қилмайди. Реакцияда *I. enterocolitica* муҳитдаги глюкозани ацетон (ацетилметилкарбинол) ҳосил қилиб



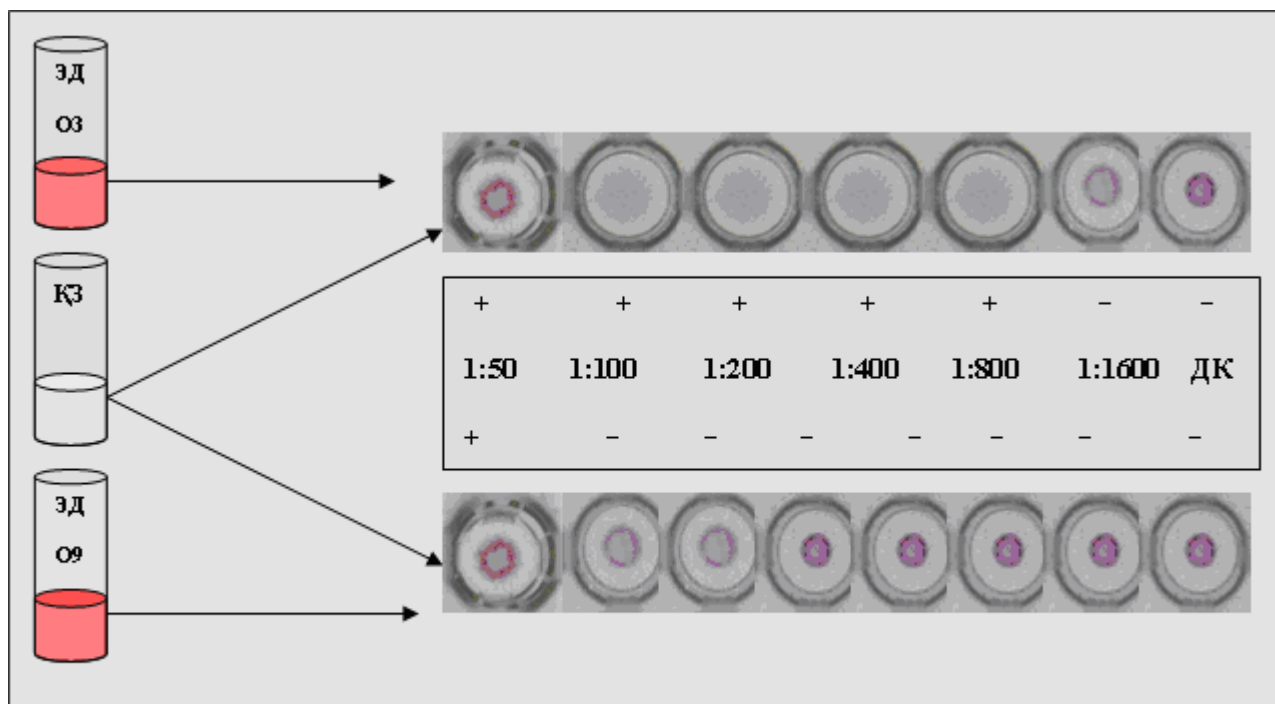
Расм 79. Фогес-Проскауэра реакцияси *I. enterocolitica* культураси билан. 37°C да (чапда) маънфий ва 25°C да ўсганда (ўнгда) мусбат.

парчалайди ва муҳит таркибидаги  $\alpha$ -нафтол билан бирикиб муҳитни қизил рангга киритади (расм 79).

Қўзғатувчиларни охиригача идентификация қилиш учун О- ва Н агглютинацияга учратувчи қон зардоблари билан агглютинация реакцияси

қўйилади. Қон таркибидаги АТ аниқлаш учун серологик реакциялар (АР, БГАР ва ИФУ).

Қон таркибидаги АТ ни *I. enterocolitica* эритроцитар диагностиками ёрдамида БГАР аниқлаш. Реакция пробиркаларда ёки микропланшеткаларда қўйилади. Текширилаётган қон зардобни пробиркаларда (1:50 дан 1:800 гача) суюлтирилиб, ҳар бир суюлтирилган зардоб устига 0,1 мл эритроцитар диагностикам томизилади ва термостатга 2 соатга қўйилади ва натижаси кўрилади. Реакциянинг диагностик титри 1:400 ва ундан ошиқ бўлиши керак.



Расм 80. *I. enterocolitica* нинг эритроцитар диагностиками билан БГАР қўйиш

**Эслатма:** ҚЗ-қон зардоб; ЭД-эритроцитар диагностикам; ДК-диагностикум контроли.

Расмдан кўриниб турибдики касалнинг қон зардобидан *I. enterocolitica* ни О3 серологик варианты БГАР да диагностик (1:800) титрни берди, яъни бемор *I. enterocolitica* ни О3 серологик варианты билан оғриган экан.



## **МАВЗУ 26: Қорин тифи ва паратиф А ва В қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Қорин тифи ва паратиф юқумли инфекциялари қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.

2. Қорин тифи ва паратиф юқумли инфекциялари қўзғатувчиларининг серологик диагностикаси.

5. Қорин тифи ва паратиф юқумли инфекцияларида қўлланиладиган диагностика, профилактика ва даво препаратлари.

### **Намойиш қилиш**

1. Қорин тифи ва паратиф юқумли инфекциялари қўзғатувчиларининг тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.

2. Қорин тифи ва паратиф қўзғатувчиларининг тоза культураси, дифференциал озиқ муҳитларда ажратиб олинган.

3. Қорин тифи ва паратиф қўзғатувчиларининг биокимёвий хусусиятларини намоён этувчи калта ва узун Гисс қаторлари.

4. Агглютинация қилувчи қорин тифи ва паратиф қўзғатувчиларининг поли ва моно рецепторли зардоблари, профилактик ва даволаш препаратлари.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Энтеропатоген *E.coli* диагностикасининг давоми: поливалентли ва типга хос зардоблар билан агглютинация реакциясини қўйиш; биокимёвий хусусиятини аниқлаш учун “ола-чипор” қаторга экиш; тирик ва қиздирилган *E.coli* культураси билан кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш.

2. Қорин тифи ва паратифларни диагностикаси.

3. Гемокультурани ажратиш. Иккинчи босқич: а) бемор қони экилган Рапапорт муҳитини натижалаш; б) муҳитда ўсиш белгилари аниқлаш; в) Грам усулида бўяб кўриш; г) дифференциал муҳитларга экиш.

4. Капрокультурани ажратиш. Иккинчи босқич: а) Эндо ва висмут сульфит агарли муҳитларидаги ўсиш характерини ўрганиш; б) Эндо муҳитида ўсган рангсиз колонияларни уч қандли Клигер муҳитига экиш.

5. Қорин тифи ва паратиф қўзғатувчиларининг серодиагностикаси. Видаль реакциясини қўйиш.

6. Овқатдан захарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмлар диагностикаси. Биринчи босқич: а) салмонеллез қўзғатувчилари бўлиши эҳтимоли бор гўшт қиймасидан Эндо ва висмут сульфит агарга экиш; Протеус қўзғатувчилари эҳтимоли бор бўлган картошка бўтқасидан қиялантирилган ГПА “Шукевич” усулида экиш.

Қорин тифи паратифлар *Solmonella* авлодига ва бунга битта тур

*Solmonella enterica* (*entritilis*) киради. Бу турга ҳозирги кунда 7 та кенжа турлар

(*Sol. choleraesuis*, *Sol.salamae*, *Sol.arizonae*, *Sol.diarizonae*, *Sol.houtenae*,

*Sol.indica*, *Sol.bangori*) киритилган. Иссиқ қонли ҳайвонлар учун патогенлари

*Sol. choleraesuis*, *Sol. Salamae* ҳисобланади. Кенжа тур *Sol.choleraesuis* ҳозирги

кунда биз учун маълум бўлган 2324 сероварлардан 1367 тасини ўз ичига олади.

Ўқишда ва ўрганишда талабаларни тушиниши осон бўлиши учун, биз

материални кўрсатиб беришда (нотўғри бўлса ҳам) қорин тифи паратифларни

эски классификациядан фойдаландик, яъни *Sol.typhi* тури деб кўрсатдик, аммо ҳозирги классификация бўйича қорин тифи *Solmonella entrica* турига, *choleraesuis* кенжа турига ва *typhi* сероварига киради.

Жадвал 60.

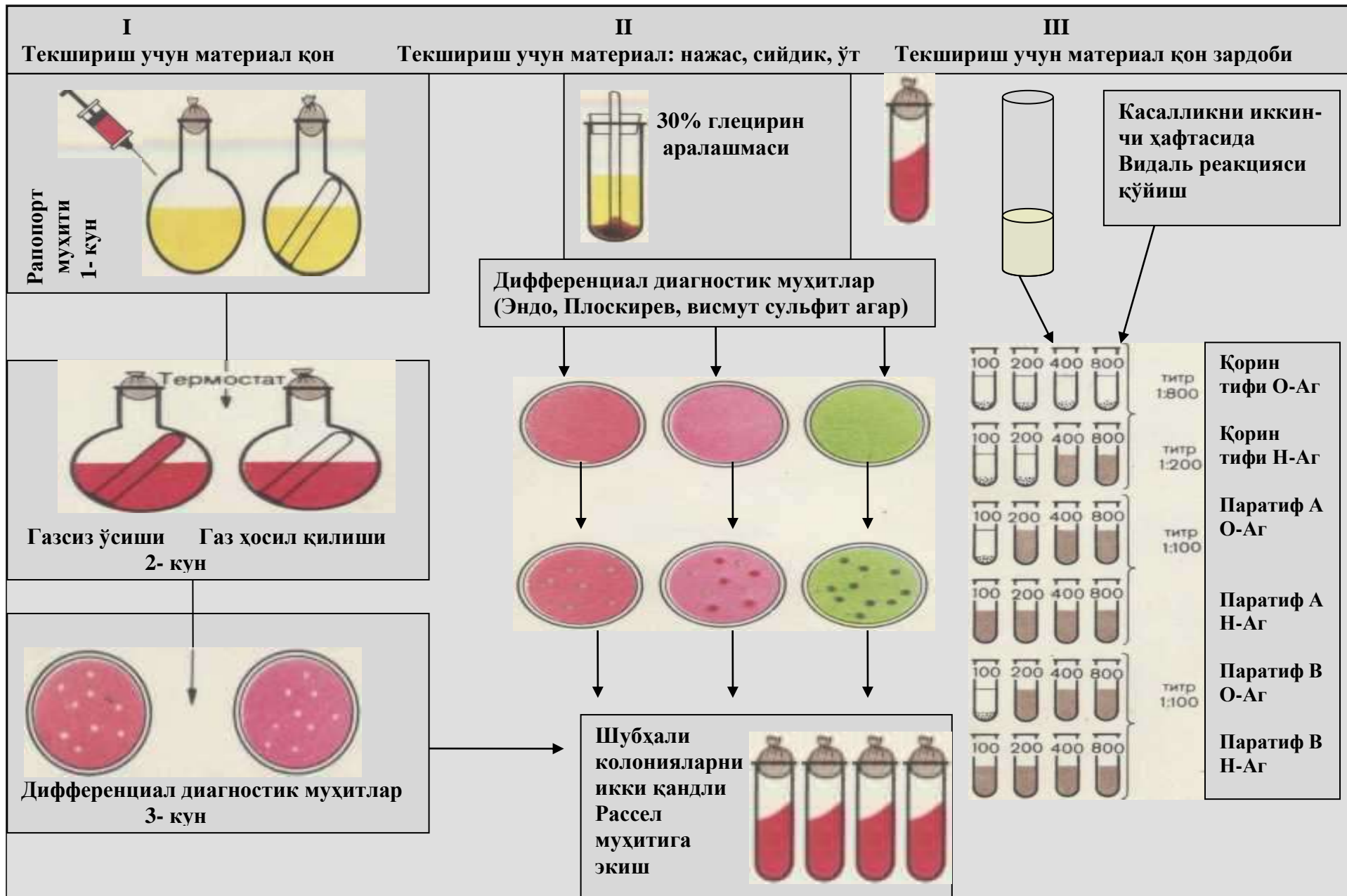
### Сальмонеллаларни серологик классификацияси

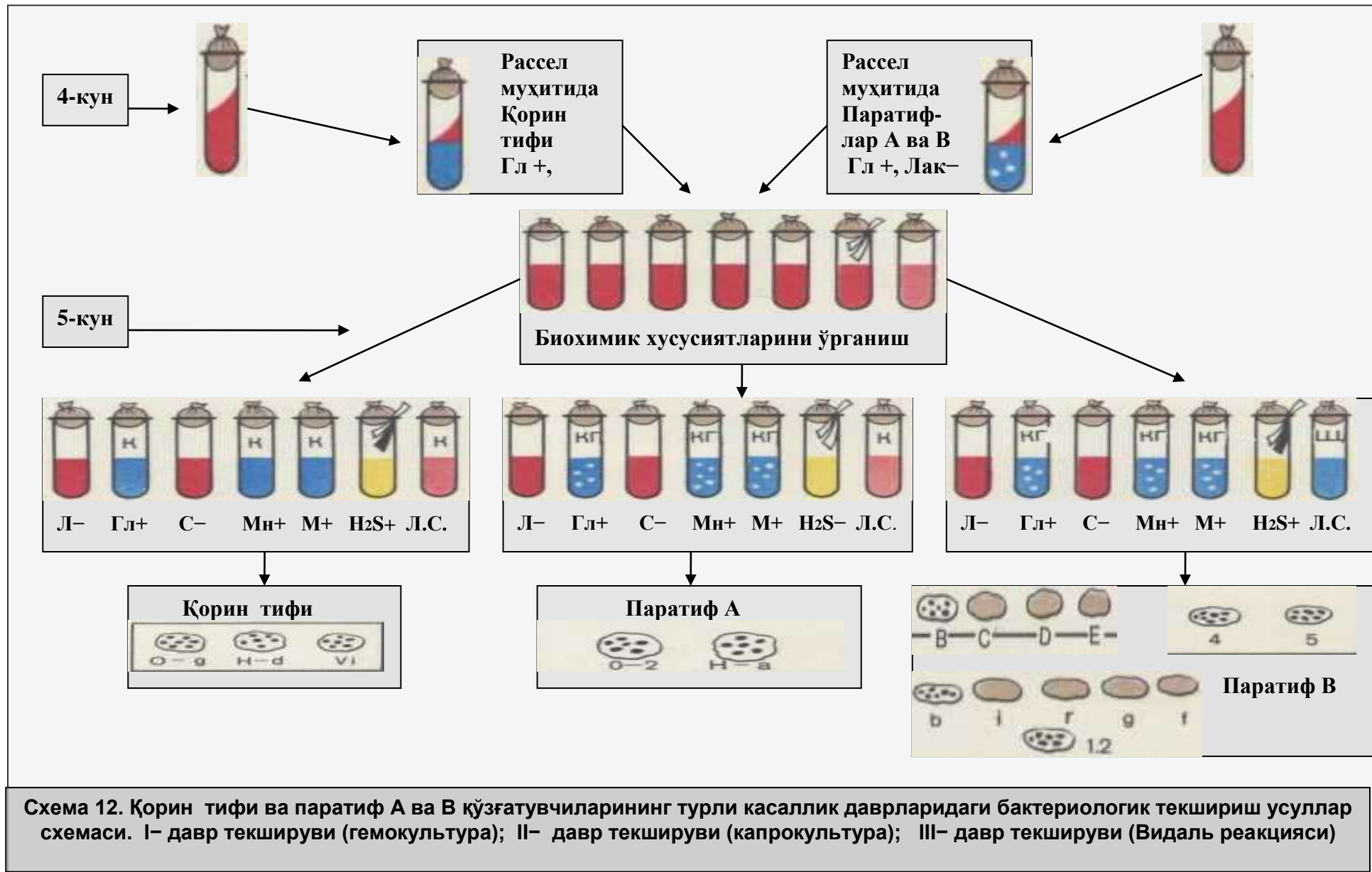
Серо- группалари	№	Серотиплар	О-антиген	Н-антиген	
				I фаза	II фаза
<b>A</b>	<b>1</b>	<b>S.paratyphi A</b>	<b>1 2 12</b>	<b>a</b>	<b>-</b>
<b>B</b>	<b>1</b>	<b>S.paratyphi B</b>	<b>1 4 5 12</b>	<b>b</b>	<b>1,2</b>
	<b>2</b>	<b>S.typhimurium</b>	<b>1 4 5 12</b>	<b>i</b>	<b>1,2</b>
<b>C</b>	<b>1</b>	<b>S.paratyphi C</b>	<b>6 7 Vi</b>	<b>C</b>	<b>1,5</b>
	<b>2</b>	<b>S. choleraesuis</b>	<b>6 7 -</b>	<b>C</b>	<b>1,5</b>
<b>D</b>	<b>1</b>	<b>S.typhi</b>	<b>9 vi 12</b>	<b>a</b>	<b>-</b>
	<b>2</b>	<b>S.enteritidis</b>	<b>1 9 12</b>	<b>g, m</b>	<b>-</b>
<b>E</b>	<b>1</b>	<b>S.london</b>	<b>3 10</b>	<b>l, v</b>	<b>1,6</b>
	<b>2</b>	<b>S.anatum</b>	<b>- -</b>	<b>e, h</b>	<b>1,6</b>
<b>F</b>	<b>1</b>	<b>S.aberdeen</b>	<b>11</b>	<b>i</b>	<b>1,2</b>

51- 67.

Қорин тифи ва паратифлар бир-бирларидан антиген ва биокимёвий хусусиятлари бўйича фарқланади.

Қорин тифи ва паратиф касалликларининг микробиологик диагностикаси бактериологик ва серологик текширувлар асосида олиб борилади. Бирламчи материал бактериоскопик текширилмайди, чунки нажасдан тайёрланган суртмаларда сальмонеллаларни ичак таёқчаларидан ажратиб бўлмайди, бошқа материалларда эса (қон, ўт сафро) касаллик қўзғатувчилари жуда кам учраб, суртмада уларни топиб бўлмайди. Тиф ва паратиф касалликларининг патогенезини инобатга олиб, касалликнинг биринчи бактеромия даврида, қондан қўзғатувчилар ажратиб олинади (гемокультура олиниши), иккинчи ҳафтасидан бошлаб эса улар нажасдан (капрокультура) сийдикдан (уронокультура) ёки жигар ўтидан (реконвалицент даврда) ажратиб олинади.





Қорин тифи ва паратифларда бемор қон зардобида АТ касалликнинг биринчи ҳафтаси охирида иккинчи ҳафтаси бошларида тўпланади.

### **Услубий кўрсатмалар**

Бактериологик текширув. (12- схема). Гемокультурани ажратиб олиш.

**1- кун.** Касалликнинг биринчи кунлари (юқори температура кўтарилган даврда) беморни билак венасидан 5-10 мл қон олиниб махсус колбачадаги 50-100 мл Рапопорт муҳитига асептика қодаларига қаътий риоя қилган ҳолда экилади. Экишда олинган қон билан муҳит ўртасидаги нисбат 1:10 бўлиши зарур, чунки бу мувозанат қон томонга оғса, қон таркибидаги нормал АТ бактериоцид таъсир кўрсатади.

**2-кун.** Иккинчи куни бактериялар ўсиши натижасида муҳит лойқаланади ранги ўзгаради. Паратиф бактериялари ўсганда бу ўзгаришлар билан бир қаторда, муҳит ичига ташлаб қўйилган шиша найчалар ичида газ пуфакчалари ҳам пайдо бўлади. Яъни, паратифлар муҳитдаги глюкозани кислота ва газ ҳосил қилиб парчалаганлигини кўрсатади, қорин тифи глюкозани кислотагача, газ ҳосил қилмасдан парчалайди. Рапопорт муҳитидан суртма тайёрланиб Грам усулида бўяб кўрилади ва “эзилган” томчи усулида ҳаракатчанлиги аниқланади. Суртмада грам манфий ва ҳаракатчан таёқчалар топилса даслабки жавоб бериш имкониятини беради. Сўнгра Рапопорт муҳитида ўсган культурадани соф культура ажратиб олиш учун Рассел, Эндо ёки Плоскирев муҳитларига экилади (Рассель муҳити ўрнига Клигер муҳитни қўллаш мумкин).

**Рассель муҳити таркибига:** озикли агар, 1% ли лактоза, 0,1% ли глюкоза ва Андреде индикаторлари киради. Муҳит пробиркаларда шундай тайёрланадигани, унинг пастки қисми устунча тик, юқори қисми эса қиялантирилган ҳолда бўлиши шарт. Текширилувчи культура дастлаб муҳитнинг тик қисмига санчиб, сўнгра қиялантирилган қисми сатҳига суркаб экилади.

Углеводлар парчаланганда муҳит ранги кўкаради; агарнинг ёрилиши газ ҳосил бўлганлигидан, бутун муҳитнинг кўкариши эса, лактоза парчаланганидан дарак беради. Агар муҳитнинг ранги фақатгина тик қисмидагина қизарса, глюкозанинг парчаланганлигини билдиради, чунки унинг миқдори лактозага нисбатан 10 марта кам.

Рассель муҳити ўрнига уч қанддан (углеводлардан) иборат (Клигер) муҳитидан ҳам фойдаланиш мумкин (унинг таркибига глюкоза, лактоза, сахароза, мочевино, баъзи бир тузлар ва индикатор — водород сульфидни аниқловчи ва фенол қизили киради).

**3-кун** Рассель муҳитида глюкозанинг парчаланганлиги кузатилади ва буюм ойначасида тахминий поливалентли (А, В, С, Д, Е) қон зардоби билан агглютинация реакцияси қўйилади. Олинган маълумотлар асосида иккинчи дастлабки жавоб берилади.

Текширишни давом эттириш учун Эндо муҳитидан бир нечта рангсиз колония олиниб, Рассель ёки қиялантирилган озиқли (ГП) агарларга экилади (агар, Рассель муҳитида ажратиб олинган культура соф ва қолган текширувлар учун етарли бўлса Эндо муҳитидан яна Рассель муҳитига экиш шарт эмас) ва аввал группалаштирилган зардоблар, сўнгра эса адсорбция қилинган монорецепторли сальмонеллаларнинг О- зардоби ва Н-зардобини биринчи ва иккинчи фазаларидан агглютинация реакциясини буюм ойначаларида қўйиш учун фойдаланилади. Рассель ёки қиялантирилган озиқли агарларда ўсган соф культуралар олиниб, «олачипор» қаторларга экилади. Бундан ташқари шу кун и ажратиб олинган культура антибиотикларга, фаготипларга сезгирлиги ва зарур бўлган тақдирда бошқа кенгайтирилган биохимик тестларни ўрганиш учун ҳам экилади (схема 12).

4-кун Якуний жавоб, «ола-чипор» қатордаги ўзгаришлар (схема 12) ва агглютинация реакцияси натижалари асосида берилади. Агар, Эндо муҳитидан ажратиб олинган культура ўрганилса якуний жавоб бир кунга сурилади.

Қорин тифи бактерияларини ксилоза ва арабинозаларни парчалаш хусусиятларига кура 3 та ферментатив типларга (биовар) ажратиш мумкин: 1) ксилоза мусбат, арабиноза манфий; 2) ксилоза манфий, арабиноза манфий; 3) ксилоза мусбат, арабиноза мусбатларга.

Ксилоза арабинозаларни парчалаш хусусиятларини аниқлашдан, эпидемиологик мақсадларда Қорин тифи кўзгатувчисини маркировка (белгилашда) қилишда фойдаланиш мумкин.

Фаготипни аниқлаш. Стандарт Vi-фаглар тўплами ёрдамида *S. typhi* нинг 78 тача типни аниқланади.

Бунда зарур шартлардан бири культураларда Vi-антигенининг мавжудлигидир. *S.scnottmuelleri* культуралари II фаготип ва кенжа типларга ажралади.

**Копрокультураларнинг олинishi.** Бунда текширилувчи нажас дифференциал-диагностик муҳитлардан бирига экилади (Эндо, висмут сульфид агар ёки Плоскирев). Экиш учун ковузлоқда олинган нажасни пробиркадаги натрий хлорид эритмасига аралаштирилиб суспензия тайёрланади. Сўнгра йирик доначалар чўкканидан сўнг суспензия олиниб, косачадаги агарли муҳитнинг ярмига экилади. Агар материал шиша таёқча билан пробиркада глицерин аралашмасида олиб келинган бўлса, шиша таёқча билан ҳам озиқли муҳитга экиш мумкин.

Алоҳида колонияларни олиш учун материал шпател ёрдамида косачадаги муҳитнинг аввал биринчи ярмига, сўнгра иккинчи ярмига суркаб экилади. Бир вақтнинг ўзида нажас микробларни кўпайтириш имконини берувчи Мюллер ёки селенитли муҳитларга экилади. Бу муҳитларда касаллик кўзгатувчи микробларни текширилувчи материалда жуда кам миқдорда учраган ҳолларда ҳам ажратиб олиш мумкин. Экмалар 18—20 соат давомида 37°C ли термостатга қўйилади.

Мюллер муҳитининг таркиби: 4.5 г кимёвий соф бўр, 90 мл озиқли бульон, 2 мл Люгол эритмаси ва 10 мл 50% ли натрий гипосульфит эритмаларидан иборат. Бу муҳитлар 8—10 мл дан пробиркаларга қўйилади. Муҳит таркибидаги йод билан гипосульфит бирикиб тетратионат натрийни ҳосил қилади ва ичак таёқчаларининг ўсишини тўхтатсада, сальмонеллаларнинг ўсишига тўсқинлик қилмайди.

Селенитли муҳит ўз таркибида 0,5% пептон, 0,7% натрий дигидрофосфат 0,3% натрий гидрофосфат, 0,4% лактозанинг дистилланган сувдаги асосий эритмасидан тайёрланади. 50 мл стерил ҳолда асосий муҳитга қўлланишдан олдин 2 мл 10% ли селенит натрийнинг нордон эритмаси қўшилади ва тайёрланган муҳитни 5—7 мл дан пробиркаларга қўйилади. Нордон селенит натрий сальмонеллалар ўсишини кучайтириб, бошқа микробларнинг ўсишини тўхтатади.

Иккинчи куни косачалардаги муҳитларда ўсган колониялар характери ўрганилади. Эндо муҳитида (2-4 мм) тиниқ оч пушти, Плоскирев муҳитида рангсиз, зичлашган, хирароқ, висмут сульфит агарда эса қора жигарранг

металл (фақат сальмонеллалар висмутни металгача қайтаради) сингари ялтироқ (блеск) колониялар ҳосил қилади. Колониялар тагида ва атрофида муҳит қорайиб қолади. Паратиф А да бундай хусусият кузатилмади. Паратиф В муҳитда ўсганда эса колония атрофида шиллиқ валик ҳосил (R-колония) бўлади. Бу муҳитда ўсган характерли 2—3 та колониялар Рассель, Клигер муҳитларига ва пробиркалардаги қиялантирилган агарга экилади. Косачалардаги муҳитларда шубҳали колониялар учратилмаган ҳолда Мюллер ёки селенитли муҳитдагилари олиниб тиф ёки паратиф бактерияларнинг алоҳида колонияларини ажратиб олиш учун косачалардаги Эндо муҳитига қайтадан экилади.

Жавобни жадаллаштириш учун буюм ойначаларида рангсиз ва тифлар учун характерли колониялардан олинган материал билан тахминий агглютинация реакциялари қўйилади. Қолган босқичлари гемокультураларни идентификация қилишдаги каби текширув олиб борилади.

**Серодиагностика.** Амалий лабораторияда кўпинча -Видадь агглютинация реакцияси қўлланилади. Бу беморлар қон зардобиди, касалликнинг биринчи ҳафтаси охири ва иккинчи ҳафтасининг бошларида пайдо бўладиган махсус АТ ларни аниқлаш ва антителоларнинг ошиш динамикаси, уларнинг сақланиш муддатларини ўрганишга асосланган.

Реакция бир вақтнинг ўзида 4 та антигенлар: О- ва Н-қорин тифи, А- ва В-паратиф дианностикумлари билан қўйилади.

Қорин тифи монодианностикумлари касаллик босқичларини аниқлашда қўлланилади, чунки О- ва Н- Аг қарши ҳосил бўлган АТ лар миқдори касалликнинг турли даврларида ўзгариб туради. О-Аг қарши ҳосил бўлган антителолар касаллик авжида кўпайиб, соғайиш даврида йўқолиб кетади.

Н- Аг қарши ҳосил бўлган АТ эса, касалликнинг охирида пайдо бўлиб, соғайгандан сўнг ҳам узоқ вақт сақланади.

Қорин тифи ва паратифга қарши эмланган одамларда ҳам Видал реакцияси мусбат бўлиб, бирмунча юқори титрларда кузатилади.



Шунинг учун «юкумли Видадь» реакциясини «эмлаш оқибатидаги» реакциядан фақат беморларни касаллик жараёнида қон зардобидаги АТ лар титри ортишидан фарқлаш мумкин. Эмланганларда АТ титри динамикада қўйилганда ошмайди.

Видадь реакцияси 4 қатор пробиркаларда қўйилиб, ҳар бир қаторда 7 тадан пробирка бўлади, уларнинг 5 таси тажриба ва 2 таси контрол пробиркалар ҳисобланади. Текширилувчи қон зардобининг суюлтириш усули -жадвалда қўрсатилган. Ҳар бир диагностикаумнинг контроли учун пробиркаларга 1 мл дан натрий хлориднинг изотоник эритмаси қўйилиб, унга 2 томчидан диагностикаум қўшилади. 1 мл зардоб солинган (диагностикумсиз) контрол пробиркада чўкмалар бўлмаслиги керак.

Спонтан (ўз-ўзидан) агглютинация содир бўлган ҳоларда реакция натижаси инобатга олинмайди. Видадь реакциясининг диагностик титри 1:200 га тенгдир.

Реконвалесцентлар ва бактерия ташувчиларни серологик текширувдан ўтказишда пассив Vi гемагглютинация реакциясидан кенг фойдаланилади, бунинг ёрдамида одамларнинг қон зардобидаги Vi антителолар аниқланади. Бунда антиген сифатида эритроцитли Vi-диагностикум қўлланиб, у формалин билан ишлов берилган ва қорин тифи микробларининг Vi-антигени билан сенсibiliзация қилинган 1 (O) группа одам эритроцитлари суспензиясидан иборатдир.

Текширилувчи зардоблар 1:10 дан 1:1280 гача суюлтирилади. Мусбат реакция натижасида эритроцитлар пробиркалар тагига чўкиб, четлари нотекис кўринишида (зонтик) жойлашади, чўкма устидаги суяқлик эса, тиниқ ҳолда қолади. Манфий реакцияда эса, контролдагидек, эритроцитлар пробирка остига чўкиб, чекка, атрофлари текис диск («тугмачалар») ҳолида жойлашади.

Пассив гемагглютинациянинг 1:40 ва ундан юқори бўлган титрлари диагностик аҳамиятга эгадир. Зардоби эритроцитли Vi-диагностикум билан ПГАРда мусбат натижа берган барча шахслар қорин тифи бактерияси

ташувчилар сифатида шубҳаланилиб, бир неча мартаба бактериологик текширувдан ўтказилади.

**Мавзу 26. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмлар: сальмонеллалар, ботулизм, протей ва бошқа бактериялар, микробиологик диагностикаси.**

**Машғулот режаси**

1. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмлар кўзгатувчиларининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.
2. Ботулизм токсикоинфекция кўзгатувчисининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.
5. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмларда қўлланиладиган диагностика, профилактика ва даво препаратлари.

**Намойиш қилиш**

1. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи инфекциялари кўзгатувчиларининг тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.
2. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи инфекциялари тоза культураси, дифференциал озиқ муҳитлар.
3. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи инфекциялари кўзгатувчиларининг биокимёвий хусусиятларини намоён этувчи муҳитлар
4. Агглютинация қилувчи поли ва моно рецепторли зардоблари, профилактик ва даволаш препаратлари.

**Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Энтеропатоген *E.coli* диагностикасининг давоми: “ола-чипор” қаторга экилган экмани натижалаш; тирик ва қиздирилган *E.coli* культураси билан кенгайтирилиб қўйилган агглютинация реакциясини натижалаш ва якуний жавоб бериш.
2. Қорин тифи ва паратифларни диагностикаси, гемокультурани ажратиш - учинчи босқич: а) Рассел муҳитидаги экмаларни натижалаш; б) Поливалентли агглютинацияга учратувчи қон зардоби билан буюм ойнасида агглютинация реакцияларини қўйиш; в) биохимик хусусиятларини ўрганиш учун “ола чипор” муҳитга экиш;.
4. Капрокультурани ажратиш. - учинчи босқич: а) Рассел муҳитидаги экмаларни натижалаш; б) биохимик хусусиятларини ўрганиш учун “ола чипор” муҳитга экиш;.
5. Гўшт қиймасидан Эндо ва висмут сульфит агарга экилган экмани натижалаш: а) висмут-сульфит агардаги экма натижасини баҳолаш (культурал, морфологик, тинкториал хусусиятлари); б) сальмонеллалар типга мансублигини аниқлаш мақсадида буюм ойначасида агглютинацияловчи зардоб билан агглютинация реакциясини қўйиш (*Salm.thyphimurium*, *anatum* ва бошқ.)
6. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи протей диагностикаси. Шукевич усулида экилган экмани натижалаш, культурал, морфологик, тинкториал хусусиятлари бўйича.
7. Дизентериянинг микробиологик диагностикаси- биринчи босқич: текшириш учун материал-бемор нажасини пробиркадаги селенитли, косачадаги Эндо ва Плоскирев муҳитларига экиш.

Овқат орқали заҳарланишлар икки хил кўринишда бўлиши мумкин. Биринчи кўриниши микроорганизмларга таълуқли бўлмаган, буларни ўз навбатида химиявий, биологик факторлар келтириб чиқаради. Бу касалликларни

тиббиётнинг махсус бўлимларида ўтилади. Иккинчи хил захарланишларга микроорганизмлар сабабчи бўлади. Бу касалликларни ҳам касаллик патогенези, келиб чиқишига қараб иккига бўлиш мумкин.

1. Овқат интоксикацияси.

2. Овқат токсикоинфекциялари

Овқат интоксикациясини асосан стафилококклар, ботулизм таёқчалари, замбуруғлар ва бош. келтириб чиқариши мумкин. Бу типдаги захарланишларни келиб чиқишида микроорганизмларни токсинлари асосий ролни ўйнайди. Одам микроблар кўпайиб, токсинлари йиғилиб қолган озиқ овқатларни истеъмол қилишганда касалликларга чалинади.

Овқат токсикоинфекцияларида эса микроорганизмларни овқатларда йиғилиб қолган токсинларидан ташқари, уларнинг ўзи ҳам организмларда кўпайиши мумкин. Буларга энг кўп микроорганизмлар киради.

Токсикоинфекцияларининг ниҳоятда кўп тарқалган кўзғатувчилари салмонеллардир. Уларга- *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. heidelberg*, *S. anatum*, *S. derby* лар киради. Бу касалликларни кўпчилик ҳолларда *E. coli*, *Proteus*, бошқа энтеробактерия вакиллари, энтерококклар ва бошқа микроорганизмлар келтириб чиқаради.

Овқат токсикоинфекцияларининг патогенези ва клиник манзараси меъда-ичак йўлига микроблар билан зарарланган озиқ-овқат маҳсулотларининг (гўшт, балиқ, сут ва бош.), етарлича термик жиҳатдан ишлов берилмаган ҳолда кўп миқдорда тушиши орқали кузатилади. Бунда тирик бактерия ҳужайралари қулай шароитда тезлик билан кўпаяди. Шу билан бир вақтда, ичакда касаллик кўзғатувчиларининг кўп миқдорда кўпайиши ва бактериал ҳужайранинг парчаланиши кўп миқдорда эндотоксин ажралишига сабаб бўлади. Бу эса ингичка ичакнинг интрамурал нейрорецептор аппаратиغا, қорин бўшлиғининг периферик томирларига таъсир қилади ва бу ичак деворида нейродистрофик ўзгаришга ва боғлиқ аъзо ҳужайраларининг жароҳатланишига олиб келади. Овқат токсикоинфекцияларида меъда-ичак йўллари, кўпинча кўзғатувчилардан тезликда, айрим ҳолларда эса, касал бошлангандан бир

неча соат ўтгач, озод бўлади. Бирок, қатор ҳолларда, сальмонеллалар ичакда узоқ вақт, бир неча ҳафта ва ҳатто ойлар давомида сақланиб қолиб, бактерия ташувчининг нажаси билан ажралиб туради. Бу касалликларда, одатда, бактериемия содир бўлмайди.

Лаборатория диагностика бактериологик усул билан ўтказилади. Текшириш учун касалнинг нажаси, қусиғи, меъда чайинди сувлари билан бирга, овқат қолдиқлари ва уни тайёрлаш учун ишлатилган маҳсулотлар олинади. Бу эса инфекция манбаини топиш учун муҳимдир.

Бактерияли овқат токсикозлари билан захарланиш меъда-ичак йўлига овқат билан бирга бактериянинг токсинлари тушганда содир бўлади. Булардан *Staph.aureus*, *Cl.perfringens*—лар энтеротоксини, айниқса *Cl.botulinum* нинг нейро-токсини жуда хавфли ҳисобланади. Овқат билан захарланишда овқат таркибида тирик қўзғатувчиларнинг бўлиши шарт эмас, чунки касаллик уларнинг токсини билан ҳам вужудга келиши мумкин.

Овқатдан захарланишнинг микробиологик диагностикаси токсинларни аниқлаш ҳамда токсин ҳосил қилувчи қўзғатувчиларнинг соф культурасини бемордан олинган материаллар ва овқат қолдиқларидан ажратиб олиш йўли орқали ўтказилади

### **Услубий кўрсатмалар**

**Овқат токсикоинфекциялари.** Текшириш учун материал: касал нажаси, қусуғи, меъда чайиндиси ва инфекция манбаи бўлган овқат маҳсулотлари қолдиқлари.

**Бактериологик текширув.** Материал сальмонелла, шигелла ҳамда эшерихияларнинг соф культурасини олиш учун текширилаётган материал дифференциал-диагностик озиқли муҳитларга (Эндо, Плоскирев ва бошқалар) экилади. Протейни ажратиб олиш учун эса “Шукевич” усулидан фойдаланилади. Экмалар 20—24 соат 37°С ли термостатда ушлаб турилгандан кейин, дифференциал муҳитли косачаларда бактерияларнинг культурал, тинкториал хусусиятлари, қиялантирилган озиқли агардаги протей учун

характерли «ўрмалаб» ўсиши асосида хулоса чиқарилади. Тахмин қилинган микроб колониялар соф культурасини олиш учун қиялантирилган (Рессел, Клигер) ГП агарга экилади ва шу билан бир вақтда буюм ойначасида агглютинация реакцияси қўйилади. Қолган босқичлари қайси кўзгатувчи ажратиб олинганлигига боғлиқ бўлиб биохимик, антиген ва бошқа хусусиятлари бўйича идентификация қилинади. Масалан, овқат токсикоинфекцияларини сальмонеллалар келтириб чиқарган бўлса, ажратиб олинган (25 машғулотга қаралсин) сальмонеллалар соф культураси қайси сероварларга мансуб эканлигини аниқлаш учун сероидентификация қилинади. Аввал поливалентли гуруҳга мансуб кон зардоблар билан ва монорецепторли О зардоблар, сўнг Н зардобларнинг 1 чи ва 2 чи фазалари билан аниқланади. Олинган натижалар асосида салмонеллаларнинг соф культуралари билан маълум монорецептор зардоблар ёрдамида пробиркаларда агглютинация реакцияси қўйилади ва культура экилган «ола-чипор» қаторлар натижалари билан жамлаб кўрилади ва якуний хулоса ва жавоб берилади. Бемор организмдан ва овқат маҳсулотидан салмонеллаларнинг айнан бир хил серовари ажратиб олинса, овқат токсикоинфекцияси ва касаллик манбаи тўғрисида якуний хулосани чиқариш мумкин. Бир қатор салмонеллаларнинг муҳим биокимёвий белгилари ва антигенлик тузилиши -жадвалда келтирилган.

Агар, конденсат сувли, қиялантирилган агарга («Шукевич» усулида) материал экилганда культуранинг ўрмалаб ўсиши кузатилса, ундан қовузлок билан ҳаракатчанликни аниқлаш учун «эзилган» томчи препарати ва суртма тайёрланади. Суртма Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади.

Жадвал 61.

#### Сальмонеллаларнинг биокимёвий хусусиятлари ва антиген тузилиши

О-Аг гуруҳи	Серовар турлари	Парчалаши					Ҳосил бўлиши		Антигенлари		
		Глюкозани	лактозани	маннитни	сахарозани	дульцитни	индол	H <sub>2</sub> S	О-Аг	Н-Аг	
										І-фаза	ІІ-фаза
В	<i>S. typhimurium</i>	+	-	+	±	+	-	+	1,4 5,2	1	1,2

	<i>S. derby</i>	+	-	+	+	+	-	+	1,4 12	f, g	-
	<i>S. heidelberg</i>	+	-	+	+	+	-	+	4,5 12	r	-
C	<i>S. choleraesuis</i>	+	-	+	+	±	-	±	6,7	c	1,5
	<i>S. newport</i>	+	+	+	+	+	-	+	6,8	e, h	1,2
Д	<i>S. enteritidis</i>	+	-	+	+	±	±	+	1,9 12	g,m	-
Е	<i>S. anatum</i>	+	-	+	+	+	-	+	3,10	e, h	1,6

Ажратиб олинган соф культура «ола-чипор» каторга экилгандан сўнг биокимёвий белгилари асосида протейнинг тури ва бошқа белгилари аниқланади (62-жадвал).

Жадвал 62.

#### Proteus авлоди вакилларининг бир-бирларидан фарқланиши

Белги хусусиятлари		<i>P. mirabilis</i>	<i>P. mxyofaciens</i>	<i>P. penneri</i>	<i>P. vulgaris</i>
Парчалаши	мальтозани	-	+	+	+
	сахарозани	± (кўпроқ -)	+	+	+
	ксилозани	+	-	+	+
	желатинани эритиши	+	-	-	+
Ҳосил қилиши	H <sub>2</sub> S ҳосил қилиши	+	-	-	+
	Индол ҳосил қилиши	-	-	-	+
	Ацетон ҳосил қилиши	±	+	-	-
	Орнитин декарбоксилаза ҳосил қилиши	+	-	-	-
Цитратни ўзлаштириши		±	-	+	± кўпроқ(-)

**Овқат интоксикацияси.** Текшириш учун материал: касалнинг қусуғи, меъда чайиндиси ва овқат қолдиқлари (кўп ҳолларда крем, қаймоқ, музқаймоқ) ҳамда гўшт маҳсулотларида стафилококклар яхши ривожланади. Стафилококк энтеротоксинлари натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан ажратиб олиниб, улар мавжудлиги, серологик хусусияти А, В, С антитоксинли зардоблар билан преципитация реакцияси ёрдамида аниқланади. Биологик

синамадан ҳам фойдаланиш мумкин. Бунинг учун, текширилаётган материал, яъни энтеротоксини, эмизикли мушукчаларга берилади, уларда 30—60 минутдан сўнг қусиш, ич кетиш бошланади. Стафилококк культурасини соф ҳолда ажратиб олиш учун текширилаётган ва тирик бактерияларни ўзида сақловчи материал, тухум сариғи қўшилган тузли агар солинган косачага экилади ва олинган культуранинг идентификация қилинади.

Оммавий стафилококкли интоксикацияларни эпидемиологик анализ қилиш учун стафилококк фаглари тўплами ёрдамида турли манбалардан ажратиб олинган культуралар фаготипи аниқланади.

**Cl.perfringens** нинг энтеротоксинини аниқлаш учун гўшт, балиқ консервалари ва бонқа маҳсулотлар текширилади. Бу моддалар натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан экстракция қилиниб центрифугаланади ва чўкманинг устки қисми оқ сичқонларнинг қорин пардасига ёки денгиз чўққачаларининг териси орасига юборилади.

Ҳайвонларнинг 3—4 соат давомида ҳалок бўлиши ёки юборилган жойда некроз ҳосил бўлиши токсин борлигидан дарак беради. Уни идентификация қилиш учун Cl.perfringensнинг антитоксинли зардоблар билан нейтраллаш реакцияси қўйилади.

Cl.perfringens ва Cl.botulinumларнинг соф культурасини олиш учун, анаэроб бактерияларни аниқлайдиган усуллардан фойдаланилади (21-мавзуга қаралсин).

Ботулизмда текшириш учун материал қолдиқ овқатлар(гўшт, балиқ консервалари ва бошқа маҳсулотлар) касалдан олинган материал (қусуқ, қон, ошқозон ювиндиси, секцион материал. Қонни текширишда асосан ундаги токсинни борлиги оқ сичқонларга (2 мл), денгиз чўққачаларига (5-8 мл) юбориб аниқланади. Касал нажаси ундаги бактерияни топиш учун бактериологик текширилади, қолган ҳолларда материалдаги бактерия ва уни токсинини аниқлаш усули қўлланилади.

Ботулин токсинини аниқлашда, беморнинг қон зардоби, сийдиги, нажаси, меъда чайиндиси, овқат қолдиқлари ёки гумон қилинган маҳсулотлардан (колбаса, гўшт, балиқ, мева, сабзавотлардан тайёрланган консерва ва бошқалар) фойдаланилади.

Касал қони зардобида ботулин токсинини аниқлаш учун, моновалентли антитоксинли ботулинга қарши зардобларнинг А, В, Е типлари билан ишланган эритроцитлар билан ПГАР реакцияси қўйилади. Контрол сифатида қоннинг нормал зардоби олинади. Овқат маҳсулотларида ботулин токсинини ва *Cl.botulinum*нинг токсигенлигини аниқлаш учун оқ сичқонларда токсинни нейтраллаш реакцияси қўйилади. Токсин серотипларини аниқлаш учун моновалент зардобларнинг А, В, Е типлари билан реакция қўйилади.

Агар гомолитик антитоксинли зардоб токсинни нейтралласа, сичқонлар ўлмайд қолади.

## **Мавзу 28. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабо қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси**

### **Машгулот режаси**

1. Дизентерия (ичбуруғ) келтириб чиқарувчи микроорганизмлар қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.
2. Вабо қўзғатувчиларининг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.
5. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабо келтириб чиқарувчи касалликларда қўлланиладиган диагностика, профилактика ва даво препаратлари.

### **Намойиш қилиш**

1. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабони келтириб чиқарувчи инфекциялари қўзғатувчиларининг тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.
2. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабони келтириб чиқарувчи инфекциялари тоза культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган дифференциал озик муҳитлар.
3. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабони келтириб чиқарувчи инфекциялари қўзғатувчиларининг биокимёвий хусусиятларини намоён этувчи муҳитлар ва тестлар.
4. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабони серодиагностикасида ва сероидентификациясида (агглютинация қилувчи поли- ва монорецепторли зардоблар) профилактик ва даволашда қўлланилувчи препаратлар.
5. Вабо касаллигида материални олиш ва уни лабораторияга етказиш учун ишлатиладиган махсус патронлар.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топширик.**

1. Энтеропатоген *E.coli* диагностикасининг давоми: “ола-чипор” қаторга экилган экмани натижалаш; тирик ва қиздирилган *E.coli* культураси билан кенгайтирилиб қўйилган агглютинация реакциясини натижалаш ва якуний жавоб бериш.



2. Қорин тифи ва паратифларни диагностикаси, гемокультурани ажратиш - учинчи босқич: а) Рассел муҳитидаги экмаларни натижалаш; б) Поливалентли агглютинацияга учратувчи қон зардоб билан буюм ойнасида агглютинация реакцияларини қўйиш; в) биохимик хусусиятларини ўрганиш учун “ола чипор” муҳитга экиш;.

4. Капрокультуранинг ажратиш. - учинчи босқич: а) Рассел муҳитидаги экмаларни натижалаш; б) биохимик хусусиятларини ўрганиш учун “ола чипор” муҳитга экиш;.

5. Гўшт қиймасидан Эндо ва висмут сульфит агарга экилган экмани натижалаш: а) висмут-сульфит агардаги экма натижасини баҳолаш (культурал, морфологик, тинкториал хусусиятлари); б) сальмонеллалар типига мансублигини аниқлаш мақсадида буюм ойнасида агглютинацияловчи зардоб билан агглютинация реакциясини қўйиш (*Salm.thyphimurium*, *anatum* ва бошқ.)

6. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи протей диагностикаси. Шукевич усулида экилган экмани натижалаш, культурал, морфологик, тинкториал хусусиятлари бўйича.

7. Дизентериянинг микробиологик диагностикаси- иккинчи босқич: Плоскирев муҳитига экилган бемор материалга баҳо бериш:

а) ўсиш характерида;

б) суртма тайёрлаб Грам усулида бўйаш ва морфологиясини кўриш;

в) соф культура ажратиш олиш мақсадида Плоскирев муҳитидан шубҳали колонияларни қиялантирилган Рассел, Клигер ва ГПА га экиш;

г) қўзғатувчининг антиген мансублигини типга хос моновалент зардоблар билан буюм ойнасида АГ реакцияси билан аниқлаш.

8. Вабога шубҳа қилинган бемордан олинган материал 1% ли пептонли сувга экилган экмани натижалаш;

а) ўсиш характерини;

б) сутма тайёрлаб Грам усулида бўйаш, морфологик ва тинкториал хусусиятларини;

в) “эзилган” томчи усулида препарат тайёрлаш ва вибрионни ҳаракатчанлигини; аниқлаш.

г) қўзғатувчининг антиген мансублигини О-1 қон зардоб билан буюм ойнасида АГ реакцияси билан аниқлаш.

д) соф культура ажратиш олиш мақсадида 1% ли пептонли сувдан қиялантирилган ишқорий агарга экиш.

### **Дизентерия (ичбуруғ) қўзғатувчининг микробиологик диагностикаси**

Дизентерия (ичбуруғ) касаллигини *Shigella* авлодига мансуб бўлган микроорганизмлар келтириб чиқаради Шигеллаларнинг замонавий классификацияси -жадвалда келтирилган.

Жадвал 63.

### ***Shigella* авлодига мансуб бўлган микроорганизмларни халқаро классификацияси**

Кенжа гуруҳ	тур	Серовар	Кенжа серовар	Қисқартирилган антиген формуласи
А	<i>Sh. dysenteriae</i>	1-10	—	—

B	Sh. flexneri	1	1a, 1б	I : 4 I : 6
		2	2a 2б	II : 3,4 II : 7,8
		3	3a 3б	III : 6,7,8 III : 3,4,6
		4	4a, 4б	IV : 3,4 IV : 6
		5	5a,5б	V : 7,8
		6	–	VI;
		X-вариант* Y-вариант**	– –	-7, 8 -3,4
	Sh. boydii Sh. sonnei	1—15 –	– –	

\*-авлодга мансублиги тўлиқ аниқланилмаган.

\*\*-типга мансуб антигенидан айрилган (гуруҳга мансуб Ag билан идентификация қилинади).

**Бактериологик текширув** 1-куни. (13 -схема). Беморнинг текширилаётган нажасларда йирингли ёки шиллик аралаш қон бўлакчалар учраган ҳолларда улар қовузлоқ билан олиниб, натрий хлориднинг изотоник эритмасида чайилиб, сўнгра Плоскирев ёки Эндо муҳити сатҳига қўйилиб, шпател билан суркаб экилади. Экмалар 37° С термостатга қўйилади. Экилган материални қолган қисми кўпайтирувчи селенит муҳитига экиб қўйилади.

**2-куни.** Плоскирев ёки Эндо муҳитларида ўсган дизентерия кўзгатувчисини культурал хусусиятлари ўрганилади. Дизентерия кўзгатувчиси Плоскирев муҳитида рангсиз тиниқ колониялар ҳосил қилади. Лекин, Sh. Sonnei бошқалардан фарқ қилиб бу муҳитларда ўлчами катта, ясси, тиниқ бўлмаган қирралари нотекис (узум баргини эслатади) R-формадаги колониялар ҳосил қилади. Бульонни бир хил кўринишда лойқатиб ўсади.

Жадвал 64.

#### Шигеллаларнинг асосий биокимёвий хусусиятлари

Симмонс цитрати	–	Кристенсен цитрати	–	Инозит	–
Уреаза	–	Ацетон ҳосил қилиши	–	Лактоза	–
Натрий малонат	–	Желатина гидролизи	–	Сорбит	±

H <sub>2</sub> S	–	Индол ҳосил қилиши	±	Маннит	±
Фенилаланин	–	Орнитин декорбаксилаза	±	Рамноза	±
Натрий ацетат	–	Адонит	–	Рафиноза	–
Лизин декарбоксилаза	–	Глюкоза	+	Салицин	–
Метилен қизил б-н реак.	+	Дульцит	±	Сахароза	±

**3-куни.** Шубҳали колониялардан бир қанчаси олиниб, Рессел, Клиглер муҳитига ёки “ола-чипор” қаторга экилади. Колониянинг қолган қисмидан, энтеропатоген ичак таёқчаси, сальмонеллаларга қарши зардоблар билан (қорин тифи ёки энтеропатоген ичак таёқчасини инкор этиш учун), буюм ойначасида тахминий агглютинация реакциясини қўйишда фойдаланилади.

**4-куни** ферментатив хусусиятларни ўрганиш (64-жадвал). Ферментатив жиҳатдан энг пассив *Sh.dysenteriae* тури ҳисобланади. Бу тури фақат глюкозани газ ҳосил қилмасдан кислотагача парчалайди. Ҳамма серотиплари маннит манфий ҳисобланади.

