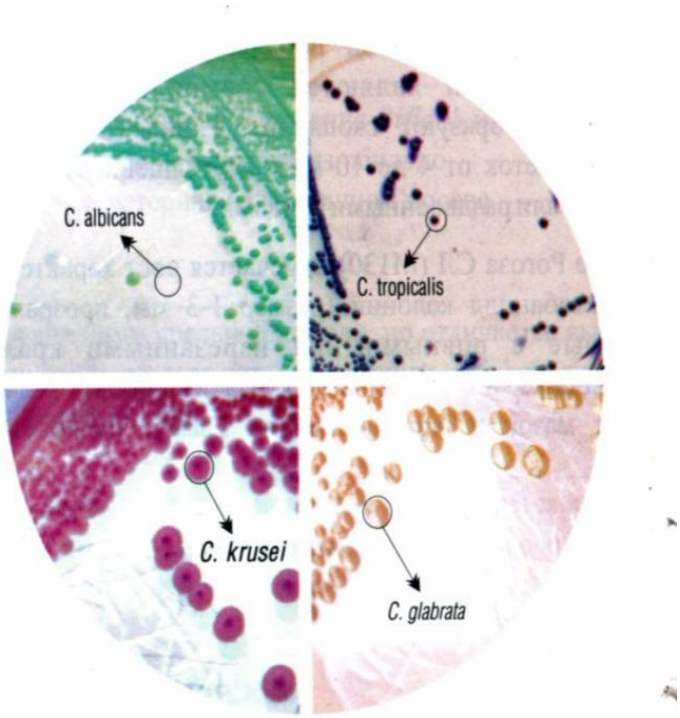
Тиббиёт ўқув юртлари учун дарслик

Мухамедов И.М., Алиев Ш.Р., Ризаев Ж.А., Хужаева Ш.А.

Микробиология, вирусология ва иммунология



Тошкент- 2018

Ўзбекистон Республикаси олий ва ўрта маҳсус таълим вазирлиги

Тошкент Давлат стоматология институти

Мухамедов И.М., Алиев Ш.Р., Ризаев Ж.А., Хужаева Ш.А.

Микробиология, Вирусология ва иммунология

Ўзбекистон Республикаси олий ва ўрта маҳсус таълим вазирлиги томонидан тиббиёт олий ўқув юртларининг барча таълим йўналишларида таълим олаётган талабалар учун дарслик сифатида тавсия этилган

Янги Аср Авлоди

Тошкент- 2018

И.М. Мухамедов ва бошқ.
Микробиология, вирусология ва иммунология. - Т.: “Янги аср авлоди” 2018.- 613 бет

Тақризчилар:

Нуралиев Н.А.	т.ф.д., профессор, Бухоро тиббиёт институти илмий ишлар бўйича проректори, микробиология кафедраси мудири
Миртазаев О.М.	т.ф.д., Тошкент тиббиёт академияси “Эпидемиология” кафедраси профессори
Нигматов Р.Н.	т.ф.д., профессор, Тошкент давлат стоматология институти “Ортодонтия ва тишларни протезлаш” кафедраси мудири

МУНДАРИЖА

I БЎЛИМ. УМУМИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ		
	Кириш	
	Қисқартирилган сўзлар рўйхати	
1 БОБ	Микробиологик лабораториянинг тузилиши, жиҳозлари. Бактериялар морфологияси ва структураси уларнинг ўрганиш усуллари	15
1.1.	Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларни ташкил қилиниши, жиҳозлари	15
1.2.	Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларда ишлаш қоидалари	19
1.3.	Микробиологик лабораторияларда қўлланиладиган асбоблар, анжомлар ва аппаратуралар	20
2 БОБ	Бактерияларнинг морфологияси, структураси ва уларни ўрганиш усуллари	27
2.1.	Шарсимон ва таёқчасимон бактериялар морфологияси	27
2.2.	Бактерияларни морфологиясини ўрганиш, ёруғлик микроскопида кўриш учун суртма тайёрлаш ва бўяш	29
2.3.	Бактерияларни структураси ва уларнинг ўрганиш усуллари	35
2.4.	Спирохета, риккетсия, хламидия, микоплазма ва актиномицетлар морфологияси, структураси, уларни ўрганиш усуллари	45
3 БОБ	Микроорганизмлар физиологияси	51
3.1.	Озиқ муҳитлар таснифи. Озиқ муҳитларни тайёрлаш	51
3.2.	Микроорганизмларнинг соф културасини ажратиб олиш усуллари	61
3.2.1.	Аэроб бактерияларнинг соф културасини ажратиб олиш усуллари	62
3.2.2.	Аэроб бактерияларнинг соф културасини ажратиб олиш босқичлари	67
3.2.3.	Анаэроб бактерияларни соф културасини ажратиб	73

	олиш усуллари	
3.2.4.	Бактерияларнинг биокимёвий хусусиятларини дифференциал-диагностик мақсадда ўрганиш	76
4 БОБ	Умумий вирусология. Вирусларни кўпайтириш усуллари. Вирусли юқумли касалликларга ташхис қўйиш. Бактериофаглар	83
4.1.	Вируслар морфологияси ва ультураструктура тузилиши (методик кўрсатма)	83
4.2.	Вирусологияда қўлланиладиган текширув усуллари	89
4.3.	Бактерия вируслари (Бактериофаглар)	105
5 БОБ	Микроорганизмларга ташқи муҳит омилларининг таъсири	112
5.1.	Физик омилларнинг микроорганизмларга таъсири	112
5.2.	Кимёвий факторларнинг микроорганизмларга таъсири	117
5.3.	Дезинфекция ва стерилизация сифатига баҳо бериш	120
6 БОБ	Химиотерапевтик моддалар ва антибиотиклар.Микроорганизмларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш	123
6.1.	Химиотерапевтик препаратлар	123
6.2.	Антибиотиклар	126
6.3.	Микроорганизмларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш усуллари	128
7 БОБ	Микроорганизмлар экологияси. Тупроқ, сув,ҳаво микрофлораси. Атроф муҳит объектларини санитар - бактериология жиҳатдан баҳолаш	136
7.1.	Микроорганизмларнинг экологияси	136
7.2.	Атроф муҳит объектларини санитар-бактериологик жиҳатдан баҳолаш	141
7.3.	Тупроқни санитар-микробиологик текшириш	147
7.4.	Сувни санитар-микробиологик текшириш	151
7.5.	Ҳавони санитар-микробиологик текшириш	156
8 БОБ	Одам организми нормал микрофлораси. Болаларда микрофлорани шаклланиши ва уларни ўрганиш	161

	усуллари	
8.1.	Одамнинг нормал микрофлораси	161
8.2.	Ичак микрофлораси, унинг болаларда шаклланиши ва дисбактериоз	161
8.3.	Қин (вагинал) микрофлораси, унинг шаклланиши ва дисбиотик ҳолатлари	166
8.4.	Ичак ва вагинал микробиоценоз сифат ва миқдорий таркибини ўрганишусуллари	171
9 БОБ	Бактериялар генетикаси, юқумли касалликлар ва уларнинг кечиш жараёнлари	176
9.1.	Бактериялар ирсий материалининг тузилиши	176
9.2.	Бактериялардаги ўзгарувчанлик турлари	178
9.3.	Генотипик ўзгарувчанлик бўйича услубий кўрсатмалар	181
9.4.	Юқумли касалликлар ва юқумли касаллик жараёнлари	188
9.5.	Лаборатор ҳайвонларга микроорганизмларни экспериментал юқтириш	190
9.6.	Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсинлар кучини баҳолашусуллари	192
10 БОБ.	Иммунология. Иммунитет хақида тушунча. Иммунитет турлари.Организмнинг махсус ва номахсус ҳимоя омиллари	194
10.1.	Иммунитет ва организмнинг ҳимояланиш омиллари	194
10.2.	Антиген ва антителолар	204
10.3.	Серологик реакциялар ва уларнинг амалиётда қўлланилиши	210
11 БОБ	Иммунитет органлари. Т- ва В-лимфоцитлар, субпопуляциялари, уларнинг организмдаги иммун реакциялардаги аҳамияти. Иммун тизимга баҳо бериш усуллари	229
11.1.	Иммунитет органлари, ҳужайралари ва уларнинг организм иммун реакцияларидаги аҳамияти (Методик кўрсатма)	229
11.2.	Иммун тизимга баҳо бериш усуллари	233

12 БОБ	Иммунопрофилактика ва иммунотерапия	242
12.1.	Вакциналар	243
12.2.	Зардобли иммун препаратлар	247
12.3.	Иммуномодуляторлар, эубиотиклар	249
	1-Бўлим бўйича назорат саволлари	
II БЎЛИМ. ХУСУСИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ		
13 БОБ	Йирингли-яллиғланиш касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар	256
13.1.	Стафилококкли юқумли касалликларнинг бактериологикдиагностикаси	256
13.2.	Стрептококкли юқумли касалликларнинг бактериологикдиагностикаси	261
13.3.	Кўк яшил йиринг таёқчаси юқумли касаллиги қўзғатувчисининг бактериологик диагностикаси	268
13.4.	Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар келтириб чиқарган йирингли – яллиғланиш жараёнлари микробиологик диагностикаси	270
14 БОБ	Жароҳат анаэроб инфекциялар: газли гангрена,қоқшол қўзғатувчилари	273
14.1.	Газли гангрена жароҳат анаэроб инфекцияларининг микробиологикдиагностикаси	273
14.2.	Қоқшолнинг бактериологик диагностикаси	278
15 БОБ	Ҳаво-томчи инфекциялари: пневмококк, менингококк,клебсиелла, легионеллалар микробиологик диагностикаси	282
15.1.	Пневмококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси	283
15.2.	Менингококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологикдиагностикаси	288
15.3.	Легионеллалар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси	292
15.4.	Нафас йўлларида клебсиеллалар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси	294
15.5.	Бўғма (дифтерия) қўзғатувчисининг микробиологик	297

	диагностикаси	
15.6.	Коклюш ва паракоклюш (кўк йўтал) қўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси	304
15.7.	Сил қўзғатувчисинингмикробиологик диагностикаси	310
15.8.	Мохов қўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси	316
15.9.	Актиномикознинг микробиологик диагностикаси	318
16 БОБ	Ичак инфекциялари қўзғатувчилари	320
16.1.	Эшерихиозлар келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси	322
16.2.	Иерсинозлар микробиологик диагностикаси	326
16.3.	Қорин тифи ва паратиф А ва В қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси	328
16.4.	Дизентерия (ичбуруғ) қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси	334
16.5.	Вабо қўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси	336
16.6.	Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмларва уларнинг микробиологик диагностикаси	342
17 БОБ	Ўта хавфли юқумли касаллик қўзғатувчилари микробиологик диагностикаси	351
17.1.	Қуйдирги юқумли касаллигининг микробиологик диагностикаси	352
17.2.	Ўлат (тоун) касаллигининг микробиологик диагностикаси	356
17. 3.	Туляремия қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси	361
17.4.	Бруцеллёз касаллигининг микробиологик диагностикаси	365
18 БОБ	Тери-таносил юқумли касаллик қўзғатувчилари, уларнинг микробиологик диагностикаси	371
18.1.	Сўзак (гонорея) касаллигининг микробиологик диагностикаси	372

18.2.	Заҳмнинг микробиологик диагностикаси	375
18.3.	Сийдик–таносил аъзолари микоплазмозининг микробиологик диагностикаси	381
18.4.	Сийдик–таносил аъзолари хламидозининг микробиологик диагностикаси	384
19 БОБ	Трансмиссив инфекциялар. Уларнинг микробиологик диагностикаси	386
19.1.	Риккетсиозларнинг микробиологик диагностикаси	386
19.2.	Қайталама тифнинг микробиологик диагностикаси	392
19.3.	Лептоспирозларнинг микробиологик диагностикаси	394
III БЎЛИМ. ВИРУСЛАР КЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРНИНГ ВИРУСОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ		
20 БОБ	Ўткир респиратор вирусли инфекциялар қўзғатувчилари, вирусологик диагностикаси	400
20.1.	Ўткир респиратор вирусли инфекциялар: орто- ва парамиксовируслар, аденовируслар оиласига кирувчи вирусларнинг вирусологик диагностикаси	401
21 БОБ	Ўткир нейротроп вирусли инфекциялар қўзғатувчилари, вирусологик диагностикаси	413
21.1.	Полиомиелит, Коксаки ва ECHO вируслари қўзғатган кассалликларнинг вирусологик ва серологик диагностикаси	414
21.2.	Рабдовируслар. Қутуриш касаллигининг лаборатория диагностикаси.	420
21.3.	Togoviridae, bunyaviridae, flaviviridae ва arenaviridae оила вируслари келтириб чиқарувчи касалликларнинг диагностикаси	421
22 БОБ	ДНК сақловчи вирусларкелтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологикдиагностикаси	427
22.1.	Герпесвируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси	428
22.2.	Поксвируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг	430

	вирусологик диагностикаси	
22.3.	Паповавируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси	432
22.4.	Аденовируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси	433
23 БОБ	Гепатотроп вируслар ва уларнинг лаборатория диагностикаси	435
23.1.	Гепатит А вируси, лаборатория диагностикаси	437
23.2.	Гепатит В вируси, лаборатория диагностикаси	438
23.3.	Гепатит Д (дельта) вируси,лаборатория диагностикаси	439
23.4.	Гепатит С вируси лаборатория диагностикаси	439
23.5.	Гепатит Е вирусилаборатория диагностикаси	440
24 БОБ	“Орттирилган иммун танқислиги вируси” (ОИТВ)	444
24.1.	ОИТВ нинг лаборатория диагностикаси	446
25 БОБ	Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касаллик қўзғатувчилари	449
25.1.	КТЮКнинг лаборатория диагностикаси	452
26 БОБ	Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар	452
26.1.	Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликларнинг лаборатория диагностикаси	452
27 БОБ	Паразитар инвазияларнинг микробиологик диагностика усуллари	466
IV БЎЛИМ		
28 БОБ	Оғиз бўшлиғининг нормофлораси ва унинг функционал аҳамияти	478
29 БОБ	Оғиз бўшлиғи асосий биотопларининг тавсифи ва уларни ўрганиш усуллари	488
30 БОБ	Меъёрда ва патологик ҳолатларда оғиз бўшлиғи иммун тизимининг аҳамияти	503

31 БОБ	Патологик жараёнларда оғиз бўшлиғи микробиологияси	517
32 БОБ	Ясама тишларнинг оғиз бўшлиғи микрофлораси ва маҳаллий ҳимоя омилларига таъсири	533
33 БОБ	Бактериал инфекциялар ва уларда оғиз бўшлиғидаги ўзгаришлар	542
34 БОБ	Вирусли инфекциялар ва уларда оғиз бўшлиғидаги ўзгаришлар	562
35 БОБ	Стоматологияда микробларга қарши терапия ва профилактиканинг принциплари	580
36 БОБ	Ҳар хил ихтисосликдаги стоматологик бўлимларнинг санитар-эпидемиологик тартиби	
	Назорат саволлари	
	Илова	
1-илова	Талабалар мустақил бажарадиган амалий кўникмалар рўйхати	
2-илова	Рангли расмлар	
Фойдаланилган адабиётлар рўйхати		

КИРИШ

Ҳозирги вақтда 2017-2021 йилларда Ўзбекистонни ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг асосий бўғинларига аҳолига кўрсатилаётган тиббий хизматни яхшилаш масаласи ҳам киради. Бунга кўра замонавий технологиялардан фойдаланиб, касалликларни ўз вақтида ташхислаш, юқори малакали, сифатли тиббий ёрдам кўрсатиш, албатта, аҳоли турмуш сифатини оширишга хизмат қилади.

Ушбу масалалар юзасидан охирги йилларда Ўзбекистон Республикаси Президенти томонидан бир қанча қарорлар қабул қилинди.

“Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017-2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-3071-сонли, “Олий таълим тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-2909-сонли, “Ўзбекистон Республикасида тиббий таълим тизимини янада ислоҳ қилиш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-2956-сонли қарорлар шулар жумласидандир.

ПҚ-2956-сонли қарорда тиббиёт олий таълим муассасалари талабалари учун халқаро стандартларга жавоб берадиган дарсликлар яратишга катта эътибор берилган. Микробиология, вирусология ва иммунология фанларини ўрганишга бағишланган ушбу дарслик шу қарор ижросини таъминлаб беради.

Маълумки, микробиологик текшириш натижаларига асосланган ҳолдаюқумли 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, рикккетсиялар, 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 усулларини кенгроқ ёритишга ҳаракат қилинди.

Сўнгги йилларда кўпайиб бораётган ҳамда ташҳис қўйишда муаммолиҳисобланган ҳужайра ичи бактериялари (хламидия, риккетсиялар) вамикоплазма 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 касалликларнинглаборатория ташҳиси, профилактикаси ва даволаш усуллари баён этилди.

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

Дарсликда, Ўзбекистон Республикасида биринчи маротаба, стоматология факультети талабалари учун меъёрда ва патологияда оғиз бўшлиғи микробиологиясига бағишланган бўлим киритилди.

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 билдирадилар.

Муаллифлар

ҚИСҚАРТМАЛАР РЎЙХАТИ

Аг	– антиген
Ат	– антитело
ГПА	– гўшт пептонли агар
ГАР	– гемагглютинация реакцияси
ГПБ	– гўшт пептонли бульон
ДНК	– дезоксирибонуклеин кислота
ДСЭНМ	– давлат санитария-эпидемиология назорат маркази
ИТГБ	– ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар
ИФА	– иммунофермент анализ
ИФР	– иммунофлюоресценция реакцияси
КБР	– комплемент боғлаш реакцияси
КҲҚБ	– колония ҳосил қилувчи бирлик
ЛН	– лактозонегатив эшерихий
ЛП	– лактозопозитив эшерихий
НР	– нейтрализация реакцияси
ПЗР	– полимераза занжирли реакция
РНК	– рибонуклеин кислота
ТКБ	–термотолерант колиформ бактериялар
УМС	–умумий микроблар сони
ҲПТ	– ҳужайрага патогенетик таъсири
СД	– cluster determinant
СД16	– Т-киллер
СД19	– В-лимфоцит
СД3	– лимфоцилар умумий тўплами
СД4	– Т-хелпер
СД8	– цитотоксик Т-супрессор
ШПМ	– шартли патоген микрофлора
Ig A	– иммуноглобулин А синфи
Ig G	– иммуноглобулин G синфи
Ig M	– иммуноглобулин М синфи

I БЎЛИМ. УМУМИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ

Микробиология фанининг ушбу бўлимида бактериологик, вирусологик васерологик лабораторияларнинг тузилиши, асбоб-ускуналари, ҳамда бактериологик, вирусологик текширишларда қўлланиладиган асосий усуллар: озиқ муҳитларни 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 физикавий, кимёвийомилларини микроорганизмларга таъсири, антибиотикларнинг активлиги, бактерияларнинг уларга сезувчанлиги ҳамда бактериялар ирсиятининг асосларини текшириш усулларини ҳам кўриб чиқишади.

Ўтказилган машғулотлар талабаларга маърузаларда олинганбилимларини мустаҳкамлаш ва бактерияли, вирусли касалликларга лаборатория ташхисини қўйишда ҳамда атроф муҳитни санитария-бактериологик жиҳатдан текширишда, эгалланган микробиологик текшириш маҳоратидан фойдаланиш имконини беради.

1. БОБ. МИКРОБИОЛОГИК ЛАБОРАТОРИЯ ТУЗИЛИШИ, ЖИҲОЗЛАРИ. БАКТЕРИЯЛАР МОРФОЛОГИЯСИ ВА СТРУКТУРАСИ, УЛАРНИ ЎРГАНИШ УСУЛЛАРИ

1.1. Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларни ташкил қилиниши, жиҳозлари

Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораториялар республика, шаҳар, туман махсус ДЭСНМлари таркибида, йирик даволаш профилактик шифохоналарда ва тиббиёт институтларида (талабалар билан машғулот ўтиш учун) ташкил қилинади.

Бактериологик лабораториялар комплекс хоналардан ва махсус ускуна, жиҳозлардан таркиб топган, бактериологик усулларда текширувлар олиб боришга мўлжалланади.

Шаҳар ва туман ДСЭНМ таркибида бактериологик лабораториялар қуйидаги текширувларни амалга оширади:

- юқумли касалликларга бактериологик ташхис қўйиш;
- бактерия ташиб юрувчиларни аниқлаш, ташхис қўйиш;
- сув ҳавзаларига ва ичимлик сувига санитар бактериологик баҳо бериш;
- тупроқни санитар бактериологик текшириш;
- турар жой ва даволаш профилактик муассасаларнинг ҳавосини, санитар ҳолатини санитар бактериологик текшириш;
- озиқ овқат маҳсулотларини санитар бактериологик текшириш;
- тиббий материалларни стериллиги, дезинфекциясифатлари мунтазам текшириб борилади.

Шаҳар миқёсида йирик даволаш профилактик шифохоналарда ҳам бактериологик лабораториялар ташкил қилинади. Бу даволаш профилактик шифохоналар таркибидаги бактериологик лабораторияларда 3- ва 4-гуруҳ юқумли касалликлар (ичак, ҳаво - томчи, йирингли инфекциялар)ташхиси учун текширувлар ўтказилади. Шу билан бир қаторда шифохонанингсанитар гигиеник ҳолатига баҳо беришда, стериллаш ва дезинфекциясифатлари ҳам мунтазам текшириб турилади.

Бундан ташқари Республика ва вилоятлар миқёсида “Ўта хавфли юқумли касалликлар” (ўлат, бруцеллёз, куйдирги, туляремия вабошқ.) лабораториялари ташкил қилинади. Бу лабораторияларда ўта хавфли юқумли касалликлар қўзғатувчилари аниқланади ва ташхис қўйилади.

Республика ва шаҳар миқёсида махсус даволаш шифохоналари (сил, тери таносил, юқумли касалликлар) ва илмий текшириш институтларида ҳам бактериологик лабораториялар ташкил қилинади.

Вирусологик лабораториялар республика, шаҳар, вилоят ДСЭНМ лари таркибида ва Вирусология илмий текшириш институтида ташкил қилинган. Бу лабораторияларда вируслар келтириб чиқарувчи касалликлар (грипп,полиомиелит, қизамиқ ва бошқалар) хламидия (орнитоз ва бошқалар) вариккетсиялар чақирувчи касалликларга (тошмали тиф, КУ –иситмаси вабошқ.) ташхис қўйилади. Вирусологик лабораторияларни ташкил этиш важиҳозлашда вируслар, ҳужайра культуралари, товуқ эмбрионлари валаборатория ҳайвонлари билан ишлаш учун махсус бокслар кўзда тутилади важуда қаттиқ асептик шароитлар талаб этилиши ҳисобга олинади.

ДСЭНМ тасарруфидаги бактериологик лабораторияларда профилактика мақсадида аҳоли текширувлардан ўтказилади ва озиқ - овқатларни санитар-бактериологик текширувларини амалга оширади.

Лабораторияларни ташкил қилишда Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни Сақлаш Вазирлигиқошидаги режим ҳаъйатининг талаб қоидаларига қаттиқ амал қилинади ва Республика, шаҳар, вилоят ва туманда жойлашган бактериологик лабораториялар қурилиши махсус лойиҳалар асосида қурилади.

Бактериологик лаборатория таркибига киради:

- бактериологик текширувлар ўтказиш учун мўлжалланган хоналар; коммунал (қўшимча хоналар).

Бактериологик текширувлар ўтказиш учун мўлжалланган хоналар ходимларга хавф туғдириш даражасига қараб 2 та минтақа(зона) га бўлинади:

I. “Юқумли” минтақа – бу хоналарда ходимлар патоген биологик агентлар билан ишлашади ва патоген бактериялар сақланиши мумкин, шунинг учун бу зонада ходимлар тегишли ҳимоя кийимини ишлатади.

II. “Соф” минтақа - бу хоналарда ходимлар биологик материаллар билан ишламайди ва ўз кийимларида юриши мумкин.

Ишнинг ҳажми ва мақсадларидан келиб чиққан ҳолда лабораторияларда бактериологик текширувлар ўтказиш учун мўлжалланган қуйидаги хоналар бўлиши керак, яъни:

а) лабораторияга келтирилган патологик материалларни қабул қилиш,рўйхатга олиш ва уларнинг жавобини бериш учун хона;

б) айрим бактериялар гуруҳи (ичак, ҳаво - томчи, санитария ва бошқ.) биланишлаш учун хоналар;

г) серологик текширишлар ўтказиш учун хона.

Шу билан бир қаторда хоналарининг бирига ойнали махсус бокс жиҳозланади – асептик шароитда ишлаш учун, бокс хонасида тамбур (предбоксник) бўлади. Бокс хонасига стол, стул, патологик материалларни экиш учун жиҳозлар ва бактериоцид лампалар қўйилади. Тамбурда эса стерил материалларни сақлаш учун шкаф, термостат қўйилиши мумкин. “Юқумли “зонада хоналарни деразаси ва эшиклари герметик беркилиши зарур. “Юқумли” минтақа бошқа шамоллатиш тизимларидан ажратилган бўлиши ва шу минтақа учун махсус шамоллатиш мосламалари ўрнатилган бўлиши керак.

Коммунал, қўшимча хоналар:

❖ автоклав ёки стерилизацион хона ишлатиб бўлинган биологик материалларни, зарарланган идишларни зарарсизлантирувчи хона;

❖ ювиш хонаси - идишларни ювиш учун мўлжалланган мосламалар;

❖ бактериологик ошхона-бактерияларни ўстириш учун озиқ-муҳитларни тайёрлаш, қуйиш, стерилизация қилиш ва сақлаш учун;

❖ виварий - тажриба учун мўлжалланган лаборатория ҳайвонларини сақлаш учун;

❖ материал хоналар – заҳира реактивлар ва лаборатория идишлари, жиҳозлар, аппаратуралар ва маиший инвентарлар сақлаш учун.

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

Замонавий йирик лабораторияларда бактерияларнинг идентификация (саралаш) қилишда компьютерли дастурлар мавжуд. Шу билан бир қаторда серологик, вирусологик лабораторияларда иммунофермент, иммуноблотинг текшириш учун асбоб анжомлар зарур.

Лабораторияда микроскопик препаратларни бўяш учун алоҳида жой ажратилган бўлади. Бу ерда бўёқлар эритмаси, спирт, кислоталар, реактивлар, фильтр 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 миқдорда озиқ муҳитлар, кимёвий реактивлар, диагностик препаратлар ва бошқа керакли нарсалар бўлиши зарур.

1.1-жадвал

Бактериологик лабораторияда кундалик ишлаш учун зарур бўлган предметлар

Предмет номлари	Тахминий миқдори
1. Бўяш учун реактив бўёқлар мажмуаси	
2. Буюм ойнаси	25-50
3. Ёпқич ойна	25-50
4. Чуқурчали буюм ойна	5-10
5. Пробиркалар учун штативлар	
6. Бактериологик қовузлоқ	
7. Шиша шпател	
8. Метал шпател	
9. Пахта учун банка	
10. Пипеткалар 1, 2, 5, 10 мл	Ҳар бир ҳажм учун 25-30
11. Пастер пипеткаси	25-50
12. Пинцет, қайчи, скальпел	1 донадан
13. Дезинфикция эритмаси учун идиш	
14. Микроскоп ёриткич билан	
15. Лупа 5´	
16. Иммерсион ёғ	
17. Фильтр қоғози	3-5 саҳифа
18. Дезинфиксация суюқлиғи учун(пипеткалар) идиш	
19. Спиртовка ёки газли горелка	
20. Препаратларниқўйиш учун мослама	
21. Қум соат 1 ёки 2 минутли	1 тадан
22. Резина трубка учун нокчалар	
23. Шишага ёзиш учун қалам	
24. Спирт шимдирилган пахта қўйилган банка	
25. Зарур бўладиган стерил идишлар	-

1.2. Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларда ишлаш қоидалари.

Мавжуд бактериологик, вирусологик ва серологик лабораторияларда юқумли касалликларни қўзғатувчи, яъни патоген микроорганизмлар билан ишолиб 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 қаътий риоя қилиниши керак.

2. Лабораториянинг барча ходимлари оқ халат, оқ қалпоқча ёки оқ рўмолча ўраб,махсус алмаштириладиган оёқ кийимида ишлашлари керак. Лабораторияга халатсиз кириш мутлақо мумкин эмас. Зарур ҳолларда ходимлар юзларига докадан тайёрланган ниқобларбилан ишлашлари мумкин. Вирусологик ва ўта хавфли махсус режимли лабораторияларда ходимлар махсус қабул қилинган кўрсатмаларга риоя қилган ҳолда ишлашади.

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

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

5. Фавқулодда юқумли материаллар иш столига, полга ва бошқа жойларга тушса, бужой дезинфекция қилувчи эритма билан яхшилаб зарарсизлантирилиши зарур.

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

7. Ишни тамомлагач, иш жойи тартибга келтирилади ва қўлни яхшилаб ювиш, керак холларда, 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 ваўқитувчи 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.

1.3. Микробиологик лабораторияларда қўлланиладиган асбоблар, анжомлар ва аппаратуралар

Бактериологик, вирусологик ва серологик лабораториялар ҳозирги кунда қуйидаги замонавий асбоблар ва анжомлар билан таъминланган бўлиши керак,яъни: биологик ва қўшимча мосламали (ёруғлик берувчи, фазо-контраст) люминесцент, электрон микроскоплар, термостат, анаэростат, стериллаш учунасбоблар (автоклав, қуритиш, стериллаш шкафи), сув ҳаммоми, рН-метрлар,дистилланган сув тайёрлайдиган асбоблар (дистиллятор), центрифугалар,техник, аналитик тарозилар, фильтрлайдиган асбоблар (Зейтц фильтри вабошқалар), 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, Пастерпипеткаси ва белгиланган пипеткалар) ва бошқалар.

Замонавий йирик лабораторияларда бактерияларнинг идентификация қилишда (саралашда) компьютерли дастурлар мавжуд. Шу билан бир қаторда серологик, вирусологик лабораторияларда иммунофермент, иммуноблотингтекшириш учун асбоб анжомлар ва ПЗР аппарати зарур.

1. Термостат. Бу аппаратда иссиқлик бир хил даражада сақланиб туради ватемпературани махсус бактерияларни ўстириш учун тартибга солиб туришмумкин. Кўпчилик бактерияларни кўпайиши учун қулай температура 37^0 С ҳисобланади. Термостатлар қуруқ ҳаволи ва сувли бўлади (1.1-расм). Термостатлардан амалиётда бактерияларни ўстириб олишда фойданилади.

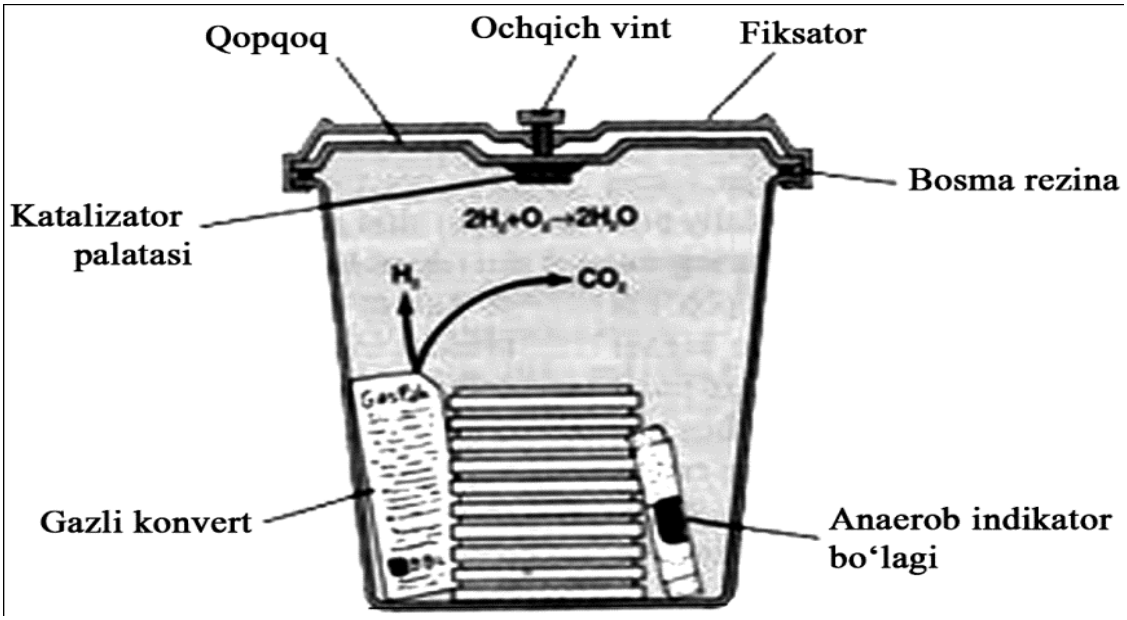
2. Микроанаэростат. Ҳозирги кунда жуда кўплаб модификациялари ишлаб чиқарилган. Бу асбобларнинг асосий хусусияти анаэроб бактерияларни ўстириш учун кислородсиз шароит яратилишидан иборат (1.2-расм).

3. Автоклав. Бу асбоб буғ ва босим билан стериллашга мўлжалланган. (1.3-расм). Бактериологик лабораторияларда автоклавларнинг турли модификация моделлари (горизонтал,

вертикал, стационар ва кўчириш мумкин бўлган турлари) ишлатилади. Асосан автоклавлар лабораторияда озиқ муҳитлар, лаборатория идишлари ва бошқа материалларни стериллашда ва ажратиб олинган бактерияларни ўлдиришда қўлланилади.

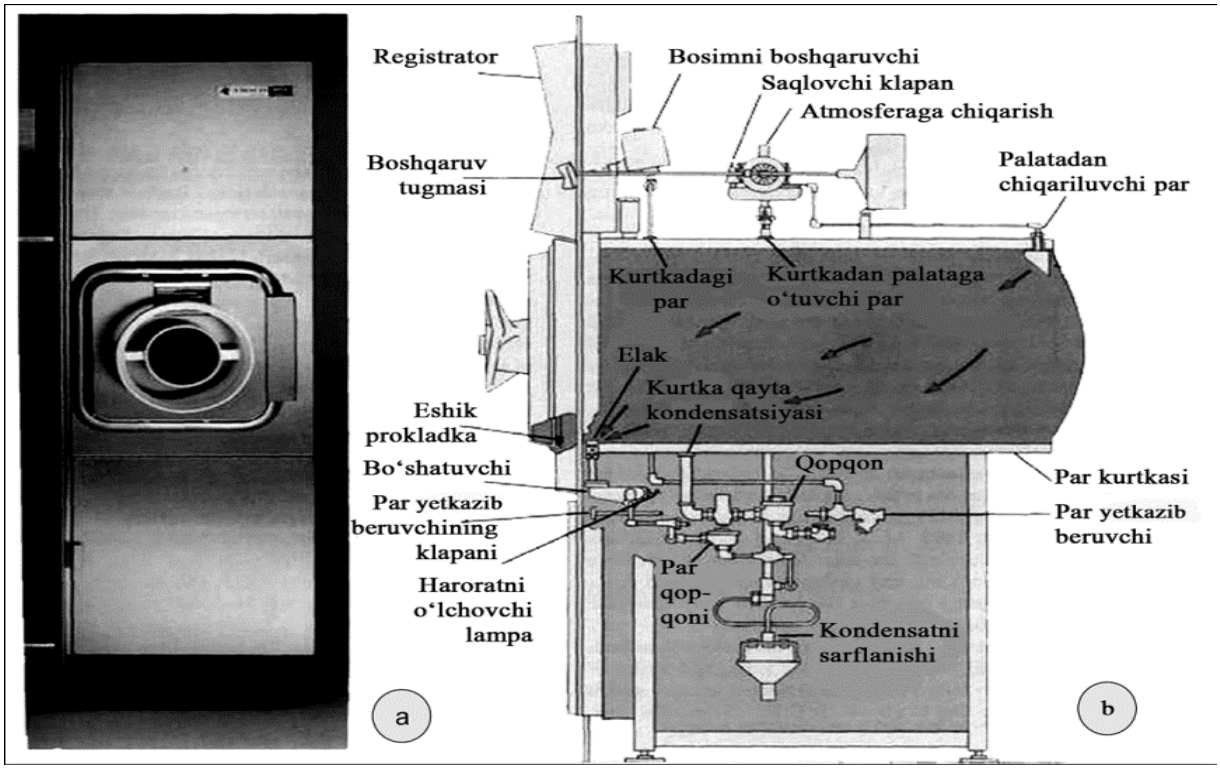
Тузилиши металл ёки оргшишадан қилинган цилиндр бўлиб қопқоғи герметик беркилади. Қопқоғида вакуумметр ва иккита кран бўлиб, бу кранлар ёрдамида цилиндр камерадан ҳаво сўриб олиниши ёки керакли газ аралашмалари юборилиши мумкин. Охирги йилларда HIMEDIA компанияси томонидан чиқарилган оргшишали микроанаэростат бактериологик амалиётда кенг қўлланилмоқда (1.2-расм).

1.1-расм. Микробиологик мақсадларда қўлланиладиган асбоблар: 1.Сув ҳаммоми. 2. Аналитик тарозилар. 3. Қуритиш шкафи. 4.Термостат.



1.2-расм. Микроанэростатнинг тузилиши ва ишлаш тартиби.

4. Қуритиш шкафи (Пастер печи). Бу асбобларни ҳам ҳозирги кунда турли хиллари ишлатилади. Бу асбобларда ҳарорат 180-200ºС гача кўтарилишимумкин (1.1-расм). Асосан ҳароратга чидамли лаборатория идишлари ва бошқаматериалларни стериллаш учун қўлланилади.



1.3-расм. Автоклав: а) ташқи томондан кўриниши; б) ишлаш тартиби.

5. Холодильниклар (Музлаткичлар). Бактерияларни музей культурасини,озиқ муҳитларни, қон, вакцина, диагностик зардоблар ва бошқа биологикжиҳатдан актив препаратларни паст ҳароратда (4ºС атрофида) сақлаш учунфойдаланилади. Бундан ташқари баъзи биопрепаратлар жуда паст ҳароратлимузлаткич камераларида ҳам сақланади. Бундай музлаткич камераларда ҳарорат -20ºС ва ундан ҳам паст бўлиши мумкин.

6. Центрифугалар. Бу асбоблар ёрдамида патологик суюқ материалларда(сийдик, сув ва бошқаларда) микроорганизмларни чўктириб, уларнингмиқдорини ошириш ва бошқа ҳужайраларни 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.

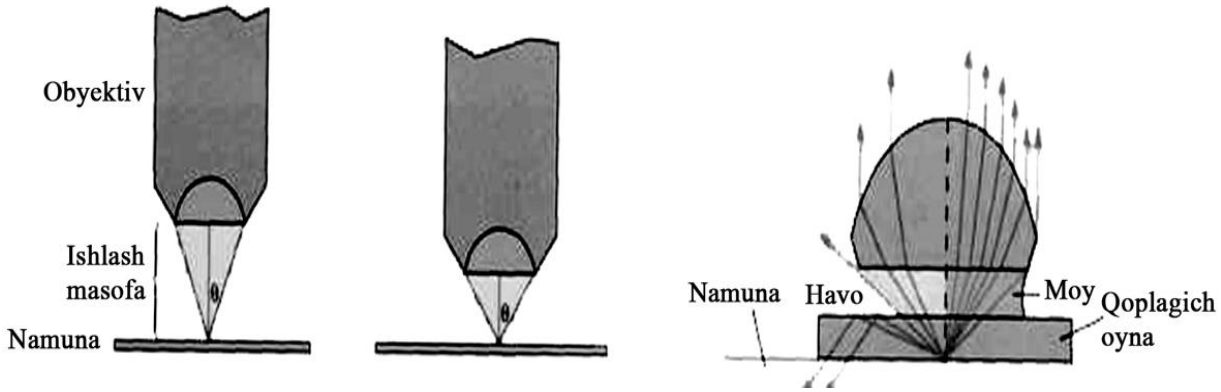
7. Микроскоп ва микроскопия қилиш усуллари. Микробиологик текширувлар учун микроскопларнинг бир неча турлари (биологик, люминесцент, электрон) ва микроскопда кўришнинг махсус усуллари ва мосламалари (фазо-контраст, қоронғи кўрув майдони) данфойдаланилади.

Биологик микроскоп. Микробиология амалиётида ҳозирги кунда ишлабчиқарилган кўплаб микроскоплар қўлланилади (МБР-1, МБИ-1, МБИ-2, МБИ-3,МБИ-6, Биолам Р-I ва бошқ.). 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 амалиётда кўпроқ Биолам монокуляр ёки бинокулярмикроскопларидан фойдаланилади.Микроскоп иккита оптик ва механик қисмлардан ташкил топган. Оптик қисмигамикроскоп пастида жойлашган объективлар киради. Улар объектни катта қилиб кўрсатувчива оптик камчиликларни тўғриловчи линзалардан иборат. Объективлар қуруқ ва иммерсион тизимга (immersia — қамраб олиш) бўлинади. Биолам микроскопларда учта қуруқ ва биттаиммерсион объектив бор. Ҳар бир объектив устида улар тўғрисидаги маълумотлар ёзилган:1) х8, х20,х40. х90 ёки х100; 2) сонли агертура; 3) заводда чиқарилган номери.

Булар билан бирқаторда иммерсион объективларда 90 ва қўшимча ИО ёки МИ (иммерсион объектив ёки мойли иммерсия) ҳарфли индекс ёзилган, ҳамда объективнинг пастки қисмида қора

чизиқўтказилган. Иммерсион объективнинг тўғрига йўналтирилган (фронтал) линзаси калта фокус оралиғига эга (f =1,5-3 мм). Микроскоп орқали кўрилаётганда линза олдиндан томизилганмойга ботирилади. Иммерсион мойнинг нурни синдириш кўрсаткичи (1,52), ойнанингсиндириш кўрсаткичига яқин. Бунда объективга тушаётган нурлар тўлиқ сақланади (1.4-расм).

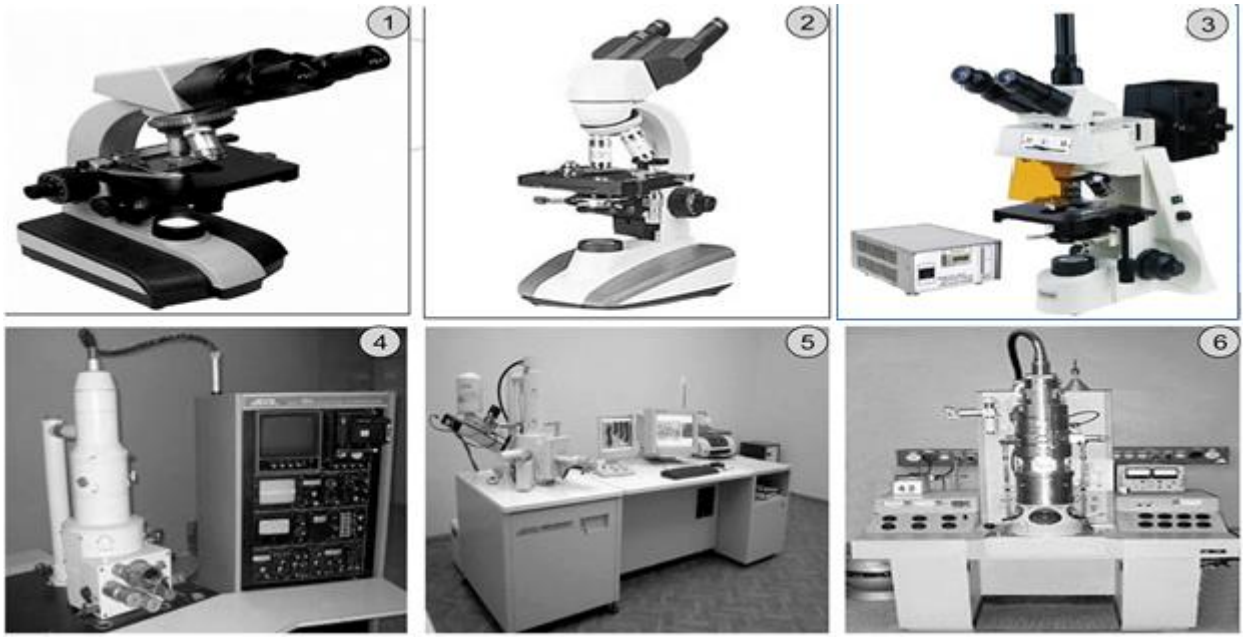


1.4- расм. Иммерсион системадаги нур йўналиши

Қоронғи кўрув майдонидаги микроскопия.

Қоронғи кўрув майдонида микроскопостида кўриш. Суюқликдаги жуда майда заррачалар аралашмасини (Тиндалэффекти) ёнтомонидан 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, қоронғиликка ва нурларни қайтариш учун ички кўзгули юзага эга. Кардиоид-конденсорда ёруғлик нурлари аввал қабариқ 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 қоронги фонидаги микроб ҳужайралар ва бошқа заррачаларнинг контурларида ёруғ нурларнинг ўзига хостасвирини ҳосил қилади.



1.5-расм. Микробиологик амалиётда қўлланиладиган микроскоплар: 1,2- бинокуляр микроскоплар;3-люминесцент микроскоп; 4-лазерли конфакал микроскоп; 5-интерференцияловчи компьютерли микроскоп; 6-электрон микроскоп.

Люминесцент ёки флюоресцент микроскопда кўриш. У фотолюминесценция ҳодисасига асосланган (1.5-расм).

Люминесцентция (*lumen* — сўзидан олинган бўлиб, ёруғликнианглатади) — флюоресценция қилувчи объектларни микроскопия қилиб кузатишда қўлланилади. Люминесцент микроскопияда кучли манбадан тарқалган ёруғлик иккита фильтрдан ўтади.

Биринчи фильтр текширилаётган намунага ёруғлик етмасдан ушлаб қолади. Лекин намунадаги флюоресценцияни активлаштирувчи ёруғликни узун тўлқинини ўтказади. Иккинчи фильтр флюоресценция тарқатувчи намунанинг ёруғлик тўлқинини ўтказади. Шундай қилиб флюоресценция тарқатувчи намуна ўзига бир ёруғлик тўлқинининг узунлиги ютади ва уни бошқа ёруғлиқ спектирида тарқатади. Бирламчи люминесценция объект олдиндан бўялмаса ҳам кузатилади. Иккиламчи люминесценция эса препаратни махсус люминесцент бўёқлар – флюорохромлар билан бўялганда ҳосил бўлади. Охирги йилларда флюорохром билан нишонланган иммуноглобулинли диагностикумлар чиқарилмоқда.

Люминесцент микроскопия бошқа оддий усулларга нисбатан бирмунчаафзалликларга эга: тирик микроорганизмларни текшириш ва текширилаётганматериалда жуда кам миқдорда бўлса ҳам уларни

топиш. Лабораторияамалиётида кўпчилик микроорганизмларни аниқлаш ва ўрганиш учунлюминесцент микроскоплардан кенг фойдаланилади.

Электрон микроскоп.Электрон микроскоп ёрдамида ёруғликмикроскопи билан кўриб бўлмайдитан (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 имкониятиамалда 0,1- 0,2 нм бўлиб, умуман 1 000 000 марта катта қилиб кўрсатади (1.5-расм).

«Нур тарқатувчи» электрон асбоблар билан бир қаторда сканерлайдиганэлектрон микроскоплардан ҳам фойдаланилади. Улар объект рельефини яхшикўрсатади. Аммо бу микроскопларнинг катта қилиб кўрсатиш имконияти «нуртарқатувчи» электрон микроскопникидан кам.

Интерференцияловчи компьютерли микроскопия – ҳужайраларни субмолекуляр даражада юқори тиниқликка эга бўлган тасвирларини олиш мумкин (1.5-расм).

Лазерли конфакал микроскопия- объектларни аниқ тасвирини бутунмайдон бўйлаб кўриш мумкин. Компьютер технологияларини қўллаш орқалиобъектни реконструкция қилиш ҳам мумкин(1.5-расм).

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

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

1) тайёрланган ва бўялган суртмага иммерсион мойидан кичкина томчитомизилади ва препарат буюм столига қўйилади (қисқич билан қистирибқўйиш 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 фронталлинзани синдириши мумкин (иммерсион объективнинг препарат биланбўялган оралиғи 0,1-1 мм бўлиши керак).Иш якунига етгач, иммерсион объективдаги мойни махсус материал биланяхшилаб артиш ва револьверни кичик, қуруқ 8 объективга айлантириб қўйишшарт.

2-БОБ.БАКТЕРИЯЛАРНИНГ МОРФОЛОГИЯСИ, СТРУКТУРАСИ ВА УЛАРНИ ЎРГАНИШ УСУЛЛАРИ

2.1.Шарсимон ва таёқчасимон бактериялар морфологияси

Бактериялар — бир ҳужайрали микроорганизмлардир. Улар турлишаклда бўлиб, мураккаб тузилишга эга, бу эса улар фаолиятининг турли-туманлигини белгилайди. Бактерияларни асосан тўрт шакли бўлиб, улар қуйидагича:шарсимон, таёқчасимон, бурама шаклли,эгилган.

Шарсимонбактериялар — кокклар (юнонча coccus- дон, мағиз деган сўздан олинган) бўлиниш сатҳи ва ҳар бир ҳужайранинг суртмада жойлашишига кўра кокклар бир-биридан фарқ қилади (2.1-расм).

1. Алоҳида-алоҳида жойлашган коккларни микрококклар деб аталади,улар сапрофит, касаллик келтириб чиқармайди

2. Диплококклар – суртмада жуфт- жуфт бўлиб жойлашган кокклар.

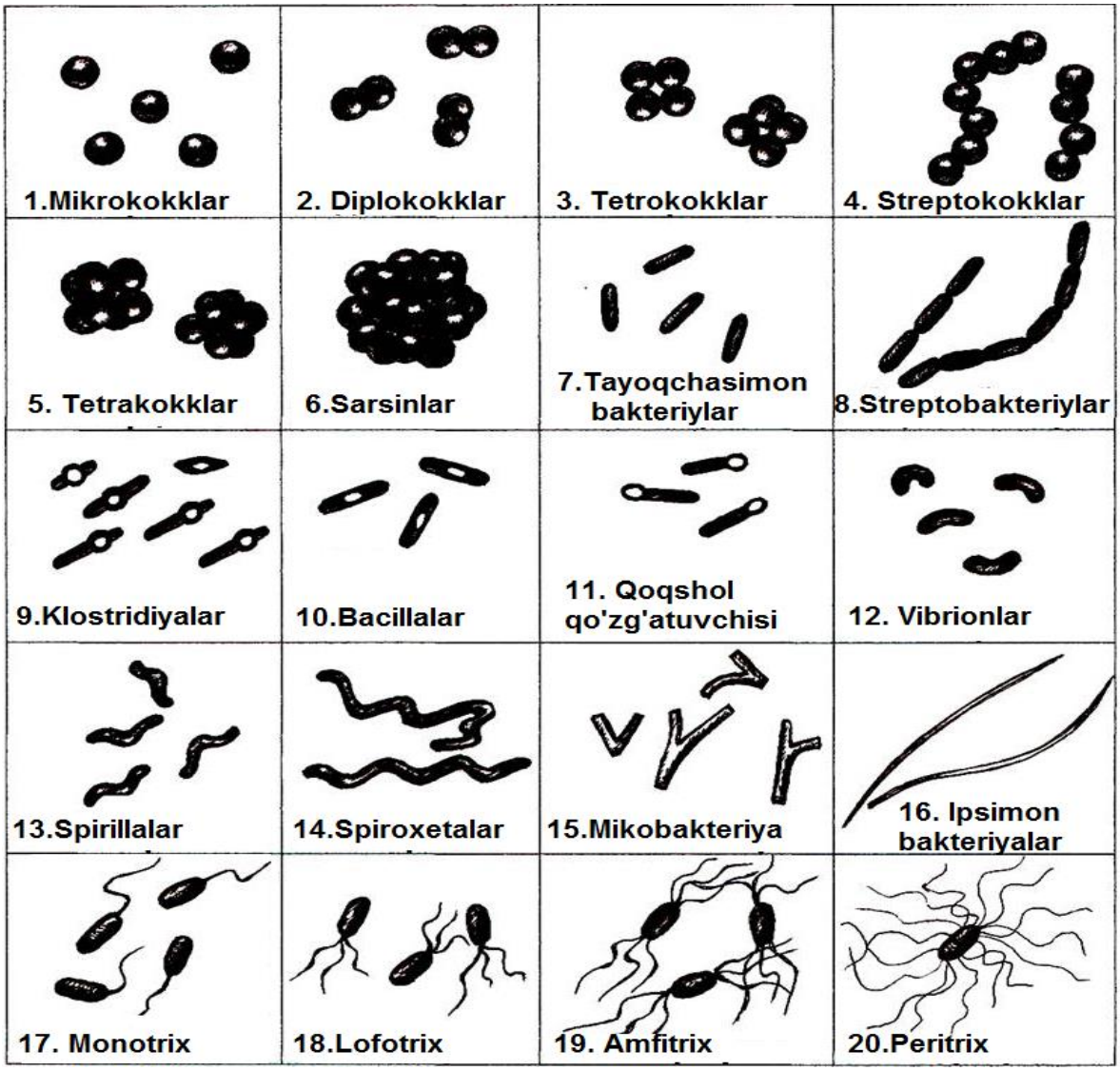
Диплококлар орасида одамда учровчи ҳар хил касалликларнинг қўзғатувчилари(пневмококклар, гоногокклар, менингококклар) бор.

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

4. Стафилококк (узум шингилига ўхшаб жойлашган). Бўлиниши муайянтартиб билан бормайдиган бўлса, у вақтда кокклар биргаликда қолаверади ваузум шингилига ўхшаш тўпламлар ҳосил қилади.Одам учун патоген турларимавжуд.

Таёқчасимон бактериялар - (юнонча bacteria - таёқча деган сўздан олинган). Булар ҳам бир-бирларидан ўлчами, шакли, суртмада жойлашиши ватаёқчаларни учини кўриниши бўйича фарқ қилади (7-расм). Бактерияларнингўлчами 0,1 дан 10 мкм гача бўлиши. Ўлчами бўйича 3 та кўринишдаучрайди.Майда бактериялар ўлчами 0,1 -0,25 мкм буларга микоплазмалар,бартонеллалар; 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(2.1. -расм) киради. Бактериялар шакли бўйича фарқланади – тўғри шаклли (ичактаёқчаси ва бошқ.) тўғри бўлмаган (коринебактерия ва бошқ.) ёки шохланган(бифидумбактерия ва бошқ.), овоид (ўлат қўзғатувчиси), тармоқланган ипсимон(актиномицетлар). Бактерия таёқчаларининг икки учини тузилиши бўйича ҳамулар бир биридан фарқланади. Икки учи қирқилган (куйдирги қўзғатувчиси),юмалоқлашган (ичак таёқчаси), ўткирлашган (фузобактериялар), икки учикатталашган (бўғма қўзғатувчиси) шакллари учрайди. Бактериялар бир-бирларига нисбатан суртмада жойлашувига қараб ҳам фарқланади. Кўпчиликбактериялар суртмада тартибсиз жойлашади (энтеробактериялар), суртмадажуфт- 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) дебаталади. Суртмада рим рақамларини эслатиши мумкин (бўғма қўзғатувчиси) ёки гугурт қутисидаги гугурт доналари сингари параллел (мохов қўзғатувчиси) бўлиши мумкин.

Бурама, эгилган шаклли бактерияларга —спириллалар, спирохеталар,кампилобактерия ва хеликобактериялар киради. Спириллалар — спиралшаклдаги бир неча бурамадан иборат. Спириллаларни кўпчилиги сапрофит,патоген турига Содоку касаллиги қўзғатувчиси киради (каламушлар тишлашиоқибатида юқади). Спирохеталар спиралсимон кўринишга эга бўлиб,спираллари сони, букилмалари ва ҳаракати типлари бўйича бир-бирларидан фарқ қилади. Спирохеталарга 3 та патоген авлодлар (трепонема,боррелия, лептоспира) киради.



2.1-расм. Бактерияларнинг асосий шакллари

2.2. Бактерияларни морфологиясини ўрганиш, ёруғлик микроскопида кўриш учун суртма тайёрлаш ва бўяш.

Бактериологик суртмаларни тайёрлаш ва уларни бўяш олдиндан лабораторияда ажратилган ватайёрланган иш жойида бажарилади.

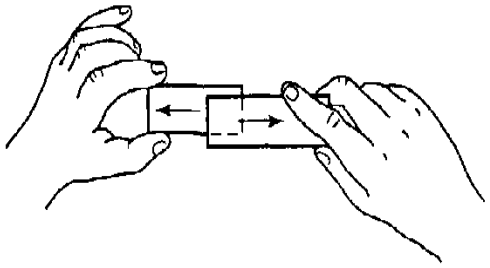
Иш столида текширилаётган материаллар ва суртма тайёрлашда зарур бўлган анжом, реактивлар бўлиши зарур, яъни: текширувчи материал(қон, йиринг,балғам, сийдик ва бошқ.), микроб культураси бор пробирка, косача, стерил водопроводсуви ёки натрий хлориднинг изотоник эритмаси (НХИЭ), бактериологик қовузлоқ учун штатив, ёғсизлантирилган соф буюм ойнаси солинган банка ва ойнага ёзиш учун мўлжалланган қалам. Бундан ташқари газ горелкаси ёки спиртовка, бўёвчи моддалар, буюм ойнасини қўйиш учун буйраксимон лоток ва кўпирикча, турли ўлчамдаги пипеткалар, фильтр қоғозлари, пинцет, дезинфикция суюқлиги солинган банка.

Суртма учун буюм ойнасини тайёрлаш. Янги буюм ойналари 1% ли гидрокарбонат натрия эритмасида қайнатилади, сув билан ювилади,кучсиз хлорид кислота эритмасига солиб қўйилада ва сув билан ювилади. Буюм ойнаси олдин ишлатилган бўлса 2 соат юқори концентрацияли техник сульфат кислотали эритмасида 2 соат сақланади, сўнгра яхшилаб сув билан ювилади ва спиртда ёки спирт эфир аралашмасида қопқоқли банкаларда сақланади.Буюм ойналарини ювиш ва ёғсизлантиришда ювувчи (стерол) кукунлардан ҳам фойдаланиш мумкин ёки бир бўлакча қуруқ совун билан буюм ойначаси артилиб, кейин тоза дока билан артилади. Яхши ювилиб ва ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир неча томчи сув томизилса, сув ойна юзасида текис тарқалади, яхши тайёрланмаган бўлса шарсимон кўринишда йиғилиб қолади.

Препарат-суртма тайёрлаш. Суртма тайёрлашдан олдин буюм ойнаси спиртовка алангасида қўшимча ёғсизлантирилади ва лотокдаги кўприкча устига қўйилади.Суртма зич муҳитларда ўсган микроб культурасидан тайёрланилаётган бўлса буюм ойнаси устига бир томчи сув ёки НХИЭ пастер пипеткасида томизилади.Препарат тайёрлаш учунпробирка, колба ёки Петри косачасида ўсган микроб культурасидан, патологик материалдан бактериологик қовузлоқ ёки стерилпипетка орқали текшириладиган материал олинади. Айрим ҳолларда бумақсадда препаровка игналари ҳам ишлатилади. Бактериал культуралипробирка чап қўлга, бактериологик қовузлоқ эса, ўнг қўлга олинади. Қовузлоқгорелка алангасида қизаргунга қадар қиздирилади. Пахтали пробкапробиркадан ўнг қўлнинг IV, V бармоқлари билан кафтга сиқиб бураб, чиқариболинади ва пробирка оғзининг четлари алангада бироз қиздирилади. Қовузлоқаста-секин пробирка ичига киритилади, ички деворига теккизиб совитилади,сўнг аста ҳаракат қилиб материал олинади. Шундан кейин яна пробиркачетлари қиздирилади ва пробка билан беркитилади. Ҳамма қилинаётган ишлар спиртовка ёки горелка алангаси олдида бажарилади. Қовузлоқ билан олинган микроб культураси буюм ойнасидаги НХИЭ га қўшилиб бир текисда қовузлоқ айлантирилиб суртма 1,0-1,5 см ўлчамда юпқа қилиб тайёрланилади. Препарат тайёрлангандансўнг, қовузлоқ албатта горелка алангасида қиздирилиши (стериллаш) лозим.Агар текширилаётган материал суюқмуҳитда бўлса, у ҳолда уни қовузлоқ билан тўғридан-тўғри буюм ойнасига томизилади васуртма тайёрланади.Суюқ муҳитлардан суртма тайёрланганда суртма буюм ойнасида яхши кўринмайди,

шунинг учун буюм ойнасини орқа томонига суртма бўйлаб думалоқ қилиб мумли қалам билан юритиб чиқилади.

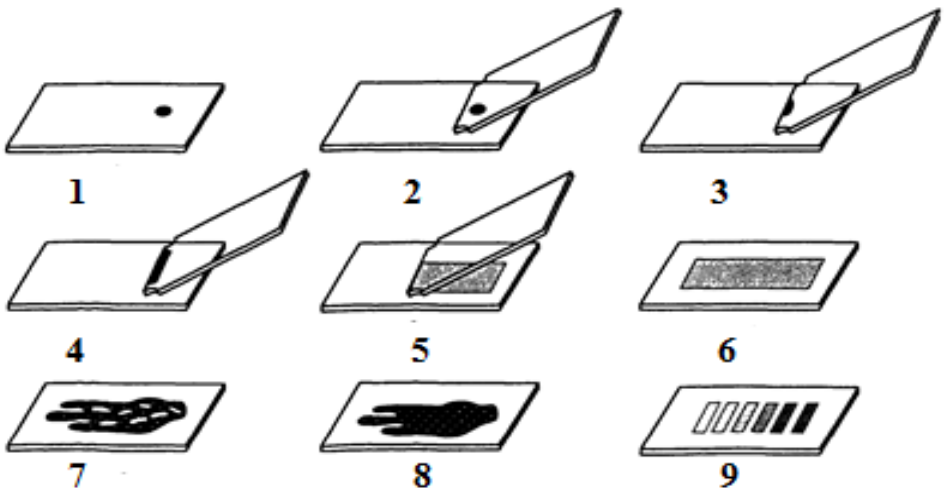
Балғам ва йиринғдан суртма тайёрлаш. Суртма тайёрлаш учун иккита буюм ойнаси олинади. Озроқ текширилаётган материал қовузлоқ ёки пипетка ёрдамида буюм ойнасини ўртасига томизилади ва иккинчи буюм ойнаси билан ёпилади. Ойнани шундай ёпиш зарурки ҳар иккла ойнани юзасида 3/1 қисми бўш қолиши керак (2.2-расм). Буюм ойнаси олдинга ва орқага ҳаракатлантирилади ва бир хил юпқаликда иккита суртма тайёрланилади.



2.2-расм. Балғамдан суртма тайёрлаш.

Суртма тайёрлаш жараёни

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



2.3-расм. Қондан суртма тайёрлаш: 1-6-юпқа тўғри суртма тайёрлаш босқичи; 7-8-9 нотўғри тайёрланган суртма.

Қондан суртма тайёрлаш: Стерил игна билан олдиндан дезинфекция қилинган ўрта бармоққа санчилади. Бармоқдан чиққан биринчи қон томчиси қуруқ пахта билан артилади, кейин яхши ёғсизлантирилган буюм ойначасига иккинчи қон томчиси теккизиб олинади. Буюм ойнаси дарҳол столга қўйилади, чап қўл билан пардозланган иккинчи буюм ойнаси 45° бурчак остида қон томчиси устига қўйиладиЕнгил ҳаракат билан пардозланган ойнани чап томонган 1,0-1,5 см охирига етказмасдан ҳаракатлантиради. Тўғри тайёрланган суртма сариқроқ рангда бўлиб тиниқроқ кўринади (2.3-расм).

Босма (тамға)суртма тайёрлаш.Босма суртма биопроба қўйилган лаборатория ҳайвонлари, ўликларни, озиқ овқатлардан (гўшт, колбаса ва бошқ.) олинади. Материал олинаётган орган ёки озиқ овқатларни юзаси қиздирилган пичоқ скальпелкуйдирилади ва шу жойдан бир бўлак материал қирқиб олинади ва қирқилган юзасини ёғсизлантирилган буюм ойнасини юзасини икки, уч жойига босиб теккизилади.

Суртмани қуритиш ва фиксация қилиш. Яхши юпқа тайёрланган суртма нормал хона температурасида тез қурийди. Агар суртмақалинроқ бўлса,термостатда ёкигорелка алангаси устида илиқ ҳаво оқимида қуритилади.

Қуритилган суртма фиксация қилинади- суртмани қотириш учун буюм ойнаси пицент билан олиниб (суртмани юқорига қаратган ҳолда) 5-6 сония фиксация қилинади, горелка алангасида (2секунд).

Қон препаратлари, босма суртма ва бактерия культураларидан тайёрланган суртмалар, юқори ҳароратда деформацияга учраши мумкин, шунинг учун бу суртмалар қуйидаги фиксаторлар билан ишлов берилади: метил спирти (5 мин); этил спирт билан (15 мин); Никифорова аралашмаси (тенг ҳажмда этил спирти ва эфир — 10—15 мин).

Фиксациядан мақсад- микроорганизмлар фиксация қилинаётганда ойнаюзасига қаттиқ ёпишган ҳолда ўлдирилади, зарарсизланади ва кейингиишловларда ювилиб кетмайди ва ўлган бактериялар яхши бўялади.

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

Суртмани бўяш. Тайёрланган суртма препаратлари анилин бўёқлари билан бўялади. Кимёвий нуқтаи назарга кўра бўёқлар

асосий, нордон ва нейтрал кўринишда бўлади. Асосий бўёқларни бўёвчи молекула зарралари мусбат бўлганлиги сабабли, манфий зарядли бактерия ҳужайралари билан актив брикади. Бактерияларни бўяш мураккаб **физик-кимёвий** жараён бўлиб, бўёвчи модда билан микроорганизм ҳужайраларидаги моддалар бирикиб тузлар ҳосил бўлади, бу эса бўялишни мустаҳкамлигини таъминлайди.Микроорганизмларнинг ҳар-хил турларини бўёқларга бўлган бўялиш хусусияти, уларнинг тинкториал хусусияти деб юритилади. Микробиология амалиётида қуйидаги бўёвчи моддалар кенг қўлланилади: қизил (фуксин асосий, нордон фуксин, сафранин, нейтрал қизил, қизил конго); кўк (метилен кўки, янги толуид-кўки, трипан кўки ва бошқ.); бинафша (генциан-бинафша, метил ёки кристал метил кўки); сариқ жигарранг (везувин, хризоидин). Ҳамма ишлатиладиган бўёқлар кукун ёки кристалл кўринишида чиқарилади**.** Бундай бўёқлардан (фуксин асосий, генциан бинафша, метилен кўки) олдиндан тўйинган спиртли эритмаси тайёрланади (1 г бўёқ +10 мл 96% спирт). Тўйинган спиртли, фенолли эритмалардан, сув фенолли ёки сув спиртли эритмалар тайёрланади ва бактерияларни оддий ва мураккаб бўяшларда қўлланилади.

Суртмани бўяшда 2 хил оддий ва мураккаб усуллардан фойдаланилади.

Оддий усулда фақат битта бўёқ қўлланилади, мураккаб бўяшда эса бир неча бўёқлар қўлланилиши мумкин.

Бактерияларни оддий усулда бўяш. Бактерияларни оддий усулда бўяб микроскопда кўрилганда уларнинг шакли, ўлчами ва препаратда бир-бирига нисбатан жойлашувларини ўрганиш мумкин. Оддий усулда фақат битта бўёқ қўлланилади, яъни бўялмаган юзада бўялган микроблар кўринади.

Узоқ сақланувчи Циль фенолли фуксини тайёрлаш учун асосий фуксин ишлатилади. Бактерия ва бошқа микроорганизмлар Цильфуксини билан қизил рангга бўялади.

Фенолли Цильфуксини.

Асосий фуксин 1 г

Этил спирти (95%-ли) 10 мл

Кристал фенол 5 г

Глицерин 3-4 томчи

Дистилланган сув 100 мл

Фуксин ва фенолкристаллари ва бирнеча томчи глицерин билан ҳовончада гомоген масса бўлгунча майдаланилади ва кам-кам спирт

қўшиб аралаштирилиб турилади, кейин аралаштиришни тўхтатмасдан дистилланган сув секин аста қўшилади. Бўёқ 48 соат хона температурасида сақланиб, фильтрланади. Сақланиш муддати узоқ бўлади.

Пфейффер фуксини

Цильфуксини 1 мл

Дистилланган сув 9 мл

Бактерияларни Пфейффер фуксини билан бўяшда янги тайёрланган эритмадан фойдаланилади.

Тўйинган спиртли метилен кўки эритмаси.

Метилен кўки 10 г

Этил спирти (95%-ли) 100 мл

Леффлер бўйича ишқорий метилен кўки эритмаси.

Тўйинган ишқорий метилен кўки эритмаси 30 мл

Натрий (калий) гидроксиди 1%-ли) 1 мл

Дистилланган сув 100 мл

Сув спиртли метилен кўки эритмаси

Тўйинган сув спиртли метилен кўки эритмаси 10мл

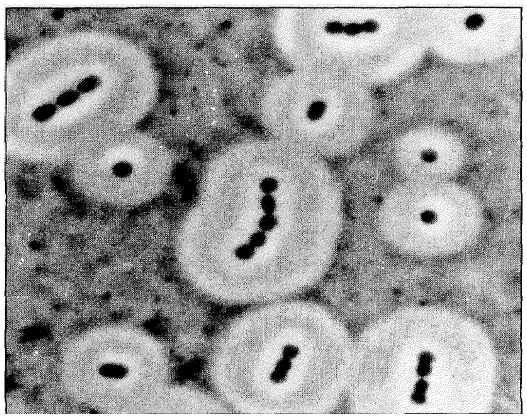
Дистилланган сув 100 мл

Эски сақланган бўёқ эритмалари яхши бўяш хусусиятини сақлаб қолади. Фиксацияланган суртма препарати лотоқдаги кўприкчага қўйилади. Суртмани ҳамма юзасига пипетка билан бўёқ эритмаси томизилади.

Пфейффер фуксини 1 - 2 мин, Леффлер бўйича ишқорий метилен кўки ёки сув спиртли метилен кўки эритмаси билан 3-5 минут бўялади. Препарат бўялгандан сўнг, бўёқ тўкиб ташланади ва сув билан ювилади ва фильтрли қоғоз билан қуритилиб, иммерсион объективда микроскопда кўрилади.

Микроорганизмларни тирик ҳолатда бўяш. Бактерияларни бу усулда бўяшда заҳарли хусусияти кучсиз бўлган бўёқлардан (метилен кўки, нейтрал қизил) 1:10000 да қўлланилади. Бунинг учун буюм ойнасига текширилаётган микроб культураси ва бўёқ эритмаси аралаштирилиб устига ёпқич ойна қўйилади ва микроскопда кўрилади.

Бурри усулида бўяш.Тирик бактерияларни туш билан негатив усулда бўялганда, бактериялар ҳужайраси тушни қабул қилмайди ва қора фонда бўялмасдан кўринади.



2.4-расм. Бурри тушли суртмада *Streptococcus pnewnoniae* (капсуласи яққол кўриниб турибди).

Тушни 1:10 нисбатда дистилланган сув билан суюлтирилган эритмасидан бир томчи буюм ойнасига томизилади, унинг устига микроб культураси қовузлоқ ёки буюм ойнасини чекаси билан текис қилиб ёйилади. Суртма ҳавода қуритилади ва иммерсион системада микроскопда кўрилади (2.4-расм). Туш ўрнига баъзида нигрозин, қизил конго ва бошқа бўёқлар қўллаш мумкин.

2.1-жадвал

Бактерияларнинг морфологик ва тинкториал хусусиятлари(протокол шакли)

Ҳужайралар шакллари	Катталиги	Грам бўйича бўялиши	Мавжудлиги			Кислотага чидамлилиги	Ҳаракатчанлиги	Киритмалар
			Спораси	Капсуласи	Волютин донаچалари			

2.3. Бактериялар структураси ва уларнинг ўрганиш усуллари

Бактерия ҳужайрасининг тузилиши ҳозирги кунда яхши ўрганилган ва шартли равишда иккига бўлинади: асосий ва қўшимча структуралар.

Асосий структуралар таркибигақуйидагилар киради;

-ҳужайра қобиғи, цитоплазматик мембрана,цитоплазма, нуклеоид, рибосома мезосомалар;

- қўшимча структураларига эса капсула, хивчинлари, ўсимталари (фимбрия) ва эндоспоралар.

Бир қатор бактериялар споралар ҳосилқилади. Спораси бактерия танасини ўлчамидан кичик бўлиши мумкин (*Bacillus*) ва тана ўлчамидан катта бўлиши мумкин (*Clostridium* –сўзи юнончабўлиб урчуқ, дуксимон маъносини англатади). Спораси ҳужайрада терминал,субтерминал ёки марказий тарзда жойлашади (2.1-расм).

Бактерияларни ҳужайра девори-мустаҳкам, қайишқоқ структура бирлигибўлиб, 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 (муреин,мукопептид) ҳисобланади. Эукариот ва бошқа ҳужайраларда бу мукопептид учрамайди. Пептидогликан бир–бири билан паралелл жойлашган, қайталанибкелувчи, гликозидли боғлар билан боғланувчи N-ацетилглюкозамин ва N-ацетилмурамин кислоталар қолдиғидан иборат, мураккаб полисахаридҳисобланади. Бактерия ҳужайраси деворини кимёвий таркиби ватузилиши 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 кристал бинафша ва кейин йод билан ишловберилса, бўялган комплекс ҳосил бўлади. Кейинги босқичларида эубактериягаспирт билан ишлов берсак, ҳужайра девори структурасига қараб ҳосилбўлган комплексни тақдири икки кўринишда бўлади. Биринчи гуруҳ грамммусбат деб номланувчи бактерияларда комплекс спиртда ювилиб кетмайди,бинафша ранги сақланиб қолади.

Грамманфий эубактерияларда эса спирт таъсиридакомплекс ювилиб кетади ва рангсизланади. Маълум бўлишича комплексэубактерияларни протопластида ҳосил бўлади, лекин спирт билан кейинчаликювилиб кетиши ёки кетмаслиги ҳужайра деворини структурасига боғлиқэкан. Граммусбат ва грамманфий бактерияларниниг ҳужайра девори ўзинингкимёвий таркиби (жадвал) ва структураси биланфарқ қилади.Граммусбат бактерияларни ҳужайра деворида пептидогликан ҳужайрадеворини асосий массасига нисбатан 40-90% ни, грамманфийларда эса 1-10%ни ташкил қилади. Пептидогликани қалинлиги ҳар хил турларда фарқ қилиб20 дан 80 нм гача бўлади, Грамманфийларда эса 2-3 нм ва ҳужайранингумумий қалинлиги 10-15 нм тўғри келади.

Грамманфий бактериялар ҳужайра деворининг граммусбат бактерияларганисбатан юпқалиги унинг ўтказувчанлигини юқори бўлишига олиб келади.

Шундай қилиб, генциан бинафша билан бўялган, йод иштирокида ҳужайра протопластида ҳосил бўлган комплекс (ГБ+магний рибонуклеати + йод ва ҳужайра компонентлари) граммусбат бактерияларда мустаҳкам бўлиб спирт билан ишлов берилганда ювилиб, рангсизланиб кетмайди. Бундан ташқариҳужайра деворининг қалинлиги ва унинг ўтказувчанлигининг пастлиги бўёқниспиртда эриб кетмаслигига шароит яратади. Грамманфий бактерияларда эсамустаҳкам комплекс ҳосил бўлмайди ва ҳужайра деворини ўта юпқалиги ҳам бўёқни тез (30 дақиқагача) эриб, рангсизланиб кетишига ва фуксин билан қайтабўялишига олиб келади.

2.2-жадвал

Граммусбат ва грамманфий бактериялар ҳужайра девори вацитоплазма компонентларининг кимёвий таркиби

Ҳужайра девори ва цитоплазма компонентлари	Грам мусбат бактериялар	Грам манфий бактериялар	
		Ички (пептидо-гликан) қават	Ташқи липополи-сахаридли(ташқи мембрана) қават
Пептидогликан	+	+	-
Тейхой кислота	+	-	-
Липотейхой кислота	+	-	-
Полисахаридлар	±	-	+
Ёғлар	±	-	+
Липополисахаридлар	-	-	+
Липопротеинлар	-	±	+
Магнийрибонуклеат	+	-	-
РНК ва ДНК нисбати	8:1	1:4	1:4
Цитоплазма pH	2,0-3,0	5,0 атрофида	5,0 атрофида

Бактерияларни ҳаракатчанлиги, хивчинлари.

Бактерияларни ҳаракатлари бир неча кўринишда бўлиши мумкин; сузибюрувчи, сирғанувчи, судралувчи, ўрмаловчи. Бактерияларни ҳаракатихивчинлари ҳисобига рўй беради. Бактерияларни хивчинлари ингичка, узуноқсил ипчалари бўлиб, диаметри 12-30 нм, узунлиги эса

6-9 дан 80 нм гачабўлиши мумкин. Хивчин таркибида флагеллин оқсили бўлиб, у қисқариш хусусиятига эга. Хивчинлар бактерия танасида жойлашувига қараб 4 гуруҳга бўлинади (2.1-расм). Монотрихлар- битта хивчини поляр жойлашган (*V. cholerae*). Лофотрихлар- бир тутам хивчинлари битта учида жойлашган(*Pseudomonas methanica*). Амфитрихлар- тутам хивчинлари ҳар икки учидажойлашган (*Spirillum volutans*). Перитрихлар- хивчинлари танасини ҳаммажойида жойлашади. (*E. coli, Salmonella typhi*).

Бактерияларни ҳаракатчанлигини ўрганиш.

“О с и л г а н” т о м ч и т а й ё р л а ш у с у л и. Препарат бактерия культурасидан биртомчи 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 чуқурчаустида эркин, атроф ёки тагига тегмасдан осилиб туради. Микроскоп остида кўриш учун,аввал кичик, қуруқ 8-объектив қўлланилади, томчининг четлари топилгач, 90 объективўрнатилиб иммерсион мой томизилиб, препаратда бактерияларни ҳаракати кўрилади.

“Э з и л г а н” т о м ч и т а й ё р л а ш у с у л и. Ёғсизлантирилган буюм ойнаси устигабир томчи текшириладиган материал ёки бактерия суспензияси томизилади ва устидан ёпқичойна ёпилади. Томчи катта бўлмаслиги ва ёпқич ойнанинг четларидан чиқмаслиги керак,препарат микроскоп остида кўрилади.

Бактерияларни ҳаракатчанлиги бактериологик амалиётда ярим суюқ агарларгатекширилаётган микроб культурасини санчиб экиш орқали ҳам аниқлаш мумкин. Санчибэкилганда, ҳаракатчан бактериялар муҳитда тарқалиб яққол кўриниб туради, ҳаракатсизбактериялар эса, ярим суюқ муҳитда санчув бўйлаб ўсади.

Бактерияларни мураккаб бўяш усуллари. Оддий бўяш усулларидан фарқ қилиб, мураккаб усулда препаратларни бўяшда бир нечта бўёқлар кетма-кет қўлланилади. Улар кимёвий таркиби, ранги, ишлов берувчи ва дифференцияловчи моддалари билан бир-биридан фарқланади. Мураккаб бўяш усулларига Грам, Циль - Нильсен, Нейссер, Романовсий-Гимза, Бурри-Гинс ва бошқа усуллар киради. Бу усуллар ҳужайранинг маълум тузилишини аниқлаш ва микроорганизмларнинг бир турини иккинчи туридан дифференциялаш

имконини беради. Бактерияларни бўяшни бу усулларини 1884 ИоахимХристианХанс ва Грамлар таклиф қилишган, ҳозирги кунгача бу усуллар ўз актуаллигини йўқотган эмас.

Грам усули. Умумий қабул қилинган усул. Бу усулда бўяш учун қуйидаги эритмалар тайёрланилади:

1) спиртли генцианбинафша ёки кристалл бинафша эритмаси;

2) Люголнинг йодли эритмаси;

3) рангсизлантирадиган эритма (95%-ли этил спирти ёки ацетон);

4) Пффейферфуксини ёки сафранин.

Спиртли генциан бинафша эритмаси

Генциан бинафша 20 г

Этил спирти (95%-ли) 200 мл

Дистилланган сув 800 мл

Генциан бинафша, метил бинафша ва кристалл бинафша трифенилметанли бўёқлар қаторига киради ва уларни Грам усулида бўяшда бир хил даражада қўллаш мумкин.

Люголнинг йодли эритмаси

Кристалл йод (I_2) 1 г

Кали йодид 2—5 г

Дистилланган сув 300 мл

Ингредиентлар аралаштирилиб бир кун қолдирилади йодни эриши учун.

Рангсизлантирадиган эритма

Ацетон 400 мл

Этил спирти (95%-ли) 1200 мл

Диққат! Алоҳида компонентлар ва аралашмани ўт олиш хавфи юқори. Компонентларни алоҳида ишлатиш ҳам мумкин.

Сафранин эритмаси

Сафраниннинг 95%-ли спиртдаги 2,5%-ли эритмаси 25 мл

Дистилланган сув 75 мл

Олдин сафраниннинг2,5%ли спиртли эритмаси тайёрланилади, сўнгра уни кўрсатилган сув миқдори билан аралаштирилади. Бизнинг амалиёда кўпроқ Пфейффер фуксини қўлланилади, чунки бу бўёқ билан грамманфий бактериялар яхши бўялади.

Грам усули билан бўяш тартиби.

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

2. Ювиб ташланмасдан Люголь эритмаси қуйилиб, 1 - 2 минут давомида ушлабтурилади.

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 равишдабўялади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади.

Граммусбат бактериялар тўқ бинафша, грамманфийлар эса, қизил ранггабўялади. Грам усули билан бўяш муҳим дифференциал-диагностик аҳамиятгаэга ва микробиологияда кенг қўлланилади. Бактерияларнитинкториал хусусияти деб аталади. Грам мусбат бактерияларга стафилококк,стрептококк, дифтерия коринобактерияси, сил микобактерияси ва бошқаларкиради. Грамманфий бактерияларга — гонококк, менингококк, ичак таёқчасива бошқаларни киритиш мумкин. Бактерияларнинг айрим турлари Грам усулибилан яхши бўялмай ўзгариб туради. Бу эса уларнинг ёши, ўстириш хусусиятива ҳужайра деворининг тузилишини ўзгартирувчи омилларига боғлиқ.

Грам усули билан бўяшда йўл қўйиладиган асосий камчилик, суртмадагибўёқни спирт билан кўпроқ ушлаш ёки кам ушлаб бўёқни яхшикетказмасликдир. Биринчи ҳолатда граммусбат бактериялар генциан бинафшабилан 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 биланювишга қатъий риоя қилиш керак (Грам билан бўяш усулининг учинчи бандигақаралсин). Бундан ташқари суртмани ўта қалин тайёрлаш ҳам бўяшни сифатигапутир етказади. (Грам билан бўяш усулининг учунчи пунктига қаралсин).

Кислотага чидамли бактериялар. Биз юқорида айтганимиздек кўпчилик граммусбат прокариотлар ўзлариниҳужайра деворини кимёвий таркиби билан ҳам бир – бирларидан фарқ қиладива бу фарқлар уларнинг грам усулда бўялишига таъсир кўрсатади.Микробиология амалиётида бу бактерияларни кислотага чидамли бактериялардеб аталади. Бу бактериялар Грам усулида бўялмайди. Грам мусбат бактериябўла туриб, Грам усулида бўялмаслигига асосий сабаб, уларнинг ҳужайраструктурасининг кимёвий таркиби ҳисобланади.

Кислотага чидамлилик бактерияларнинг ҳужайра девори вацитоплазмасида ёғ ва ёғ кислоталарини кўп бўлишидир. Ёғлар ҳужайранингумумий массасига нисбатан 40% гача бўлиши мумкин. Липидларни (ёғларни)уч хил фракцияси аниқланган; фосфолипидлар (эфирда эрувчи), ёғсимон (эфирва ацетонда эрувчи) ва мумсимон (эфир ва хлороформда эрувчи). Липидлартаркибида жуда кўп кислотага чидамли ёғ кислоталари учрайди буларгастеарин, фтиоид ва микол кислоталари киради. Ҳужайра таркибида липидларниюқори бўлиши, бу бактерияларни кислотага, спиртларга ва ташқи муҳитомилларига чидамли қилиб қўяди. Шунинг учун бу бактериялар бўёқлар биланқийин бўялади. Уларни бўяш учун махсус интенсив Циль-Нильсен усуликўлланилади. Циль-Нильсен усулида кислотага чидамли бактериялар карболлифуксиннинг юқори концентрацияли эритмаси билан ва қиздириб бўялади.Карбол кислотанинг эритмаси ҳужайра деворини юмшатади, шу билан унингтинкториал хусусиятини оширади, бўёқнинг юқори концентрацияси ва бўяшжараёнида қиздириш орқали бўёқ билан бактериал ҳужайранинг ўзаро таъсирреакцияси кучаяди ва яхши бўялади, натижада сульфат кислота билан таъсирэтилса, кислотага чидамсиз бактериялар рангсизланади ва метилен кўки биланҳаво рангга бўялади. Кислотага чидамли бактериялар эса, фуксин билан қизилрангга бўялганича қолади. Расмдан кўриниб турибдики силкасаллиги қўзғатувчиси қизил рангда, кислотага чидамсиз бошқа бактериялярметилен кўки билан бўялган.

Кислотага чидамли бактерияларни Циль-Нильсен усули билан бўяш.

1. Фиксацияланган суртманинг устига тайёрланган фильтр қоғозидан қўйилади, сўнграфуксиннинг 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 хлоридкислота 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 бактеряларга сил ва мохов қўзғатувчилари киради.

Бактерияларнинг капсуласи ва унинг аниқлаш усули.

Прокариот ҳужайраси деворини ташқи томонидан кўпчилик ҳоллардашиллиқ моддалар ўраб туради. Бундай тузилмалар структура тузилишини ўзигахос хусусияти бўйича капсула деб номлана бошланган. Буларнинг ҳаммасибиосинтез оқибатида ҳужайра атрофини ўраб олган органик полимерларданиборатдир. Агар тузилмаларнинг қалинлиги 0,2 мкм кам бўлса, уларни фақатэлектрон микроскопда кўриш мумкин. Шунинг учун бундай тузилмаларни **микрокапсула** деб аталади. Тузилмаларни ўлчами 0,2 мкм катта бўлса ёруғликмикроскопида кўриш мумкин ва **макрокапсула** дейилади. Бактерияҳужайрасини ўраб турган тузилмасини таркиби аморф ва структурасиз бўлса,бундай тузилмаларни шиллиқ қават деб юритилади.

Бактериялар капсуласининг таркиби ҳужайра деворини компонентларигаўхшаб кетади, лекин кимёвий структураси жиҳатдан улардан фарқланади.Кўпчилик бактерияларни капсуласини кимёвий таркиби гомо- ёкигетерополимер полисахарид ҳисобланади, лекин баъзи бир бактериялар капсуласи (*Bacillus*) полипептидлардан таркиб топган. Ҳамма бактериялардаҳам капсула учрамайди. Капсула бактерияларни тур белгиси ҳисобланади.Капсуласи бор бактериялар бошқа бактерияларга нисбатан, яшашшароитларида афзалликларга эга бўлади. Кўпчилик патоген бактерияларкапсула ҳосил қилади, бу уларнинг вирулентлик белгиси ҳисобланади.

Бактерияларни капсуласи уларни механик жароҳатланишдан, қуриб қолишдансақлайди ва бактерия учун қўшимча осмотик барьер, фагларнинг кириши учунтўсиқ, кўпчилик ҳолларда озиқ моддалар заҳираси ҳам бўлиши мумкин. Бунданташқари бактерияларда капсула авлод ва тур хусусиятини англатувчи антигенбўлиши ҳам мумкин. Бактерияларни капсуласини аниқлаш амалиётда уларнибир-бирларидан идентификация қилишда қўлланилади.

Бурри-Гинс усули билан капсулани аниқлаш.

1**.** Бурри бўйича препарат, қуйидагича тайёрланади: бир томчи туш олиниб буюмойнасига томизилади ва унга бактериологик қовузлоқда микроб культураси олиниб яхшилабаралаштирилади, бир томони силлиқланган ойнача билан қон суртмасига ўхшаш суртматайёрланади, 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 система да)остида кўрилади. Бунда капсулали бактериялар туш билан бўялмайди ва қора фондауларнинг капсулали таналари чегараланиб қолади, фуксин билан бўялганда уларни танасиқизил рангга бўялади, бўялмаган капсулалар эса қорапушти ранг остида ажралиб туради.

Бактерияларни киритмалари, волютин доначалари ва уларнинг аниқлаш усуллари. Прокариотларнингцитоплазмасида турли киритмалар учрайди. Бу киритмалар ҳужайраниметаболизми натижасида чиқарилмай, йиғилиб қолган метаболитлари, ёкибактериялар учун озиқ овқат заҳираси бўлиши мумкин. Бактерияларникиритмалари бўлиши мумкин: нейтрал ёғ томчиси; мум, олтингугурт; махсусуглеводлар заҳираси (*Clostridium*); гликоген грануласи метаполифосфаткўринишида (*Shirillumvolutans, Corynebacteriumdiphtheriae*). Бактерияларникиритмалари, волютин доначалари ҳужайралар учун доимий бўлмасдануларнинг таркиби, кўриниши ўзгариб туриши мумкин. Бактериялар оч қолгандакиритмалар йўқолиб ҳам кетади. Шу билан бир қаторда бу киритмалар,волютин доначалари доимий бўлиб тур белгисини билдиради. Шунинг учун волютин доначаларини аниқлашамалий аҳамиятга эга.

Нейссер усули билан волютин доначаларини бўяш.

1. Фиксацияланган суртмага Нейссер синькасининг ацетати томизилади ва 2-3 мин ушлабтурилади.

2. Люголь эритмаси томизилади ва 10—30 сек ушланади.

3. Препарат сув билан ювилади.

4. Суртма везувиннинг сувдаги эритмаси ёки хризоидин билан 1/2—1 мин бўялади.

5. Сув билан ювилади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади.

Волютин доначалари ишқорий реакцияга эга бўлган бирикма бўлиб, шу хусусиятигакўра цитоплазмадан фарқ қилади. Шунинг учун синька ацетати билан тўқ кўк рангабўялади. Ҳужайра цитоплазмаси, нордон реакцияли бўлганлиги учун, ишқорий бўёқвезувини қабул қилиб сариқ рангга бўялади .Бактерияларни киритмалари оддий(Лёффлер) усулда, метилен кўки билан ҳам яхшибўялади.

Нордон- сиркали метилен кўки Нейссер бўёғини тайёрлаш.

Метилен кўки 0,1 г

Спирт (95%-ли) 2 мл
Сирка кислотаси 5 мл
Дистилланган сув 100 мл
Везувин
Везувин 12 г
Спирт (95%-ли) 60 мл
Дистилланган сув40 мл
Аралашма қайнатилади, савутилиб фильтрланади.

Лёффлер усули билан волютин доначаларини бўяш.

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

2. Препарат сув билан ювилади, қуритилади ва микроскоп остида кўрилади. Волютиндоначалари тўқ кўк рангга, танаси очроқ ҳаво рангга бўялади.

Бактерияларни спораси. Баъзи бир бактериялар (Clostridium, Bacillus)ноқулай шароитга тушиб қолганда эндоспора ҳосил қилади. Спорабактерияларни ўзига хос бўлган тинч турувчи шакли ҳисобланади ва уларнингметаболитик активлиги ўта паст бўлади, лекин улар ташқи муҳит омилларига(қуритишга, юқори температурага, кимёвий моддаларга) ўта чидамли бўлади.Ташқи муҳитда бир неча ўн йиллар сақланиши мумкин. Спорани ташқиомилларга бунчалик чидамли бўлишини, улар таркибидаги дипиколинкислотаси ва кальций тузлари таъминлайди. Бундан ташқари спора таркибидаэркин 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 сақланишинитаъминлайди. Бактерияларни спорасини аниқлаш амалиётда диагностикаҳамиятга эга.

Спораларни Ожешко усули билан бўяш.

1. Фиксацияланмаган суртмага 0,5% водород хлорид кислотасининг эритмаситомизилади ва 2-3 мин давомида горелка алангасида қиздирилади.

2. Кислота тўкилади, препарат сув билан ювилади, қуритилади ва горелка алангасидафиксация қилинади.

3. Препарат Циль-Нильсен усули билан бўялади. Бунда бактерия споралари қизилрангга, вегетатив шаклдагилари ҳаво рангга бўялади.

Спораларни Пешков усули билан бўяш.

1. Фиксация қилинган суртмага Леффлер бўйича метилен кўки эритмасидан қуйилади ва спиртовка алангасида қуритиб қўймасдан 15-20 с қайнатилади.

2.Препарат совигандан сўнгсув билан ювилиб 0,5%-ли нейтрал қизил эритмаси билан 30 с қайта бўялади.

3. Яна сув билан ювилиб, қуритилади. Бактерия спораси кўк рангда, танаси эса пушти рангда бўялади.

2.3-жадвал

Номаълум культураларнинг морфологик ва тинкторнал белгилари асосида аниклаш.(далолатнома шакли)

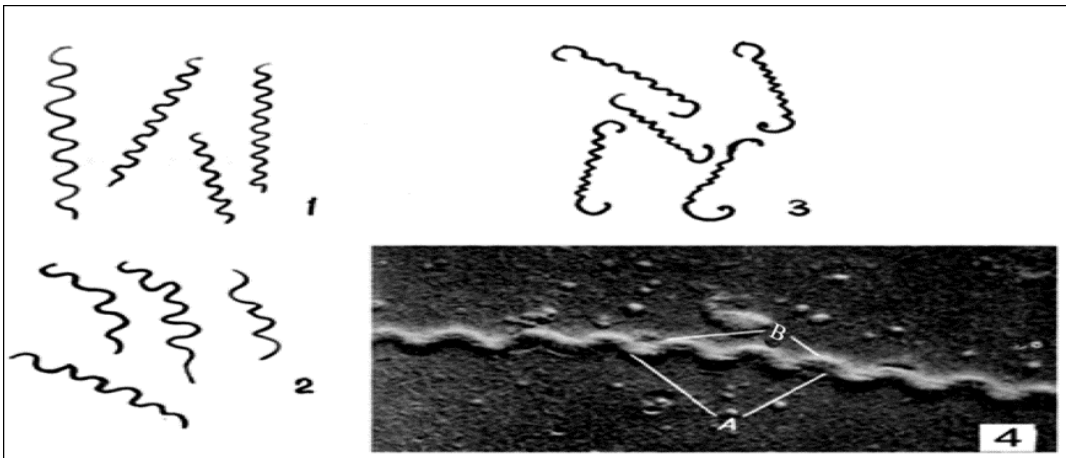
№	Ҳужайра шакли	Ўлчами (мкм)	Грам бўйича бўялиши	Мавжудлиги			Кислотага чидамлиги	Ҳаракатчанлиги	Хулоса
				Спора	Капсула	Волютин доначалари			
1.									
2									

2.4. Спирохета, риккетсия, хламидия, микоплазма ваактиномицетлар морфологияси, структураси, уларни ўрганиш

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

Спирохета ҳужайраси буралган протоплазматик цилиндрсимон бўлиб,цитоплазматик парда билан чегараланган цитоплазмага эга, ташқарисида бирозпептидогликан қатлами бўлган ҳужайра деворидан ташкил топган. Таркиби жиҳатдан грамманфий бактерияларга ўхшаб кетади. Ҳужайра девориниустидан аксиал иплари фибриллалари ўраб туради. Уларнинг сони турларгақараб 2 тадан 100 бўлиши мумкин. Фибриллалар спирохеталарни бир учи,блефоробластларга маҳкамланган бўлади, иккинчи учи ҳам баъзиларида маҳкамланган, баъзиларида эса бирикмаган бўлиши мумкин, уларнинг устиданташқи ёпқич қават ўраб туради (2.5-расм). Патоген спирохеталарнингузунлиги 3—20 мкм ва йўғонлиги 0,1—0,5 мкм. Айрим зотларнинг вакилларибир-биридан узунлиги ва йўғонлиги, ўраманинг сони, ҳаракат типлари вахусусияти (2.4-жадвал) билан фарқланади. Спирохеталар грамманфий.Боррелиялар трепонема ва

лептоспиралардан анилин бўёқлари билан яхшибўялиши орқали фарқ қилади.



2.5-расм.Спирохеталар морфологияси. 1-трепонемалар; 2-боррелиялар; 3-лептоспиралар; 4 –электрон микроскопда кщриниши а) бурамалари; б) ташқи ёпқич қавати.

2.4-жадвал

Спирохеталарнинг морфологик белгилари

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

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 бўяшусуллари билан ўрганилади. Масалан, суртмани кумушлантириш усулларибилан ҳам спирохеталарнинг морфологияси ўрганилади.

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

1. Яхшилаб ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир томчи туш олинади ва стерил тишкавлагич билан тиш караши олиниб аралаштирилади, бир томони силлиқланган ойначабилан 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).

Романовский - Гимза усулида бўяш. Текширилаётган патологик материаллардан (қон, йиринг, нажас, балғам, тўқима суюқлиги ва бош.) тайёрланган суртма ҳавода қуритилиб, метил спирт билан 3 мин фиксация қилинади ва яна қуритилиб, Романовский -Гимза бўёғи билан бўялади. Суртмаларни Петри косачасида бўяш қулай ҳисобланади. Петри косачасини тагига буюм ойнасини узунасига қирқиб қўйилади, унинг устига тайёрланган суртма қуйилади ва устига бўёқ эритмаси қуйилади, суртма тўлиқ бўёқ эритмаси билан ёпилиши керак. Бўяш 30 минутдан бир соатгача, баъзида бир неча соат уртмани бўяш мумкин. Суртма сув билан ювилади ва қуритилиб микроскопда кўрилади

Романовский - Гимза бўёғини таркибида метилен кўки, эозин ва азур тутади. Шунинг учун микроблар ва қон таркибидаги элементлар турли рангга бўялади.Бўяшдан олдин бўёқни суюлтириш зарур. Суюлтиришда сувни рН 7,0 —7,2 бўлса 10-20 нисбатда суюлтирилади. Бўёқни суюлтириш сувнинг рН ва бўёқнинг сериясига қараб ўзгариб туради.Шунинг учун ҳар бир бўёқнин янги серияси олинганда суртма контрол Романовский - Гимза усулда содда жониворларни цитоплазмасиҳаво рангга, ядроси –қизил рангга киради, эритроцитлар эса пушти, лейкоцитлар ядроси бинафша, цитоплазмаси ҳаворангга, нейтрофиллар сирень рангига бўялади.

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-сирень рангга бўялади.

Қоронғилаштирилган майдонда спирохеталарнинг ҳаракатчанлигини ўрганиш.

Кўрув майдони қоронғилаштирилган микроскопга “эзилган” ёки “осилган” томчи усулида тайёрланган суртма қўйилади. Препаратга ёруғлик тагидан эмас ёнбошдан туширилади, яъни текширувчини кўзига ёруғлик тушмайди. Микроскопни кўрув майдони тўлиқ қоронғи бўлади, Спирохеталар ёнбошдан тушган ёруғлик нурларини қайтаради, шунинг учун қоронғи майдонда спирохеталарни танаси яққол нур тарқатиб кўринади (2.6 –расм).

2.6-расм. Қоронғилаштирилган майдонда боррелиянинг кўриниши

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

Риккетсиялар майда грамманфий микроорганизмлар бўлиб, облигатҳужайра ичида яшовчи паразитлар ҳисобланади, жуда ҳам ўзгарувчандир(полиморфизм). Шунинг учун кокксимон, таёқчасимон, бациляр, ипсимоншакллари 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 хўжайинорганизмининг ҳолатига боғлиқ бўлиб, уларда икки хил яшаш босқичикузатилади. Вегетатив актив ва тинч турувчи шакллари. Риккетсияларнингвегетатив формалари асосан таёқчасимон бўлиб, актив бинар йўли биланбўлинади ўта ҳаракатчан, тинч турувчи шакли сферик кўринишда бўлибкўпаймайди. Риккетсиялар типик прокариот ҳужайралари бўлиб, уларнингҳужайра деворининг тузилиши грамманфий бактериялардан фарқ қилмайди.Риккетсиялар спора,

капсула ҳосил қилмайди. Риккетсиялар одамларда трансмиссив юқумли касалликларникелтириб чиқаради.

Риккетсияларни Здродовский усули билан бўяш.

1. Суртма суюлтирилган Циль фуксини билан (10-15 томчи 10 мл дистилланган сувгатомизиладн) 5 мин давомида бўялади.
2. Сув билан ювилади.
3. Суртмага 0,5% ли лимон кислота ёки 0,01% ли водород хлорид кислота эритмаситомизилади.
4. Сув билан ювилади.
5. Метилен (0,5%) кўки билан 1 мин давомида бўялади.
6. Препарат сув билан ювилади ва қуритилади.

Микроскопик кўриниши. Риккетсиялар Здродовский усули биланқизил рубин рангга, ичида риккетсиялари бўлган ҳужайра цитоплазмаси ҳаворанг, ядроэса кўк рангга бўялади.

Хламидиялар.Охирги классификация бўйича (2001 Бержи қўлланмаси)*Clamydialis* қаторига ва*Chlamydiaceae* оиласига киради. Буларга 2 та авлод *Clamydia, Clamydophila* киради. Бу авлодлар бир-бирларидан антиген хусусияти, ҳужайра ичи критмалари ва сульфонамидларга сезгирлиги билан фарқланади. *Clamydia* авлодга*C.trachomatis* (генитал сероварлари D, F, G, H, I, J, K) кирса *Clamydophila* авлодига *C. pneumonia, C. psittaci*киради.

Хламидиялар – майда грамманфий прокариотлар бўлиб, шарсимон, овоид кўринишига эга, спора, капсула ҳосил қилмайди, ҳаракатсиз. Ҳужайра девори таркибида пептидогликан учрамайди, ҳужайра деворини қайишқоқликфункциясини ташқи мембрана оқсиллари бажаради. Хламидияларни 2 та биологик шакли тафовутқилинади; элементар танача (ЭТ), сферик шаклда, метаболитик актив эмас (0,3мкм) ҳужайрадан ташқарида учрайди, инфекцион, сезгир ҳужайраларга кираолади. ЭТ эпителиал ҳужайраларга эндоцитоз йўли билан киради ва ҳужайраичида вакуолада шаклланади, каталашиб актив бўлинувчан ретикуляр таначага(РТ) айланади. РТ кўпайиб ЭТ айланади ва ҳужайрадан чиқади, янги циклтакроланади. Хламидиялар Романовский-Гимза усули билан бўялади,грамманфий, фазоконтраст микроскоп остида, тирик ҳолда тайёрланган препаратларда жуда яхши кўринади.

Хламидияларни Романовский-Гимза усули билан бўяб ўрганиш. *Бўяш усули (юқорига қаралсин).*

Микроскопик кўриниши. Турли биологик кўпайиш даврларида хламидияларнинг бўёқ қабул қилиш хусусияти ўзгаради.

- *“Элементар танача”формаси (инфекцион бўлакча) Гимза бўёғи билан қирмизи –қизил (пурпур) рангга бўялади.*
- *“Ретикуляр танача”си эса Гимза усулида кўк рангга киради.*

Микоплазмалар.Охирги тасниф бўйича (2001 Бержи қўлланмаси) *Fermicutes* типига, *Mollicutes* синфига ва буларга 2 та авлод*Mycoplasma, Ureaplasma* киради. Микоплазмаларни ҳужайра девори бўлмайди,осмотик сезгир, лекин цитоплазматик мембранаси яхши ривожланган, учқатламли липопротеидлардан таркиб топган. Кўплаб морфологик формалариучрайди: кокксимон, ипсимон, колбасимон. Микоплазмаларнинг ўлчами 125-250 мкм атрофида, грамманфий, спора капсула ҳосил қилмайди, ҳаракатсиз.

Микоплазмалар одамларда атипик пневмония ва сийдик таносил йўлларикасалликларини келтириб чиқаради.

Микоплазмаларни Романовский-Гимза усули билан бўяб ўрганиш. Бўяш техникаси. Микоплазмаларни агарли культурасидан фиксация қилинган суртма бўяб кўрилади. Бунинг учун колонияси бор озиқ муҳитни кичик бўлакчаси буюм ойнасига қўйилади ва устига ёпқич ойна бир томчи метилен кўки ва азурбўёғини спиртли эритмаси билан беркитилади, препарат қуритилади.

Микроскопик кўриниши. Микоплазманинг цитоплазмаси очсирень рангига ва нуклеин кислотаси эса кўк-сиёҳрангга киради.

Актиномицетлар. Охирги классификация бўйича (2001 Бержи қўлланмаси) *Actinobacteria*типига, *Actinobacteria* синфига,*Actinomyces*авлодига бу авлодга *A.bovis, A.israelii*киритилган. Актиномицет ҳужайралари узун ва шохланган ипсимон,таёқчасимон граммусбат бактериялар бўлиб, замбуруғлар сингари мицелий ҳосил қилади. Мицелий ипларининг узунлиги 100-600 мкм, эни 0,2-1,2 мкм.Актиномицетлар споралар ҳосил қилиб, кўндалангига бўлиниб, куртакланибкўпаяди. Улар капсула, хивчин ҳосил қилмайди. Актиномицетлар ўз номинитўқима шаклига қиёслаб олган, яъни жароҳатланган тўқималарда актиномицетлар друз шаклида, бир-бирига чирмашиб кетган иплар (нурсочувчи) кўринишида бўлиб марказдан бошланиб колбасимон йўғонлашибтугайди. (юнонча actis-

нур, mykes – замбуруғ). Актиномицитлар замбуруғларсингари мицелий ҳосил қилади – бир-бирига ўралиб кетган иплар (гифлар),лекин улардан фарқ қилиб субстратли мицелий ҳосил қилади. Субстратли мицелийси ҳужайрани озиқ муҳитларга ўсиб киришини таминлайди. Бошқабактериялар сингари актиномицетлар анилин бўёқлари билан бўялади. Одатдаулар оддий ёки Грам усули билан бўялади. Актиномицетлар граммусбатбактериялардир.

3 БОБ. МИКРООРГАНИЗМЛАР ФИЗИОЛОГИЯСИ

Ушбу бобда, микробиологик текширишларда ишлатиладиган асосийусуллар келтирилган: озиқ муҳитни тайёрлаш, экиш усуллари, лабораторияшароитида микроорганизмларни ўстириш ва соф культураларни ажратиб олишёзилган. Бактериялар физиологиясини ўрганиш бактерияларнинг озиқ-овқатгаэҳтиёжини, пластик ва энергетик метаболизмда қатнашувчи ферментларинианиқлаш, қаттиқ, суюқ, ва ярим суюқ озиқ муҳитларда ўсиши ва кўпайишинитекширишдан иборат. Турли микроорганизмлар метаболизмидаги умумий қонуниятлар энергитик ва конструктив метобализмда турга хос белгилар, ўзгариш усуллари ва йўлларидаги жиддий фарқлар билан бирга кечади.

Микроорганизмларни бир-биридан ажратиш ва идентификация қилиш шуларгаасосланган бўлиб, юқумли касалликлар микробиологик диагностикасида муҳимбосқичлардан ҳисобланади.

Бактериялар метаболизмини ўрганиш фақат амалий аҳамиятга эга бўлибқолмай, балки биокимёвий ва ирсий ахборотга жавобгар ген типларинингмеханизмларини ва уларни амалга ошириш йўлларини, оқсил синтезидагибошқарув тизимини ва микроб ҳужайрасида содир бўладиган бошқа жараёнларни билиш учун жуда кенг истиқболлар очиб берди.

3.1.Озиқ муҳитлар таснифи. Озиқ муҳитларни тайёрлаш

Микробиологик амалиётда бактерия ёки бошқа микроорганизмларни лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитида кўпайтириш учун қўлланиладиган,турли таркибли мураккаб ёки оддий бирикмалардан ташкил топган озиқмоддаларга **озиқ муҳит** деб аталади.

Озиқ муҳитларга қўйиладиган талаблар:

1.Таркиби (асосий хусусияларидан бири) - маълум микроорганизмларнингкўпайиши учун барча керакли моддалар тутиши (азот ва углеродни универсалманбаси оқсил гидролизати, пептид ва пептонлар, витамин вамикроэлементларнинг манбаси ўсимлик, ҳайвон оқсиллари) керак;

2. Озиқ моддаларни бактериялар осон ўзлаштиришлари зарур;

3. Қулай намлик, ёпишқоқлик ва ҳар бир бактерияларга хос pH га эгабўлиши;

4. Изотоник ҳолатда тиниқ бўлиши керак;

5. Ҳар бир муҳит албатта стерилланган бўлиши керак.

Таркиби бўйича оқсилли, оқсилсиз ва минерал озиқ муҳитларишлатилади.Озиқ муҳитлар келиб чиқишига қараб бўлинади- т а б и и й ва с у н ъ и й .Табиий муҳитлар ҳайвонлар маҳсулоти (қон, зардоб, ўт сафро, мол гўшти,тухум ва бош.) ва ўсимликлардан (мева ва сабзавотлар) олинади. Сунъиймуҳитлар эса сунъий усулда олинган (пептон,аминопептид, ачитқи углеводлар) маҳсулотлардан тайёрланади. Озиқ муҳитда ўстирувчи омилларнинг борлиги катта аҳамиятга эга.Улар метаболик жараёнларда катализатор вазифасини бажаради, асосан В гуруҳи 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 озиқ муҳитларқаттиқ, 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 маҳсулотбўлиб у қотирилса, муҳитни қаттиқ ҳолатга келтиради. Агар 80-86°С даэрийди, 40°С да қотади. Айрим ҳолларда қаттиқ озиқ муҳитларни олиш учун(10-15%) желатин ишлатилади. Табиий муҳитлар, ивитилган қон зардоби,тухум оқсили ўз-ўзидан қаттиқ ҳолатда бўлади.

Бактериология амалиётида кўпинча қуруқ озиқ муҳитларданфойдаланилади (3.1 - жадвал). Улар саноат кўламида озиқ-овқат учун ишлатилмайдиганмаҳсулотларнинг арзон гидролизатларидан (балиқ чиқиндилари, гўшт-суяк уни,техник казеин) ва озиқ агардан тайёрланади. Қуруқ муҳитларни узоқ вақтсақлаш мумкин, уларни транспортда юбориш ҳам қулай, негаки таркибистандарт, ўзгармаган ҳолда сақланади.

Озиқ муҳитлар қўлланилиши ва нима мақсадда ишлатилишига кўраасосий, сақлаб турувчи, (консервирующие) бойитилган

(обогащенные) кўпайтирувчи, элективе, махсус ва дифференциал-диагностик турларга бўлинади.

Асосий (универсал, оддий) муҳитлар. Бу муҳитларга ГПБ ва ГПА киради ва кўпгина бактерияларни ўстириш учунқўлланилади. Таркиби: гўшт экстракти, пептон, натрихлорид (ГПА да қўшимча агар-агар бўлади). Асосий муҳитлар бошқа мураккаб муҳитларнитайёрлаш учун асос бўлади.

Сақлаб турувчи муҳитлар. Патоген бактеряларни сақланишинитаъминлайди ва сапрофитларни кўпайишини тўхтатиши мумкин. Амалиётдаглицерин аралашмаси (Тига муҳити), гипертоник эритма, глицеринликонсервант ва дезоксихолат натрий ва бошқаларқўлланилади. Бу муҳитлар асосанбактерияларни маълум муддатда сақлаш ва лабораторияга етказиб боришдаишлатилади.

Бойитилган муҳитлар. Бойитилган муҳитлар кўпинча асосий муҳитлар асосида тайёрланади ва уларнинг таркибига қон, гемин, зардоб, асцитик суюқлик ва бошқа ингридентлар қўшилади (қонли агар, зардобли агар, асцит суюқлиғи қўшилган агар, қандли бульон). Бундай муҳитлардан мураккаб озиқ муҳитларга талабчан бактериялар ўстирилади**.**

Кўпайтирувчи муҳитлар. Маълум гуруҳ бактерияларни кўпайтириболишда қўлланилади ва бирламчи экишда ишлатилади. Масалан, буларга (Мюллер, Китт –Тароцци, тиогликолли муҳитлар ва селенитли бульон)киради.

Электив (селекив) муҳитлар. Электив озиқ муҳитлар турли хил, бошқамикрофлорали материалдан маълум турни ажратиб олиш ва уни тўплашгамўлжалланган. Маълум микробларга электив озиқ муҳитни яратишда, бумикробларнинг бошқа кўпчилик микроблардан фарқлантирадиган биологик,ферментатив хусусиятларига асосланилади. Масалан, қонли зардобли муҳитларбўғма, кўк йўтал қўзғатувчисини ажратиб олишда (Клауберг II, ККА), туберкулёзда (Левенштейн-Йенсен), стафилококкларда натрий хлор тузинингконцентрацияси юқори бўлган муҳити, вабо вибрионида эса — ишқорий муҳитқўлланилади.

Дифференциал-диагностик муҳитлар.Айрим турдаги (ёкигруппалар) микроорганизмларни бир-биридан ажратиш, фарқлаш учунишлатилади.Дифференциал-диагностик муҳитнинг ишлаш принципи, муҳитнитаркибига,бактериялар хилма-хил турларининг ўзаро биокимёвий фаоллигига, ҳамда бирхил бўлмаган ферментлар

тўпламига эга бўлишига ва озиқ муҳит таркибигакирувчи субстратларнинг бактериялар томонидан парчаланишига асосланган.

Дифференциал-диагностик муҳитлар (3.1-расм) таркибига қуйидаги асосийкомпонентлар киради:

а) бактерияларнинг кўпайишини таъминлайдиган асосийорганик, ноорганик бирикмалар,казеин гидролизати пептон ва бошқ.;

б) қўшимча маълум кимёвий субстрат уларни парчаланиши оқибатида муҳитнинг pH нордон томонга (углеводлар, мочевина) ёки ишқорий (оқсилларпарчаланишида) ўзгаради. Бу хусусият шу микробнинг диагностик белгисиҳисобланади;

3.1-расм. Дифференциал-диагностик муҳитлар. 1-Эндо муҳитида E.coli нингўсиши; 2 - Эндо муҳитида Salmonella ларни ўсиши; 3- Плоскирова муҳитида лактоза мусбат (қизил) ва лактоза манфий (рангсиз) колониялар; 4 –Гисс муҳити: А- Гисс муҳити; Б-қорин тифи углеводларни кислота ҳосил қилиб парчалаган; С- паратиф Б углеводларни кислота ва газ ҳосил қилиб парчалаган.

в) рангли индикатор (масалан, Андреде, бромтимол кўки,бромкрезол пурпур, крезол қизил индикатори), рангининг ўзгариши содирбўлаётган биокимёвий реакциядан ва текширилаётган микроорганизмда ушбуфермент системаси борлигидан далолат беради.Агар озиқ муҳитдагиметоболитларни парчаласа муҳит нордонлашуви мумкин, Андреде индикаторибор муҳит қизариши, бром

тимол кўк билан мусбат бўлиши мумкин, лекиноралиқ маҳсулот натижасида муҳит ишқорий томонга силжиса бу иккииндикаторни 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 муҳитлардабактерияларни гемолитик, протолитик хусусиятлари ўрганилади, булардан энгкўп (гўшт пептонли желатина, ивитилган от қон зардоби, сутли ва қонли агар)ишлатилади.

2.Таркибида углеводлар, кўп атомли спиртлар тутувчи индикаторлимуҳитлар. Бу муҳитларда бактериялар углеводларни парчалаши оқибатидакислоталар ва газ ҳосил бўлади, муҳитнинг pH нордон томонга силжийди ваиндикатор муҳит рангини ўзгартиради. Бактериологик амалиётда лакмуслисут (Минкович муҳити), Гисс (Хисса) муҳитлари кенг қўлланилади.Гиссмуҳитида бактерияларни турли углеводларни ферментация қилиш хусусиятиўрганилади. Энтеробактерияларни фарқлашда пептонли углевод, Андредеиндикатори қўшилган ва муҳитга газ ҳосил бўлишини аниқлаш учун узунлиги 3см бўлган шиша найча, унинг бир томони берк, солиб қўйилади. Агарбактериялар углеводни парчаласа индикатор ранги ўзгаради, газ ҳосил бўлсашиша найчага газ йиғилади. Гисс муҳитида бир нечта углеводларқўлланганлиги сабабли, бактериялар бир углеводни парчалаши, иккинчисиниэса парчаламаслиги мумкин. Шунинг учун углеводлар қатори олачипор (рангли қатор) бўлиши мумкин, номлаш шундан келиб чиққан. Углеводларданамалиётда кўпинча моносахаридлар (глюкоза,арабиноза, манноза),дисахаридлар (лактоза,мальтоза, сахароза) полисахаридлардан (крахмал,гликоген, инулин, декстрин) ва гликозидлардан эса (адонит, нозит, салицин)ишлатилади.

3. Бактериялар томонидан маълум моддаларни парчалаши,тикланишини (редуцирловчи) ўрганувчи муҳитлар (метилен кўки қўшилгансутли муҳит, нитратли муҳит). Масалан энтерококклар метилен кўки қўшилгансутли муҳитда, уни редукцияга учратиб, муҳитни оқартириб қўяди, *S. pyogens*эса муҳит рангини ўзгартирмайди.

4. Бактериялар томонидан маълум моддаларни ўзлаштира (ассимилация)олишини аниқловчи муҳитлар. Амалиётда энг кўп цитратли агар (Симмонсмуҳити) қўлланилади. Масалан Сальмонелла

авлоди вакиллари Симмонсмуҳитида яхши ўсади муҳит кўкаради, ичак таёқчаси эса цитратли агардамоддаларни ассимилация қила олмайди, муҳит рангини ўзгартирмайди.

Озиқ муҳитларни тайёрлаш.

Асосий муҳитлар. Триптик гидролизат пастаси маълум ҳажмдаги дистилланган сувдаэритилади, pH ўрнатилади, тегишли идишларга қуйилиб, оғзи пахта-докали пробкалар биланберкитилади ва автоклавда стерилланади. Озиқ агар кукуни маълум ҳажмдаги сувгасолинади ва 10-15 мин давомида қайнатилади, сўнгра озиқ Петри косачаларига ёкипробиркаларга қуйилади. Қиялантирилган озиқ агар тайёрлаш учун, ичига агар қуйилганпробиркалар стол устида қийшайтирилган ҳолда қотирилади.

Қонли, зардобли ва асцитик муҳитлар. Эритилган ва 45—50°С гача совутилганозиқ агарга стерил шароитда 5—10% фибринсизлантирилган қон ёки шу миқдорда қонзардоби ёки 25% ли асцит суюқлик кўшилади, яхшилаб аралаштирилади ва тезда Петрикосачасига, пробирка ёки бошқа лаборатория идишига қуйилади. Суюқ муҳит тайёрлаш учунозиқ бульонга юқорида кўрсатилган микдорда зардоб ёки асцит суюқлик қўшилади.

Углеводли муҳитлар. Озиқ агар ёки бульонга 0,5-1% ди глюкоза ёки бошқауглевод қўшилади. Оқувчан буғ ёки 0,5 атм босимида буғ билан стерилланади.

Электив озиқ муҳитлар. 1% пептонли сув, pH 8,0. Вабо вибриони учун элективмуҳит бўлиб, бошқа микробларга нисбатан жуда тез кўпаяди. Муҳитнинг ишқорийреакцияси, вабо вибрионининг ўсишига тўсқинлик қилмайиди, лекин бошқамикроорганизмларнинг ўсишини секинлаштиради.

Ишқорий агар (ИА). Қаттиқ муҳит: озиқ агар, pH 7,8. Олдинги муҳитга ўхшаш, вабовибрионига электив ҳисобланади.

Мюллер муҳити. Тиф-паратиф бактериялар учун электив ҳисобланади, чунки уларичак таёқчасига нисбатан тетратионат натрийга (бу бирикма озиқ бульонга Люгольэритмаси ва натрий гипосульфит қўшилганда ҳосил бўлади) деярли чидамли.

Тухум сариғининг тузли агари (ТСТА). Муҳитнинг таркибида натрий хлоридюқори концентрацияда (8-10%) бўлади. Бу эса, стафилококкнинг ўсиши учун тўсқинликқилмай, балки муҳитни шу микроб учун электив ҳолатга келтиради. Муҳит лецитовителлазаҳосил қиладиган стафилококкларни шундай фермент ажратмайдиган стафилококкларданфарқ қилишга ёрдам беради. Шу муҳитда

лецитовителлаза мусбат микроб колониялариатрофида садаф рангли ҳалқа ҳосил бўлади (фермент товуқ тухуми сариғидаги лецитиннипарчалайди, шунинг учун эритилган ва 45°С гача совитилган озиқ, тузли агарга тухумсариғи 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 найчауглеводларнинг парчаланиши натижасида ҳосил бўладиган газсимон маҳсулотларни йиғишмақсадида солинади. Оқувчан буғ ёки 0,5 атм босимидаги буғ билан стерилланади; бунда-пўкак озиқ муҳит билан тўлади.

Моҳияти. Муҳит 7,2— 7,4 pH да рангсиз бўлади,бактериялар углеводни парчаласа кислота ҳосил қилиб муҳитнинг pH нордон томонга ўзгаради, бунинг натижасида индикатор ранги ўзгаради, қизил тусга киради.Саноатда углеводли, BP-индикаторли (сувли ҳаворанг бўёқ ва розол кислотааралашмаси) ярим суюқ муҳитлар порошок шаклида пакетларда ишлаб чиқарилади. BP-индикатори нейтрал реакцияли муҳитда рангсиз бўлиб, нордон муҳитда кўк, ишқориймуҳитда эса, қизил рангга айланади. Ҳосил бўладиган газ ярим суюқ агар устунчасинипарчалаб юборади.

Эндо муҳити. Таркиби гўшт пептонли агар, фуксин, сульфит натрий (Na_2SO_3). Моҳияти: фуксин сульфит натрий иштирокида рангсиз холтда бўлади (рангсиз фуксинсульфит кислотаси ҳосил бўлади);

- Лактозани парчаловчи энтеробактериялар, яъни бижғишжараёнида чумоли кислотаси ҳосил қилади, чумоли кислотаси реактивлар билан рангли реакция беради, шу жумладан фуксинсульфит кислотаси билан, бунинг натижасида фуксин ажралиб чиқади ва лактозани парчаловчи бактерия колонияси ялтироқ металсимон, қизил малина рангига киради.
- Бактерия колонияси лактозани парчаламаса рангсиз, оқиш баъзида енгил пушти рангга киради (озиқ муҳит рангига ўхшаш).

Левин муҳити. Кукун кўринишида пакетларда чиқарилади. У қуритилган озиқагар билан лактоза, K_2HPO_4, метилен кўки ва эозиндан

ташкил топган. Эндо муҳити кабитайёрланади. Муҳит тўқбинафша рангда бўлади.

Моҳияти. Левин муҳитида лактоза мусбат бактериялар тўйинган, ҳаворангли, лактоза манфийлар — рангсиз колонияларни ҳосил қилади. Бунинг механизми ҳамЭндо муҳитидаги каби кислота ҳосил бўлишига асосланган. Лактоза парчаланса муҳитнингрН нордон томонга сурилиш натижасида муҳитнинг тўқ бинафша ранги ўзгариб метиленкўки таъсирида колония тўқ ҳаво ранггига киради. Масалан ичбуруғ қўзғатувчиларилактозани парчаламайди, муҳит рН ўзгармайди, уларнинг колониялари рангсиз оқимтирбўлади, ичак таёқчаси колонияси эса тўқ ҳаво рангга киради.