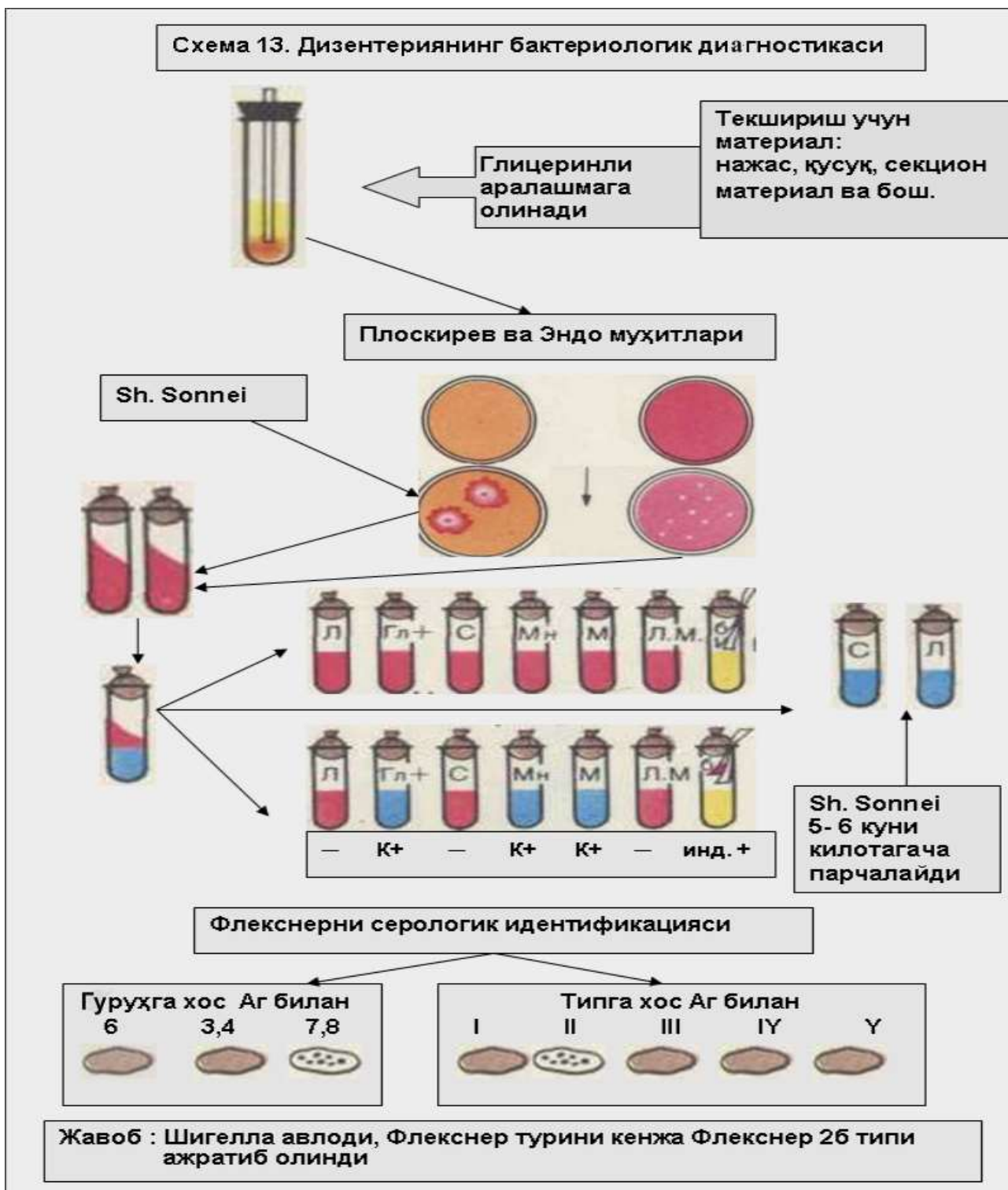
*Sh. flexneri* тури лактоза, дульцит ва ксилозани ферментация қилмайди, лекин мальтоза, сахароза ва рамнозани кечикиб 6-10 суткаларда парчалаши мумкин. Буларнинг деярли ҳаммаси индол ҳосил қилади (6-серогуруҳи Ньюкасл деб юритилади). Баъзида глюкозани парчалаганда кам газ ҳосил қилиши ҳам мумкин.

*Sh.boydii* тури ҳам биохимиявий жиҳатдан *Sh.flexneri* га яқин туради. Шигеллаларга хос бўлган хусусиятдан ташқари булар мальтоза, сахароза ва рамнозани 24 соат мобайнида ферментацияга учратади.

*Sh. flexneri* тури лактоза, дульцит ва ксилозани ферментация қилмайди, лекин мальтоза, сахароза ва рамнозани кечикиб 6-10 суткаларда парчалаши мумкин. Буларнинг деярли ҳаммаси индол ҳосил қилади (6-серогуруҳи Ньюкасл деб юритилади). Баъзида глюкозани парчалаганда кам газ ҳосил қилиши ҳам мумкин.

*Sh.boydii* тури ҳам биохимиявий жиҳатдан *Sh.flexneri* га яқин туради. Шигеллаларга хос бўлган хусусиятдан ташқари булар мальтоза, сахароза ва рамнозани 24 соат мобайнида ферментацияга учратади.

Схема 13. Дизентериянинг бактериологик диагностикаси



Sh.Sonnei буларнинг ичида энг биохимик жиҳатдан активи ҳисобланади. Характерли хусусияти 5-6 суткада сахароза ва лактозани ҳам парчалайди.

Олинган соф культура билан буюм ойнасида поливалентли ва моновалентли агглютинацияга учратувчи қон зардоблар билан

агглютинация реакцияси қўйилади ва серологик юқоридаги ферментатив хусусиятлари натижаларга асосланиб яқунловчи жавоб берилади.

**Серодиагностика.** Дизентериянинг ноаниқ формалари диагнозини ретроспектив асослашда ҳамда касаллик қўзғатувчиси турини аниқлашда қўлланилади.

Агглютинация реакцияси, Видадь, ПГАР реакцияларига ўхшаш Флекснер, Зонне эритроцит диатностикумлари билан қўйилади.

Флекснер шигеллалари томонидан қўзғатилган дизентерияда диагностик титр 1:200, Зонне шигеллалари билан эса — 1:100 суюлтирилгандаги натижа мусбат ҳисобланади.

### **Вабонинг микробиологик диагностикаси**

Оиласи - Vibrionaceae. Авлод – *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* *Photobacterium*.

*Vibrio* авлодига – ҳозирги кунда 25 та тур киритилган булардан одам учун патоген тури *Vibrio cholerae*, қолганларидан 9 та тури шартли патоген ҳисобланади, диарея келтириб чиқариши мумкин. Буларга қуйидаги турлари киради: *V.parahaemolyticus*; *V.vihnificus*; *V.algenolyticus*; *V.mimicus* ва бошқалар.

*Vibrio cholerae* турига 4 та биовар киради:

*Vibrio cholerae* – классик вабо қўзғатувчиси;

*Vibrio cholerae* El-tor – 1906 йили Готшлехт пандемия даврида топган.

*Vibrio cholerae-proteus* - O1 дан ташқари ҳамма гуруҳларин ўз ичига олади.

*Vibrio cholerae-albensis* - нур тарқатувчи вибрион деб ҳам аталади.

1993 йилда Жанубий шарқий асиёда вабо касаллиги қайд қилинди, касалликни олдин патоген бўлмаган *Vibrio cholerae* нинг 139 серовари келтириб чиқарган (Бенгал типи). Ҳозирги кунда бутун дунёга тарқалган ва вабо қўзғатувчиси ҳисобланади.

Вабо организмнинг умумий заҳарланиши ва гастроэнтерит билан кечувчи ўткир юқумли, ўта хавфли касалликдир. Вабога тезликда лаборатория диагнозини қўйиш жуда муҳимдир, чунки биринчи касаллик бактериологик тарзда тасдиқланиши ва шунга кўра эпидемияга қарши самарали чоралар қўрилиши зарур. Вабонинг лаборатория диагностикаси бактериоскопик ва бактериологик текширувлар билан ўтказилади. Диагноз қўйишнинг қийинлиги, вабо вибрионларнинг биоварларига ўхшаш табиатда кенг тарқалган ва одам учун зарарсиз бўлган вибрионларни (Мечников, Финклер, Приор ва бошқа вибрионлари) ҳақиқий вабо вибрионларидан ажрата билишликдадир.

### **Услубий кўрсатмалар**

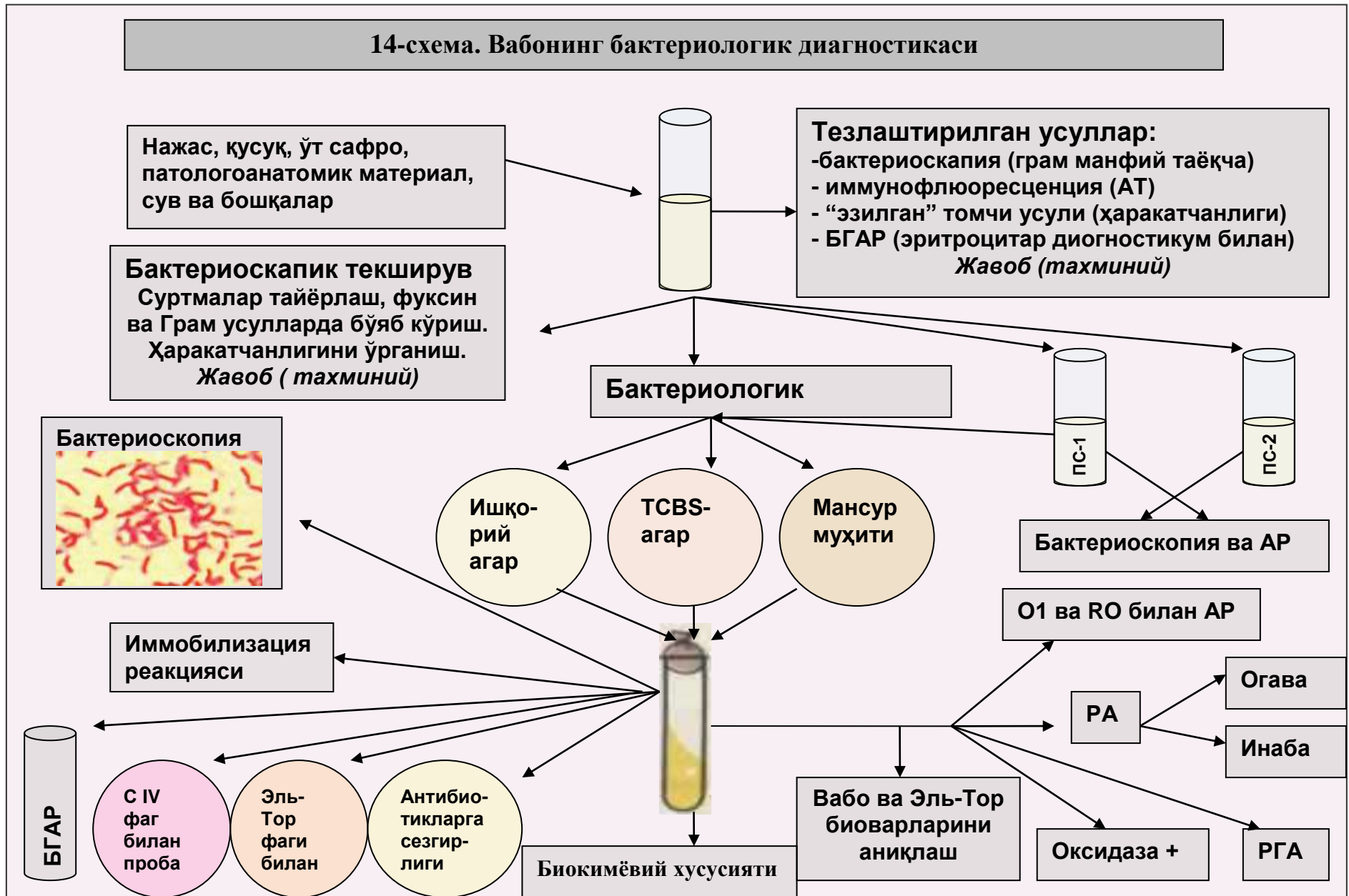
Бактериоскопик текширув (14-схема) **1 кун**. Текширилаётган материалдан (нажас, қусиқ) суртмалар тайёрлаб Грам усули ёки фуксиннинг сувдаги эритмаси билан бўялади. Бундан ташқари, бўялмаган (натив) материалдан “осилган” томчи тайёрлаб, оддий ёки фазо-контраст микроскоп остида вибрионларнинг ҳаракати аниқланади. Суртмаларда грамманфий, бироз букилган таёқчаларнинг (узунлиги 1,5— 3 мкм гача) ва «осилган» томчида вибрионларнинг ҳаракати аниқланади. Суртмаларда грамманфий, бироз букилган таёқчаларнинг (узунлиги 1,5— 3 мкм гача) ва «осилган» томчида актив ҳаракатчан вибрионларнинг кўриниши, биринчи марта дастлабки диагнозни тасдиқловчи жавобни беришга имкон беради .

Вабо касаллиги ўта хавфли юқумли каалликларга кирганлиги сабабли, уни аниқлаш ва бактериологик диагноз қўйиш, касалликни тарқалиб кетишини олдини олишда муҳим эпидемиологик аҳамиятга эга.

### **Вабо вибрионларини тезкорлик билан аниқлаш усуллари**

**1.Иммобилизация реакцияси** (вибрионларни вабо О1 қон зардоби билан ҳаракатсизлантириш). Буюм ойнаси сатҳига нажасдан ёки пептонли сувнинг юзидан олинган материал томизилади, иккинчи томонига физиологик суюқлик олинади. Биринчи ва иккинчи олинган томчилар юзасига вабонинг О1 қон зардоби (1:100 суюлтирилган) томизилади ва

### 14-схема. Вабонинг бактериологик диагностикаси



қовузлоқ билан аралаштирилиб “эзилган” ёки “осилган” томчи препараты тайёрланиб, қоронғилатилган ёки фазо-контраст мосламали микроскопда кўрилади. Агар тахмин тўғри бўлса, 3—5 минутдан кейин вибрион ҳаракатсизланади.

**2. Иммунофлюоресцент усул.** Текширилаётган материалга (нажас, кусуқ) флюоресценция қилувчи вабога қарши зардоб билан ишлов берилади ва люминесцент микроскоп остида текширилади. Препаратда, вабо вибриони бўлса, ҳатто бир нечта бўлса ҳам, хужайра атрофини гардишга ўхшаб ўраб тиниқ яшилнур таратиб турган вабо вибрионининг кўриниши тахминни тасдиқлайди.

Ижобий натижани текшириш бошлангандан 2-6 соат ўтгач ҳам олиш мумкин, қачонки вибрионлар 1 млда  $10^6$  даражасигача кўпайган бўлса. Бунинг учун материални 1 % пептонли сувдан олиш мумкин.

**БҒАР қўйиш.** Пептонли сувни юзасидан олиниб пробиркалардан битасига қуюлади, иккинчи пробиркага эса физиологик суюлиқ контрол сифатида олинади. Ҳар иккала пробиркага ҳам вабонинг эритроцитар диогностикуми 3-4 томчидан томизилади, агар реакция мусбат бўлса эритроцитлар ёпишиб пробирка тагига зонтик кўринишда чўкади, контрол пробиркада тугмача кўринишда бўлади.

**Бактериологик текширув. Биринчи босқичи** материал ҳар-хил суюқ ва қаттиқ муҳитларга хусусан флакондаги ишқорий пептонли сувга (1% пептонли сув, 0,5% натрий хлорид, 0,01%  $KNO_3$  ва 0,2%  $Ka_2CO_3$ ; pH — 9,0) ва косачадаги озикли (Ишқорий агар, TCBS-агар, Мансур муҳити) агарларга экилади. Пептонли сувга экиланларини  $37^{\circ}C$  да 5—6 соат, косачадагиларини 10—12 соат давомида термостатда ўстирилади. Лабораторияда иш тўхтовсиз смена билан олиб борилади.

**Иккинчи босқичи.** 5- 6 соатдан кейин пептонли сувнинг юзида вабо вибриони юпқа парда ҳосил қилиб ўсади. Ҳосил бўлган пардадан ёки юза қаватидан суртмалар ва «эзилган» «осилган» томчи препаратлари



тайёрланади. Агар суртмада вабога ўхшаш вибрионла топилса, шу материалнинг ўзидан буюм ойначасида вабога қарши специфик О1 зардоб билан (1:100 суюлтирилган) агглютинация реакцияси қўйилади. Морфологик ва тинкториал хусусиятлари вабога ўхшаса ва агглютинация реакцияси О1 қон зардоб билан мусбат бўлса, пептонли сувнинг бир қисмини нитрозаиндол синамасини ўтказиш учун бошқа пробиркага қуйиб олинади ва устига бир неча томчи сульфат кислота қуйилади. Агар натижа ижобий бўлса, вабо вибриони таъсирида ажралган индол ва нитратлардан нитрозаиндол ҳосил бўлиши натижасида пушти ранг пайдо бўлади.

Текшириш натижасидан қатъий назар, материал иккинчи пептонли сувга экилади. О1-зардоб билан агглютинация берувчи граммманфий вибрионларнинг аниқланиши иккинчи марта дастлабки жавобни бериш имконини беради.

Олинган натижалардан қатъий назар 14-схемада кўрсатилганидек текшириш давом эттирилади.

Соф культурани ажратиб олиш ва уни идентификация қилиш учун (10 - 12 соат) ишқорий агарда ва бошқа муҳитларда ўсган 5 – 6 та бир типдаги колониялардан фойдаланилади. Вабо вибриони ИА да катта бўлмаган дисксимон тиниқ S-колониялар ҳосил қилади. Агар озикли муҳитдан ёруғлик нури ўтказилса вабо вибриони колониялари кўкимтир товланиб туради. Тиосульфат, цитрат, ўт кислотаси тузлари ва сахароза тутувчи (TCBS) муҳитда вабо вибрионлари сахарозани ферментация қилгани учун муҳитдаги колониялари сариқ ранга киради. Анализни тезлатиш учун колониялардан тайёрланган бактерия суспензияси билан кенгайтирилган агглютинация реакцияси қўйилади. Бунинг учун пробиркаларда агглютинация берувчи О-зардобни пептонли сув билан титригача (0,5 мл ҳажмда) суюлтирилади. Сўнгра ҳар бир пробиркага 1—2 томчидан бактерия суспензияси томизилади. Агглютинация реакцияси натижаси 3—4 соат 37°С ли термостатда сақлангандан кейин аниқланади. Вабонинг соф культурасини ажратиб олиш учун шубҳаланган колониялардан ярим углеводли муҳитларга экилади.

**Учинчи босқичи.** Ярим углеводли муҳитда ўсган вабо вибриони культурасининг охириги идентификацияси унинг вабо фагига сезувчанлиги, гемолитик хусусиятлари, биокимёвий активлиги ва вабога қарши О-зардоб, типик агглютинация берувчи Инаба ва Огава зардоблари билан агглютинация беришига кўра ўтказилади (65-жадвал). Шундай қилиб, культуранинг идентификацияси 3 босқичда ўтказилади: 1) уларнинг *Vibrio* авлодига киришлиги; 2) уларнинг О1 қон зардоби билан агглютинация реакциясини бериши, специфик фагларга сезувчанлиги; 3) культураларнинг турга хос углеводларни ферментацияси, протеолитик, гемолитик ва бошқа белгиларини аниқланади.

Тур ва тип махсусликга эга бўлган О1 ва Огава, Инаба қон зардоблари билан кенгайтирилган АР қўйиш. Реакция 1 мл ҳажмда қўйилади. Қон зардоблари 1:50 дан кўрсатилган титргача суюлтирилади. Ҳар бир суюлтирилган пробиркадаги зардобга микроб культураси (2 млрд.ли) 2 томчидан томизилади. Контрол учун қон зардоби ва микроб культураси олинади. Натижа 18-20 соатдан сўнг аниқланади. Мусбат реакция зардобда кўрсатилган титрни ярмидан кам бўлмаса ҳисобланади.

Углеводларни ферментация қилиши, протеолитик, гемолитик ва бошқа хусусиятлари жадвалда келтирилган.

Вабо вибрионларини ажратиш олиш ва дифференциация қилиш тўғрисидаги якуний хулоса қўзғатувчининг асосий биологик белгиларини комплекс ўрганилгандан сўнг, 36— 48 соат ўтгач чиқарилади.

Бактериологик текширувлар натижасини баҳолашдаги қийинчиликларга вабо вибрионларининг ноаниқ, биринчи навбатда О1-зардоб билан агглютинация бермайдиган (НАГ — вибрионлар) вибрионларни ажратишда

дуч келиш мумкин. НАГ — вибрионлари специфик вабо фагларининг бири билан бирга эриб кетиб (лизис) вабо вибрионларига ўхшаш хусусиятларга эга бўлиши мумкин.

**Серодиагностика.** Серологик текширишлар қўшимча текшириш ҳисобланиб вабонинг ретроспектив диагностикаси, вибрион ташувчиларни аниқлаш, инфекциядан сўнг ва эмлангандан сўнг иммунитетни баҳолаш учун қўлланилади. Бунинг учун, одатда агглютинация реакцияси ёки ПГАР ва ИФУ ҳамда вибриоцид антителолар ва антитоксинлар лизис реакцияси ёрдамида *in vitro* шароитида аниқланади.

Вабо вибрионларини дифференция қилиш учун тестлар.

Тестлар		<b>Vibrio cholerae</b>	<b>Vibrio cholerae El-tor</b>	<b>Серовар 139 (Бенгал)</b>	<b>НАГ вибрионлар</b>
Углеводларни ферментацияси	лактоза	–	–	–	–
	глюкоза	+	+	±	±
	сахароза	+	+	–	–
	манноза	+	+	–	–
	арабиноза	–	–	±	±
	сорбит	–	–	±	±
Протеолитик хусусияти	желатинани емириши	+	+	±	±
	нитратни нитритгача тиклаши	+	+	±	±
	сутни ивитиши	+	+	±	±
O1 қон зардоб билан AP		+	+	–	–
Огава ва Инаба қон зардоблари билан AP		+	+	–	–
Фаглар билан лизиси: С (IV фаг) фаги билан лизис		+	–	–	–
Эль-Тор фаги билан лизис		–	+	–	–
Фогес-Проскауэр реакцияси		–	+	±	±
Товуқ эритроцитлари билан аггл.		–	+	±	±
Қўй эритроцитлари гемолизи		–	+	±	±
Полимиксинга сезгирлиги		+	–	–	–
Гексаминли тест		–	+	±	±

**Ичак юқумли касалликларида қўлланадиган диагностик, профилактик ва даволаш препаратлари.**

**Энтеропатоген ичак таёқчаларига қарши агглютинация ҳосил қилувчи ОВ-зардоблар:** ОВ-колизардоб 026:В6; ОВ-колизардоб 0111:В4; ОВ-колизардоб 055:В5 ва бошқалар. Булар эшерихияларнинг тегишли серогруппа антигенлари билан қуёнларни эмлаш йўли орқали олинган.

Энтеропатоген эшерихияларни идентификация қилиш учун агглютинация реакцияси қўлланилади.

**Шигеллаларни идентификация қилишда қўлланиладиган адсорбция қилинган, агглютинация ҳосил қилувчи зардоблар.** Группалаштирилган ва бир валентли зардоблар. Булар дизентерия шигеллалари Флекснер, Бойд ва Зоннеларнинг маълум турлари ва сероварлари билан қуёнларни эмлаб, сўнгра ортиқча антителоларни адсорбция қилиш йўли орқали тайёрланган.

**Группалаштирилган, адсорбция қилинган ва бир рецепторли сальмонеллэзли О- ва Н- агглютинация берувчи зардоблар.** Булар ҳам худди олдинги кўрсатилган усуллар буйича олинган. Сальмонелла серогруппалари ва сероварларини агглютинация реакцияси билан аниқлашда қўлланилади.

**Сальмонеллэз О- ва Н- монодиагностикумлари.** Булар, сальмонелла аралашмаларини қиздириш йўли билан ўлдириб (О-диагностикумлар) ёки формалин билан ишлов бериб (Н-диагностикумлар) тайёрланади. Қорин тифи ва паратифларни серодиагностикасида (Видадь реакцияси) қўлланилади.

**Вабога қарши агглютинация берувчи О-зардоб, Огава ва Инаба типик зардоблар.** Вабо вибрионлари билан эмланган қуён қон зардобидан тайёрланади. Агглютинация реакциясида вабо О1 вибрионларининг турларини аниқлашда ва серологик фарқлашда ишлатилади.

**Адсорбция қилинган, агглютинация берувчи Зонне зардоби,** овқат токсикоинфекциясида ажратиб олинган Зонне шигеллаларини идентификация қилишда ишлатилади.

**Ботулизм қўзғатувчиларига қарши зардоблар.** Улар ботулин анатоксинлари билан гипериммунизация қилинган отлар қонидан олинади. Диаферм-3 усули билан тозаланиб, концентрацияланади. Даволаш-профилактика мақсадлари учун бу микробларга қарши зардобнинг А, В, Е, F типлари тайёрланади. Кўрсатилган типларнинг моновалент зардоблари, текшириляётган материалдан токсин серотипларини сичқонларда нейтраллаш реакцияси ёрдамида аниқлаш учун ишлатилади.

**Эритроцитар диагностикакумлар.** Шигеллалар, қорин тифи (Vi-эритроцитар) иерсениозлар ва вабони серологик диагностикасида қўлланилади.

**Тиф-паратиф-қоқшол адсорбция қилинган кимёвий вакцина.** Қорин тифи, паратиф А ва В ларнинг кўзгатувчиларидан ажратиб олинган тўла қимматли антигенлар ҳамда қоқшол анатоксинларидан ташкил топган бўлиб, алюминий гидроксидига адсорбция қилинган. Қорин тифи ва қоқшолни махсус профилактикасида қўлланилади.

**Қуритилган, спиртли дизентерия вакцинаси.** Таркибида Флекснер ва Зонне шигеллалари бор. Сурункали дизентерия касалликларини даволашда қўлланилади.

**Секта (тетра) анатоксинли қорин тифи вакцинаси.** Таркибида (қорин тифи бактерияларининг О- ва Vi-антигенлари, қоқшол, газли гангрена ва ботулизм касалликлари кўзгатувчиларининг соф ҳолдаги анатоксинини тутди.

**Вабо вакцинаси.** Вабо вибрионларининг ўлдирилган аралашмаси. Вабога қарши актив эмлашда қўлланилади. Эль-Тор ҳамда классик вабо вибрионларининг Инаба ва Огава серотипларидан тайёрланади.

**Холероген—анатоксин.** Суюқ озиқа муҳитида ўстирилган ва ўлдирилган вабо вибрионларининг аралашмаси. Препарат кераксиз моддалардан тозаланиб, куруқ ҳолда ишлаб чиқарилади. Вабонинг махсус профилактикасида қўлланилади.

**Қорин тифининг кўп валентли бактериофаги.** Таблетка ҳолда бўлиб, кислотага чидамли қобик билан қопланган. Қорин тифи касаллигининг олдини олишда қўлланилади.

**Дизентериянинг кўп валентли бактериофаги.** Таркибида Флекснер ва Зонне шигеллаларини эритувчи фаглар сақлайди. Булар ҳам кислотага чидамли, қобик билан ўралган, таблетка ҳолда чиқарилади. Касалликни даволаш ва олдини олишда қўлланилади.

**Коли-протей бактериофаги** таркибида энтеропатоген эшерихиялар ва протейларнинг кенг тарқалган серогруппаларини эритувчи фаглар бор. Суюқ ҳолда чиқарилади. Касалликнинг олдини олишда ва даволашда қўлланилади.

**Вабо фаги.** Типик вабо фаглари вабо вибрионларини фарқлаш ва турларини аниқлашда қўлланилади. Поливалентли вабо бактериофагидан даво-профилактика мақсадларида фойдаланилади.

**Стафилококк бактериофаглари** (халқаро тўплам). Овқат интоксикациясини эпидемиологик анализ қилиш мақсадида стафилококклар фаготипини аниқлаш учун қўлланилади

**Колибактерин.** Таркибида *E. coli* M17 штаммининг қуритилган ҳолдаги тирик хужайраларини сақлайди, бу қатор ичак патоген бактерияларга қарши кучли антагонистик хусусиятга эга. Препарат кўпинча болаларда дисбактериоз ва дизентерия касалликларини даволашда қўлланади.

**Бифидумбактерин.** Таркиби *B. bifidum* тирик хужайраларининг лиофил усули билан қуритилган аралашмаларидан иборат. Препарат болаларда дизентерия ва қўзғатувчиси номаълум бўлган сурункали ичак инфекцияларини даволашда қўлланилади.

**Бификол.** Бу *E. coli* M17 штамми ва *B. bifidum* тирик бактерияларининг қуритилган аралашмасидан иборат бўлиб, юқорида кўрсатилган ҳолларда қўлланилади. Ичак инфекцияларини даволашда қўлланиладиган антибиотиклар ва химиятерапевтик препаратлар антибиотиклар: тетрациклин, морфоциклин, сигмамицин.

## **МАНЗУ 29. Ўта хавфли инфекциялар: куйдирги (сибир яраси) ва ўлат қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликлари келтириб чиқарувчи микроорганизмларнинг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.

2. Зооноз юқумли касалликларда бактериологик, серологик, биологик ва алергик текширишлар.

3. Зооноз юқумли касалликларда қўлланиладиган диагностика, профилактика ва даво препаратлари.

### **Намойиш қилиш**

1. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликлар келтириб чиқарувчи қўзғатувчиларининг тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.

2. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликлар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг тоза культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган дифференциал озиқ муҳитлар.

3. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликлар келтириб чиқарувчи инфекциялари қўзғатувчиларининг биокимёвий хусусиятларини намоён этувчи муҳитлар ва тестлар.

4. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликлар серодиагностикасида ва сероидентификациясида (агглютинация қилувчи поли ва моно рецепторли зардоблар) профилактик ва даволашда қўлланилувчи препаратлар.

5. Куйдирги (сибир яраси) ва ўлат касалликларида материални олиш ва уни лабораторияга етказиш учун ишлатиладиган махсус идишлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Дизентериянинг микробиологик диагностикаси-учинчи босқич: биокимёвий хусусиятларини ўрганиш ва олинган натижалар асосида яқуний жавоб бериш.

2. Куйдирги касаллиги қўзғатувчисини морфологиясини ўрганиш учун антракоиднинг агарли культурасидан суртма тайёрлаш Грам ва Циль-Нелсон усулларида бўйш, микроскопда кўриш.

3. Асколи термопреципитация реакциясини қўйиш.

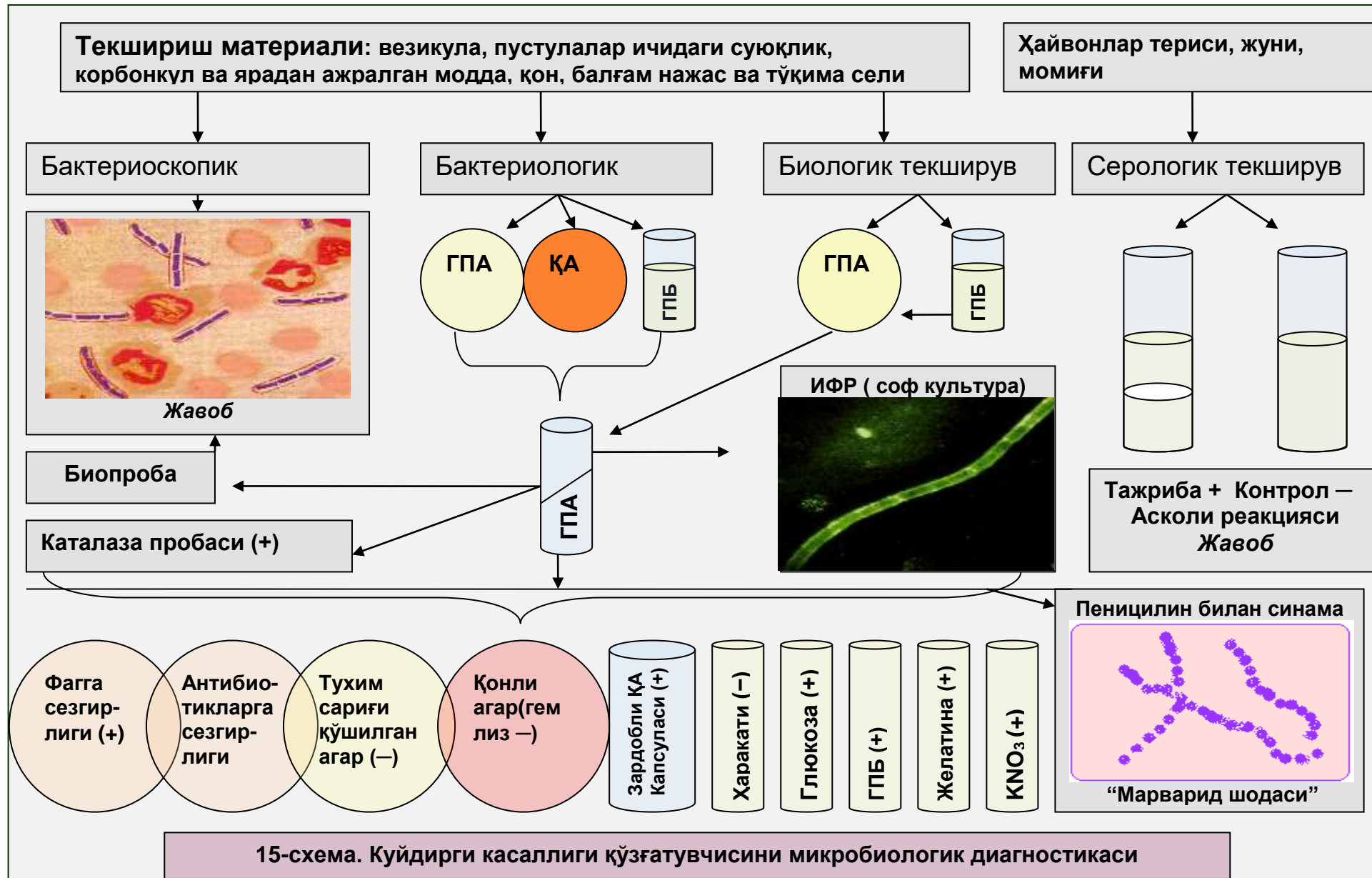
4. Ўлат қўзғатувчисини соф культурасидан ва натив материалдан тайёрланиб Грам ва метилен кўкида бўйланган тайёр препаратларни микроскопда кўриш.

### **ЗООНОЗ ИНФЕКЦИЯ ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ**

Зооноз (zoonosis – юнонча сўз бўлиб, zoon- ҳайвон; nosis-касаллик) юқумли касаллик қўзғатувчилари табиий шароитда ҳайвонларда касаллик келтириб чиқаради, одамлар ҳам бу касалликларга берилувчан ҳисобланади. Бу қўзғатувчилар ҳар хил оила, авлодларга мансубдир: тоунни *Yersinia pestis*, туляремияни — *Francisella tularensis*, бруцеллёзни — *Brucella abortus*, *Br.melitensis*, *Br.suis*, куйдиргини — *Bac. anthracis* келтириб чиқаради. Бундан ташқари зооноз касаллик қўзғатувчиларига лептоспирозлар, сариқ истима (желтая лихорадка), ящур (манқа) ва кўплаб касаллик қўзғатувчилари киради. Табиий шароитда касаллик манбаси ҳайвонлар ҳисобланади ва ҳайвонлар ўртасида эпизоотия кузатилади. Одамдан одамга касаллик ўтмайди, маълум шароитларни ҳисобга олмаганда (масалан, ўлатни ўпка формасида, сариқ истимада), одам касаллик манбаси бўлиши мумкин. Кўрсатилган бактериялар кучли вирулентлиги билан фарқ қилади ва ўта хавфли юқумли касалликни авж олдиради. Шунинг учун ушбу бактериялар билан боғлиқ бўлган бактериологик ишлар хафсизлик қоидаларига риоя қилган ҳолда махсус лабораторияларда олиб борилади.

Зооноз юқумли касалликларининг лаборатория диагностикасида бактериоскопик, бактерологик, серологик усуллар, ҳамда биологик синамалар қўлланилади. Бундан ташқари, тери-аллергик синама ҳам қўйилади.

#### **Куйдирги касаллигининг микробиологик диагностикаси**





Куйдирги кўзгатувчиси Bacillaceae оиласига Bacillus авлодига мансуб бўлиб, Bac.anthraxis деб номланади. Бу авлоднинг кўпчилик вакиллари одамларда госпитал юқумли касалликларни келтириб чиқариши мумкин: (пневмония, септицемия, эндокардит) Bac.subtilis, Bac.cereus, Bac.megaterium, Bac.alvei. Уларнинг асосий хусусиятлари:

1. Ҳаммаси тўғри катта таёқча бўлиб грам мусбат ҳисобланади.
2. Аэроб шароитда спора ҳосил қилиш хусусиятига эга, спораси марказий жойлашади.
3. Бу авлод вакилларида фақат Bac.anthraxis одамда куйдирги касаллигини келтириб чиқаради.

Куйдирги касаллигининг лаборатория диагностикасида қуйидаги усуллар қўлланилади: бактериоскопик; бактериологик; биологик ва серологик.

Булардан энг ишончли усул бу текширилаётган материалдан Bac.anthraxis нинг соф культурасини ажратиб олишдир. Куйдиргини лаборатория диагностикасида Асколи термопреципитация реакцияси ва тери алергик синамаси ҳам дигностик аҳамиятга эга.

### **Услубий кўрсатмалар**

**Бактериоскопик текширув (14 –схема).** Олинган материаллардан суртма тайёрланиб Никифорова аралашмасида 20 минут қотирилади. Суртмалар Грам усулида бўялади. Капсулани аниқлаш мақсадида суртма Бурри-Гинс усулида бўялади. Микроскоп остида Bac.anthraxis йирик (1-2 x 6-10 мкм) граммусбат, алоҳида ёки занжирсимон жойлашган, ҳаракатсиз таёқчалар кўринишида бўлиб, натив препаратда ёки махсус оқсилли муҳитларда ўсганда капсуласини кўриш мумкин. Bac. anthraxis капсула ҳосил қилганда бир неча таёқчалар умумий битта капсулага ўралган бўлиши мумкин.

Куйдирги касаллигига тез диагноз қўйиш учун патологик материаллардан тайёрланган суртмалар иммунофлюоресценция усулида ҳам текширилади. Бунинг учун махсус флюорохром билан нишонланган куйдиргига қарши АТ лар билан суртмалар ишлов берилади ва суртма люменицент микроскопида

кўрилганда *Bac.anthraxis* таёқчалари сариқ яшил товланиб туради (14- схема). Олинган бактериоскопик усуллар асосида биринчи тахминий диагноз кўйилади.

**Бактериологик текширув. Биринчи босқич**-текширилаётган материал ГПА, ГПБ ва ЗҚА (зардобли қонли агар) га экилади ва термостатга 37° С да 18-20 соат кўйилади.

**Иккинчи босқич** – экмалар термостатдан олиниб *Bac. anthracis* суюқ ва зич муҳитларда ўсиш хусусиятлари ўрганилади. *Bac.anthraxis* нинг вирулентли штамлари агарда R-колония ҳосил қилади. Колониялар микроскопни кичик объективда қаралганда “шер ёли” ёки “медузани бош” га ўхшаш кўринишда бўлади. Авирулент штамлари S-колония ҳосил қилиши мумкин. Куйдирги қўзғатувчиси ГПБ парча-парча чўкма ҳосил қилиб ўсади. Қонли агарда ўсганда колониялари атрофида гемолиз кузатилмайди. Бульонда ўсган культурасидан “осилган” томчи препарати тайёрланиб ҳаракатчанлиги ўрганилади. *Bac.anthraxis* ҳаракатчан эмас. Қўзғатувчини соф культурасини ажратиш олиш мақсадида шубҳали колониялардан қиялантирилган ГПА экилади ва бульонли культурадан “марварид шодаси” синамаси (тезкор усул) кўйилади. Бунинг учун Хоттенгер бульонига 30% инактивация қилинган от қон зардоби қўшилади ва ҳар 1 мл бульонга 0,5 ХБ да пенциллин қўшилади. Бульон 2-3 мл дан пробиркаларга кўйилиб, ҳар бирига 2 томчидан текширилаётган бульонли культурадан қўшилади. Экма 3 соат 37° С термостатда сақланади. Ҳар бир пробиркалардан бир нечта суртмалар тайёрланилади ва ҳавода қуритилиб Корнуа суюқлигида (6 қисм этил спирти + 3 қисм хлороформ + 1 қисм уксус кислотаси), суюқлик тўлиқ парланиб кетгунча қотирилади. Суртма метилен кўки билан бўялади ва микроскопда кўрилади. Суртмада куйдирги қўзғатувчиси “марварид шодасини” эслатиб сферопластларга айланади (схема 14). Бу ҳолат *Bac.anthraxis* ни патоген бўлмаган бациллалардан ажратиш имконини беради.

**Учинчи босқич** – термостатдан қўзғатувчини соф культураси олинади ва 12 –схемада келтирилган синамалар кўйилади.

**Тўртинчи босқич-** қўйилган синамалар термостатдан олиниб натижаланади (жадвалга қаралсин). *Bac.anthraxis* сапрофит бациллаларда идентификация қилинади ва яқуний жавоб берилади.

**Биологик синама.** Текширилаётган материал денгиз чўчқачаси, оқ сичқонлар ёки қуёнларга (оқ сичқонларга 0.1-0.2 мл орқамия соҳасига; денгиз чўчқачаси, қуёнларга 0,2-0,5 мл қорин соҳасига) киритилади. Материал юктирилган ҳайвонлар (оқ сичқонлар 1-2 ва денгиз чўчқачаси, қуёнлар 2-4 кунда) ўлади. Киритилган жойида шиш ва қон қуйилиш кузатилади. Ҳайвон ёрилганда ички органлари димиққан, катталашган бўлади, бу ўзгаришлар кўпроқ талоқда учрайди. *Bac.anthraxis* ни заҳарини таъсири натижасида қон ивиб қолмайди, қуюқ, қора қизимтир рангда бўлади. (қўзғатувчини номи *anthrax*-кўмир шундан келиб чиққан). Ҳайвонларни ички органларидан тамға суртмалар тайёрланилади, қўзғатувчини соф культурасини ажратиб олиш учун озикли муҳитларга экилади.

**Серодиагностика.** Касал бўлганларни ва реконвалесцентларни аниқлашда қўлланилади. Қўзғатувчини флюоресцентлар билан нишонланган АТ ёрдамида ҳам (аралаш культураларда) аниқлаш мумкин. Бундан ташқари серодиагностикада КБР, БГАР, ИФА ва ПЗР кенг қўлланилмоқда.

Жадвал 66.

**Куйдирги қўзғатувчиси ва бошқа бациллаларни дифференциал белгилари**

Белгилари	<i>Bac. anthracis</i>	<i>Bac.cereus</i>	<i>Bac. subtilis</i>
Ҳаракатчанлиги	–	+	+
Қўй эритроцитлари лизиси	–	+	–
Желатинани емириши	Тўнтариб қўйилган арчани эслатади	Укол бўйлаб тез емиради, горизонтал ўсимталар ҳосил қилади	Юзасида емириб пленка ҳосил қилади
ҚА (гемолитик хусусияти)	–	+	+
Лакмусли зардобда ўсиши	Қизартиради	кўкартиради	кўкартиради
Денгиз чўчқачаси ва қуён учун патогенлиги	+	–	–

Фогес-Проскауэр реакцияси	+	–	+
Уреаза ҳосил қилиши	–	±	–
Арабиноза	–	–	+к
Ксилоза	–	–	+к
Пенициллинга сезгирлиги	+	–	–
Куйдирги фагига сезгирлиги	+	–	–

Серодиагностикада термопреципитация Асколи реакцияси муҳим аҳамиятга эга бўлиб, бактериологик усуллар натижа бермаган тақдирда ҳам қўзғатувчини аниқлаш мумкин. Асколи термопреципитация реакциясининг моҳияти шундан иборатки куйдирги қўзғатувчиси ўзини таркибида О-самотик (полисахарид) Аг тутати. Бу антиген қўзғатувчини капсула Аг дан фарқ қилиб ўта температурага чидамли. Шунинг учун бу антиген ташқи муҳитда

Жадвал 67 .

### Термопреципитация Асколи реакциясини қўйиш (баённома шакли)

Ингредиентлар, мл	Тажриба синамаси	Контрол пробиркалар №			
		1	2	3	4
Куйдиргининг преципитация берувчи зардоби	0,3	–	0,3	0,3	0,3
Қуённинг нормал зардоби	–	0,3	–	–	–
Ингредиентлар пробирка девори бўйлаб аста –секин томизилади					
Теширилувчи термоэкстракт	0.3	0.3	–	–	–
Куйдирги микробининг стандарт антигени	–	–	0.3	–	–
Контрол нормал термоэкстракт	–	–	–	0.3	–
Натрий хлориднинг изотоник эритмаси	–	–	–	–	0.3
Натижалар					

(хайвонлар териси, жуни, момифида) узок вақт сақланади. Бу материаллар қайнатилганда, қайнатма экстрактида полисахарид Аг сақланиб қолади ва махсус преципитацияга учратувчи зардоб қўшилганда преципитация реакцияси рўй беради.

**Тери аллергик синама.** Билакнинг ички тарафидаги тери орасига 0,1 мл антраксин юборилади. Натижа 24 соатдан сўнг кўрилади, мусбат реакцияда юборилган жойда қизариш ва инфильтрат ҳосил бўлади.

### **Ўлат (тоун) касаллигининг микробиологик диагностикаси**

Ўлат (тоун) касаллигининг қўзғатувчиси Enterobacteriaceae оиласига *Yersinia* авлодига киради. Бу авлоднинг вакиллари *Y.pestis* ўлат, *Y.pseudotuberculosis* – псевдотуберкулёз ва *Y.enterocolitica* – энтероколит касалликларини келтириб чиқаради. Юқоридаги охириги иккита қўзғатувчиларни ичак юқумли касалликлар бўлимида атрофлича кўриб чиқилган.

*Y.pestis* ўлат қўзғатувчиси табиий шароитда зооноз касаллик бўлиб, асосан кемирувчиларда касаллик келтириб чиқаради ва улар орасида тарқалувчи юқумли эпизоотияларга сабаб бўлади. Одамларга юқиш йўлига қараб ўлатнинг бубонли, бирламчи ўпка, иккиламчи ўпка ва септик клиник шакллари учрайди. Бирламчи ҳолатларда асосан ўлатнинг бубон формаси одамларда кузатилади ва касаллик эндемик ўчоқларда ёввойи кемирувчилар орқали бўғимоёқлилар, бургалар (трансмиссив) юқтиради. Шаҳарларда эса касаллик манбаси каламушлар бўлиши мумкин. Қўзғатувчи одамлага юқиши контакт (хайвонларни терисини шилиш даврида) йўли ёки кемирувчиларнинг эктопаразитлари (бургалар) билан юқиши мумкин. Касаллик бошланганда одамлар ҳам касаллик манбаси бўлиб қолади. Ўлатни бубонли формаси септик формага ўтиши мумкин ва иккиламчи ўпка формасини келтириб чиқаради. Бунинг натижасида қўзғатувчи одамлар ўртасида тез ҳаво томчи йўли билан тарқалиши ва бирламчи ўпка формасини келтириб чиқариб эпидемияга сабаб бўлади. Ўлат қўзғатувчисини бемор одамлардан ажратиб олиш жуда

муҳимдир, чунки даслабки касалликни тез бактериологик тасдиқлаш, эпидемияга қарши ўз вақтида самарали чораларни кўриш имконини беради.

Ўлат кўзғатувчисини яна бир характерли хусусияти ташқи муҳит факторларига ўта чидамлилигидир. Паст температураларда у фақат сақланиб қолмасдан кўпайиш хусусиятига ҳам эгадир. Масалан хайвон ўликларида (ўртача 0°) ўлат кўзғатувчиси вирулентлигини 5-6 ой сақлаши мумкин. Бошқа кўплаб бактерияларнинг ўртача ўсиш температураси 37° бўлган тақдирда ўлат кўзғатувчисининг ўртача кўпайиш температураси 25-30° тўғри келади, уларнинг бу хусусияти идентификацияда ва ажратиб олишда қўлланилади.

Ўлатнинг микробиологик диагностикасида асосан бактериоскопик, бактериологик, биологик усуллар қўлланилади. Охириги йилларда диагностикада ўлат бактериясини ўта тез аниқлаш усуллари (ИФА, ПЗР) ишлаб чиқилган.

### **Услубий кўрсатмалар**

**Бактериоскопик текширув (15-схема).** Текширилаётган материалдан суртма тайёрланиб, Грам усули ва метилен кўкининг сувли эритмаси билан бўялади. Ўлат кўзғатувчиси суртмада овоид (тухумсимон) кўринишдаги таёқча бўлиб интенсив биполяр (икки чети) бўялади. Бундай бўялиши асосан одамлардан ва хайвонлардан ёки ёш бульонли культурасидан олиниб тайёрланган натив суртмаларга хос бўлади. Зич муҳитларда ўсганда ўлат кўзғатувчиси биполяр бўялишини ва овоид формасини йўқотиши мумкин.

Ўлат касаллигига тез диагноз қўйиш учун патологик материаллардан тайёрланган суртмалар иммунофлюоресценция усулида ҳам текширилади. Бунинг учун махсус флюорохром билан нишонланган ўлатга қарши АТ лар билан суртмалар ишлов берилади ва суртма люменицент микроскопида кўрилганда *I.pestis* таёқчалари сариқ - яшил товланиб туради.

Бактериоскопик усулда ўлатга характерли бўлган таёқчаларнинг патологик материаллардан топилиши ва иммунофлюоресценция усулини ижобий бўлиши ўлатга тахминий диагноз қўйиш имконини беради.

### **Бактериологик текширув.**

**Биринчи босқич.**Текширилувчи материал (ГПА, Мартен, Хотенгер ва ГПБ) озикли муҳитларга экилади ва термостатда 25-28° ўстирилади (схема16).

**Иккинчи босқич.** Ўлат қўзғатувчисини культурал хусусиятлари дастлаб 10-12 соатдан кейин ўрганилади. Бу муддат ичида ГПА ўлат бактерияларининг ёш колониялари майда шиша синиқларини (битое стекло) эслатиб, кейинчалик бирлашиб қирралари нотекис “тўқилган рўмолча” га ўхшаш колониялар пайдо қилади (R-колония). Бундай колонияларни асосан ўлатнинг вирулентли штамлари ҳосил қилади. Вирулентлиги сусайган ва авирулент штамлари S-формадаги колониялар ҳосил қилиши мумкин.

Ўлат қўзғатувчилари бульонда ҳам характерли ўсади. Бульонда ўсганда унинг юзасида парда ҳосил қилади ва бу пардалардан бульонни пастига қараб ипчалар осилиб туради, сталактитларни эслатади.

Агар текширилувчи материал ўта бошқа бактериялар билан ифлосланган бўлса экмалар 15° С ўстирилади. Ўлат қўзғатувчиси бошқа бактериялардан олдинроқ бу температурада ўса олади.

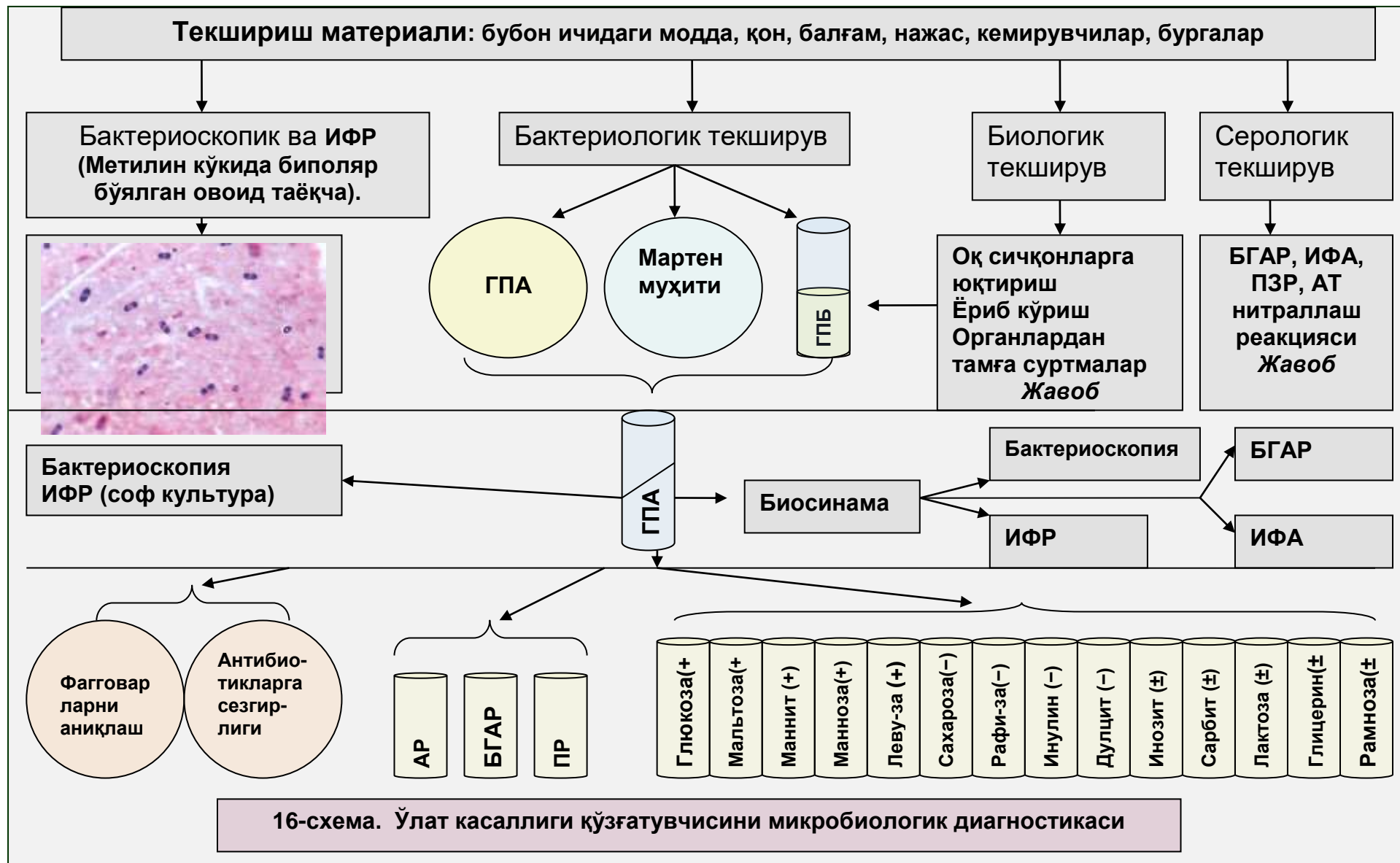
Бульонда ўсган культурасидан “осилган” томчи препарати тайёрланиб ҳаракатчанлиги ўрганилади *I.pestis* ҳаракатчан эмас. Қўзғатувчини соф культурасини ажратиб олиш мақсадида шубҳали колониялардан қиялантирилган ГПА экилади. Диагнозни тезлаштириш мақсадида бакрериофаг синамаси қўйилади.