3.1-жадвал

Клиник материаллардан бактерияларни ажратиб олишда кенг қўлланиладиган озиқли 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 буферида 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, Қантли бульон, ША, Плоскерова, Сабуро муҳитлари	Тугинчалари бўлса гомогенизация қилинади, экилади.
Тамоқ бурин халқумдан олинган суртма	ҚА, ША, Сут ёки тухим сариғи қўшилган тузли агар	Менингококк юқумли касаллигига шубҳа қилинса ША қўлланилади.
Нажас	Эндо,Плоскерова, ВСА, Сабуро муҳитлари,ҚА	Материал гомогенизацияланади ва 10 % фосфат буферида ёки пептонли сувда суспензия тайёрланади ва экилади.
Қин ва уретр ажралмаси	КА, Эндо, Сабуро	10 % фосфат буферида ёки пептонли сувда суспензия тайёрланади ва экилади.
Ацит, орқа мия ва тўқима суюқликлари	КА, ША, тиогликолли бульон	Материал олдин центрифуга қилиниб кийин экилади.
Кўз, қулоқдан олинган ажралма	КА,ША, тиогликолли бульон, Сабуро муҳити	Экилгандан сунг, тиогликолли бульонда қолдирилади

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

Плоскирёв муҳити (Ж бактоагари). Қуруқ ҳолда чиқарилиб, лактоза, бриллиантяшили, ўт кислоталар тузлари, минерал тузлар ва индикатор (нейтрал қизил) озиқ агарданиборат. Бу муҳит фақат дифференциал-диагностик бўлиб қолмасдан, балки селектив ҳамдир.Чунки у кўп микробларнинг (ичак таёқчаси ва бошқалар) ўсишини тўхтатади ва кўпгинакасал қўзғатувчи бактериялар (ич терлама, паратиф, дизентерия қўзғатувчилар) нингўсишини таъминлайди.

Моҳияти. Лактозаманфий бактериялар бу муҳитда рангсиз, лактоза мусбатларэса, оч қизил колонияларни ҳосил қилади. Бу муҳитнинг меҳанизими ҳам кислота ҳосилбўлишга асосланган.

Клиглер муҳити. Таркиби - 1% лактоза, 0.1% глюкоза, тиосульфат натрий ва терир сульфат фенол рот индикатори. Муҳит пробиркага устунча ва қийшиқ агар қилиб қуйилади. Патологик материал қийшиқ агар қисмига штрих қилиб, устунчага эса укол қилиб экилади.Бактерия фақат глюкозани парчаласа устунча сариқ рангга киради, агарнинг қийшиқ қисми ранги ўзармайди. Агар бактерия (E.coli) хар иккала углеводни ҳам парчаласа муҳит сариқ рангга киради, агар газ ҳосил қилиб парчаласа, газ пуфакчалари устунчани юқорига кўтариб юборади. Агар бактерия водород сульфит ҳосил қилса муҳит қораяди.

Охирги йилларда патоген бактерияларни ажратиб олишда, бактериологик амалиётга дифференциал – диагностик муҳитларнинг янги авлоди хромоген муҳитлар кириб келди. Бу муҳитларнинг ишлаш моҳияти, асосан изланилаётган бактерияларни юқори махсусликга эга бўлган ферментларини аниқлаш орқали амалга оширилади. Бундай ферментларга масалан β-D-глюкуронидаза *Escherihia coli* ёки β-D-глюкозидаза энтерококкларда учрайди. Бундай ферментни аниқлаш учун озиқмуҳитга хромоген модда субстрат қўшилади. Фермент хромоген моддани парчаласа бўялиш ёки флюоресент шулла тарқатувчи субстрат ҳосил бўлади.Бунинг натижасида озиқ муҳитда ўсган микроб колонияси маълум рангга киради ёки ультрабинафша нур таъсирида флюоресент шуъла тарқатади.

Ҳозирги кунда HiMedia Laboratories Pvt. Limited (Ҳиндистон) юқори сифатли хромоген муҳитларни ишлаб чиқармоқда. Юқори сезгирликка эга бўлган бу муҳитларни қўллаш орқали 24 соатда, текширилаётган материалдан қатор изланилаётган микроорганизмларнинг аниқлаш имконини бермоқда.

E.coli **ва колиформ бактерияларни аниқлашда қўлланиладиган ХайХром селектив агари (HiCrome Coliform w/SLS).**

Таркиби: грамм/литр: махсус пептон 3,0; хлорид натри 5,0; гидрофосфат натри 3,0; дигидрофосфат кали 1,7; пируват натри 1,0; L-триптофан 1,0; додеилсульфат натри 0,1; хромоген аралашма 0,2; агар-агар 12,0. Охирги pH муҳити (25^0 C) 6,8 ±0,2.

Тайёрлаш. 27,0 г кукунга 1000 мл дистилланган сув қўшилади. Тўлиқ эригунча қайнатилади. Автоклавда 1,1 атм (121^0C) 15 минут стерилизация қилинади. Агар текширилаётган материалда Грам мусбат бактерияларни учраш эҳтимоли юқори бўлса, автоклавда стерилизация қилгунча, муҳитга 5 мг/л нообиоцин қўшилади.

Ишлаш моҳияти. HiCrome Coliform агар E.coli ва колиформ бактериялар учун селиктив муҳит ҳисобланади. Махсус пептон ва пируват натри бактерияларнинг ўсиши учун зарур факторни таъминлайди.Фасфатлар муҳитни буфер ҳолатини, додеилсульфат натри эса Грам мусбат бактерияларни ўсишини тўхтатади. Муҳитдаги хромоген аралашма ўзида 2 та хромаген (Salmon-GAL ва X-глюкуронид) сақлайди.Бактерияни β-D-глюкозидазаси Salmon-GAL парчалайди, натижада колиформ бактериялар колонияси пушти қизил рангга киради.Ичак таёқчаси β-D-глюкуронидаза ишлаб чиқарганлиги сабабли X-глюкуронидни парчалайди, колонияси тўқ кўк рангга (сиёҳ рангига) киради.

Уропатоген бактерияларни аниқлашда қўлланиладиган ХайХром селектив агари (HiCrome UTI Selective Agar) .

Таркиби. грамм/литр: ҳайвон тўқимасини пептит ишламаси 18,00; казени ферментатив гидролизати 4,00; гўшт экстракти 6,00; гидрофосфат натри 3,0; дигидрофосфат кали 1,7; пируват натри 1,0; L-триптофан 1,0; додеилсульфат натри 0,1; хромоген аралашма 0,2; агар-агар 12,0. Охирги pH муҳити (25^0 C) 6,8 ±0,2.

Тайёрлаш. Озиқ муҳитнинг 56,94 г кукуни 1000 мл дистилланган сувга аралаштрилади ва тўлиқ эриб кетгунча қайнатилади.Автоклавда 1,1 атм (121^0C) 15 минут стерилизация қилинади.Совутилиб 50^oC стерил Петри косачаларига қуйилади.

Муҳитнинг ишлаш моҳияти шундан иборатки,муҳит таркибидаги бой фенилаланин ва трифтофан манбаси пептон кўринишида учраб, трифтофандезаминаза активликка эга бўлган бактерияларни ТДА реагенти орқали аниқлашга (Proteus, Morgfnella,Providenciae) имкон беради. Бу бактерияларни колонияси жигар рангга киради.E.coli эса

муҳит таркибидаги хромоген субстратни β-галактозидаза билан парчалагани сабабли, уларни колонияси пушти рангга киради.

Сальмонеллалар учун дифференциал диагностик агар (Рфдж-Ханс модификацияси). Salmonella Differential Agar (Modified (Twin pack)(RajHans Medium).

Таркиби: (грамм/литр)А-қисми- махсус пептон 8,00; хлорид натри 5,00; ачтқи экстракти 3,00; дезоксиҳолат натри 1,00; индикатор В.С.2,00; агар-агар 12,00. В-қисми-пропиленгликол 10,00. Охирги pH муҳити (25^0 С) 6,8 ±0,2.

Тайёрлаш. Муҳитни (суюқ) В қисмидан 10,0 г олиниб 1000 мл дистилланган сувга аралаштрилади ва А-қисмидаги кукундан 31,0 г олиниб эриб кетгунча қайнатилади. Муҳит автоклавда стерилизация қилинмайди.Совутилиб 50^oC стерил Петри косачаларига қуйилади.

Муҳитнинг ишлаш моҳияти шундан иборатки сальмонеллалар пропиленгликолни парчалаши оқибатида кислота ҳосил қилади. Муҳитдаги махсус пептон ва ачитқи экстрактлари сальмонеллаларни яхши кўпайишини таъминлайди, дезоксиҳолат эса граммусбат бактерияларни ўсишини тўхтатиб қўяди ва муҳитга селектив хусусиятни беради. сальмонеллалар пропиленгликолни парчалаганда ҳосил бўлган нордон модалар В.С. индикаторни қизил рангга киритади.Лактозани кислотагача парчаловчи бактерияларни β-галактозидаза активлигини аниқловчи индикатор ёрдамида аниқланади. Шунинг учун лактоза мусбат бактерияларни колонияси кўк рангга киради. сальмонеллалар пропиленгликолни кислота ҳосил қилиб парчалаганлиги учун колонияси қизил рангга киради.

3.2. Микроорганизмларнингсоф культурасини ажратиб олиш усулари.

Микроорганизмлар соф культураси – бир турга мансуб бўлган, стерил озиқ муҳитда ўсган бактериялар популяцияси. Соф культура битта она ҳужайрадан олинган бактериялар йиғиндиси ҳисобланади. Соф культура қаттиқ муҳитларда алоҳида колония кўринишида ўсиши мумкин.

Патологик материалларни озиқ муҳитларга экиш техникаси.

Бактериологик қовузлоқ экиш учун энг қулай асбоб ҳисобланади. Бундан ташқари, санчиб экиш учун махсус бактериологик игна, Петри косачасига 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 градиурланган пипеткаларнинг иккинчи, яъни кенг томони пахта тиқин билан беркитилади, сўнгра улар махсус идишга (пеналларга) жойлаштирилади ёки қоғоз билан ўраб стерилланади.

Бактериякультурасини қайта экишда пробирка чап қўлга 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 озиқ муҳит устига томизилади.

Микроб культурасини резинали най ёки резинали нокча орқали сўриб олиш хавфсиздир. Ишлатилган пипетка дезинфекция қилувчи эритмаси бўлган банкага солинади ва шу йўл орқали пастер пипеткалари ёрдамида экма ҳам экилади. Петри косачасидаги озиқ агар юзасига томизилган материал шиша шпател ёрдамида газон услубида экилади. Бунинг учун қопқоқ бироз очилади, қовузлоқ ёки пипетка билан экиладиган материалдан озиқ 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 айлантириб

турилади. Экма инкубациясидан сўнг бактериялар бир текис униб чиқади.

Микроорганизмларни соф культура ҳолда ажратиб олишда аэроб ва анаэроб шароитлар яратилиши зарур.

3.2.1. Аэроб бактерияларнинг соф культурасини ажратиболиш усуллари

Текширилаётган материал ва турли микроорганизмлар аралашмасиданбактерияларнинг айрим турларини ажратиб олиш, одатда, ҳар қандайбактериологик текширишларнинг бирдан-бир, асосий бошланғич босқичиҳисобланади.Бу текширишлар эса, турли мақсадларда: касалликка диагноз қўйишда,атроф-муҳитдаги микробларнинг қай даражада тарқалганлигини аниқлаш учунолиб борилади. Соф культураларни ажратиб олиш билангина юқоридагимақсадларга эришиш мумкин. Текширилаётган патологик материалдаизланилаётган бактериялардан ташқари бошқа сапрофит бактериялар бўлиши мумкин. Уларнинг ичидан шубҳаланилаётган юқумли касалликқўзғатувчи соф культурасини ажратиб олиш орқалигина юқумли касалликқўзғатувчиларини идентификация қилиш мумкин.

Бактериялар соф культураларини ажратиб олиш усулларини 2 гуруҳга бўлиш мумкин:

1. Микроорганизмларни механик усулда бир –биридан ажратиб, камайтириб боришга асосланган усуллар;

2. Микроорганизмларнибиологик хусусиятига асосланган усуллар.

Микроорганизмларни механик усулда бир –биридан ажратиб, камайтириб боришга асосланган усуллар билан аэроб бактерияларнингсоф культурасини олиш.

Бу усулларнинг асосий моҳияти қаттиқозиқ муҳит юзасида бактерияларни механик равишда ёйиб ташлашга ёки текширилаётган материалдаги бактерияларни маълум миқдоргача суюлтириб камайтиришгаасосланган.Материалларни экиш махсус шиша шпател ёки бактериологик қовузлоқ орқали амалга оширилади.

1. Дригальский усули билан шпателда экиш. Озиқ муҳитли 3 та Петри косачаси олинади. Биринчи косачага бир томчи текширилаётган материалдан томизилади ва уни стерилланган шиша шпател билан косача ичидаги озиқ агар юзасига суркалади. Кейин шпателда қолган культурани (шпател стерилланмайди) иккинчи ва учунчи косача ичидаги озиқ агар юзасига суркаб экиб чиқилади, экилган экма термостатга (37 Cº) қўйилади.Биринчи косачадаги озиқ агар юзасида

микроблар қалин ўсиши мумкин, иккинчи ва айниқса учинчи косачада алоҳида чегараланиб ётган микроб колонияларини олиш ва улардан соф культура ажратиб олиш мумкин.

2.Бактериологик ҳалқа қовузлоқ /петля/ билан штрих ва секторларга бўлиб экиш.Бу усул ҳам олдинги усуллардан принципал жиҳатдан фарқланмайди, лекин сезиларли тежамли. Қовузлоқ билан штрих усулида экишни бир неча модификациялари мавжуд (Экиш техникасига қаралсин: 3.2-расм).

3.2.-расм. Бактериологик қовузлоқ билан штрих (А) ва секторларга (В) бўлиб экиш.

Биринчи ҳолатда қовузлоқ билан олинган материал озиқ агар юзасининг бир чеккасига кўп маротаба суртиб экилади, қовузлоқдаги кўп материал шу ерда қолади, сўнгра муҳитнинг қолган қисмига бир-бирига паралел штрих қилиб экиб чиқилади.

Одатда биринчи қовузлоқ билан қалин экилган соҳада микроблар кўп ўсади, уларнинг миқдори кейин экилган штрих бўйлаб камайиб боради, табиийки колониялар ҳам экмани охирида чегараланган ҳолда учрайди(3.2-расм).

Иккинчи ҳолатда қовузлоқ билан олинган материални озиқ агар юзасига сектор усулида экиш мумкин. Бунинг учун Петри косачаси озиқ муҳит билан олинади ва уни 3 секторга бўлинади. Текширилаётган материал қовузлоқ билан биринчи секторга олинади ва бир-бирига параллел равишда штрих қилиб секторга экилади (чизиқлар ораси

0,5 мм атрофида бўлади), шу қовузлоқ билан бошқа секторларга ҳам экиб чиқилади, экилган экма термостатга (37 Cº) қўйилади (3.2-расм). Расмдан кўриниб турибдики биринчи ва иккинчи секторларда алоҳидаётган микроб колониялари йўқ, учунчи секторда эса бундай колониялар бор.

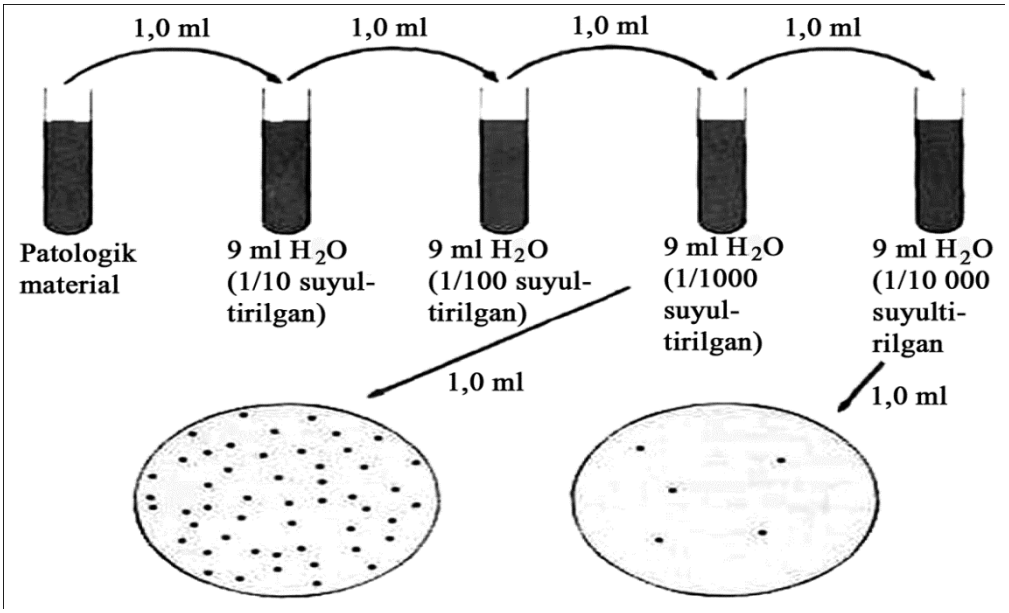
3. Текширилаётган материални серияли суюлтириш усули билан экиш. Бу усулда соф культура ажратиб олишдан ташқари текширилаётган материалда микроорганизмларнинг миқдорий кўрсаткичлари ҳам аниқланади (3.3-расм). Дастлабстерил пробиркалар олинади ва ҳар бирига 9,0 мл стерил физиологик эритма ёки стерил суволинади ва асосий материалдан 1.0 мл олиниб 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 (текширилаётганматериалга қараб янада кўпроқ суюлтириш ҳам мумкин) нисбатда суюлтирилади.Тайёрланган пробиркалардан белгиланган пипетка ёрдамида 1,0 мл материал олинибозиқ агар юзасига томизилади ва шпател билан суркаб газон усулида экилади ва термостатга (37Cº) қўйилади. Текширилаётган матералдан умумий микроблар сони (УМС) қуйидаги формула орқали аниқлаш мумкин.

УМС= AxBxC.

A- пробиркадаги суюлтириш даражаси;

B- 1,0 экилган экма

C- озиқ агар юзасида ўсган микроблар сони



3.3-расм.Серияли суюлтириш усули билан экиш.

4. Қиздириш усули билан соф культура ажратиб олиш. Спора ҳосилқилувчи бактерияларни ажратиб олишда қўлланилади. Бу усулда спора ҳосилқилмайдиган, аммо қўшилиб қолган микроорганизмларни вегетатив формасини йўқ қилишучун, текшириладиган материал 80°С да 10-15 мин.қиздирилади ёки қисқа вақт давомида қайнатилади.Бу ҳолатда микроорганизмнинг спораси сақланиб қолади ва қиздирилган материални озиқмуҳитига экилганда фақат спора ҳосил қилувчи бактериялар колония ҳосилқилган ҳолда ўсиб чиқади.

5. Бактерияларни соф культурасини лаборатория ҳайвонларига юқтириш усуллар билан ажратиб олиш.Кўпгина патоген бактерияларни сапрофитлардан ажратиб олишда қўлланилади. Амалиётдабаъзи бактерияларни ажратиб олишда қийинчиликлар туғилади, яъни текширилаётган материалда изланилаётган бактерияни миқдори жуда кам бўлиши, ёки ҳайвонлар ўлигитекширилганда (ўлатда), чиритувчи бактерияларни кўпайиб кетганлиги, материални лабораторияга етказиб бериш вақтини чўзилиб кетиши, бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш эхтимолини камайтириб юборади. Бундай холларда биологик усул муҳимаҳамият касб этади. Материални юқтириш учун, изланилаётган бактерияга сезгир бўлганлаборатория ҳайвонлари танланади. Масалан пневмококк ва ўлат қўзғатувчиси учун энг сезгир ҳайвон оқ сичқонлар ҳисобланади. Риккетсиялар учун эса каламуш, заҳмқўзғатувчиси қуён организмида яхши кўпаяди. Материал юқтирилган ҳайвонда касаллик белгилари кўрина бошланса, патологоанатомик текширилади ва уларнинг орган ва тўқималаридан юқоридаги усуллар ёрдамида соф культураси ажратиб олинади.

Аэроб бактерияларни биологик хусусиятларига асосланган ҳолда ажратиш усуллари.

Микроорганизмларни биологик хусусиятларига асосланган холда уларнинг соф культурасини ажратиб олиш, изланилаётган бактериянинг патологик материалда маълум бир биологик хусусиятига асосланган, бундай хусусият изланилаётган материалда аралаш ҳолда учровчи бошқа бактериялар бўлмаслиги мумкин.

1. Шукевич усули. Амалиётда Протей бактериясининг соф культурасини (*Proteusvulgparis*) ажратиб олишда, унинг озиқ муҳитда «ёйилиб» ўсиш хусусиятиданфойдаланилади.Бунинг учун текширилаётган материалдан қовузлоқ билан янги тайёрланганқийшиқ агарни конденсацион сувига экилади ва термостатга (37 Сº) қўйилади.Протей бактериялари озиқ муҳитда ўрмалаб ўсиш

хусусиятига эга ва кейинги кундақийшиқ агарни юқори қисмига ўрмалаб ўсиб чиқади, унинг юқори қисмидагикултурасидан олиниб, соф култура ажратиб олиш мумкин.

2. Бактериостатик усул (Ингибиция усули). Микроорганизмларни ўсишига турликимёвий моддалар ва антибиотиклар ва турли омилларни таъсир қилишига асосланган.Текширилаётган материални озиқ муҳитга экишда, асосий микробнинг кўпайишига таъсиркўрсатмайдиган аммо ташқи микрофлоранинг кўпайишини, ўсишини тўхтатадигантемпературада ўстирилади. Масалан, актиномицитлар, иерсиния бактериясининг софкультурасини ажратиб олиш учун, экилган материал 22°С температурада ўстирилади.

Кўпчилик бошқа бактериялар бу ҳароратда уларни ўсиши сустлашади. Иккинчи ҳолатдаозиқ муҳитга, бегона бактерияларнинг кўпайишини тўхтатадиган, аммо текширилаётганмикробга таъсир қилмайдиган аниқ концентрацияда маълум антибиотиклар қўшиш мумкин.Кўкйўтал қўзғатувчисини ажратиб олишда Казеинли кўмирли агарга (ККА) пенициллинантибиотиги қўшилади. Пеницилин Грам манфий кўкйўтал қўзғатувчисига таъсиркўрсатмайди, лекин қўшимча граммусбат бактерияларнинг ўсишини тўхтатибқўяди.

Кислотага чидамли бактерияларнингсоф культурасини ажратиб олишда, текширилаётганматериал 5 % сульфат кислота билан ишлов берилади, кислотага чидамсиз қўшимча флоралар ҳаммаси ўлиб кетади, кислотага чидамли бактериялар сақланиб қолади, кейинозиқ муҳитларга экилганда улар яхши ўсади. Бу усулдан сил таёқчасини соф культурасиниажратиб олишда кенг қўлланилади.

3. Бойитувчи усул (метод обогашения). Текширилувчи материал бактериялар учунэлектив 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 ўсишитўхтаб қолади ёки сустлашади.

3.2.2. Аэроб бактериялар соф культурасини ажратиб олиш босқичлари.

Юқумли касалликларга диагноз қўйишда тиббиёт амалиётдабактериологик усул асосий, ҳал қилувчи ҳисобланади. Юқумли касалликларгадиагноз қўйиш бирнечта босқичларда олиб борилади. Биринчи босқичи патологикматериаллардан қўзғатувчини

соф культурасини ажратиб олиш, иккинчи босқичиэса ажратиб олинган соф культурани қайси тур ёки авлодларга мансублигинианиқлаш ёки идентификация қилиш ҳисобланади.

Озиқ муҳитда ўстирилган бир турдаги ёки бир хил бактерияларпопуляцияси **соф культура** деб аталади. Кўп бактерияларнинг турларибиргина хусусиятига кўра биологик вариантлар - биоварларга (синоними:биотиплар) бўлинади. Кимёвий хусусиятлари билан фарқланадиган -хемоварлар, антигенлик хусусияти билан — серовар, фагларга сезувчанлигибилан фаговарлар деб аталади. Бир турнинг микроб культураси ёки биовари,турли манбалардан ёки ҳар хил вақтларда бир манбадан ажратиб олинган бўлса,улар **штамм** деб номланадн. Штаммлар кўпинча номер ёки қандайдир белгиларбилан белгиланади. Бактерияларнинг соф культурасини диагностикбактериологик лабораторияларда, алоҳида ажратилган колониялардан қаттиқёки суюқ озиқ муҳити бўлган пробиркаларга қовузлоқ орқали экиб ажратиболинади.

Қаттиқ озиқ муҳитда бир турдаги ёки биовардаги бактерияларўстирилганда, битта ёки бир нечта бактерия ҳужайраларининг кўпайишинатижасида ҳосил бўлган айрим -айрим тўпламлар ҳосил қилади, буларниамалиётда **колония** деб аталади. Колония деб бир турга ёки биоварга мансуббўлган бактерияларни маълум вақт ичида, зич озиқ муҳит юзасида ҳосилқилган микроб тўпламига айтилади. Колониялар қаттиқ муҳитда ўстирилгандауларни ўсиши, колония ҳосил қилиши материалдаги микроблар миқдорига ваэкиш техникасига боғлиқ бўлади. Материалда микроблар сони кам бўлса ватўғри техник усул қўланилса керакли микоорганизмларни алоҳида,чегараланган колонияларини олиш мумкин. Ҳар хил турдаги бактерияларнингколониялари бир-биридан ўзининг морфологияси, ранги ва бошқа белгиларигакўра фарқ қилади.

Бактериянинг соф культураси диагностик текширишлар ўтказиш учунажратиб олинади. Бу эса, идентификациялаш, яъни ажратиб олинганбактерияларнинг кайси зотга, турга мансуб эканлигини аниқлаш демакдир.

Бунга эса, уларнинг морфологияси, ўсиши, биокимёвий ва бошқахусусиятларини текшириш натижасида эришилади (3.1-жадвалга қаралсин).

Кўпчилик бактерияларнинг соф культурасияи ажратиш учун 2—3 кун вақтсарф бўлади. Сил касаллиги микобактериясини ўстириш учун

кетадиган вақт4-5 ҳафтагача давом этади.Соф культурани ажратиш жараёнини бир неча босқичларга бўлишмумкин.

Аэроб бактериялар соф культурасини ажратиб олиш ва идентификация қилиш босқичлари.

Биринчи босқич -текширилаёгган патологик материалдан суртма тайёрланади. Грамёки бошқа усул билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади. Керак бўлсатекширилаётган материал пробиркада NaCl нинг стерилланган изотоникэритмаси билан суюлтирилади. Бир томчи суюлтирилган материални бир хилдатақсимлаб, қовузлоқ ёки шпател билан Петри косачасидаги озиқ агар юзасигаэкилади.(Юқоридаги экиш техникаси ва усулларига қаралсин). Экилгандан сўнгкосача ости юқорига қилиб айлантирилади ва унга ёзилади. У 37°С датермостатга 18-24 соатга қўйилади. Лекин баъзи бир бактериялар 18 -24 соатда озиқ муҳитларда ўсиб чиқмайди, шунинг учун 72-96 соатгача сақланади (кўкйўтал, актиномицетларни ажратиб олишда).

Иккинчи босқич.Бу босқичда бактерияларни морфологик, тинкториал ва культурал хусусиятлари ўрганилади.

1. Морфологик, тинкториал ва культурал хусусиятлари.Ўрганилаётган культурани морфологияси ва уларнинг тинкториал хусусиятларини аниқлаш учунтекширилаётган колониядан суртма тайёрланади, Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади.

2. Культурал хусусияти (ўсиш белгилари). Бу хусусиятга бактерия ларнинг қаттиқ ҳамда суюқ озиқ муҳитларда ўсиши киради.

Бактерияларколонияси экилган косачаларда кўрилади, якка-якка жойлашганколониялар ўрганилади. Уларнинг шаклига, катта-кичиклигига, қаттиқ ёкиюмшоқлигига ва бошқа белгиларига аҳамият берилади. Бактерияларнинг зотива туригача идентификациялашда, колония ва культураларга турли рангларберувчи пигментлар ҳам муҳим аҳамиятга эга. Масалан, *Serratia marcescens* (ажойиб қон таёқчаси) қизил пигмент, *Staphylococcus aureus* тилларангли пигмент (тилла рангли стафилококк), *Pseudomonas aeruginosa* кўк-яшилпигмент (кўк-яшил йирингли таёқча) ҳосил қилади.

Ҳужайранинг морфологияси ва уларнинг тинкториал хусусиятларинианиқлаш учун, текширилаётган колониянинг бир қисмидан суртма тайёрланади,Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади. Соф культураниажратиш ва тўплаш учун битта ёки бир неча хил алоҳида жойлашган колонияларни, қиялантирилган нейтрал агарга ёки бошқа дифференциал озиқ-

муҳитли (кўпроқ Клигер, Рассел муҳитлари) пробиркаларга қайтаданэкилади. Бунинг учун бошқа колонияларга тегизмасдан қовузлоқ биланколониянинг бир қисми олинади.

Учинчи босқич. Ажратиб олинган соф культуранинг хусусиятлари қайдқилинади. Соф культура кўз билан кўрилганда бир текис ўсган бўлади. Шукультурадан тайёрланган, бўялган суртма микроскоп остида кўрилганда,морфология, тинкториал хусусияти жиҳатидан бир хил бўлган ҳужайраларкўринади. Агар бактерияларнинг айрим турларига хос рўйирост кўринадиганполиморфизм бўлса, у ҳолда соф культурадан тайёрланган суртмада,ҳақиқий ҳужайралар билан бир қаторда, бошқа ўзгарган шаклдаги ҳужайраларҳам учрайди.

Бактерияларнинг морфологик ва тинкториал белгилари ҳаракатлари,турли усуллар билан бўялган ва бўялмаган препаратларни микросоп остидатекшириш билан ўрганилади. Учинчи босқичда ажратиб олинган бактерияларкўпчилик холларда авлодгача аниқланади, уларнинг тургача идентификацияқилиш учун, бактерияларнинг биокимёвий, фагларга, антибиотикларга бўлгансезгирлик хусусиятлари чуқурроқ ўрганилади. Бунинг учун бактерияларнинг сахаролитик активлигини ўрганишда узун Гисс қаторига, протеолитикхусусиятини аниқлаш учун ГПБ, желатинали муҳитларга экилади. Культурал (ўсиш) хусусиятлари бактериянинг озиқга бўлган талабини,қаттиқ ва суюқ озиқ муҳитда ўсиш шароитини белгилайди. Бу хоссалар эсаколониялар морфологияси ва культуранинг ўзига хос ўсиш хусусиятларибўйича аниқланади.

Бактерияларнинг биокимёвий хусусиятлари маълум зотга, турга, вариантгахос бир қатор конститутив ва индуцибелли ферментлар билан белгиланади.Бактериологик амалиётда бактерияларнинг сахаролитик ва протеолитикбелгилари таксономик аҳамиятга эга бўлиб, дифференциал-диагностикмуҳитларда аниқланади.

Тўртинчи босқичда. Ажратиб олинган бактерияларнинг соф културасиуларнинг биокимёвий, антигенлик, фагларга бўлган сезгирлиги натижалариасосида тўлиқ тургача идентификация қилинади ва бактериологик ташхисжавоби берилади. Агар хусусиятлари бўйича баъзида номутоносибликларкузатилса бу хусусиятларини аниқлаш бўйича қўшимча-тадқиқот ишлари олибборилади.

Бактерия культураларини идентификация қилиш

Ҳар бир турга мансуб бўлган бактериянинг морфологик, ўсишбелгиларини, биокимёвий, антигенлик ва бошқа хусусиятларини

ўрганишнатижасида ажратиб олинган бактерия культурасини идентификация қилишмумкин. (3.1-жадвал).

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

2. Культурал хусусияти (ўсиш белгилари). Уларга бактерия колониясинингқаттиқ ҳамда суюқ озиқ муҳитларда ўсиши киради.

Бактерияларнинг қатиқ озиқ муҳитларда ўсиши. Қаттиқ озиқмуҳитларда ўсган бактериялар колонияларининг катта-кичиклиги ўлчами,шакли, ранги, қаттиқ-юмшоқлиги (консистенцияси), четларининг контури,юзасининг характери ва тузилиши билан бир-биридан фарқ қилади.

Қаттиқ муҳитда ўсган бактерия культурал ва тинкториал хусусиятларибўйича баённома шакли

Жадвал 3,2.

Патологик материал ваэкилган озиқ муҳит	Колония номери	Грамбўйича бўялиши	Ўлчами	Шакли	Ранги	Юзаси	Консисс-тенсияси	Таркиби	Қирраси	Колониялар типи(S,R, M,)	АжратибОлин-ганкултура

Катталиги бўйича-колониялар йирик (диаметри 4-5 мм.сарциналар,кўпроқ замбуруғлар ҳосил қилади), ўртача (2-4 мм ичак гуруҳи бактериялари *E.coli, S. typhi*) ва майда (1-2 мм/ *Bordetellapertussis*), майда колонияларнимикроскоп остида (МБ-1) ёки каталаштириб кўрсатувчи лупа ёрдамида кўришмумкин.

Шаклига кўра — юмалоқ, розеткасимон, дуксимон, толали, ўзгарувчанбарг шаклида бўлиши мумкин.

Колонияларнинг ранги- ишлаб чиқарилаётган оқ, сариқ, қизил ва бошқапигментларга боғлиқ. Пигмент ажратмайдиган бактерияларнинг колониясирангсиз бўлади**.**

Консистенцияси. Қаттиқ юмшоқлиги, асосан бактериологик қовузлоқбилан олинганда ўрганилади. Колониялар бу жиҳатидан қуруқ (Силқўзғатувчиси), нам (Протей бактериялари), чўзилувчан (капсула ҳосил қилувчибактериялар Клебсиелла), енгил олинувчи юмшоқ

пастасимон(кокклар: стафилококк, сарцинлар, тетракокклар) бўлиши мумкин.

Колонияларнинг юзаси (сатҳи)- текис силлиқ, кўтарилган, қабариқ,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.

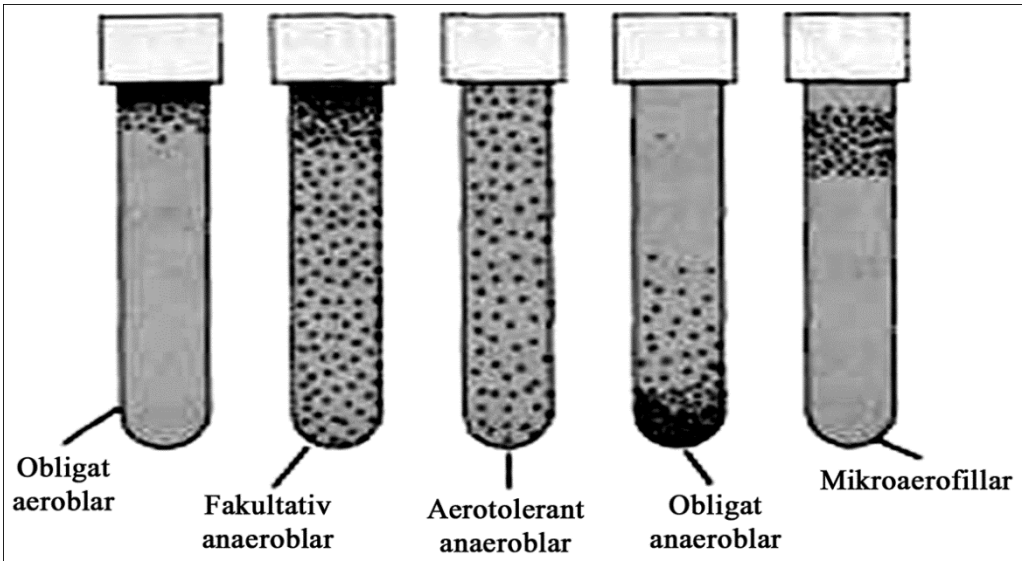
3.4- расм. Турли бактериялар ҳосил қилувчи колонияларнинг шакли, юзаси ва қирралар кўриниши.

Бактерияларни колонияларини ўрганиш муҳим амалий аҳамиятга эгабўлиб, бактерияларни бирламчи саралашда қўлланилади. Амалиётдаколонияларни бир неча типда, умумий номлар билан аташ қабул қилинган.

Масалан, колониялар силлиқ, думалоқ шаклда, қирралари текис, юзаси силиқялтироқ, бир жинсли бўлса S- колониялар деб аталади (инглизча smooth-силлиқ деган сўздан олинган). Бошқа колониялар ғадир-будир, хира, қирраларинотекис, шакли нотўғри, қуриқ бўлиши мумкин, Бундай колонияларни R-колониялар деб (инглизча rooth-ғадир-будир деган сўздан олинган) аталади.Бундан ташқари колонияларни оралиқ шакллари ҳам учрайди: шилимшиқ (M-формалар) ёки митти (G-формалар) шулар жумласидандир.

Бактерияларнинг суюқ озиқ муҳитларда ўсиши.Суюқ озиқмуҳитда бактериялар ўсганда ҳам улар айрим турларга хос

кўринишлардаўсади ва культурал жиҳатдан бир бирларидан фарқ қилади.



3.5-расм.Суюқ озиқ муҳитларда бактерияларнинг ўсиши, уларнинг нафас олиш типларига боғлиқлиги

Кўпчиликбактериялар суюқ бульонларда ўсганда уни лойқатиб ўсади (ичак гуруҳи бактериялари ичак таёқчаси, клебсиелла), баъзилари эса муҳитниюзасида юпқа парда (вабо вибриони), қалин парда ҳосил қилиб, (сил, ўлатқўзғатувчиси) ўсади, бошқа бирлари эса пробирка тагида ипир-ипир чўкмаҳосил қилиб (куйдирги қўзғатувчиси) ёки пробиркани девори бўйлаб ўсиши мумкин (пиоген стрептококк). Бундан ташқари бактерияларнинг суюқмуҳитларда ўсиши уларнинг нафас олиш типларига ҳам боғлиқдир (27- расм).Облигат аэроблар муҳитнинг энг устки юзасида, кислородга яқин жойда,факультатив анаэроблар муҳитнинг ҳамма қисмида, лекин кўпроқ юзасида,аэротолерантлар муҳитда бир хил тарқалиб кўпайса, қатъий анаэроблармуҳитнинг тагида ва микроаэрофиллар эса муҳитнинг юзасига яқин қисмидаўсишади.

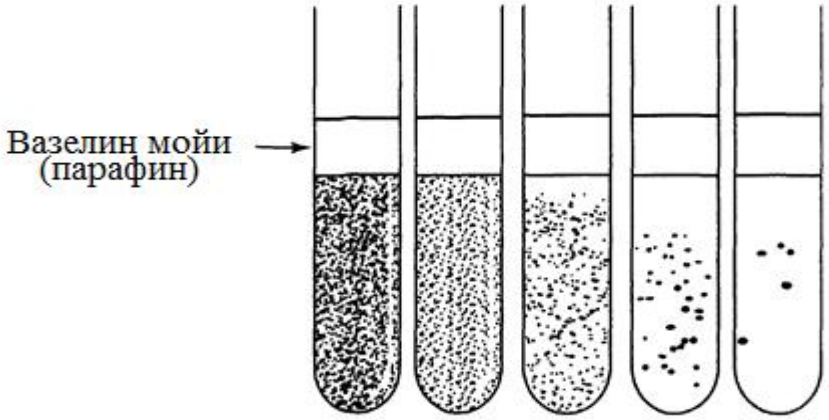
3.2.3. Анаэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш усуллари.

Анаэроб бактерияларни ажратиб олиш моҳияти, ҳавода ёки озиқмуҳитлардаги кислородни порциал миқдорини анаэроблар учун камайтиришга, бўлмаслигига қаратилган бўлиб, буни бир неча усулларда (физик, кимёвий, биологик) амалга ошириш мумкин.

Физик усуллар. ***1. Муҳитни қайнатиш*** **-** муҳитдаги эриган кислоротни энг оддий усулда чиқариб юбориш. Бунинг учун пробиркадаги муҳитга патологик материални экмасдан олдин уни сув

ҳаммомида 10-15 минут қайнатилади, кислородни чиқариб юбориш учун, қайнатилган муҳитни совуқ сув оқимида тез совутилади, яна кислород билан тўйинмаслиги учун. Муҳитга патологик материал экилади ва муҳитни устига вазелин мойи қуйиб қўйилади.

2. Анаэроб микроорганизмларни қаттиқозиқ муҳитнинг чуқур қисмида ўстириш (Вейнбергни серияли суюлтириш усули). Микроб культураси (текширилаётган материал) Пастер пипеткаси ёрдамида олиниб 10 мл физиологик суюқликли пробиркаларда суюлтирилади ва суюлтириш (қайнатилиб 50^0C совутилган пробиркадаги қандли агарга ёки Вильсон-Блер муҳитига) 4,5 ва 6 пробиркаларда давом эттирилади. Агар қотиб қолгандан сўнг вазелин мойи ёки парафин пробиркадаги агар устига қуйилиб, термостатга қўйилади.Вильсон-Блер муҳитини тайёрлаш- 100 мл 1% глюкоза сақловчи эритилган ГПА га 10 мл 20% сульфит натрий эритмаси ва 1 мл 8% темир хлорид эритмаси қўшилади.Патологик материални зич озиқ муҳитда серияли суюлириш натижасида охирги пробиркалардаги агарни чуқур қисмида микроб колониялари ҳосил бўлади (24-расм)

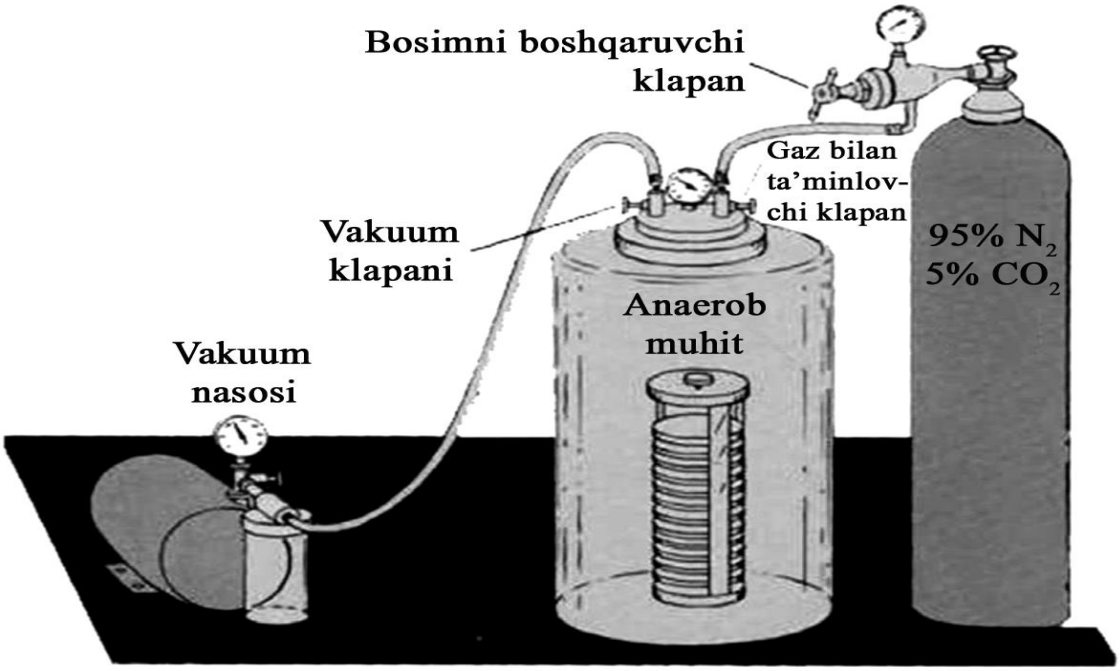


3.6-расм Вейнберг усулида анаэробларни соф культурасини ажратиб олиш.

3.Муҳитларга кислородни редукцияга (рецудирующих) учратувчимоддалар қўшиш билан ажратиб олиш. Редукциягаучратувчи модда сифатида амалиётда кўпинча глюкоза, аскорбин кислотаси, цистеин қўлланилади Бундан ташқари ҳайвон паренхиматоз органлари , тўқималари (жигар, талоқ) ҳам кислородни бриктириб олади. Кўпинча ҳайвон паренхиматоз органларини қўллаб тайёрланган муҳитлар қўлланилади. Буларга киради:

Китт-Тароцци муҳити. Муҳитнинг таркиби: гўштли бульон, 0,5%ли глюкоза ва янгижигар бўлакчаси солиб, муҳит юзасига вазелин мойи қуйиб қўйилади. Муҳитнитайёрлаш даврида ГПБ қайнатилади,

яъни кислород чиқарилиб юборилади,муҳитда қолган кислородни 0,5%ли глюкоза ва жигар бўлакчаси редукциягаучратади ва муҳитда анаэробиоз ҳолати вужудга келади. Муҳит юзасигақуйилган вазелин мойи кислород билан муҳитни яна бойишига йўл қўймайди.



3.7-расм.Газлар аралашмаси манбаси ёрдамида анаэроб шароит яратиш

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 % эритмаси) олинади. Унинг устига махсус чинни мосламақўйилади ва унинг устига анаэроб бактериялар экилган Петри косачалариқўйилади. Эксикаторни қопқоғига вазелин мойи суркаб яхшилаб беркитилади.

Пирагаллол ёки ишқор эритмаси кислородни шимиб шиша эксикаторда анаэробшароит яратади.

Биологик усул. Бу усулни моҳияти, аэроб ва анаэроб бактерияларнибиргаликда экиб, анаэроб шароит яратишга асосланган. Кўпинча Фортнерусулидан фойдаланилади. Бунинг учун қалин қилиб қонли агар қуйилган Петри косачасидаги муҳитдан фойдаланилади. Қиздириб стерилланган пинцет биланагар ўртасидан кичик ариқча қилиб иккига бўлинади ва бир томонига аэроб,иккинчи томонига анаэроб культура экилади. Косача айлантирилиб қопқоғи атрофларига парафин эритиб қуйилади ва термостатга қуйилади. Озиқ муҳитдаолдин аэроблар тез ўсади ва кислородни ўзлаштиришади,

анаэробларгакислородсиз шароит яратишади, кейин анаэроблар ўса бошлайди.Охирги йилларда юқорида келтирилган усулларни жуда кўплабмодификациялари қўлланилмоқда. Шулардан бири кафедрамиз ходимларитомонидан ишлаб чиқилган “ Газ тўлдирилган целофан пакет” усулидир.Бунинг учун оддий қалин целлофан пакет олиниб унинг ичига анаэроббактериялар экилган Петри косачалари қўйилади ва резина шланг ёрдамидатабиий газ билан тўлдирилади. Пакет яхшилаб бураб, газ чиқиб кетмайдиганқилиб, резина билан бойланади. Бу шароитда анаэроб бактериялар яхши ўсади.

Анаэроб бактериялар соф культурасини ажратиш ва идентификация қилиш.

Анаэроб микрофлорани ажратиш ҳам бир неча босқичлардан иборатдир.

Биринчи кун. Текширилаётган материал (тупроқ, йиринг ва бошқ.) Китт-Тароцци муҳитигабактериологик қовузлоқ ёрдамида экилади. Спора ҳосил қилувчи (клостридиялар) бациллаларниажратишда материал экилган Китт- Тароцци муҳити сув ҳаммомида 20 минут 80ºС да ушлабтурилади. Қўшимча бактерияларнингвегетатившаклини йўқотиш учун. Спора ҳосилқилмайдигананаэробларни (бактероид, пептострептококклар, пептококклар) қатъий анаэроб шароитлардаюқорида келтирилган усулларнинг бирини қўллаш билан ажратиб олинади.

Иккинчи кун. Китт-Тароцци муҳитига экилган экмада анаэроблар муҳитни лойқалантирибўсади, баъзида газ пуфакчалари ҳам кўриниши мумкин. Муҳитдан суртма тайёрланади ва Грам усулда бўяб, микроскопда кўрилади. Суртмада ўлчами катта таёқча шакллидаги бактерияларнинг спорали ва спорасиз шакллари топилса тахминий ташхис қўйиш мумкин. Соф культурасини ажратиб олиш учун ҚА ёки махсус муҳитларга экилиб аэроблар сингари соф культураси ажратиб олинади.

Учинчи ва тўртинчи босқичларда анаэроб бактерияларни ажратиб олиш босқичлари аэроб бактерияларг ўхшаш, улардан фарқи ҳамма ўрганилиши зарур бўлган хусусиятлар анаэроб шароитда амалга оширилади.

3.2.4. Бактерияларни биокимёвий хусусиятларини дифференциал-диагностик мақсадда ўрганиш.

Бактерияларни биокимёвий активлиги турли даражада бўлиб, улартаркибидаги ферментларига боғлиқдир. Бактериологик

амалиётдабактерияларни ферментатив хусусиятларини аниқлаш муҳим аҳамиятга эгабўлиб, бактерия турларини ажратиб олишда ва уларни бир-биридан фарқлашдава юқумли касаллик қўзғатувчиларига бактериологик ташхис қўйишни асосийвоситаси деб қаралади. Айниқса ичак гуруҳи юқумли касалликқўзғатувчиларини идентификациясида кенг қўлланилади.

Бактерияларни саралашда уларнинг қуйидаги биокимёвий хусусиятлариўрганилади:

1) Углеводларни парчалаши;

2) Оқсилларни парчалаши;

3) Бўёқларни редукцияга (тиклаш хусусияти) учратиши.

Углеводларни парчалаши. Микроорганизмларнинг углеводларни парчалашхусусиятини аниқлаш учун қисқа ва узун «ола-чипор» қатордан фойдаланилади. Қисқақаторга суюқ моно- ва дисахаридли Гисс муҳити (глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза ва олтиатомли спирт-маннитлар) киради. Узун «ола-чипор» қаторга кўрсатилган углеводлар биланбир қаторда яна турли хил моносахаридли (арабиноза, ксилоза, рамноза вабошқалар), полисахаридли (инулин, крахмал, гликоген ва бошқалар) ва спиртли (глицерин,дульцит, инозит ва бошқалар) муҳитлар киритилади. Индикатор сифатида барча муҳитгаАндреде ёки ВР реактиви қўшилади.Текширилаётган микробнинг соф культурасини қовузлоқ орқали «ола-чипор» қаторлимуҳитга экилади. Экилган пробиркалар 37^0С да термостатга 18-24 соат ёки узоқроқ вақтгақўйилади. Агар бактериялар углеводни кислород иштирокида парчаласа оралиқ маҳсулотсифатида альдегидлар, кислоталар ва газсимон моддалар (CO_2, H_2, CH_2) ҳосил бўлади.

Факультатив ва қатъий 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 оралиқ маҳсулотлар муҳитнинг Ph ини 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 (суюқ муҳитларда) газ пуфакчалари пайдо бўлади. Агар ярим суюқ агарли муҳитдан фойдаланилса, газ ҳосил бўлганлигини устунчанинг ёрилиши орқали анақлаш мумкин (27 - расм). 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 ҳосилбўлади, бу эса «ола-чипор» қатор деб аталади.

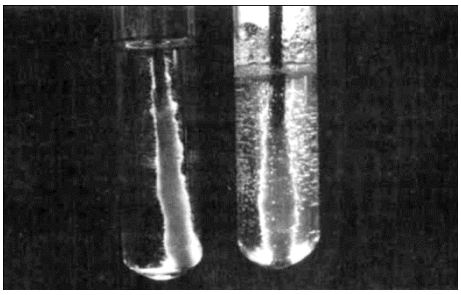
Оқсилларни парчалаши. Протеолитик ферментларни аниқлаш учун бактерия культурасини санчиб, 10-20% желатин устунига ёки гўшт пептонли бульонга экилади. Желатинга экилган материал 20-22°С бир неча кун давомида термостатда сақланади. Агар протеолитик фермент бўлса, бактериялар желатинни суюқлаштиради ва шу ерда воронкага (вабо вибриони) ёки тўнтарилган арчага ўхшаш (куйдирги қўзғатувчиси) юқоридан пастга қараб қаватма –қават (кўк яшил йиринг ҳосил қилувчи таёқча) емиради. ГПБ ёки пептонли сувга экилган бактериялар 37°С ли термостатда 1-3 кун инкубация қилингач, пептоннинг парчаланиши натижасида ҳосил бўлган маҳсулотларни аниқлаш учун (аммиак, индол, H_2S) реакциялар қўйилади.

Аммиак учун реакция. Лакмус қоғозининг энсиз тасмасини озиқ муҳитга тегмайдиган қилиб пробканинг ёнига яхшилаб жойлаштирилади. Қоғознинг кўк рангга 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 рангга 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 озиқ муҳитга тегмайдиган қилиб яхшилаб жойлаштирилади. Аминокислота трифтофан парчаланиши натижасида ҳосил бўлган индол шавел кислота шимдирилган фильтр қоғозини қизил пушти рангга киритади.

Водород сульфид учун реакция. Бактерия культурасини санчиб озиқ муҳит устунчасига экилади. Озиқ муҳит таркибида H_2S ни аниқлаш учун зарур бўлган тузлар аралашмаси: темир сульфати, натрий тиосульфати, натрий сульфит киради. Агар H_2S ҳосил бўлса, агар қораяди. Водород сульфид ҳосил бўлишини қўрғошин ацетати шимдирилган фильтир қоғози ёрдамида ҳам аниқлаш мумкин. Қўрғошин ацетати шимдирилган қоғоз H_2S ҳосил бўлса, қораяди.

Каталазани аниқлаш. Буюм ойначасига 1-3% ли водород пероксидиэритмасидан бир томчи томизилади ва унинг устига қовузлоқ билан бактерия культураси қўшилади. Каталаза водород пероксидини H_2O ва O_2га парчалайди.Кислород пуфакчаларининг ажралиши шу турдаги бактерияда каталаза ферменти борлигини кўрсатади.



Оксидазани аниқлаш.Фенилендиамин шимдирилган қоғозли дискга микроб культураси томизилади. Агар оксидазабўлса фенилендиаминни оксидлайди ва қоғоз кўк рангга киради.

Уреаза тести. Уреаза мусбат бактериялар мочевинани аммоний ҳосил қилибпарчалайди ва фенол қизил индикатори тутган муҳит қизаради. Асосанэнтеробактериялардан *Proteus, Klebsiella, Yersinia* авлоди вакиллари ҳосил қилади, (28-расм) бошқаэнтеробактерия авлоди вакилларидан фарқлашда қўлланилади

Хью –Лейфсон тести. Бактериялар глюкозани икки усулда (оксидлаш ва ферментация)парчалайди. Бактерияларни бу хусусиятини аниқлаш учун глюкоза тутувчи озиқ муҳитгаааэроб ва анаэроб шароитда экилади. Глюкозани оксидлаб парчалувчи бактериялар анаэробшароитда глюкозани парчаламайди Ферментациялаб парчаловчи бактериялар эса анаэробшароитда глюкозани парчалайди.Масалан кўк яшил йиринг ҳосил қилувчи бактерияларглюкозани 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 метилен кўки, тионин,лакмус, индигокармин ва нейтрал қизил ва бошқ.киради. Бактерияларни бу хусусиятинианиқлаш, идентификацияда кенг қўлланилади. Масалан, метилен кўки қўшилган сутлиагарда патоген стрептококкни, энтерококклардан фарқлашда ишлатилади. Пиоген стрептококк метилен кўкини редукцияга учратмайди, шунинг учун муҳит ранги ўзгармайди. Энтерококклар эса, метилен кўкини редукцияга учратиб муҳитни оқ рангга киритади.

Микроблар пигменти. Баъзи микроорганизмлар (бактериялар,замбуруғлар) бўявчи моддалар **пигментлар** ҳосил

қилишади ва бактериялар колониясини турли рангларга бўяйди.Бактериялар пигментларни ҳужайраичида ҳосил қилиши, ёки ташқарига ишлаб чиқариб озиқ муҳитни бўяшимумкин. Пигментлар эришига қараб-сувда, спиртда ва эфирда эрувчипигментларга бўлинади. Сувда эрувчи пигментларга кўк яшил пигмент(пиоцианин Ps. aerugenosa ишлаб чиқаради) киради.

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

3.Сувда ҳам, спиртда ҳам эримайдиган, лекин, эфирда эрийдиган, бундайпигментларга қора рангли пигменлар киради (замбуруғлар ишлаб чиқаради). Бактериялар пигментларни фақат кислород иштирокида ҳосил қилишади,бундан ташқари пигмент ҳосил бўлиши озиқ муҳитнинг таркибига,температура ва бошқа факторларга боғлиқ бўлади.

Жадвал 3,3.

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

Штамм №	Мор-фоло-гияси	Бўяли-ши (грам ва бошқа усуллар да)	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_2S	плазмокоагулаза	гемолизини	

Микроблар заҳарлари

Кўпчилик патоген бактериялар ўзларининг ҳаёт фаолиятларида ўзига хос бўлган заҳарли моддалар ишлаб чиқаришади. Буларни умумий ном билан “микроб заҳарлари” (токсин) деб номланади. Микроб заҳарлари юқумли касалликлар жараёнида муҳим аҳамиятга эга бўлиб, улар касалликни клиник белгиларини (енгил, оғир ўтиши,

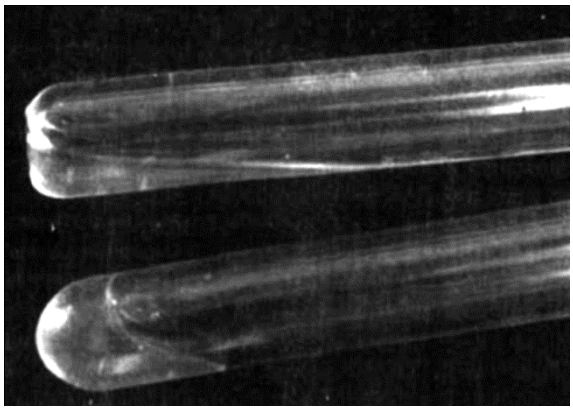
ёки ўлим билан тугаши) ва касалликни кечишини белгилаб беради.Микроб заҳарлари табиатига қараб икки гуруҳга бўлинади.

1.Оқсил табиатли токсинлар.

2. Липополисахарид табиатли токсинлар.

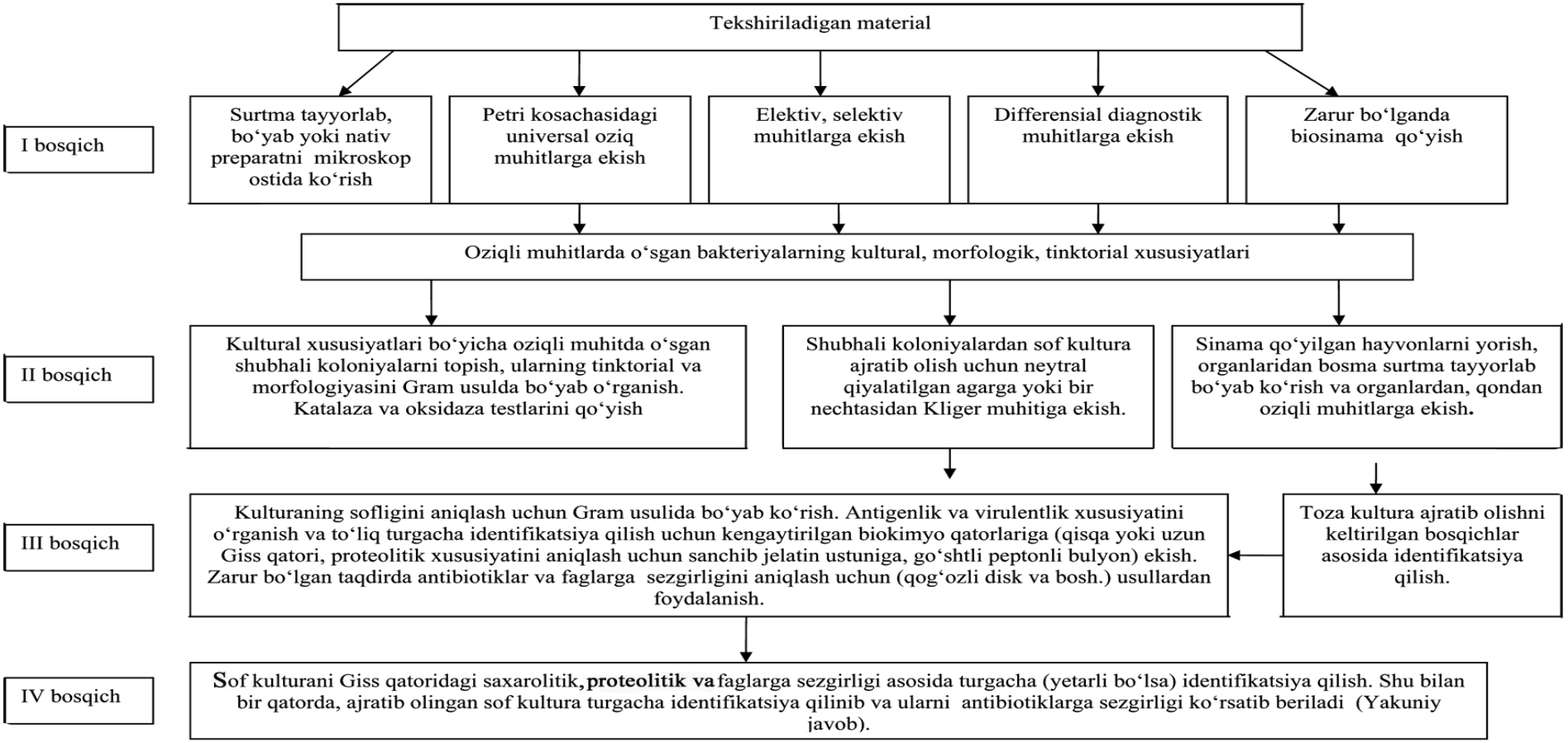
Оқсил табиатли токсинлар (экзотоксинлар) микроблар томонидан ишлабчиқарилади, тур белгиси ҳисобланади, бу хусусият авлоддан авлодга ўтади вабу хусусиятни бактерия геноми бошқариб туради. Бактерияларнинг экзотоксинлари синтезини плазмидлар ва мўътадил фаглар ҳам (генетика бўлимига қаралсин) бошқариб туради. Шунинг учун баъзи бирбактерияларнинг токсиген ва токсиген бўлмаган штаммлари (бўғмақўзғатувчиси) учрайди. Липополисахарид табиатли токсинлар (эндотоксинлар). Асосан грамманфий бактерияларда учрайди. Бактериялар ҳужайра қобиғининг таркибиҳисобланади. Эндотоксинлар ташқи муҳитга фақат ҳужайра ўлиб,парчаланганда ажралиб чиқади (микроб заҳарлари тўғрисидаги тўлиқмаълумот юқумли касалликлар бўлимида берилган).

Культуранинг плазмокоагулазаактивлигини аниқлаш. Бунинг усун қуёнқон плазмасидан фойдаланилади. 1:5 нисбатда суюлтирилган қуён плазмасидан 1,0 мл олиниб 2 та стерил пробиркаларга қуйилади. Биринчи пробиркани контролучун (К), иккинчи пробиркани тажрибаучун (Т) деб ёзиб қўйилади. Биринчипробиркага плазмокоагулаза мусбат стафилококк культурасидан қовузлоқ ёрдамида материал олиниб пробиркадаги суюлтирилган плазмага аралаштирилади. Иккинчи тажриба пробиркасига текширилаётган бактерия культурасидан аралаштирилади. Ҳар иккала пробирка ҳам термостатга 6-8 соатга қўйилади. Текширилаётган культура плазмокоагулаза активлигига эга бўлса қуён плазмасини ивитиб қотириб қўяди (29-расм).



3,4- sxema

Bakteriyalarningsofkulturasiniajratibolishvaidentifikatsiyaqilish



Бактерияларнинг гемолитик токсинини аниқлаш. Бактерияларнинг бухусусиятларини аниқлашда 5-10% фибринсизлантирилган қон қўшилган агарданфойдаланилади. Қонли агар кўпчилик бактериялар учун жуда яхши универсал муҳит бўлиб,амалиётда кенг кўлланилади. Гемолитик хусусиятли бактериялар колонияси атрофида яққолкўзга ташланувчи гемолиз зонаси пайдо бўлади (расм). Бактерияларнинг гемолитикхусусияти, уларни вирулентлик белгилари ҳисобланади, амалий аҳамиятга эга.

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

4-БОБ.УМУМИЙ ВИРУСОЛОГИЯ. ВИРУСЛАРНИ КЎПАЙТИРИШУСУЛЛАРИ. ВИРУСЛИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРГА ТАШХИС ҚЎЙИШ.БАКТЕРИОФАГЛАР.

4.1. Вируслар морфологияси ва ультураструктураси.

Микроблар оламига ҳужайра тузилишига эга бўлган прокариот ваэукариотлардан ташқари ҳужайра тузилиш шаклига эга бўлмаган патогенагентлар ҳам киритилган. Буларга киради:

1. Прионлар
2. Вириоидлар
3. Вируслар

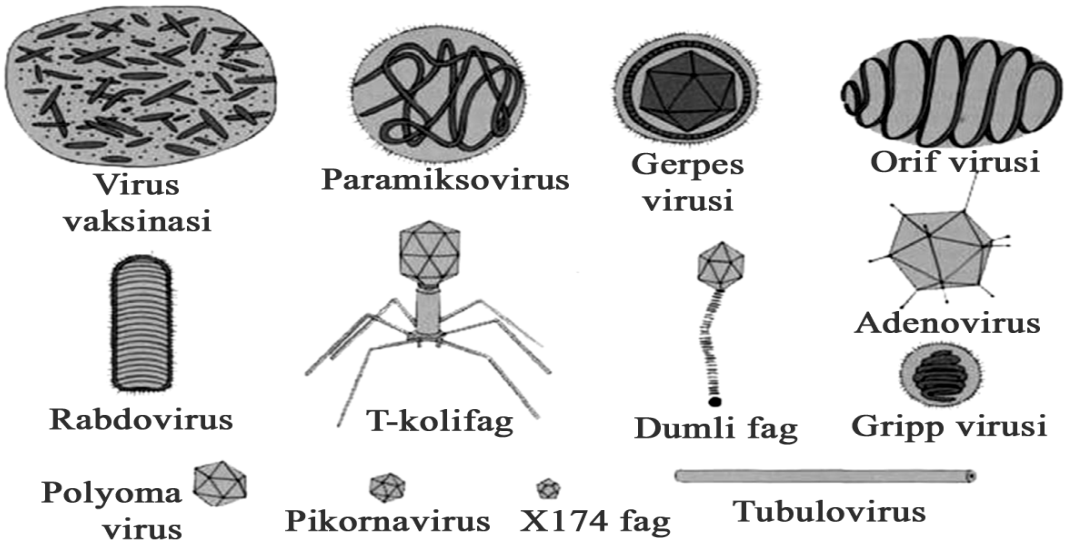
Прионлар (инг.сўз proeinaceous infectious partict – оқсилсимон юқумлибўлакча). Ҳужайрада нормал прион оқсил структураси бўлиб (PrPc –celluarprion protein) таркибида нуклин кислота тутмайди. Нормал прион оқсилинуклеазларга резистент бўлади, лекин протеаз ферментлар таъсиридаинактивацияга учрайди. Уларни иссиқ қонли организмлардаги (одамда) 20хромосома таркибидаги прион геноми томонидан кодлаштирилиб, бошқарилибтуради. Узоқ давом этувчи мутация таъсирида PrPc ген ва PrPSc иштирокидатрансформацияланиб (PrPc) нормал прион оқсилидан протеаз ферментларгачидамли PrP Sc (screpie prion protein) патоген агентга айланади. Прионоқсиллари бошланғич юқумли агент сифатида (скрэпи) товуқлардан(Кройтцфельдт-Якоба касаллиги), катта шохли қорамоллардан(спонгикўринишдаги энцефалопатия- сигир қутириши касаллиги) ажратиболинган.

Вируслар(лат. *virus*-заҳар)-эса ҳозирги кундаги классификациясига асосан вира (Vira)подишолигига киритилган.

Вируслар ўта майда организмлар бўлиб, улардаҳужайра тузилиши ва оқсил синтез қилувчи системаси шаклланмаган.Таркибида битта типдаги нуклеин кислотаси тутади (РНК ёки ДНК). Қатъийоблигат ҳужайра ичида кўпаювчи паразитлар ҳисобланиб, паразитлигинигенетик даражада амалга оширади. Шунинг учун вирусларни генетикпаразитлар ҳам деб аташади.

Вируслар автоном генетик структуралар бўлиб, фақат вирусларга хосбўлган бир-биридан ажралган (дисьюнктив) усул билан кўпаяди, яъни вируснинуклеин кислотаси ҳужайрада алоҳида синтез бўлса, унинг оқсиллари бошқажойда синтез бўлади, кейин улар ҳар бир вирус типларига хос бўлган жойда(ядрода, ядро мембранасида, цитоплазма структураларида ёки цитоплазматикмембранада) йиғилади.Уларнинг йиғилишида нуклеин кислота оқсилнитаниши, оқсил-оқсилни таниши принциплариётади.

Вирусларнинг ҳужайраданташқарисидаги формасини ***в и р и о н*** деб, ҳужайра ичидаги формасини эса ***в и р у с*** деб юритилади.Вирусларнинг морфологик ва ультураструктурасини электрон микроскопёрдамида ўрганилади. Вирионлар ўлчами жиҳатдан майда (22-30 нмполиомиелит), ўрта (80-120 нм грипп), катта ўлчамда (200-350 нм чин чечак)бўлиши мумкин.Вирионларнинг шакли ҳам (расм 30) турли кўринишлардаучрайди. Шакли таёқчасимон (тамаки барги вируси), ўқсимон (қутиришвируси), шарсимон (грипп, парагрипп, гепатит В вируслари), ипсимон(флавивируслар), кубоидал (чин чечак, оспа вакцина) сперматозоидсимон(бактериофаглар) бўлиши мумкин.



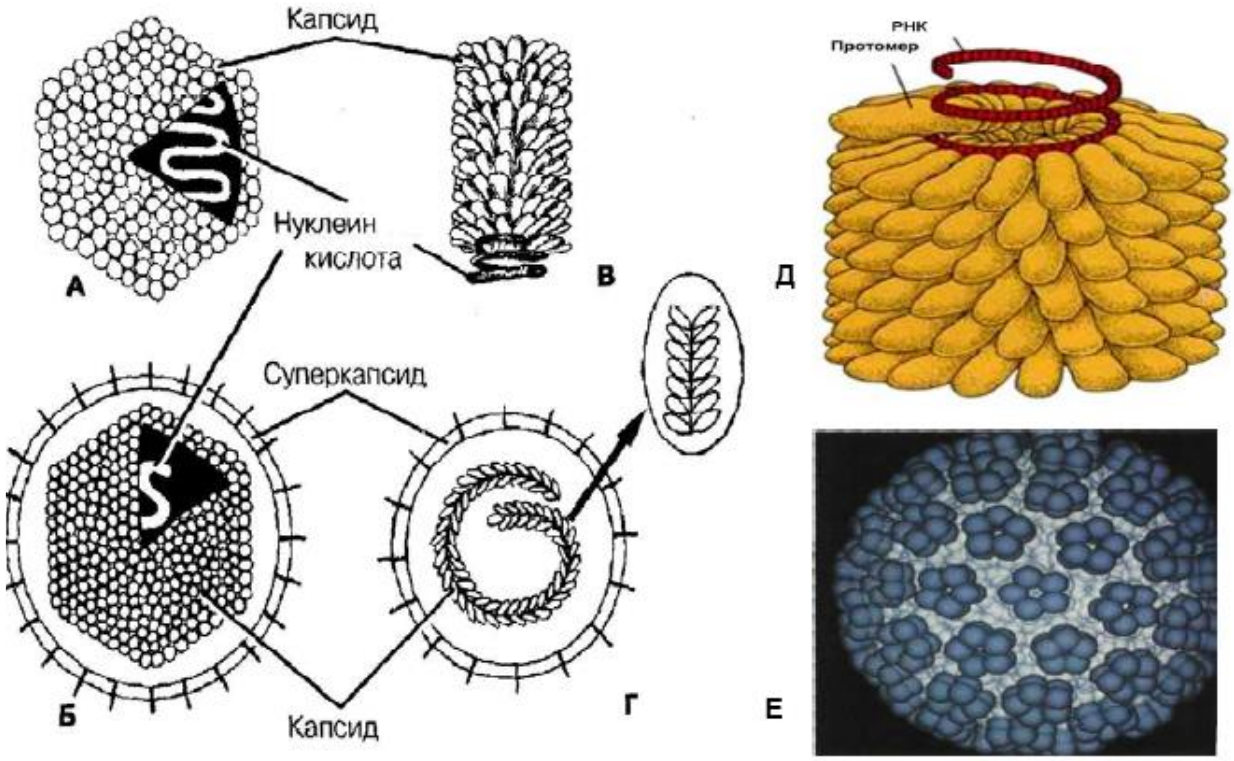
4.1-расм. Вирусларнинг қиёсий ўлчамлари.

Вируслар геноми гаплоид кўринишда бўлиб бир типдаги нуклеинкислотадан ДНК ёки РНК иборат, лекин ретровирусларда диплоидли геномучрайди. Вирус геноми олтитадан бирнеча юз генлар тутиши мумкин вауларнинг нуклеин кислоталари – икки ипли, бир ипли, чизиқли,ҳалқасимон ва фрагментланган бўлиши мумкин.РНК сақловчи вирусларда фақат мусбат ипли (+РНК) геном тутувчивируслар учраб, инфекцион вирус деб ҳам аталади. Бу вируслардатранскрипция кузатилмайди, вируснинг РНК си бир вақтни ўзида информацион(иРНК) вазифасини ҳам бажаради.Манфий ипли РНК тутувчи вирусларда эса РНК геноми фақат наслийфункцияни бажаради.

Вирионлар тузилиши жиҳатдан оддий (яланғоя) ва мураккаб (кейинган)вирусларга бўлинади. Оддий вирусларга (шол, гепатит А), мураккабвирусларга (қизамиқ, ОИТВ, гепатит В,) киради.Оддий вирионлар нуклеин кислота ва уни зич ўраб турган оқсил қобиғи капсиддан иборат (capsa- лотинча бўлиб ғилоф демакдир). Вирионларнингкапсидлари ўз навбатида кетма кет келувчи суббирликлардан иборат бўлиб, улар капсомерлар деб аталади (расм-31). Капсомерларни электронмикроскопда кўриш мумкин, ҳар бир вирионлар оиласи учун капсомерларнисони уларга хос ҳисобланади. Масалан, аденовируслар 252 та ,пикорновируслар 60 та капсомерлар тутади. Нуклеин кислотаси ва капсомерўзаро бирикиб вирусни нуклеокапсидни ҳосил қилади.Мураккаб вирионларни нуклеокапсиди ташқи томондан липопротеинлиқобиқ билан ўралган бўлиб – суперкапсид ёки пеплос деб номланади (расм-31).

Суперкапсид таркибида оқсиллардан ташқари, ёғ ва углеводлар липо -,гликопротеинлар кўринишида учрайди. Баъзи вирусларда гликопротеинлар супекапсид 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 келадива ҳужайраларнинг деструкцияси билан тугайди. Бундан ташқари баъзивируслар ўта мураккаб тузилишларга эга бўлиб вируснинг нуклеин кислотасиоқсил қобиқ билан ўралган, унинг устидан капсид ўраб туради (вирус мағизи),капсид устида эса вирусни яна бир ички 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 томонданўраб турганда маълум симметрия типларини шакллантиради. Вирионларда уч хил симметрия типлари учрайди: спиралсимон, кубсимон ва аралаш.



4.2-расм. Вирусларнинг тузилиши васимметриятиплари. А. Яланғочикосаэдрал симметрия. Б.Кийинган икосаэдрал симметрия. В. Яланғоч спиралсимметрия. Г.Кийинган спирал симметрия. Д.Тамаки мозаика вируси. Е.Полиома вируси (Схематик модели)

Спиралсимон симметрия (тамаки мозаика, грипп, коронавирусларда)винтсимон кўринишдаги нуклеин кислотасини ташқаридан мустаҳкам оқсилсуббирликлари (протомер) ўраб (расм 31) туради. Шаклланган нуклеокапсидтаёқчасимон ёки ипсимон кўринишда бўлади. Спирал таёқчасимон симмериятипига эга бўлган оддий вирусларга тамаки барги вируси, ипсимонларига эсабаъзи бир бактериофаглар мисол бўла олади. Бу типдаги симметрия тутовчиоддий вируслар одам ва умуртқали ҳайвонларда касаллик келтирибчиқармайди.

Кубик ёки икосаэдрик симметрия да капсид вирионни нуклеинкислотаси жойлашган маълум кўринишдаги изометрик тана, мағизни ҳосилқилади. Кубсимон симметрияда капсид шарсимон, баъзида призмасимоншаклли капсомерлардан тузилган. Ҳар бир капсомер беш (пентомер) ёки олти(сексомер) суббирликлардан

ташкил (расм 31б) топади. Кубсимон симметрияасосида, капсомерлар ҳосил қиладиган тенг томонли бурчакли комбинацияларётади.

Кубсимон симметрияли одий вируслар (яланғоч) кўп қиррали шаклда(гепатит А, коксаки ва бошқа энтеровируслар), суперкапсид билан ўралганмураккаб вируслар эса, асосан сферик шаклга эга (орто, парамиксовируслар) бўлади. Лекин мураккаб вирусларнинг ўқсимон (қутириш вируси), параллелепипед (чинчечак вируси) шаклларига эга типлари ҳам бор.

Аралаш симметрия типлари бактериофагларда кузатилади, уларнинг бошқисмида кубсимон, танасида эса спиралимон симметриялар учрайди (расм 30).Мураккаб тузилишга эга бўлган вирионларни ичкий структураси, уларнингмағизи (сердцевина) деб аталади. Аденовирусларда мағиз қисмида ДНК биланбоғланган гистонларга ўхшаш оқсиллар учраса, реовирусларда бу ичкий капсидоқсиллидан иборат.

Вирусларнинг таксономик тоифалари. Вирусологияда қуйидагитаксономик тоифалар (категориялар) қабул қилинган Вируслар таснифи ватаксономияси янги олинган маълумотлар асосида доимо тўлдирилиб борилади.

Вируслар Таксономияси бўйича Халқаро Ташкилот-ВТХТ (InternationalCommittee on Taxonomy of Viruses-ICTV) шуғулланади.БуташкилотБутунДунёСоғлиқниСақлашТашкилотибиланя қиналоқадабўлади. ҲозиргикундаВТХТда 1550 хилданортиқвируслархусусиятлариёзилганреестртузилганвамаълумот ларбазаси ICTV dB яратилган. ВируслартаксономиясинингзамонавийтизимиЛиннейтаснифининггприн ципларигаасосланадивақуйидагитаксономикмезонларданиборат: тартиб, оила, оилача, авлод, тур.

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

Оила – умумий эволюцион келиб чиқишига эга бўлган вирусларгуруҳларидан (авлодлардан) ташкил топади. Оила номнинг оҳирига viridae сўзиқўйилади, масалан Poxviridae.

Оилача- бир оилага кирувчи вирусларни ўрганишда уларнинг умумийэволюцион келиб чиқишига қарши янги маълумотлар олинган тақдирда бутаксон қўлланилади. Оилача “-virinae” қўшимчасига эга. Масалан, чинчечаквируси оиласи 2 та оилачага Chordopoxvirinae

(умуртқалиларда чин чечаккелтириб чиқарувчи) ва Entomopoxvirinae (ҳашоратларда чинчечак кетирибчиқарувчи) бўлинади.

Авлод - умумий эволюцион келиб чиқишига эга ва умумий кўплабхусусиятлари ўхшаш бўлган вирусларни жамлаштиради. Авлод сўзи (virus)сўзи билан тугайди. Масалан Chordopoxvirinae оилачасига 6 авлод киритилган,булардан Orthopoxvirs ва Parapoxvirs авлод вакиллари тиббий амалиётдааҳамиятлироқ.

Тур –вирусларнинг авлод ичидаги бўлимидир. Тур бу нуклеотид таркибиўхшаш ва маълум бир экологик муҳитни эгалловчи бир авлодга мансубвируслар йиғиндисидир. Турни номлашда-“ virus” қўшимчаси ишлатилади. Масалан Чинчечак вируси, Грипп вируси, Poliovirus, лекин ҳамма вирусларда оила ости категорияси берилмаган ва бактерияларга ўхшаш биноменал(қўшалоқ) номлаш ҳам вирусологияда қўлланилмайди.

Вирусологик амалиётда вируслар турлари кенжа тур, сероваринтлар,генетик вариантлар, штамлар каби расмий қабул қилинмаган кўрсаткичлар ҳамкенг қўлланилади.

Вирусларнинг тартиб, оила, оилача, авлод, турларини аниқлашда асосиймезонлар қуйидагиларҳисобланади:

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 хўжайини (экологик манба);
- тўқима ва ҳужайраларга тропизми;
- 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 оилагакиритилган. Булардан 13 таси РНК геномли вируслар ва 7таси эса ДНК геномли вируслар ҳисобланади (расм 32).

4.2. Вирусологияда қўлланиладиган текширув усуллари.

Д.И. Ивановский чинни шам фильтрларни қўллаб вируслар оламини кашф қилди. Электрон микроскопни кашф қилиниши,

вирусларни кўриш, уларнингультра структураларини ўрганишни очиб берди. Градиент зичликларда ўта тезультра центрифугаларни қўллаш орқали вирусларнинг тозаланганпрепаратларини олиш имкониятини ва уларнинг кимёвий таркибини ўрганишгаолиб келди. Вирусология фанини ривожланишидаги асосий омиллардан бири,вирусларнинг ўстириб олиш усулларини ишлаб чиқилганлиги ҳисобланади.

Вируслар облигат паразитлар бўлиб, фақат тирик ҳужайралардагина кўпая олиши мумкин. Вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликлар диагностикасида замонавий усуллар билан бир қаторда синалган турли хил вирусологик текшириш усуллари қўлланилади:

- электрон микроскопия усули;
- цитоскопик, иммунофлюоресцент усуллар;
- ҳужайра культураларида вирусларни ўстириш ва ажратиб олиш;
- ривожланаётган товуқ эмбрионида вирусларни ўстириш ва ажратиболиш;
- гемагглютинация реакцияси ёрдамида вирусларни аниқлаш;
-серологик реакциялар, анъанавий серологик реакциялар (КБР,ПР, НР)билан бир қаторда замоновий (ИФА, РИУ, иммунблотинг) усуллар;
- молекуляр-генетик текшириш усуллари- молекуляр гибридизация (МГ) ваполимераза 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 аҳамиятгаэгадир.Ҳужайра культураси- сунъий шароитда ўсиш ва кўпайиш қобилиятига эгабўлган, одам ва ҳайвонларнинг тўқима ҳужайраларидир.

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

1. Бир-биридан чегараланиб ётган, миқдорий жиҳатдан етарлиҳужайраларни олиш.
2. Бу ҳужайраларни сақлаш ва кўпайишини таминловчи озиқ муҳитларниқўллаш.
3. Ҳужайра культураларида бактерияларнинг кўпайиб кетмаслиги учунчора тадбирлар қўллаш.

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

Вирусологик амалиётда қўлланиладига озиқ муҳитлар. Ҳужайракультурасини сақлаш ва кўпайтиришда мураккаб таркибга эга бўлган муҳитларқўлланилади. Бу муҳитлар таркибига аминокислоталар, витаминлар, одам ёкиҳайвон қон зардоби, минерал тузлар киради ва уларнинг pH буферли эритмаларстабил сақлайди.

Ҳужайра культуралари учун тайёрланган кўпгина озиқ муҳитлартаркиби тузли эритмалардан иборат. Вирусологик амалиётда турли эритмаларҳужайра культураларни организмдан ташқарида яшашини таминлайди вауларни тайёрлаш жараёнида тўқима ва ҳужайраларни ювишда қўлланилади вавирусологик озиқ муҳитларни тайёрлашда асосий манба бўлиб ҳисобланади.Амалиётда энг кўп Хенкс ва Эрл тузли эритмалари ишлатилади (жадвал 8).Вирусологик амалиётда қўлланиладига озиқ муҳитлар келиб чиқишигақараб фарқланади:

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

Жадвал 4,1.

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

Тузли эритмани таркиби	Хенкс эритмаси	Эрл эритмаси
NaCl	8.0	6.8
KCl	0.4	0.4
$CaCl_2$	0.14	0.2
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0.1	0.1
$MgSO_4 \times 6H_2O$	0.1	-
$NaH_2PO_4 \times 2H_2O$	0.06	-
$NaH_2PO_4 \times H_2O$	-	0.125
KH_2PO_4	0.06	-
Глюкоза	1.0	1.0
Фенолрот (доим эмас)	0.02	0.05
Na HCO_3	0.35	2.2

Табиий озиқ муҳитлар асосан тузли эритмалар асосида тайёрланилади вауларга одам ва ҳайвонлар зардоби, амниотик суюқлик ва эмбрионал экстрактқўшилади.Зардоблар соғлом одам, от, сигир, бузоқ, товуқ, қуён ва бошқаларнинг қонзардоблари ишлатилади. Зардоблар олингандан кейин уларни ҳужайракультураларига токсик таъсирга эга эмаслиги аниқланади ва узоқ муддатсовуткичларда сақланиши мумкин.

Амнион суюқлиги ҳомиладор ҳайвонлардан, аёллардан асептикақоидаларига риоя қилган ҳолда олинади. Амнион суюқлиги резина тиқинлифлоконларда совуткичларда сақланади.Эмбрионал экстрактлар асосан 10-12 кунлик товуқ ёки ҳайвонлар эмбрионидан тайёрланади. Эмбрион танаси қондан тозаланиб, майдаланиладива тенг ҳажмда бирор тузли эритма (кўпинча Хенкс) қўшилади 30 минутцентрифуга (3000 айланма/мин.) қилинади. Олинган чўкма усти суюқлигипипеткалар ёрдамида ажратиб олиниб музлаткичларда сақланади.

Ферментатив гидролизат сақловчи озиқ муҳитлар. Кўпроқ сутлактоальбуминининг гидролизати ва козеин ва шохли ҳайвонларни оқсилгидролизатлари ишлатилади. Бу гидролизатлардан озиқ муҳит тайёрлашдауларга 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 табииймоддаларга ўхшаб балласт (бегона оқсиллар) тутмайди. Бу муҳитлар анчамураккаб таркибга (аминокислоталар, витаминлар, пиримидин, углеводлар,минерал тузлар ва бош.моддалар) эга бўлади. Буларга 199, Игла муҳитларикиради.

Ҳужайра культуралари. Ҳужайра культураси одам, ҳайвонлар, ёкипарандалар ва бошқа биологик объектлар тўқимасидан тайёрланади. Ҳужайракультурасини тайёрлаш қуйидаги бир неча кетма-кет босқичдан иборат:

- тўқимани олиш, қондан, кераксиз тўқималардан софлаш ва майдалаш.
- трипсин таъсир эттириб, ҳужайраларни бир-биридан ажратиш.
- ҳосил бўлган бир жинсли ҳужайралар суспензиясини ювиб, трипсиндан тозалаш.
- тайёрланган ҳужайра культураларини санаш ва ҳужайрани маълуммиқдордаги суспензиясини тайёрлаш.

- ҳужайра культураларини вирусларни ундиришда қўлланиладиганмахсус шиша пробирка, флокон (матраслар) ларда, ҳужайраларнинг ўсишинитаъминлаб берадиган озиқ муҳитлар қўшиб сақлаш.

Ҳужайра культураларини олишда ва сақлашда юқорида келтирилганозиқ муҳитлардан фойдаланилади.

Ҳужайра культураларини бактериялар билан ифлосланиб қолмаслиги учун,ҳужайра культуралари билан ишлашда қаътий асептик қоидаларга риоя қилганҳолда махсус стерил боксларда иш олиб борилади ва текширилаётган материаллардаги қўшимча микрофлорани кўпайиб кетишини олдини олишмақсадида озиқ муҳитларга антибиотиклар қўшилади.

Ҳужайра культураларини тайёрлаш усуллари бўйича фиксациялангантўқима бўлакчалари культураси, бир қаватли, суспензияланган ва органкультураси тафовут қилинади.

1) Бир қаватли ҳужайра культураси- кимёвий нейтрал шиша, пластика лабораторияидишлари юзасига бир қават бўлиб (монослой) бирикиб олувчи ва кўпайувчи ҳужайракультураларидир. Вирусология амалиётида энг кўп қўлланилади.

2) Суспензияли ҳужайра культураси- озиқ муҳитнинг ҳамма ҳажмида кўпаювчиҳужайралар йиғиндиси бўлиб, улар ҳар доим айлантирувчи магнит ёрдамида аралаштирибтурилади. Бундай ҳужайра культуралари вирусологик амалиётда ваксина препаратлариолишда қўлланилади.

3) Фиксацияланган тўқима бўлакчалари культураси- майдаланган тўқима бўлакчаларитовуқ плазмасига солинади. Плазмада ҳосил бўлган чўкмага тўқима бўлакчаларификсацияланади. Унинг устига антибиотиклар ва Хенкс эритмаси, эмбрион экстрактидантайёрланган суюқ суспензия қўшилади.1-2 кундан кейин тўқима бўлакчалари атрофидаплазма фибринларидан ҳосил бўлган тўрда янги ҳужайралар ўса бошлайди.

Фиксацияланган тўқима бўлакчалари культурасини олиш ва сақлаш анча мураккабжараён бўлганлиги сабабли бу усулда олинган ҳужайра культураларини бир қаватли ҳужайракультураси амалиётда сиқиб чиқармоқда.

4) Орган культураси – Бирламчи структураси ўзгармаган маълум орган бўлакчалари ёкитўқима. Чегараланган ҳолда қўлланилади.

Ҳужайра культураси ва уларни ундириб олиш жараёнида бир қанча ўнлабгенерациялар (бир кўпайиш цикли) кузатилади. Ҳужайра

культураларинингҳаёт фаолияти сақланиб қолувчи генерация сонларига қараб бўлинади:бирламчи ҳужайра культуралари, ундириладиган ва ярим ундириладиган.

Бирламчи ҳужайра культуралари – тўқималардан ажратиб олинганданкейин кўпайиш генерацияси 5-10 маротаба қайта ундириб олишга ярайди.

Бундай ҳужайра культуралари лаборатория шароитида эмбрионал, нормалтўқималарини бўлакчаларидан махсус протеолитик ферментлар (трипсин)таъсир этирилиб ҳужайра культуралари олинади.Бирламчи трипсинланганҳужайра культураларни камчилиги асосан уларни бир неча генерациядан кейинкўпайишини тўхтаб қолиши ҳисобланади.

Ундириладиган ёки стабил ҳужайра культуралари – бундай ҳужайракультуралари лаборатория шароитида бир неча 10 йиллар кўпайишхусусиятини йўқотмайди ва кўплаб қайта ундиришларга чидайди. Бу ҳужайракультуралари юқори кўпайиш потенциалига эга бўлган ўсма ёки эмбрионалтўқималардан олинади Буларга хавфли ўсма ҳужайралари HeLa (биринчи мартабачадон бўйнидаги карциномадан), Нер-3 (лимфоид карциномасидан), ҳамдаодам амнионининг нормал ҳужайралари, маймун буйраги ва бошқалардантайёрланган ҳужайралар киради ва улар бирламчи ҳужайра культураларганисбатан қатор авфзалликларга эга. Буларга киради: узоқ йиллар ундирилишива юқори кўпайиш потенциалига эга бўлиши, кам меҳнат талаби, узоқ йиллармузлатиб қўйилганда ҳам ўзининг хусусиятини йўқотмаслиги, халқаро ҳужайракультура линияси бўйлаб кўплаб дунёдаги лабораторияларда қўлланилиши.Лекин, бу ҳужайраларнинг кўплаб генерациялари натижасида хавфли кўпайишхарактери ва соматик мутацияларга учраш эҳтимоллиги бу ҳужайраларни вирусвакциналари олиш жараёнларида қўллашни чегаралаб қўйишга олиб келган.

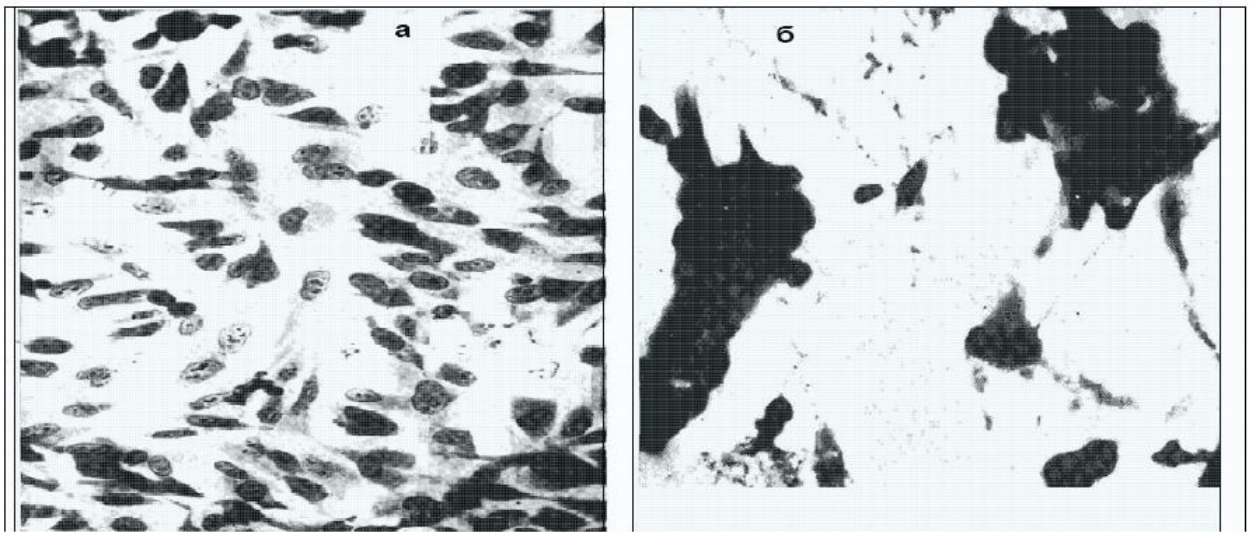
Ярим ундириладиган (диплоид) ҳужайра культуралари – кўпайтирилибундирилиши чегаралганган 40 ва 50 генерацияга чидайди. Бу ҳужайралар асосанодам эмбриони диплоид ҳужайраларидан олинади. Ундирилиш жараёнида буҳужайралар ўзларини бирламчи авлодлари сингари таркибида диплоидхромосома тўплами сақлашади ва хавфли ҳужайра формасига трансформацияланмайди. Шунинг учун бу ҳужайра культураларидан вирусологик амалиётда диагностик ва вакциналар олиш мақсадларида кенг қўлланилади.

Вирусларни индикация қилиш усуллари. Вирусологик амалиётгаҳужайра культураларининг кириб келиши , олдин номаълум бўлган кўплабкасаллик қўзғатувчи вирусларни ажратиб олиш ва уларни идентификацияқилиш имкониятларини очиб берди. Ҳозирги кунда ҳар бир вируслар учунсезгир ҳужайра культураларини танлаш имкониятлари мавжуд.

Ҳужайра культураларига вирус сақлувчи материални юқтирилганда,вируснинг кўпайиши (репродукцияси) натижасида ҳужайраларда турлиўзгаришлар (деструкция) киритмалар ҳосил бўлиши кузатилади.

Вирусларнинг бундай хусусияти ЦПТ (цито патологик таъсири) яъниҳужайрани морфологиясини ўзгариши, ҳатто унинг ўлимига сабаб бўлувчифактор деб қаралади. Уларни қуйидаги феноменлар асосида аниқлаш(индикация) мумкин:

1. Вирусни ҳужайрага цитопатологик таъсири (эффекти)
2. Вирусни ҳужайрада киритмалар ҳосил қилиши
3. Пилакчалар (бляшек) ҳужайра культурасида ҳосил қилиши
4. Гемадсорбция реакцияси
5. Гемагглютинация реакцияси
6. Рангли реакция
7. Интерференция феномени



4.3-расм. Вируснинг ҳужайрага цитопатик таъсири. Маймун буйрагидан олинган нормал ҳужайракультураси (чапда); полиомиелит вируси юқтирилгандан кейин морфологикўзгарган шу ҳужайраларни микроскоп остидакўриниши (ўнгда).

***Вирусни ҳужайрага цитопатологик таъсири (эффекти)*.** Вирусларнингҳужайра культурасида кўпаяётганлиги (репродукцияси),

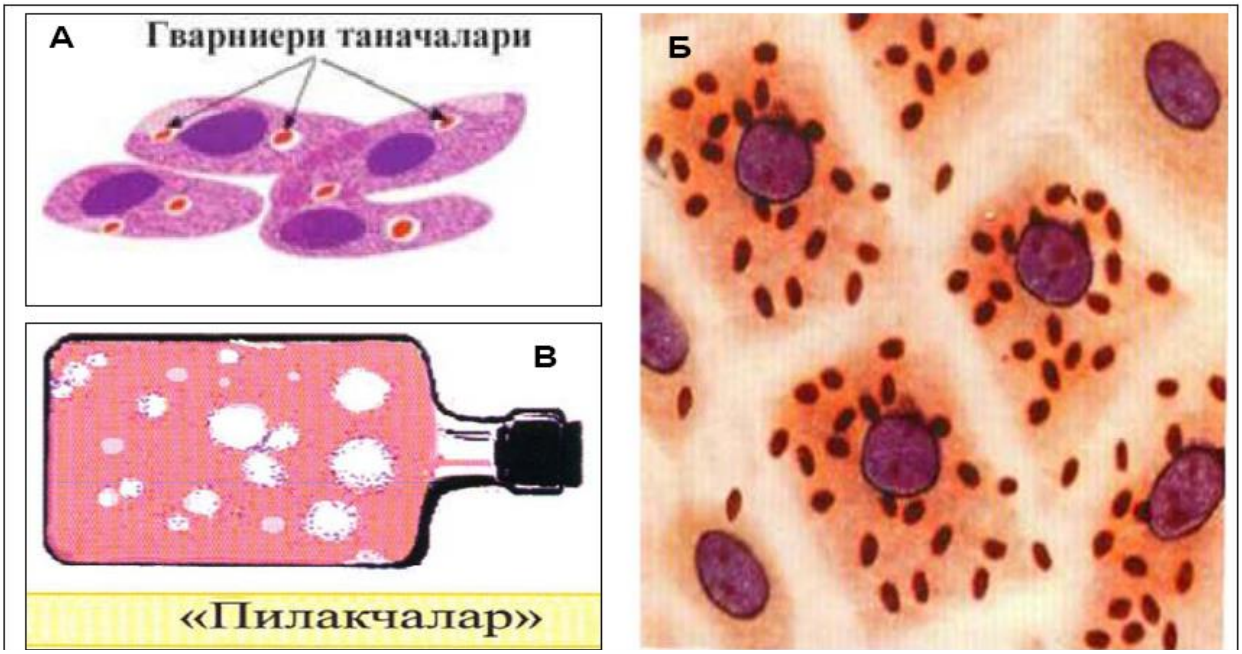
уларнинг ҳужайрагаЦПТ асосида микроскоп остида кўриш билан аниқланади ва морфологикўзгаришларнинг содир бўлганлигига қараб баҳоланади. Бунда уларнинг бирқисми ҳалок бўлиб, пробирка деворидан кўчади. Айрим ҳужайраларнинг емирилиши оқибатида ажралиб чиққан вируслар бошқа ҳужайраларга юқади.

Маълум вақтдан сўнг бу ҳужайралар ҳам ўлади. Натижада бир қаватли яхлитҳужайра қатлами ўрнида алоҳида-алоҳида ҳужайрасиз зонада ҳужайраоролчалари ҳосил бўлади. Турли вируслар ҳосил қилган (ЦПТ) нинг характеribир хил эмас. Бир хил вируслар (поливируслар, Коксаки ва бошқ.) майда, донодор бир хил типдаги ҳужайра деструкциясини келтириб чиқаради (расм33), ўчоқли майда донадор деструкцияни (грипп, кана энцефалити) вируслари, катта донадор бир хил кўринишдаги деструкцияни (герпес) вируслар, симпласт кўп ядроли ҳужайраларни (ретровируслар, морбиловируслар, респиратор-синцитиал) вируслар келтириб чиқаради. Вирусларнинг ЦПТ амалиётдавирусларнинг бирламчи индикация қилишда ва олдиндан тахминий ташхисқўйишда қўлланилади.

Вирусни ҳужайрада киритмалар ҳосил қилиши. Кўпчилик вирусларҳужайраларда кўпайганда ҳужайрада илгари кузатилмаган киритмалар ҳосилқилишлари мумкин. Масалан қутириш вируси нерв ҳужайраларнингцитоплазмасида эозинофилли киритмалар ҳосил қилади (Бабеш-Негри таначаси), вирус нуклеокапсидларини цитоплазмада (ядро олдида) йиғилибқолиши натижасида кузатилади. Чинчечак вируси хужайин ҳужайрасинингцитоплазмасида кўпаяди ва цитоплазмада катта ҳужайралар ва уларнингцитоплазмасида Гварниери таначаларини ҳосил қилади. Ёруғлик микроскопидаҳам аниқлаш мумкин (4.4-расм).

Пилакчалар (бляшек) ҳужайра культурасида ҳосил қилиши.

Вирусларнинг миқдори жиҳатдан аниқ сонини ҳисобга олиш усулиҳисобланади (4.4-расм). Вирусларни ажратиб олишда бир қаватли ҳужайракультурасидаги озиқ муҳит олиб ташланиб вирус сақловчи материалсақловчи материал билан ҳужайра культурасига вирус юқтирилади, сўнгра нейтрал қизил индикатор қўшилган юпқа агар қатлами билан қопланади.



4.4-расм. Вирусларнинг ҳужайрага цитопатик таъсири. А-Қуён кўз мугуз пардасидан олинган гистологик кесма препарат (чинчечак вируси юқтирилган) цитоплазмада,ядроатрофида киритмалар.Б-гемадсорбция реакцияси.В-вирусюқтирилганда ҳужайракультурасидаги вируслар колонияси (пилакчалар) ҳосил бўлиши

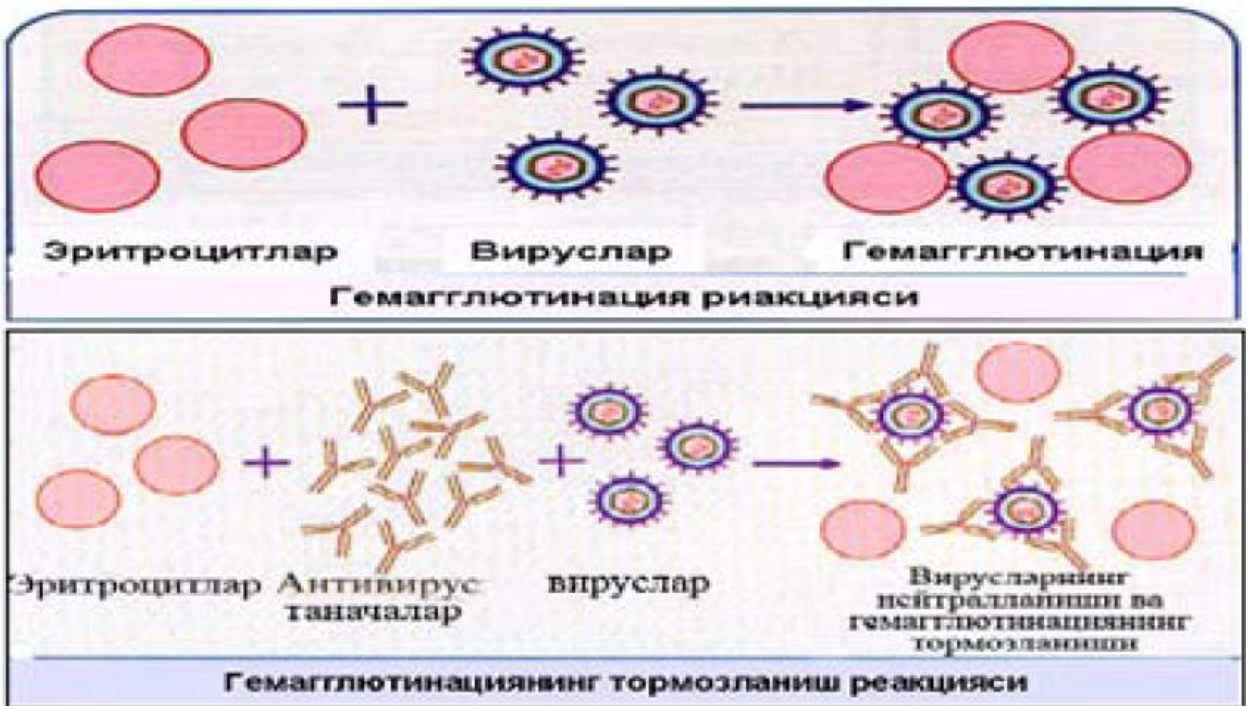
Термостатда бир неча кун сақлаб турилгандан сўнг, агар қопламасида маълумшаклдаги оқ-оқ доғлар моноқатлам фонида (пилакча) пайдо бўлади. Бу эса, бир текисда ўсган ҳужайра культураси таркибида вирус кўпайиши натижасидаҳосил бўлган жонсизланган ҳужайралар тўпламидир. Ҳар бир пилакча биргинавирус заррачасининг кўпайиши натижасида ҳосил бўлиб, нейтрал қизил биланбўялган ҳужайралар фонида юмалоқ оқ доғлар шаклида кўринади.Шу усул билан аниқланган вируснинг титри 1 мл текширилаётганматериалда пилакча ҳосил қилувчи бирлик (ПХБ) билан белгиланади.

Пилакчанинг катта-кичиклиги, морфологияси ва унинг пайдо бўлиш вақти,вируснинг ҳар хил турида турлича бўлади, ҳатто шу турнинг ичидаги айримштаммларида ҳам фарқланади. Вирусларнинг бу хусусияти штаммларниселекция қилишда ва уларнинг соф линиясини ажратиб олишда қўлланилади.

Гемадсорбция реакцияси. Вирусларни индикация қилиш усулларидан бири, улар кириб кўпаяётган (репродукция) ҳужайранинг юзасиэритроцитларни адсорбция қилиш қобилиятига асосланган, бу эсагемадсорбция реакцияси дейилади (34 -расм). Гемадсорбция ҳамгемагглютинация реакциясига ўхшаш механизимга эга.

Гемадсорбциялаш хоссасига эга бўлиши вирус юқтирган ҳужайра мембранасида вирусга хосмахсус оқсилларнинг – гемагглютининларнинг жойлашганига боғлиқ бўлиб, эритроцитларда бу оқсилларга комплементар рецепторлар бўлади ва шунингучун ҳам улар вирус билан зарарланган ҳужайралар юзасига адсорбцияланади. Бу реакцияни қўйиш учун вируслар билан зарарланган ҳужайра культурасигаэритроцитлар (кўпроқ товуқ, денгиз чўчқачаси, маймун ва одамнинг О (I) эритроцитлари ишлатилади) суспензияси қўшилади. Маълум вақтдан сўнгҳужайралар натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан ювилади. Таркибидавируслар бўлган ҳужайралар юзасида эритроцитлар ёпишганича қолади.Ёруғлик микроскопида кўриш мумкин. Вирус юқтирилган ҳужайракультурасига тип махсуслигини намоён қилувчи зардоб қўшилиб сақланса,ҳужайралар гемадсорбция қилиш қобилиятини йўқотади, яъни гемадсорбциятормозланиб қолади. Бу феномен вирусларнинг идентификациясидақўлланилади.

Гемагглютинация реакцияси. Бу реакция суюқликдаги ҳужайракультураси ёки товуқ эмбрионининг хорион-аллантоис ёки амниотиксуюқликдаги вирусларни индикация қилиш учун кўлланилади.



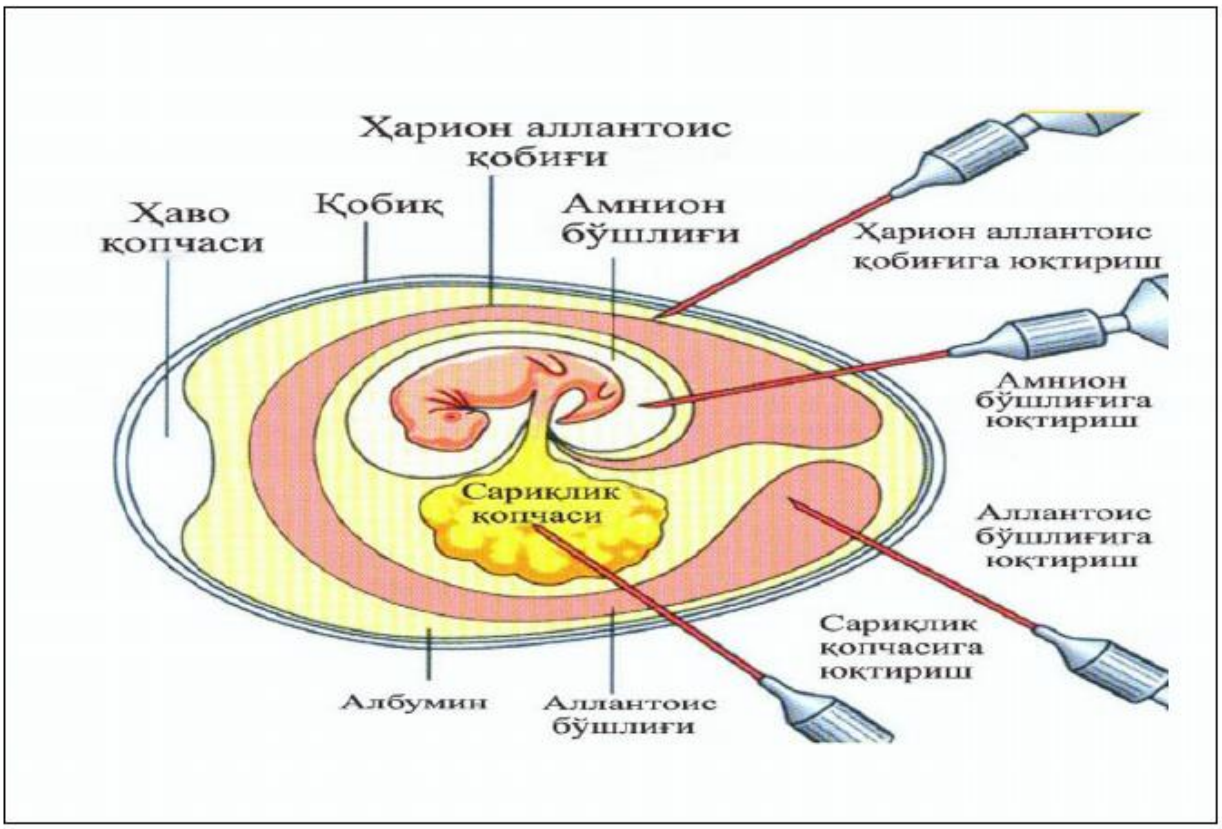
4.5-расм. Вирусларнинг индикацияси ва идентификациясида гемагглютинация ва гемагглютинацияни тормозланиш реакцияси схематик механизмлари

Гемагглютинация реакциясида вирус суперкапсиди таркибидагемагглютинин ферменти бўлган вируслар (грипп, парагрипп) келтириб чиқаради, яъни вирус кўпайган ҳужайра культурасига товуқ, ғоз, денгизчўчқачалари эритроцитлари қўшилса, вируслар эритроцитларни бир-биригаёпиштириб (расм 35) қўяди. Бу усулда вирусларнинг суюқликдаги титринисуюлтириш даражасига қараб аниқлаш мумкин. Вирусологик амалиётдавирусларнинг индикация қилишда кенг қўлланилади.

Рангли реакция.Ҳужайра культураларида вирусларни кўпайишини ранглиреакция орқали ҳам индикация қилиш мумкин. Бунинг аниқлаш, нормалкўпаювчи ҳужайра культураси учун қўлланилган озиқ муҳитдагииндикатордан фойдаланилади. Агар ҳужайрада вирус кўпаймаса тирикҳужайра культураларда нормал метобалитик жараён кузатилади ва бу жараённатижасида нордон маҳсулотлари йғилиб қолади, индикатор ранги ўзгаради.

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

Интерференция феномени. Бу усул асосан ҳужайра культураларида кўпайиб, лекин аниқлаб бўлмайдиган ҲПТ хусусиятга эга бўлган вирусларни индикация қилишда қўлланилади.



4.6-расм. Товуқ эмбрионининг (8-10 кунлик) схематик кўриниши

Ҳужайра культурасига вирус сақловчиматериал юқтирилади кейин эса индикатор вирус (везикуляр стоматит вируси-ВСВ) юқтирилади. Агар текширилаётган материалда изланилаётган вирусбўлса индикатор вирусни ҲПТ кузатилмайди (ҳужайра изланилаётган вирус томонидан эгалланган). Ёруғлик микроскопида визуал кўриш мумкин.

Текширилаётган материалда вирус бўлмаса ВСВ ҳужайрага патологик таъсиркўрсатади.

Вирусларни ундириб олишда товуқ эмбрионидан фойдаланиш (4.6-расм). Вирусологик амалиётда товуқ эмбриони ҳужайра культураси ва тажрибақилинаётган ҳайвонларга нисбатан бактериялар билан ифлосланиш даражасикам ва қўшимча микроорганизмлар билан камдан-кам ҳоллардагиназарарланган бўлади. Бундан ташқари, турли таъсиротларга ҳам жудачидамлидир. Риккетсия, хламидия ва бир қатор вирусларнинг диагностикмақсадларда, соф культурасини олиш ва турли препаратлар (вакцина, диагностикумларни) тайёрлаш учун 8—12 кунлик товуқ эмбрионлариданфойдаланилади. Юқорида кўрсатилган микроорганизмларнинг кўпайганлигиэмбрион қобиқларининг очилганидан сўнг пардаларида ҳосил бўлганморфологик ўзгаришлар орқали ўрганилади.Масалан чинчечак юқтирилганэмбрион танасида, қобиғида қон қуйилишлар кузатилади, эмбрион нобудбўлади. Бундан ташқари вирус кўпайиши натижасида аллантоис, амнионсуюқлигида вируслар йиғилиб қолади ва гемагглютинин ферменти борвирусларни ГАР орқали индикация қилиш мумкин.

Ривожланаётган товуқ эмбрионида вирусларни кўпайтириш саноатмиқёсида қўлланилади, аммо кўпчилик вируслар товуқ эмбрионидакўпаймайди, бундан ташқари текширилаётган вирусларни эмбрионини очмайтуриб аниқлаб бўлмайди, шунингдек унда кўп миқдордаги оқсил ва бошқа ёт бирикмаларнинг борлиги, тайёрланган препаратларни аллергик хусусиятиниоширади, уларни тозаланишини қийинлаштиради.

Вирусларни кўпайтиришда лаборатория ҳайвонларидан фойдаланиш.Амалда кўпинча турли хил зотсиз лаборатория ҳайвонларидан (вояга етган, эмадиган сичқон болалари, қуён, маймун, денгиз чўчқачалари ва бошқ.)фойдаланилади. Ҳайвонларнинг маълум турдаги вирусларга берилувчанлиги вауларнинг ёши вирусларнинг кўпайиш қобилияти тажрибада ҳисобга олинади.

Кўпинча янги туғилган ҳайвонларгина у ёки бу вирусга (масалан, эмадигансичқон болалари — Коксаки вирусига, сичқон, қуён- қутириш

вирусига, оқсим(яшур) вируси- денгиз чўчқачаси ва грипп вируси– сичқон ва оғмахон) сезгир бўлади. Бу усулнинг афзалликлари ва камчиликлари мавжуд. Афзаллиги шуки, бунда культура ёки товуқ эмбрионида яхши репродукция қилинмайдиганвирусларни ажратиб олиш мумкин бўлади. Бу усулнинг камчилиги эса, тажрибақилинаётган ҳайвон организмидаги микроорганизмларнинг бегона вирус вамикоплазмалар билан аралашиб кетишидадир.Бундан ташқари экономикэтикавий жиҳатлари, шунингдек, вируснинг “соф” линиясини олиш учункейинчалик ҳужайра культурасига ҳайвондан олинган материал юқтирилади, буэса текшириш муддатини чўзиб юборади.

Вирус сақловчи материалларни лаборатория ҳайвонларга юқтиришнитурли (тери остига, тери ичига.мускул ичига, қорин пардасига, субдурал вабошқ.) усуллари қўлланилади.

Вирусларнинг лаборатория ҳайвонлар организмида репродукциябўлганлигини касалликни кўзга ташланадиган клиник ривожланиши, орган ватўқималарнинг патоморфологик ўзгариши, органлардан олингансуспензияларда 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 учта реактив тайёрланади:

1) 1 мл музли сирка кислотасига 40% ли 2 мл формалин эритмаси қўшилади вадистилланган сув билан унинг ҳажми 100 мл га етказилади;

2) 1 мл карбол кислотасига 5 г танин қўшилади ва дистирланган сув билан унингҳажми 100 мл га етказилади;

3) 5 мл кумуш нитрати эритмасига аммиак эритмаси бироз қуйқа ҳосил бўлгунгақадар томчилаб томизилади.

Бўяш усули:

1) тайёрланган суртма — 1-эритма билан 1 мин давомидафиксацияланади, сўнг реактив тўкилади ва суртма сув билан ювилади;

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

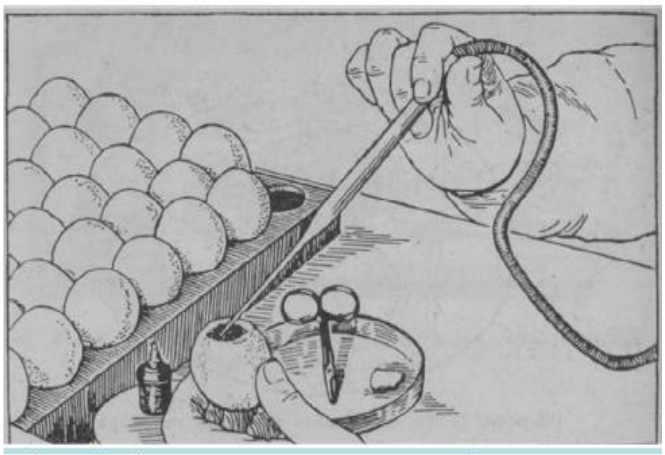
3) 3-эритма .билан суртма тўқ жигар ранг ҳосил бўлгунга қадар қиздирилади, сўнгсув билан ювиб, қуритилади ва микроскоп остидакўрилади. Бунда вирус элементар таначалари қора рангга

бўялади.Морозов усулидабўялганда оспа вакцина вирусни ўлчами 0.2 мкм бўлиб кокксимон кўринишда бўлади.

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

Ҳужайрадаги морфологик ўзгаришлар культурали пробиркани микроскоп остидакультурали пробиркани микроскоп остида 8-объектив билан конденсор туширилган вадиафрагмаси бироз бекитилган ҳолда текширилади. Вирус билан юқтирилган бир қаватлиҳужайра қатламини, вирус билан юқтирилмаган контроль пробиркадаги культуралар билансолиштириб кўрилганда вирус юқтирилган ҳужайра катламида тўлиқ ёки оролча шаклидагиҳужайранинг (деструкцияси) парчаланганлиги ёки бошқа ўзгаришлар қайд этилади, бу эсавируснинг ҳужайрага патогенлик таъсирини кўрсатади.

Ривожланаётган товуқ эмбрионига юқтириш. Текшириладиган материал товуқэмбрионининг аллантоис ва амниотик бўшлиғига, хорионаллантоис қобиғига ёки сариқликхалтачасига (4.7-расм)юборилади.



4.7-расм. Материални товуқ эмбрионига юқтириш

Материалниюқтиришдан олдинтухумнинг ҳаволи камераустидаги пўстлоғи 70º лиспирт билан тозаланади,алангада қиздирилади, 2%ли йод эритмасисуртилади, иккинчи мартаспирт билан артилади вақиздирилади. Аллантоисбўшлиғига юқтириш учунҳаволи камера (овоскопдатухумга ёруғликтуширилганда унинг чегараси олдиндан қалам билан чизиб қўйилади) устидаги тухумпўчоғи қайчи, скальпель ёки махсус асбоб ёрдамида эҳтиётлик билан тешилади. Шприцбилан 0,1—0,2 мл вирусли материал (антибиотик қўшилиб ишлов берилган) ҳаво камерасичегарасидан 2 — 3 мм чуқурликка юборилади. Тухум пўчоғидаги тешикка эритилганпарафин қуйилади.

Зарарланган эмбрион вирус жуда кўпайган вақтда, яъни 48—72 соат 37 ºС датермостатда сақлангандан сўнг очилади. Тухум спирт билан артилади ва унга 2% ли йодэритмаси суртилади. Сўнгра қайчи билан ҳаво камера атрофи бўйлаб чизилган белгиданбироз юқорироқдан тухум пўчоғи кесилади. Бунда тухум пўчоғи бўшлиққа тушмаслигиучун, қийшайтирилган ҳолда ушланади (37-расм). Пўчоқ олиниб, аста-секин унинг пардасиҳам олинади ва хорион-аллантоис пардасининг вирус юқтирилган жойида геморрагик,оқимтир шикастланиш ўчоқларининг бор-йўқлиги қайд қилинади. Сўнгра Пастер пипеткасибилан хорион-аллантоис пардасининг қон томири кам бўлган жойидан тешилади вааллантоис суюқлиги сўриб олинади. Кейин хорион-аллантоис пардаси ажратиб олиниб, иккимарта натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан ювилади, Петри косачасига ўрнатиладива қора фонда, махсус (специфик) зарарланиш борлиги аниқланади.

Гемагглютинация реакциясини қўйиш (ГАР). Товуқ эмбриони очилгандан сўнгаллантоис суюқлиги сўриб олинади ва пробиркаларга ёки плексигласдан тайёрланганпластинкалар чуқурчасига 0,5 мл ҳажмда (контрол учун 0,5 мл юқтирилмаган эмбрионнингшундай суюқлигидан) қуйилади. Сўнгра унинг устига 0,2 мл 1 % ли ювилган товуқэритроцитидан қўшилади ва уй температурасида сақланади. Реакция натижаси 40 мин. дансўнг, яъни эритроцитлар чўкма ҳосил қилгандан кейин текширилади. Реакция мусбат бўлсафробирканинг остида бир –бири билан ёпишган эритроцитлардан ташкил топган юпқа пардазонтик ҳосил бўлади. Реакция натижалари 4 тагача мусбат белги билан аниқланади.

+ + + + — бу ҳолатда пробирканинг остида парда зонтик яққол кўринишидабўлади;

+ + + парданинг ораларида очиқ жойлар колади;

+ + эритроцитларнингбирлашишида вируслар камайганлиги сабабли парда четлари текислашади;

+ камагглютинацияланган эритроцитлар бирикмалари билан ўралган эритроцитларниг чўкмаси;

— эритроцитлар чўкмасининг атроф чегараси яққол кўриниб туради, аммо контролдан(эритроцитлар тугмача шаклини олади) фарқ қилмайди;

- агар тажрибадаги пробиркалардагемагглютинация бўлиб, контроль пробиркаларда бўлмаса, бу — текширилаётган суюқликдавирус борлигини кўрсатади.

Вирусларни индикация қилишда текширилаётган суюқликларда вирусларнинг титрини(миқдорий кўрсаткичини) аниқлаш муҳим амалий аҳамиятга эга. Вирус сақловчиматериални максимал суюлтирилганда вирус ўзининг (ЦПТ. ГАР, ҳайвонларни нобуд қилишва бошқ.) инфекцион активлигини намоён қила оладиган миқдорига вирус титри деб аталади.Титр 1 бирлик қилиб олинган, яъний шу титрда вируслар 50% юқтирилган культуралардаЦПТ келтириб чиқаради. ГАР вирус тиртри деб ++ (I AE – битта агглютинация берувчибирлик) дан кам бўлмаган эритроцитларни агглютинациясини берувчи энг кўп суюлтирилганэритмасига айтилади. Вирусларни титрларини аниқлаш,вирусларнинг ишчи, юқишдозалари ишлаб чиқишда ва кейинчалик вирусларни идентификация қилишда муҳимамалий аҳамиятга эга.

Гемагглютинация реакцияси билан вируслар титрини аниқлаш

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

Жадвал 4,2.

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
Товуқ 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, ГАТР учун ишчи дозаси эса 1/32 га тенг экан.

Вирусларни идентификация (типларини аниқлаш) қилиш.