**Бактериофаг синамаси.** Учта озикли муҳит билан косача олинади. Биринчи косачага культура ўлат бактериофаги билан аралаштириб, иккинчи косачага олдин культура шпател билан экилиб, сўнг ўлат бактериофаги томизилиб йўлакча қилинади. Учинчи косачага эса бактериофагсиз культура экилади. Экмалар 28° С да термостатга қўйилади.

12-14 соатдан сўнг экмалар олиниб натижаланилади. Агар шубҳаланилаётган колониялар ўлат қўзғатувчиси бўлса, биринчи косачада ўлатнинг негатив колониялари (колония қуриб қолади), иккинчи косачада стерил йўлакча ва учунчи косачада эса типик ўлат қўзғатувчисини колониялари ҳосил бўлади.

**Учинчи босқич.** Термостатдан қўзғатувчини соф культураси олинади.

Қиялантирилган ГПА ўлат қўзғатувчиси нозик оқиш кулранг парда ҳосил қилиб ўсади. Ажратиб олинган соф культура билан 13 –схемада келтирилган синамалар қўйилади.





**Тўртинчи босқич-** Қўйилган синамалар термостатдан олиниб натижаланади. *I.pestis* бошқа иерсениозлардан ( жадвалга қаралсин). идентификация қилинади ва якуний жавоб берилади.

**Биосинама.** Бу усул бегона микрофлора билан ифлосланган материалдан соф культура ажратиб олиш учун ишлатилади. Ўта сезгир лаборатория ҳайвонлари оқ сичқон ва каламушлар ҳисобланади. Улар бўлмаса денгиз чўчқачаси қўлланилади. Албатта текширилувчи материал ҳайвоннинг терисига суркалиши ва тери орасига киритилиши зарур. Агар материалда бегона микроорганизмлар бўлмаган тақдирда материал ҳайвоннинг қорин пардасига юборилади.

Ҳайвонлар ўлгандан сўнг (материални юбориш турига қараб 3-7 кун) ёриб кўрилади, органларидаги патологик ўзгаришлар аниқланади. Органлардан тамға суртмалар тайёрланилиб Грам усулида ва метилен кўки билан бўяб микроскопда кўрилади ва озиқли муҳитларга экилиб 16–схема бўйича бактериологик текширув ўтказилади.

Ўлат қўзғатувчисини диагностикасидаги жадал усуллар.

1. Иммунофлюоресцент усул қўзғатувчини турли патологик материалларда, атроф муҳит объектларида, эктопаразитларда борлигини 2 соат ичида аниқлаш имконини беради. Бу мақсадда, турга хос ўлатга қарши атителалар флюоресцент моддалар билан нишонланади. Материалда ўлат қўзғатувчиси бўлса нишонланган АТ унга бирикиб люминецент микроскопда яшил нур тарқатади.

2. Текширилаётган материалда ўлат қўзғатувчиси борлигини, қўзғатувчини АТ си юклатилган эритроцитар диагностикаумлар билан ПГАР орқали ҳам аниқлаш мумкин. Бундан ташқари охирги йилларда антителоларни нейтролизация реакцияси (АНР), ИФА ва *I. pestis* ни ўсишини тезлаштирувчи озиқли муҳитлардан диагностикада фойдаланилмоқда.

## **МАВЗУ 30. Ўта хавфли инфекциялар: бруцеллёз ва туляремия қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Бруцеллёз ва туляремия касалликлари келтириб чиқарувчи микроорганизмларнинг микробиологик диагностика схемаларини ўрганиш.

2. Бруцеллёз ва туляремия касалликларда бактериологик, серологик, биологик ва аллергик текширишлар.

### **Намойиш қилиш**

1. Бруцеллёз ва туляремия касалликлар келтириб чиқарувчи қўзғатувчиларининг тоза культурасидан тайёрланган суртмалар.

2. Бруцеллёз ва туляремия касалликлар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг тоза культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган дифференциал озиқ муҳитлар.

3. Бруцеллёз ва туляремия касалликлар серодиагностикасида ва сероидентификациясида профилактик ва даволашда қўлланилувчи препаратлар.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Бруцеллёзнинг серологик диагностикаси- текшириш учун материал: бруцеллёзга шубҳа қилинган беморнинг қон зардоби. Хеддлсон ва Райт реакцияларини қўйиш.

2. Туляремиянинг серологик диагностикаси- текшириш учун материал: туляремияга шубҳа қилинган беморнинг қон зардоби. Кегайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш ва натижалаш.

## **Туляремия касаллигининг микробиологик диагностикаси**

Туляремия қўзғатувчиси *Francisella tularensis* охириги классификация бўйича инжиқ ўсувчи аэроб грамманфий таёқча ва коккобациллалар гуруҳига киритилган. Бу гуруҳга *Francisella*, *Brucella*, *Bordetella*, *Legionella* авлодлари киритилган. Буларнинг бир гуруҳга киритилишини асосий сабаби, суъний

ўстирилганда маълум ўсиш факторларига бу бактериялар муҳтож. Оддий шароитларда ўсмайди, уларни ўстиришда махсус озиқли муҳитлар ва шароитлар қўлланилади. Уларнинг номланиши ҳам (инжиқ –прихотливые) шундан келиб чиққан.

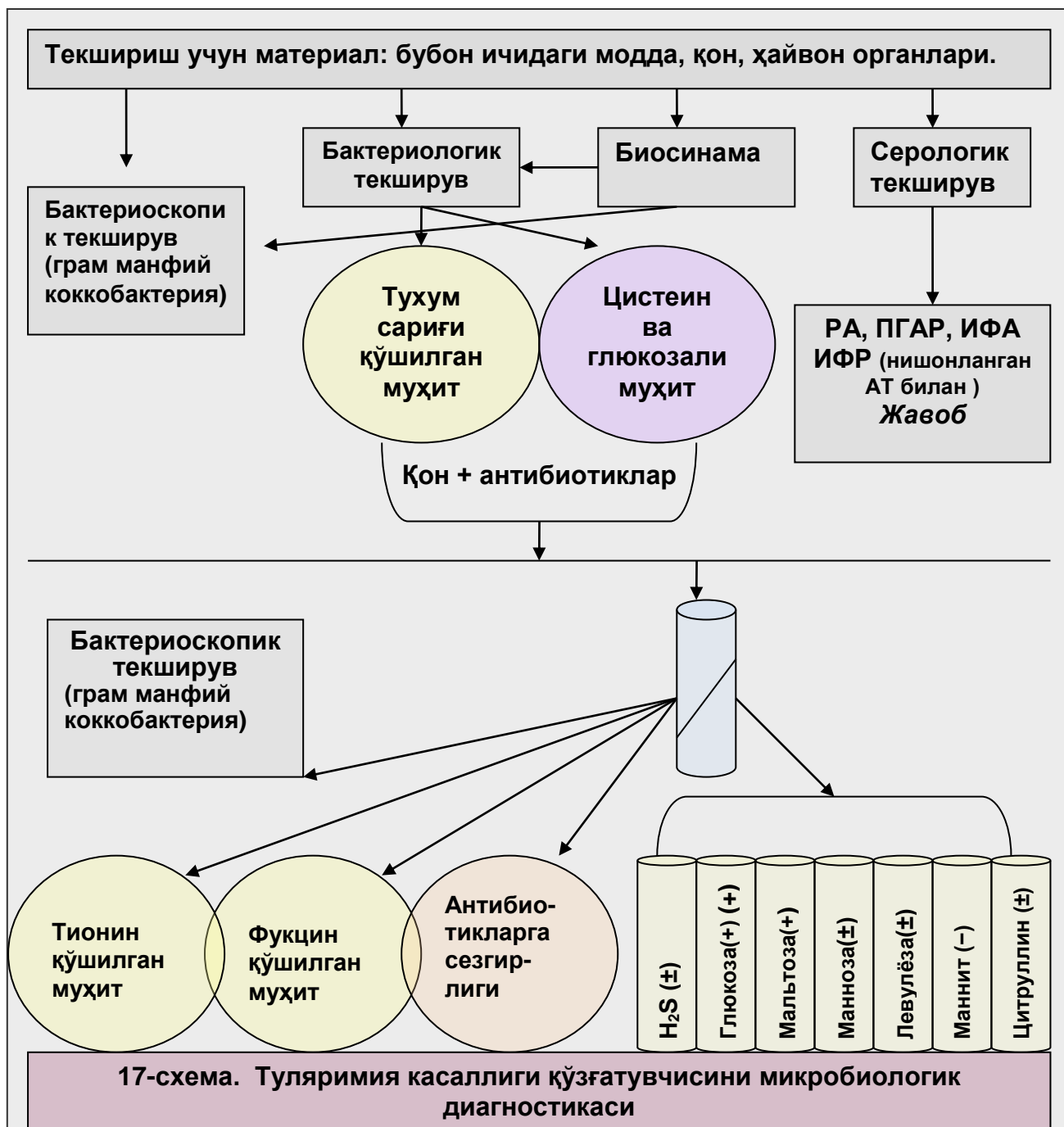
Туляремия қўзғатувчиси табиий шароитда кемирувчиларда учраб, уларда ўлимга олиб боровчи юқумли касалликларни келтириб чиқаради. Қўзғатувчи экологогеографик ирқий жиҳатдан дифференциация қилинади. А-типи (*Nearctica*) кўплаб кемирувчи ва қон сўрувчиларда учраб ўта одам ва қуёнлар учун вирулентли ҳисобланади, улар глицеринни ферментацияга учратади ва цитруллинуреидаза сақлайди. Бу тип асосан шимолий Америкада тарқалган. Одам учун ўта патоген, даволанмаса ўлим 6% бўлиши мумкин. В-типи (*Palaearctica*) асосан сув ҳайвонларида учрайди, одам ва қуёнлар учун кучсиз

вирулентли ҳисобланади, глицеринни ферментацияга учратмайди ва цитруллинуреидаза сақламайди. Бу тип асосан Европа ва Осиёда учрайди. Вариант *японика* Японияда учрайди. Вариант *mediasiatica* Ўрто Осиёда, Илл ва Амударё дельталарида учрайди, глицеринни ферментацияга учратади ва цитруллинуреидаза сақлайди ва одамлар, қуёнлар учун ўртача вирулентликка эга.

Одамларда туляремия қўзғатувчисини аниқлаш учун тери-аллергик синама ва серологик усуллар қўлланилади. Бактериологик диагностика махсус лабораторияларда текширилувчи материални лаборатория ҳайвонларига юктириш усули билан ўтказилади, чунки касалдан олинган қон ва бошқа материаллардан қўзғатувчини ажратиб олиш ўта мураккаб ҳисобланади. Диагностикада бактериоскопик, бактериологик ва серологик усуллардан фойдаланилади.

### **Услубий кўрсатмалар**

Бактериоскопик текширув (17-схема). Текшириладиган материалдан суртма тайёрланиб, Грам усули ва метилен кўкининг сувли эритмаси билан бўялади. Туляремия қўзғатувчиси майда (0,1-0,5 мкм) ҳаракатсиз нозик капсула билан ўралган таёқча. Ажратиб олинган культураларда кокксимон формаси кўпроқ учраса, органлардан олинган суртмаларда эса таёқчасимон ёки коккабактерия формаси устунлик қилади. Анилин бўёқларини яхши қабул қилмайди, шунинг учун яхши бўялмайди, грам манфий. Туляремия қўзғатувчиси полиморф бўлиб антибиотиклар таъсирида ва эски культураларида формасини ўзгартириши, биполяр бўялиши ва ипсимон формалари ҳам учрайди. Туляремия касаллигига тез диагноз қўйиш учун патологик материаллардан тайёрланган суртмалар иммунофлюоресценция усулида ҳам текширилади. Бунинг учун махсус флюорохром билан нишонланган Туляремияга қарши АТ лар билан суртмалар ишлов берилади ва суртма люменицент микроскопида кўрилади. Бактериоскопик усулда Туляремияга характерли бўлган таёқчаларнинг патологик материаллардан топилиши ва иммунофлюоресценция усулини ижобий бўлиши Туляремияга тахминий диагноз қўйиш имконини беради.



### Бактериологик текширув ва биосинама.

**Биринчи босқич.** Туляремия қўзғатувчисининг лаборатория шароитида ажратиб олиш ўта мураккаблиги ва патологик материаллардан деярли ажратиб олиш мумкин бўлмаслигини ҳисобга олиб, соф культура олишда биосинамадан фойдаланилади. Туляремия бактериясига оқ сичқонлар ва денгиз чўчкачалари ўта сезгир бўлиб, текширилувчи материалда қўзғатувчини жуда оз миқдори бўлиши ҳам, синамада тери орасига юборилса улар касалланиб ўлиши мумкин. Ўлган ҳайвонлар ёрилиб текширилади ва ундан олинган материаллар ҳам

параллел равишда озиқли муҳитларга соф культурасини ажратиб олиш учун экилади. Туляремия бактерияси қаятий аэроб ва озиқли муҳитларга ўта талабчан, шунинг учун уларни ажратиб олишда мураккаб таркибли тўқима экстрактлари, қон, ивигилган тухум сариғи, цистин, глицерин ва бошқа бактерияларни ўсиб кетишига қарши антибиотиклар қўшилган муҳитлар қўлланилади. Экилган экмалар термостатда 36-37° С ўстирилади.

**Иккинчи босқич.** Туляремия қўзғатувчисини культурал хусусиятлари ўзига хос бўлиб зич муҳитларда вирулент штамлари силлик, оч ҳаво ранг, майда, S- шаклдаги диссоцияланган колониялар ҳосил қилади.

Муҳитларда ўсган Туляремияга шубҳа қилинган колониялардан суртма тайёрланиб Грам усулида бўяб микроскопда кўрилади ва соф культурасини ажратиб олиш учун қиялантирилган махсус агарли муҳитларга экилади.

**Учинчи босқич.** Соф культура ( схема- 17) бактерия хужайрасининг шакли, ўсиш характери, биокимёвий антигенлик хусусиятларига қараб идентификация қилинади. Туляремия бактерияларини хусусиятлари таркибига камроқ оқсил моддалари қўшилган, махсус зич муҳитларда аниқланади. Туляремия қўзғатувчиси бруцеллалардан глюкоза, мальтоза ва маннозани кислотагача парчалаши билан фарқ қилади.

**Тўртинчи босқич-** Қўйилган синамалар натижаланади. Туляремия бактерияси идентификация қилиниб ва якуний жавоб берилади.

**Серодиагностикаси.** Туляремия бактериялари вирулентлик ва иммуногенлик хусусиятлари билан боғлиқ қобик ва соматик O-антигенга эга. Бемор қон заробидаги *Francisella tularensis* га қарши антителаларни туляремия диагностикаси ёрдамида кенгайтирилган агглютинация реакцияси билан аниқлаш мумкин. АР диагностик титри 1:100 ва ундан юқори бўлади. Касалликнинг биринчи ҳафтасида АР билан ижобий натижа 12,5%, 4 ҳафтасида эса бу натижа 93,2% ташкил қилади. ПГАР агглютинация реакциясига нисбатан сезгир ҳисобланади. Касалликнинг авжида зардобда антителалар титри 1:1280-1:2560 ва ундан юқори бўлиши мумкин. Бу реакцияларни албатта касалликни динамикасида жуфт қон зардоб билан қўйиш зарур ва АТ титрини ошиб

боришга қараб ташҳис қўйилади. Ҳозирги кунда Туляремия бактериялари аниқлашни ўта сезгир усуллари (ИФА, ПЗР, ИФР нишонланган АТ) ишлаб чиқилган бўлиб бу усуллар жадаллаштирилган диагностикада қўлланилади. Шу билан бир қаторда жадаллаштирилган диагностикада қон – томчи агглютинация реакцияси ҳам қўлланилиб келинади. Бунинг учун беморнинг бармоғидан олинган қон буюм ойначасига томизилади, устига бир томчи дистилланган сув томизилади (эритроцитларни лизис қилиш учун), бир томчи туляремия диагностикаси томизилиб шиша таёқча билан аралаштирилади. Агар қонда АТ нинг дигностик титри 1:100 ва ундан ортиқ бўлса, у ҳолда томчида дарҳол агглютинация рўй беради, шунингдек титр юқорида кўрсатилгандан кам бўлса, агглютинация 2-3 минутдан кейин рўй беради.

Тери алергик синама. Антиген сифатида тулярин - 70° С ўлдирилган бактерия суспензияси ишлатилади. Препарат тери орасига 0.1 мл (100 млн микроб танаси) миқдорда киритилади. Натижа 24-48-72 соатдан кийин текширилади. Синамалар ўта сезгир бўлиб касалликни 3- 5 кундан бошлаб мусбат натижа беради, лекин натижалар касалдан тузалган ва эмланганларда ҳам мусбат бўлади. Шунинг учун реакцияни баҳолашда эҳтиёткорлик талаб қилинади.

### **Бруцеллэз касаллигининг микробиологик диагностикаси**

Бруцеллэз касаллигининг қўзғатувчилари *Brucella* авлодига мансуб бўлиб бу авлодга қуйидаги турлар киради:

1. *Br.melitensis* –қўй, эчки каби ҳайвонларда бруцеллэз келтириб чиқаради 3 биовари бор.
2. *Br.abortis* – шохдор қора молларда бруцеллэз кетириб чиқаради 9 биовари бор.
3. *Br.suis* – чўчқаларда бруцеллэз кетириб чиқаради 5 биовари бор.
4. *Br.rangiferi* – буғуларда, *Br.neotamae*- кемирувчиларда , *Br. ovis* – паррандаларда ва *Br.canis* – итларда. Булардан энг кўп касалликни одамлада юқоридаги учта тури келтириб чиқаради. Бизнинг шароитимизда кўпроқ *Br.melitensis* ва *Br.abortis* касалликларга сабаб бўлади. Бруцеллэз касаллиги

касб касалликларига киради, асосан касаллик билан чорвачиликда ишловчи кишилар касалланишади. Туляремияга ўхшаб бруцеллаларни ҳам ажратиб олиш жуда қийин. Шунинг учун микробиологик диагностикасида биологик ва серологик усуллар (Хеддлсон, Райт реакциялари БГАР, ва ИФА) кенг қўлланилади. Айрим вақтларда махсус лабораторияларда бруцеллалар культураларини ажратиб олишга ҳаракат қилинади.

### **Услубий кўрсатма**

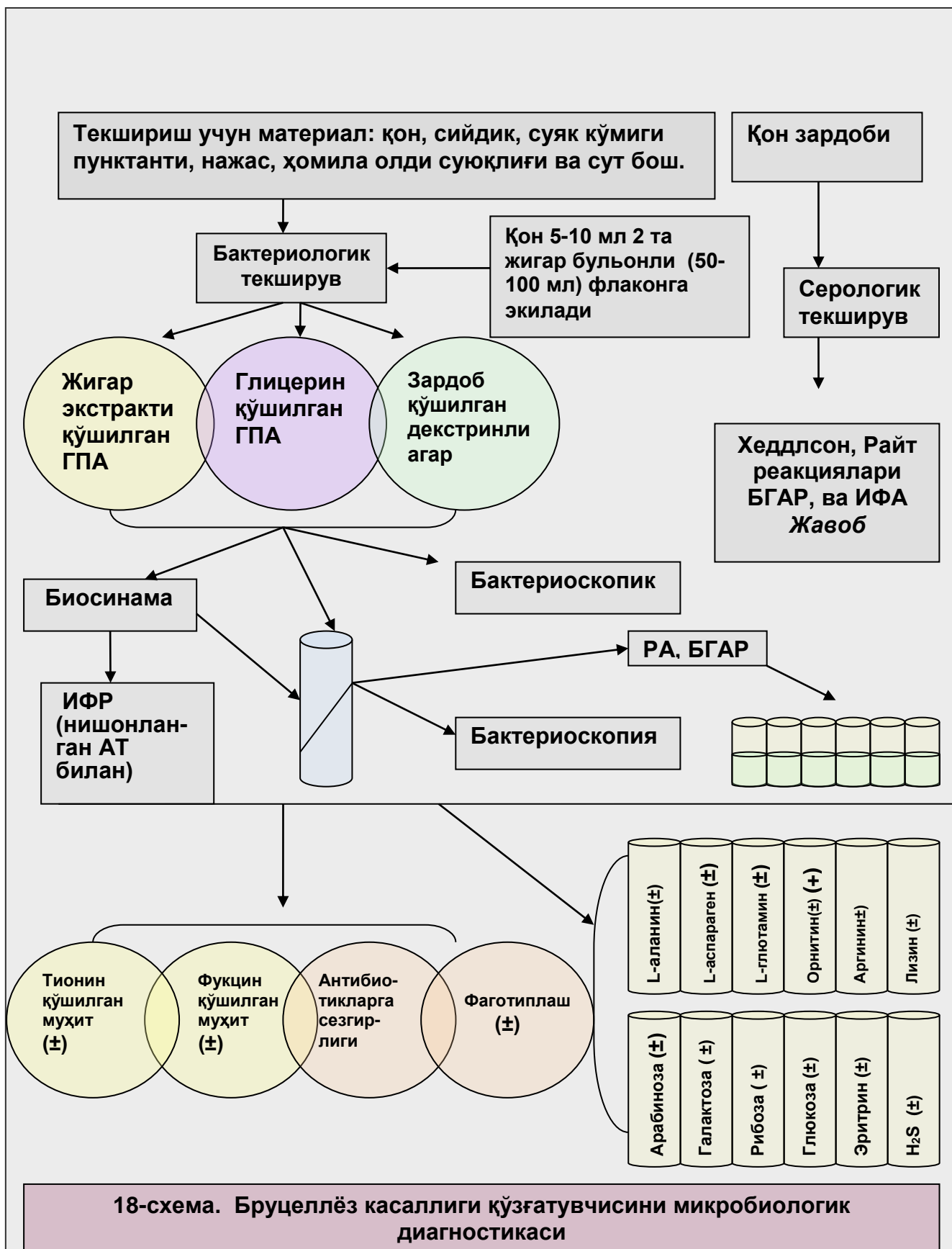
Бактериологик усул (18-схема). Гемакультура олиш учун бемор билагидан 5-10 мл қон олиниб 50-100 мл дан иборат жигар бульонли иккита флаконга экилади. Биринчи флакон оддий аэроб шароитда *Br.melitensis* ажратиб олиш учун, иккинчи флакон 10%  $\text{CO}_2$  қўйилган атмосферада *Br.abortis* ўстирилади.

Бруцеллалар биринчи генерациясида жуда секин боради, улар термостатда 2-5 кунда ўсади. Бруцеллалар зич агарларда майда, рангсиз товланиб турувчи колонияларни, бульонда эса лойқа шилимшиқ чўкма ҳосил қилиб ўсади. Грам усули билан бўялган суртмаларда бурицеллалар майда (0,3-0,5 мкм) грамманфий кокксимон ёки коккобактерия кўринишида бўлади, улар ҳаракатсиз, спора ҳосил қилмайди, маълум шароитларда капсула ҳосил қилиши мумкин.

Буруцеллаларни идентификация қилиш учун ажратиб олинган тоза культураси 18-схемада кўрсатилган тестлар орқали ўтказилади.

Бруцеллаларнинг ферментатив хусусиятлари кучсиз ривожланган, улар деярли углеводларни ферментация қилмайди. Жигар экстракти муҳитларда  $\text{H}_2\text{S}$  ҳосил қилади. Бруцеллаларнинг дифференциал хусусиятлари жадвалда келтирилган.

**Серодиагностикаси.** Клиник амалиётда асосий диагностик усул Райта реакцияси ҳисобланади. Райта реакцияси кенгайтирилган агглютинация реакцияси бўлиб Видал реакциясига ўхшаб (бетга қаралсин) қўйилади. Реакция биринчи ҳафтадан бошлаб мусбат бўлади. Энг юқори титри 1-2 ойларда кузатилади. Диагностикум сифатида бруцеллаларнинг метилен кўки





## Brucella авлоди вакиллари дифференциал хусусиятлари

Белгилари	Br. melitensis биотиплари			Br. abortis биотиплари									Br. suis биотиплари			
	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4
<b>Аминокислоталар</b>																
<b>L-аланин</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±	-
<b>L-аспарагин</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	-	-
<b>L-глутамин</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	±	±
<b>Мочевина цикли субстрати</b>																
<b>DLОрнитин</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>LАргинин</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>LЛизин</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
<b>Углеводлар ферментацияси</b>																
<b>LАрабиноза</b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<b>DГалактоза</b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-
<b>DРибоза</b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>H<sub>2</sub>S ҳосил қилиши</b>	-	-	-	+	+	+	+	-	±	±	-	+	+	-	-	-
<b>Фуксинга сезгирлиги</b>																
<b>1:50 000</b>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<b>1:100 000</b>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<b>Танинга сезгирлиги</b>																
<b>1:25 000</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>1:50 000</b>	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Биринчи ўсишида CO<sub>2</sub> мухтожлиги</b>	-	-	-	±	+	±	±	±	±	±	+	±	-	-	-	-

билан бўялган корпускуляр диагностикумидан (учала кўзгатувчилардан бирга тайёрланилади) фойдаланиш мумкин. Реакциянинг диагностик титри 1:200 ва ундан ортиқ бўлиши керак. Райта реакциясидан олдин албатта тахминий Хеддлсон агглютинация реакцияси қўлланилади. Реакция касални суюлтирилмаган зардоби ва концентрацияланган “антиген –диagnostикум” билан қўйилади.

Хеддлсон агглютинация реакцияси қўйиш. 9x12 см катталикдаги мойдон тозаланган квадрат ойнача 5 та катакчаларга бўлинади, унга микропипетка билан ингредентлар қўшилади. Катакчалардаги ингредентлар зардобнинг энг кам миқдоридан бошлаб шиша таёкча билан аралаштирилади. Натижа мусбат бўлса биринчи минутдан бошлаб ойначада агглютинация рўй беради. Агар агглютинация тез рўй бермаса ойнача эҳтиётлик билан спиртовка алангасида озроқ қиздирилади. Агглютинация зардобнинг 0,02 ва 0,01 мл миқдоридан рўй берса мусбат ҳисобланади. Лекин Хеддлсон реакцияси ўта махсус эмас, баъзи касалликларда, юқори температура кўтарилганда ҳам мусбат бўлиши мумкин. Шунинг учун бу реакция тахминий ҳисобланади.

Охирги йилларда бруцеллез диагностикасида БГАР кенг қўлланилмоқда, бу реакцияда бруцеллезни эритрар диагностикаси қўлланилади. Реакцияни қўйиш усули бошқа БГАР ўхшаш (серологик реакцияларга қаралсин).

Касалликнинг ўткир фазасида беморни қондан IgM ни иммунофермент усули билан аниқлаш диагностик қимматга эга.

Булардан ташқари бруцеллез диагностикасида иммунофлюоресценция, опсон фагоцитар реакция, КБР кенг қўлланилади. Бу реакциялар етарли даражада сезгир ва махсусдир. Бруцеллез касаллиги кўпчилик ҳолатларда сурункали формага ўтиб олиши натижасида юқорида келтирилган усуллар билан аниқлашни мусбат натижалари камайиб кетиши кузатилади. Шу билан бир қаторда организмнинг қўзғатувчига нисбатан сезгирлигини ошириш ва қонда тўлиқ бўлмаган АТ қўпайиши кузатилади. Шунинг учун тери аллергик реакцияси ва Кумбс реакцияси катта диагностик аҳамиятга эга бўлмоқда.

Тери- аллергик синама (Бюрне реакцияси). Билакнинг кафт тарафи соҳасидаги тери орасига 0,1 мл бруцеллин юборилади. Агар организмда бруцеллезга нисбатан аллергик ҳолат бўлса, 6-8 соатдан сўнг киритилган жойда тери қизаради, шиш ва оғриқ пайдо бўлади. Натижа 24 соатдан кейин аниқланади. Реакция сезгир бўлиб фақат касал ва касалдан холос бўлганларда эмас, балки эмланганларда ҳам мусбат бўлади. Шунинг учун диагностик баҳо беришда бу хусусиятларга аҳамият берилади.

#### **Ўта ҳавfli юқумли касалликларнинг диагностикаси,**

##### **профилактикаси ва даволанишида қўлланилувчи препаратлар.**

**Бруцеллез диагностикаси.** Бу метилен кўки билан бўялган, ўлдирилган бруцеллалар суспензиясидир. Бруцеллезга серологик диагноз қўйишда, Райт Хеддлсон агглютинация реакцияларини ўтказишда қўлланилади.

**Туляремия диагностикаси.** Бу туляремиянинг ўлдирилган бактерия суспензияси бўлиб, агглютинация реакцияси ёрдамида туляремияга серологик реакция қўйишда қўлланилади.

**Преципитация берувчи куйдирги кассаллигининг зардоби.** Куёнларни куйдирги бациллеси билан гиперэмлаб, конидан олинади. Асколи термопреципитациясини куйишда фойдаланилади.

**Тоун бактериофаги.** *Y.pestis* идентификация қилиш учун ишлатилади.

**Куйдирги бациллесининг бактериофагидан** *Bac.Anthraxis*ни идентификация қилишда фойдаланилади.

**Бруцеллин.** Қиздириб ўлдирилган, *Brucella melitensis*, *Br. abortus Br. suis* ларнинг 3 ҳафталик бульонли культураси филтрати. У, Бюрне тери-аллергик синамасини куйишда ишлатилади.

**Тулярин.** Қиздириб ўлдирилган туляремия бактериясининг (вакцина штаммининг) суспензиясидир. Тери-аллергик синамасини куйишда фойдаланилади.

**Антраксин.** Куйдирги бациллесини гидролиз қилиб ажратиб олинган оқсил-полисахарид-нуклеинли комплекс. Тери-аллергик синамасини куйишда қўлланилади.

**Тоуннинг тирик, қуритилган вакцинаси.** EV вакцина штаммининг тирик, қуритилган *Y.Pestis* культураси. Тоун профилактикасида қўлланилади.

**Туляремиянинг тирик, қуритилган, терига юбориладиган вакцинаси.** *Francisella tularensis* вакцина штаммининг қуритилган, тирик культураси. Туляремия профилактикасида ишлатилади.

**Бруцеллезнинг терига юбориладиган, қуритилган, тирик профилактика учун ишлатиладиган вакцинаси.** *Br.abortus* вакцина штаммининг суспензияси. Бруцеллез профилактикасида ишлатилади.

**Бруцеллезни даволашда қўлланиладиган вакцина.** Қиздириб ўлдирилган бруцеллалар суспензияси. Даволаш мақсадида ишлатилади, организмнинг шу микробга нисбатан сезувчанлигини (сенсibiliзациясини) йўқотади.

**Куйдирги касаллигининг тирик СТИ вакцинаси.** Бу биринчи марта Санитария-техника институтида олинган, шунинг учун шу ном билан СТИ

вакцинаси дейилади. Куйдирги бациллалари тирик спораларининг куритилган суспензиясидир. Куйдирги касаллиги профилактикасида ишлатилади.

### **МАВЗУ 31. Тери-таносил юқумли касаллик қўзғатувчилари захм, сўзак, микоплазма, хламидия ва бошқалар. Уларнинг микробиологик диагностикаси**

#### **Машғулот режаси**

1. Тери-таносил юқумли касаллик қўзғатувчилари ва улар келтириб чиқарувчи касалликлар.
2. Сўзак уретритларида бактериоскопик, бактериологик, серологик, текширишлар.
3. Захм касаллиги ва унинг микробиологик диагностикаси.
4. Микоплазма, хламидиялар келтириб чиқарувчи урегенигал касалликлар ва уларнинг микробиологик диагностикаси.

#### **Намойиш қилиш**

1. Сўзак уретрити касаллиги билан оғриган бемор йирингидан тайёрланган суртмалар Грам усулида, метилен кўкида бўялган суртмалар.
2. Сўзак қўзғатувчисининг соф культурасини ажратиб олишда қўлланиладиган озик муҳитлар ва биокимёвий қаторлар.
3. Юмшоқ шанкир ярасидаги суюқликдан тайёрланган суртмалар, Грам ва метилен кўки билан бўялган.
4. Озикли агарда (Эшбоев.Э.Д) микоплазмаларни ўсиши ёки уларни рангли расмлари.
5. Каттиқ шанкирдан ажралган суюқликдан таёрланган, Романовский –Гимза ва Бурри усулларида бўялган суртмалар.
6. Романовский –Гимза усулида бўялган хламидиялар, трихомонадалар суртмалари.
7. Тери-таносил юқумли касаллик қўзғатувчилари серодиагностикаси, профилактикаси ва даволашда қўлланилувчи препаратлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Сўзак уретрити билан оғриган беморнинг йирингли ажралмасидан суртма тайёрлаш Грам усули ва метилен кўки билан бўяш, суртмадан гонококкларни топиш.
2. Захмнинг серодиагностикаси. Вассерман реакциясини қўйиш ва реакция натижасига кўра хулоса чиқариш.

Таносил юқумли касалликлар асосан кўпчилик ҳолларда одамларга жинсий алоқа пайтида юқади. Яқингача фақат захм, сўзак, юмшоқ шанкир, венерик лимфогранулема ва доновоз таносил касалликлари деб юритилган. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотига қараганда охириги 10 йил ичида , жинсий йўл билан юқадиган касалликлар сони 20 ошиб кетди (жадвал 69). Ушбу бўлимда биз асосан клиник амалиётда энг кўп учрайдиган венерик касалликларнинг микробиологик диагностикаси билан танишиб чиқамиз.

#### **Сўзак (гонорея, триппер) касаллигининг микробиологик диагностикаси**

Сўзак қўзғатувчиси Neisseriaceae оиласига Neisseria авлодиги мансуб бўлиб Neisseria gonorrhoeae деб аталади. Бу микроорганизмлар аэроб грамманфий сферик шаклдаги кокклар бўлиб, суртмада жуфт-жуфт бўлиб жойлашади ва

ботиқ томони бир-бирига қараган ловияни (кофе уруғини) эслатади, ҳаракатсиз, спора ҳосил қилмайди, нозик капсуласи учрайди. Аэроб хемоорганотроф каталаза, цитохромоксидаза- ва оксидаза мусбат. *Neisseria gonorrhoeae* озиқли муҳитларга талабчан, оддий муҳитларда ўсмайди. *Neisseria gonorrhoeae* одамларда сўзак ва янги туғилган чақалоқларда бленнорея, фарингит, практит, чанок соҳаси перитонити, кам ҳолларда септик моноартикуляр артрит, эндокардит касалликларини келтириб чиқаради. Касаллик манбаси одамлар (антропоноз) асосан жинсий алоқа ва маиший буюмлар орқали юқиш кузатилади.

Жадвал 69.

#### Таносил касалликлари қўзғатувчилари

Қўзғатувчилар	Касалликлар номи	Қўзғатувчилар	Касалликлар номи
Бактериялар <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Haemophilus ducreyi</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Treponema pertenuе</i> <i>Treponema bejel</i> <i>Treponema carateum</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Сўзак Юмшоқ шанкир Захм Фрамбезия Эндимик захм Пинта Уретритлар Уретритлар	<i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Chlamidia trachomatis</i>  Содда жониворлар <i>Trichomonas vaginalis</i> Вируслар Герпес вируслар ОИТС вируси	Уретритлар Венерик лимфо-гранулематоз  Уретритлар  Генитал герпес ОИТС

Бактериоскопик текширув (19 схема). Сўзак уретрити деб диагноз қўйиш учун таносил аъзоларидан олинган ажралмаларда гонококклар бор-йўқлиги текшириб кўрилади. Ажралмалардан суртмани одатда фақат даволовчи врач олади. Суртма олиш ва ундан препарат тайёрлаш техникасини пухта билиш сийдик -таносил аъзолари касалликлари этиологиясида муҳим аҳамиятга эга.

Эркаларнинг таносил аъзоларидан суртма олиш учун уретрадан чиққан сарғиш-гугурт рангли йирингли суюқлик текшириш манбаи бўлиб ҳисобланади. Касалликни ўткир шаклида сийдик чиқариш каналидан ажраладиган суюқлик кўп, сурункалида эса кам ва шилимшиқ бўлади.

Аёлларнинг таносил аъзоларидан одатда уретраси, бачадон бўйни ва баъзан тўғри ичак шиллик қаватидан суртма олинади.

Сўзакдан кўз касалланганда (бленнорея) конъюнктивитнинг йирингли суюқлигидан бир нечта суртма тайёрлаб текширилади. Тайёрланган суртмалар спиртовка алангасида ёки спиртда фикция қилинади. Гонококклар анилин бўёғлари билан яхши бўялади.

**Бўйаш усуллари.** Оддий бўйаш усули –бунда 1% ли метилен кўкини сувдаги эритмаси, 1% ли бриллиант яшили ишлатилади. Фикция қилинган суртмага метилен кўкини 1% эритмаси томизилиб 1-1,5 минут кутилади ва сув билан ювиб ташланиб ҳавода қуритилади ва микроскопда иммерсион системада кўздан кечирилади. Бўйланган препаратда ҳужайра протоплазмаси кўкиш оқимтир, ядроси кўк рангда кўринади. Бу усулнинг афзаллиги оддий ва тез бажарилишидир, лаборатория учун қулай. Лекин диагнозни тасдиқлашда ва бошқа йиринг ҳосил қилувчи кокклардан фарқлашда Грам усули устунликка эга, шунинг учун Грам усули дифференциал диагностикада ҳал қилувчи ҳисобланади.

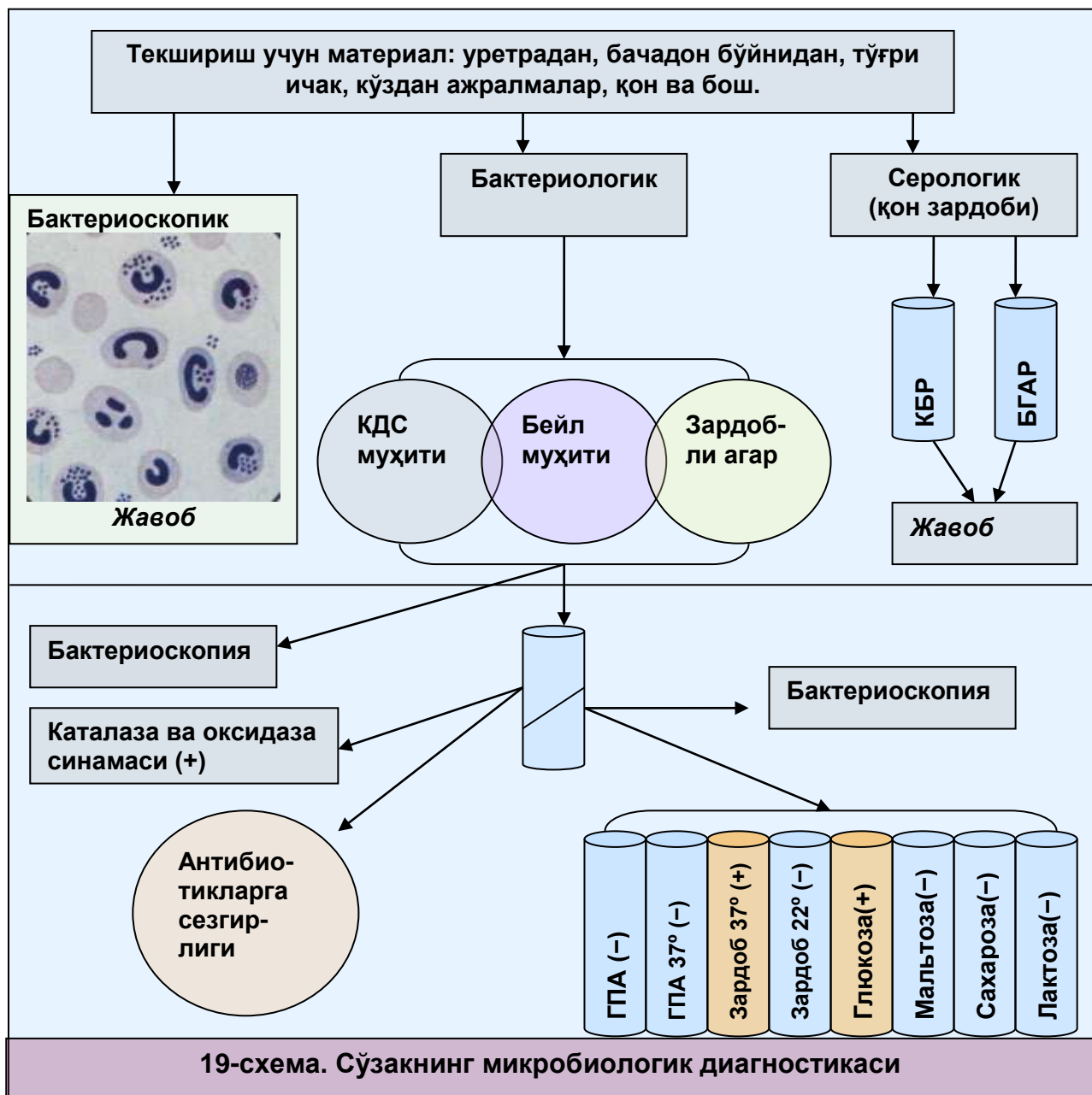
Тайёрланган препаратлар мураккаб бўлган Грам усулида ҳам бўялади.

Бўйланган препаратда гонококклар ловия шаклида бўлиб, ботиқ томони билан бир-бирига қараб туради. Ҳар қайси жуфт кокклар ўртасида бўлиниш мобайнида ҳосил бўладиган ботиқ тирқиш бўлади. Гонококк бўлинганда иккинчи бўлинаётган диплококкнинг тирқишига перпендикуляр жойлашиб туради. Гонококкларнинг лейкоцитлар ичида жойлашиши сўзакда тугалланмаган фагоцитоз жараёнининг ривожланганлигидан далолат беради.

Сўзакнинг микроскопик диагностикасида қуйидагиларни назарда тутиш лозим: лейкоцитоз ҳодисаси; гонококкларни лейкоцитлар ичида жойлашиши; шакли ва ўлчами бир хил, яъни мономорфлиги; гонококклар оралиғидаги тирқишдан хаёлан чизик ўтказганда, улар бурчак ҳосил қилиб кесишиши; гонококклар занжир ва тўп-тўп бўлиб жойлашмаслиги ва бош.

Гонококксиз уретритларда суртманинг аксарият ҳолларда кўриниши қуйидагича бўлади: лейкоцитоз (25-35), микроблар катталиги ҳар хил, микроблар лейкоцитдан ташқарида, баъзан ичида, граммусбат кокклар, грам манфий таёқчалар учрайди.

Бактериологик текширув (19-схемага қаралсин) **Биринчи босқич**- текширилувчи материал озикли муҳитларга экилади (КДС-муҳити, таркиби-куён гўшти ёки буқа юраги экстракти ва зардоб қўшилган ГПА) ва термостатга 37° С да 18-20 соат қўйилади.



**Иккинчи босқич** – экмалар термостатдан олиниб зич муҳитларда *Neisseria gonorrhoeae* ўсиш хусусиятлари ўрганилади. *Neisseria gonorrhoeae* нинг вирулентли штамлари агарда S-колония ҳосил қилади. Колониялар юмалоқ, шудринг томчисига ўхшаш кўринишда бўлади. Авирулент штамлари R-колония ҳосил қилиши мумкин. Қўзғатувчини соф культурасини ажратиб олиш

мақсадида шубҳали колониялардан қиялантирилган зардоб қўшилган ГПА экилади ва термостатга 37° С да 18-20 соат қўйилади.

**Учинчи босқич** – термостатдан қўзғатувчини соф культураси олинади ва 19 –схемада келтирилган синамалар қўйилади.

**Тўртинчи босқич**- қўйилган синамалар термостатдан олиниб натижаланади (жадвалга қаралсин *Neisseria gonorrhoeae* сапрофит ва бошқа кокклардан идентификация қилинади ва якуний жавоб берилади.

Серологик диагностикаси. Амалиётда кенг қўлланилмайди. Диагностик мақсадда баъзи ҳолларда Борде-Жангу (КБР) стандарт схема бўйича қўйилади. Касалликнинг 3-4 ҳафтасида мусбат бўлади. Касалликнинг ўткир формасида 35%, сурункали формасида 65% беморларда аниқланади. Ҳозирги даврда БГАР ва ИФА ҳам қўлланилмоқда.

#### **Захмнинг микробиологик диагностикаси**

Захм қўзғатувчиси спирохеталар оиласига *Treponema* авлодига ва бу авлодга патоген *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema bejel*, *Treponema carateum* ва кўплаб сапрофит трпонемалар киради. Уларнинг тузилиши протоплазматик цилиндрдан иборат бўлиб, уларнинг бир учида субтерминал жойлашган дисклардан бошланиб протоплазматик цилиндр атрофида ўқ фибриллалар ўраб иккинчи учидаги шундай дискларга бирикади. Трепонемалар ўта ҳаракатчан, уларда асосан уч хил ҳаракат формаси кузатилади: ўз ўқи атрофида айланма ҳаракат, эгилган-букилган ва винтсимон (штопор). Спораси йўқ, капсула ҳосил қилмайди, грам манфий, анилин бўёқлари билан Грам усулида бўялмайди. Романовский –Гимза усулида бўялганда оқ пушти рангга киради (*pallidum*-оқиш), номи ҳам шундан келиб чиққан.

Захм қўзғатувчисини яна бир ўзига хос хусусияти озиқли муҳитларда кўпайтирилганда ўзининг вирулентлик хусусиятини йўқотиб қўйишидир. Шунинг учун диагностикада бактериологик усул қўлланилмайди. Захм касаллигида асосан бактериоскопик ва серологик усуллар қўлланилади.



Бактериоскопик текширув (20-схема). Захмнинг бирламчи ва иккиламчи босқичларида бактериоскопик усулдан фойдаланилади. Захмнинг қайси босқичида бўлмасин текшириш материалининг тўғри олишга эътибор бериш лозим.

Бирламчи захмда трепанемалар бириктирувчи тўқима толалари ораликларида, зарарланган жойни перифериясида, лимфатик тугун, ва қон томирлари атрофида кўп йиғилади.



Иккиламчи захмда эса трепонемалар ҳали битиб улгурмаган шанкр, эрозияланган папула, сербар кандиломаларнинг тўқима оралик каналларида,

оғиз бўшлиғида жойлашади. Материал олишда қаттиқ шанкр, эрозия, папула, сербар кандилома юзаси дастлаб физиологик эритмага хўлланган пахта ёки дока тампон билан, кейин қуруқ пахта билан артиб тозаланилади. Агар яралар қора пўст билан қопланган бўлса, у ҳолда уни авайлаб намлаб, сўнгра эҳтиётлик билан кўчириб олиб ташланади.

Тўқима суюқлигини сиқиб чиқариш усули. Шифокор (резина қўлқоп билан ишлаш зарур) ёки беморни ўзи чап қўли билан бош ва кўрсаткич бармоқлари ёрдамида ёки пинцет билан яранинг икки четини секин сиқа бошлайди, агар қон чиқса, уни артиб тиниқ тўқима суюқлиги чиққунга қадар кутиб турилади. Сиқиш мобайнида бир неча секунд тўхтаб, кейин яна массагга ўхшатиб сиқилса, тўқима суюқлиги яхши ажралади. Тўқима суюқлиги Пастер пипеткаси ёрдамида олиниб суртмалар тайёрланилади.

Тирнаш усули. Бу сиқиб чиқариш усулига нисбатан кам ишлатилса-да, баъзан яхши натижа беради. Бачадон бўйнидаги, оғиз бўшлиғидаги эрозиялардан, шунингдек сербар кандиломалардан суюқлик олишда бу усулдан фойдаланилади. Яра физиологик эритмага хўлланган пахта ёки дока тампон билан, кейин қуруқ пахта билан артиб қуритилади, сўнг ўтмас скальпел, пинцет ёки буюм ойнаси қирраси билан 20-30 секунд давомида бир томонлама секин тирналади. 40-60 секунддан кейин тирналган жойдан тўқима суюқлиги ажралиб чиқади.

Куйдириш усули. Бунда текшириладиган морфологик элемент юзаси қиздирилган платина билан куйдирилади, куйган жойда пуфакча пайдо бўлади. Пуфакчадан олинган суюқлик текширилади.

Энг қулай усул бу микроскопнинг қоронғулаштирилган сатҳида оқиш трепанемаларни тирик ҳолда кўриш. Трепанемалар бўяб текширилганда (Романовский-Гимза, Бурри ва Морозов усуллари) тадқиқотчи трепанемаларни тирик кўра олмайди. Препаратларда трепанемаларни топиш кўрсаткичи 7-10 % дан ошмайди. Бу юқоридаги усулларни камчилигидан далолат беради.

Трепанемаларни тирик ҳолда кўрилганда эса, уларни одам организмида учрайдиган бошқа сапрофит трепанемалардан фарқ қилиш мумкин.

Трепанемаларни тирик ҳолда “эзилган” ва “осилган” томчи усулларида кўриб бўлмайди, чунки уларнинг кўндаланг кесим сатҳи ўта кичик бўлиб нур синдириш хусусиятини лаборатория микроскопларида кўринмайди, ваҳоланки ёриткичдан келаётган нур йўлида шу нурни синдириши мумкин бўлган ўлчамли микроб ётса, нур қисман ютилиб, натижада, микроорганизмлар кўзга кўринади. Захм кўзғатувсининг кўндаланг кесими ўта кичик бўлганлиги сабабли нур ютилмайди ва трепанемалар юқорида келтирилган усулларда кўринмайди. Қоронғулаштирилган майдонда кўрилганда, ёриткич нурлари ёнбошдан туширилади ва уларни бир қисми объективга етмайди, яъни кўриш майдони қоронғи бўлиб кўринади. Агар мана шу ёруғлик йўлида, микроорганизмлар ва механик зарралар бўлса, буларда синган ёруғлик нурлари объективга тушиб, унда аксланади, натижада ҳаракатдаги нур сочиб турувчи тасвир ҳосил бўлади (схема 20). Бундай ҳодисалар табиатда ҳам учраб туради. Масалан, берк биноларнинг тешик тирқишидан, деразадан тушадиган қуёш нурлари чанг заррачаларини ёритиб, бизга уларни кўрсатиб беради (Тиндаль феномени).

Захмнинг бактериоскопик текширувида кўрсатилган усулларнинг бажарилиши бошқа бўлимларда бажарилган усуллардан фарқ қилмайди.

**Захмнинг серологик диагностикаси.** Кўпчилик ҳолларда захм кўзғатувчисини бактериоскопик аниқлаш мумкин бўлмайди ёки жуда қийин бўлиши мумкин. Шунинг учун захм диагностикасида серологик усул қўлланилади. Захм касаллигида ҳам бошқа касалликларга ўхшаш организм кўзғатувчига қарши курашади ва қонда кўплаб унга қарши ҳимоя антителалар ҳосил бўлади. Касалларнинг қон зардобидан бу антителаларни аниқлаш серологик усулнинг моҳияти ҳисобланади.

Захмнинг серологик диагностикасида икки типдаги антигенлар қўлланилади. Антигенларнинг биринчи типи **трепанемасиз** антиген бўлиб махсус (фабричны) корхоналарда чиқарилади, таркиби захм касаллигида организмда тўқималар ва оқиш трепанемаларнинг парчаланиши натижасида ҳосил бўлган микробни липид ва тўқима фосфолипид антигенларга ўхшаш,

аналоги бўлиб, уларга қарши ҳосил бўлган АТ билан (буқанинг юрагидан тайёрланилади) специфик бирика олади.

Антигеннинг иккинчи типи **трепанемали** антиген бўлиб лаборатория шароитида ультратовуш ёрдамида тозаланган трепанема штамми ёки улардан ажратиб олинган рекомбинат Аг ҳисобланади.

Лаборатория шароитида антигенга бемор қон зардоби қўшилади, Агар касал қонида бу антигенларга қарши АТ бўлса Антиген+антитела реакцияси рўй беради, унинг натижалари турли серологик усулларда аниқланиши мумкин. Захмда серологик усуллари қуйидаги ҳолатларда қўлланилади.

1. Маълум гуруҳ аҳолини оммавий текшириш жараёнида: (ҳомиладор аёлларни, қон ва органлар топширувчи донорларни, ҳарбий хизматчиларни, баъзи бир мутахассисликлар; врачлар, озиқ овқат тайёрлаш, сотиш соҳасидаги ишчилар, камоқ муддатини ўтувчилар ва албатта стационарга даволаниш мақсадида ётмоқчи бўлганлар) осон ва қиммат бўлмаган, тез бажарилувчи усул қўлланилади. Бу усуллар профилактик мақсадда олиб борилади.

2. Иккинчи ҳолатда эса серологик реакциялар беморга диагноз қўйиш мақсадида (захмнинг клиникаси бор беморлар, генитал органларида яраси бор кишилар, беморлар билан жинсий алоқада бўлганлар, иккиламчи захм билан яқиндан контакт бўлганлар, захм билан касалланган аёллардан туғилган болалар, бошқа таносил касалликлар билан оғриган ва диагнози тасдиқланганлар) ҳар иккала (трепанемасиз, трепанемали) антиген билан биргаликда олиб борилади.

Профилактик мақсадда олиб борилганда қуйидаги серологик усуллар плазмадаги реагенларни (АТ) аниқлашда қўлланилади: микропреципитация реакцияси (МПП); комплементни боғлаш реакцияси (КБР). Бу реакцияларнинг ижобий хусусияти тез бажарилиши, арзонлиги ва мураккаб реагентларни зарур бўлмаслиги ҳисобланади. Аммо, бемор организмида ҳосил бўлаётган антилипид антителалар, фақат захм касаллигида эмас, балки бошқа трепанематоз, ўткир ва сурункали кўплаб касалликларда ҳам пайдо бўлади. Антилипид АТ лар қаттиқ

шанкр ҳосил бўлгандан сўнг 7-14 кундан кейин ёки инфекция юқандан 4-5 ҳафта кейин пайдо бўлади. Трепанемасиз тестларнинг камчилиги:

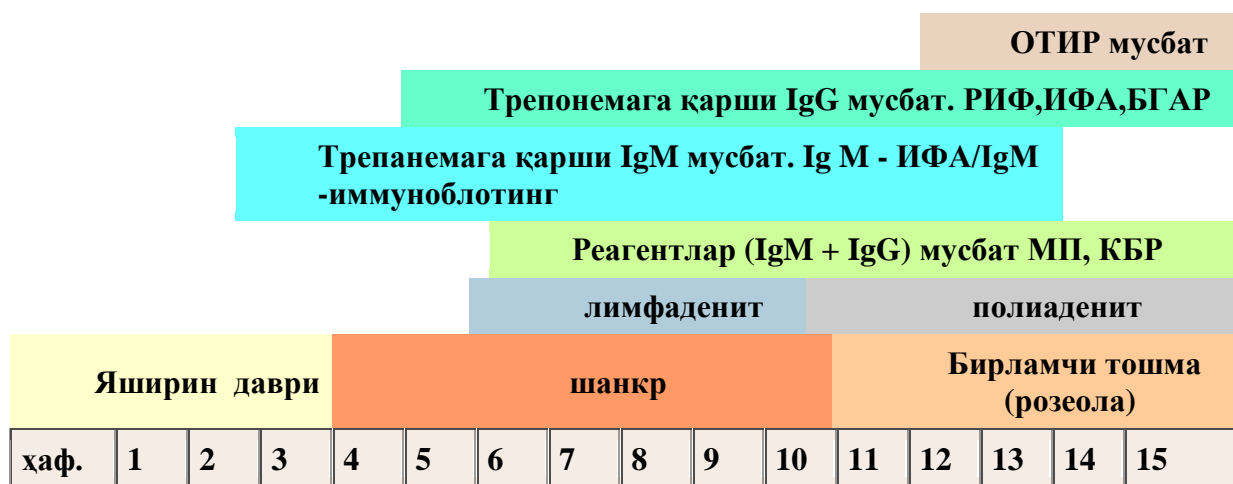
- ёлғонманфий натижа (бемор қон зардобида АТ жуда кўп бўлсада зардобни суюлтирмаслик натижасида прозона феномени кузатилади, бу ҳолат захмнинг илк даврида ёки ОИТС билан биргаликда кузатилади);

- захмнинг кейинги босқичларида реакция ўз сезгирлигини йўқотиши.

Антилипид АТ лар бемор организмида узоқ сақланмайди ва касаллик динамикасида, даволаш даврида йўқолиб боради. Шунинг учун бу АТ ларнинг аниқлаш захмга тахминий диагноз қўйишда ва беморларни даволаш самародорлигини аниқлашда қўлланилади.

Схема 21.

Захмда серологик реакцияларнинг мусбат натижа бериш даврлари



Захмнинг махсус серологик диагностикасида трепанема тестлари қўлланилади. Юқорида келтирилган усуллар билан бир қаторда қуйидаги серологик реакциялар ишлатилади:

- комплементни боғлаш реакцияси (КБР)
- иммунофлюоресценция реакцияси (ИФР турли модификацияси)
- пасив гемагглютинация реакцияси (ПГАР)
- иммунофермент анализ (ИФА) рекомбинатли ИФА
- оқиш трепанемаларни иммоблизация реакцияси (ОТИР)
- иммуноблотинг

Трепанемали тестлар махсус ва ўта сезгирлиги туфайли (жадвал ) захм касаллиги диагнозини тасдиқлашда асосий усуллардан ҳисобланади.

**Вассерман реакцияси**- асосан комплементни боғлаш реакциясига (КБР) асосланган (реакцияни моҳияти, механизмларга иммунология бўлимига қаралсин) бўлиб, бу реакция ниҳоятда сезгир ва ўзига хос бўлганлиги учун захмнинг диагностикасида трепанемасиз ва трепанемали антигенлар билан қўйилади. Реакция уч типдаги антигенлар қўлланилган ҳолда олиб борилади: 1) трепанемали таркибида ультратовуш билан тозаланган ёки реконбинат трепанема антигени; 2) махсус бўлмаган (трепанемасиз) кардиолипидли антиген; 3) махсус бўлмаган (трепанемасиз)-холестеринли (буқа юраги мускулларидан олинган липоидларнинг спиртли эритмаси).

Текшириладиган зардоб 1:4 нисбатда суюлтирилиб, 4 пробиркаларга мл дан қўйилади (жадвал 70).

Жадвал 70.

#### Вассерман реакциясини қўйиш

Ингредиентлар,мл	Пробиркалар рақами			
	1	2	3	Назорат
Текшириладиган ноактив зардоб	0.1	0.1	0.1	0.1
Натрий хлориднинг изотоник эритмаси	0.4	0.4	0.4	0.9
1- титргача суюлтириган антиген	0.5	-	-	-
2- титргача суюлтириган антиген	-	0.5	-	-
3- титргача суюлтириган антиген	-	-	0.5	-
Комплемент (ишчи дозада)	1.0	1.0	1.0	1.0
Термостатга 45 минут сақланади				
Гемолитик система	1.0	1.0	1.0	1.0
Назорат (контрол) да гемализ бўлишига қараб термостатга 40-60 минутга қўйилади. Гемализга қараб реакция натижаси белгиланади				
Натижа	(+) ++	+++	++++	-

Шартли белгилар: ++++ тўлиқ гемализни тўхташи; — гемализ

Билвосита иммунофлюоресценция реакцияси БИФР (FTA-test fluorescent trepanemal antibody) ёки РИФ жуда специфик бўлиб, бунда тўқима

трепанемаларнинг суспензияси антиген тарикасида ишлатилади. Бемор қон зардоби 1:200 нисбатда суюлтирилади, активлиги камайтирилади. Ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир томчи антиген томизилади, қуритилиб 5 минут мобайнида тоза ацетонда фиксация қилинади. Кейин худди шу препаратга бемор қон зардоби томизилади ва 30 минутдан сўнг ювилади. Қуритилган препаратлар одам глобулинига қарши флюоресцентли зардоб билан қайтадан ишланади. Анализ охирида препаратни люменецент микроскопда кўздан кечирилади ва трепанемаларнинг ёғдуланиш даражаси белгиланади. Маъбодо беморнинг қон зардоби таркибида трепанемага қарши антителалар мавжуд бўлса, трепанемалар ёғдуланади ва уларнинг сонига қараб реакция жавоби ўқилади.

### **Оқиш трепанемаларни иммобилизация реакцияси (ОТИР).**

Реакциянинг моҳияти шундан иборатки трепанемаларнинг тўқима культурасига (трепанемалар аввалдан махсус юктирилиб эркак қуённинг моягидан ажратиб олинади Нокольс штамми) бемор қон зардоби ва комплемент кўшилса трепанемалар АТ бўлган тақдирда уларнинг ҳаракатланиши тўхтаб қолади. Реакцияни қўйиш учун қуённинг моягидан ажратиб олинган трепанема пробиркага олинади ва унинг устига текширилаётган зардоб, янги комплемент кўшилади. Кейин параллел ҳолда 2 та пробиркага олинади контрол учун. Уларнинг бирига текширилаётган қон зардоб ўрнига соғлом одам қон зардоби олинади, иккинчисига эса янги комплемент ўрнига ноактив, яъни активлиги йўқотилган комплемент кўшилади. Пробиркалар анаэроstatга (кислородсиз муҳит) солиниб 35°C ли ҳароратдаги терmostатга қўйилади. Сўнгра ҳамма пробиркалардан “эзилган” томчи препарати тайёрлаб, микроскопда қоронғулаштирилган майдонда кўрилади. Олдин назорат (контрол) натижа ўқилади. Оқиш трепанемаларнинг ҳаракатчан ва ҳаракатсиз эканлиги фойизларда аниқланади. Қуйидаги формуладан фойдаланилади:

$$X = \frac{A - B}{A} \cdot 100$$

A – ҳаракатчан оқиш трепанемалар сони

B – ҳаракатсиз оқиш трепанемалар сони

Масалан: саналганда ҳаракатчан трепанемалар 32 та, ҳаракатсиз трепанемалар 25 та

$$X = \frac{32 - 25}{32} \cdot 100 = 22$$

ОТИР натижаси қуйидагича баҳоланади: 20% кам бўлса манфий (-), 21 – 30% гача шубҳали; 31-50% гача ўртача мусбат ва 50% юқориси мусбат натижа ҳисобланади.

### **Сийдик –таносил аъзолари микоплазмозининг микробиологик диагностикаси**

Микоплазмаларнинг турлари жадвалда келтирилган. Микоплазмалар жуда майда микроорганизмлар бўлиб, уларнинг хужайра девори бўлмайди.

Микоплазмалар овал, чўзинчоқ, ва сферик шаклда бўлиб, катталиги 0.2-0.3 мкм.

Микоплазмаларнинг Т-штаммлари ўзидан “уреаза” ферментини ажратиш хусусиятига эга. У мочевиинани аммиак ҳамда CO<sub>2</sub> га парчалайди. Бундай хусусият барча микоплазмалар ичида Т-штаммига хос. Шунинг учун ҳозирги кунда бу штамм алоҳида Ureaplasma авлодига ва унга битта тур Ureaplasma urealyticum киради.

Тадқиқотчилар сийдик –таносил аъзолари касалликлари билан оғриган аёлларнинг 40-50% ида, гонококксиз уреатритга чалинган эркакларнинг 51,2% ида уреаплазмалар борлигини кузатишган. Уреаплазмаларнинг бактериоскопик усулда аниқлаб бўлмайди. Шунинг учун бактериологик ва серологик усуллар қўлланилади. Бактериологик усулни икки хили мавжуд. Биринчиси уреаплазмаларнинг клиник намуналарда аниқлашнинг энг оддий усули, суяқ муҳитдаги уреазага қўйиладиган рангли тестдир. Иккинчиси зич агарли муҳитда уреаплазмаларнинг соф культурасини ажратиб олишга асосланган.

### **Уреаплазмаларнинг аниқлаш учун рангли мочевинали тест қўйиш.**

Суяқ озиқли стерил муҳит 2 мл дан дока пахта тиқинли Вассерман пробиркаларига қўйилади ва сийдик каналининг 3-5 см ичидан олинган



патологик материал эҳтиётлик билан муҳитга экилади ва термостатга 37°C 24-48 соат қўйилади. Суяқ озиқли муҳитда уреаплазмалар мочевинани парчалаши туфайли, муҳит реакцияси ўзгариб, нордондан ишқорий томонга силжийди, индикатор (бром тимол) нинг ранги сариқ рангдан яшилгача, титри жуда юқори бўлганда кўк рангача ўзгаради.

**Суяқ озиқли муҳит тайёрлаш.** 0.5 л ҳажмли, туби юмолоқ, иссиқбардош колбага қорамол юрагининг гидролизати билан козеин гидролизатидан 18 мл дан қўйилади ва аралашма яхшилаб чайқатилади, унга 10% NaOH қўшилиб pH=5,5 гача етказилади; устига янги тайёрланган дистилланган сувдан 500 мл га етгунга қадар қўйилади ва кўпик ҳосил қилмасдан бир текис қайнатилади. Қайнатиш охирида қолганда унга 4,0 г пептон (кристалл виолетсиз) ва 0.4% ли бромтимол кўкидан 5,7 мл қўйилади. Қўшилган пептон батамом эриб бўлгач устига 500 мл дистилланган сув қўйилади. Ҳосил бўлган эритма яхшилаб аралаштирилади ва қайнагунча қиздирилади, сўнгра бир неча қават дока филтрдан ўтказилиб, бир литрли иссиқбардош колбага солинади. Эритма бироз совигач унга 0.064 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , қуруқ хамир ачитқисидан 2 г қўйилади; pH ни  $6,0 \pm 0,5$  гача меъёрига етказилиб, кейин асос 121° С температурадаги автоклавда 15 минут стерилланади. Кейин эритма 37 - 38°C гача совутилади. Сўнгра 40 мл от қони зардоби, 2 мл 10% мочевина, 2% ли цистеин гидрохлорид, 1.000.000 ТБ пенициллин қўйилади ва тайёр бўлган муҳитни бир текис аралаштирилади. Эритмани pH кўрсаткичи  $6,0 \pm 0,5$  бўлиши керак. Кандида типидеги ачитқи замбуруғларининг ўсишини тўхтатиб қўйиш учун суяқ озиқли муҳитга нисбатан 50 ТБ/мл, амфотерицин В -5ТБ/мл, амфоглюкамин -10 ТБ/мл каби эритмалардан бирини ишлатиш мумкин. Уреаплазмаларнинг тоза культурасини олиш учун суяқ муҳитга 25 мг/мл линкомицин гидрохлорид қўйилади.

Тўғри тайёрланган муҳит-сариқ лимон рангида бўлади, уни бир ойдан ортиқ вақт сақлаш мумкин.

Уреаплазмаларнинг зич озиқли муҳитларда ўстириб олиш. Бунинг учун текширилаётган материал махсус озиқли агарларга экилади, бундан ташқари суяқ муҳитда мусбат натижа берган синамаларни зич муҳитга экиш яхши натижа беради. Бунинг учун ранги ўзгарган суяқ муҳит солинган пробиркани



Расм 81. Зич муҳитда микоплазма колониялари

тагидан Пастер пипеткаси ёрдамида 1 томчи олиб зич муҳит юзасига томизилади ва бактериологик қовузлоқ билан силлиқ қилиб агар юзасига экилади. Уреаплазмаларнинг колонияси 48-72 соат ўтгач униб чиқади.

**Зич озикли муҳит тайёрлаш.** 0.5 л ҳажмли, иссиқбардош колбага қорамол юрагининг гидролизати билан козеин гидролизатидан 12 мл дан қўйилади ва аралашма яхшилаб чайқатилади, унга 10% NaOH қўшилиб рН=5,5 гача етказилади; устига агар-агардан 3,6 г. ва 200 мл гача дистилланган сув ва 10 минут бир текис қайнатилади. Қайнатиш охирида қолганда унга 2.62 г қўйилади. Қўшилган пептон батамом эриб бўлгач устига 300 мл белгисигача дистилланган сув қўйилади. Ҳосил бўлган асосни дока-пахтали филтрдан ўтказилиб, 0.5 л ҳажмли, иссиқбардош колбага солинади ва 0.35 г  $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , 0,43 г марганец сульфат, 1 г куруқ хамир ачитқисидан қўйилади. NaOH ва КОН ёрдамида рН ни  $6,0 \pm 0,5$  гача меъёрига етказилиб, кейин асос  $121^\circ \text{C}$  температурадаги автоклавда 15 минут стерилланади.

Белгиланган вақт тугагач, агарли озикли муҳитга асептик ҳолатда қўйидаги қўшимчалар солинади. Бунда муҳит ҳарорати  $+50^\circ \text{C}$  атрофида бўлиши керак. 40 мл от қони зардоби, 2 мл 10% мочевино, 2% ли L-цистеин гидрохлорид -1 мл, пенициллин 1 г, амфотерицин В 1 мл. Сўнгра муҳит аралаштирилади рН кўрсаткичи  $6,0 \pm 0,5$  етказилади ва шу заҳоти стерил Петри косачаларига қўйиб чиқилади. Муҳит силлиқ бўлиб қотгандан кейин, қуриб қолмаслик учун тўнтарилган ҳолатда целофан халталарга солиб музлаткичларда сақланади.

Инкубациянинг учинчи куни колонияларни микроскопни ёруғ сатҳидан кичик объективда кўрилади. Уреаплазма колонияларининг ўлчами 20 мкм дан 200-250 мкм гача, баъзан 300-350 мкм гача етади. Уреаплазмаларнинг колонияси худди “кўзни” ёки “тухум қўймоғи” ни эслатади (расм -81). Колонияларнинг юзаси биров буралган, ўртаси ботик, яхлит ҳолда агарда кўриниб туради ва усти юпқа агар қатлами билан қопланган бўлади.

### **Сийдик –таносил аъзолари хламидозининг микробиологик диагностикаси**

Сийдик –таносил аъзолари хламидозига хламидиялар сабаб бўлади. Улар майда грам-манфий коккабактериялар бўлиб, морфологик, биологик хоссалари жиҳатдан икки хил яшаш шаклига эга бўлиб, элементар ва инициал (ретикуляр) таначалар сифатида ифодаланади. Хламидийлар 24-48 соатлик ривожланиш босқичини босиб ўтиб, одатда хужайралар ичида облигат яшаб кўпайишга ва хужайрадан ташқарида ҳаёт фаолиятини сақлаб қолишга мослашган. Майда ўта

инфекцион электрон-қаттиқ нуклеоидга эга бўлган, катталиги 0.2-0.3 мкм элементар таначалар ҳужайралар юзасига ўрнашиб, фагоцитоз туфайли ҳўжайин ҳужайрасига кириб олади (расм 82), кейин ҳужайраларда ўзи



ҳўжайинлик қила бошлайди. Хламидийлар билан зарарланган бундай ҳужайралар цитоплазмасининг юза мембранисиди майда таначалар атрофида вакуолалар пайдо бўлади. Майда таначалар диаметри 0.5-7.0 мкм келадиган катта таначага айланиб қолади, улар қаттиқ электрон нуклеоидга эга эмас. Худди мана шу даврда уларнинг таркибида рибосома ва полисомалар сони ортади. Юқорида келтирилган ҳолат беморнинг ҳужайра вакуолалари ичида содир бўлади ва шу тариқа инициал таначалар тўпланиб боради. Хламидийлар бошқа прокариотлардан фарқ қилиб уларнинг кўпайиши ва метаболизми учун зарур бўлган энергияни ўзлари ишлаб чиқармайди, балки тайёр ҳолда ҳўжайин ҳужайрасидан олади. Шунинг учун хламидийларнинг энергетик паразитлар деб ҳам аташади.

Хламидийлар (*Chlamydia*) уч турни ўз ичига олади: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* одамда *Chlamydia psittaci* сут эмизувчи ҳайвонлар ва қушларда касаллик келтириб чиқаради.

Хламидийлар озиқли муҳитларда ўсмайди, лаборатория шароитида уларни хужайра культурасида ва товук эмбрионида ўстирилади.

Хламидийларни микробиологик диагнози кўпроқ цитологик (бактериоскопик) ва серологик реакцияларга асосланган.

Жадвал 71.

### **Chlamydia авлоди вакилларининг классификацияси**

Турлари	Келтириб чиқарувчи касалликлари	Сероварлари
Chlamydia trachomatis	Трохома ва паратрохома Урогенитал хломидиоз ва чақалоқларда зотижам Венерик лимфо-гранулематоз	A, B, B <sub>a</sub> , C D, F, G, H, I, L, J, K  L <sub>1</sub> , L <sub>2</sub> , L <sub>3</sub>
Chlamydia psitaci	Орнитоз қушларда (бирламчи жароҳатларни ҳайвонларда)	13
Chlamydia pneumoniae	Зотилжам, ўРК, атеросклерозлар, саркардоз, бронхиал астма	RWAR, AR, KA, ва CWL

**Цитологик (бактериоскопик) усул.** Сийдик-таносил аъзолари хламидиози диагностикасида энг оддий ва қўл келадиган усул. Хламидиоз билан касалланган беморга суртма топширишдан олдин 2-2,5 соат сиймасликни тавсия қилинади. Бундан ташқари олдиндан бир ой мобайнида бемор доксациклин, тетрациклин, эритромицин, рифампицин ва аминогликозидлар қабул қилмаган бўлиши керак. Материал уретрадан олинади, ажралма жуда кам бўлса ёки умуман бўлмаса, у ҳолда уретра массаж қилинади, кейин Фолькман қошиқчаси билан 3-5 см ичкаридан қон чиқармай ажратма олинади ва уни ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир текис қилиб суртилади. Препарат аввал хона ҳароратида қуритилади, кейин 96°С этил спиртда ёки метанолда 5-10 минут фиксация қилинади. Препаратлар қуритилиб бўйаш учун шиша кўприкчаларга бир текис қилиб таҳланади ва 1:10 нисбатда тайёрланган Романовский-Гимза усулида бўйялади. Бўйланган препаратда хламидия элементар таначалари пушти, ретикуляр таначалари эса ҳаво рангдан кўк ранггача бўйялади. Хужайра (цилиндрик) ядроси тўқ қизил, цитоплазмаси эса оч ҳаво рангга киради. Хламидия таначалари хужайра цитоплазмасининг ядрога яқин

қисмида жойлашади, кўпинча ярим ой шаклида ядрога бироз кириб туради. Бундай киритмалар ташқи томондан бир текис бўялган бўлиб, хўжайин хужайрасини деярли шикастламайди. Бу усул ёрдамида хламидия инфекциясига диагноз қўйишда 40% гача ҳолларда патологик агент топилади.

### **Моноклонал антителалар қўллаб иммуофлюоресценция усули ёрдамида хламидияларни аниқлаш.**

Сийдик каналининг 5-5 см ичидан олинган патологик материал буюм ойнасига юпқа қилиб бир текис суртилади, кейин 96°C этил спиртда ёки метанолда 5-10 минут фиксация қилинади ва хона ҳароратида қуритилади.

Препаратларни бўяш учун қуйидаги тартибдаги реагентлар қўлланилади: Флюоресцеин-изотицианат моддаси, Эванс бўёғини сақловчи лиофилланган моноклонал антитела, дистилланган сувда эритилган 0.1% натрий азот эритмаси. Худди шу реагентдан 30 мкм микроавтоматик пипетка ёрдамида олиб, патологик материал жойлаштирилган 8 мм айлана шаклдаги буюм ойнаси сатҳига томизилади. Сўнгра реагентли буюм ойнаси нам камерада, хона ҳароратида 15 минут инкубация қилинади; буюм ойнаси дистилланган сувда 10 секунд ювилади ва хона ҳароратида қуритилади. Кейин буюм ойнасига автоматик пипетка ёрдамида 20 мкм буферланган глицерин томизилади. Препарат юзини 22X40-60 мм № 1 ўлчамли ёпқич ойна билан ёпиб, люминесцент микроскопда кўздан кечирилади. Фильтр системаси бўлган бундай микроскоп препаратда флюоресцеин-изотицианатининг нурланишига мўлжалланган. Препарат 400-500 марта катталаштирилиб кўрилади. Бу усул билан ҳатто хўжайин хужайраси ташқарисида жойлашган хламидия элементар таначаларини ҳам аниқлаш мумкин. Элементар таначаларнинг четлари текис, юмолоқ шаклда, тиниқ яшил рангда бўлиб кўринади. Ретикуляр таначалар эса, элементар таначалардан 2-3 баробар каттароқ бўлиб, юмалок, яшил рангда товланади. Кўриш майдонида битта препаратнинг ҳар хил жойида 10-12 та ва ундан ортиқ хламидия таначалари топилса, натижа мусбат ҳисобланади.

Диагностика, профилактика ва даволаш препаратлари

## **Мавзу 32. Трансмиссив инфекциялар: риккетсиозлар, боррелиялар, лептоспирозлар. Уларнинг микробиологик диагностикаси**

### **Машғулот режаси**

1. Трансмиссив юқумли касаллик қўзғатувчилари ва улар келтириб чиқарувчи касалликлар.
2. Қайталама тиф ва риккетсиозларнинг микробиологик диагностикаси.
3. Боррелиялар келтириб чиқарган касалликлар ва уларнинг микробиологик диагностикаси.
4. Лептоспирозлар келтириб чиқарувчи касалликлар ва уларнинг микробиологик диагностикаси.
5. Шу касалликларда диагностика, профилактика ва даволаш учун қўлланиладиган препаратлар.  
Намойиш қилиш
1. Қайталама тиф ва риккетсиозларнинг культурасидан тайёрланган суртмалар Романовский –Гимза, Здродовский усулларида бўялган суртмалар.
2. Қайталама тифда бемор қонидан олинган боррелиялар препарати Романовский – Гимза усулида бўялган.
3. Лептоспирозлар культураларидан тайёрланган, Романовский –Гимза усулида бўялган суртмалар.
4. Риккетсиозлар, боррелиялар, лептоспирозларнинг замонави диагностик схемалари ва уларнинг рангли расмлари.
5. Трансмиссив юқумли касалликларнинг серодиагностикаси, профилактикаси ва даволашда қўлланилувчи препаратлар.

### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ.**

1. Қайталама тифнинг микроскопик диагностикаси. Бемор қонидан “қалин” томчи усулида тайёрланган ва Романовский-Гимза усулида бўялган тайёр препаратдан қайталама тиф қўзғатувчиларини топиш.
2. Курук корпускуляр, ўлдирилган риккетсиозлардан суртма тайёрлаш Романовский-Гимза усулида бўяш ва микроскопда кўриб микроскопик текширув бўйича хулоса чиқариш.
3. Риккетсиозларнинг серодиагностикаси. а) эпидемик тошмали тифга шубҳаланган касал қон зардоби билан агглютинация реакциясини (Вейль-Феликс) қўйиш. б) Ку-иситмасига шубҳаланган касал қон зардоби билан, эритроцитлар диагностикум ёрдамида билвосита гемагглютинация реакциясини қўйиш.

Бўғимоёқлилар (бит ва каналар) орқали ўтадиган, қонли ва трансмиссив юқумли касалликлар турли оила ва тартибларга киради.

### **Риккетсиозларнинг микробиологик диагностикаси.**

**Риккетсиялар табиатда энг кўп тарқалган** микроорганизмларга киради. Уларнинг 50 дан ортиқ тури турли бўғимоёқлилар ичаги ва сўлак безларидан топилган. Одам организмида касаллик қўзғатадиган риккетсиялар анча кам. Улар турли бўғимоёқлилар организмида яшаб қолмай, одам ва бошқа сут эмизувчилар организмига тушади ва у ерда ўзига хос патологик жараённи юзага келтиради.

Rickettsiaceae оиласига одам организмида касаллик келтириб чиқарадиган 3 та авлод: *Rickettsia*, *Rocha Limaе*, *Coxiella* киради. Бу оилага мансуб риккетсиялар кокксимон ёки таёқчасимон, кўпинча шакли ўзгарувчан (полиморф) бўлиб, хивчинсиз, хужайра деворининг тузилиши грамманфий бактерияларнинг хужайра деворига ўхшаб кетади. Риккетсиялар катъий хужайра ичи паразитлари бўлганлиги боис сунъий озик муҳитларда ўсмайди.

Жадвал 72.

Одамда касаллик келтириб чиқарувчи риккетсия ва риккетсиозлар классификацияси.

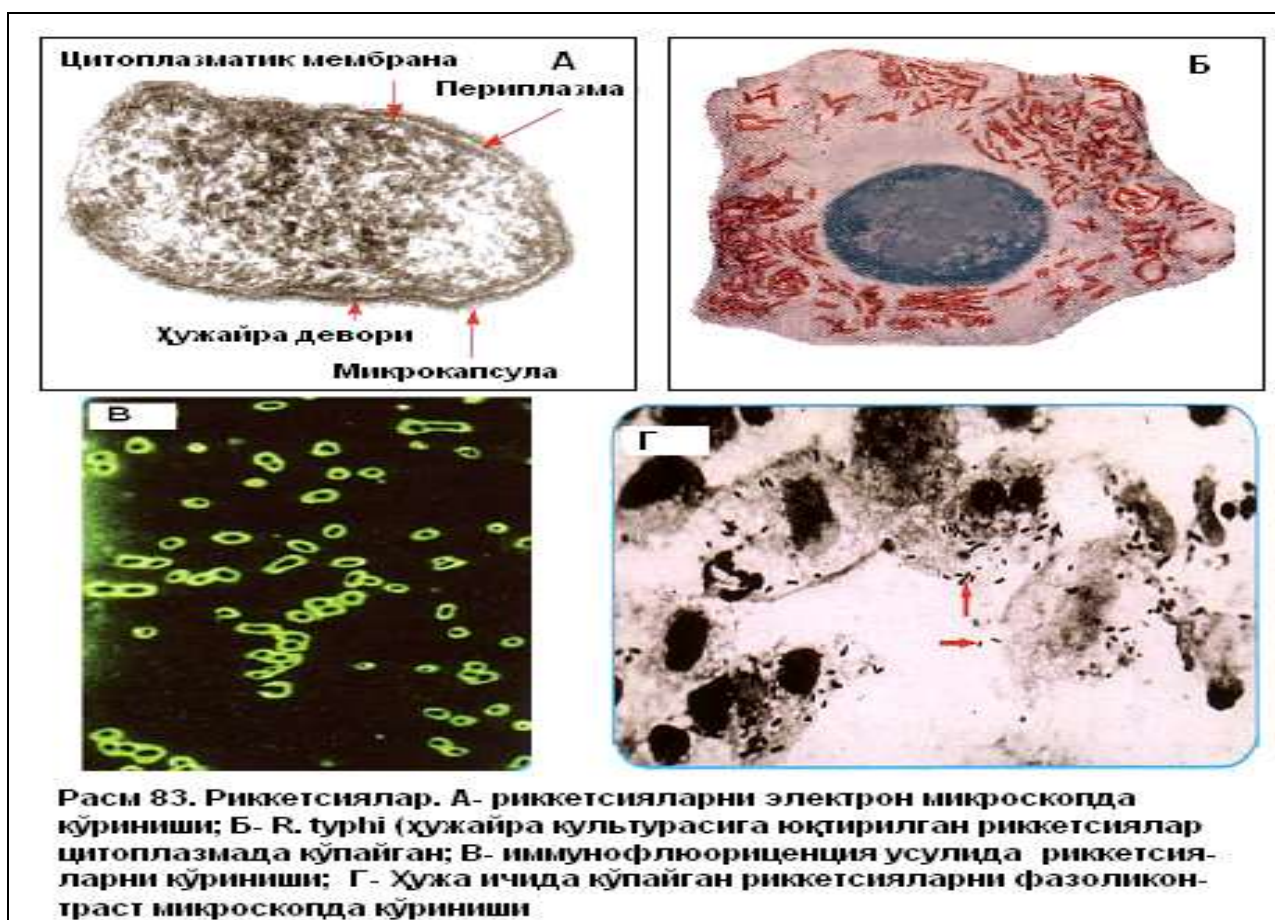
Тур номлари	Ташувчи бўғимоёқлилар	Одамларда касалликлари
Rickettsia авлоди, тошмали тиф гуруҳи		
<i>Rickettsia prowazekii</i>	<i>Pediculus humanus</i>	Эпидемик тошмали тиф, Брилл-Цинссера касаллиги.
<i>Rickettsia thypi</i>	Каламуш бурга ва битлари	Эндемик тошмали тиф
Каналар орқали юқадиган доғли иситмалар		
<i>Rickettsia rickettsi</i> <i>Rickettsia sibirica</i>	Иксод каналари Иксод каналари	Доғли иситмалар Тошмали тиф шимолий Осиёда, Ўрта Осиё давлатларида.
<i>Rickettsia conarii</i> <i>Rickettsia australis</i>	Ит каналари Иксод каналари	Марсел, ўрта денгиз иситмаси Шимолий Австралия риккетсиози
<i>Rickettsia akari</i>	<i>Allodermanyssus sanguineus</i>	Чечакка ўхшаш везикуляр риккетсиоз
Цуцугамуш гуруҳи		
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	<i>Trombicula akamushi</i>	Цуцугамуш иситмаси
Coxiella авлоди Ку-иситмаси гуруҳи		
<i>Coxiella burnetii</i>	Иксод каналари	Ку-иситмаси
Rochalimaea авлоди. Параксизмал иситмалар		
<i>Rochalimaea quintana</i> <i>Rochalimaea henselae</i>	<i>Pediculus humanus</i> Мушук тирнаши ва тишлаши орқали юқади	Окоп, траншея истимаси Мушук тирнаши касаллиги Моллар гранулёмаси

Риккетсиоз қўзғатувчилари касал одамлардан, ўлганлардан, ташиб ўтувчилардан (эндемик риккетсиозларда) ва кемирувчилардан ажратиб олиш мумкин. Ҳамма одамлардаги касаллик ҳолатларда ҳам текшириш учун материал иситма даврда тирсак венасидан олинган қон ҳисобланади.

Риккетсиоз қўзғатувчилари озик муҳитларда кўпаймайди, улар асосан товук эмбрионида ва хужайра культураларида кўпайтирилади. Шунинг учун клиник

шароитлада асосий диагностик усуллари бактериоскопик, биологик ва серологик ҳисобланади.

**Бактериоскопик усул.** Кўпчилик рикетсиозларда асосий усуллар қаторига киради. Текшириш учун қон юқори иситма даврида бармоқдан олиниб “қалин” томчи суртмаси тайёрланилади ва Романовский-Гимза, Кастанеде ёки П.Ф. Здродовский модификация усуллари билан бўяб кўрилади. Суртмада *Rickettsia prowazekii* асосан цитоплазмада учраса, *Rickettsia thypi* эса ҳужайра ядросида йиғилиб қолади.

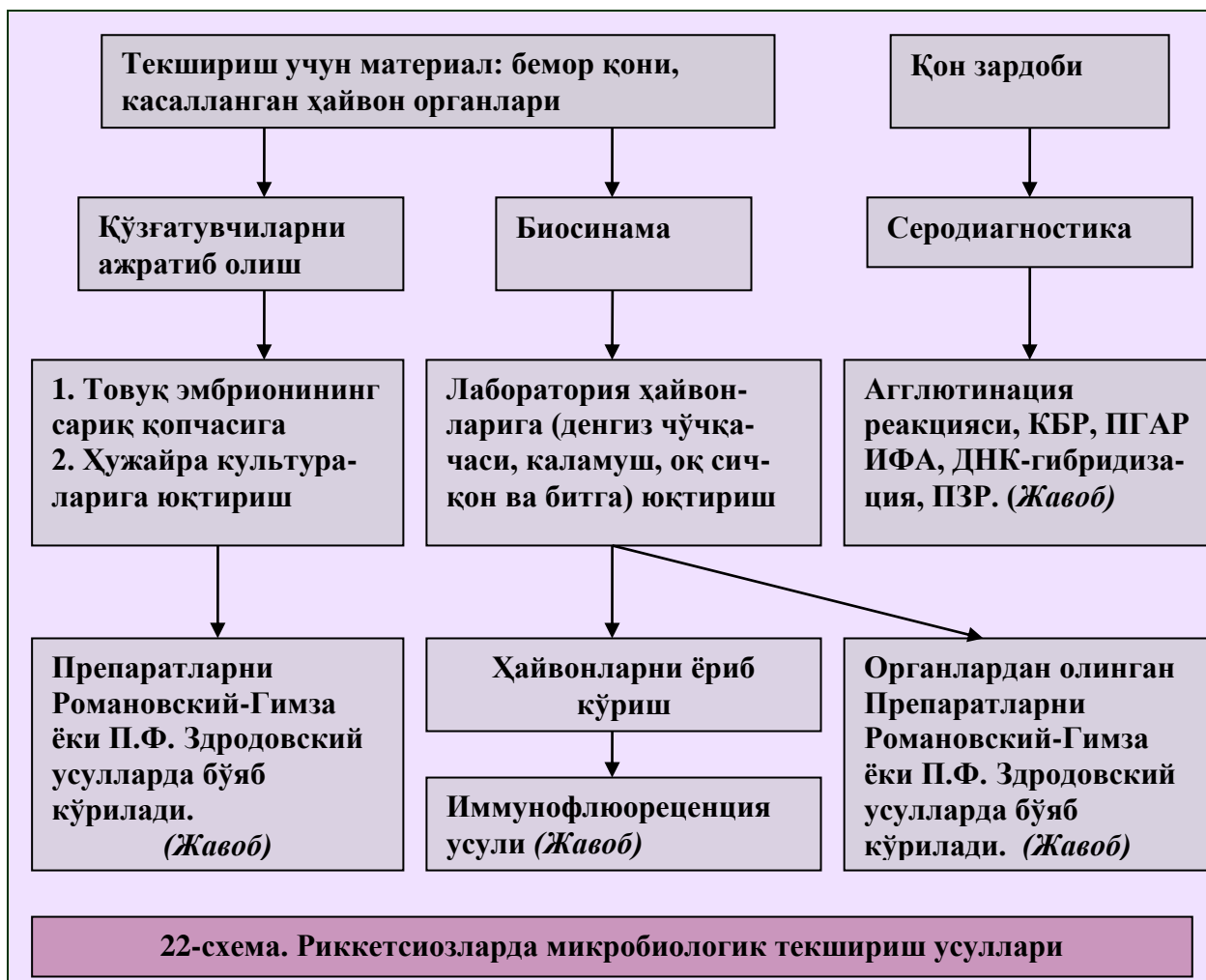


**Биологик синама (Музер-Нейл синамаси).** Текширилувчи материал лаборатория ҳайвонларига юқтирилади, кўпинча денгиз чўчқачаларига. Эпидемик рикетсиозларда эркак ҳайвонларни қўллаш мақсадга мувофиқ ҳисобланади. Чунки уларда периорхит ривожланади ва мойнинг қин пардасининг мезотелийсида қўзғатувчилар йиғилиб қолади (Музер ҳужайралари). Везикуляр чечакка ўхшаш рикетсиозлар ва Цуцугамуш иситмаси қўзғатувчиларини оқ сичқонларга юқтириб (0,5 мл қон) ўрганиш



мумкин. Ку–иситмасида эса денгиз чўчкачаларини тестикуласига (мойгига) тўғридан-тўғри (0,3-0,5 мл қон) юборилиб ўрганилади. Лекин, Провацек риккетсиозларини ажратиш олишда бу усуллар қўл келмайди. Тошмали тиф кўзгатувчисини ажратиш олишда кийим битига юктирилади. Риккетсиялар битнинг ичагида актив кўпаяди.

Амалиётда эндемик риккетсиозлар кўзгатувчисини Провацек риккетсиозларидан фарқлашда қўлланилади.



Касал юктирилган ҳайвонлар ёриб кўрилади ва уларнинг органларидан препаратлар тайёрланади Романовский-Гимза ёки П.Ф. Здродовский усулларда бўяб кўрилади. Инфекция босқичига, хужайра культураси, ҳайвонларни турига кўра риккетсияларнинг ҳар хил морфологик типлари хужайралар цитоплазмасида ва ядросида топилади. (расм 82). Имунофлюоресцент усулидан фойдаланиш риккетсияларни аниқлашни бирмунча енгиллаштиради.

**Серодиагностикаси.** Риккетсиозларнинг замонвий диагностикасини асосини ташкил этади. Ишонарли натижалар касалликнинг биринчи ҳафтаси охирларида бўлиши мумкин. Риккетсиозларнинг серодиагностикасида қуйидаги усуллар кенг қўлланилади.

**Вейл-Феликс реакцияси.** Кенгайтирилган АГ реакцияси бўлиб, кўпчилик риккетсиозларнинг диагностикасида ва идентификациясида қўлланилади. Моҳияти, кўпчилик риккетсиозлар билан касалланган беморлар қон зардобиди *Proteus vulgaris* ни ОХ штаммларини (асосан ОХ<sub>19</sub>, ОХ<sub>2</sub>) агглютинацияга учратиш хусусиятига эга. Риккетсия Провацек фақат ОХ<sub>19</sub> штамм билан агглютинация беради. Риккетсияларнинг бундай хусусияти *Proteus* бактериялари билан структура (Аг) жиҳатдан ўхшашлигини билдиради.

Агглютинация реакциялари параллел равишда *Proteus* диагностикаси ва кўзгатувчиларнинг махсус диагностикаси билан бирга қўйилади. Қўйиш техникаси бошқа касалликларда қўйилган агглютинация реакцияларидан фарқ қилмайди (бетга қаралсин).

КБР сезгир усуллардан ҳисобланади ва риккетсиялар диагностикасида кенг (бетга қаралсин) қўлланилади. Антиген сифатида риккетсияларни корпускуляр ва эриувчан антигенлари қўлланилади. КБР специфик бўлганлиги учун риккетсиозларни бир-биридан фарқлаш мумкин.

ПГАР да эрувчан риккетсиоз антигенлари эритроцитлар сатҳига шимдирилиб тайёрланган диагностикаси билан фойдаланилади.

Текширилган зардобларни 1:800 ва 1:6400 гача суялтириш мумкин. Аммо, КБР дан фарқи ўлароқ ПГАР ёрдамида группа ичидаги риккетсиозларни дифференциация қилиб бўлмайди. Бироқ ПГАР инфекция фазасини аниқлашга ёрдам беради, чунки бу антителалар инфекция жараёнида юқори титрда тўпланиб, реконвалесцентлик даврида пасайиб кетади. Бемор тузалгандан 6 ой ўтиб, кейин умуман қонда топилмайди. Агар реакция КБР билан бир вақтда қўйилса у ҳолда кечаётган касалликни аввал ўтказилган (анамнестик) касалликдан фарқлаш мумкин.

**Бирламчи эпидемик тошмали тифни, рецидив (Брилл-Цинссер) спорадик тошмали тифдан фарқлаш.** Бу касаллик кўзгатувчиси ҳар иккала касалликда ҳам *Rickettsia prowazekii* келтириб чиқаради. Касаллик даврида риккетсиялар тинч формага ўтиб олиши ва касалликдан сўнг ўзоқ йиллар организмда сақланиши, сўнг яна касалликни келтириб чиқариши мумкин. Бу бир хил касалликнинг икки хил шаклини фақат серологик усулда фарқлаш мумкин. Иммунология бўлиmidан бизга маълумки организмга бирламчи антиген (микроб) тушганда гуморал системада биринчи бўлиб IgM синтезланади ва касалликнинг ўткир даврида кўп йиғилади. IgM пайдо бўлгандан 5-6 кундан кейин эса IgG синтезланади. Агар шу антиген (микроб) қайта организмга кирса (уларга қарши хотира хужайралари ҳосил бўлган тақдирда) асосан тез ва эффектив IgG ҳосил бўлади. IgM ва IgG лар бир бирларидан баъзи бир парчаловчи моддалар 2- меркаптоэтанол, цистеинга сезувчанлиги билан фарқ қилади. Бу моддалар IgM молекуласидаги дисульфит боғларни узади ва иммуноглобулин фаоллиги йўқолиб антигенлар билан бирика

Жадвал 73.

Бирламчи тошмали тифни Брилл- Цинссер касалигидан фарқлашда КБР натижалари.

Текширилувчи зардоб		Зардобнинг суялтириши								
		1:8	1:16	32	64	1:128	1: 256	1: 512	1:1024	1:2048
1 чи бемор	2-меркаптоэтонол кўшилган	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	2-меркаптоэтонол кўшилмаган	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Натижа	Бемор бирламчи қайталама тиф билан оғриган								
2 чи бемор	2-меркаптоэтонол кўшилган	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	2-меркаптоэтонол кўшилмаган	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Натижа	Бемор иккиламчи (Брилл- Цинссер) қайталама тиф билан оғриган								

олмайди. Бирламчи тошмали тифни Брилл- Цинссер касаллигидан фарқлаш учун текширилувчи зардоб 2- меркаптоэтанол ёки цистеин билан ишлов берилиб (контролда ишлов берилмайди) КБР қўйилади. Агар бирламчи

тошмали тиф билан бемор оғриган бўлса қонда IgM кўп бўлади, агар зардоб 2- меркаптоэтанол билан ишлов берилиб реакция қўйилса АТ титри ишлов берилмаган зардобга нисбатан 4 мартаба камайди. Брилл- Цинссер касалигида эса асосан IgG ҳосил бўлганлиги сабабли 2- меркаптоэтанол билан ишлов берилган ва ишлов берилмаган зардобларда ҳам АТ титри деярли бир хил бўлади.

### **Қайталама тифнинг микробиологик диагностикаси**

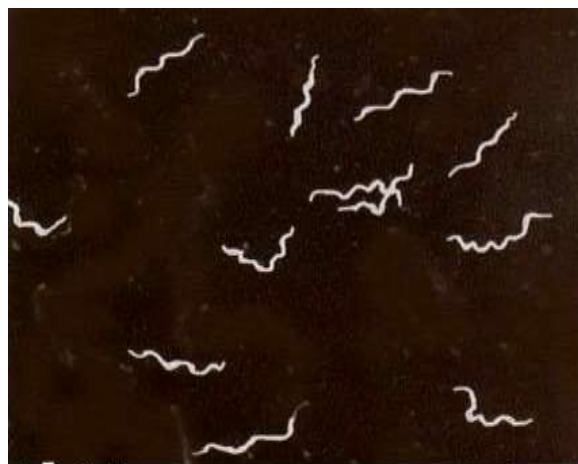
Қайталама терлама трансмиссив юқумли касаллик. Бит орқали юқадиган эпидемик ва кана орқали юқадиган эндемик қайталама терлама фарқ қилинади; иситма хуружи ва тинчланиш (апирексия) даври билан кечади.

Эпидемик қайталама терлама ёки боррелиоз кўзгатувчилари *Borrelia* авлодига мансуб спирохеталар оиласига киради, спиралсимон бактериялар бўлиб, ҳар хил катталиқда 3–10 тагача бурамалари бор. Буларнинг қуйидаги турлари *B.recurrentis* патоген бўлиб, бит орқали, *B.duttonii*, *B.persica*, *B.caucasica*, *B.hispanica*, *B.latyschewi* ва бошқалари кана орқали одамларга юқади. Улар келтириб чиқарган касалликларни боррелиозлар ҳам деб юритилади.

Боррелилар трепонемалардан фарқ қилиб лаборатория шароитида кўпаяди, улар анаэроб шароитда бир бўлак тўқима бўлаги қўшилган асцит суюқлиги, қон зардобли муҳитларда ва товук эмбрионида яхши кўпаяди. Уларнинг вирулентлиги бир неча йилларгача сақланиши мумкин.

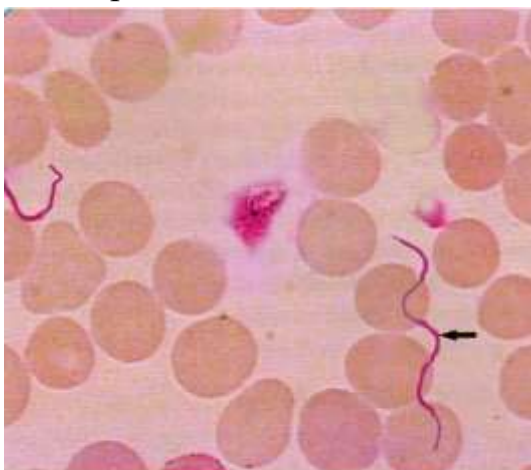
Лекин амалиётда бу усул деярли қўлланилмайди.

*B.recurrentis* (Обермейер спирохетаси) эпидемик (бит юқтирувчи) қайталама тиф касаллигини келтириб чиқаради.



Расм 84. Боррелиаларни қоронгиплаштирилга майдонда кўриниши

Қолган турлари келтириб чиқарган касалликларни одамга каналар юқтиради ва эндемик қайталама тиф касалликлари (боррелиозлар) деб



Расм 85. Қайталама тиф билан оғриган бемор қондан тайёрланиб Романовский – Гимза усулида бўлган суртмада боррелиозларни кўришни

номланади.

### Услужий кўрсатма

**Бактериоскопик усул.** Боррелиозларда асосий усуллар қаторига киради.

Текшириш учун қон юқори иситма даврида (бошланиш даврида қўзғатувчи кўп бўлади) бармоқдан олиниб “қалин” томчи суртмаси тайёрланилади ва Романовский-Гимза усуллари билан ёки фуксин, метилен

кўки билан бўяб кўрилади. Иситма хуружи олдидан қўзғатувчи қонда шунчалик кўп бўладики бир бирлари билан ўралиб тўқилган кийгизга ўхшаб қолиши мумкин. Қоронғилаштирилган майдонда қондан таёрланган натив препарат кўрилганда боррелаларнинг типик ҳаракатларини кўриш мумкин. Қўзғатувчини яна Бурри усулида ҳам топиш мумкин, бунда қўзғатувчи қора фонда кумуш толаларга ўхшаб ётади (расм 83). Бактериоскопик усул апраксия даврида ўзини моҳиятини йўқотади, лекин текшириляётган қон центрифуга қилиниб, унинг чўкмасидан боррелиаларни баъзида топиш мумкин.

Қўзғатувчини яна Бурри усулида ҳам топиш мумкин, бунда қўзғатувчи қора фонда кумуш толаларга ўхшаб ётади (расм 83). Бактериоскопик усул апраксия даврида ўзини моҳиятини йўқотади, лекин текшириляётган қон центрифуга қилиниб, унинг чўкмасидан боррелиаларни баъзида топиш мумкин.

*B. recurrentis* Романовский-Гимза усулда бўялганда суртмада ингичка, эгилган, 8-12 мкм узунликдаги ипчаларга ўхшаб, 4- 12 бурамаларга эга бўлади (расм 84). Улар фуксин билан қизил, қалин томчи препаратларида эса бинафша-пушти ранга бўялади.

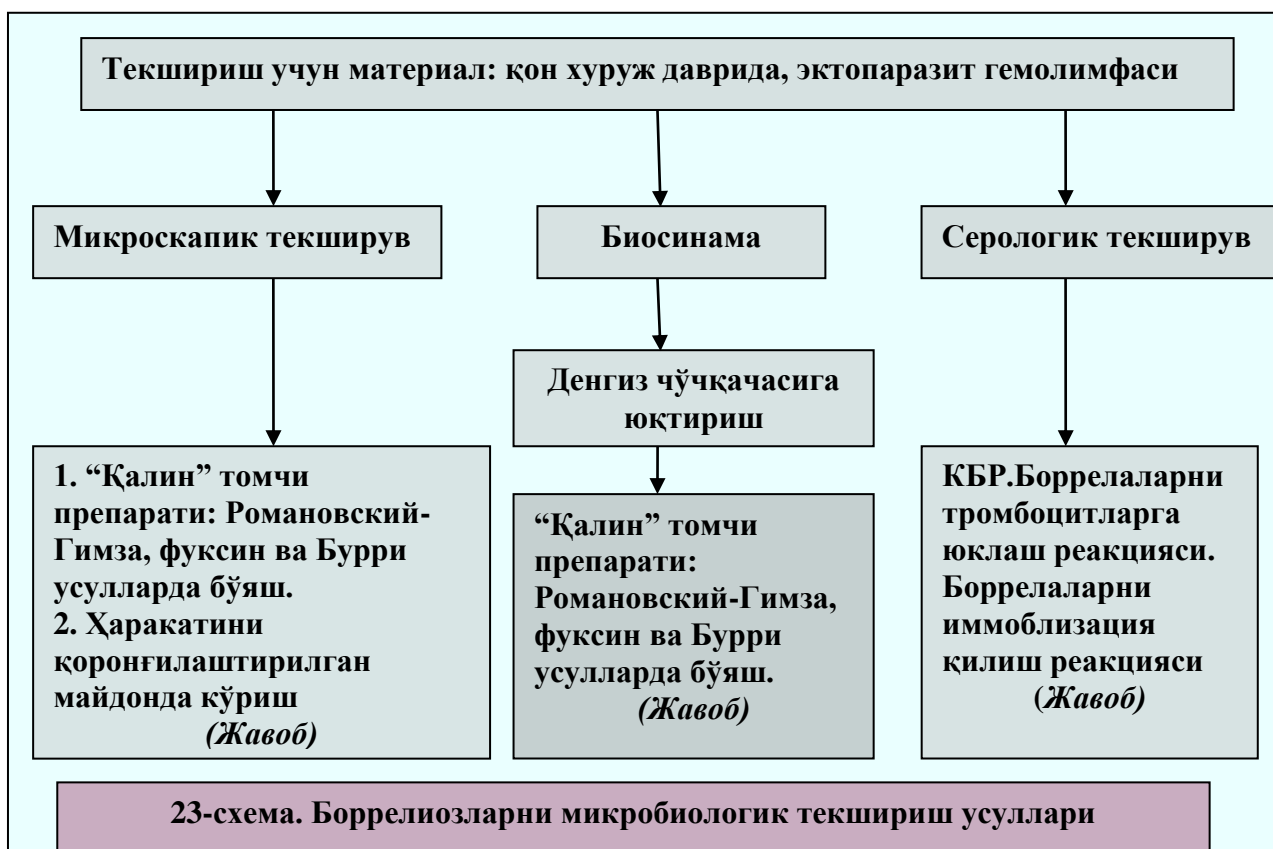
**Биологик синама.** Касал қони денгиз чўчкачаларига юқтирилади. Агар натижа мусбат бўлса, 5-6 кундан сўнг ҳайвонлар қонида кўп миқдорда боррелалар пайдо бўлади. Биологик синама эпидемик қайталама тифни эндемик

қайталама тифдан фарқ қилишда ҳам қўлланилади. Эпидемик қайталама тиф билан ҳайвонлар касалланмайди.