Вирусларнинг идентификация қилиш асосида уларнинг биологикактивлигини тип махсусликка эга бўлган зардоблар билан нейтраллашгаасосланган. 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 ҳайвонларида аниқлаш

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

Гемагглютинация реакциясини тормозлаш усули билан вирустипларини аниқлаш. Амалиётда таркибида гемагглютинин тутувчи вирусларнинг типинианиқлашда (ортомиксовирус, парамиксовирус) идентификацияда қўлланилади.

Жадвал 4,3.

Вирус типларини аниқлаш учун қўйиладиган ГАРТ

Суюлтирилган диагностик зардоб		Тажрибадаги					Контролдаги		
		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Зардоб	Вирус	Эритроцит
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	+	+	+	+	+	—	+	—

Ўтказилган тажрибадан кўриниб турибдики товуқ эмбриони аллантоиссуюқлиғидаги вирус 2 чи қатордаги типга хос диагностик зардоб билан 1:10 —1:160 нисбатида нейтралланди, яъни текширилаётган вирус шу типга мансубэкан.

4.3. Бактерия вируслари (Бактериофаглар)

Бактериофаглар (“бактерия ва юнонча сўз phagos еб юборувчи) – бактерияҳужайраларига махсус кириши ва уларда паразитлик қилиб, лизисга, ўлимгаолиб келувчи бактерия вируслари ҳисобланади.

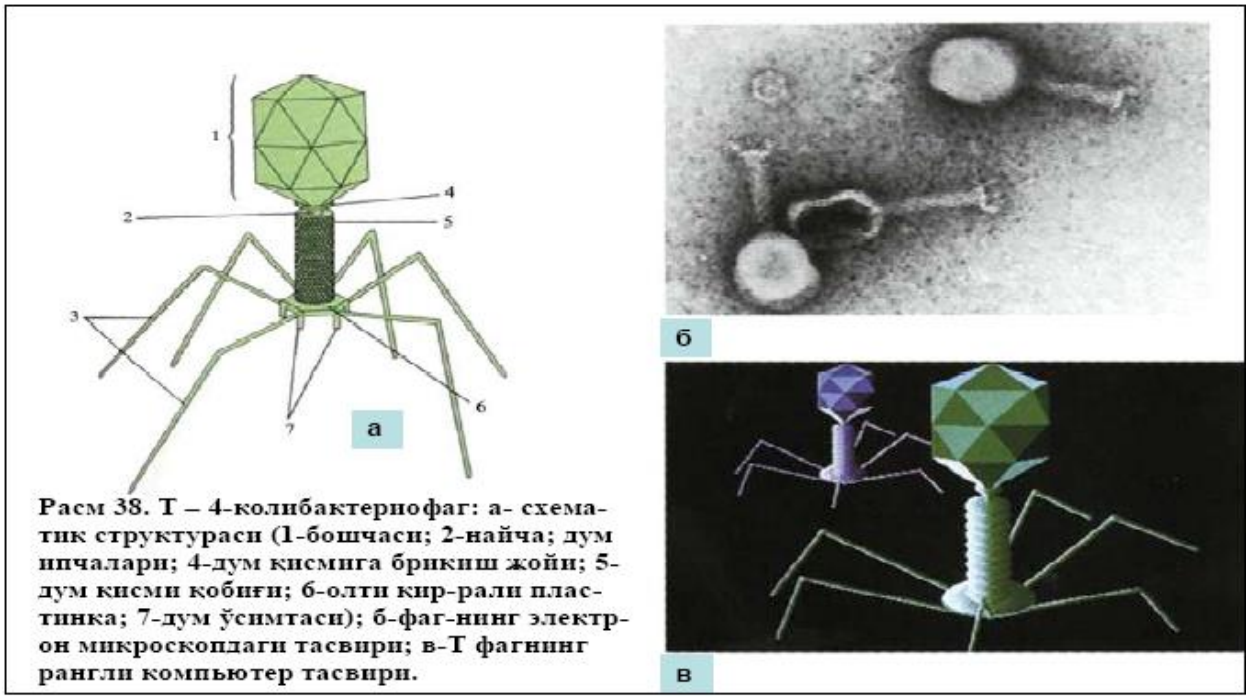
Бактериофаглар атроф-муҳитда, сув ҳавзаларида, тупроқда кенг тарқалган. Шу билан биргаликда уларни кўпчилиги бактерияларда ва бошқамикроорганизмларда ва замбуруғларда топилган. Шунинг учунбактериофаглар кенг маънода умумий сўз билан фаг деб номланади. Фагларниномлашда лотин, юнон ва рус алфавити ҳарфларидан, рақамларданфойдаланилади ва уларнинг олдида бактерия авлоди ва тури ёзилади (*E. coli* T2). Қариндош авлод ва тур

вакилларини номлашда, уларнинг ажратиболинган манбаси номи берилади: колифаглар, стафилофаглар, актинофаглар вабошқ.

Фагларни асосан электрон микроскопда уларнинг ултраструктурасиўрганилади (4.8-расм). Фаглар шакли ва структура тузилиши жиҳатдан бирнечта морфологик типларга бўлинади: ипсимон; майда кубсимон(баъзиларида ўсимталар аналоги бўлиши мумкин); сперматозоидсимон фаглар,яъни кубсимон боши ва дум қисмидан иборат бўлиб, устида қисқарувчи вақисқармайдиган ёпқичлар мавжуд бўлади. Фагларни ўлчам 20 дан 800 нм гачабўлади.Фаглар ўзларини таркибида ДНК ёки РНК тутади. Фагларни нуклеинкислоталари икки ипли, бир ипли, чизиқли ҳалқасимон бўлиши мумкин.

Кўпчилик фаглар икки ипли ҳалқасимон ДНК тутади. Структура тузилишларивирусларга ўхшаш капсид ва капсомерлар фаглар шаклланишида қатнашади,лекин фагларда симметрия типлари аралаш бўлади. Бош қисми кубсимонсимметрияга эга бўлса дум қисмида спираллсимон симметрия типлари учрайди.

4,8 расм



Расм 38. Т – 4-колибактериофаг: а- схематик структураси (1-бошчаси; 2-найча; дум ипчалари; 4-дум қисмига бирикиш жойи; 5-дум қисми қобиғи; 6-олти қир-рали пластинка; 7-дум ўсимтаси); б-фаг-нинг электрон микроскопдаги тасвири; в-Т фагнинг рангли компьютер тасвири.

Фагларни антиген хусусияти. Бактериофаглар группоспецифик ватипоспецифик антигенлар тутади ва улар иммуноген хусусиятга эга,организмда махсус антителалар ҳосил қилади.Бу антителалар фаглар биланбирикиб уларни бактерияга қарши литик хусусиятини нейтраллашимумкин.Типоспецифик хусусияти бўйича фаглар серотипларга бўлинади.

Резистентлиги (чидамлилиги). Вирусларга қараганда ташқи муҳитфакторларига анча чидамли. Температура таъсирида 65-70ºС ўлади,бунданташқари УФ нурлари ва радиациянинг юқори дозалари, кислоталарга,формалинга чидамли.Узоқ вақт паст температурада, қуритганда сақланибқолади.

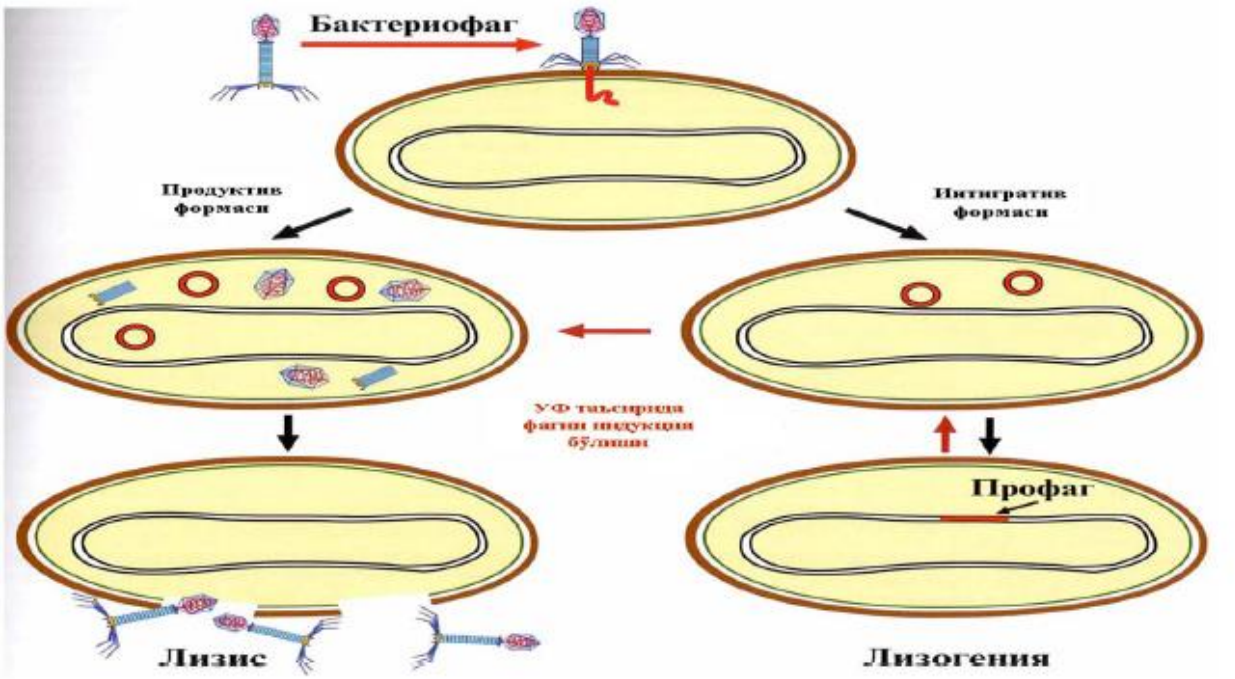
Фагларнинг юқумлилиги ўта махсус бўлиб, маълум бактериялардакўпаяди. Уларни махсус структурасига нисбатан сезгир бактериялардарецепторлар мавжуд.Фагларни сезгир бактериялар билан махсус ўзаромуносабатига асосан фаглар қуйидаги кўринишларда бўлади: поливалент –қариндош бактерияларда кўпайя олади; моновалент-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

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

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

Мўътадил фаглар вирулент фаглардан фарқланиб уларнинг бактерияларбилан муносабати продуктив ёки интегратив бўлиши мумкин (4.9-расм).

Продуктив кўринишда вирулент фагдан репродукциясида фарқ кузатилмайдива бактериянинг лизиси билан тугайди. Интегратив типда фаг геноми бактерияхромосомасига кириб олади ва синхрон кўринишда кўпаяётган бактерия геномибилан бирга репликация бўлади, бактерияни лизисга учратмайди. Шундай ДНКсақловчи фаглар п р о ф а г деб аталади, бактерия эса “л и з о г е н” ликультура деб номланади, чунки бундай лизогенли бактерияларда ҳар доимпрофаг активланса лизисга учраш эҳтимоли юқори бўлади. Бундайбактериялар профагни ўз авлодларига ўтказади. Лекин, фаг репликациягаучрамайди ва ўз наслини қолдирмайди.



4.9-расм. Мўътадил ламбда фагининг кўпайиш типлари

Бунинг сабаби бактерия ҳужайрасидафагни транскрипциясини тўхтатиб турувчи паст молекуляр оқсил репрессоришлаб чиқилади. Репрессорлар биоцентизини фаг генлари бошқаради. Шунингучун бундай лизогенли бактерияларда бошқа фагларга нисбатан иммунитетҳосил бўлади, яъни бошқа яқин қариндош фаглар бактерияга кираолмайди. Аммо, лизоген термини шу бактерияларни ҳар доим лизисга учраши мумкинлигини билдиради. Бунинг исботи сифатида, бактериялар таркибидаги фаг ўз-ўзидан спонтан равишда, ёки физик, кимёвий факторлар таъсирида вегетатив формага ўтиши ва бактерия ҳужайрасини лизисга учратиши мумкин. Бактерия хромосомасидан ажраб чиққан фаг, бактериядан маълум информация сақлувчи генларни ўзига бириктириб олиши ва бу маълумотларни бошқабактерияларга (трансдукция ходисаси) ўтказиши мумкин. Бактериялар олдин ўзларида кузатилмаган белги ва хусусиятларни намоён қилиши мумкин. Профаг таъсирида бактерияларни хусусиятларини ўзгариши “фагли конверсия”деб номланган (лот. conversio- ўзгартирмоқ).

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

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

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

3) фагоидентификацияда — фаг ёрдамида бактерия культурасини қайситурга мансублигини аниқлаш;

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

5) фаготиплаш - бактерияларни фаготипини аниқлашда, яънифаготипнинг, бир турдаги бактерия штаммини шу типга хос фаглар биланлизис қилиш орқали аниқланади; бу эса текширилаётган культураларнибелгилаганда, касалликни эпидемиологик текширишда айниқса муҳимдир.

Амалиётда бульонда ўстирилган бактериялар ҳужайраларидаги вирулентфаглар репродукцияси бу ҳужайраларнинг лизисга учраши ва муҳитнинг тиниқ, ялтироқ тусга айланиши билан тугайди. Петри косачасидаги агарли муҳитдасезувчан бактерияни газон усули билан ўстирилганда фаглар лизис ўчоқли ёкияхлит зоналарини ҳосил қилади. Бу эса, фагнинг копцентрациясига боғлиқдир.Лизиснинг ўчоқли зоналари фагнинг негатив колониялари ёки стерил доғлар — пилакчалар деб номланади. Улар маълум фагларга хос морфологияга эга бўлиб,биргина фаг заррачасидан ҳосил бўлади ва бошқа ҳужайраларга кириши вакейинчалик кўпайиши натижасида ҳосил бўлади.

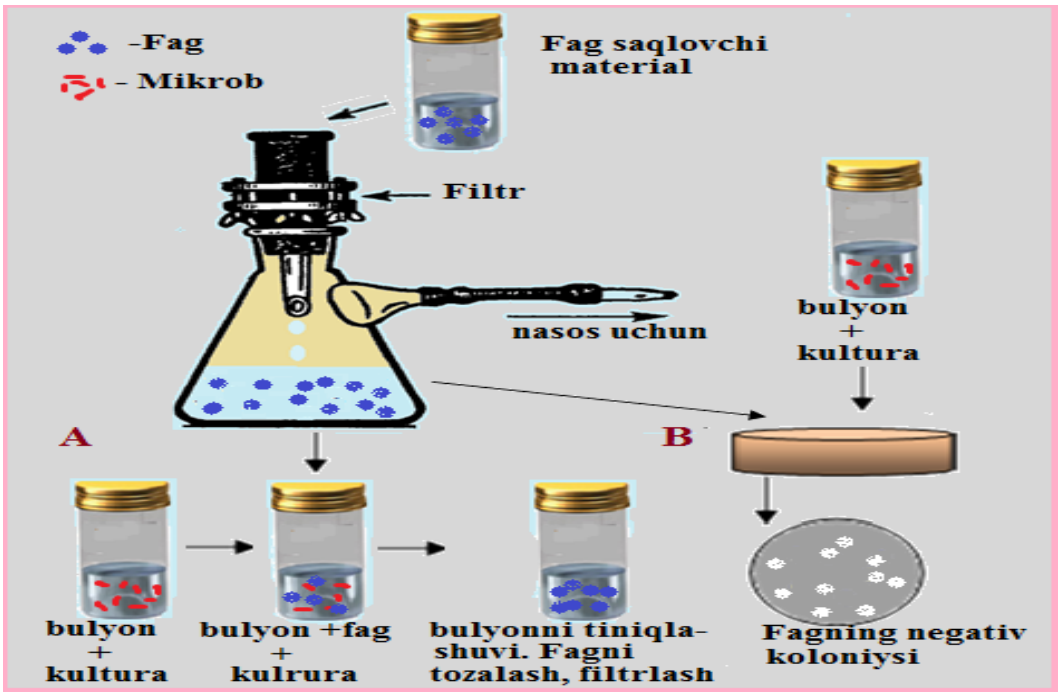
Фагнинг «соф линиясини» (бошқа фаглар аралашмасидан ҳоли) олиш учунморфологик жиҳатдан бир хил бўлган негатив колонияларнинг қаторпассажлари бир хил бактериал штамм газонининг айнан ўзида олиб борилади.

Фагни атроф-муҳитдан ажратиб олиш. Бактериофагларни ажратиб олишда қуйидаги алгоритмлар қўлланилади.

1.Бактериофаг ажратиш учун олинган материал (ташқи муҳитдан объектларидан олинган смив, бактерия культураси) бактериал фильтрда фильтирланади.

2. Фильтратга суюқ озиқ муҳит қўшилади, унга ажратиб олиш мўлжаланган фагга сезгир микроб культураси экилади.

3. Термостатда инкубация қилингандан сўнг тажриба натижаси ўқилади.



4.10-расм. Бактериофагларни ажратиб олиш усуллари: А-бактериофагларни суюқ муҳитда ажратиб олиш; В- бактериофагларни қаттиқ муҳитда ажратиб олиш (схема).

а. Озиқ муҳитда бактерияларнинг **кўпайиши** текширилаётган материалда изланилаётган фаг йўқлигини билдиради.

б. Озиқ муҳитда бактерияларнинг **ўсмаслиги** эса текширилаётган материалда изланилаётган фаг борлигини билдиради.

Бактериофагларни титрлаш ва ажратиб олиш Аппельман ёки Грациа усулларида амалга оширилади.

1. Аппельман усулидаажратиб олиш. Бу усулда, титрлашорқали бактериофагнинг концентрациясини текширилаётган материал ҳажмидаги бактериофагнинг аниқ миқдорий кўрсаткичини аниқлаш мумкин. Бунинг учун суюқ муҳитлар қўлланилади.

а. Фаг сақловчи материал 1:10 ва 10^{-10}суюқ озиқ муҳитда (титрланади) суюлтирилади.

б. Ҳар бир суюлтирилган фаг сақловчи пробиркага микроб культураси қўшилади.

в. Термостатда инкубация қилингандан сўнг тажриба натижаси ўқилади.

г. Қайси фаг сақловчи материалдаги охирги суюлтириш даражасида бактерия кўпаймаса, шу суюлтириш кўрсаткичи бактериофагни титри деб қабул қилинади.

2. Грациа усулида ажратиб олиш.Бу усулда, титрлаш орқали бактериофагнинг концентрациясини текширилаётган материал ҳажмидаги миқдорий кўрсаткичини битта фаг бўлакчаси даражасида аниқлаш мумкин.

а. Фагсақловчи материал 1:10 ва 10^{-10} ярим суюқ озиқ муҳитда (титрланади) суюлтирилади.

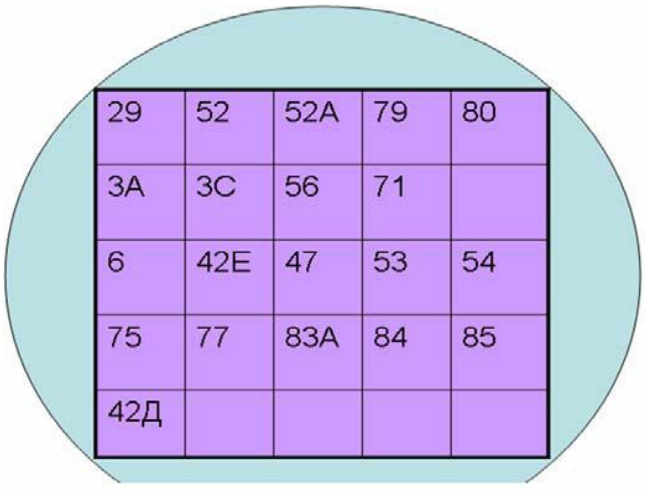
б. Ҳар бир суюлтириш даражасига сезгир ҳужайра культураси шундай миқдорда қўшиладики, фаг бўлмаган ҳолатда бактериялар газан кўринишида ўсиши зарур.

в. Фаг сақловчи материал тутовчи ярим суюқ муҳитга сезгир ҳужайра культураси қўшилиб Петри косачасидаги зич агарли муҳит қатламиустига қуйилади.Петри косачасидаги зич агарли қатлам (под-ложки) таглик вазифасини бажаради.

г. Экма термостатда инкубация қилинади.

д. Бактериофагнинг паст суюлтириш даражаси тўлиқ бактерияларни лизисга учратади ва бактериянинг ўсиши кузатилмайди.

Ҳар бир суюлтириш даражаси экилган муҳитда фагнинг сонига мос равишда негатив колониялар ҳосил бўлади, бу колониялар битта фаг бўлакчасининг репликацияси натижасида ҳосил бўлади. Бактериофгнинг титрини аниқлаш учун косачадаги негатив колониялар (бляшки) саналади ва қайси суюлтириш даражасида саналган бўлса шу суюлтириш даражасига кўпайтирилади.



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

S.aureus фагини сифатини аниқлаш усули Озиқ агарли Петри косачасига **S.aureus**нингсуткали, бульонли культураси газон билан экилади ва 37°С да 10-15 мин давомидақуритилади. Сўнг газон юзасига бир томчи фаг томизилади ва иккинчи четига томчи етибборгунча Петри косачаси қийшайтирилади. Термостатда бир сутка давомида инкубация қилинганидан сўнг, косача

кўздан кечирилади, бунда фаг томчиси теккан ерда лизис зонасинингборлиги белгиланади.

Стафилококк культурасини фаготипини аниқлаш.Текширилаётган суткалик стафилококкни бульонли культурасини Петри косачасидаги озиқ агарга газон 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 стафилококкнинг турли типдаги фаглари томизилади. Бир сутка термостатда ўстирилгандан сўнг, қайси квадратларда лизис бўлганлиги кўздан кечирилади. Стафилококк культурасининг фаготипи лизисни келтириб чиқарадиган фаг типи билан аниқланади (4.11-расм).

5. БОБ: МИКРООРГАНИЗМЛАРГА ТАШҚИ МУҲИТ ОМИЛЛАРИНИНГ ТАЪСИРИ

Амалиётда кўпинча микробларнинг ўринсиз кўпайишини назорат қилиб туришга тўғри келади, уларни пайдо бўлишини ва кўпайишини, қисман ёки тўлиқ ташқи муҳит объектларида, тирик тўқималарда йўқотиб турилади. Бунинг учун амалиётда микроорганизмларга физик, кимёвий биологик ёки комплексли таъсир кўрсатилади. Бундай таъсуротлар эффект келтириши мумкин: микробиоцид (микроорганизмларни ўлимига олиб келади); микробиостатик (микроорганизмларни кўпайишини тўхтатиб қўйади); микробиолитик (микроорганизмларни парчалаб юборади).

5.1.Физик омилларнинг микроорганизмларга таъсири.

1. Температура таъсири
2. Қуритишнинг таъсири
3. Нурлар таъсири.

Температура таъсири. Бактерияларнинг турли вакиллари маълумтемпература диапазонида ҳаёт кечиришади. Паст температурада яшовчимикроорганизмларни **психрофиллар** (-10 дан 40º С гача). Психрофилларгаасосан катта гуруҳ сапрофит бактериялар киради, лекин баъзи патогенбактериялар паст температурада кўпая олади (масалан псевдотуберкулез қўзғатувчиси 4ºС да кўпаяди).

Иккинчи гуруҳ микроорганизмлани **мезофил** бактериялар деб юритилади.Уларни температура яшаш диапазони 10 - 47ºС , оптимал яшаш мезони 37 ºС.

Учинчи гуруҳ микроорганизмлар **термофил** бўлиб 40 -90 ºС яшай олади.Океан тубидаги қайноқ сув манбаларида яшувчи баъзи бир бактериялар 250 -300 ºС яшай олади.Уларнинг ичида патогенлари учрамайди.

Юқорида келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики асосий патогенбактериялар мезофиллар бўлиб 50 ºС дан юқори температура омилибактерияларнинг вегетатив формасига салбий таъсир кўрсатади ва оқсил,нуклеин кислоталарини денатурацияга учратиб бактерияларни ўлимига сабаббўлади.

Қуритишнинг таъсири. Сувсизлантириш кўпчилик бактерияларниметоболитик жароёнларига салбий таъсир кўрсатади. Қуритишга нисбатанчидамсиз патоген бактерияларга гонококк, менингококк, вабо, қорин тиф вабошқ. киради. Қуритишга чидамли бактерияларга эса, шиллиқ қатлам биланҳимояланган бактериялар киради. Масалан сил қўзғтувчиси балғамда 90 кун сақланиши мумкин. Бундан ташқари бактерияларни спораси қуритишга ўтачидамли ҳисобланади. Микробиология амалиётида қуритиш лиофилизацияданфойдаланилади. Лиофилизация вакуум шароитида бактерияларни пасттемпературада сувсизлантиради, бу анабиоз ҳолатида бактериялар, бир нечайил ўзининг бирламчи хусусиятини ўзгартирмасдан сақланади. Бактериологик иммунологик препаратларни сақлашда қўлланилади.

Нурлар таъсири. Нурларни табиатига қараб икки гуруҳга бўлиш мумкин: ионлаштирувчи (радиоктив- рентген, гамма); ионлаштирмайдиган (ультрабинафша, инфрақизил, қуёш нурлари).

Радиактив нурлар- гамма ва рентген нурлари бактерияларнинг НК ларигатаъсир этади, радикаллар ҳосил қилади ва ўлимга олиб келади.Амалиётда бунурлардан бир маротаба қўлланиладиган пластик микробиологик идишлар,щприцлар, доривор моддаларни стерилизация қилишда фойдаланилади.

УФ-нурлар радиактив нурларга нисбатан амалиётда кенг қўлланилади. Бактерияларга қисқа тулқинли 250-270 нм тенг бўлган УФ нурлари таъсирэтади. Бу нурлар бактерияларни нуклеин кислоталарига таъсир этиб улардаги Н- боғларини узади. УФ нурлар микробиологик амалиётда ишдан олдин, кейин,иш жойлари, бокслар, клиникаларда туғруқ заллари, операция олди, операциява бошқа

хоналар, микробиологик амалиётда бактериологик, вирусологик боксхоналари ҳавосини зарарсизлантиришда қўлланилади.Бу мақсадда тўлқинузунлиги 200-400 нм тенг бўлган УФ лампалари ишлатилади. Физик омилларнинг микроорганизмларга таъсири тиббиёт амалиётида асептик мақсадларда қўлланилади.

Асептика – жарроҳлик операциялари вақтида, жароҳатларни, яраларнибоғлашда, жароҳат юзасига ёки организмга, диагностик, даволашманипулияциялар қўллашда, ҳамда микробиологик амалиётда текширилаётганматериалларга, озиқ муҳитга, бактерияларни ажратиб олишда, қайтаэкишларда микроорганизмларнинг тушишига қарши кўриладигон чоратадбирлар системасидир.Асептик чора тадбирлар системасига стерилизациякиради.

Стерилизация (Стериллаш)- ташқи муҳит объектидаги микроорганизмларнинг вегетатив ва спорали формаларини тўлиқ йўқ қилишга қаратилган усуллар йиғиндисига айтилади. Стериллаш физикавий, кимёвийусуллар билан амалга оширилади яъни:

1) юқори температура таъсири остида;

2) нурлар билан (рентген, радиоактив ва ультрабинафша нури);

3) механик йўллар, яъни бактериал фильтрлар орқали ҳамда кимёвийусуллар билан стерилланади.

Стериллашнинг физикавий усулларига киради:

1. Спиртовка ёки газ горелкаси алангасида чўғлантириш. Бу усулданасосан бактериологик қовузлоқ, препаровал игна, пинцетларни стериллаш учунфойдаланилади.

2. Қайнатиш йўли билан стериллаш. Бу усул ҳозирги кунда камқўлланилади майда жарроҳлик резина асбоблари (катетер, хирургик буш,эндоскоп), буюм ва ёпқич ойналар, шунингдек бошқа айрим буюмларстерилланади. Улар стерилизаторларга солинади ва устидан сув қуйилади.

Сувни юмшатиш ва қайнаш температурасини ошириш учун бикарбонатнатрийнинг 1—2% ли эритмаси қўшилади. Сўнг 30 мин давомидақайнатилади. Аммо бу усул тўлиқ стериллаш имконини бермайди, чункиайрим вируслар (масалан, гепатит вируси) ва бактериянинг споралари яшашқобилиятини сақлаб қолиши мумкин.

3. **Қуруқ иссиқлик билан стериллаш** юқори температурали шкафларда(Пастер печи) қуруқ иссиқ ҳаво орқали стериллаш. Бу усул 165-180^{0}С гачақиздирилган ҳавода микроорганизмларни ўлдириш (бактерицид)хусусиятига асосланган. Юқори температурада пахтали

пробка, идиш ўралганқоғозлар бироз куйиб, жигаррангга айланади. Паст температурада эса, узоқвақт стериллашга тўғи келади. Қуруқ иссиқлик билан шиша идишлар: Петрикосачаси, пробирка, пипетка, колбалар ва бошқалар стерилланади.

4.**Автоклавда буғ билан босим остида стериллаш** (-расмга қаралсин).Бу энг самарали стериллаш усулларидан бири бўлиб, фақатгинамикробиология 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 пасаишига олиб келади.

5.1-жадвал

Атмосфера босимининг қайнаш тепературасига таъсири

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

Бактерияларга юқори иссиқликдан ташқари атмосфера босими ҳам таъсир этади, бактерияларни спораси 120ºС ўлади. Энг кўп тарқалган режим 2 атм 121 º С -15 – 20 мин. Бу режимда кўпчилик коррозияга учрамайдиган металл инструментлар, боғлаш учун ишлатиладиган материаллар, халатлар стерилланади. Углеводли озиқ муҳитлар 0,5 атм да 15 мин, микроб тушган материалларнизарарсизлантириш учун 2-2,5 атм босимида 20-25 мин (11-жадвал) давомида стерилланади.

Буғнинг температураси автоклавга ўрнатилган махсус юқори даражалитермометр билан ўлчанади ва стериллаш сифати юқори температурадаэрийдиган кимёвий моддалар: бензонафтол (110QC), бензол кислотасидан(120°С) фойдаланилади.

5. **Кох аппарати ёки автоклавда оқувчи буғ билан стериллаш.**

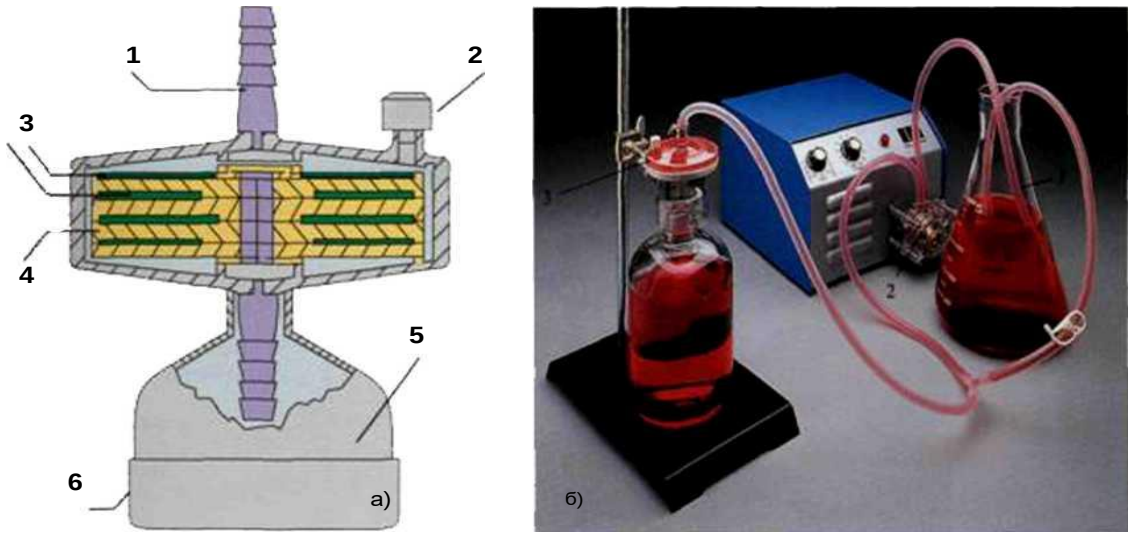
Стериллашнинг бу тури буғнинг бактерия вегетатив шаклларига таъсирқилиш кучига асосланган. Бу усул билан юқори температурада стериллашмумкин бўлмаган материаллар, витаминли ва қандли, озиқ муҳитларстерилланади. Микроорганизмларни тўлиқ йўқотиш учун бўлиб-бўлибстериллаш усули қўлланилади. Материаллар 100ºС да (ёки 80-90°С) 20-30минут давомида 3 кун сурункасига стерилланади. Бу ҳолда вегетативҳужайралар ўлади, споралар эса қолади ва бир сутка ичида вегетатив(қон зардоби, витамин ва бошқалар) стериллашда қўлланилади.

6.Тиндализация. Материаллар 5—6 кун бир соат давомида 56—58^{Q}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 спорасига эмас,фақат вегетатив ҳужайрасига таъсир қилиш хусусиятига асосланган. Материал 50-65°С да 15- 30 мин ёки 70-80°С 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 мкмтўлқин узунлигидаги ультра-бинафша (УФ) — нурларинингмикроорганизмларни 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 уларнингспоралари шу фильтрдан ўтмай қолишига асосланган. Амалийлабораторияларда материалларни турли диаметрдаги тешикка эга бўлганасбест, керамик, шишали ва мембранали фильтрлар билан фильтрлаш кенгйўлга қўйилган.5,1 расм



Расм . Мембрана фильтр билан стериллаш. а) мембрана фильтрлаш аппаратини кўндаланг кесими: 1- ¼ қадамли уланувчи трубка; 2-совутиш мосламаси; 3-ўрнатилган фильтрлар; 4- фильтр ўрнатиловчи маслама; 5-фильтрат йиғиловчи идиш; 6-идиш қопқоғи. б) фильтрловчи установкани кўриниши

Бактериологик амалиётда Зайтц фильтри ва асбест фильтирлар 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. Фильтрлашдан олдин асбест фильтр ўрнатилган система автоклавда стерилланади. Мембранали фильтрлар алоҳидақайнатиш усули билан стерилланади, бирлаштирилади ва унинг ёрдамида суюқлик фильтрланади.

Мембрана фильтирларнинг турли модификациялари ишлаб чиқилган (5.1-расм). Расмда замоновий мембрана фильтр установкасини ишлаш принципикелтирилган (б). Шиша колбадаги стериллашга мўлжалланган (1) эритма қисқариб ишловчи насос ёрдамида (2) мембран фильтр установкасидан босимостида ўтказилади (стериллаш сифатли бўлиши учун фильтрловчи установкага бир нечта фильтр қўйилган) ва стерилланган суюқлик махсус контейнерга (3) йиғилади.

Асбестли фильтрлар 35 ва 140 мм диаметрда чиқарилади; уларфильтрлайдиган (Ф) ва стериллайдиган (СФ) турга ажралади. Мембраналифильтрлар 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. Фильтрлаш усулидан суюқ, қиздиришга чидамсиз материалларни (қон зардоби, антибиотиклар) стериллашда фойдаланилади. Бундан ташқари, бу усул ёрдамида бактериянинг токсинлари, фаглари ва ҳаёт фаолиятида ажралибчиқадиган турли маҳсулотлари олинади.

5.2.Кимёвий омилларнинг микроорганизмларга таъсири. Кимёвий омиллар ҳам микроорганизмларга микробиоцид ва микростатик таъсиркўрсатади. Кимёвий моддалар амалиётда стериллашда, антисептикада вадезинфекцияда кенг қўлланилади

Кимёвий стериллаш усули. микроорганизмларни ўлдириш (бактерицид)хусусияти бўлган турли кимёвий моддалардан фойдаланилади. Аммо, амалий лабораторияларда кенг қўлланилмайди. Бу усулларда заҳарли газлардан (этилиноксиди, оксид этилин ва бромметил аралашмаси, формальдигд)

фойдаланилади. Бу моддалар сув иштирокида бактериялар ферментларини актив группаларини, бошқа оқсилларни, ДКН ва РНК ларни активлигини йўқотади ва бактерияларни ўлимига сабаб бўлади.

Газ билан стериллаш махсус камераларда 18 дан 80º С температурада олибборилади. Клиникаларда фармальдегид газидан, саноат миқиёсида эса этилиноксиди ва аралашмаси қўлланилади.

Кимёвий стериллаш олдидан стерилашга тайёрланган объектлар ишловберилиб қуритилади.Стериллашни бу усули ходимлар ва беморлар, ҳамдаташқи муҳит учун ҳафсиз ҳисобланади, чунки асосий стериллувчи агентларпредментларда қолмайди.

Охирги йилларда медицинада кўплаб температурага чидамсиз бўлганматериаллардан тайёрланаётган инструментлар (оптик мосламалар, эндоскоп,бронхоскоп) кенг кўламда ишлатилмоқда. Бу инструменларни стериллашдатермик, газ қўллаш усуллари асбобларни оптик мосламаларига таъсир қилишини ҳисобга олиниб, бу инструментларни кимёвий эритмалар биланстериллаш таклиф қилинмоқда. Инструментлар софлангандан ва дезинфекция қилингандан кейин маълум вақт (45 дан 60 минутгача) эритмалардастерилланади. Бу приборлар стериллашдан сўнг стерилланган сув биланювилади. Стерилланган инструменлар махсус стерил беркилувчи идишларда сақланади. Ҳамма бажарилаётган ишлар стерил боксларда ва асептикқоидаларга қатъий риоя қилинган ҳолда бажарилади.

Кимёвий моддалар амалиётда асосан антисептик ва дезинфектант сифатида қўлланилади.

Антисептика — бу жароҳатланган ёки соғлом тери ва шиллиққаватларда юқумли процессни қўзғатиш қобилиятига эга бўлган,микроорганизмларни ўлдиришга қаратилган комплекс даволаш вапрофилактика тадбирларидир. Антисептика сифатида турли микробларгақарши таъсир кўрсата оладиган кимёвий бирикмалардан фойдаланилади

Дезинфекция – ташқи муҳит объектларидаги маълум патоген микробларнингвегетатив формасини тугатишга, камайтиришга қаратилган тадбирларйиғиндисига айтилади. Дезинфекция маълум мақсадларга мувофиқ қилинади. Масалан кундалик дезинфекция ишлари опреаци хоналари, бокслар иш жойларини (профелактик) ва юқумли касаллик чиққан жойни (тугалланган) дезинфекция қилинади. Антисептик ва дезинфектант моддаларга киради:

1.Спирт ёки алкоголлар (этанол, изопронол ва бош.). Антисептиксифатида спиртни 60-70º сувли эритмаси қўлланилади. Спиртлар ҳужайраоқсилларни чўктириш ва ҳужайра девори ёғларини ювиб юборади. Тўғриқўлланилганда кўпчилик бактерияларни вегетатив формаларига эффективбактериоцид таъсир кўрсатади, лекин бактериялар спораси ва замбуруғларгатаъсир кўрсатмайди.

3. **Галогенлар** ва галоген тутувчи (йод ва хлор препаратлари) препаратлароқсилларнинг гидроқсил группалари билан бирикиб, уларни структурасинибузади антисептик сифатида қўлланилади:

- йод тутувчи препаратлар – йоднинг 5 % спиртли эритмаси, йодинол (1%сув ва 0,1% йод тутади), 0,3% калий йодид, йоданид, люгол эритмаси шиллиққаватларни ишлов беришда қўлланилади;

- хлор сақловчи моддалар - амалиётда дезинфектант сифатидақўлланилади. Кенг тарқалган дезинфекция қилувчи моддаларга хлорли оҳак (0,1—10% ли зритма), хлорамин Б таркибида 25-29% актив хлор тутади (0,5— 5% ли эритма), хлоргексидин биглюканат, гипохлорат кальцийнинг учдан иккиасосий тузи-ДТСГК (0,1 — 10% ли эритма) киради.Дезинфекция қилувчимоддаларни танлаш ва унинг концентрациясини аниқлаш дезинфекцияқилинадиган объектга ва материалларга боғлиқ.

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

5. Альдегидлар – микроорганизмларни оқсил, аминокислоталарисульфгидрил ва корбаксил групаларига таъсир этади, уларни структурасинибузади, бактерияларни ўлимига сабаб бўлади. Альдегидлар медицинада консервант сифатида қўлланилади (формальдегид 8%, глутаральдигид 2-2,5%). Формальдегид эритмаси ва мази, совуни (лизоформ) хирургик практикада қўлланилади. Уротропин (гексаметилентетрамин) нордон муҳитда ундан формальдегид ажралиб чиқади урологик практикада қўлланилади

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

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

8. **Ишқорлар**- кўпроқ аммиакни спиртли эритмаи хирургик практикадаишлатилади.

9. **Бўёқ моддалар** кенг (бриллиант кўки,метилен кўки, риванол)тиббиёт амалиётида антисептик препаратлар сифатида фойдаланилади.

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

5.3.Дезинфекция, стерилизациянинг сифатига баҳо бериш.

Даволаш профилактик муассасаларида режалаштирилган дезинфекция ва стерилизация тадбирларини ишлаб чиқариш назорати талабларига риоя қилинаётганлигини камида 6 ойда 1 марта ўтказилади. Ишлаб чиқаришни назорат қилиш режаси, ишлаб чиқаришни назорат қилувчи шахс томонидан ишлаб чиқилади ва даволаш муассасаси бош шифокори томонидан тасдиқланади. Жарроҳлик стационарларида ишлаб чиқаришни назорат қилиш режасига қуйидагилар киритилади:

1. Стерилизация сифатига баҳо бериш;
2. Кунлик дезинфекциянинг эффиктивлигига баҳо бериш;
3. Операцион ва операция олди ва бош. хоналарининг (А ва Б ҳавосини тозалигига микробиологик баҳо бериш.

Акушерлик стационарларида режа асосида назорат ўтказилади:

1.Доривор моддалар шакли (инъекция учун, янги туғилган чақолоқларни тери ва шиллиқ қаватларини артиш, ювувчи суюқликлар) қўлланилаётган тиббий аппаратуралар;

2. Болалар учун озуқли аралашмалар, ичиш учун ичимликлар;

3. Операцион ва операция олди ва бошқа хоналарнинг (А ва Б ҳавосини тозалигига микробиологик баҳо бериш;

4.Кунлик дезинфекциянинг эффективлигига баҳо бериш;

5. Медицина ходимлари қўлларини хирургик тозалашни танлаб назорат қилиш.

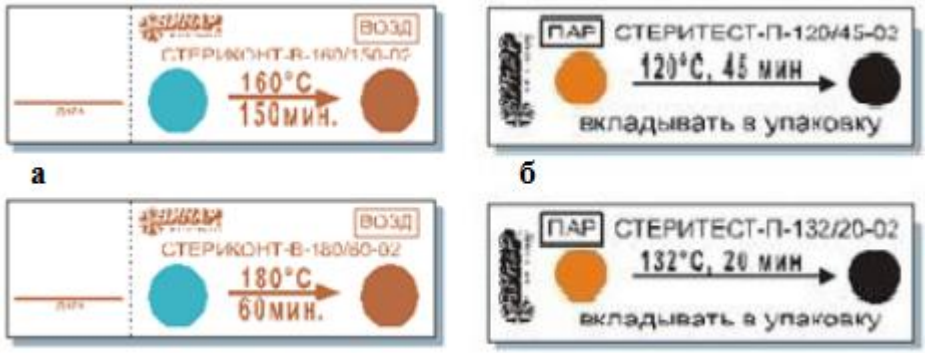
Ҳозирги кунда жарроҳлик ва акушерлик стационарларида (бўлимларда) тиббий ходимларнинг олтинсимон стафилококк ташувчанлигига текширув назорати ўтказилмайди. Фақат эпидкўрсатма асосида ўтказиш мумкин.

Стерилизацияга баҳо бериш. Стерилизацияга баҳо беришга киритилган:

1. Стерилизаторни ишлашига баҳо бериш;
2. Стерилизаторни ишлаш режим параметрларига баҳо бериш;
3. Стерилизацияни эффективлигига баҳо бериш.

Стерилизаторни ишлашига баҳо беришда автоклав, қуруқ иссиқлик печкалардаги приборларининг (моновакумметр, термометр ва таймерни) кўрсаткичлари орқали баҳо берилади.

Стерилизаторни ишлаш режим параметрларига баҳо беришда физико-кимёвий усуллардан фойдаланилади (стерилизация ўтказилаётган аппаратга кристал кўринишидаги ампулада моддалар, ёки махсус қоғозларга шимдирилган термохимик индикаторлар қўйилади. Температура режими ушланса ампуладаги модда эрийди, индикаторли қоғоз рангини ўзгартиради.



5.2-расм. Ҳаволи (а) ва буғёрдамида (б) стерилизацияда қўлланилувчи термоиндикатор

Стерилизацияга баҳо беришда биологик усуллар ҳам қўлланилади. Юқорида келтирилган тестлар билан бирга стерилизацион аппаратга термочидамли спораҳосил қилувчи бактериялар культураси флоконларда (Bacillus stearotermophilus, Bacillus licheniformis) қўйилади. Стерилизациядан кейин уларни пептонли бульонда (ПБ) қолдирилади. Бактериялар спораси ўлган бўлса ПБ лойқаланиш кузатилмайди.

Стерилизацион аппаратни эффектив ишлаётганлиги ўтказилган текширув тестлари натижалари (термочидамли спора ҳосил қилувчи бактериялар культурасини ПБ ўсмаслиги ва қониқарли физико-кимёвий тестларнинг натижаси) орқали баҳоланади.

Даволаш профилактик шифохоналарида ўтказилган стерилизациянинг сифатини бактериологик лабораториянинг махсус дахлизли боксларда асептик ҳолатни сақлаган ҳолда(иккиламчи бактериялар контаминациясини олдини олиш учун) олиб борилади. Боксларда асептик ҳолатни сақлаш учун бактериоцид лампалардан фойдаланилади, юзалар эса суюқ дезинфикцияловчи ресурслар билан ишланади. Боксга киришдан олдин ходимлар яхшилаб қўлини

ювишади ва махсус стерил кийимлар кийилади (халат, бахилла, қалпоқ, 4 қаватли докали ниқоб). Ишлашдан олдин бокс ҳавосидаги 1 $м^3$даги УМС текшириб турилади (бокс ҳавосидаги спора ҳосил қилмайдиган сапрофитларнинг сони УМС 1$м^3$ 3> ошмаслиги зарур. Текширилаётган намуналардан (бирга стерилизация қилинган буюмлар, асбоблар ва боғловчи материалларнинг тўпламидан 1% дан кам бўлмаган миқдорда олинади) лаборант, хамшира баклаборатория ходими кузатувида олади. Стерилизацияни сифатини текширишда тўғридан- тўғри кичик ўлчамли материалларни экиш орқали (погружения), боғловчи, тикувчи материалларни қирқилган фрагменти олиниб экилади. Катта ўлчамли асбобларни стерил сифатини текширишда улардан ювинди олинади. Олинган намуналар албатта 2 та муҳитга экилади — тиогликоли (бактерияларни ўсиши учун) ва Сабуро муҳити (замбуруғларни ўсиши учун). Тиогликолли муҳитга экилган намуналар 37^0 С, Сабуро муҳити- 22°С- 7 кун мобайнида термостатда сақланади. Агар шу кунлар мобайнида пробиркаларда (флоконда) ўзгариш кузатилмаса (материал стерил бўлмаса муҳит лойқаланади) қўлланилаётган материаллар стерил деб хулоса берилади.

Методик кўрсатмалар .

Юқори температуранинг бактерияга қарши таъсирини текшириш. Ичида озиқбульони бўлган учта пробиркага спорали ва спорасиз культура аралашмаси шимдирилганипак ип солинади. Биринчи пробирка автоклав қилинади, иккинчиси - қайнатилади; учинчи(контрол) пробиркага ҳеч қандай таъсир кўрсатилмайди. Пробиркалар 37°С да 24 соатдавомида термостатга қўйилади. Қўйилган тажрибанинг натижаси аниқланади. Агар юқориҳарорат таъсир кўрсатган бўлса бульон ўзгармайди тиниқлигича қолади, агар таъсир кўрсатмаган бўлсабульон лойқаланади. Шундай натижалар қолган икки пробиркаларда ҳам ўрганилади вахулоса чиқарилади.

Ультрабиифша нурларининг бактерияларга қарши таъсирини текшириш.

Иккита ГПА қуйилган Петри косачасига стафилококк ёки E. coli культураси экилади вабиринчи косачани қопқоғи очиқ 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 (контрол) бактериялар культураси 37°С да 16-24 соат давомида термостатга қўйилади. Сўнгра натижалар кўрилади: агар очиқ

қолдирилган Петри косачасида бактерияларни ўсиши кузатилади, УФ нури таъсир этган бўлса нурланган бактериялар культураси агар юзасида ўсмайди. Иккинчиконтрол чашкада озиқ муҳит юзасида, бактерия культураси кўпайган бўлади. Ҳар иккаланатижа бўйича хулоса чиқарилади.

Антисептик ва дезинфекция қиладиган моддаларнинг бактерияга қаршитаъсирини аниқлаш.

1. Кимёвий омиллардан фенолни E.coli бактериясига таъсирини ўрганиш. а) E. colikультураси; б) спора ҳосил қилувчи (B.antrocoidis) культуралари, (5%) фенол, (5%) лизол,эритмаси солиниб тайёрланган қиялантирилган ГПА ва контрол сифатида кимёвиймоддаларсиз муҳитларга экилиб, кейинги кунгача термостатга қўйилади. Қўйилган тажрибанатижалари аниқланади ва хулоса чиқарилади.

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

6 БОБ. ХИМИОТЕРАПЕВТИК МОДДАЛАР ВА АНТИБИОТИКЛАР.МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНТИБИОТИКЛАРГА СЕЗГИРЛИГИНИ АНИҚЛАШ

6.1.Химиотерапевтик препаратлар- юқумли касалликларнинг этиотропдаволашда қўлланилувчи кимёвий моддалар бўлиб, микроорганизмларгатанлаб таъсир кўрсатади ва макроорганизмларга нисбатан зарарсиздир. Ҳарбир антимикроб препаратларни қўллашда унинг физиологик имитацияпринципи тузилади, яъний қўзғатувчи учун махсус бўлган физиологик бошқарув жараёнларига препаратнинг таъсир қилувчи молекулярконфигурацияси, қўшилмалари аниқланади. Ҳозирги кунда бир неча ўнминглаб препаратлар олинган бўлиб, улар юқумли касаллик қўзғатувчибактерияларнинг ҳаёт фаолиятини тўхтатиб қўйиши мумкин. Лекинфармакологик хусусиятлари, талаблари бўйича бир неча юз антибиотиклар амалиётда қўлланилади. Препаратларнинг эффективлиги, терапевтик таъсирдоирасини таминловчи хусусиятлар йиғиндиси билан ифодаланади. Яъни,организмга киритилганда унинг структура

доимийлигини сақлаши ёки активметаболитлар ҳосил қилиши, тўқималарга ва биологик суюқликларга адсорбциява элиминация қилиниш тезлиги, танлаб таъсир қилиши ва микроорганизмларни сезгирлиги инобатга олинади.

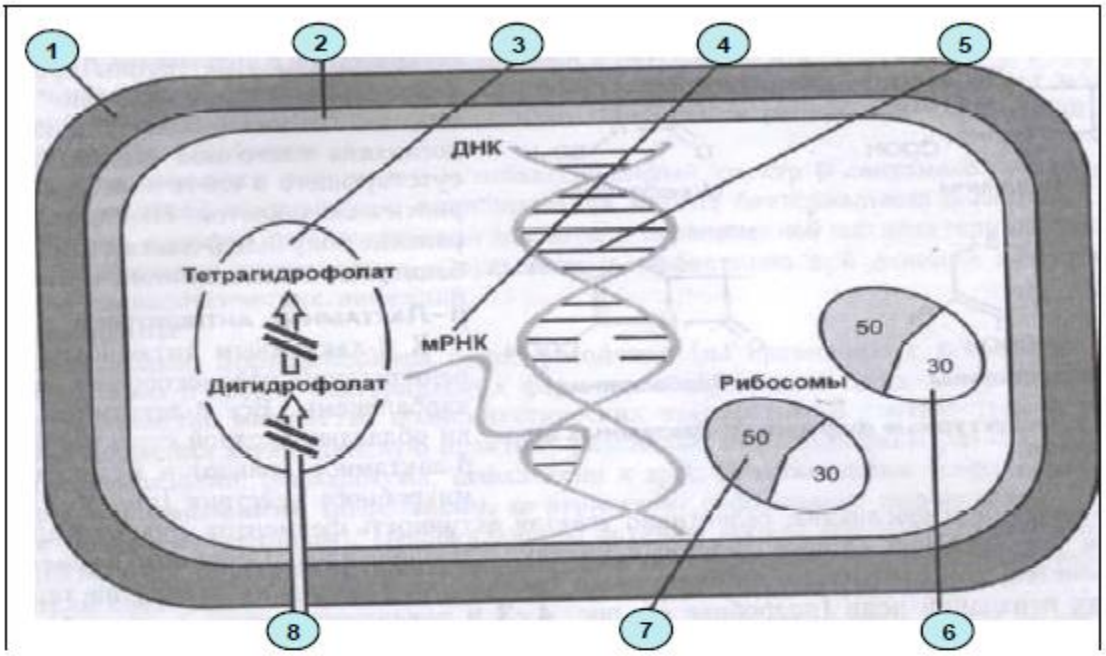
Препаратларнинг эффективлик критерийсини асосини активлик спектри ҳам ташкил қилади.

Активлик спектори- антимикроб препаратлар бактерияларнинг фақатвегетатив формасига таъсир кўрсата олади, уларнинг спора ва цистаформаларига таъсир этмайди. Препаратлар ўзининг антибактериал биологик активлигини намоён 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 ёкиметаболитларга айланиши.

Хемотерапевтик препаратларни танлашда унинг активлик спектри вамикроорганизмларнинг сезгирлик хусусияти ҳисобга олинади.Препаратлармахсус активлиги бўйича бактерияларга, замбуруғларга, содда жониворларга вавирусларга қарши бўлиши мумкин. Бундан ташқари таъсир қилиш спектордоирасига қараб бўлинади:

- тор доирада таъсир қилувчи препаратлар (маълум группамикроорганизмлар учун актив бўлади);
- кенг доирада таъсир қилувчи препаратлар (катта гуруҳ бактерияларучун актив ҳисобланади);
- хемотерапевтик препаратлар бактериостатик (кўпайиш ва ўсишинитўхтатиши) ёки бактериоцид (уларни ўлдириши) таъсирга эга бўлади вамикроорганизмларнинг турли структураларига танлаб таъсир кўрсатади (6.1-расм).



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

Хемотерапевтик препаратлар таъсир қилиш омиллига қараб бўлинади:

1) содда жониворларга таъсир қилувчи (противопротозойные)

2) замбуруғларга қарши (противогрибковые)

3) вирусларга қарши (противовирусные)

4) бактерияларга қарши (антибактериальные)

Хемотерапевтик препаратлар кимёвий структураси бўйича ҳам бир нечагуруҳларга бўлинади:

1) сульфаниламидлар-сульфанил кислотаси ҳосилалари. Бу препаратларбактериялар учун зарур бўлган ўсиш факторларини ингибиция қилиб(фолиевой кислота ва бош.) қўяди. Уларга киради стрептоцид, норсульфазол,сульфаметизол, сульфаметаксазол ва бош.:

2) нитрофуран асослари – таъсир механизимлари бактерияларнинг бирнечта ферментлар системасини блакировка қилиб қўяди. Буларга киради –фурацилин, фурагин, фуразолидон, нитрофуразон ва бошқ.;

3) имидазон асослари азоллар- замбуруғларга қарши таъсирга эга.Стероидларнинг биоцентизини ингибица қилади ва ҳужайра цитоплазматикмембранаси ўтказувчанлигини ошириб юборади.

Буларга нистатин,клотримазол, кетоконазол, флуконазол ва бошқалар киради;

4) диаминопиримидинлар – микроб ҳужайраси метобализимини бузади.Буларга триметоприм, пириметаминкиради;

5) хинолинлар – микроб ҳужайрасида ДНК синтезини турли босқичларинибузади. Буларга налидикс кислотаси, циноксацин, норфлоксацин,ципрофлоксацинкиради;

6) антибиотиклар – буларга табиий, сунъий ва синтетик антибиотикларкиради.

6.2. Антибиотиклар

Антибиотиклар турли бактерия юқумли касалликларини даволашдақўлланилаётган химиотерапевтик воситалар орасида асосий ўринни эгаллайди.Антибиотиклар келиб чиқиши, кимёвий тузилиши, бактериягақарши таъсир механизми ва уларга сезгир бактериялар сонига (таъсирдоирасига) 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 шаклланишига олиб келади. Ҳозирги кунда бактерияларнингантимикроб препаратларга нисбатан резистентли штаммларини пайдобўлишини иккита асосий механизми мавжуд: табиий ва ҳаёт давомидаортирилган.

Табиий резистентлик тур белгиси ҳисобланади ва авлоддан авлодгаўтади. Буларнинг ҳужайраларида, асосан препаратлар учун нишонлар бўлмайди ёки препаратлар ҳужайраларга кира олмайди.

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

Баъзи холларда бактериялар ўзининг наслий хусусиятларига боғлиқбўлмаган холда резистентлик белгиларини намоён қилади. Кўпчиликантибактериал 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 ҳамантибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусиятини шакллантиришлари мумкин. Масалан мутация натижасида бактерия ўзининг препарат таъсир қилувчи структурасини, препарат кирувчи пораларини, препарат билан боғланувчи оқсилларини ёки ферментларини ўзгартириши мумкин (масалан: рибосомадаги 30 S суб бирликни, ДНК га тааллуқли РНК полимераза).

Микроорганизмлар бундан ташқари резистентликни антибактериал препаратларга нисбатан штаммларини селекциялаши оқибатида ҳам намоён қилишлари мумкин. Баъзи бактериялар популяциясида антибактериал препаратларга нисбатан чидамли штамлари пайдо бўлиши, кейинчалик буштаммлар популяцияда доменант бўлишига олиб келиши мумкин. Шундайусул билан олтинсимон стафилококкни метициллинна нисбатан чидамлиштамми ҳосил бўлган MRSA (*инг*. *methicillin resistant S.aureus*).

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

Юқорида келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики амалиётдаантибактериал препаратларга нисбатан резистентлик хусусиятини намоёнқилувчи бактерияларнинг кенг тарқалганлиги, юқумли касалликларнидаволашда кўплаб муаммоларни келтириб чиқармоқда. Шунинг учун, беморни даволаш мақсадида аввалам бор ажратиб олинган қўзғатувчи шу антибиотика чидамсизми-йўқми, билган ҳолда дорини танлай билиш зарур.

Ҳозирги вақтда бактериялар антибиотикларга бўлган сезувчанлигидаражасига кўра учта котигорияга бўлинади: сезгир, ўртача чидамли вачидамли.

6.3. Микроорганизмларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш усуллари.

Микроорганизмларни антимикроб препаратларга сезгирлигини аниқлаш клиник бактериологнинг 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. Бумақсадда бир неча усуллар қўлланилади: диско-диффузия усули агарда, серияли қатор суюлтириш усули, Е- тест ва бошқа усуллар.

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

6.1-жадвал.

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

Антибиотик	К	Антибиотик	К
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	10-20
Метициллин	10-15	кислота	5-10
Оксациллин	4-6	Хлорамфеникол	15-25
Олеадомицин	3-5	Цефалексин	3-5
		Эритромицин	

Терапевтик индекс (ТИ) Т = 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.

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 хамда препаратнинг организмдан чиқиб кетиш тезлигига боғлиқ.. Ҳозирги кунда бу критерий препаратни абсолют кўрсаткичи ҳисобланмайди, чунки баъзи тўқималарда препаратни концентрацияси, қондаги миқдоридан юқори бўлиши мумкин.

6.2-расм. Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини қоғозли диск усулида аниқлаш

Диск диффузия усули бўйича бактериянинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш.Текширилаётган бактерия культураси “газон” усулида 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 оралиқда агар юзасига жойлаштирилади (6.2-расм). Экилган косачалар 37°С да бир кун давомида термостатда сақланади. Диск атрофидаги стафилококк культурасининг ўсиши тўхтаган зона диаметрига кўра, унинг маълум антибиотикларга бўлган сезгирлиги белгиланади.

6.2.-жадвал

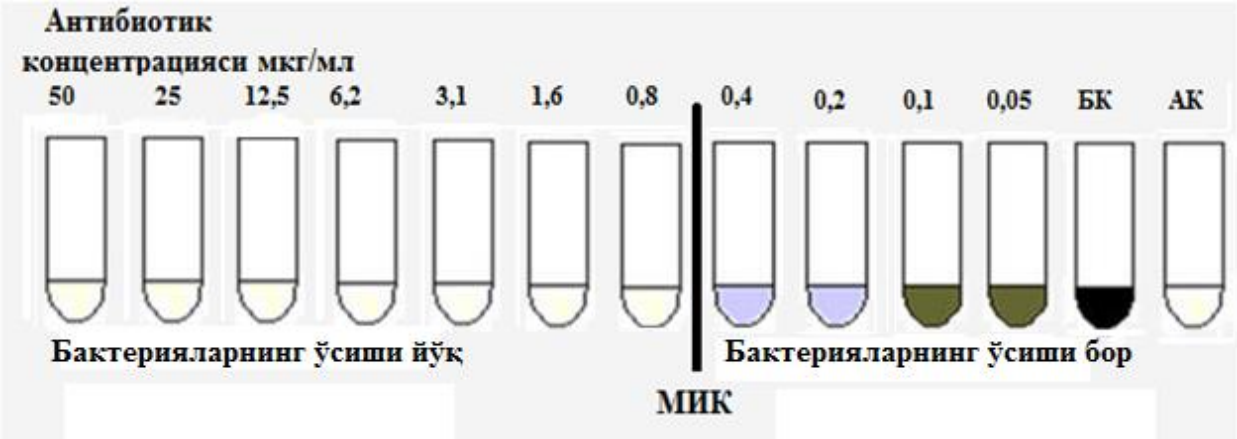
Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини серияли суюлтириш усули билан аниқлаш схемаси.

Ингредиент-лар	Пробиркалар											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Бактерия контроли	Антибио-тик контроли
Гўштли пептонли бульон объёми мл.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Антибиотик (таркибида 100 мкг/мл сақловчи эритма)	1 →	→	→	→	→	→	→	→	→	— *	—	1
Серияли суюлтириш	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	—	—
Антибиотик концентрациясимкг/ мл	50	25	12.5	6.2	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	—	50
Бактерия сус-пензияси, мл	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 37º С инкубация қилинади											
Натижалар											

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

Қатор суюлтириш усули билан антибиотикларга бўлган бактериялар сезгирлигини аниқлаш.Бу усул билан антибиотикнинг минимал ингибиция концентрацияси (МИК) ва минимал бактериоцид концентрацияси (МБК) аниқланиши мумкин. Текширишни озиқ муҳитларнинг турли миқдорида (1-10 мл) ўтказиш мумкин. Тажрибада бактерияларнинг озиқланиш талабига қараб суюқ муҳитлар ишлатилади. Пробиркалардаги (кўпроқ ўнта) суюқ озиқ муҳитда препаратни (тетрациклин) 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.



6.3-расм.Қатор суюлтириш усули билан бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш

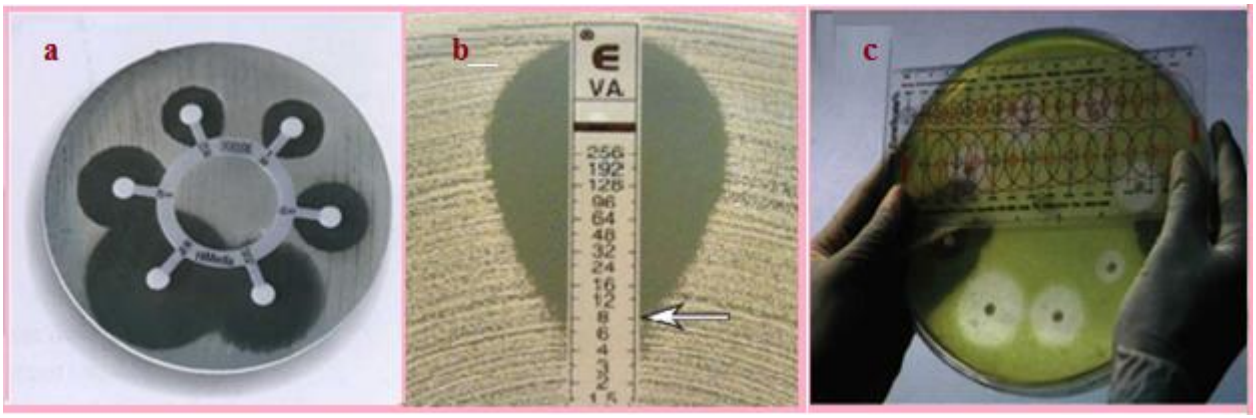
Тажрибада контрол сифатида микроб культураси ва антибиотик олинади, сўнгра ҳар бир суюлтирилган пробиркага (0,1 мл дан) таркибида 1 мл да 10^6 бактерия ҳужайраси бўлган (S. aureus) бактерия суспензияси қўшилади.Охирги 11 чи пробиркага 1мл бульон ва 0,1 мл бактерия суспензияси (культуранинг контроли) 12 пробиркага 1мл бульон ва антибиотик қуйилади .Экилган пробиркалар 37°С да кейинги кунга қадар термостатда сақлангач, қуйқалашиб ўсган озуқа муҳит

контрол культурага - солиштирилади ва тажриба натижаси аниқланади.

Маълумки тетрациклинни ўртача терапевтик дозаси юборилганда унинг Кўрсаткичи 4 мкг/мл тенг (максимал юборилганда10мкг/мл). Шундан келиб чиқан ҳолда тетрациклинни ТИ = 0 ,8: 4,0 = 0.2 (> 0,3), яъни ўрганилган қўзғатувчи тетрациклинга сезгир экан. Агар максимал дозаси билан даволанса (0.8 : 10 = 0,08) жуда яхши натижа бериши мумкин (жадвал 1., 45-расм). Ичак гуруҳи бактерияларни бу усулда аниқлашда глюкоза ва индикатор қўшилган бульондан фойдаланиш ҳам мумкин. Бактериялар муҳитда глюкозани кислота ҳосил қилиб парчалайди ва муҳит pH нардон томонга силжайди, бу эса индикаторни рангини ўзгаришига олиб келади.Охирги пробиркадаги озиқ муҳит тиниқ ва ялтироқ бўлади, бу эса текширилаётган бактерия культураси ўсишини жуда кам дозадаги антибиотик тўхтатганини кўрсатади.

Одам организмисуюқликларида (қон, сийдик ва бош.суюқ.) антибиотикларнинг концентрациясини аниқлаш.

Штативга икки қатор пробиркалар қўйилади. Уларнинг бирига эталон антибиотик суюлтирилади, иккинчисига эса текширилаётган суюқлик. Кейин ҳар бир қаторга глюкоза қўшилган Гисс муҳитида тайёрланган тест-бактерия аралашмаси қуйилади. Текширилаётган суюқликда пенициллин, тетрациклин, эритромицин аниқланилаётган бўлса тест-бактерия сифатида S. aureus нинг стандарт штамми қўлланилади, стрептомицин аниқланса — E. coli. Пробиркалар 18-24 соат термостатда 37°С сақлангандан сўнг натижалар кўрилади. Пробиркалардаги текширилаётган суюқлик таркибидаги антибиотик таъсирида бактериялар кўпаймаса муҳит лойқаланмайди ва индикатор ранги ўзгармайди, бактерия кўпайса муҳит лойқаланиб ранги ўзгаради, яъни тест бактериялар глюкозани парчалайди.Антибиотикнинг суюқликдаги миқдорини аниқлашда , текширилаётган суюқликнинг тест бактериянинг ўсишини тўхтатиб қўйган максимал суюлтириш даражасини топиш ва антибиотикнинг шу тест бактериянинг ўсишини тўхтатиб қуйувчи эталон антибиотикнинг минимал концентрацияси орқали топилади. Масалан,текширилаётган суюқликнинг тест бактериянинг ўсишини тўхтатиб қўйган максимал суюлтириш кўрсаткичи 1:1024 тенг, эталон антибиотикни тест бактериянинг ўсишини тўхтатиб қуювчи минимал концентрацияси 0,313 мкг/мл тенг. Бунда суюқликдаги антибиотикнинг концентрацияси 1024х0,313=320 мкг/мл тенг экан.



6.4-расм. Диск диффузия усули бўйича бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш: a-b) бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини замонавий усулда аниқлаш; c) бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини махсус линейка ёрдамида ўлчаш.

S. aureusни бета-лактам синтез қилиш хусусиятини аниқлаш.

Пенициллинга сезгир стандартстафилококк штаммининг бир кунлик бульонли культурасидан 0,5 мл колбага қуйилади, унинг устига 20 мл суюлтирилган ва 45°С гача совутилган ГПА қуйилиб, яхшилаб аралаштирилади ва Петри косачасига қуйилади. Петри косачасидаги ГПА совуб қотгандан кейин унинг устига пенициллин шимдирилган диск қўйилади. Пенцилин дискининг радиуси бўйлаб текширилаётган культура қовузлоқ билан экилади. Экма 37°С термостатда кейинги кунгача қолдирилади. Бир суткадан кейин натижа ўрганилади.Текширилаётган культура бета-лактамаза ишлаб чиқариши стандарт стафилококкштаммини текширилаётган культура атрофида ўсишига қараб (диск аторофида) аниқланади.

Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини замонавий усулларда аниқлаш Е-тест усули. Бу усулда бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлашдиско-диффузион усулнинг бир кўриниши ҳисобланади. Унинг диско-диффузион усулдан фарқи, диск ўрнига антибиотикларнинг максималдан минималгача амайиб борувчиконцентрация градиентишимдирилган махсус лентали қоғоздан иборат. Бу усулда ҳам антибиотик шимдирилган лентали қоғозлар стандарт агарга “газон” усулида экилган текширилаётга культура юзасига қўйилади. Инкубация қилингандан кейин антибиотик шимдирилган лентали қоғоз атрофида эллиписсимон ўсиши тўхтаган зона ҳосил бўлади, яъни унинг размери антибиотикни кам дозаси томонга қараб торайиб боради ва ўсиш зонаси бошланган жойдан олдинги кўрсаткич, антибиотикни МИК ҳисобланади.

Микроорганизмларнинг антибиотикларга сезгирлигини автоматлаштирилган система орқали аниқлаш (6.5-расм). 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 -2 қурилмасида 4-6 соат ичида жавоб олиш мумкин. Бу усулларнинг устунлиги шундан иборатки кўп профилли стационар клиникаларда бактериологик анализларнинг миқдори кўп бўлганлиги сабабли уларнинг антибиотикларга сезгирлиги автоматик анализаторлар ёрдамида 4-8 соатда аниқлаб берилиши, даволашда муҳим ижобий хусусиятга эга. Микробиологик амалиётда охирги йилларда ажратиб олинган бактерия, замбуруғларнинг идентификация қилишда ва уларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлашда автоматик микробиологик анализатор VITEK 2 compact Biomerieux компаниия маҳсулоти (Франция) кенг қўлланилмоқда.

6.5-расм. Бактериологик анализатор VITEK 2.

Қўлланиш доираси:

- Бактерия ва замбуруғларни идентификация қилиш;
- Клиник жиҳатдан муҳим бўлган бактерияларни антибиотикларга сегирлигини аниқлаш.

Текшириш ҳажми:

- VITEK 2 compact 30: бир маротаба қўлланилганда максимал 30 тест;

- VITEK 2 compact 60: бир маротаба қўлланилганда максимал 60 тест;
- Турбидиметрия: антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш;
- Колориметрия: бактерияларни идентификация қилиш.

Пластик картаси 64 та чуқурчадан иборат.

Бу анализаторда қуйидаги микроорганизмларни идентификация ва уларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлайди:

- Грамманфий таёқчалар.
- Граммусбат кокклар
- Ачитқисимон забуруғлар
- Нейссерия, гемофиллар ва бошқа инжиқбактериялар
- Анаэроблар ва коринебактериялар.

Бактериологик анализатор VITEK 2 ни ишлатиш икки босқичда олиб борилади Биринчи босқичда ишнинг олиб борилиши қўлда қилинади:

- Микроорганизмларнинг соф культураси ажратиб олинади. Улардан идентификация учун инокуляция суспензияси **автоматик денситометр DENSICHEK ёрдамида** тайёрланади (комплект таркибига киради);
- Микроорганизмларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш учун суспензия тайёрлашда комплект таркибига кирувчи **автоматик пипетоклардан фойдаланилади;**
- Микроб суспензияси қуйилган махсус пробиркалар анализаторнинг кассетасига жойлаштирилади;
- Кассеталар вакуум камерасига жойлаштирилади карталарни тўлдириш учун;
- Кассеталар камерага қўйилгандан сўнг инкубация-ўқиш

Автоматик бажарилиши:

- Аппарат карталарини суспензия билан тўлдириш;
- Карталарни регистрация позицияси ва унинг штрих-кодини ўқилиши;
- Карталарни кавшарлаш (герметизация);
- Инкубация ва ўқилиши;
- Анализ қилиш тугагандан сўнг прибордан карта олиниб чиқинди ташланадиган корзинкага ташланади.

7 БОБ. МИКРООРГАНИЗМЛАР ЭКОЛОГИЯСИ. ТУПРОҚ, СУВ,ҲАВО МИКРОФЛОРАСИ. АТРОФ МУҲИТ ОБЪЕКТЛАРИНИ САНИТАР - БАКТЕРИОЛОГИЯ ЖИҲАТДАН БАҲОЛАШ

7.1.Микроорганизмлар экологияси.

Микроорганизмларнинг ўзаро ва ташқи муҳит билан алоқаларини, муносабатларини ўрганувчи фан ҳисобланади. Тиббиёт микробиологиясини ўрганиш оъбекти бўлиб микроорганизм билан инсон организми ўртасидаги комплекс муносабатлар ҳисобланади.

Микроорганизмларнинг табиатда тарқалганлиги.Микроорганизмлартабиатдаги ҳамма (сув, ҳаво, тупроқ) муҳитлард учрайди. Уларнинг бунчаликкенг тарқалишига асосий сабаб уларнинг озиқланиш механизмларининг турли кўринишда бўлишидир. Микроорганизмлар табиатдаги ташқи муҳитомилларига 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 узоқмасофаларга тез тарқалишидир.

Микроорганизмлар маълум яшаш минтақаларда биоценозни (юнон. bios- ҳаёт, + koinos- бирга яшаш) шакллантиради. 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. Табиий биоценозларда (тупроқ, сув, ҳаво) микроорганизмларнинг яшаши ташқи муҳит факторларини таъсирига боғлиқ бўлиб, агар ташқи факторлар уларнинг яшашига ижобий таъсир қилиши ёки факторларнинг таъсирисалбий томонга ўзгарса, бу биоценоздаги микробларнинг яшаши, кўпайиши тўхтаб қолиши мумкин.

Биоценоздаги микроорганизмларнинг ўзаро муносабатларинитиплари. Микроорганизмлар бир-бирлари билан ўта кучли рақобатда яшайди. Микроорганизмларнинг биоценозда ўзаро яшаш муносабатлари симбиозкўринишларда бўлиши мумкин.

Симбиоз (юнон. symbiosis- бирга яшамоқ) микроорганизмларнинг узоқйиллар маълум муҳитларда бирга ҳаёт кечириши бўлиб, хўжайин

ҳужайрасидан ташқарида яшаса эктосимбиоз: ҳужайра ичида ҳаёт кечирса эндосимбиоз деб аталади. Эктосимбиозни типик вакилларига ичак бактериялари (*E. coli, Bacteroides* ва бошқ.)мисол бўла олади. Эндосимбиоз вакилларига эса плазмидлар, провируслар, профаглар киради. Табийи шароитда симбиозни бир қанча формалари учрайди.

Мутализм – (лот. mutuus, ўзаро) симбиозда яшовчи микроорганизмларўзаро фойда келтириб яшашлари мумкин. Масалан ичакни нормалмикрофлораси, одам учун фойда кельтиради (модалар алмашувинида,витаминлар синтезларида ва бош.), шу билан бир қаторда бу микроорганизмларни доимо муҳитнинг ноқулай шароитларидан (қурибқолишдан, экстремал температурадан) ҳимояланиб ва озиқ муҳитлар етарлибўлишини таъминлаб туради.

Комменсализим – симбиоз формаси бўлиб, муҳитда яшовчимикроорганизмлардан бири фойда кўради, лекин иккинчи гуруҳ бактерияларгазиён 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 зиёнетказиши (юнон. para, олдида,+ sitos,овқат) тушунилади. Паразит бактериялархўжайинорганизмига кириб касаллик келтириб чиқариши мумкин, шунингучун буларни патоген микроорганизмлар ҳам деб аталади. Паразитларниҳужайра ичида яшовчи (вируслар, хломидиялар, риккетсиялар) ва ҳужайраданташқарида яшовчи (кўпчилик бактерия, замбуруғлар) формалари бўлишимумкин. Баъзи бактериялар яшаш шароитига қараб паразит типида ёкисапрофит бўлиб яшаши кузатилади. Бундай бактерияларни **факультативпаразитлар** ҳам деб аталади. Агар бактериялар ўзлари учун кераклиметаболитларни бошқа организмлар ҳисобига тўлиқ ўзлаштиришса бундаймикроорганизмларни **облигат паразитлар** деб юритилади**.**

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

Тупроқ микрофлораси. Тупроқ микроорганизмлар учун асосий табиий яшаш муҳити ҳисобланиб, табиатнинг шаклланишида, софланишида вамоддалар алмашинувида (азот,углерод, олтингугурт, темир) актив қатнашади. Тупроқ микрофлорасининг таркиби тупроқнинг турига, ишлов берилишига,географик зонасига, намлик, тепературa ва органик моддалар билан қанчаликифлосланишларига ва бошқа хусусияларга боғлиқ.. Тупроқнинг микрофлорасижуда ҳам кўп ва турли бактериялар вакиллари бўлиши мумкин.Тупроқнингаутохтон микробиоценозига қуйидаги бактериялар киради: микобактериялар,псевдомонандлар, спораҳосилқилувчи, азотбириктирувчи, бактериялар,актиномицетлар, замбуруғлар. Бу микроорганизмлар ҳар доим ўсимликлар вабир –бирлари билан симбиоз кўринишларида яшайди.

Тупроқнинг аллохтон микрофлорасига асосан одам ва ҳайвонларнингнормал ва патоген микрофлораси кириши мумкин, лекин бумикроорганизмлар тупроқда кўпаймайди ва маълум давиргача сақланибтуриши мумкинк. Шунинг учун тупроқнинг юқумли касалликни манбасибўлишини эътироф этган ҳолда, патоген бактерияларни тупроқда қанчавақтгача сақланишини билиш ва тупроқни эпидемиологик нуқтаи назарданхавфсиз эканлигини аниқлашда муҳим практик аҳамиятга эга.

Жадвал 7,1.

Тупроқнинг патоген микроорганизмлари

Тупроқда доимий яшайдиган (резидент) микроблар	Одам ва ҳайвон чиқиндилари билан тупроққа тушадиган микроблар	
	Узоқ вақт сақланадиган микроблар	Қисқа вақтсақланадиган микроблар
Clostridium botuinum, тери ости микозини кетириб чиқарувчи Actinomyces тури ва баъзи бир микотоксикозлар	Bacillus anthracis, Clostridium tetani, Clostridium - анаэроб Юқумли касаллик (газли гангрена) қўзғатувчилари	Salmonella, Shigella, Vibrio, Brucella, Francisella, Mycobacterium, Leptospira, Pseudomonas, энтеровируслар, яшурвируси

Сув микрофлораси. Сув ҳам микроорганизмларнинг табиий яшашмуҳитларидан бири ҳисобланади. Сувнинг микрофлорасининг таркиби шўрденгиз, океан сувлари ва чучук сув ҳавзаларига боғлиқ. Сувда микроорганизмларнинг таксономик группаларининг қарийб ҳамма вакиллариучрайди. Сув микрофлоралари мажмуасини микроблар планктони дебюритилади.

Сувнинг аутохтон микрофлорасига сувда доимо яшовчи микроблармажмуаси киради ва кўроқ тупроқ микрофлорасига ўхшаб кетади, чунки сув ватупроқ ўртасида доимо табиий мунособатлар рўй бериб туради (қор, ёмғир).

Сувнинг махсус микрофлорасига киради: *Micrococcus candicanis, M. roseus,Sarcina lutea, Bacteriumaquatilis communis, Pseudomonas, Leptospira, Proteus*анаэроблардан *Clostridium, Chromobacterium violaceum.*Аллохтон флорасиниэса асосан сувга тасодифан ташқи муҳитдан тушган микроорганизмларйиғиндиси ташкил қилади ва улар сувда нисбатан узоқ сақланиб турмайди.

Очиқ сув ҳавзаларининг микрофлораси миқдорий кўрсаткичлари доимўзгариб туради, унинг ўзгариб туриши асосан сув ҳавзасини типига, унингифлосланиш даражасига, метерологик ҳолатга ва йил фаслларига боғлиқбўлади.

Сувнинг бактериялар билан ифлосланиши асосан унга ишлатилганчиқинди сувларни софланмасдан тушиши оқибатида рўй беради. Сувга буифлос сувлар билан одам ва ҳайвонларнинг нормал микрофлорасидан ташқаришартли патогенлар ва патоген микроорганизмлар ҳам тушиши (ичак юқумли касаллик қўзғатувчилари, туляремия, иерсиниозлар, лептоспирозлар, вирусларполиомиелит, гепатит А ва бош.) мумкин. Бундан ташқари одамлар ваҳайвонларнинг чўмилиши оқибатида ҳам сувга аллохтон микроорганизмлартушади. Сув патоген бактерияларнинг кўпайиши учун ноқулай муҳитҳисобланади. Сув табиий шароитда доимо тозаланиб туради, чунки сувнинг аутохтон микрофлораси кучли антогонистик хусусиятга эга, шу биланбиргаликда бу микрофлоралар сувга тушган органик модаларни тез ўзлаштириболишади ва бу ўз навбатида сувни одам ва ҳайвонлар чиқиндиларидансофланишига олиб келади. Лекин сув биоценозида микроорганизмларнингмиқдорий ва сифат кўрсаткичлари бир хил кўринишда бўлмайди ва турлифакторлар таъсирида доимо ўзгариб туради, яъний сафроблик ҳолатига боғлиқдир. Сафроблик (сафроность) термини сув ҳавзасидаги умумий хусусиятлар ва шулар билан бирга сувдаги

микроблар таркиби, миқдори васувдаги маълум органик, ноорганик моддаларнинг концентрациясинибелгилайди. Сувнинг доимо тозаланиб туриши оқибатида сувнинг биоцеозиўзгариб туради. Ифлосланиш даражасига қараб сув ҳавзаларида полисафроб,мезосафроб, олигосафроб зоналар қабул қилинган.

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

Мезосафроб зонада эса оксидланиш ва нитрификацияланиш жараёнлариустун туради, сув софланиб боради 1 мл сувда 100 минг атрофида микробларбўлиши мумкин.

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

Патоген бактериялар полисафроб зонада жуда кўп учрайди, секин астаўлиб, софланиб мезосафроб зонада камроқ ва олгасафроб зонада эса деярлиучрамайди.

Ҳаво микрофлораси. Сув ва тупроқдан фарқлироқ, ҳавода микроблар фақат ҳаёт қобилиятинивақтинча сақлаб туради, сўнгра нам етишмаслиги, қуёш нурларининг таъсири,ҳарорат ўзгариши, озиқ моддалар йўқлиги каби ноқулай факторлар таъсиридаўлиб кетади. Микробларни ҳавода сақланиб туришини маълум даражадамуоллақ туровчи сув, чанг зарралари таминлаб туради. Уй, турар жой хоналариҳаво микрофлораси таркиби ва миқдори жиҳатдан атмосфера флорасидантубдан фарқ қилади. Бактериялар ва уларнинг патоген формалари уй, турар жойхоналарида учраши бирмунча атмосфера ҳаво микрофлорасидан кўп учрайди,чунки бу муҳитларга касал одам ва ҳайвонлар, бактерия ташиб юрувчилардантушиши мумкин. Ҳаво микрофлораси ҳам шартли доимо (резидент) топилувчи (*Micrococcusroseus, M. flavus, M. candicanis, Sarcina . flava, S. alba, Bacillus subtilis,Actinomyces* ва *Penicllium, Aspergillus, Mucor* замбуруғлар ва спорадик доимотопилмайдиган (сув ва чанг зарралари билан тушувчи) микроорганизмларгабўлинади.

Патоген микроорганизмлар оғиз бўшлиғи ёки нафас йўлларикасалланганда атрофдаги ҳавога патоген микроорганизмлар: стафилококк, стрептококк, бўғма, кўкйўтал, сил қўзғатувчилари, вируслардан грипп,қизамиқ қўзғатувчилари тарқалади. Бу микроорганизмлар ҳавода аэрозолтаркибида учрайди. Аэрозол- бу коллоид система бўлиб, асосий таркиби ҳаво,суюқлик ёки қаттиқ

моддалар, зарраларидан иборат бўлади. Аэрозол ўлчами 10дан 2000 нм тенг бўлиши мумкин. Одам аксирганда 40 000 дан ортиқаэрозоллар ҳосил бўлади. Аэрозоллар ўлчами,электрик заряди, ҳаводагиҳаракат тезлиги бўйича томчи, чангли ва томчи ядроли фазаларга бўлинади. Бизучун энг муҳими томчи ядроли аэрозол бўлиб унинг ўлчами 100 нм атрофидабўлади, аэрозолни бу фазаси узоқ вақт ҳавода сақланиши таркибида маълуммиқдорда намлик бўлганлиги учун чидамли аэродисперс системани ҳаводашакллантиради. Улардаги намлик бактерияларни ҳавода узоқ вақтсақланишини таъминлайди. Масалан, ядроли аэрозолда бўғма қўзғатувчиси 1суткагача, гемолитик стрептококк 2 кунгача, сил қўзғатувчиси 18 кунгача ҳаётфаолиятини сақлаб қолиши мумкин. Бу эса одатда ёпиқ биноларда юқумликасалликлар қўзғатувчиларини ҳаво-томчи йўли билан тарқалиши учун қулайшароит яратилади, чунки ҳона ҳавосида патоген бактериялар миқдори кўпбўлиши мумкин.

7.2. Атроф муҳит объектларини санитария-бактериология жиҳатдан баҳолаш

Аторф - муҳитдаги турли объектлар: сув, тупроқ, ҳаво ва озиқ-овқатмаҳсулотларининг санитария-гигиена ҳолатини баҳолаш учун санитария-бактериологик текширувлар ўтказилади. Текширув ўтказишдан мақсадкўрсатилган объектларнинг эпидемиология жиҳатидан хавфсиз эканлигинианиқлаш. Улардан патоген микроорганизмларни ажратиб олиш, эпидемиологикнуқтаи назардан хавфли эканлигини кўрсатади. Бу микроорганизмларобъектларда кам миқдорда бўлиб, улар ҳаво, сув ва тупроқда кўпаймайди,уларни тўғридан-тўғри ажратиб олиш ҳам жуда қийин. Шу боисдан, санитария-микробиология амалиётида ташқи муҳитнинг патоген микроблар биланифлосланиш эҳтимолини билвосита кўрсаткичлар- санитария-кўрсаткичмикроорганизмларини топилиши асосида аниқланади.

Объектнинг микроблар билан зарарланганлигини умумий микроблар сони (УМС) бўйича аниқлаш мумкин. Яъни, текширилаётган объектларнинг маълумҳажми ёки массасидаги (1 мл сувда, 1 г тупроқда, 1 м3 ҳавода)микроорганизмнинг умумий сони аниқланади.Тупроқ ва сувдаги мезофил аэроб ва факультатив бактерияларнинг умумий миқдори бўлиб, агарли муҳитда 37º С ва 24 соатда 2 маротаба катталаштирилганда кўзга кўринувчи колониялар ҳосилқ илиши Санитария кўрсаткичли бактерияларнинг борлиги иккита кўрсаткич - (титр ва индекс) орқали баҳоланади. Битта санитар кўрсаткич бактерияситопилган сув ва тупроқнинг энг кам миқдорига

титр ва 1 литр суюқликда;. 1 гтупроқда ёки зич моддада, 1 м^3 ҳавода топилган санитария-кўрсаткичлибактериялар сонига — **индекс** дейилади.

Санитария-кўрсаткичли бактерияларга одам ва ҳайвон организмидагидоимий микрофлоранинг вакиллари киради. Улар ичак ёки нафас йўлларидаяшайди. Улар қуйидаги хусусиятларга эга:

1) микроорганизмлар доимий равишда одам ва ҳайвонлар организмидаяшаши ва ташқи муҳитга , кўп миқдорда нажас ёки нафас йўллариданшилимшиқ томчилар билан ажралиши;

2) микроблар ташқи муҳитда кўпая олмаслиги (озиқ овқатларданташқари) ёки унинг кўпайиши жуда қисқа бўлиши;

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

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

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

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

Келтирилган хусусиятлар бир қатор бактерияларга хос бўлиб, атроф-муҳитдаги турли объектлар учун санитария-кўрсаткич бактериялар деб қабулқилинган (7.2-жадвал).

7.2.-жадвал

Ташқи муҳитнинг хилма-хил объектларида аниқланадиган санитария– кўрсаткич микроблари

Текширилаётган объект	Ифлосланиш характери	Санитар кўрсаткич бактериялар
Сув	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар (E. coli, Citrobacterfreundii, Enterobacteraerogenes)Str. fecalis.
Тупроқ	Нажасбилан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар (E. coli, Citrobacterfreundii, Enterobacteraerogenes)Str.

		fecalis, Clostridiumperfringens
	Чирийдиган ташландиқлар	Термофилбактериялар, Proteus Vulgaris
Озиқ-овқат маҳсулотлари	Нажасбилан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар, Str. fecalis, Proteus vulgaris
	Оғиз ажралмаларидан	Staph. aureus, St. pyogenis
Кундалик фойдаланиладиган предметлар ва рўзғор буюмлари	Нажас билан	Ичак таёқчаси гуруҳидаги бактериялар, Str. fecalis, Proteus vulgaris
	Оғиз ажралмаларидан	Staph. aureus, St. pyogenis
Ҳаво	Оғиз ажралмаларидан	Staph. aureus, St. pyogenis

Ичак таёқчаси 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 – кўрсаткичмикроблари нисбатан 3 та гуруҳга бўлинади.

А. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ қуйидаги талабга жавоб бериши; улар умумиймезофил аэроб ва факультатив анэроб бактериялар бўлиб, озиқ муҳитлардалактоза ва глюкозани ёки фақат глюкозани 37ºС кислота ва газ ҳосил қилибпарчалаши ва окисидаза активлигига эга бўлмаслиги керак. Бу ИТГБ га *E. coli,Citrobacter, Enterobacter* лар киради ва буларни колиформ бактериялар (КБ) дебюритилади. СКБ га бундай талаб табиатан “тоза” бўлган (сув) ёки термикишлов берилгандан кейинтоза бўлган объектларга қўйилади. Бундаймаҳсулотларда ҳеч қандай ИТГА бўлмаслиги шарт. Бундай маҳсулотларгаичимлик сувлари (артезиан, хлорланган водопровод сувлари, дистилланган сув),термик ишлов берилган озиқ-овқат маҳсулотлари (колбаса, котлетлар, балиқ вабош.), сут ва сут маҳсулотлари ва дезинфекция сифатини текшириш учун олинган (смывы) ювиндиларда. Ҳамма текшириш, экиш усуллари билан 37ºС олиб борилади.

Б. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ бактерияларни аниқланиши ташқи муҳитнивақти маълум бўлмаган давирда нажас билан ифлосланганлигини билдиради.

Булар ҳам лактоза ва глюкозани ёки фақат лактозани 43-44, 5º С кислота ва газҳосил қилиб парчалаши ва окисидаза активлигига эга бўлмаслиги, яъни бубактериялар юқори температурада ҳам глюкозани кислота ва газгача парчалашхусусиятини йўқотмаслигига асосланган, термотолерант колиформ бактериялар (ТКБ). Бу ИТГБ га *E. coli, Citrobacter, Enterobacter* лар киради. Бундай талаб ИТГБ ташқи муҳит объектларини ифлосланиш эҳтимолидан сақлаб бўлмасликҳолатларида қўйилади. Бундай объектларга киради; сув (очиқ ҳавзалардаги,чиқинди сувлар) тупроқ ва термик ишлов берилгандан кейин ҳам ифлосланишэҳтимоли юқори бўлган озиқ-овқатлар. Ҳамма текшириш, экиш усуллари 43-44,5ºС олиб борилади.

В. Бу гуруҳга кирувчи ИТГБ ни аниқланиши объектларни янги (яқинда)нажас билан ифлосланганлигини билдиради. Бу гуруҳ ИТГБ нинг, олдингигуруҳлардан фарқи E. coli лактозани 43-44,5º С да кислота ва газ ҳосил қилибпарчалайди. Шундай қилиб СКБ ҳисобланади:

1. ИТГБ лактоза ва глюкозани кислота ва газ ҳосил қилиб 37º С дапарчаласа.

2. Колиформ бактериялари (ИТГБ) ҳисобланади, қачонки уларлактоза ваглюкозани кислота ва газ ҳосил қилиб 37ºС да 24 соатда парчаласа.

3. Нажас термотолерант колиформ бактериялари (ИТГБ) ҳисобланади,фақат лактозани кислота ва газ ҳосил қилиб 43-44,5ºС да парчаласа.

Энтерококклар –энтерококкларнинг ҳамма турлари ва вариантларисанитар кўрсаткич хусусиятни намоён қилади ва бир қатор СКБ талабларигажавоб беради:

А. Энтерококлар ичакнинг доимий микрофлораси ҳисобланади, улар ичактаёқчаси миқдоридан кам бўлса ҳам.

Б. Энтерококклар ташқи муҳитда кўпая олмайди.

В. Энтерококклар ташқи муҳитда ўз хусусиятларини ўзгартирмайди ваенгил ажратиб олиш мумкин.

Г. Ташқи муҳитларда энтерококкларни аналоглари йўқ

Д. Энтерококклар ичак таёқчасига нисбатан ташқи муҳитда тезроқ ўлади,шунинг учун уларни аниқлаш, ташқи муҳит объектларини янги нажас биланифлосланганлигидан дарак беради.

Е. Энтерококкларнинг энг асосий хусусиятларидан бири, уларнинг ташқимуҳит омилларига чидамлиги бўлиб, шу асосда уларниг дифференциацияси

Шерман тестлари асосида қилинади:

1. Энтерококклар қиздиришга чидамли, 60º С да 30 минутгача чидайди.

Шунинг учун уларни термик ишлов бериш ва пастеризацияни сифатинианиқлашда қўлланилади.

2. Энтерококклар юқори концентрацияли ош тузига (6,5-17%) чидамли.

Шунинг учун денгиз сувлари ва тузланган маҳсулотларни текширишдақўлланилади.

3. Энтерококклар pH муҳит катта (3 дан 12 гача) фарқланганда ҳам яшашгачидамли ҳисобланади. Шунинг учун нордон маҳсулотларни нажас биланифлосланганлигини аниқлашда ва шундай маҳсулотлар, чиқинди сувларишқорий бўлганда индикатор бактерия сифатида қўлланилади. Бундайшароитларда ичак таёқчаси ўзини типик хусусиятини йўқотиб қийин ажратиболинади.

4. Энтерококкларни идентификация қилиш учун юқори эликтив муҳитларишлаб чиқилган. Ҳозирги кунда сувни миқдорий энтерококкометрияси халқаростандарт бўйича ишлаб чиқилган бўлиб, қўшимча нажас билан ифлосланишкўрсаткичи бўлиб хизмат қилади.

5. Очиқ сув ҳавзаларини нажас билан ифлосланиш даражасини аниқлашданажас ичак таёқчасининг (НИТ), нажас энтерококкларига (НЭ) бўлганнисбатини аниқлаш таклиф қилинган. Агар коэффицент юқори бўлса, яъниНИТ/НЭ нисбати 11 ва ундан юқори, бунда сув ҳавзасига хлорланмаганчиқинди суви тушаётганлигини билдирса, коэффицент 1 ва ундан кам бўлсазарасизлантириш эффектив олиб борилаётганлигини кўрсатади.

Clostridium perfringens- ташқи муҳит объектларни ичак микрофлорасибилан ифлосланганлигини индикация қилишда кенг қўлланилади. 1925 йилдаУилсон ва Блэйр темир сульфитли муҳитни клостридияларни ажратиб олишдақўллашни таклиф қилишди. Бу муҳитда нажас клостридияларини ташқимуҳитда яшовчи клостридияларидан фарқлаш мумкин.Ичак клостридияларисульфитни тиклаш хусусиятига эга бўлиб улар кўпайганда муҳит қораяди,эркин шароитда яшовчи клостридияларда сульфит редуктаза йўқ, шунинг учунмуҳитни рангини ўзгартимайди. Лекин шуни айтиш жоизки муҳитни E. coli ҳамқорайтириши мумкин, шуни учун қўшимча микробларни

ўсишини тўхтатишмақсадида экилган экмалар 80ºС 15-20 минут сақланади. Тупроқдан *Cl.perfringens, Cl. sporogenes* ва бошқа клостридиялар топилса, у ҳолда тупроқнажас билан ифлосланганликка анча бўлганлигини кўрсатади. Бу эса уларнингяқин вақт ичида ёки узоқ давр мобайнида споралар ҳосил қилгани учун,атроф-муҳитда (хусусан, тупроқда) узоқ вақт яшашига имкон беради.

Иссиқни севувчи (термофил) бактерияларга турли-гуруҳдагибактерияларни (*Lactobacillus lactis, Str. thermophilus* ва бошқалар) киритишмумкин. 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 гўнгларда ва компостларда ушбубактериялар сонининг кескин кўпайиб кетиши тупроқнинг чирийдиганчиқиндилар бнлан 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 қолдиқларидаучрайди. Қандайдир озиқ-овқат маҳсулотларидан бундай бактерияларнингтопилиши, чириш жараёни бораётганлигидан дарак беради.

Гемолитик стрептококклар (*Str. pyogenes*), нажас стрептококки каби*Streptococceaceae* оиласига киради. Улар бурун-ҳалқум, томоқдаги вақтинчаликмикроорганизмлар бўлиб, оғиздаги суюқ томчилар орқали ташқарига тушади.Гемолитик стрептококкларнинг ташқи муҳитда яшаш вақти, нафас йўлидагиҳаво-томчи инфекциясининг бошқа қўзғатувчилари яшаш вақтидан деярлифарқ қилмайди. Гемолитик стрептококкларнинг уй ҳавосидан топилиши, унингтомоқ, бурун-ҳалқум, одам нафас олиш органларининг юқори қисмидаги ҳаво-томчи инфекциясининг қўзғатувчилари билан зарарланганлигини кўрсатади.

Staph. aureus томоқ, бурун-ҳалқум ҳамда одам терисида яшовчифакультатив бактерия ҳисобланади. Staph. aureus нинг уй ҳавоси ёки у ердагипредметлардан топилиши, уларни оғиздаги суюқлик томчилари биланзарарланганини билдиради.Бир вақтнинг ўзида тилла ранг стафилококк ва гемолитикстрептококкларнинг топилиши эса, ҳавонинг жуда ҳам ифлосланганлигидандалолат беради.

7.3.Тупроқни санитар-микробиологик текшириш

Тупроқни санитар-микробиологик текширишнинг асосий мақсади қуйидагича:

- янги қурилаётган турар жойлар, касалхоналар, санаториялар, болаларлагерлари, мактабгача ва мактаб бинолари, сув омборларининг тупроқ ҳолатигасанитар-микробиологик баҳо бериш;

- аҳоли яшаш пунктларини сув билан таминланиши, канализация вачиқиндиларни софлаш муаммоларини ечиш;

- тупроқ кимёвий моддалар билан ифлосланганда, унга санитар-микробиологик баҳо бериш;

- тупроқ биологик чиқиндилар билан ифлослангада ундаги табиий тозаланиш жараёнини текшириш;

- тупроқ орқали тарқаловчи юқумли касалликларга эпидемиологиктекширувлар ўтказиш.

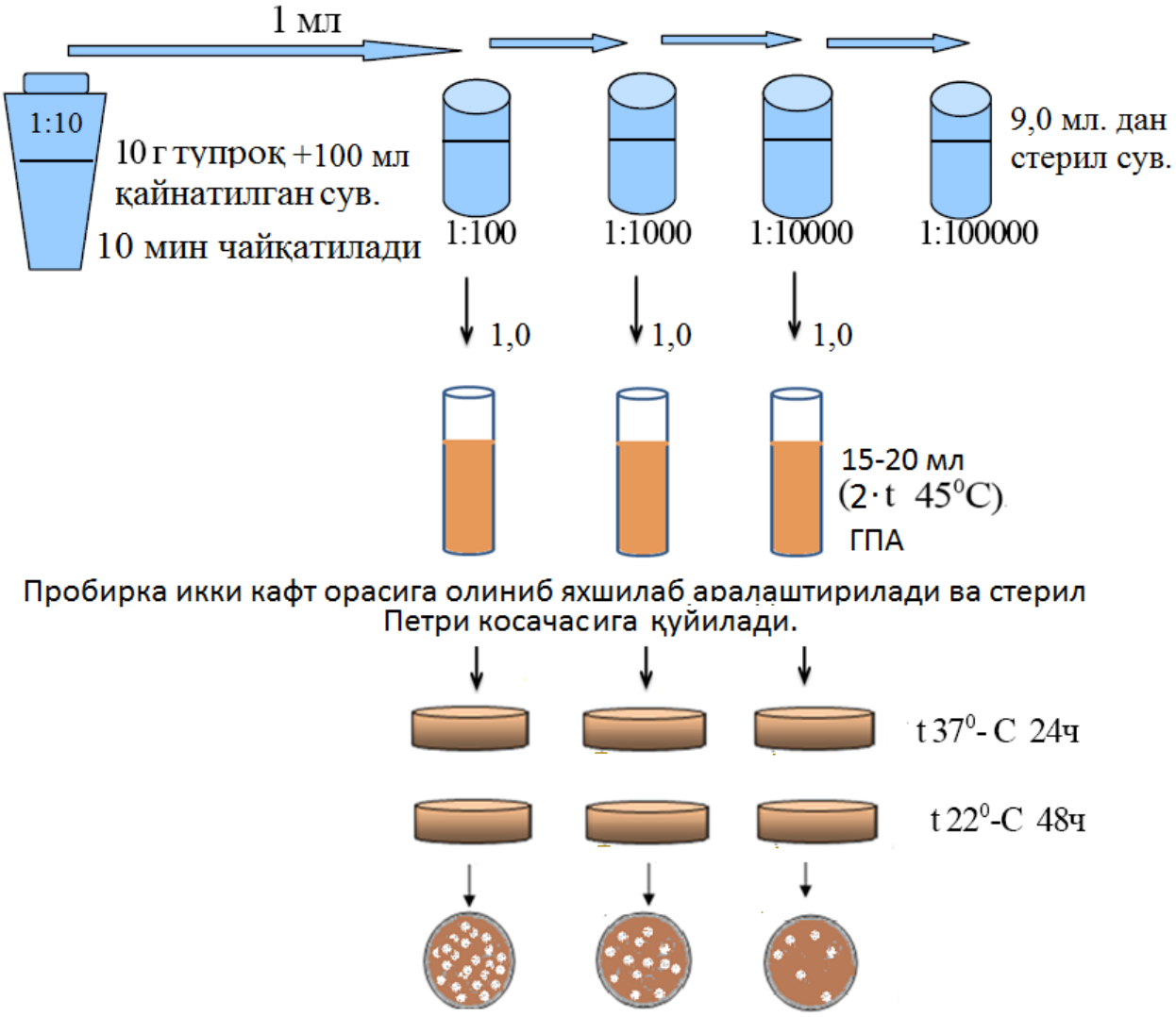
Кўпгина юқумли касалликларда ва уларни тарқалишида, юқишида тупроқмаълум ролни (сальмонелла, шигелла, патоген клостридиялар, куйдиргикасаллиги ва бош.) ўйнайди. Шунинг учун тупроқдаги бу касалликқўзғатувчилари аниқланади, идентификация қилинади ва тупроққаэпидемиологик жиҳатдан баҳо берилади.

Тупроқни санитар микробиологик текширув усуллари қўйилган мақсадбўйича олиб борилади ва қисқа ва тўлиқ текширувлар ўтказилади.

Тупроқ намунасини олиш. Санитар бактериологик текшириш учун тупроқнамунаси қўйилган мақсад асосида текширилаётган участкани маълум квадратларидан (5 х5 м. кам бўлмаслик керак) “конверт” усулида (4 та намуна диагонал бўйича ва 1 тамарказдан) олинади. Намуналар тупроқни 20-30 см. чуқурлиғидан 200 г, тупроқнибактериологик ифлосланганини аниқлаш учун эса 20 см чуқурлиғидан олинади. Олинганнамуналар махсус стерил идишларга солиниб лабораторияга жўнатилади. Тупроқнамуналари зарур шароит келиб чиққанда 24 соат музлаткичларда сақланишига рухсатберилади.

Тупроқни текшириш учун тайёрлаш. Бешта нуқтадан олинган тупроқ намуналаримахсус идишда аралаштирилиб ундан 10 -30 г тортиб олинади ва 1 : 10 нисбатдастерилланган водопровод суви билан тупроқ суспензияси тайёрланади (10 г тупроқ + 100 млсув). Бу асосий суспензиядан қўйилган мақсад асосида суюлтирилган (10-2, 10-3, 10-4, 10-5 ваҳ.к.) намуналар тайёрланилади. Тупроқни санитар-микробиологик баҳо беришда тупроқдагиУМС ва СКБ коли-титри ва перфрингенсни титри аниқланади.

Тупроқдаги умумий микроблар сонини топиш –охирги3 та суюлтирилан (44-расм)намунадан озиқ муҳитнинг юзасига 0,1 мл олиниб шпател билан (ГПА ёки сусло-агарга)экилади.



7.1-расм. Тупроқдаги УМС аниқлаш схемаси.

Экилган экма 48 соат термостатга (37^{0}С асосий бактериялар учун; 22^{0}С замбуруғ ва актиномицетлар учун) сақланиб, озиқ муҳитларда ўсиб чиққанколониялар сонига қараб 1 г тупроқдаги УМС топилади. Масалан 10^{-2}нисбатда суюлтирилганнамунадан экилган чашкада 31, 10^{-3} дан эса 16 ва 10^{-4} эса 6колония топилди,31 х 100 + 16 х 1000+6+10000

УМС = ---------- х 10 = 263667

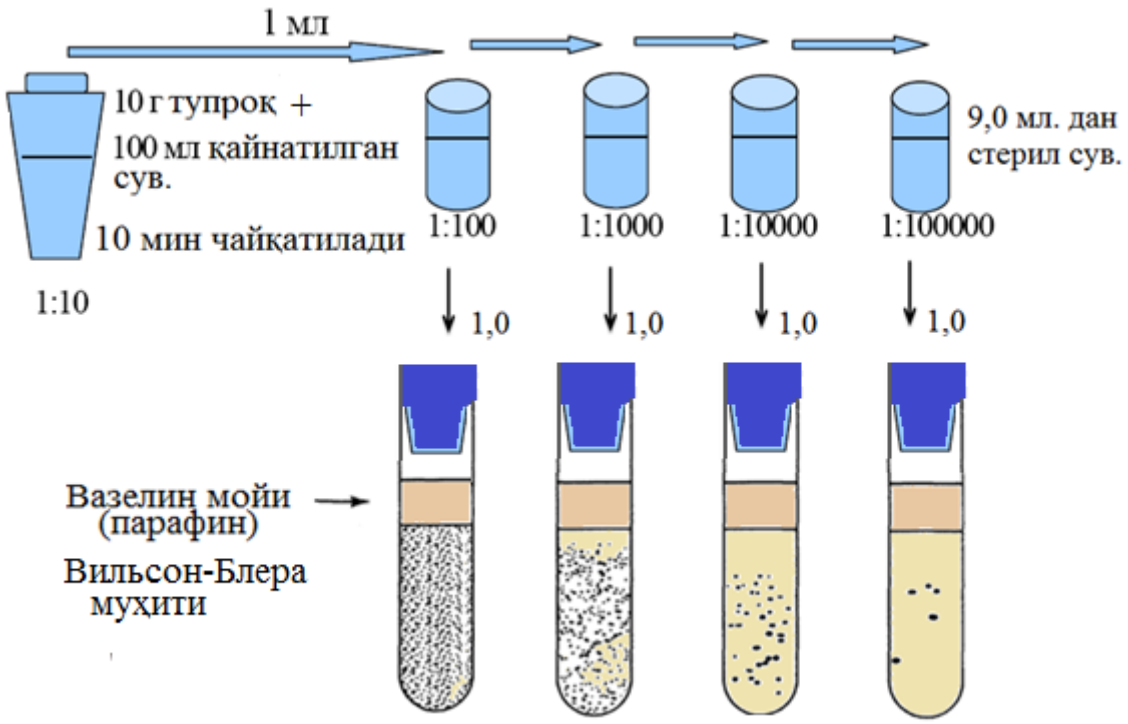
3

1гм тупроқдаги УМС 263667 тенг экан.Ҳисоблашда озиқ муҳитларда ўсган замбуруғлар, актиномицетлар ҳам ҳисобга олинади.

Тупроқни коли-титри ва перфрингенсни титрини аниқлаш. Тупроқни коли ёкиперфрингенс титри деб, битта ичак таёқчаси ёки перфрингенс топилган тупрқни энг каммиқдорига айтилади. Тупроқдаги ичак таёқчасини коли –титрини аниқлашда элективмуҳитлар ишлатилади. Бу муҳитлар таркиби қўшимча микробларни ўсишини тўхтатибқўйувчи ўт сафроси, генциан виолет тутади, лекин ичак таёқчасини ўсишига тўсқинликқилмайди. Энг кўп қўлланиладиган суюқ Кисслер муҳити ҳисобланади, унинг таркибидаюқорида айтилган компанентлардан ташқари E. coli бижғитиб газ ҳосил қилиши учун пептонва лактоза тутади. Газ ҳосил бўлганини аниқлаш учун муҳитга бир томони паятланган шишапўкак солиб қўйилади, ҳосил бўлган газ пўкакка йиғилади. Тупроқ суспензиясинингсуюлтирилганидан 1 мл дан Кесслер муҳити бўлган пробиркаларга экилади ва термостатда43°C да 48 соат давомида сақланади. 48 соатдан кейин Кесслер муҳити кўздан кечирилади вамусбат реакцияли пробиркалар (E. coli муҳитда газ ҳосил қилиб, лойқатиб ўсади) ажратиболинади ва Эндо муҳитига мусбат намуналардан қайта экилади ва термостатга 37° C 24соатга қўйилади. Муҳитда тўқ қизил метал сингари товланиб турган колониялар ҳосил бўлсава суртма тайёрланиб бўяб, кўрилганда грам манфий таёқчалар топилса E. coli деб хулосақилинади. Кейинчалик сувнинг коли-титрини аниқлашда қўлланиладиганн схема бўйичаанализ ўтказилади ва тупроқни коли титри топилади.

Тупроқ суспензиясидан перфрингенс-титрини топиш учун, турли даражадасуюлтирилган суспензиядан 1 мл (спорсиз бактериялар ўсмаслиги учун суюлтирилгантупроқ суспензияси 80°C да 10-15 минут қиздирилади) дан ёғсиз, стерил сут ёки тайёрлангантемир сульфитли Вильсон-Блер муҳит қуйилган пробиркаларга ex tempore (тезликда)экилади.Бу экмалар 43°C да термостатда 24—48 соат давомида сақланади, сўнг сутнинг чиришиёки Вильсон-Блер муҳитининг агарли устунчасида ҳосил бўлган Cl. perfringens қораколонияларга кўра хулоса чиқарилади. Колониялардан суртмалар тайёрланиб, Грам усулибилан бўялади. Микроскоп остида

кўрилгандан сўпг, перфрингенс титри аниқланади.



7.2-расм. Тупроқдаги перфрингенс-титрини аниқлаш схемаси.

Муҳит таркиби. Кесслер муҳити 1% пептонли сув, 5% ўт сафро, 0,25% лактоза ваграммусбат бактерияларнинг ўсишини тўхтатиш учун генциан бинафшадан иборат.

Темир сульфитли Вильсон-Блер муҳити 3 % озиқ агар, 1%глюкоза, 2% натрий сульфит, 0,08% темир хлориддан қўшилган.

Термофил (иссиқни севувчи) бактерияларни аниқлаш учун суюлтирилган тупроқсуспензиясидан 1 мл Петри косачасига томизилади, устидан эритилган ва совутилган озиқагар қуйилади. Экмалар 60°С да термостатда 1 кун сақланади. Сўнг ҳосил бўлган колонияларсаналиб, 1 г тупроқдаги бактерия сони аниқланади.

Тупроқниинг санитария-микробиологик ҳолати комплекс кўрсаткичлар бўйича унингнажас билан ифлосланган даражасига қараб аниқланади (**Жадвал7,3**).

Жадвал7,3

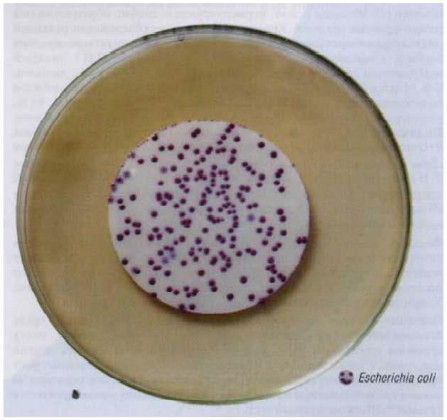
Тупроқнинг СКБ бўйича тозалик кўрсаткичлари

Тупроқ категорияси	Ичак таёқча титри	Нитрификация-ловчи бактериялар титри	Cl. perfringens титри	Термофил бактериялар миқдори (1,0 г)
Тоза	1,0 >	0,1 >	0,01 >	100-1000
Ифлосланган	0,9-0,01	0,1-0,001	0,009-0,0001	1001-100 000
Ўта ифлосланган	0,009 <	0,0001 <	0,00009 <	10 001-4 000 000

7.4.Сувни санитар-микробиологик текшириш.

Сувнинг умумий микроблар сонинианиқлаш. Усулни моҳияти текширилаётган сувни иккитадан кам бўлмаган намунаси 1,0 млолиниб, озиқ муҳитга экиб, ўсган колонияларни санаб ҳисоблашга асосланган. Тадқиқотусулини бажарилиши – текширилаётган сув яхшилаб аралаштирилиб 1,0 мл дан олингансувлар стерилланган Петри косачасига (диаметри 90-100 мм) қуйилади, устига 10-12 мл эритилган, 45-49°С гача совутилган озиқ агар қуйилади ва яхшилаб сув биланаралаштирилади. Сўнгра экилган материаллар 37°С да термостатда 24 соатгақўйилади. Сўнг ҳар иккала косачадаги агарюзасида ва ичида ўсиб чиққан колонияларсони саналади, қўшилиб иккига бўлиниб,сувнинг 1 мл даги умумий микроблар сонианиқланади (ҳисоблаб топиш тупроқнинг УМС аниқлашга ўхшаш, фақат намуна 1.0 мл лингани учун 10 кўпайтирилмайди). Натижа 1 мл сувда топилганбактерияларни колония ҳосил қилувчибирлигида (КҲҚБ) берилади.

Умумий ва термотолерант колиформ бактерияларни мембра фильтрлаш усулидааниқлаш. Усулни моҳияти текширилаётган сувни махсус мембрана фильтридан ўтказилиб,лактоза тутувчи дифференциал муҳитда ўстириб,



Расм 44 . Текширилаётга сув наъмунаси фильтирланган, мембрана фильтрда ўсган ичак таёқчаси колониялари

культурал ва биохимик хусусиятларибўйича идентификация қилишга асосланган. Тадқиқот усулини бажарилиши. 3-номерлимембранали фильтр Бунзеп колбасига ўрнатилган Зейтц воронкасига жойлаштирилиб, сўнгравакуум-насос билан бирлаштирилади Мембранали фильтрлар олдиндан дистилланган сувдақайнатилиб, стерилланади.Ичимлик сувлари учун намуна 300 -500 мл, очиқ сув ҳавзасиданолинган соф сув 5, 10, 40, 100, 150 мл ҳажмда фильтрланади (расм 40). Агар сув ниҳоятда ифлослапгаи бўлса, фильтрлашдан олдин стерил дистилланган сув билан суюлтирилади.Ичимлик сувни текширишда 3 объём 100 мл дан олинади, ҳар бир объём сув фильтрданўтказилади. Фильтрлар Петри косачасидаги Эндо муҳити юзасига қўйилади ва 37°С датермостатда 24 соат сақланади. Агар фильтр юсасида 24 соат мабойнида колониялар ўсмасаёки колиформ бактерияларга хос бўлмаган моғар замбуруғлари колонияси топилса, умумий колиформ бактерия (УКБ) ва термотолерант колиформ бактерия (ТКБ) топилмади дебнатижа берилади.

Агар мембрана фильтрда типик алоҳида ётган лактозамусбат, қизил металл сингариялтироқ, ёки рангсиз колониялар топилса, ҳар иккала тип колониялар алоҳида саналибуларнинг 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 типикалоҳида колониялардан 10 тадан ошмаган ҳолда оксидаза активлиги, Грам усулида бўялишива лактозани кисота газ ҳосил қилиб ферментлаши аниқланади. Оксидаза тестини қўйишдаоксидаза дискларидан фойдаланилади (диметил-п-фенилендиамин шимдирилган фильтрқоғози). Мембрана фильтрларда колониялар қалин ўсган бўлса, оксидаза диски тўғридантўғри фильтр устидаги колонияларга дистилланган сув билан намлаб қўйилади, кўк ранггакирса реакция мусбат бўлади. Агар фильтр юзасидаги ҳамма колониялар оксидазамусбатбўлса текшириш тўхтатилади ва намунадан УКБ ва ТКБ топилмади деб жавоб берилади.Агар колониялар оксидаза манфий бўлса текширилаётган колониялар қайта экилиб алоҳидаколониялар олинади ва уларни УКБ ва ТКБ мансублиги ўрганилади. Колонияларни УКБмансублиги грамманфий бактериялар колонияси оксидаза манфий ва лактозани кислота, газҳосил қилиб 37°С да ферментация қилса, уларни УКБ мансублиги тасдиқланади. ТКБмансублиги эса шу тестларни 44°С да аниқланади. Бошқа ҳолларда агар намуналардан УКБ ва ТКБ топилмаса текширилган 100

мл сувда КҲҚБ УКБ ва 100 мл сувда ва КҲҚБ ТКБ топилмади деб жавоб берилади.

Агар мембрана фильтрда ўсган колониялар ҳаммаси идентификация қилинган бўлса,ҳамма фильтрдаги КҲҚБ қуйидаги формула орқали ҳисоблаб чиқилади.

$$X = \frac{A \cdot 100}{V}$$

X — 100 мл сувда топилган колониялар; А – фильтрда саналган колониялар суммаси;

V — фильтрдан ўтказилган сув объёми.

Мисол:100 мл дан фильтрланган 3 та экилган фильтрни битасида 1 та колония ўсибчиқди, қолган 2 та фильтрда колониялар ўсмади. Бу ҳолда умумий ва ТКБ миқдориқуйидагича бўлади.

$$X = \frac{1 \cdot 100}{300} = 0{,}3$$ КҲҚБ УКБ ва ТКБ 100 мл.

Мисол: 10, 40, 100, 150 мл сув фильтрланиб экилган фильтрладан 40 мл да 4 колония,100 мл да 3 та алоҳида колониялар аниқланди 10 ва 150 мл сув фильтрланган мембранафильтрларда колониялар санаб бўлмади. УКБ ва ТКБ нинг КҲҚБ фақат алоҳида колониялархосил бўлган фильтрлар олинади ва 100 мл объёмга ҳисобланади.

$$X = \frac{(4 + 3) \cdot 100}{40 + 100} = 5$$ КҲҚБ 100 мл.

Сувнинг коли- индекс ва коли-титрини аниқлаш. Биринчи мисолда УКБ ва ТКБ нингКҲҚБ ги 0,3 -100 мл да бўлса, сувни коли –индекси 1000 мл - 3 га тенг, у ҳолда коли-титр333(1000: 3) ташкил этади. Ичимлик суви талабга жавоб беради. Иккинчи мисолда сувниколи-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 тақдирда титрлаш (бижғитиш) усулиданфойдаланилади.

7.4-жадвал

Сувни микробиологик кўрсаткичлари ва уларни назорат усуллари

(Ичимлик сувига гигиеник талаблар ва сифатини назорат қилиш СанПиН Уз.Р № 0211-06)

Кўрсаткичлар	Ўлчов бирлиги	Нормативлар	Назорат усули
1. Умумий микроблар сони 1 мл сувда	1 мл сувда микроблар сони	100 дан кўп бўлмаган	ГОСТ 18963-73. ИСО 8360/1-2-88
2. Ичак таёқчалар гуруҳи бактериялар сони (колииндекс)	1000 мл сувда ичак таёқчалари гуруҳи бактериялари (БГКП)	3 дан кўп бўлмаган 1) 2) 3)	ГОСТ 18963-73 ИСО 9308/1-2-90
3. Эшерихийлар (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 қилишбирлиги (ЯҲБ) сони.	Йўқ 4) 7)	ЎзРССВда тасдиқланган услубий кўрсатма.№ 012-3/0136 17.10.2008.

Бижғитиш усули. Усулни моҳияти, текширилаётган маълум объёмдаги сувни суюқозиқ муҳитларга экиб,ўстириб, лактоза тутувчи дифференциал муҳитга қайта экибажратиб олиш ва ИСКБ хос бўлган колонияларни культурал ва биохимик хусусиятларибўйича идентификация қилишга асосланган.

Ичимлик сувини жорий санэпид ишчи назорат кўригидаги сифат текширувда 3 та 100мл объёмда экилади. Агар сувни УКБ ва ТКБ га миқдорий текширилса, у холда сув 100 мл 3 та, 10 мл 3 та ва 1 мл дан 3 та объёмдан экилади. 100 ва 10 мл объёмли намуналардан 1 млсув

концентрацияси юқори бўлган суюқ лактоза пептонли муҳитга экилади, 1 мл ҳажмли намуна эса оддий усулда экилади.

7.5-жадвал

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	Юқори кўрсаткич	
0	0	0	Кам 3	-	-	Кўпрок 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

Экилган материаллар 37°С 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 *Pseudomonaceae* ҳамда бошқа оксидаза мусбат бактериялардан ажратиш учун оксидаза тести қўйилади. Шу

мақсадда муҳит юзасидан шиша таёқча орқали 2-3 та айрим-айрим жойлашган колониялар олинади ва диметил-N-фенилендиамин шимдирилган фильтр қоғозга штрих билан суртилади. Агарда оксидаза тести манфий бўлса, коғознинг ранги ўзгармайди ва аксинча мусбат бўлса,қоғоз 1 мин давомида кўк рангга киради.

Оксидаза ҳосил қилмайдиган, грамманфий таёқчалар қайтадан бижғитиш усули билантекширилади. Улар 0,5% глюкозали, ярим суюқ, озиқ агарга экилади. ва 37°С да бир сутка давомида термостатда сақланади. Мусбат натижаларга асосланиб (-жадвал) жадвалига кўраколи-титр ва коли-индекс аниқланади.

7.5. Ҳавони санитар-микробиологик текшириш.

Ҳавони миқдорий микробиологик текшириш усуллари седиментация(чўктириш), аспирация ёки фильтрлаш принципига асосланган. Ҳавомикрофлорасини текшириш икки йўналишда олиб борилади. Биринчи йўналишатмосфера хавосига санитар-бактериологик баҳо бериш. Атмосфера ҳавосидаСКБ (стафилококк ва стрептококк) 3,7% ҳоллардагина аниқланади, асосан бузоналарда одамлар (шаҳарлар) кўп тўпланиши, зич яшашлари мумкин. Ҳавомикрофлорасида асосан тупроқ микрофлораси доменантлик қилади.Атмосфераҳавосининг бактериал ифлосланганлигини боҳолайдиган нормативлар йўқ.