**Серологик усул.** Апираксия даврида серологик синамалар қўйилади.

Боррелаларни иммоблизация қилиш реакцияси. Апираксия бўлиб ўтган бемор қон зардобидан бир томчи буюм ойнасига олинади ва унга боррелалар культураси аралаштирилади, ёпқич ойна билан “эзилган” томчи препарати тайёрлаб қоронғилаштирилган майдонда ҳаракати ўрганилади. Агар бемор қонида специфик АТ бўлса боррелалар ҳаракати 30-60 минутда тўхтаб ўлиб қолади.

**Боррелиаларни тромбоцитларга юклаш (Риккенберг-Брусин) реакцияси.** Бемор қон зардоби олиниб тенг объёмдаги цитратли денгиз чўчқачаси қон билан аралаштирилади. Шу аралашмага тенг ҳажмда боррелалар культураси қўшилади ва ўткир учли пробиркаларга солиниб 15 минут 37° С термостатда сақланади. Сўнг пипека билан бир томчи олиниб буюм ойнасига



томизилади ва ёпқич ойна билан ёпиб қоронғилаштирилган майдонда микроскопда кўрилади. Бемор қонида АТ бўлса денгиз чўчқачалар

тромбоцитлари боррелаларни юзасига ёпишиб уларни ҳаракатларини тўхтатиб кўяди.

### **Лептоспирозларнинг микробиологик диагностикаси.**

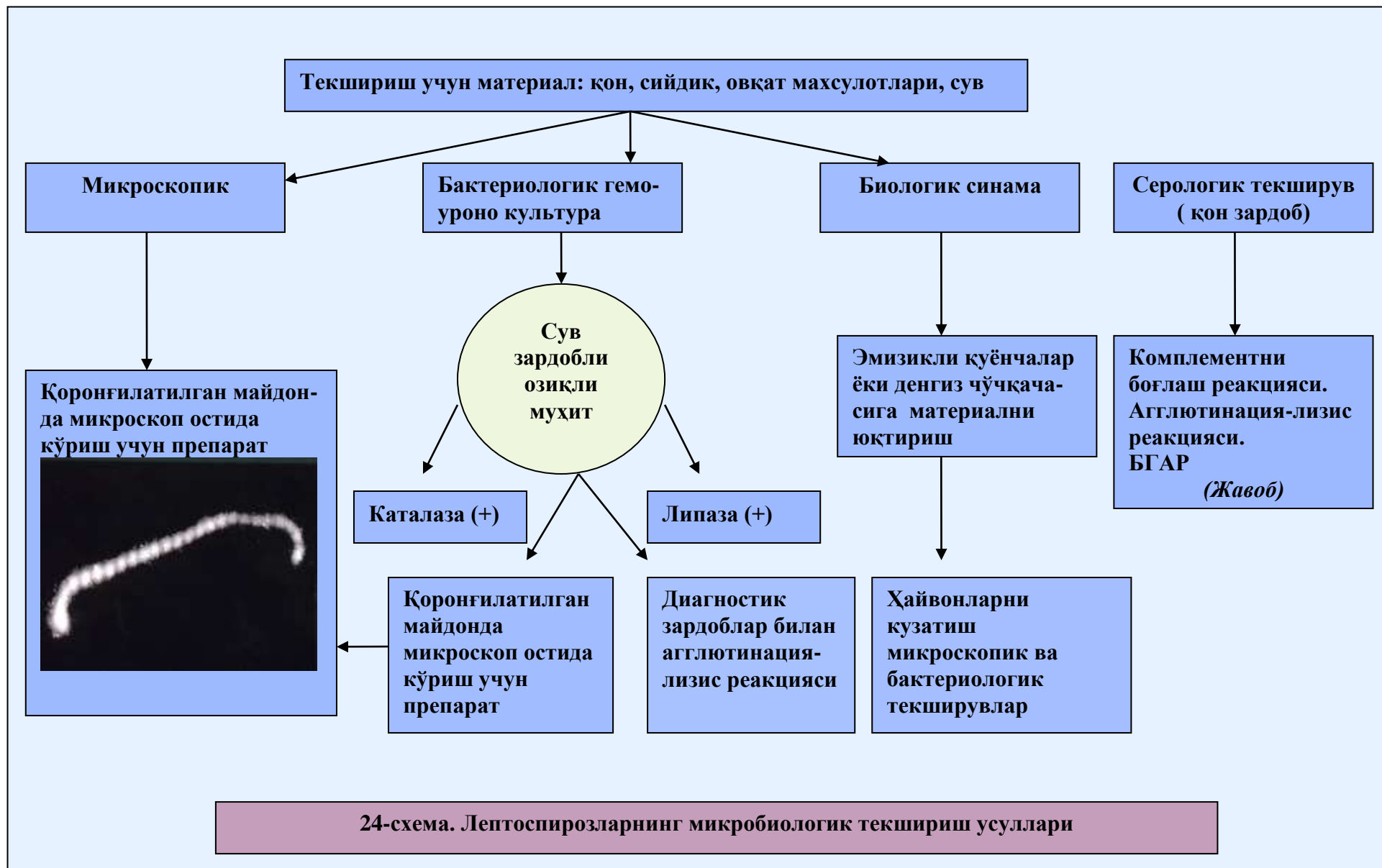
Лептоспиралар зооноз юқумли касалликлар кўзғатувчилари ҳисобланади. Кўзғатувчиси *Leptospira interrogans*. Булар 18 серогруҳга ва 180 та сероварларга бўлинади. Бундан ташқари табиий шароитда кўплаб сапрофит лептоспиралар ҳам учрайди. Лептоспираларни табиий хўжайинлари ёввойи ва уй ҳайвонлари, кемирувчилар ҳисобланади. Одамларда бу кўзғатувчилар лептоспироз касалликларини келтириб чиқаради, кўзғатувчилар кўпроқ сув орқали организмга тушади (чўмилганда, ичганда ва бош), бундан ташқари ҳайвонларни қарашда ҳам юқиши мумкин. Касаллик турли кўринишдаги клиник формаларда (сариклик билан ёки сариксиз) ўтади.

Микробиологик текширувда материал сифатида касалликнинг турли даврларида қон, ликвор, ва сийдикдан фойдаланилади. Касалликнинг 5-кунда қондан бактериоскопик ва бактериологик текширув, биологик синама, 10 кундан бошлаб сийдикда бактериоскопия, 1 ҳафтани охирида серологик текширишлар (АР ва лизис реакцияси) ўтказилади.

### **Услубий кўрсатмалар**

#### **Бактериоскопик текширув (24- схема).**

Текширилувчи материалдан “эзилган” томчи суртмаси тайёрланилади ва уни қоранғилаштирилган майдонда микроскопда кўрилади. Натижа мусбат бўлса, 6-9 мкм узунликда бўлган бирламчи ва иккиламчи ўрамли (схемадаги расмга қаралсин) ҳаракатчан кумушсимон лептоспиралар кўринади. Бу ўрамлар лептоспираларга С, S симон шаклни берувчи учлари қайрилган илмоқ кўринишга эга бўлади. Тирик лептоспиралар актив (тўғри йўналишда) ҳаракатда бўлади. Улар олға, бир жойда айланиб, ҳамда айлана бўйлаб ўз жойини ўзгартириб ҳаракат қилиш хусусиятига эга. Лекин лептоспиралар бўёқларни қабул қилмаслиги сабабли уларни фақат натив препаратларда ўрганилади.





Қонни, ликворни микроскоп остида кўриш (менингит ҳолатларда) касалликка барвақт диагноз қўйиш имконини беради. Аммо манфий натижалар, касалликнинг лептоспириоз эмаслигини бутунлай тасдиқлай олмайди. кўринишга эга бўлади.

**Бактериологик текширув.** Лептоспира облигат анаэроб бўлиб 5-10% кўён зардоби қўшилган суюқ-сувли ва зич муҳитларда яхши усади. Баъзи бир муҳитларга фосфатли буфери, пептон қўшилади. Текширилувчи материал бемор каравоти олдида 3-5 та пробиркаларга экилади ва устига стерил вазелин мойи томизилади (ҳаводан кислород тушишини чегаралаш учун). Сўнг 28°C ли термостатда 2 ой давомида сақланади. Агар лептоспира кўпайса, муҳит тиниқ ҳолда қолади. Ҳар 5-6 кун ичида муҳит олиниб, препарат тайёрланиб қоронғилатилган майдонда микроскоп остида кўрилади. Ажратиб олинган культуралар серогруппаси диагностик зардоблар тўплами билан агглютинация реакцияси ёрдамида идентификация қилинади.

**Биосинама.** Юқумли материал Эмизикли куёнчалар ёки денгиз чўчқачаси ёки тилла рангли олмахон болаларининг қорин пардасига ёки тери орасига юборилади. Агар ҳайвон касалланса ёки ўлса, унинг қонидан, сийдигидан, ёрилганда олинган материаллардан препаратлар тайёрланади. Улар қоронғилатилган майдонда микроскоп остида кўрилади ва лептоспиранинг соф культурасини ажратиб олиш учун озиқли муҳитларга экилади.

**Серодиагностика.** Турли серогруппа ва сероварларга мансуб бўлган лептоспираларнинг тирик эталон культуралари билан агглютинация-лизис реакцияси қўйилади. Реакция натижаси “эзилган” томчи препаратини қоронғилатилган майдонда микроскоп остида кўриш орқали аниқланади. Реакция мусбат бўлган тақдирда агглютинация ҳосил бўлиб, лептоспиралар эриб кетади. Зардоб бирламчи суюлтирилганда лептоспиралар тўлиқ эрийди, баъзан бир қисми ҳам эриши мумкин ёки дона-донача бўлиб шишади. Зардобнинг кейинги суюлтирилганида эса, лептоспира агглютинацияси ва кичкина “ўргимчакларга” ўхшаш агломератлар ҳосил бўлади. Реакциянинг диагностик титри 1:100 га тенг. Касалликнинг 15-30 кунда антителаларни энг

юқори титри 1:800-12 000 бўлиши мумкин. Касалликни бошидан кечирган катор кишиларда АТ титри узоқ йиллар сақланиб қолади. Шунинг учун диагностикада албатта жуфт зардобдан фойдаланиш зарур (биринчи маротаба қўйилгандан сўнг қайта бир ёки икки ҳафтадан кейин) ва АТ лар титрини ошиб боришига қараб диагноз қўйиш мумкин.

### **Диагностика , профилактика ва даво препаратлари**

**Қуруқ корпускуляр риккетсиоз антигенлари.** Товуқ эмбрионида ўстирилган ва бегона аралашмалардан тозаланиб, ўлдирилган риккетсия суспензияси. Серологик реакцияларда антиген сифатида ишлатилади.

**Қуруқ эрувчан риккетсиоз антигенлари.** Реакция культураларини экстракция қилиб ва эфир билан ишлов бериб олинган. КБР, ПГАР ларни қўйишда фойдаланилади.

### **Қуруқ, тирик комбинация қилинган тошмали тифнинг Е-вакцина.**

Товуқ эмбрионида ўстирилган ва бегона аралашмалардан тозаланган, тирик Провацек риккетсия (Е-вакцина штамми) культураларни ушбу риккетсиялар вирулент штамидан олинган эрувчан антигени билан бўлган аралашмаси. Тошмали тикка қарши эмлашда қўлланилади.

**Лептоспироз антигени.** Лептоспира асосий сероварларининг 7-10 кунлик культуралари. Лептоспирозларнинг серодиагностикасида ишлатилади.

**Лептоспироз вакцинаси.** СНГ давлати территорияларида тарқалган асосий асосий сероварларидан ташкил топган, қиздириб ўлдирилган ва фенол билан консервация қилинган культуралари. Лептоспирозларнинг профилактикасида, инфекциянинг эндемик ўчоқларида ишлатилади.

**Лептоспироз иммуноглобулини.** Лептоспирозни даволашда ва профилактикасида қўлланилади.

## **ВИРУСЛАР КЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРНИНГ ВИРУСОЛОГИК ДИОГНОСТИКАСИ**

Йилдан- йилга вируслар келтириб чиқарувчи касалликлар кўпайиб бормоқда. Ҳозирги кунда 1000 ортиқ вируслар кашф қилинган. Уларнинг 50% одамлар учун патоген ҳисобланади. Вируслар классификация бўйича 20 оилага бўлинган. Булардан 13 – РНК ва 7 – ДНК сақловчи вируслар оиласи мавжуд.

Одамларда учровчи умумий юқумли касалликларнинг 85-90% вируслар келтириб чиқаради. Ҳамма вируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларни 6 гуруҳга бўлиш мумкин:

1. ЎРВИ (ўткир респиратор вирусли инфекциялар)- бу касалликларни 130 дан ортиқ вируслар келтириб чиқаради, булардан энг кўп (грипп, парагрупп, адено, рино, РС, реовирус) тарқалгандир;

2. Нейротроп вируслар- буларга қутириш, полиомиелит, ЭХО ва коксаки вируслари ва арбовирус, тоговирус, буньянвирус, аренавирус вакиллари киради.

3. Ичак вирусли юқумли касалликларини қўзғатувчилари – буларга РНК ва ДНК сақловчи вируслар (полиомиелит, ЭХО, коксаки, гепатит А,Е, кам ҳолларда пикорновирлар болаларда энтритларни келтириб чиқаради) киради.

4. Дермотроп вируслар – буларга герпес, оспа( чечак), сув чечак вируслари киради

5. Гепатотроп вируслар – гепатит вируслари (А, В, С, Д, Е, F ва бош.) киради.

6. Иммунотроп вируслар – буларга ретравирлар (ОИТВ 1, 2 типлари ва бош) киради.

Вируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг лаборатория диагностикасида вирусологик, серологик, вирусоскапик ва биологик усуллар қўлланилади. Буларнинг ичида вирусологик усул энг асосий ҳисобланади, лекин, вирусларни ажратиш олиш жуда катта меҳнат талаб қилади, чунки текшириладиган материаллар махсус лабораторияларда ҳужайра культуралари ва товук эмбрионларига юқтирилиб ажрашиб олинади.

Вирусларнинг хужайра культураларига ҳар хил сезувчанлик хусусиятларини ҳисобга олиб, бир вақтнинг ўзида бир қанча хужайра культураларига вируслар юктирилади. Айрим вируслар лаборатория ҳайвонларига текширувчи материални юктириш йўли билан аниқланади.

Лаборатория шароитида ажратиб олинган вирусларни идентификация қилишда уларнинг хужайраларга кўрсатган цитопатик таъсири ва қуйидаги серологик реакциялар ёрдамида (нейтраллаш, ГРТ, КБР, ПГАР, агардаги преципитация реакцияси ва бош.) олиб борилади. Текшириляётган вирусларни антиген тузилишига қараб у ёки бу реакциялар қўлланилади. Вирусларни ажратиш ва идентификация қилиш 7-10 кундан 30 кунгача ва ундан ортиқ вақт талаб қилади. Кўпчилик вирусларни хужайра культураларига мослашиши учун 2-3 маротиба пасаж қилинади. Шунинг учун текширишни тезлаштириш учун айрим вақтларда текширилувчи материалдан вирусни тез топиш ва тахминий диагнозни қўйиш учун иммунофлюоресцент усул энг қулай ҳисобланади.

Вирус юқумли касалликларда серодиогностика кўпчилик ҳолларда ретроспектив аҳамиятга эга бўлиб, асосий диогнозни тасдиқлаш учун хизмат қилади. Диогностик мақсадда қўлланилганда албатта жуфт қон зардобдан фойдаланилади. Касалликнинг турли даврларида АТ ларнинг титрини ошиб бориши мазкур диогнозни тасдиқлаш имконини беради.

Оҳирги йилларда вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларнинг диогностикасига ўта сезгир замонавий усуллар ( ИФА, ДНК-гибридизацияси, ПЗР, иммуноблотинг ва бош.) кириб келди, бу усуллар ёрдамида вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларга ўта тез диогноз қўйиш имкониятларини бермоқда/

Вирусологик ва серологик текширишлар аҳамияти шундан иборатки, фақат шу йўл билан олинган натижаларга кўра вирус юқумли касалликларининг тарқалишини эпидемиологик таҳлил қилиб, касаллик манбаи ва юқиш йўллари аниқланиб, уларга қарши профилактик ишлар ишлаб чиқилади.

**Ўткир респиратор вирусли инфекциялар қўзғатувчилари**

Респератор –юқори нафас йўлининг вирусли юқумли касалликлари кўзгатувчилари таркибида РНК- ва ДНК –бўлган турли вируслар оиласи киради (74-жадвал).

Жадвал 74.

Вирусли ўткир респератор юқумли касалликларнинг кўзгатувчилари

Вируслар номи		Кўзгатадиган касалликлари
ДНК- вируслар	Аденовируслар оиласи (Adenoviridae)	Ринит, ларенгит, трахеобронхитлар, ЎРК, зотилжам, ўрта кулоқнинг яллиғланиши, ўткир конъюнктивит
	Herpesviridae оиласи I-тип учуқ вируси II-тип учуқ вируси	Ёш болаларда ўткир гингивостаматит, герпетик экзема кератоконъюнктивит, герпетик иситма Чақалоқлар учуғи (қон орқали тарқалган ва жинсий органлар учуқ)
	Сув чечак ва ўраб олувчи темиртки вируси	Болаларда сув чечак, каталарда ўраб олувчи темиртки
РНК-вируслар	Orthomyxoviridae оиласи Грипп А вируслари  Грипп В ва С вируслари	Грипп (эпидемия, пандимиялар, спорадик холлари) Грипп (спорадик холлари, эпидемиялар)
	Paramyxoviridae оиласи Парагрипп вируслари, Ньюкастл, респиратор синцитал вирус (РСВ) Тепки вируси Қизомиқ вируси	Ўткир респератор касалликлар (ЎРК)  Тепки Қизомиқ
	Coronaviridae –оиласи Корона вируслар	Ўткир респератор касалликлар (ЎРК)
	Ricornaviridae оиласи Риновируслар А <sub>10</sub> , А <sub>21</sub> , А <sub>24</sub> , А <sub>2</sub> , А <sub>4</sub> , А <sub>5</sub> Коксаки вируслари ва бошқалар ЕСНО <sub>20</sub> вируси ва бошқалар	Ринитлар, бронхитлар, ўткир респератор касалликлар (ЎРК)  Герпангин ва ўткир респератор касалликлар (ЎРК)
	Reoviridae оиласи Риовируслар	Ўткир респератор касалликлар (ЎРК), зотилжа, бронхитлар

Улар организмга фақат юқори нафас йўллариининг шиллиқ қаввати орқали кириш хусусиятлари ва лаборатория диагностика принципларининг умумийлиги туфайли бир гурпуага киритилган.

74-жадвалда келтирилган вируслар асосан юқори нафас йўллариини шикастлайди. Бирок, улардан айримлари киши организмининг бошқа тўқима ва органларини ҳам шикастлаши мумкин. Қатор вируслар масалан тепки фақат

сўлак безларини, ўғил болаларда мойк тўқималарини ва бошқа органларни, қизилча вируси эса лимфа тугунлари системасини, ҳомиладор аёлларда ҳомилани, герпес вируслар тери ва жинсий органларни ҳам шикастлайди.

Юқори нафас йўлларининг (респератор) вирусли, вирус + бактерия, вирус + микоплама билан биргаликда аралаш инфекциялар жуда характерлики, буларни лаборатория диогностикасида бу хусусиятни ҳисобга олиш зарур. Шунинг учун бурин-ҳалқумдан олинган суртма ва чайиндилар, ўпка шикасланганда эса болғам ва бронхлар чайиндиси текширилувчи материал бўлиб ҳисобланади.

Учуқ ва сувчечак касаллигида вируслар оғиз бўшлиғининг шиллиқ қавати, тери ва жинсий органлардаги тошмаларда бўлади. Вирусемия, юқорида ёзилган вируслар қўзғатган юқумли касалликларнинг энг оғир формаларида, шунингдек кизомик, тепки, қизилча, сувчечак каби болалар юқумли касалликларида кузатилади.

Ўткир респератор касалликлар (ЎРК) лаборатория диогностикаси тезкор (экспресс) усуллар, чунончи: иммунофлюоресценция ва риноцитоскапия (ДНК-гибридизация, ПЗР ҳам қўлланилмоқда) ниҳоятда кенг қўлланилади ва 2-3 соат давомида тахмитний диогноз қўйиш имконини беради. Грипп в ЎРК ларда серорлогик диогностика ретроспектив характерга эга бўлади, чунки антителалар реконвалисцент даврида (касалик тузалгандан кийин 2-3 ҳафта кийин) кўпайяди. Серодиогностика учун ГАРТ, КБР, ИФА, иммуноблотинг ва вирусли нейтраллаш реакцияларидан фойдаланилади.

### **МАВЗУ 33. Ўткир респератор вирусли инфекциялар: орто- ва парамиксовируслар оиласига кирувчи вирусларнинг вирусологик диогностикаси.**

Машғулот програмаси

1. Ўткир респератор вирусли касалликлар диогностика схемасини ўрганиш
2. Диогностиканинг тезкор усуллари.
3. Ортомиксовируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг вирусологик диогностикаси.
4. Парамиксовируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг вирусологик диогностикаси.
5. Грипп, парагрипп ва бошқа респератор вирусли инфекциялар серодиогностикаси.

6. Грипп, парагрипп ва бошқа респиратор вирусли инфекцияларда қўлланиладиган диагностика, профилактик ва даволаш препаратлари.

Намоиш қилиш

1. Грипп, парагрипп ва бошқа респиратор вирусли инфекциялар экспрес диагностикасининг иммунфлюоресцент усули.

2. Ўткир респиратор вирусли касалликларқўзғатувчилари ва уларнинг репродукциялари акс этирилган рангли расм ва албомлар.

3. Грипп, парагрипп ва бошқа респиратор вирусли инфекцияларда қўлланилувчи вакцина, иммуноглобулин, даволовчи зардоб, диагностикаум, бир ва кўп валентли зардоблар.

**Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Вирус юктирилга товук эмбрионининг алантоис суюқлигидан олиб, грипп вирусини индикацияси учун гемагглютинация реакциясини қўйиш.

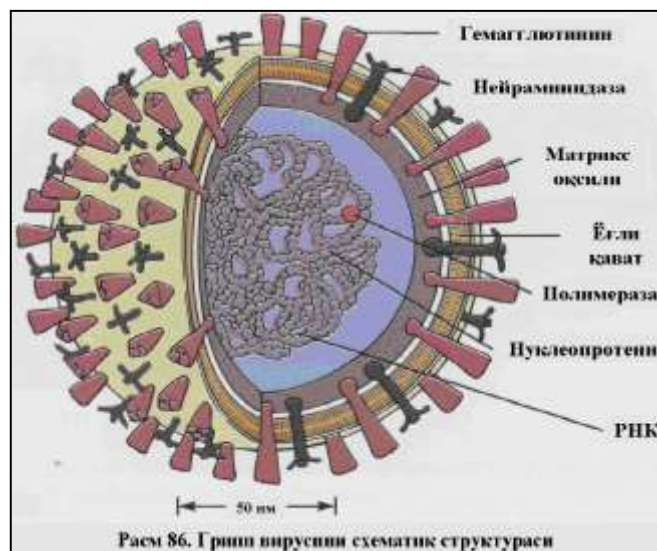
2. Ажратиб олинган грипп вирусини ГАРТ ёрдамида идентификация қилиш. Хулоса чиқариш.

3. Респиратор касаллик келтириб чиқарувчи вируслар билан шикастланган хужайра культураларидаги (вирусни ЦП таъсири) ўзгаришларни аниқлаш.

**Грипп, парагрипп ва аденовирус инфекцияларининг вирусологик диагностикаси.**

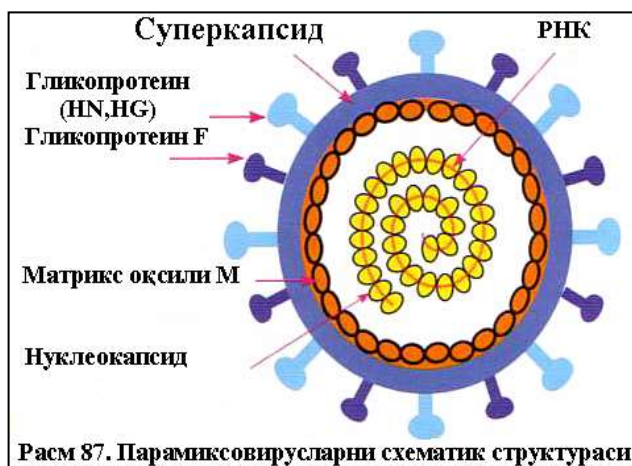
Грипп вирусини Orthomyxoviridae оиласига киради ва учта типи А, В, С тафоут қилинади. Булардан А типи асосан эпидемия ва пандимия кўринишлада ўтади. Грипп вируслари одамда, қушларда ва ҳайвонларда касаллик келтириб

чиқаради. Грипп вирусининг ўзига хос хусусиятларидан бири табиий шароитда ўз юза (гемагглютинин НА ва нейроминидаза NA) антигенларини ўзгартириб туришидир. Ҳар қачон шу юза антигенларини ўзгариши вируснинг янги вариантини пайдо бўлишига олиб келади Вирус ҳар 10-15 йилда тўлиқ ўзининг антиген (шифт



усулда) структурасини ўзгартиради ва грипп вирусини янги серологик типи пайдо бўлади ва касаллигининг дунёдаги янги пандимияси бошланади. 2000 йилдан кийин грипп вирусининг H2N5 паранда гриппи ер юзидаги инсоният соғлиғига катта ҳаф солиб турибди. 2009 йилдан бошлаб грипп вирусининг

H1N1 чўчка типи яна қайтиб келди ( 1976 йилда пандемия берган) ва ер юзида янги касалликнинг пандемиясини келтириб чиқармоқда. Грипп касаллиги аксарият ҳолларда одамларда енгил ўтади ва 3-5 кун ичида одамлар соғайиб кетади, лекин охириги йилларда грипп касаллигининг токсик формалари ва паранда (H2N5) типлари жуда клиник жиҳатдан оғир ўтмоқда ва кўпчилик ҳолатларда ўлим билан тугамоқда. Грипп вирусининг оптимал ажратиб олиш модели бу 10-12 кунлик товук эмбрионини амнион ёки аллантоис бўшлиғига юктириш ҳисобланади. Лаборатория ҳайвонларидан грипп вирусига сезгир африка юмронқозиқлари ва оқ сичқонлар ҳисобланади. Грипп вирусининг ретроспектив диогностикасида кўпроқ серологик усуллар қўлланилади. Грипп вирусини схематик структураси 85 - расмда келтирилган.



### Парамиксовируслар

Paramyxoviridae оиласи ва бу оилага 4 та авлод вакиллари киради:

Paramyxovirus авлоди-парагрипп кўзғатувчилари 1 -3 типли; Rubulavirus-авлоди эпидемик паратит касаллиги вируслари 2 ва 4 типлари;

Morbillivirus-авлоди қизомиқ

касаллиги вируслари; Pneumovirus- РС вирус. Парагрипп вируслари РНК сақловчи вирус бўлиб сегментланмаган –РНК малекуласи тутати. Суперкапсид таркибида гемагглютинин (H), нейроминидаза (N) антигенлари ва F-оқсил учрайди (расм 87). F оқсил хужайра мембранасига бирикишни ва зарарланган симпласт хужайраларининг ҳосил бўлишида қатнашади. Вирус репликацияси доимо хужайра цитоплазмасида рўй беради. Вируслар гемадсорбция, гемолитик, нейроминидаза ва симбласт ҳосил қиловчи хусусиятларга эга

**Парагрипп вируслари (ПВ).** Одамларда юқори нафас йўлларида шиллик қаватларида парагрипп касаллигини (para-олдида, юнонча) келтириб чиқаради. Касаллик кўпроқ болаларда ва болалар коллективларида кузатилади. Болаларда касаллик ларенготрахеобронхит кўринишда ўтиб, ёлғон круп деб ҳам

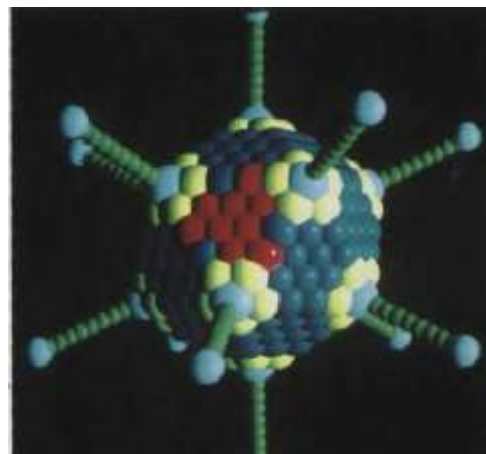


аталади (1,2 типлари чақиради). Вируснинг 3 типи бир ёшгача болаларда бронхит ва зотилжам касалликларини келтириб чиқаради.

**Эпитпаротит вируси (тепки).** Ўткир юқумли инфекцион касаллик бўлиб асосан кулоқ олди безини жароҳатлаб, кўпинча бирдан (эпидемик вспышка) болалар коллективларида эпидемия бошланиши мумкин. Эпитпаротит вирусини бита серовари учрайди.

**Қизомик вируси (ҚВ).** Вирус дастлаб юқори нафас йўлидаги эпителиал хужайраларга киради ва шиллик қават, бурун-ҳалқум, трахея ва бронхларнинг эпителий хужайраларида кўпаяди, сўнгра қонга тушади. Вирус қон капиллярларининг эндотелий хужайраларини шикастлайди. Бу хужайралар некрозга учраши натижасида терида тошмалар пайдо бўлади. Айрим ҳолларда вирус марказий нерв системасига бориб энцефаломиелитни келтириб чиқаради. Вирус **товуқ эмбрионида кўпаймайди.** Уни одам ва маймун эмбрионининг буйрагидан тайёрланган бирламчи хужайра культураларида кўпайтирилади. Бундан ташқари, одам амниони ва ундирилувчи хужайра культураларида (Hela, ҚВ, Vero ва бошқалар) цитопатик таъсир кўрсатиб кўпаяди. Натижада симпластлар, яъни кўп ядроли хужайралар ҳосил бўлади. Вирус қирган хужайра цитоплазмасида ацидофил, ядросида базофил киритмалар вужудга келади. Бошқа парамиксовируслардан фарқ қилиб ҚВ таркибида **нейроминидаза** учрамайди.

**Аденовируслар** (юнонча adeno- без) ўткир инфекцион жараённи келтириб чиқаради, асосан юқори нафас йўллари, кўз, ичак ва лимфоид тўқималарни жароҳатлайди.



Расм 88. Аденовирусларни схематик кўриниши

Аденовирусларнинг 34 та сероварлари учрайди, оддий тузилишга эга, вирион икки ипли чизикли инфекцион ДНК тутади. Вирусда суперкапид учрамайди, шунинг учун ташқий муҳит омилларига (эфир, спирт) ўта чидамли (расм 88).

Лаборатория шароитида аденовируслар одамлардан олинган эпителий хужайра культураларида интисив кўпайди. Вирус репликацияси ядрога рўй беради. Вируснинг цитопатик эффекти юктирилгандан сўнг 1-7 кунлари наъмаён бўлади ва хужайралар юмолоқлашуви, уларнинг бир бирлари билан бирикиши оқибатида узум шингилига ўхшаб йиғилиб қолади. Хужайра ядросида ДНК тутувчи специфик киритмалар пайдо бўлади. Аденовируслар товуқ эмбриони ва лаборатория ҳайвонлари учун патоген эмас. Баъзи бир сероварлари онкоген хусусиятга эга.

Ўткир респиратор вирусли юқимли касалликларнинг диагностикасида экспресс, вирусологик ва серологик усуллар қўлланилади.

### **Методик кўрсатмалар.**

Экспресс усуллар. Бу усуллар билан грипп ва бошқа респиратор касалликлар қўзғатувчиларига 2-3 соат мабойнида тахминий диагноз қўйилади.

**Реноцитоскапик усул.** Грипп ва бошқа респиратор вирусли касалликларнинг лаборатория диагностикасида тез қўзғатувчини аниқлаш учун қўлланиладиган экспресс усулдир. Касал бурнининг пастки чиғаноғи юзасидан (кирғоғлари силлиқланган ойнача ёки плексиглас пластинкаси ёрдамида) тамға -суртма олинади.

Тамға – суртмалар қуритилиб, фикция қилинади ва Рамоновский-Гимза ёки фуксин, метилин кўкида бўялади. Цилиндрик эпителий, ҳамда дегенерация бўлган макрофаглар цитоплазмасида, лейкоцитларда қизил рангли кенг контурли киритмалар жойлашган бўлади.

Грипп касаллиги вирусининг диагностикасида реноцитоскапик текшириш, специфик усул бўлмаса ҳам, гриппнинг аденовирус касалликларидан ажратишга ёрдам беради. Бунда хужайранинг структураси бузулади, натижада ядролар вакуолланиши ва ядро ичида киритмалар пайдо бўлади.

Аденовируслар репродукциясида, эпителий хужайраларида бошқа вируслардан фарқ қилиб, характерли цитопатик ўзгаришлар рўй беради, яъний хужайралар юмолоқлашиб, қатламнинг четида ғужум ҳолида (узум шингилини эслатади), тўпланади ва культура ойна (пробирка) сатҳидан тез кўчиши

кузатилади. Парагрипп вируслари эса хужайраларнинг бир бирларига бириктириши оқибатида кўп ядроли симбласт хужайралари ҳосил бўлади. Респиратор вируслар фибробласт хужайраларида сустривожланади ва бунда хужайра тез шишади, натижада уларнинг ядролари парчаланилади. Аденовируслар учун эпителий ва фибробластлар хужайралари ядро ичида киритмалар пайдо қилиши характерлидир.

### **Экспресс –дионостика (26- схема).**

Билвосита, тўғридан-тўғри иммунофлюоресценция (Кунс) реакцияси БИФР (РИФ) жуда специфик бўлиб, бунда зарарланган хужайралардан вирус антигеларини нишонланган флюоресцентли антителалар ёрдамида аниқлаш механизими ётади.

Текшириш учун материал бўлиб, беморнинг тамоқ, бурин ҳалқум чайиндилари ва шу чайиндилар билан юктирилган хужайра культуралари хизмат қилади. Препарат тайёрлаш учун олинган чайинди центрифугада бир минутда 2000-3000 марта 10 минут айлантирилади. Чўкмадан бир нечта мойсизлантилган буюм ойначаларига суртмалар тайёрланади ва қуритилиб 5 минут давомида тоза ацетонда фиксация қилинади. Кийин худди шу препаратлар нишонланган флюоресцентли антителалар (махсус чиқарилган: гриппнинг А1, А2; парагриппнинг 2 ва 3 тип вируслари; респиратор синцитиал вирусга қарши, аденовирусларга қарши кўп валентли зардоб) билан ишланади. Агар билвосита усул қўлланилса, суртмага олдин юқорида келтирилган вирусларга қарши специфик АТ қўшилиб, кийин ювиб ташланади ва нишонланган флюоресцентли одам антиглобулинли қон зардоблари билан ишлаб берилди. Анализ охирида препаратларни люменцент микроскопда кўздан кечирилади. Препаратда вируслар бўлса люменисцент микроскопда ёғдуланади ва махсус нур сочаётган вирус зарраларига эътибор берилди: ёғдуланаётган аденовируслар хужайрани ядросида кўринса; грипп ва парагрипп вируслари цитоплазмада йиғилиб қолган бўлади. Хужайралардаги вирус зарралари ва уларнинг сонига қараб реакция жавоби ўқилади.

**Вирусологик текширув.** Ўткир респератор вирусли касалликларда текшириш учун материал бурин халқум чайиндиси, болғам ва бошқалар бўлиши мумкин (схема 26). Патологик материал хужайра ёки товук эмбрионига юктиришдан олдин, уларнинг таркибидаги бошқа микроорганизимларни йўқотиш учун антибиотиклар билан ишлов берилиб (пенциллин, стрептомицин 1000 ТБ мл) центрифуга қилинади. Вирусологик ишлар ҳаммаси боксларда ўта стерил шароитларда олиб борилади. Чўкма устидаги суюқлик пипетка ёрдамида сўриб олиниб ҳар бир вируслар учун мақбул бўлган хужайра культураларига (грипп вирусини товук эмбрионининг амниотик ва аллантоис бўшлиғига, маймун, одам эмбрионларининг буйрагидан тайёрланган бирламчи хужайра культураларига; парагрипп вирусини маймун, одам эмбрионининг буйрагидан ва одам эмбрионининг фибробластларидан тайёрланган тўқима культураларига; паратит тепки вирусини товук эмбрионининг амниотик бўшлиғига ва янги ажратиб олинган вирус штамлари одам эмбрионининг буйрагидан тайёрланган бирламчи хужайра культураларига; кизомик вирусини одам эмбриони ва маймун буйрагидан тайёрланган бирламчи хужайра культураларига) юктирилади, бундан ташқари, одам амниони ва ундирилувчи хужайра культураларига (Hela, KB, Vero ва бошқалар); РС-вирусини маймун буйрагидан тайёрланган бирламчи хужайра ва ундирилувчи ўсма хужайра культураларига (Hela, Нер-2, KB); аденовируслар эса одам эмбриони буйрагидан тайёрланган бирламчи ва ундирилувчи Hela, Нер-2 хужайра культураларидан ҳам фойдаланилади. Вирус юктирилган товук эмбрионлари ва хужайра культуралари 37° да термостатда сақланади.

**Ўткир респератор касаллик келтириб чиқарувси вирусларни индикация ва идентификация қилиш усуллари.** Ўткир респератор касаллик келтириб чиқарувси вирусларни индикация (индикация – вирус борлигини аниқлаш) қилишда ХПТ, гемадсорбция, ГАР ва иммунофлюоресценция усулларидан фойдаланилади. Иммунофлюоресцент усул бошқа усуллардан фарқ қилиб (ХПТ, гемадсорбция, ГАР) вируслар материалда жуда кам



миқдорда бўлса ҳам уларни аниқлаш имконини бериши мумкин. Иммунофлюоресцент усул билан фақат вирусларни топиш эмас, балки парагрипп вируслари, РСВ, аденовирус ва микоплазмалар юқтирилган хужайра культураларида вирусларни идентификация қилиш мумкин. Бундан ташқари вируслар хужайра культураларида йиғилиб қолгандан сўнг, КБР да аденовирусларни, ГАРТ, КБР ва специфик зардоблар билан нейтраллаш реакцияларида парагрипп, тепки, қизомиқ вирусларини бир-бирдан фарқлаш мумкин.

Грапп вирусларини ажратиш, пассаж қилиш ва титрлаш учун улар ривожланаётган товуқ эмбриоларида ўстирилади.

Грапп вирусининг амниотик ёки аллантоис суклиғида мавжуд ёки мавжуд эмаслигини тахминий ГАР ёрдамида аниқланади. Грипп А вируси товуқ, денгиз чўчқачаси, одамнинг I (O) қон группаси эритроцитлари билан, В вируслари эса фақат товуқ эритроцитлари билан агглютинация беради.

Гемагглютинация реакцияси билан вирусларни титрлаш учун эритроцитларнинг I фоизли суспензияси олинади. Вирус титри ++ (1 та АББ-битта агглютинация берувчи бирлик) дан кам бўлмаган эритроцитларнинг агглютинациясини берувчи энг кўп суюлтирилган эритмасига айтилади.

Эпидемия ёки эпидемия оралиғи даврларида касалдан ажратиб олинган грипп вирусининг штаммлари уларнинг серологик типини аниқлаш учун ўрганилади. Вирус типлари ГАТР ёрдамида специфик зардоблар тўплами билан аниқланади.

Реакция натижаси геаагглютинациянинг тормозланиши билан белгиланади. Вирус (А, В ёки С) КБР ёрдамида дифференциация қилинади. А вирусининг кенжа типи  $H_0N_1$ ,  $H_1N_1$ ,  $H_2N_2$ ,  $H_3N_2$ , ва бошқа антигенлар, гомологик типга хос зардоблар тўплами ёрдамида (ГАТР да дифференциация қилинади).

Н-ва N-антигенларни идентификация қилиш учун гемагглютининга ва нейраминидазага қарши олинган, махсус монорецептор зардоблардан

фойдаланилади. Бунда Н-антигенни ГАТР ёки иммунпрецептация реакцияси ёрдамида гелда, N-антигенни эса, нейраминидазани нейтралловчи реакция ва гелдаги иммунопрецепитация реакцияси ёрдамида идентификация қилинади (жадвал 75). 75-жадвалда кўрсатилган ГАТР натижалари шуни кўрсатадики текширилувчи вируснинг гемагглитинация қилиш активлиги, H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> типига хос зардоб билан 1:10-1:160 нисбатда (унинг титргача) нейтралланади, яъни текширилаётган вирус А (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) кенжа типига алоқадор бўлади.

Жадвал 75.

### Грипп вирусининг типларини аниқлаш учун қўйиладиган ГАТР

Суялтирилган диогностик зардоб	Тажрибадаги					Контролдаги			
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Зардоб	Вирус	Эрирт	
1- Н <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
2- Н <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
3- Н <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ,	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Вирусни ишчи дозаси (1/32) ҳар бир қаторга	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	0.2	—	
Товук эритроцит- ларини 1 % суспензияси	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Хона ҳароратида 60 минут сақланад									
Олинган натижа ГАР +/-	1	+	+	+	+	+	—	+	—
	2	+	—	—	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	—	+	—

**Сердиагностика.** Грипп ва бошқа респиратор вирусларни турли серологик типларининг эталон штаммлари тўпламидан ташкил топган, стандарт диогностикумлар билан КБР ва ГАТР ёрдамида олиб борилади. КБР реакцияси ГАТР дан сезгир бўлиб, вирус серотипининг барча штаммларига хос айнан бир типдаги антителоларни аниқлаш имконини беради (жадвал 76). 76-жадвалдан ҳам кўришиб турибдики бемор жуфт қон зардоби билан КБР Грипп ва ЎРК вируслари диогностикумлари билан қўйиганда Грипп А вирусини кежа H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> типи билан мусбат натижа берди, яъний иккинчи маротиба қўйилганда шу вирус антигенига қарши АТ уч маротиба ошганлиги

аниқланди. Антителанинг титрини ошиб бориши беморнинг Грипп вирусини кежа  $H_2N_2$  типи билан касалланганидан далолат беради.

Жадвал 76.

Грипп ва ЎРК вируслари серодиогностикасида касалнинг жуфт зардоблари билан қўйилган КБР натижалари

Диогностикум	Текшириш сони	Зардобни суолтириш кўрсаткичи					Зардоб контроли
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
Грипп А вируси ( $H_2N_2$ )	1	+	+	–	–	–	–
	2	+	+	+	+		
Грипп В вирус	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	–	–	–	–	–
Аденовирус (поливалентли)	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	–	–	–	–	–
РСВ (респератор синци-тиал вирус)	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	–	–	–	–	–

Жуфт зардобларда антителолар титрининг тўрт мартага (эпидемия даврида) ва ўзига хос клиник белгилари бўлган касаллар зардобиди икки мартага кўпайиши диагностик жиҳатдан муҳим аҳамиятга эга.

Жадвал 77.

Грипп ва парагрипп серодиогностикасида касалнинг жуфт зардоби билан қўйилган ГАРТ натижалари

Диогностикум	Текшириш сони	Зардобни суолтириш кўрсаткичи					Зардоб контроли
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
Грипп А вируси ( $H_2N_2$ )	1	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–		
Грипп В вирус	1	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–
Парагрипп I типи	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	+	+	–	–	–
Парагрипп II типи	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	–	–	–	–	–
Парагрипп III типи	1	+	–	–	–	–	–
	2	+	–	–	–	–	–



Бирок, антителолар титрининг кўпаймаслиги грипп инфекцияси йўқлигини билдирмайди. ГАТР вируснинг бир хил серотип ва тип остидаги антигенлар турини аниқлаш учун ишлатилади.

**Диагностика, профилактика ва даволаш препаратлари**

**H0N, H1N1, H2N2, H3N2, B ва C типга хос грипп зардоблари.** ГАТР ва КБР рекцияларида грипп вируси серотипларини аниқлаш учун қўлланилади.

**Типга хос парагрипп зардоблари.** Парагрипп вирусларини дифференциация қилиш ва серотипларини аниқлашда ишлатилади.

**Қуритилган типга хос (грипп ва парагрипп) диагностикаумлар.** Маълум юқумли касалликлар серодиагностикасида ишлатилади.

**Тирик грипп вакцинаси.** Грипп вируси асосий серотипларининг вакцина штамлари юқтирилган товуқ эмбрионларининг аллантоис суюқлигидан тайёрланади, вакцинанинг бир тури бурундан, бошқаси оғиз орқали юборилади.

**Инфлювак суббирлик грипп вакцинаси.** Уч валентли инактивация қилинган грипп вакцинаси. Таркиби товуқ эмбрионида ўстирилган ва инактивация қилинган грипп А ва В вирусини суперкапсид (гемагглютинин, нейроминидаза) антигенларидан таркиб топган. Грипп вакцинасини АГ таркиби БССБ тамонидан берилган кўрсатма асосида янгиланиб турилади. Вакцина бир маротиба катталар ва ўсмирлар учун 0,5 мл, болалар учун: 6 ойдан 3 ёшгача 0,25 мл; 3 ёшдан 14 ёшгача 0,5 мл. Олдин вакцинация қилинмаган болаларга вакцина 2 маротиба 4 ҳафта интервал билан ревакцинация қилишга кўрсатма берилади.

**Тирик қизамиқ вакцинаси.** Қизамиқ вирусини вирулент штамmlарини кучсизлантириб (аттенуированная) олинган (РФ Л16). Бир маротиба (8-ойлик чақалоқларга календарбўйича) тери остига юбориб эмланади.

**Тирик паратит вакцинаси.** Паратит вирусини вирулент штаммларини кучсизлантириб (аттенуированная) олинган. Бир маротиба (1 ёдан бошлаб календар бўйича) тери остига юбориб эмланади.

**Даво-профилактика учун қўлланиладиган кўп валентли грипп зардобси.** Грипп вирусининг турли серотиплари билан отларни гиперэмлаш натижасида олинади. Қуритилган ҳолда, антибиотиклар ва сульфаниламидлар билан бирга тайёрланади. Гриппнинг олдини олиш ва касалликнинг бошланиш даврида даволаш учун бурун орқали юборилади.

**Гриппга қарши донор иммуноглобулини.** А ва В типли тирик грипп вакцинаси билан эмланган донорларнинг қон зардобидан тайёрланади. Эпидемик ўчоқларда грипп профилактикаси ва уни даволашда қўлланилади.

**Одам лейкоцитар интерферони.** Бу турга хос оқсил бўлиб, культурал муҳитдаги одам пейкоцитлари томонидан, вирус-интерфероноген таъсирига жавобан синтез қилинади. Грипп ва бошқа вирусли респиратор касалликлар профилактикасида ва уларни даволашда қўлланилади.

**Типоспецифик аденовирус зардоблари.** Нейтраллаш ва ГАТР да аденовирусларни серологик типларга ажратишда қўлланилади.

### **МАНЗУ 34. Ўткир нейротроп вирусли инфекциялар: полиомиелит, коксаки, ЕСНО ва қутириш вирусларнинг вирусологик диагностикаси.**

#### **Машғулот программаси**

1. Ўткир нейротроп вирусли касалликлар диагностика схемасини ўрганиш.
2. Диагностиканинг тезкор усуллари.
3. Полиомиелит, коксаки, ЕСНО вируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг вирусологик диагностикаси.
4. Қутириш вируси келтириб чиқарувчи касалликнинг вирусологик диагностикаси.
5. Нейротроп вирус касалликларининг серодиагностикаси.
6. Полиомиелит, коксаки, ЕСНО ва қутириш ва бошқа нейровирусли инфекцияларда қўлланиладиган диагностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

#### **Намоиш қилиш**

1. Полиомиелит, коксаки, ЕСНО ва бошқа нейротроп вирусли инфекциялар экспресс диагностикасида имунфлюоресцент усуллар.
2. Ўткир нейротроп вирусли инфекциялар касалликлари қўзғатувчилари ва уларнинг репродукциялари акс этирилган рангли расм ва албомлар.
3. Бабеш –Негри таначалари.
4. Нейротроп вирусли инфекцияларда қўлланиладиган диагностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

### Лаборатория ишини бажариш учун топширик

1. Энтеровируслар келтириб чиқарган касалликларга вирусологик диагноз қўйиш усуллари:

а) Махсус иммун зардоблар билан ўтказилган нейтраллаш реакцияси ёрдамида энтеровирусларни идентификация қилиш ва натижалари асосида хулоса чиқариш.

б) Коксаки ва ЕСНО вирусларини аниқлаш учун беморларни жуфт қон зардоблари билан КБР қўйиш, натижалаш, хулоса чиқариш.

в) Энтеровирусларнинг эталон штамларига нисбатан беморнинг жуфт зардоблари билан вирус нейтралловчи антителоларни титрлаш усули билан қўйилган реакцияларни натижалаш, хулоса чиқариш.

## Нейротроп вирус инфекцияси қўзғатувчилари

Нейротроп вирус инфекциясини асосан бир-биридан кўп белгилари билан фарқ қилувчи ва таркибида РНК бўлган турли оилага мансуб вируслар қўзғатади (78- жадвал). Уларга тогавируслар, рабдовируслар, аренавируслар ҳамда пикорновируслар оиласига ва энтеровируслар зотига мансуб бўлган полиомиелит, коксаки ва ЕСНО вируслари, киради. Булар ингичка ичак лимфа тугунларида кўпайиб (репродукция бўлиб), нажас орқали ташқарига чиқади. Шунинг учун булар келтириб чиқарадиган касалликларини ичак юқумли касалликларига киритилган. Бироқ, қўзғатган касалликларининг

**Жадвал 78.**

### Ўткир нейротроп вирусли юқумли касалликларнинг қўзғатувчилари

	Вируслар номи	Қўзғатадиган касалликлари
<b>РНК-вируслар</b>	Ricoviridae- оиласи Энтеровируслар: 1, 2, 3, полиовируслар тип ЕСНО 4,5,9,11,14 ва бошқа вируслар Коксаки А <sub>7</sub> , А <sub>9</sub> вируслари Коксаки В <sub>1-6</sub> вируслари	Шол кузатилмайдиган полиомейлит (асептик менингит) Шол кузатиладиган полиомейлит Асептик менингит, меоперикардит Асептик менингит, меоперикардит Энцефаломиелокардит (блаларда), орхит
	Togoviridae оиласи Арбовируслар: Канна энцефалитининг вируси Япон энцефалитининг вируси Омск геморраргик иситмаси вируси Flaviviridae оиласи Bunyaviridae оиласи Қрим геморраргик иситмаси вируси Arenaviridae оиласи Лимфоцитар хориоменингит вируси	Энсефалит, асептик менингит Энсефалит, асептик менингит Қон оқиши ва МНС ни шикастловчи геморраргик иситма Япон ва кана энцефалити Қон оқиши ва МНС ни шикастловчи геморраргик иситма Асептик менингит ёки энцефаломиелит

	Rhabdoviridae оиласи Қутириш вируси	Бош ва орқа мия нейронлари шикастларган энцефаломиелит

(полиомиелит, сероз менингит, менингоэнцефалит ва бошқалар) патогенетик ва клиник белгиларига кўра, уларни нейротроп касалликлар кўзгатувчи вирусларга қўшиш мумкин. Баъзан таркибида ДНК бўлган, масалан 1-ва 2-типларга кирувчи герпесвируслар марказий нерв системасини ҳам шикастлантириши мумкин.

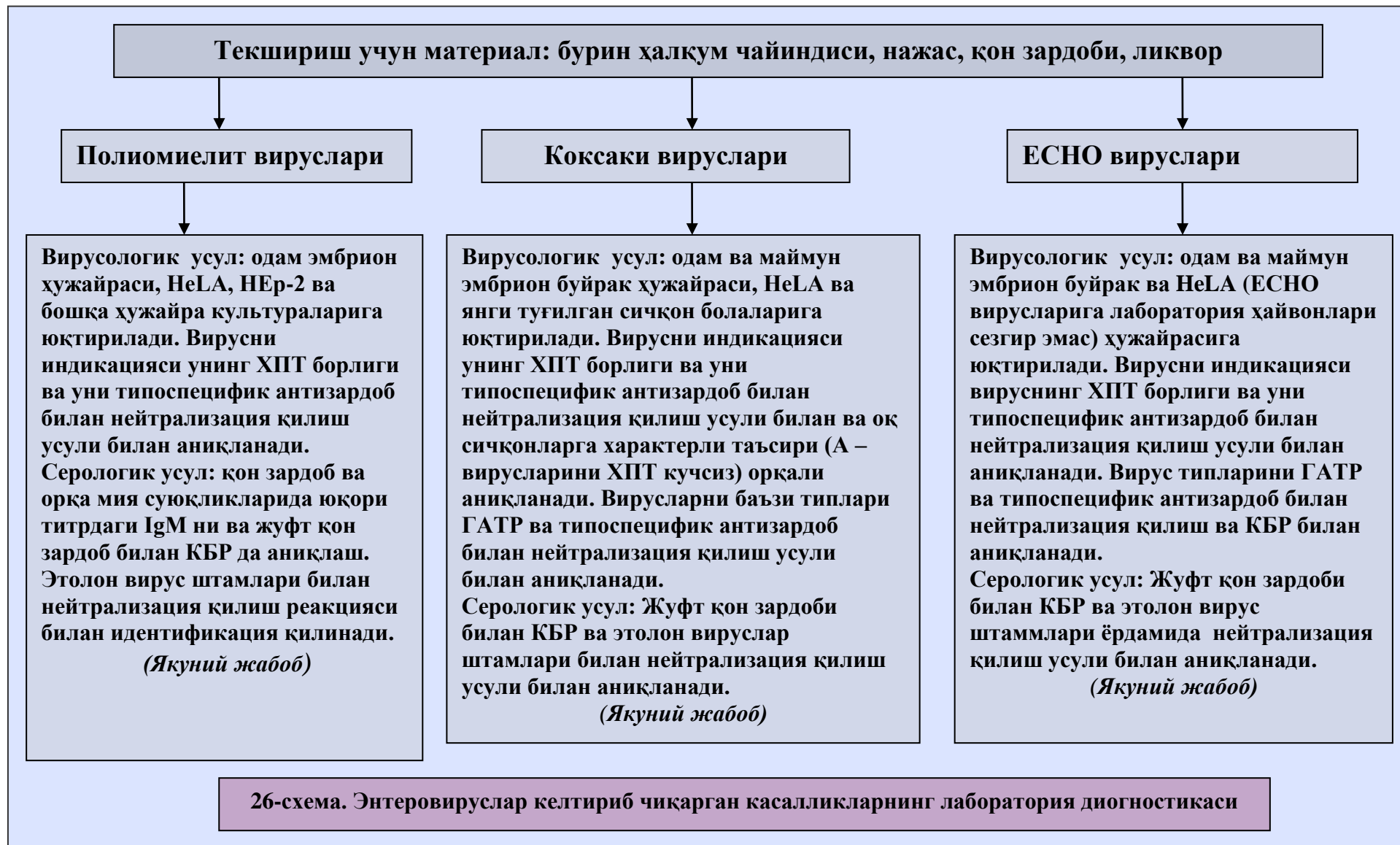
Нейровирус касалликларининг лаборатория диагностикасида касалликнинг даври муҳим аҳамиятга эга. Биринчи 5-6 кеча-кундуз давомида деярли ҳамма ҳолатларда қонда (вирусемия босқичи), неврологик белгилар намоён бўлгандан сўнг ликворда вирусни аниқлаш мумкин.