Ёпиқ хоналар ҳавосини санитар-бактериологик жиҳатдан текширишпланли тартибда яслилар ва болалар боғчаларида, мактаблар, касалхоналар,операция хоналари, дорихоналар, кинотеатрларда олиб борилади.

Даволаш муасассаларининг ҳавоси ҳар бир кварталда бир маротаба ДСЭНМ томонидан жорий текширув ўтказилади. Касалхона бактериологиклабораторияси эса эпид кўрсатма асосида ҳар ойда бир маротаба жорийтекширув ўтказади. Гигиеник ва эпидемияга қарши ўтказилаётган жорийтекширувларда 1м³ ҳавосидаги УМС (умумий микроблар сони) ва СКБ (олтинсимон стафилококк, гемолитик стрептококк ва грам манфий таёқчалар,замбуруғлар (аптекаларда) аниқланади.

Касалхона хоналари ҳавосида асосан олтинсимон стафилококк, гемолитикстрептококклар70-30% ҳолларда учрайди. Шу билан бир қаторда операцияолди, операция залларида, операциядан кейинги палаталарда, туғриқ залларидава реанимацияларда бу

микроорганизмлар топилмаслиги керак. Ҳавомикрофлорасига санитар –бактериологик баҳо беришда қуйидаги усулларқўлланилади.

Седиментацион (Кох усули) усул. Асосан ёпиқ хоналар ҳавосини текширишдақўлланилади. Бу усулнинг моҳияти шундан иборатки, озиқ агар куйилгап Петри косачасихонани бир неча жойига очиқ ҳолда маълум вақтга очиқ қолдирилади (кўпроқ 20-30 мин.).

Сўнг 37°С да термостатга жойлаштирилади. Косачалардан ўсиб чиққан колониялар сонигақараб 1 м³ ҳаводаги УМС Омелянкий формуласи ёрдамида топиш мумкин.

$$x = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{b \cdot 10 \cdot t}$$

Бу ерда х — 1 м³ ҳаводаги микроблар миқдори; а- Петри косачасидаги озиқ муҳитдаўсган микроблар сони; b- Петри косача юза майдони (πr²); t –косача очиқ турган вақт,минутларда; 5- Омилянсий ҳисоблашидаги вақт; 10- микроорганизмлар чўкиши зарурбўлган ҳаво объёми;1000 – изланилаётган ҳаво объёми литрда. Ҳисоб қилишда хонагақўйилган ҳар бир косачалардаги микробларо сони аниқланиб унинг ўртача миқдорий кўрсаткичи (а) олинади.

7.3-расм. Кротов аппарати

Текширилаётган хоналарда топилган УМС 250 дан кам колония ўсиб чиқса, ҳаво тоза ҳисобланади. Колониялар сони 250—500 та бўлса, ҳаво ўртачаифлосланган, агар 500 дап ортиқ бўлса ниҳоятда ифлосланган бўлади.

Аспирацион усул. Бу ҳаводаги УМС аниқлашда жуда ҳам аниқ усул ҳисобланади.Ҳаво аппарат ёрдамида экилади (44а-расм).Кротов аппарати шундай тузилганки, ҳаво маълум тезликда озиқ-агарли косача ёпибтурган плексиглас пластинканинг тор ёриғидан сўрилиб, урилади. Бундамикроорганизмларга 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.

$$x = \frac{a \cdot 1000}{V \cdot t}$$

а — косачада ҳосил бўлган колониялар сони; v— аппарат орқали сўриб ўтказилганҳавонинг ҳажми, л; 1000—текширилувчи ҳавонинг ҳажми, л.

Жадвал 7,6.

Шифохона хоналарининг функционал вазифалари ва тозалик синфлари бўйича, уларнинг ҳавосидаги бактериялар

№	Тозалик класси	Хоналар номи	Санитар микробиологик кўрсаткич					
			1 м³ ҳаводаги микроблар-нинг умумий миқдори (КҲҚБ м³)		1 м³ ҳаводаги Staphylococcus aureus колонияси сони (КҲҚБ м³)		1 м³ ҳаводаги моғар замбуруғ-ларининг миқдори	
			Ишдан олдин	Иш вақтида	Ишдан олдин	Иш вақтида	Ишдан олдин	Иш вақтид
1	Ўта тоза (А)	Операция хонаси, туғрик 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 лиги керак	Бўлмас-лиги ерак
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 туғрик заллариға туташган хоналар, юкумли касалхна бўлими палатала-рн, бокслар, саматик палаталари ва шифокорлар хонаси, тоза киймлар ва чойшаблар омборхонаси.	750 дан кўп эмас	1000 дан кўп эмас	Бўлмас-лиги керак	2 дан кўп эмас	Бўлмас-лиги керак	Бўлмас лиги керак
4	Ифлос-ланган (Г)	Административ бино хоналари ва йўлаклари, даволаш диогностик бино-ларининг йўлаклари, сани-тар хоналар, хожатхона ва ифлосланган киймлар чойшаблар омборхонаси.	Норма белги-ланма-ган	Норма белги-ланма-ган	Норма белги-ланма-ган			

Ҳаводаги умумий микроблар сонини аниқлаш учун нейтрал озиқ агардан, гемолитик стрептококклар учун эса генциан бинафша қўшилган қонли агардан, стафилококк лар учун тухим сариғи қўшилган тузли агарданфойдаланилади. Кейинчалик колониялар микроскоп остида кўрилади. Гумон қилинган колониялар эса, қайтадан қонли агарга экилади ва ажратиб олингандан кейин идентификация қилинади.

Қўлланиладиган муҳитлар. Генциан бинафшали қонли агарнинг таркиби-2% озиқагар ва 5—10% фибринсизлантирилган от, қуён ёки қўй қони ва генциан бинафшадан (1 :50000) иборат. Тухум сариғили-тузли агар қуйидагилардан ташкил топган: 2% озиқ агар 10%NaCl билан, 20% (ҳажмга кўра) тухум сариғи аралашмаси (200 ил NaCl изотоникэритмасига бир дона товуқ 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 фильтрларданўтказилади. Сўнгра ўлчаб, озиқ муҳитга экилади. ПАБ-1 ва ПОВ-1аппаратлари ёрдамида кўп ҳажмдаги ҳавони текшириш орқали патогенбактерия ва вирусларни топиш мумкин. Ҳозирги вақтда касалхоналар ичидаюқадиган инфекцияларнинг қўзғатувчилари бўлмиш патоген ва шартли-патогенбактерияларии (стафилококклар, кўк-йиринг таёқчалари ва бошқа грамманфийбактериялар) бевосита жарроҳлик, акушер-гинекологик ва бошқа бўлимларнингҳавосини текшириш мобайнида топиш мумкин.

Касалхона ичида стафилококк этиологияли инфекция пайдо бўлганида,текширишлар инфекция манбаини, тарқалиш йўлларини аниқлашга қаратилади. Атроф-муҳитдаги объектлардан, шунингдек беморлар ва касалхона хизматчилардан ажратиб олинган стафилококк культураси намунасини бир хиллигини уларни фаготипларини текшириш йўли билан аниқланади.Касалхона биноларидаги ҳаволарга мўлжалланган УМС ва Staph. aureus сонининг норматив кўрсаткичлари 20 -жадвалда келтирилган.

8 БОБ. ОДАМ ОРГАНИЗМИ НОРМАЛ МИКРОФЛОРАСИ. БОЛАЛАРДА МИКРОФЛОРАНИ ШАКЛЛАНИШИ ВА УЛАРНИ ЎРГАНИШ УСУЛЛАРИ.

8.1. Одамнинг нормал микрофлораси.Инсон ҳаётини биринчи кунидан бошлаб жуда кўп сон-саноқсиз микроорганизм вакиллари билан фавқулодда алоқада бўлиб туради. Она бачадонида ҳомила стерил бўлади. Бола туғилишидан бошлаб, бир неча йиллар ичида ҳар бир биотопга хос микрофлора шаклланади Турли бактериялар ва микроҳаётнинг бошқа вакиллари чақолоқнинг териси ва шиллиқ қавватлари билан контактда бўлади.Буларнинг баъзилари организм учун патоген бўлса, буларга қарши организм курашиши зарур, бошқалари эса организм билан узвий алоқада (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.

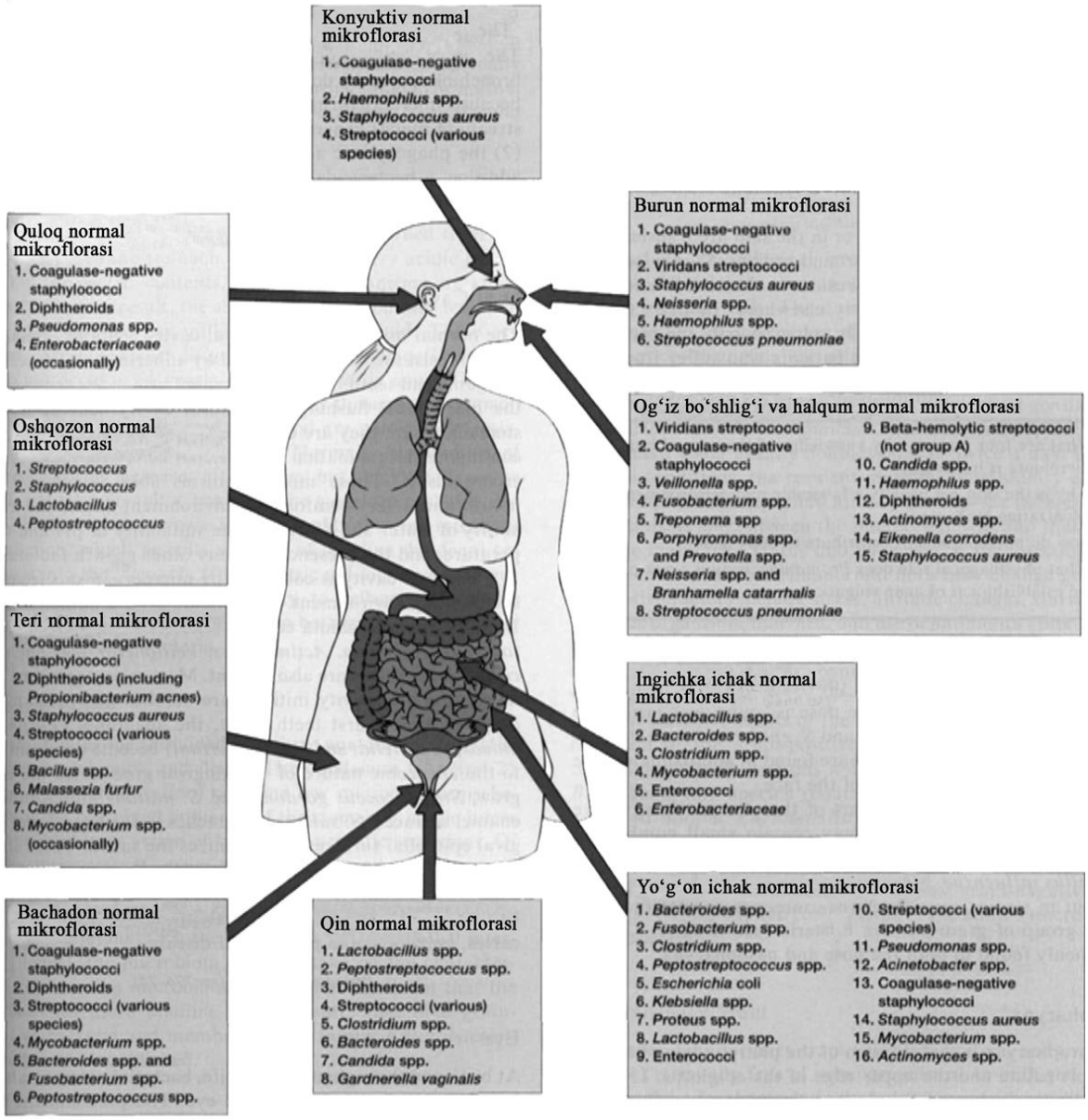
“Нормал микрофлора” термини асосан соғлом одам организмидан доимо ва кўпроқ топиладиган микроблар йиғиндисига айтилади. Одамнинг нормал микрофлораси таркибига кирувчи бактериялар 8.1-расмда келтирилган. Нормал микрофлора асосан одамларнинг терисида ва ташқи муҳит билан бевоста алоқада бўлган органларида (юқори нафас йўллари, ошқозон ичак системаси, сийдик таносил органлари) учрайди ва шу органларда микроорганизмларнинг маълум биотопларини, микробиоценозини шакллантиради. Ҳар бир одам битопида учровчи микроорганизмлар ўзларининг таркиби ва миқдори жиҳатдан бошқа биотоплардан тубдан фарқ қилади. Энг кам микроорганизмлар терида учрайди ва организмнинг умумиймикроорганизмларга 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.

8.2.Ичак микрофлораси унинг болаларда шаклланиши ва дисбактериоз.

Чақалоқ микрофлора билан туғилмайди, микробиоценозлар болаларнинг ҳаёти жараёнида шаклланади. Она бачадонида ҳомила стерил бўлади. Болатуғилишидан бошлаб, бир неча йиллар ичида ҳар

бир биотипга хос микрофлора (онанинг туғиш йўллари, териси, сути, ташқи муҳит – ҳаво, тупроқ озиқ овқатлар микрофлораси ҳисобига) шаклланади.

Меъёрий ичак микрофлорасининг ҳолатига эндоген ва экзоген омиллардоимий 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 кузатилмокда.



8.1-расм. Одамнинг нормал микрофлораси.

Физиологик шароитда ичак шиллиқ қавати биопленка – бактериалгликокаликс билан қопланган бўлиб, унинг таркибида микробларнингэкзополисахаридлар матрикси ва шиллиқ қават қадаҳсимон ҳужайраларнингмуцини 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 маротаба юқоридир.

Нормал ичак микрофлораси 450 дан ортиқ микроорганизмлардан ташкил топиб, ҳужайин организмининг 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 ўзлаштирса, иккинчи томондан В гуруҳ витаминларини, витамин К, никотин, фолий ва аскорбин кислоталарни, айрим ферментларни синтезлайди.

Макроорганизмнинг иммунобиологик реактивлигини шаклланишидамикрофлоранинг муҳим ўрни эътироф қилинади, бунинг натижасидаорганизмда умумий иммуноглобулинлар миқдори бошқарилади. Шундай қилиб, меъёрий ичак микрофлорасининг ўзига хос - ҳимоя, модда алмашинув, 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.

Меъёрий 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 хато ўрнашиши (baktielleь Fenlbesiedlund) 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. Чақалоқларда ва кўкрак ёшидаги болаларда ичак дисбактериози чала туғилганлик, сунъий овқатлантиришга эрта ўтиш, ҳамда онадаги патологиялар (ҳомиладорлик давридаги оғир токсикоз ҳолат, маститлар ва б.к.) натижасида пайдо бўлади.

Ичак дисбактериозига баҳо бериш бўйича кўпгина қўлланмалар 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 бўйича тавсифланади.Шакли бўйича:

- латент (субклиник)

– маҳаллий;

- тарқалган (бактериемия, генерализациялашган сепсис инфекцияси,септикопиемия);

Компенсация даражаси бўйича :

- компенсацияланган;

-субкомпенсацияланган;

- декомпенсацияланган.

РФ да ичак микрофлорасининг дисбиотик бузилишларини тўртта даражабўйича баҳолаш таклиф қилишган:

I - даража - бифидо- ва лактофлора меъёрда бўлиб, анаэроб флораданустун туради.

II- даража - анаэроблар миқдори камайиб, тўлақонли ичак таёқчасинингатипик шакллари пайдо бўлади, қолган микроблар миқдори 10^3 - 10^4 КҲҚБ/г (1г нажасдаги колония ҳосил қилиш бирлиги) ташкил қилади.

III- даража — анаэроб флоранинг кескин пасайиб кетиши, бифидо-валактобактерияларнинг умуман бўлмаслиги, бирор бир шартли - патоген флора вакилларининг 10^5-10^7 КҲҚБ/г ва ундан кўп миқдорда пайдо бўлиши.

IV- даража- шартли-патоген микроорганизмлар тўпламининг 10^6-10^7КҲҚБ/г ва ундан кўп миқдорда ўсиб кетиши.

Қозоғистон олимлари ичак дисбактериозини уч даражада баҳолашнитаклиф килишган:

I даражали - дисбактериоз (яширин, компенсацияланган шакли) бунда,аэробларнинг оз миқдорда камайиши, нормал ичак таёкчанинг, коккларнингсезиларсиз камайиши ёки кўпайиши, анаэробларнинг микдори эса меъёрнингпастки чегарасида бўлади. Ичак дисфункцияси кузатилмайди.

II даражали - дисбактериоз (субкомпенсацияланган шакли) бунда,анаэроблар микдорининг камайиши, ичак таёқчасининг сифатий ва миқдорийўзгариши ва шартли-патоген микроорганизмларнинг кўпайиши кузатилади.

Ичак дисфункциялари пайдо бўлади.

III даражали - дисбактериоз (декомпенсация шакли) облигат анаэроблармиқдорининг камайиб кетиши, ичак таёқчасининг сифатий ва миқдорийўзгариши ва шартли-патоген микроорганизмларнинг миқдори кўпайишикузатилади. Кучли ичак дисфункцияси билан кечади.

Ўзбекистон шароитида юқорида таклиф қилинган усуллардан ташқари,дисбактериозни, олимлар Гариб Ф.Ю., Одилов Ш.К., Нарбаева И.Э., вабошқалар, таклиф қилган усул бўйича ташхисланади. Бунда ичакмикрофлорасининг ўзгариши икки даража орқали аниқланади:

I - даражали дисбактериозда - ўзгаришлар фақат индиген гуруҳвакиллари орасида руй беради, бифидо- ва лактобактериялар нормалхусусиятга эга ичак таёқчага нисбатан камайиб кетади. Ичак дисфункциясинамоён бўлмайди.

II- даражали дисбактериозда - нафақат индиген бактериялар миқдорикамаяди, балки факультатив гуруҳга кирувчи шартли - патоген бактериялармиқдори ошиб кетади. Ичак дисфункцияси белгилари яққол кўринади.

Бу даражалар дисбактериоз индекси (ДИ) ёрдамида аниқланади.

$$ДИ\ I = \frac{E.coli\ КҲҚБ/г}{Индиген\ бактериялар\ КҲҚБ/г} < 0,1;$$

$$ДИ\ I\ I = \frac{Факультатив\ бактериялар\ КҲҚБ/г}{Индиген\ бактериялар\ КҲҚБ/г} \leq 0,5;$$

Агар ДИ I > 0,1 ; ДИ II ≤ 0, 5; бўлса, бу дисбактериоз биринчи даражасиҳисобланади. Агар ДИ П> 0,5 ; ДИ I нечи бўлишидан қатъий назардисбактериознинг иккинчи даражаси деб қаралади.

Бу усул оддийлиги билан ажралиб туради, унда микрофлора бузилишиккитагина кўрсаткич орқали аниқланади. Яъни, нормал микрофлоранингвакиллари миқдорини меъёрдан пасайиши кузатилса – дисбактериознингбиринчи даражаси, индиген флора миқдори пасайиб, аксинча шартли-патогенфлора вакиллари меъёрдан кўпайиб кетса - дисбактериознинг иккинчидаражаси деб қабул қилинган.

8.3. Қин (вагинал) микрофлораси, унинг қиз болаларда шаклланиши ва ундаги дисбиотик ҳолатлар

Аёллар жинсий йуллари ички томондан ясси эпителий билан қопланганқин, цилиндрсимон эпителий билан қопланган, бачадон буйни ва морфофизиологик ҳамда биохимик аҳамиятга эга бўлган вагинал секретданиборат. Шунинг учун ҳам, бу ҳар қайси биотопда маълум бир турдагимикроорганизмлар жойлашган.

Вагинал тузилма кўп қаватли ясси эпителий бўлиб, базал қавати етилишжараёнида қин ички юзасига ҳаракат қилади. Эпителиоцитлар физиологикривожланиш жараёни, уларнинг кўчиши ва юза қаватнинг қалинлигитухумдонлар гормонлари назорати остида бўлади. Вагинал секрет серозтранссудат ҳисобланиб, таркибида лейкоцитлар, кўчган эпителийҳужайралари, бачадон буйни шиллиқ қавати ва бартолин безлари ажратганмоддалар бўлади.

Янги туғилган қиз болаларда қин нормада ҳаётининг 1 - соатларида стерил бўлади. 1-сутканинг оҳирларига келиб, аэроб ва факультатив анаэробмикроорганизмлар тўпланади. Бир неча кундан сўнг лактобактерияларкўпайиши бошланади. Буни қуйидагича тушунтириш мумкин: онадан болагатрансплацентар йўл билан ўтган эстрогенлар вагинал эпителийда гликогентўпланишига олиб келади ва гликоген лактобактериялар кўпайиши учунсубстрат ролини бажаради. Бунга қўшимча равишда, гормонлар вагиналэпителийнинг лактобактерияга нисбатан рецептор фаоллигини кучайтиради.

Лактобактериялар гликогенни сут кислотагача парчалаб, pH нинг кислоталитарафга (4,4 -4,6 гача) силжишига олиб келади ва кислотали муҳитга сезгирбўлган микроорганизмларнинг ўсиши ва кўпайишига тўсқинлик қилади. Будаврда чақалоқларнинг микрофлораси соғлом аёл қин микрофлорасига ўхшаш бўлади.

Туғилишдан 3 ҳафтадан сўнг онадан ўтган эстрогенлар тўлиқ, парчаланиб бўлади ва эпителий юпқа ва "етилмаган" ҳолга келади.

Ундаги гликоген миқдорининг камайиши органик кислоталарнинг ҳам камайишига олиб келади ва вагинал муҳит pH 4,5 дан 7,0 гача кўтарилади. pH нинг нейтрал курсаткичга яқинлашуви оксидланиш-қайтарилиш потенциали камайишига ва лактобактериялар миқдорининг пасайишига сабаб бўлади. Бунингнатижасида қатъий анаэроб микроорганизмлар микрофлорада доминантликкаэришади. 2 ойлик қиз бола чақалоқларда янги туғилган чақалоқларганисбатан қин микрофлорасидаги умумий микроблар сони сезиларлидаражада паст бўлади.

Пубертатлик даврида қизлар организмида овариал функция ривожланиши натижасида эндоген эстрогенлар пайдо бўлади ва эстроген таъсирида вагинал эпителий ҳужайраларида 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 даврларида (босқичларида) ўзгариб туради. Энг кам микроорганизмлар сони ҳайз даврида аниқланади.

Нормал микрофлоранинг турли аэроб ва қатъий анаэроб микроорганизмвакиллари секретор босқичга нисбатан пролифератив босқичда кўп учрайди.

Ҳайз циклининг пролифератив босқичида аёллар организмидаинфекцияларга мойиллик ортади. Ҳайз даврининг 2-14 кунларида қиндааэроб бактериялар қатъий анаэроб микроорганизмлардан сон жиҳатдан кўпбўлади, лекин ҳайз даври олдидан қатъий анаэроблар аэроб бактериялардандеярли 100 баравар ошиқ бўлади.

Ҳомиладорлик даврида қинда гликоген микдори ошиб борганлигитуфайли лактобактериялар ҳаёт фаолияти учун қулай шароит юзага келади.

Ушбу даврда бактероидлар, спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроблар вааэроб Грам (+) шарсимон ва Грам (-) таёкчасимон бактериялар сони камаяди.

Бу ўзгаришлар ҳомиладорликнинг 3 триместрида энг юқори нуқтага эгабўлади.

Туғруқ қин микрофлораси таркибини сифат ва миқдор жиҳатданўзгаришларига сабаб бўлади; спора ҳосил қилмайдиган Грам (-) анаэроббактероидлар, эшерихийлар кўпайиб, лакто- ва бифидобактериялар соникамаяди. Туғруқдан 3-4 кун ўтгач, вагинал микрофлора бузилишлари турлихил асоратлар ривожланишини енгиллаштиради. Лекин бу микрофлораўзгаришлари транзитор бўлиб, туғрукдан 6 ҳафта ўтгач меъёргачатикланади.

Менопауза даврида генитал трактда эстрогенлар, гликоген ва оксидланиш-қайтарилиш потенциали сезиларли пасайиши бошланади, бифидо- валактобактериялар миқдори камайиб, pH 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 бирқатор омиллар мавжуддир.

Аёллар ҳаётининг маълум босқичларида гормонга боғлиқликкузатилади; вагинал физиологик ўзгаришлар ва шунга боғлик ҳар ойдагициклик жараёнлар вагинал микрофлоранинг сифат ва миқдорий таркибинингўзгаришларини келтириб чиқаради. Вагинал микрофлора Грам (+) ва Грам(-) аэроб, факультатив анаэроб ва қатъий анаэроб микроорганизмларни ўзичига олади (Жадвал 21). Улар вагинал эпителийга адгезия бўлиш ва муҳитучун курашиш каби хусусиятларга эга.

Вагинал микрофлоранинг асосий вакилларидан бўлган лактобактериялармикроаэрофиллар бўлиб, аёллар қинида уларнинг L.acidophilus, L.fermentum,L.crispatus, L.jensenii, L.gasseri турлари кўп учрайди. Соглом 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 107 - 109 КҲҚБ/мл да учрайди. Улар вагинал трактда экзоген микроорганизмлар адгезиясига тўсқинлик қилиб, бошқа бактерияларнинг пролиферациясини чегаралайди.

Лактобактерияларнинг вагинал микробиоценозни назоратининг бир қанчамеханизмлари аниқланган. Шулардан бири, бу лактобактерияларнингметаболизми жараёнида сут кислота ва бошқа органик кислоталарнинг ҳосилбўлишидир. Кислоталар қин муҳит pH ни

кислотали бўлишинитаъминлайди. Вагинал суюқлик муҳит pH ининг паст бўлиши, унинг редокс-потенциалини оширади, шу сабабли, янада шартли патоген анаэробмикроорганизмларнинг ўсишини тўхтатади. Иккинчидан, булактобактерияларнинг H_2O_2 ишлаб чиқаришидир. Водород пероксиди*G.vaginalis, P.bivia, P.disiens, Mobiluncus spp.* каби микроорганизмларнингколонизациясига қаршилик қилади.Учинчидан лактобактерияларга нисбатанвагинал эпителий ҳужайралари юзасидаги юқори адгезивлик хусусиятлиомилларнинг борлигидир. Лактобактерияларнинг адгезин моддаси -липотейхоевая кислотадир. Булардан ташқари, лактобактериялар бактериоцин,лизоцим, лактацидин, лактацин, ацидолин каби моддаларни ишлаб чиқаради.Қолган вагинал флоралар ҳам ҳар бири ўзига хос функцияларни бажаради.

Жадвал 8,1.

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 “соф” эпителий ҳужайралар бор	Қин биотопининг меъёрий ҳолати
Оралиқ тип	Лактобактериялар сони кам, грам (+)кокклар, грам (-) таёқчалар учрайди. Лейкоцитлар, моноцитлар, макро-фаглар,	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 (-)	Бактериал вагиноз

	таёқчали ва коккли микрофлора;“асосий” ҳужайралар бўлади. Лейкоцитлар сони ўзгарувчан, фагоцитоз кузатилмайди ёки тугалланмаган ҳолда бўлади. Суртманинг полимикроб кўриниши.	
Вагинит(суртманинг Яллиғланишгахос типи)	Лейкоцитлар, моноцитлар ва эпителиал ҳужайралар сони жуда кўп, яққол фагоцитоз	Номахсус вагинит, сўзак, рихомоноз, 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 микроскопикхарактеристикасининг оригинал таснифи алоҳида ўрин тутади. 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 жинсийаъзолари юқумли-яллиғланиш касалликлари орасида меъёрий микрофлоратаркибий қисмини ташкил этган шартли патоген бактериялар ва замбуруғлар(U.urealyticum, Bacteroides spp., Candida spp. ва бошқ.) келтириб чиқарганяллиғланиш касалликлари асосий ўринни эгаллайди. Бу касалликларяллиғланишнинг махсус белгиларисиз (симптомларсиз) кечганда ташҳис қўйишқийинлашади ва касалликнинг сурункали шаклга ўтиши ҳамда асоратларривожланиши кузатилади. Вагинал микрофлора таркибидамикроорганизмларнинг алоҳида турлари аниқланганда микробиоценоз ҳолатигаобъектив баҳо бериб бўлмайди ва этиотроп даволаш чора-тадбирлари ўтказишзарурлиги ҳақидаги саволни ечиш қийинлашади. Фақатгина алоҳида турмикроорганизмларнинг нисбатини аниқловчи миқдорий текширувларўтказилганда ва уларнинг биологик хоссалари ўрганилгандагина вагиналмикробиоценозга характеристика бериш мумкин бўлади.

8.4.Ичак ва вагинал микробиоценозининг сифат ва миқдорий таркибини ўрганишусуллари

Микробиологик текширишлар натижасига таъсир этадиган муҳим омиллардан бири бу,пациентдан биологик материални тўғри олиш ва лабораторияга ўз вақтида етказишмасаласидир. Материални олиш (шифокор генеколог томонидан амалга оширилади расм-45а), уни лабораторияга жўнатиш ва керакли озиқ муҳитларгаэкиш мавжуд қоидаларга асосланган ҳолда ўтказилади.

Одам микрофлорасида доминант микроорганизмлар ҳисобланган спора ҳосилқилмайдиган қатъий анаэроб бактерияларни ажратиб олишда, материал олиб, экишгачабўлган вақтда бу микроорганизмлар О2 нинг летал таъсиридан ҳимояланган бўлиши лозим.

Шунинг учун бемор нажаси транспортировкасида резина тиқинли пробиркалардан фойдаланилади. Вагинал материал махсус транспорт озиқ муҳити ҳисобланган – тиогликол олиниб, экишгача бўлган вақт 2 соатдан ошмаслиги керак. Лабораторияга олиб келинган нажаснинг чукур кисмидан 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 101 дан 1010 даражасигача суюлтирилади ва уларнинг ҳар биридан тегишлиозиқ муҳитларига турли аэроб, ҳамда анаэроб микроорганизмларни ажратиб олиш учун экилади (8.2-жадвал). Анаэроб бактериялар нормал ичак микрофлорасининг 98-99% ни, аэроб флора эса 1-2% ни ташкил қилишини ҳисобга олиниб, уларни ўстиришда кимёвий модда тутадиган газпакетчалари жойлаштирилган микроанаэростатдан фойдаланиш мумкин(анароббактерияларни ажратиб олиш усулларига қаралсин).

Гр (-) спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроб бактериялар натрий-азид қўшилганқонли ва бактероидлар учун агарларда ўстирилади.

Инкубация вақти 35^0C да 72 соат Бу озиқмуҳитларда бактероидлар яхши ўсади. Бактероидлар кулранг, тўқ жигарранг, қораколониялар ҳосил қилиб, шакли - грамманфий полиморф таёқча, спора ҳосил қилмайди,каталазаманфий. Бактероидлар қатьий анаэроб ҳисобланиб, анаэростатларда 2-4 кунўстирилади.

Грам (+) қатъий анаэроб бактериялар “Блоурокко” ва “Himedia” фирмасининг“Бифидобактериялар учун агар” озиқ муҳитларида 37,50-380С да 48 соат анаэроб шароитдаўсади. Бифидобактериялар диск кўринишдаги колониялар ҳосил қилади. Бу агарда бошқаанаэроблар ҳам ўсиши мумкин. Шунинг учун колониялардан суртма тайёрланиб кўрилди.

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 ўсмаслигиучун унга сорбин кислотаси қўшилди. Экилгандан сўнг Петри косачаси микроанаэростатгажойлаштирилди, O_2 ни ютувчи катализатор қўйилмади. 37ºС да 48 соат термостатдасақланди. Лактобактериялар озиқ муҳитда йирик, силлиқ, оқ рангли колониялар ҳосилқилади.

Лактобактериялар – Грам (+) таёқчасимон, микроаэрофил бактериялар бўлиб, улароксидаза ҳосил қилмайди, ҳаракатсиз, спораси йўқ.

Gardnerella vaginalis – Грам (–) ёки грамвариабел коккобациллалар, микроаэрофилбактериялардир. Гарднереллалар Gardnerella vaginalis agar ва шоколадли агардамикроаэрофил шароитда ўстирилади. ß- гемолизинни аниқлаш учун муҳитга 10% қонқўшилади. Бу муҳитда гарднереллалар кулранг, ялтироқ, силлиқ, думалоқ, диаметри 0,25-0,45 мм, атрофида ß- гемолизли колония ҳосил қилади.

Энтеробактериялар – Грам (–), спора ҳосил қилмайдиган, факультатив анаэроббактериялардир. Уларни ўстириш учун Эндо муҳитидан фойдаланилади. Лактозонегатив валактозопозитив ичак таёқчаси алоҳида-алоҳида ҳисобга олинади. Бу микробларнибиохимиявий идентификация қилиш учун Клиглер дифференциал-диагностик озиқмуҳитидан фойдаланилади. Ҳар бир ичак дисбактериози учун олинган таҳлилда сальмонеллава шигелла

бор-йўқлигига текширилади. Шунинг учун текшириш учун олинган фекалийвисьмут-сульфит агар ва Плоскирева муҳитларига ҳам экилади.

Стафилококклар Staphylococcus agar № 110 ёки тухум сариғи қўшилган тузли ва қонлиагарда ўстирилади. Бу озиқ муҳитлар 7,5% NaCl, маннит ва желатин тутади. Патоген микробҳисобланган St. aureus озиқ муҳитда сариқ пигмент ҳосил қилади. Маннитнипарчаланганлигини билиш учун, колонияга 0,04% ли бром-тимол кўки томизилади. Бўёқсариқ ранг ҳосил қилса, реакция (+) ҳисобланади. Желатинни парчаланганлигини билишучун колонияга 20% ли сульфосалицил кислотаси (Stone реакцияси) томизилади. Колонияатрофида тиниқ, ёруғ зона пайдо бўлса, реакция (+) ҳисобланади.

Бундан ташқаристафилококкларни гемолитик ва плазмокоагулаза ҳосил қилиш хусусияти ўрганилди.

Стрептококклар5% ли қон қўшилган агарда ўстирилди. Бу муҳитда стрептококкларданташқари каталаза позитив стафилококклар ҳам ўсади. Шунинг учун бактерияларидентификациясида 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 ҳосилқилади.

Жадвал 8,2.

Аэроб ва анэроб бактерияларни ажратиб олишда суюлтириш даражаларидан фойдаланиш*

	Озика муҳитлар	Ўсувчи бактериялар	Суюлтириш даражаси									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	БҚА	Бактериоид-лар						+		+		+
2.	Блаурокка	Бифидобак-териялар					+		+		+	
3.	Карамли муҳит МРС-4	Лактобак-териялар				+		+		+		
4.	Эндо	Энтеробак-териялар			+		+		+			
5.	5% конли агар	Кокклар, бактерия-лар (гемолиз. хус.)			+		+		+			
6.	Тухум сариғи қўшилган тузли агар	Патоген стафило-кокклар		+		+		+				
7	Калина муҳити	Стрептококлар D-гуруҳи			+		+		+			
8	Шоколадли агар	Гарднерелла		+		+		+				
9.	Сабуро муҳити	Замбуруғ-лар			+		+					
10	Вильсон-Блер муҳити	Клостри-диялар			+		+		+			

Эслатма: Тошкент Тиббиёт академияси микробиология кафедраси амалиёт лабораториясининг узоқ йиллик тажрибаси асосида тузилган

Candida авлоди замбуруғлари хлорамфеникол (400 мг/л) қўшилган Сабуро муҳитидаўстирилади. Бу муҳитда замбуруғлар 24-48 соатдан кейин қаймоқсифат, думалоқ, четларитекис колония ҳосил қилади.

Вильсон-Блер муҳити спорали анаэробларни устириш учун мўлжалланган бўлиб, уларқора колониялар ҳосил қилиб ўсади. Шакли граммусбат йирик таёкча, спораси марказда ёкисубтерминал жойлашиши мумкин, 0,9 - 9 мкм ўлчамли, якка ҳолда, ёки тўплам ҳолидабўлиши мумкин. Каталаза ҳосил қилмайди.

Мико- ва уреаплазмалар ЭД-1 ва микоплазма учун ишлаб чиқилган агарларда ўстиришмумкин. ЭД-1 озиқ муҳити қуён гўшти ва жигари экстрактидан тайёрланади. Тайёрэкстрактга 2% ли агар-агар, 1% ли пептон, 0,5% ош тузи солиниб, автоклавда 0,5 атмосферабосимида 121^0C да 20 дақиқа стерилизация қилинади. 2-босқичда иккиламчиингредиентлардан микоплазма ўсиши учун 40% от зардоби ва асцит суюқлиги, витаминлар,микроблар ва замбуруғларга қарши антибиотиклар қўшилади. Уреаплазмалар ўсиши учун 2мл 10%

ли мочевина ва 0,5 гр. 30% ли линкомицин гидрохлорид қўшилади. Бу муҳитлардамико- ва уреаплазмалар ўсиш натижалари 48-72 соатдан кейин ўрганилди. Кузатишларбактериоскопик усулда ўтказилди.

Петри косачаларида ўсиб чиққан микроорганизмлар миқдори қуйидаги формулабўйича ҳисобланади:

$$M = N \times 10^{n+1}$$

Бу ерда, М-1 г нажасдаги микроблар сони; N- Петри косачасида ўсиб чиққан колонияларсони; n- материални суюлтириш даражаси.

Масалан, агар Петри косачасида 10^6 даражали суюлтиришдан 31 та колония ўсиб чиққан бўлса, юқоридаги формуладан фойдаланиб 1 г материалдаги микроблар сонини топиш мумкин:

$$M = 31 \times 10<б+1) = 31 \times 10^7$$ ёки $3{,}1 \times 10^8$ КҲҚБ/г

Қўлланилган муҳитларда охирги суюлтиришга асосан ўсган микроорганизмлар миқдори аниқланади ва меъёр билан солиштириладй. Меъёрий микдор кўрсаткичларига нисбатан бузилишларни дисбактериоз деб ҳисобланиб, унинг даражаси аниқланади.

Одам нажаси ёки вагинал суюқлигидан лабораторияда экилган экилмаларнинатижалаш. 1 грамм нажасда ёки 1 мл вагинал суюқликдаги бактерияларнинг КҲҚБ/г ёкимлда ҳисоблаб топиш.

Оғиз бўшлиғи микрофлорасини ва уни ўрганиш. Оғиз бўшлиғи микрофлорасиниўрганишда бактериологик, яъни 1 мл суюқликда ёки 1 г таркибидаги микроорганизмлар ўрганилади, шиллиқ қават микрофлораси эса босма суртма усулида бактериоскопиканиқланади.

Бактериологик текшириш учун материал овқатланмасдан олдин эрталаб ёкиовқатланишдан 2 соат кейин оғиз бўшлиғи сўлак суюқлиги стерил пробиркаларга йиғилади.Лабораторияда сўлакдан 1 мл оламиз ва 9мл буфер эритмасида аралаштирилади. Буэритмаларни 10^1 дан 10^{10} даражасигача суюлтирилади ва уларнинг ҳар биридан тегишли озиқмуҳитларига турли аэроб, ҳамда анаэроб микроорганизмларни ажратиб олиш учун экилади.Текширишни қолган босқичлари юқорида келтирилган усуллардан фарқ қилмайди. Оғизбўшлиғидаги микроблар ва ҳар бир бактерияларнинг 1,0 мл сўлакдаги миқдори ҳисоблабтопилади.

Оғиз бўшлиғи микрофлорасини бактериоскопик ўрганиш. Талабалар бир-бирларидан стерил чўп (стерилланган тиш кавлагич чўпи) билан тиш карашидан олиб суртматаёрлашади, Бурри ва Грам усулларида бўяб, микроскопда кўришади ва

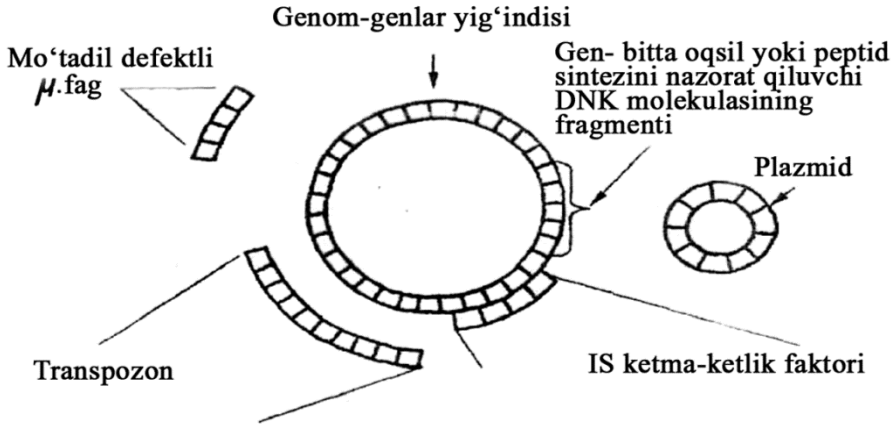
бактерияларнитаъсвирини чизиб, оғиз бшлиғи микрофлораси бўйича хулоса қилишади.

Тери микрофлорасини ва уни ўрганиш. Тери микрофлорасини ўрганишда ҳам бирнеча усуллар қўлланилади. Тери микрофлорасини миқдорий ўрганилганда 1 $см^2$ тери юзасимикрофлорси аниқланади. Бунинг учун стерил тампон озиқ бульон билан намлаб олиниб 1$см^2$ тери юзасидан суртиб олинади ва керакли озиқ муҳитларга экилади. Озиқ муҳитдаўсган колониялар саналиб 1 $см^2$ теридаги микроблар миқдори (КҲҚБ) кўрсатилади.Санитария эпидемиологик текширувларда, нейтрал бульон билан намланган стерил тампонбилан бармоқлардан ва теридан ювинди олинади. Бундан ташқари талабалар бормоқлардантамға суртма усулда ГПА экишади ва тери микрофлорасига эпидемиологик баҳо беришади.

9 БОБ. БАКТЕРИЯЛАР ГЕНЕТИКАСИ, ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАР ВАУЛАРНИНГ КЕЧИШ ЖАРАЁНЛАРИ

9.1. Бактерияларнинг ирсий материалини тузилиши.

Микроорганизмларда ҳам худди бошқа тирик жониворлар сингари,муайян турга хос белгилар наслдан - наслга ўтиб боради. Бактерияларнингирсий маълумотлари ҳужайрани ДНК сида (хромосомаси ҳам дейилади)мужассамлашган бўлиб, спиралсимон ҳалқа кўринишида бўлади (9.1-расм6). Буҳалқа битта нуқтаси билан цитоплазмага бирикиб туради. Хромосома маълум генлардан иборат бўлади.



9.1-расм. Бактерияларнинг хромосомаси ва унга тааллуқли бўлмаган факторларнинг схематик кўриниши.

Бактерия хромосомасининг функционал бирлигиданташқари бактерияларда, хромосомалардан ҳоли турадиган ирсий

маълумотларсақловчи кичик ДНК фрагментлари учрайди, буларга киради:

1. Плазмидлар
2. Траспозонлар
3. Мўътадил фаглар (μ – фаг)
4. Is- элементлар

Плазмидлар- қўшимча ирсий материал бўлиб, икки ипли ҳалқасимон ДНК молекуласидир (9.1-расм). Улар таркибидаги генлар бактерия ҳужайрасигақўшимча белги ва хусусиятларни шакллантиради ва уларни селективимкониятини оширади.

Бактерия ҳужайрасида плазмидлар икки кўринишда, автоном ва геномгаинтеграция бўлган ҳолда учрайди. Плазмидлар бактерия хромосомасибошқарувисиз ўзлари автоном ҳолида репликацияга учраши кузатилади вауларда ампликация (битта плазмидни бир неча нусхаси) ҳодисаси намоёнбўлади ва улар ташиб юрган белги хусусиятларни наъмоён бўлишиникучайтиради. Плазмидлар бактерия ҳужайраларида кодлаштирилган вабошқарувчи функцияларни бажаради. Кодлаштирилган функциясида бактерияҳужайрасига янги бир маълумотни ёки белги хусусиятни олиб киради. Бошқарувчилик функциясида эса бактерия метоболизмида рўй берувчи дефектларни ёки геном жароҳатларини тиклаш билан уларни функцияларинимувофиқлаштиради. Ўзларининг таркибидаги белги хусусиятларинингкўринишига қараб плазмидлар фарқланади (9.1-жадвал).

Жадвал 9,1.

Плазмидларни хусусиятлари бўйича классификацияси

Категорияси (турлари)	Хусусиятлари.
F- плазмидлар	Донорлик функцияси.(F+ бактерияни эркак типи.Бактерия мембранасида махсус F-ворсинкаларни синтезини бошқаради, конъюгацияда қатнашади).
R- плазмидлар	Хемотерапевтик препаратларга чидамлилик 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 металларни парчалашда қатнашади.

Бактериялар плазмидларини йўқотиши уларни ўлимига олиб келмайди.

Битта бактерия ҳужайрасида бир нечта функцияларни бажарувчи плазмидларбўлиши мумкин.

Миграцияга учровчи элементлар (МУЭ) – ДНК бўлакчаси бўлиб,геномда кўчиб юриш хусусиятига эга (транспозиция). МУЭ геномда кўчиб юришини улар таркибидаги махсус фермент транспозаза синтезини амалгаоширувчи генлар бошқаради. Буларга транспозонлар ва Is- элементлар киради.

Транспозонлар- ўзини таркибида 2000-25000 жуфт нуклетид тутувчи ДНКфрагменти бўлиб, икки учида Is- элементлар ва махсус генлар тутади.

Траспозонлар бактерия геномига бирикканда дупликация, геномдан чиқишдаврида маълум қисмида делеция ва қайта чиқиши ва кириш даврида 180ºбурилиш оқибатида инверсия келтириб чиқаради. Траспозонлар ўзларирепликацияга учрамайди, фақат геном таркибида кўпайиши мумкин. Ҳар биртранспозон таркибида махсус структура генлари тутганлиги учунбактерияларда фенотипида янги белги ва хусусиятлар намоён бўлади. Масалан,антибиотикларга чидамлилик хусусиятини намоён қилувчи генлар тутишимумкин. Битта бактерия ўзининг таркибида бир нечта транспозонлар тутади.

Is- элементлар – кичик ДНК фрагменти бўлиб, таркибида 800-1400 жуфтнуклеоид тутади. Уларда структура генлари учрамайди, фақат бошқарувчи,транспозицияга учратувчи генлар тутади, яъни транспозон, плазмид, мўътадилфагларни ва ўзини бактерия геномга кириши, чиқишини кординация қилиббошқаради.

Мўътадил фаглар (μ– фаг) – плазмидларга ўхшаш бўлиб бактерияхромосомасига интеграция бўлиши ёки автоном ҳолда цитоплазмада учрашимумкин. Бактерия геномига бирикиши (профаг) бактерияда янги белгихусусиятларни ҳосил қилиши мумкин. Мўътадил фаг тутувчи бактерияларлизогенли бактериялар деб аталади ва бошқа фагларга нисбатан толерант бўлибқолади**.**

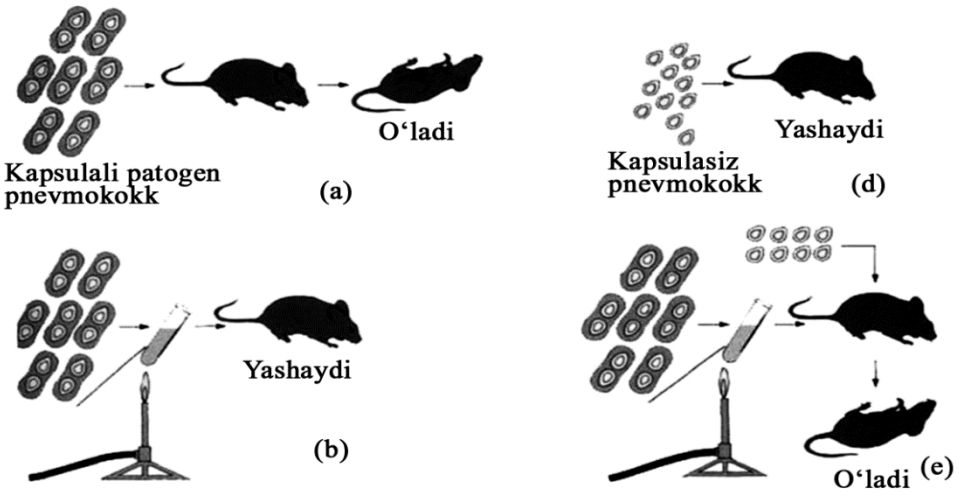
9.2. Бактериялардаги ўзгарувчанлик турлари.

Бошқа организмлар, жумладан юқори даражали организмларгенетиканинг қайси қонунларига бўйсунса, микроорганизмларнингўзгарувчанлиги ва ирсияти ҳам ўша қонуниятларга бўйсунади.

Микроорганизмларда фенотипик ва генотипик ўзгарувчанлик тафовутқилинади.

Фенотипик ўзгарувчанлик ёки модификациялар- бу ўзгарувчанликгеномга алоқадор бўлмайди, ўзгаришлар наслдан-наслга ўтмайди ва уларникелтириб чиқарувчи омиллар таъсири тўхтатилиши билан бартараф бўлади вабактериялар асл хусусиятига ёки кўринишига қайтади.

Генотипик ўзгарувчанлик – ҳужайра геномида ўзгаришлар рўй берадива геномдаги ахборотларга таъсир кўрсатади. Бунда бактерияларда янги белгихусусиятлар вужудга келиши ёки уларни йўқотиши кузатилади ва бухусусиятлар наслдан – наслга ўтиши мумкин. Генотипик ўзгарувчанликасосида мутация ва рекомбинациялар ётади.



9.2-расм. Трансформация ходисасини сичқонлар орқали тажрибада кўриш.

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 алмашинувибўлиб, маълум бир белги хусусиятга эга бўлган рекомбинат бактериялар ҳосилбўлади. Бактерияларда қуйидаги рекомбинация турлари тафовут қилинади.

1. Конъюгация
2. Трансформация.
3. Трансдукция.

4. Протопластларни ёпишиши (слияние).

Конъюгация- генетик материални донордан рецепиентга бевоситабактериялар тўқнашишида ўтишига айтилади. Генетик материални бирбактериядан иккинчисига ўтказишни F- плазмидлар бошқаради (инглизча*fertility*-пуштлилик деган сўздан олинган). Донор билан рецепиент ўртасида ҳосил бўлган конъюгацион кўприкча қанчалик узоқ турса, шунчалик ирсиймаълумот кўпроқ ўтади.

Трансформация- ДНК донор сақловчи муҳитдан ДНК маълум ажралганфрагментини рецепиент ҳужайрасига ўтказилишига айтилади. Трансформациятажрибасини сичқонларда кўриш мумкин (расм 50). Расмдан кўринибтурибдики сичқон (а) капсулали патоген пневмококк юқтирилгандаўлади, капсуласиз пневмококк юборилганда (б) ўлмайди, капсулали формаси қиздирилганда эса (в) сичқонлар яна ўлмай қолган, қиздирилган капсулали ватирик капсуласиз формаси аралаштириб юқтирилганда сичқон ўлиб (г) унингорганизмидан тирик капсулали пневмококк ажратиб олинган.

Трансформация даврида рецепиент ҳужайралар ўзига хос бўлганкомпетентлик ҳолатида бўлади. Бу ҳолат рецепиент бактерияларнинг активбўлиниш даврига тўғри келиб, уларда айнан шу даврда ўзининг нуклеинкислотасини репликацияси рўй бераётган бўлади. Бактерия ҳужайраларини будаврида махсус компитенцион фактор таъсир этади – бу оқсил ҳужайрадеворлари ва цитоплазматик мембранани ўтказувчанлигини ошириб юборади.

Шунинг учун ДНК фрагменти рецепиент ҳужайрасига кириши ва геномигабирикиши кузатилади.

Трансдукция – донор ҳужайрасидан генетик маълумотни рецепиентҳужайрасига мўътадил фаглар ёрдамида ташиб ўтказилишига айтилади.

Трансдукцияловчи фаглар донордан битта ёки бир нечта генларини ўтказишимумкин. Трансдукция бўлади:

1. Махсус трансдукция (мўътадил фаглар хромосоманинг доим бирқисмидан жой олади ва ўзи билан ёнма-ён жойлашган маълум генни олибўтказади).

2. Махсус бўлмаган трансдукция (мўътадил фаглар хромосомани турлиқисмларига жойлашиши ва турли генларни ўтказиши мумкин).

Протопластларни ёпишиши – генетик материални алмашинуви ҳужайрадевори йўқ бактерияларнинг цитоплазматик мембраналарни ўзаро контактинатижасида рўй беради.

9.3. Генотипик ўзгарувчанлик бўйича услубий кўрсатмалар.

***Proteus vulgaris* бактериялар культурасининг ҳаракатига фенолнинг таъсир қилиш механизмини аниқлаш бўйича тажриба ўтказиш.**

Бир кунлик культура озиқ 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. Протей культурасининг ҳаракати модификацион ёки мутацион ўзгариш натижасида бўлганми-йўқлигини аниқлаш учун фенол Қўшилмаган пробиркадан бульонли бошқа пробиркагаэкилади ва бир сутка давомида термостатга қўйилади. Сўнгра шу культурадан «осилган»томчи препарати тайёрланиб, ҳаракати текширилади. Йўқолган белгининг қайтадантикланиши (реверсия) модификацион ўзгариш эканлигини кўрсатади.

Трансформация тажрибасини ўтказиш. Рецепиент - *Bac. subtilis* Strs (сомон таёқчаси,стрептомицинга чидамсиз) штамми. Донор -*Bac. subtilis* Strs (стрептомицинга чидамли)штаммдан ажратиб олинган ДНК, таркибида 100 ТБ/мл стрептомицин бўлган озиқ агар,рекомбинантларни (трансформантларни) ажратиб оладиган селектив муҳит бўлиб хизматқилади.

1 мл *Bac. subtilis* бульонли культурасига 1 мкг/мл донорнинг ДНК қўшилади. Аралашма 37^0С 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 штамминг бактериал ҳужайраларига кира олмаган ДНК ни парчалайди. Ҳосил бўлган стрептомицинга чидамли рекомбинантларни (трансформантларни) аниқлаш учун 0,1 мл суюлтирилмаган аралашмадан (чунки трансформацияланган ҳужайралар сони жуда ҳам кам) Петри косачасидаги селектив муҳитга экилади. Рецепиент культуранинг ҳужайра 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, озиқ агарга экилади, контрол учун эса стрептомицинли агарга ҳам экилади. Охирги муҳитдарецепиент культура ўсмайди, чунки у стрептомицинга чидамсиз. Экмалар 37°С да инкубацияқилинади. Кейинги куни тажрибанинг натижаси кўрилади ва трансформация тезлиги, ҳосилбўлган рекомбинант ҳужайралар

сонининг, реципиент бактериялар сонига бўлганнисбати билан аниқланади.

Масалан, 0,1 мл рецепиент штаммнинг 10^{-5} даражагача суюлтирилган культурасиэкилганда 170 та колониялар ўсиб чиқди, суюлтирилмаган культурасидан 0,1 мл экилганда - 68 та рекомбинант штаммлар колонияси пайдо бўлди. Ҳар бир колония бир донабактериянинг кўпайишга натижасида ҳосил бўлганлиги учун 0,1 мл экилган рецепиентштаммнинг культурасида яшаш қобилиятига эга бўлган 170 • 10^5 та ҳужайра, 1 мл да эса - 170 х 10^3 ёки 1,7 х 10^8 та бўлади. Шу вақтнинг ўзида 0,1 мл аралашмада 68 рекомбинантҳужайра, 1 мл да эса — 680 ёки 6,8 х 10^2 ҳужайра мавжуд бўлади. Шундай қилиб,трансформация тезлиги юқоридаги тажрибага кўра қуйидагига тенг бўлади:

$$\frac{6.8 \cdot 10^2}{1.7 \cdot 10^5} = 4,0 \cdot 10^6$$

Специфик трансдукция тажрибасини ўтказиш. Рецепиент — лактозаферментациясини назорат қилувчи β-галактозидаза оперонидан маҳрум бўлган *E. coli lac* (-)штаммидир. Трансдукция қилувчи фаг — фаг *X* dgal геномидаги генларнинг бир қисми *E.coli* нинг β-галактозидаза *E. coli* оперони билан алмашган. Бу фаг нуқсонли фагдир, яъни уичак таёқчаси ичига кираб, уни лизис қила олмайди ва d ҳарфи ҳамда унга қўшибайтиладиган геномидаги бактерия оперонининг номи — gal билан белгиланади *(*λ dgal фаг).

Эндо муҳити селектив муҳит бўлиб, унда штаммлар рангсиз колониялар ҳосил қилади, чункибу бактериялар лактозаманфийдирлар. Рекомбинант штаммнинг колониялари эса, шумуҳитда лактозамусбат бўлганликлари учун қизил рангли металлга ўхшаш ялтироққколониялар ҳосил қилади.

1 мл 3 соатли, бульонли рецепиент штаммнинг культурасига 1 мл трансдукция қилувчи1 мл да 10^6—10^7 заррача бўлган λ dgal фагдан қўшилади. Аралашма 37°С да 60 мин давомидатермостатда сақланади. Сўнгра ўн мартадан айрим-айрим колониялар олиш мумкинбўлгунича суюлтирилади. 10^{-6} даражага суюлтирилган пробиркадан 0,1 мл дан Эндо муҳитисолинган учта Петри косачасига экилади ва шпател билан бир текис ёйилади. Косачалар биркун давомида термостатда сақланади, сўнг тажриба натижаси қайд этилади ва трансдукциятезлиги рекомбинант (трансдуктантлар)

ҳужайраларининг сони, рецепиент штаммҳужайралар сонига нисбатан аниқланади. Масалан, 0,1 мл аралашманинг 10^{-1} мартасуюлтирилганидан Эндо муҳитига экилганда 138, 170 ва 160 рецепиент штаммнинг рангсизколониялари ҳосил бўлди. Биринчи ва охирги косачаларда — бешта ва битта қизил ранглитрансдуктант колониялар пайдо бўлди. Шунга кўра, трансдукция тезлиги қуйидагига тенг:

$$\frac{(5+1)\cdot 10\cdot 10^{6}\ 6}{(138+170+160)\ 10\cdot 10^{6}\ 468} = \frac{6}{468} = 1{,}3\cdot 10^{-2}$$

Лейцин — синтезини назорат қилувчи, leu генга эга бўлган хромосомафрагментининг берилишини аниқлаш мақсадида конъюгация тажрибаси ўтказиш

Донор-штамм *E. coli* K12 Hfr leu+ Str.s. Рецепиент-штамм - *E. coli* K12 F- leu'Strr.Рекомбинантларни ажратиб олиш учун минимал глюкоза-тузли, яъни (KH_2 PO4 — 6,5 г,$MgSO_4$ — 0,1 г, $(NH_4)2SO_4$ —1 г, Ca $(NO_3)_2$ —0,001 г, $FeSO_4$ — 0,0005 г, глюкоза — 2 г,стрептомицин — 200 ТБ/мл, дистилланган сувдан — 1 л) иборат бўлган, селектив муҳитданфойдаланилади.

2 мл 3 соатли рецепиент культурасига 1 мл донорнинг бульонли культураси қўшилади.Аралашма 37°С да 30 мин давомида термостатга қўйилади. Сўнг аралашма 10^{-2}-10^{-3}даражада суюлтирилади ва 0,1 мл дан Петри косачасидаги селектив агарли муҳитга экилади,бу муҳитда фақатгина рекомбинант колонияси ўсади. Назорат сифатида шу муҳитга донор варецепиент штаммлар экилади, аммо улар ўсмайди, чунки, биринчи штамм стрептомицинга штамминиг культураси стрептомицинсиз селектив муҳитга экилади, рецепиент штамм культураси эса — тўлиқ, антибиотикли, озиқ агарга ўса оладиган ҳужайралар сонини аниқлаш учун экилади. Экилган косачалар кейинги кунгача 37°С да термостатда сақланади. Ўсиб чиққан колониялар сони ҳисоблангандан сўнг рекомбинациянинг тезлиги рекомбинант ҳужайралар миқдорининг реципиент ҳужайралари сони нисбатига кўра аниқланади.

Масалан, 0,1 мл донор ва реципиент культуралар аралашмасидан 10^{-2} даражагачасуюлтириб экилганда 150 та рекомбинант колония, 0,1 мл рецепиент культураси 10^{-6} тачасуюлтириб экилганда 75 та колония ҳосил бўлди. Шундай қилиб, рекомбинация тезлигиқуйидагига тенг бўлади:

$$\frac{150\cdot 10\cdot 10}{1{,}5\cdot 10^{5}}$$

---------- = ---------- = 2,0 · 10^{-4}

75 · 10 · $10^4$7,5 · 10^4

Кўпчилик антибиотикларга: **стрептомицин (Str r), тетрациклин (Тег) вахлорамфеникол (Cmr) га чидамлиликнн назорат қилувчи R-плазмидани ўтказиш учунконъюгация тажрибасини қўйиш.**

Донор-штамм E. coli К12 R+ Ieu –*Str* r Tc r Cm r . Рецециент-штамм E. coli К12 R¯ Ieu + *Str*r Tc r Cm s. Селектив муҳит минимал глюкоза тузли муҳит бўлиб, таркибида юқоридакўрсатилган антибиотикларнинг ҳар биридан 50 мкг/мл бор. Стерил пробиркага 1 мл дан 3соатли донор ва рецепиент бульонли культурасидан қўйилади. Аралашма 37°С да 2 соатдавомида термостатга қўйилади ва 0,1 мл дан таркибида учта антибиотик бўлган селективмуҳитга экилади. Бу муҳитда фақат рекомбинант колониялар (транс-конъюгантлар) ўсади,чунки улар антибиотикларга бўлган чидамлиликни қабул қилган. Донор ва реципиентштаммлар бу муҳитда ўсмайди, чунки биринчиси лейцинга муҳтож, иккинчиси эсаантибиотикка чидамсиз. Трансконюгантларнинг шаклланиш тезлиги трансконъюгантҳужайралар сонининг рецепиент штамм ҳужайралари сони нисбатига кўра аниқланади.

Масалан, 0,1 мл рецепиент штаммнинг 10-4 суюлтирилган культурасидан глюкоза-тузли валейцинли муҳитда 20 та колония, 0,1 мл суюлтирилмаган аралашмадан экилганда - 60 татрансконъюгант колонияси ҳосил бўлди. Шундай қилиб, трансконъюгантлар ҳосил бўлиштезлиги қуйидагича:

60 · 10 6 · 10^2

---------- = ---------- = 3,0 · 10^{-4}

20 · 10 · $10^4$2 · 10^{6}

Колициноген факторларни аниқлаш. Текширилаётган E. coli культуралари озиқ-агардан иборат Петри косачаларига санчилиб (бир косачасига 7—8 та) экилади. Экилганкосачалар 37°С да бир суткага термостатга қўйилади, сўнгра косача қопқоғининг ичкитомонига хлороформ билан шимдирилган пахта қўйилади, натижада бактериялар ҳалокбўлади. Сўнгра агар устига 3 мл эритилган ва 45°С гача совутилган, ярим суюқ (0,7%)озиқ агарга 0,1 мл 4-соатли бульонли индикатор культураси аралаштирилиб, бир текисқилиб қуйилади. Индикатор культура учун колициннинг шу типига сезгир

бўлган E. colікультураси танлаб олинади. Улар 18-24 соат 37°С ли термостатда сақлангандан сўнг,тажрибанинг натижаси кўрилади. Экилган, текширилаётган культураларнинг атрофида, агарколицин ҳосил қилса, тиниқ-ялтироқ зоналар ҳосил бўлади. Бу эса, индикатор штамминингўсиши колицин билан тўхтатилганлигини кўрсатади.

Колицин типини аниқлаш. Петри косачасидаги озиқ-агарга колицин-генотипи аниқбўлган бактерияларнинг эталон штамми санчиб экилади. Материал 37°С да 24 соат давомидатермостатга қўйилади, сўнгра хлороформ буғи билан бактериялар ўлдирилади. Кейин агар Col B ва бошқалар) *E. coli* нинг 4 соатли бульонли культураси билан аралаштирилган ярим суюқ агар бир текис қилиб қуйилади. Орадан 18-24 соат ўтгандан сўнг эталон штаммнинг 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 штаммнинг 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 шужумладан микробиологияда ҳам қўлланилмоқда. Микробиология амалиётида диагностикмақсадда молекуляр гибридизация ва полимераза занжирли реакциялари қўлланилиб, уларўзининг махсуслиги ва ўта сезгирлиги туфайли юқумли касалликлар диагностикасида кенгқўлланилмоқда. 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 қўзғатувчиси патологик материалда борлигини исботлайди.

Молекуляр гибридизация (молекуляр зонд усули) Бу усул икки ипли ДНК молекулясини қиздириш (80-100^{o} С), денатурация ёки ишқор билан ишлов бериш натижасида ДНК занжирининг ажралиши ва унинг ҳароратнинг (ренатурация) пасайиши (40-60^{o}С) оқибатида Н боғлари ёрдамида ДНК занжирнинг даслабки икки ипли кўринишини тикланиши механизимига асосланган.

Ажралган ДНК занжирлари нуклеотидлар жойлашишида комплементар бўлакка эгабўлган бошқа ДНК фрагментлари билан гибридизацияга қодир. Комплементар ипларгибридизациясига

шунингдек, РНК ҳам қодир, ДНК – РНК ёки РНК-РНК комплексини ҳосил қилади.

Молекуляр гибридизация учун зарур бўлган ДНК ва РНК бўлаклари ёрдамидатекширилаётган материалда нуклеин кислотанинг комплементар иплари бор-йўқлигианиқланади ва бу бўлаклар молекуляр зонд деб аталади.

Молекуляр зонд турли хил бактерия ва вируслардан ажратиб олинган нуклеинкислоталаридан тайёрланади ва баъзида вирус иРНК сидан ҳам фойдаланилади. Охиргийилларда 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.

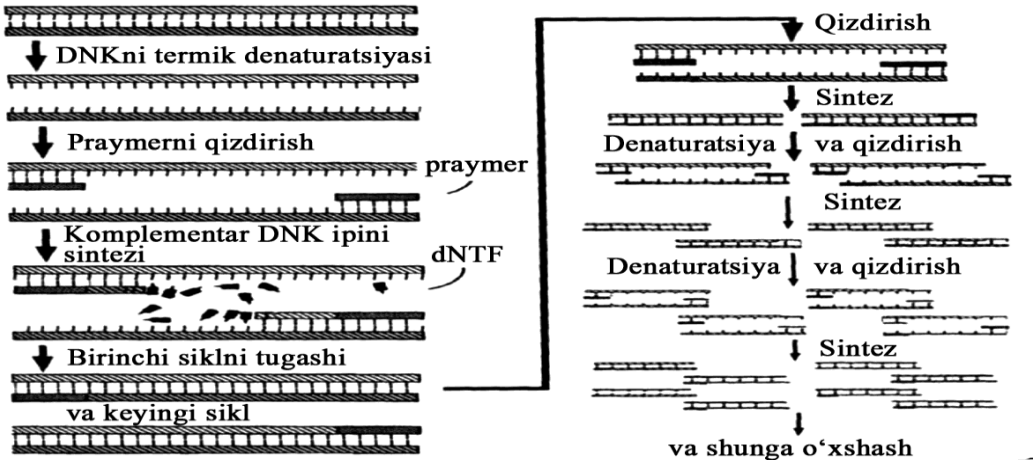
Молекуляр гибридизация реакциясини қўйишда зондлар радиактив (Р-32),флюоресцент ёки биотинли белгилар билан нишонланади ва аниқланаётган текширилувчиматериал билан бирлаштирилади (материал изланилаётган агентни нуклеин кислотасинитутиш мумкин). Агар зонд изланилаётган агентни нуклеин кислотасига комплементар бўлса, унда комплементар участкада гибридизация содир бўлади.

Қайта тикланиш босқичидан сўнг зонд ренатурацияланган нуклеин кислотагабирлашади, 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, масаланиммунофермент 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 иккиипли ДНК молекуласи алоҳида занжирларга термик ажралади. Сўнгра совуган муҳитга ҳарбир 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.



9.3-расм. ПЗР нинг қўйиш схемаси.ДНК-дезоксинуклеотидтрифосфат

Шундан сўнг икки ипли ДНК молекуласи қайта қиздирилади. Алоҳидалашганзанжирлар фаоллашади, праймерларни қабул қилади ва яна қизиш ва совиш жараёнлариниамалга оширади, бунда tag-полимераза термостабил бўлганлиги учун уни қайта қўшилишиталаб 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 унингнусҳаси синтезланиб, тўпланиб қолади ва осон аниқланиб идентификация қилинади. Буреакциянинг юқори сезгирлиги айнан ДНК ёки унинг бўлакларининг амплификациясигаасосланган. Реакцияда қуйидаги ингредиентлар қатнашади:

1. Текширилаётган биологик материалдаги изланилаётган инфекцион агентнинг ДНК си;

2. 2 хил типдаги праймерлар (олигонуклеотидлар) нуклеотидлар кетма-кетлигига эгаДНК нинг қисқа занжири. Бу занжир изланилаётган ДНК нинг ҳар иккала ипига ҳамкомплементар бўлади. Праймерлар

турли хилдаги бактерия ва вируслар нуклеинкислотасидан ва синтетик олинади.

3. Эркин нуклеотидлар- амплификацияни амалга ошириш учун керак бўлган материал;

4. Термостабил ДНК – полимераза ферменти- эркин нуклеотидлардан комплементарДНК 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 ўрганишимконини беради.

Изланилаётган ДНК нусхасининг идентификацияси полиакриламид гелда электрофорез ёрдамида ёки авторадиография (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 бактериалинфекцияларда (бруцеллёз, легионеллёз, микобактериоз, хламидиоз) қўлланилмоқда.

Охирги йилларда ПЗР юқумли касалликлар лаборатория ташҳисида экспресс- усулсифатида катта аҳамиятга эга бўлиб бормоқда.

9.4.Юқумли касалликлар ва юқумли касаллик жараёнлари.

Юқумли касаллик (инфекция) ва жараёнлар- организмга патогенқўзғатувчиларнинг кириши ва тўқималарнинг уларга ҳамда улар ишлабчиқарадиган токсинларга биологик жавоб реакциялар йиғиндиси ҳисобланади.

Юқумли касалликнинг диопазони турлича бўлиб, унинг охирги кўринишиқуйидагича бўлади:

1. Бактерия ёки вирус ташувчилик (персистенция -геномга вирусларникириб олиши).

2. Юқумли касаллик (касалликнинг клиник жиҳатдан намоён бўлиши);

Юқумли касаллик келиб чиқиши қуйидаги факторларнинг ўзаромуносабатларига боғлиқ:

1. Микроб агентини бўлишига;

2. Макроорганизмнинг берилувчанлигига;

3. Мунособатлар рўй бераётган муҳитга;

Юқумли касаллик қўзғатувчиси ва уларнинг хусусиятлари

Бактериялар ичида қуйидагилари касаллик келтириб чиқаради:

1. Патоген турлари;

2. Шартли патоген турлари.

Патоген турлар- нисбий юқумли касаллик келтириб чиқариш хусусиятигаэга микроорганизмлар, микроорганизмларнинг касаллик келтириб чиқаришиуларнинг патогенлик ва вирулентлик хусусиятларига боғликдир.

Патогенлик – тур белгиси бўлиб организмга патоген қўзғатувчиларнингкириши ва тўқималарда патологик ўзгаришларни келтириб чиқаришитушунилади. Патогенлик хусусияти бактерия геномида ёки уларнингтаркибидаги плазмидлар, транспозонлар таркибида бўлиши мумкин.

Шартли патогенлар касаллик келтириб чиқариши мумкин, қачонкиорганизмнинг ҳимоя резистентлиги пасайиб кетиш оқибатида. Бактерияларўзларини патогенликларини вирулентлик хусусиятлари орқали амалгаоширишади.

Вирулентлик-штамм белгиси бўлиб, бу хусусиятни миқдорий ҳисоблашмумкин. Вирулентлик патогенликни фенотипдаги кўриниши ҳисобланади.

Вирулентлик факторларига қуйидагилар киради:

1. Адгезивлик- бактерияларнинг эпителийлар юзасига ёпишиб олиши.

Адгезив факторларга бактерияларни киприкчалари, адгезив оқсиллари, грамманфий бактерияларда полисахаридлар, граммусбат бактерияларда тейхойкислотаси, вирусларда махсус суперкапсид оқсиллари, гликопротеинларкиради;

2. Колонизация- бактерияларнинг шиллиқ қават ва ҳужайра юзаларидакўпайиб йиғилиб қолиш хусусияти;

3. Пенетрация- ҳужайраларга кириш қобиляти;

4. Инвазивлик- тўқималардан ўтиш ва тарқалиш қобиляти. Бактериялардабу хусусиятни улар ишлаб чиқарувчи патоген ферментлар (гиалуронидаза,нейраминидаза) амалга оширади.

5. Агрессив хусусияти- организмнинг номахсус ва махсус иммун ҳимояомилларига қарши курашиши.

Жадвал 9,2.

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 нейтрализация бўлиши	Тўлиқ нейтрализация бўлади	Қисман нейтрализация 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)

Агрессив факторларга киради:

1. Ҳужайранинг юза структурасига кирувчи турли табиатли моддалар(бактериялар капсуласи, юза оқсиллари ва бош., бу структуралар лейкоцитлармиграцияси ва фагоцитозни сустлаштириши мумкин);

2. Патоген ферментлар- протеазалар, коагулаза, фибринолизин, лецитиназа,РНК-за, ДНК-за;

3. Бактериал токсинлар- бактерияларнинг касаллик келтириб чиқарувчизаҳарли моддалар ҳосил қилиши. Токсинлар эндо- ва экзотоксинларга бўлинади(Жадвал 24).

9.5.Лаборатория ҳайвонларга микроорганизмларни экспериментал юқтириш.

Инфекцион жараённи сунъий равишда лаборатория ҳайвонларига юқтириб олиб боришмумкин: қуён, денгиз чўчқачаси,оқ сичқон, оқ каламуш ва бошқаларда юқумли жараённиқўзғаш мумкин. Ҳайвонларга экспериментал юқтириш қуйидаги мақсадларда амалгаоширилади:

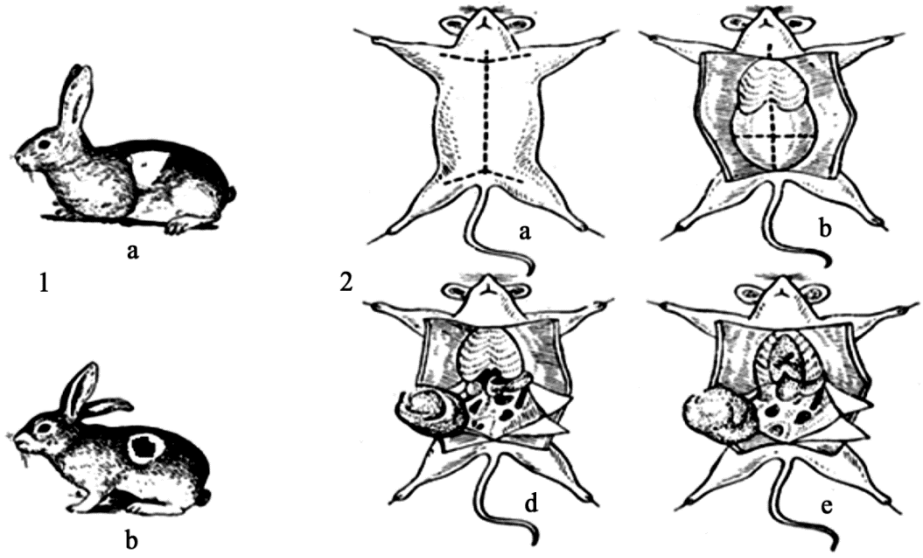
1) микроорганизмларнинг патогенлик ва вирулентлик хусусиятпни текшириш;

2) қўзғатувчининг соф культурасини турли материаллардан ажратиб олиш (биосинама);

3) экспериментал равишда инфекцияни келтириб чиқариш, даволаш учунишлатиладиган 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 билануларга касаллик юқтирилади. Тажрибани бошлашдан олдин ҳайвонлар танланади, тортиладива белгиланади. Сичқонга юқтиришда уни думидан ушлаб, стол устига қўйилади, танасиикала бармоқ билан столга босилади, сўнгра сийпалаб туриб, бошидаги териси ушланади,чап қўл билан тортилган ҳолатда жойлаштирилади. Маълум концентрациядаги микробшприцга игна билан тортиб олинади. Шприц ручка перосини ушлангандек, ўнг қўлдаушланади. Тери остига юқтирилганда елкадаги тери қаватига ёки дум илдизига игнасанчилади ва аста-секин шприц ичидаги микроб юборилади. Сўнгра игна тезда тортиболинади, ўрнига спирт билан ҳўлланган пахта қўйилади.

Қорин ичига юқтирилганда ҳайвон боши пастга қаратилади, чунки бу ҳолатда ичаклардиафрагма томон сурилади, қориннинг чап томонидаги пастки учдан бир қисмига игнасанчилади, сўнгра ўткир бурчак остида игнани ушлаб турган ҳолда шприц қорин деворига



Расм 49. Лаборатория ҳайвонларига экспериментал юқтириш.1. Қуён терисида некроз ҳосил қилиш синамаси (а-манфий; б-мусбат). Экспериментал микроб юқтирилган сичқонларни ёриш схемаси (ёриш босқичлари –а, б, в, г)

9,4 расм

перпендикуляр ҳолатга келтиради ва туртиб қорин пардаси тешилади, сўнгра шприцдагиматериал юборилади. Инструментлар қайнатиш усули билан стерилланади.

Оқ сичқон жасадини бактериологик текшириш (9.4-расм). Ҳайвон ўлимига сабабчибўлган микробни, унинг организмда

жойлашган ўрнини аниқлаш ва соф культурасиниажратиб олиш учун микроб юқтирилган ҳайвон ўлган заҳоти бошқа микроблар тушмаслигиучун 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 тўғнабқўйилади.

Антисептикларнинг бири билан териси яхшилаб артилади. Ёриш эса, стерилланганинструментлар билан амалга оширилади.

Пастки жағидан, қовуғига қадар тўғри кесилади, эҳтиётлик билан тери икки томонгаажратилади. Тери остидаги клетчатка ва лимфа тугунлари ҳолати текширилади; керакбўлганда улардан суртма (тамға) тайёрланади ва материал экилади.

Кўкрак бўшлиғи эса тўш суягининг ханжарсимон усимтаси тагидан ва қовурғаларданкўндалангига, тўшга параллел равишда кесиб олинган бўлакча ажратиб олиниб, кўкракбўшлиғидаги органлар текширилади, экссудат бор ёки йўқлиги эса, баённомага ёзилади. Юракдан қон олиб экиш учун унинг юза қисми қиздирилган пинцет учи биланкуйдирилади ва стерилланган пастер пипеткаси ёрдамида капилляр юрак бўшлиғигакиритилади. Сўнгра пипеткадаги қон томчилари муҳитли пробиркага қуйилади. Ўпкатўқимасидан суртма-тамға тайёрланади ва экилади.

Қайчи билан тўғри қилиб қорин бўшлиги очилади, бунда ичаклар жароҳатланмаслигикерак. Қорин бўшлиғидаги органлар текшириладп. Протоколда экссудат борлиги, жигар,талоқ, буйрак усти бези, мезентериал лимфа безларининг катталиги, ранги ваконсистенцияси кўрсатилади.

Зарур бўлганда шу органлардан озиқ муҳитларга экилади. Босма-суртма тайёрлашучун жигар, талоқ, буйракдан кичкина бўлаги кесилади ва пинцет билан олиниб, буюмойначасига уларнинг юзаси теккизилади. Суртма-тамға суюқ фиксаторда фиксацияланади ваметилен кўки билан бўялади. Микроскоп остида кўрилганда орган ва тўқималарда микробборлиги аниқланади. Экилган материаллар натижаси бир суткага термостатга қўйилгандансўнг кўрилади. Жасад ёрилганда олинган маълумотлар баённомага ёзилади. Ҳайвон танасиёрилгандан сўнг йўқ қилиниши лозим.

9.6. Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсинлар кучини баҳолашусуллари

Бактерияларни токсигенлиги тўлиқ ёки қисман атроф-муҳитда ажралувчи фенотипиктарзда оқсил токсинларининг ҳосил бўлиши билан намоён бўлади.

Ҳужайра деворидаги липополисахарид қаватининг компоненти ҳисобланганэндотоксинлар бактерия ҳужайраси парчалангандан сўнггина ажралади ва макроорганизмтўқималарига заҳарли таъсир кўрсатади.

Патоген бактериялар вирулентлиги ва токсигенлиги ўзича ҳар хил, аммо патогенгенотипи 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-I DLM деб қабул қилинади. Кўпинча аниқ, миқдорҳисобланган LD50, яъни юқтирилган ҳайвоннинг 50 фоизини ўлдирадиган бирликданфойдаланилади.

Бактериялар вирулентлиги ёки токсиннинг таъсир кучини аниқлаш.

Текшириладиган препаратлар маълум дозаларда бир группа лаборатория ҳайвонларигаюборилади. Кейинчалик улар ҳалокатини руйхатга олиб борилади ва препаратнингўлдирадиган миқдори аниқланади. Бу тажрибани ўтказишда шароитлар мумкин қадарстандарт: ҳайвонларнинг тури, жинси, оғирлиги, уларнинг яшаш шароити, овқатланишинингтўлиқлиги ва бошқалар бир хил бўлиши лозим. Ўн мартадан суюлтирилган бир қатор токсин(ёки бактерия культураси) бир группа ҳайвонларга юборилади. Маълум вақт ўтгандан сўнгулар бир группада ўлган ҳайвонлар сони белгиланади ва LD50 ҳисоблаб чиқарилади.

Дермотонекротик синама. Қуён териси орасига ингичка игнали туберкулин шприцибилан 0,2 мл бульонли текширилаётган культура юборилади. 2-3 суткадан сўнг культураюборилган ерда — терида некроз ҳосил бўлса, у ҳолда намуна мусбат ҳисобланади (49-расм).

Кератоконъюнктивал синама. Бактериянинг бир кеча-кундузли, агарли культурасинидиаметри 5 мл бўлган стандарт қовузлоқ билан денгиз чучқачаси кўзининг пастки қисмигаюборилади. 2—4 кундан сўнг кўзнинг шиллиқ. қаватлари қизаради, мугуз пардахиралашади, йиринг пайдо бўлиб, яра ҳосил бўлиши мумкин (Шерен синамаси), яъникератоконъюнктивит намоён бўлади.

Бактерияларнинг инвазивлик хусусиятини таъминлайдиган ферментларнианиқлаш.

1. Гиалуронидаза гиалурон кислотани гидролиз қилади, натижада гиалурон кислотасирка кислотаси билан биргаликда муцин ҳосил қила олмайди. Бу ферментни аниқлашучун, таркибида гиалурон кислотаси бўлган субстратли пробиркага бир суткали бактериякультураси ёки бульонли культуранинг фильтрати томизилади ва 15 мин давомида37°С да термостатга қўйилади. Сўнгра устига 2—3 томчи кучли сирка кислотаситомизилади. Гиалуронидаза бор пробиркада ивиш ҳосил бўлмайди.

2. Плазмакоагулазани аниқлаш учун текширилаётган культурани, қуённинг(1:5 нисбатда суюлтирилган) 0,4 мл стерил цитрат плазмасига экилади. 2-5 соатга 37°Сда термостатга қўйилади. Агар фермент бўлса, плазма ивийди ва контрол пробиркадаплазма суюқ ҳолда сақланади.

3. Гемолизинни аниқлаш мақсадида текширилаётган культурани Петрикосачасидаги қонли агарга экилади. Улар 37°С да термостатда бир сутка давомидасақланади. Агар натижа мусбат бўлса у ҳолда микроб колонияси атрофида гемолиззоналари ҳосил бўлади.

4. Лецитовителлазани аниқлаш учун тухум сариғини тузли агарга текширилаётганкультура 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 парчалаши ҳисобига).

10 БОБ. ИММУНОЛОГИЯ.ИММУНИТЕТ ХАҚИДА ТУШУНЧА. ИММУНИТЕТ ТУРЛАРИ.ОРГАНИЗМНИНГ МАХСУС ВА НОМАХСУС ҲИМОЯ ОМИЛЛАРИ.

10.1.Иммунитет ва организмнинг ҳимояланиш омиллари

Иммунитет ва унинг асосий хусусиятлари ва муаммоларини – иммунология фани ўрганади.

Иммунитет – индивидумнинг ичкий муҳити таркибини (гомеостаз) доимобир ҳилда сақланишини таъминловчи биологик омиллари бўлиб,организмнинг генетик бегона ҳужайра ва юқумли касаллик агентларига қарши ҳимояланиш хусусиятларига айтилади. Иммунитетнинг кўриниши кўп қиррали бўлиб, унинг асосий вазифаси ўзиникидан бегонани ажратиш ҳисобланади.

Иммунитет, юқумли касалликларга (инфекционным), ўсмаларга (противоопухолевым) қарши ва трансплантацион бўлиши мумкин; Иммунитетнинг асосий реакцияларини иммун система келтириб чиқаради, унинг асосида махсуслик механизмлари ётади.

Инфекцион иммунитет 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. Стерил иммунитет (қўзғатувчи организмда йўқ, лекин, унга қаршиимунитет бор.

2. Ностерил иммунитет (қўзғатувчи организмда бўлади).

Организмнинг ҳимояланиш турлари:

1. Организмнинг махсусҳимояланиши (иммунитет);

2. Организмнинг номахсусҳимояланиши.

Организмнинг махсусҳимояланиши (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 ҳисобланади 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 –плацентар иммунитет) мумкин. Шунинг учун янги туғилган чақалоқлар бир неча ой юқумли касалликлардан ҳимояланган бўлади.

Ҳаёт давомида ортирилган иммунитет- ҳимояланишни бу тури ўта махсус бўлиб ҳар бир индивид ўзининг ҳаёти давомида юқумли касаллик қўзғатувчиларига берилмаслик хусусиятларини шакллантиради ва табиий ва сунъий бўлади. Ҳаёт давомида ортирилган табиий иммунитет ўз навбатида актив ва пассив шаклланиши мумкин.

Ҳаёт давомида орттирилган табиий актив иммунитет юқумли касалликбилан оғриб ўтилгандан кейин, узоқ вақтга ёки бир умрга шаклланади(қизамиқ, кўкйўтал, бўғма касалликларига қарши).

Ҳаёт давомида орттирилган табиий пассив иммунитет- она сути орқаличақалоққа иммуноглобулин, лимфоцит, лейкоцитлар ва бошқа факторларкўринишида ўтказилади.

Ҳаёт давомида ортирилган сунъий иммунитет ҳам ўз навбатида иккикўринишда актив ва пассив шаклланади. Ҳаёт давомида ортирилган сунъийиммунитет актив формаси турли антиген препарат-вакцина ва анатоксинларниюбориш орқали шакллантирилади, пассив формаси эса тайёр иммун зардоблар ва иммуноглобулинлар юбориш билан ҳосил қилинади. Ҳаёт давомида ортирилган сунъий иммунитетни шакллантириш орқали юқумликасалликларни олди олинади.

Организмнинг номахсус ҳимояланиши – ҳимояланишни бу туриэволюцион жараёнда юқумли касалликларга қарши шаклланган бўлибқуйидаги кўринишда бўлади:

- механик тўсиқлар (барьерлар);
- физик-кимёвий;
- иммунобиологик.

Бу омилларга киради:

1) тери ва шиллиқ қаватларнинг ҳимоя омили;

2) лимфотик тугинлар (оғиз бўшлиғи ва ошқозон ичак тизимида);

3) лизоцим ва бошқа ферментлар (оғиз бўшлиғи, ошқозон ичак тизими васийдик таносил органларида);

4) нормал микрофлора;

5) яллиғланиш омиллари;

6) фагоцитловчи ҳужайралар;

7) табиий киллер ҳужайралари;

8) комплемент системаси;

9) интерферонлар;

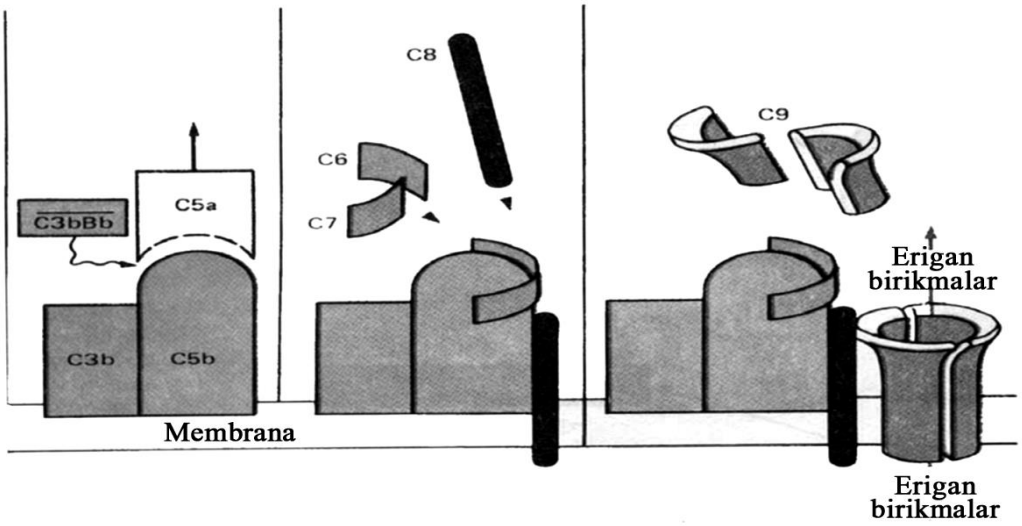
Тери ва шиллиқ қаватлар. Бу оммиллар механик ва физико-химикрезистентликларга киради. Микроблар асосан организмга тери ва шиллиққаватлар орқали киради. Юқори қават эпителий ҳужайраларининг доимоянгиланиши, тери ва ёғ безлари ажратмалари, шиллиқ қават суюқликларимикробларининг киришига тўсқинлик қилиб, тери ва шиллиқ қаватларни тозалаб туради. Тери фақат механик тўсиқ вазифасини ўтаб қолмай, бактерицид (микробларни ўлдирувчи) таъсирга ҳам эга. Бу тери муҳитининг кислотали эканлиги (pH–5,5)

(сут, сирка ва ёғ кислоталари ҳисобига) ва тери безлари ишлаб чиқарадиган ҳар хил омилларга боғлиқ. Бундан ташқари шиллиқ қаватлар ҳам маълум тўсиқ вазифасини ўтайди.

Махсус бўлмаган ҳимояланишга қон ва бошка суюқликлардаги биологикактив моддалар (лизоцим ферменти, комплемент, препердин ва лизинлар,эритрин, лейкинлар, С-реактив оқсил ва ошқозон суюқлиги киради.

Лизоцим ферменти- кимёвий жихатдан ацетилмурамидаза бўлиб, асосанорганизмда суюқликларда учраб, кўз ёшида, сўлак таркибида, балғамда, қонда, кўкрак сутида кўп миқдорда бўлади. Лизоцим граммусбат бактерияларни деворидаги пептидогликан полисахаридини дисахаридларгача парчалаб, бактерияларнинг ҳужайра деворини эритиб юборади. Грамманфийбактерияларнинг ҳужайра деворидаги пептидогликан полисахариди ҳужайрадеворининг ички қобиғида жойлашганлиги учун, лизоцим ферменти бубактерияларга кучли таъсир эта олмайди. Лизоцимга вируслар ҳам инертҳисобланади.

Комплемент – одам ва ҳайвон қон зардобининг таркибида учрайди. Оқсил бирикмаларидан таркиб топгандир, Қонда 20 тадан ортиқ оқсил фракцияси учрайди, шулардан 9 таси яхши ўрганилган С1, С2,…С9. Комплемент иссиққа чидамсиз бўлиб, 56^0С 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 охиргифракцияни активлашуви натижасида мембранага ҳужум қилувчи фактор(МҲФ) ҳосил бўлади (расм 50), бу эса комплементни активлашувига сабаббўлган омилни (ҳужайра, эритроцит, бактерия ва бош.) ҳалок қилади.



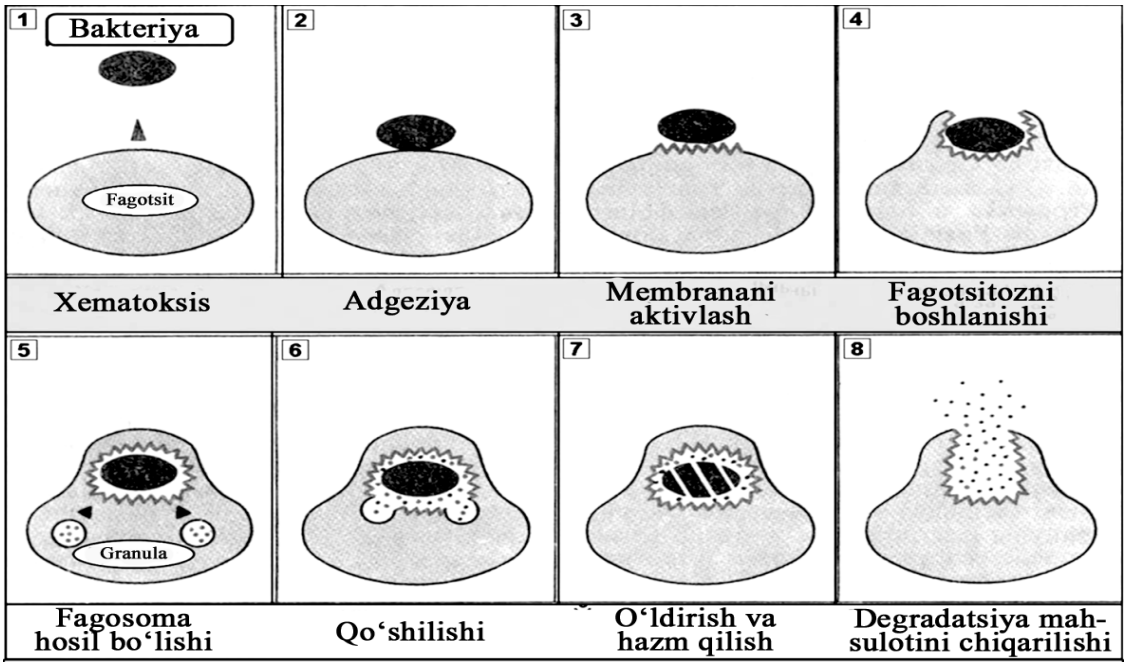
10.1-расм. Комплементнинг фаоллашув схемаси

Қон зардобида комплементнинг энг кўп миқдорли компоненти С3 (1,2мг/мл) ҳисобланади. Комплементорганизмда махсус ва махсус бўлмаганҳимояланишларда қатнашади. Комплементни организмда ҳосил бўлган махсус (АТ+АГ) комплекси активлаштириши мумкин. Комплементни буактивлашувини классик активлашув дейилади ва организмнинг махсусҳимояланишида қатнашади, яъни бу активлашув организмга патогенмикроорганизмларни кириши унга қарши антителалар ҳосил бўлиши биланбоғлиқ. Комплементни иккинчи активлашуви альтернатив деб аталади, чункикомплементнинг бу активлашуви классикдан кейин кашф қилинган, лекин буактивлашув классик ативлашувдан анча илгари шаклланган.Шунинг учун ҳам кўплаб микроорганизмлар комплементни АТ+АГ комплекси бўлмаса ҳамактивлаштириши мумкин, бунда ҳам юқоридаги активлашув сингари бўлади,лекин унинг интенсивлиги анча паст бўлиб, биринчи махсус бўлмаган ҳимояомилларига киради.

Организм суюқликларида лизоцим ва комплемент моддалардан ташқари,секретор иммуноглобулин А ва интерферонлар ҳам бўлиб, маҳаллийиммунитетни таъминлашда бу моддаларнинг аҳамияти катта. Секретор IgАбактерия ва вирусларга ёпишиб, уларни эпителиал ҳужайраларнинг юзақисмига ёпишишини (адгезияни) камайтиради. Организмда механик тўсиқвазифасини sIgA дан ташқари қўшувчи тўқималар таркибидаги гиалурон ванейрамин кислоталари ҳам бажаради. Микробларнинг бириктирувчи тўқимаичига кирмаслигини гиалурон кислотаси, маълум бир бактерия вавирусларнинг ҳужайра ичига кирмаслигини эса нейрамин кислотаситаъминлайди.

Лимфа тугунлари. Тери ва шиллиқ қават “тўсиқларини” енгиб ўтганмикроорганизмлар лимфага тушади, лимфа тугунлари патоген бактерияларнитутиб 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 тўқималардаучровчи фагоцит ҳужайралари ҳам киради. Лейкоцитар ва ретикулоэндотелиал системасидаги ҳужайраларнинг биологик реакцияси туфайли, организмга кириб олган микроблар ва ёд зарралар, юқорида қайд қилинган ҳужайралар томонидан актив қамраб олиниб йўқ қилинади. Бу ҳужайраларнинг микроб ва ёд зарраларга қарши организмда курашиш фаолиятини **фагоцитоз** ходисаси деб аталади.



10.2-расм. Фагоцитоз системаси даврлари (схемаси)

Фагоцитоз реакциясининг босқичлари: Фагоцит ҳужайрасини объектгаяқинлашуви, мусбат хемотаксис, адгезия – объектни ҳужайра рецепторларибилан тутилиши, ҳужайра мембранасини активланиши,

объектни ютилиши,фагоцит ҳужайрасида фагосомани ҳосил бўлиши, фагосома билан фагоцитҳужайрасидаги гранулаларни бирикиши, объектни парчаланиши ва парчаланган (деградация) объект парчаларини ҳужайрадан чиқариб ташланиши (10.2-расм).

Фагоцитоз ходисасининг тугалланган ва тугалланмаган турлари тафовутқилинади. Тугалланган фагоцитоз ходисасида, фагоцит ҳужайраси қамраболган микробни ёки майда заррани бутунлай эритиб, парчалаб юборади. Баъзибир юқумли касалликларда (сўзак, сил, мохов, лейшманиоз) фагоцитозтугалланмай қолади. Бу ҳолатда фагоцитоз қилинган микроорганизм фагоцитҳужайраси таъсирида ҳалок бўлмасдан, балки фагоцит ҳужайрасида узоқ вақтушланиб қолиниши ва кўпайиши мумкин. Тугалланмаган фагоцитозда патогенбактерияларни салбий таъсири натижасида фагоцит ҳужайраси ҳалок бўлишиёки патоген бактериялар учун кўпайиш, яшаш манбасига айланиши мумкин.

Организмнинг носпецифик ҳимояланишидаги бу камчилиги юқорида баён қилинган касалликларда, шу касалликни ўткир формасидан сурункалиформасига утишига олиб келади. Бемор эса шу касалликни кузгатувчисиниташиб юрувчисига айланади.

Одам организмида бир қанча моддалар ва факторлар фагоцитоз ҳодисасини тезлаштиради, буларга: комплемент, гистамин, гетероген моддалар, электролитлар кальций ва магний тузлари, лимфокинлар, антителалар –опсонинлар ва бактериотропинлар шулар жумласига киради. Фагоцитоз ҳужайралари, организмда фақат махсус бўлмаган ҳимояланишни бажарибгина қолмай, балки махсус иммун жавобда ҳам қатнашади, яъни Т ва В лимфоцитлар учун микроорганизмлар антигенини аниқлаб берувчи (антиген презентант) ҳужайралар ҳисобланади.

Организмнинг нормал микрофлораси ҳам махсус бўлмаган ҳимояланишда қатнашади. Нормал микрофлоранинг баъзи бир вакиллари патоген микроорганизмларга нисбатан антогонистик муносабатда бўлади. Масалан, ичак таёкчаси «Col» фактор ишлаб чиқаради, бу фактор антибиотик таъсир меҳанизмига эгадир (қорин тифи, ичбуруғ касалликларида).

Методик кўрсатмалар

Лизоцим ферменти организмнинг бошқа гуморал носпецифик ҳимояфакторлари билан бир қаторда организмда кетаётган патологик жараёнларнивожланишини баҳолашда муҳим аҳамиятга эгадир.

Лизоцим ферментинибиологик суюқликларда аниқлашни бир неча усуллари мавжуддир.

Сўлак таркибидаги лизоцим ферментини тажрибада қоғозли дискусулида аниқлаш.

Текширилаётган сўлак фильтр қоғозли дискга стерил пинцет ёрдамидаолиб шимдирилади ва *M. lizodecticus* нинг 1 млрд/мл культураси газон усулидаПетри косачасидаги агарга экилган юзага жойлаштирилади (битта косачадагиагар юзасига 8-10 та сўлак шимдирилган дисклар қўйилиши мумкин). Тажрибақўйилган косача 37ºС да бир кун давомида термостатда сақланади. Сўлакшимдирилган диск атрофидаги микрококк культурасини ўсиши тўхтатган зонадиаметри ўлчанади ва стандарт лизоцим билан аниқланган тажриба натижасиасосида формула асосида топилади.

Жадвал 10,1.

Стандарт лизоцим концентрациясини қоғозли диск усулда аниқланиболиган натижаси

Қўлланилган стандарт лизоцим концентрацияси (мг%)	M. lizodecticus 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 микрококкниўсишини тўхтатиш зонаси ҳосил қилса, сўлак таркибидаги лизоцимни топишучун 9 мм қўлланилади, агар 9 мм дан юқори бўлса 14, ундан юқори бўлса 21ва кейин 27 қўлланилади.

Масалан, текширилаётган сўлак шимдирилган диск атрофида микрококккультурасини ўсиш зонаси тўхтаган диаметри 16 мм. Лизоцимнинг миқдоринитопиш учун пропорция тузамиз;

21 мм – 25 мг%

16 мм – x

$$x = \frac{16}{21} = 19{,}05 \text{ мг\%}.$$

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 450С да 14 минут сув ҳаммомида қиздирилади. Инкубациядан сўнг, охирги суюлтирилган пробиркадаги натижага кўра, ундаги бактериялар тўлиқ эриган (лизисланган), суюқлик тиниқ бўлса, шунга қараб лизоцим титри аниқланади. Лизоцимнинг титрини, активлигини фотоэлектроколориметр ёрдамида қуйқалик даражасига кўра ёки микроб суспензиясидаги оптик зичлик бўйича нефелометрик усул билан ҳам аниқлаш мумкин.

Жадвал 10,2.

Сўлак таркибидаги лизоцим ферментини тажрибада серияли суюлтиришусулида аниқлаш

Компонентлар	П р о б и р к а л а р			
	1:100	1:1000	1:10000	Контроль
Физиологик эритма	3,6	2	2	2
Сўлак 1:10	0,4	2	2	-
M. lizodecticus (1млрд/мл культураси)	1,0	1,0	1,0	1,0

Одам периферик қонидаги нейтрофилларнинг фагоцитар активлигини (НФА аниқлаш)

Бу усул қон таркибидаги нейтрофилларни бегона микроб ва бошқаагентларини қамраб, фагоцит қилиб олишига асосланган. Аҳамиятлилиги шундан иборатки, *in vitro* шароитда 30 дақиқа ичида нейтрофиллар микробларниқамраб фагоцит қилиши мумкин.

Тажрибани қўйиш

Гепарин қўшиб олинган қондан 0,2 мл стерил пробиркага олинади. Сўнграунга, 1 мл 1млрд *S. aureus* нинг бир-кеча кундузли культурасидан тайёрланганва сув ҳаммомида 80°С 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 кейин пробиркани устки қисмидаги суюқлик эҳтиётлик билан пастер пипеткаси ёрдамида олиб ташланади ва чўкма секин аста аралаштирилади. Суртма тайёрланилади, қуритилиб, метил спирти ёкиНикифорова эритмасида (5-10 мин.) фиксация қилинади ва Романовский-Гимза усулида 15-30 минут бўялади. Суртма иммерсион

системада микроскопдакўрилади ва 100-200 нейтрофиллар саналади. Саналган нейтрофиллар ичидафагоцит қилганлари НФА% ифодаланилади. Ҳар бир нейтрофилдаги фагоцитқилинган микробларнинг ўртача миқдори (фагоцитар индекс) ҳисоблабтопилади. Нормада ўрта яшар одамларда НФА 50-65%, фагоцитар индекс эас 5-9 бўлиши мумкин.

Оқ сичқонларда фагоцитоз тажрибасини ўтказиш. Тажрибабошлашдан 24 соат олдин оқ сичқонлар қорин пардасига 2—3 мл стерил, 1%ли крахмал эритмаси юборилади. Бу қорин бўшлиғида фагоцитоз қилувчиҳужайраларнинг тўпланишига олиб келади. Бу ҳолат крахмалга бўлган септикяллиғланиш ва фагоцитлар хемотаксиси натижасида содир бўлади. Сўнграсичқонларнинг қорин пардасига 1 мл дан иборат икки миллиардли стафилококккультураси юборилади. 30 мин. ўтгандан сўнг оқ сичқонларнинг қориндеворига пастер- пилеткаси капилляриннг ингичка томони билан санчилади вабир 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 қамраболган микрофаглар (полиморф-ядро ҳужайралари) ва макрофаглар(мононуклеарлар, оч-ҳаво рангли фагоцитлар цитоплазмаси фонида тўқ кўкрангга бўялган ҳолда кўринади. Препаратда фагоцитознинг айрим босқичлариёпишиш, қамраб олиш, қисман ҳазм қилишни кўриш мумкин.

Опсонфагоцитар реакциясини қўйиш. Пробиркага, бир ҳажмлистерилланган 2 фоизли натрий цитрат эритмаси устига икки ҳажмли янгиолинган қон ва бир ҳажмли 1 млрд/мл микроб ҳужайрасига эга бўлган, 80°С да бир соат давомида ўлдирилган бактерия суспензияси қуйилади.

Пробиркадаги суюқликлар аралаштирилади, 37°С да 30 мин давомидатермостатда сақланади, кейин Романовский-Гимза усули билан бўялади.

Суртмада 25 та нейтрофилларнинг ҳар бири қамраб олган бактериялар сони ҳисобланади. Олинган натижаларга кўра қуйидаги фагоцитаркўрсаткичлар топилади: фагоцитар кўрсаткич (индекс) — фагоцитловчинейтрофиллар фоизи, фагоцит сони бир нейтрофилга фагоцитланганбактерияларнинг ўртача сонига тўғри келади. Опсонфагоцитар реакциясинингкурсаткичи (ОФРК) қуйидаги формула билан аниқланади: ООРК+3а + 2b +Ic+Od,

бу ерда a - таркибида 41 дан кўп бактериялар сақлайдиганнейтрофиллар 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 системадаҳисобланганда энг юқори кўрсаткич 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 зардобидаги опсонинлар вафагоцитлар фаолиятининг активлигини белгилайди.

10.2.Антиген ва антителолар.

Антигенлар

Организмнинг ҳаёт фаолияти давомида орттирилган иммунитет асосида,иммун системанинг шу организмга бегона ирсий молекулалар тузилишинитаниб, ажратиб олиб, уларга қарши махсус жавоб бера олиш ётади. Мана шужавоб беришда антигенлар иштирок этади. Антигенлар – табиий ва сунъий,синтетик (оқсил, полисахарид ва бош.мод.) моддалар бўлиб, организмгаюборилганда иммункомпетент лимфоид ҳужайраларнинг махсус активлигиниошириб, махсус иммун жавобни ёки толерантлик ҳолатини келтириб чиқаради(берилмаслик). Антигенлар ўзларининг тузилишида ирсий бегоналикхусусиятини ташиб юради (анти-қарши, ген-тур). Антигенлар қуйидагихусусиятлари билан фарқланади:

1. Антигенлик – яъни антигеннинг сифат кўрсаткичи. Масалан, кўпроқ ёкикамроқ антителалар, сезувчанлиги ошган лимфоцитлар ҳосил қила олиши.

2. Иммуногенлик – антигеннинг иммунитет ҳосил қилиш хусусияти, ёкикучи. Антигеннинг бу хусусияти кўпроқ микроорганизмларнинг антигенигатааллуқлидир, чунки микроорганизмларнинг антигенлари организмнингкасалликка берилмаслигини шакллантиради. Масалан, ичбуруғ қўзғатувчиси,юқори даражадаги антигенлик хусусиятига эга, лекин, иммуногенлик хусусиятисуст, шунинг учун узоқ кўринишдаги иммунитетни ҳосил қила олмайди,аксинча, қорин тифи эса юқори даражали антигенлик ва иммуногенликхусусиятига эга, шунинг учун вакцинацияда қўлланилади.

3. Махсуслиги – антигеннинг асосий хусусияти бўлиб, шу хусусиятларибилан антигенлар бир-бирларидан фарқланади.

Антигенларнинг махсускўринишларига қуйидагилар киради: - тур махсуслиги; груҳ махсуслиги; типгахос махсуслик; гетеромахсуслик; орган махсуслиги; функционал махсуслик;босқичли махсуслик; гаптен махсуслиги; патологик махсуслик; антигенмимикрия.

4. Антигеннинг коллоид хусусияти – (таркиби, эриши) антигенлар коллоидҳолида организмга юборилганда яхши сўрилади. Антигенлик хусусияти бор моддаларга оқсиллар, микроорганизмлар,уларнинг маҳсулотлари (заҳарлари), илон, чаён заҳарлари, ўсимликлардаучрайдиган моддалар (рицин, абрия), ҳужайра ва тўқима элементлари ёдзарралар ва ҳ.к. киради.

Антигенлар тўла қимматли ва тўла қиммасизларга бўлинади. Тўлақимматли антигенлар – (оқсиллар, полисахаридлар, липопротеинлар, комплексмоддалар), организмга юборилганда махсус антителаларни ҳосил қилибиммункомпетент лимфоид ҳужайраларнинг активлигини оширади, яъни шуларбилан муайян тарзда ўзига хос бирика олади.

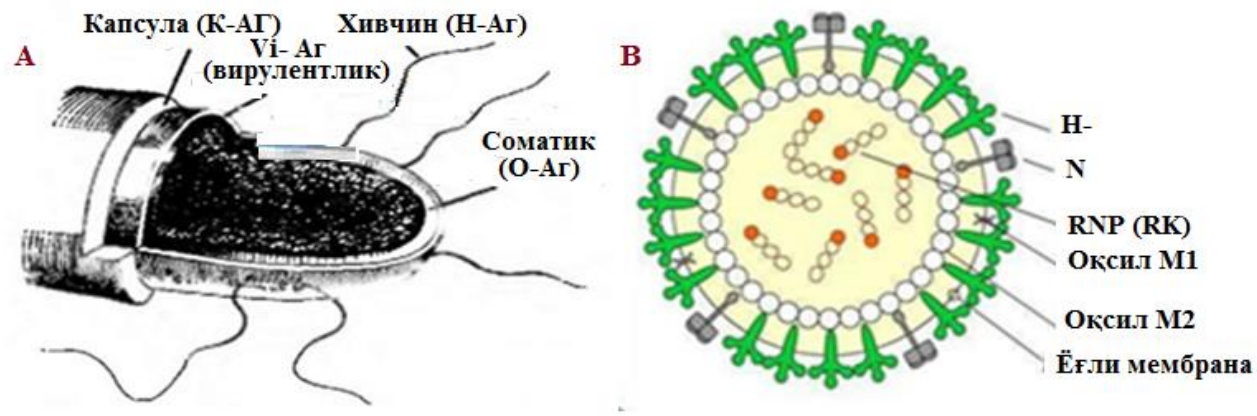
Тўла қимматсиз антигенлар – гаптенлар бўлиб, организмга юборилгандаорганизмда махсус антителалар ва сезгирлиги ошган лимфоцитлар ҳосил қилаолмайди. Гаптенларга ёғлар, кичик молекулали органик моддалар киради,лекин шу гаптенларнинг таркибига оқсил бириктирилса ёки организмдагиоқсиллар, ферментлар билан бирикса, бу тақдирда гаптенлар тўла қимматлиантигенларга айланади. Иммун жавоб гаптенга қарши ҳосил бўлади (гаптенмахсуслик). Гаптен билан бириккан оқсил молекуласи кузатувчилик (ташибюрувчи) вазифасини бажаради ва «шлепер» деб аталади. (нем. Slhepeгкузатади).

Антиген махсуслиги, антиген таркибидаги оқсилларнинг бирламчитузилишига, яъни аминокислоталарнинг хилма ҳиллигига, кетма-кет келишига,аминокислоталарни ён занжирга ва устки қисмида жойлашган детерминандгруппаларнинг сонига боғлиқдир.

Оқсил аминокислоталарининг устки қисмида жойлашган бу детерминант группалар оқсилга маълум бир шакл (конфигурация) фазовий қовушқоқлик вақутблилик хусусиятларини беради. Битта электрон зарядини ўзида ташибюради. Детерминантлар сони шу оқсилнинг валентлигини, сифатини(антигенлигини), кучини (иммуногенлигини) билдиради. Масалан, одам қонзардобидаги альбумин оқсили ўз таркибида 6 та детерминант группасинитутади. Глобулин оқсилининг таркибида эса 8 та детерминант группаси бор.

Шунинг учун ҳам глобулин оқсили альбумин оқсилига нисбатан кучлиантигенлик ва иммуногенлик ҳусусиятига эгадир.

Бактерия ва вирусларнинг антигенлари. Микроорганизмларнинг антигенлариуларнинг кимёвий ва структуриал тузилишига қараб турлича бўлади (10.3-расм).Бактерияларда хивчин антигени (Н-антиген), тана (соматик) О-антигени,капсулали 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 айтибўтиш, диққатга саззовордир, масалан, куйдирги қўзғатувчисидан биринчимаротаба ажратиб олинган «протектив» (ҳимоя) антигени, бу антиген энгюқори иммуногенлик хусусиятига эгадир. Вирусларнинг антигенлари ҳамуларнинг структурасига ва кимёвий таркибига боғлиқ(51а-расм). Кўпчилик вируслардакапсид, нуклеокапсид ва суперкапсид антигенлари тафовут қилинади.



10.3-расм. Бактерия ва вирусларнинг антиген хусусиятлари. А-бактерия антигенлари; В- вирус антигенлари.

Микроорганизмларда умумий авлодга, оилага ва махсус турга ва типгахос антигенлар тафовут қилинади.

Бактерияларнинг экзотоксинлари ва эндотоксинлари ҳам кучлиантигенлик хусусиятига эгадир.Микроорганизмларнинг антигенликхусусиятини ўрганиш микробиология амалий практикасида муҳим аҳамиятгаэгадир, яъни юқумли касалликларни диагностикасида ва даволашдақўлланилади.

Антигенлар организм учун генетик бегона моддалар бўлгани учунорганизмга тушганда, унинг ички турғунлик ҳолатини бузиб, қуйидаги иммунреакцияларини келтириб чиқаради.

1. Антитела ишлаб чиқариш ва организмни гуморал иммунитет билантаъминлаш.

2. Дарҳол юзага чиқадиган аллергик реакциялар.

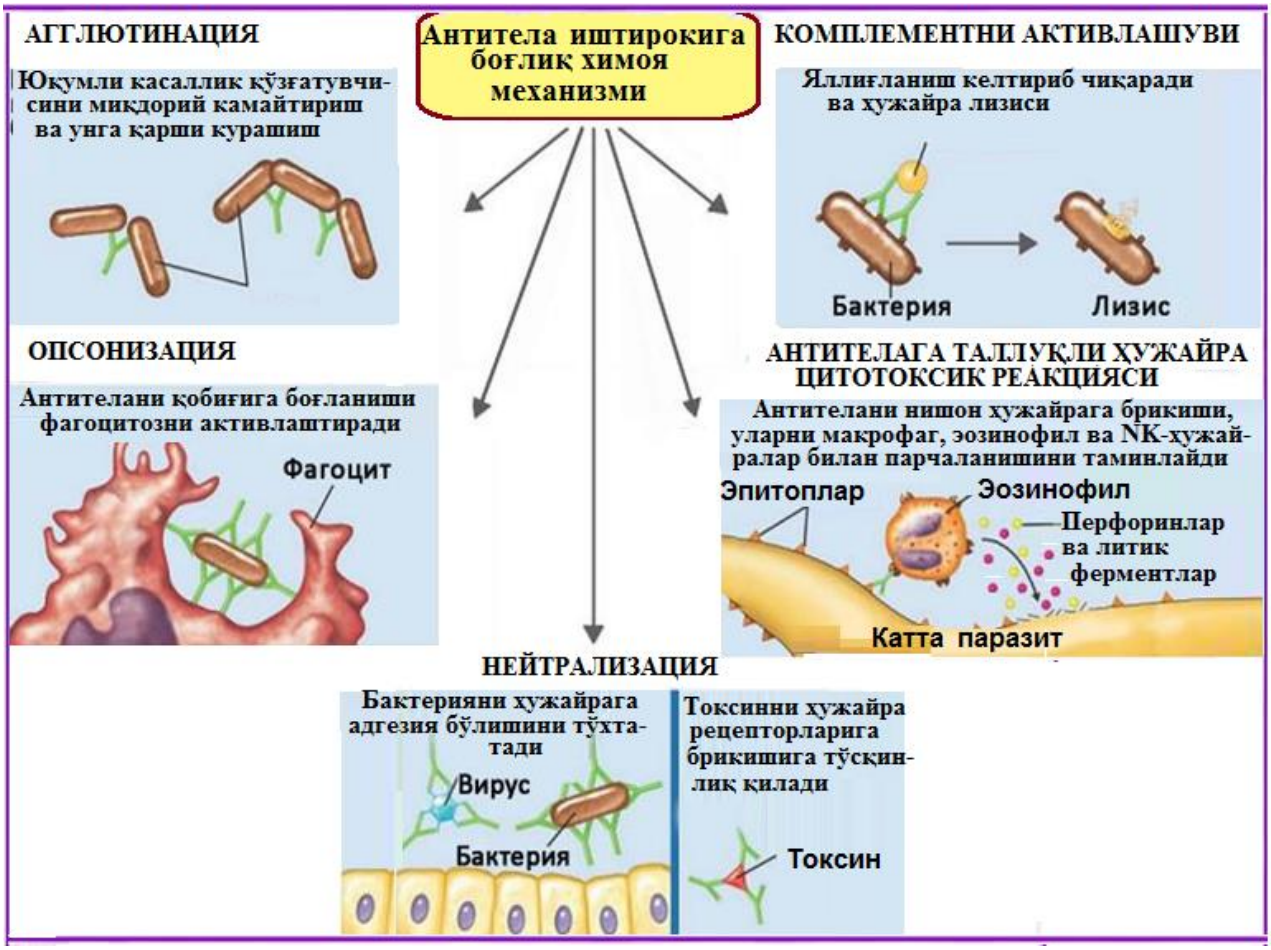
3. Аста-секин юзага чиқадиган аллергик реакциялар.

4. Иммунологик толерантлик .

5. Иммунологик ҳотира.

Антителалар

Антителалар деб макроорганизмларга антигенлар юборилганда шуантигенлар таъсири остида ҳосил бўладиган махсус оқсил глобулинларгаайтилади. Антителаларнинг хусусиятлари, ўзининг пайдо бўлишида иштирок қилган антигенлар билан махсус бирикишидир. Антителалар иммуноглобулинлар деб ҳам аталади, уларнинг қон зардобидагиглобулинлардан фарқи антигенлар билан махсус бирикишидир. Халқароклассификация бўйича иммуноглобулинлар 5 синфга бўлинган: IgC, IgM, IgA,IgE, IgД.



10.4 –расм. Антителаларнинг махсус иммун реакцияларда қатнашиш схемаси

Антителалар организмдаги махсус иммун реакцияларида қатнашиб, организмнинг юқумли агентлардан ҳимоя қилиш

чегарасининг асосий қаторларида туради (52а-расм) ва қуйидаги иммун реакцияларда қатнашади:

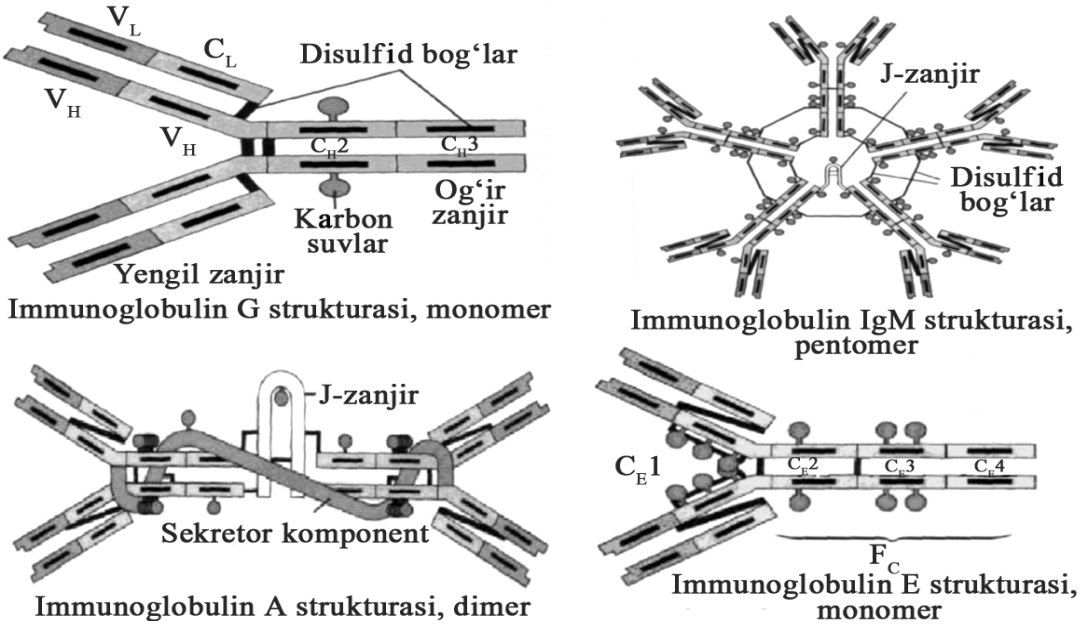
- агглютинация реакцияси орқали патоген бактериялар организмдан элиминация қилинади;
- опсонизация фагоцит ҳужайраси антитела +антиген комплексини жуда тез фагоцитоз қилади (бундай АТ ларни опсонинлар ҳам деб аталади)
- нейтрализация бактерия ва уларнинг токсинларини ҳужайраларга адгезия бўлишига тўсқинлик қилади.
- Антиела ва антиген махсус боғланганда комплемент активлашади ва бактерияни лизисга учратади.
- Антителага боғлиқ ҳужайра цитотоксик реакциялари, АТ катта гелментларга қарши ҳосил бўлганда, шу АТ лар орқали эозинофиллар, NK –ҳужайралар (уларни мембранасида АТ нинг Fc қисмига қаши рецепторлар мавжуд) уларни топиб йўқ қилишади.

Иммуноглобулинлани кимёвий структураси

Иммуноглобулинлар молекуласи 2 та оғир ва 2 та енгил занжирдан таркиб топган. Оғир – H (heavg-инглизча) ва енгил I (heght-инглизча) занжирлар бир- бири билан дисульфид боғлари билан бириккандир (расм 52). Масалан, иммуноглобулин М 5 та алоҳида юқорида кўрсатилган структуриалэлементлардан ташкил топган бўлиб, пентомер деб аталади. Агариммуноглобулинлар молекуласига папаин таъсир эттирилса, уларнинг молекуласи папаин таъсирида 2 та фрагментга (Fab-ўзгарувчан ва Fc-ўзгармасга) бўлинади.

Антителаларнинг махсуслиги уларнинг активлик марказига боғликдир.