**Полиомиелит, коксаки ва ЕСНО вируслари кўзгатувчи касалликларнинг вирусологик ва серологик диагностикаси.**

**Энтеровируслар.** Picornaviridae оиласи, Enterovirus авлоди. Буларга ҳозирги кунда қуйидаги вируслар киради: полиомиелит вируси (1-3 типи); Коксаки вируслар группаси –Коксаки А вируслари (24 серовар), Коксаки В вируслари (6 серовар); ЕСНО вируслари (34 серовар) ва 5 та классификация қилинмаган одам (68-72) энтеровируслари.

Энтеровирусларнинг асосий хусусиятлари: ўлчами 22- 30 нм; геноми-бир ипли (+) фрагментланмаган РНК; суперкапсиди йўқ; симметрия типичубсимон 60 капсомери бор; таркибида ёғлар йўқ; эфирга, ўт сапро, кислота ва ишқорларга ва (3-10 рН диапазонда) ташқий муҳитга чидамли; махсус хужайра културасида ўсади.

**Методик кўрсатмалар**



Текшириш учун материал: нажас, тамоқ чайиндиси, ликвор. Энтеровируслар касалликнинг даслабки кунларида (3-кун) қўзғатувчи ҳалқум буриндаги ажралмаларда учрайди ва 10 кундан бошлаб нажас орқали ажралади.

**Вирусологик текширув.** Патологик материал хужайра культурасига юктиришдан олдин, уларнинг таркибидаги бошқа микроорганизмларни йўқотиш учун антибиотиклар билан (пенциллин, стрептомициннинг Хенкс эритмасидаги аралашмаси 1000 ТБ мл) 4° С да бир сутка давомида сақланади. Сўнгра контрол сифатида уларни стериллиги текширилади. Агар нажас суспензиясида бактериялар бўлмаса, у хужайра культурасига юктирилади. Агар бактериялар материалда сақланиб қолинган бўлса у яна антибиотиклар билан қайта ишланиб кийин юктирилади. Патологик материал бир вақтни ўзида 2-3 та пробиркадаги бирламчи хужайра культурасига (одам эмбрионининг ёки маймун буйраги хужайраси) ва ундирилувчи хужайра (HeLA қатори, одам амниони ва бошқа) культураларига юктирилади, чунки энтеровирусларнинг бир тури бирламчи, бошқалари ундирирувчи хужайраларда яхши кўпайяди. Материал юктирилган хужайра культуралари 35°С да 2-3 кун сақланади ва вирусларнинг борлиги индикация қилинади, одатда вирус юктирилган хужайралар тўла ёки қисман дегенрацияга учрайди. Бунда ХПТ нинг интинсивлиги кўп сабабларга, жумладан вирусларнинг миқдори, унинг турига, хужайра культурасини ҳолатига ва бошқа хусусиятларга боғлиқ. Агар вируснинг ХПТ суст ёки умуман намоён бўлмаса, у ҳолда 2-3 маротиба қайта юктирилади. Натижа манфи бўлса текшириш тўхтатилади, агар ижобий бўлса ажратиб олинган хужайрага патоген таъсир кўрсатган агентни идентификация қилинади. Текширилаётган вируснинг аввал ўша хужайра культурасидаги титри аниқланади. Нейтраллаш реакцияси учун маскур вирусдан 100 ХПТ 50 (1 ХПТ<sub>50</sub> – бу вируснинг камида 50% хужайра культурасини дегенрацияга учратадиган миқдори) бирлик олинади.

**Энтеровирусларнинг идентификацияси.** Ажратиб олинган вирусларни идентификация қилишда нейтраллаш реакцияси (НР), ГАТР қўлланилади. Бу

мақсадда диогностик, поливалентли стандарт зардоблардан фойдаланилади. Сунгра ўзига хос моновалентли зардоблар билан вирус типлари ёки сероварлари аниқланади. Коксаки ёки ЕСНО вирусларига тегишли эканлиги кўрсатилган уч группа вирусларининг ҳар бирига хос поливалент зардоблар билан НР да аниқланади. Агар, Коксакининг поливалент зардоб билан текширилаётган вируси нейтралланса, кийинги босқичда шу вируснинг моновалентли зардоблари билан вирус типлари ёки сероварлари аниқланади (79, 80, 81 жадваллар).

Энтеровирусларнинг баъзи типлари ЕСНО (3, 6, 7), Коксаки А (20, 21), Коксаки В (1, 5) серотиплари гемагглюинация қилиш қобилиятига эга бўлганлиги сабабли уларнинг идентификация қилишда ГАРТ дан фойдаланилади.

Коксаки вирусларини А ва В типларга ажратишда биологик усул қўлланилади. Бунинг учун ажратиб олинган вируслар янги туғилган оқ сичқон болаларига юқтирилади. Коксаки А вируси бу сичқон болаларида 3-5 кундан сўнг суст ривожландиган шол келтириб чиқаради. Бу вирусларни идентификация қилиш учун шу сичқонларда Коксаки А вирусининг серотипларига қарши олинган моновалент диогностик зардоблар билан НР кўйилади.

Жадвал 79.

Полиомиелит вирусининг I-III типларига қарши олинган моновалент иммун зардоблар билан бемордан ажратиб олинган вирусларни нейтраллаш натижалари

Поливалент вирусларга қарши олинган зардоб типлари	Ҳисобга олиш кунлари						Зардоб контроли	Ажратилган вируснинг типлари
	1	2	3	4	5	6		
I	—	—	—	—	—	—	—	I
II	—	—	+	+++	+++	+++	—	—
III	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—
Вирус контроли	—	+	+++	+++	++++	++++		

Шартли белгилар: ++++ хужайраларнинг пробирка деворидан кўчган ҳолдаги тўлик дегенерацияси; +++ хужайраларнинг пробирка деворидан қисман кўчган ҳолдаги

дегенрацияси; ++ хужайраларнинг 50% дан ошмаган ҳолдаги дегенрацияси; + айрим хужайраларнинг дегенрацияси; – ХПТ нинг йўқлиги

### Энтеровирусларнинг серодиогностикаси. Энтеровируслар келтириб

Жадвал 80.

Коксаки вирусларига қарши олинган моновалент иммун зардоблар билан бемордан ажратиб олинган вирусларни нейтраллаш натижалари

Поливалент вирусларга қарши олинган зардоб типлари	Ҳисобга олиш кунлари						Зардоб контроли	Ажратилган вируснинг типи
	1	2	3	4	5	6		
В <sub>1</sub>	–	+	++	+++	++++	++++	–	Коксаки В <sub>3</sub>
В <sub>2</sub>	–	–	+++	++++	++++	++++	–	
В <sub>3</sub>	–	++	–	–	–	–	–	
В <sub>4</sub>	–	+	++	+++	++++	++++	–	
В <sub>5</sub>	–	++	++	+++	++++	++++	–	
В <sub>6</sub>	–	+	++	+++	++++	++++	–	
Вирус контроли	–	+	+++	+++	++++	++++	–	

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.

чиқарувчи (полиомиелит, Коксаки, ЕНСО) касалликларда қонда комплемент боғловчи антителалар пайдо бўлади, айниқса касалликнинг ўткир даврида ва

Жадвал 81.

ЕСНО вирусининг 9-16 типларига қарши олинган моновалент иммун зардоблар билан бемордан ажратиб олинган вирусларни нейтраллаш натижалари

Поливалент вирусларга қарши олинган зардоб типлари	Ҳисобга олиш кунлари						Зардоб контроли	Ажратилган вируснинг типи
	1	2	3	4	5	6		
9	–	+	++	+++	++++	++++	–	ЕСНО 12
11	–	++	+++	++++	++++	++++	–	
12	–	–	–	–	–	–	–	
13	–	+	++	+++	++++	++++	–	
14	–	++	++	+++	++++	++++	–	
15	–	+	++	+++	++++	++++	–	
16	–	+	++	+++	++++	++++	–	
Вирус контроли	–	+	+++	+++	++++	++++	–	

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.



конда IgM ни миқдори ошиб кетади. Лекин серологик усул кўпчилик ҳолларда ретроспектив бўлиб, жавоб бемор тузалгандан ёки ўлгандан сўнг берилади. Энтеровирусларнинг серодиогностикасида кўпроқ КБР қўлланилади.

Реакцияни натижалашда аниқланган АТ нинг титрини касаллик давомида ошиб боришига (касаллик давомида камида 4 маротиба ошиши зарур) аҳамият берилади. Шунинг учун реакция камида 2 маротиба қўйилади. Касалликнинг бошида олинган зардоб холодильникда сақланади ва 3-4 ҳафтадан кийин олинган зардоб билан бирга реакция қўйилади.

Серодиогностикада фақат касалликга диагноз қўйилмасдан, балки касалликни қайси вирус келтириб чиқарганлигини ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун вирусларнинг этолон штаммларидан фойдаланилиб нейтрализация реакцияси орқали аниқланади. Вирусларнинг этолон штаммларини танлашда эпидемиологик ҳолат ва касалликнинг белгиларига қаралади. Этолон вирус 100 ХПТ миқдорида олинади. Жуфт зардоблар ¼ дан 1/1024 гача 4 койфицент билан суюлтирилади (жадвал 82). Коксаки, ЕНСО

Жадвал 82.

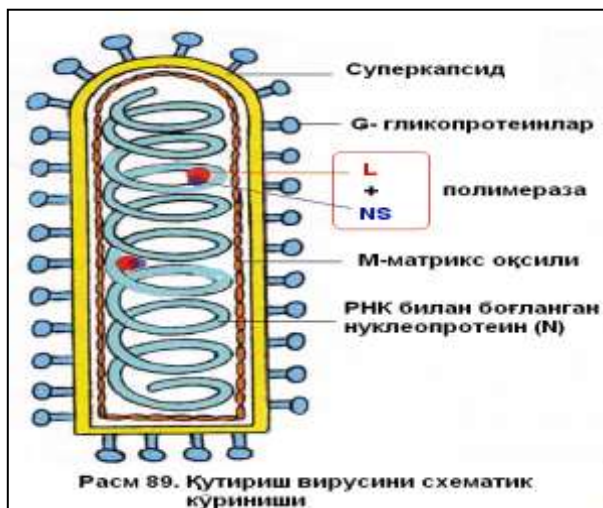
Бемор жуфт зардоблари ва Коксаки В<sub>2</sub> - В<sub>5</sub> вирус этолон штаммлари билан нейтраллаш реакцияс натижалари

Зардоб олинган кунлар	Вирус	Ҳисобга олиш куни						Зардоб контроли	Ангителалар титри	Титрни ўсиш қарраси
		1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			
3	Коксаки В <sub>2</sub>	—	++++	++++	++++			—	1:8 } 1:128 }	128
20	Коксаки В <sub>2</sub>	—	—	—	—	—	++++	—		
3	Коксаки В <sub>5</sub>	—	—	++++	++++	++++	++++	—	1:16 } 1:116 }	0
20	Коксаки В <sub>5</sub>	—	—	++++	++++	++++	++++	—		

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.

вирусларининг гемагглюинация қилиш қобилиятига эга бўлган серотиплари билан қўзғатилган касалликлар серодиогностикаси ГАРТ орқали ўтказилади.

**Қутириш касаллигининг лаборатория диогностикаси.** Ўткир юқумли МНС нинг касаллиги бўлиб, бош ва орқа мия нейронларини дегенерацияси билан кечади ва 100% ўлим билан тугаланади. Қутириш касаллигининг



вируси Rhabdoviridae оиласи ва Lyssavirus авлодига мансуб бўлиб, ўлчами 75x 180 нм, ўқсимон шакилга эга. Таркибида бир ипли – РНК тутади мураккаб тузилишга эга. Вирусни битта антиген варианты, фиксацияланган (virus fixe) ва кўча (дайди) вирус кўринишда учрайди. Фиксацияланган

типини куёнлар бош миясига кўп маротиба пассаж қилиш йўли билан Л. Пастер олган, бу вирус периферик нейронларни жароҳатламайди. Кўча вируси касаллик келтириб чиқаради. Қутириш вирусини схематик кўриниши 89-расмда келтирилган.

Қутириш касаллигининг вирусологик диогностикасида вирусоскопик, биологик ва серологик усуллар қўлланилади. Текшириш учун материал –касал (одам, ит, мушук ва бош.) сўлаги, секцион материал (мия тўқимаси, сўлак безлари).

Вирусоскопик усул асосий ҳисобланади, секцион материалдан гистологик қирқмалар тайёрланиб, бўяб микроскопда Бабеш-Негри таначаларини топиш йўли билан аниқланади. Вирус аммонов шохлари, миячада кўплаб учрайди. Бабеш-Негри эозинафилли



таначалар бўлиб, ўлчами 5-10 мкм, тухимсимон шакилда, таркиби йиғилиб қолган вирус нуклеокапсидларидан иборат. Бабеш-Негри таначалари кўпроқ хужайра ядроси атрофида топилади (расм-90). Уларни топилиши кутириш диагнозини сўзсиз тасдиқлайди, топилмаслиги эса касалликни йўқлигини билдирмайди. Секцион материалдан олинган тамға суртмаларни воситали ва билвоситали ИФР билан аниқлаш яхши йўлга қўйилган.

Вирусни ажратиб олишда касал (одам, ит, мушук ва бош.) сўлаги, секцион материал сичқон ёки қуёнларни миясига юктириш йўли ҳам қўлланилади. Ҳайвонларда параличлар кузатилади ва ўлим билан тугайди. Ҳайвонларнинг секцион материалидан олинган тамға ва кесма суртмалардан Бабеш-Негри таначалари топилади ва воситали ва билвоситали ИФУ билан ҳам вирусни аниқлаш мумкин. Эмланган одам ва ҳайвонлар организмида вирусга қарши АТ пайдо бўлади уларни КБР, НР ва ИФУ лари билан аниқлаш мумкин.

**Togoviridae, Bunyaviridae, Flaviviridae ва Arenaviridae оила вируслари келтириб чиқарувчи касалликларнинг диагностикаси.**

Бу вируслар келтириб чиқарувчи касалликларни табиий ўчоқли касалликлар жумласига ҳам киритилади. Буларни арбовируслар ҳам деб (arthropoda- бўғимоёқлилар, лотинча сўз + borne ўтказувчи инглизча) юритилади. Лаборатория диагностикаси бошқа вирусли касалликларга ўхшаш вирусологик, биологик ва серологик усуллар қўлланилади.

Вирусологик усулда бемордан қон, сийдик, энцефалит клиникасида орқа мия суюқлиги ва секцион материал олинади. Лекин шунини эслатиб қўйиш шартки бу вируслар билан ишлаш ўта ҳафли бўлиб махсус лабораторияларда олиб борилиши керак.

**Вирусологик усул.** Материал кўпроқ товук эмбрионига, товук эмбрионини фибробласт хужайраларига, аренавирусларда одам амнион хужайраларига ва филовирусларда маймун хужайра культураларига юктирилади.

**Биологик усул.** Асосий универсал усуллардан хисобланади. Материал 1-3 кунлик сичқон болаларининг миясига юктирилади ва бу сичқонларда энцефалит ривожланиб ўлим билан тугайди. Касаллик белгилари бошланиши билан сичқонларда бир неча мартаба қайтадан миясига пассаж қилинади, бунинг натижасида вирусларнинг юқори титри сичқон миясида йиғилиб қолади. Бу вируслардан антиген олишда фойдаланилади. Ҳар иккала усулда ҳам вирусларнинг идентификацияси иммун зардоблар тўплами билан ГАРТ ва КБР ларда амалга оширилади. Охириги идентификацияда НР қўлланилади. Охириги йилларда вирусларнинг тез аниқлашда воситали ва билвоситали ИФР ва ИФУ қўлланилмоқда.

**Серологик усул.** Вирусспецифик антителалар жуфт қон зардобидан КБР, ГАРТ ва НР ёрдамида аниқланади ва антителаларнинг титрини ошиб бориши асосида диогноз қўйилади. Вирус юқандан 6-7 кундан кийин қонда, антигемагглютининлар, 2 чи ҳафта охириларида комплементбоғловчи ва 3-4 ҳафталарда вирус нейтралловчи антителалар пайдо бўлади.

**МАНЗУ 35: Герпесвируслар, поксвируслар, аденовируслар келтириб чиқарган касалликларнинг вирусологик диагностикаси.**

**Машғулот программаси**

1. ДНК тутовчи вирусли касалликлар диогностика схемасини ўрганиш.
2. Диогностиканинг тезкор усуллари.
3. Герпесвирус, поксвирус, аденовируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг вирусологик диогностикаси.
4. Герпесвирус, поксвирус, аденовируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг серодиогностикаси.
6. Герпесвирус, поксвирус, аденовируслар ва бошқа ДНК тутовчи вирусли инфекцияларда қўлланиладиган диогностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

**Намоиш қилиш**

1. Герпесвирус, поксвирус, аденовируслар ва бошқа ДНК тутовчи вирусли инфекцияларнинг экспресс диогностикаси усуллари.
2. Герпесвирус, поксвирус, аденовирус касалликлари қўзғатувчилари ва уларнинг репродукциялари акс этирилган рангли расм ва албомлар.
3. Гварниери ва Пашен таначалари.
4. Герпесвирус, поксвирус, аденовирус инфекцияларда қўлланиладиган диогностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

**Лаборатория ишини бажариш учун топширик**

1ДНК вируслар келтириб чиқарган касалликларга вирусологик диогноз қўйиш усуллари:

- а) Вирусоскапик усулда учук вирусларини аниқлаш

б) Тайёр суртмалардан чин чечак вируси учун характерли бўлган Гварниери ва Пашен таначаларини топиш ва хулоса қилиш.

в) Герпес ва аденовирусларни аниқлаш учун беморларни жуфт қон зардоблари билан КБР қўйиш, натижалаш, хулоса чиқариш.

в) Герпес ва аденовирусларни типларини аниқлаш учун ГАТР усули билан қўйилган реакцияларни натижалаш, хулоса чиқариш.

**ДНК сақловчи (дермотроп) вируслар(герпесвируслар, поксвируслар, аденовируслар, папававируслар, парвовируслар) келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси.**

ДНК сақловчи вируслар табиатда кенг тарқалган бўлиб, буларга 7 та оила (Herpesviridae, Poxviridae, Adenoviridae, Papavaviridae, Parvoviridae, Herpadnaviridae, Circinoviridae) киритилган.

ДНК сақловчи вирусларнинг асосий хусусиятларидан бири улар хўжайин хужайраларини геномига интеграция бўлиб олиши мумкин ва секин ривожланувчи (персистирующих) инфекцияларни келтириб чиқаради.

Поксвируслардан ташқари ҳамма вакилларининг репликацияси хужайранинг ядросида кечади.

**Герпесвируслар** оиласига кенжа (Alphaherpesviruses, Betaherpesviruses ва Gammaherpesviruses) оилалар киради. Герпесвирусларнинг асоси касаллик келтириб чиқарувчи типлари жадвалда келтирилган. Герпесвируслар мураккаб тузилишга эга бўлиб икки ипли анча катта ДНК молекуласидан

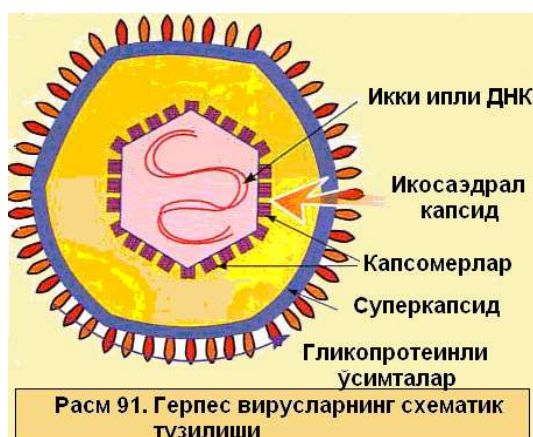
Жадвал 83.

ДНК вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касаллик қўзғатувчилари

	Вируслар номи	Қўзғатадиган касалликлари
ДНК- вируслар	Herpesviridae оиласи I-тип учуқ вируси (ОГВ)	Ёш болаларда ўткир гингивостаматит, герпетик экзема керотоконъюктивит, герпетик иситма, лаб бурун учуғи.
	II-тип учуқ вируси (ОГВ)	Чақалоқлар учуғи (қон орқали тарқалган ва жинсий органларда учуқ), менингоэнцефалит.
	Вирус (varicella zoster 3- тип)	Болаларда сув чечак, каталарда ўраб олувчи темиртки
	ЦМВ (5-типи)	Латент ва перинатал ЦМВ инфекция
	Эпстайн-Бар вируси (4-типи)	Юқумли моноклеоз
	Одам герпес вируси (6-тип)	В-лимфоцитлар лимфомаси
	Одам герпес вируси (7-тип)	Латент инфекция
	Одам герпес вируси (8-тип)	Соркома Капоши (келтириб чиқариши тахмин қилинмоқда)

Poxviridae оиласи Чин чечак вируси Сигер чечаги (оспавакцина)	Чин чечак касаллиги Локал чечак кўринишдаги жароҳатлар, кам ҳолларда тарқалган популёз тошмалар.
Аденовируслар оиласи (Adenoviridae) сероварлари: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 21 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 2, 3, 5, 40, 41 2, 3, 5, 7, 8, 19, 21 8, 19, 32 11,21 2, 6, 7, 12,32	Пастки нафас йўллариинг юқумли касалликлари (зотилжам, бронхиолитлар), ЎРК. Фарингоконъюнктивитлар Гастроэнтритлар Конъюнктивитлар Эпидемик кератоконъюнктивитлар Геморрагик циститлар Менингоэнцефалитла
Papovaviridae оиласи Попиломавируслар сероварлари: 1, 4 2 3 10 16, 30 ва бош.	Оёқ попиломаси (суял) Оддий попилома (суял) Ўспиринлар попиломаси (суял) Генитал попилома (суял) Бачадон бўйни, гартан ўсмаси (карцинома)
Parvoviridae оиласи Парвовируслар В19 штамм	Апластик криз (ўроқсимон хужайрали анемия), Erythema infectiosum доғ касаллик (пятная болезнь) эритематоз тошмалар тошиши кузатилади, чақалоқлар истисқоси (водянка)
Hepadnaviridae оиласи Гепатит В вируси	Гепатит В юқумли касаллиги

иборат бўлиб 18% қисқа ва 82% узун компонентлар тутади. Бошқа кийинган вируслардан фарқланиб герпесвирусларнинг суперкапсиди хужайра ядроси фрагментларидан таркиб топгандир, чунки янги ҳосил бўлаётган вирус



бўлакчалари ядро мембранасидан ажралиб чиқади. Суперкапсид ва капсид оралиғида иқсимон қобиғ бўлиб вирус капсидини суперкапсиддан ажратиб туради. Капсиди 162 капсомердан ташкил топган бўлиб шакли икосаэдр кўринишида (расм 91). Ўлчами 150-200 нм. Герпесвируслар

ташқий муҳит омилларига ва органик эритувчиларга ўта чидамсиз.

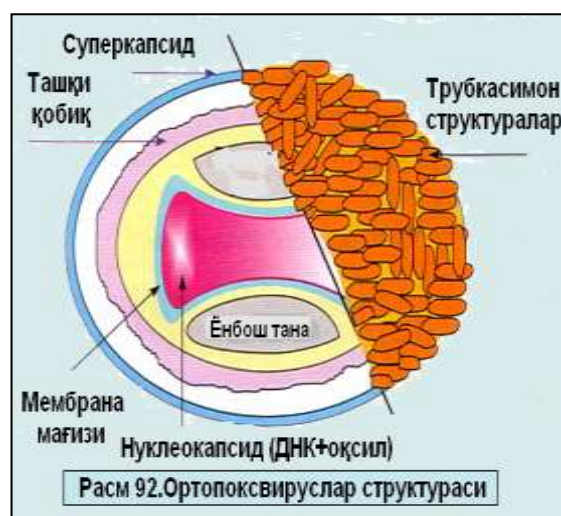
Герпесвируслар товук эмбриони хорионаллантоис қобиғида яхши кўпайиб некротик яллиғланиш ўчоғини ҳосил қилади. Бундан ташқари одам эмбриони ўпка, буйрак тўқималаридан тайёрланган ҳужайра культураларида ҳам яхши кўпайади. Вируснинг ХПТ натижасида ҳужайра ичида киритмалар ва кўп ядроли симпласт ҳужайралари ҳосил бўлади.

**Альфагерпесвируслар** юқори цитопатик активликга эга бўлиб, кўплаб ҳўжайин организмлар учун патоген ҳисобланади. Одам учун патоген турлари Simplexvirus (герпес вирусларни 1 ва 2 типи ва В герпес вирус) ва Varicellovirus (герпес вирусларни 3 типи) авлодига киритилган.

**Бетагерпесвируслар** кучсизроқ цитопатик хусусиятга эга бўлиб, камроқ ҳўжайин организмларга патоген ҳисобланади. Одам учун патоген типлари Cytomegalovirus (герпес вирусларни 5 типи) ва Roseolovirus (герпес вирусларни 6А, 6В, 7, 8 типлари) авлодига киритилган.

**Гаммагерпесвируслар** ҳам камроқ ҳўжайин организмларга патоген ҳисобланади, уларнинг бошқа герпесвируслардан фарқи лимфоид ҳужайраларда кўпайади. Одам учун патоген типлари Lymphocryptovirus (герпес вирусларни 4 типи) авлодига киритилган. Эпстайн-Бар вирус ҳам деб юритилади.

**Поксвируслар** оиласига (роҳ- чечак инг. сўз) бўғимоёқли, парандалар ва сутэмизувчилар учун патоген вируслар киритилган. Поксвируслар шакли фиштсимон бўлиб ўлчами 250-390 нм тенг, бактериялар структурасини эслатади. Вирион мағиз қисмидан, уни ўраб турган 5 нм қалинлигдаги юққа мембра ва бир текисда жойлашган цилиндрик структурадан иборат. Ташқий тамондан эса (оқсил тана) овал структурали ўраб туровчи қобиқдан иборат (расм 92).



Поксвирусларни репродукцияси фақат цитоплазмада кечади. Одам учун 4 авлод вакиллари патоген ҳисобланади, буларга киради:

Orhtoroxvirus авлодига киради: одам чин чечаги ва сугир чечаги (оспавакцина) вируслари.

Pararoxvirus авлодига киради: “сут соғучилар тугунча” вируслари (вирус “узелков доярок”), катта шохдор ҳайвонларнинг псевдочечак вируслари.

Mollusciporoxvirus авлодига киради: моллюскалар контагиоз вируслари.

Yataroxvirus авлодига киради: Тана ва Яба чечак вируслари (маймун чечаги вируслари).

Чин чечак касаллиги ўта ҳафли юқумли касалликлар гуруҳига киради. Чин чечак вируслари товуқ эмбрионида яхши кўпайиб 48-72 соатдан сўнг хорион-аллантаист қобиғида майда оқимтир ва соғлом қобиғдан яқол ажралиб турувчи жароҳатлар ҳосил қилади. Бундан ташқари вирус бирламчи одам, маймун, кўй ва бошқа ҳайвонлар ундирилуви ҳужайра культураларида яхши кўпайади. Вируснинг ХПТ натижасида ҳужайра юмолоқлашади ва катталашади, кийнчалик культура шиша юзасидан ажралади.

Вакцина қўлланилгунча баъзи йилларда чин чечак касаллиги бир йилда 1,5 млн кишиларнинг ўлимига сабаб бўлган. 1974 йилда Хиндистонда 31262 касаллик регистрация қилинган. Охириги маротиба касаллик 1977 йилда Самалида топилган ва бир неча йилдан кийин 1980 йилларда Бутун дунё соғлиқни сақлаш ташкилоти (ВОЗ) ер юзида чин чечак касаллиги тугатилганлигини эълон қилди. Ҳозирги кунгача чин чечак касаллиги регистрати қилингани йўқ.

**Паповавируслар** оиласига турли кўринишдаги попилома (суял) ва полиом касалликларини сутэмизувчилар ва одамларда келтириб чиқарувчи вируслари Papillomavirus ва Polymavirus авлодларига киритилган. Бу оила вакиллариини структурасидаги характерли хусусият, уларнинг капсидини ялонғоч бўлиши (суперкапсиди йўқ) ҳисобланади. Вируслар ўлчами 45 нм



бўлиб икосаэдрал симметрияга эга бўлиб, таркибида бир ипли ҳалҳасимон ДНК ва оқсил гистонлар тутати.

Паповавирусларнинг яна бир характерли хусусияти уларда глобуляр нуклосомалардан таркиб топган мини (кичик) хромосомаларни учрашидир. Булар ҳужайра хромосомасини эслатади. Бу оила вакилари одам, денгиз чўчқачаси ва товук эритроцитларини агглютинацияга учратиш хусусиятига эга ҳисобланади. Одамларда касалликнинг продуктив, аборттив ва интегратив формалари учрайди. Паповавируслар ҳўжайин ҳужайралари ДНК ни транскрипцияга учратиши ва онкоген хусусиятни ҳам намоиш қилиши мумкин. Паповавирусларни диогностикасида бирдан – бир йўл вирусни жароҳатда попиломада (суялда) топишга асосланган. Бунда вирус керотинлашган ҳужайра қатламида тўлиқ вирион кўринишида учрайди. Ҳозиргача вирусни ўстириб олиш йўлга қўйилмаган. Серологик усуллар ҳам диогностикасида қўлланилмайди. Оҳирги йилларда ўткир қиррали кандиломанинг диогностикасида ДНК гибридизация усули қўлланилмоқда.

**Аденовируслар** оиласи (AD-adenoid - de. Бу оилага иккита авлод вируслари (биринчи авлодга сутэмизувчиларда касаллик келтириб чиқарувчи *Vastadenovirus* -80 турлари мавжуд ва иккинчи авлодга парандаларда касаллик келтириб чиқарувчи *Aviadenovirus* 14 тури мавжуд) киритилган.

Аденовируслар ҳам ялонғоч капсидли вируслар туркимига киради (расм - 88). Вирионни ўртача ўлчами 60-90 нм бўлиб, капсиди 252 капсомер тутати кўп қиррали икосаэдрал симметрияга эга, таркибида 240 гексон ва 12 та вертикал пентондан ва унга бириккан нозик ипчалардан таркиб топган. Геноми икки ипли чизиқли ДНК дан иборат бўлиб, оқсиллар билан бирикиб вирусни зичлашган мағизини ташкил қилади. Вирус гексонлари вирусларнинг типмахсуслик антиген ролини бажаради, бундан ташқари вирусдан ажралганда токсик эффектни келтириб чиқаради. Пентон вирусни кам ва умумий оила учун реактив эрувчан АГ ҳисобланади. Тозаланган иплари вирусни асосий типга ҳос махсус антигени бўлиб, унга қарши типга ҳос

антителалар ҳосил бўлади. Пентон ва ипчалар вирусларни гемагглютинация хусусиятини келтириб чиқаради. Вируснинг антиген хусусияти уларнинг классификациясига асос бўлган. Ҳамма аденовируслар бир типдаги комплемент боғловчи антиген тутади ва уларни КБР орқали аниқлаш имконини беради. Турларни аниқлашда (олдин сероварлар дийилган) НР қўлланилади.

Методик кўрсатма

**Герпесвирусларни лаборатория диагностикаси.** Кўпчилик ҳолларда касалликни характерли кўриниши диагностикани енгиллаштиради. Лекин, касалликни яширин, суст ўтовчи формаларида айниқса генитал герпесларда диагноз қўйиш қийинлашуви мумкин.

**Вирусоскапик усул.** Касалликнинг кўпчилик формаларида энг оддий ва енгил вирусоскапик усул ҳисобланади. Учқудан ва жароҳатланган жойдан босма, қирма суртма олиниб бўяб кўрилганда гигант кўп ядроли критмали хужайраларни (Цанка-пробаси) топилиши герпесвируслар борлигидан дарак беради. Герпетик энцефалитга шубҳа қилинганда мия биоптатларидан моноклонал антитела ёрдамида билвосита иммунофлюоресценция усулида вирусни топиш мумкин.

**Вирусологик усул.** Кўпроқ хомиладор аёлларда генитал герпес борлигига шубҳа қилинганда ва бирламчи вирус юққанда қўлланилади. Ҳар иккала вирус (ОГВ1 ва ОГВ2) ҳам хужайра культураларида яхши кўпайяди, асосан кўпроқ хорионаллантоис хужайралари қўлланилади. Характерли ХПТ хужайра ядросида киритмалар (махсус антигени) ва кўп ядроли гигант хужайралар ҳосил бўлади.

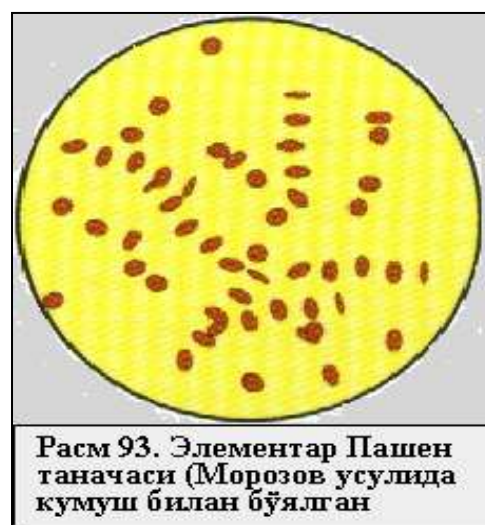
**Биологик усул.** Лаборатория шароитида везикулалардан олинган суюқликлар қуён, денгиз чўчкачаси, каламуш кўз пардасига юқтирилса кўзнинг мугиз пардасини шикаслайди ва кератит, миясига юқтирилса энцефалит келтириб чиқаради. Лекин, вирусни организмдан топилиши касаллини аниқлаш критерияси ҳисобланмайди, чунки соғлом одамларнинг

80-90% вируслар учрайди. Табiiй шароитда ва лаборатория ҳайвонлари сув чечак вируслари билан оғримайди.

Серологик диогноз қўйишда КБР ва нейтрализация реакциялари қўлланилади.

### **Чин чечак вирусини лаборатория диогностикаси.**

**Вирусоскопик усул**- касалликнинг ўткир даврида везикула ва пустулалардан тайёрланган суртмалар босмаларни электрон микроскопда кўриш энг қулай усул ҳисобланади. Агар электрон микроскоп бўлмаса ёруғлик микроскопида ҳам текшириш мумкин. Тайёрланган суртмалар Морозов усулида бўяб кўрилганда вирус зарралари (Пашен таначаси) ҳужайра цитоплазмасида якка-якка ёки калта занжирчалар кўринишида (расм 93) тўқ жигар ранг думолоқ тузилмалар ҳолида бўлади.



Флюорохромлар, масалан, пирмулин билан бўялганда элементар зарралар ультра бинафша ёруғликда микроскоп билан текширилганда оч ҳаво рангида товланиб туради. Будан ташқари суртмалардан махсус вирус Аг топиш учун флюорохром билан нишонланган АТ ёрдамида билвосита флюоресценция методидан ҳам фойдаланилади. Бу усулда кўрилганда вирус таначалари сарғиш-яшил мономорф тузилмалар кўринишида кўзга ташланади.

**Вирусологик усул.** Патологик материал (везикула ва пустулалар суюқлиғи, соскоп) 11-12 кунлик товуқ эмбрионининг хорионаллантоис пардасига ёки HeLa, НЕР-1, НЕР-2 ҳужайралар культурасига юктирилади ва чин чечак вирусини ажратиш олинади, бундай ҳужайралар культурасида вирус цитопатик эффект пайдо қилади. Вирусни идентификация қилишда махсус зардоблар ёрдамида КБР, ГАРТ, гемадсорбция реакциясини тормозлаш ва иммунофлюорисценция усуллари қўлланилади.

**Серологик усул.** Асосан жуфт қон зардоб билан комплементни боғлаш реакцияси ва ГАРТ, товук эмбриони ва хужайра культураларида НР дан фойдаланилади. Кўпчилик ҳолларда махсус вирус антигени везикула ва пустулалар суюқлигида гелда преципитация реакцияси, ҳамда эритроцитар диогностикум билан БГАР орқали аниқланади.

**Биологик усул.** Везикула ва пустулалардан олинган патологик материал қуёнларнинг кўз мугиз пардасини тирнаб юктирилади. Қуён кўз мугиз пардасида кератит кузатилади ва гистологик қирқмалар тайёрланиб Романовский-Гимза усулида бўяб микроскопда ацидофилли овалсимон Гварнери таначалари ядро атрофида (расм -34) топилади.

Сув чечак вирусини чин чечак вирусидан фарқлашда, бошқа усуллар билан бир қаторда биологик, вирусологик усуллар ҳам қўлланилади. Сув чечак вируси қуёнларда керотаконъюнктивит келтириб чиқармайди. Бундан ташқари сув чечак вируси товук эмбрионида кўпаймайди, хужайра культураларида кўпайганда уларнинг репродукцияси ядрода кечади ва хужайра ядросида вирусни ХПТ натижасида критмалар ҳосил бўлади.

**Аденовирусларнинг лаборатория диогностикаси.** Аденовируслар турли кўринишдаги касалликларни келтириб чиқаради. Шунинг учун уларнинг лаборатория диогностикасида патологик материал олиш касаллик турларига боғлиқ бўлади. Юқори нафас йўлларида респиратор аденовирусли касалликларида патологик материал болғам, оғиз ва бурун чайиндиси, генитал органлар касалликларида сийдик, энцефалит ва тарқалган (дессеминированные) формаларида ликвор, қон, мурдалардан ўпка, трахея, бронхлар, ичак бўлакчалари текширилилади. Аденовирусли инфекцияларнинг лаборатория диогностикасида вирусоскопик, вирусологик ва серорлогик усуллар қўлланилади.

**Вирусоскопик усулда** патологик материалдан бурун-ҳалқум шиллик пардасининг хужайраларида вирус специфик антигенини аниқлашда экспресс-диогностик иммунофлюорисценция усуллари қўлланилади.

**Вирусологик усулда** патологик материаллар одам эмбрионининг бирламчи трипсинланган хужайра культураларида ва HeLa, HEP-1, HEP-2 хужайраларида кўпайтирилади. Аденовируслар бу хужайра культураларида вирус сероварларига қараб 24-96 соатда кўпаяди ва турли кўринишдаги цитопатик таъсирлар кўрсатади. Баъзи сероварлари тўлиқ монослойда дегенрация келтириб чиқарса, бошқалари, ўчоқли марказий ёки периферик ўзгаришлар ҳосил қилади. Баъзи ҳолларда аденовируслар кўпайётган хужайралар ядросида майда 22-24 нм ўлчамли вирионлар топилади, улар икосаэдрал симметрияга эгадир. Бу вируслар нуқсонли бўлиб ҳозирги кунда парвовирусларга киритилган, ўзлари аденовирусларсиз кўпаймайди. Буларнинг хужайрада кўпайиши учун албатта аденовируслар (ҳамкор) иштирок этишлари зарур. Ажратиб олинган аденовирусларни махсус қон зардоблар қўлланилиб, серологик реакциялар ёрдамида (КБР, НР) идентификация қилинади.

**Серологик усул. Бемор қон зардобидан** аденовирусларнинг специфик АТ ни топиш учун стандарт махсус аденовируслар антигени билан КБР, НР ГАРТ реакциялари қўйилади. Жуфт қон зардоб билан қўйилган реакцияда АТ титрини 4 қарра ошиши аденовируслар диогностикасини тасдиқлайди.

### **МАНЗУ 36: Гепатит вируслари ва уларнинг лаборатория диогностикаси.**

#### **Машғулот программаси**

1. Гепатит вирусли касалликлар диогностика схемасини ўрганиш.
2. Диогностиканинг тезкор (экспресс) усуллари.
3. Вируслар келтириб чиқарувчи гепатит касалликларининг серологик диогностикаси.
6. Вируслар келтириб чиқарувчи гепатит касалликларида қўлланиладиган диогностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

#### **Намоиш қилиш**

1. Гепатит касалликларида қўлланиладиган диогностик экспресс тестлар.
2. Гепатит касалликларида қўлланиладиган иммунфермент наборлар ва қўйиш усуллари.
3. Гепатит вируслари структураси ва репродукциясина наъмоён қилувчи рангли расм ва альбомлар.
4. Гепатит инфекцияларда қўлланиладиган диогностик, профилактик ва даволаш препаратлари.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Гепатит В билан оғриган бемор қон зардобидаги HBs-Ag , унга қарши антителалар шимдирилган эритроцитар диогностикум билан БГАР қўйиш ва натижалаш.

2. Гепатит вирусларининг серодиогностика натижалари бўйича хулоса қилиш.

## **Гепатотроп вируслар**

Вирусли юқумли гепатитлар - полиэтиологик антропоноз жигарни вирусли шикасланиши билан борувчи ва турли йўллар билан юқувчи инфекцион касалликлар ҳисобланади. Гепатит касалликларида вируслар асосан жигар тўқималарини диффузли яллиғланишини келтириб чиқаради ва бунинг натижасида организмда астеновегетатив камчиликлар ва умумий захарланиш аломатлари рўй бериб касалликнинг клиник синдромларини келтириб чиқаради. Гепатит касаллигини келтириб чиқарувчи вируслар таркибига РНК- ва ДНК –бўлган турли оила вирус вакиллари киради. Улар организмга турли йўллар билан киришлари мумкин, лекин ҳаммаси жигар хужайраларини специфик жароҳатлаши ва гепатит келтириб чиқаришлари сабабли уларни гепатит вируслари гуруҳларига киритилган. Ҳозирги кунда 8 та тип вируслар гепатит касаллигини одамларда келтириб чиқаради. Булар латин алфавитини бош ҳарифлари билан (А,В,С,Д,Е,Ғ,Г, ТТВ) номланади. Гепатит Ғ вирусини борлигини кўпчилик муалифлар инкор қилишади, ТТВ (инг. Transfusion transmitted virus- трансфузия йўли билан юқувчи вирус) 1997 йилда кашф қилинган ва тўлиқ характеристика ҳозирги кунгача берилмаган.

Иштимой хусусияти ва экономик жиҳатдан келтираётган зиёни бўйича вирусли гепатит касалликлар соғлиқни сақлаш тизимида энг долзарб касалликлар гуруҳига киритилган. Ер юзиде ҳар йили гепатит А билан 1 млн киши касалланади, гепатит В вирусини ташиб юривчилар эса 1 млрд дан ошиб кетган. Ҳозирги кунда гепатит вирусларининг 5 та типе яхши ўрганилган. Эпидемиологик жиҳатдан ўзига хос хусусиятлари ҳисобга олиниб гепатит вируслари 2 та гуруҳга бўлинган:

а) парентрал йўл билан юқувчи (В,С,Д,Ғ,Г, ТТВ) гепатит вируслари.

Вируслар асосан трансфузион (қон қуйиш), инекция, перинатал ва жинсий йўл билан юқиши кузатилади. Нисбатан ҳар қандай ҳолатда вирус билан зарарланган қон билан контактда бўлиш касалликни келтириб чиқариши мумкин. Юқорида келтирилган вируслар келтириб чиқарган гепатит

жараёнлари, касалликларни суринкали формада кечиши ва вирус ташиб юрүвчиларни шакилланиши билан характерланади;

б) энтерал (нажас-оғиз орқали) йўл билан юқувчи (А, Е ва F) гепатит вируслари. Қўзғатувчилар одамларга озиқ-овқатлар, сув ва кантакт йўли билан юқади. Бу касаликларга характерли хусусият уларни (куз -, киш) мавсумий кўп учраши ва асосан болалар, ўспиринларни касалланишидир. Юқорида келтирилган гепатит вируслари келтириб чиқарган бу касалликлар доимо ўткир формада ўтиши ва суринкали формага ўтмаслиги билан ажралиб туради.

Жадвал 84.

Гепатит вирусларининг қиёсий характеристикаси

Хусусиятлари	А(HVFA)	В(HVB)	С(HVC)	Д(HVD)	Е(HVE)
Токсономик ўрни	Picornoviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	Togaviridae	Caliciviridae
НК-типи	+РНК	ДНК	+РНК	РНК	+РНК
Касаллик манбаси	одам	одам	одам	одам	одам
Юқиш йўллари	элементар	парентрал	парентрал	парентрал	элементар
Касалликни суринкали формага ўтиши	ўтмайди	ўтади	ўтади	ўтади	ўтмайди
Ташҳиси:					
Экспресс	+	+	+	+	+
Вирусологик	-	-	-	-	-
Серологик	+	+	+	+	+

Гепатит касаллигини келтириб чиқарувчи (А, Е,С,Д,F,G, TTV) вируслар таркибида РНК- тутади. Фақат гепатит В вирусини ДНК тутувчи вирусларга киради.

**Гепатит А вируси.** Ҳозирги кунда гепатит А вируси Hepatovirus авлоди ва Picornoviridae- оиласига киритилган (эски номланиши энтеровирусларни 72 типи). Вирус таркибида сегментланмаган +РНК (инфекцион) тутади, РНК



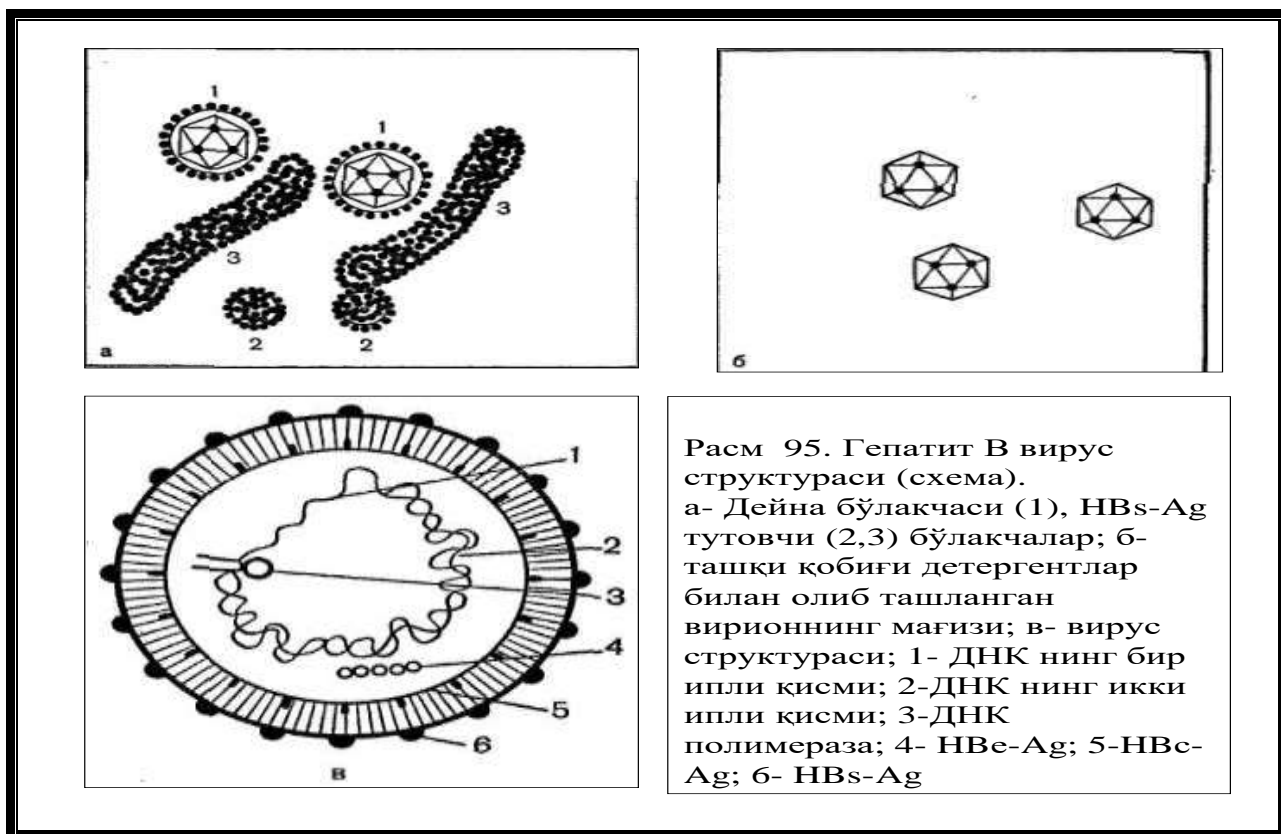
Расм 94. Гепатит А вирусининг схематик кўриниши

оқсил қобик билан ўралган, буларда супекапсид учрамайди, ялонғоч вируслар гуруҳига киради. Ўлчами ўта кичик 25-27 нм. Нуклеокапсиди кубик симметрия шаклида (расм 94). Вирусни

фақат битта антигени НА-Аг тафоут қилинади. Вирус хужайра культураларида кўпаймайди, фақат лекоцитар ва орган культураларида кўпайтириш мумкин. Бундан ташқари лаборатория ҳайвонлари ҳам гепатит А вирусига берилочан эмас. Лекин, приматларда кўпайтириш мумкин, диогностикада қўлланилмайди.

Бемор организмиди гепатит вирусини НА-Аг қарши АТ (IgM ва IgG) синтез бўлади.

**Гепатит В вирус.** Ҳозирги кунда гепатит В вируси Orthohepadnavirus авлодига ва Нерадnaviridae оиласига киритилган. Гепатит В вируси вириони сферик шаклда бўлиб ўлчами 42 нм га тенг, суперкапсиди мовжуд. Вирус геноми икки ипли ДНК бўлиб ҳалқасимон кўринишда. ДНК нинг мусбат ипи дефектли бўлиб, тўлиқ эмас. Вирус таркибиди вирус репликацияси учун зарур бўлган ДНК –полимераза мавжуд. Бемор қон зардобиди вируснинг 3 та морфологик формаси учраши мумкин (расм 95). Энг кўп сферик шаклдаги 22 нм ўлчамдаги, камроқ ипсимон 50-230 нм ва фақат 7% ҳолларда тўлиқ структурали (капсид ва суперкапсидли) Дейна бўлакчаси учрайди. Дейна





бўлакчаси инфекция хусусиятга эга, қолган 2 та формалари инфекция хусусиятга эга эмас, чунки уларни таркиби фақат суперкапсиддан таркиб тошган.

Вирус таркибида вируснинг 4 та (HBc-Ag, HBe-Ag, HBs-Ag ва HBx-Ag) антигенлари учрайди.

**HBc-Ag.** Гепатит В вирусини нуклеокапсид (мағиз) антигени. Дейна бўлакчасида учрайди, алоҳида қонга ажралиб чиқмайди. Вирус билан зарарланган гепатит хужайраларида топилиши мумкин.

**HBe-Ag.** Дейна бўлакчаси таркибига крмайди, лекин у билан боғланган бўлади. Бемор қонида касалликнинг инкубацион даврида пайдо бўлади. HBe-Ag вазифаси ҳозигача ноъмалум, лекин энг сезгир диогностик кўрсаткич хисобланади.

**HBs-Ag.** Гепатит В вирусини асосий Ag хисобланади. У суперкапсид таркибида учрайди. Қонда кўпроқ унинг дефектли 1 ва 2 морфологик типлари учрайди. Уларнинг ҳосил бўлиши вирус метобалитик цикли репликациясининг асорати хисобланади. HBs-Ag вирус юққандан кийин 1,5 ойдан кийин қонда пайдо бўлади ва инфекция юқган кишилар қонида доимо учрайди. HBs-Ag кучли иммуноген хусусиятга эга бўлиб, унга қарши ҳосил бўлган АТ узоқ йиллар организмда топилади. Шунинг учун HBs-Ag нинг реконбинат махсулотларидан ҳозирги даврда вакцина сифатида фойдаланилмоқда.

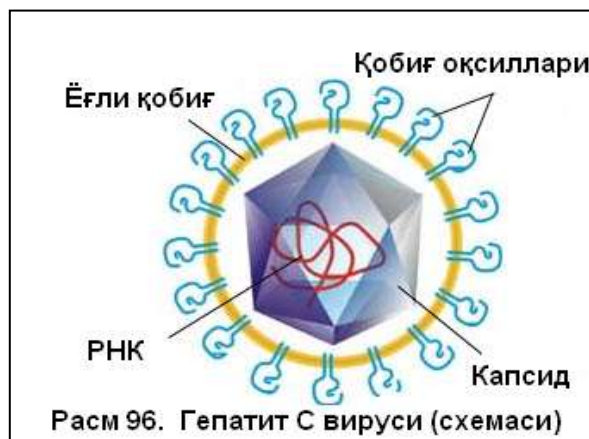
**HBx-Ag.** Яхши ўрганилган эмас, баъзи фикрларга қараганда гепатоцит хужайраларини ҳафли ўсма хужайраларига трансформация бўлишига олиб келиши мумкин.

**Гепатит Д (дельта) вируси.** Дельта вирус бир ипли ҳалқасимон РНК сақловчи вирус бўлиб *Togaviridae* оиласига ва *Deltavirus* авлодига киради. Уни фақат гепатит В билан касалланган беморлардан ажратиб олинади. Дельта вирусни кўпайиши учун албатта гепатит В вирусини бўлиши шарт, агар гепатит В вирусини (хамкор) бўлмаса бу вирус кўпая олмайди. Вирион сферик

шакилда 35-37 нм. Вируснинг суперкапсидида оз миқдорда гепатит В вирусининг HBs-Ag учрайди. Касаллик манбаси одамлар, вирус парентрал йўл билан юқади, кўпроқ қон қуйиш орқали.

**Гепатит С вируси.** Вирус ҳозирги кунда Flaviviridae оиласига киритилган. Ташқи тамондан кўриниши кичик сферик шакилдаги (35-50 нм)

вирус, ташқи қобиғи суперкапсиди мовжуд (расм 96). Вирус геноми бир ипли фрагментланмаган (+) ипли РНК. Таркибида 8 тадан кам бўлмаган генлар тутади. 3 та гени структура оқслларини сентизида қатнашади, қолган генлар структурага таълуқли бўлмаган



Расм 96. Гепатит С вируси (схемаси)

оқсилларни синтезлайди. Вирус геноми ўта вариабел, ўзгарувчан. Вируснинг 6 та сероварлари учрайди, ҳар бир сероварлари маълум мамлакатларда регистрация қилинади. Масалан С1типи АҚШ да учраса, С3 типии Японияда аниқланади.

Гепатит С вируси таркибида структура оқслари учрайди, булардан ташқий қобиқ оқсилли- E1, 2 (E2) 3 (E3) вирус ҳаёт фаолиятида ўта муҳим аҳамиятга эга. Улардан E1 и E2 оқсиллар бирикиб ташқий оқсил комплексини ҳосил қилади ва вирусни сезгир ҳужайра билан бирикиши ва унга киришини таъминлайди.

Вирус геномининг энг ажойиб хусусиятларидан бири унинг таркибида тез ва кўплаб мутацияга учровчи бўлакчасини борлигидир. Булар доимо вирус геномида мутациялар келиб чиқишига олиб келади. Бу мутациялар натижасида ген компонентларини алмашинуви кузатилади ва вирус қобиғи оқсилларининг доимо ўзгариб туришини таъминлайди. Яъний, ташқий қобиқ антигени хисобланган E1 и E2 антигенлар ўзгаради, янги вирус вариантларини ҳосил бўлишига олиб келади. Бемор организмиде вирус антигенларига қарши АТ ҳосил бўлади, лекин вирус ўзининг ташқий антиген

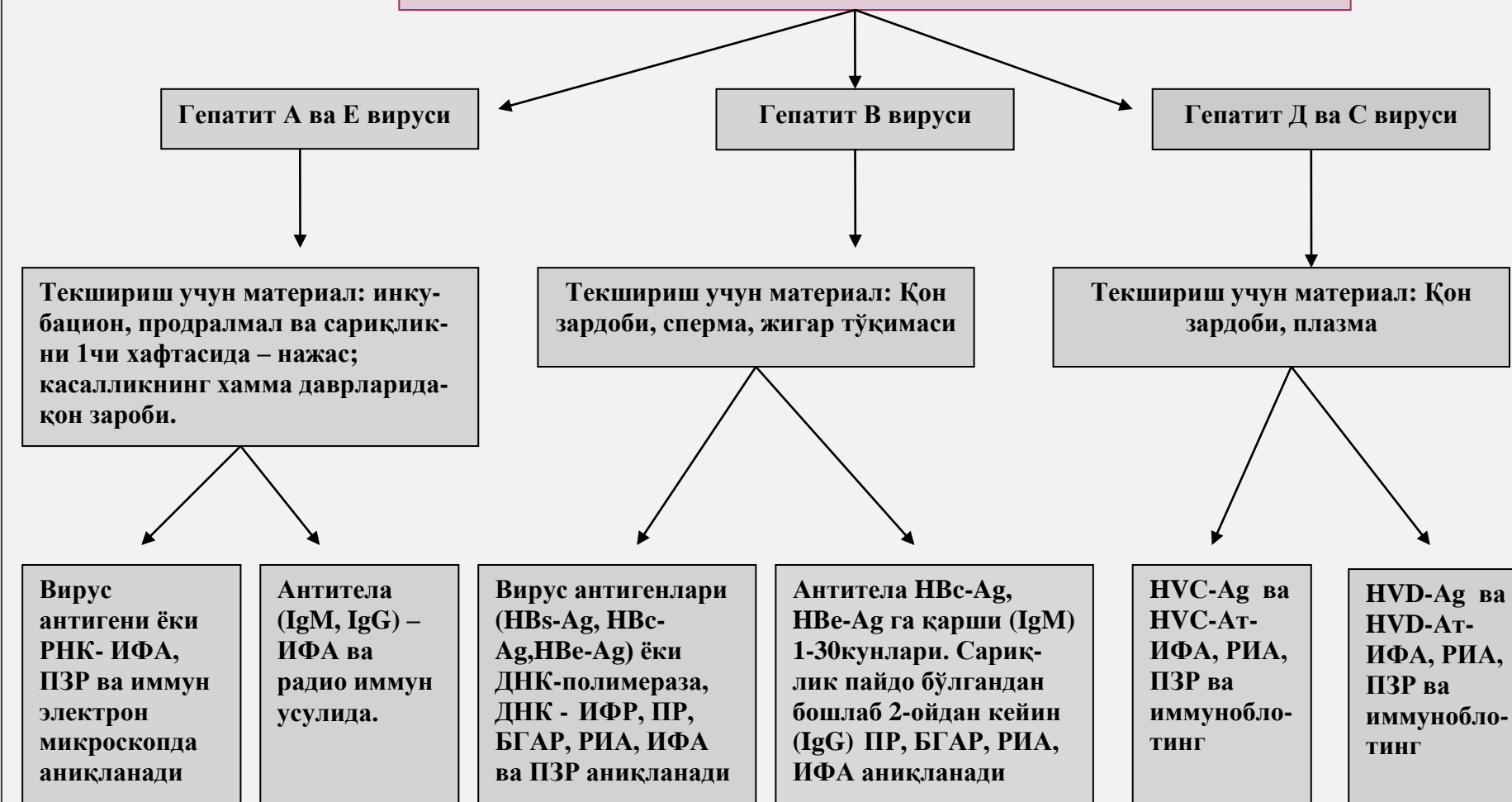
детерминантларини доимо ўзгартириб турганлиги сабабли, ҳосил бўлган АТ лар вирусларни нейтрализация қила олмайди. Вирус организмнинг иммун назоратидан четда қолади. Кўплаб вирусни янги антиген вариантлари ҳосил бўлиши натижасида иммун система хужайралари юқори тезликда ишлайди ва тезда фаолиятлари сушлашиб қолади, бу эса касалликнинг суринкали узок давом (15-20 йил) этишига ва пироварди оқибатда жигар циррози ёки ўсмасига олиб келади. Касаллик 60-80% суринкали формага ўтиши мумкин. Вирус кўпчилик ҳолларда макрофагларда ҳам топилиши мумкин. Вирус юққандан чамаси 3 ойлардан кийин қонда специфик АТ топилади.

**Гепатит Е вируси.** Жигарнинг ўткир яллиғланишини келтириб чиқаради, интоксикация кузатилади, кам ҳолларда сариқлик наъмаён бўлади. Вирус *Calicivirus* авлодига ва *Caliciviridae* оиласига мансуб. Вирион сферик шакилда, диаметри 27-38 нм. Вирус геноми сегментланмаган +РНК молекуласидан иборат. Касаллик манбаси табиатда одамлар ҳисобланади. Эпидемиологик жиҳатдан Гепатит А га ўхшаб кетади. Касаллик “эпидемик бирдан бошланиш” (вспышка) тарзда кузатилади. Гепатит Е суринкали формага ўтмайди, соғайиб кетгандан сўнг турғин иммунитет қолади. Вирус юққандан сўнг 10-12 кундан кийин вирус специфик АТ ҳосил бўлади.

**Гепатит G вируси.** Вирусни токсонмик ўрни ҳалигача тўлиқ аниқланган эмас. Ҳозирги кунда шартли равишда *Flaviviridae* оиласига киритилган. Вирион сферик шакилда ва таркибида сегментланмаган +РНК молекуласи тутади. Антиген набори бўйича 3 та типлари учрайди. Гепатит G вируси нуқсонли вирус деб қаралмоқда, унинг репродукцияси учун Гепатит С вирусини бўлиши зарур деган тахминлар қилинмоқда. Касаллик манбаси касал одам ва суринкали гепатит G вируси билан оғриган беморлар, вирус ташувчилар ҳисобланади. Вирус юққандан сўнг 10-12 кундан кийин вирус специфик АТ (IgM) ҳосил бўлади.

### **Методик кўрсатмалар**

Схема 27. Гепатит вирусларининг серологик диогностикаси



Гепатит В билан оғриган касаллар қон зардобидан, вирус юққандан сўнг 3-5 хафтадан сўнг вирус HBs-Ag пайдо бўлади ва уни аниқлаш мумкин. Бу антигенни қондан топилиши организмда гепатит вируси борлигини билдиради. HBs-Ag ни диамикада йўқолиб кетиши беморни соғайиб кетишидан дарак беради ёки узоқ муддат топилиб туриши касалликни суринкали формага ўтганлигини билдиради. Касалликнинг ўткир даврида HBs-Ag қарши АТ диярли аниқланмайди. Бемор тузалиш даврида HBs-Ag қарши АТ ҳосил бўлади ва узоқ вақт сақланиб қолади. Вирусни HBc-Ag (кор) қонда топилмайди, фақат жигар тўқимасидан олинган биоптатдан топилиши мумкин. АТ HBc-Ag га қарши касалликнинг ўткир даврида IgM, кийнчалик IgG кўринишида пайдо бўлади, лекин узоқ сақланмайди. Вирус HBe-Ag ва унга қарши АТ эса қондан топилади, уларнинг қондан топилиши касалликнинг ўткир кечаётганлигидан дарак беради.

Суринкали гепатит В билан оғриган беморлар қон зардобидан HBe-Ag топилиши касалликни яна авжланганлигини билдиради. Гепатит В вирусини юқорида келтирилган антиген ва уларга қарши ҳосил бўлган антителаларни (схема) аниқлаш вирус диогностикасини асосини ташкил қилади.

Ҳозирги кунда гепатит В вирусини антиген ва антителаларини аниқлашда преципитация реакцияси асосида бир қатор экспресс усуллар ишлаб чиқилган

**Билвосита гемагглютинация реакция ёрдамида гепатит В вирусини HBs-Ag ни бемор қон зардобидан аниқлаш.** Бу мақсадда стандарт (комерсия) эритроцитар диогностикумлардан (HBs-Ag га қарши АТ лар билан эритроцитлар шимдирилган) фойдаланилади. Махсус полистерол пластинка чуқурчаларида бемор қон зардобини автоматик микропипеткалар ёрдамида диогностик титрга мўлжаллаб суюлтирилади. Сўнгра ҳар бир чуқирчага бир ҳажмда антитела юклатилган эритроцит суспензияси томизилади. Албатта паралел зардоб ва диогностикум контроли қўйилади. Планшетка хона температурасида ёки 37°C да 2 соат термостатда сақланади ва натижа кўрилади. Натижани кўришда планшетка силкитилмайди, чунки силкитиш

реакциянинг (реакцияни натижалаш 80 расмга қаралсин) натижасига салбий таъсир кўрсатади.

## Мавзу 37. “Ортирилган иммун танқислиги вируси” (ОИТВ) га характеристика ва лаборатория диогностикаси

### Машғулот программаси

1. Ретровируслар келтириб чиқарувчи касалликлар диогностика схемасини ўрганиш.
2. Диогностикада қўлланиладиган иммунологик (ИФА, иммуноблотинг) усуллари.
3. ОИТВ келтириб чиқарувчи касалликларнинг вирусологик, серологик диогностикаси.
4. ОИТВ инфекцияларда қўлланиладиган диогностик, ва даволаш препаратлари.

### Намоиш қилиш

1. ОИТВ инфекцияларининг ҳозирги замон диогностик усуллари.
2. Ретровируслар ва ОИТВ касалликлари қўзғатувчилари ва уларнинг репродукциялари акс этирилган рангли расм ва албомлар.
3. ОИТВ инфекцияларда қўлланиладиган диогностик,

### Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ

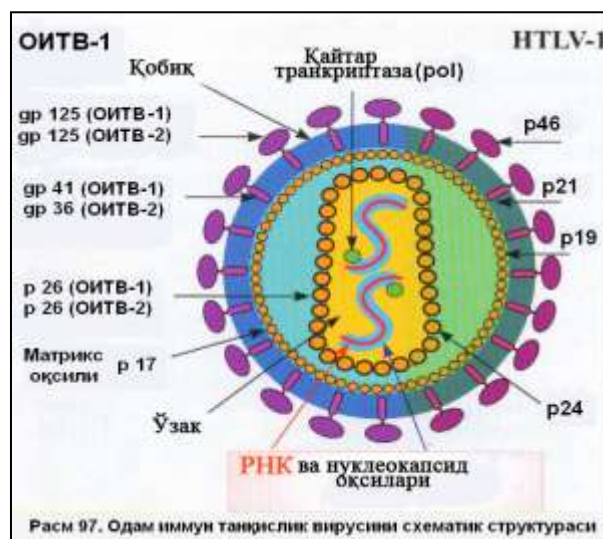
1. Ретровируслар келтириб чиқарган касалликларга вирусологик диагноз қўйиш усуллари:
  - а) ОИТВ инфекцияси билан касалланган бемор қон зардоби билан ИФА реакциясини қўйиш.
  - б) ИФА реакциясини натижалаш ва хулоса чиқариш..

ОИТВ одамларда ўта ҳафли Ортирилган иммун танқислиги синдроми (ОИТС) касаллигини келтириб чиқаради. Хорижий адабиётларда ОИТСни «Acquired immunodeficiency syndrom» - (AIDS), русчада «Синдром приобретенного иммунодефицита»

(СПИД) деб юритилади. ОИТВ ҳозирги кунда Retroviridae оиласига ва Lentivirinae кенжа оиласига киритилган. Ретровирусларнинг характерли хусусияти уларнинг геноми таркибида жуда наёб бўлган орқага қайтарувчи

(ОҚТ)транскриптаза ферментини

борлигидир. ОҚТ ёки РНК талукли ДНК полимераза (ревертаза) геном таркибидаги генетик тўплам маълумотларни орқага йўналтириш хусусиятига



эгадир, нормада генитик маълумотлар ДНК дан РНК га ўтказилади.

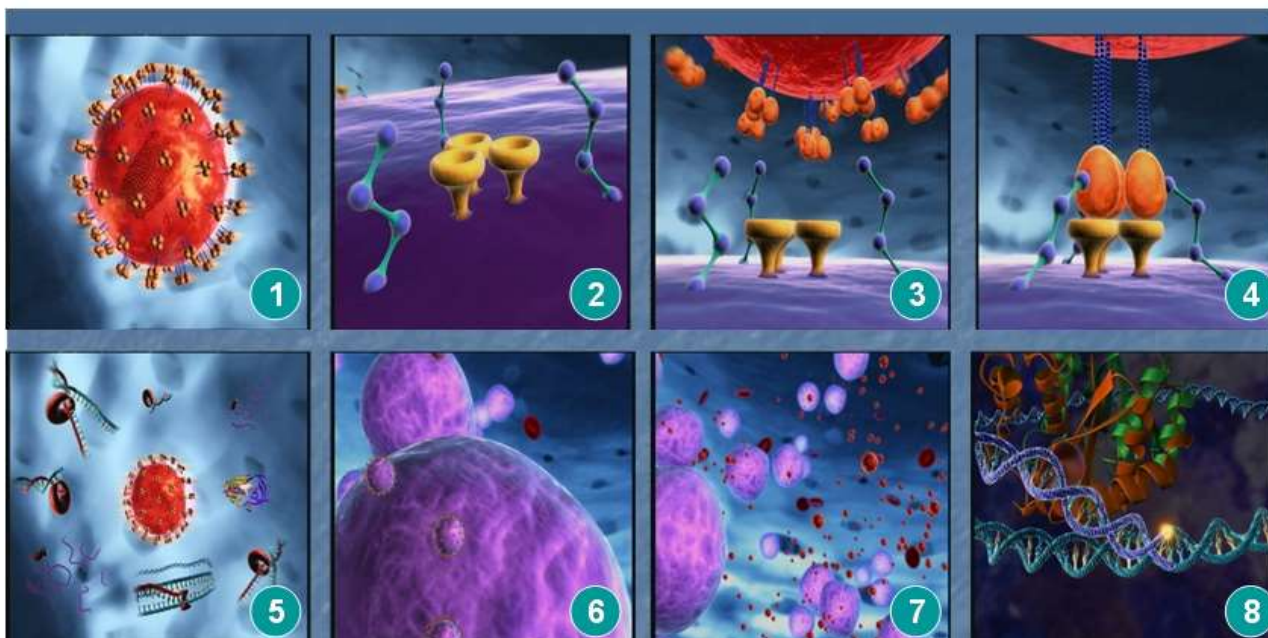
Ретровирусларда эса ОҚТ ферменти ёрдамида РНК дан ДНК молекуласи синтезланади. Вирусларни номлаш ҳам шундан келиб чиққан (инг. сўз retro-орқага). Вирус геноми икки ипли сегментланмаган +РНК молекуласи бўлиб вирусни ичкий оқсил (р6 ва р7 кД) молекуласи билан бирикган бўлади. РНК ва оқсил қобиғлар ташқий томондан капсид (р18-24 кД) билан ўралган бўлиб вирусни мағизини ташкил қилади, шакли конуссимон (расм 97). Вирус ташқий тамондан суперкапсид билан ўралган бўлиб, мағиз ва суперкапсид ўртасида вируснинг матрица оқсили (р17 кД) мавжуддир. Вирус суперкапсиди икки ёғ қаватдан иборат бўлиб (бислой), уларга вируснинг гликопротеинли тиканаклари ботиб, кириб туради. Ҳар бир гликопротеинли тиканаклар 41 ва 125gr кД оқсиллардан таркиб топкандир. 125gr тиканакни ташқий юзасида жойлашган бўлиб хужайралар таркибидаги СД4 молекулалар билан махсус бирикади ва вирусни сезгир хужайра юзасига адсорбциясини таминлайди. 41 гликопротеин қобиғнинг ичида жойлашган бўлиб “бириктириб кетувчи” (белок слияния) оқсил ҳисобланади, вирусни хужайрага киришини бошқаради. Юқорида келтирилган оқсил, гликопротеинлар ва ферментлар вируснинг антиген хусусиятини наъмаён қилади. Лекин ОИТВ асосий антигени юза (41 ва 125gr кД) гликопротеинлар ва мағиз (р24) оқсили ҳисобланади.

ОИТВ организмга жинсий алоқа, парентрал муолажалар (нострил игна, шприц ва бошқа асбоб ускуналарни қўлаш). Қон ва унинг ўрнини босувчи дориларни қўллаш, аъзо ва тўқималарни кўчириб ўтқозиш (трансплатация) вақтида юқади. ОИТВ билан оғриган беморларнинг кўпчилигини гомо- ва бисексуаллар (ўз жинси ва бошқа жинсдагилар билан жинсий алоқа қиловчилар), фоҳишалар, наркоманлар (гиёҳвандлар) ташкил қилади.

Оганизимга кирган ОИТВ учун нишон хужайралар асосан мембранасида СД4 молекула тутовчи хужайралар ҳисобланади. Бу хужайраларни асосини Т-хелпер хужайралари ташкил қилади (расм 98). Бундан ташқари моноцит ва макрофаглар ва нерв хужайралар мембранасида ҳам бундай СД4 рецепторлар камроқ учрайди. ОИТВ организмнинг химоя системасидан усталик билан

Ўзини ҳимоя қилади, чунки вирусни РНК молекуласи ҳужайрада ОҚТ ферменти ёрдамида ДНК га айланади ва ҳужайра геномига интеграция (кириб олиш) бўлиб олади. Бундан ташқари ОҚТ ферментининг ишча хатоликлари туфайли вирус геномида кўплаб структура ўзгаришлар келиб чиқади, бу эса вирус антигенларини доим ўзгариб туришига олиб келади. Шунинг учун вирус Аг га қарши ҳосил бўлган АТ лар вирусларни ингибиция қила олмайди. Организмда Т –хелпер ҳужайраларнинг тез камайиб кетиш механизми асосан вируснинг ХПТ асосланган. ОИТВ вирусини ҳужайра апоптозини (ҳужайрани программалаштирилган ўлими), аутоиммун реакцияларни активлаштиради, синцитиел ҳужайралар ҳосил қилади (кўп ядроли ҳужайралар) ва лимфоид олд ҳужайраларни зарарлайди.

Юқорида келтирилган сабаблар асосида Т-хелпер(СД4) ҳужайралари миқдор жихатдан жуда камайиб кетади, бу эса организмда чуқур иккиламчи иммун танқислик ҳолатини келтириб чиқаради. Организм химоясиз бўлиб қолади, бунинг натижасида оппортунистик микроорганизмлар (нормал иммун химояда касаллик келтириб чиқармайди) касаллик келтириб чиқариши



**Расм 98. ОИТВ нинг Т-хелпер ҳужайраларда кўпайиш схемаси: 1-ОИТВ; 2-Т-хелпер лимфоцитларнинг СД4 рецепторлари; 3-ОИТВ ни Т-хелперларга яқинлашуви; 4-ОИТВ ни СД4 рецепторларга бирикиши; 5-ОИТВ ни ҳужайрада кўпайиши; 6-ОИТВ ни ҳужайрадан чиқиши; 7-ОИТВ ни қондаги кўриниши; 8-ОИТВ геномини ҳужайра геномига интеграция бўлиши**



ва ўсмалар ҳосил бўлиши активлашади (Капоши саркомаси, тери карцинмаси, В-ҳужайралар лимфомаси). Бундан ташқари ОИТВ макрофаглар иштирокида бутин организмга тарқалади ва МНС ни ҳам жароҳатлайди. Бу эса организмда турли касалликларни авж олишига ва ОИТС ни келтириб чиқаради.

### **Методик кўрсатма**

ОИТС вирусини лаборатория диогностикаси эпидемиологик жиҳатдан жуда муҳим бўлиб, ҳозирги кунда касалликнинг тарқалишини олдини олишдаги энг асосий хусусиятлардан бири ҳисобланади, чунки ҳозирги кунгача вирусга қарши эффектив вакцина олинганлиги йўқ. Касалликка эрта ва ўз вақтида диогноз қўйиш унинг тарқалишини олдини олади. Ҳозирги кунда ОИТС вирусини диогностикасидаги энг эффектив усул бемор қон зардобини таркибидаги вирусспецифик антитела ва антигенларни касалликнинг турли даврларида серологик аниқлаш ҳисобланади. ОИТС вирусининг 41gr, 125gr ва 24gr антигенларига қарши АТ лар касалликнинг сероконверсия давридан, бирламчи клиник кўриниши ва кийиги инфекциянинг ривожланиш босқичларида ҳам аниқланади. Диогностикада асосан ИФА ва иммуноблотинг (вестерблот) усуллари қўлланилади.

**Имунофермент усулида ОИТВ антителасини касал қон зардобини таркибида аниқлаш.**

Усулни қўйишда маҳсус автоматик микропипетка дозаторлардан фойдаланилади. ИФА иммуносорбент полистерол 96 чуқурчали планшеткаларда ёки стрипларда қўйилади. Тест система таркибидаги ингредентлар услубий қўлланмага асосан суюлтирилади.

Иш тартиби.

1. Иммуносорбент чуқурчаларга ОИТВ 1-конъюгатидан ишчи дозасида 0,25 мкл томизилади. Сўнгра планшетка чуқурчасига 0,75 мкл назорат наъмунаси ( K+, K- ) қўшилади. Назорат наъмуналарини ишлатиш қўлланилаётган стрипларни сонига боғлиқ бўлганлиги учун қуйидаги схемани қўллаш мумкин:

1 стрипда -1 чуқурча K+, 2 чуқурча K-;

2 стрипда - 2 чуқурча K+, 2 чуқурча K-;

3 ва ундан ортиқ -2 чуқурча K+. 3 чуқурча K-.

Масалан, агар ИФА 2 та стрипда қўйилаётган бўлса, стрипни А-1 ва А-2 чуқурчаларига микродозатор ёрдамида 0,75 мкл K+, ва 2 та чуқурчага В-1 ва В-2 га эса 0,75 мкл K- назорат наъмуналаридан томизилади.

Қолган чуқурчаларга 0,75 мкл текширилаётган қон зардоб наъмунасидан томизилади. Чуқурчадаги ингридентлар яхшилаб аралаштирилади (планшеткани қиррасини секин – секин уриш билан). Планшет қопқоғи беркитилиб 37° С 60 минут сақланади.

2. Планшетдаги ингриденлар вошер (планшетни ювиш мосламаси) ёрдамида олиниб дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади, планшет 4 маротиба ювувчи ишчи раствор билан ювилади. Ҳар бир ювишда 40 секунд раствор ушлаб турилади ва дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади.

3. Ҳамма стрип чуқурчаларига 100 мкл коъюгат-2 ни ишчи дозасида микропипетка ёрдамида томизилади. Планшет қопқоғи беркитилиб 37° С 30 мин сақланади.

4. Планшетдаги ингриденлар вошер (планшетни ювиш мосламаси) ёрдамида олиниб дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади, планшет 4 маротиба ювувчи ишчи растворда ювилади (2 п. ўхшаш).

5. Ҳамма стрип чуқурчаларига 100 мкл СС ( субстрат аралашмаси, буфер раствори) томизилади. Планшет қопқоғи беркитилиб қоронғи жойда 20 - 24° С 25-30 мин сақланади.

6. Планшетдаги реакцияни тўхтатиш учун ҳамма чуқурчаларга 100 мкл дан стоп – реагент қўшилади ва 1- 2 мин кийин натижа аниқланади.

**Реакция натижасини аниқлаш.** Реакция натижалари тўлқин узунлиги 450 нм бўлган спектрофотометда ва 620-680 нм референс-ёруғлик филтёрда аниқлаш мумкин. Реакцияни рўй берганлиги айтиш мумкин, қачонки K+ чуқурчадаги аниқланган оптик зичлик (ОЗ) 1,0 дан кам бўлмаса ва K- наъмунали чуқурчадаги ОЗ ўртача кўрсаткичи 0, 15 ошмаса. Масалан

текширилаётган наъмунани натижаси битта 450 нм тўлқин узинлигида аниқланса, бу ҳолда реакция мусбат деб ҳисоблаш мумкин қачонки К+ чуқурчадаги аниқланган оптик зичлик (ОЗ) 1,0 дан кам бўлмаса ва К- наъмунали чуқурчадаги ОЗ ўртача кўрсаткичи 0, 2 ошмаса (К- наъмунани ОЗ нинг ўртача кўрсаткичи 0,2 тенг).

### **ОП крит.=ОПК-(ўр.)+0,2**

Визуал боҳолашда субстрат аралашма билан инкубацияланиш вақтида чуқурчадаги эритманинг бўялиши кузатилади. Бўялишнинг интенсивлик даражаси боғланган белгили антителалар миқдоригага тўғри пропорционал.

Шуни айтиб ўтиш зарурки иммунофермент ва иммуноблотинг усуллари ўзининг ўта сезгирлиги ва маҳсулиги билан ажралиб туради ва уларнинг натижаси 4-6 соатда аниқланиши мумкин (Иммуноблотинг реакциясининг кўйиш принциплари 17 машғулотда келтирилган). Шу билан бир қаторда вирус АТ ларини аниқлаш ОИТС инфекцияли чақалоқларда умуман ижобий натижа бермайди, чунки касал онадан йўлдош орқали ўтган IgG чақалоқ қон зардобиди 1 йилгача сақланиши мумкин. Шунинг учун чақалоқларнинг ОИТС вируси билан зараланганини фақат альтернатив усулларда аниқланади, яъний вирусни ажратиб олиш *in vitro* ёки вирус геноми материалини ПЗР ёрдамида аниқлашга асосланган. Бу усулларда 1 ҳафталик ОИТС вируси билан зараланган чақалоқларда 35-55% натижа мусбат бўлса, 3 -6 ойликларда 90-100% бўлади.

ОИТС касаллигида юқорида келтирилган асосий усуллардан ташқари иммун тизимга ҳам баҳо берилади. ОИТС касаллигида периферик қондаги Т-хелпер хужайраларни нисбий ва абсолют миқдорлари нормадан ишонарли камайиб кетади ва лимфоцитларнинг функционал хусусиятларида ҳам чуқур ўзгаришлар кузатилади.

ОИТС касаллигида қўлланадиган даволаш препаратлари. Ҳозирги кунгача ОИТВ га қарши этиотроп даволаш ва профелактик вакциналар ишлаб чиқилмаган. Ҳозирги кунда қўлланилаётган препаратлар беморнинг умрини чўзишга қаратилган буларга киради:

а) Зидовулин, азидотимидин, залцитабин, диданозин, ставудин- ОҚТФ функциясини суслаштиради.

б) Иммуномодуляторлар ва ИФН лар.

### **Мавзу 38. Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касаллик кўзғатувчилари. Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар. Лаборатория ташхиси.**

#### **Машғулоти программаси**

1. Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касаллик кўзғатувчиларининг диагностика схемасини ўрганиш.

2. Касалхона ичида тарқалувчи грам мусбат кокклар ва уларнинг микробиологик диагностикаси.

3. Касалхона ичида тарқалувчи грам манфий бактериялар ва уларнинг микробиологик диагностикаси.

4. Касалхона ичида тарқалувчи патоген замбуруғлар ва уларнинг микробиологик диагностикаси..

#### **Намоиш қилиш**

1. Касалхона ичида тарқалувчи грам мусбат кокклар, грам манфий бактериялар ва патоген замбуруғларнинг культурасидан тайёрланган, бўялган суртмалар.

2. Касалхона ичида тарқалувчи грам мусбат кокклар, грам манфий бактериялар ва патоген замбуруғларнинг ажратиб олишда қўлланиладиган озикли муҳитлар.

#### **Лаборатория ишини бажариш учун топшириқ**

1. Касалхона ичида тарқалувчи стафилококк ва стрептококк инфекцияларининг бактериологик диагностика схемасини ўрганиш ва уларни дифференциация қилиш.

2. Касалхона ичида тарқалувчи ичак инфекцияларининг бактериологик диагностика схемасини ўрганиш ва уларни дифференциация қилиш.

3. Касалхона ичида тарқалувчи микозли (замбуруғ) инфекцияларининг бактериологик диагностика схемасини ўрганиш ва уларни дифференциация қилиш.

Клиник амалиётда антибиотикларнинг кенг қўлланилиши юқумли касалликларнинг эпидемиологияси структурасида янги ўзгаришлар келтириб чиқарди. Кучли вирулент кўзғатувчиларнинг (*Shigella*, *Staphylococcus*, *Solmonella* ва бош.) касалик келтириб чиқариш кўрсаткичлари камайиб кетди. Шу билан бир қаторда препаратларга ўта чидамли бўлган шартли патоген бактерияларни улуши кескин ошиб бормоқда. Бу бактерияларни шартли равишда уч группага бўлиш мумкин:

I – антибиотикларга чидамлиги ортирилган грам мусбат бактериялар (стафилококк ва стрептококклар ва бош. бак.)

II – бирламчи антибиотикларга чидамлиги шакилланган грам манфий бактериялар.

III- антибиотикларга табиий чидамли бўлган, замбуруғлар.

Бу группа микроорганизмларнинг кўпчилиги одам учун сапрофит хисобланади. Уларнинг касаллик келтириб чиқариш хусусияти маълум шароитларда амалга ошади: ташқий муҳитнинг ноқулай омиллари таъсирида; организмнинг иммун тизими фаолиятини сушлашиши; рентген ва радиоактив нурланишлар; иммундепрессантлар қабул қилиш; узоқ давом этувчи инфекция ёки соматик касалликлар; узоқ вақт антибиотикларни қабул қилиш. Касалхонада тарқалувчи юқумли касалликларнинг (КТЮК) асосий манбаси 85-жадвалда келтирилган.

Бу группа микроорганизмлар кўпроқ ҳолларда “касалхона ичида тарқалувчи юқумли касалликлар” ни этиологиясида асосий ролни ўйнайди. Бу ном билан ҳар қандай микробларни тушиниш мумкин, яъний касалхонага доваланиш учун келган ва ётқизилган беморларда касаллик келтириб чиқариши мумкин.

Жадвал 85.

Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касалликларнинг асосий манбаси

Касаллик манбаси	Касаллик манбасининг КТЮК лар тарқалишидаги роли
Беморлар	Ососий манба: турли назологик кўринишдаги КТЮК турли стационарларда тарқалишига сабаб бўлади.
Ташиб юрувчилар	КТЮК дан стафилококк ва гепатитлар (В, С ва Д), сальмонелёз, шигеллёз инфекцияларини тарқалишида катта аҳамиятга эга.
Тиббий ходимлар	Кўпроқ симптомсиз “госпитал”штаммларни ташиб юрувчилар, асосан респиратор юқумли касалликларни (пневмоцистоз, зотилжам, бронхит ва ЎРВИ).Базида ташиб юрувчилар кўрсаткичи 50% етиши мумкин.
Касалларни парваришига жалб қилинганлар	Катта аҳамиятга эга эмас, улар стрептококк, стафилококк, энтеро-ва кампилобактерия, ЦМВ, венерик касаллик кўзгатувчилари ва бош. тарқатиши мумкин
Касалларни кўришга келганлар	Роли жуда чегараланган. Улар стрептококк, стафилококк ва энтеробактерияларни ташиб юрувчилари бўлиши мумкин ёки ЎРВК билан оғриган бўлиши мумкин.

Бу группа микроорганизмлар кўпроқ ҳолларда “Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касалликлар”ни этиологиясида асосий ролни ўйнайди. Бу ном билан ҳар қандай микробларни тушиниш мумкин, яъний касалхонага

доваланиш учун келган ва ётқизилган беморларда касаллик келтириб чиқариши мумкин.

КТЮК спектори жуда кенг бўлиб буларга бактериялар, вируслар, замбуруғлар ва содда жониворлар киради. Касалхона ичида тарқалувчи бактериал юқумли касалликларнинг асосий қўзғатувчиларига стафилококклар, пневмококклар, грамманфий энтеробактериялар псевдомонадлар ва анаэроблар киради. Булардан энг асосий ролни стафилококклар (60%), грам манфий бактериялар, респератор вируслар ва кандида авлодига мансуб замбуруғлар ўйнайди. Бу қўзғатувчиларнинг вакиллари ўта вирулентли, чидамли “госпитал” штаммлар ҳосил қилади. КТЮК нинг тарқалишига турли факторлар қатнашиши мумкин булардан асосийлари 86- жадвалда келтирилган.

Жадвал 86.

#### КТЮК нинг тарқалишига сабаб бўлган факторлар

Ташқий факторлар	Пацентлар микрофлораси	Стационарда қўлланилувчи инвазив тиббий муолажалар	Тиббиёт ходимлари
Аппаратура ва инструменлар	Тери, шиллик қаватлар	Сийдик қопчасига катетер қўйиш (узок вақт)	Патоген бактерияларни доимо ташиб юриш
Озиқ овқатлар ва сув	Ошқозон ичак тракти	Интубация қилиш	Вақтинчалик бактерияларни ташиб юриш
Ҳаво	Сийдик тоносил органлари	Анатомик барьерларни жаррохлик муожалада бутунлигини бузилиши	Касал ёки инфекция юққан ходимлар
Доривор препаратлар	Нафас йўллари	Эндоскопия	

Юқумли касалликни “Ятроген”(КТЮК) деб аташ мумкин - қачонки беморда юқумли касаллик касалхонада тиббий аралашувда ёки даволаш профилактик муассасаларида даволаш мақсадида бўлгандан кийин маълум вақт (шу юқумли касалликни инкубацион даври) мабойнида келиб чиқса ва аниқланса.

Оппортунистик инфекциялар учун инкубацион давр ўртача 2-4 кунни ташкил қилади, облигат паразитлар учун эса вариабил бўлиши мумкин ва инфекция характериға боғлиқ. Нозокоминал юқумли касалликларни келиб чиқишига

мойиллик қиловчи ҳолатлар ва асосий этиологик агентлари 87-жадвалда келтирилган.

КТЮК нинг йилдан - йилга уларнинг мавқи ошиб бормоқда ва бу касалликлар айниқса болалар стационарларида долзарб муаммоларга айланмоқда. Шунинг учун ҳар қандай профилдаги шифокорлар одам патологиясидаги шартли патоген микроорганизмлар ва нозокоминал юқумли касалликларни ҳақида аниқ тасавурга эга бўлишлари зарур.

Жадвал 87.

КТЮК келиб чиқишига мойиллик қиловчи ҳолатлар ва асосий уларни этиологик агентлари

Мойиллик қиловчи ҳолатлар	Асосий қўзғатувчилар
Сийдик йўлида катетер бўлиши	<i>Serratia marcescens</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus sp.</i>
Бегона критмалар (танача-венага қўйилган катетер, канюла, протезлар)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Candida</i> ва <i>Aspergillus</i> турлари
Опреатив, жаррохлик аралашувлари	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacteroides</i> турлари, <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ва бошқа анаэроб, факультативлар.
Куйиш	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Спленэктомия (талоқни олиб ташлаш)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Қандли диабет	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> ва фикомицитлар
Қон ҳосил бўлишни бузилиши	<i>Streptococcus neoformans</i> , сув чечак вируси, ЦМВ, <i>Listeria monocytogens</i>
Алкоголизм	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Listeria monocytogens</i>
Гликокортикоидларни қабул қилиш	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , турли вирус ва замбуруғлар.

### **КТЮК нинг микробиологик диагностикаси.**

Нозокоминал юқумли касалликларни эрта аниқлаш уларнинг яхши прогнозидан дарак беради. Қисман ятроген инфекциянинг белгилари, даволанаётган беморнинг сабабсиз қўққистан тана температурасини кўтарилиши бўлиши мумкин. Агар КТЮК га шубҳа қилинса микробиологик текширув ўтказилади. Нозокоминал юқумли касалликларни диагностикасини қўшимча

касалликлар қийинлаштириши мумкин. Текшириш учун патологик материалларни олиш ва бактериологик текширув ўтказишда қуйидагиларга аҳамият берилиши зарур:

- 1) Текшириш материаллари асептик қодаларга риоя қилинган ҳолда стерил махсус контейнерларга олинади, чунки потенциал кўзғатувчи ҳар қандай бактерия бўлиши мумкин;
- 2) Олинган патологик материални максимал тез лабораторияга етказиш;
- 3) Проба (материал) ҳар доим олиниши керак.

Нозокоминал юқумли касалликларни дионостикасида асосан бактериологик, вирусологик, микологик ва серологик усуллар қўлланилади. Бактериологик, вирусологик ва серологик усуллар олдинги бўлимларда келтирилган, дионостика усуллари диярли фарқ қилмайди. Шу билан бир қаторда шартли патоген бактерияларнинг дионостикасида уларнинг пробалардаги микдорий кўрсаткичларига ҳам аҳамият берилади.

### **Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар**

Замбуруғлар табиатда энг кўп тарқалган организмлар бўлиб, уларнинг асосий вакиллари сапрофит ҳаёт кечиришади. Уларда фотосинтетик пигментлар бўлмайди, улар гетротроф, анокроғи хемоорганогетротроф, витаминларга мухтож, аэроб шароитда яшайди, ўзлари учун энергияни оксидланиш ва қайтарилиш реакциялари орқали органик моддалардан ўзлаштириб олади. Табиатда тарқалган бирнеча минг замбуруғлардан 100 га яқини одамлар учун патоген ҳисобланади. Замбуруғлар эукариотик организмлар бўлиб бошқа микроорганзимлардан асосий хусусиятлари (дифференцирланган ядроси, цитоплазмада органеллалар ва таркибида хитин, целлюлоза борлиги, хлорафил ва ҳужайра деворида пептидоглиганни йўқлиги, спора ҳосил қилиб, жинсий кўпайиши, оқсил ва липидларини таркиби) билан фарқ қилади.

Замбуруғлар граммулбат бактериялар бўлиб, вегитатив ҳужайралари кислотага чидамсиз ҳисобланади. Замбуруғлар кўриниши бўйича Гифал (моғал) ва дрожжисимонларга (ачитқи) бўлинади.



Гифал (моғал) замбуруғлар тарқалган нозик чирмашган ишлар ҳосил қилади, бу ипчаларини мицелийлар ҳам деб аталади. Гифларнинг диаметри 2 дан 100 мкм гача бўлиши мумкин. Мицелийларни озиқли муҳитга ботиб турган (субстратли) қисми вегитатив ҳужайра бўлиб, озиқланишни таминлайди. Озиқли муҳитни устидаги қисмини ҳаво мицелийлари деб аталади, улар замбуруғнинг кўпайишига жавобгар ҳисобланади.

Юқори ривожланган (высших) замбуруғлар кўп ҳужайрали бўлиб уларнинг мицелийлари ичкий тўсиқлар – септалар билан бўлинган бўлади (расм 99).

Тубан ривожланган (низших) замбуруғларда гифларида септалар бўлмайди. Улар кўп ядроли ҳужайралар бўлиб ценоцитлар (юнонча-koenos-бир бутун) деб аталади.

**Ачитқи (дрожжи) замбуруғлар.** Одатда ҳужайралар чўзинчоқ, тухумсимон, ноксимон кўринишда бўлиб, бир ҳужайрали замбуруғлар гуруҳини ташкил қилади. Булар жинсий йўл билан кўпайишига қараб юқори ривожланган замбуруғлар ичида – аскомицет ва базидомицетларга бўлинади. Жинсиз йўл билан эса куртак ҳосил қилиб ва бўлиниб кўпайиши мумкин. Улар псевдогифлар (ёлғон) ва псевдомицелийлар ҳосил қилиб узунчоқ, занжирсимон (сарделек) ҳужайралар ҳосил қилади. Баъзи замбуруғлар дрожжиларга ўхшайди (расм 100), лекин жинсий йўл билан кўпаймайди, улар куртакланиб кўпаяди, буларни ачитқисимон замбуруғлар деб аталади. Тиббиёт амалиётида бу ачитқисимон замбуруғларни (дрожжилар) ачитқи замбуруғлари деб тушинилади.

Кўпчилик замбуруғларларнинг характерли хусусияти уларнинг ўстириш шароитига қараб гифал, мицелийлар ва дрожжисимон ўсиш хусусиятидир (деморфизим). Масалан, инфекцияланган организмда улар ачитқисимон (ачитқисимон фаза), озиқли муҳитларда эса гиф ва мицелийлар ҳосил қилади. Замбуруғларнинг бундай реакцияси температура факторига боғлиқ. Хона температурасида улар мицелийлар ҳосил қилишса, 37°C да (тана темературасида) дрожжисимон ҳужайралар ҳосил қилади.

Замбуруғларнинг кўпайиши. Замбуруғлар жинсий ва жинсиз (вегитатив) усулларда кўпаяди.

Замбуруғлар жинсий йўл билан кўпайганда гамета ва жинсий спора ҳосил қилади. Замбуруғларнинг жинсий формасини “телеоморфа” деб аталади. Замбуруғлар жинсиз кўпайганда (вегитатив) маълум формаларга киради, буларни “анаморфа” лар дейилади. Бундай (вегитатив) замбуруғлар куртакланиб, фрагментланиб ва жинсиз спорали бўлиб кўпайяди. Замбуруғ спорлари (спорангиоспора) мицелийларнинг ичида юмолоқ кўринишда (спорангия) етилади ва гифларнинг учида (конидие) шакилланиб конидие ташувчи деб ҳам аталади (расм 99).

Замбуруғлар конидие типларига қараб фарқланади: артроконидиялар - (артоспора) бир текисликда септаланган ва узилиб турувчи гифлардан таркиб топади; бластоконидиялар она хужайрадан қиз хужайра куртакланиб кўпайяди. Бир хужайрали катта бўлмаган конидие микроконидие, кўп хужайрали катта конидие макроконидиелар деб аталади. Жинсиз кўпайювчи замбуруғларга хломидоконидие ёки хломидоспорали (қалин хужайра деворли ва кичик хужайралар комплекси) ва склероция (қаттиқ пардали хужайра массаси) – накулай шароитларда замбуруғларнинг тинч турувчи формаси бўлиб, уларни табиатда сақланиб туришини тامينлайди.

**Замбуруғ типлари.** Жинсий йўл билан кўпайювчи уч группа замбуруғлар (юқори ривожланган) буларга - зигомицитлар, аскмицитлар ва базидомицитлар киради. Фақат жинсиз йўл билан кўпайювчи (тубан замбуруғлар) алохида шартли груҳга дейтромицитларга киритилган. Тиббиёт учун аҳамият касб этувчи замбуруғлар жадвалда келтирилган.

**Зигомицетлар**-тубан замбуруғларга киради (мицелийлари септаланмаган). Уларнинг вакиллари кўпроқ тупроқда, сувда ва ҳавода учрайди. Баъзида зигомикоз (мукорамикоз,) ўпкада, бош мияда ва бошқа органларда касаллик чақиради. Зигомицетлар жинсиз кўпайишда шарсимон спорангие халтачаларини ҳосил қилади, уларнинг ичида жуда кўплаб спорангиоспоралар бўлади. Зигомицетларнинг жинсий кўпайиши зигоспоралар ёрдамида амалга ошади.

**Аскомицетлар** – (сумкачали замбуруғлар) мицелийлари септаланган (бир хужайрали ачитқи замбуруғлардан ташқари). Улар ўз номларини уруғ ташувчи

органлари – сумка ёки аска номидан олишган. Уларнинг таркибида 4 ёки 8 гаплоид жинсий спора (аскоспора) тутати. Кўпчилик *Aspergillus* ва *Penicillium* авлоди вакиллари анаморф хусусиятга эга, яъний фақат жинсиз

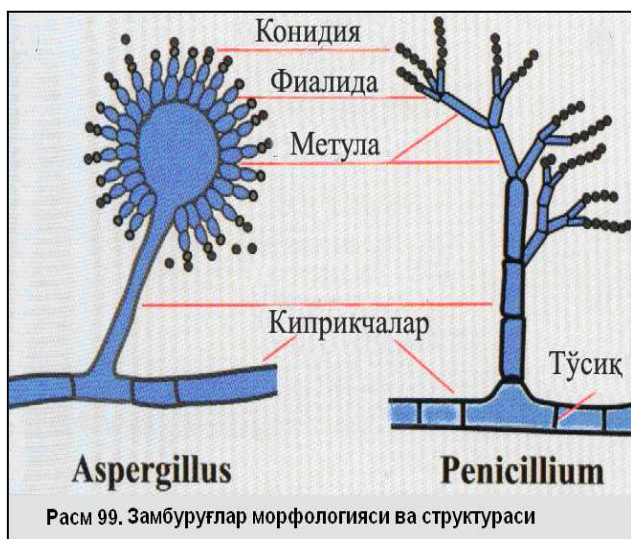
Жадвал 88.

### Тиббиёт учун аҳамият касб этувчи патоген замбуруғлар

Таксонлари	Асосий авлодлари	Одамларда касаллик келтириб чиқариши
<b>ЗИГОМИЦИТЛАР (Тип Zygomycota, синф Zygomycetes)</b>		
Тартиб Mucorales	Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella	Зигамикозлар
Тартиб Entomophthorales	Basidiobolus, Conidiobolus	
<b>АСКОМИЦЕТЛАР ( Тип Ascomycota)</b>		
Синф Ascomycotes		
Тартиб Saccharomycetales	Ачитки: <i>Saccharomyces</i> , <i>Pichia</i> (телеморфлар <i>Candida</i> spp)	Микотик кўплаб касалликлар
Тартиб Onygenales	<i>Arthroderma</i> (телеморфлар <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> spp.)	Дерматомикозлар
Тартиб Eurotiales	Телеморфлар баъзи <i>Aspergillus</i> ва <i>Penicillium</i> spp.	Асперилллёз, пеницеллёз, гиалогифомикоз
Тартиб Microascales	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеморфлар <i>Scedosporium apiospermum</i> )	Мицетома, гиалогифомикоз
Синф Archiascomycetes		
Тартиб Pneumocystidales	<i>Pneumocystis carinii</i>	Зотилжам
<b>БАЗИДИОМИЦЕТЛАР (Тип Basidiomycota, синф Basidiomycetes)</b>		
Тартиб Agaricales	<i>Amanita</i> , <i>Agaricus</i>	Замбуруғлар билан захарланиш
Тартиб Tremellales	Ачитки: <i>Filobasidiella</i> (телеморфлар <i>Cryptococcus neoformans</i> )	Криптококкоз
<b>ДЕЙТЕРОМИЦЕТЛАР (Тип Deiteromycota)</b>		
Тартиб Cryptococcales	Тубан ачитки замбуруғлари: <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Malassezia</i>	Кўплаб микозлар
Тартиб Moniales, Monialiceae	<i>Epidermophyton</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Paracoccidioides</i> , <i>Sporothrix</i> , <i>Aspergillus</i>	Кўплаб микозлар
Тартиб Moniales, Dematiaceae	<i>Phialophora</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Alternaria</i>	Хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз
Тартиб Sphaeropsidales	<i>Phoma</i>	Феогифомикоз

споралар (конидий) ёрдамида жинсиз йўл билан кўпайди. *Aspergillus* авлоди вакилларининг уруғ, конидие ташувчи гифлари йўғонлашган бўлиб стрегмалар, фиалидияларда занжирсимон конидие бўлади (расм 99). *Penicillium* авлоди

вакилларида эса панжасимон бўлиб (кистевик), уруғ ташувчи конидиелар йўғонлашиб, майдароқ структураларга - стрегмалар, фиалидияларга ва уларда конидиелар занжирсимон бўлиб жойлашади.



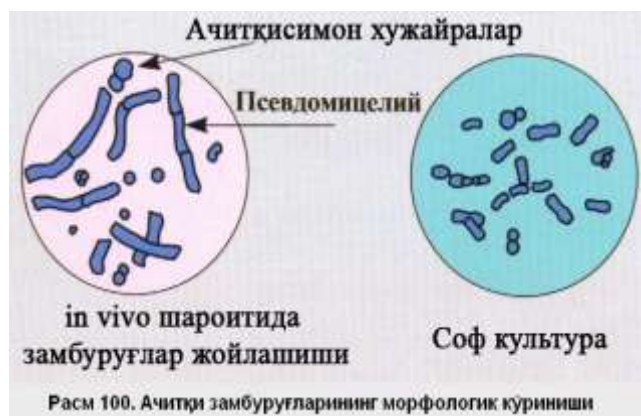
Расм 99. Замбуруғлар морфологияси ва структураси

Аскомицетларга *Saccharomyces* авлоди вакиллари ва телеморфлардан *Candida* spp. (ачитки замбуруғлари) киради. Ачитки замбуруғлари – бир хужайрали, ҳақиқий мицелий ҳосил қилиш хусусиятини йўқотган, овалсимон диаметр ўлчами 3-15 мкм бўлган хужайралардир (расм 100). Улар куртакланиб, бинар бўлиниш ёки

жинсий йўл билан аскаспор ҳосил қилиб кўпаяди. Ачитки замбуруғларнинг вакиллари одамларда касаллик келтириб чиқаради. Патоген турлари сохта мицелийлар ҳосил қилади.

Кўпчилик аскомицетлар антибиотиклар сентиз қилади тиббиётда биотехнологияда қўлланилади.

**Базидомицетлар**- қалпоқчали (шляпочные) замбуруғлар септаланган мицелийлар тутади. Улар жинсий спора – базидоспралар ҳосил қилиб, уларнинг охиридан қиз хужайра мицелий ажралиб чиқади.



**Дейтромицетлар**- (тубан замбуруғлар) замбуруғларнинг шартли (фармальным) типлари бўлиб, ҳамма жинсиз йўл билан кўпайувчи замбуруғлар шу гуруҳга киритилган. Шартли гуруҳ дийилишига сабаб, улар маълум даврда жинсий йўл билан кўпайишга ўтиши мумкин. Агар шу кўпайиш усули аниқланса замбуруғни бошқа маълум типларга киритилади.

Дейтромицетлар септаланган мицелийлар ҳосил қилиб, фақат жинсиз йўл билан, конидий ҳосил қилиб кўпайяди. Дейтромицетларга бирқанча тубан

ачитқи замбуруғлари киради. Масалан *Candida* авлоди вакиллари, тери шиллик қаватлар, жинсий органларда кандидомикоз касалликларини келтириб чиқаради. Улар узунчоқ ёки юмолоқ, диаметри 2-5 мкм, куртакланиб кўпайди, псевдогифлар (занжирсимон ёки хужайралар чўзилган) ҳосил қилади. *Candida albicans* га хломидоспорлар ҳосил қилиш характерлидир (расм 100).