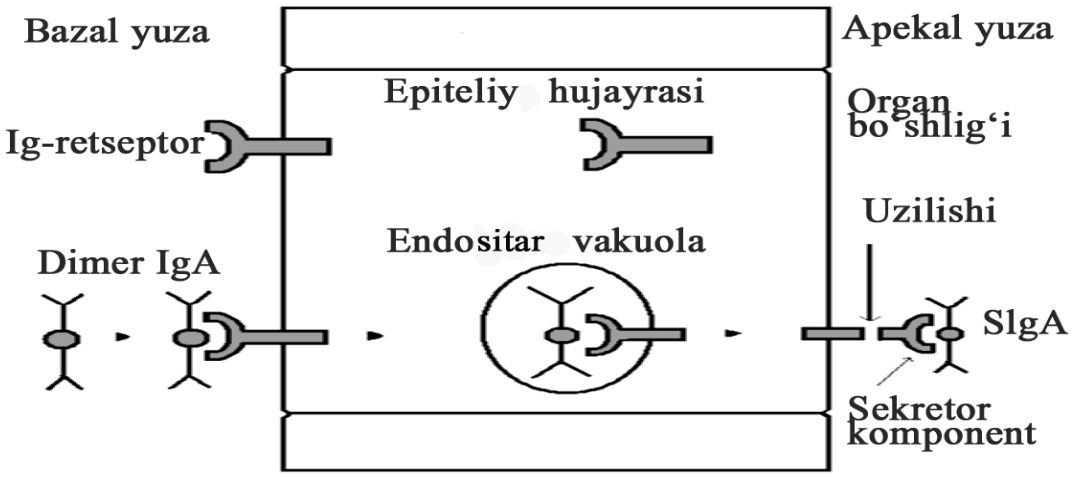
Активлик маркази иммуноглобулинларнинг оғир ва енгил занжирларини Fab -бўлакчасида қарор топган бўлиб, шакли ва тузилиши жиҳатидан антигеннингдетерминант группасининг аксидир (қўлқопни қўлга, калитни эса қулфга тўғрикелишига ўхшаш). Антителалар антигенни бириктириб олишда асосануларнинг активлик марказлари иштирок этади, бу бирикиш антитела ва антигенмолекулаларининг ўзаро тортишиш кучига боғликдир. Уларнинг махсус бирикиши эса, антителаларнинг оғир ва енгил занжирларининг активлик маркази қисмидаги охирги аминокислоталарнинг жойлашув тартибига боғликдир.



10.5-расм. Иммуноглобулинларнинг структураси

Антиген биринчи бор организмга тушганда,организм шу антигенга қаршибиринчи бўлиб IgM ва 5-6 кундан бошлаб IgG синтез қила бошлайди. Буиммуноглобулин қон зардобидаги ҳамма иммуноглобулинларни 80% ташкилқилади.IgG йулдош орқали чақалоққа ўтади.

Иммуноглобулин А миқдори жиҳатдан қон зардобида IgG дан кейиндатуради ва икки хил кўринишда учрайди, қон зардобида ва организмда ишлабчиқариладиган турли ҳил суюқликларда (секретларда), шунинг учун ҳамсекретор иммуноглобулин деб аталади . Секретор IgA ошқозон ва ичакйўлларида, ўпкада, жинсий органларнинг шиллиқ қаватида учрайди.Буиммуноглобулин диммер ҳолатида булиб, секретор компаненти орқалимономер билан бириккандир ва шунинг эвазига протеолитик ферментлартаъсирида эриб кетмайди. IgA организмда вазифаси жуда муҳим бўлиб,организмга патоген бактерияларни киришига тўсқинлик қилади, бошқача қилибайтилганда, IgA организмда ҳимояни биринчи чизиғини ташкил қилади (расм53). Иммуноглобулин Е ёки реаген антителалар, қон зардобида унинг миқдорикўп эмас (расм 52).



10.6-расм. Иммуноглобулин А, шиллиқ қаватларга чиқиш механизми

Организмда жуда кам бўлган плазматикҳужайралар уни ишлаб чиқаради. IgE нинг Fc бўлаги цитофил (ҳужайранисевиши) хусусиятига эга, шунинг учу антиген билан бирикканда семизҳужайраларга бирикиб олади ва семиз ҳужайраларни дегранулятциягаучратиши мумкин. Бунинг натижасида семиз ҳужайралар вазоактив аминларниажратиб чиқара бошлайди, бу эса организмда пичан иситмаси, бронхиал астма вашунга ўхшаш симптомларни келтириб чикаради.

Иммуноглобулин Е асосий физиологик функсияси организмнинг шиллиққаватларида юқорида кўрсатилган яллиғланиш жараёнларини келтирибчиқариш билан бирга, организмни патоген микроорганизмлардан ҳимояқилади, яъни патоген бактериялар IgA нинг қаршилигини шиллиқ қаватларорқали енгиб ўтса, бу ҳолатда IgE дуч келиши мумкин. IgE семиз ҳужайралар билан бирикиб яллиғланиш жараёнини келтириб чиқаради ва шу биланбиргаликда бошқа лимфоцитларни яллиғланиш ўчоғига миграция бўлишигасигнал беради. Яллиғланиш ўчоғига қон зардобидаги IgG, лимфоцит вамакрофаглар ёғилади ва патоген агентни йўқотади. Шу билан биргаликда IgEасосан аллергик касалликларни келтириб чиқаришда организмда қатнашади.

Иммуноглобулин (IgД) функсияси яхши ўрганилмаган,охирги маълумотларга қараганда лимфоцитларнинг мембрана рецептори вазифасини бажариши мумкин.

10.3. Серологик реакциялар ва уларнинг амалиётда қўлланилиши

Организмдаги антителаларнинг микдори уларнинг организмда қанчамуддат сақланиб туришга, антиген миқдорига ва унинг неча

марта, қандайусулда юборилганлигига боғлиқ. Мана шу жараённи организмда генотипбошқариб туради, шунинг учун ҳам бир хил антигенга ҳар -хил генотибга эгабўлган организмлар ҳар- хил жавоб беради.

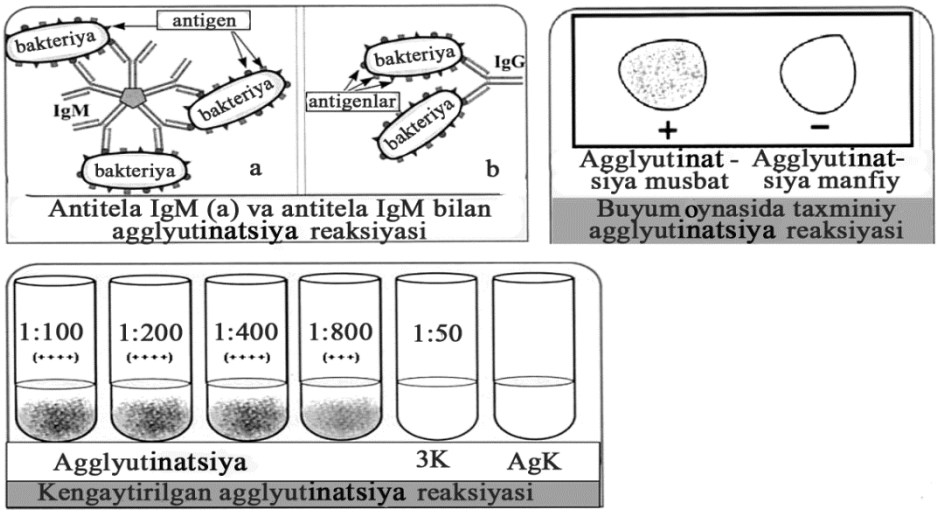
Антиген ва антителаларнинг организмда махсус бирикишидан ташқари,антиген ва антителаларнинг бирикиши (in vitro) пробиркаларда ҳам кузатишмумкин. Бундай махсус иммунологик реакцияларни серологик реакциялар дебаталади. Буларга: агглютинация, преципитация, лизис, комплементни боғлаш,гемагглютинация ва бошқа реакциялар киради. Бу серологик реакциялар махсусбирикиши ва ўта юқори сезувчанликка эга бўлганлиги сабабли медицинапрактикасида юқумли касалликларни диагноз қилишда ва бактериологикпрактикада (ажратиб олинган культурани) саралашда ишлатилади.

Ҳамма серологик реакциялар икки фазада боради. Биринчи фазасимахсус, яъни антигеннинг детерминант группаси билан антителаларнинг активмарказларини бирикиши. Иккинчи фазаси махсус бўлмай бундай реакциялартурига қараб чўкмага тушиши ёки антигеннинг эриши кузатилади. Агарантителалар 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 иммунологикреакцияни агглютинация ходисаси деб аталади.

Агглютинация реакцияси

Агглютинация реакциясида (лот. agglutinatio - ёпишиш) антителоларёрдамида микроб, эритроцит, лейкоцит тромбоцит, тўқима ҳужайралари ваустига антиген адсорбция қилинган корпускуляр заррачалар электролитли(0,85% NaCl эритмаси) муҳитда бир бирига ёпишиб чўкмага тушади.

Корпускуляр антиген "агглютиноген" деб аталади. Агглютинацияреакциясининг механизми "панжарани" эслатади, бунда икки валентлиантителонинг бир фаол маркази бир антиген билан, антителонинг иккинчифаол маркази иккинчи антиген билан бирикишидан (расим) бирикма(агглютинат) ҳосил булади.



10.7-расм. Агглютинация реакциялари, механизми ва натижалари

Бир бирига яқин микроблар ёпишса гуруҳ,агглютинация реакцияси кузатилади. Бу гуруҳ, тур ва вариант антигенлариҳисобига рўёбга чиқади.Махсус ўзига хос иммун зардобни бактерия аралашмасига қўшилгандаулар ёпишади агглютинация ҳосил бўлиб, пилакчасимон ёки майдадоначаларга ўхшаш чўкмалар ҳосил бўлади. Агглютинация реакциясимоносистемаси, тўғридан-тўғри содир бўладиган икки компонентли бўлиб,антитело (агглютинин) ва корпускуляр антиген (агглютиноген) қатнашади.

Реакция антитело ва антигенлар миқдорининг маълум нисбатида ваэлектролит (0,85% NaCl нинг эритмаси) иштирокида содир бўлади.

Агглютинация реакцияси махсус, агглютинация берувчи зардоб, бактерия билан ўзига хосдир. Аммо қардош, яқин микроорганизмлар билан ҳам кам миқдордабўлса-да ҳам агглютинация бериши мумкин.

Соматик (О), ҳивчинли (Н) ва Vi антигенлар тутувчи ҳаракатчанбактериялар билан иммунизация килинган ҳайвонлар организмида О-,Н-,Viагглютининлар ҳосил бўлади. Агар турли бактерияларда гуруҳ, ва турга хосантигенлар бўлса, улар битта гуруҳ антигенларга қарши антителолар тутувчииммун зардоб билан агглютинация бериши мумкин**.** Бу микроорганизмларидентификациясини қийинлаштиради. Шундай ҳолатларда Кастелланингагтлютининларни адсорбция қилиш реакцияси ўтказилади. Бунда бир- биригаяқин гетероген бактериялар иммун зардобидан гуруҳ, антителоларни ўзларигабириктириб оладилар, зардобда эса турга хос антителолар қолади. Биттаантиген рецепторига антителолар тутувчи бундан зардоблар

"монорецептор"зардоблар, деб аталади. Улар бактерия сероварларини аниқлашда ишлатилади.

Агглютинация реакцияси амалиётда асосан юқумли касалликларгасерологик ташҳис (қорин тифи, паратиф А-В, бруцеллёз, туляремия,риккетсиоз касалликларида) қўйишда ва ажратиб олинган микробкультураларини серологик идентификация қилишда қўлланилади. Биринчиҳолатда изланувчи учун антиген (диагностикум) маълум, шунинг учунбемор қонидан номаълум антитела изланилади (кенгайтирилганагглютинация реакцияси) ва изланилаётган атителани титрианиқланади.Юқумли касалликларга бу усулда ташҳис қўйишда албатта қўшзардоб қўлланилади. Биринчи маротаба қўйилгандан сўнг иккинчи маротаба1-1,5 ҳафтадан кейин қўйилади, агар беморда изланиб топилган АТ титри,биринчи ҳафтадаги титрдан 2 ва ундан кўп баробар ошган бўлса, титрниошишига қараб беморга ташҳис қўйилади, агар титр ошмаса (кўпчиликҳолларда эмланганларда, касал бўлиб ўтганларда) ташҳис қўйилмайди.

Ажратиб олинган культураларни серологик идентификация қилишдаполивалентли ва моновалентли агглютинацияга учратувчи қон зардоблар (расм54) қўлланилади ва реакциялар буюм ойначасида қўйилади.

Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш. Беморнинг қонзардобидан изланилаётган АТ титрини аниқлаш учун қўйилган реакциянингсхемаси жадвалда келтирилган. Даслаб зардобнинг асасий эритмаситайёрланилади, бунда зардоб титрига кўра: 1:100, 1:200, 1:400, 1: 800 нисбатдасуюлтирилади, бунинг учун 1 мл асосий эритмадан олиниб биринчига, биринчипробиркадан-иккинчисига, иккинчидан учинчисига ва ҳ.к қатор эритмасисуюлтирилиб тайёрланилади.

Ҳамма пробиркалар тенг ҳажмда бўлиши учун охирги пробиркадан 1 млсуюлтирилган зардоб олиниб дезинфекцияловчи эритмага қуйилади. Контролпробиркага (антиген контроли) натрий хлоридни 1 мл изотоник эритмасиқуйилади. Суюлтирилган зардобли ҳар бир пробикага ва контрол пробиркагапипетка билан 2 -3 томчидан (0,15 мл) 1 мл да 3 млрд микроб танаси бўлганбактерия (диагностикум) суспензияси томизилади.

Пробиркалар яхшилаб силкитилиб, 37º С да 2 соат термостатга қўйилади, сўнг уй ҳароратида бир суткадавомида 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).

Жадвал 10,3

Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш схемаси.

Ингредиентлар	Пробиркалар					
	1	2	3	4	5	6
	Суюлтириш№					
	1:100	1:200	1:400	1:800	Контрол (Аг)	Контрол (зардоб)
Натрий хлориднинг изотоник эритмаси	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Қон зардоби (касалники) 1:10 нисбатда суюлтирилган	0,5	-	-	-	-	0,5 (1:10)
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 тўрт (4) мусбат белги қўйиш билан олиб борилади. Тўрт 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. Белгини иккитаси аниқланса, реакция манфий деб қаралади.

Буюм ойнасида агглютинаци реакциясини қўйиш. Ажратилиб олинганмикрорганизмларни қайси турга ва серогуруҳларга мансублигини аниқлашучун агглютинация буюм ойнасида қўйилади. Бунинг учун маълумагглютинацияга учратувчи зардобдан Пастер

пипеткаси ёрдамида 1-2 томчибуюм ойначасига томизилади, контрол учун натрий хлоридни изотоникэритмаси 1-2 томчи олинади ва бактериологик ҳалка (петля) ёрдамидатекширилаётган микроб культураси олиниб, буюм ойнасидаги махсус зардоббилан аралаштирилади. Реакциянинг натижаси 3-10 минутдан сўнг кўрилади.

Мусбат агглютинация реакциясида буюм ойначаси устида яққол кўринувчиагломерат заррачалари ҳосил бўлади. Шу билан бир қаторда контрол ойначадафизиологик суюқлик билан текширилаётган антиген реакция бермайди.

Комплементни боғлаш реакцияси. 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 ваантитела бир-бирига махсус мос келганида бирикиб, бирикма ҳосил қилади,натижада бу бирикма ўзига комплементни боғлаб олади (комплементсарфланади). Бу реакция пробиркада қўйилганида, уни кузатиб бўлмайди.Шунинг учун иккинчи фазадан, яъни гемолитик системадан фойдаланилади.

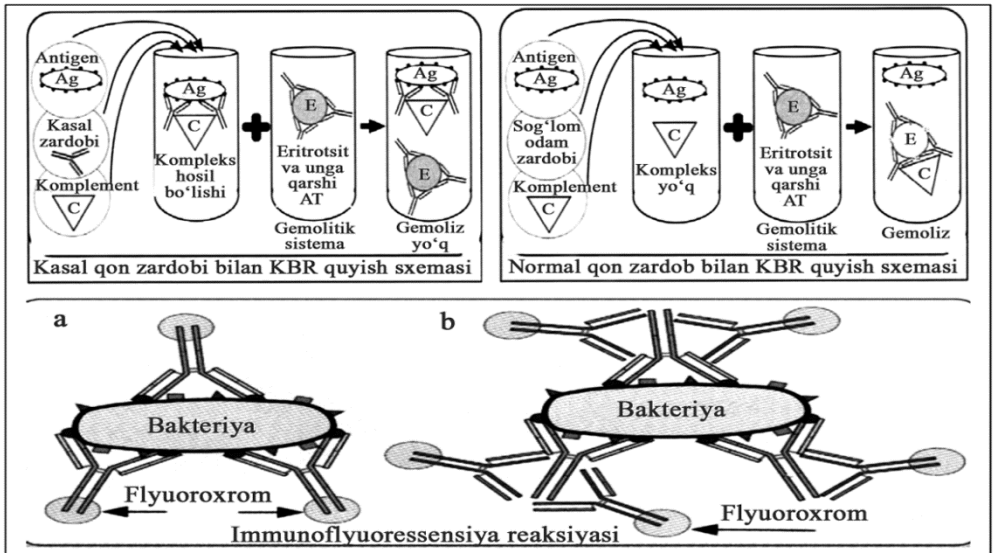
Гемолитик система реакцияда индикаторлик вазифасини бажаради.Гемолитик система, қўй эритроцитларидан ва уларга қарши (антигемолитик)гемолитик антителалардан иборатдир, яъни гемолитик зардоб. Бу гемолитикзардобни олиш учун қўй эритроцитларини лаборатория ҳайвонларига (қуёнга)бир неча маротаба юборилади ва улардан гемолитик зардоб ажратиб олинади.Гемолитик зардоб 560С да сув ҳаммомида инактивация қилинади (56^0С да қон зардобидаги комплемент активлигини йўқотади). КБР бошка серологик реакцияларга ўхшаб икки фазада боради:

Антиген – антитела;.

Комплементнинг адсорбция қилиниши.

Агар касал қон зардобида шу реакцияда ишлатилаётган антигенга москеладиган антителалар бўлса, у вақтда ҳосил бўладиган антиген-антителабирикмаси ўзига комплементни бириктириб олади, яъни боғлайди. Унгагемолитик система қўшилганда, эритроцитларнинг гемолизи рўй бермайди(расм 55), чунки комплемент боғланган ҳолатда бўлади (тўғрироғи сарфбўлади), 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 антителаларбўлмаса, антиген-антитела бирикмаси ҳосил бўлмайди ва комплементбоғланмасдан (сарф бўлмасдайди) эркин ҳолатда қолади. Гемолитик системақўшилганида комплемент шу система билан бирикади, натижадаэритроцитларнинг гемолизи рўй беради. Бу эса шу пробиркада реакциянимanфий деб ҳисоблашга асос бўлади.



10.8-расм. Комплементни боғлаш (юқорида) ва иммунфлюоресценцияреакциялари (пастда): а бевосита; б- билвосита усуллари, схематик кўриниши

Комплементни боғлаш реакциясини қўйиш :

КБР қўйиш учун қуйидагилар ингредиентлар 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 денгизчўчқасининг янги қон зардобидан (24-48 давомида) ёки ишлаб чиқилган ампулалардаги қуруқ комплементдан

фойдаланилади. Реакция қўйиш олдидан комплемент 1:10 нисбатда (керакли миқдорда) суюлтирилади, (эритроцитларни гемолизга учратувчи комплементнинг энг кам микдори). Шунингдек, антигеннинг антикомплементар хусусиятлари бўлиши мумкинлигини назарда тутиб, комплементнинг аниқанган ишчи титрига 20-30 процент қўшмча 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 ўлдирилганбактерияларнинг эмульсиялари, шу эмульсиялардан тайёрланган экстрактлар ва микроб ёкивирус ҳужайраларидан кимёвий йўл билан ажратиб олинган фракциялари ҳизмат қилади. 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. Ҳаммапробиркаларга икки маротаба суюлтирилган комплементдан 0,5 мл қушиб, яхшилабаралаштирилади ва 37^0 термостатга 60 минутга қўйилади. Антиген қўшилмаган қон зардобииккинчи контрол бўлиб хизмат қилади. Пробиркалар термостатдан олиниб, ҳаммасига 1млгемолитик система қўшилади ва яна термостатга 30 минутча қўйилади. Антиегн бирлиги деб унинг энг юқори суюлтирилган микдори олинади ва шу суюлтирилган микдорида специфик қон зардоби иштирокида эритроцитларни икки мусбат (++) белгигача гемолизгаучратмайдиган миқдори олинади. Антигеннинг ишчи фазаси эса унинг кам суюлтирилганмикдори бўлиб, шу суюлтирилган микдорда специфик қон зардоби билан бирга реакциядаиштирок этади ва эритроцитларнинг гемолизини нормал қон зардоби ва хлорид натрийсуюқлиги ёрдамида ушлаб қололмайдиган микдорига айтилади.

Гемолитик система - Гемолитик қон зардоб+ қўй эритроцитлари (1:1 нисбатда),гемолитик қон зардоб, инактивация қилинган (560С 30 минут сув ҳаммомида сақланган)қуённинг қон зардоби бўлиб (таркибида гемолизн сақлайди), қўй эритроцитлари биланқўённи гипер иммунлаш йули билан олинади. Гемолитик зардоб 1:1200 титрда чиқарилади,шунинг учун 1:400 нисбатда суюлтирилади.

Жадвал 10,4.

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 суюклиги (мл).	0,95	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
Гемолитик система (37^0 термостатда 30 минут сакланган, мл)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Пробиркалардаги аралашмалар яхшилб силкитилиб, 37^0С термостатда 30 минут давомида ушлаб турилади.										
Реакцияларнинг натижалари	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Илова: гемолиз (+), гемолиз (-)

Қўй эритроцитлари суспензияси фибринсизлаштирилган қўй қонидан тайёрланади,эритроцитлар натрий хлориднинг изотоник эритмасида бутунлай рангсизлангунча тиниққҳолига келгунча центрифуга ёрдамида ювилади ваундан натрий хлориднинг изотоникэритмасидаги 3 % суспензияси тайёрланилади.

КБР ни қўйиш учун ишчи доза сифатида гемолитик зардобнинг 3 марта юқори титриолинади.Асосий тажрибани қўйиш. Барча ингредентлар титри ва ишчи дозаларианиқлангандан сўнг КБР асосий тажрибаси қўйилади (жадвал).

Текширилаётган ва контрол қилинаётган қон зардоблар олдиндан 56^0С 30 минут сувҳаммомида комплементи активсизлантирилади.

КБР нинг биринчи фазасида, яъни 37º С да 30 минут давомида антигеннингтекширилаётган зардоб ва комплемент билан бирикишини тақозо этади. Агар КБР совуқшароитда ўтказиладигон бўлса, бу фаза 0-4 º С да 18-20 соат давомида ўтказилади, бу эсареакция сезгирлигини оширади.

Ҳар бир пробиркага 0,4 мл дан гемолитик система қўшилгач, пробиркаларсилкитилади ва 37º С да 20-30 мин давомида сақланади.

Пробиркаларда гемолиз содир бўлган ёки бўлмаганлигига кўра тажриба натижасианиқланади (жадвал). Агар пробиркадаги суюқлик тиниқ бўлиб, эритроцитлар чўкмагатушса (0-4ºС да 18-20 соат инкубацияда) ва гемолиз бутунлай бўлмаса, реакция мусбат, агар

эритроцитларнинг барчаси эриб, суюқлиқ қизил рангга бўялса, реакция манфий ҳисобланади.

Жадвал 10,5.

Комплементни боғлаш реакциясининг асосий тажрибаси (схема)

Ингредентлар, мл	Пробиркалар №						
	1	2	3	4	5	6	7
1:5 нисбатда суюлтмирилган 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 давомида37° С да инкубация қилиш							
Натижалар							

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.

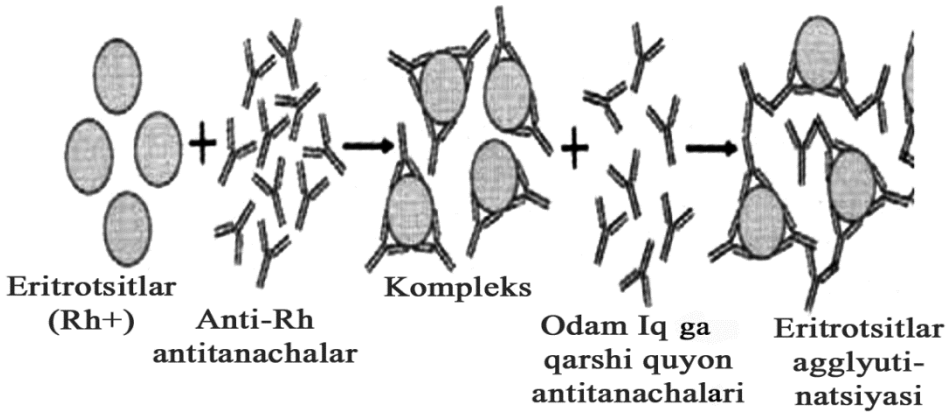
Контрол сифатида (2 ва 3 пробиркалар) олдиндан мусбат ва манфий реакцияберадиган зардоблар ҳисобланади: 4 ва 5 пробиркаларзардоб ва антигеннинг комплементгақарши ҳусусиятини аниқлаш учун хизмат қилади: 6 ва 7 пробиркалар комплемент вагемолитик системанинг сифатини текширилади.

Кумбс реакцияси (КР).

Бу реакция ёрдамида тўлиқ бўлмаган, яъни бир валентли антителалар аниқланади. Бу Ат корпускульяр ёки эритма ҳолидаги антигенлар билан махсус бирикади, бу реакцияни макроскопик кузатиб

бўлмайдиган гглютинация,преципитация ёки комплементнибириктириш феноменларикузатилмайди. Тўлиқ бўлмаган антителалар ўзининг бир валентлилиги туфайли (бир актив маркази бор), антигеннинг детерминант жойини қоплаб олиб, бошқа Аг детерминанлар билан бирика олмайди. Шунингучун уларни қуршаб олувчи (блокируюшие) антителалар деб ҳам аталади.

КР усулида асосан махсус антиглобулин қон зардоблари ишлатилади. Бузардобларни олиш учун қуённи одам қон зардобининг глобулинлари биланиммунизация қилинади. Бу антиглобулин тўлик, яъни икки валентлиантителалар группасига киради. Агар текширилаётган қон зардобида тўлиқбўлмаган антителалар бўлса, улар антиген билан бирикиб, унинг усткиқисмига адсорбция бўлади. Шу ҳосил бўлган бирикмага диагностик антиглобулинли қон зардоби қўшилса, ундаги антителалар, антиген-антитела комплекси (антиген билан бириккан тўлиқ бўлмаган антителалар) билан махсус бирикади. Натижада, макроскопик кўринмайдиган реакция тўлиқ ва тўлиқ бўлмаган антителаларнинг бирикиши ёрдамида гемагглютинация юз беради ва реакция кўринади.



10.9-расм. Кумбс реакцияси

Нотўлиқ Ат аниқлаш учун, масалан, ҳомиладор аёллар зардобидагиэритроцитларнинг резус –антигенига қарши ҳосил бўлган Ат аниқлаш иккибосқичда қўйилади (расм 56). Биринчи босқичда икки мартадан суюлтирилган,текшириладигон зардобга резус-антигенига эга эритроцитлар қўшилади ва 37ºС да термостатда бир соат сақланади ва олиниб уч маротаба центрифугаёрдамида натрий хлорни изотоник эритмасида ювилади. Иккинчи босқичдаяхшилаб ювилган эритроцитларга (олдиндан ишчи эритмада титрланган)қуённинг одам глобулинларига қарши олинган зардоби

қўшилади. 30 мин 37ºСда термостатда қўйилгандан сўнг гемагглютинация борлигига кўра (мусбатреакция) натижаси ҳисобга олинади. Реакцияда қуйидаги контроллар қўйилади:

1) антиглобулинли зардоб + олдиндан сенсибилизация қилинган эритроцитлар;

2) нормал зардоб + эритроцитлар + антиглобулинли зардоб;

3) текшириладигонзардоб + резус манфий эритроцитлар + антиглобулинли зардоб.

Иммунфлюоресцент усул. Юқумли касаллик агентларини патологикматериаллардан, инфекция юққан ашёлардан, ҳайвон тўқималаридан ваҳужайра культураларидан флюоресценция қилувчи антителалар (зардоблар)ёрдамида аниқлашдаюқумли касалликларга диагноз қўйишда амалиётда кенгқўлланилади. Иммунфлюоресцент усул тезкор (экспресс) диагноз қўйиш усулибўлиб, ўзининг сезгирлиги ва спецификлиги билан бошқа серологик
реакциялардан қолишмайди.

Флюоресценция қилувчи зардобларни тайёрлаш, айримфлюорохромларнинг (масалан флюоресценциянинг изотиоцианати) зардоб оқсилларнинг иммунологик махсуслигига таъсир қилмай улар билан кимёвийбирикишига асосланган. Иммунфлюоресцент усулни Кунс реакциялари деб ҳаматалади. Иммунфлюоресцент реакцияни бевосита ва билвосита усулларитафоут этилади (расм 55). Кунснинг бевосита иммунфлюоресцент усулида, флюоресценция қилувчи антителолар (флюорохром билан нишонланган) микроб антигенлари билан бирикиб, комплекс ҳосил қилади. Бу комплекслар люминесцент микроскопостида кўрилганда ўзига хос яшил рангда нур тарқатади (расм 55а). Буреакциянинг камчилиги шундан иборатки, ҳар бир текширилувчи микроб ёкивирувга қаши флюоресценция қилувчи махсус зардобларнинг кенг тўпламинитайёрлаш зарур.

Кунснинг билвосита усулида эса, фақатбиргина, универсал, таркибида қуёнглобулинларига қаршиантителалари бўлган флюоресценция қилувчиантиглобулинли махсус зардоб кўзда тутилади. Диагностик антизардоб (АТ)таркиби қуён глобулинлари бўлганлиги учун (чунки антиген қуёнларнииммунлаш йўли орқали олинади), улар флюоресценция қилувчиантиглобулинли зардоб билан антиген сифатида махсус бирикади (расм 55б) вакомплекс (изланилаётган микроб + микробга қарши АТ +

нишонланганантиглобулин зардоб) ҳосил қилади. Ҳосил бўлган комплекс люминесцентмикроскопда нур тарқатади.

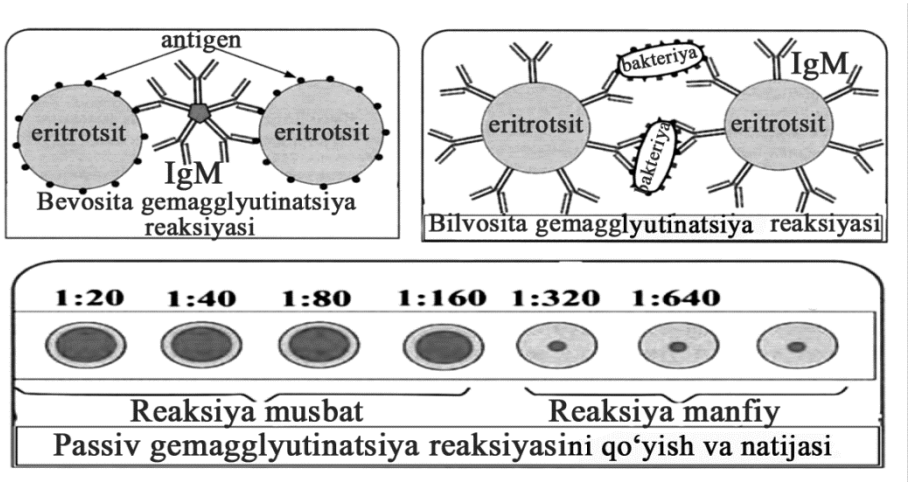
Текширилаётган биоматериаллардан MYCOPLASMA ларни антигенини бевосита иммунофлюоресценция усилида аниқлаш. Стерил пахта тампон билан олинган клиник материалдан (ҳалқумнинг орқа деворидан, бурун бўшлиғи ва синусит ажралмалари) ёғсизлантирилган тоза буюм ойнасига юпқа қилиб суртма тайёрландива ҳавода қуритиб фиксация қилинди. Фиксация қилинган суртмадан *Mycoplasma pneumoniae* ва *Mycoplasma hominis* антигенларини топиш учун шу қўзғатувчиларни цитоплазматик мембранасига қарши олинган ва ФИТЦ билан нишонланган поликлонал антителалар билан ишлов берилдива суртма 30 мин музхонада инкубация қилинди. Тайёр суртма люминесцент микроскоп ёрдамида кўрилди, натижа суртмада микоплазма АГ ва унга қарши нишонланган АТ махсус бирикиши оқибатида микоплазмани яшил флюоресценцияси кузатилди. Суртмадан 10 ва ундар ортиқ аниқ – яшил рангли гранулалар топилса натижа мусбат ҳисобланди.Агар препаратда гранулалар 10 дан кам бўлса ва яшил флюоресценция аниқ бўлмаса ва эпителий ҳужайралари учрамаса реакция қайта текширилади. Агар препаратда эпителий ҳужайралари етарли кузатилса ва яшил рангли гранулалар 10 дан кам бўлса реакция манфий деб ҳисобланди.

Бевосита ва билвоста гемагглютинация реакцияси (БГР)

Бевосита гемагглютинация реакциясининг (БГР) моҳияти шунданиборатки, турли антигенлар билан олдиндан сенсибилланган эритроцитларгаиммун зардоб ёки тегишли антигенларга эга бўлган касал зардоби қўшилса, шусенсибиллашган эритроцитлар бир-бирига ёпишиб агглютинацияга учрайди. Шуни эсдан чиқармаслик керакки, эритроцитларни қайси антиген билан сенсибилизация қилинса, шу антигенга махсус бўлган антителалар билан реакцияга киришади (расм 57).

Бевосита гемагглютинация реакцияси (пассив) сезгирли ва махсуслигижиҳатидан бошқа серологик реакциялардан устун туради. Ҳозирги кунда жудакўплаб модификациялари бактериялар, риккетсиялар қўзғатадиган юқумликасалликларнинг диагностикасида кенг қўлланилади. Бу реакцияларда қўй,маймун, денгиз чўчқаси, қушлардан (хўроз, ғоз) ва одамнинг 1(О) группасиэритроцитларидан фойдаланилади. Антиген сифатида эса тозаланган микроб,вирус ва бошқа микроорганизмларнинг антигенлари, уларнинг токсинлари

ватурли ҳил оқсил моддалари ишлатилади. Антигенлар билан сенсибилизацияқилинган эритроцитлар медицина саноатида эритроцитар диагностикумларкўринишида чиқарилади. Бундай эритроцитар диагностикумлар ёрдамидабемор қон зардобидаги махсус Ат титри аниқланиб касалликга серологикташхис қўйилади (қорин тифи, иерсиенозларда, ОИТВ, бруцеллёз вабош.касалликларда). Бу усулни билвосита (пассив) гемагглютинация реакцияси(расм 57) деб ҳам аталади.



10.10-расм. Гемагглютинация реакциялари, механизми ва натижалари

Кўпчилик ҳолларда эритроцитлар антиген билан эмас, балки махсусантителалар билан сенсибилизация қилинади. Одатда гетроген Ат ларэритроцитларга адсорбция бўлмайди, уларни эритроцитлар мембранасигабириктиришда кимёвий бириктировчи (CrCl 3, глютар альдегид)моддалардан фойдаланилади. Бундай антителали эритроцитардиагностикумлар ҳам саноатда чиқарилади. Бундай эритроцитардиагностикумлар билан антигенларни аниқлаш қайтар билвоситагемагглютинация реакцияси деб аталади (расм 57) ва кўпчилик касалликларда(гепатит В, С, ОИТВ, вабо, ич буруғ, ўлат ва бошқ.) қўлланилади.

Билвосита гемагглютинация реакциясини қўйиш.

Лабораторияда БГР қўйиш учун стандарт эритроцитли диагностикумларданфойдаланилади (30 жадвал). БГР ҳозирги вақтда чуқурчали пластинкаларда, пробиркалардаёки кўпроқ микропланшеткаларда қўйилади. Тажриба натижаси ва унинг даражасинианиқлаш учун тўрт мусбат (++++) белги қўйиш системаси ишлатилади. Реакция натижаси 2соат 37^0С 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.

Жадвал 10,6.

БГР нинг қўйилиш схемаси

Ингредиентлар	Пробиркалар							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	Суюлтириш даражаси							
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	Контроллар	
							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 диагностикум (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.

епишмаиди ва пробиркалар уртасида тугмачага ухшаш чукма ҳосил қилади. Тўрт ва учта (+) реакциялар мусбат ҳисобланади. Реакцияда 2 контрол билан қўйилади, яъни диагностикум ва зардоб.

Пробиркалар яхшилаб аралаштирилиб, 37^0C ли термостатга 2 соат қўйилади, натижасидафтарга ёзилади.

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, яънипреципитиноген бўлиб, турли хил оқсил моддалар (ҳайвон, ўсимлик вамикроорганизм оқсиллари) ва иссиқликка чидамли баъзи бирмикроорганизмларнинг антигенлари (куйдирги) ва туляремия касалинингқўзғатувчилари) киради. Преципитация реакцияси (ПР) жуда сезгир ва махсусусул бўлиб, бу реакция ёрдамида 1:10 гача суюлтирилган антиген ёки гаптенни аниқлаш мумкин. Преципитация реакциясининг юқори даражадасезгирлиги, маълум антизардоблар ёрдамида кўпгина антигенларнианиқлаш имкониятини беради. Бунинг учун махсус пробиркалардаги стандартсуюлтирилган диагностик зардобларга кетма-кет суюлтирилган антигенаста секин пробирка

деворига томизилади, бир неча дақиқа ўтгандан сўнгикки муҳит чегарасида антиген антитело бирикмаси оқ, ҳалқа кўринишиданамоён бўлади. Бунда преципитация қилувчи зардобнинг титри, деб максималсуюлтирилган антиген ишлатилганда яққол намоён бўладиган преципитацияреакцияси тушунилади.

ПР қуйидаги амалий ишларда қўлланилади:

1. Юқумли касалликлар диагностикасида (куйдирги, туляремия, ўлат вабошқалар).

2. Баъзи бир бактерияларнинг турини ёки типини аниқлашда.

3. Суд тиббиёт экспертизаси амалиётида. Масалан: қон доғи, спермақайси 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. Электролит муҳитида энг кўп ҳалқасимон ПР қўлланилади. Бу жуда содда реакция бўлиб, осон қўйилиши билан ажралиб туради. Реакция кўпроқ куйдирги касаллигинидиагностикасида кенг қўлланилади. Куйдирги қўзғатувчисини ҳужайра деворида икки тоифа антигени учрайди. Биринчи тоифа антигенлариссиқликка чидамсиз, юқори ҳароратда парчаланиб кетади, иккинчи тоифаантигени эса иссиқликга чидамли ҳисобланади. Шу антигени топишда ПРқўлланилади. Шунинг учун бу реакцияни термопреципитация реакцияси ҳамдеб аталади. Антиген сифатида куйдирги касаллигидан ҳалок бўлганҳайвоннинг териси, юнги ва бошқа жойидан олинган материаллар ишлатилади. Улар қайнатилиб, фильтратлар тайёрланади, уни махсус ПР учунмўлжалланган пробиркаларга қуйилади.

Фильтратнинг 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 (58-рангли расм). Иммун зардобининг дисперслигиантигенникидан кам бўлгани учун уларни тенглаштириш

мақсадида антигенсуюлтирилади. Бундан ташкари гельдаги (агардаги) преципитация реакциясиҳам бор. Агарли Петри косачасида бир-биридан оралиғи тенг бўлганчуқурчалар ҳосил қилинади. Марказий чуқурчага таркибида антителоларбўлган зардоб томизилади, қолганларига эса, текширилувчи материалларёки антигеннинг ҳар хил даражада суюлтирилгани қуйилади. Агардамоддалар диффузия бўлади ва тенг миқдорда бўлган жойда антиген ваантителолар учрашади ва хира рангли чизиқлар яъни преципитация ёйлариҳосил бўлади.(Расм 58). Бу реакция дифтерия қўзғатувчисининг заҳарлиштаммларини аниқлашда фойдаланилади.

Прецепитация реакциясининг 20 дан ортиқ турлари мавжуд бўлиб,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 натижадапробиркадаги суюклик хиралашади. Флоккуляция реакцияси зардоб ишлабчиқаришда антитоксик зардобларнинг фаоллик даражаси ёки таъсир кучинианиқлашда ишлатилади. Антитоксик зардобларнинг таъсир кучини ўлчамбирлиги сифатида халқаро бирлик (ХБ) қабул қилинган. Халқаро бирлик, бумаълум бир миқдордаги токсинни Dim (*dosis letalis minimalis* - ўлимга олибкелувчи энг кам миқдор) нейтраллай оладиган антитоксик зардобнинг энг каммиқдоридир. Антитоксик зардоблар бир неча марта анатоксин биланиммунизация қилинган ҳайвонларнинг қон зардобидан ажратиб олинади.

Олинган зардоблар софликка, апирогенликка, (ҳайвон организмигаюборилганда тана ҳарорати юқорига кўтарилмаслиги керак) текширилади.

Уларнинг титрлари *in vivo* (ҳайвонларда) ва *in vitro* (флоккуляция) усуллариёрдамида аниқланади.

Клиник иммунологияда ҳам ПР кенг қўлланилади. Қон зардобидаги ҳархил иммуноглобулинларнинг миқдорини аниқлашда преципитацияреакциясини гелда қўйиладиган яна бир тури ишлатилади. Бу усулОухтерлони ва Манчинининг гелдаги иммунодиффузия реакцияси деб аталади(65-расм).

Жадвал 10,7.

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 қоплаб томизилади					
Диагностик кон 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.

Иммунофермент анализ усули (ИФА). Кўп жиҳатлари билан РИА ўхшабкетади, бироқ ундан қўшимча реагентлар –АГ ва АТ, нишонланган ферментлар(пероксидаза, ишқорий фосфатаза) қўлланилиши билан фарқланади (расм 59).

Иммун комплекс ҳосил қилингандан сўнг ушбу системага ферментлар биланбойитилган субстракт қўшилади, бунда муҳит сарғиш (пероксидазаиштирокида) ёки сарғиш-яшил (фосфатаза иштирокида) рангга киради. Охиргийилларда ИФА нинг турли модификациялари ишлаб чиқилган. Клиникиммунология амалиётида ИФА нинг қаттиқ фазали "сендвич" вариантиданкўпроқ фойдаланилади. ИФА бу вариантини бевосита ва билвосита усулляриишлаб чиқилган (59- рангли расм).

ИФА нинг бевосита усули.

Антиген адсорбция қилинган (полистерол планшетка) қаттиқ субстратга изланилаётган антитела аралашмали зардоб қўшилади. Агар изланилаётган Ат қон зардобида бўлса Аг билан махсус бирикади. Иккинчи босқичида антигенга боғланмаган Ат лар кўп маротаба ювиш билан чиқариб ташланади. Учинчи босқичда эса антиген билан бирикган антителага қарши фермент билан

нишонланган антиглобулин (конъюгат) қон зардоби 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 зардоби қўшилади. Агар изланилаётган зардобдаантиген бўлса антитела билан бирикади ва унинг устига диагностик қон зардобиқўшилади, инкубация қилингандан кейин уни кўп маротаба ювиб ташланади.

Иккинчи босқичида махсус антителани фермент билан нишонланган варианти(конъюгат) қўшилади. Агар изланилаётган зардобда антиген бўлса ферментбилан нишонланган конъюгат антиглобулин антитела билан бирикади васубстрат хромоген қўшилганда ранги ўзгаради. Боғланган конъюгатнингмиқдори текширилаётган намунадаги Ат ёки Аг миқдорига тўғрипропорционал (ИФА қўйилиши 37 машғулотда келтирилган).

Иммуноблотинг реакцияси.

Иммуноблотинг (инг. blot, доғ) усулиюқори даражада сезгирлиги билан ажралиб туради.Антигенни ёкиантителани аниқлашда бир бирига мос келувчи маълум зардобдан (ёкиАг) фойдаланишга асосланган. ОИТВ инфекциясини ташҳисидақўлланилади. Дастлаб электрофорезда вирус антигенлари махсусполиакрил гел ёрдамида ажратиб олинади (амалиётда махсус олинганреагент қўлланилади). Сўнгра преципитат чизиқларига махсус материал(нитроцеллюлоза плёнкаси ёки активлаштирилган қоғоз) бириктириладива электрофорез давом эттирилади. Антиген шимдирилган махсусматериаллар тасмаси амалиётга чиқарилади. Ушбу тасмаларга бемор қонзардоби қўшилиб инкубацияланади. Агарда Аг қарши антителалар бўлса,бу АТ лар тасмада жойлашган ўзи учун махсус Аг билан бирикиб доғҳосил қилади (60- расм).

АТ лар ферментлар ва махсус субстрат билан нишонланган, ёки ўзгарувчи бўёқ билан бириккан бўлганлиги сабабли ҳосил бўлган Аг+Ат комплекси электрофорез плёнкасида ажралиб туради

11 БОБ. Иммунитет органлари. Т ва В лимфоцитлар, субпопуляциялари, уларнинг организмдаги иммун реакциялардаги аҳамияти. Иммун тизимга баҳо бериш усуллари.

11.1. Иммунитет органлари, ҳужайралари ва уларнинг организмдаги иммун реакциялардаги аҳамияти (Методик кўрсатма)

Тирик мавжудотларда иммунитетни эволюцияси, ўртача 500 млн. Йилданбери шаклланиб келмоқда. Табиатнинг бу мўжизаси ўзининг табиий уйғунлиги,мақсадга мувофиқлиги билан ажралиб туради. Турли йўналишда олиб борилганилмий изланишлар, бизга иммунитетнинг қонуниятларини ва унингфункционал хусусиятларини очиб берди ва “Тиббиёт иммунология” фанини шакллантирди.

Йилдан-йилга жадал ривожланаётган тиббиётнинг бу йўналишида кўплабкашфиётлар қилинмоқда. Афсуски ҳозирги кунгақадар биз учун асосий бўлганиммун система нима учун керак, деган саволига тўлиқ жавоб олингани йўқ.Мантиқий қараганда иммунитет бизни юқумли касаллик агентларидан-бактерия, вирус, содда жонивор, замбуруғлардан ва организм учун бегонабўлган ҳар қандай генетик омиллардан ҳимоя қилади. Лекин, нима учуниммунитетга ўта юқори даражадаги махсус аниқлаш тизими зарур, яъниантиген бегоналигини аниқлашдан ташқари оқсил структураси ва унингтаркибидаги аминокислоталар ҳам махсус аниқланишдан четда қолмайди.

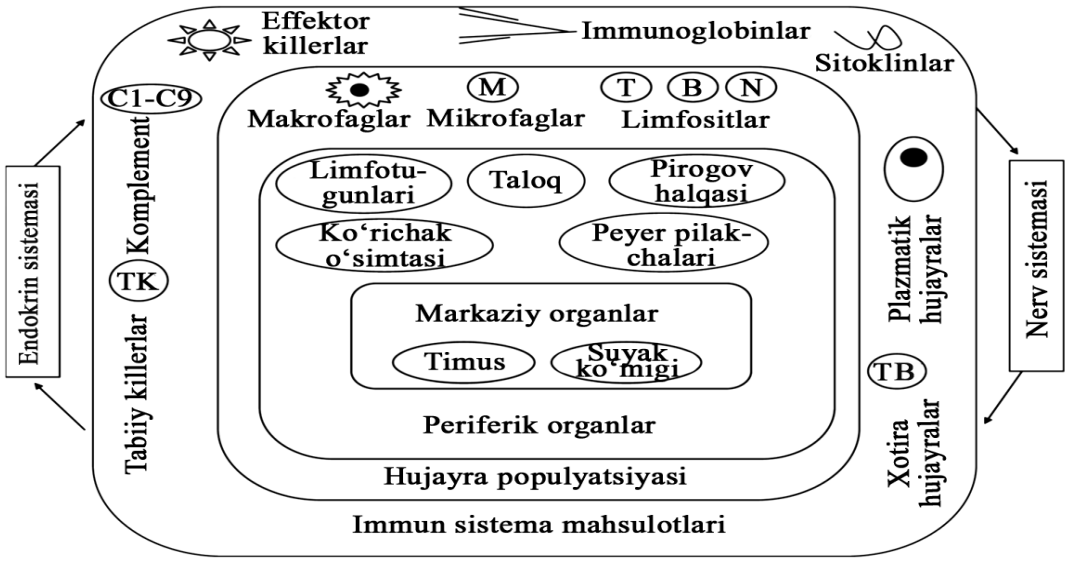
Иммун системани бу ўта махсус “сезгирлиги” шунинг учун зарур эканки, иммунитет, биринчи навбатда организмни “ўзиники” ёки тўғрироғи “бегона”бўлган “ўзиники” дан ҳимоя қилар экан. Чунки бизнинг организмизда ҳар кунимиллионлаб мутант ҳужайралар ҳосил бўлади ва булар кўплаб дефектлибиомолекулалар синтез қилиши оқибатида, организмдаги моддаларалмашинувини тормозлаши ва энг хавфлиси бу мутантлар рак ҳужайраларигаайланиши мумкин.

Юқоридаги айтилганлардан келиб чиқиб, ҳозирги кунда иммунсистеманинг асосий вазифаси – организмнинг ички структураси доимийлигини,яъни гомеостазни сақлашдан иборатдир деб тушунилади.

Инсон организми олдига қўйилган бу ўта мураккаб вазифани организмда“Иммун система” амалга оширади. Шунинг учун бу система оганизмнингҳамма тўқима, суюқликлари ва уларни таркиби, ҳужайраларга кира олишхусусиятига эга бўлиши зарур. Одам иммун системаси лимфотик ва қонсистемаси бирлашишидан ташкил топган (расм 61).

Марказий орган-айрисимон без(тимус) ва периферик органлар-талоқ,лимфатик тугун, Пейер пилакчаси ва лимфоид йиғилмаларда лимфоцитларнингкўпайиши ва шаклланиши рўй бериб туради. Ўз навбатида суяк кўмиги ўзакҳужайраларнинг пайдо бўлиш манбаси бўлиб, бу ҳужайралардаиммунокомпетент ҳамма ҳужайралар (Т ва В лимфоцитлар, фагоцитлар,табиий киллерлар ва бош. ҳуж.) шаклланади.

Талоқ қонни, лимфотик тугунлар эса тўқима суюқлиги ва лимфанифильтрлайди. Шунинг учун организм суюқликларида пайдо бўлган ҳар қандай “бегона” биомолекулалар дарҳол аниқланади ва улар органларда нейтрализацияқилинади. Бу жараёнда фагоцитлар, нормал антитело, комплемент,монооксидаза системаси ферментлари ва бошқа факторлар қатнашади. Агарорганизмга антигенлар кўп миқдорда тушса, яна улар кўпайса (инфекционагентлар, рак ҳужайралари), носпецифик ҳимоя системасини курашишга кучиетмаса бу жараёнга организмда махсус ҳимоя системасидаги юқоримахсусликга эга бўлган лимфоцит ва макрофаглар қўшилади, уларнинг жавобреакцияларини маҳсулоти махсус антителалар, киллер лимфоцитлар, эффекторлимфоцитлар, цитокинлар ва бошқа организмни яллиғланиш реакцияларибўлиши мумкин.



11.1-расм.Иммун системанинг структура ва функционал тузилиши

Бегона антигенлар организмда тугатилгандан сўнг, иммунжавоб сустлашади, лекин лимфоид хотира ҳужайраларда бу антигенларниантиген хусусиятлари (детерминанти) сақланиб қолади. Агар шу антигенорганизмга қайтадан тушса, иммун жавоб олдинги жавобдан бир қанча кучлива тез рўй беради.

Шундай қилиб махсус жавобда иммун системанинг асосий ҳужайраларимакрофаг ва лимфоцитлар экан.

Организмдаги лимфоцитларни ҳамма популяцияси классга: Т-, В ва “нол”лимфоцитлар ва булар ўз навбатида 3 та ҳужайра асосидаги системасигабўлинади. Бундай бўлинишлар ҳужайраларни келиб чиқиши, функционалфарқлари ва рецептор аппаратлари асосида қилинган.

Т-лимфоцитлар системаси тимус ва лимфоид органларни тимусгаалоқадор зонасидан иборат бўлиб, кўпаётган ва шаклланаётган Т-лимфоцитлартутади. Тимус- бу системани асосий органи ҳисобланади. Тимусда ўзакҳужайраларидан Т-лимфоцитлар шаклланади. Тимусда махсус ҳужайралар(эпителиал энага, дендрит) ва тимус гормонлари иштирокида бу лимфоцитларшаклланиб, турли функциялар бажарувчи Т-лимфоцитлар субпопуляциясигаайланади.

Буларни кўпчилиги Т-хелпер номини олишган (инг.сўз to help-ёрдамбериш). Бу лимфоцитлар В- лимфоцитларни антитела секрет қилувчи ва Т -эффектор ҳужайраларни шаклланишига ёрдам беради. Иккинчи гуруҳлимфоцитлар Т-супрессор деб номланади (инг.сўз to suppress-босувчи) иммунжавобни босиб туради, яъни иммун жавобни антигенга қарши кучи вамуддатини бошқаради. Учинчи гуруҳ лимфоцитлари Т-киллер (инг.сўз to kill-ўлдирувчи) деб номланган. 4-гуруҳ -Т-эффекторлар ҳисобланади. Бу лимфоцитлар бирламчи (предшественники) ҳужайралар бўлиб тимусда шаклланиб, уни ташлаб чиқади ва қон орқали организмдаги ҳамма лимфоид органлардаги тимусзонасига боради ва антиген таъсирида эффектор ҳужайраларга айланади. Т-лимфоцитлар ва уларни субпопуляциялари организмда ҳужайра типидагииммун жавобни шакллантиради. Тимусни ташлаб чиққан Т-лимфоцитлардоимо таъсирида бўлади, чунки тимусда ишлаб чиқарилаётган бирқатор бошқарувчи пептидларга нисбатан бу имфоцитларда рецепторлармавжуд.

В-лимфоцитлар- марказий органи суяк кўмиги (СК) ҳисобланади. СК даВ-лимфоцитлар шаклланади ва қон билан организмдаги ҳамма лимфоидорганлардаги В- зонасига боради ва бу ерда антиген таъсирида антитела синтезқилувчи плазматик ҳужайраларга айланади. В-лимфоцитлар организмдагуморал иммун жавобни шакллантиради.

“Нол” лимфоцитлар -бундай номланишни Т ва В лимфоцитларганисбатан альтернатив қилиб олинган. Булар ҳам СКда

шаклланади ва бутунорганизмдаги лимфоид орган ва тўқималарга тарқалади.

Уларнинг асосий қисмини табиий киллерлар ташкил қилади ва организмдажуда муҳим бўлган функцияларни (рак, вирус билан зарарланган ҳужайраларниўлдиради) бажаради. Ваҳоланки бу жараён жуда қисқа 4 соат ичида амалгаоширилади. Иккинчи қатор “нол” лимфоцитларга К-ҳужайралар киради, уларнибиринчи тип ҳужайралардан фарқи бегона ҳужайраларни антитела ёрдамидатопади (мембранасида антителани Fc фрагментига нисбатан рецептор мавжуд)ва йўқ қилади.

Макрофаглар - иммун жавобда қатнашувчи асосий ҳужайралардан бириҳисобланади. Макрофаглар антигенни фақат фагоцит қилибгина қўймай, унингасосий антиген хусусиятларини аниқлаб, бу ўта муҳим информацияни Т-хелпервa В –лимфоцитларга етказади ва иммун жавобни ҳужайраларарокооперацияларида қатнашади. Шунинг учун макрофагларни антиген презентантҳужайралар (антигенни намойиш қилувчи) деб ҳам аталади.

Иммун яллиғланиш реакцияларини кўплаб цитокинлар бошқаради ва қайсиҳужайралар ишлаб чиқарилишига қараб интерлейкинларга (IL 1 -16),монокинларга ва лимфокинларга бўлинади. Биологик активлигига қараб ҳаммацитокинлар 3 та гуруҳга бўлинади:

1. Яллиғланиш жараёнларини бошқарувчи – цитокинлар. Буларга киради:IL-8, Pf -4 (тромбоцитар фактор), MIP-1a (макрофагал ялиғланиш оқсили),MPC-1(макрофагал хемотоксик фактор), PD-GF (тромбоцитар ўсиш фактори),IL-1, IL-6, TNF-α, CSF, TGF-β (трансформацияловчи ўсиш фактори).

2. Асосий цитокинлар- антигенспецифик “ҳужайра” типидаги иммунжавобни бошқарувчи. IL-1, IL-6, INF-γ, IL-12, TGF- γ, IL-10.

3. Асосий цитокинлар- антигенспецифик “гуморал” типидаги иммунжавобни бошқарувчи. IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, INF-γ, TGF- γ.

Цитокинлар таъсири организмдаги физиологик, патофизиологикреакциялар билан узвий боғлиқдир. Бу эса организмнинг локал ва системалиҳимоя механизмларини модуляция қилади.Цитокинларни асосий вазифасиорганизмнинг патоген агентга нисбатан иммун, эндокрин, нерв ва яллиғланишсистемаларни ишини мувофиқлаштиришга қаратилгандир.

11.2. Иммун тизимга баҳо бериш усуллари.

Тиббиёт иммунологиясинингфан сифатида шаклланиши одам иммун тизимига баҳо беришни махсусусулларини ишлаб чиқилиши билан узвий боғлиқдир. Охирги йилларда Бутундунё 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 техникмаърузаларида ўз аксини топди.

Одам иммун тизимининг фаолиятини тўлақонли функционал баҳолаштўғрисида маълумот олиш қуйидагича режалаштирилиб ўрганилади: Т-системава В-система лимфоцитлар; табиий киллерлар; организм тўқима, касалликқўзғатувчиларни антигенларига қаратилган махсус ҳужайра ва гуморалреакциялар; резистентлик факторлари, интелейкинлар, интерферонлар. Одамиммун системаси фаолиятига баҳо бериш қуйидаги группаларга бўлинади:

- айланиб юрувчи умумий Т-лимфоцитларни аниқлаш (қўй эритроцитларибилан Е-розетка ҳосил қилиш, анти-Т –зардоб билан цитотоксик тест, оқибўтувчи цитофлюориметрия ёки иммуномагнит маржон қўллаш орқали СД3,СД11 маркерларни регистрация қилиш);

- ФГА ва Кон-А ёрдамида Т- лимфоцитларни митогенлик активлигинибласт трансформация усулида аниқлаш;

- Т-лимфоцитларни миқдори бошқарувчи субпопуляциялари-Т-супрессорва Т-хелперларни (IgG ва IgM иммуноглобулинларни эритроцитларгаадсорбция қилиниб розетка ҳосил қилиш, СД4 ва СД8 антителалар билан оқибўтувчи цитофлюориметрия усули) аниқлаш;

- В- лимфоцитларни активлиги ва миқдорини аниқлаш (ЕАС –РОК,антиглобулин антитела билан иммунофлюресценция, ЕМ-РОК ва , СД19 ваСД20 антителалар билан оқиб ўтувчи цитофлюориметрия усули);

- В -лимфоцитларни функционал активлигини аниқлаш (ЛПС митогенибилан В- бласт трансформация усули ва иммуноглобулинлар G, M, A, E, D қонзардобидан, иммунглобулинлар синтезини in vitro);

- киллер реакциялари ёрдамида табиий киллерларни функционалактивлигини аниқлаш;

- антигенга қарши ҳужайра эффектор реакциялари (миграцияниингибиция қилувчи фактор, Т-лимфоцитларни киллер активлигини, антигенбоғловчи лимфоцитларни, антиген ёрдамида Т-лимфоцитларни ўстириш орқалибласт трансформация усулида аниқлаш);

- ўта сезгирликнинг тез ва секин аста юзага чиқувчи реакцияларииинтенсивлигига баҳо бериш; турли антигенларга (тўқима ва касаллик қўзғатувчилари) қаршиантителаларни аниқлаш орқали гуморал эффектор реакцияларни ўрганиш;

- резистентлик факторларини ўрганиш (фагоцитоз, қон зардобиникомплементар активлиги, семиз ҳужайраларни функционал активлиги,эозинофиллар, базофиллар);

- цитокин ва уларга нисбатан эрувчан рецепторларни аниқлаш(интерлейкинлар, интерферонлар);

- иммуногистологик текширувлар;

- иммуногенетик антизардоб ёки занжирли полимераза реакцияси орқалитекширувлар (HLA);

- генотипик ва фенотипик типларини, зардоб оқсилларини аллотипини,иммун системанинг генотипик нуқсонларини аниқлаш.

Юқорида келтирилган ёндошувлар иммун тизим фаолиятига ва унингфункционал ҳолатига тўлиқ баҳо бера олади. Аммо, шуни айтиш лозимкикелтирилган усулларни тўлиқ қўллаб одам иммун тизимига баҳо бериш клиникамалиётда деярли мумкин эмас. Шунинг учун россия олимлари Р.В. Петровбошчилигида иммунологик усулларни ўрганиб чиқиб, уларни бажаришмураккабликларини ҳисобга олган ҳолда иммун тизимга баҳо бериштестларини иккита даражага бўлишган.I- даражаси, дастлабки баҳо, II- даражасида эса иммун тизимгачуқурлаштириб текшириш орқали баҳо берилади.

Иммунологик текширувларнинг I- даражаси қуйидаги усулларда баҳоберилади:

1) периферик қондаги лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорига баҳобериш;

2) Т ва В лимфоцитларни нисбий ва абсолют миқдорига Е ва ЕМ – розеткоҳосил қилиш тестлари орқали аниқлаш;

3) қон зардоби таркибидаги асосий иммуноглобулинлар классини (G, M, A)миқдорини аниқлаш;

4) нейтрофилларни фагоцитар активлигини ўрганишАгар I- даражали дастлабки баҳо беришда иммун тизимда камчиликларкузатилса махсус лабораторияларда II- даражада иммунологик текширувларўтказилади.

Т ва В лимфоцитларга баҳо беришда текширув объекти лимфоцитларҳисобланади. Шунинг учун лимфоцитларни соф популяциясини ажратиб олишмуҳим аҳамиятга эга.

Лимфоцитларни фикол-верографин зичлиги градиентида ажратиб олиш.

1. Текшириш учун тирсак венасидан қон (2-5 мл), ивиб қолмаслиги учунгепарин (25 бирл/мл) қўшилган пробиркага олинади. Олинган гепаринлиқонни 199 муҳитда 2-3 маротаба суюлтириш мумкин

2. Гепаринли қон пробиркага олинган (1-1,5 мл) фиколл-верографинзичлиги градиентига (1,077) секин аста пробирка девори бўйлабқатламлаштирилади. Градиент зичлик билан қон ўртасидаги нисбат 1:3 тенг.

3. Пробирка 1500 айлн/мин 30 минут центрифуга қилинади.

4. Ҳалқа ҳосил қилиб интерфазада қолган лимфоцитларни Пастерпипеткаси билан линиб икки маротаба 199 муҳитида 800 айлн/мин 10 минцентрифугада ювилади.

Лимфоцитлар Горяев камерасида саналади ва уларнинг концентрацияси 1 млда 2 млн ҳужайрага етказилади (62-рангли расм)

Лимфоцитларни ишлатишдан олдин уларни яшаш фаолияти ўрганилади.

Бунинг учун лимфоцит суспензияси Пастер пипеткасида буюм ойнасига биртомчи олиниб, унинг устига 1% трипан кўкини эритмаси томизилади ва устигаёпқич ойнача қўйилиб 2-3 минутдан кейин микроскопда лимфоцитлар 100 тагачасаналиб чиқилади (ўлган лимфоцитлар кўк рангга бўялади). Тирик лимфоцитлар95% кам бўлмаслиги керак.

Т- ва В лимфоцитлар ва уларнинг субпопуляцияларини моноклонал антителалар биланбилвосита розетка ҳосил қилиш усулида аниқлаш.

Усулнинг моҳияти шундан иборатки лимфоцитлар моноклонал антителарецептори бўлса, юзасида мАТ бўлган эритроцитларни бириктириб розеткаҳосил қилади. Бу усул ўзининг осон қўйилиши, етарли махсуслиги биланажралиб туради ва клиник лабораторияларда кенг қўлланилиб келинмоқда.

Ҳозирги кунда кўпроқ қуйидаги иммункомпетент лимфоцит ҳужайраларнингмаркерлари 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 фойдаланишмумкин.

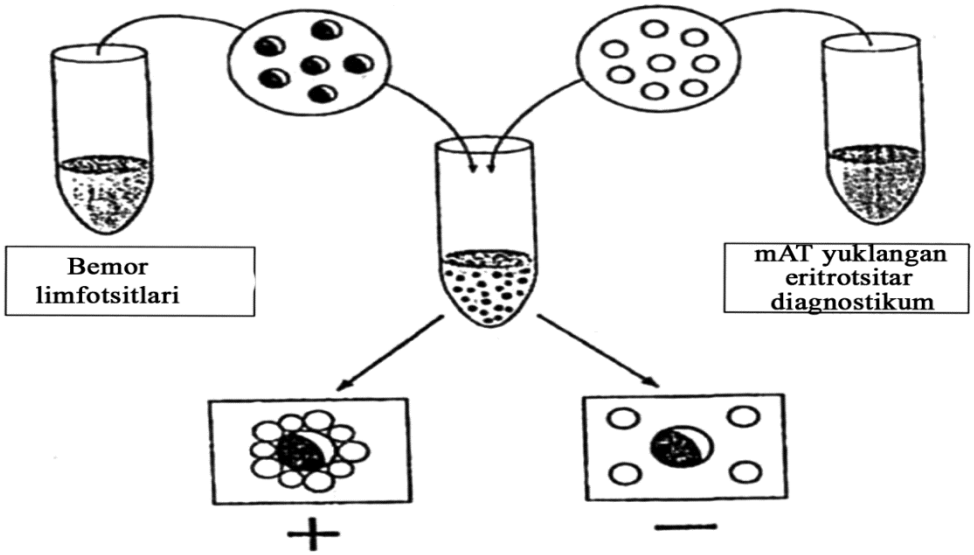
Иммунокомпетент ҳужайраларни аниқлаш учун мАТ ли эритроцитардиагностикумлар тайёрлаш.

Т-лимфоцитларни (СД3) эритроцитар диагностикуми қуйидаги усуллардатайёрланди. 1% одамни I (0) гуруҳ Rh(-) эритроцитларига (0,1мл) 5мклмоноклонал антитела ва устига 50 мкл 0,3% хлорид хром эритмаси қўшилди.

Ҳосил бўлган суспензия 5 дақиқа силкитиб турилиб, уч маротаба центрифугада1500 ай/мин. физиологик эритмада ювилди. Сўнгра суспензия 5 дақиқа 1%альбумин эритмасида (носпецифик реакцияларни олдини олиш учун) инкубацияқилиниб 2 маротаба физиологик эритмада центрифугада 1500 айлн/дақ. қайтаювилди ваэритроцитар диагностикумни ишчи концентрацияси 2,5% етказилди.

Шундай усулда СД4- хелпер/индукторлар,СД8- Т супрессор/цитотоксиклимфоцитлар, СД19- В-лимфоцитлар, СД16- табиий киллерлар ўзларига мос моноклонал антителалар қўлланилиб тайёрланади. Ҳар бир лимфоцитларга баҳо бериш қуйидагича амалга оширилади.

Лимфоцитларни ишчи суспензияси ва ҳар бир тайёрланган моноклоналантителали диагностикумдан 0,1 мл олиниб аралаштирилди ва 800 ай/минцентрифуга қилиниб 1 соат музлаткичда сақланади. Суспензия секин-секинсилкитиб ресуспензия қилинади ва розеткалар стабил бўлиши учун 2,5% глютаралдегид эритмаси томизилиб, чўкмадан суртма тайёрланади, фиксация қилиниб,бўялади ва микроскопда саналади. Бу усулда ҳам лимфоцитлар ўз атрофида 3 ёкиундан кўп эритроцитларни бириктириб олса розетка деб ҳисобланди. Умумийлимфоцитлар 100 дан 200 саналади. Иммунокомпетент ҳужайраларни мАТюкланган эритроцитар диагностикум билан билвоста розетка ҳосил қилиш усулибилан аниқлашни схемаси 64 расмда келтирилган.



11.2-расм. Иммунокомпетент ҳужайраларни мАТ юкланган эритроцитардиагностикум билан билвоста розетка ҳосил қилиш усули билан аниқлашнисхематик кўриниши).

Иммунокомпетент ҳужайраларни абсолют кўрсаткичлари қуйидагиформула бўйича аниқланади.

$$X = \frac{А \times Б}{100}$$

Бу ерда: А-1 мкл қондаги лейкоцитлар миқдори; Б-лимфоцитларни нисбий миқдори%.

Масалан: 1 мкл қонда лейкоцитларни миқдори 6200, лимфоцитлар 28%6200 х 28 : 100 = 1736 яъни 1 мкл қонда 1736 та лимфоцитлар бор экан.

Шу формула орқали Т ва В лимфоцитларни абсолют миқдорини аниқлашмумкин, формуладаги лейкоцитлар ўрнига лимфоцитларни абсолют миқдори валимфоцитларни нисбий миқдори ўрнига Т ёки В лимфоцитларни нисбиймиқдори қўйилади.

Масалан Т – лимфоцитлар периферик қонда 57% топилди,унинг абсолют миқдори 1736 х 57 : 100 = 989 1 мкл тенг. Қолганлимфоцитларнинг абсолют миқдори ҳам шундай усулда ҳисоблаб топилади.

Т ва В лимфоцитлар ва уларнинг субпопуляцияларини замоновий усулларда аниқлаш.

Оқувчи цитофлюориметрияусули (ОЦУ)–бу усул ўзининг аниқлиги ва тез бажарилиши билан қон ҳужайраларининг тахлилида қўлланилади.ОЦУ амалиётда диагностика соҳасида, ҳамда организмнинг иммунологик, онкологик, цитологик, гематологик, фармакологик ҳолатларига баҳо беришда кенг қўлланиб келинмоқда .

ОЦУ нинг авзаллиги ва қўлланиш соҳаси: Миқдорий цитометрия – микробиология амалиётида нисбатан янги усул бўлиб махсус анжомлар орқали дисперсион муҳитда текширувлар олиб борилади. Цитометрия статистик ва оқувчан бўлиши мумкин. Статистик цитометрияда текширувларда конфокал микроскоплардан фойдаланилади; агар бундай микроскоплар бўлмаса, усул енгил модификация қилиниб, арзонроқ бўлган люминесцент микроскопдан фойдаланилиб текширувларни ўтказиш мумкин, яъний текширилаётган субстанцияларга моноклонал флюрохром билан

нишонланган антителалар қўшилади ва люминесцент микроскопда кўрилганда изланилаётган ҳужайралар флуоресцен нур тарқатади.

Оқувчи цитометрияда бу шундай усулки, текширув дисперсион субстанциялар таркибидаги дисперс фазада ҳужайраларни режим асосида биттадан заррани(частиц) ўтишига асосланган. Бу ҳужайралар флюрохром, радиоактив моддалар билан нишонланган махсус антителалар бириктириб олганлиги туфайли флуоресценция нурида ёки радиоактив моддаларни махсус счетчик санайди. Ҳар иккала миқдорий цитометрия усуллари амалий медицина ва биологияда жуда кенг қўлланилмоқда.Усулнингномланишиҳамўтказилаётган жараённи мақсадини кўрсатади, яъни бир хил биологик зарраларнинг оқим билан ўтишидир. Оқимли цитометрия усули маълум зарраларнинг махсус эксперимент текширувларда уларнинг ўлчамини ва миқдорини аниқлаш асосида яратилган.

Замоновий оқимли цитометрия усулида икки хил типдаги аппаратлар қўлланилади:

- Биринчи типида флуоресценцияни аниқлашда икки (ва кўпроқ) тўлқин узунлиги ва ёруғликни бурчак остида 10 ва 90^0тарқалишини аниқловчи аппарат ишлатилади. Бу типдаги аппаратлар қўлланилишини оддийлиги билан ажралиб туради.
- Иккинчи типлари эса кўп таркибли ҳужайра аралашмалари, бешдан кўпроқ параметрларни, текширилаётган ядро ёки зараларни, ҳамда маълум параметрга эга бўлган ҳужайраларни ажратиб аниқлаш мумкин.

Ҳозирги кунда қўлланилаётган замоновий оқимли цитометрия усуллари жуда мураккаб ва турли хил параметларга эга, шунинг учун уларни битта систематикага солиш бирмунча қийинчиликлар туғдиради, шу билан бир қаторда бу усулнинг умумий хусусияти турли ҳамма приборлар учун бирхилдир:

- цитометрия тахлилларини қилиш учун ҳар қандай апарат типи учун маълум типдаги гамоген ҳужайра суспензияси зарур;
- текширилаётган ҳужайра , зарра ва ядролар миқдори текшириш учун етарли бўлиши зарур;
- текшириш даврида ҳужайраларни бир-бирига ёпишиб қолмаслиги учун, текширувчи текширув ўтказиш хақида тўлиқ инфармацияга эга бўлиши ва қўл остида текширув ўтказиш инструкцияси (кўрсатма) бўлиши керак.

Текширув жараёнида ўрганилаётган биологик намуна ҳужайралардан тайёрланилади:

- қондан;
- суяк кўмигидан;
- орқа мия суюқлиғи (ликвор);
- синовиал (бўғин) суюқлиғи;
- плеврал суюқлиғи;
- перитонеал (асцитик) суюқлик, қорин бўшлиғида асцит кузатилганда;
- ўсма ва соғлом тўқималар.

Оқимли цитометрия усулини қўйиш тартиби.

Оқимли цитометрия усулини қўйиш принципи жуда оддий. Текширилаётган ҳужайра суспензиялари олдиндан тайёрланган, нишонланган флуоресенция нури тарқатувчи моноклонал антитела билан ишлов берилиб дисперс муҳит патокига жойлаштирилади, яъни ўтказувчи оқимли ячейкага. Фокусланган гидроденамик ҳужайра суспензия қатори, дисперсланган муҳитда, шундай ҳолатга келадики, яъни текширилаётган ҳужайра ва ядро оқими бир қатор бўлиб фокусланган нур тўпламидан (асосан лазер нури) ўтади.

Маълум нурлар тўлқини тасирида флуоресцент бўёларнинг молкуласини қўзғалиши натижасида бир неча ҳужайра параметрларининг тахлилини олиш имкониятини беради.

Флуорохромдан ўтаётган ёруғлик, бир нечта ойна ва линзалар ва оптик система ёрдамида фокусланади, ҳамда маълум компонентлари тахланади. Олинаётган ёруғлик сигнали анализ қилинади ва электрик импульс кўринишида, маълум формага айлантирилиб компьютерга анализ қилиш ва олинган натижаларни сақлашга киритилади.

Оқимли цитометрия усулини қўллашда дисперсион муҳит (моноклонал антителалар) махсус флуоресцинт бўёқлар **флуорохромлар** билан нишонланади. Бундай нишонланган АТ бирикиб олган ҳужайралар улардан ўтаётган ёруғлик нурлари патокида махсус нур тарқатади.

Оқимли цитометрия усулида энг яхши **флуорохром (**йодистый пропидий) йодли пропидия бўлиб, унинг спектрал характеристикаси оқимли цитометрия ўтказишда идеал ҳисобланади.

Оқимли цитометрия усулини авзалликлари:

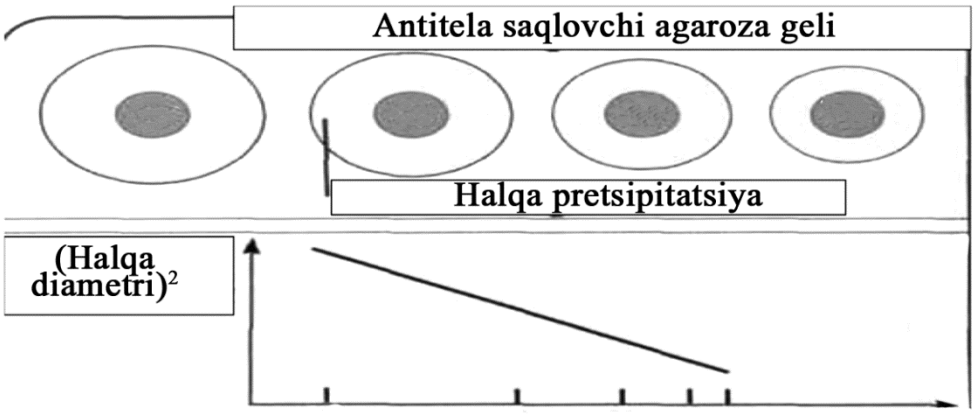
- Юқори тезликда (юз минг эпизодлар секунтда) анализларни ўтказилиши.
- Маълум ҳужайра субпопуляцияларини аниқлаш имкониятига эга.

- Ўта кўп ҳужайраларни (1 мл дисперсион муҳитдаги10^8 элементларни) тахлил қилиш мумкин;
- Ҳар қандай ҳужайраларни ва уларнинг структурасидаги ҳар параметрларни (шу жумладан кам учровчи) аниқлаш мумкин;
- Усулнинг юқори даражадаги объективлиги, интенсив нур тарқатиши асосида (флуоресценция).

Оқимли цитометрия усули тиббиёт амалиётида қуйидаги йўналишларда қўлланилмоқда:

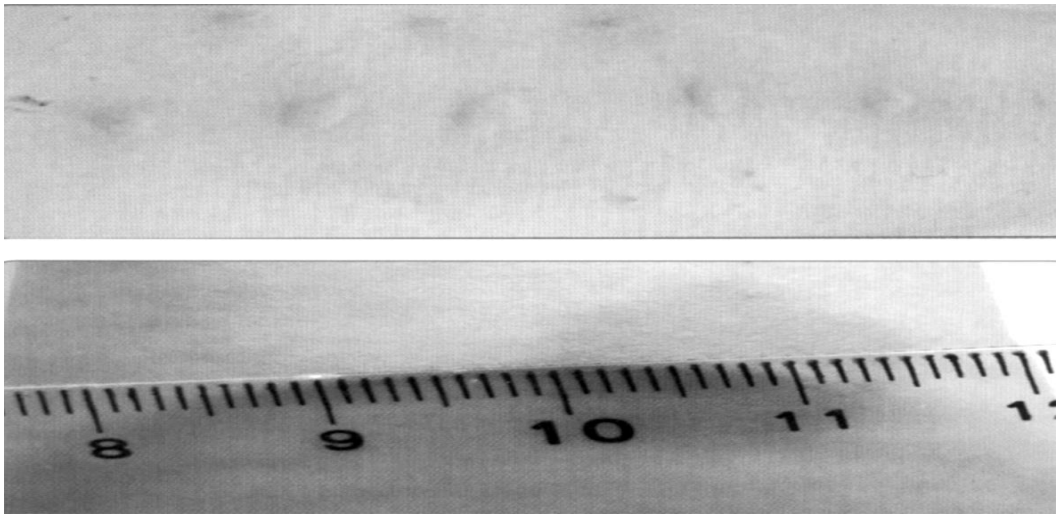
- ДНК нинг ҳужайра ичи структурасини миқдорий аниқлашда;
- ҳужайра циклини асосий параметралини аниқлашда;
- ҳужайра циклини турли даврлардаги идентификацияси ва миқдорини аниқлаш;
- ўткир лейкозда аномал ҳужайраларни аниқлашда;
- рак ҳужайраларнинг маркерларини аиқлашда;
- иммун система ва иммун ҳужайраларнинг функционалҳолатига баҳо беришда;

Радиал иммунодиффузия усулида қон зардоби таркибидаги асосий(IgM, IgG, IgA) аниқлаш. 45-50° совутилган агарозали гелга маълумконцентрацияда IgM, IgG ёки IgA га қарши иммун зардоб қўшилади ваойна юзасига қуйилади, қотгандан сўнг унда чуқурчалар қилинади.Текширилаётган зардоб суюлтирилиб, ҳар бир суюлтирилганнамуналардан чуқурчаларга томизилади. Агарга шимилганиммунглобулинлар глобулинларга қарши антителолар билан преципитацияҳалқасини ҳосил қилади (расм 65). Преципитация ҳалқасини диаметри қонтзардоби таркибидаги иммунглобулинларнинг концентрациясига тўғрипропорционал. Қон зардобидаги иммунглобулинлар кўрсаткичи иммунтизимдаги В-лимфоцитларни функционал активлигини билдиради.



11.3-расм. Радиал иммунодиффузия усулида қон зардоби таркибидаги иммуноглобулинларни аниқлаш

Тери-аллергик синамасини қўйиш ва баҳолаш. Махсус индивидуалсенсибилизацияни (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 билантери орасига туберкулиннинг маълум концентрацияси юборилади. Реакция 24ва 48 соатдан сўнг, қизариш даражасига кўра аниқланади.



11.4-расм. Скарификацион аллергик тест синамаси(юырида). Манту реакцияси (билакнинг ички юзаси тери орасига туберкулин юборилган) пастда.

Синама юборилганжойда қизариш (папула) ёки инфильтратнинг катталиги 5 мм бўлса +, 1 см гача++, 1 см ва ундан катта +++ бўлса реакция мусбат ҳисобланади ҳамдавезикулалар ва лимфангитлар борлиги билан ҳаманиқланади. (расм 66).юқумли ва бошқа аллергик касалликларда тери-аллергия синамаси қўйилади. Аллергик синамалар кўпинча билакнинг ички юзасига скарификацион(аллергенни тирнаб терига киритиш) йўл (расм 66а) ва тери орасига (расм 66б)қўйилади.

12 БОБ. Иммунопрофилактика ва иммунотерапия

Иммунопрофилактика деб юқумли касалликларни олдини олиш мақсадидаиммун (вакцина, зардоб) препаратларни қўллаш усулларига айтилади.Иммунотерапия деб даволаш мақсадида иммун препаратларни (АТ, ИНФ,цитокинлар ва бош.) қўллаш усуллари

тушинилади. Инсоният 1000 йиллардавомида эмперик равишда юқумли касалликларга қарши курашиб келган (чинчечак, ўлат, вабо). Иммунопрофилактиканинг илмий асосини фанга Л. Пастеролиб кирди. У биринчи бўлиб микроорганизмларни турли факторлар таъсиридакучсизлантириш (аттенуации) мумкинлигини кашф қилди ва буни илмийдаражада асослаб куйдирги, қутириш касалларига қарши вакцина олди. Бутуниммун системага таъсир қилувчи қўлланиладиган препаратларнииммунобиологик препаратлар деб юритилади. Буларга келиб чиқиши, табиатива қўлланилиши жиҳатдан қуйидаги препаратлар киради:

1. Бактериялардан олинадиган иммунопрофилактик ва иммунотерапевтикпрепаратлар (масалан, вакциналар,бактериофаглар, эубиотиклар,анатоксинлар).

2. Иммунотерапевтик препаратлар (масалан, иммуноглобулинлар,антитоксинлар, цитокинлар).

3. Диагностик иммун препаратлар (масалан, антизардоблар), ҳамдадиагностик бактериофаглар ва аллергенлар.

4. Иммуномодуляторлар (кўплаб синтетик препаратлар, табиийбиостимуляторлар).

Иммунобиологик препаратлар одам организмига актив, пассив, махсус ваномахсус таъсир қилиши мумкин.

Актив таъсири деганимизда, препаратлар иммун тизим реакциясиникелтириб чиқара олиши тушинилади. Бундай хусусиятга асосан тирик,ўлдирилган микроблардан тайёрланган вакциналар ва анатоксинлар эгабўлади.

Пассив таъсири деганимизда, препаратларни эффекти асосаниммункомпетент ҳужайраларни эффектор маҳсулотларини кучайтиришгақаратилади. Бундай таъсирга цитокинлар ва бошқа иммунобиологикпрепаратлар эгадир.

Махсус таъсири, маълум бир аниқ юқумли касалликдан ҳимоя қилишдақўлланиладиган (масалан, силга, қизамиқ, қоқшол анатоксин зардоби ва бошқ.)препаратлар.

Номахсус таъсири, яъни препаратлар танламасдан иммун тизимни,иммункомпетент ҳужайраларни активлаштириши мумкин. Бундай таъсиргаиммуномодуляторлар ва биостимулятор препаратлар эгадир.

12.1.Вакциналар

Вакциналар– иммунобиологик препаратлар бўлиб, активиммунопрофилактик мақсадда қўлланилади, яъни аниқ юқумли касалликканисбатан организмни берилмаслик хусусиятини шакллантиради. Вакцинапрепаратлари БСБ томонидан юқумли касалликларни олдини олишда идеалусул деб тан олинган.Вакциналар қуйидаги кўринишларда олинади:

- бактерия ва вирусларни мукаммал танасидан (тирик ва ўлдирилган);
- бактерия ва вирусларни алоҳида антигенларини ажратиб олиш (кўпроқпротектив антигенлар, vi-Аг қорин тифида, HBs-Ag гепатит В вирусида)орқали;
- микрорганизмлар токсинларидан (анатоксинлар, қоқшол, газли гангрена,бўғма);
- микроорганизмлар Аг ни сунъий синтез қилиш орқали;
- генинженерияусулларида олинган вакциналар.

Тирик вакциналар вирулентлик хусусияти бутунлай пасайтирилган, лекиниммуноген хусусиятларини сақлаб қолган микроорганизмлардан тайёрланади(куйдирги, бруцеллёз, полиомиелит, Ку –иситмаси, грипп, қизамиқ, паротит вабош.)

Дивергент вакциналар тирик вакциналар бўлиб патоген бактерияларга яқинбўлган бошқа авлод микроорганизмлардан фойдаланилади. Бу бактерияларниантигенлари бир-бирига яқин бўлиб, эмланганда ҳосил бўлган иммунитетасосий юқумли касалликдан ҳам ҳимоя қилади. Бундай вакциналарга чинчечак вакцинаси (сигир чечак вирусидан), БЦЖ (сил қўзғатувчисини қорамолтипидан тайёрланади) мисол бўла олади.

Инактивация қилинган вакциналар. Ҳозирги кунда микроорганизмлардантурли усулларда тайёрланган, ўлдирилган, микроб метаболитларидан, алоҳидаантигенлардан, биосинтетик ва химиявий усулларда олинган вакциналарқўлланилади. Инактивация қилинган вакциналарни иммуногенлик хусусиятипаст бўлади, шунинг учун вакцинацияни бир неча бор қилишга тўғри келади.Шу билан бир қаторда бу вакциналар тирик вакциналарга нисбатан хавфсизҳисобланади ва камроқ асоратлар беради.

Корпускуляр вакциналар. Уларни бактерияларни вирулент штаммлариданўлдириб (юқори температура) ёки кимёвий моддалар (масалан, формалин,ацетон) таъсирида тайёрланилади.Бундай вакциналар микроб ва вирусларнитўлиқ антиген наборини сақлайди.

Ҳозирги кунда корпускуляр вакциналарбактериялардан олинган (ўлат) ва вируслардан (қутириш) вакциналариқўлланилади.

Компонентли (субъединичные) вакциналар. Бу ҳам ўлдирилганвакциналарни бир тури бўлиб, микроорганизмнинг асоси ёки махсусиммуноген антиген компонентларидан тайёрланади ва организмнингкасалликга берилмаслик ҳолатини шакллантиради. Уларни тайёрлашда кўплабхимик ва физик усуллардан фойдаланилади. Шунинг учун бу вакциналарнихимиявий вакциналар деб ҳам аталади. Ҳозирги кунда компонентли вакциналарпневмококка қарши (асоси капсула полисахариди), қорин тифига (О-, Н- Vi-Аг), куйдиргига (полисахарид ва капсула полипептиди), гриппга (вируснейраминидаза ва гемагглютинини) қарши ишлаб чиқилган.

Ген инженерия усулда олинган (рекомбинант) вакциналар. Ҳозирги кунда бувакциналар ген инженерли усулни бир қанча вариантлари ва ёндашувлариасосида олинади. Бу усулларга киради:

1. Бактерия ёки вирусларнинг юқори иммуногенликка эга бўлган антигенсинтезида қатнашувчи генларини ген инженерия усулида олиниб бошқамикроорганизмларга киритиш йўли билан (масалан, гепатит В вирусини HBs-Ag ачитқи замбуруғларни геномига киритиб) олинган вакциналар.

2. Вирулент иммуноген хусусиятини намоён қилувчи генларни авирулентёки кучсиз вирулент штаммларга киритиш йўли билан (одам учун патогенбўлмага сальмонеллаларга гепатит В вирусини HBs-Ag, қоқшол экзотоксининисинтезини амалга оширувчи генни) олинади. Бошқа мисол, сил қўзғатувчисинигенини БЦЖ вакцина штаммига киритиш, яъни дивергент вакцинаниактивлигини ошириб юборади. Бундай вакциналарни векторли вакциналар ҳамдеб аталади.

3. Бактерияларни вирулент хусусиятини намоён қилувчи генларни олибташлаш ва бу бактерияларни корпускуляр вакциналар сифатида қўллаш.

Селектив йўл билан вирулент генларни олиб ташлаш усулида чидамликучсизлантирилган вакциналарни (қорин тифи, ичбуруғ, вабо, токсиген ичактаёқчаси) тайёрлаш муаммоларини ечиб бермоқда.

Синтетик вакциналар. Усулнинг моҳияти шундан иборатки синтетик усулдапатоген бактерияларни нуклеин кислотаси ёки Аг-детерминантини намоёнқилувчи полепептидларни синтез қилиб олишга асосланган. Устунлиги ўта хавфсиз, камчилиги олинган нуклеин кислотаси ёки Аг-детерминантининамоён қилувчи полепептидлар кучсиз иммуноген хусусиятга эга. Шунингучун бундай

вакциналарни қўллашда адъювантлар ишлатилади. Бу йўналишдакенг илмий ишлар олиб борилмоқда.

Молекуляр вакциналар (анатоксинлар). Бундай препаратлар микробметаболитларидан, кўпроқ молекуляр бактериал экзотоксинлардан формалинтаъсир эттирилиб тайёрланилади. Кўпроқ токсик юқумли касалликларда(қоқшол, ботулизм, бўғма, газли гангрена ва стафилококк) қўлланилади.

Моно – ва поливалент вакциналар. Кўпчилик ҳолларда вакцина ёкианатоксин битта қўзғатувчига қарши қўлланилади- моновакцина (масалан,стафилококк анатоксини, қизамиқ вакцинаси). Агар бир йўла иккитақўзғатувчиларга қарши вакциналар ишлатилса- дивакциналар (АДС-вакцинабўғма 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 ваамалиётда қўлланилади.

Вакциналар суюқ ва қуруқ. ҳолда ишлаб чиқарилади. Қуритиш асосанвакциналарни лиофилизация усули билан амалга оширилади.

Барча вакцина препаратларининг зарарсизлиги, иммуногенлиги вастериллигини (ўлдирилган вакциналар учун) аниқлаш юзасидан давлатконтрол назорати ўтказилади.

Агар ампулалар синган бўлса ёки препаратларнинг физик хусусияти варанги ўзгарган бўлса, унда турли заррача, чўкмадар пайдо бўлганда бундайвакциналар ишлатилмаслиги лозим.

Вакцинапрофилактика қилиш усуллари. Вакцина препаратларини қўллашқуйидаги усулларда олиб борилади: вакциналарни per os (ичиш) (полиомиелит), териостига, териорасига (АКДС, БЦЖ), парентерал (қизамиқ),интерназал (грипп) ва ингалацион.

Вакцинапрофилактика давлат томонидан назорат қилинади. БизнингЎзбекистон Республикамизда 2008 йил ноябрдан кучга кирган “ЎзбекистонРеспубликасида юқумли касалликларнинг иммунопрофилактикасини ташкилқилиш ва ўтказиш тўғрисидаги Санитария қоида ва меъёрлари” ишлаб (СанПиН № 0239-08. Ташкент – 2008)чиқилган (32-жадвал).

Юқумли касалликларга қарши иммунизация қилиш давлатимиз томониданолиб борилаётган баркамол авлодни тарбиялаш сиёсатини бир кўринишидир.Шунинг учун вакцинация қилиш ҳар бир оила учун осон ва муаммоларсиз ваалбатта бепул бўлиши шарт.

Чақалоқ туғруқхонада туғилиши билан, болага “Болалар ва ўсмирлар шахсийдафтарчаси” олиб борилади. Бу дафтарчада

мажбурий иммунизация қилиш вақтлари кўрсатилади.Иммунопрофилактика икки усулда олиб борилади:мажбурий ва эпидемиологик кўрсатмага асосан.

Эпид кўрсатмага асосан профилактик колендар эмлашлар асосан бирнечайўналишларда олиб борилади. Масалан энзоотик территорияларда (ўлат,туляримия), махсус лаборатория хизматчиларига (ўта хавфли юқумликасалликлар), профессионал ишчилар ва хизматчиларга (куйдирги, бруцеллёз),чет элга чиқувчиларга (сариқ истма) ва кўпроқ юқумли касалликлар рўйберганда (бўғма, қизамиқ ва бош.) эмланмаган континген одамларга қилинади.

12,1-жадвал

Профилактик эмлашлар календар 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	АКДС-1 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-1 (шол-полиомиелитга қарши) ВГВ-2 (гепатит В-вирусига қарши)
4.	3-ойда	АКДС-2 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-2 (шол-полиомиелитга қарши)
5.	4-ойда	АКДС-3 (кўк йўтал, бўғма ва қоқшолга қарши) ОПВ-3 (шол-полиомиелитга қарши)
6.	9-ойда	Қизомик – 1 ВГВ-2 (гепатит В-вирусига қарши)
7.	16 ойда	АКДС-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)

12.2.Зардобли иммун препаратлар.

Буларга асосан иммун зардоблар ваиммунглобулинлар киради. Иммун зардоблар амалиётда даволаш,профилактик, диагностик мақсадларда ишлатилади. Профилактик ватерапевтик мақсадда қўлланилганда бу препаратлар инсон организмида пассиворттирилган иммунитетни ҳосил қилади. Препаратларни таъсир қилишмеханизми махсус АТ ни агглютинацияловчи, прецепитацияловчи, комплементбоғловчи, литик ва нейтрализация қилувчи хусусиятларига асосланган.Бошқача қилиб айтилганда инсон организмига тайёр эффектор АТ ларкиритилади. Шунинг учун бу препаратларни профилактикада ва терапиядақўллаш мумкин. Иммун зардоблар

асосан организмга парентерал йўл биланкиритилади, уларни эффекти узоқ (2-6 ҳафта) бўлмайди.

Даво-профилактика зардоблари ва иммунглобулинлар бир неча мартаантиген юборилган (гипериммунизация қилинган) отлар ёки эмланган,юқумли касалликни бошидан кечирган кишилар қонидан тайёрланади.

Диагностик зардоблар (антизардоблар) эса, қуёнларни эмлаш йўли биланолинади. Бу зардоблар агглютинация, преципитация ҳосил қилувчи ваэритроцитларни эритувчи (гемолитик) зардобларга бўлинади. Улардансерологик реакцияларда микроорганизмларни идентификация қилишдафойдаланилади.

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, сунъий моддалардан ажратиб олинган Аг-аллергенлар қўлланилади.

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, сунъий моддалардан ажратиб олинган Аг-аллергенлар қўлланилади.

12,2.-жадвал.

Иммуномодуляторларнинг асосий группалари

Келиб чиқиши		Иммуномодуляторлар препаратлар
Эндоген	Цитокинлар,	ИЛ, ИФН, колонаактивлаштирувчи фактор, ФНО, эритропоэтин 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 молекуяр препаратлар	Полифасфатлар,поликарбоксилатлар, полисульфатлар, левамизол, инозиплекс, диуцефон ва бош.

12,3-жадвал

Клиник амалиётда мавжуд бўлган иммуномодулаторлар

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 лейкопоэз, моноцитларни цитотоксик хусусиятини фаоллаштиради
ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6	В-лимфоцитларни шаклланишини фаоллаштиради
Т-активин, тимозин, тимотропин, тималин, иммунмодулин	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	ИНФ синтезини фаоллаштиради
ИНФ	100 ортиқ эффектлари аниқланган.

Организмни аллергик ҳолатини(сезувчанликни ошганлигини) аллергик синамалар орқали аниқлаш мумкин.

Кўпчилик юқумли касалликларда касаллик қўзғатувчисига нисбатанорганизмнинг сезгирлиги ошиб қолади, шунинг учун аллергик синамаларюқумли касалликлар диагностикасида ҳам (сил касаллигида Манту, Пирке,бруцеллезда Бюрне, 66- расм) қўлланилади.

12. 3. Иммуномодуляторлар, эубиотиклар. Охирги йилларда клиникада ва клиникиммунологияда кўплаб иммун тизимга актив таъсир кўрсатувчи препаратларқўлланилмоқда (жадвал 33, 34). Иммуномодуляторларни “таъсир иммуннуқтаси” мавжуд, яъни бу препаратлар учун нишон иммункомпетентҳужайралар ҳисобланади. Бу препаратларни клиник кўрсатмадан келиб чиққанҳолда даволашда ва профилактикада қўллаш мумкин.

Эубиотиклар – одам нормал микрофлорасидан олинган тирик микробкультуралари бўлиб, дисбактериоз касаликларни даволашда кенг қўлланилади.

Асосан эубиотик сифатида кўпроқ лиофилизация қилинган микроб культурасиишлатилади (Линекс, бификол, бифидумбактерин, бактерин, лактобактерин вабошқ.).

Методик кўрсатмалар.

Стафилококк аутовакцинасини тайёрлаш босқичлари. Ўлдирилган аутовакцинабемор организмидан бевосита ажратиб олинган қўзғатувчи штаммидан тайёрланади:

1. Стафилококк қиялантирилган озиқ агарга экилади;

2. Ўстирилган культуранинг софлигини (микроскоп остида суртма тайёрлаб)текширилади;

3. Микроб ҳужайрасининг бирламчи суспензияси натрий хлориднинг 5 мл изотоникэритмаси билан ювиб тайёрланади;.

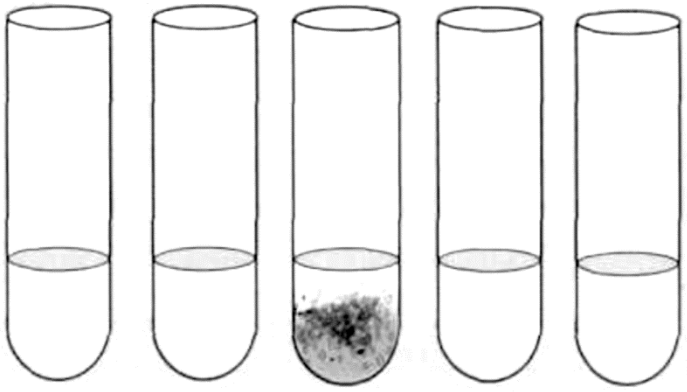
4. Бактерия суспензияси 70—80° С да бир соат давомид сув ҳаммомида қиздирилади;

5. Қиздирилган суспензияни озиқ муҳитга экиб, унинг стерилланганлигитекширилади;

6. Оптик стандарт ёрдамида вакциналар стандартланади: 1 мл қиздирилган микробсуспензияси натрий хлориднинг маълум миқдоридаги стерил изотоник эритмасибилансуюлтирилади, қуйқалиги оптикстандарт билан солиштирилади 1млрд/1мл; бактерия суспензиясинингқолган қисмига натрий хлориднингизотоник эритмасидан тегишли миқдордақўшилиб суюлтирилади.

Флоккуляция реакцияси. Токсин ёкианатоксиннинг токсинга қарши зардоббилан ўзаро бирлашиши натижасида парча-парча флоккулят чўкмаси ҳосил бўлади (67-расм) Антиген ва антитело эквивалентнисбатда бўлган пробиркада флоккуляция(«инициал») эрта содир бўлади ва яққолкўринади. Реакция 2 та босқичда қўйилади:

1. Стандарт қон зардоби ёрдамида токсиннинг 1 мл даги Lf (Limes flocculationis) сонианиқланади. Lf токсини, унинг миқдори, яъни («инициал») флоккуляция бера оладиганхалқаро бирлик (ХБ) билан аниқланади.



12.1-расм. Флоккулация реакцияси

Масалан, агар флоккуляция 3-пробиркада содир бўлган бўлса, у ҳолда 0,4 млзардоб 40 ХБ бўлади. Демак 1 мл зардоб 40:0,4=100 ХБ га эга экан.

Жадвал 12,4.

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	-	-	+	-	-	-	-

2. Токсин кучи аниқлангач, зардоб кучи аниқланади Кучи маълум бўлган токсин ва синалаётган антитоксик зардоб 35-жадвалда кўрсатилганидек, маълум ҳажм пробиркаларга қуйилади. Пробиркалар чўкма ҳосилбўлгунига қадар сув ҳаммомида 45°С да 30 мин давомида қиздирилади. Агар токсин миқдоризардобнинг халқаро бирлигига тенг бўлса, шу пробиркада инициал флоккуляция содирбўлади.

I. Умумий бўлим бўйича назорат саволлари

1. Тиббиётда аҳамиятга эга бўлган 6 та гуруҳ қўзғатувчиларни айтинг.
2. Қайси усуллар ёрдамида микроорганизмлар соф культураси ажратиб олинади?
3. Бактериологиянинг асосий ривожланиш босқичларини айтинг.
4. Вассерман реакцияси қайси инфекцияда қўйилади? Ингридиентларини сананг ва аҳамиятини айтинг.
5. Микроорганизимларнинг антибиотикларга сезгирлигини диск – диффузия усули қандай қўйилади?
6. АКДС вакцинаси қандай вакцина ва қайси ҳолатда қўллаш мумкин?
7. Нафас йўллари нормофлорасига қайси микроорганизмлар киради ва уларни қандай усулда аниқлаш мумкин?
8. Суюқ муҳитда бактерияларнинг ўсишини айтинг ва мисол келтиринг.
9. Одам организми номахсус ҳимоя омилларини айтинг ва мисол келтиринг.
10. Қайси касаллик ташхисида Райт реакцияси қўйилади?
11. Таъсир доирасига кўра антибиотиклар гуруҳини сананг ва мисоллар келтиринг.
12. Жароҳат инфекциясини қайси қўзғатувчилар чақиради? Патогенезини тушунтиринг.
13. Оғиз бўшлиғи нормофлорасини айтинг ва улар қайси усул билан аниқланади?
14. Сўлакда лизоцим активлиги қандай аниқланади?
15. Жарроҳлик бўлимида қайси асбоблар стерилизация қилинади турларини айтинг.
16. Стерилизация сифатини аниқлаш усули қандай ўтказилади?
17. Антитела нима? Унинг структура тузилиши қандай?
18. Сероидентификация нима ва қачон қўлланилади?
19. Микроорганизм антигенлари ва улар бактерияларнинг қайси қисмида жойлашган?
20. Ҳавони санитар кўрсаткичи қандай муҳитларда аниқланилади? Қайси инфекциялар ҳаво-томчи йўли билан юқади?
21. Вирусологиянинг ривожланиш босқичларини ва асосчиларини айтинг.
22. Микробларнинг ҳозирги замон классификацияси. Тур тушунчаси,
23. Бактерияларни морфологияси, ультраструктураси ва кимёвий таркибини айтиб беринг.
24. Прокариот ва эукариотлар, прокариот ва вируслар ўртасидаги асосий фарқлар нимада?

25. Бактериялар спора ва капсуласини аниқлаш усулларини айтинг.
26. Бактерияларни кўпайиши. Стандарт шароитда бактерияларнинг кўпайиш тезлиги ва фазалари.
27. Гемагглютинация ва гемагглютинацияни тормозлаш реакцияларининг моҳияти ва қўйилиш техникасини тушунтиринг.
28. Бактерияларни ўстириш шароитлари. Озиқ муҳитларга қўйиладиган талаблар. Озиқ муҳитлар классификациясини тушунтиринг.
29. Бактериялар соф культурасини ажратиш усулларини айтинг. Аэроб бактерияларни соф культурасини ажратиб олиш усулларини тушунтиринг
30. Қатъий анаэроб ва микроаэрофил бактерияларнинг соф культурасини ажратиб олиш усулларини айтинг.
31. Асептика, антисептика, стерилизация ва дезинфекция тўғрисида тушунча. Асептик ва дезинфекцияловчи моддаларни айтинг.
32. Физик омилларнинг микроорганизмларга таъсири ва стерилизация усулларини айтинг.
33. Бактериофаг. Ажратиб олиш, титрлаш ва практикада қўлланилишини айтинг.
34. Бактериялар генетик аппарати. Микроорганизларда ўзгарувчанлик формасини айтинг. Бактерия ва вирусларни генли идентификация қилиш усули қандай олиб борилади?
35. Генетик рекомбинациялар: трансдукция, трансформация, конъюгация, транспозиция. Бактерияларда хромосомага таълуқли бўлмаган генетик омилларни санаб беринг.
36. Микроб антагонизми. Антибиотиклар, классификацияси ва олиниши. Минимал ингибиция концентрацияси (МИК) ва терапевтик доза.
37. Бактерияларнинг даволаш препаратларга чидамлилик хусусиятларини шаклланиш механизмлари. Антибиотикотерапия асоратлари.
38. Микроскопик забуруғлар: классификацияси, биологик хусусияти, прокариотик микроорганизмлардан асосий фарқлари, одам патологиясидаги ролини айтинг.
39. Одам танаси нормал микрофлораси физиологик аҳамияти ва уларни патологик жараёнлардаги иштирокини айтинг
40. Ичак микрофлораси ва унинг болаларда шаклланиш динамикаси. Болаларда ичак микрофлорасини шаклланишида она сутининг аҳамиятини айтинг.

41. Ичак дисбактериози болаларда кечиши: келиб чиқиш сабаблари, асоратлари ва диагностикасини айтинг.
42. Пробиотик даволаш-профилактик препаратларига мисол келтиринг.
43. Вируслар морфологияси, ультраструктураси ва классификацияси. Вируслар келиб чиқишидаги хозирги замон гипотезаларини тушунтиринг.
45. Вирусларни ажратиб олиш усуллари. Вирусларни ажратиб олишда биосубстратларни бактериал деконтаминация қилиш усулларини айтинг.
46. Вирусларнинг ҳужайрадаги репродукция босқичларини айтинг.
47. Тирик ва ўлдирилган вакциналар ҳамда иммун зардобларга характеристика беринг.
48. Патогенлик ва вирулентлик тушунчалари. Микробларнинг асосий патогенлик ва вирулентлик факторлари ва уларни механизмларини тушунтиринг.
49. Юқумли касаллик формалари: экзоген, эндоген, ўчоқли ва (генерализованная) тарқалган, моно - ва аралаш, иккиламчи, реинфекция ва суперинфекция, персистенцияли инфекцияларни изоҳланг.
50. Иммун система: шаклланиши ва функцияси қандай?
51. Иммуногенезни ҳужайраларороо кооперацияси. Бегона антиген маълумотларни “икки ҳужайрали” аниқлаш механизмини тушунтиринг.
52. Иммунитетнинг клонал-селекцион теорияси. Иммуногенезни ёшга қараб ўзгаришдаги хусусиятларини айтинг.
53. Иммунологик хотира: табиати, биологик ахамияти. Иммун толерантлик: табиати, биологик ахамияти ва иммунологик толерантликни бузилиши оқибатлари қандай бўлиши мумкин?
54. Комплемент системаси. Классик ва альтернатив активланишини тушунтиринг.
55. Фагоцитар реакция, лизосомал аппаратни фагоцитар реакциядаги роли. Фагоцитар системага баҳо бериш критерийлари қандай?
56. Гуморал иммун жавоб: иммуноглобулинлар синфи, юқумли касалликда антителалар кўпайиш динамикаси ва химоя функциясини айтинг.
57. Туғма ва орттирилган иммунтанқисликларга характеристика ва аниқлаш усулларини айтинг.
58. Комплементни боғлаш реакцияси моҳияти ва зарур ингредиентларни айтинг.

59. Иммунофермент анализ реакциясида ишлатиладиган ингредиентлар ва реакциянинг ўқилишини тушунтиринг.
60. Полимераза занжирли реакциясининг қўйилиши ва натижасини ўқилишини айтиб беринг.

II БЎЛИМ.ХУСУСИЙ МИКРОБИОЛОГИЯ. БАКТЕРИЯЛАР КЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

Микробиологиянинг хусусий бўлимида биз бактерияли, вирусли, замбуруғли ва протозойли инфекцияларга лаборатория ёрдамида диагноз қўйиш билан танишиб чиқамиз.

Бу эса, бемор организмидан ажратиб олинган патоген микроорганизмларниюқумли касаллик келтириб чиқаришдаги этиологик ва патогенетик роли, организмдаги клиник ўзгаришлар ва иммуно-аллергик ҳолатни аниқлашда, самарали химиотерапия ва иммунология препаратларини танлашда муҳим рол ўйнайди.

Ҳозирги кунгача патоген микроорганизмларни дарҳол ажратиб олиш вауларни 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 босқичли бўлиб, кўпчилик ҳолларда микроорганизмлар жуда секин ўсади, даволовчи шифокорлар эсабактериологик ташхис натижасини кутмасдан қўлланиб келинаётган химиопрепаратлар 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 туфайли ва бошқа сабабларга кўраорганизм иммунологик реактивлигининг кескин сусайиши кузатилади. Бундашартли-патоген бактериялар ва айниқса *Candida*авлоди замбуруғлари келтириб чиқарган касалликлар алоҳида ўрин тутади.

Бундай касалликлар кўпинча жарроҳлик, терапевтик, болалар ва бошқа бўлимларга жойлаштирилган беморларда ҳамда туғруқхоналарда янгитуғилган болалар ўртасида кўпроқ учрайди.

Микробиологиянингклиника ва бўлимлардаги юқумли касалликлар қўзғатувчилари ҳисобланган шартли-патоген ва айрим патоген бактерияларни ўрганувчи бўлими — клиник микробиология деб аталади

Клиник микробиологиянинг асосий вазифаси:

- беморлардан касаллик қўзғатувчиларини ажратиб олиш ваидентификация қилиш, ташхисда иммун усуллардан фойдаланиш (АТ, тери синамалари)
- бактериологик ташхис натижаларига асосланиб, самарали химиотерапевтик препаратларни аниқлаш.

Қўлланмада талабалар билан олиб борилаётган диагностик микробиологиктекширувларни даволовчи шифокорнинг амалий фаолиятига яқинлаштириш ваклиник микробиологиянинг хусусий масалаларини ҳал қилиш мақсадида ўрганиш зарур бўлган микроорганизмлар алоҳида гуруҳларга бўлинди.

Патоген бактерияларни гуруҳларга бўлишда уларни микробиологик таснифи ҳисобга олинмасдан, асосан қўзғатувчиларнинг қандай касаллик келтириб чиқариши, патогенези ва эпидемиологияси ҳисобга олинди ва улар йиринг пайдо қилувчи, жароҳат-ярали, ҳаво-томчи, қон орқали юқувчи, ичак, ўта хавфли зооноз, трансмиссив ва таносил юқумли касалликлар 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 алоҳидабўлимларда берилди.

Лабораториядан олинган бу маълумотлар, даволовчи шифокорларга касалликка аниқ ташхис қўйишда, беморларни антибиотиклар ҳамда иммунпрепаратлар билан самарали даволашда жуда ҳам зарур. Эпидемиолог-шифокор эса, юқумли касаллик манбаини аниқлаш мақсадида касалликни эпидемиологик жиҳатдан муҳокама қилиш, унинг юқиш йўлларини белгилаш, микроб ташиб юрувчиларни топишда ва шу каби турли мақсадлардамикробиологик ҳамда иммунологик текширув натижаларидан фойдаланади.

Бактерияларнинг биологик классификацияси ва унинг клиник аҳамияти йилдан – йилга ўзгариб бормоқда, чунки амалиётга янги текшириш усулларининг киритилиши ҳамда клиник тажрибалар ва кузатувлар бунга асос бўлмоқда.

Берджининг “Бактерияларни аниқлагичи” 9-нашрига кўра одам учун патоген ва шартли патоген бактериялар эубактерияда учта категорияга киритилган:

I - грамманфий бактериялар;

II - граммусбат бактериялар;

III -ҳужайра деворисиз (микоплазмалар).

Бу бактериялар мавжуд 35 та бактерия гуруҳларидан 14 сига киради.

Юқорида қайд қилинган бактерияларнинг замонавий ҳолати қуйида келтирилган жадвалларда (жадвал) келтирилган.

1,1-жадвал

Одам учун патоген ва шартли - патоген бактериялар

Гуруҳи	Категорияси	Бактерия гуруҳи	Таксонлари
1	I	Спирохеталар	Авлоди:Treponema, Borrelia, Leptospiria
2	I	Аэроб ва микроаэрофиллар, ҳаракатчан,эгилган ва спиралсимон грамманфий бактериялар	Авлоди:*Campylobacter, Helicobacter, Spirillm, Wolinella*
4	I	Грамманфий аэроб ва микроаэрофил таёқча ва кокклар	Авлодлар- *Achromobacter, Acinetobacter, Agrobacterium, Afipia, Alcaligenes, Bacteroides (B. gracilis ва B. urealyticus турлари) Bordetella, Brucella*, Burkholdpria*: Flaviomonas, Flavobacterium, Francisella*,Kingella, Legionella*, Moraxella, Morococcus, Neisseria Pseudomonas, Stenotrophomonas*
5	I	Факультатив-анаэроб грамманфий таёқчалар: 1) энтеробактерия оиласи 2) вибрионлар 3) пастерелла 4) буларга кирмайдиган авлодлар.	1) авлодлар*Cedecea, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Escherihia, Ewingella, Hafnia,Klebsiella, Kluyvera, Leclercia,Morganella, Pantoae, Proteus, Providencia, Salmonella,Serratia, Shigella, Tatumella, Yersinia*;* 2) авлодлар *Aeromonas, Plesiomonas, Vibrio*.* 3) авлодлар*Actinobacillus, Haemophilus, Pasteurella*

			Авлодлар*Calymmobacterium,Capnocytophaga, Cardiobacterium,Chromobacterium, Eikenella, Gardnerella, Streptobacillus*
6	I	Грамманфий анаэроб тўғри, букилган ва Спиралсимон бактериялар	Авлодлар*Anaerobiospirrilum, Anaerorhabdus, Bacteroides, Bilophila, Fusobacterium Porphyromonas, Prevotella*
8	I	Анаэроб Грамманфий кокклар	Авлод Veillonella
9	I	Риккетсия ва ламидиялар: 1) риккетсия оиласи 1) бартонелла 1) хламидия	авлодлар. *Coxiella*, Erlichia,Rikettsia** авлод *. Bortonellan* авлод *Chlamydia* авлод *Chlamydopilla*
17	II	Граммусбат кокклар	Авлодлвр *Alloiococcus, Enterococcus, Gemella, Leuconostoc, Peptococcus, Peptostreptococcus, Planococcus, Staphylococcus, Stomatococcus, Streptococc*us
18	II	Споро ҳосил қиловчи Граммусбат таёқча ва кокклар	Авлод *Bacillus* Clostridlum*
19	II	Споро ҳосил қилмайдиган тўғри формадаги Граммусбат таёқчалар	Авлодлар. *Erysipelothrix: Listeria*
20	II	Споро ҳосил қилмайдиган нотўғри формадаги Граммусбат таёқчалар	Авлодлар *Actinomyces, Arcanobacterium, Bifidobacterium, Corynebacterium,Eubacterium, Gardnerella, Lactobacillus, Mobiluncus, Propionibacterium, Rothia*
21	II	Микобактериялар	Авлод *Mycobacterium,*
22 23 24	III	Актиномицетлар	Авлодлар*Actinomadura, Gordona, Nocardia, Oerskovia, Rhodococcus, Streptomyces, Tsukamurella*
30	III	Микоплазмлар	Авлодлар *Mycoplasma, Ureaplasma*

Илова. Тагига чизиб қўйилган авлод вакилларида битта ёки иккита патоген турлар (вариантлар) бор; *белгиланган авлоб таркибида эса, битта ёки бир нечта ўта хавфли юқумли касаллик турлари борлигини билдиради.

Муайян у ёки бу инфекция қўзғатувчи воситани аниқлаш ва олинган микробиологик натижаларни талқин қилишда шифокор

нафақат бактериялар тури ва вариантларини аниқлаш, балки уларнинг патогенлик потенциали, миқдори (шартли патогенлар) ҳамда қайси биотопдан ажратиб олганлигига ҳам аҳамият бериши зарур.

13 БОБ. ЙИРИНГЛИ-ЯЛЛИҒЛАНИШ, ЖАРОҲАТ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРИНИ КЕЛТИРИБЧИҚАРУВЧИ МИКРООРГАНИЗМЛАР

Ҳозирги кунда йирингли-яллиғланиш ва жароҳат юқумлит касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар жарроҳлик, акушер-гинекология,педиатрия, болалар клиникалари ва бошқа бўлимларда кўп учрайди. Кўпинчаулар касалхона ичида тарқалган бўлиб госпитал инфекция характерига эгабўлади.

Йирингли-яллиғланиш ва жароҳат юқумли касалликларини келтирибчиқарувчи микроорганизмлар қўзғатувчилари ҳар хил бактериялар бўлиб, улар турли тартибга, оилага, зотга ва турларга киради. Уларнинг ичида энг муҳим аэроб бактериялар авлодлари вакиллар (*Staphylococcus,Streptococcus, Pseudomonas, Escherichia, Salmonella, Klebsiella, Proteus,Enterobacter, Serratia, Citrobacteru ва бошқ.)* ва анаэроб бактерияларвакиллари *(Clostridium,Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium,Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Veilonella)* учрайди.

13.1. Стафилококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси.

Стафиолококкларни таксономи ҳолати*:* авлод-*Staphylococcus*35 кўп турлари мавжуд. Булардан коагулазоапозитив стафилококклар:*S.aureus, S. intermedius, S.hyicus ва к*оагулазонегатив стафилококклар:

S.epidermidis, S.saprophyticus, S. hominis, S.capitis тиббиёт амалиётида аҳамиятга эга.

Стафилококклар кўпинча оппортунистик инфекцияларни келтириб чиқаради ва шу билан бирга кўпинча касалхона ичи инфекцияларига ҳам сабабчи бўлади. Тиббиёт амалиётида асосан кўпроқ клиник аҳамиятга «традицион» турлари - Staphylococcus aureus(олтинсимон), Staphylococcus epidermidis (эпидермал) ва Staphylococcus saprophyticus (сапрофитик) эга

Касалхона ичи инфекциясини кўпроқ метициллинрезистент S. aureus (MRSA), келтириб чиқаради.S. aureus нинг бу биотиплари

юқори вирулентликка ва кўплаб анитибиотикларга чидамлилиги билан бошқа вариантларидан ажралиб туради.

Патологик материалларни олиш.Стафилококклар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларда текшириш учун патологик материал олинади: йиринг, яра ажралмаси, абсцесс бўшлиғидан пунктат, шиллиқ қаватдан суртма, қон, балғам, сийдик, орқа мия суюқлиғи; овқатдан заҳарланиш касалликларида - қусуқ массаси, қолдиқ овқатлар; профилактик текширувларда- жиҳозлар инструментлардан ювинди олинади.

Йирингли очиқ жароҳатлардан патологик материал олишда, унинг юқори қавати олиб ташланади (уларда нопатоген стафилококклар бўлиши мумкин) ва пахтали тампон билан материал олинади. Ёпиқ жароҳатларда (флегмона, абсцесс, карбункул) материал шприц билан олиниб қуруқ стерил пробиркаларга қуйилади.Сийдик, балғам стерил пробирка ёки флаконларга йиғилади. Қон билак венасидан стерил шароитда олиниб (10-20 мл) қандли бульонга (100-200 мл) экилади. Кўпинча септицемия ҳолатларида олинган қон бойитилган муҳитларга экилади, чунки сепсисни фақат стафилококклар келтириб чиқармасдан, бошқа бактериялар, шу жумладан анаэроблар ҳам келтириб чиқариши мумкин.

Микроскопия.Қўзғатувчининг юқори миқдорда тутувчи йиринг, балғам, томоқдан олинган материаллар, ёруғлик микроскопида микроскопия қилинади. Суртма Грам усулда бўялганда стафилококклар шарсимон, кичик-кичик тўпламлар кўринишида ёки калта занжир кўринишда бўлиб, сиёҳрангга бўялади. Микроскопик усул қўзғатувчига диагноз қўйиш учун етарли ҳисобланмайди, чунки қўзғатувчини бошқа кокклардан (стрептококклардан) фарқлашда қийинчилик туғдиради. Шунинг учун материал бактериологик усулда текширилади.

Бактериологик текширув. 1-кун. Текшириладиган материал-йиринг,экссудат, балғам, қовузлоқ ёрдамида, якка-якка колониялар олиш учун Петри косачасидаги қонли, тухум сариғи қўшилган ва сут қўшилган тузли агарга штрихусулда экилади. Сийдик, томоқдан ва бурундан олинган суюқликдагистафилококкларни миқдорий аниқлаш мақсадида, муҳитларга сектор (Гольд)усулида экилади ва экмалар 37°С да термостатда сақланади. Тузли муҳитлар стафилококклар учун селектив бўлиб, бошқа микробларни ўсишини секинлаштиради.

2- кун. Озиқли муҳитларда ўсган колониялар текширилади. Қонли агардагемолиз бўлган ёки бўлмаганлиги аниқланади (68-расм).

Тухум сариғли-тузлиагарда Staph. aureus тилла рангли, қабариқ, юмалоқ, хирароқ колониялар ҳосилқилади. Пигмент ҳосил қилиши туз қўшилган тузли агарда янада равшанроққўринади. Лецитиназа активлигига эга бўлган стафилококккколониялари атрофида ТҚТА садаф рангли хиралашган зоналар ҳосил (68-расм)бўлади. Шубҳали колониялардан бир нечта суртмалар тайёрланиб Грамусулида бўяб,микроскопда кўрилади ва каталаза тести қўйилади. Каталаза*Micrococcaceae* оиласи вакилларида мусбат бўлади.Соф культура ажратиб олиш учун шубҳали колониялар қиялантирилган ГПАга экилади.

Қон экилган қандли бульон ҳам кўздан кечирилади (экилган бульон 10 кундавомида сақланиб турилади) вақт-вақти билан бактериоскопия учун суртматайёрланиб, бўяб кўрилади ва Петри косачасидаги қонли агарга экиб турилади.Ижобий натижа олинганда, стафилококкнинг соф культураси ажратиб олиниб,қолган босқичлари кўрсатилган белгилар асосида идентификация қилинади.Агар ижобий натижа олинмаса 10 кундан сўнг жавоб берилади.

3-кун. Ажратиб олинган стафилококк культурасининг тозалиги текширилади ва стафилококк авлоди вакилларини бир бирларидан фарқлашучун дифференциал диагностик тестлар қўйилади (37-жадвал).

13,1-жадвал

***Micrococcaceae* оиласи вакилларини бир-биридан фарқланиши**

Белгилари	Staphylococcus	Micrococcus	Stomatococcus
Каталаза	**+**	**+**	**+**
Капсуласи	**-**	**-**	**+**
5% NaCl ли муҳитда ўсиши	**+**	**+**	**-**
Глюкозали муҳитда анаэроб шароитда ўсиши	**+**	**-**	**+**
Клизостафинга сезгирлиги	**+**	**-**	**-**
Бацитрацинга (0,04 ЕД) сезгирлиги	**-**	**+**	**+**

Текширувни 3-куни ажратиб олинган *Staphylococcus*культурасини антибиотикларга сезгирлиги ўрганилади ва зарур бўлганда фаговарлари (типга хос стафилококк бактериофаги тўплами қўлланилади) аниқланади.

13,2-жадвал

Клиник хусусиятга эга бўлган стафилококкларнинг дифференциал белгилари

Белгилар	Турлар						
	S. aureus	S. epidermidis	S. saprophyticus	S. haemolyticus	S. lugdunensis	S.schleiferi	S. warneri
Каротиноидли пигмент	+	—	-	V	V	—	V
Плазмокоагулаза	+	—	-	—	V	—	—
Ипир-ипир ҳосил бўлувчи омил	+	—	—	—	(+)	+	—
Термостабил ДНКаза	+	—	—	—	—	+	—
Ишқорий фосфатаза	+	+	—	—	—	+	—
Уреаза	V	+	+	—	V	-	+
Новобиоцинга чидамлилиги	—	—	+	—	—	—	—
Полимиксин В чидамлилиги	+	+	—	—	V	—	—
Анаэроб шароитда кислотагача ферментацияқилиш:							
маннит	+	—	V	V	—	—	V
трегалоза	+	—	+	+	+	V	+
манноза	+	(+)	—	—	+	+	—
мальтоза	+	+	+	+	+	—	+
сахароза	+	+	+	+	+	—	V
тураноза	+	V	+	V	V	—	V

4 кун. Олинган натижалар асосида якуний идентификация (культурал, морфологик, тинкториал, биохимик тестлар (38-жадвал) ва антибиотикограммаси ва фагларга бўлган сезгирликлари аниқланиб охирги натижа “жавоб хулоса” берилади.