### **Микозларнинг лаборатория диагностикаси**

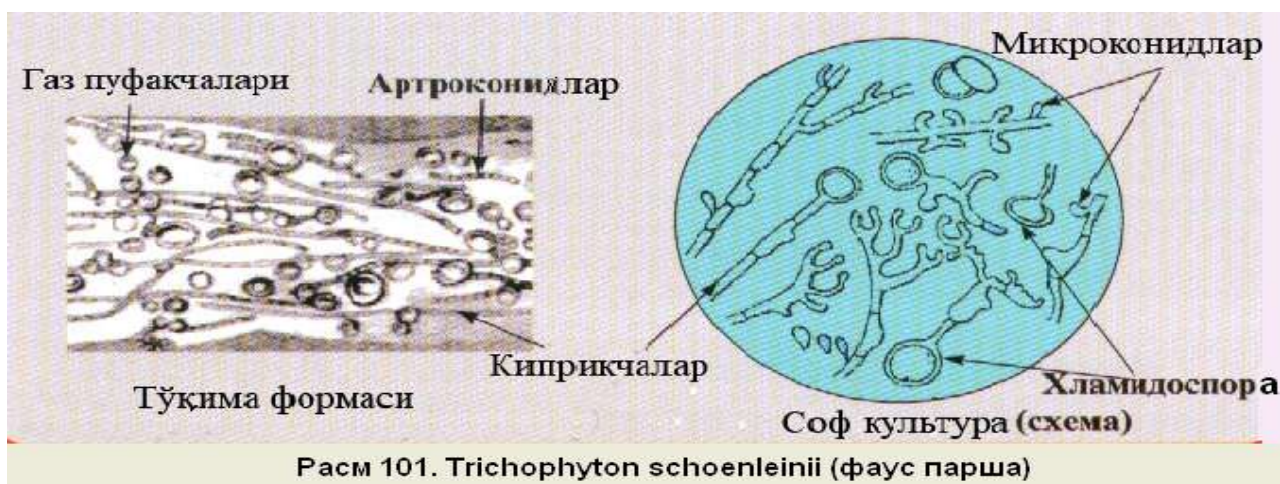
Микозларнинг микробиологик диагностикаси асосан микроскопик культурал, серологик ва бошқа текшириш йўллари билан амалга оширилади.

Микроскопик усул энг қулай ҳисобланади, асосан тиббий амалиётда микроскопик усул кенг қўлланилади. Лекин микроскопик усулда касаллик қўзғатувчисини тургача идентификация қилиб бўлмайди. Ажратиб олинган замбуруғнинг соф культурасини идентификация ва дифференциация қилиш унинг морфологик, культурал ва биохимик хусусиятларига ва айрим ҳолларда антиген тузилишига кўра олиб борилади. Биологик синамалар кўп ҳолларда натижа бермайди. Серологик усуллар ҳам барча микозлар учун ишлаб чиқилмаган.

### **Дерматомикоз ва кандидомикозларнинг микробиологик диагностикаси.**

Дерматомикозларни асосан *Trichophyton*, *Microsporum* авлодларига мансуб бўлган ва бир неча *Epidermophyton* турлари ва кам ҳолларда *Candida* лар келтириб чиқаради.

**Фавус (син.парша –кал).** суринкали антропоноз касаллик бўлиб, қўзғатувчиси *Trichophyton schoenleinii*. Асосан болалар касалланади. Касалликда



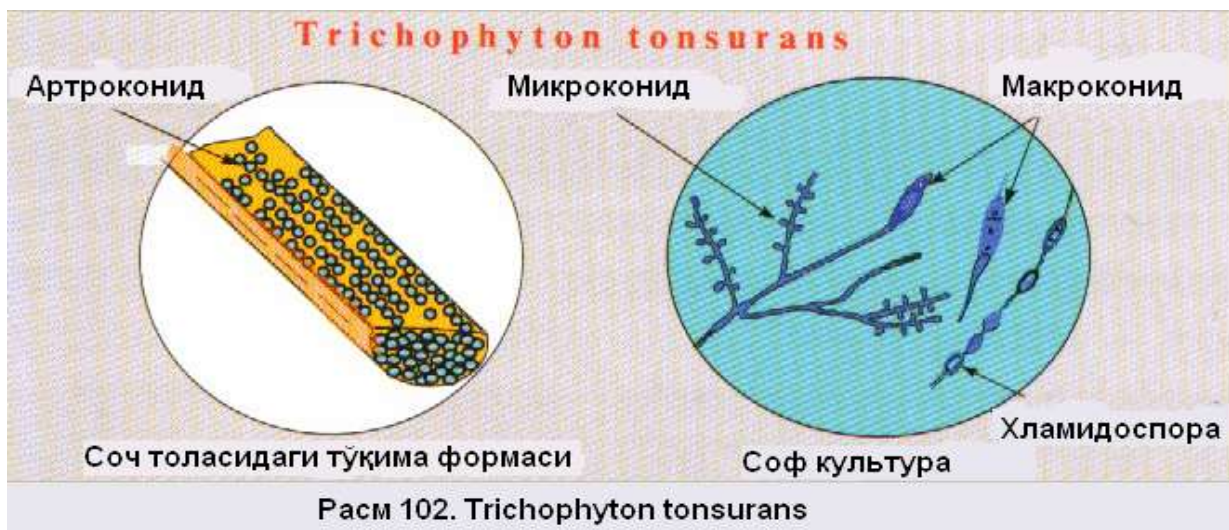
Расм 101. *Trichophyton schoenleinii* (фаус парша)

тери, тирноқ ва соч зарарланади. Характерли хусусияти жароҳатланган соҳада сариқ йиғилма пўст (спора, мицелий, эпидермис хужайралари ва ёғ йиғилиб қолиши-скутула) ҳосил бўлади.

Текшириш учун материал зарарланган хира ва жилвасиз соч толаси ва зарарланган тери сатҳининг перифериясидаги скутуласидан олинади. Маълумки, фавусда соч толасининг бор бўйи эмас, балки у ери ёки бу ери шикасланади, шу сабабли ҳам у синмайди. Бош териси кучли яллиғланганда соч толаси бутунлай суғирилиб чиқади. Текшириш чоғида зарарланган узун сочларнинг микроскопик манзарасида юмолоқ занжирчалар ва уюмлар кўринишида ҳар хил каталикдаги, кўп қиррали полиморф споралар кўзга ташланади. Соч ичида юпқа септаланган мицелий ипчалари билан бир вақтда ҳаво пуфакчалари ва ёғ томчилари ҳам (расм 101) бўлади. Силлиқ тери ва тирноқ тангачаларида тормоқланган мицелий, юмолоқ споралардан иборат занжирчалар ва уларнинг уюмлари топилади. Скутуладан тайёрланган препаратда уюм-уюм бетартиб, баъзан калта занжирчалар шаклида жойлашган полиморф спораларнинг қисқа тўпламлари учрайди, улар атрофида одатда тормоқланган мицелийлар бўлади. Бу ўринда шунини айтиб ўтиш керакки, агар скутулалар қалин бўлса, уларни майдалаш лозим, акс ҳолда микроскопда текширишга яроқсиз қалин препарат ҳосил бўлади. Одатда скутулалар ўювчи калий ишқорида кўпроқ сақлаб турилади.

**Трихофития** касаллиги ўткир ва суриккали формаларда ўтади.

*Trichophyton* авлодига мансуб замбуруғлар фавусдан ташқари кўплаб тери, соч



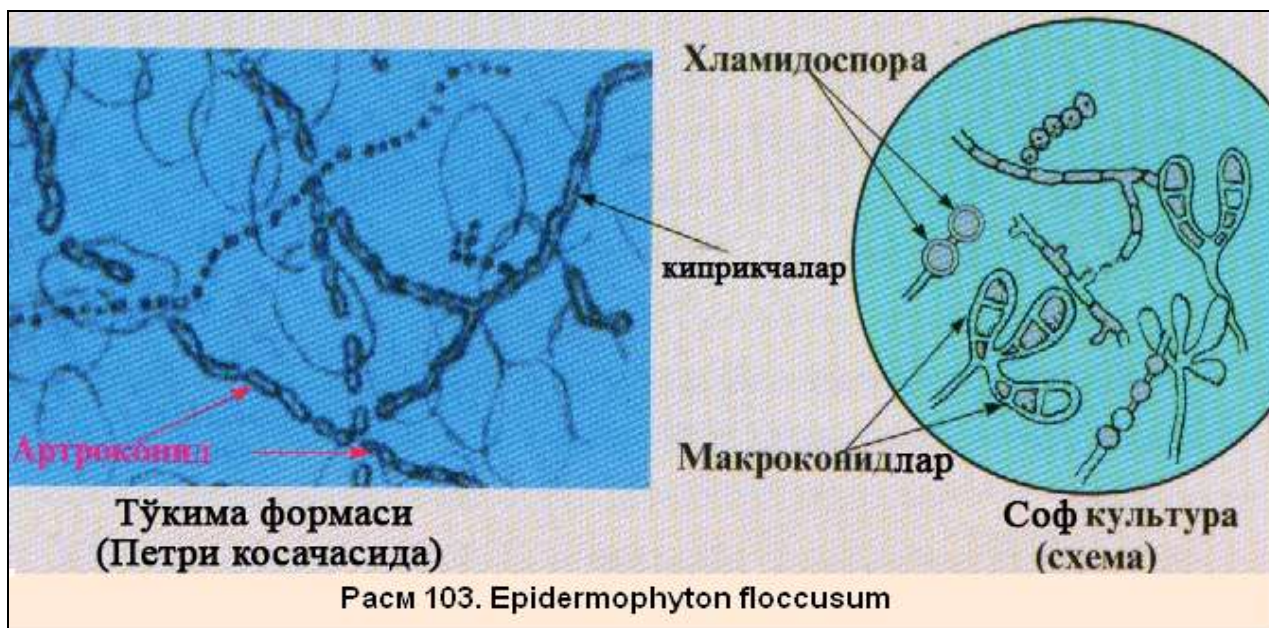
ва тирноқларда юза ва чуқур трихофития касалликларини келтириб чиқаради. Қўзғатувчилари: *Trichophyton tonsurans*; *Trichophyton violaceum*; *Trichophyton interdigitalis*; *Trichophyton rubrum*. Булардан *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum* лар антропоноз касаллик, фақат одамлар, кўпроқ болалар касалланади (расм 102). Тери, тана (темиратки) ва сочининг зарарланиши кузатилади. *Trichophyton violaceum* ҳам антропоноз касаллик бўлиб тавон ва тирноқ пластинкаларини трихофитиясини келтириб чиқаради. Сочни зарарламайди. *Trichophyton rubrum* – тарқалган тери микози, тирноқ ва сочларни ҳам зарарлайди. Қизил трихофитлар келтириб чиқаради (рубромикоз).

*Microsporum* авлоди вакилларидан *Microsporum audouinii* ҳамда *Microsporum frrugineum* тери, соч ва кам ҳолларда тирноқларни шикаслайди.

Юқори кантагиоз касаллик ҳисобланади, кўпроқ касаллик болаларда кузатилади. Соч толалари шикасланганда, микроскоп остида кўрилганда, соч толасини атрофида мазайка кўринишда антроконидийлари ўраб (муфты-эктотрикс типи) олади.

*Epidermophyton* авлоди вакилларидан *Epidermophyton floccusum* чов ва тери бурмаларида камроқ бармоқ ва тирноқ пластинкаларини шикаслайди.

**Тери темираткиси** (*Trichophyton* ва *Microsporum* вакиллари келтириб чиқаради) касалликда материални бемор терисидаги пўст ташлаб турадиган



оқимтир доғлардан олинади. Доғларнинг ҳар ер-ҳар еридан периферияси тамон скапельда бир неча буюм ойнасига қирма олинади. Қирмани мутахассис скапельни 35-45° бурчак остида (териға нисбатан) оғдирган ҳолда, ортиқча босмасдан, енгил ҳаракат билан олади. Олинган материалга 30% ли ўювчи калий ёки ўювчи натрий эритмаси томизилади ва алангада қайнашга етказилмай қиздирилади. Сўнгра препарат устига ёпқич ойна ёпилади ва уни микроскопнинг аввал кичик, кийин катта қуруқ 40x системасида кўздан кечирилади. Темиратки кўзғатувчиси суртмада калта, лекин йўғон қайрилган мицелий иплари ва тўп-тўп, шакли юмолоқ қўш контурли споралари билан ифодаланади. Мицелийларнинг узунлиги 8-12 мкм ни ташкил этади.

**Эритразмада** (*Epidermophyton*, *Trichophyton*) кўзғатувчи эпидермиснинг юза қаватини, аксарият, терининг табиий бурмалари юза қаватини шикаслайди. Эритразмада сон-ёрғоқ бурмаларида, чов, қўлтиқ, орқа тешик (анус) соҳаси ва аёлларда кўкрак беши остида пушти-қизил, чегараси аниқ доғлар пайдо бўлиб, улар вақти вақти билан пўст ташлаб туради. Одатда, терининг шу шикастланган соҳасидан скальпел билан қирма материал олинади. Препаратни тайёрлаш учун унга муз сирка кислотаси томизилади ва у буғланиб кетгунча алангада қиздирилади. Кийин 2% ли метилин кўки эритмаси билан 2-3 минут бўялади. Унинг микроскопнинг иммерсион системасида қаралса, эни 0,8-1,0, узунлиги 5-15 мкм келадиган донодор, бироз қайрилган, коринобактерияларнинг ипсимон



формаларига ўхшаш бўлади. Замбуруғларни турларига қараб баъзида занжир бўлиб мицелийлари жойлашади. Бўялганда мицелий зангори рангга, спораси эса тўқ, кўкимтир-зангори рангга бўялади. Терининг шикастланган жойига люминцент лампадан нур туширилса, у қизғиш бўлиб товланади.

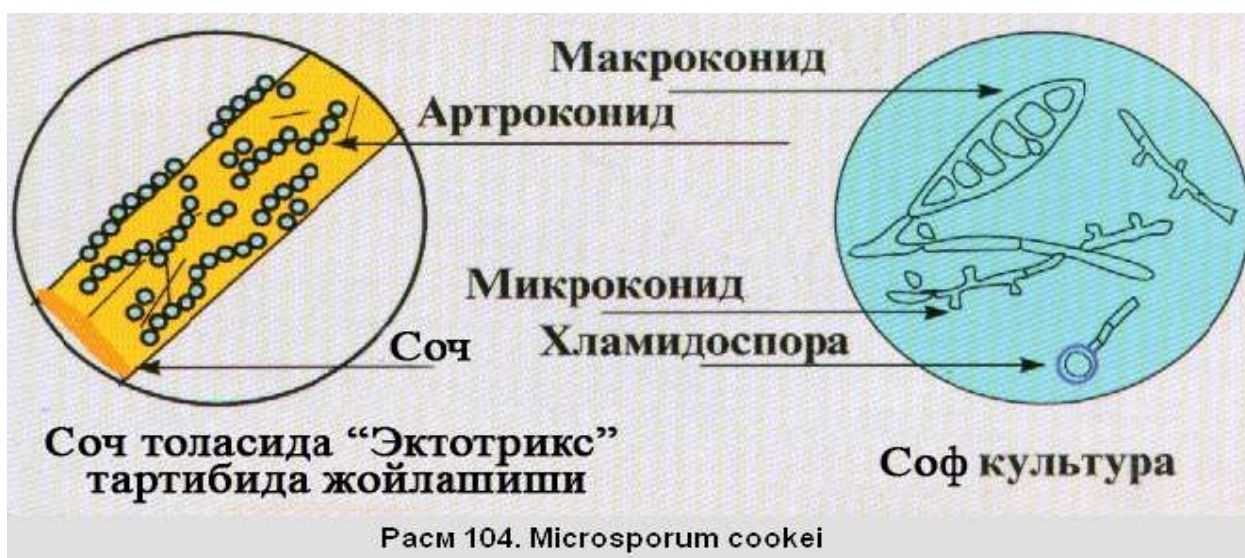
**Оёқ панжа эпидермофитияси, асосан қўзғатувчилари** *Trichophyton, interdigitalis; Trichophyton rubrum* ва *Epidermophyton floccosum* келтириб чиқаради. Оёқ панжа эпидермофитиясида даслаб материал тавон гумбазидан олинади. Скарификаторда ёки скальпелда тавон гумбазидан яхшилаб қириб тозаланади, кийин текширишга қирма олинади. Бармоқ оралари бурмаларидан ҳам қирма суртма олинади. Пуфакчалардан материал олинганда унинг бир чети пинцет билан ушлаб қирқилади ва пўстидан препарат тайёрланади. Тирноқлар эпидермофитияси ва руброфитияда ўткир скальпел билан зарарланган тирноқлар юзаси қириб олинади, тирноқларнинг бирмунча чуқир қатламларидан эса пластинкалар кесиб олинади. Текширишдан олдин қалин пўст ва тирноқ пластинкалари скальпелда майдаланилади. Сўнгра ишқор эритмаларида (30% ли ўювчи калий ёки ўювчи натрий) бир сутка мабойнида юмшатиб тиндирилади. Баъзида текширишни тезлатиш мақсадида тирноқ солинган пробиркага ишқор қуйилиб спиртовка алангасида қайнатилади.

Тайёрланган препаратлар микроскопни кичик объективда ҳам (объектив 7х ва 8х) замбуруғ элементларини қайд қилиш мумкин, бироқ, кичик объективда зарарланган тангача ва пўстларнинг қоронғи жойлардаги мицелий иплари ва контурлари яхши кўринмайди. Шунинг учун кичик объективда замбуруғ элементлари аниқланиб олиниб, катта объективда қолган элементлари (40х) аниқланади. Суртмада септа (бўғим) ларга бўлинган мицелий, занжир кўринишида полигонал қўш контурли споралар аниқ кўриниб туради. Мицелий иплари бир-бирларига уланиб борадиган қатор узун бўғинлардан тузилган бўлади. Улар баъзан бутун кўриш майдонини эгаллаб ётади. Баъзан холестерининг парчаланиш маҳсулотлари, замбуруғларнинг мицелийлари кўринишида қўзга ташланиши мумкин. Уларни сохта (псевдо) мицелий дейилади. Бундай пайтларда сохта мицелийларни замбуруғлар билан

алмаштирмаслик учун препаратни яна спирт алангасида қиздириш зарур, бунда сохта мицелийлар бутинлай йўқолиб кетади.

Юза трихофтияда текшириш учун материал сочдан ва силлиқ тери ва тирноқлардан тайёрланади. Сочдан материал олишда беморнинг боши яхшилаб ёритилади. Соч калта қилиб қирқилганда шикастланган соҳани топиш ва кўриш осон кечади. Зарарланган соч илдиз қинлари билан биргаликда олинади. Аммо шикастланган сочни пинцент билан тортмаслик керак, акс ҳолда касал сочлар тери юзасида синиб қолиб, унинг ичидаги қисми текширилмай қолиб кетаверади.

Юза трихофитияда касаллик қўзғатувчиси мицелий иплари ва споралар кўринишида зарарланган соч ичида (энтрикс) тасмага ўхшаб жойлашади. Унинг мана шу жиҳати бошнинг сочли қисми трихофитиясини деференциал белгиси бўлиб, у касалликни эпидемиологиясини ўрганишда муҳим аҳамиятга эга. Зараланган сочнинг ранги хира кулранг –сарғиш, танаси эса қайрилган (илмоқ, вергул ва S шакилда) мўрт бўлади. Силлиқ тери ва тирноқдан олиб тайёрланган суртмаларда замбуруғларнинг тасмасимон жойлашган споралари билан бир қаторда мицелий- иплари бўлади. Микроспорияда зарарланган соч толаларини замбуруғ споралари ўраб олади (муфты) ва тасмалар ҳосил қилади (расм 104).



Сочнинг ранги гунгурт – кулранг бўлиб қолади. Соч ичида жойлашган ингичка мицелий иплари одатда кўринмайди. Уларни аниқлаш учун қоплагич ойнани эҳтиётлик билан силжитиб, ёки босиб споралар тўпланини соч қобиғидан

қўзғатилади. Шунда емирилган соч ичидаги соч бўйлаб ётган мицелий ипларини кўриш мумкин.

Дерматомикозларни микроскопик манзарасига қараб замбуруғ турини аниқлаш анча мушкул, шунинг учун лаборатория ходими анализ натижасини берганда фақат замбуруғлар бор-йўқлигини кўрсатади. Замбуруғларни тури эса уларни махсус озик муҳитларда уларни ундириш усули билан аниқланади.

**Микологик усул.** Олинган патологик материал озикли муҳитларга (Суслó – агар, Сабуро ва бош.) экилади 25° С да ўстирилади 1-3 ҳафта. Тоза культурасида қўзғатувачини септаланган мицелий ипчаларининг учлари йўғонлашган, тормоқланган (кийик шоҳига ўхшаш -фаршда) ва артероспора, хломидоспоралар (*Microsporum*) билан бир қаторда макро-, микроконидийлар (*Trichophyton*) учрайди.

Серологик усулда қўзғатувчига қарши АТ КБР, ПГАР, ПР, ИФР ва ИФА аниқланади.

Аллергик ва биологик усуллар кам ҳолларда қўлланилади.

#### **Чуқур (системали) микозларнинг лаборатория диагностикаси.**

Чуқур (системали) микозларнинг қўзғатувчилари асосан тупроқда, чираётган чиқиндиларда, баъзида паранда аҳлатида учрайди. Замбуруғлар организмга аэроген йўл билан киради. Зарарланган одамларда одатда касаллик белгилар кузатилмайди. Баъзи кишиларда касаллик ўпкани ва бошқа органларни зарарлаб оғир ўтади. Кўпчилик қўзғатувчилар диморф формадаги замбуруғлар бўлиб инфекцияланган организмда улар ачитқисимон формани (ачитқисимон фаза), озикли муҳитларда эса гиф ва мицелийлар ҳосил қилади. Одамларда қуйидаги касалликларни келтириб чиқаради:

**Криптококкоз** –қўзғатувчиси *Cryptococcus neoformans*, кам учрайдиган касаллик, асосан ўпка, МНС ва терини шикаслайди. Қўзғатувчи тупроқда, кўплаб меваларда ва сабзовотларда, пичан ва ҳавода учрайди. Одамларга ҳаво томчи, чанг орқали юқади, баъзида алементар йўл билан ҳам юқиши мумкин. Тўқима формаси: макрофагларда, тўқимада юмалоқ хужайралар диаметри 3-25 мкм, битта кичик куртаги бўлади. Яқол кўзга ташланиладиган

полисахаридли капсуласи бўлади. Тоза культураси –озикли муҳитларда яхши ўсади (Сабуро муҳитида кавариқ сметанага ўхшаш юзаси ялтироқ колониялар ҳосил қилади), суртма қилиб кўрилганда овал шакилдаги дрожжисимон диаметри 4-8 мкм ҳужайралар кўринишида бўлади. Иммунотанқис касалликларида кўплаб учрайди.

**Гистоплазмоз**- қўзғатувчиси *Histoplasma capsulatum*, ретикулоэндотелиал системани жароҳатлайди. Ўпкада, ошқозон ичак системасида, гартан ва бурун ҳалқумда гранулемалар ҳосил қилади. Қўзғатувчини спораси ҳаво, чанг йўли билан одамларга юқади. Касал одам касаллик манбаси бўлмайди.

*Histoplasma capsulatum*- макрофагларда, гистоцитларда ва тўқимада дрожжисимон формада, Сабуро муҳитида кўпайганда 20-25° С мицелий формада, 37° С кўпайганда дрожжисимон формада бўлади. Капсуласи бўлмайди.

Тўқима формаси: -тўқималарда кичик, сал чўзинчоқ- юмалоқлашган формада, диаметри 2-5 мкм, узунчоқ учидан куртакланиб кўпайяди.

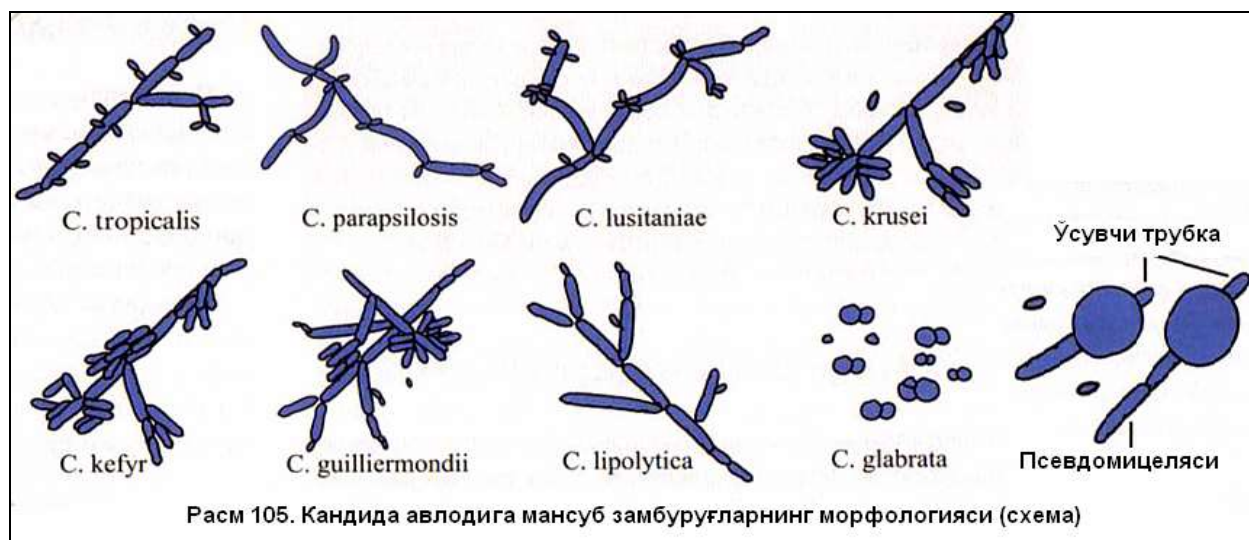
Тоза культурасида –тармоқланган, септаланган мицелий иплари тутуди. Уларда микроконидий ва макроконидийлар учрайди. Макроконидийлари ката ноксимон формада бўлиб, улардан тиканаклар чиқиб туради, диаметри 8-20 мкм тенг. Микроконидийлари осилиб турган томчини эсатади, диаметри 2-6 мкм.

**Бластомикоз** (шимолий америка бластомикози, Гилкрест касаллиги)- қўзғатувчиси *Blastomyces dermatitidis*. Касаллик суринкали формада ўтади, вицерал формаси ўпкада инфилтрат ва каверна ҳосил қилади, суякни, жигар, талоқ ва жинсий таносил органларини шикаслайди. Тери формасида қон ва йиринг сақловчи папула- папулёз элементлари кузатилади. Тупроқда ва чириётган ўсимлик қолдиқларида тарқалган. Ҳаво чанг йўли билан спораси одамларга юқади. Булар ҳам Сабуро муҳитида кўпайганда 20-25° С мицелий формада, 37° С кўпайганда дрожжисимон формада бўлади. Капсуласи бўлмайди.

**Диагностикаси.** Текшириш учун йиринг, болғам, биоптатлар, тери қирмаси ва бош.олинади. Тайёрланган препарат ишқор эритмаларида (30% ли ўювчи калий ёки ўювчи натрий) ишлов берилиб гемотаксиллин ва эозин ёки Грам усулларда бўялади. Микроскопда катта икки контурли ноксимон, қалин қобик

билан ўралган ва битта куртакли хужайралар учрайди. Озиқ муҳитлардан Сабуро муҳитида кулранг-сарик колониялар ҳосил қилиб яхши ўсади. Серологик усулда КБР қўйилади.

**Кандидамикоз.** Бу авлоднинг 200 дан ортиқ турлари мавжуд. Бу авлодга hozirги кунда бир қанча шакилланган ва шакилланмаган (тубан) замбуруғлар киритилган. Кандида авлоди вакиллари одамларда шиллик қаввати, тери, тирноқлар ва ичкий органларни жароҳатлаб кандидомикоз касаллигини келтириб чиқаради. Кандидомикоз касаллигини келтириб чиқаришда олдинги ўринларда *C. albicans* df *C. Tropicalis nehlb* туради. *C. albicans* нинг характерли хусусияти улардаги бластоспор (куртак), яъний куртакланиётган хужайра ва хломидоспор қалин деворли, икки контурли овал спора (расм 105) кўринишида бўлади..



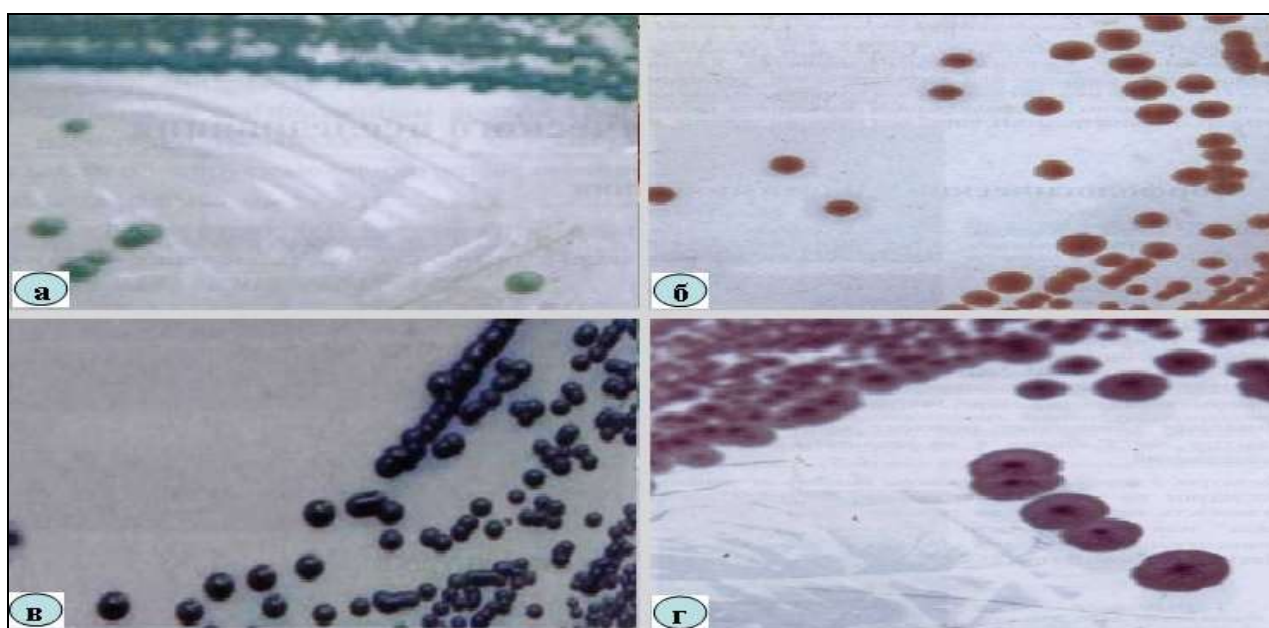
Лаборатория диогностикаси. Микроскопик, бактериологик ва серологик усуллар қўлланилади.

Микроскопик усулда олинган патологик материалдан (оғиз шиллик қавватидан, бодомча безидан олинган суртма, йиринг, болғам, сийдик, нажас, қон ва тери ва тирноқдан қирмалар) суртмалар тайёрланиб натив ва грам усулларда бўяб кўрилади. Бундай препаратларда кандидалар кўпинча тут ёки узум шингилини эслатиб ғуж-ғуж тухимсимон, юмалоқ ёки чўзинчоқ ачитқисимон хужайралар топилади. Бу хужайралар юмалоқ кўринишидан ташқари йўғон, калта ёки узин иплар шаклида бўлиши ҳам мумкин, буларни

сохта псевдо мицелийлари дийилади. Бўяб кўрилганда (Романовский усулида) кандидалар пушти –бинафша рангга, кўшимчалар – қизғиш рангга бўялади. Грам усулида бўялганда замбуруғлар тўқ бинафша ранг олади ёки текис бўялмайди, хужайранинг чека қисми бинафша рангга, ўртаси эса оч бинафша бўлади. *C. albicans* микроскопда текширилганда ачитки замбуруғларига ўхшаб кетади, лекин улардан фарқланиб спора ҳосил қилмайди. Микроскоп остида қаралганда 2-4 x 5-7 мкм шакли овал ёки юмалоқ бластоспоралари кўринади, бир томонлама ёки икки томонлама куртакланаётган қиз хужайралар кўзга ташланади. Сохта мицелицлари энсиз, катталиги 1,5-2,5 мкм. Шунини айтиб ўтиш керакки, кўриш майдонида 1, 2 дона замбуруғ хужайраларини бўлиши хали кандидоз диагнозини билдирмайди. Бундай ҳолат соғлом одамларда ҳам учрайди. Фақат 10-25 дона замбуруғлар бир кўриш майдонида топилса актив кандидоз инфекцияси ҳақида хулоса чиқариш мумкин.

**Бактериологик усул.** Патологик материал Сабуро, Сусло-агар, 2% глюкоза қўшилган ГПА, глюкоза қўшилган ГПБ га ва ҳозирги кунда HIMEDIA компанияси таклиф қилган хромоген агарга экилади. Экмалар термостатда 22-37° С 24-48 соат сақланади.

Сабуро ва Сусло муҳитида *C. albicans* оқимтир-крем рангли, ялтироқ, бир томчи майонезни эслатувчи колониялар ҳосил қилади.



Расм 106. Хромогенли агарда *Candida* замбуруғларни характерли, фарқланиб ўсиши: а- *Candida albicans*; б- *Candida tropicalis*; в- *Candida crusei*; г- *Candida glabrata*.

Хромаген агарнинг таркиби (грамм/литр):

Пептон (махсус) -15,0

Дрожжи экстракти- 4,0

Калий гидрофасфат- 1,0

Хромаген аралашма – 7,22

Хлорамфеникол - 0,50

Агар-агар - 15,0

Тайёрлангандан кийинги рН (25° С да)  $6,3 \pm 0,2$ .

Тайёрлаш 42,72 г порошок тортиб олиниб 1000 мл дистилланган сувга тўлик эригунча аралаштирилиб қайнатилади (автоклав қилинмайди) 50 ° С га совутиб Петри косачаларига қуйилади.

Кандида замбуруғлари учун хромоген агар селектив муҳит бўлиб улар яхши ўсади ва бу агарда уларни культурал хусусиятлари бўйича бирламчи идентификация қилиш имконини беради (расм 106) *S. albicans* бошқа ачитқи замбуруғларидан фарқланиб β-N- ацетилгалактозаминидаза ишлаб чиқаради. Озиқли муҳит таркибидаги хромоген ёки флюоресцин нур тарқатувчи гексоамидаз субстратлари фермент таъсирида колония рангини ўзгартиради.

Муҳит таркибидаги пептон ва дрожжи экстракти замбуруғларни яхши ўсишини таъминлайди. Хлорамфеникол бошқа бактерияларни ўсишига тўсқинлик қилади. *S. albicans* бу муҳитда силлиқ яшил, *S. tropicalis* –кўкимтир метал рангли, *S. glabrata*- оқимтир крем рангли, *S. krusei* эса пурпур рангли колониялар ҳосил қилади (расм 106 ).

Кандида замбуруғларнинг тоза культураси ажратиб олингандан сўнг уларнинг патоген турлари ачитқи замбуруғларидан биохимик, культурал хусусиятлари бўйича идентификация қилинади.

**Кортофилли ва гурунч суви қўшилган бульонда кондида замбуруғларининг хломидиоспораларини аниқлаш.** Кортофилли ва гурунч суви қўшилган бульонга экилганда 24 соатдан кийин *S. albicans* бошқа замбуруғлардан фарқланиб хломидиоспоралар ҳосил қилади.

Сахаролитик хусусиятлари бўйича ҳам улар бир-бирларидан фарқланади. *S. albicans* ва *S. tropicalis* сахарозани парчалайди, қолган турлари парчаламайди.

Серологик усул. Бемор қон зардобидан АТ ларни АР, КБР, ПР ва ИФА аниқланади.

### **3.22. Фойдаланилган адабиётлар**

1. Арифов С., Эшбоев Э. Тери ва таносил касалликлари. Т., 1997 й.
2. Барисов Л.Б. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. (профессор Н.А. Зокиров нинг ўзбек тилига таржимаси) 1992 й.
3. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е издание – М. «Медицина» 1982 г.
4. Борисов Л.Б и др Медицинская микробиология, вирусология и иммунология – учебник. М. «Медицина» 1994г.
5. Букринская А.Г. Вирусология, М., 1986 г.
6. Воробьев А.А. Быков А.С. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. –М. МИА, 2003 г.
7. Воробьев А.А Медицинская микробиология, вирусология и иммунология – учебник. М. МИА, 2004 г.
8. Дуцка И.А., Вассер С.П. Грибы: Справочник миколога и грибника. Киев, 1987г.
9. Караулов А.В. Клиническая иммунология, М., 1999 г.
10. Коротяев А.М., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология – учебник. Санкт Петербург, 1998 г.
11. Ройт А. Основы иммунологии (перевод с английского), М., 1991 г.
12. Коротяев А.М., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология – учебник. Санкт Петербург, 1998 г.
13. Мухамедов И.М. Эшбаев Э., Закиров М.М. Микробиология, вирусология ва иммунология. (Дарслик) Т. 2003, г.
14. Muchamedov I.M ва бошқалар *Microbiologia, virusologia va immunologia. Darslik*, Тошкент 2006 й.
15. Мухамедов И.М., Воробьев А.А., Неъматов А.С., Нуралиев Н.А., Баженова С.С. Учебное пособие по общей микробиологии, Т., 2008г.
16. Мюмер Э., Лефлер.В. Микология, М., 1995 г.
17. Поздеев О.К Медицинская микробиология –учебник. – М. ГОЭТАРМЕД, 2006.
18. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. ГЭОТАР Медицина, Москва. 1999 г.



19. Петров Р.В Иммунология. Учебник. Москва 1983.
20. Хайтов Р.М. Иммунология, М., 1996 г.
21. Robert F. Boyd. Basic Medical Microbiology. «LIPPINCOTT WILLIAMS @ WILKINS». 1995. Prinred in the United States of America.

## М У Н Д А Р И Ж А

Қисқартирилган сўзлар рўйхати-----	4
СЎЗ БОШИ -----	5
<b>1 Б О Б. УМУМИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ</b>	
<b>1.1. Мавзу 1. Микробиологик лабораториялар ва уларнинг жиҳозлари. Бактерияларни морфологияси -----</b>	<b>6</b>
- Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларни ташкил қилиниш принциплари-----	7
- Бактериологик лабораторияларда ишлаш қоидалари-----	9
- Лабораторияларда бактерияларни ўстириш, озик-муҳитларни, анжомларни стериллаш ва бошқа мақсадларда қўлланиладиган асбоблар-----	10
- Микроорганизмларни морфологияси-----	20
- Методик кўрсатмалар-----	22
<b>1.2. Мавзу 2. Бактериялар морфологияси ва тузилиши. Грам усулида бўяш-----</b>	<b>23</b>
- Таёқчасимон бактериялар -----	24
- Бурама, эгилган шакли бактериялар-----	25
- Бактерия хужайрасининг ультураструктураси-----	27
- Бактерияларни ҳаракатчанлиги, хивчинлари-----	30
- Бактерияларни мураккаб бўяш усуллари-----	32
<b>1.3. Мавзу 3. Бактерияларнинг тузилиши ва мураккаб бўяш усуллари – -----</b>	<b>34</b>
- Услубий кўрсатмалар-----	34
- Бактерияларнинг капсуласи -----	36
- Бактерияларни киритмалари, волютин доначалари-----	37
- Бактерияларни спораси-----	38
<b>1.4. Мавзу 4. Спирохета, Риккетсия, Хламидия, Микоплазма ва актиномицетлар морфологияси, структураси, уларни ўрганиш -----</b>	<b>39</b>
- Спирохетлар-----	39
- Риккетсиялар-----	42
- Хламидиялар-----	43
- Микоплазмалар-----	44
- Актиномицетлар-----	44
<b>1.5. Микроорганизмлар физиологияси-----</b>	<b>45</b>
<b>1.6. Мавзу 5. Озик муҳитлар таснифи. Озик муҳитларни тайёрлаш принциплари ва экиш усуллари-----</b>	<b>45</b>
- Озикли муҳитлар-----	46
- Патологик материалларни озикли муҳитларга экиш техникаси-----	53
<b>1.7. Мавзу 6: Микроорганизмларни ўстириш ва соф культура ажратиб олиш усуллари. Аэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш усуллари-----</b>	<b>58</b>
- Методик кўрсатмалар-----	59
- Аэроб бактерияларни тоза культура ажратиб олиш босқичлари -----	60
- Бактерия культурасини идентификация қилиш - -----	62
- Бактерияларнинг қатик озикли муҳитларда ўсиши-----	63
- Бактерияларнинг суюқ озикли муҳитларда ўсиши -----	64

<b>1.8. Мавзу 7: Анаэроб бактерияларни соф культурасини ажратиш. Микроорганизмларни хаёт фаолияти махсулотларини (пигментлар, ферментлар, токсинлар ва бошқ.) идентификацияда қўлланилиши---</b>	<b>66</b>
- Услужий кўрсатмалар-----	66
- Бактерияларни биокимёвий хусусиятларини дифференциал-диагностик мақсадда ўрганиш - -----	69
<b>1.9. Мавзу 8: Умумий вирусология. Вирусларни кўпайтириш усуллари. Вирусли юқумли касалликларга ташхис қўйиш.</b>	
<b>Бактериофаглар-----</b>	<b>75</b>
- Вируслар марфологияси ва ультура структура тузилиши-----	75
- Вирусларнинг таксономик тоифалари-----	80
- Вирусологияда қўлланиладиган текширув усуллари-----	82
- Хужайра культуралари-----	86
- Вирусларни индикация қилиш усуллари-----	88
- Вирусларни ундириб олишда товук эмбрионидан фойдаланиш-----	93
- Вирусларни кўпайтиришда лаборатория хайвонларидан фойдаланиш-----	94
- Вирусларни идентификация (типларини аниқлаш) қилиш-----	97
- Бактерия вируслари (Бактериофаглар)-----	98
<b>1.10. Мавзу 9: Микроорганизмларга ташқи муҳит омилларининг таъсири. Стериллашнинг сифатини, дезинфекция ва антисептик моддаларнинг таъсирини ўрганиш усуллари-----</b>	<b>104</b>
- Ташқи муҳит омилларининг микроорганизмларга таъсири-----	104
- Методик кўрсатмалар-----	113
<b>1.11. Мавзу 10: Хемотерапевтик моддалар ва антибиотиклар Микроорганизмларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш--</b>	<b>114</b>
- Хемотерапевтик препаратлар-----	114
- Антибиотиклар-----	117
- Методик кўрсатмалар-----	119
- Бактерияларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлашни янги усуллари-	125
<b>1.12. Мавзу 11. Микроорганизмлар экологияси. Тупроқ, сув, ҳаво микрофлораси. Атроф муҳит объектларини санитария-бактериология жиҳатдан баҳолаш-----</b>	<b>126</b>
- Микроорганизмларнинг экологияси-----	126
- Тупроқ микрофлораси-----	128
- Сув микрофлораси-----	129
- Ҳаво микрофлораси-----	131
- Атроф муҳит объектларини санитария-бактериология жиҳатдан баҳолаш---	132
<b>1.13. Мавзу 12: Одам организми нормал микрофлораси. Болаларда микрофлорани шаклланиши ва уларни ўрганиш усуллари-----</b>	<b>148</b>
- Одамнинг нормал микрофлораси-----	148
- Ичак микрофлораси унинг болаларда шаклланиши ва дисбактериоз-----	150
- Қин (вагинал) микрофлораси, унинг қиз болаларда шаклланиши ва ундаги дисбиотик ҳолатлар-----	154
- Одам микробиоценозининг сифат ва микдорий таркибини ўрганиш усуллари-	159
<b>1.14. Мавзу 13: Бактериялар генетикаси, юқумли касалликлар ва юқумли касалликлар жараёнлари-----</b>	<b>163</b>
- Бактерияларнинг ирсий материални тузилиши-----	163
- Бактериялардаги ўзгарувчанлик турлари-----	166

- Юқумли касалликлар ва юқумли касаллик жараёнлари-----	169
- Услубий кўрсатмалар -----	171
- Юқумли касалликлар диагностикасида замонавий молекуляр генетик усуллар-	174
- Лаборатория ҳайвонларга микроорганизмларни экспериментал юқтириш—	176
- Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсинлар кучини баҳолаш усуллари—	178
<b>2 Б О Б. Иммунология</b>	
<b>2.1. Мавзу 14. Иммуниетет ҳақида тушунча. Иммуниетет турлари.</b>	
<b>Организмнинг маҳсус ва номаҳсус ҳимоя омиллари -----</b>	<b>180</b>
- Иммуниетет ва организмнинг ҳимояланиш омиллари-----	180
- Организмнинг номаҳсус ҳимояланиши-----	182
- Сўлак таркибидаги лизоцим ферментини тажрибада қоғозли диск усулида аниқлаш-----	188
- Одам периферик қонидаги нейтрофилларни фогацитар активлигини (НФА аниқлаш)-----	191
<b>2.2. Мавзу 15. Антиген ва антителолар. Серологик реакциялар ҳақида тушунча. Агглютинация реакцияси, қўйилиши, аҳамияти----</b>	<b>191</b>
- Антигенлар -----	192
- Антителалар-----	195
- Агглютинация реакцияси -----	199
<b>2.3. Мавзу 16. Серологик реакциялар: комплементни боғлаш, бевосита, билвосита гемагглютинация, иммунофлюоресцент ва Кумбс реакциялари, қўйилиши ва аҳамияти-----</b>	<b>203</b>
- Методик қўлланмалар-----	203
- Комплементни боғлаш реакциясини қўйиш -----	203
- Кумбс реакцияси (КР) -----	205
- Билвосита гемагглютинация реакциясини қўйиш-----	206
- Иммунофлюоресцент усул -----	208
<b>2.4. Мавзу 17. Серологик реакциялар: Преципитация реакцияси, ИФА, иммуноблотинг реакциялари ва бошқа серологик реакцияларнинг қўйилиши ва аҳамияти-----</b>	<b>213</b>
- Преципитация реакцияси-----	213
- Иммунофермент анализ усули (ИФА)-----	217
- Иммуноблотинг реакцияси-----	219
<b>2.5. Мавзу 18. Иммун органлар. Т ва В лимфоцитлар системаси ва уларнинг субпопуляциялари, уларнинг организмдаги иммун реакциялардаги аҳамияти. Иммун тизимга баҳо бериш усуллари-----</b>	<b>219</b>
- Методик кўрсатма-----	220
- Иммун тизимга баҳо бериш усуллари-----	225
<b>2.6. Мавзу 19. Иммунопрофилактика ва иммунотерапия-----</b>	<b>235</b>
- Вакциналар-----	237
- Зардобли иммун препаратлар-----	241
- Иммуномодуляторлар-----	242
<b>3 БОБ. ХУСУСИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ</b>	
<b>3.1. Юқумли касалликларга микробиологик, вирусологик, иммунологик, микологик, ва паразитологик усуллар билан диогноз қўйиш, клиник микробиология-----</b>	<b>246</b>
- Микробиологик текшириш учун патологик материаллар олиш -----	248
- Материалларни лабораторияга юбориш ва текшириш усуллари -----	251

<b>3.2. Мавзу 20. Йирингли-яллиғланиш касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар-----</b>	<b>256</b>
- Стафилококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси-----	259
- Стрептококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси -----	264
- Кўк яшил йиринг таёқчаси юқумли касаллиги кўзғатувчисини бактериологик диагностикаси-----	273
- Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар келтириб чиқарган йирингли яллиғланиш жараёнларининг микробиологик диагностикаси-----	275
<b>3.3. Мавзу 21. Жароҳат анаэроб инфекциялари : газли гангрена, қоқшол кўзғатувчилари -----</b>	<b>279</b>
- Газли гангрена жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси-----	280
- Қоқшол кўзғатувчисини бактериологик диагностикаси-----	285
<b>3.4. Мавзу 22. Ҳаво-томчи инфекциялари: пневмококк, менингококк, клебсиелла, легионеллалар микробиологик диагностикаси---</b>	<b>289</b>
- Пневмококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси-----	291
- Менингококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси-----	295
- Легионеллалар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси-----	299
- Клебсиеллалар нафас йўлларида келтириб чиқарган инфекцияларни микробиологик диагностикаси -----	302
<b>3.5. Мавзу 23. Ҳаво-томчи инфекциялари: бўғма (дифтерия), кўк йўтал ва пара-коклюш кўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>306</b>
- Бўғма (дифтерия) кўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси-----	307
- Коклюш ва паракөклюш (кўкйўталларни) кўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси-----	313
<b>3.6. Мавзу 24. Ҳаво-томчи инфекциялари: туберкулёз, мохов ва актиномикоз кўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси--</b>	<b>320</b>
- Сил касаллигининг микробиологик диагностикаси-----	321
- Моховни микроскопик диагностикаси-----	330
- Актиномикознинг микробиологик диагностикаси-----	332
<b>3.7. Мавзу 25. Ичак инфекциялари: ичак таёқчаси ва иерсиниялар келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси----</b>	<b>335</b>
- Энтеропатоген E.coli келтириб чиқарувчи касалликлар диагностикаси-----	337
- Иерсинозлар микробиологик диагностикаси-----	341
<b>3.8. Мавзу 26: Қорин тифи ва паратиф А ва В кўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси---</b>	<b>345</b>
<b>3.9. Мавзу 26. Овқатдан захарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмлар: сальмонеллалар, ботулизм, протей ва бошқа бактериялар, микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>354</b>
- Овқат токсикоинфекциялари-----	356
- Овқат интоксикацияси-----	358
<b>3.10. Мавзу 28. Дизентерия (ичбуруғ) ва вабо кўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>360</b>
- Дизентерия (ичбуруғ) кўзғатувчининг микробиологик диагностикаси-----	361

- Вабонинг микробиологик диагностикаси-----	365
- Ичак юқумли касалликларида қўлланадиган диагностик, профилактик ва доволаш препаратлари -----	371
<b>3.11. Мавзу 29. Ўта хавфли инфекциялар: куйдирги (сибир яраси) ва ўлат кўзгатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>374</b>
- Куйдирги касаллигининг микробиологик диагностикаси-----	375
- Ўлат (тоун) касаллигининг микробиологик диагностикаси-----	381
<b>3.12. Мавзу 30. Ўта хавфли инфекциялар: бруцеллёз ва туляремия кўзгатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>386</b>
- Туляремия касаллигининг микробиологик диагностикаси -----	386
- Бруцеллёз касаллигининг микробиологик диагностикаси -----	390
<b>3.13. Мавзу 31. Тери-таносил юқумли касаллик кўзгатувчилари захм, сўзак, микоплазма, хламидия ва бошқалар. Уларнинг микробиологик диагностикаси -----</b>	<b>396</b>
- Сўзак (гонорея, триппер) касаллигининг микробиологик диагностикаси-----	396
- Захмнинг микробиологик диагностикаси-----	400
- Сийдик –таносил аъзолари микоплазмозининг микробиологик диагностикаси-----	408
- Сийдик –таносил аъзолари хламидозининг микробиологик диагностикаси-----	410
<b>3.14. Мавзу 32. Трансмиссив инфекциялар: риккетсиозлар, боррелиялар, лептоспирозлар. Уларнинг микробиологик диагностикаси-----</b>	<b>414</b>
- Риккетсиозларнинг микробиологик диагностикаси-----	414
- Қайталама тифнинг микробиологик диагностикаси-----	420
- Лептоспирозларнинг микробиологик диагностикаси-----	423
<b>3.15. Вируслар келтириб чиқарувчи ювумли касалликларнинг вирусологик диагностикаси-----</b>	<b>427</b>
- Ўткир респиратор вирусли инфекциялар кўзгатувчилари-----	428
<b>3.16. Мавзу 33. Ўткир респиратор вирусли инфекциялар: орто- ва парамиксовируслар оиласига кирувчи вирусларнинг вирусологик диагностикаси -----</b>	<b>430</b>
- Грипп, парагрипп ва аденовирус инфекцияларининг вирусологик диагностикаси-----	431
- Вирусларни индикация ва идентификация қилиш усуллари-----	436
<b>3.17. Мавзу 34. Ўткир нейротроп вирусли инфекциялар: полиомиелит, коксаки, ЕСНО ва қутириш вирусларнинг вирусологик диагностикаси-----</b>	<b>442</b>
- Полиомиелит, коксаки ва ЕСНО вируслари кўзгатувчи касалликларнинг вирусологик ва серологик диагностикаси-----	444
- Қутириш касаллигининг лаборатория диагностикаси -----	450
- Togoviridae, Bunyaviridae, Flaviviridae ва Arenaviridae оила вируслари келтириб чиқарувчи касалликларнинг диагностикаси-----	451
<b>3.18. Мавзу 35: Герпесвируслар, поксвируслар, аденовируслар келтириб чиқарган касалликларнинг вирусологик диагностикаси -----</b>	<b>452</b>
- ДНК сакловчи (дермотроп) вируслар(герпесвируслар, поксвируслар, аденовируслар, папававируслар, парвовируслар) келтириб чиқарувчи	

инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси -----	453.
<b>3.19. Мавзу 36: Гепатит вируслар ва уларнинг лаборатория диагностикаси-----</b>	<b>461</b>
<b>3.20. Мавзу 37. “Ортирилган иммун танқислиги вируси” (ОИТВ) га характеристика ва лаборатория диагностикаси-----</b>	<b>470</b>
<b>3.21. Мавзу 38. Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касаллик қўзғатувчилари. Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар. Лаборатория ташхиси-----</b>	<b>476</b>
- Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касаллик қўзғатувчилари ва уларни лаборатория диагностикаси-----	479
- Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар ва уларнинг лаборатория диагностикаси-----	480
<b>3.22. Фойдаланилган адабиётлар -----</b>	<b>496</b>