Стафилококклар келтириб чиқарувчи овқатдан заҳарланиш касалликларида текширилаётган материалдан суртма тайёрланиб, Грам усулида бўяб кўрилади, кейин косачадаги 1% глюкоза тутувчи (бойитиш учун) ГПА ва ГПБ экилади. Материал транзит микрофлора билан ифлосланган бўлса, 6% ош тузи тутувчи қонли агарга экилади. Бундай муҳитда энтеробактериялар ва бациллаларни ўсиши тормозланади. Бундан ташқари ҚА стафилококкларнинг гемолитик

хусусияти ҳам аниқланади. Экмалар 37^0С термостатга қўйилади ва тоза культураси ажратиб олиниб, идентификация қилинади ва энтеротоксини биологик усулда аниқланади.

Серологик текширув.Стафилококк инфекциясини тасдиқлаш учун қўйилдиган серодиагностика ёрдамчи усуллардан ҳисобланади, лекин стафилококк антитоксинини бемор қон зардобидан суринкали стафилококк инфекцияларида (остеомиелит, септикопиемия ва бошқ.) аниқлаш муҳим аҳамиятга эга, чунки бактериологик усуллар кучли антибиотиклар қўллаш фонида натижа бермайди. Кўпинча диагностикада БВГР эритроцитарстафилококк диагностикуми қўлланилади (стафилококк а-токсини шимдирилган эритроцитлар)

Соғлом одамларда ва болаларда, хамда стафилококк инфекциясининг тери шакли билан оғриган беморларда стафилококк антитоксини қон зардобида 0,5 - 4 АЕ/мл. ошмайди. Сурункали стафилококк инфекцияси билан оғриган беморларда эса, унинг титри, бир неча баровар юқори бўлади.

Методик кўрсатмалар

Стафилококк культурасининг плазмокоагулаза активлигини аниқлаш. Бунингучун қуён қон плазмасидан фойдаланилади. 1:5 нисбатда суюлтирилган қуён плазмасидан1,0 мл олиниб 2 та стерил пробиркаларга қуйилади. Биринчи контрол учун (К), иккинчипробиркани тажриба учун (Т) деб ёзиб қўйилади. Биринчи пробиркага текширилаётганстафилококк культурасидан қовузлоқ ёрдамида материал олиниб пробиркадагисуюлтирилган плазмага аралаштирилади. Иккинчи тажриба пробиркасига бактериякультураси аралаштирилмайди. Ҳар иккала пробирка ҳам термостатга 6-8 соатга қўйилади.Текширилаётган культура плазмокоагулаза активлигига эга бўлса қуён плазмасини ивитибқотириб қўяди, контрол пробиркада плазма қотмайди.

Аутоагглютинация реакциясини қўйиш (хлопьеобразования). Стерил пробиркага бемор қон плазмаси қуйилади ва плазмадан 0,5 см юқорида стафилококк культураси қовузлоқ билан яхшилаб суртилиб аралаштирилади, кейин қовузлоқ билан плазма аралаштирилади. Реакция мусбат бўлса пробирка деворида яққол агглютинация реакцияси кузатилади.

Стафилококк культурасининг ДНКаза активлигини аниқлаш. Нуклеин кислотаси намунаси 10 мг/мл миқдорида олиниб, дистилланган сувга ҳар 20 мл га 1 мл 0,8% натрий гидроксид эритмаси қўшилиб иситилади. Эритилган ва совутилган 50°С ГПА асептик шароитда тайёрланган ДНК эритмаси (9,0 мл ГПА- 1 мл ДНК эритмаси) қўшилади. ДНК сақловчи қуруқ агардан ҳам фойдаланиш мумкин. ДНК қўшилган ГПА юзасига текширилаётган стафилококкнинг 1 кунлик культураси бляшка кўринишида экилади.

Бир кундан кейин косачага 5 мл 1 п хлорид кислотаси қўшилади. Реакция мусбат бўлса 3-5 минутдан кейин бляшка атрофи тиниқлашади, яъни стафилококк култураси ДНК мусбат эканлиги маълум бўлади.

Стафилококк культурасининг лизоцим активлигини анқлаш. *Micrococcusluteus* ни бир кунлик культурасидан (1млд- 1 мл) суспензия тайёрланади ва пробиркадаги эритилган 50°С ГПА га асептик шароитда 1 мл тайёрланган *Micrococcus luteus* олиниб агарга аралаштирилиб стерил косачага

қуйилади. *Micrococcus luteus* қўшилган ГПА юзасига текширилаётган стафилококкнинг 1 кунлик культураси бляшка кўринишида экилади. Стафилококк агар лизоцим синтез қилса бляшка атрофида лизис зонаси кузатилади.

Стафилококк культурасини фаготипини аниқлаш.Текширилаётган суткалистафилококкни бульонли культурасини Петри косачасидаги озиқли агарга газонли усулдаэкилади, термостатда бир оз қуритилади, сўнгра Петри косачаси орқаси квадратларгабўлинади қўлланилаётган фаг типлари ёзилади ва ҳар бир квадратга Пастер пипеткаси биланбир томчидан кўрсатилган титргача суюлтирилган, ёзилган рақамга хос бўлганстафилококкни 4 гуруҳ фаг типлари томизилади. Бир сутка термостатда сақлангандан сўнг,қайси квадратларда лизис бўлганлиги кўздан кечирилади. Стафилококк культурасинингфаготипи лизисни келтириб чиқарадиган фаг типи билан аниқланади.

Стафилококк культурасини энтеротоксин ҳосил қилиш хусусиятини аниқлаш.Овқатдан заҳарланиш касалликларида ажратиб олинган стафилококк культурасини махсус озиқли муҳитга экилади. (Муҳит таркиби- 1000 мл дистилланган сувга 20 г пептон, 1 г гидрофосфат натрий, 1 г гидрофосфаткалий, 5 г натрий хлорид, 0,1 г кальций хлорид 0,2 г магний хлорид, 0,8 агар-агар (pH 7,0—7,2). Стерилизация 20 мин 115°С қилинади).

Озиқ муҳитга экилган экма атмосфера ҳавосида 20% CO_2 сақлаган термостатда 37°С 3 - 4 кун сақланади, кейин экма мембранфильтрлари (№ 3 и 4) билан фильтрланади. Олинган фильтрат 10-15 мл ҳажмда, тенг ҳажмдаги илитилган сут билан аралаштирилиб 1-2 ойлик мушук болаларига берилади ёки зонд орқали ошқозонга юборилади. Тажрибани натижаси 30-60 минутдан кейин кузатилади, мушук болаларида қайт қилиш аломатлари кузатилади, заҳарланишнинг асосий белгиси 2-3 соатдан кейин ич кетиш, оғир ҳолларда ўлим ҳам бўлиши мумкин.

13.2. Стрептококк юқумли касалликларининг бактериологик диагностикаси

Стрептококкларнинг таксономик ҳолати: оиласи*Streptococcaceae*; авлод –*Staphylococcus*.Стрептококклар қуйидаги хусусиятлари бўйича классификация қилинади:

- қонли агарда характерли ўсиши(гемолитик хусусияти–β, α ва ногемолитик)
- антиген тузилиши (Лансфилд таснифи): ҳужайра девори таркибидаги полисахарид антигени бўйича –20 та серогуруҳи бор (А-Н, К-V)*Streptococcus pyogenes A*серогруппага мансуб; фимбриалМ-оқсил антигени бўйича –80 серотипларга бўлинади.М-оқсил антигени протектив антиген ҳисобланади.

Стрептококкларнинг таснифи(Лансфилд бўйича):

- Бета-гемолитикстрептококклар:

  - Группа A Streptococcus (*Streptococcus pyogenes*)
  - Группа B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*)
  - Группа C Streptococcus
  - Группа G Streptococcus
- Альфа-гемолитик стрептококклар:
  - *Streptococcuspneumoniae (Pneumococcus);*
  - Streptococcus viridans (бактериал эндокардитга сабаб бўлади).
- Ногемолитик стрептококклар:
  - *Streptococcus faecalis* (D гуруҳи)
  - B, C, D, H ва O гуруҳининг алоҳида вакиллари

13,3-жадвал

Одамда асосий касаллик келтириб чиқарувчи *Streptococcaceae* оиласи вакиллари

Келтириб чиқарувчи касалликлари	Қўзғатувчилари	Текшириш учун материал олиш
1. Фарингитлар	Стрептококклар гуруҳи A, C, G	Томоқдан суртма, қон зардоби
2. Тери ва юмшоқ тўқимани жароҳати ва жароҳат инфекцияси	Стрептококклар гуруҳи A, C, G ва яшил стрептококклар	Жароҳатдан суртма, йиринг, ажралма
3. Туғрукдан кейинги инфекция	Стрептококклар гуруҳи B, C ва G	Эндометрия тўқимаси ёки унинг аспиратлари
4. Неонатал сепсис	Стрептококклар гуруҳи B, ва G	Қон
5. Бактериемия	Стрептококклар гуруҳи A, B, C,G, Д	Қон
6. Эндокардитлар	Стрептококклар гуруҳи A, B, C , G ва энтерококклар, S. pneumoniae, яшил стрептококклар	Қон, клапан биоптатлари
7. Менингит	Стрептококклар гуруҳи A, B, C,G ва S. pneumoniae	Орқа мия суюқлиги
8. Артритлар	Стрептококклар гуруҳи A, B, C, G, S. pneumoniae	Синовиал суюқлик
9. Сийдик таносил система нфекцияси	Стрептококклар гуруҳи B, энтерококклар	Сийдик, ажралмалар
Зотилжам	Стрептококклар гуруҳи A, B ва	Балғам, бронх ва трахеа
(пневмония)	S. pneumoniae	ювиндиси, плеврал суюқлик
Синуситлар	Стрептококклар гуруҳи A S. pneumoniae	Пазухлардан олинган суюқлик
Ўрта қулоқ отити	S. pneumoniae	Тимпаноцентездан
Ревматик атакалар	Стрептококклар гуруҳи A	Томоқдан суртма ва қон
Ўткир гломерулонефрит	Стрептококклар гуруҳи A	Томоқдан суртма ва қон

Кўп *Streptococcus* авлоди вакиллари одамнинг нормал микрофлораси таркибига (овқат ҳазм қилиш, нафас олиш ва генитал тракт) кириши билан бир қаторда, баъзи вакиллари турли соҳаларда оппортунистик инфекцияларни келтириб чиқаради (39-жадвал).

Стрептококкли юқумли касалликларнинг оғир асоратларига ревматизм ва гломерулонефрит киради.Энг муҳим клиник аҳамиятга *Streptococcus pyogenes* эга ҳисобланади.

Патологик материал олиш.Стрептококклар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларда текшириш учун патологик материал касаллик соҳаси ва клиник формаларига боғлиқ бўлиб йиринг, яра ажралмаси, абсцесс бўшлиғидан пунктат, шиллиқ қаватдан суртма, қон, балғам, сийдик, орқа мия суюқлиғи олинади. Оғиз бўшлиғидан материал овқат истеъмол қилингандан 2 соат ўтгач олинади.Олинган материал 2 соат ичида лабораторияга етказилмаса олинган материаллар бойитувчи муҳитларда (қандли тиогликоли бульон) олиб борилади.

Микроскопия. Олинган материалдан натив суртма тайёрланиб, Грам усулида бўяб кўрилганда стрептококклар суртмада қисқа-қисқа занжир бўлиб, баъзида диплококкларга ўхшаб жойлашади. Микроскопик усул қўзғатувчига диагноз қўйиш учун етарли ҳисобланмайди, чунки қўзғатувчини бошқа кокклардан (стафилококк) фарқлашда қийинчилик туғдиради. Шунинг учун бактериологик усул қўлланилади.

Бактериологик текширув. 1-кун. Текшириладиган материал-йиринг,экссудат, балғам, қовузлоқ билан Петри косачадаги 5%ли ҚА га штрихусулда экилади. Сийдик, томоқдан ва бурундан олинган материаллардан стрептококкларни миқдорий аниқлаш мақсадида5% ҚА сектор (Гольд)усулида экилади ва экмалар 37°С ли термостатга қўйилади. Стрептококклар атмосфера ҳавосида яхши ўсади, лекин 37°Санаэроб атмосферада яхши натижа олинади, чунки А гуруҳга мансуб бўлмаган бета-гемолитик стрептококклар ўсишини атмосфера ҳавосидаги CO_2рағбатлантиради. Шунинг учун стрептококкларни ажратиб олишда анаэростатдан ёки тагига шам ёқилган эксикатордан фойдаланилади.

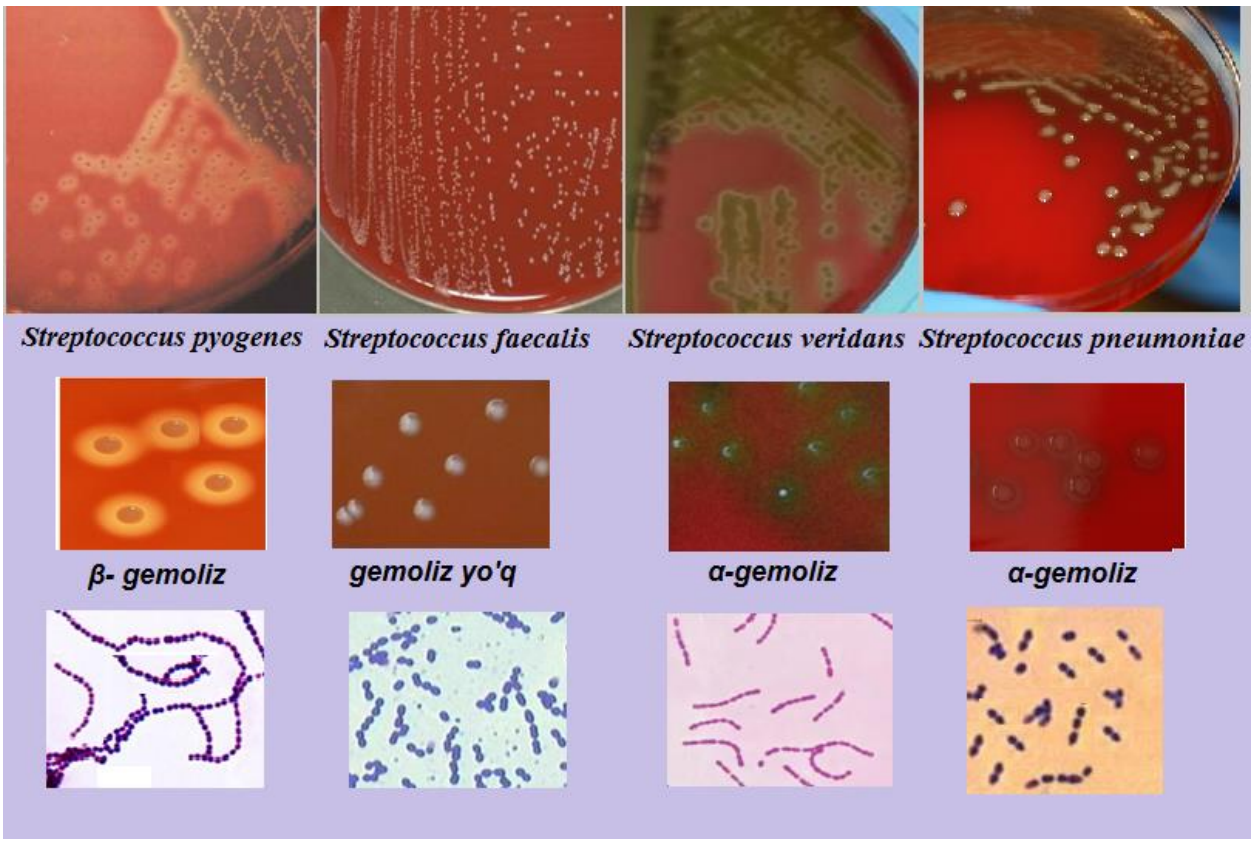
2- кун. 24 - 48 соатдан сўнг стрептококкларни культурал хусусиятлари (колониялари ва ҚБ ўсиши) ўрганилади. ҚБ кўпчилик стрептококклар пробиркани тагида ва деворида ипир-ипир бўлиб ўсади, лекин бульон

тиниқлигича қолади. Бошқа стрептококклар (энтерококклар) эса бульонни интенсив лойқатиб ўсади.

Зич муҳитларда ҚА*Str. pyogenes* уч хил колониялар ҳосил қилади:биринчи типи каттароқ, ялтироқ, сал чўзилувчан, сув томчисини эслатади (янгиажратиб олинган изолятларида), кўпроқ майда, тўғноғич бошчасидек келадиганхирароқ,, қирралари нотекис, шарсимон колониялар (янги ажратиб олинганМ-Аг тутувчи изолятларига хос) ҳосил қилади. Қавариқ, тиниқ 0,1 -0,3 ммдиаметри колонияли изолятларвирулент лаборатория штаммларигахос бўлади. Энтерококклар эсаозиқли муҳитларга талабчан эмас,қонли агарда 18-24 соатдан сўнг 0,4-1,0 мм диаметрли, кулрангга мойилколониялар ҳосил қилади.

Энтерококклар учун селективмуҳитлар (Диф-3, Диф-5) муҳитлари ҳисобланади. Диф-3, Диф-5муҳитлари таркибида теллурит калий сақлайди. Энтерококклар теллуритниқайтаргани учун колониялари қора рангга киради (69-расм).

Стрептококклар гемолитик хусусиятлари бўйича ҳам бир-бирларидан фарқлана. Қонли агардаги стрептококклар гемолиз қилишига кўра 3 гуруҳга: 1) ногемолитик; 2) *а*- гемолитик ёки қисман яшил гемолиз доирасини ҳосилқилувчи; 3) β-гемолитик, колония атрофида тўлиқ,тиниқ гемолиз доирасини ҳосил қилувчиларга бўлинади (69-расм). *Str.pyogenes* асосан β-гемолиз, колония атрофида яққол, тиниқ ва микроб колонияси размеридан бирнеча маротаба катта бўлади. Энтерококклар гемолиз бермайди, кам ҳолларда *а*- гемолиз бериши мумкин. Кўпчилик стрептококклар *а*- гемолитик дебаталади, гемолиз зонаси яшил рангда бўлади, чунки улар гемоглобинни метгемоглобинга айлантиради. Шунинг учун уларни яшил стрептококклар ҳам деб (*S. viridans*) аталади, юқори нафас йўлларида кўп учрайди.



13.1- расм. Стрептококкларнинг культурал, морфологик хусусиятлари ва суртмада жойлашиши

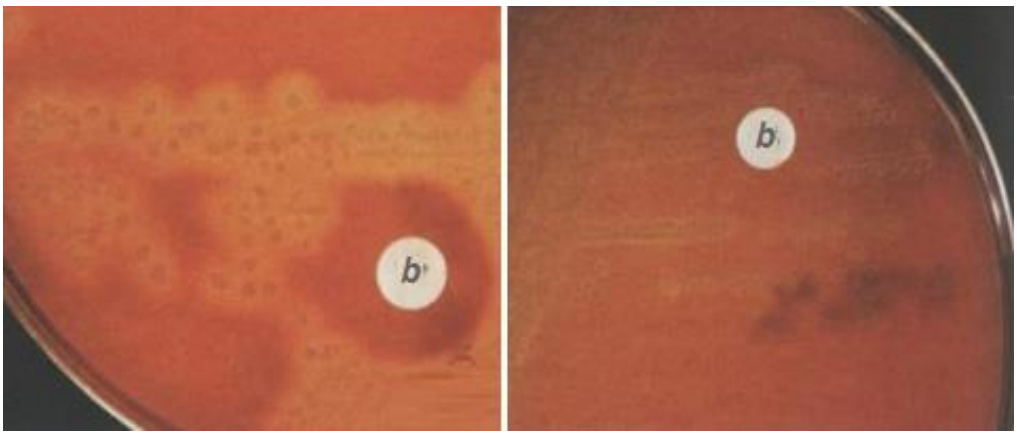
Иккинчи куни стрептококкларни стафилококклардан фарқлаш учун каталазатести қўйилади (28-расм).Стрептококклар каталаза манфий ҳисобланади.

Колониянинг бирқисмидан суртма тайёрлаб, Грам усулида бўяб, Микроскопостида кўрилади. Соф культурасини ажратиш учун 2-3 та шубҳали колониядан олиб, пробиркалардаги қандли бульонларга экилади.

3-кун. Стрептококк авлоди вакилларини бир бирларидан фарқли хусусиятларини аниқлаш учун дифференциал диагностик муҳитларга экмаларэкилади (40-жадвал) ва идентификация қилинади.

β-гемолитик стрептококкларни бацитрацинга сезгирлигини аниқлаш.β-гемолитик стрептококклар культурасибир-биридан ажратилиб, озиқли муҳитга газон усулида экилади, ҳар иккала культура устига бацитрацин шимдирилган қоғозли диск қўйилади. Стрептококк сезгир бўлса дискка шимдирилган бацитрацин стрептококк культураси ўсишини тормозланади (70-расм).

*Str.pyogenes*бошқа β-гемолитик стрептококклардан фарқланиб,99% изолятлари бацитрацингасезгир ҳисобланади.



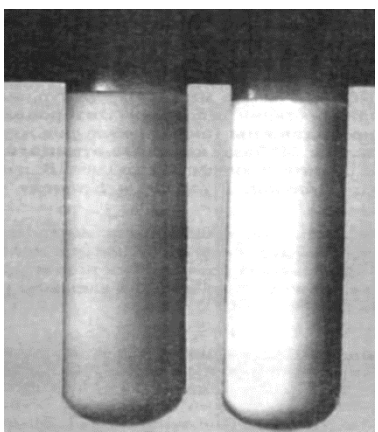
13.2- расм. Стрептококларни бацитрацинга сезгирлигини аниқлаш тести. А гуруҳга кирувчи стрептококклар (чапда) сезгир; Б-гуруҳга кирувчи стрептококклар (ўнгда) сезгирэмас.

Str. pyogenes ни энтерококкларданфарқлаш жадвалда кўрсатилган (40-жадвал). Ўт сафро қўшилган муҳит *Str.pyogens* ни ўсишини ингибиция қилади,энтерококклар эса яхши ўсади. 6,5% NaCl қўшилган муҳитга *Str. pyogens*лабил ҳисобланади, энтерококклар бундай хусусиятга эга эмас.

13,4-жадвал

Энтерококкларнинг пиоген стрептококклардан фарқи

Белги ва хусусиятлари	*Str. pyogens*	*S. fecalis*
Ҳаракатчанлиги	-	+
6,5 % NaCl муҳитда ўсиши	-	+
0,1 % метилен кўки қўшилганмуҳитда ўсиши	-	+
10 ^{0} С ўсиши	-	+
45^0 С ўсиши	-	+
Ўт сафроли бульонда ўсиши	-	+
Маннитни парчалаши	-	+
Инулинни парчалаши	-	+
Сорбитни парчалаши	-	+
Гемолизин тутиши	β ва бошқ.	баъзида β



Бунданташқари сезгир тестлардан яна бири лакмусланган сутни энтерококклартомонидан рангсизланиши. Энтерококклар ишқорий хусусиятли сутнинордон томонга суради, бунинг натижасида лакмус реагенти 0,1% метиленкўки) қўшилган сут оқариб рангсизланади.

Str.pyogenes сут рангиниўзгартирмайди (71-расм).

Бактериологик текширувларнинг якунловчибосқичида ажратиб олинган культуранингантигенлик хусусиятига асосланиб, идентификация қилинади. Шу хусусиятига кўра барча стрептококкларсерологик гуруҳпаларга (А, В, С, D ва ҳ.к) бўлинади.Стрептококкларнинг серогуруҳларини текширилувчи культураданолинган полисахарид преципитоген С ва зардоблар (асосан кенг тарқалган А,В, С ва D серогуруҳ зардоблари) билан преципитация реакцияси қўйилибаниқланади. Одам учун патоген бўлган кўпчилик β-гемолитик стрептококкларА-серологик гуруҳга киради. Протеиндан ташкил топган типларга хосантигенларнинг миқдори β-гемолитик стрептококклар бир қанча сероварларгабўлинади, улардан 47 таси А группага киради.

Стрептококклар серовари агглютинация реакцияси ёрдамида аниқланади. Кенг миқёсда серологиктекширишлар ва стрептококкларнинг типини аниқлаш асосан эпидемиологикжиҳатдан аҳамиятга эга бўлган текширувларда ўтказилади.Ажратиб олинган стрептококк культурасининг антибиотикларгасезувчанлиги қоғози диск усули билан аниқланади.

4 кун. Олинган натижалар асосида якуний идентификация (культурал, морфологик, тинкториал, биохимик тестлар (40-жадвал) ва аниқланиб охирги натижа “жавоб хулоса” берилади.

Сепсисга шубҳаланганда бемор қони қандли бульонга экилади ва соф культураси ажратиб (стафилококкларга ўхшаш) олинади.

Скарлатинада бактериологик диагностика деярли қўлланилмайди. Баъзи ҳолларда ҳалқум шиллиқ қаватидан турли серогуруҳларга мансуб стрептококклар ажратиб олинади.

Серодиагностика. Стрептококкли инфекцияларнинг баъзи нозологиктурларида КБР ёки преципитация реакциялари ёрдамида бемор қонидагиспецифик антителолар аниқланади. О-стрептолизинга қарши антитело асосанревматизм диагнозини тасдиқлаш учун текширилади. Реакция, агар беморқонида О-стрептолизинга қарши антителолар бўлса, уларнинг аниқлаш О-стрептолизиннинг эритроцитларни эритиш хусусиятини нейтраллашигаасосланган. Реакция стандарт, қуритилган О-стрептолизин билан қўйилади.Ҳозирги кунда О-стрептолизинга қарши антителоларни аниқлашни ИФУ ишлабчиқарилган.

Дик реакцияси. Скарлатинадан олинган стрептококкларнинг эритроген токсинигақарши антитоксинли антителани аниқлашда қўлланилади. Дик токсини билакнинг олдқисми соҳасидаги тери орасига юборилади ва 24-соатдан сўнг

маҳаллий яллиғланишреакциясига асосланиб натижаси натижаланади. Мусбат Дик реакцияси скарлатинага қаршиантитоксинли иммунитет йўқлигидан дарак беради, аксинча реакция манфий бўлса,иммунитет борлиги маълум бўлади, чунки юборилган токсин организмда ҳосил бўлган антитоксин билан нейтралланади.

Антистрептолизини аниқлаш. Усулнинг моҳияти О- стрептолизини гемолитик активлигини нейтрализизация қилишга асосланган. Бунинг учун бемор қон зардоби серияли суюлтирилади ва унга стрептолизин препарати эритмасидан қўшилади. Аралашма термостатда 37°С 15 мин ушлаб турилади ва пробиркаларга 0,2 мл қуёнэритроцитлари аралашмасидан қўшилади. Пробиркалар яна термостатда 37 °С 1 соат сақланади, кейин реакция титрини натижалаш орқали аниқланади. Касалликнин ўткир даврида 7-10 кун мобайнида жуфт қон зардоби билан О- стрептолизин аниқланганда, антитела титри О- стрептолизинга 500 маротаба ва гиалуронидазага нисбатан эса 1000 маротаба халқаро бирликда ошади.Шуни билиб қўйиш зарурки, О-стрептолизинга нисбатан АТ стрептококкнинг А гуруҳи келтириб чиқарган касалликнинг тери формасида ҳосил бўлмайди.

13.3. Кўк яшил йиринг таёқчаси юқумли касаллиги қўзғатувчисининг бактериологик диагностикаси

Таксономик ҳолати: авлоди -*Pseudomonas,* 20 ортиқ турлари мавжуд. Патоген турлари:*P.aeruginosa, P.mallei, P.pseudomallei.*Кўпроқ *P.aeruginosa*касаллик келтириб чиқаради.Морфологик жиҳатдан сал эгилган таёқча, спора ҳосил қилмайди, ҳаракатчан, капсулага ўхшаш структураси мавжуд. Кўпчилик штаммлари эрувчан пиоцианин пигменти ишлаб чиқаради (ишқорий муҳитда кўк яшил рангга киради). Кўк яшил йиринг таёқчаси қаътий аэроб, оксидаза мусбат, протеолитик активлиги яхши ривожланган, сахаролитик хусусияти эса кучсиз ривожланган.

Кўк яшил йиринг таёқчаси озиқли муҳитларга талабчан эмас, оддиймуҳитларда яхши ўсади. Ўсиш диапазони 2-42°С бўлади. Шунинг учун ташқимуҳитда узоқ сақланади, одам организмининг юқори температураси ҳам таъсирқилмайди. Ўзига хос хусусиятларидан яна бири озиқ муҳитларга бўлганминимал чегараланганлиги бўлиб, озиқ муҳитлар умуман бўлмай қолгандаҳам ўзини ҳаёт фаолиятини йўқотмайди.Кўк яшил йиринг таёқчаси организмда, деярли ҳамма органларда йирингли яллиғланиш жараёнларини келтириб чиқаради, кўпинча касалхонада тарқалувчи яллиғланиш касалликларига сабаб бўлади. Антибиотикларга ўта чидамли ва даволаш жараёнларида антибиотикларга тез мослашиб олади.Асосий диагностик усули – бактериологик; қўшимча - серологик.

1-кун. Патологик материаллар (йиринг, экссудат, балғам, сийдик, қон вабошқ.) қонли ва НА экилади. Қондан ажратиб олиш стафилококк

вастрептококклардан фарқ қилмайди. Экмалар 37°С да бир сутка давомидатермостатга қўйилади.

2-кун. Pseudomonas aeruginosa қонли ва НА яхши ўсади ва “шиллиқ” симон структуралар ҳосилқилади, вирулент изолятларини хусусияти ҳисобланади, бу эса бульонни ваколонияларини шилимшиқ бўлишига олиб келади. *P.aeruginosa* таёқчалариюмалоқ, ясси, шилимшиқ ҳолдаги кўк-яшил пигментли колониялар (S-колония) ҳосил қилади. Баъзи ҳолларда *P. aeruginosa* қирралари тўлқинсимон,юзаси нотекис (маргаритки) колониялар ҳосил қилади. Пигмент ҳосил қилишимуҳим диагностик аҳамиятга эга бўлиб, пигменти бактерияниколонияларибўйлаб агарга тарқалади. Агарни ранги, беморлардаги боғловчиматериаллар шу пигмент рангига кўк яшил рангга киради, таёқчани номи ҳамшундан келиб чиққан.

Колониядан олиб тайёрланган натив — «осилган» ёки «эзилган» томчипрепаратлар микроскоп остида кўрилганда ҳаракатчан, бироз букилган, Грамусули бўйича бўялган суртмада грамманфий таёқчалар кўринади. Биокимёвий хемоорганотроф қатъийаэроб каталаза мусбат. Бошқа аэроблар сингари цитохромоксидаза синтезқилади ва оксидаза мусбат, бу эса уларнинг ичак гуруҳи бактерияларидан идентификацияқилишда асосий тест бўлиб хизмат қилади.Соф культура ажратиб олиш учун пробиркадаги нейтрал қийшиқ ГПА шубҳали колониялари экилади.

3- кун.Ажратиболинган соф культураларнинг турини аниқлаш учун уларнинг биокимёвийбелгилари бўйича солиштириб кўрилади. Биокимёвий хемоорганотроф уларнинг сахаролитик хусусияти ўта сустфақат глюкозани оксидлаши мумкин. Лекин, протеолитик активлиги ўта юқори. Шунинг учун *P. aeruginosa* идентификация қилишда қуйидаги тестлар қўйилади:

- оксидаза тести- *P. aeruginosa* (+);
- грам усулида бўялиши *P. aeruginosa* Грам (-);
- ҳаракатчанлиги *P. aeruginosa* (+);
- глюкозани парчалаши аэроб шароитда *P. aeruginosa* кислотагача (+);глюкозани парчалаши анаэроб шароитда *P.aeruginosa* Хью-Лейфсонтести (-);
- желатинани емиради *P. aeruginosa* (+);
- қонли агарда гемолитик хусусияти *P. aeruginosa* (β-гемолиз беради);
- 42°С да ўсиши 37°С *P. aeruginosa* (+).
- антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш (қоғозли диск усулида.

4- кун.*P. aeruginosa* нинг якунловчи ташхиси морфологик, культурал (характерлипигмент ҳосил қилиши), биокимёвий (оксидаза тести), углеводларниферментламаслиги (глюкозани анаэроб шароитда парчаламаслиги(Хью-Лейфсонтести) ва желатинани емириши ва бошқа хусусиятларига асосланиб якуний жавоб берилади.

Серологик усул ёрдамчи усуллар қаторига кириб, беморнинг қон зардобидан*P.aeruginosa* қарши ҳосил бўлган Ат аниқлаш орқали ретроспектив бактериологик диагноз тасдиқланади.

Йирингли яллиғланишларни ичак гуруҳига мансуб бўлган бактериялар(*E.coli, Proteus spp.* ва бош.) ва спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялархам келтириб чиқаради.

13.4. Спора ҳосил қилмайдиган анаэроб бактериялар келтириб чиқарганйирингли – яллиғланиш жараёнларининг микробиологик диагностикаси

Турли хил йирингли-яллиғланиш жараёнларининг қўзғатувчилари кўпинча спора ҳосил қилмайдиган, *Bacteroides, Veillonella, Peptococcus,Peptostreptococcus* зотига кирувчи бактериялар ҳам ҳисобланади. Улар бир хил вааралаш инфекцияларни ўзаро биргаликда, ҳамда аэроб бактериялар —*Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, E. coli* лар ва кокклар билан ҳамкасалликларга сабаб бўлади.

Ушбу касалликларга микробиологик диагноз қўйишда бактериологиктекширувлар асосан қатъий анаэроб шароитларда олиб борилади, чунки жудаоз миқдорда ҳаводаги кислород ҳам шу бактерияларнинг кўпайишигатўсқинлик қилади. Натижада улар озиқ муҳитларда ўса олмайди.

Текширилувчи материаллар (йиринг, яра ва шишлардан ажралаётгансуюқликлар) шприц ёрдамида, ҳавоси чиқариб юборилиб олинади. Сўнграшприц инерт газлар (N_2 + H_2) билан CO_2 аралашмали пробирканинг резинапробиркасига ўрнатилган игнага уланади ва унга текширилувчи материалюборилади. Юқорида келтирилган усул махсус лабораторияларда амалгаоширилиши мумкин, кўпчилик ҳолларда патологик материал оддий, газсизстерил пробиркаларда келтирилади. Кўпчилик мутахассисларни фикричабемордан олинган патологик материал 1-2 соат ичида лабораториягакелтирилса мақсадга мувофиқ бўлади ва анаэробларни ажратиб олиш фоизигаунчалик таъсир қилмайди.

Бактериологик текшириш. Текширилувчи материаллар олдиндантайёрланган БҚА (бактериоидлар учун қонли агар) ва ҚА агарларга экилади ваанаэростатга қўйилади. Анаэростатда махсус анаэробиоз шароитини яратишучун уч газ компонентидан (80% азот,10% водород, 10% углевод оксиди) иборат аралашма ёки табиий газ билан тўлдирилиш мумкин. Охирги йиллардаанаэростатда анаэробиоз шароитини яратиш учун махсус чиқарилаётган газпакетчаларидан фойдаланилмоқда. (анаэроб бактерияларни ажратиб олишусуллари умумий бўлимда 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, фильтрланади, автоклавда 112 ±1° С 30±1 мин. Стерилизацияқилинади. Сўнг совутилиб, унга одам цитратли қони, лизисланган қон ва геминқўшилади ва яхшилаб аралаштирилиб, стерил Петри косачаларига қалин қилибқуйилади. Бу муҳит кислород билан тўйиниб қолмаслиги учун олдинтайёрланиб қўйилган асосий муҳитга кейинги компонентлари (цитратли қон,лизисланган қон ва гемин) экишдан олдин қўшилиб керагича тайёрланилади.

Бундан ташқари бу бактерияларни ажратиб олишда классик усулларданҳам фойдаланиш мумкин. Яъни, текширилувчи материаллар қайнатилибтайёрланган пробиркалардаги Китт-Тароцци ва ярим суюқ ҳолдагитиогликолли агарга экилади.

Унинг таркибига ачитқи экстракти, триптон, цистеин, натрий хлориди,тиогликол кислотаси, метилен кўки ва 0,75 % ли агар киради. Экмаларэксикатор ёки анаэростатларга жойлаштирилиб уларни кислородсиз газлиаралашма, палладийли катализатор билан тўлдирилади ва 37°С да 2-4-суткадавомида термостатга қўйилади.Ўсиб чиққан бактерияларни культурал ва морфотинкториал хусусиятлариўрганилади.

Bacteroides шартли патоген, асосан йўғон ичакнинг нормалмикрофлораси, аёлларда генитал органида ҳам учрайди. Характерли тури*Bacteroides fragilis*, озиқ муҳитларга талабчан БҚА муҳитида кулранг, тўқжигар ранг, қора колониялар ҳосил қилади. Шакли- грам манфий полиморфтаёқча (расм 72а), спора ҳосил қилмайди, харакатчан, каталаза мусбат.

Veillonella шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида яшайди. Характерлитурлари 7 та улардан энг кўп *Veillonella parvula,*

V.atypica.V.dispar учрайди.*Veillonella* қонли агарда яхши ўсади, колониялари майда рангсиз, гемолитик хусусияти йўқ, грамманфий, қисқа занжирли коклар, харакатсиз, капсуласпора ҳосил қилмайди (расм 72г).

Peptostreptococcus шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида, юқори нафасйўлларида ва таносил органларида яшайди. *Peptostreptococcus* ларни 9 та тури учрайди. Характерли тури *P.anaerobius*. Турли тўқималарда йирингликасалликларни келтириб чиқаради. *Peptostreptococcus* лар қонли агарда яхшиўсади, сферик шаклдаги кокк, ўлчами 0.5-1,2 мкм, грам мусбат, суртмадажуфт-жуфт, йиғилган ёки занжирсимон бўлиб жойлашади, (расм 72в)ҳаракатсиз, капсула спора ҳосил қилмайди.

Peptococcus шартли патоген, ичакда оғиз бўшлиғида ва урогениталорганларда яшайди. Фақат битта тури учрайди *Peptococcus niger*, сферикшаклдаги кокк, ўлчами 0.5-1,3 мкм, граммусбат, суртмада жуфт-жуфт,йиғилган ёки қисқа занжирсимон бўлиб жойлашади, (расм 72б) харакатсиз,капсула спора ҳосил қилмайди. Культурадан суртма тайёрланиб, Грамусулларда бўяб, микроскоп остида кўрилади.

Жадвал 13,5.

Спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроб бактерияларнинг дифференциал белгилари

Белгилари	Bacteroides	Veillonella	Peptostrep-tococcus	Peptococcus
Бактерия ҳужайраларининг шакли ва жойлашиши	Майда полиморф таёқчалар	Қисқа занжирли кокклар	Занжирсимон жойлашган кокклар	Қисқа занжирсимон якка-якка жойлашган кокклар
Ҳаракатчанлиги	±	-	-	-
Споралар	-	-	-	-
Грам усулида бўялиши	-	-	+	+
Карбон сувларни парчалаши	+	-	+	x
Сутни ивиши ёки пептонланиши	+	+	-	-
H^2S ҳосил қилиши	-	+	-	+
Индол ҳосил қилиши	±	-	-	-
Желатинни суюлтириши	±	-	-	-
Нитратларни тиклаши	±	+	-	+
Эритроцитлар гемолизи	-	-	-	-
Токсин ҳосил қилиши	-	-	-	-

Шартли белгилар: + белги борлиги; – белги йўқлиги; ± белги доимий эмаслиги; x- кучсиз парчалаши.

Бактериоскопия культураларнинг бир ёки бир нечта турларга мансублигини аниқлаш имконини беради. Ҳужайралар морфологияси ва Грамусулида бўялиши эса уларнинг тахминан қайси зотга мансуб эканлигинианиқлашда ёрдам беради.

Ажратиб олинган культураларни уларга хос бўлган дифференциалбелгилари асосида қатъий анаэроб шароитларда ўстириб (41-жадвал)идентификация қилинади. Антибиотикларга сезгирликлари ҳам қатъий анаэробшароитларда ўстириб ўрганилади

14 БОБ.ЖАРОҲАТ АНАЭРОБ ИНФЕКЦИЯЛАР: ГАЗЛИ ГАНГРЕНА, ҚОҚШОЛ ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ

Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг қўзғатувчилари *BACILLACEAE* оиласи, *CLOSTRIDIUM* уруғига мансуб бўлиб табиатда кенг тарқалган, одамва ҳайвонлар йўғон ичагида учрайди. Ташқи муҳитга нажас билан тушади, уларспора ҳосил қилади, спораси кўпроқ терминал ва субтерминал жойлашади.Шунинг учун уларни кўриниши дуксимон бўлади (лот. *clostridium*- дук), номиҳам шундан келиб чиққан. Жароҳат анаэроб инфекцияларнинг қўзғатувчилари*Clostridium* авлодига киради. Бу авлодга *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 заҳарланиш токсикоинфекцияни келтириб чиқаради.

14.1. Газли гангрена жароҳат анаэроб инфекцияларнинг микробиологикдиагностикаси.

Асосан касалликни 90% ни *Cl. perfringens* келтириб чиқаради (жадвал 42). Қолган турлари ичида *Cl. novyi, Cl. septicum* кўпроқ касалликларда ролўйнайди.Қўзғатувчи жароҳатга таркибида клостридий споралари бўлган тупроқ.ёки чанг тушганда юқади.Касалликни фақат битта газли гангренақўзғатувчилари келтириб чиқариши камдан- кам ҳолларда учрайди. Асосананаэроб жароҳат инфекцияларида клостридийлар билан биргаликдастафилококклар, кўк-йиринг таёқчаси, протей ва бошқа клостридий бўлмагананаэроб бактериялар ҳам иштирок этиб, касаллик кечишини бирмунчаоғирлаштиради.

Бактериоскопик текширув. Шиш суюқликлари ёки некроз тўкимасиданолиб тайёрланган суртмаларни Грам ва Гинс усулларида бўяб, микроскоп остида кўриш йули орқали ўтказилади.

Препаратларда йирик (1 - 1,5 х 3-10мкм) граммусбат таёқчаларнинг борлиги (расм 72а), ҳамда улардан бирқисмининг (*Cl. perfringens*) капсула ҳосил қилиши дастлабки диагноз қўйишимконини беради.

Бактериологик текшириш. **1-кун.** Текширилувчи материал Китт-Тароццисолинган иккита пробиркага, сут солинган иккита пробиркага ва темирсульфитли агарга (Вильсон-Блэр муҳити) экилади. Китт-Тароцци муҳити ва сутсолинган икки пробирканинг бири ёт бактерияларнинг вегетатив формаларинийўқотиш учун 80°С да 20 минут давомида сув ҳаммомида қиздирилади.

2-кун. Сутга экилганда 3-4 соатдан сўнг таркибида кўпиксимон газ пуфакчалари ва ажралаётган тиниқ сут зардобидан иборат булутсимон қуйқаҳосил бўлади. Келгуси суткаларда Китт-Тароцци муҳитида лойқаланиш ва газҳосил бўлади, Вильсон - Блэр муҳитли агарда эса, бироз кечроқ агарустунчасининг пастки қисмида қора қолониялар пайдо бўлади вапробиркадаги устунчали муҳит қораяди (Na_2S ва $FeCl_3$ дан темир сульфид ваCO_2 ҳосил бўлади), муҳит четлари кесилиб, ёрилади (расм 73б).

Клостридийларнинг бошқа тур культураларини ажратишда ниҳоятда қатъийанаэроб шароитлар яратиш талаб қилинади.Барча ажратиб олинган культуралардан суртмалар тайёрланиб, Грамусулида бўялади ва микроскоп остида кўрилади.Ижобий натижаларда йирик граммусбат *Cl. perfringens* таёкчаларисуртмаларда кўрилади.

Соф культураларни ажратиб олиш учун Петри косачасидаги қанд, қонқўшилган ва тухум сариғи қўшилган агарларга экилиб, 37°С да 2-3 кундавомида қатъий анаэроб шароитда ўстирилади. Ўсган колониялархпробиркалардаги Китт-Тароцци муҳитларига қайта экилади.

Соф культура қўзғатувчиларнинг биокимёвий белгилар асосидаидентификация қилинади.

Токсигенлигини биопробада аниқлаш. Китт-Тароцци муҳитида ўстирилган, текширилувчи культуранинг токсигенлик хусусиятини аниқлаш учунмуҳит центрифугада айлантирилади, чўкманинг устки қисмидаги суюқликолиниб, денгиз чўчқачаларига ёки оқ сичқонлар қорин бўшлиғига юборилади,ижобий натижада токсинлар таъсирида улар ҳалок бўлади. Шу мақсаддапатологик материаллар оқ сичқонлар ёки денгиз чучқачаларинингмускуллари орасига ёки қорин бўшлиғига юбориб текшириш мумкин. Анаэроблар бўлса, инъекция қилинган ҳайвонларда анаэроб инфекциянингюқорида тасвирлаб ўтилган манзараси пайдо бўлади.

14,1-жадвал

Газли гангрена қўзғатувчиси *Cl.perfrengens* нинг асосий биологик белги ва хусусиятлари

МОРФОЛО-ГИЯСИ	ЎСИШИ	ФЕРМЕНТА-ТИВ ХУСУСИЯТИ	ТОКСИН	АНТИГЕН ТУЗИЛИШИ	ПАТОГЕ-НЕЗИ	ИММУНИТЕТ	ЛАБ. ДИАГ.
Гр (+), тўғри таёқча, спора ҳосил қилади, субтерминал жойлашади. Характсиз. Капсула ҳосил қилади.	Қатъий анаэроб. pH 7.2-7.4 бўлган озиқ муҳитларида R- ва М колониялар ҳосил қилиб ўсади. Вильсон-Блеер муҳитида эса 1-3 соатда қора колониялар ҳосил қилиб ўсади. Қонли агарда олдин силлиқ, 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 варианларга 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.	Жароҳат билан тушган микроб спораси, яранинг чуқур қисмида вегетатив формага айланади ва турли хил токсинлар ва ферментлар ишлаб чиқаради. Бу моддалар мускул ва тўқималарни парчалайди ва чиритади.	Кучли иммунитет хосил бўлмайди. Антитоксик антителолар организмни маълум вақтгача ҳимоя қилиши мумкин.	Бактериоско-пик Бактериологик Серологик Биологик Даволаш ва профилакти-каси Поливалент антитоксик зардоб қўлланилади. «Диаферм-3» Кислород терапия усулидан ҳам фойдалани-лади. Махсус профилакти-каси йук!

Лецитиназани аниқлаш. Ажратиб олинган культура таркибидаги *Cl.perfringens*альфа токсинини тезда аниқлаш учун унинг лецитиназа активлигитекширилади. Бунинг учун текширилаётган культура олиниб тухум сариғиқўшилган Петри косачасидаги муҳитни ярмига экилади, қолган ярмигаэкилган культурага махсус антизардоб эҳтиётлик билан қаватлантирилади.Биринчи ярмига экилган зонада α- токсин (лецитиназа) ҳосил бўлса кўзга кўринадиган булутсимон преципитат ҳосил бўлади, иккинчи ярмида эса антитоксин зардоб α- токсинни ингибиция қилганлиги учун преципитат ҳосил бўлмайди.

Ҳар турдаги клостридийларнинг токсинлари турли антигенлик хусусиятларига эга. Шунинг учун уларни серологик усулда идентификацияқилиш лаборатория ҳайвонларида нейтраллаш реакциясига асосланган ҳолдаолиб борилади.

Нейтрализация реакцияси орқали газли гангрена қўзғатувчиларини туринианиқлаш. Бунинг учун қўзғатувчиларни бульонли культурасининг фильтратипробиркаларга қуйилиб, турга хос антитоксик антиперфрингенс, антиновиантисептикум ва ҳоказо зардоблар қўшилади. Уй температурасидагитермостатда 30-40 минут сақланади, сўнгра ҳайвон венасига юборилади.Қўзғатувчи турига мос келадиган зардоб қайси ҳайвонга юборилган бўлса, ўшаҳайвон тирик қолади. Токсин нейтралланмаган ҳайвонлар 30 минутдан 4 соатичида ҳалок бўлади.

14,2-жадвал

Патоген анаэроблар – газли гангрена қўзғатувчиларининг характеристикаси

Микроб турлари	Ҳаракатчанлиги	Ҳайвонлар устидаги тажрибалар	Культурал хусусиятлари		Сутда ўсиши	Углеводларни ферментация қилиши					
			Қонли агарда	Устунчали агарда		глюкоза	лактоза	маннит	сахароза	мальтоза	глицерин
Cl. perfringens	–	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	+	+	–	+	+	+
Cl. novyi	+	Лиқилдоқсимон-серозли шиш	Четлари кертилган ва гемолиз зонаси булган гадир-будур кулранг колониялар	Ўртаси зич бўлиб турган пахта бўлаги кўринишида	Аста секин ивитади	+	–	–	–	+	+
Cl. septicum	+	Серозли қонли шиш	Нозик тўрга ўхшаб ўсади, гемолиз зонаси бўлади.	Пахта бўлаги кўринишида	Бу ҳам шундай	+	+	–	–	+	–
Cl. histolyticum	+	Тўқиманинг эриши кузатилади	Майда-майда силлиқ. колониялар, гемолиз зонаси бўлмайди	Нотўғри шаклли зич пахмоқ колониялар	Пептонларгача тез парчалайди	–	–	–	–	–	–

14.2. Қоқшолни бактериологик диагностикаси. Қоқшол қўзғатувчиси*Cl. tetani* (расм 72в) одам организмига шикастланган тери юзаси ва жароҳат, яра орқали, аёлларда аборт қилинганда, янги туғилганболаларда эса, киндик яралари орқали ўтиши мумкин.

Аёлларда қоқшолга шубҳаланган ҳолларда уларнинг жинсий аъзоларишиллиқ қаватидан ва абортдан сўнг бачадондан ажралаётган суюқликлар олибтекширилади.

Инфекциянинг клиник манзараси типик бўлганлиги учун қоқшолдалаборатория текшируви камдан-кам ўтказилади. Асосан профилактик вашубҳали ҳолларда олиб борилади.

Шубҳали ҳолларда жароҳатдан чиққан йиринг, мускул туқимасидан кесиболинган бўлакчалар, аёлларда қоқшолга шубҳаланган ҳолларда уларнингжинсий аъзолари шиллиқ қаватидан ва абортдан сўнг бачадондан ажралаётгансуюқликлар ва мурдани ёриб олинган материал текшириб кўрилади. Текширишйўли газли гангренада ўтказиладиган текшириш билан бир хил.Тез диагноз қўйиш учун флюрохром билан нишонланган антизардобёрдамида иммунофлюоресценция реакцияси ва текширилаётган материалда қоқшол токсинини топиш учун биопроба қўйилади.

Биосинама қўйиш. Биосинама қоқшол касаллигининг лабораториядиагнозини аниқлашда асосий усул ҳисобланади ва текширилувчи материалдақоқшол микробининг токсинини аниқлаш учун ишлатилади. Бунинг учунматериал ҳовончада эзилиб, физиологик эритма қўшилади, 1 соат мобайнидасақланиб қўйилади, фильтрланади. Фильтрат иккита оқ сичқон орқа оёғинингсонидаги мускуллар орасига юборилади; яна иккита бошқа (контрол) сичқонгафильтрат қоқшолга қарши антитоксик зардоб билан бирга юборилади.Текширилаётган материалда токсин бўлса, тажриба сичқонлари юқоригакўтарилиб борувчи типик қоқшол манзараси билан 2-4 сутка давомида ўлибқолади. Контрол сичқонлар тирик қолади, чунки анатоксин таъсиридатоксиннинг нейтралланиш реакцияси бўлиб ўтади.

Бактериологик текширув.

1 – кун. Текширилувчи материал Китт-Тароццимуҳитига экилиб, анаэроб шароитларда 37°С да 3-4 сутка давомидаўстирилади.

2 кун. Cl. tetani бактерияларнинг чўкма ҳолда ўсганлиги кузатилади.Материалдан суртма тайёрланиб грам усулида бўяб

микроскопда кўрилади. Сўнгра улар Петри косачасидаги қанд, қон қўшилган агарга ва пробиркадагиқанд қўшилган озиқли агар устунчасига қайта экилади. Экмалар анаэробшароитларда инкубация қилинади.

3-кун. Қоқшол таёқчалари қонли агар сатҳида нозик, тиниқ, атрофидабироз гемолиз ҳалқаси бўлган колонияларни ҳосил қилади. Бактериоскопиктекширув яна ўтказилади.Шубҳали колониялардан соф культура ажратиб олиш учун уларпробиркалардаги Китт-Тароцци муҳитларига қайта экилади ва вазелинмойи остида ёки инерт газлар аралашмаси тўлдирилган анаэростатлардасақланади идентификация қилинади. Биосинама қўйиш мумкин. Олинганнатижалар асосида якуний жавоб берилади.

14,3-жадвал

Патоген анаэроблар - қоқшол қўзғатувчисининг характеристикаси

МОРФОЛОГИЯСИ	ЎСИШИ	ФЕРМЕНТАТИВ ХУСУСИЯТИ	ТОКСИН	АНТИГЕН ТУЗИЛИШИ	ПАТОГЕНЕЗИ	ИММУНИТЕТИ	ЛАБ.ДИАГ.
Гр (+), туғри таёқча, ҳужайра ўртаси ва четларида киритмалар жойлашган. Спораси бактерия учида терминал жойлашади. Перитрих, капсула ҳосил қилмайди.	Қатъй 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 синапслардаги тормозловчи нейромедиаторларни ажралишини тўхтатиб қўяди. Натижада ҳар қандай импулслар КТ мускулларни кучли қисқартиради.	О-, К-, Н-антигенларига эга. 10 та серологик варианти 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 Даволаш ва профилактик аси Вакциналар: АКДС ва АДС-М Даволаш-антитоксик қон зардоби, отларни эмлаб олинади.

Газли гангрена ва қоқшолда қўлланиладиган экспресс диагностик усуллар.

1. Лецитиназани аниқлаш. Ажратиб олинган культура таркибидаги *Cl.perfringens* альфа токсинини тезда аниқлаш учун унинг лецитиназа активлигитекширилади.

2. Биохимик ва молекуляр - биологик текширув. Бунинг учун текширилаётган материал газли гангрена ёки қоқшолга шубҳа қилинганда, қўзғатувчиларнинг ДНК молекуласини полемераза занжирли реакция орқали аниқлаш мумкин. Агар қўзғатувчиларнинг ДНК молекуласи топилса газли гангрена ёки қоқшолга олдиндан ташхис қўйилади.

3. Газоли-суюқли хроматография (газожиткостной) усули. Беморнинг патологик материаллардан клостридияларнинг махсус метоболитлари, қисқа занжирли парланувчи, парланмайдиган ёғ кислоталари,спиртлани аниқлашга асосланган..

Профилактика ва даволаш препаратлари

Антитоксинли зардоблар — антиперфрингенс, антинови, антисептикум ва бошқ. Булар суюқ 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 васпецифик даволашда қўлланилади.

Адсорбция (шимдирилган) қилинган қоқшол анатоксини. Қоқшол токсинини формалин билан зарарсизлантириш, сўнгра тозалаш,концентрациялаш ва алюминий гидрат оксидига шимдириш йўли биланолинган.Ассоциациялашган (бирлаштирилган) кўкйўтал-бўғма-қоқшол вакцинасива бошқа препаратлар таркибига киради. Қоқшолга қарши актив эмлаш учунқўлланилади.

Қоқшолга қарши зардоб, қоқшол токсини билан гипериммунизацияқилинган отлар қонидан олинган. Диаферм-3 усули билан тозаланган ваконцентрацияланган. Активлиги халқаро бирлик билан белгиланади. Қоқшолпрофилактикаси ва даволашда қўлланилади.

Қоқшолга қарши одам иммунглобулини, тозаланган, адсорбцияланганқоқшол анатоксини билан қайта эмланган донор — кишилар қон зардобининггамма-глобулин фракциясидан олинган.

Тери қаватлари шикастлангандақоқшолга қарши зудлик билан иммунитет ҳосил қилишда ишлатилади.Қоқшол анатоксини билан биргаликда касалликнинг бошланиш давридадаволаш учун ҳам қўлланади.

15 БОБ. ҲАВО-ТОМЧИ ИНФЕКЦИЯЛАРИ: ПНЕВМОКОКК, МЕНИНГОКОКК,КЛЕБСИЕЛЛА, ЛЕГИОНЕЛЛАЛАР МИКРОБИОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

Ҳаво томчи инфекцияларининг қўзғатувчилари.Ҳаво-томчи йўли билан тарқалувчи инфекция қўзғатувчиларигабактериялар, риккетсиялар, хламидиялар, микоплазмалар ва вируслар киради.Бу қўзғатувчиларни одамларга асосан юқиши юқори нафас йўллари орқаликечади (45-жадвал). Лекин, уларни кўпчилиги фақат ҳаво йўли орқалиюқмасдан, балки контакт ва маиший рўзғор буюмлари, болаларўйинчоқлариорқали ҳам юқиши мумкин (*Corynebacteriuni diphtheria, Mycobacteriumtuberculosis* ва бошқ.)

15,1-жадвал

Ҳаво томчи инфекцияларининг қўзғатувчи микроорганизмлар

Касаллик қўзғатувчилари	Келтириб чиқарган касалликлари
Бактериялар	
Str. pneumouiae	Зотилжам, юқори нафас йўллари касалликлар
Klebsiella pneumoniae	Зотилжам, юқори нафас йўллари касалликлар
Bordetella pertussis	Кўк йўтал
Bordetella parapertussis	Кўк йўтал
Corynebacteriuni diphtheria	Юқори нафас йўллари касалликлар, бўғма
Mycobacterium tuberculosis	Ўпка сили
Neisseria meningitidis	Юқори нафас йўллари касалликлар, назофарингит
Actinomyces bovis	Ўпка актиномикози
Риккетсиялар ва хламидиялар	
Coxielle burnetii	
Clilamidia psittaci	15% ҳолларда зотилжам
	Зотилжам
Микоплазмалар	
Mycoplasma pneumoniae	Зотилжам
Вируслар	
Грипп вируслари	Грипп касаллигини келтириб чиқаради
Парагрипп вируслари	ЎНК (ўткир нафас йўллари касалликлар)
Чин чечак, сув чечак вируси	Чечак ва сув чечак касалликларини
Қизамиқ вируси	Қизамиқ касаллигини
Паратит вируси	Тепки касаллигини
Аденовируслар	ЎНК, зотилжам, ўрта қулоқни яллиғланиши.
Риновируслар	Ренит, бронхит ва ЎНК

Юқорида келтирилган микроорганизмлар турли оила, зот ва турларгакиради. Улар бир-бирларидан морфологик, ўсиши, биокимёвий хусусиятлари, антиген тузилиши билан алоҳида фарқланади. Уларнинг кўпчилиги (*Str. pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, Chlamidiapsittaci, Mycoplasma pneumoniae*), асосан пневмонияни; бошқалари эса(*Mycobacteriumtuberculosis, Bordetellapertussis*) юқори нафас йуллариинфекциялари билан бир қаторда бошқа органларда ҳам касалликлар чақиради

Турли микроорганизмлар томонидан қўзғатилган юқори нафас йўлиинфекцияларинint клиник белгиларига кўра, уларга ўткир нафас йуликасаллиги ёки зотилжам деб диагноз қўйилади. Уларнинг қўзғатувчилариниэса, микробиологик текширувлар ёрдамидагина аниқлаш мумкин.

Биз бу бўлимда бактериал ҳаво йўли инфекциялари қўзғатувчилари билантанишиб чиқамиз.

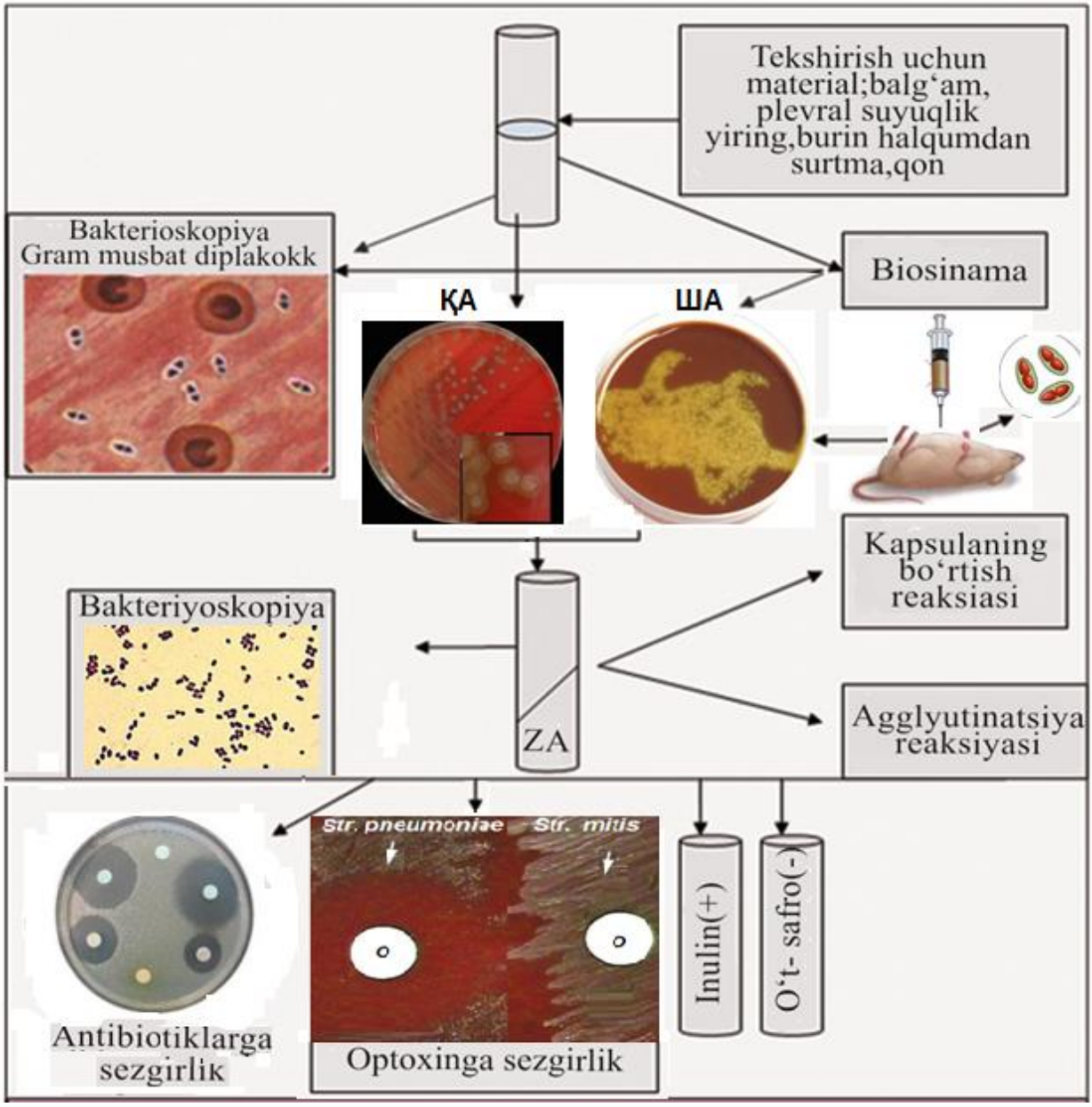
15.1. Пневмококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологикдиагностикаси

Таксономияси. Пневмококклар *Streptococcaceae* оиласига , *Streptococcus* авлодига ва бу авлодга *Str.pneumoniae* киритилган.Пневмококклар одамларда оғир турдагизотилжам ҳамда кўзнинг шох пардасида тарқалувчи яра, баъзи ҳолларда эса,сепсис ва йирингли яллиғланиш жараёнларини (отит, ринит, менингит вабошқалар) ҳам қўзғатади. Касаллик манбаси касал одам ва ташиб юрувчилар(20-50% мактабгача ёшдаги болалар ва 20-25% катталар). Кўпроқ касалликорганизмни резистентлиги пасайиб кетганда (қанд касаллиги, ОИДВ ва бошқ.)кузатилади. *Str.pneumoniae* капсула антигени бўйича 84 сероварларгабўлинади. 1, 2 ва 3 типлари одамда касаллик келтириб чиқаради.Текшириш учун материал: балғам, йиринг, плевра суюқлиги, қон ва бошқалар(4-схема) бўлиши мумкин.

Текшириш усуллари:1.Микроскопик. 2.Биологик. 3. Бактериологик. 4. Серологик.

1-кун. Балғам стерил Петри косачасига қуйилади ва йирингли тугунчалардан олиниб буюм ойнасига қўйилади иккинчи буюм ойначасибилан эзғилаб суртма тайёрланади ва қуритилиб, қотирилиб Грам ва Гинсусулларида бўялади. Микроскопда кўрилади. Агар суртмада граммусбатланцетсимон капсулали диплококклар топилса (4-схема) дастлабки диагнозқўйиш имконини беради. Текшириш учун олинган материални қонли вазардобли агарларга экилади. Қолган тампондаги материални қандлибульонга солиб қўйилади. Экилган экмалар термостатга 37° С 18-20 соатгақўйилади. Кўпчилик ҳолларда материалдаги бошқа микроорганизмларпневмококкларни суъний озиқ муҳитларда кўпайишига таъсир кўрсатади.Шунинг учун пневмококкларни ажратиб олишда биологик синамақўйилади.

Пневмококклар оқ сичқон организмида жуда тез кўпаяди.



15.1-схема. Пневмококклар келтириб чиқарган инфекциялар микробиологик текширув усуллари

Биосинама қўйиш техникаси. Озроқ балғам (3-5 мл) стерил бульон билан эритилади вашу 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 озиқ муҳитларга экилади ва экмалар темостатга 37°С 18-20 соатга қўйилади.

2-кун. Экмалар термостатдан олиниб кўрилади. Пневмококклар ҚА да майда,нозик, бироз кўкимтир рангдаги α -гемолиз ҳалқа билан

ўралган колонияларҳосил бўлади. Морфологик ва тинкториал хусусиятларини ўрганиш учунэса, шубҳали колониядан суртма тайёрланади, сўнгра соф культура ажратишмақсадида қиялантирилган қонли агарга ёки зардобли бульонга экилади ваэкмалар темостатга 37°С 18-20 соатга қўйилади. Биринчи куни бульонгасолиб қўйилган тампондан суртма тайёрланади, Грам усулида бўяб кўрилади.

3-кун. Экмалар кўздан кечирилади ва культурани софлиги аниқланади – суртматайёрланиб, Грам усулида бўяб, микроскопда кўрилади ланцетсимондиплококклар топилса қуйидаги хусусиятлари бўйича озиқ муҳитларга экилиб, идентификация қилинади:

1. Инулинли муҳитга;
2. Ўт сафроли муҳитга;
3. Оптохинга сезгирлигини аниқлаш;
4. Капсулани бўртиш реакцияси.

Инулин синамасини қўйиш. Текширнилаётган культура инулинқўшилган лакмус настойкали муҳитга экилади ва термостатга қўйилади. 18-20соатдан кейин пневмококк бўлса муҳит қизаради (бошқа стрептококклармуҳит рангини ўзгартирмайди).

Оптохинга сезгирлигини аниқлаш. Текширилаётган культура 10% қонлиагарга газон усулида экилади ва экма юзасига оптохин шимдирилган дискқўйилади. Бошқа стрептококклардан фарқлироқ пневмококк оптохинга сезгирбўлади (4-схема).

Ўт сафрога сезгирлигини аниқлаш. Иккита агглютинация учунмўлжалланган пробиркаларга 1 мл дан текирилаётган бульонли культураданолинади. Биринчи пробиркага қуённи ўт сафроси (40%) бир неча томчитомизилади, иккинчи пробирка контрол бўлади. Экмалар термостатгақўйилади. 18-20 соатдан кейин биринчи пробиркадаги лойқа бульон (ўт сафропневмококларни эритиб юборади) тиниқлашиб қолади, контролда ўзгаришкузатилмайди.

15,2-жадвал

Str. pneumoniae ва бошқа пиоген стрептококларнинг дифференциал белгилари.

Гемолиз характери	Гемолиз характери	Инулинни парчалаши	40% ўт сафро эритмасида эриши	Оптохинга сезгирлиги
Str. pneumoniae	α	+	+	+
Str. pyogenes ва бошқ.	β ва α	—	—	—

Тез диагноз қўйиш усуллари. Бунинг учун биосинамадан(оқ сичқонниқорин бўшлигидан олинган экссудат) фойдаланилади.Нейфельд бўйича капсулани бўртиш реакцияси. Буюм ойнасига 3 томчиэкссудат олинади. Ҳар бир томчига пневмококка қарши анти қон зардобқўшилади: биринчи томчига I типи, иккинчисига II чи ва учунчисига III типи.Шундан кейин ҳар бир аралашмага бир томчидан метилен кўки қўшилади ваяхшилаб қовузлоқ билан аралаштириб,сўнг ҳар бир аралашма алоҳида ёпқичойна билан ёпилиб, микроскопда иммерсион системада кўрилади. Мусбатреакцияда пневмококк типига мос келган эзилган томчи препаратдапневмококкнинг капсуласини бўртганлиги (набухания) кўринади.

Микроагглютинация реакциясини қўйиш. Пневмококк типинимикроагглютинация реакцияси орқали ҳам аниқлаш мумкин. Буюм ойнасига 4томчи экссудат олинади. Ҳар бир томчига пневмококка қарши агглютинациягаучратувчи қон зардоб қўшилади: биринчи томчига I типи, иккинчисига II чи ваучунчисига III типи, 4 томчи контрол бўлади. I ва II тип қон зардоблари 1:10 ваIII типи эса 1:5 нисбатда олдиндан суюлтирилган бўлиши керак. Мусбатреакцияда пневмококк типига мос келган аралашмада агглютинация реакциясикузатилади. Ажратиб олинган культура антибиотикларга сезгирлиги аниқланади.

4-кун.*Str. pneumoniae* нинг якунловчи ташхиси морфологик, культурал (характерли гемолиз ҳосил қилиши), биокимёвий хусусияти (инулинни парчалаши, 40% ўт-сафроэритмасида лизисга учраши, оптохингасезгирлиги, антибиотикограммаси ва бошқа хусусиятларига асосланиб, якуний жавоб берилади.

Пневмококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг профилактикаси. Пневмококк юқумли касалликларининг олдини олишда қуйидаги вакцина препаратлари қўлланилади:

- 2 ойдан 5 ёшгача бўлган болаларга коньюгация қилинган пневмококквакцинаси;
- 5 ёшдан юқори ва катталарга (иммунтанқислик билан оғриганларга) полисахаридли пневмакокк вакцинаси;
- Пневмо-23 Францияда чиқарилган (кўп учрайдиган 23 сероварига қарши).
- Превентар 13коньюгация ва адсорбция қилинган пневмококкни полисахарид вакцинаси (13 валентли).

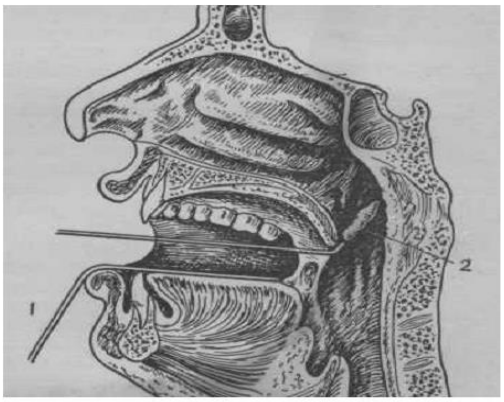
15.2.Менингококклар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологикдиагностикаси

Менингококк инфекциясининг қўзғатувчиси (цереброспинал менингит,назофарингит, менингококкемия) - *Neisseria meningitidis*, *Neisseria* авлодига*Neisseriaceae* оиласига киради. Ушбу инфекцияларнинг лаборатория диагностикасида асосан бактериологик усулдан фойдаланилади, чунки бактериоскопияусулида менингококкларни ажратиб бўлмайди. Касалликнинг экспрессдиагностикасида иммунфлюоресцент усул қўлланилади. Менингококкларнингтабиий манбаси одамнинг бурун ҳалқуми ҳисобланади. Менингококкларполисахарид капсула антигени бўйича 13 серогуруҳларга бўлинади, булардан Асерогруппаси эпидемия кўринишида касаллик чақиради, В ва С типлариспорадик касаллик келтириб чиқаради.

Микробиологик усул

Эпидемик цереброспинал менингитда бемор ва бактерия ташувчиларҳалқумидан, орқа мия суюқлигидан менингококклар топилади.

Олинган материални лабораторияга юборишда уни совуқдан ва қуришдан сақлаш лозим, чунки менингококклар буомиллар таъсирига ниҳоятда чидамсиз.



Расм 74. Бурин ҳалқумдан менингит ва кўк йўтал касалликларида патологик материални олиш усули. 1- шпател; 2- материал олиш учун тампон

Бемордан ликворни орқа мия каналиданасептика қоидаларига амал қилиниб, пункция қилиш йўли билан 2-5 млмиқдорда олинади ва 2 қисмга бўлинади;бир қисми центрифуга қилинади ва ҳосил бўлган чўкма бактериоскопиктекширилади, иккинчи қисмига эса ярим суюқ ҳолатдаги озиқли муҳитқўшилиб, 37°С да микробларни кўпайтириш учун термостатга қўйилади.

Бактерия ташувчиларниинг ҳалқумидан текшириш учун материал махсустампон (унинг 3/4 қисми 45° гача букилади) ёрдамида ҳалқумнинг юқориқисмидан (74-расм) олинади. Бунинг учун стерил шпателни чап қўлга олиб, тилни илдизи томонга босиш зарур, ўнг қўлдаги стерил тампонни эгилган қисмиюқорига қилиниб, юмшоқ

танглай ости билан бурун ҳалқумга киритилади ваенгил ҳаракат билан шиллиқ олинади.

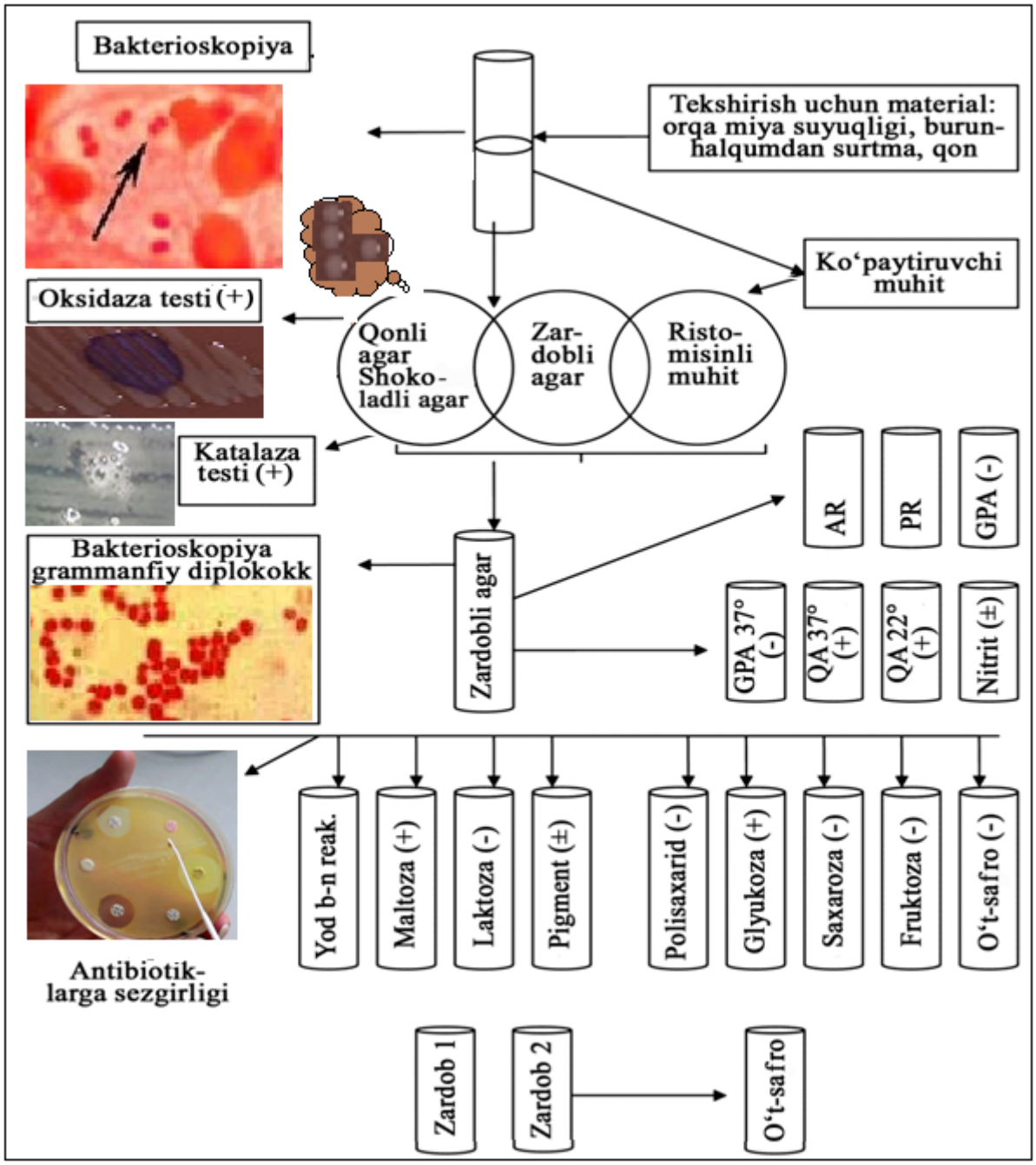
Текшириш усуллари :

1. Микроскопик. 2. Биологик.5. Бактериологик. 4. Серологик.

1 –кун. Бактериоскопик текширув (5-схема). Ликвор чўкмасидантайёрланган суртмалар Грам усулида ёки метилен кўки билан бўялиб, микроскоп остида кўрилади. Кўпинча йиринг бўлган характерли ҳолатдалейкоцитлар ичида жойлашган ҳақиқий грамманфий диплококкларнингкўриниши менингококк инфекцияси ҳақида даслабки хулоса чиқаришимконини беради.

Бактерия ташувчиларниг ҳалқумидан олинган материалдан суртмалартайёрлаб кўрилганда менингококклар билан бир қаторда граммусбатстафилококклар ва стрептококкларни ҳамда патоген бўлмаган нейссериялар - бранхамеллалар ва бошқа бактерияларни ҳам учратиш мумкин. Уларнисуртмадаги морфологик хусусиятларига кўра дифференциация қилиббўлмайди.

Бактериологик текширув менингококкларнинг ўсишига имкон берувчи,таркибида қон, қон зардоби ёки асцит суюқликлари бўлган озиқли агаргатекшириладиган материал қовузлоқ ёрдамида Петри косачаларига экилади.Бундан ташқари, таркибига текширилувчи материалдаги граммусбаткокларнинг ўсишини тўхтатувчи ва шу билан бирга менингококларнинг софкультурасини ажратиб олиш имконини берувчи, ристомицин антибиотиги(150 ТБ/мл) қўшилган муҳит ҳам қўлланади.Текширилувчи материал экилиб, сўнгра бу муҳитлар 48 соат давомида37°С да термостатда сақланади.



15.2- схема. Meningokokklar keltirib chiqargan infeksiyalarni mikrobiologik tekshirish usullari

2-кун. Менингококк колониялари 48 соатдан сўнг ҳосил бўлади. Бошқакокклар колониясидан менингококк колониялари тиниқ, кўкимтир ялтироқ,четлари текис, катталиги тўғноғич бошчасидек бўлиши билан фарқланади.Шоколод агарида менингококк колониялари кулранг бўлиб дала сичқонирангини эслатади. Менингококк колонияларини ўрганиш билан бир қатордаоксидазааниқланади.

Колонияларйиғилибқолганжойгабиртомчидиметилпарафенилдиаминт

омизилади. Агароксидазамусбатбўлсаколонияпуштирангакиради. Бунингучундиметил-парафенилдиаминшимдирилганқоғоздискларҳамишлатилишимумкин.

15,3-жадвал

Бактериал менингит келтириб чиқарувчи қўзғатувчиларни текширишнинг 24 соатидан кейинги биологик хусусиятлари

Шубҳаланган микроорганизмлар	Муҳитларда ўсиши		Морфологияси	ША да колониялар атрофини ўзгариши	Колонияларни 3% КОН билан ишлов бериш*	Грам усулида бўяш	Ферментацияси		
	ЗА	ША					Оксидаза	Каталаза	Уреаза
N. meningitidis	+	+	Капсулали полиморф диплококк	–	+	–	+	+	–
H. infuenzae	–	+	Майда полиморф таёқча	–	+	–	–	+	+
Str.pneumoniae	+	+	Капсулали ланцетсимон диплококк	Яшил сариқ	–	+	–	–	–
Str.veridans	+	+	Занжирсимон кокклар	Яшил	–	+	–	–	–
Listria monocytogens	+	+	Қатор ёки бурчак ҳосил қилиб жойлашган майда таёқча	Яшилсимон жигар ранг	–	+	–	+	–

Эслатма: ЗА-зардобли агар; ША- шоколод агар; *- 3% КОН эритмасидан бир томчиолиниб, устига қовузлоқ билан микроб колонияси аралаштирилади, агар ҳосил бўлганмасса қовузлоқ билан олганда чўзилиб чиқса грамманфий бактериялар борлигидан дарак беради. Граммусбат бактериялар бўлиниб – бўлиниб кетган масса ҳосил қилади.

Ўрганилган колониялардан соф культура ажратиб олиш учунқиялантирилган зардобли агарга экилади.

3-кун. Ажратиб олинган софкультура идентификацияси бурун ҳалқумда яшайдиган сапрофит нейссериялардан ва менингит касаллигини келтириб чиқарувчи бошқа бактериялардан дифференциация қилиш ва уларнинг қатор белгилари асосида ўтказилади(5-схемада ва 15,3-жадвал кўрсатилган хусусиятлар бўйича ўрганилади). Жумладан менингококк фақатгина табиий оқсил қўшилган муҳитдагина ўсади, бошқа нейссериялар эса оддий муҳитларда ўсиб, пигмент ҳосил қиладилар; қонзардоби қўшилган

Гисс муҳитида эса, менингококклар глюкозавамальтозаларни кислота ҳосил қилиб парчалайди. Шу билан бир қаторда ажратиб олинган соф культурани антибиотикларга сезгирлиги ҳам ўрганилади. Менингококкларни бошқа ўхшаш кокклардан фарқлари 15,3-жадвал да келтирилган.

4- кун.Юқорида келтирилган хусусиятлари ва серологик реакция (ПГАР)асосида ва антибиотикларга сезгирлик натижалари ўрганилиб якуний хулоса берилади.

Менингококк юқумли касалликлар профилактикасида умумий санитар-гигиеник тадбирлар ўтказилади. Гамма-глобулин (3 мл) таклиф қилинади. Актив иммунитетни ҳосил қилиш учун кўплаб вакциналар таклиф қилинган, булардан энг яхши натижа полисахаридли дивакцина (В ва С группалар ва А ва С группалар) қўлланилганда кузатилган. Асосан менингококк вакцинаси эпидемиологик кўрсатма асосида маълум регионларда қўлланилади. Режали вакцинация қўлланилмайди.

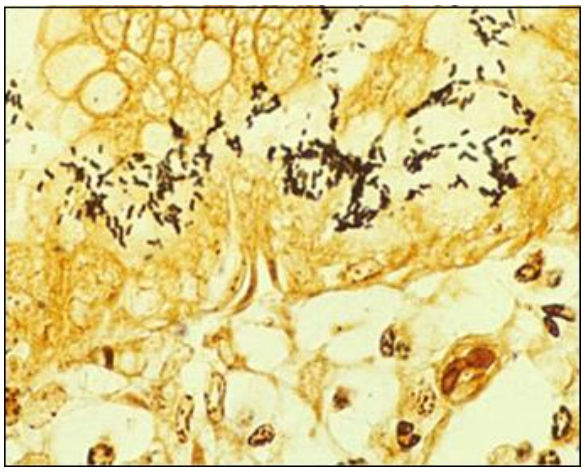
15.3. Легионеллалар келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси

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 эса100 спорадик ҳолат, йилда кузатилади. Легионеллаларни бундай каманиқланишига асосий сабаб, кўпчилик олимларни фикрича, легионеллалардиагностикасини мураккаблиги ва лабораторияларни замонавийтаъминланмагани ҳисобланади.

Легионеллалар бошқа бактериялардан қуйидаги хусусиятлари билан фарққилади:

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).



15.3-расм. *Legionella pneumophila* макрофаглар цитоплазмасида

Микробиологик усул асосан бактериологик ва серологик

усулларни ўзичига олади.Легионеллаларни клиник материалданбалғам ва қондан ажратиб олиш амалийжиҳатдан мумкин эмас.

Кўпроқ қўзғатувчибиоптатларда
ёки ўликдан ўпка,талоқ, жигарда)
топиш мумкин (15.1-расм).Текширилувчи материал транспорт қилинувчимуҳитларда (буферли, физиологик)ташилмайди.Олинган материал 1 соат ичида озиқ муҳитларга экилишизарур.

Патологик материалдаги бошқа микроблар контаминациясини ҳисобгаолиб, ўстиришда полимиксин ёки ванкомицин қўшилган ачитқи замбуруғиэкстракти, цистеин, темир пирофосфат тутувчи кўмирли агар қўлланилади.

Бундан ташқари биосинамада денгиз чўчқачасига юқтириш ва босқичли софкультурасини ажратиб олиш ҳам мумкин. Охирги йилларда легионеллаларниажратиб олишда товуқ эмбриони ва амёбалардан фойдаланилмоқда.Легионеллаларни диагностикаси схемада келтирилган (схема 6).

Легионеллаларни озиқли муҳитларда 3-5 кунлари ўсиб чиқади. Колониялар 3-4 мм диаметрда, текис қиррали, юзаси силлиқ, ранги кул рангшишасимон. Суюқ муҳитларда ўсмайди.Бактериоскопик усулда озиқмуҳитда ўсган колонияларидан суртма тайёрланиб Грам усулида бўябкўрилади, суртмада грамманфий майда, бетартиб жойлашган таёқчаларучрайди. Ҳаракатчан, спора ва капсула ҳосил қилмайди. Легионеллаларни туричида идентификация қилиш уларни узун тўлқинли (360нм) УФ нурлатишдафлюоресцент нур тарқатишига асосланган.

15,4-жадвал

Легионеллаларнинг биохимик белгилари

Белгилари	Legionella pneumoniae	Legionella bozemanii	Legionella micdadei	Legionella dumoffii	Legionella gormanii
Na гиппурат гидролиз қилиши	+	–	–	–	–
Оксидаза	+	–	+	–	–
Каталаза	+	+	+	+	+
Желатина емириши	+	+	+	+	+
β- лактамаза	+	+	–	+	+
$NO_3 \rightarrow NO_2$	–	–	–	–	?
Уриаза	–	–	–	–	–
Крахмални парчалаши	+	+	+	+	?

Экспресс- диагностикада текширилаётган патологик материалдагилегионеллалар АГ ни ДНК гибридизация усулида ёки легионеллаларни эрувчан АГни сийдикдан топишда иммунофлюоресценция усулидан фойдаланиш экспресс-диагностикада текширилаётган патологик материалдаги легионеллалар АГ ни ДНК гибридизация усулида ёкилегионеллаларни эрувчан АГ ни сийдикдан топишда иммунофлюоресценцияусулидан фойдаланиш мумкин.

Бемор қонидан АТ аниқлаш (АТ 2-3 ҳафтасида пайдо бўлади) ПГАР, КБР,ИФУ ва коагглютинация реакцияси билан кўпроқ эпидемиологик аҳамиятга эга.

Юқорида келтирилган хусусиятлари ва серологик реакция (ПГАР, КБР, ИФУ) асосидаякуний диагноз қўйилади.

15.4.Клебсиеллалар нафас йўлларида келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик диагностикаси

Клебсиеллалар *Enterobacteriaceae* оиласига ва *Klebsiella* авлодига киради.Юқори нафас йўлини шикастловчи клебсиеллаларга *Klebsiella pneumoniae*зотилжам қўзғатувчиси, *K.ozaenae* қўланса ҳидли тумов ёки озенакасаллигининг қўзғатувчиси ва *K.rinoscleromatis* — риносклерома ёки склерома қўзғатувчилари киради.

Услубий кўрсатмалар

Бактериоскопик текширув.**Биринчи кун**. Бирламчи бактериоскопик усул учун суртмалар балғам,бурундан шиллиқ олинади Грам ва Бурри-Гинс усуллари бўйича бўялади. Суртмаларда грамманфий, капсулали бактерияларнинг аниқланиши (7-схемагақаралсин) дастлабки диагноз қўйиш имконини беради. Склеромалардабурундан олинган гранулематоз тўқималар гистологик тарзда текширилгандатаркибида клебсиеллалар тутган ўзига хос жуда катта Микулич ҳужайраларборлиги аниқланади.

Бактериологик текширув. Бегона микрофлораларниг ўсишини тўхтатишучун, таркибига пенициллин қўшилган озиқли агар ёки лактоза ва бромтимолкўки солинган дифференциал-диагностик муҳитларга (Эндо, Плоскирев)материал экилади ва термостатга 18-24 соатга 37°С қўйилади. Озиқ муҳитдаклебсиеллалар ялтироқ бўртган, шиллиқ колониялар ҳосил қилади(15,5- схема).

Жадвал 49.

Клебсиеллаларни бир-бирларидан идентификация қилиниши

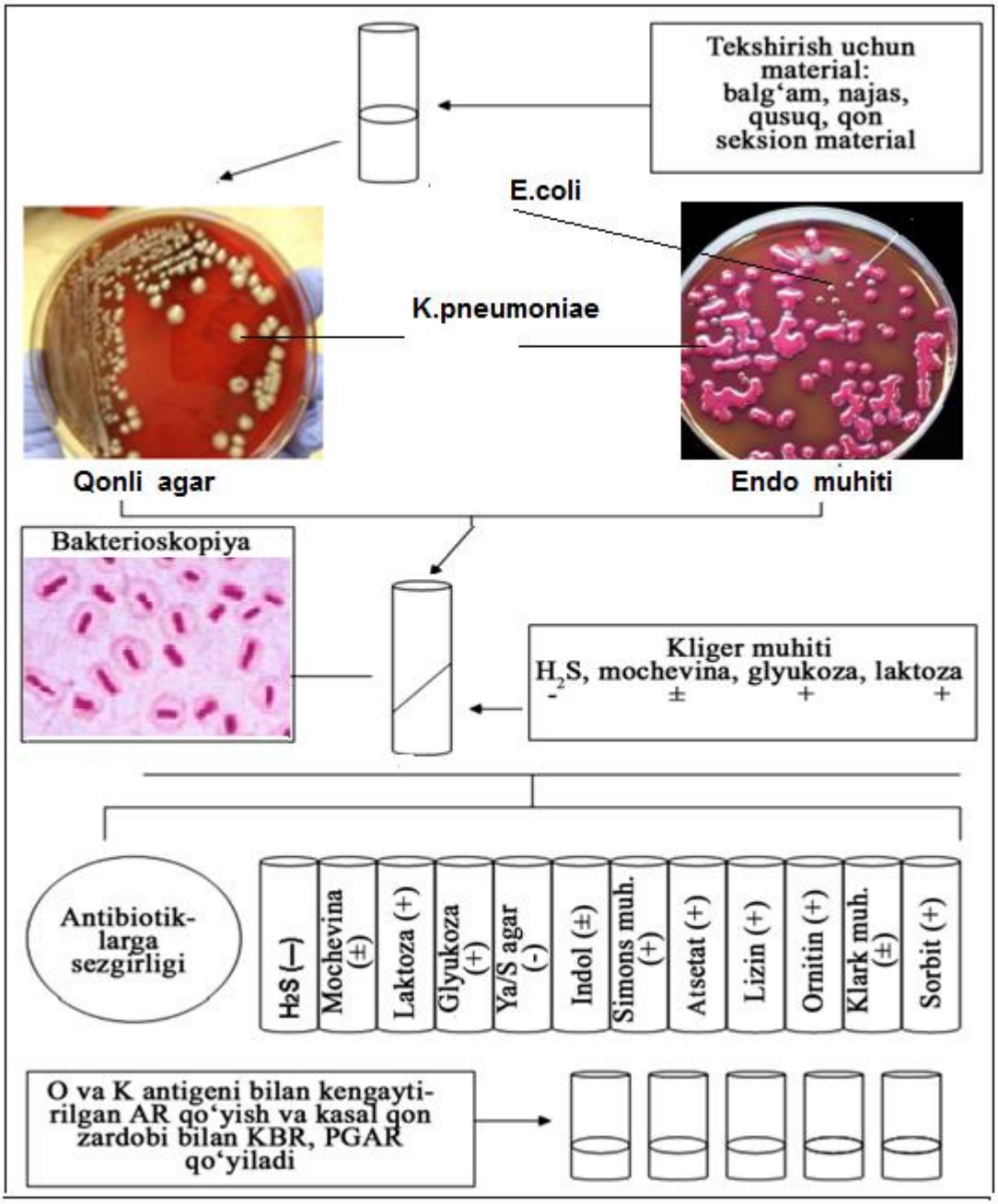
Белгилари	K. pneumoniae	K. ozaenae	K. rinoscleromatis
Глюкозани парчалаши	КГ	Х	—
Лактозани парчалаши	К	(+)	—
Дульцитни парчалаши	Х	—	—
Фогес Проскауэр реакцияси	+	—	—
Цитратни ўзлаштириши	+	Х	—
Мочевинани парчалаши	+	Х	—
Лизиндекарбоксилаза ҳосил қилиши	+	Х	—
Метил қизил билан қўйилган реакция	—	+	+
Малонатни ўзлаштириши	+	—	+

Шартли белгилар: КГ- кислота газ ферментацияда ҳосил қилиши; К-кислота ҳосил қилиб парчалаши; (+)- суст Ферментация; Х- баъзи штаммлари;

Дифференциал бромтимолли муҳитда лактозани парчаламайдиган,склерома ва озена клебсиеллалари муҳит рангига хос ҳаво рангга,бромкрезолли муҳитда эса — бинафша рангга колониялари бўялади.*Klebsiella pneumoniae* лактоза мусбат бўлганлиги сабабли сариқ рангдагиколонияларни ҳосил қилади. Эндо муҳитида эса юқоридаги турлари оч пушти,*Klebsiella pneumoniae* эса қизил колониялар ҳосил қилади.

2-куни шубҳали колониялардан суртма тайёрланади, Грам, Бурри-Гинсусуллари бўйича бўялади ва соф культурани ажратиб олиш учунқиялантирилган агарга ва Клигер муҳитига эса бир неча колониялар олибэкилади. Қиялантирилган Клигер муҳитига олдин қовузлоқ билан укол қилиб,кейин штрих қилиб экилади.

3-куни уларнинг агар ва Клигер муҳитидаги ўсиш характери ўрганилади.Лактоза манфий бактериялар муҳит устунчасини сариқ рангга, лактозапозитивлари эса - бутун муҳитни сариқ рангга бўяйди ва кўпинча глюкозапарчаланиши сабабли газ ҳосил бўлиши натижасида муҳитни ёриб юборади.



15.3-схема. Клебсиеллалар юқори нафас йўлларида келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик текшириш усули

Ажратиб олинган культурани идентификация қилишда, уларнинг капсулаҳосил қилиши, ҳаракатсизлиги ва бошқа белгилари ҳисобга олинади (49-жадвал).Ажратилган культуранинг сероварини аниқлаш учун эса, агглютинацияреакцияси ёки типга хос капсулага қарши зардоб ёрдамидаиммунофлюоресценция усули қўлланилади.Клебсиеллаларсоф культурасини антибиотикларга сезгирлиги қоғозли диск усулда қўйилади.

4 кун. Юқорида келтирилган морфотинкториал, культурал, биокимёвий ва антигенхусусиятлари ва антибиотикларга сезгирлик натижалари ўрганилиб якуний хулоса берилади.

Серодиагностика. Беморлар зардоби билан кенгайтирилган агглютинация, комплементни боғлаш ёкипассив гемагглютинация рекцияси қўйилади. Яхши натижани клебсиеллалар диагностикуми билан пассив гемагглютинация рекцияси беради. Реакция учун бемор қон зардоби полистрирол планшетларда 1:20 дан 1:360 гача суюлтирилади ва уларга 1% сенсибилизация қилинган эритроцитдиагностикум 0,25 мл қўшилади ва 2 соат 37°С. Инкубация қилинади.Реакциянинг диагностик титри 1:160 ва ундан юқори ҳисобланади.

15.5. Бўғма (дифтерия), қўзғатувчисининг микробиологикдиагностикаси

Бўғма (дифтерия) қўзғатувчиси — *Corynebacterium diphtheriae Actinomycetales* тартибига алоқадор бўлиб, бирор-бир оилага кирмайдиган*Corynebacterium* авлодига киради.

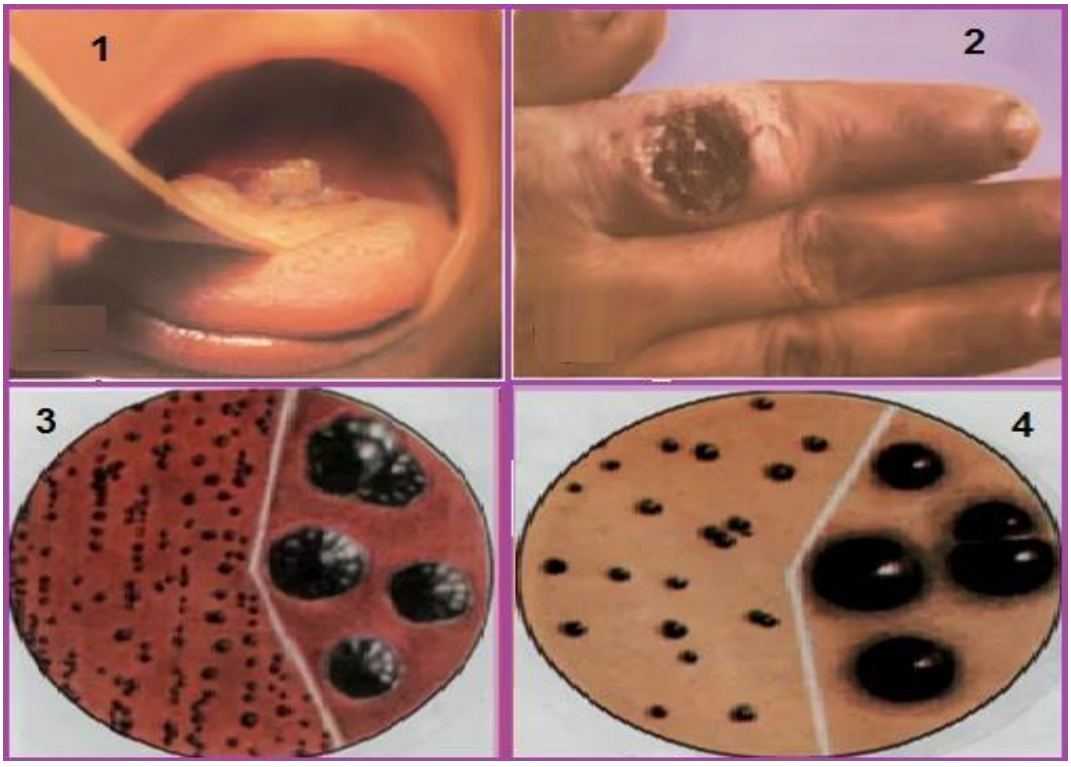
Дифтерия таёқчаларидан ташқари, бу зотга нормал микрофлора вакилларидан бўлган псевдодифтерия таёқчаси *C. xerosis* ҳамда дифтероидлар— *C.pseudodiphtheriticum* ва бошқалар киради.

Коринебактериялар учунумумий белгиларга киради: шаклининг полиморфлиги; спора ҳосилқилмаслиги; кислород бўлганда яхши ўсиши; хивчинларининг йўқлиги.Дифтерия қўзғатувчисининг асосий биологик белгиларидан бири, унингкасаллик патогенезини белгиловчи токсин ишлаб чиқариш хусусиятидир, бухусусият билан бошқа дифтериодлардан фарқланади. Касалликда маҳаллий патологик жараён одатда томоқда жойлашади, бўғма қўзғатувчиси терида, кўзда, жинсий органларда ҳам дифтерия касалликни келтириб чиқариши мумкин (76-расм). Лаборатория диагностикаси бактериоскопик вабактериологик текширувлар бўйича олиб борилади.

Услубий курсатмалар. Дифтерияда текшириш учун материал олганимизда қўзғатувчини қайсиорганларда жараённи келтириб чиқаришига боғлиқ. Шу билан бир қатордатомоқ дифтерияси энг кўп учрайди. Текшириш учун материал 2 та стерилпахтали тампон билан олиниб, биридан суртма тайёрлаш, иккинчисидан экишучун

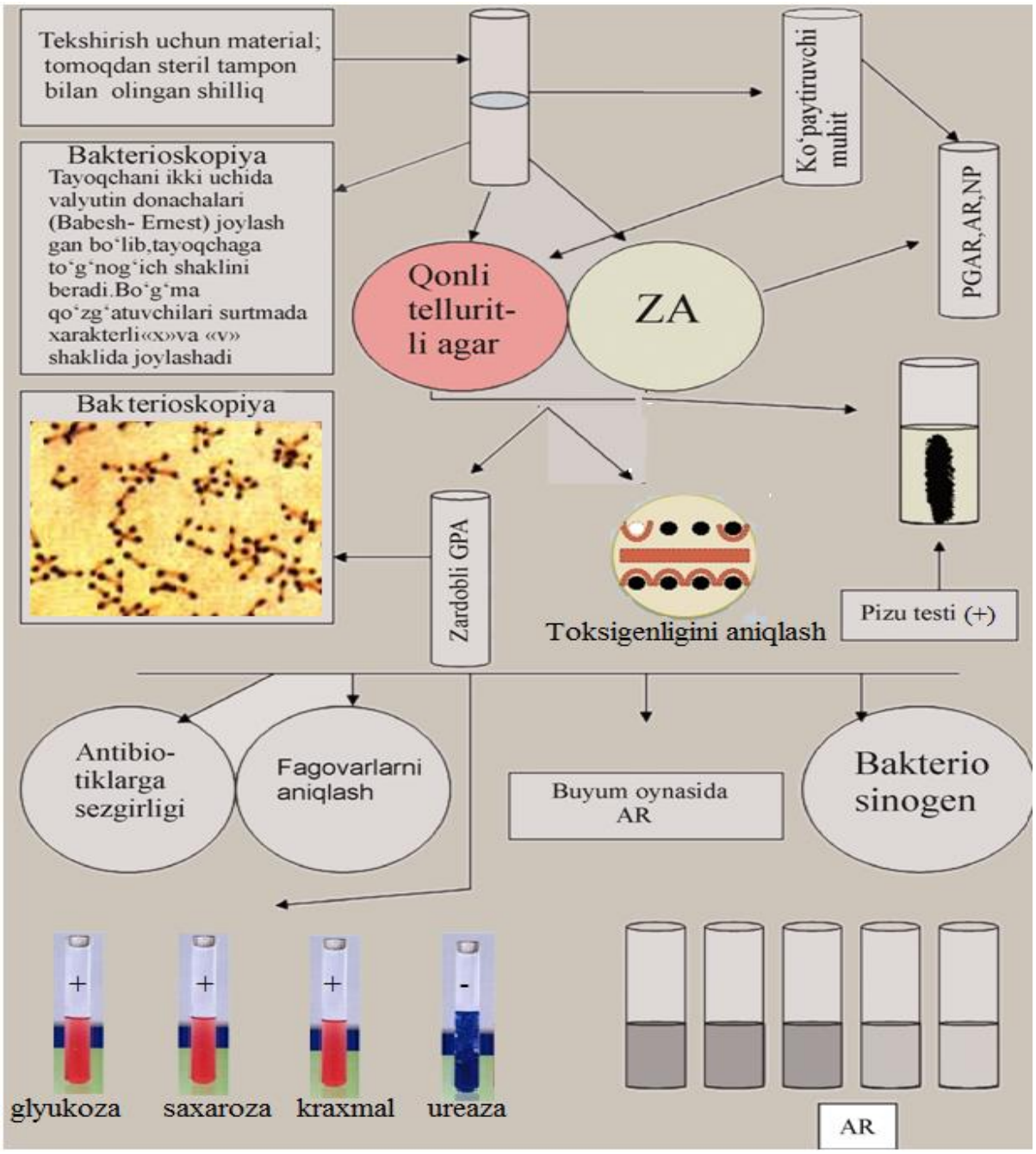
фойдаланилади. Материал овқатланмасдан олдин ёки овқатланганданкейин 2 соат ўтказилиб олинади. Антибиотиклар билан даволанмасдан туриболинса ажратиб олиш фоизи юқори бўлади. Олинган материал 2 соат ичидалабораторияга етказилиши ва экилиши керак, агар уни иложи бўлмаса тампон5% глицерин ёки физиологик эритма билан ҳўллаб олинади.

1 –кун. Олинган материал дарҳол биринчи тампон билан буюм ойнасигабир неча суртмалар тайёрланилади, суртмалар қуритилиб, қотирилиб Нейссерва 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 ташқарибўғма қўзғатувчилари суртмада характерли «Х» ва «V» ҳарфи шаклида ёкииероглиф кўринишида жойлашади (7-схема). Шу билан бир қатордабўғма қўзғатувчиси ўта полиморфизм хусусиятига эга. Суртмада типикформалари билан бир қаторда кокксимон, учлари йўғонлашган колбасимон,ипсимон ва шохланган формалари ҳам учрайди.



15.4-расм. Бўғма қўзғатувчисининг клиник ва бактериологик хусусиятлари: 1 Бўғманинг томоқ формаси; 2. Бўғманинг тери некротик формаси; 3.Бўғманинг гравис биовари (чапда, кўриниши марварид гулини эслатади), митис биовари (ўнгда юзаси силиқ,юмалоқ, қирралари текис).

Дифтероид ва псевдодифтерия таёқчаларида волютин доначаларибўлмайди 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 оширишимконини беради. Бунда бўғма таёқчалари псевдодифтерия таёқчалариданулардаги волютин доначаларининг корифосфин-флюророхромбиланбўялгандан сўнг жигарранг қизил рангда нурланишидан фарқлаш мумкин. Бубактерия цитоплазмалари яшил ёки сариқ рангда нурланади. Аммо бўғматаёқчалари ўзининг морфологиясини тез-тез ўзгартириб туради, жумладан,томоқ дифтериясини антибиотиклар билан даволаганда, бу эса касалликка морфологик хусусиятлари бўйича диагноз қўйишни қийинлаштиради. Шунингучун касаллик қўзғатувчисини аниқ, идентификация қилиш мақсадидабактериологик текширув ўтказилади.



15.5-схема.Бўғма қўзғатувчиси келтириб чиқарган инфекцияларнинг микробиологик текшириш усуллари

Бактериологик текширув. Текширилувчи материалдан соф культураажратиб олиш учун материал махсус электив — ивитилган қон зардобли агаргава Клауберг муҳитига (теллурит натрийли озиқли агарга глицерин вафибринсизлантирилган қон қўшилган) экилади (8-схема). Бу муҳитлардакокклар ва томоқда учрайдиган бошқа микрофлораларнинг ўсиши тўхтатилиб,бўғма бактерияларининг

ўсиши учун эса имкон яратилади. Экмалартермостатга 37°С 18-48 соат қўйилади.

2-кун. Бўғма таёқчалари зардоб қўшилган ГПА юмалоқ, майда, марказизичлашган колонияларни ҳосил қилади. Колониялар баравар ўсганда муҳитюзаси сахтиён терисини эслатади. Бу муҳитда ўсган колониялардан суртматайёрланиб Грам, Нейссер усулларида бўялади, суртмада типик бўғматаёқчалари топилади.

Теллуритли муҳитда (бу муҳит бўғмани кўпайишини ҳам секинлаштиради,24 соат ичида колониялари ўсмаслиги мумкин, шунинг учун 48 соатгатермостатда қолдирилади) бўғма бактериялари, теллуритни металтеллуритгача қайтаради ва муҳитда колониялари қора жигарранг бўлишимумкин. Бу муҳитда бўғма қўзғатувчиси культурал хусусияти бўйича 3 биовари тафовут қилинади: *gravis* биовари кулранг қора рангдаги юзасирадиал марказдан периферияга кетган чизиқчали, кўриниши “Маргарит”гулига ўхшаш (R-колония); *mitis* типи эса — майда, юмалоқ, бўртган юзасисиллиқ, қирралари (S-колония); *intermedius* майда, қуруқ, қора кулранг четларинотекис (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 таъсирэтиб, уларни ўзгартириши мумкин.

Соф культурасини ажратиб олиш учунзардоб қўшилган ГПА экилади (зардоб қўшилган муҳитларда қўзғатувчиўзининг морфологик ва бошқа хусусиятларини тиклаб олади) ва термостатгақўйилади.

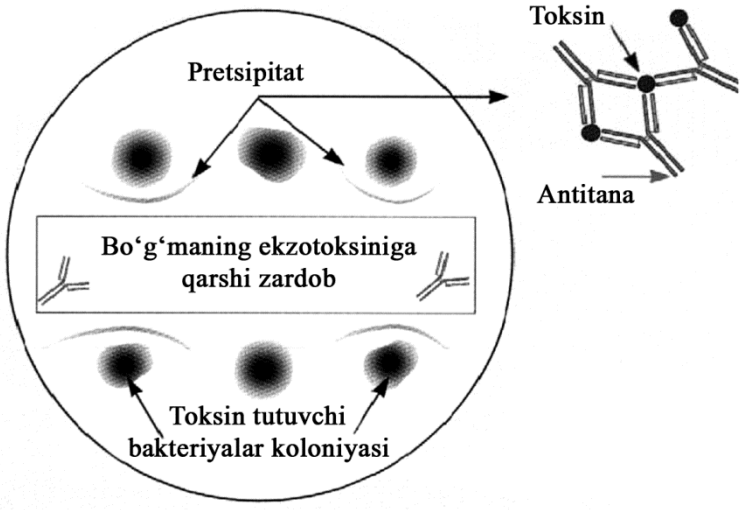
3-кун. Ажратиб олинган культуралар ўзига ўхшаш, аммо патогенбўлмаган коринобактериялардан морфологик хусусиятлари, сахароза, глюкоза,крахмалларни парчалаши, цистиназа ферменти ва токсигенлик ва антигенликхусусиятлари бўйича фарқланади (50-жадвал).

Бўғма бактерияларининг токсин ишлаб чиқариш хусусиятларинианиқлаш диагностикада энг муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади, чункибўғма қўзғатувчисини табиатда икки хил штамми учрайди. Биринчиситоксиген одамда бўғма касаллигини келтириб чиқаради, иккинчи тип штаммиэса токсиген бўлмаслиги мумкин, амалий аҳамияти йўқ. Шунинг учунбўғманинг токсигенлиги

албатта аниқланади ва шу асосда асосий ташҳисқўйилади. Охирги йилларда бўғманинг токсигенлик хусусиятини аниқлашнибирқанча усуллари таклиф қилинган (лаборатория ҳайвонларида, ҳужайракультурасида ва гелда диффузия преципитация реакцияси). Амалиётда кўпроқгелда 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) озиқли сатҳга,5000 АЕ/мл тутувчи бўғмага қарши антитоксинли зардоб шимдирилган 1,5 х 6 смкатталикдаги фильтр лентаси қўйилади.

Косачалар 30 минут 37°С да термостатда тургандан сўнг текширилувчи культураданқовузлоқ билан олиниб, фильтр қоғозига перпендикуляр равишда 0,6-0,8 см масофадапилакча кўринишида экилади.(текширилаётган культурадан камида 4-5 колония олибэкилиши керак). Иккинчи томонига контрол сифатида маълум бўлган токсиген штаммиэкилади. Экмалар 37°С да термостатга келгуси кунгача қолдирилади.



15.6-расм.Бўғма қўзғатувчисини гелда преципитация реакцияси орқали аниқлаш

Токсиген хусусиятга эга бўлган культуралар ўсганда, ажралиб чиққан токсин вафильтр қоғоздаги антитоксин агарга шимилади, улар учрашган зонада преципитат, яъниозиқ муҳитда кўзга кўринадигон оқ чизиқчалар (мўйловчалар) ҳосил бўлади (расм 77).Токсиген бўлмаган штамларида преципитат ҳосил бўлмайди.

15,6-жадвал.

Бўғма таёқчалари ва уларга ўхшаш коринебактерияларнинг биологик хусусиятлари

Коринобактерия вакиллари	Волютин доначалари	Гемолиз	Парчалаши			Токсигенлиги	Цистиназа	Уриаза	Махсус зардоб билан АР қўйиш	Одамда дифтерия келтириб чиқариш
			Сахарозани	Глюкозани	Крахмални					
C. diphtheriae	+	–	–	+	+	±	+	–	+	+
C. xerosis	±	+	+	+	–	–	–	–	–	–
C. pseudodiph-theriticum	±	–	–	–	–	–	–	+	–	–

Цистиназани аниқлаш учун (Пизусинамаси) цистин қўшилган пробиркадагиЗА устунчасига текширилувчи культурасанчиб экилади. Экма 37°С да 1 суткага термостатга қўйилади. Чин бўғма таёқчалари санчиб экилган йуналишда қўрғошин сульфид ҳосил бўлиши натижасида муҳит қораяди, муҳит сатҳидан 1 см пастроқда қорамтир «булутча» пайдо бўлади.

15,7-жадвал.

Corynebacterium diphtheriae биоварларини бир –бирларидан фарқлари.

Хусусиятлари	Биоварлар		
	gravis	mitis	intermedius
Ферментацияси:			
глюкоза	+	+	+
сахароза	±	–	–
крахмал	+	–	–
гликоген	+	–	–
Цистин активлиги	+	+	+
Гемолиз қилиши	±	+	+
Теллуритли муҳитда ўсиши	Катта, қуруқ, кулранг қора, ўртаси кўтарилган ясси, юзаси ғадир будир (R-колония)	Майда, юмалоқ, бўртган юзаси силлиқ, қирралари (S-колония) текис	Майда, қуруқ, қора кулранг четлари нотекис (RS ёки SR якин
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

Corynobacterium diphtheriae қўзғатувчиси бошқа дифтероидларданфарқланиб токсигенлик хусусиятга, цистин активлигига эга ва махсус қонзардоби билан АР мусбат бўлади, Бундан ташқари қўшимча ферментативхусусиятлари ва эпидемиологик жиҳатдан зарур бўлса фаготиплари ўрганилиб, якуний жавоб берилади.

15.6. Коклюш ва паракоклюш (кўкйўталларни) қўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси

Кўкйўтал қўзғатувчиси — *Bordetella* авлодига (бирор бир оилага киритилмаган) мансуб бўлиб, буларга 3 та тур киради: *Bordetella pertussis*;*Bordetellaparapertusis; Bordetellabronchoseptica*. Бордетеллаларёшболаларнинг юқумли касаллигида муҳим роль ўйнайди.Асосий касалликни юқори нафас йўлларини яллиғланиши билан ватўхтовсиз йўтал билан борувчи коклюш касаллигини *Bordetella parapertusis*(кўкйўтал) келтириб чиқаради. *Bordetella parapertusis* эса одамлардапаракоклюш (коклюшга ўхшаш) касаллик келтириб чиқаради. *Bordetellabronchoseptica* асосан ит, мушук, қуёнларни бурун ҳалқумида коклюшниэслатувчи респиратор касалликлар келтириб чиқаради. Кам ҳоллардаодамларда респиратор касаллик келтириб чиқариши мумкин.

Бордателлаларнинг асосий ўзига хос хусусиятлари: майда грамманфийкоккобактерия, хемоорганотроф, оксидлаш метаболизми устун туради, қаътийаэроб. Характерли хусусиятларидан бири улар ташқи муҳитга ўта чидамсизҳисобланади.

Услубий кўрсатмалар

Бактериоскопик текширув (8-схема). *Bordetella pertussis* ни тездааниқлаш ва идентификация қилиш учун иммун-флюоресцент усулданфойдаланилади. Текширилувчи материал стерил пахтали тампон ёрдамидабемор боланинг бурун-ҳалкумидан олинади. Кичик ёшли болалардан эса,материал ингичка эгилувчан симлардан тайёрланган махсус тампонларёрдамида бурундан олинади.Тампондан иккита суртма тайёрланади, улар ҳавода қуритилиб, алангадақотирилади. Биринчи суртмага флюоресценция қилувчи кўкйўталга қаршизардоб билан, иккинчисига эса паракўкйўтал (паракоклюш) зардоби биланишлов берилади. Препаратлар люминесцент микроскоп остида кўрилади; буҳолда

камида 50 та кўриш майдони текширилади. Ижобий ҳолларда*B.pertussis*га хос қора рангдаги ҳужайралар, улар атрофида эса, нурланувчи-ҳошия кузатилади.

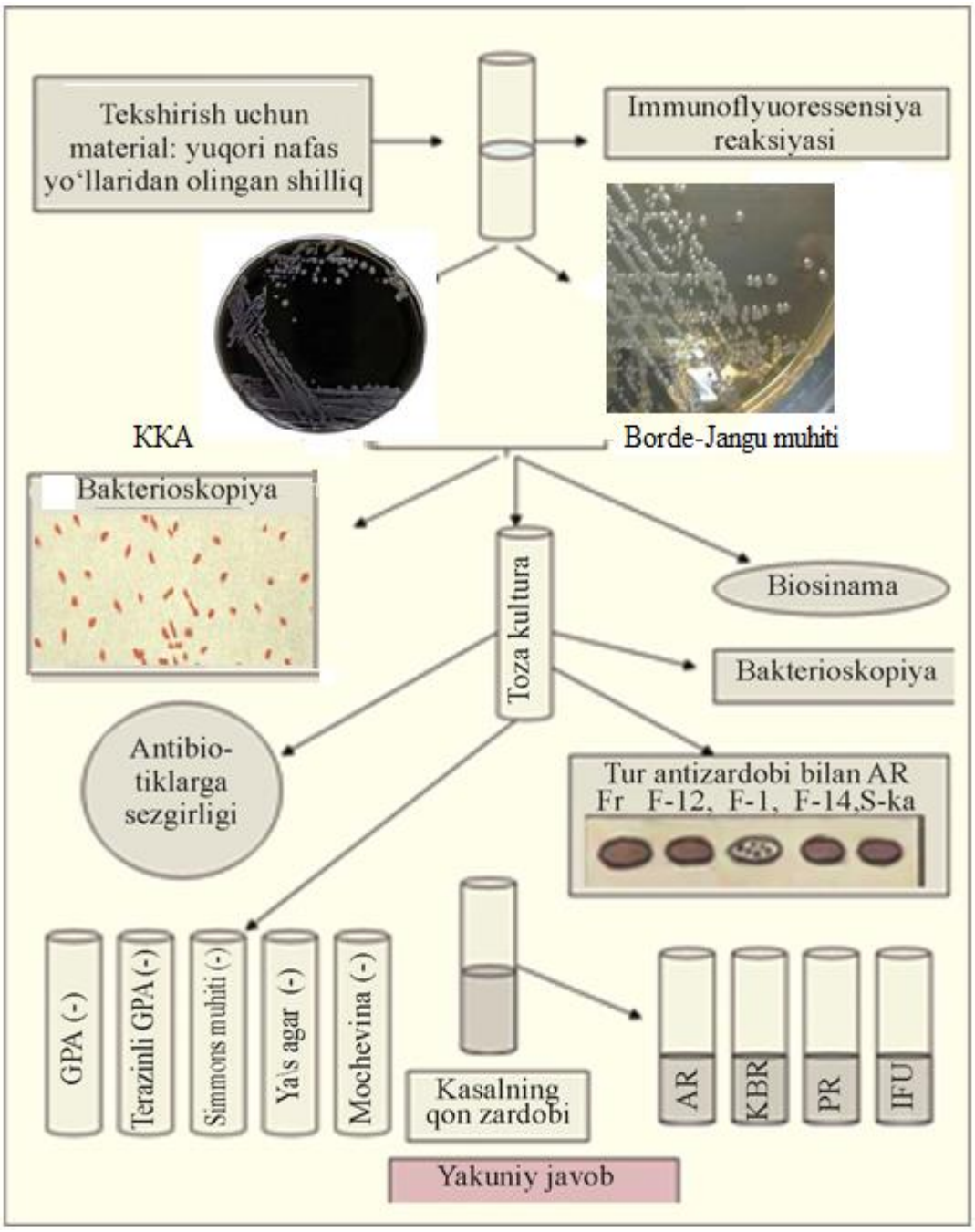
Бактериологик текширув.

1-кун. Кўкйуталнинг лабораториядиагностикасида асосий усул ҳисобланади. Экиш учун материал бурун-ҳалқумдан тампон ёки «косачаларга йўталиш» усули (юқорида
кўрсатилганидек) билан олинади. Бунинг учун бемор болаларда йўталбошланган вақтда озиқ муҳитли очиқ ҳолдаги Петри косачасини оғизга яқинкелтириб, 6-8 маротаба йўталгунга қадар ушлаб турилади. Материални тўғрива барвақт олиш, кўкйутал микробларини касалликни бошланиш давридаюқори 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 учунозиқ муҳитларига пенициллин қўшилади. Экиш учун муҳитга тампон биланбир неча сектор қилинади, сўнг тампон айлантирилиб муҳит юзасига штрихқилиб экиб чиқилади. Экмалар термостатга 37°С 2-5 кун қўйилади.

2- кун. B.pertussis колониялари кўрсатилган муҳитларда одатда 48-72соатдан сўнг, паракўкйутал колонияларда эса бирмунча барвақт — 24-48соатдан сўнг пайдо бўлади. Шунинг учун бир кунлик инкубация коклюшбактерияларини ўсишига етарли бўлмайди. Бордетеллаларни колониясиникўришда стереоскопик бинокуляр микроскопдан фойдаланилади.

3-кун Бордетеллалар стереоскопик бинокуляр микроскопда кўрилгандажуда майда (0,5-1 мм га яқин диаметрли) Борде-Жангу муҳитида гумбазсимоннам, ялтироқ, симоб ёки шудринг томчисини эслатадиган ва марвариддектовланадиган колониялар ҳосил қилади. КҚА да эса ранги бир оз кулрангбўлиши мумкин (8-схема). Паракўкйўтал колониялар бирмунча йирик бўлади



15.7-схема.Кўкйўтал қўзғатувчиси келтириб чиқаган инфекцияларнинг микробиологик текшириш усуллари

Охирги йилларда коклюшни ажратиб олиш жуда қийинчилик билан амалгаоширилмоқда, чунки бемор болалар шифокорларга мурожаат қилмасдан туриб,уйида ота-оналари антибиотиклар билан даволашади. Шунинг учун шифохонагатушган беморлардан *B.pertussis* ни ажратиб олиш фоизи жуда паст. Экмалардаметодик кўрсатмаларда ёзилган қўзғатувчиларнинг кўплаб колонияларитопилмайди. Шуни эътиборга олган ҳолда экмалар жуда

аҳамият берилибкўздан кечирилади, агар бирорта шубҳали колония топилса, муҳитнингматериал экилмаган жойига қовузлоқ билан суркаб экиб колонияларинико̆пайтириб олиш мумкин ёки қиялантириган КҚА дан соф культураажратиб олишда фойдаланилади.

Охирги йилларда коклюшни ажратиб олиш жуда қийинчилик биланамалга оширилмоқда, чунки бемор болалар шифокорларга мурожаатқилмасдан туриб, уйидаёқ ота-оналари антибиотиклар беришади. Шунингучун шифохонага тушган беморлардан *B.pertussis* ни ажратиб олиш фоизижуда паст. Экмаларда методик кўрсатмаларда ёзилган қўзғатувчиларнингкўплаб колониялари топилмайди. Шуни эътиборга олган ҳолда экмаларжуда аҳамият берилиб кўздан кечирилади, агар бирорта шубҳали колониятопилса, муҳитнинг материал экилмаган жойига қовузлоқ билан суркабэкиб колонияларини кўпайтириб олиш мумкин ёки қиялантириган КҚА дан соф культура ажратиб олишда фойдаланилади.

Борде-Жангу ва сутли-қонли агарларда улар катта бўлмаган гемолизҳалқасини ҳосил қилади. Шубҳали ўсган колониялардан суртма тайёрлаб, Грамусулида бўяб, микроскоп остида кўрилади. Суртмаларда овоид (тухум)шаклдаги грамманфий таёқчалар кўрилганда (8-схема), кўкйутал вапаракўкйўтал зардоблар билан агглютинация реакцияси қўйилади. Сўнграшубҳали колониялардан бордетеллаларнинг соф культурасини ажратиб олиб,келгусида ўрганиш учун пробиркалардаги диференциал муҳитларга экилади(52-жадвал).

4-кун. *B. pertussis* бошқа бордетеллалардан фарқ қилиб, оддий агарда ўсмайди ва махсус озиқ муҳитларда ўсганда рангини ўзгартирмайди.

Уреазани аниқлаш. Бунинг учун агглютинацион (майда) пробиркаларга 0,3 мл 2% лимочевина эритмаси, қовузлоқда микроб культураси аралаштирилади ва 2-3 томчифенолфталеиннинг 0,1% спиртли эритмаси аралаштирилади. Агар реакция мусбат бўлса,20-30 минутдан сўнг малина рангига бўялади, бу эса мочевинани уреаза парчалаганлигиникўрсатади.

Тирозин синамасини қўйиш. 0,1% тирозин қўшилган қиялантирилган ГПА текширилаётган культура экилади ва термостатга келгуси кунгача қолдирилади. Паракоклюш бу муҳитда ўсади, муҳит жигаррангга киради, коклюш қўзғатувчиси тирозинли муҳитда ўсмайди.

Бордетеллаларнинг серологик жиҳатдан ўзига хослигини, турларгаажралишини ва сероварларини аниқлаш учун буюм

ойнасида тур махсусликкаэга зардоблар ёрдамида агглютинация реакцияси қўйилади (8-схема). 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 йўлинингшиллиқ қаватларида учраб, айрим яллиғлантирувчи касалликларни келтирибчиқаради. *H. influenzae* бордетеллалардан фарқланиб, фақат қонли озиқмуҳитлар — қонли агар, таркибида X фактори (гемин) ва V фактори (коэнзимдегидрогеназа) бўлган Левинталнинг «шоколад» агарларидагина ўсади.

Ажратиб олинган культураларни морфологик, культурал, биокимёвий васерологик хусусиятларини ўрганиш асосида идентификация қилинади.

15,8-жадвал

Бордетеллаларнинг дифференциал (фарқловчи) белгилари

Белгилари	B.pertussis	B. parapertusis;	B.bronchoseptica.
Ҳаракатчанлиги	–	–	+
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	–	+	–

Серодиагностика. Агглютинация ва КБР асосан ретроспектив диагознианиқлаш учун ва кўкйўталнинг нотипик формаларини дифференциацияқилишда қўлланилади. Беморлар қонида агглютининлар касалликнинг 3-4-ҳафтасида, 1:20 ва ундан юқори титрларда пайдо бўлади. Охирги йиллардаиммунофермет усули (ИФУ) ишлаб чиқилган. Диагностик титри 1:20 ва ундanортиқ ҳисобланади. Серологик диагностикада шунга аҳамият бериш зарурки,болалар кўкйўталга қарши оммавий вакцинация қилинганда (эмланганда)қонда антителолар топилиши мумкин. Шунинг учун АТ титрининг касалликдинамикасида маълум даражада ортиши диагностик аҳамиятга эга бўлади.Шуни ҳисобга олган ҳолда 4-5 кундан сўнг реакция яна қайта қўйилади, агарбиринчи маротаба қўйилганда АТ титри икки баробар ёки ундан юқори бўлсадиагноз қўйиш мумкин.

Диагностика, пролфилактика ва даво препаратлари.Шик токсини бўғма бактерияларининг соф ҳолдаги экзотоксиниданиборат. У болаларда бўғмага қарши антитоксинли иммунитетни аниқлаш учунтери орасига юборилади. Агар болаларда иммунитет бўлса (антитоксик)киритилган жойда реакция кузатилмайди, бўлмаса қизариб реакция рўй беради.

Адсорбция қилинган, тозаланган бўғма анатоксини (АД) формалинбилан зарарсизлантирилган, қиздирилиб, сўнгра тозаланган ва алюмин гидратоксидида адсорбция ва концентрация қилинган (қуюлтирилган) дифтерияэкзотоксинидир. Бўғмага қарши актив эмлашда қўлланилади. Адсорбцияқилинган бўғма — қоқшол (столбняк) анатоксинлари **(АДС)** ва АКДСтаркибига киради.

Бўғмага қарши антитоксинли зардоб. Бўғма анатоксини билан бир нечамарта эмланган от қонидан олиниб, диаферм — 3 усули билан тозаланади ваконцентрацияланади. Зардоб фаоллиги халқаро бирлик билан белгиланади.Бўғмани даволашда ва профилактика қилишда қўлланилади.

Бўғмага қарши агглютинация қилувчи зардоб (поливалентли ва типларгахос). Бўғма бактерияларииии дифтероидлардан фарқлашда қўлланилади.

АКДС вакцинаси. Шимдирилган (адсорбция қилинган) кўкйутал-бўғма вақоқшол вакцинаси. Бу формалин ёки мертиолат таъсирида ўлдирилган кўкйўтал бактериялари, алюмин гидроксидга

шимдирилган, тозаланган,концентрация қилинган бўғма ва қоқшол анатоксинлари аралашмасиданиборат. Болаларни кўкйўталга, бўғмага ва қоқшолга қарши биргаликда эмлашучун қўлланилади.

Одамнинг нормал иммуноглобулини. Бу одамнинг йўлдоши ёки венақонидан 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.

15.7. Сил қўзғатувчисинингмикробиологик 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 граммусбат таёқчасимон бактериялардир.

Микобактериялар таркибида 60% гача ёғлар ва мум тутади. Шунингучун бу бактериялар грам усулида бўялмайди ва махсус усуллардабўялади. Тип хусусятини намоён қилувчи тури *Mycobacteriumtuberculosis* ҳисобланади. Микобактериялартабиатда жуда кенгтарқалган, баъзи маълумотларга қараганда уларни 200 ортиқ паразит васапрофит турлари маълум. Ҳозирги кунда 30 та тури яхшиидентификация қилинган. Микобактерияларни ҳозирги кунда кенгтарқалган классификацияси уларнинг иккита хусусиятига асосланади:колония рангига ва ўсиш тезлигига. Шу асосда уларни (Ранон) 5группага бўлишади. Биринчи группасига патоген микобактериялар(*M.tuberculosis, M. bovis, M.microti, M. leprae, M. lepraemurium*) ва қолган 4группасига эса атипик микобактериялар киритилган. Одамларда силкасаллигини асосан *M.tuberculosis* келтириб чиқаради, *M.bovis* қорамолларда касаллик келтириб чиқаради ва одамлар учун ҳам патогенҳисобланади. *M.leprae* эса мохов касаллигини келтириб чиқаради.Касаллик асосан ҳаво-томчи йўли орқали, айрим ҳолларда меъда-ичакйўли билан ҳам юқиши

мумкин. Асосий одам учун патоген бўлганмикобактериялар жадвалда келтирилган.Силнинг микробиологик диагностикасида қўлланиладиган асосий усуллар10 ва 11-схемаларда келтирилган.

У с л у б и й к ў р с а т м а л а р. Текшириш учун материал: балғам, экссудат, йиринг, меъда, бронхларданювиб олинган чайинди сувлар, ликвор, сийдик. Консервация қилиш ва биргаучрайдиган микрофлораларнинг ўсишини тўхтатиш учун, патологик материалгалабораторияга юборишдан олдин натрий фосфатнинг 10% ли эритмасиқўшилади.

15,9- жадвал

Секин ўсадиган патоген микобактерияларнинг биологик белгиси

Хусусияти	M.tuber-culosis	M. bovis	M.microti	M. leprae	M. avium	M.scrofu-lfceum
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 юкиш мумкинлиги	Юқади	Жуда кам ҳолларда	Юқмайди	Юқади	Юқмайди	Юқмайди
Колониясини кўриниши	R-колония	Майда тиниқ ®	S-колония		S-колония	S-колония
Уреаза активлиги	+	+	+		–	+
Нитратларни тиклаши	+	–	–		–	±
Каталаза	–	–	±		±	+
Ниацини аккумуляцияси	+	–	–		–	–

Бактериоскопик текширув (9-схема). Сил касаллигини диагностикасидаасосий усуллардан бири ҳисобланади. Балғам Петри косачасига солиниб, қорафон устига қўйилади. Қовузлоқ ёки ажратиб олувчи махсус шпателлар биланйирингли бўлакчалар олиниб, буюм ойначасининг бир чеккасига яқинроққўйиб, иккинчи ойнача билан эзиб, суртма тайёрланади. Лабораториягакелтирилган ликворни музлаткичга қўйиб тиндирилади, сил микобактерияларива ҳужайра элементларидан ташкил топган нозик фибрин пардасидан олибсуртма тайёрланади.

Сийдик центрифуга қилинади, ҳосил бўлган чўкмадан суртматайёрланади.Сийдикдан тайёрланган препаратлар, сил микобактериясини, соғломодам сийдигида учраши мумкин бўлган М.

smegmatis дандифференциация қилиш учун фақат кислота билангина эмас, балки спиртбилан ҳам ишлов бериб рангсизлантирилади. Суртмалар Циль-Нильсен усулидабўялиб, микроскоп остида препаратдаги 100 тагача бўлган кўришмайдончаларидаги микроблар текширилади. Сил микобактериялари тўқ, қизилрангга бўялиб, якка ёки кичик тўдачалар ҳолида жойлашади (9-рангли схемагақаралсин).

Суртмадан сил қўзғатувчисини топиш анча мураккаблик туғдиради,чунки бу усул билан топиш учун қўзғатувчи 1 мл балғамда 10^5дан камбўлмаслиги керак, ундан кам бўлса аниқлаш эҳтимоли камаяди, чунки биттабуюм ойнасида таёрланган суртма майдони, иммерсион системада кўрилганда10 000 кўриш майдонини ташкил қилади. Агар 1 мл микроблар сони кам бўлса биз кўраётган 100-200 кўриш майдонидан микроскопда сил қўзғатувчисинианиқлаш мумкин бўлмай қолади. Шу сабабли текширилувчи материалда силмикобактериялари ниҳоятда кам учраганда «бойитиш» усулиданфойдаланилади. Бу усулни асосини — гомогенизация ва флотация усуллариташкил қилади.

Гомогенизация(майдалаш, эритиш) **усули** бир кеча-кундуздавомида йиғилган балғам миқдори стерил колбага солинади ва гомогенизацияқилиш учун унга тенг миқдорда 1 % натрий ишқори (ёки антиформин) қўшилиб,колба резина пробка билан маҳкам ёпилади. 10-15 минут давомидачайқатилади. Центрифуга ва кислота билан нейтрализация қилингандан сўнг,чўкмадан суртма тайёрланади ва Циль-Нильсен усули билан бўялади.

Флотация усули. Балғам гомогенизация қилинади ва 55°С да 30 минут давомида сув ҳаммомида қиздирилади. Сўнгра 1-2 мл ксилол, дистилланган сув солиниб, 10 минут давомида қайтадан чайқатилади ва 20минут уй ҳароратида қолдирилади. Натижада, юза сатҳида сузиб чиққан ксилолтомчиларига микроблар бирлашган кўпик ҳосил бўлади.Пипетка ёки қовузлоқ билан кўпиксимон қисми олиниб, бир неча буюмойнасига суртиб, ундан суртма тайёрланади. Суртма эфир биланмойсизлантирилади, сунгра қиздириб фиксация қилинади ва Циль-Нильсенусули билан бўялади.

Люминесцент микроскопия усулини қўллаш, патологик материалда силмикобактерияларини кўп ҳолларда топиш имконини беради.Микроскопик текширув усули тахминий бўлиб, текширилувчи

материалдакислотага чидамли бактерияларни аниқлашга ёрдам беради. Аммо,уларнинг қайси тур ва типга тегишли эканлигини аниқлай олмайди.

Бактериологик текширув. Силга диагноз қўйишда асосий усуллардан ҳисобланади. Экиш учун олдиндан Na_3PO_4 билан ишлов берилган текширилувчи материалдан фойдаланилади; ишлов берилмаган материалэкищдан олдин 10% ли сульфат кислота ёки 4-6% ли NaOH эритмаси биланбир неча дақиқа бирга учрайдиган микроблардан озод қилши учун ишловберилади, сўнгра кучли чайқатиб, центрифугаланади. Ҳозирги кунда бошқамикробларни контаминацияси учун Хай-медия компанияси таклиф қилган“Микопрен”препаратидан фойдаланилади. Микопрен ўз таркибида муколитик хусусиятга эга бўлган ва балғамни тезсуюлтириб юборувчи N-ацетил- L- цистеин (NALC) тутади. Бошқабактерияларни деконтаминациясини препаратга қўшилган NaOH бажаради,препарат таркибидаги фосфатли буфер ишқор таъсирини минимумга келтирадива шу билан бир қаторда материални центрифуга қилганда микобактерияларничўкиш 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 флакон бўлади) ёкибошқа муҳитларга экилади (11-рангли схема).

Левенштейн-Йенсен муҳити янги тухум суспензияси, картошка уни,глицерин, аспарагин, калий дигидрофасфат, магний сульфати ва цитрати,малахит кўклари қўшиб тайёрланади. Финн-II муҳити бизнинг мамлакатимизда микобактерияларни ажратиб олишда иккинчи стандартмуҳит ҳисобланади. Левенштейн-Йенсен муҳити асосида тайёрланади, унданфарқи L- аспарагин ўрнига глутаминат натрий ва тузлар шундай олинганкимуҳитнинг охирги pH = 6,3-6,8 тенг бўлади ва Левенштейн-Йенсен муҳитиганисбатан анча юқори стабилликка эга. Экилган флаконлар бир неча соатвертикал ҳолатда (экилган материал бир меъёрда агар юзасига тарқалишиучун) сақланади ва 37°C да 3-4 кун горизонтал ҳолатда, сўнг қолганмуддатга термостатда вертикал ҳолатда сақланади. Микобактериялари биринчигенерациялари айниқса секин ўсади.

Ушбу микобактерия культуралари гранулацияланган, нотекис оч-кремрангда бўлиб, ғадир-будур, қуруқ парда кўринишида бўлади (11-рангли схема).

Ажратиб олинган сил микобактериясини идентификация қилишда ва унипотенциал-патоген микобактериялардан дифференциация қилишда морфологиква тинкториал хусусиятлари (78-расм), озиқли муҳитлардаги ўсишмуддатлари ва характери, биокимёвий белгилари ва лаборатория ҳайвонлариучун вирулентлик хусусиятлари ҳисобга олинади. Кўпинча биокимёвийбелгиларидан текширилувчи культураларнинг никотин кислотани синтезқилиши (Кононин ниацин синамаси) аниқланади. Бу муҳим хусусиятларданбири 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 млKCN ва 1 мл % ли хлорамин эритмалари қўшилади. Агар ниацин топилса, бир неча дақиқадансўнг тиниқ-сарғиш ранг пайдо булади. KCN нейтралланиши учун пробиркадаги натижаларкўрилгач, унинг таркибига 10% ли натрий гидрокарбонатидан 3-5 мл қўшилади.

Сил бактерияларига тез диагноз қўйиш учун Прайс микрокультураусули қўлланилади.

Прайс микрокультура усулини қўйиш. Бир неча буюм ойначасида (бир чеккасигаяқин) текширилувчи материалдан қалин суртма тайёрланади. Суртма қуригач, унга бир нечаминут давомида 2—6% ли сульфат кислота эритмаси билап ишлов берилади ванейтрализация қилинади. Сўнгра буюм ойначалари флакондаги 1:4—1:8-суюлтирилган,гемолизланган цитратли қонга солинади ва термостатга қўйилади. 7—14 кундан сўнг буюмойначалари олиниб, препарат фиксация қилинади, Циль-Нильсен усулида бўяб, микроскопостида кўрилади (11-рангли схема).Вирулент штаммлари, кўриниши арқон ёки ўрилган сочга ўхшаш (корд-фактор)микрокультуралар ҳосил қилади.

Сил микобактерияларининг антибиотик ва химиотерапевтикпрепаратларга 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 ваэтионамидлар қўшилган пробиркалардаги Левенштейн - Йенсен муҳитига0,1 мл сил микобактерия суспензияси экилади. Натижалар инкубациянинг12-21-куни кўрилади. Сил микобактериялари чидамлилигининг клиникчегаралари: стрептомицин - 5 мкг/мл, ПАСК - 10 мкг/мл, тубазид – 1мкг/мл, циклосерин ва этионамид - 30 мкг/мл. Ҳозирги кунда Силқўзғатувчиларини химиопрепаратларга сезгирлигини ўрганиш учун препаратлар тўплами тутувчи қиялантирилган Левенштейн-Йенсен муҳити чиқарилади(11-рангли схема). Текширилаётган культуралар флакондаги препарат тутувчимуҳитларга экилади. Препарат таъсири текширилаётган культурачидамлилигининг 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 диагнозқўйишдаёқ ажратиб олиш, ҳамда уларнинг вирулентлик хусусиятинианиқлашда қўлланилади.

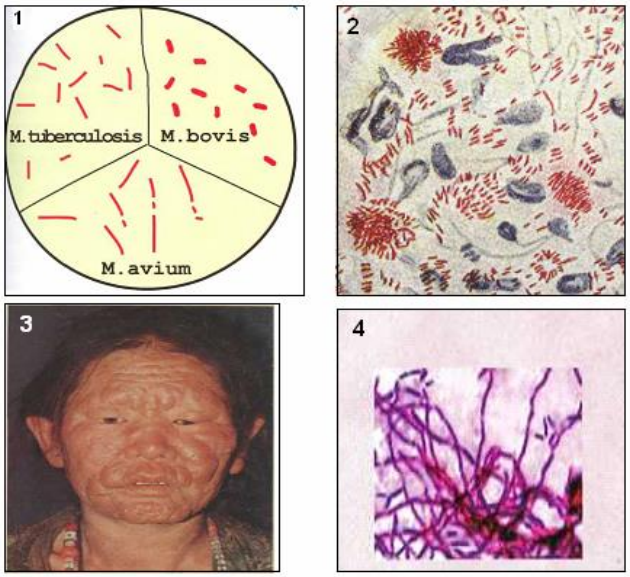
Текширилувчи материалга ёт микрофлорадан қутилиш мақсадида сульфаткислота билан ишлов берилади, нейтралланади, туберкулин реакцияси манфийбўлган денгиз чўчқачаларига 2—3 мл миқдорда териси остига юборилади. Агарулар 4 ойдан сўнг ҳалок бўлмаса, у ҳолда ўлдирилади, ёрилади ва органларимакро ва микроскопик 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 қуёнларганисбатан патоген эмас.

Серодиагностика.КБР ва ПГАР лари қўлланилади. Мусбат натижаларорганизмда сил касаллиги авж олган пайтда ҳамда сил микобактериялариорганизмда бўлган тақдирда ва БЦЖ билан эмланганда қайд этилади.

Тери-аллергик синама. Туберкулин — сил микобактериясидан олинган соф оқсилфракциясидан иборат бўлиб, одамлардаги аллергик ҳолатни характерлаш учун касалликюққан ёки юқмаганлигини аниқлаш, силнинг юққанлигини, кечиш жараёнини билиш,эмлашнинг самарадорлигини аниқлашда, силга қарши ревакцинация (қайта эмлаш)ўтказишда контингентларни танлаш мақсадларида қўлланилади. Туберкулин тери орасигақатъий белгиланган дозада юборилади. Реакция натижалари 24-48 соатдан сўнг ҳосилбўлган қизариш (гиперемия) ва папулалар асосида аниқланади (66-расмга қаралсин).

15.8. Мохов қўзғатувчисинингмикробиологик диагностикаси

M.leprae.Мохов (проказа) сурункали юқумли касаллик бўлиб асосантерининг ёпқич қавати эндодерма ва периферик нерв системасинижароҳатланиши билан боради.Моховнинг микробиологикдиагностикаси асосанбактериоскопик ва гистологиккесмаларни бўяб кўришгаасосланган. M.leprae озиқмуҳитларда ўсмайди, лекин охирги йилларда баъзи бирмаълумотларда моховнингбактериологик усулда ажратиболинганлиги эълон қилинмоқда.Лаборатория ҳайвонлари ҳам *M.leprae* га сезгир эмас, экспериментал касаллик келтириб чиқариб бўлмайди.1974 йилда Cmoppca ўз муаллифдошлари билан армадил броненосларда моховкасаллигини экспериментал келтириб чиқарганлигини эълон қилди. 40%ҳайвонларда моховни тарқалган формаси келиб чиққан ва моховнитўқималардаги миқдори одамнинг тўқималарида учраши эквивалентидан 100маротаба кўп бўлган.



Расм 78. 1- Сил қўзғатувчиларининг тоза культураси; 2- Лепроз дўмбоқчадан олиниб Циль-Нельсон усулида бўялган суртма; 3- Моховни лепроматоз формаси; 4- A. bovis тоза культураси (Грам усулида бўялган).

Моховни микроскопик диагностикаси. Кўпчилик мутахассисларнингфикрича, микроскопик усулда мохов микобактериялари топилмаса,даволовчи шифокор касалликнинг клиник манзарасига қараб диагнозқўйиши мумкин (расм 78). Аммо лаборатория текширувида моховмикобактериясининг топилиши диагноз аниқ бўлишини таъминлайди.

Моховнинг лепроматоз хилида бошқа хилларига нисбатанмикобактериялар кўпроқ топилади. Юқори нафас йуллари, масалан, буруншиллиқ қаватидан олинган суртмалардан препарат тайёрланади. Бунингучун бурун бўшлиғи яхшилаб тозаланади, буни беморнинг ўзи бажарса ҳамбўлади. Сўнгра аввалдан тайёрлаб кўйилган дока тампон ўралган таёқчаларбилан бурунниng ички деворидан суртмалар олинади ва бир нечта буюмойнасига қалинлиги

бир хил қилиб суртилади. Бурундан одатдаги ажрабтурган шилимшиқни олиш ярамайди. Уларда мохов микобактерияси жудакам ёки умуман бўлмаслиги мумкин. Суртмаларни олишда жуда эҳтиётбўлиш ва бурун деворини шикастлаб қўймаслик керак. Акс ҳолда суртмагақон аралашиб, микобактерияларни топиш мушкуллашади.

Мохов микобактерияларини топишда зарарланган тери туки пиёзинингсуюқлигидан тайёрланган суртмаларни микроскоп остида текшириш яхшинатижа беради. Терининг зарарланган қисмидан тўқима суюқлигиниолишдан аввал шу жой спирт ёки эфир билан яхшилаб артиб тозаланади.Бунда биринчидан, асептикага риоя қилинса, иккинчидан, теридагикислоталарга 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 суюқликнискальпелда қириб олиб, буюм ойнасида бир неча суртмалар тайёрланади.

Қисиб турган бармоқлар қўйиб юборилганда тилинган жойдан одатда бироз қон чиқиб туради, бу тилиш туғри бажарилганидан далолат беради. Тўқимасуюқлиги қош, пешона, қулоқ супраси, бел ва думба соҳасида жойлашганлепромалардан олинади. Ярага айланган лепромалардан ҳам суртмалартайёрлаш мумкин. Суртмалар Циль—Нильсен усулида бўялади. Аммо моховмикобактериялари сил микобактерияларига нисбатан кислоталарга чидамсизбўлиб препаратни рангсизлантиришда эҳтиёт бўлиш керак. Бўялгансуртмаларда мохов микобактериялари қизил ёки пушти рангда бўлиб, тўда-тўда (78-расм), баъзан эса якка-якка ҳолда жойлашади. Сил микобактериялари бурчак ёки рим ҳарфи шаклида кўринса, моховмикобактериялари параллел таёқчалар шаклида бироз узунроқ бўлиб
кўринади.

Суртмада мохов микобактерияларини топиш асосан текширилаётганматериалдаги мохов бактерияларининг миқдорига боғлиқ. Уларни топишучун текшириладиган 1 мл материалда камида 10.000 -100.000 микобактериябўлиши керак. Бунинг учун битта суртмада 60-100 та кўриш майдониникўздан кечириб чиқиш керак. 1-2

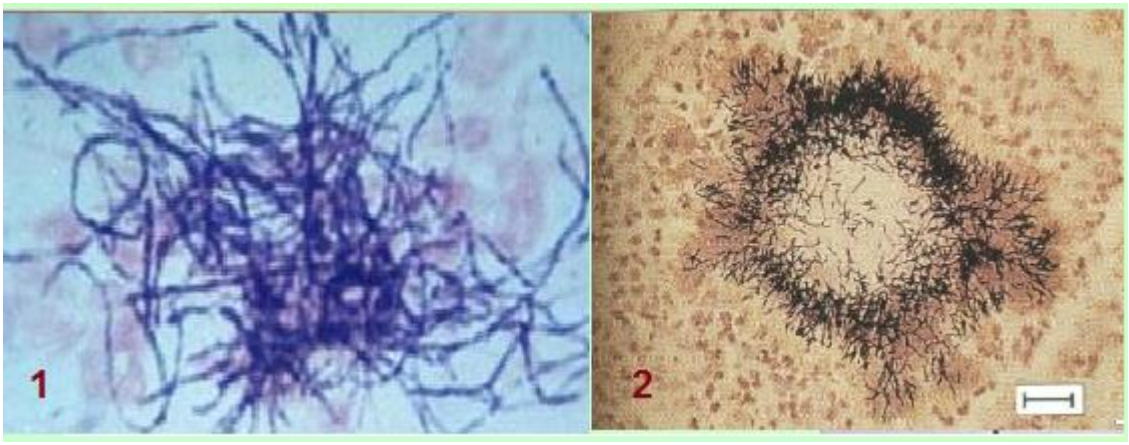
дона микобактерияларни топишдиагнозни тасдиқлай олмайди. Кўриш майдонидаги микобактерияларсонини схема бўйича қуйидагича белгиланида: 0-микобактериялар йуқ, +шубҳали, кўриш майдонида 1-2 та бор, ++ кўриш майдонида анчагина, + ++ кўриш майдонида жуда кўп.Текширишни бир неча марта такрорлаган маъқул. Ишлатилган асбоблар вабуюм ойналари аввал алангада, сўнг автоклавда стерилланади.

15.9. Актиномикознинг микробиологик диагностикаси

Актиномикоз қўзғатувчилари *Actinomyces bovis, Actinomyces israelii*лардир. Улар ўпка, баъзан бошқа аъзо ва тўқималарни шикастловчикасалликларни авж олдиради.Актиномикознинг лаборатория диагностикасида асосан бактериоскопиква бактериологик текширув усуллари қўлланилади.

Текшириш учун материал: ажралаётган йиринг, балғам, сийдик, пунктат вашикастланган ўчоқларнинг ёпиқ ва чуқур қисмидан олинган тўқимабиоптатлари.

Микроскопик текширув. Патологик материалдаги шубҳали қаттиқбўлакчалар 10-20% ли гидрокарбонат натрий эритмаси томчисига қўшилиббироз қиздирилади ва «эзилган» томчи препарати тайёрланади, сўнгра 8 ва 40объективи ёрдамида микроскоп остида кўрилади. Мусбат ҳоллардапрепаратларда актиномицетлар атрофи зич ипсимон, нурсимон ҳужайраларбилан ўралган доначали друзлар шаклида кўринади. Друзалар билан бирганотекис бўялган шохсимон алоҳида жойлашган граммусбат бактериялар ҳамучрайди. (78а-расм).



15.8-расм. Актиномицетлар. 1-тоза культураси Грам усулида бўялган. 2- тўқима (друза)формаси

Бактериологик текширув. Актиномицетлар факультатив аэроб ваанаэроб бактериялар ҳисобланади. Анаэроб усулда ўстирилганда муҳитда CO_2миқдорини кўп бўлишини талаб қилади. Хемоорганотроф бўлиб углеводларниферментацияга учратади ва уксус, чумоли, янтар ва сут кислоталари ҳосилқилади. 35-37ºС яхши ўсади. Текширилаётган патологик материал Сабуро,Чапека, Қонли агар ва Сахарозали агарларга экилади ва термостатга қўйиладианаэроб шароитда ҳам ўстириш мумкин. 7-10 кундан кейин кўзга кўринувчиколониялари шаклланади. Микроколониялар тарқалган структурага эга бўлишиёки донадор марказдан периферияга шохланувчи ипчаларнинг тарқалишихарактерли белгилар бўлиб ҳисобланади. Етилган колониялар ясси, ғадир-будир, нотекис ёки пардали бўлиши мумкин. Колонияларни субстрактмицелалари яхши ривожланган шунинг учун қовузлоқ билан олинганда,культура қовузлоққа чиқмайди, агар билан қўшилиб чиқади. Колониялархарактери ва ҳужайралар морфологияси кўпинча текширилувчи культурани*Actinomyces* зотига киритиш имконини беради.

Культураларни туригача идентификация қилиш уларнинг биокимёвий ваантигенлик хусусиятлари асосида олиб борилади (55-жадвал).Иммунфлюоресцент усул билан текшириш тез ва специфик натижаларберади.

15,10-жадвал

Актиномицет авлоди вакилларининг дифференциал белгилари

Белгилари	A. bovis,	A. israelii	A.viscosus	A.naeshundii
Аэроб шароитда ўсиши	+	–	+	+
Микроколонияси:				
ўргимчаксимон	–	+	+	+
силлиқ	+	–	–	–
Крахмални гидролизи	+	–	–	–
Каталаза	–	–	+	–
Уреаза	–	–	+	+
Арабиноза	–	+	–	–
Инозит	–	+	+	+
Ксилоза	–	+	–	–
Маннит	–	+	–	–

Серодиагностика: КБР бемор қони зардоби ва кўп валентлиактинолизатдан иборат антиген билан қўйилади. 80% беморларда мусбатреакция кузатилади.

Тери аллергик синамаси. Актиномицетлардан олинган экстракт биланқўйилади.

Сил, мохов ва актиномикозларда қўлланиладиган диагностик,профилактик ва даво препаратлари.

Қуруқ соф туберкулин. Микобактерияларнинг бульондаги культураларфильтратидан оқсилларни чўктирувчи кимёвий моддаларнинг қўшилиши,сўнгра тозаланиши натижасида олинган препаратдир. Тери аллергиксинамасини (Манту реакцияси) қўйишда қўлланилади.

БЦЖ вакцинаси француз олимлари Кальметт ва Геренлар томониданолинган бўлиб, сил микобактерияларининг нопатоген штаммини лиофилтарзда қуритиб олинган тирик культурасидир. У силнинг махсуспрофилактикаси учун тери орасига (туғруқхонада 2- 5 кунлари 0.05 мг ёки0,1 мл) юборилади.

Силни даволаш учун қўлланиладиган антибиотик ва химиятерапевтикпрепаратлар. Биринчи тартибдаги силга қарши асосий препаратларга:стрептомицин, ПАСК ва ГИНК, тубазид, фтивазид, меназидлар; иккинчитартибдаги препаратларга — циклосерин, канамицин, этионамидлар киради.Беморларни даволашда касалликнинг клиник характеристикаси ва силмикобактерияларининг дори препаратларига сезувчанлигини ҳисобга олганҳолда одатда биринчи ва иккинчи тартибдаги препаратлар биргаликдақўлланилади.

Актинолизат. Актиномицетларнинг ўз-ўзидан эриган штаммларинингбульонли культураси фильтратидир. Махсус иммунотерапияда ва КБР учунантиген сифатида қўлланилади.

Ўлдирилган поливалентактиномицет вакцинаси. Актиномицетларнингспора ҳосил қилувчи штаммларидан тайёрланади. Даволаш мақсадидақўлланилади. Антибиотик ва химиотерапевтик препаратлар: тетрациклин,стрептомицин, левомицетин, ристомицин, канамицин, сульфаниламидлар.

16 БОБ. ИЧАК ИНФЕКЦИЯЛАРИ ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ

Ичак инфекциялари қўзғатувчилари *Enterobacteriaceae* оиласига киради. Буоилага ҳозирги кунда 37 дан кўпроқ авлодлар киритилган ва 100 ортиқ турларимаълум. Бу бактериялар вакиллари табиатда энг кўп тарқалган бактериялархисобланади. Уларнинг баъзи авлодлари одам ва ҳайвонларда ичакинфекциялари қўзғатувчилари

(*Escherichia, Klebsiella, Salmonella, Shigella, Iersinia)* ҳисобланса, баъзилари эса шартли патоген (*Proteus, Citobacter,Enterobacter, Providencia, Hafnia, Edvardsiella, Morganella, Serratia, Ewengella)*қолган турлари (*Budvica, Leminorella, Cedecae, Kluyvera, Koserella, Rohnella)*сапрофитдир.

16,1-жадвал

***Enterobacteriaceae* оиласи бактерияларининг юқумли касалликлар келтириб чиқариши**

Касалликлар	Қўзғатувчилари		Текшириш учун материал
	Кўп тарқалган	Кам тарқалган	
Ич кетиш (диарея)	*E.coli, Salmonella, Shigella*	*Iersinia* турлари	Нажас, тўғри ичакдан суртма ва қон зардоби (серодиогностикага)
Қорин тифи ва паратифлар	*S.typhi,S.para typhi A.B*	–	Нажас, қон ва суяк кўмиги
Ўлат	*Iersinia pestis*	–	Бубондан йиринг, қон, балғам
Септицемия	*E.coli*	*Salmonella* турлари	Қон
Бактериемия	*S.typhi, Klebsiella Enterobacter* турлари	*I. pestis ва Shigella, Proteus, Serratia*	Қон
Менингит	*E.coli,*	*S.typhi, Serratia Salmonella,* турлари	Орқа мия суюқлиги
Сийдик йўллари инфекцияси	*E.coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter*	*Serratia* турлари	Сийдик
Жароҳат инфекцияси	*E.coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter*	*Serratia* турлари	Йирингли ажралмалар
Юқори нафас йўллари касалликлари	*Klebsiella, Serratia Enterobacter* турлари ва *E.coli*	*S.typhi, Salmonella, Proteus, Iersinia* турлари	Балғам, плеврал суюқлик,, қон
Остеомиелит ва артритлар	*Salmonella, Iersinia* турлари	*Serratia* турлари	Синовиал суюқлик
Мезинтрал лимфоденитлар	*Iersinia* турлари	-	Мезинтрал лимфо тугунларидан биоптат

Энтеробактериялар асосан ҳаммаси грамманфий таёқчалар бўлиб,кўпчилик вакилларида перитрих хивчинлари мавжуд (ҳаракатчан), капсулаҳосил қилмайди (клебсиелла, иерсиниялардан ташқари) спораси йўқ.Энтеробактериялар аэроб ва факультатив анаэроб, кўпчилик вакиллари озиқмуҳитларга талабчан эмас, оддий муҳитларда яхши ўсади. Хемоорганотроф,углеводларни

ферментация йўли билан парчалаб, ўзлаштиришади. Шунингучун бу группа бактерияларни “ферментация” қилувчи бактериялар гуруҳигаклассификацияда киритилган. Бу бактерияларда каталаза мусбат оксидазаманфий ҳисобланади.

Ичак юқумли инфекциялари қўзғатувчиларини аниқлаш катадиагностик ва эпидемиологик аҳамиятга эгадир.Бу касалликниинг клиник диагнозини тасдиқлаб, бактерияташувчиларни, юқиш манбалари ва ўтиш йўлларини аниқлаш,эпидемияга қарши ўз вақтида чоралар кўриш имконини беради.Касаллик қўзғатувчининг турини аниқлашда бактериологик текширувасосий (баъзи ичак инфекцияларида қорин тифи, паратифлар, ичбуруғ вабошқ. эса ягона) усул ҳисобланади.Чунки ичак касалликларининг клиник кечиши, ҳар доим ҳам аниқдиагноз қўйиш имконини бермайди.

16.1. Эшерихиозлар келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси

Escherihia авлодига 7 тур критилган. Булардан *E. coli* тури амалий аҳамиятга эга ва улар патогенлик хусусиятига қараб бўлинади:

1) шартли патоген (нормал микрофлора таркибига киради);
2) патоген (диареген).
3) шартли патоген (нормал микрофлора таркибига киради)

Эшерихиялар келтириб чиқарувчи касалликлар ҳам 2 груҳга бўлинади:

1)эндоген колиинфекциялар; организмнинг иммун реактивлиги пасайганда, нормал флорасида учровчи эшерихиялар келтириб чиқаради;

2) экзоген колиинфекция – эшерихиозлар. Булар типик ичак инфекция қўзғатувчилари, патоген *E.coli*нинг сероваринтлари келтириб чиқаради , организмга ташқаридан (экзоген) юқади. Асосий касаллик манбаси-одам. *E.coli* нинг патоген касаллик келтириб чиқаруви серологик типлари 56-жадвалда келтирилган.

16,2-жадал

***E.coli* ни одамларда касаллик келтириб чиқарувчи сероварлари.**

Жарохатлаши	Серогруппалари		
	О - антиген	Н - антиген	К - антиген
Ичакда Энтеротоксиген (Е.Т.Е.С)	О6, О8, О11, О15, О27, О63, О78, О80, О85, О114, О115, О126, О128 ас, О139, О148, О153, О159, О166, О167	Н4, Н7, Н9, Н11, Н12, Н19, Н20, Н21, Н28, Н40.	
Энтеропатоген (Е.П.Е.С)	О18, О26, О44, О55, О86, О111ав, О112, О114, О119, О125ас,О127, О128ав, О142, О158	Н2, Н6, Н7, Н11, Н12, Н14, Н18	
Энтероинвазив (Е.Э.Е.С)	О28ас, О29, О112ас, О115, О124, О135, О136, О143, О144, О152, О164, О167,		
Энтерогеморагик (Е.Г.Е.С)	О26, О111, О157	Н6, Н7, Н8, Н11	
Сийдик таносил йўлларида касаллик келтириб чикарувчи (E.coli)	О1, О2, О4, О6, О7, О8, О11, О18, О22, О25, О62, О75	-	К1, К2, К5, К12, К13.
Бактериемия келтириб чикарувчи (E.coli)	О1, О2, О4, О6, О7, О8, О9, О11, О18, О22, О25, О62, О75,	-	К1, К2, К5, К12, К23,
Менингит келтириб чикарувчи (E.coli)	О1, О6, О7, О16, О18, О83	-	К1

ЭТЕК- *E.coli*нинг энтеротоксиген сероварианлари одамда вабога ўхшаш диарея ватоксикоинфекцияларни келтириб чиқаради. Бу бактериялар термолабил ватермостабил энтеротоксин ишлаб чиқаради. Токсин ишлаб чиқаришинимўътадил фаглар бошқаради.

ЭПЕК- *E.coli* нинг энтеропатоген сероварианлари асосан болаларда диареякелтириб чиқаради. Ҳамма сероварлари плазмид тутади, бу плазмидлар ичакмикроворсинкаларини эпителий ҳужайраларига бирикиб (адгезия) қилувчимахсус оқсил структуралари синтез қилади. Бу сероварианлариэнтероинвазивлардан фарқ қилиб эпителий ҳужайраларига кирмайди. Касалликболаларда оғир ўтади.

ЭИЕК- *E.coli* нинг энтероинвазив сероварианлари одамда ичбуруққа ўхшашкасаллик келтириб чиқаради. Булар ичбуруққа ўхшаб ичакнинг эпителийҳужайраларига кириб кўпаяди.

16,3-жадвал

***E.coli* нинг асосий биокимёвий хусусиятлари**

Симмонс цитрати	–	Кристенсен цитрати	±	Инозит	±
Уреаза	–	Ацетон ҳосил қилиши	–	Ксилоза	±
Натрий малонат	–	Желатина гидролизи	–	Лактоза	±
H_2S	–	Аргинин дегидролаза	±	Маннит	±
Фенилаланин	–	Орнитин декорбаксилаза	±	Рамноза	±
Натрий ацетат	–	Адонит	±	Рафиноза	±
Ҳаракатчанлиги	±	Арабиноза	±	Салицин	±
Лизин декорбаксилаза	±	Глюкоза	±	Сахароза	±
Метилен кизил б-н реак.	+	Дульцит	±	Сорбит	±

ЭГЕК- *E.coli* нинг энтерогеморрагик сероваринтлари одамларда оғир ўтувчигеморрагик колитни келтириб чиқаради.

E.coli нинг бошқа кўплаб сероваринтлари йирингли яллиғланиш касалликларига сабаб бўлади.

Энтеропатоген *E.coli* келтириб чиқарувчи юқумли касалликларнинг микробиологикдиагностикаси 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 (12-рангли схема). Материал тампонни ўзи билан ёки қовузлоқ билан Эндо, Плоскирев, Левин муҳитларидан бирига экилади ва термостатга 37º 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. 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 қўзғатувчиларидан 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 натижабўлса даслабки чамали жавоб берилади. Соф культура ажратиб олиш учун бир нечта агглютинация мусбат колониялардан уч қандли Клигер муҳитига экилади ва термостатга қўйилади.

3-кун. Клигер муҳити кўздан кечирилади. Бу муҳитда нормал ичак таёқчалари углеводларни (глюкоза, лактоза ва сахароза) кислота ва газ ҳосил қилиб парчалайди, муҳитни ранги сомон рангига киради, кўп газ ҳосилқилганлиги учун агар устунчалари ёрилиб кетади. Водород сульфид ва мочевинани 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 ҳ.к) сероидентификация қилинади. Мусбат натижа олинган ҳолда, пробиркаларда тегишли ОК зардоблар билан кенгайтирилган агглютинация реакцияси қўйилади.

Кенгайтирилган агглютинаци реакциясини қўйиш. Бунинг учун икки қаторда агглютинация берган ОКА ёки ОКВ қон зардоблар суюлтирилади 1:1600 маротабагача (11- схема). 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 70-80º 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-куни ҳамма олинган натижалар ўрганилиб керак бўлган тақдирда қўшимча биокимёвий хусусиятлари, антибиоткларга сезгирлиги ўрганилади (57-жадвал) ва якуний жавоб берилади.

16.2. 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.

16,4-жадвал

Иерсинозларни диференциал белгилари

Белги ва хусусиятлари	I. pestis	I. pseudotuberculosis	I. enterocolitica
Ҳаракатчанлиги	–	+	+
Индол ҳосил қилиши	–	–	±
Ацетон ҳосил қилиши	–	–	±
Симмонс цитрати	–	–	–
Уреаза активлиги	–	+	+
Орнитин декорбаксилаза	–	–	+
Мелибиозани парчалаши	±	+	–
Рамноза парчалаши	–	+	–
Рафиноза парчалаши	–	±	–
Мукатни парчалаши	–	–	–
Сахароза парчалаши	–	–	+
Сорбит парчалаши	–	–	+

I. enterocoliticaтабиатда 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.

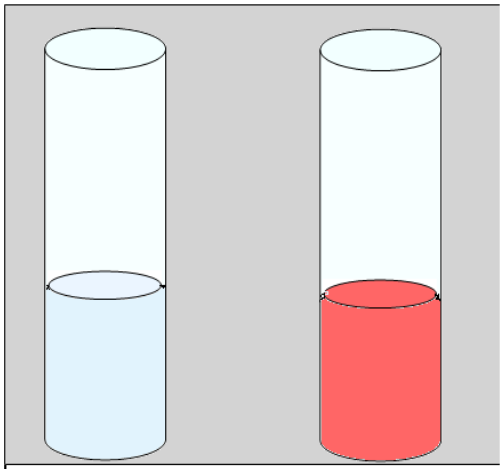
I. pseudotuberculosisнинг табиий манъбаси асосан хонаки ва ёввойи ҳайвонлар ҳисобланади. Касаллик одамларда ўткир мезентериал аденит кўринишида ўтади, кўпроқ аппендицит синдромлари кузатилади.

Бактериологик текширув. 1 кун. Касаллардан патологик материал (нажас, сийдик, қон, қусуқ, секцион материал ва бошқ.) 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, Левин муҳитларини бирига экилади ва термостатга 37ºС 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 грамманфий 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 (58-жадвал) ўрганилади. *I.enterocolitica* ни псевдотуберкулёздан фарқлашда Фогес-Проскауэр реакцияси (ацетон ҳосил қилиши) турли температурали режимда қўйилади. *I.enterocolitica* 25ºС да ўсганда Фогес-Проскауэр реакцияси мусбат, 37ºС эса маънфий бўлади. *I.pseudotuberculosis* ҳар қандай температура режимида ҳам ацетон ҳосил қилмайди. Реакцияда *I.enterocolitica* муҳитдаги глюкозани



Расм 79. Фогес-Проскауэра реакцияси I. enterocolitica культураси билан. 37ºС да (чапда) маънфий ва 25ºС да ўсганда (ўнгда) мусбат.

ацетон (ацетилметилкарбинол) ҳосил қилиб парчалайди ва муҳит таркибидаги α-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 диагностикуми 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 диагностикум томизилади ва термостатга 2 соатга қўйилади ва натижаси кўрилади. Реакциянинг диагностик титри 1:400 ва ундан ошиқ бўлиши керак.
парчалайди ва муҳит таркибидаги α-нафтол билан бирикиб муҳитни қизил рангга киритади.

Эслатма: ҚЗ-қон зардоб; ЭД-эритроцитар диагностикум; ДК-диагностикум контроли. Расмдан кўриниб турибдики касалнинг қон зардобидан *I.enterocolitica* ни О3 серологик варианти БГАР да диагностик (1:800) титрни берди, яъни бемор *I.enterocolitica* ни О3 серологик варианти билан оғриган экан.

16.3. Қорин тифи ва паратиф А ва В қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси

Қорин тифи паратифлар *Salmonella* авлодига ва бунга битта тур Salmonella entrica (entritilis) киради. Бу турга ҳозирги кунда 7 та кенжа турлар (*Sal. choleraesuis, Sal.salamae, Sal.arizonae, Sal.diarizonae, Sal.houtenae, Sal.indica, Sal.bangori*) киритилган. Иссиқ қонли ҳайвонлар учун патогенлари *Sal. choleraesuis, Sal. salamae* ҳисобланади. Кенжа тур *Sal.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 *Sal.typhi* тури деб кўрсатдик, аммо ҳозирги классификация бўйича қорин тифи *Salmonella enetrica* турига, *choleraesuis* кенжа турига ва *typhi*

сероварига киради. 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.

16,5-жадвал

Сальмонеллаларни серологик таснифи

Серо-группалари	№	Серотиплар	О-антиген	Н-антиген	
				I фаза	II фаза
A	1	S.paratyphi A	1 2 12	a	-
B	1 2	S.paratyphi B S.typhimurium	1 4 5 12 1 4 5 12	b i	1,2 1,2
C	1 2	S.paratyphi C S. choleraesuis	6 7 Vi 6 7 -	C C	1,5 1,5
D	1 2	S.typhi S.enteritidis	9 vi 12 1 9 12	a g, m	- -
E	1 2	S.london S.anatum	3 10 - -	l, v e, h	1,6 1,6
F	1	S.aberdeen	11	i	1,2

51- 67.

Бактериологик текширув. (13-рангли 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 Раппопорт муҳитига асептика

қоидаларига қатъий 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. Раппопорт 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 Раппопорт муҳитида ўсган культурадан соф культура ажратиб олиш учун Рассел, Эндо ёки Плоскирев муҳитларига экилади (Рассель муҳити ўрнига Клигер муҳитни қўллаш мумкин).

Рассель муҳити таркибига: озиқли агар, 1% ли лактоза, 0,1% ли глюкоза ва Андреде индикаторлари киради. Муҳит пробиркаларда шундай тайёрланадики, 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, мочевина, баъзи бир тузлар ва индикатор — водород сульфидни аниқловчи ва фенол қизили киради)

3-куни 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 куни ажратиб олинган культура антибиотикларга, фаготипларга сезгирлиги ва зарур бўлган тақдирда бошқа кенгайтирилган биохимик тестларни ўрганиш учун ҳам экилади (13-рангли схема).

4-кун Якуний жавоб, «ола-чипор» қатордаги ўзгаришлар (13-рангли схема) 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 қўзғатувчисини маркировка (белгилашда) қилишда фойдаланиш мумкин.

Фаготипни аниқлаш. Стандарт Vi-фаглар тўплами ёрдамида *S.typhi* нинг 78 тача типи аниқланади.Бунда зарур шартлардан бири культураларда Vi-антигенининг мавжудлигидир. *S.scnottmuelleri* культуралари II фаготип ва кенжа типларга ажралади.

Копрокультураларнинг олиниши. Бунда текширилувчи нажас дифференциал-диагностик муҳитлардан бирига экилади (Эндо, висмут сульфит агар ёки Плоскирев). Экиш учун қовузлоқда 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 қўзғатувчи микробларни текширилувчи материалда жуда кам миқдорда учраган ҳолларда ҳам ажратиб олиш мумкин. Экмалар 18—20 соат давомида 37°С 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 қуйилади. 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 қуйилади. 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 кузатилмайди. 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 -Видаль агглютинация реакцияси қўлланилади. Бу беморлар қон зардобида, касалликнинг биринчи ҳафтаси охирлари 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 диагностикумлари билан қўйилади.

Қорин тифи монодиагностикумлари 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 «юқумли Видаль» реакциясини «эмлаш оқибатидаги» реакциядан фақат беморларни касаллик жараёнида қон зардобидаги АТ лар титри ортишидан фарқлаш мумкин. Эмланганларда АТ титри динамикада қўйилганда ошмайди.

Видаль 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 кўрсатилган. Ҳар бир диагностикумнинг контроли учун пробиркаларга 1 мл дан натрий хлориднинг изотоник эритмаси қуйилиб, унга 2 томчидан диагностикум қўшилади. 1 мл зардоб солинган (диагностикумсиз) контрол пробиркада чўкмалар бўлмаслиги керак.

Спонтан (ўз-ўзидан) агглютинация содир бўлган ҳоларда реакция натижаси инобатга олинмайди. Видаль реакциясининг диагностик титри 1:200 га тенгдир.

Реконвалецентлар 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 сенсибилизация қилинган 1 (О) 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 суюқлик 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. Қон зардоби эритроцитли Vi-диагностикум билан ПГАРда мусбат натижа берган барча шахслар қорин тифи бактерияси ташувчилар сифатида шубҳаланилиб, бир неча маротаба бактериологик текширувдан ўтказилади.

16.4. Дизентерия (ичбуруғ) қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси

Дизентерия (ичбуруғ) касаллигини Shigella авлодига мансуб бўлган микроорганизмлар келтириб чиқаради Шигеллаларнинг замонавий классификацияси 60 -жадвалда келтирилган.

16,6-жадвал.

Shigella авлодига мансуб бўлган микроорганизмларни халқаро классификацияси

Кенжа гурух	тур	Серовар	Кенжа серовар	Қискартирилган антиген формуласи
A	Sh. dysenleriae	1-10	–	–
B	Sh. flexneri	1	la, 1б	I : 4 I : 6
		2	2а 2б	II : 3,4 II : 7,8
		3	3а 3б	III : 6,7,8 III : 3,4,6
		4	4а, 4б	IV : 3,4 IV : 6
		5	5а,5б	V : 7,8
		6	–	VI;
		X- вариант*		-7, 8
		Y –вариант**	–	-3,4
			–	
	Sh. boydii	1—15	–	
	Sh. sonnei	–	–	

*-авлодга мансублиги тўлиқ аниқланилмаган.
**-типга мансуб антигенидан айрилган (гуруҳга мансуб Аг билан идентификация қилинади)

Бактериологик текширув 1-куни. (13 -схема). Беморнинг текширилаётган нажасларда йирингли ёки шиллиқ 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 37ºС термостатга қўйилади. Экилган материални қолган қисми кўпайтирувчи селенит муҳитига экиб қўйилади.

2-куни. Плоскирев ёки Эндо муҳитларида ўсган дизентерия қўзғатувчисини культурал хусусиятлари ўрганилади. Дизентерия қўзғатувчиси 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.

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 (63-жадвал). Ферментатив жиҳатдан энг пассив *Sh.dysenteriae* тури ҳисобланади. Бу тури фақат глюкозани газ ҳосил қилмасдан кислотагача парчалайди. Ҳамма серотиплари маннит манфий ҳисобланади.

16,7-жадвал

Шигеллаларнинг асосий биокимёвий хусусиятлари

Симмонс цитрати	−	Кристенсен цитрати	−	Инозит	−
Уреаза	−	Ацетон ҳосил қилиши	−	Лактоза	−
Натрий малонат	−	Желатина гидролизи	−	Сорбит	±
H_2S	−	Индол ҳосил қилиши	±	Маннит	±
Фенилаланин	−	Орнитин декорбаксилаза	±	Рамноза	±
Натрий ацетат	−	Адонит	−	Рафиноза	−
Лизин декарбоксилаза	−	Глюкоза	+	Салицин	−
Метилен қизил б-н реак.	+	Дульцит	±	Сахароза	±

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.sonnei буларнинг ичида энг биохимик жиҳатдан активи ҳисобланади. Характерли хусусияти 5-6 суткалада сахароза ва лактозани ҳам парчалайди.

Олинган соф культура билан буюм ойнасида поливалентли ва моновалентли агглютинацияга учратувчи қон зардоблар биланагглютинация реакцияси қўйилади ва серологик юқоридаги ферментатив хусусиятлари натижаларга асосланиб якунловчи жавоб берилади.

Серодиагностика. Дизентериянинг ноаниқ формалари диагнозини ретроспектив асослашда ҳамда касаллик қўзғатувчиси турини аниқлашда қўлланилади. Агглютинация реакцияси, Видаль, 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.

16.5. Вабо қўзғатувчиларининг 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. Буларгақуйидагитурларикиради: *V.parahaemolyticus; V.vilnificus; V.algenolyticus; V.mimicus* вабошқалар.

Vibrio cholerae турига 4 табиоваркиради:

- *Vibrio cholerae* – классиквабоқўзғатувчиси;
- *Vibrio cholerae* El-tor – 1906 йили Готшлехтпандемиядавридатопган.
- *Vibrio cholerae-proteus* - O1 данташқариҳаммагуруҳларини ўзичигаолади.
- *Vibrio cholerae-albensis* – нуртарқатувчивибриондебҳаматалади.

1993 йилда Жанубий шарқий осиёда 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 кўрилиши зарур. Вабонинг лаборатория диагностикаси бактериоскопик ва бактериологик текширувлар билан ўтказилади. Диагноз қўйишнинг қийинлиги, вабо вибрионларннинг биоварларига ўхшаш табиатда кенг тарқалган ва одам учун зарарсиз бўлган вибрионларни (Мечников, Финклер, Приор ва бошқа вибрионлари) ҳақиқий вабо вибрионларидан ажрата билишликдадир.

Бактериоскопик текширув (15-схема) **1 куни.** 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 вақовузлоқ билан аралаштирилиб “эзилган” ёки “ осилган” томчи препарати тайёрланиб, қоронғилатилган ёки фазо-

контраст мосламали микроскопда кўрилади. Агар тахмин тўғри бўлса, 3-5 минутдан кейин вибрион ҳаракатсизланади.

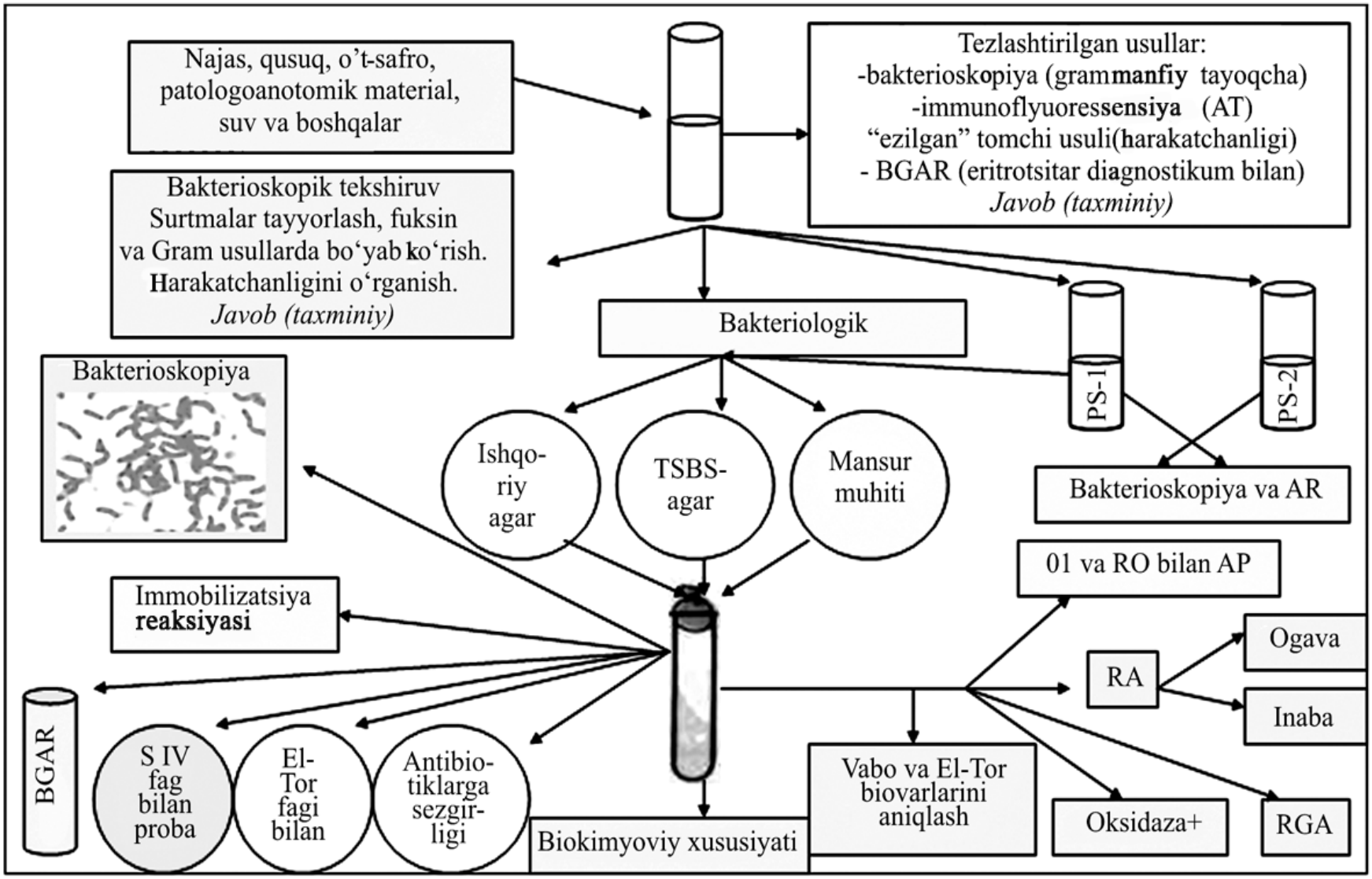
2. **Иммунфлюоресцент усул.** Текширилаётган материалга (нажас, қусуқ) флюоресценция қилувчи вабога қарши зардоб билан ишлов берилади ва люминесцент микроскоп остида текширилади. Препаратда, вабо вибриони бўлса, ҳатто бир нечта бўлса ҳам, ҳужайра атрофини гардишга ўхшаб ўраб тиниқ яшилнур таратиб турган вабо вибрионининг кўриниши тахминни тасдиқлайди.

Ижобий натижани текшириш бошлангандан 2-6 соат ўтгач ҳам олиш мумкин, қачонки вибрионлар 1 млда 10^6даражасигача кўпайган бўлса. Бунинг учун материални 1 % пептонли сувдан олиш мумкин.

3.БГАР қўйиш. Пептонли сувни юзасидан олиниб пробиркалардан биттасига қуюлади, иккинчи пробиркага эса физиологик суюлик контрол сифатида олинади.Ҳар иккала пробиркага ҳам вабонинг эритроцитар диагностикуми 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 озиқли (Ишқорий агар, TCBS-агар, Мансур муҳити) агарларга экилади. Пептонли сувга экилганларини 37°С 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 препаратларитайёрланади. 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 сина-масини ўтказиш учун бошқа пробиркага қуйиб олинади ва устига бир неча томчи сульфат кислота қуйилади.



16.8-схема. Вабонинг бактериологик диагностикаси

Агар натижа ижобий бўлса, вабо вибриони таъсирида ажралган индол ва нитратлардан нитрозаиндол ҳосил бўлиши нати-жасида пушти ранг пайдо бўлади.

Текшириш натижасидан қатъий назар, материал иккинчи пептонли сувга экилади. О1-зардоб билан агглютинация берувчи грамманфий 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 озиқли 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 охирги 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 белги-ларини 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 62-жадвалда келтирилган.

Вабо вибрионларини ажратиб 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.

16,9-жадвал

Вабо вибрионларини дифференсация қилиш учун тестлар

Тестлар		Vibrio cholerae	Vibrio cholerae El-tor	Серовар 139 (Бенгал)	НАГ вибрионлар
Углеводларни ферментацияси	лактоза	–	–	–	–
	глюкоза	+	+	±	±
	сахароза	+	+	–	–
	манноза	+	+	–	–
	арабиноза	–	–	±	±
	сорбит	–	–	±	±
Протеолитик хусусияти	желатинани емириши	+	+	±	±
	нитратни нитритгача тиклаши	+	+	±	±
	сутни ивитиши	+	+	±	±
О1 қон зардоб билан АР		+	+	–	–
Огава ва Инаба қон зардоблари билан АР		+	+	–	–
Фаглар билан лизиси:					
С (IV фаг) фаги билан лизис		+	–	–	–
Эль-Тор фаги билан лизис		–	+	–	–
Фогес-Проскауэр реакцияси		–	+	±	±
Товуқ эритроцитлари билан агтл.		–	+	±	±
Қўй эритроцитлари гемолизи		–	+	±	±
Полимиксинга сезгирлиги		+	–	–	–
Гексаминли тест		–	+	±	±

16.6. Овқатдан заҳарланишни келтириб чиқарувчи микроорганизмларва уларнинг микробиологик диагностикаси.

Овқат орқали заҳарланишлар икки хил кўринишда бўлиши мумкин. Биринчи кўриниши микроорганизмларга таълуқли бўлмаган, буларни ўз навбатида химиявий, биологик факторлар келтириб чиқаради. Бу касалликларнитиббиётнинг махсус бўлимларида ўтилади. Иккинчи хил заҳарланишларга 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 заҳарланишларни 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 қўзғатувчилари салмонеллалардир. 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 қўзғатувчиларининг кўп миқдорда кўпайиши ва бактериал ҳужайранинг парчаланиши кўп миқдорда эндотоксин ажралишига сабаб бўлади. Бу эса ингичка ичакнинг интрамурал нейрорецептор аппаратига, қорин бўшлиғининг периферик томирларига таъсир қилади ва бу ичак деворида нейродистрофик ўзгаришига ва боғлиқ аъзо ҳужайраларининг жароҳатланишига олиб келади. Овқат токсикоинфекцияларида меъда-ичак йўллари, кўпинча қўзғатувчилардан тезликда, айрим ҳолларда эса, касал бошлангандан бирнеча соат ўтгач, озод бўлади. Бироқ, 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 диагностикада 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 заҳарланиш 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 заҳарланишда овқат таркибида тирик қўзғатувчиларнинг бўлиши шарт эмас, чунки касаллик уларнинг токсини билан ҳам вужудга келиши мумкин. Овқатдан заҳарланишнинг 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 турилган-дан кейин, дифференциал муҳитли косачаларда бактерияларнинг культурал, тинкториал хусусиятлари, қиялантирилган озиқли агардаги протей учунхарактерли «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 қўзғатувчи 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 қон 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 организмидан 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 қовузлоқ билан ҳаракатчанликни аниқлаш учун «эзилган» томчи препарати ва суртма тайёрланади. Суртма Грам усули билан бўялади ва микроскоп остида кўрилади.

16,10-жадвал

Сальмонеллаларнинг биокимёвий хусусиятлари ва антиген тузилиши

О-Аг гуруҳи	Серовар турлари	Парчалаши					Ҳосил бўлиши		Антигенлари		
		Глюкозани	лактозани	маннитни	сахарозани	дульцитни	индол	H_2S	О-Аг	Н-Аг	
										I-фаза	II-фаза
B	S. typhimurium	+	–	+	±	+	–	+	1,4 5,2	1	1,2
	S. derby	+	–	+	+	+	–	+	1,4 12	f, g	–
	S. heidelberg	+	–	+	+	+	–	+	4,5 12	r	–
C	S. cholraesuis	+	–	+	+	±	–	±	6,7	c	1,5
	S. newport	+	+	+	+	+	–	+	6,8	e, h	1,2
Д	S. enteritidis	+	–	+	+	±	±	+	1,9 12	g,m	–
E	S. anatum	+	–	+	+	+	–	+	3,10	e, h	1,6

Ажратиб олинган соф культура «ола-чипор» қаторга экилгандан сўнг биокимёвий белгилари асосида протейнинг тури ва бошқа белгилари аниқланади (62-жадвал).

Овқат интоксикацияси. Текшириш учун материал: касалнинг қусуғи, меъда чайиндиси ва овқат қолдиқлари (кўп ҳолларда крем, қаймоқ, музқаймоқ) ҳамда гўшт маҳсулотларида стафилококклар яхши ривожланади.

16,11-жадвал

Proteus авлоди вакилларининг бир-бирларидан фарқланиши

Белги хусусиятлари		P. mirabilis	P. myxofaciens	P. penneri	P. vulgaris
Парчалаши	мальтозани	–	+	+	+
	сахарозани	± (кўпроқ –)	+	+	+
	ксилозани	+	–	+	+
	желатинани эритиши	+	–	–	+
Ҳосил қилиши	H_2S ҳосил қилиши	+	–	–	+
	Индол ҳосил қилиши	–	–	–	+
	Ацетон ҳосил қилиши	±	+	–	–
	Орнитин декарбокси-лаза ҳосил қилиши	+	–	–	–
Цитратни ўзлаштириши		±	–	+	± кўпроқ(-)

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.perfringensнинг 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 чўчқачаларининг 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.perfringens*нинг антитоксинли зардоблар билан нейтраллаш реакцияси қўйилади.

Cl.perfringens соф культурасини олиш учун, анаэроб бактерияларни аниқлайдиган усуллардан фойдаланилади (21-мавзуга қаралсин).

Ботулизм — инфекционоғир ўтувчи касаллик бўлиб, организмнинг *Clostridium botulinum* заҳарини озиқ- овқатлар орқали тушиши натижасида кузатилади, касаллик асосан марказий нерв системасининг жароҳатланиши билан боради.

Морфология ва тинкториал хусусияти. Ботулизм қўзғатувиси таёқчасимон кўринишга эга бўлиб ўлчами 3-9 мкм, кўндаланг кесими 0,6-1 мкм. Таёқча субтерминал ойлашган спора ҳосил қилади, теннис рокеткасини эслатади. Капсула ҳосил қилмайди, перитрих-харакатчан. Граммусбат.

Културал хуусияти.*C. botulinum*- қаътий анаэроб. Оптимал ўсиш температураси 25-35 °С, рН муҳити 7,2—7,4. Қонли агардаунча катта бўлмаган тиниқ гемолиз зонали колония ҳосил қилади. Устунча қилиб қуйилган пробиркадаги агарда *C. botulinum* чечевица уруғини эслатувчи колония ҳосил қилади.

Антиген хусусияти. *C. botulinum* қўзғатувчиси антиген хусусияти бўйича 7 серовари учрайди — A, B, C, D, E, F, G, булардан A, B, E сероварлари кенг тарқалган.

Патогенлик факторлари. *C.botulinum* экзотоксин ишлаб чиқаради, биологик токсинлар ичида энг кучлиси ҳисобланади. Одам учун ўлдирувчи дозаси 0,3 мкг тенг. Ботулизм экзотоксини кучли нейротоксик ва гемагглютинация қилиш хусусиятига эга. Унинг асосий хусусиятларидан бири (юқори температурага 10—15 мин 100 °С, нордан реакцияга, юқори концентрациядаги ош тузига,музлатишга ва ошқозон ичак ферментларига) чидамли.

Микробиологик диагностикаси.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 чўчқачаларига (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.botulinumнинг 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, сичқонларўлмай қолади.

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 эшерихийларнинг тегишли серогруппа антигенлари билан қуёнларни эмлаш йўли орқали олинган. Энтеропатоген эшерихийларни 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 сальмонеллёзли О- ва Н- агглютинация берувчи зардоблар. Булар ҳам худди олдинги кўрсатилган усуллар бўйича олинган. Сальмонелла серогруппалари ва сероварларини агглютинация реакцияси билан аниқлашда қўлланилади.

Сальмонеллёз 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 (Видаль 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 килинган 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, текширилаётган материалдан токсин серотипларини сичқонларда нейтраллаш реакцияси ёрдамида аниқлаш учун ишлатилади.

Эритроцитар диагностикумлар. Шигеллалар, қорин тифи (Vi-эритрацитар) иерсениозлар ва вабони серологик диагностикасида қўлланилади.

Тиф-паратиф-қоқшол адсорбция қилинган кимёвий вакцина. Қорин тифи, паратиф А ва В ларнинг қўзғатувчиларидан 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 қўзғатувчиларининг соф ҳолдаги анатоксинини тутади.

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, қуруқ ҳолда ишлаб чиқарилади. Вабонинг махсус профилактикасида қўллани-лади.

Қорин тифининг кўп валентли бактериофаги. Таблетка ҳолда бўлиб, кислотага чидамли қобиқ билан қопланган. Қорин тифи касаллигининг олдини олишда қўлланилади.

Дизентериянинг кўп валентли бактериофаги. Таркибида Флекснер ва Зонне шигеллаларини эритувчи фаглар сақлайди. Булар ҳам кислотага чидамли, қобиқ 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* М17 штамминиг қуритилган ҳолдаги тирик ҳужайраларини 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 ҳужайраларининг лиофил усули билан қуритилган аралашмаларидан иборат. Препарат болаларда дизентерия ва қўзғатувчиси номаълум бўлган сурункали ичак инфекцияларини даволашда қўлланилади.

Бификол. Бу *E.coli* MI7 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.

17 БОБ.ЎТА ХАВФЛИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИК ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ МИКРОБИОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

Ўта хавфли юқумли касалликларга карантин (конвенционные)инфекциялари критилган бўлиб, бу касалликлар бўйича халқаро санитар шартномалар (конвенция - лот. conventio — шартнома, келишув) тузилади. Шартнома беморларнинг ҳаракатини чеклайди. Давлат томонидан касаллик чиққан худудда карантин эълон қилинади, кўпчилик ҳолларда карантин фаолияти учун харбий кучларни жалб қилинади.

Карантин инфекциялар рўйхати:1) полиомиелит; 2) ўлат (ўпка шакли);3) вабо; 4) чин чечак; 5) сариқ иситима; 6) Эбола ва Марбург иситимаси; 7) грипп (янги подтипи); 8) ўткир респиратор синдром (ТОРС) ёки Sars.

Халқаро назоратга муҳтож бўлган ўта хавфли юқумли касалликлар рўйхати: 1) тошмали тиф ва қайталама тиф; 2) грипп (янги подтипи); 3) полиомиелит;4) малярия (безгак); 5) вабо; 6) ўлат (ўпка шакли); Ласс, Марбург, Эбола, Ғарбий Нил иситимаси.

Минтақавий (миллий) назоратга муҳтож бўлган ўта хавфли юқумли касалликлар рўйҳати: 1) ОИТС; 2) куйдирги, манқа;3) мелиоидоз; 4) туляремия; 5) бруцеллез; 6) риккетсиоз; 7) орнитоз; 8) арбовирус инфекцияси; 9) ботулизм; 10) гистоплазмоз; 11) менингококк инфекцияси; 12) денге ва Рифт-Валли иситимаси.

Зооноз ўта хавфли юқумли касалликлар. Зоонозлар табиий шароитда одамлар ва ҳайвонларга хос бўлган юқумли касалликлар ҳисобланади (БССБ 1991). СНГ давлатларида зооноз юқумли касалликлар (190 назологик формада) қаторига, бир гуруҳ касалликлар киритилган бўлиб, уларнинг таббиий манбаси асосан уй, яввойи ҳайвонлар, кемирувчилар, қушлар бўлиши мумкин. Улар биологик тур сифатида қўзғатувчини таббий мавжудлигини таъминлайди. Инсон организми бу қўзғатувчилар учун номахсус ҳўжайин организми бўлиши мумкин, қўзғатувчи одамларга эпизодик ҳолатларда юқади. Инсонлар бу қўзғатувчилар учун , қойида бўйинча биологик тупик 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 вирулентлилиги билан фарқ қилади ва ўта хавфли юқумли касалликни авж олдиради. Шунинг учун ушбу бактериялар билан боғлиқ бўлган бактериологик ишлар хавфсизлик 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.

17.1. Куйдирги юқумли касаллигининг микробиологик диагностикаси

Куйдирги қўзғатувчиси *Bacillaceae* оиласига *Bacillus* авлодига мансуб бўлиб, *Bac.anthracis* 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, граммусбат ҳисобланади.
2. Аэроб шароитда спора ҳосил қилиш хусусиятига эга, спораси марказий жойлашади.
3. Бу авлод вакилларидан фақат *Bac.anthracis* 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.anthracis* нинг соф культурасини ажратиб олишдир. Куйдиргини

лаборатория диагностикасида Асколи термопреципитация реакцияси ва тери аллергик синамаси ҳам дигностик аҳамиятга эга.

Бактериоскопик текширув (16–рангли 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.anthracis* йирик (1-2 х 6-10 мкм) граммусбат, алоҳида ёки занжирсимон жойлашган, ҳаракатсиз таёқчалар кўринишида бўлиб, натив препаратда ёки махсус оқсилли муҳитларда ўсганда капсуласини кўриш мумкин. Bac. anthracis 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 флюрохром билан нишонланган қуйдиргига қарши АТ лар билан суртмалар ишлов берилади ва суртма люменицент микроскопида кўрилганда *Bac.anthracis* таёқчалари сариқ яшил товланиб туради (16- рангли схема). Олинган бактериоскопик усуллар асосида биринчи тахминий диагноз қўйилади.

Бактериологик текширув. **Биринчи босқич**-текширилаётган материал ГПА, ГПБ ва ЗҚА (зардобли қонли агар) га экилади ва термостатга 37º С да 18-20 соат қўйилади.

Иккинчи босқич – экмалар термостатдан олиниб *Bac. anthracis* суюқ ва зич муҳитларда ўсиш хусусиятлари ўрганилади. Bac.anthracis нинг вирулентли штамлари агарда R-колония ҳосил қилади. Колониялар микроскопни кичик объективида 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

17.1-расм. *Bacillus anthracis* нинг ҚА ги колонияси

культурасидан “осилган” томчи препарати тайёрланиб ҳаракатчанлиги ўрганилади. Bac.anthracis ҳаракатчан эмас. Қўзғатувчини соф культурасини ажратиб олиш мақсадида шубҳали колониялардан қиялантирилган ГПА экилади ва бульонли культурадан “марварид шодаси” синамаси (тезкор усул) қўйилади. 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 қўйилиб, ҳар бирига 2 томчидан текширилаётган бульонли культурадан қўшилади. Экма 3 соат 37º 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 (16 – рангли схема). Бу ҳолат Bac.anthracis ни патоген бўлмаган бациллалардан ажратиш имконини беради.

Учинчи босқич – термостатдан қўзғатувчини соф культураси олинади ва 16–рангли схемада ва 67 жадвалда келтирилган синамалар қўйилади.

Тўртинчи босқич- қўйилган синамалар термостатдан олиниб натижаланади (67-жадвалга қаралсин). *Bac.anthracis*сапрофит бациллаларда идентификация қилинади ва якуний 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 юқтирилган 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.anthracis* 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 озиқли муҳитларга экилади.

Серодиагностика. Касал бўлганларни ва реконвалецентларни аниқлашда қўлланилади. Қўзғатувчини флюоресцентлар билан нишонланган АТ ёрдамида ҳам (аралаш культураларда) аниқлаш мумкин. Бундан ташқари серодиагностикада КБР, БГАР, ИФА ва ПЗР кенг қўлланилмоқда.

17,2-жадвал

Куйдирги қўзғатувчиси ва бошқа бациллаларни дифференциал белгилари

Белгилари	Bac. anthracis	Bac.cereus	Bac. subtilis
Ҳаракатчанлиги	–	+	+
Қўй эритроцитлари лизиси	–	+	–
Желатинани емириши	Тўнтариб қўйилган арчани эслатади	Укол бўйлаб тез емиради, гори-зонтал 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 аҳамиэгабўлиб, бактериологик усуллар натижа бермаган тақдирда ҳамқўзғатувчинианиқлаш мумкин. Асколи термопреципитация реакциясинингмоҳияти шундан иборатки куйдирги қўзғатувчиси ўзини таркибида О-самотик (полисахарид) Аг тутади. Бу антиген қўзғатувчини капсула Аг дан фарқ қилиб ўта температурага чидамли. Шунинг учун бу антиген ташқи муҳитда

17,3-жадвал

Термопреципитация Асколи реакциясини қўйиш (баённома шакли)

Ингредиентлар, мл	Тажриба синамаси	Контрол пробиркалар №			
		1	2	3	4
Куйдиргининг преципита-ция 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					

(ҳайвонлар териси, жуни, момиғида) узоқ 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.

17.2. Ўлат (тоун) касаллигининг микробиологик диагностикаси

Ўлат (тоун) касаллигининг қўзғатувчиси *Enterobacteriaceae* оиласига Iersinia авлодига киради. Бу авлоднинг вакиллари I.pestis ўлат, *I.pseudotuberculosis* – псевдотуберкулёз ва *I.enterocolitica* – энтероколит касалликларини келтириб чиқаради. Юқоридаги охирги иккита қўзғатувчиларни ичак юқумли касалликлар бўлимида атрофлича кўриб чиқилган.

I.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 (ҳайвонларни 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 ўзғатувчисини бемор одамлардан ажратиб олиш жудамуҳимдир, чунки даслабки касалликни тез бактериологик тасдиқлаш, эпидемияга қарши ўз вақтида самарали чораларни кўриш имконини беради.

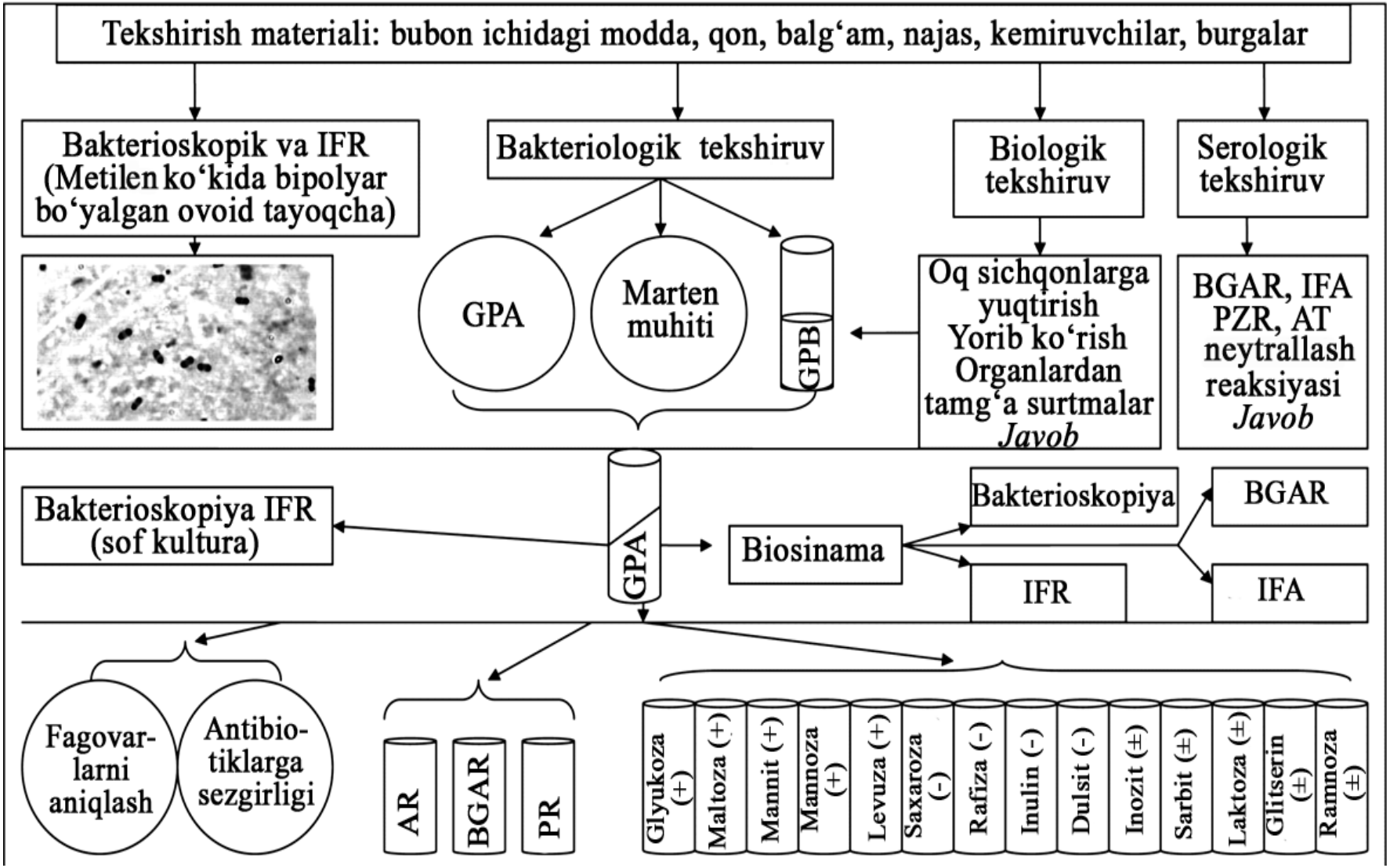
Ўлат қўзғатувчисини яна бир характерли хусусияти ташқи муҳит факторларига ўта чидамлилигидир. Паст температураларда у фақат сақланиб қолмасдан кўпайиш хусусиятига ҳам эгадир. Масалан ҳайвон ўликларида (ўртача 0º) ўлат қўғатувчиси вирулентлигини 5-6 ой сақлаши мумкин. Бошқа кўплаб бактерияларнинг ўртача ўсиш температураси 37º бўлган тақдирда ўлат қўғатувчисининг ўртача кўпайиш температураси 25-30º тўғри келади, уларнинг бу хусусияти идентификацияда ва ажратиб олишда қўлланилади.

Ўлатнинг микробиологик диагностикасида асосан бактериоскопик, бактериологик, биологик усуллар қўлланилади. Охирги йилларда диагностикада ўлат бактериясини ўта тез аниқлаш усуллари (ИФА, ПЗР) ишлаб чиқилган.

Бактериоскопик текширув (15-рангли схема).Текширилаётган материалдан суртма тайёрланиб, Грам усули ва метилен кўкининг сувли эритмаси билан бўялади. Ўлат қўзғатувчиси суртмада овоид (тухумсимон) кўринишдаги таёқча бўлиб интенсив биполяр (икки чети) бўялади. Бундай бўялиши асосан одамлардан ва ҳайвонлардан ёки ёш бульонли культурасидан олиниб тайёрланган натив суртмаларга хос бўлади. Қаттиқ муҳитларда ўсганда ўлат қўзғатувчиси биполяр бўялишини ва овоид формасини йўқотиши мумкин.

Ўлат касаллигига тез диагноз қўйиш учун патологик материаллардан тайёрланган суртмалар иммунофлюоресценция усулида ҳам текширилади. Бунинг учун махсус флюрохром 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.



17.4-схема. Ўлат касаллиги қўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси

Бактериологик текширув.Биринчи босқич.Текширилувчи материал (ГПА, Мартен, Хоттингер ва ГПБ) озиқли муҳитларга экилади ва термостатда 25-28º ўстирилади (16- схема).

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 15º 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 бакреriофаг синамаси қўйилади.

Бактериофаг синамаси. Учта озиқли 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 28º 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 диагностикумлар 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

17. 3. Туляремия қўзғатувчилари келтириб чиқарган касалликлар микробиологик диагностикаси

Туляремия қўзғатувчиси *Francisella tularensis* охирги 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 борувчи 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 *japonica* Японияда учрайди. Вариант mediasiatica Ўрто Осиёда, Илл ва Амударё делталарида 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 юқтириш усули билан ўтказилади, чунки касалдан олинган қон ва бошқа материаллардан қўзғатувчини ажратиб олиш ўта мураккаб ҳисобланади. Диагностикада бактериоскопик, бактериологик ва серологик усуллардан фойдаланилади.

Бактериоскопик текширув (18-схема). Текширилаётган 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

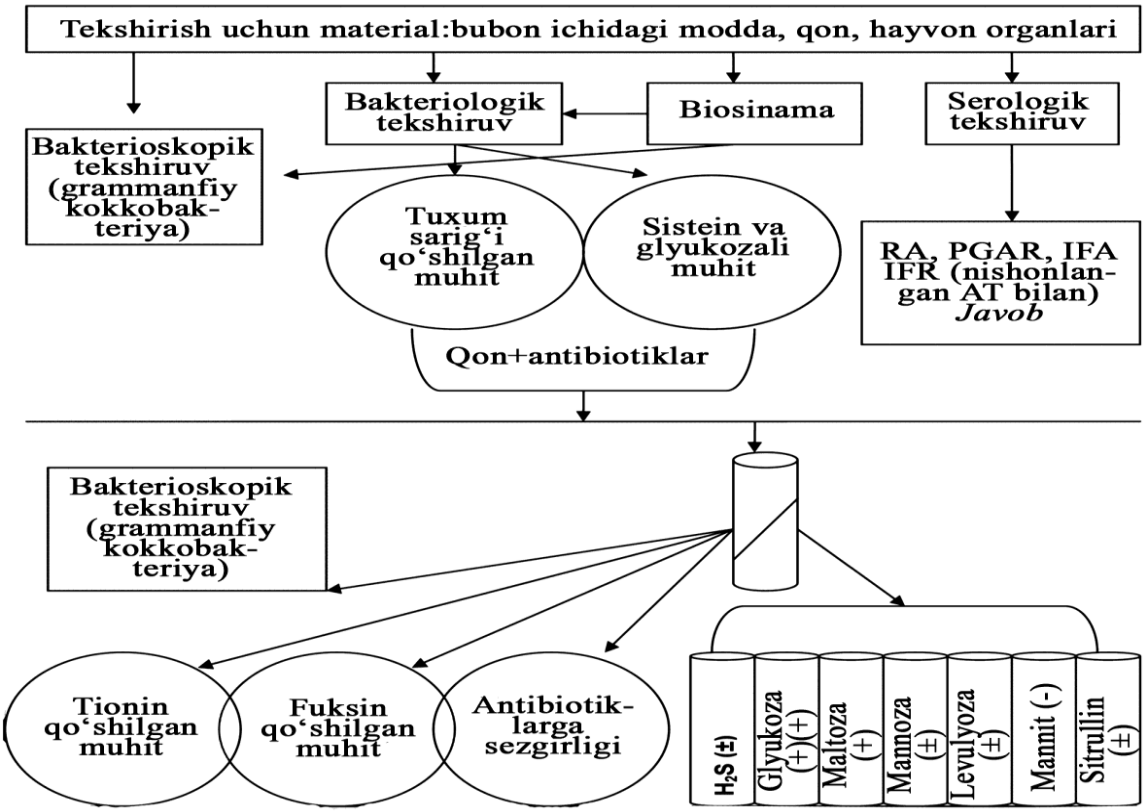
диагноз қўйиш учун патологик материаллардан тайёрланган суртмалар иммунофлюоресценция усулида ҳам текширилади. Бунинг учун махсус флюрохром билан нишонланган Туляремияга қарши АТ лар билан суртмалар ишлов берилади ва суртма люменесцент микроскопида кўрилади.

Бактериоскопик усулда Туляремияга характерли бўлган таёқчаларнинг патологик материаллардан топилиши ва иммунофлюоресценция усулини ижобий бўлиши туляремияга тахминий диагноз қўйиш имконини беради.

Одамларда туляремия қўзғатувчисини аниқлаш учун тери-аллергик синама ва серологик усуллар қўлланилади. Бактериологик диагностика махсус лабораторияларда текширилувчи материални лаборатория ҳайвонларига юқтириш усули билан ўтказилади, чунки касалдан олинган қон ва бошқа материаллардан қўзғатувчини ажратиб олиш ўта мураккаб ҳисобланади. Диагностикада бактериоскопик, бактериологик ва серологик усуллардан фойдаланилади.

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 чўчқачалари 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 ҳампараллел равишда озиқли муҳитларга соф культурасини ажратиб олиш учун экилади.Туляремия бактерияси қаътий аэроб ва озиқли муҳитларга ўта талабчан, шунинг учун уларни ажратиб олишда мураккаб таркибли тўқима экстрактлари, қон, ивитилган тухум сариғи, цистин, глицерин ва бошқа бактерияларни ўсиб кетишига қарши антибиотиклар қўшилган муҳитлар қўлланилади. Экилган экмалар термостатда 36-37º С ўстирилади.



17.5-схема. Туляремия касаллигиқўзғатувчисининг микробиологик диагностикаси

Иккинчи босқич. Туляремия қўзғатувчисини культурал хусусиятлари ўзига хос бўлиб зич муҳитларда вирулент штамлари силлиқ, 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 (18-схема) бактерия ҳужайрасининг 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 қобиқ ва соматик О-антигенга эга. Бемор қон заробидаги *Francisella tularensis* га қарши антителаларни туляремия диагностикуми 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 ошибборишга 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 диагностикуми 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 аллергик синама. Антиген сифатида тулярин - 70º С ўлдирилган бактерия суспензияси ишлатилади. Препарат тери орасига 0.1 мл (100 млн микроб танаси) миқдорда киритилади. Натижа 24-48-72 соатдан кейин текширилади. Синамалар ўта сезгир бўлиб касалликни 3- 5 кунидан бошлаб мусбат натижа беради, лекин натижалар касалдан тузалган ва эмланганларда ҳам мусбат бўлади. Шунинг учун реакцияни баҳолашда эҳтиёткорлик талаб қилинади.

17.4. Бруцеллёз касаллигининг микробиологик диагностикаси

Бруцеллёз касаллигининг қўзғатувчилари *Brucella* авлодига мансуб бўлиб бу авлодга қуйидаги турлар киради:

1. *Br.melitensis* –қўй, эчки каби ҳайвонларда бруцеллёз келтириб чиқаради 3 биовари бор.

2. *Br.abortis* – шохдор қора молларда бруцеллёз кетириб чиқаради 9 биовари бор.

3. *Br.suis* – чўчқаларда бруцеллёз кетириб чиқаради 5 биовари бор.

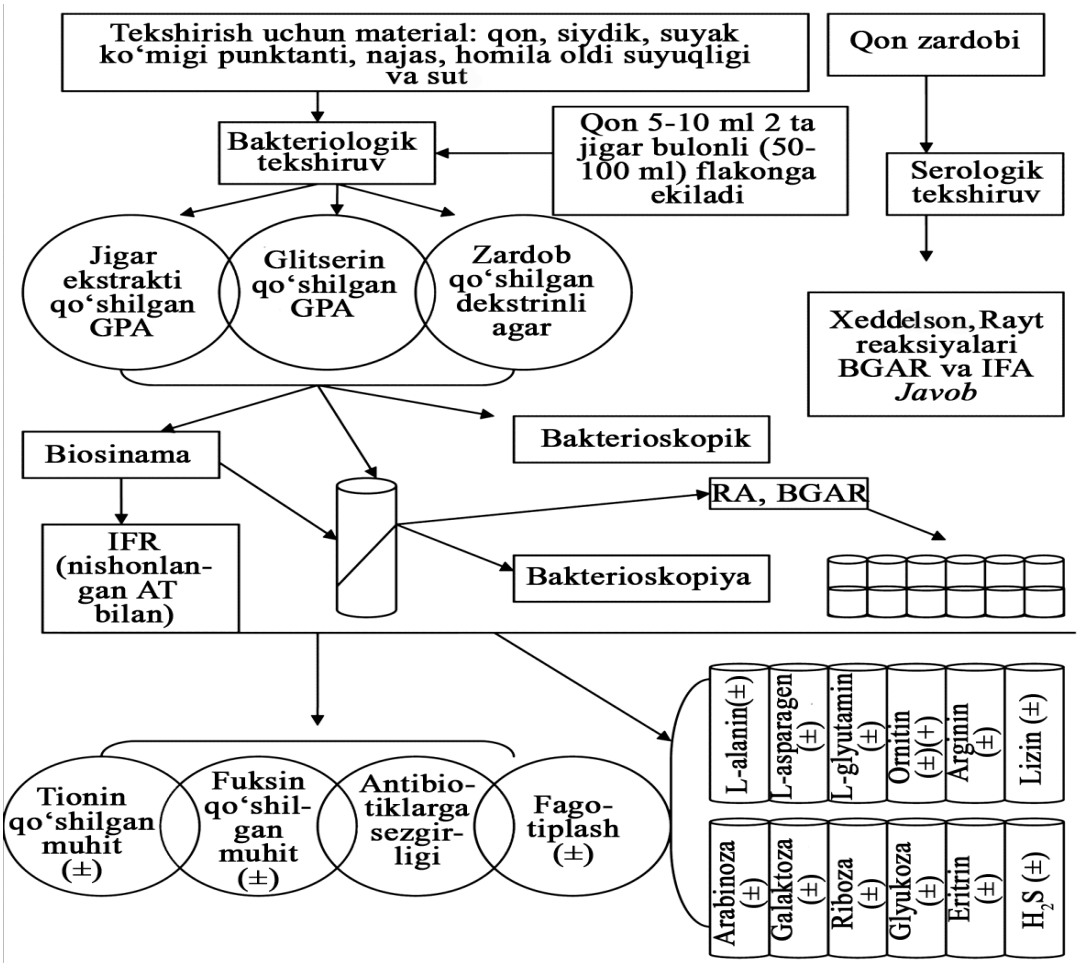
4. *Br.rangiferi* – буғуларда,

5. *Br.neotamae*- кемирувчиларда ,

6. *Br. ovis* –паррандаларда;

7. *Br.canis* – итларда.

Булардан энг кўп касалликни одамлада юқоридаги учта тури келтириб чиқаради. Бизнинг шароитимизда кўпроқ *Br.melitensis* ва *Br.abortis* касалликларга сабаб бўлади. Бруцеллёз касаллиги касб касалликларига киради, асосан касаллик билан чорвачиликда ишловчи кишилар касалланишади**.** Туляремияга ўхшаб бруцеллаларни ҳам ажратиб олиш жуда қийин. Шунинг учун микробиологик диагностикасида бактериологик,биологик ва серологик усуллар (Хеддельсон, Райт реакциялари БГАР, ва ИФА,РИФ,ПЗР) кенг қўлланилади, махсус лабораторияларда олиб борилади.



17.6-схема. Бруцеллёз касаллиги қўзғатувчиларининг микробиологик диагностикаси

Бактериологик усул (17.3-схема). Текшириш учун материал – қон (кўпроқ лихорадка вақтида олинади), суяк кўмиги, сийдик, нажас,бўғин суюқлиғи. Гемакультура олиш учун бемор билагидан 5-10 мл қон олиниб 50-100 мл дан иборат жигар бульонли иккита флаконга, жигарсубстракти қўшилган агар,ҚА га экилади. Биринчи бульонли, зич агарли флакон оддий аэроб шароитда (*Br.melitensis* ажратиб олиш учун), иккинчи флакон 10% CO_2қўйилган атмосферада (Br.abortis учун) ўстирилади.

Бруцеллалар биринчи генерациясида жуда секин боради, улар термостатда 5-30 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.

17,7-жадвал.

Brucella авлоди вакилларини дифференциал хусусиятлари

Белгилари	Br. melitensis биотиплари			Br. abortis биотиплари									Br. suis биотиплари			
Аминокислоталар	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4
L-аланин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	−	±	−
L-аспарагин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	±	−	−
L-глютамин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	±	±
Мочевина цикли субстрати																
DLОрнитин	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
LАргинин	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
LЛизин	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	+
Углеводлар ферментацияси																
LАрабиноза	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
DГалактоза	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	−	−
DРибоза	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H_2S ҳосил қилиши	−	−	−	+	+	+	+	−	±	±	−	+	+	−	−	−
Фуксинга сезгирлиги																
1:50 000	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
1:100 000	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
Танинга сезгирлиги																
1:25 000	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
1:50 000	+	+	+	−	−	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Биринчи ўсишида CO_2 мухтожлиги	−	−	−	±	+	±	±	±	±	±	+	±	−	−	−	−

Буруцеллаларни идентификация қилиш учун ажратиб олинган соф культураси 19-схемада кўрсатилган тестлар орқали ўтказилади. Бруцеллаларнинг ферментатив хусусиятлари кучсиз ривожланган, улар деярли углеводларни ферментация қилмайди. Жигар экстрактли муҳитларда H_2S ҳосил қилиши бўйича бир-биридан фарқ қилади.*Br.abortis*H_2S ҳосил қилишга мойилроқ (±), Br.melitensis ҳосил қилмайди, *Br.suis*эса H_2S ҳосил қилади. Бруцеллаларнинг дифференциал хусусиятлари 67-жадвалда келтирилган.

Серодиагностикаси. Клиник амалиётда асосий диагностик усул Райта реакцияси ҳисобланади. Райт 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 билан бўялган корпускуляр

диагностикумидан (учала қўзғатувчилардан бирга тайёрланилади) фойдаланиш мумкин. Реакциянинг диагностик титри 1:200 ва ундан ортиқ бўлиши керак. Райт реакциясидан олдин албатта тахминий Хеддельсон агглютинация реакцияси қўлланилади. Реакция касални суюлтирилмаган зардоби ва концентрацияланган “антиген – диагностикум” билан қўйилади.

Хедделсон агглютинация реакцияси қўйиш. 9х12 см катталикдаги мойдан тозаланган квадрат ойнача 5 та катакчаларга бўлинади, унга микропипетка билан ингредиентлар қўшилади (19-схема).Катакчалардаги ингредиентлар зардобнинг энг кам миқдоридан бошлаб шиша таёқча 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 миқдорида рўй берса мусбат ҳисобланади. Лекин Хеддельсон реакцияси ўта махсус эмас, баъзи касалликларда, юқори температура кўтарилганда ҳам мусбат бўлиши мумкин. Шунинг учун бу реакция тахминий ҳисобланади.

I 0,04 ml bemorning qon zardobi + 0,03 ml brucellyoz diognostikumi	IV diognostikum kontroli (Dk) 0,03 ml brucellyoz diognostikumi + 0,03 ml fiz. eritma
II 0,02 ml bemorning qon zardobi + 0,03 ml brucellyoz diognostikumi	V zardob kontroli (Zk) 0,02 ml bemorning qon zardobi + 0,02 ml fiz.eritma
III 0,01 ml bemorning qon zardobi + 0,03 ml brucellyoz diognostikumi	

17.2-схема. Хеддельсон реакциясини қўйиш схемаси

Охирги йилларда бруцеллёз диагностикасида БГАР кенг қўланилмоқда, бу реакцияда бруцеллёзни эритрар диагностикуми қўлланилади. Реакцияни қўйиш усули бошқа БГАР ўхшаш (серологик реакцияларга қаралсин).

Касалликнинг ўткир фазасида беморни қонидан IgM ни иммунофермент усули билан аниқлаш диагностик қимматга эга.

Булардан ташқари бруцеллёз диагностикасида иммунофлюоресценция, опсон фагоцитар реакция, КБР кенг қўлланилади. Бу реакциялар етарли даражада сезгир ва махсусдир. Бруцеллёз 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 ошиши ва қонда тўлиқ бўлмаган АТ кўпайиши 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 бруцеллёзга 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 ҳавфли юқумли касалликларнинг диагностикаси, профилактикаси ва даволанишида қўлланилувчи препаратлар.

Бруцеллез диагностикуми. Бу метилен кўки билан бўялган, ўлдирилган бруцеллалар суспензиясидир. Бруцеллезга серологик диагноз қўйишда, Райт Хедельсон агглютинация реакцияларини ўтказишда қўлланилади.

Туляремия диагностикуми. Бу туляремиянинг ўлдирилган бактерия суспензияси бўлиб, агглютинация реакцияси ёрдамида туляремияга серологик реакция қўйишда қўлланилади.

Преципитация берувчи куйдирги кассаллигининг зардоби. Қуёнларни куйдирги бацилласи билан гиперэмлаб, қонидан олинади. Асколи термопреципитациясини қўйишда фойдаланилади.

Тоун бактериофаги. *Y.pestis* идентификация қилиш учун ишлатилади.

Куйдирги бацилласининг бактериофагидан *Bac.anthracis*ни идентификация қилишда фойдаланилади.

Бруцеллин. Қиздириб ўлдирилган, *Brucella melitensis, Br. abortus Br. suis*ларнинг 3 ҳафталик бульонли культура фильтрати Бюрне тери-аллергик синамасини қўйишда ишлатилади.

Тулярин. Қиздириб ўлдирилган туляремия бактериясининг (вакцина штаммининг) суспензиясидир. Тери-аллергик синамисини қўйишда фойдаланилади.

Антраксин. Куйдирги бацилласини гидролиз қилиб ажратиб олинган оқсил-полисахарид-нуклеинли комплекс. Тери-аллергик синамасини қўйишда қўлланилади.

Тоуннинг тирик, қуритилган вакцинаси. EV вакцина штаммининг тирик, қурутилган *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 профилактака 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 (сенсибилизациясини) 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 қуритилган суспензиясидир. Куйдирги касаллиги профилактикасида ишлатилади.

18 БОБ. Тери-таносил юқумли касаллик қўзғатувчилари Уларнинг микробиологик диагностикаси

Таносил юқумли касалликлар асосан кўпчилик ҳолларда одамларга жинсий алоқа пайтида юқади. Яқингача фақат заҳм, сўзак, юмшоқ шанкир, венерик лимфогранулема ва доновоз таносил касалликлари деб юритилган. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотига қараганда охирги 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.

18.1. 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 ваботиқ томони бир-бирига қараган ловияни (кофе уруғини) эслатади, ҳаракатсиз, спора ҳосил қилмайди, нозик капсуласи учрайди. Аэроб хемоорганотроф каталаза, цитохромоксидазава оксидаза мусбат. *Neisseria gonorrhoeae* озиқ муҳитларга талабчан, оддий муҳитларда ўсмайди. *Neisseria gonorrhoeae* одамларда сўзак ва янги туғилган чақалоқларда бленнорея, фарингит, практит, чаноқ соҳаси перитонити, кам ҳолларда септик моноартикуляр артрит, эндокардит касалликларини келтириб чиқаради. Касаллик манбаси одамлар (антропоноз) асосан жинсий алоқа ва маиший буюмлар орқали юқиш кузатилади.

18.1-жадвал

Таносил касалликлари қўзғатувчилари

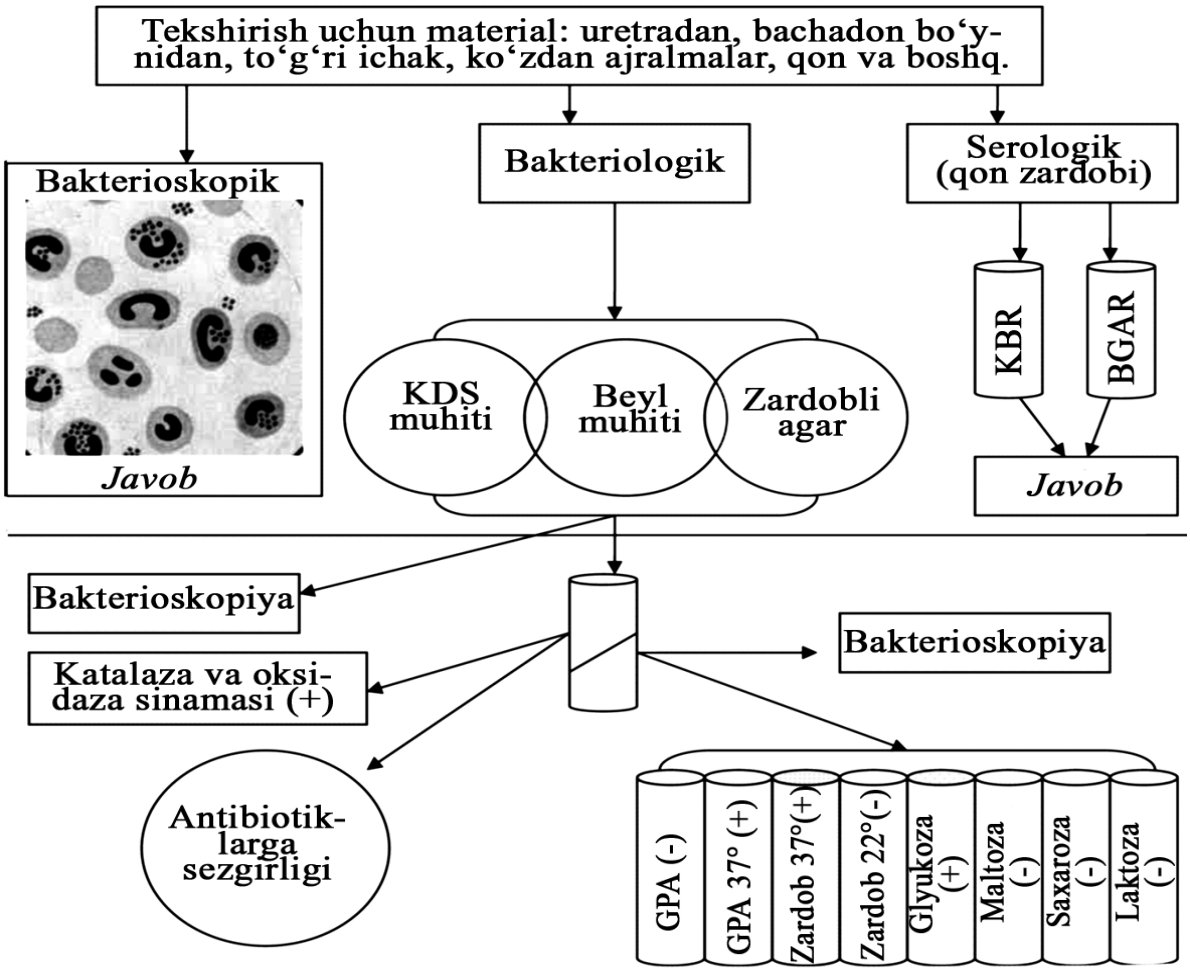
Қўзғатувчилар	Касалликлар номи	Қўзғатувчилар	Касалликлар номи
Бактериялар		Mycoplasma genitalium	Уретритлар
Neisseria gonorrhoeae	Сўзак	Chlamidia trachomatis	Венерик лимфо-гранулематоз
Haemophilus ducreyi	Юмшоқ шанкир		
Treponema pallidum	Захм	Содда жониворлар	
Treponema pertenue	Фрамбезия	Trichomonas vaginalis	Уретритлар
Treponema bejel	Эндимик захм	Вируслар	
Treponema carateum	Пинта	Герпес вируслар	Генитал герпес
Mycoplasma hominis	Уретритлар	ОИТС вируси	ОИТС
Ureaplasma urealyticum	Уретритлар		

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.

Эркакларнинг 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 шиллиқ қаватидан суртма олинади.

Сўзакдан кўз касалланганда (бленнорея) конъюктивитнинг йирингли суюқлигидан бир нечта суртма тайёрлаб текширилади. Тайёрланган суртмалар спиртовка алангасида ёки спиртда фикцация қилинади. Гонококклар анилин бўёқлари билан яхши бўялади.



18.1-схема. Сўзакнинг микробиологик диагностикаси

Бўяш усуллари. Оддий бўяш усули –бунда 1% ли метилен кўкини сувдаги эритмаси, 1% ли бриллиант яшили ишлатилади. Фикцация қилинган суртмага метилен кўкини 1% эритмаси томизилиб 1-1,5 минут кутилади ва сув билан ювиб ташланиб ҳавода қуритилади ва микроскопда иммерцион системада кўздан кечирилади. Бўялган 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 устунликга эга, шунинг учун Грам усули дифференциал диагностикада ҳал қилувчи ҳисобланади. Тайёрланган препаратлар мураккаб бўлган Грам усулида ҳам бўялади. Бўялган 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 чизиқ 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 (21-схемага қаралсин).

Биринчи босқич- текширилувчи материал озиқли муҳитларга экилади (КДС-муҳити, таркиби-қуён гўшти ёки буқа юраги экстракти ва зардоб қўшилган ГПА) ва термостатга 37ºС 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 олишмақсадида шубҳали колониялардан қиялантирилган зардоб қўшилган ГПА экилади ва термостатга 37º 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.

18.2. Заҳмнинг микробиологик диагностикаси

Заҳм қўзғатувчиси спирохеталар оиласига *Treponema* авлодига ва бу авлодга патоген *Treponema pallidum, Treponema pertenue, Treponema bejel, Treponema carateum* ва кўплаб сапрофит

трепонемалар 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.

Заҳм қўзғатувчисини яна бир ўзига хос хусусияти озиқли муҳитларда кўпайтирилганда ўзининг вирулентлик хусусиятини йўқотиб қўйишидир. Шунинг учун диагностикада бактериологик усул қўлланилмайди. Заҳм касаллигида асосан бактериоскопик ва серологик усуллар қўлланилади.

Бактериоскопик текширув (20-схема). Заҳмнинг бирламчи ва иккиламчи босқичларида бактериоскопик усулдан фойдаланилади. Заҳмнинг қайси босқичида бўлмасин текшириш материалининг тўғри олишга эътибор бериш лозим.

Бирламчи заҳмда трепонемалар бириктирувчи тўқима толалари оралиқларида, зарарланган жойни перифериясида, лимфатик тугун, ва қон томирлари атрофида кўп йиғилади.

Иккиламчи заҳмда эса трепонемалар ҳали битиб улгурмаган шанкр, эрозияланган папула, сербар кандиломаларнинг тўқима оралиқ каналларида,оғиз бўшлиғида жойлашади. Материал олишда қаттиқ шанкр, эрозия, папула, сербар кандилома юзаси дастлаб физиологик эритмага ҳўлланган 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 массажга 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 ҳўлланган 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 трепонемаларни тирик ҳолда кўриш. Трепонемалар бўяб текширилганда (Романовский-Гимза, Бурри ва Морозов усуллари) тадқиқотчи трепонемаларни тирик кўра олмайди. Препаратларда трепонемаларни топиш кўрсаткичи 7-10 % дан ошмайди. Бу юқоридаги усулларни камчилигидан далолат беради.

Трепонемаларни тирик ҳолда кўрилганда эса, уларни одам организмида учрайдиган бошқа сапрофиттрепонемалардан фарқ қилиш мумкин.Трепонемаларни тирик ҳолда “эзилган” ва “осилган” томчи усулларида кўриб бўлмайди, чунки уларнинг кўндаланг кесим сатҳи ўта кичик бўлиб нур синдириш хусусиятини лаборатория микроскопларида кўринмайди, ваҳоланки ёритқичдан келаётган нур йўлида шу нурни синдириши мумкин бўлган ўлчамли микроб ётса, нур қисман ютилиб, натижада, микроорганизмлар кўзга кўринади. Заҳм қўзғатувсининг кўндаланг кесими ўта кичик бўлганлиги сабабли нур ютилмайди ва трепонемалар юқорида келтирилган усулларда кўринмайди. Қоронғулаштирилган майдонда кўрилганда, ёритгич 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).

Заҳмнинг бактериоскопик текширувида кўрсатилган усулларнинг бажарилиши бошқа бўлимларда бажарилган усуллардан фарқ қилмайди.

Заҳмнинг серологик диагностикаси. Кўпчилик ҳолларда заҳм қўзғатувчисини бактериоскопик аниқлаш мумкин бўлмайди ёки жуда қийин бўлиши мумкин. Шунинг учун заҳм диагностикасида серологик усул қўлланилади. Заҳм касаллигида ҳам бошқа касалликларга ўхшаш организм қўзғатувчига қарши курашади ва қонда кўплаб унга қарши ҳимоя антителалар ҳосил бўлади. Касалларнинг қон зардобидан бу антителаларни аниқлаш серологик усулнинг моҳияти ҳисобланади.

Заҳмнинг серологик диагностикасида икки типдаги антигенлар қўлланилади. Антигенларнинг биринчи типи **трепонемасиз** антиген бўлиб махсус (фабричны) корхоналарда чиқарилади, таркиби заҳм касаллигида организмда тўқималар ва оқиш трепонемаларнинг 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.

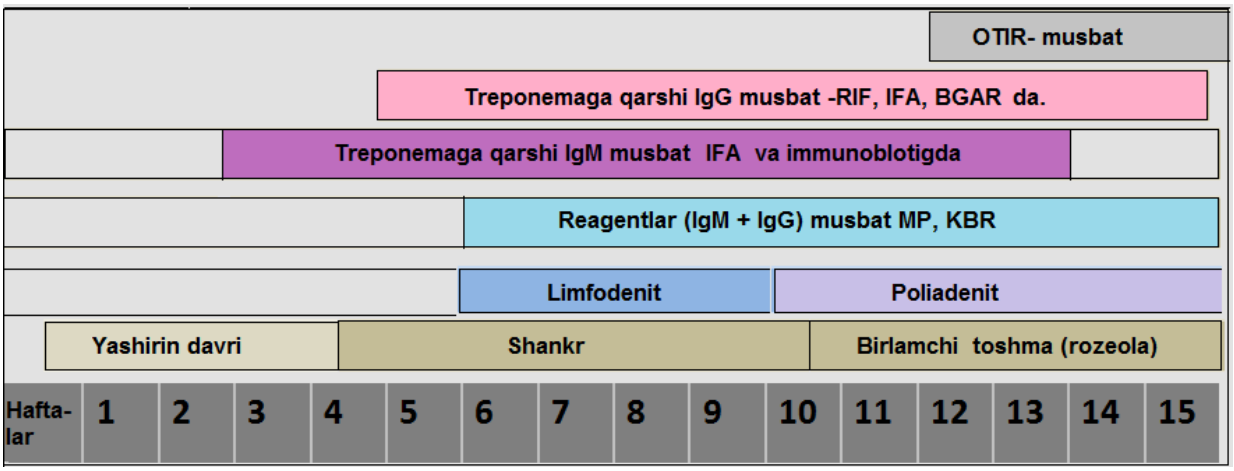
Антигеннинг иккинчи типи **трепонемали** антиген бўлиб лаборатория шароитида ультратовуш ёрдамида тозаланган трепонема штамми ёки улардан ажратиб олинган рекомбинат Аг ҳисобланади.

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. Заҳмда 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, қамоқ 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 (заҳмнинг клиникаси бор беморлар, генитал органларида яраси бор кишилар, беморлар билан жинсий алоқада бўлганлар, иккиламчи заҳм билан яқиндан контакт бўлганлар, заҳм билан касалланган аёллардан туғилган болалар, бошқа таносил касалликлар билан оғриган ва диагнози тасдиқланганлар) ҳар иккала (трепонемасиз, трепонемали) антиген билан биргаликда олиб борилади.



18.2-схема.Заҳмда серологик реакцияларнинг мусбат натижа бериш даврлари

Профилактик мақсадда олиб борилганда қуйидаги серологик усуллар плазмадаги реагенларни (АТ) аниқлашда қўлланилади: микропреципитация реакцияси (МПР); 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 заҳм касаллигида эмас, балки бошқа трепонематоз, 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.

Трепонемасиз тестларнинг камчилиги:

- ёлғонманфий натижа (бемор қон зардобида АТ жуда кўп бўлсада зардобни суюлтирмаслик натижасида прозона феномени кузатилади, бу ҳолат заҳмнинг илк даврида ёки ОИТС билан биргаликда кузатилади);

- заҳмнинг 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 заҳмга тахминий диагноз қўйишда ва беморларни даволаш самародорлигини аниқлашда қўлланилади.

Заҳмнинг махсус серологик диагностикасида трепонема тестлари қўлланилади. Юқорида келтирилган усуллар билан бир қаторда қуйидаги серологик реакциялар ишлатилади:

- комплементни боғлаш реакцияси (КБР)
- иммунофлюоресценция реакцияси (ИФР турли модификацияси)
- пассив гемагглютинация реакцияси (ПГАР)
- иммунофермент анализ (ИФА) рекомбинатли ИФА
- оқиш трепонемаларни иммоблизация реакцияси (ОТИР)
- иммуноблотинг

Трепонемали тестлар махсус ва ўта сезгирлиги туфайли заҳм 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 заҳмнинг диагностикасида трепонемасиз ва трепонемали антигенлар билан қўйилади.

18,3-жадвал

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 гемолиз бўлишига қараб термостатга 40-60 минутга қўйилади. Гемолизга қараб реакция натижаси белгиланади				
Натижа	(+) ++	+++	++++	-

Шартли белгилар: ++++ тўлиқ гемолизни тўхташи; — гемолиз

Реакция уч типдаги антигенлар қўлланилган ҳолда олиб борилади: 1) трепонемали таркибида ультратовуш билан тозаланган ёки реконбинат трепонема антигени; 2) махсус бўлмаган (трепонемасиз) кардиолипидли антиген; 3) махсус бўлмаган (трепонемасиз)-холестеринли (буқа юраги мускулларидан олинган липоидларнинг спиртли эритмаси). Текшириладиган зардоб 1:4 нисбатда суюлтирилиб, 4 пробиркаларга 1 мл дан қуйилади (жадвал 70).

Билвосита иммунофлюоресценция реакцияси БИФР (FTA-test flujrescent trepnemal antibody) ёки РИФ жуда специфик бўлиб, бунда тўқиматрепонемаларнинг суспензияси антиген тариқасида ишлатилади. Бемор қон зардоби 1:200 нисбатда суюлтирилади, активлиги камайтирилади. Ёғсизлантирилган буюм ойнасига бир томчи антиген томизилади, қуритилиб 5 минут мобайнида тоза ацетонда фикцация 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 трепонемаларнинг ёғдуланиш даражаси белгиланади. Маъбодо беморнинг қон зардоби таркибида

трепонемага қарши антителалар мавжуд бўлса, трепонемалар ёғдуланади ва уларнинг сонига қараб реакция жавоби ўқилади.

Оқиш трепонемаларни иммобилизация реакцияси (ОТИР).

Реакциянинг моҳияти шундан иборатки трепонемаларнинг тўқима культурасига (трепонемалар аввалдан махсус юқтирилиб эркак қуённинг моягидан ажратиб олинади Нокольс штамми) бемор қон зардоби ва комплемент қўшилса трепонемалар АТ бўлган тақдирда уларнинг ҳаракатланиши тўхтаб қолади. Реакцияни қўйиш учун қуённинг моягидан ажратиб олинган трепонема пробиркага олинади ва унинг устига текширилаётган зардоб, янги комплемент қўшилади. 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 қўшилади. Пробиркалар анаэростатга (кислородсиз муҳит) солиниб 35ºС ли ҳароратдаги термостатга қўйилади. Сўнгра ҳамма пробиркалардан “эзилган” томчи препарати тайёрлаб, микроскопда қоронғулаштирилган майдонда кўрилади. Олдин назорат (контрол) натижа ўқилади. Оқиш трепонемаларнинг ҳаракатчан ва ҳаракатсиз эканлиги фоизларда аниқланади. Қуйидаги формуладан фойдаланилади:

$$X = \frac{A - B}{A} \cdot 100$$

A − ҳаракатчан оқиш трепонемалар сони

B − ҳаракатсиз оқиш трепонемалар сони

Масалан: саналганда ҳаракатчан трепонемалар 32 та, ҳаракатсиз трепонемалар 25 та

$$X = \frac{32 - 25}{32} \cdot 100 = 22$$

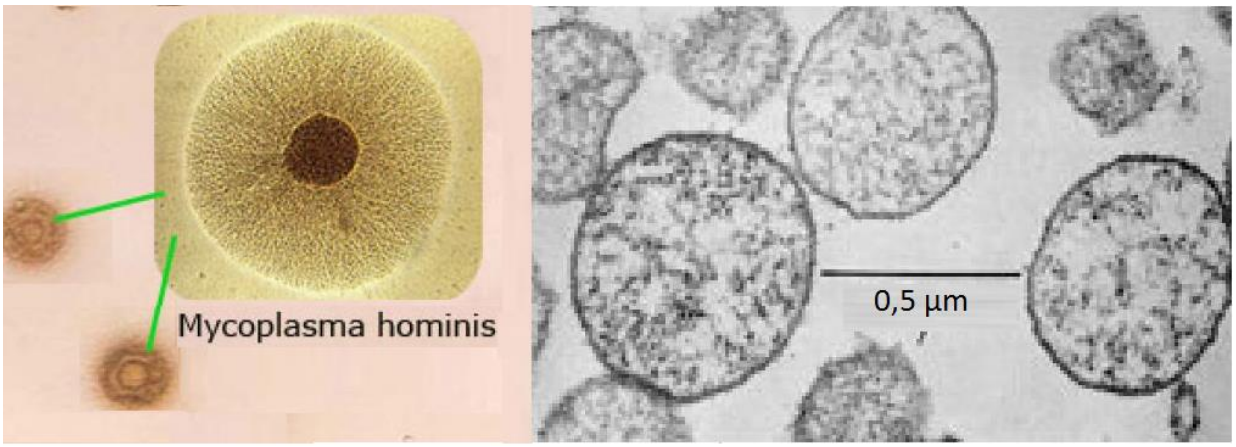
ОТИР натижаси қуйидагича баҳоланади: 20% кам бўлса манфий (−), 21 − 30% гача шубҳали; 31-50% гача ўртача мусбат ва 50% юқориси мусбат натижа ҳисобланади.

18.3. Сийдик –таносил аъзолари микоплазмозининг микробиологик диагностикаси

Микоплазмаларнинг турлари жадвалда келтирилган. Микоплазмалар жуда майда микроорганизмлар бўлиб, уларнинг

ҳужайра 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 мочевинани аммиак ҳамда CO_2га 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, суюқ муҳитдаги уреазага қўйиладиган рангли тестдир. Иккинчиси зич агарли муҳитда уреаплазмаларнинг соф культурасини ажратиб олишга асосланган.



18.1-расм. А- қаттиқ муҳитда микоплазма колонияси; В- электрон микроскопда кўриниши.

Уреаплазмаларнинг аниқлаш учун рангли мочевинали тест қўйиш. Суюқ озиқли стерил муҳит 2 мл дан дока пахта тиқинли Вассерман пробиркаларига қўйилади ва сийдик каналининг 3-5 см ичидан олинганпатологик материал эҳтиётлик билан муҳитга экилади ва термостатга 37ºС 24-48 соат қўйилади. Суюқ озиқ 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 ранггача ўзгаради.

Суюқ озиқли муҳит тайёрлаш. 0.5 л ҳажмли, туби юмалоқ, иссиқбардош колбага қорамол юрагининг гидролизати билан козеин гидролизатидан 18 мл дан қуйилади ва аралашма яхшилаб чайқатилади, унга 10% NaOH қўшилиб pH=5,5 гача етказилади; устига янги тайёрланган дистилланган сувдан 500 мл га етгунга қадар қўшилади ва кўпик ҳосил қилмасдан бир текис қайнатилади. Қайнатиш охирлаб қолганда унга 4,0 г пептон (кристалл виолетсиз) ва 0.4% ли бромтимол кўкидан 5,7 мл қўшилади. Қўшилган пептон батамом эриб бўлгач устига 500 мл дистилланган сув қуйилади. Ҳосил бўлган эритма яхшилаб аралаштирилади ва қайнагунча қиздирилади, сўнгра бир неча қават дока фильтрдан ўтказилиб, бир литрли иссиқбардош колбага солинади. Эритма бироз совигач унга 0.064 г KH_2PO_4, қуруқ хамир ачитқисидан 2 г қўшилади; pH ни 6,0 ±0.5 гача меъёрига етказилиб, кейин асос 121º С температурадаги автоклавда 15 минут стерилланади. Кейин эритма 37 - 38ºС гача совутилади. Сўнгра 40 мл от қони зардоби, 2 мл 10% мочевина, 2% ли цистеин гидрохлорид, 1.000.000 ТБ пенициллин қўшилади ва тайёр бўлган муҳитни бир текис аралаштирилади. Эритмани pH кўрсаткичи 6,0 ±0.5 бўлиши керак. Кандида типидаги ачитқи замбуруғларининг ўсишини тўхтатиб қўйиш учун суюқ озиқли муҳитга нисбатан 50 ТБ/мл, амфотерицин В -5ТБ/мл, амфоглюкамин -10 ТБ/мл каби эритмалардан бирини ишлатиш мумкин. Уреаплазмаларнинг тоза культурасини олиш учун суюқ муҳитга 25 мг/мл линкомицин гидрохлорид қўшилади. 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 суюқ муҳитда мусбат натижа берган синамаларни зич муҳитга экиш яхши натижа беради. Бунинг учун ранги ўзгарган суюқ муҳит солинган пробирканитагидан 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 озиқли муҳит тайёрлаш. 0.5 л ҳажмли, иссиқбардош колбага қорамол юрагининг гидролизати билан казеин гидролизатидан 12 мл дан қуйилади ва аралашма яхшилаб чайқатилади, унга 10% NaOH қўшилиб pH=5,5 гача етказилади; устига агар-агардан 3,6 г. ва 200 мл гача дистилланган сув ва 10 минут бир текис қайнатилади. Қайнатиш охирлаб қолганда унга 2.62 г қўшилади. Қўшилган пептон батамом эриб бўлгач устига 300 мл белгисигача дистилланган сув қуйилади. Ҳосил бўлган асосни дока-пахтали фильтрдан ўтказилиб, 0.5 л ҳажмли, иссиқбардош колбага солинади ва 0.35 г KH_2PO_4, 0,43 г марганец сульфат,1 г қуруқ хамир ачитқисидан қўшилади. NaOH ва KOH ёрдамида pH ни 6,0 ±0.5 гача меъёрига етказилиб, кейин асос 121º С температурадаги автоклавда 15 минут стерилланади.

Белгиланган вақт тугагач, агарли озиқли муҳитга асептик ҳолатда қуйидаги қўшимчалар солинади. Бунда муҳит ҳарорати +50º С атрофида бўлиши керак. 40 мл от қони зардоби, 2 мл 10% мочевина, 2% ли L-цистеин гидрохлорид -1 мл, пенициллин 1 г, амфотерицин В 1 мл. Сўнгра муҳит аралаштирилади pH кўрсаткичи 6,0 ±0.5 етказилади ва шу заҳоти стерил Петри косачаларига қуйиб 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 қуймоғи” ни эслатади (расм -81). Колонияларнинг юзаси бироз буралган, ўртаси ботиқ, яхлит ҳолда агарда кўриниб туради ва усти юпқа агар қатлами билан қопланган бўлади.

18.4. Сийдик –таносил аъзолари хламидиозининг микробиологик диагностикаси

Сийдик –таносил аъзолари хламидозига хламидиялар сабаб бўлади. Улар майда грамманфий 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 ҳужайралар ичида облигат яшаб кўпайишга ва ҳужайрадан ташқарида ҳаёт фаолиятини сақлаб қолишга мослашган. Майда ўтаинфекцион электрон-қаттиқ нуклеоидга эга бўлган, катталиги 0.2-0.3 мкм элементар таначалар ҳужайралар юзасига ўрнашиб, фагоцитоз туфайли хўжайин ҳужайрасига кириб олади (82-расм), кейин ҳужайраларда ўзи хўжайинликхўжайинлик қила бошлайди. Хламидийлар билан зарарланган бундай ҳужайралар цитоплазмасининг юза мембранисида 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.

18,4-жадвал

Chlamydia авлоди вакилларининг классификацияси

Турлари	Келтириб чиқарувчи касалликлари	Сероварлари
Chlamydia trachomatis	Трохома ва паратрохома	A, B, B_a, C
	Урогенитал хломидиоз ва чақалоқларда зотижам	D, F, G, H, I,L,J,K
	Венерик лимфо-гранулематоз	L_1,L_2, L_3
Chlamydia psitaci	Орнитоз қушларда(бирламчи жароҳатларниҳайвонларда)	13
Chlamydia pneumoniae	Зотилжам,ЎРК, атеросклерозлар, саркаридоз, бронхиал астма	RWAR, AR, KA, ва CWL

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 ҳужайра культурасида ва товуқ эмбрионида ўстирилади.

Хламидийларни микробиологик диагнози кўпроқ цитологик (бактериоскопик) ва серологик реакцияларга асосланган.

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, тетроциклин, 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 96ºС этил спиртда ёки метанолда 5-10 минут фикцация қилинади. Препаратлар қуритилиб бўяш учун шиша кўприкчаларга бир текис қилиб таҳланади ва 1:10 нисбатда тайёрланган Романовский-Гимза усулида бўялади. Бўялган препаратда хламидия элементар таначалари пушти, ретикуляр таначалари эса ҳаво рангдан кўк ранггача бўялади. Ҳужайра (цилиндрик) ядроси тўқ қизил, цитоплазмаси эса оч ҳаво рангга киради. Хламидия таначалари ҳужайра цитоплазмасининг ядрога яқинқисмида жойлашади, кўпинча ярим ой шаклида ядрога

бироз кириб туради. Бундай киритмалар ташқи томондан бир текис бўялган бўлиб, хўжайин ҳужайрасини деярли шикастламайди. Бу усул ёрдамида хламидия инфекциясига диагноз қўйишда 40% гача ҳолларда патологик агент топилади.

Моноклонал антителалар қўллаб иммунофлюоресценция усули ёрдамида хламидияларни аниқлаш.

Сийдик каналининг 5-5 см ичидан олинган паталогик материал буюм ойнасига юпқа қилиб бир текис суртилади, кейин 96ºС этил спиртда ёки метанолда 5-10 минут фикцация қилинади ва хона ҳароратида қуритилади. Препаратларни бўяш учун қуйидаги тартибдаги реагентлар қўлланилади: Флюорецеин-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 22Х40-60 мм № 1 ўлчамли ёпқич ойна билан ёпиб, люминесцент микроскопда кўздан кечирилади. Фильтр системаси бўлган бундай микроскоп препаратда флюоресцеин- изотиоцианатининг нурланишига мўлжалланган. Препарат 400-500 марта катталаштирилиб кўрилади. Бу усул билан ҳатто хўжайин ҳужайраси ташқарисида жойлашган хламидия элементар таначаларини ҳам аниқлаш мумкин. Элементар таначаларнинг четлари текис, юмалоқ шаклда, тиниқ яшил рангда бўлиб кўринади. Ретикуляр таначалар эса, элементар таначалардан 2-3 баробар каттароқ бўлиб, юмалоқ, яшил рангда товланади. Кўриш майдонида битта препаратнинг ҳар хил жойида 10-12 та ва ундан ортиқ хламидия таначалари топилса, натижа мусбат ҳисобланади.

19 БОБ. ТРАНСМИССИВ ИНФЕКЦИЯЛАР: РИККЕТСИОЗЛАР, БОРРЕЛИЯЛАР, ЛЕПТОСПИРОЗЛАР. УЛАРНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

19.1. Риккетсиозларнинг микробиологик диагностикаси.

Риккетсиялар табиатда энг кўп тарқалганмикроорганизмларга киради. Уларнинг 50 дан ортиқ тури турли бўғимоёқлилар ичаги ва сўлакбезларидан 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.

19,1-жадвал

Одамда касаллик келтириб чиқарувчи риккетсиялар ва риккетсиозлар классификацияси

Тур номлари	Ташувчи бўғимоёқлилар	Одамларда касалликлари
Ricketsia авлоди, тошмали тиф гуруҳи		
Ricketsia prowazekii	Pediculus humanus	Эпидемик тошмали тиф, Брилл-Цинссера касаллиги.
Ricketsia thpyi	Каламуш бурга ва битлари	Эндемик тошмали тиф
Каналар орқали юқадиган доғли иситмалар		
Ricketsia rickettsi	Иксод каналари	Доғли иситмалар
Ricketsia sibirica	Иксод каналари	Тошмали тиф шимолий Осиёда, Ўрта Осиё давлатларида.
Ricketsia conarii	Ит каналари	Марсел, ўрта денгиз иситмаси
Ricketsia australis	Иксод каналари	Шимолий Австралия риккетсиози
Ricketsia akari	Allodermanyssus sanguineus	Чечакка ўхшаш везикуляр риккетсиоз
Цуцугамуш гуруҳи		
Ricketsia tsutsugamushi	Trombicula akamushi	Цуцугамуш иситмаси
Coxiella авлоди Ку-иситмаси гуруҳи		
Coxiella burnetii	Иксод каналари	Ку-иситмаси
Rochalimaea авлоди. Параксизмал иситмалар		
Rochalimaea quintana	Pediculus humanus	Окоп, траншея истимаси
Rochalimaea henselae	Мушук тирнаши ва тишлаши орқали юқади	Мушук тирнаши касаллиги Моллар гранулёмаси

Rickettsiaceae оиласига одам организмида касаллик келтириб чиқарадиган 3 та авлод: *Ricketsia, Rocha Limae, Coxiella* киради. Бу оилага мансуб риккетсиялар кокксимон ёки таёқчасимон, кўпинча шакли ўзгарувчан (полиморф) бўлиб, хивчинсиз, ҳужайра деворининг тузилиши грамманфий бактерияларнинг ҳужайра деворига ўхшаб кетади. Риккетсиялар қатъий ҳужайра ичи паразитлари бўлганлиги боис сунъий озиқ муҳитларда ўсмайди.

Риккетсиоз қўзғатувчилари касал одамлардан, ўлганлардан, ташиб ўтувчилардан (эндемик рикетсиозларда) ва кемирувчилардан ажратиб олиш мумкин. Ҳамма одамлардаги касаллик ҳолатларда ҳам текшириш учун материал иситма даврда тирсак венасидан олинган қон ҳисобланади.

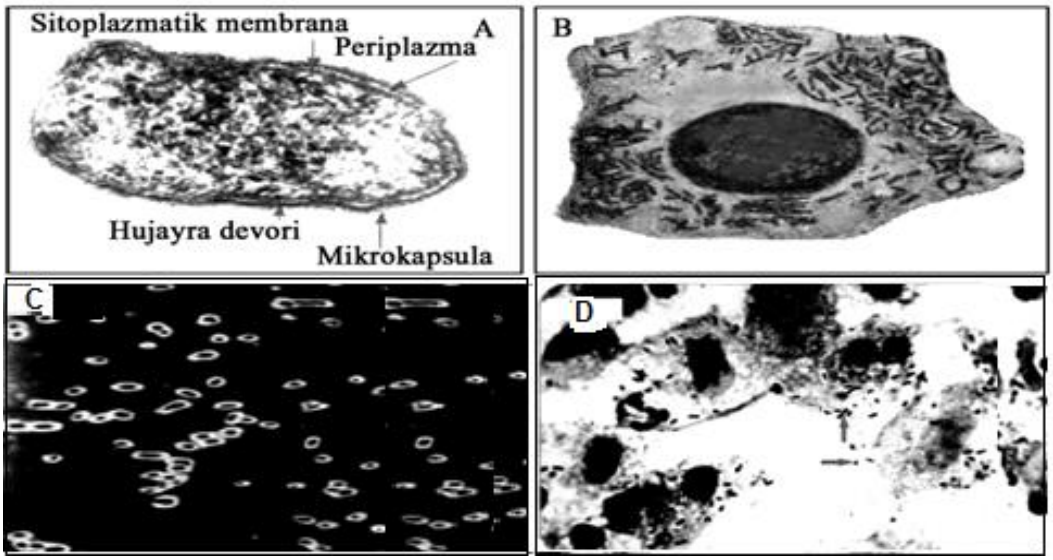
Риккетсиоз қўзғатувчилари озиқ муҳитларда кўпаймайди, улар асосан товуқ эмбрионида ва ҳужайра культураларида кўпайтирилади. Шунинг учун клиник шароитлада асосий диагностик усуллари бактериоскопик, биологик ва серологик ҳисобланади.

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.

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 моякнинг қин пардасининг мезотелийсида қўзғатувчилар йиғилиб қолади (Музер ҳужайралари). Везикуляр чечакка ўхшаш риккетсиозлар ва Цуцугамуш иситмаси қўзғатувчиларини оқ сичқонларга юқтириб (0,5 мл қон) ўрганиш мумкин. Ку–иситмасида эса денгиз чўчқачаларини тестикуласига (моягига) тўғридан-тўғри (0,3-0,5 мл қон) юборилиб ўрганилади. Лекин, Провацек риккетсиозларини ажратиб олишда бу усуллар қўл келмайди. Тошмали тиф қўзғатувчисини ажратиб олишда кийим битига юқтирилади. Риккетсиялар битнинг ичагида актив кўпаяди.

Амалиётда эндемик риккетсиозлар қўзғатувчисини Провачек риккетсиозларидан фарқлашда қўлланилади.

Касал юқтирилган ҳайвонлар ёриб кўрилади ва уларнинг органларидан препаратлар тайёрланади Романовский-Гимза ёки П.Ф. Здродовский усулларда бўяб кўрилади. Инфекция босқичига, ҳужайра культураси, ҳайвонларни турига кўра риккетсияларнинг ҳар хил морфологик типлари ҳужайралар цитоплазмасида ва ядросида топилади. (82-расм). Иммунофлюоресцент усулидан фойдаланиш риккетсияларни аниқлашни бирмунча енгиллаштиради.



19.1-расм. Риккетсиозлар. А-риккетсияларнинг электрон микроскопик кўриниши; В- R.typhi (ҳужайра културасига юқтирилганриккетсиялар, цитоплазмада кўриниши; С-иммунофлюоресценцияриккетсияларни кўриниши; Д-ҳужайра ичида кўпаётган риккетсияларнифазоли контраст микроскопида кўриниши.

Серодиагностикаси. Риккетсиозларнинг замонавий 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 зардоби *Proteus vulgaris* ни ОХ штаммларини (асосан OX_{19}, OX_2) агглютинацияга учратиш хусусиятига эга. Риккетсия Провацек фақат OX_{19} штамм билан агглютинация беради. Риккетсияларнинг бундай хусусияти Proteus бактериялари билан структура (Аг) жиҳатдан ўхшашлигини билдиради.

Агглютинация реакциялари параллел равишда *Proteus* диагностикуми ва қўзғатувчиларнинг махсус диагностикумлари билан бирга қўйилади. Қўйиш техникаси бошқа касалликларда қўйилган агглютинация реакцияларидан фарқ қилмайди (бетга қаралсин).

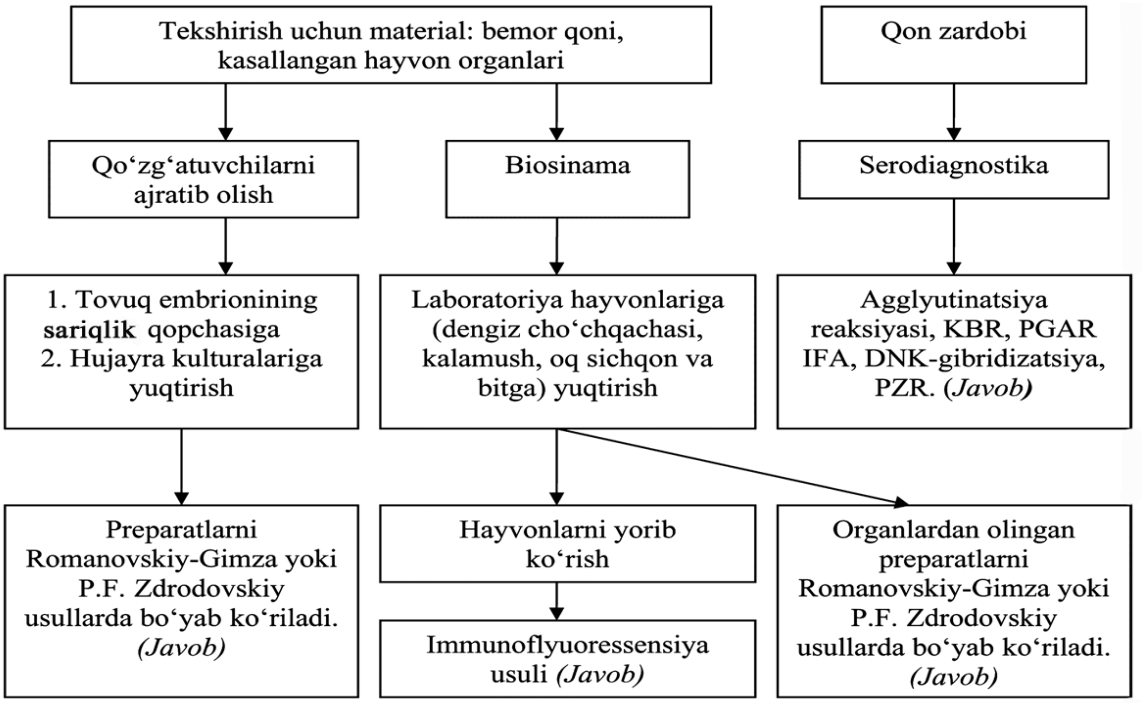
КБР сезгир усуллардан ҳисобланади ва риккетсиялар диагностикасида кенг (бетга қаралсин) қўлланилади. Антиген сифатида риккетсияларни корпускуляр ва эриувчан антигенлари

қўлланилади. КБР специфик бўлганлиги учун риккетсиозларни бир-биридан фарқлаш мумкин.

ПГАР да эрувчан риккетсиоз антигенлари эритроцитлар сатҳига шимдирилиб тайёрланган диагностикумлардан фойдаланилади.

Текширилган зардобларни 1:800 ва 1:6400 гача суюлтириш мумкин.Аммо, КБР дан фарқи ўлароқ ПГАР ёрдамида группа ичидаги риккетсиозларни дифференцация қилиб бўлмайди. Бироқ ПГАР инфекция фазасини аниқлашга ёрдам беради, чунки бу антителалар инфекция жараёнида юқори титрда тўпланиб, реконвалецентлик 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 фақлаш мумкин.

Бирламчи эпидемик тошмали тифни, рецидив (Брилл-Цинссер) спорадик тошмали тифдан фарқлаш. Бу касаллик қўзғатувчиси ҳар иккала касалликда ҳам *Ricketsia 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 бўлимидан бизга маълумки



19.1-схема. Риккетсияларда микробиологик текшириш усуллари

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 ҳужайралари 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 олмайди. Бирламчи тошмалитифни 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 рекция қўйилса АТ титри ишлов берилмаган зардобга нисбатан 4 маротаба камайади. Брилл-Цинссер касалигида эса асосан IgG ҳосил бўлганлиги сабабли 2-меркаптоэтанол билан ишлов берилган ва ишлов берилмаган зардобларда ҳам АТ титри деярли бир хил бўладитифни Брилл-Цинссер касаллигидан фарқлаш учун текширилувчи зардоб 2-меркаптоэтанол ёки цистеин билан ишлов берилиб (контролда ишлов берилмайди) КБР қўйилади.

19.2-жадвал

Бирламчи тошмали тифни Брилл- Цинссер касалигидан фарқлашда КБР натижалари.

Текширилувчи зардоб		Зардобнинг суюлтириши								
		1:8	1:16	1 32	64	1:128	1: 256	1: 512	1:1024	1:2048
1 чи бемор	2-меркаптоэтонол қўшилган	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	2-меркаптоэтонол қўшилмаган	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Натижа	Бемор бирламчи қайталама тиф билан оғриган								
2 чи бемор	2-меркаптоэтонол қўшилган	+	+	+	+	+	+	+	–	–
	2-меркаптоэтонол қўшилмаган	+	+	+	+	+	+	+	–	–
	Натижа	Бемор иккиламчи (Брилл- Цинссер) қайталама тиф билан оғриган								

Агар бирламчи тошмали тиф билан бемор оғриган бўлса қонда IgM кўп бўлади, агар зардоб 2- меркаптоэтанол билан ишлов берилиб

рекция қўйилса АТ титри ишлов берилмаган зардобга нисбатан 4 маротаба камайади. 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.

19.2.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 қўзғатувчилари *Borrelia* авлодига мансуб спирохеталар оиласига киради, спиралсимон бактериялар бўлиб, ҳар хил катталикда 3–10 тагача бурамалари бор.*Borrelia* авлодига 30 ортиқ турсар киради. Булардан B.recurrentis одам усун патоген бўлиб, бит орқали юқади,антропаноз касаллик,эпидемик қайталама тифни келтириб чиқаради.Бошқа авлод вакиллари *B.duttonii, B.persica, B.caucasica, B.hispanica, B.latyschewi* ва бошқалари кана орқали одамларга юқади ва қайталама эндимик тошмали тифни келтириюб чиқаради.Бундай ташқари бореллёзлар суринкали иксод каналари юқтирувчи Лайма касаллигини ҳам кетириб чиқаради. Лайма касаллигини қўзғатувчиси шимолий америкада учровчи тури *B.burgdorferi*ҳисобланса, евро-осиёда эса *B.garini, B.afzeli* турлари учрайди. Бу қўзғатувчилар бир-бирларидан антиген хусусяти билан фарқ қилади.

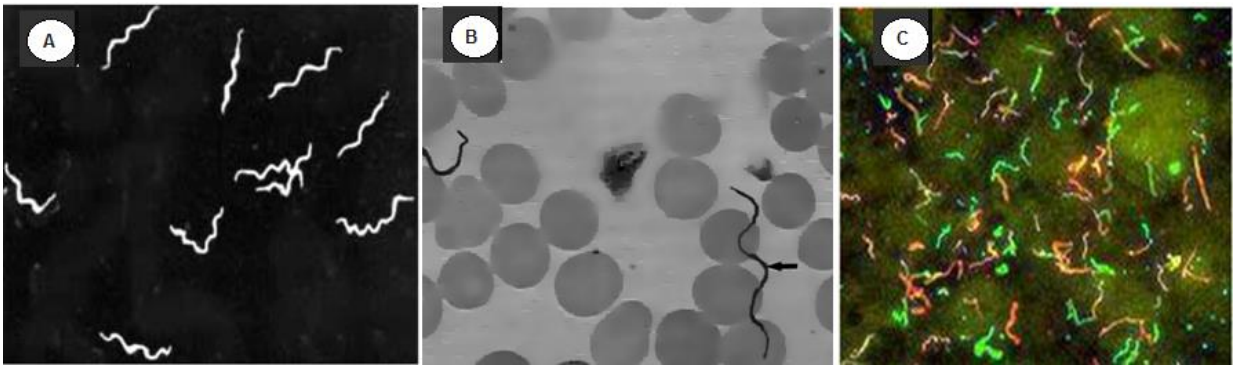
Боррелилар трепонемалардан фарқ қилиб лаборатория шароитида кўпаяди, улар анаэроб шароитда бир бўлак тўқима бўлаги қўшилган асцит суюқлиги, қон зардобли муҳитларда ва товуқ эмбрионида яхши кўпаяди.

Уларнинг вирулентлиги бир неча йилларгача сақланиши мумкин. Лекин амалиётда бу усул деярли қўлланилмайди.

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 кигизга ўхшаб қолиши мумкин. Қоронғилаштирлган майдонда қондан тайёрланган натив препарат кўрилганда боррелияларнинг типик ҳаракатларини кўриш мукин.

Қўзғатувчини яна Бурри усулида ҳам топиш мумкин, бунда қўзғатувчи қора фонда кумуш толаларга ўхшаб ётади (83-расм). Бактериоскопик усул апраксия даврида ўзини моҳиятини йўқотади, лекин текширилаётган қон центрифуга қилиниб, унинг чўкмасидан боррелияларни баъзида топиш мумкин.

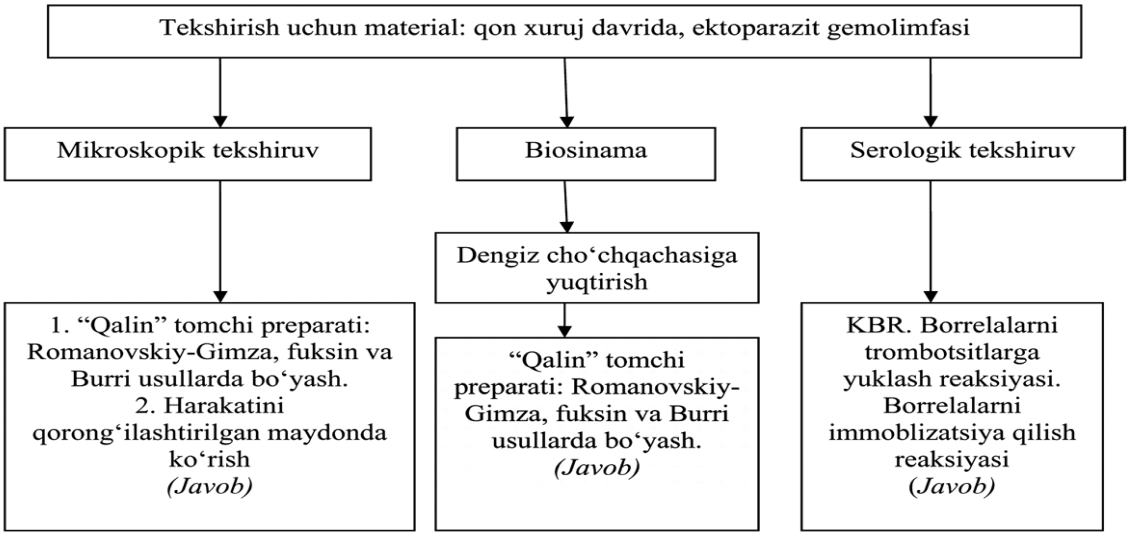


19.2- расм. А-қоронғилатирилган майдонда микроскопда кўриш; В-Қайталама тиф билан оғриган беморнинг қонидан тайёрланган ва Романовский-Гимза усулда бўялганда суртмани микроскопда кўриниши; С-Лайма касаллиги билан оғриган бемор қонида тайёрланиб иммунолюменцет усулда бўялган суртмани миммунофлорицент микроскопда кўриниши.

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 чўчқачаларига юқтирилади. Агар натижа мусбат бўлса, 5-6 кундан сўнг ҳайвонлар қонида кўп миқдорда боррелиялар 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. Боррелияларни иммоблизация қилиш реакцияси. Апираксия бўлиб ўтган бемор қон зардобидан бир томчи буюм ойнасига олинади ва унга боррелалар культураси аралаштирилади, ёпқич ойна билан “эзилган” томчипрепарати тайёрлаб қоронғилаштирилган майдонда ҳаракати ўрганилади.



19.2-схема. Боррелияларни микробиологик текшириш усуллари.

Агар бемор қонида специфик АТ бўлса боррелалар ҳаракати 30-60 минутда тўхтаб ўлиб қолади. Серологик реакциялардан БИФ ва ИФА яхши натижа беради. Аниқ ташхис қўйишда ва бошқа серорлогик усулларда қўйилган диагнозни ташдиқлан учун иммуноблотинг усули қўлланилади. Бу усулда қўзғатувчининг махсус антиген наборларини касалликни маъум , аниқ даврларида аниқлаш мумкин.

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 37º С термостатда сақланади. Сўнг пипека билан бир томчи олиниб буюм ойнасигатомизилади ва ёпқич ойна билан ёпиб қоронғилаштирилган майдонда микроскопда кўрилади. Бемор қонида АТ бўлса денгиз чўчқачалар тромбоцитлари боррелаларни юзасига ёпишиб уларни ҳаракатларини тўхтатиб қўяди.

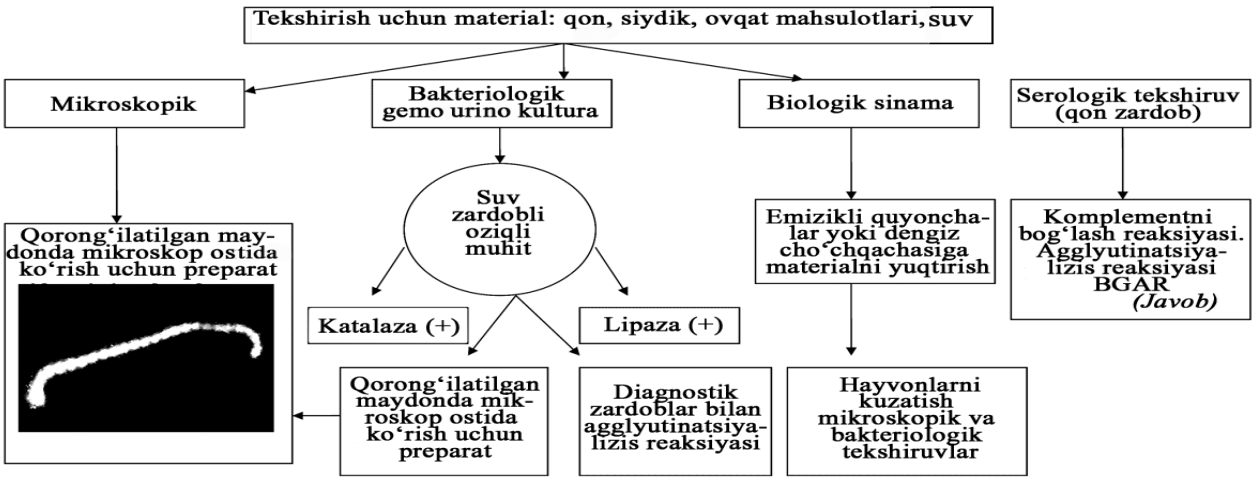
19.3.Лептоспирозларнинг микробиологик диагностикаси.

Лептоспиралар зооноз юқумли касалликлар қўзғатувчилари ҳисобланади. Қўзғатувчиси *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 қўзғатувчилар

лептоспироз касалликларини келтириб чиқаради, қўзғатувчилар кўпроқ сув орқали организмга тушади (чўмилганда, ичганда ва бош), бундан ташқари ҳайвонларни қарашда ҳам юқиши мумкин. Касаллик турли кўринишдаги клиник формаларда (сариқлик билан ёки сариқсиз) ўтади.

Микробиологик текширувда материал сифатида касалликнинг турли даврларида қон, ликвор, ва сийдикдан фойдаланилади. Касалликнинг 5-кунида қондан бактериоскопик ва бактериологик текширув, биологик синама, 10 кундан бошлаб сийдикда бактериоскопия, 1 ҳафтани охирида серологик текширишлар (АР ва лизис реакцияси) ўтказилади.

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.



19.3-схема. Лептоспирозларнинг микробиологик текшириш усуллари

Бактериологик текширув. Лептоспира облигат анаэроб бўлиб 5-10% қуён зардоби қўшилган суюқ-сувли ва зич муҳитларда яхши усади. Баъзи бир муҳитларга фосфатли буфери, пептон қўшилади. Текширилувчи материал бемор кровати олдида 3-5 та пробиркаларга экилади ва устига стерил вазелин мойи томизилади (ҳаводан кислород тушишини чегаралаш учун). Сўнг 28ºС 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 қуёнчалар 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 озиқ 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 суюльтирилганда лептоспиралар тўлиқ эрийди, баъзан бир қисми ҳам эриши мумкин ёки дона-донача бўлибшишади. Зардобнинг кейинги суюлтирилганида эса, лептоспира агглютинацияси ва кичкина “ўргимчакларга” ўхшаш агломератлар ҳосил бўлади. Реакциянинг диагностик титри 1:100 га тенг. Касалликнинг 15-30 кунида антителаларни энг юқори титри 1:800-12 000 бўлиши мумкин. Касалликни бошидан кечирган қатор 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 тиқга 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.

III- БЎЛИМ.
ВИРУСЛАР КЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИКЛАРНИНГ ВИРУСОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

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 пикарновируслар болаларда энтеритларни 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 ретравируслар (ОИТВ 1, 2 типлари ва бош) киради.

Вируслар келтириб чиқарувчи касалликларнинг лаборатория диагностикасида вирусологик, серологик, вирусоскопик ва биологик усуллар қўлланилади. Буларнинг ичида вирусологик усул энг асосий ҳисобланади, лекин, вирусларни ажратиб олиш жуда катта меҳнат талаб қилади, чунки текширилаётган материаллар махсус лабораторияларда ҳужайра культуралари ва товуқ эмбрионларига юқтирилиб ажратиб олинади.

Вирусларнинг ҳужайра культураларига ҳар хил сезувчанлик хусусиятларини ҳисобга олиб, бир вақтнинг ўзида бир қанча ҳужайра культураларига вируслар юқтирилади. Айрим вируслар лаборатория ҳайвонларига текширувчи материални юқтириш йўли билан аниқланади.

Лаборатория шароитида ажратиб олинган вирусларни идентификация қилишда уларнинг ҳужайраларга кўрсатган цитопатик таъсири ва қуйидаги серологик реакциялар ёрдамида (нейтраллаш, ГРТ, КБР, ПГАР, агардаги преципитация реакцияси ва бошқ.) олиб борилади. Текширилаётган 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 ҳужайра культураларига мослашиши учун 2-3 маротаба 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 серодиагностика кўпчилик ҳолларда ретроспектив аҳамиятга эга бўлиб, асосий диагнозни тасдиқлаш учун хизмат қилади. Диагностик мақсатда қўлланилганда албатта жуфт қон зардобдан фойдаланилади. Касалликнинг турли даврларида АТ ларнинг титрини ошиб бориши мазкур диагнозни тасдиқлаш имконини беради.

Оҳирги йилларда вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларнинг диагностикасига ўта сезгир замонавий усуллар (ИФА, ДНК-гибридизацияси, ПЗР, иммуноблотинг ва бош.) кириб келди, бу усуллар ёрдамида вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касалликларга ўта тез диагноз 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.

20-БОБ. ЎТКИР РЕСПИРАТОР ВИРУСЛИ ИНФЕКЦИЯЛАР ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ, ВИРУСОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

Респиратор –юқори нафас йўлининг вирусли юқумли касалликлари қўзғатувчилари таркибида РНК- ва ДНК –бўлган турли вируслар оиласи киради (20.1-жадвал).

Улар организмга фақат юқори нафас йўлларининг шиллиқ қаввати орқали кириш хусусиятлари ва лаборатория диагностика принципларининг умумийлиги туфайли бир группага киритилган.

20.1-жадвал.

Вирусли ўткир респиратор юқумли касалликларнинг қўзғатувчилари

	Вируслар номи	Қўзғатадиган касалликлари
ДНК- вируслар	Аденовируслар оиласи (Adenoviridae)	Ринит, ларенгит, трахеобранхитлар, ЎРК, зотилжам, ўрта қулоқнинг яллиғланиши, ўткир конъюктивит
	Herpesviridae оиласи I-тип учуқ вируси II-тип учуқ вируси Сув чечак ва ўраб олувчи темиратки вируси	Ёш болаларда ўткир гингивостаматит, герпетик экзема кератоконъюктивит, герпетик иситма Чақалоқлар учуғи (қон орқали тарқалган ва жинсий органлар учуқ) Болаларда сув чечак, каталарда ўраб олувчи темиратки
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)
	Picornaviridae оиласи Риновируслар A_{10}, A_{21}, A_{24}, A_2, A_4, A_5 Коксаки вируслари ва бошқалар $ECHO_{20}$ вируси ва бошқалар	 Ринитлар,бронхитлар, ўткир респератор касалликлар (ЎРК) Герпангин ва Ўткир респератор касалликлар (ЎРК)
	Reoviridae оиласи Риовируслар	 Ўткир респератор касалликлар (ЎРК), зотилжа, бронхитлар

73-жадвалда келтирилган вируслар асосан юқори нафас йўлларини шикастлайди. Бироқ, улардан айримлари киши организмининг бошқа тўқима ва органларини ҳам шикастлаши мумкин. Қатор вируслар масалан тепки фақатсўлак безларини, ўғил болаларда мояк тўқималарини ва бошқа органларни, қизилча вируси эса лимфа тугунлари системасини, ҳомиладор аёлларда ҳомилани, герпес вируслар тери ва жинсий органларни ҳам шикастлайди.

Юқори нафас йўлларининг (респиратор) вирусли, вирус + бактерия , вирус + микоплама билан биргаликда аралаш инфекциялар жуда характерлики, буларни лаборатория диагностикасида бу хусусиятни ҳисобга олиш зарур. Шунинг учун бурин-ҳалқумдан олинган суртма ва чайиндилар, ўпка шикасланганда

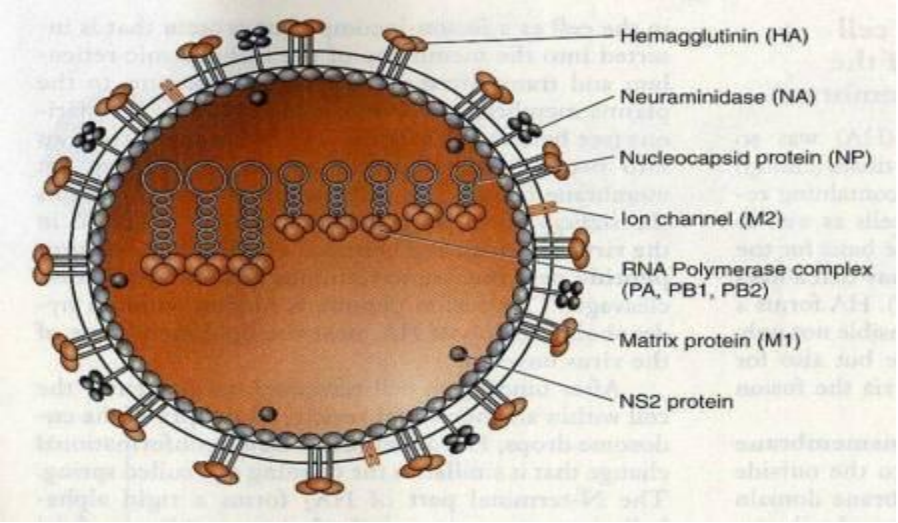
эса балғам ва бронхлар чайиндиси текширилувчи материал бўлиб ҳисобланади.

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 қизамиқ, тепки, қизилча, сувчечак каби болалар юқумли касалликларида кузатилади.

Ўткир респиратор касалликлар (ЎРК) лаборатория диагностикаси тезкор (экспресс) усуллар, чунончи: иммунолфлюоресценция ва риноцитоскопия (ДНК-гибридизация, ПЗР ҳам қўлланилмоқда) ниҳоятда кенг қўлланилади ва 2-3 соат давомида тахмитний диагноз қўйиш имконини беради. Грипп в ЎРК ларда серорлогик диагностика ретроспектив характерга эга бўлади, чунки антителалар реконвалисцент даврида (касаллик тузалгандан кейин 2-3 ҳафта кейин) кўпайяди. Серодиагностика учун ГАРТ, КБР, ИФА, иммуноблотинг ва вирусли нейтраллаш реакцияларидан фойдаланилади.

20.1. Ўткир респиратор вирусли инфекциялар: орто- ва парамиксовируслар, аденовируслар оиласига кирувчи вирусларнинг вирусологик диагностикаси

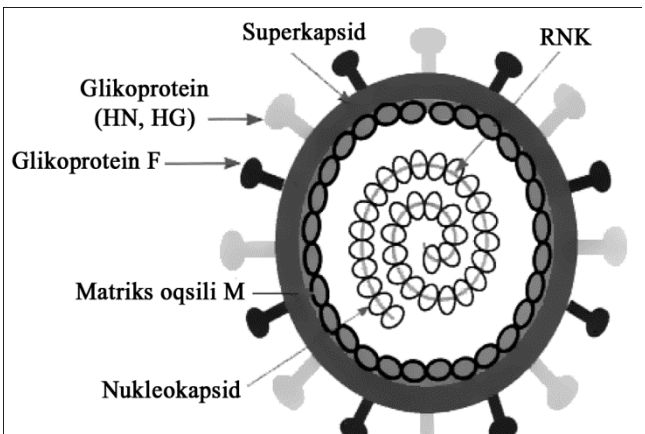
Ортомиксовируслар.*Ortomyxoviridae* оиласига Грипп вируси киради ва учта типи А, В, С тафовут қилинади. Булардан А типи асосан эпидемия ва пандимия кўринишлада ўтади.Грипп вируслари одамда, қушларда ва ҳайвонларда касаллик келтириб чиқаради. Грипп вирусининг ўзига хос хусусиятларидан бири табиий шароитда ўз юза (гемагглютинин НА ва нейраминидаза 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 пандемияси бошланади. 2000 йилдан кейин грипп вирусининг H2N5 паранда гриппи ер юзидаги инсоният



20.1-расм. Грипп вирусининг схематик структураси

соғлиғига катта хавф солиб турибди. 2009 йилдан бошлаб Грипп вирусининг H1N1 чўчқа 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 оҳирги 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 товуқ эмбрионини амнион ёки аллантоис бўшлиғига юқтириш ҳисобланади. Лаборатория ҳайвонларидан грипп вирусига сезгир африка юмронқозиқлари ва оқ сичқонлар ҳисобланади. Грипп вирусининг ретроспектив диагностикасида кўпроқ серологик усуллар қўлланилади. Грипп вирусини схематик структураси 86 - расмда келтирилган.

Парамиксовируслар *Paramyxoviridae* оиласи ва бу оилага 4 та авлод вакиллари киради: *Paramyxovirus* авлоди-парагрипп қўзғатувчилари 1 -3 типи; *Rubulavirus*-авлодиэпидемик паротит касаллиги вируслари 2 ва 4 типлари; *Morbillavirus*-авлоди қизамиқ касаллиги вируси; Pneumovirus- РС вирус. Парагрипп вируси РНКсақловчи вирус бўлиб сегментланмаган –РНК молекуласи тутади.



20.2-расм. Паромиксовирусининг схематик структурси

Суперкапсид таркибида гемагглютинин (H), нейраминидаза (N) антигенлари ва F-оқсил учрайди (расм 87). Ғ оқсил ҳужайра мембранасига бирикишни ва зарарланган симпласт ҳужайраларининг ҳосил бўлишида қатнашади.Вирус репликацияси доимо ҳужайра цитоплазмасида рўй беради.Вируслар гемадсорбция, гемолитик, нейраминидаза ва симбласт ҳосил қилувчи хусусиятларга эга

Парагрипп вируслари (ПВ). Одамларда юқори нафас йўлларининг шиллиқ қаватларида парагрипп касаллигини (para-олдида, юнонча) келтириб чиқаради. Касаллик қўпроқ болаларда ва болалар колективларида кузатилади. Болаларда касаллик ларенготрахеобранхит кўринишда ўтиб, ёлғон круп деб ҳаматалади (1,2 типлари чақиради). Вируснинг 3 типи бир ёшгача болаларда бронхит ва зотилжам касалликларини келтириб чиқаради.

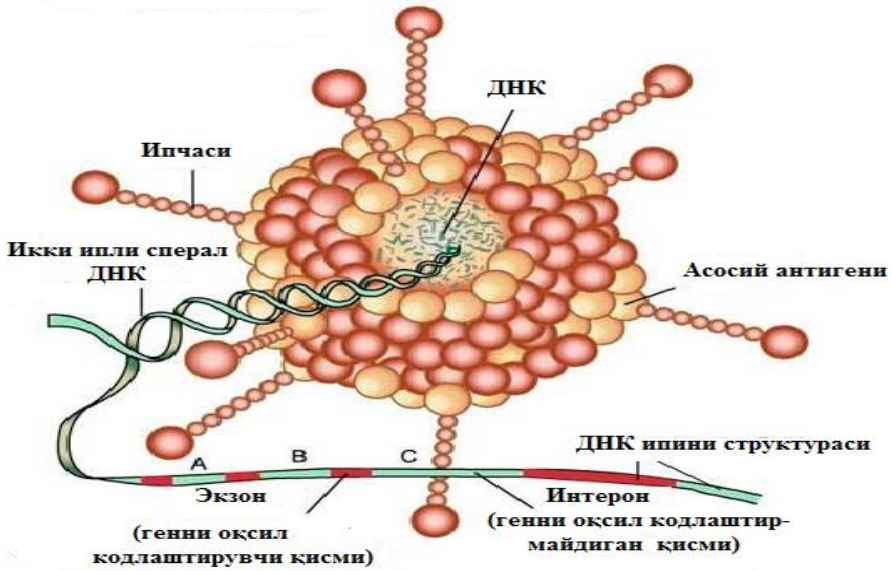
Эпитпаротит вируси (тепки). Ўткир юқумли инфекцион касаллик бўлиб асосан қулоқ олди безини жароҳатлаб, кўпинча бирдан (эпидемик вспышка) болалар жамоаларида эпидемия бошланиши мумкин. Эпитпаротит вирусининг битта серовари учрайди.

Қизамиқ вируси (ҚВ) . Вирус дастлаб юқори нафас йўлидаги эпителиал ҳужайраларга киради ва шиллиқ қават, бурун-ҳалқум, трахея ва бронхларнинг эпителий ҳужайраларида кўпаяди, сўнгра қонга тушади. Вирус қон капиллярларининг эндотелий ҳужайраларини шикастлайди. Бу ҳужайралар 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 ҳужайра культураларида кўпайтирилади. Бундан ташқари, одам амниони ва ундирилувчи ҳужайра культураларида (*Hela, KB, Vero* ва бошқалар) цитопатик таъсир кўрсатиб кўпаяди. Натижада симпластлар, яъни кўп

ядроли ҳужайралар ҳосил бўлади. Вирус кирганҳужайра цитоплазмасида ацидофил, ядросида базофил киритмалар вужудга келади. Бошқа парамиксовируслардан фарқ қилиб ҚВ таркибида **нейраминидаза**учрамайди.

Аденовируслар (юнонча adeno- без) ўткир инфекцион жараённи келтириб чиқаради, асосан юқори нафас йўллари, кўз, ичак ва лимфоид тўқималарни жароҳатлайди.

Аденовирусларнинг 34 та сероварлари учрайди, оддий тузилишга эга, вирион икки ипли чизиқли инфекцион ДНК тутади.Вирусда суперкапид учрамайди, шунинг учун ташқи муҳит омилларига (эфир, спирт) ўта чидамли (88-расм).



20.3- расм. Аденовирусларнинг схематик

Лаборатория шароитида аденовируслар одамлардан олинган эпителий ҳужайра культураларида интинсив кўпайяди. Вирус репликацияси ядрода рўй беради. Вируснинг цитопатик эффекти юқтирилгандан сўнг 1-7 кунлари намоён бўлади ва ҳужайралар юмалоқлашуви, уларнинг бир бирлари билан бирикиши оқибатида узум шингилига ўхшаб йиғилиб қолади. Ҳужайра ядросида ДНК тутувчи специфик киритмалар пайдо бўлади. Аденвируслар товуқ эмбриони ва лаборатория ҳайвонлари учун патоген эмас. Баъзи бир сероварлари онкоген хусусиятга эга.Ўткир респиратор вирусли юқумли касалликларнинг диагностикасида экспресс, вирусологик ва серологик усуллар қўлланилади.

Экспресс усуллар. Бу усуллар билан грипп ва бошқа респиратор касалликлар қўзғатувчиларига 2-3 соат мобайнида тахминий диагноз қўйилади.

Риноцитоскопик усул. Грипп ва бошқа респиратор вирусли касалликларнинг лаборатория диагностикасида қўзғатувчини тез аниқлаш учун қўлланиладиган экспресс усулдир. Касал бурнининг пастки чиғаноғи юзасидан (қирғоқлари силлиқланган ойнача ёки плексиглас пластинкаси ёрдамида) тамға -суртма олинади. Тамға – суртмалар қуритилиб, фиксация қилинади ва Ромоновский-Гимза ёки фукцин, метилен кўкида бўялади. Цилиндрик эпителий, ҳамда дегенерация бўлган макрофаглар цитоплазмасида, лейкоцитларда қизил рангли кенг контурли киритмалар жойлашган бўлади.

Грипп касаллиги вирусининг диагностикасида риноцитоскопик текшириш, специфик усул бўлмаса ҳам, гриппнинг аденовирус касалликларидан ажратишга ёрдам беради. Бунда ҳужайранинг структураси бузулади, натижада ядролар вакуолланиши ва ядро ичида киритмалар пайдо бўлади. Аденовируслар репродукциясида , эпителий ҳужайраларида бошқа вируслардан фарқ қилиб, характерли цитопатик ўзгаришлар рўй беради, яъни ҳужайралар юмалоқлашиб, қатламнинг четида ғужум ҳолида (узум шингилини эслатади), тўпланади ва культура ойна (пробирка) сатҳидан тез кўчишикузатилади.

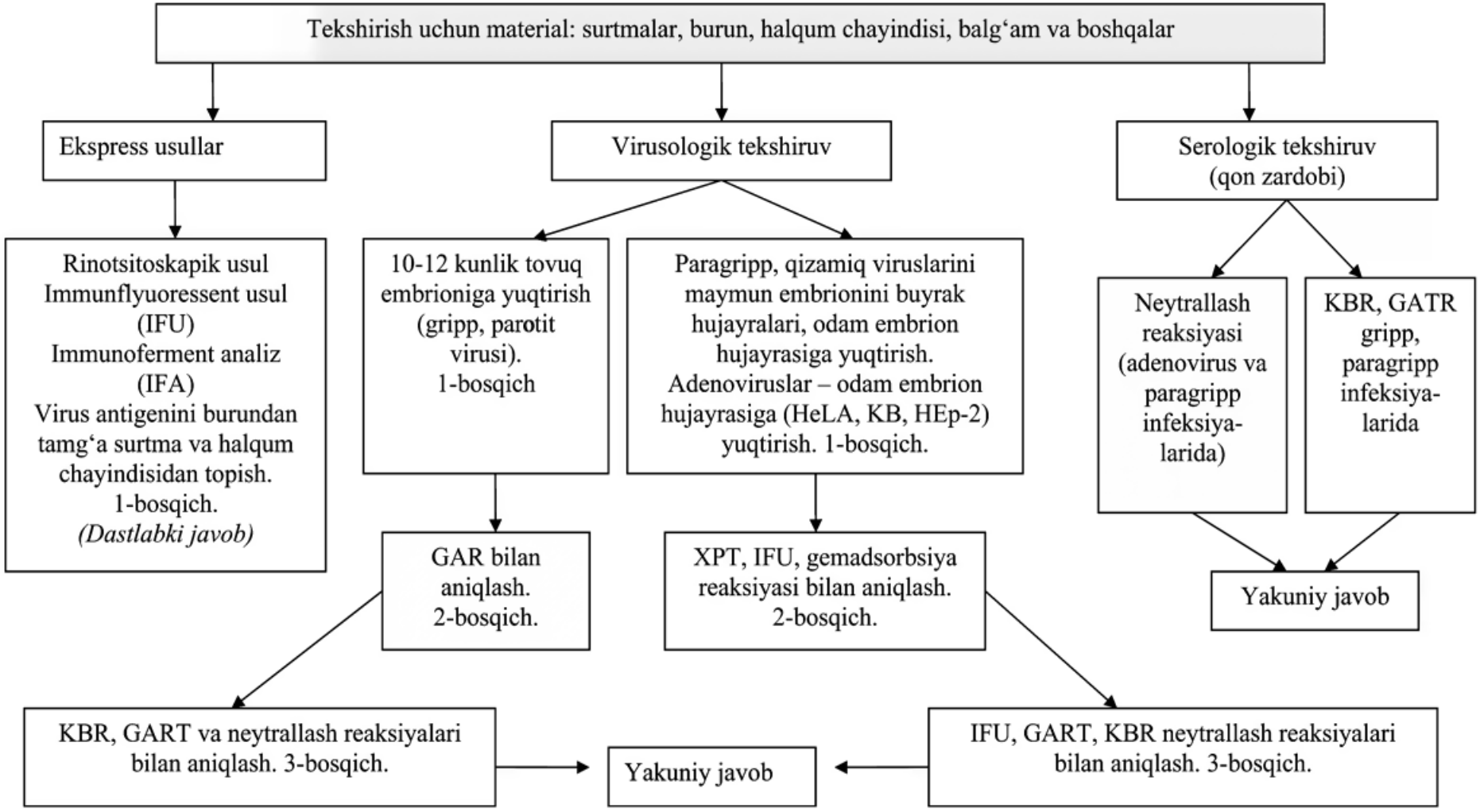
Парагрипп вируслари эса ҳужайраларнинг бир бирларига бириктириши оқибатида кўп ядроли симбласт ҳужайралари ҳосил бўлади. Респиратор вируслар фибробласт ҳужайраларида суст ривожланади ва бунда ҳужайра тез шишади, натижада уларнинг ядролари парчаланилади. Аденовируслар учун эпителий ва фибробластлар ҳужайралари ядро ичида киритмалар пайдо қилиши характерлидир.

Экспресс – серологик диагностика (26- схема).

Билвосита, тўғридан-тўғри иммунофлюоресценция (Кунс) реакцияси БИФР (РИФ) жуда специфик бўлиб, бунда зарарланган ҳужайралардан вирус антигеларини нишонланган флюоресцентли антителалар ёрдамида аниқлаш механизми ётади.

Текшириш учун материал бўлиб, беморнинг томоқ, бурун ҳалқум чайиндилари ва шу чайиндилар билан юқтирилган ҳужайра культуралари хизмат қилади. Препарат тайёрлаш учун олинган

чайинди центрифугада бир минутда 2000-3000 марта 10 минут айлантирилади. Чўкмадан бир нечта мойсизлантирилган буюм ойначаларига суртмалар тайёрланади ва қуритилиб 5 минут давомида тоза ацетонда фиксация қилинади. Кейин худди шу препаратлар нишонланган флюоресцентли антителалар (махсусчиқарилган: 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, кейин ювиб ташланади ва нишонланган флюоресцентли одам антиглобулинли қон зардоблари билан ишлав берилади. Анализ охирида препаратларни люменцент микроскопда кўздан кечирилади.



20.1- схема. Респираторвирусли касалликларнинг лаборатория диагностикаси.

Препаратда вируслар бўлса люменисцент микроскопда ёғдуланади ва махсус нур сочаётган вирус зарраларига эътибор берилади: ёғдуланаётган аденовируслар ҳужайрани ядросида кўринса; грипп ва парагрипп вируслари цитоплазмада йиғилиб қолган бўлади. Ҳужайралардаги вирус зарралари ва уларнинг сонига қараб реакция жавоби ўқилади.

Вирусологик текширув. Ўткир респиратор вирусли касалликларда текшириш учун материал бурин ҳалқум чайиндиси, балғам ва бошқалар бўлиши мумкин (26-схема). Патологик материал ҳужайра ёки товуқ эмбрионига юқтиришдан олдин, уларнинг таркибидаги бошқа микроорганизмларни 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 ҳужайра культураларига (грипп вируси товуқ эмбрионининг амниотик ва аллантоис бўшлиғига, маймун, одам эмбрионларининг буйрагидан тайёрланган бирламчи ҳужайра культураларига; парагрипп вируси маймун, одам эмбрионининг буйрагидан ва одам эмбрионининг фибробластларидан тайёрланган тўқима культураларига; паратит тепки вируси товуқ эмбрионининг амниотик бўшлиғига ва янги ажратиб олинган вирус штаммлари одам эмбрионининг буйрагидан тайёрланган бирламчи ҳужайра культураларига; қизамиқ вируси одам эмбриони ва маймун буйрагидан тайёрланган бирламчи ҳужайра культураларига) юқтирилади, бундан ташқари, одам амниони ва ундирилувчи ҳужайра культураларига (*Hela, KB, Vero* ва бошқалар); РС-вирус маймун буйрагидан тайёрланган бирламчи ҳужайра ва ундирилувчи ўсма ҳужайра культураларига (*Hela, Hep-2, KB*); аденовируслар эса одам эмбриони буйрагидан тайёрланган бирламчи ва ундирилувчи *Hela, Hep-2* ҳужайра культураларидан ҳам фойдаланилади. Вирус юқтирилган товуқ эмбрионлари ва ҳужайра культуралари 37ºС да термостатда сақланади.

Ўткир респиратор касаллик келтириб чиқарувчи вирусларни индикация ва идентификация қилиш усуллари. Ўткир респиратор касаллик келтириб чиқарувчи вирусларни индикация (индикация – вирус борлигини аниқлаш) қилишда ҲПТ, гемадсорбция, ГАР ва иммунофлюоресценция усулларидан фойдаланилади.

Иммунофлюоресцент усул бошқа усуллардан фарқ қилиб (ҲПТ, гемадсорбция, ГАР) вируслар материалда жуда каммиқдорда бўлса ҳам уларни аниқлаш имконини бериши мумкин. Иммунофлюоресцент усул билан фақат вирусларни топиш эмас, балки парагрипп вируслари, РСВ, аденовирус ва микоплазмалар юқтирилган ҳужайра культураларида вирусларни идентификация қилиш мумкин. Бундан ташқари вируслар ҳужайра культураларида йиғилиб қолгандан сўнг, КБР да аденовирусларни, ГАРТ, КБР ва специфик зардоблар билан нейтраллаш реакцияларида парагрипп, тепки, қизамиқ вирусларини бир-биридан фарқлаш мумкин.

Грипп вирусларини ажратиш, пассаж қилиш ва титрлаш учун улар ривожланаётган товуқ эмбрионларида ўстирилади.

Грипп вирусининг амниотик ёки аллантоис суюқлиғида мавжуд ёки мавжуд эмаслигини тахминий ГАР ёрдамида аниқланади. Грипп А вируси товуқ, денгиз чўчқачаси, одамнинг I (О) 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 спецефик зардоблар тўплами билан аниқланади.

Реакция натижаси геаагглютинациянинг тормозланиши билан белгиланади. Вирус (А, В ёки С) КБР ёрдамида дифференциация қилинади. А вирусининг кенжа типи H_oN_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 гемагглютинингa ва нейраминидазага қарши олинган, махсус монорецептор зардобларданфойдаланилади.

20,2-жадвал

Грипп вирусининг типларини аниқлаш учун қўйиладиган ГАТР

Суюлтирилган диогностик зардоб		Тажрибадаги					Контролдаги		
		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Зардоб	Вирус	Эрирт.
1- H_0N_1		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
2- H_2N_2		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
3- H_3N_2,		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	—
Товуқ 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	+	+	+	+	+	—	+	—

Бунда Н-антигенни ГАТР ёки иммунпрецептация реакцияси ёрдамида гелда, N-антигенни эса, нейраминидазани нейтралловчи реакция ва гелдаги иммунопрецепитация реакцияси ёрдамида идетификация қилинади (74-жадвал).

75-жадвалда кўрсатилган ГАТР натижалари шуни кўрсатадики текширилувчи вируснинг гемагглитинация қилиш активлиги, H2N2 типига хос зардоб билан 1:10-1:160 нисбатда (унинг титргача) нейтралланади, яъни текширилаётган вирус А (H2N2) кенжа типига алоқадор бўлади.

Серадиагностика. Грипп ва бошқа респиратор вирусларни турли серологик типларирнинг эталон штаммлари тўпламидан ташкил топган, стандарт диагностикумлар 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 75).

20,3-жадвал

Грипп ва ЎРК вируслари серодиагностикасида касалнинг жуфт зардоблари билан қўйилган КБР натижалари

Диогностикум	Текши-риш сони	Зардобни суюлтириш 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	+	–	–	–	–	–

75-жадвалдан ҳам кўриниб турибдики бемор жуфт қон зардоби билан КБР Грипп ва ЎРК вируслари диагностикумлари билан қўйиганда Грипп А вирусини кежа H_2N_2 типи билан мусбат натижа берди, яъний иккинчи маротаба қўйилганда шу вирус антигенига қарши АТ уч маротаба ошганлигианиқланди. Антителанинг титрини ошиб бориши беморнинг Грипп вирусини кежа H_2N_2 типи билан касалланганидан далолат беради.

20,4-жадвал.

Грипп ва парагрипп серодиагностикасида касалнинг жуфт зардоби билан қўйилган ГАТР натижалари

Диогностикум	Текши-риш сони	Зардобни суюлтириш 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	+	–	–	–	–	–

Жуфт зардобларда антителолар титрининг тўрт мартага (эпидемия даврида) ва ўзига хос клиник белгилари бўлган касаллар зардобида икки мартага кўпайиши диагностик жиҳатдан муҳим аҳамиятга эга (76-расм).

Бироқ, 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) диагностикумлар. Маълум юқумли касалликлар серодиагностикасида ишлатилади.

Тирик грипп вакцинаси. Грипп вируси асосий серотипларининг вакцина штаммлари 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, нейраминидаза) антигенларидан таркиб топган. Грипп вакцинасини АГ таркиби БССБ томонидан берилган кўрсатма асосида янгиланиб турилади.Вакцина бир маротаба 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 маротаба 4 ҳафта интервал билан ревакцинация қилишга кўрсатма берилади.

Тирик қизамиқ вакцинаси. Қизамиқ вирусини вирулент штаммларини кучсизлантириб (аттенуирланган) олинган (РФ Л16). Бир маротаба (8-ойлик чақалоқларга календарбўйича) тери остига юбориб эмланади.

Тирик паратит вакцинаси. Паротит вирусини вирулент штаммларини кучсизлантириб (аттенуированная) олинган. Бир маротаба (1 ёшдан бошлаб календар бўйича) тери остига юбориб эмланади.

Даво-профилактика учун қўлланиладиган кўп валентли грипп зардоби. 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.

Типоспецефик аденовирус зардоблари. Нейтраллаш ва ГАТР да аденовирусларни серологик типларга ажратишда қўлланилади.

21-БОБ. ЎТКИР НЕЙРОТРОП ВИРУСЛИ ИНФЕКЦИЯЛАР ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ, ВИРУСОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

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 (полиомиелит, сероз минингит, менингоэнцефалит ва бошқалар) патогенетик ва клиник белгиларига кўра, уларни нейротроп касалликлар қўзғатувчи вирусларга қўшиш мумкин. Баъзан таркибида ДНК бўлган, масалан 1-ва 2-типларга кирувчи герпесвируслар марказий нерв системасини ҳам шикастлантириши мумкин.

21,1-жадвал

Ўткир нейротроп вирусли юқумли касалликларнинг қўзғатувчилари

	Вируслар номи	Қўзғатадиган касалликлари
РНК-вируслар	Picornoviridae- оиласи Энтеровируслар: 1, 2, 3, полиовируслар типи ECHO $_{4,5,9,11,14}$ ва бошқа вируслар Коксаки A_7, A_9 вируслари Коксаки B_{1-6} 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 геморрагик иситмаси вируси Flaviviridae оиласи Bunyaviridae оиласи Қрим геморрагик иситмаси вируси Arenaviridae оиласи Лимфоцитар хориоменингит вируси	 Энсефалит, асептик менингит Энсефалит, асептик менингит Қон оқиши ва МНС ни шикастловчи геморрагик иситма Япон ва кана энцефалити Қон оқиши ва МНС ни шикастловчи геморрагик иситма Асептик менингит ёки энцефаломиелит
	Rhabdoviridae оиласи Кутириш вируси	 Бош ва орқа мия нейронлари шикастларган энцефаломиелит

Нейротроп вирус касалликларининг лаборатория диагностикасидакасалликнинг даври муҳим аҳамиятга эга. Биринчи 5-6 кеча-кундуз давомидадеярли ҳамма ҳолатларда қонда (вирусемия босқичи), неврологик белгиларнамоён бўлгандан сўнг ликворда вирусни аниқлаш мумкин.

21.1. Полиомиелит, коксаки ва ECHO вируслари қўзғатган кассалликларнинг 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); ECHO вируслари (34 серовар) ва 5 та классификация қилинмаган одам (68-72) энтеровируслари.

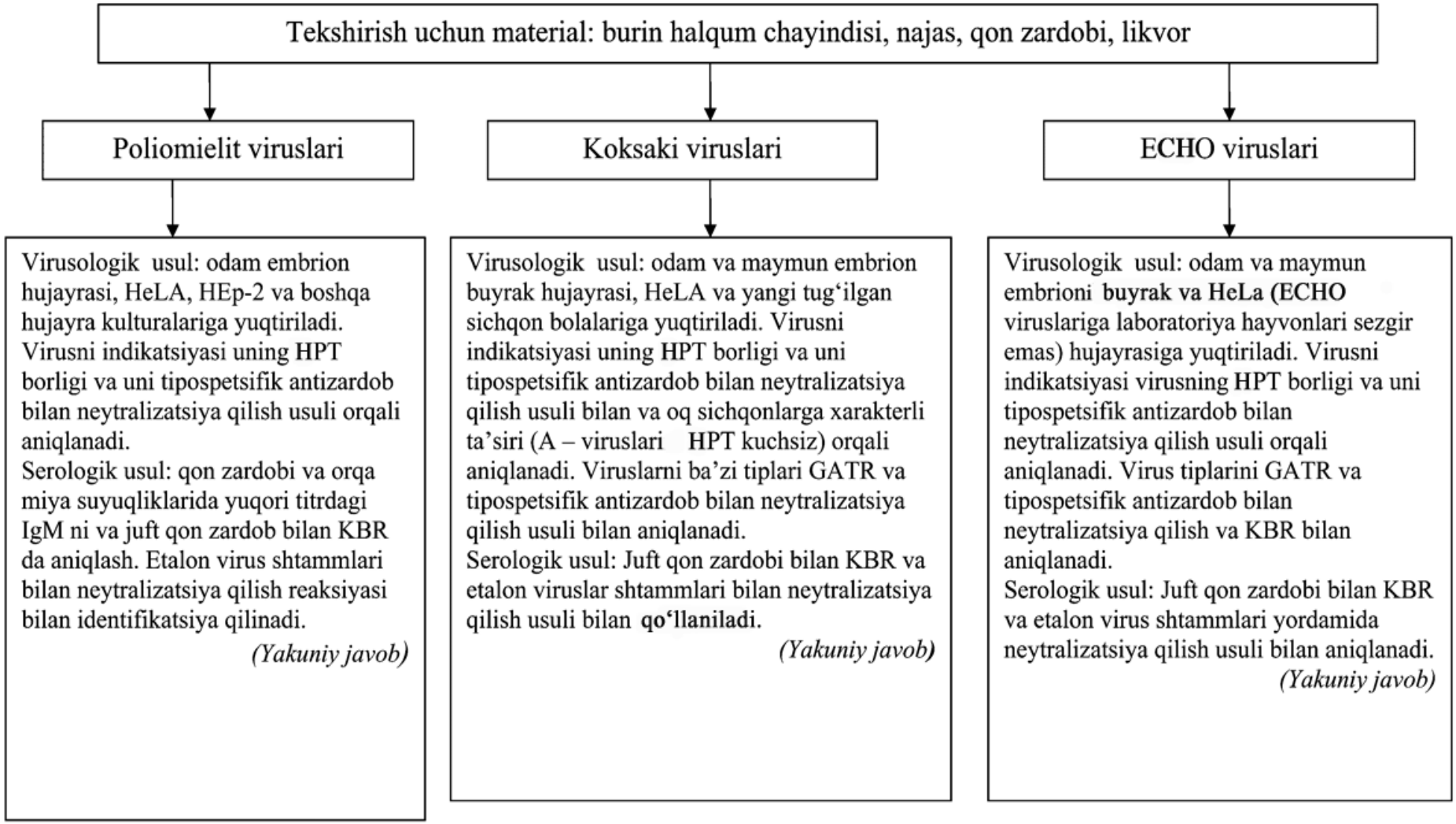
Энтеровирусларнинг асосий хусусиятлари: ўлчами 22- 30 нм; геноми- бир ипли (+) фрагментланмаган РНК; суперкапсиди йўқ; симетрия типи-кубсимон 60 капсомери бор; таркибида ёғлар йўқ; эфирга, ўт сафро, кислота ва ишқорларга ва (3-10 pH диапазонда) ташқи муҳитга чидамли; махсус ҳужайра културасида ўсади.

Текшириш учун материал: нажас, томоқ чайиндиси, ликвор. Энтеровируслар касалликнинг даслабки кунларида (3-кун) қўзғатувчи ҳалқум бурундаги ажралмаларда учрайди ва 10 кунидан бошлаб нажас орқали ажралади.

Вирусологик текширув. Патологик материал ҳужайра культурасига юқтиришдан олдин, уларнинг таркибидаги бошқа микроорганизмларни йўқотиш учун антибиотиклар билан (пенициллин, стрептомициннинг Хенкс эритмасидаги аралашмаси 1000 ТБ мл) 4ºС да бир сутка давомида сақланади.

Сўнгра контрол сифатида уларни стериллиги текширилади. Агар нажас суспензиясида бактериялар бўлмаса, у ҳужайра культурасига юқтирилади.

Агар бактериялар материалда сақланиб қолинган бўлса у яна антибиотиклар билан қайта ишланиб кейин юқтирилади. Патологик материал бир вақтни ўзида 2-3 та пробиркадаги бирламчи ҳужайра культурасига (одам эмбрионининг ёки маймун буйраги ҳужайраси) ва ундирилувчи ҳужайра (*HeLA* қатори, одам амниони ва бошқа) культураларига юқтирилади, чунки энтеровирусларнинг бир тури бирламчи, бошқалари ундирилувчи ҳужайраларда яхши кўпаяди.



21.1-схема. Энтеровируслар келтириб чиқарган касалликларнинг лаборатория диагностикаси

Материал юқтирилган ҳужайра культуралари 35ºС да 2-3 кун сақланади ва вирусларнинг борлиги индикация қилинади, одатда вирус юқтирилган ҳужайралар тўла ёки қисман дегенрацияга учрайди. Бунда ҲПТ нинг интинсивлиги кўп сабабларга, жумладан вирусларнинг миқдорига, унинг турига, ҳужайра культурасини ҳолатига ва бошқа хусусиятларга боғлиқ. Агар вируснинг ХПТ суст ёки умуман намоён бўлмаса, у ҳолда 2-3 маротаба қайта юқтирилади. Натижа манфий бўлса текшириш тўхтатилади, агар ижобий бўлса ажратиб олинган ҳужайрага патоген таъсир кўрсатган агентни идентификация қилинади.Текширилаётган вируснинг аввал ўша ҳужайра культурасидаги титри аниқланади. Нейтраллаш реакцияси учун мазкур вирусдан 100 ХПТ 50 (1 ХПТ $_{50}$ – бу вируснинг камида 50% ҳужайра культурасини дегенерацияга учратадиган миқдори) бирлик олинади.

Энтеровирусларнинг идентификацияси. Ажратиб олинган вирусларни идентификация қилишда нейтраллаш реакцияси (НР), ГАТР қўлланилади. Бу мақсадда диагностик, поливалентли стандарт зардоблардан фойдаланилади. Сўнгра 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, кейинги 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 ГАТР 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 ривожланадиган шол келтириб чиқаради. Бу вирусларни идентификация қилиш учун шу сичқонларда Коксаки А вирусининг серотипларига қарши олинган моновалент диагностик зардоблар билан НР қўйилади.

21,2-жадвал.

Полиомиелит вирусининг I-III типларига қарши олинган моновалент иммун зардоблар билан бемордан ажратиб олинган вирусларни нейтраллаш натижалари

Шартли белгилар: ++++ ҳужайраларнинг пробирка деворидан кўчган ҳолдаги тўлиқ дегенрацияси; +++ ҳужайраларнинг пробирка деворидан қисман кўчган ҳолдагидегенрацияси; ++ ҳужайраларнинг 50% дан ошмаган ҳолдаги дегенрацияси; + айрим ҳужайраларнинг дегенрацияси; − ХПТ нинг йўқлиги

Энтеровирусларнинг серодиагностикаси. Энтеровируслар келтириб чиқарувчи (полиомиелит, Коксаки, ЕНСО) касалликларда қонда комплемент боғловчи антителалар пайдо бўлади, айниқса касалликнинг ўткир даврида ва қонда IgM ни миқдори ошиб кетади. Лекин серологик усул кўпчилик ҳолларда ретроспектив бўлиб, жавоб бемор тузалгандан ёки ўлгандан сўнг берилади. Энтеровирусларнинг серодиагностикасида кўпроқ КБР қўлланилади.

Реакцияни натижалашда аниқланган АТ нинг титрини касаллик давомида ошиб боришига (касаллик давомида камида 4 маротаба ошиши зарур) аҳамият берилади. Шунинг учун реакция камида 2 маротаба қўйилади. Касалликнинг бошида олинган зардоб холодильникда сақланади ва 3-4 ҳафтадан кейин олинган зардоб билан бирга реакция қўйилади.

21,3-жадвал.

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		
I	−	−	−	−	−	−	−	I
II	−	−	+	+++	+++	+++	−	−
III	−	−	+++	+++	+++	+++	−	−
Вирус контроли	−	+	+++	+++	++++	++++		

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.

21,4-жадвал

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		
B_1	–	+	++	+++	++++	++++	–	
B_2	–	–	+++	++++	++++	++++	–	
B_3	–	++	–	–	–	–	–	Коксаки B_3
B_4	–	+	++	+++	++++	++++	–	
B_5	–	++	++	+++	++++	++++	–	
B_6	–	+	++	+++	++++	++++	–	
Вирус контроли	–	+	+++	+++	++++	++++	–	

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.

Серодиагностикада 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, ЕСНО вирусларининг гемагглюинация қилиш қобилиятига эга бўлган серотиплари билан қўзғатилган касалликлар серодиагностикаси ГАРТ орқали ўтказилади.

21,5-жадвал

Бемор жуфт зардоблари ва Коксаки B_2- B_5 вирус эталон штаммлари билан нейтраллаш реакцияси натижалари

Поливалент вирусларга қарши олинган зардоб типлари	Ҳисобга олиш кунлари						Зардоб контроли	Ажратилган вируснинг типи
	1	2	3	4	5	6		
9	–	+	++	+++	++++	++++	–	
11	–	++	+++	++++	++++	++++	–	
12	–	–	–	–	–	–	–	ECHO 12
13	–	+	++	+++	++++	++++	–	
14	–	++	++	+++	++++	++++	–	
15	–	+	++	+++	++++	++++	–	
16	–	+	++	+++	++++	++++	–	
Вирус контроли	–	+	+++	+++	++++	++++	–	

Шартли белгилар 79- жадвалда келтирилган.

21.2. Рабдовируслар. Қутириш касаллигининг лаборатория диагностикаси.

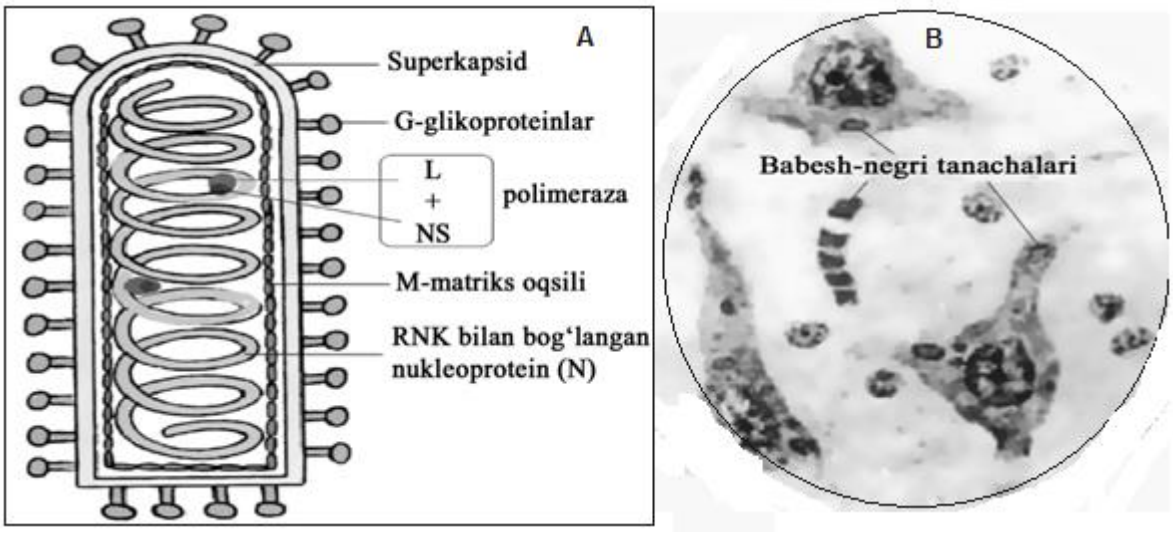
Ўткир юқумли МНС нинг касаллиги бўлиб, бош ва орқа мия нейронларини дегенрацияси билан кечади ва 100% ўлим билан тугаланади. Қутириш касаллигининг вируси *Rhabdoviridae* оиласи ва *Lyssavirus* авлодига мансуб бўлиб, ўлчами 75х 180 нм, ўқсимон шаклга эга. Таркибида бир ипли – РНК тутади мураккаб тузилишга эга. Вирусни битта антиген варианти, фиксацияланган (virus fixe) ва кўча (дайди) вирус кўринишда учрайди. Фиксацияланган типини қуёнлар бош миясига кўп маротаба 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 диагностикасида вирусоскопик, биологик ва серологик усуллар қўлланилади. Текшириш учун материал –касал (одам, ит, мушук ва бошқ.) сўлаги, секцион материал (мия тўқимаси, сўлак безлари).

Вирусоскопик усул асосийҳисобланади, секцион материалдан гистологик қирқмалар тайёрланиб,бўяб микроскопда Бабеш-Негри таначаларини топиш йўли билан аниқланади.Вирус аммон шохлари, миячада кўплаб учрайди. Бабеш-Негри эозинафиллитаначалар бўлиб, ўлчами 5-10 мкм, тухумсимон шаклда, таркиби йиғилибқолган

вирус нуклеокапсидларидан иборат. Бабеш-Негри таначалари кўпроққужайра ядроси атрофида топилади (расм-90). Уларни топилиши қутиришдиагнозини сўзсиз тасдиқлайди, топилмаслиги эса касалликни йўқлигинибилдирмайди. Секцион материалдан олинган тамға суртмаларни воситали вабилвоситали ИФР билан аниқлаш яхши йўлга қўйилган.

Вирусни ажратиб олишда касал (одам, ит, мушук ва бош.) сўлаги, секционматериал сичқон ёки қуёнларни миясига юқтириш йўли ҳам қўлланилади.Ҳайвонларда параличлар кузатилади ва ўлим билан тугайди.Ҳайвонларнингсекцион материалидан олинган тамға ва кесма суртмалардан Бабеш-Негританачалари топилади ва воситали ва билвоситали ИФУ билан ҳам вируснианиқлаш мумкин. Эмланган одам ва ҳайвонлар организмида вирусга қаршиАТ пайдо бўлади уларни КБР, НР ва ИФУ лари билан аниқлаш мумкин.



21.1-расм. А-қутириш вирусининг схематик кўриниши; В-нерв ҳужайраларида ситоплазматик критмалар (Бабеш-Негри таначалари, қутириш касаллигида.

21.3. *Togoviridae, Bunyaviridae, Flaviviridae* ва *Arenaviridae* вирусларикелтириб чиқарувчи касалликларнинг диагностикаси.

Бу вируслар келтириб чиқарувчи касалликларни табиий ўчоқли касалликлар жумласига ҳам киритилади. Буларни арбовируслар ҳам деб(arthopoda- бўғимоёқлилар, лотинча сўз + borne ўтказувчи инглизча)юритилади.

Тогавируслар (лат. *toga*— ёпқич) —РНК-тутувчи ёпқич қаватли вируслар оиласига киради ва экологик жиҳатдан арбовируслар гуруҳига, қизилча вирусидан ташқари критилган.Чивинлар одамларга вирусни ташиб ўтказади.

Тогавирусларга 2 та авлод вируслар киради: *Alphavirus* ва *Rubivirus* авлодлари. *Alphavirus* авлодига киради: шарқий ғарбий Синдбис, Венесуэл вируси- отларда энцефаломиелит келтириб чиқаради; Карел истимаси. *Rubivirus* авлодига эса қизилча вируси киради.

Тогавируслар сферик шаклга эга ўлчами 50-70 нм, ташқи қавати мавжуд, икосаэдрик капсиди ва унинг ичида бир ипли мусбат РНК тутади (90- А расм). Репродукцияси цитоплазмада рўй беради. Вирусни йиғилиши ва куртакланиб чиқиши ҳужайра мембранасида рўй беради.

Микробиологик диагностикаси.Қон (вирусемияда), орқа мия суюқлиги, сийдик текширилади. Вирусологик усулдатовуқ эмбрионига, товуқ эмбрионидан олинган фибробласт ҳужайраларига янги туғилган сичқон болаларини миясига юқтирилади; Вирус ГАТР, КБР, РН орқали идентификация қилинади.Серологик усул: Жуфт қон зардоби билан антитела титрини ортиб боришига асосланган реакциялар (КБР ГАТР, РН, ИФА, иммунблотинг) қўлланилади.

Буньявируслар *Bunyaviridae* оиласига бошқа вирусларга қараганда энг кўп (250 атрофида) вируслар киради. Вирус номини Уганда давлатидага жойлашган Буньямвера минтақаси шарафига олган, бу ерда вирус биринчи бўлиб ажратиб олинган. Уларнинг асосий авлодлари арбовирусларга (*Bunyavirus, Phlebovirus, Nairovirus*) киритилади. Булардан *Hantavirus* лар робовирусларга критилган ва асосан одамларга контакт, ҳаво чанг ва алиментар йўл билан юқади.

Буньявируслар вирион сферик шаклда бўлиб диаметри 90-100 нм. Геном РНК –молекуласидан таркиб топган, учта сигментдан (L, M ва S) иборат. Нуклеокапсид спиралсимон симметрия типига эга. Вирион ташқаридан икки қаватли липидли суперкапсид билан ўралган бўлиб унинг таркибида оқсил структуралари бўлиб . гемагглютинация қилиш хусусиятига эга. Ҳамма буньявирусларнинг оқсил таркиби вариабел бўлади, лекин ҳаммаси ҳам юза гликопротеин G1 ва G2 ва ички оқсил (РНК N-гликопротеин билан

ассоциация қилинган) тутмайди. Буньявируслар репликатив цикли цитоплазмада кечади.

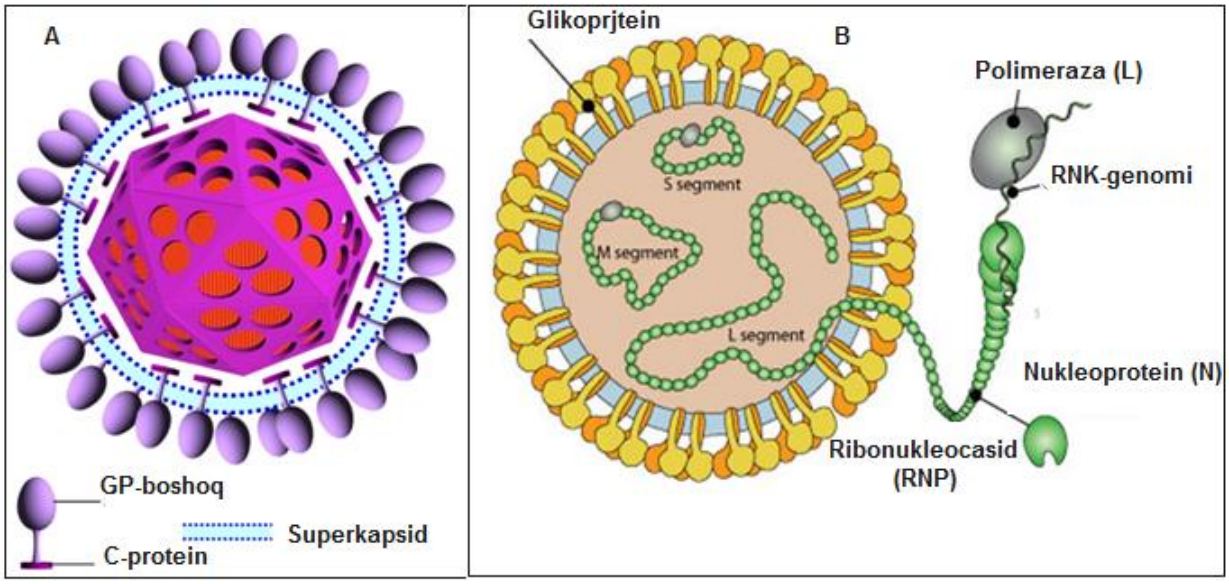
Микробиологик диагностикаси. Буньявируслар ўта хавфли вирусли инфекциялар қаторига киради, шунинг учун уларнинг диагностикаси маҳсус лабораторияларда олиб борилади. Вирусологик усул: ташиб ўтказувчилардан олинган ҳужайра культураси, одам эмбрионини буйрагидан олинган ҳужайра култураси ва товуқ эмбрионидан олинган фибробласт ҳужайраларида кўпаяди, лекин вирус ҳужайра культураларига яққол цитопатик тасир кўрсатмайди.

Биологик усул. Буньявирусларга янги туғилган сичқон, каламуш болалари сезгир ҳисобланади. Арбовирусларнинг ажратиб олишда универсал модел янги туғулган сичқон болаларига интрацеребрал юқтириш усули ҳисобланади. Вирус лаборатория ҳайвонларида ўлим билан тугаланувчи энцефалит келтириб чиқаради.Вирус ГАТР, КБР, РН орқали идентификация қилинади.

Серологик усул: Жуфт қон зардоби билан антитела титрини ортиб боришига асосланган реакциялар (КБР ГАТР, РН, ИФА, иммунблотинг) қўлланилади.Касалликни ўткир даврида ИФА ёрдамида IgG ва IgM вирус АГ қарши аниқлаш билан диагноз қўйиш мумкин. Кўпинча ПЗР ҳам қўлланилади.

Флавивирус(латинча. *flavus*— сариқ).Флавивирусларнинг прототипи сариқ истима вируси ҳисобланади. Флавивируслар РНК – сақловчи қобиқли вируслар оиласига (гепатит С вирусидан ташқари) киради ва экологик жиҳатдан арбовируслар мажмуасига таллуқли.

Структураси.Флавивирусларнинг тузилиши тогавируслар структурасига ўхшаш. Флавивируслар сферик шаклга эга бўлиб ўлчами(40-60 нм). Вирион ташқи томондан қобиқ билан ўралган, бир ипли мусбат РНК молекуласи капсид билан ўралган (91-расм).

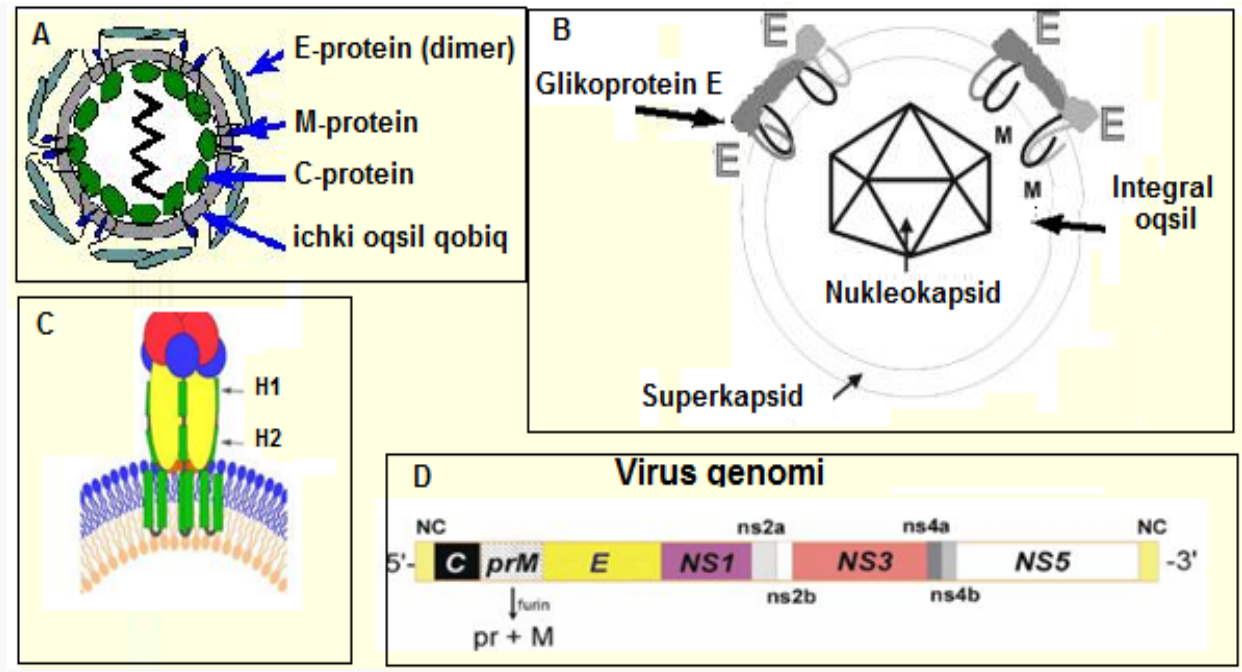


21.2-расм. Togoviridae (A) ва Bunyaviridae (B) оиласи вирусларини схематик структураси.

Вирус қобиғи тиканаксимон ўсимталарбўлиб, булар 2 та оқсилдан иборат. Булардан бири гемагглютинин Е ҳисобланади.Гликопротеин Е – асосий вирусни протектив АГ бўлиб. Вирусни ҳужайрага адсорбциясини (вирус тропизми) липидли мембранага брикиб кетишини ва гемагглютинация бўлишини таминлайди.

Бу оилага 63 вируслар киради. Флавивирусларга турли хил номланган вакиллар киради ва номидан келиб чиқган ҳолда касалликлар келтириб чиқаради, булардан одамларда касаллик келтириб чиқарувчи энг муҳим вирусларга киради:

- Сариқ иситма вируси. Инфекция манбаси – маймунлар, ташувчи – чивин. Жанубий Африка мамлакатларида учрайди;
- Денге истимаси вируси. Инфекция манбаси – касал одамлар, маймунлар, ташувчи – чивин;
- Япон энцефалит вируси. Инфекция манбаси ёвоий қушлар, кемировчилар, Котта шохли хайвонлар, отлар ва чўчқалар; одам–охиги ҳўжайин бўлиши мумкин;
- кана энцефалит вируси Инфекция манбаси ва ташиб ўтказувчи – иксод каналари ҳисобланади. Қўшимча манбалар ҳайвонлвр ва қушлар бўлиши мумкин;



21.3-расм. Флавивируслар оиласи вирусларини схематик структураси. A-вириони тузилиши; B-нуклеокапсид структураси; C- ташқи мембрана гликопротеинлари; D-вирус геноми.

➢ Эбола истимаси вируси. Эбола вирусини ҳамма вакиллари умумий *Ebolavirus* номи билан номланади. Ҳозирги кунда *Ebolavirus* ларни қуйидаги подтиплари ажратиб олинган ва идентификация қилинган. Буларга киради: Бундибуджио (BDBV); Заир (EBOV); Рестон (RESTV); Судан (SUDV); Таи Форест (TAFV).Зика истимаси. Зооноз ардавируслар қаторига киради.Одамга вирус Aedes авлоди чивинлари орқали юқади.

➢ Жинсий алоқада ҳам юқиши мумкинлиги тўғрисида маълумотлар бор.Вируснинг келиб чиқиши сариқ, денге истималарига боғлиқлиги тўғрисида ҳам маълумотлар адабиёт манбаларида чоп этилган. Зика вируси тўғрисида 1 декабр 2015 йил Бутундунё Соғлиқни Сақлаш ташкилоти томонидан ҳабар берилган.

Флавивирусларнинг лаборатория диагностикаси.Текшириш учун патологик материал: қон, ОМС, ўлим рўй берганда орқа мия ва бош миядан олинган фрагментлар, кана. Вирусологик усул:

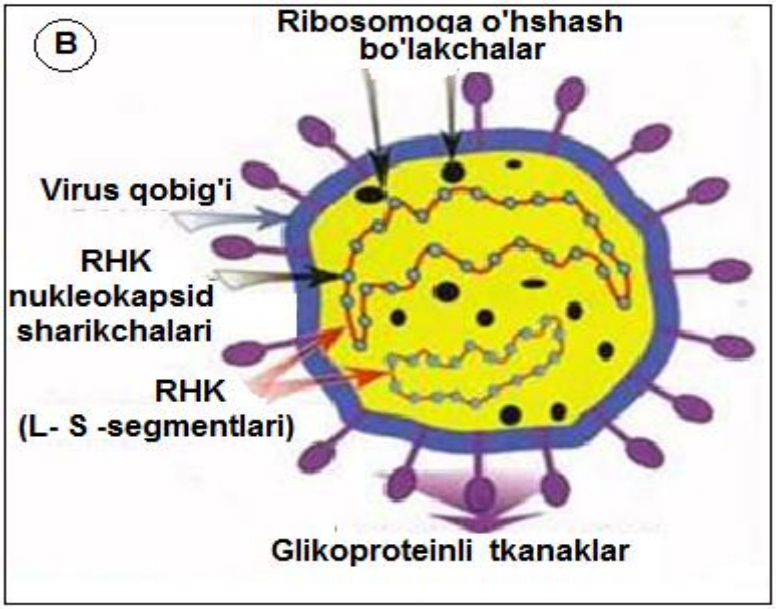
➢ патологик материал товуқ эмбрионига юқтирилади;

➢ патологик материал одам эмбрионини буйрагидан олинган ҳужайра културасига юқтирилади;

➢ лаборатория хайвонларига (янги туғулган сичқон болаларига интрацеребрал) юқтирилади.

Вирусни идентификация қилишда НР, ГАТР, ИФР, ПРқўлланилади. Вирусни каналардан ажратиб олиш ва идентификация қилишда ИФА ва ПЗР қўлланилади.Юқорида келтирилган диагностик усуллар афсуски оддий лабораторияларда олиб борилмайди. Флавивирусларнинг лаборатория диагностикаси бошқа арбовируслар диагностикасига ўхшаш махсус жиҳозланган лабораторияларда, юқори малакага эга бўлган ходимлар томонидан олиб борилади.

Аренавируслар (от греч. *arenosa*— қум донаси, вирион РНК си таркиби қум доналарига ўхшаш бўлишидан номланган) ОиласиРНК – сақловчи қобиқли вируслар оиласига киради. Бу оила ўзининг таркибига лимфоцитар хориоменингит вируси, ҳамда (Ласса, Хунин, Мачупо, Гуанарито, Сабиа) оғир геморрагик иситма келтириб чиқарувчи вирусларни ўз ичига олади.



21.4-расм. Аренавируслар структураси (схема)

Аренавируслар структура тузилиши 21.4- расмда келтирилган.

Микробиологик диагностикаси. Аренавирус инфекцияларида вирусологик ва серологик усуллар қўлланилади. Вирусологик усулда вирус (қондан, ҳалқум ажралмасидан, плеврал ва орқа мия суюқлиғидан, сийдикдан) янги туғилган сичқон болаларига юқтириб ажратиб олинади. Вирус КБР, НР, ИФР ва ИФА билан идентифицикация қилинади.ПЗР ҳам қўлланилади.Серологик усул:

вирусга қарши АТ бемор қон зардобидан КБР, РИФ, ИФА орқали аниқланади.

22-БОБ. ДНК САҚЛОВЧИ ВИРУСЛАРКЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ ИНФЕКЦИЯЛАРНИНГ ВИРУСОЛОГИК ДИАГНОСТИКАСИ

ДНК сақловчи вируслар табиатда кенг тарқалган бўлиб, буларга 7 та оила(*Herpesviridae, Poxviridae, Adenoviridae, Papavaviridae, Parvoviridae,Hepadnaviridae, Circinoviridae*) киритилган.

ДНКсақловчивирусларнингасосийхусусиятлариданбириуларҳўжайинҳужайраларинигеномигаинтеграциябўлиболишимумкинвасекинриворланувчи (персистенция) инфекцияларникелтирибчиқаради.

Поксвируслардан ташқари ҳамма вакилларининг репликацияси ҳужайранинг ядросида кечади.

22,1-жадвал

ДНК вируслар келтириб чиқарувчи юқумли касаллик қўзғатувчилари

	Вируслар номи	Қўзғатадиган касалликлари
ДНК- вируслар	Herpesviridae оиласи	Ёш болаларда ўткир гингивостаматит, герпетик экзема кератоконъюктивит, герпетик иситма, лаб бурун учуғи.
	I-тип учуқ вируси (ОГВ)	
	II-тип учуқ вируси (ОГВ)	Чақалоқлар учуғи (қон орқали тарқалган ва жинсий органларда учуқ), менингоэнцефалит.
	Вирус (varicella zoster 3- типи)	Болаларда сув чечак, каталарда ўраб олувчи темиратки
	ЦМВ (5-типи)	Латент ва перинатал ЦМВ инфекция
	Эпстайн-Бар вируси (4-типи)	Юқумли мононуклеоз
	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	Чин чечак касаллиги
	Сигер чечаги (оспавакцина)	Локал чечак кўринишдаги жароҳатлар, кам ҳолларда тарқалган популёз тошмалар.

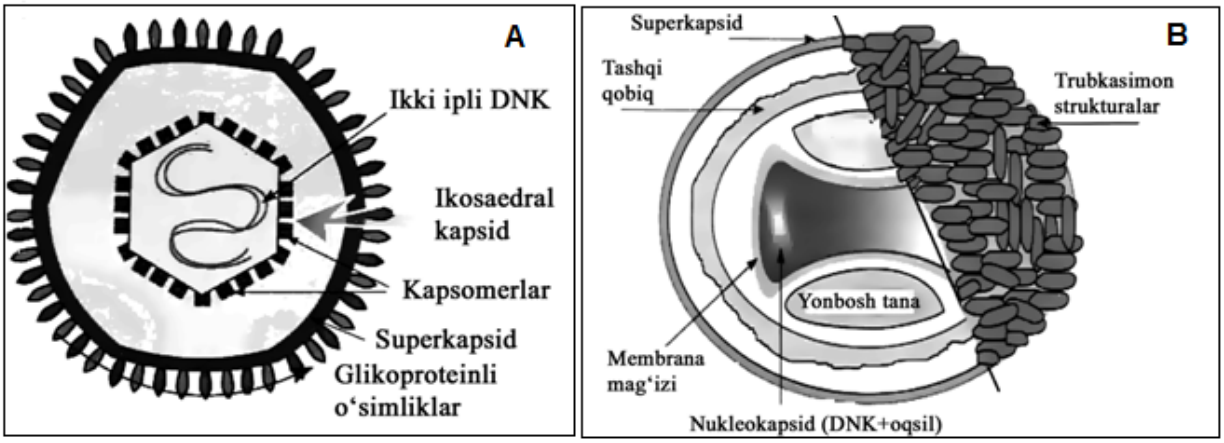
	Аденовируслар оиласи (Adenoviridae) сероварлари: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 21 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 2, 3, 5, 40, 41 2, 3, 5, 7, 8, 19, 21 8, 19, 32 11,21 2, 6, 7, 12,32	Пастки нафас йўлларининг юқумли касалликлари (зотилжам, бронхиолитлар), ЎРК. Фарингоконъюнктивитлар Гастроэнтритлар Конъюнктивитлар Эпидемик кератоконъюнктивитлар Геморрагик цистит лар Менингоэнцефалитла
	Papavaviridae оиласи Папиломавируслар сероварлари: 1, 4 2 3 10 16, 30 ва бош.	Оёқ папиломаси (суял) Оддий папилома (суял) Ўспиринлар папиломаси (суял) Генитал папилома (суял) Бачадон бўйни, гартан ўсмаси (карцинома)
	Parvoviridae оиласи Парвовируслар В19 штамм	Апластик криз (ўроқсимон ҳужайрали анемия), Erythema infectiosum доғ касаллик (пятная болезнь) эритематоз тошмалар тошиши кузатилади, чақалоқлар истисқоси (водянка)
	Hepadnaviridae оиласи Гепатит В вируси	Гепатит В юқумли касаллиги

22.1. Герпесвируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологикдиагностикаси.

Герпесвируслар оиласига кенжа (*Alphaherpesviruses, Betahherpesviruses ваGammaherpesviruses*) оилалар киради**.** Герпесвирусларнинг асоси касалликкелтириб чиқарувчи типлари жадвалда келтирилган. Герпесвируслар мураккабтузилишга эга бўлиб икки ипли анча катта ДНК молекуласидан иборат бўлиб18% қисқа ва 82% узун компонентлар тутади. Бошқа вируслардан фарқланиб герпесвирусларнинг суперкапсиди ҳужайра ядросифрагментларидан таркиб топгандир, чунки янги ҳосил бўлаётган вирусбўлакчалари ядро мембранасидан ажралиб чиқади. Суперкапсид ва капсидоралиғида ипсимон қобиғ бўлиб вирус капсидини суперкапсиддан ажратиб туради.Капсиди 162 капсомердан ташкил топганбўлиб, шакли икосаэдр кўринишида (93-расм). Ўлчами 150-200 нм. Герпесвирусларташқи муҳит омилларига ва органикэритувчиларга ўта чидамсиз.

Герпесвируслар товуқ эмбриони хорионаллантоис қобиғида яхши кўпайибнекротик яллиғланиш ўчоғини ҳосил қилади. Бундан ташқари одам эмбрионийпка, буйрак тўқималаридан тайёрланган ҳужайра культураларида ҳам яхшикўпаяди. Вируснинг ХПТ натижасида ҳужайра ичида киритмалар ва кўпядроли симпласт ҳужайралари ҳосил бўлади.

Альфагерпесвируслар юқори цитопатик активликга эга бўлиб, кўплабҳўжайин 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.



22.1-расм. Гепесвируслар (А) ва поксвирусларнинг (В) схематик тузилиши

Бетагерпесвируслар кучсизроқ цитопатик хусусиятга эга бўлиб, камроққўжайин организмларга патоген ҳисобланади. Одам учун патоген типлари*Cytomegalovirus* (герпес вирусларни 5 типи) ва *Roseolovirus* (герпес вирусларни6А, 6В, 7, 8 типлари) авлодига киритилган.

Гаммагерпесвируслар ҳам камроқ ҳўжайин организмларга патогенҳисобланади, уларнинг бошқа герпесвируслардан фарқи лимфоидҳужайраларда кўпайяди. Одам учун патоген типлари *Lymphocryptovirus*(герпес вирусларни 4 типи) авлодига киритилган. Эпштейн-Барр вирус ҳам дебюритилади.

Герпесвирусларни лаборатория диагностикаси. Кўпчилик ҳоллардакасалликни характерли кўриниши диагностикани енгиллаштиради. Лекинкасалликни яширин, суст ўтувчи формаларида айниқса генитал герпеслардадиагноз қўйиш қийинлашуви мумкин.

Вирусоскопик усул. Касалликнинг кўпчилик шаклларида энг оддий ваенгил вирусоскопик усул ҳисобланади. Учуқдан ва жароҳатланган жойданбосма, қирма суртма олиниб, бўяб кўрилганда гигант кўп ядроли киритмалиҳужайраларни (Цанкпробаси) топилиши герпесвируслар борлигидан даракберади. Герпетик энцефалитга

шубҳа қилинганда мия биоптатлариданмоноклонал антитело ёрдамида билвосита иммунофлюоресценция усулидавирусни топиш мумкин.

Вирусологик усул. Кўпроқ ҳомиладор аёлларда генитал герпес борлигигашубҳа қилинганда ва бирламчи вирус юққанда қўлланилади. Ҳар иккала вирус(ОГВ1 ва ОГВ2) ҳам ҳужайра культураларида яхши кўпайяди, асосан кўпроқхорионаллантоис ҳужайралари қўлланилади. Характерли ХПТ ҳужайра ядросидакиритмалар (махсус антигени) ва кўп ядроли гигант ҳужайралар ҳосил бўлади.

Биологик усул. Лаборатория шароитида везикулалардан олингансуюқликлар қуён, денгиз чўчқачаси, каламуш кўз пардасига юқтирилса кўзнингмугуз пардасини шикаслайди ва кератит, миясига юқтирилса энцефалиткелтириб чиқаради. Лекин, вирусни организмдан топилиши касаллинианиқлаш критерияси ҳисобланмайди, чунки соғлом одамларнинг 80-90%вируслар учрайди. Табиий шароитда ва лаборатория ҳайвонлари сувчечаквируслари билан оғримайди.

Серологик диагноз қўйишда КБР ва нейтрализация реакциялари қўлланилади.

22.2. Поксвируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси.

Поксвируслар оиласига (рох- чечак инг. сўз) бўғимоёқли, парандалар васутэмизувчилар учун патоген вируслар киритилган. Поксвируслар шаклиғиштсимон бўлиб ўлчами 250-390 нмтенг, бактериялар структурасиниэслатади. Вирион мағиз қисмидан, униўраб турган 5 нм қалинликдаги юпқамембрана ва бир текисда жойлашганцилиндрик структурадан иборат. Ташқитомондан эса (оқсил тана) овалструктурали ўраб турувчи қобиқдан иборат (93Б-расм).

Поксвирусларни репродукцияси фақат цитоплазмада кечади.Одам учун 4авлод вакиллари патоген ҳисобланади, буларга киради:

- Orhtopoxvirus авлоди- одам чин чечаги ва сигир чечаги(оспавакцина) вируслари;
- Parapoxvirus авлоди - “сут соғувчилар тугунча” вируси (вирус

“узелков доярок”) катта шохдор ҳайвонларнинг псевдочечак вируслари;

- Molluscipoxvirus авлоди - моллюскалар контагиоз вируси;
- Yatapoxvirus авлоди - Тана ва Яба чечак вируслари (маймунчечаги вируси).

Чин чечак касаллиги ўта хавфли юқумли касалликлар гуруҳига киради.Чин чечак вируси товуқ эмбрионида яхши кўпайиб, 48-72 соатдан сўнг хорион-аллантоист қобиғида майда оқимтир ва соғлом қобиқдан яққол ажралиб турувчижароҳатлар ҳосил қилади. Бундан ташқари вирус бирламчи одам, маймун, қўйва бошқа ҳайвонлар ундирилуви ҳужайра культураларида яхши кўпаяди.Вируснинг ХПТ натижасида ҳужайра юмалоқлашади ва катталашади,кейинчалик культура шиша юзасидан ажралади.Вакцина қўлланилгунча баъзи йилларда чин чечак касаллиги бир йилда 1,5млн кишиларнинг ўлимига сабаб бўлган. 1974 йилда Хиндистонда 31262касаллик регистрация қилинган. Охирги маротаба касаллик 1977 йилдаСомалида топилган ва бир неча йилдан кейин 1980 йилларда Бутун дунёсоғлиқни сақлаш ташкилоти (ВОЗ) ер юзида чин чечак касаллиги
тугатилганлигини эълон қилди. Ҳозирги кунгача чинчечак касаллиги регистрация қилингани йўқ.

Чин чечак вирусини лаборатория диагностикаси.

Вирусоскопик усул- касалликнинг ўткир даврида везикула ва пустулалардан тайёрланган суртмалар босмаларни электрон микроскопдакўриш энг қулай усул ҳисобланади. Агар электрон микроскоп бўлмаса ёруғликмикроскопида ҳам текшириш мумкин. Тайёрланган суртмалар Морозовусулида бўяб кўрилганда вирус зарралари (Пашен таначаси) ҳужайрацитоплазмасида якка-якка ёки калта занжирчалар кўринишида (93-расм) тўқ жигарранг думалоқ тузилмалар ҳолида бўлади. Флюрохромлар, масалан,пирмулин билан бўялганда элементар зарралар ультрабинафша ёруғликдамикроскоп билан текширилганда оч ҳаво рангида товланиб туради. Бунданташқари суртмалардан махсус вирус Аг топиш учун флюрохром биланнишонланган АТ ёрдамида билвосита флюоресценция методидан ҳамфойдаланилади. Бу усулда кўрилганда вирус таначалари сарғиш-яшилмономорф тузилмалар кўринишида кўзга ташланади.

Вирусологик усул. Патологик материал (везикула ва пустулаларсуюқлиғи, соскоп) 11-12 кунлик товуқ эмбрионининг хорионаллантоиспардасига ёки *HeLa, HEP-1,HEP-2* ҳужайралар культурасига юқтирилади ва чинчечак вируси ажратиб олинади, бундай ҳужайралар культурасида вирусцитопатик эффект пайдо қилади. Вирусни идентификация қилишда махсусзардоблар ёрдамида КБР, ГАРТ, гемадсорбция реакциясини тормозлаш ваиммунофлюоресценция усуллари қўлланилади.

Серологик усул. Асосан жуфт қон зардоб билан комплементни боғлашреакцияси ва ГАТР, товуқ эмбриони ва ҳужайракультураларида НР дан фойдаланилади.Кўпчилик ҳолларда махсус вирус антигенивезикула ва пустулалар суюқлигида гелдапреципитация реакцияси, ҳамда эритроцитардиагностикум билан БГАР орқали аниқланади.

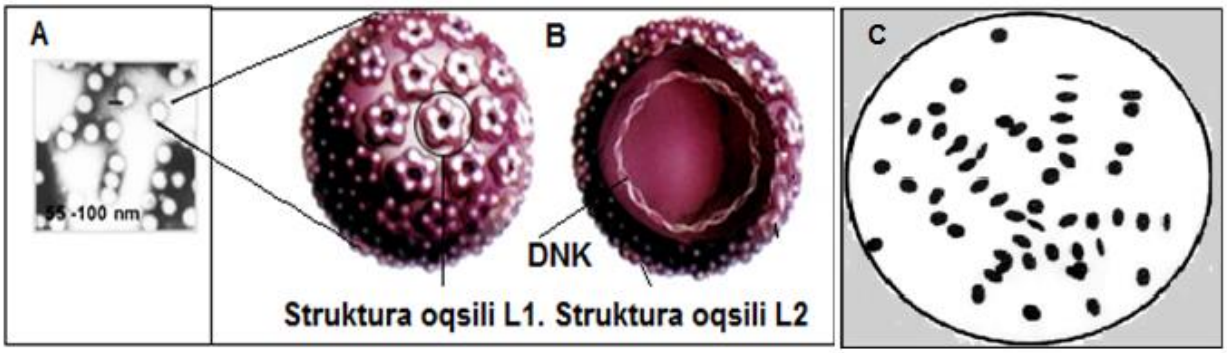
Биологик усул. Везикула ва пустулалардан олинган патологик материал қуёнларнинг кўзмугуз пардасини тирнаб юқтирилади. Қуён кўзмугиз пардасида кератит кузатилади ва гистологик қирқмалар тайёрланиб, Романовский-Гимза усулида бўяб, микроскопда ацидофилли овалсимонГварниери таначалари ядро атрофида (34-расм) топилади.

Сувчечак вирусини чин чечак вирусидан фарқлашда, бошқа усуллар биланбир қаторда биологик, вирусологик усуллар ҳам қўлланилади. Сувчечаквируси қуёнларда керотаконъюктивит келтириб чиқармайди. Бундан ташқари сув чечак вируси товуқ эмбрионида кўпаймайди, ҳужайра культураларидакўпайганда уларнинг репродукцияси ядрода кечади ва ҳужайра ядросидавирусни ХПТ натижасида киритмалар ҳосил бўлади.

22.3. Паповавируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси

Паповавируслар оиласига турли кўринишдаги папиллома (суял) ва полиома касалликларини сутэмизувчилар ва одамларда келтириб чиқарувчи вируслар *Papillomavirus* ва *Polymavirus* авлодларига киритилган. Бу оила вакилларини структурасидаги характерли хусусият, уларнинг капсидини ялонғоч бўлиши(суперкапсиди йўқ) ҳисобланади. Вируслар ўлчами 45 нм бўлиб икосаэдралсимметрияга

эга бўлиб, таркибида бир ипли ҳалҳасимон ДНК ва оқсилгистонлар тутади (94 Ава В-расм).



22.2-расм. Паповавируслар. А-электрон микроскопда кўриниши. В-структура тузилишининг схемаси. С-элементар Пашен таначаси (Морозов усилида кумуш билан бўялган).

Паповавирусларнинг яна бир характерли хусусияти уларда глобулярнуклосомалардан таркиб топган мини (кичик) хромосомаларни учрашидир.Булар ҳужайра хромосомасини эслатади. Бу оила вакилари одам, денгизчўчқачаси ва товуқ эритроцитларини агглютинацияга учратиш хусусиятига эгаҳисобланади. Одамларда касалликнинг продуктив, абортив ва интегративформалари учрайди. Паповавируслар ҳўжайин ҳужайралари ДНК нитранскрипцияга учратиши ва онкоген хусусиятни ҳам намойиш қилиши мумкин.

Паповавирусларни диагностикасида бирдан – бир йўл вирусни жароҳатдапапилломада (сўгалда) топишга асосланган. Бунда вирус кератинлашган ҳужайрақатламида тўлиқ вирион кўринишида учрайди. Ҳозиргача вирусни ўстириболиш йўлга қўйилмаган. Серологик усуллар ҳам диагностикасидақўлланилмайди. Охирги йилларда ўткир қиррали кандиломанингдиагностикасида ДНК гибридизация усули қўлланилмоқда.

22.4. Аденовируслар келтириб чиқарувчи инфекцияларнинг вирусологик диагностикаси

Аденовируслароиласигаиккитаавлодвируслари (биринчиавлодгасутэмизувчилардакасалликкелтирибчиқарувчиVasta denovirus-80

турларимавжудваиккинчиавлодгапарандалардакасалликкелтирибчиқ арувчи Aviadenovirus 14 туримавжуд) киритилган.

Аденовируслар ҳам ялонғоч капсидли вируслар туркимига киради (88-расм). Вирионни ўртача ўлчами 60-90 нм бўлиб, капсиди 252 капсомер тутади кўпқиррали икосаэдрал симметрияга эга, таркибида 240 гексон ва 12 та вертикалпентондан ва унга бириккан нозик ипчалардан таркиб топган. Геноми иккиипли чизиқли ДНК дан иборат бўлиб, оқсиллар билан бирикиб вируснизичлашган мағизини ташкил қилади. Вирус гексонлари вирусларнингтипмахсуслик антиген ролини бажаради, бундан ташқари вирусдан ажралгандатоксик эффектни келтириб чиқаради. Пентон вирусни кам ва умумий оила учунреактив эрувчан АГ ҳисобланади. Тозаланган иплари вирусни асосий типга хосмахсус антигени бўлиб, унга қарши типга ҳос антителалар ҳосил бўлади.

Пентон ва ипчалар вирусларни гемагглютинация хусусиятини келтирибчиқаради. Вируснинг антиген хусусияти уларнинг классификациясига асосбўлган. Ҳамма аденовируслар бир типдаги комплемент боғловчи антигентутади ва уларни КБР орқали аниқлаш имконини беради. Турларни аниқлашда(олдин сероварлар дейилган) НР қўлланилади.

Аденовирусларнинг лаборатория диагностикаси. Аденовируслар турликўринишдаги касалликларни келтириб чиқаради. Шунинг учун уларнинглаборатория диагностикасида патологик материал олиш касаллик турларигабоғлиқ бўлади. Юқори нафас йўлларининг респиратор аденовирусликасалликларида патологик материал балғам, оғиз ва бурун чайиндиси, гениталорганлар касалликларида сийдик, энцефалит ва тарқалган (дессеминированные)формаларида ликвор, қон, мурдалардан ўпка, трахея, бронхлар, ичакбўлакчалари текширилади. Аденовирусли инфекцияларнинг лабораториядиагностикасида вирусоскопик, вирусологик ва серологик усулларқўлланилади.

Вирусоскопикусулда патологик материалдан бурун-ҳалқум шиллиқпардасининг ҳужайраларида вирус специфик антигенини аниқлашда экспресс-диагностик иммунофлюоресценция усуллари қўлланилади.

Вирусологик усулда патологик материаллар одам эмбрионинингбирламчи трипсинланган ҳужайра культураларида ва

HeLa, HEP-1, HEP-2ҳужайраларида кўпайтирилади. Аденовируслар бу ҳужайра культураларидавирус сероварларига қараб 24-96 соатда кўпаяди ва турли кўринишдагицитопатик таъсирлар кўрсатади. Баъзи сероварлари тўлиқ монослойдадегенрация келтириб чиқарса, бошқалари, ўчоқли марказий ёки периферикўзгаришлар ҳосил қилади. Баъзи ҳолларда аденовируслар кўпайётганҳужайралар ядросида майда 22-24 нм ўлчамли вирионлар топилади, уларикосаэдрал смметрияга эгадир. Бу вируслар нуқсонли бўлиб ҳозирги кундапарвовирусларга киритилган, ўзлари аденовирусларсиз кўпаймайди. Буларнингҳужайрада кўпайиши учун албатта аденовируслар (ҳамкор) иштирок этишларизарур. Ажратиб олинган аденовирусларни махсус қон зардоблар қўлланилиб,серологик реакциялар ёрдамида (КБР, НР) идентификация қилинади.

Серологик усул. Бемор қон зардобидан аденовирусларнинг специфик АТни топиш учун стандарт махсус аденовируслар антигени билан КБР, НР ГАРТреакциялари қўйилади. Жуфт қон зардоб билан қўйилган реакцияда АТтитрини 4 карра ошиши аденовируслар диагностикасини тасдиқлайди.

23 - БОБ.ГЕПАТОТРОП ВИРУСЛАР ВА УЛАРНИНГ ЛАБОРАТОРИЯ ДИАГНОСТИКАСИ.

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 астеновегитавив 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 ҳужайраларини специфик жароҳатлаши ва гепатит келтириб чиқаришлари сабабли уларни гепатит вируслари гуруҳларига киритилган. Ҳозирги кунда 8 та тип вируслар гепатит касаллигини одамларда келтириб чиқаради. Булар лотин алфавитини бош ҳарифлари билан (A,B,C,D,E,F,G, TTV) номланади. Гепатит F вирусини борлигини кўпчилик муалифлар инкор қилишади, TTV (инг.

Transfusion transmitted virus- трансфузия йўли билан юқовчи вирус) 1997 йилда кашф қилинган ва тўлиқ характеристика ҳозирги кунгача берилмаган.

Ижтимоий хусусияти ва экономик жиҳатдан келтираётган зиёни бўйича вирусли гепатит касалликлар соғлиқни сақлаш тизимида энг долзарб касалликлар гуруҳига киритилган. Ер юзида ҳар йили гепатит А билан 1 млн киши касалланади, гепатит В вирусини ташиб юрувчилар эса 1 млрд дан ошиб кетган. Ҳозирги кунда гепатит вирусларининг 5 та типи яхши ўрганилган. Эпидемиологик жиҳатдан ўзига хос хусисиятлари ҳисобга олиниб гепатит вируслари 2 та гуруҳга бўлинган:

а) парентрал йўл билан юқувчи (B,C,D,F,G, TTV) 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 гепатитжараёнлари, касалликларни суринкали формада кечиши ва вирус ташиб юрувчиларни шаклланиши билан характерланади;

б) энтерал (нажас-оғиз орқали) йўл билан юқувчи (A, E ва F) гепатит вируслари. Қўзғатувчилар одамларга озиқ-овқатлар, сув ва кантакт йўли билан юқади. Бу касаликларга характерли хусусият уларни (куз-қиш) мавсумий кўп учраши ва асосан болалар, ўспиринларни касалланишидир. Юқорида келтирилган гепатит вируслари келтириб чиқарган бу касалликлар доимо ўткир формада ўтиши ва сурункали формага ўтмаслиги билан ажралиб туради.

23,1-жадвал

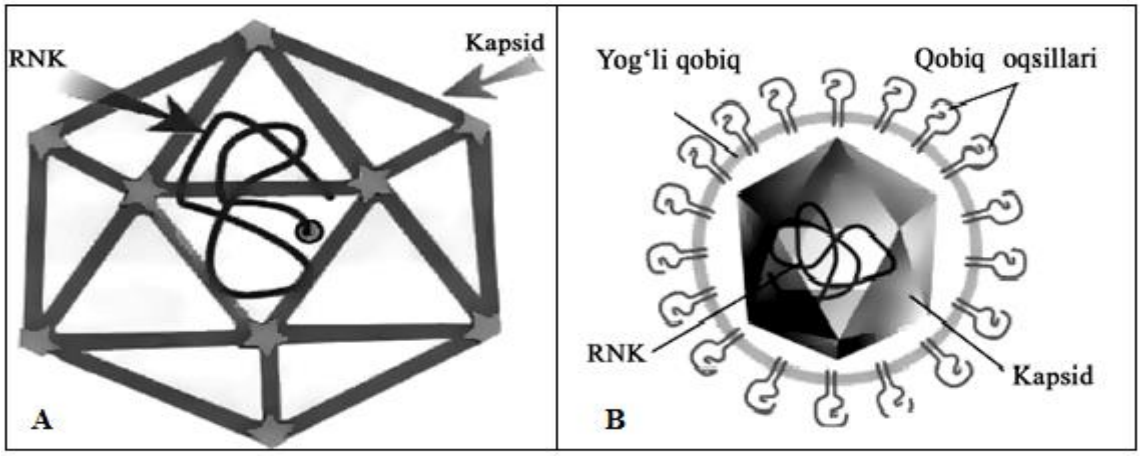
Гепатит вирусларининг қиёсий характеристикаси

Хусусиятлари	**A(HVFA)**	**B(HVB)**	**C(HVC)**	**D(HVD)**	**E(HVE)**
Токсономик ўрни	Picornoviri-dae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	Togaviridae	Caliciviridae
НК-типи	+РНК	ДНК	+РНК	РНК	+РНК
Касаллик манбаси	одам	одам	одам	одам	одам
Юқиш йўллари	алементар	парентрал	парентрал	парентрал	алементар
Касалликни сурин-кали формага ўтиши	ўтмайди	ўтади	ўтади	ўтади	ўтмайди
Ташҳиси:					
Экспресс	+	+	+	+	+
Вирусологик	–	–	–	–	–
Серологик	+	+	+	+	+

Гепатит касаллигини келтириб чиқарувчи (A, E,C,D,F,G, TTV) вируслар таркибида РНК- тутади.Фақат гепатит В вируси ДНК тутувчи вирусларга киради.

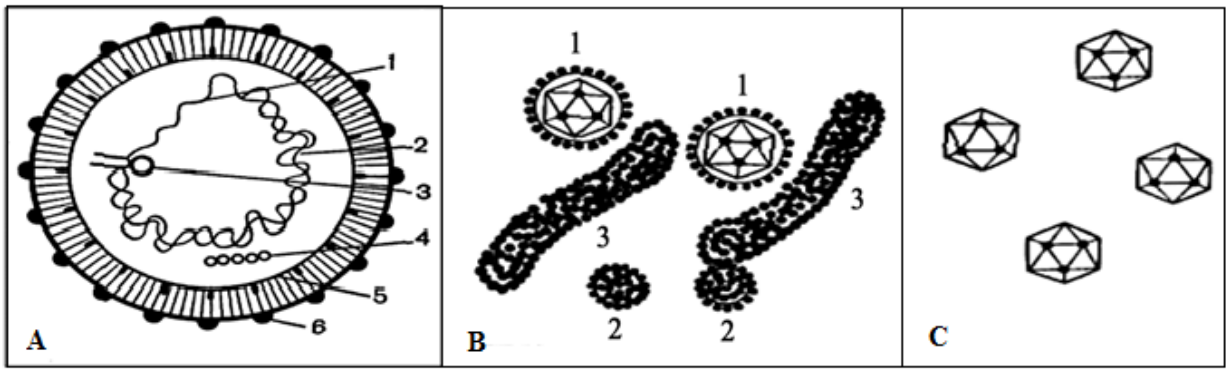
23.1. Гепатит А вируси. озирги кунда гепатит А вируси *Hepatovirus* авлоди ва *Picarnoviridae* - оиласига киритилган (эски номланиши энтеровирусларнинг 72 типи). Вирус таркибида сегментланмаган +РНК (инфекцион) тутади, РНК оқсил қобиқ билан ўралган, буларда супекапсид учрамайди, ялонғоч вируслар гуруҳига киради. Ўлчами ўта кичик 25-27 нм. Нуклеокапсиди кубик симметрия шаклида (95-расм). Вирусни фақат битта антигени НА-Аг тафоут қилинади. Вирус ҳужайра культураларида кўпаймайди, фақат лекоцитар ва орган культураларида кўпайтириш мумкин. Бундан ташқари лаборатория ҳайвонлари ҳам гепатит А вирусига бериловчан эмас. Лекин, приматларда кўпайтириш мумкин, диагностикада қўлланилмайди.

Бемор организмида гепатит вирусини НА-Аг қарши АТ (IgM ва IgG) синтез бўлади.



23.1-расм. Гепатит А –вируси (А), гепатит С-вируси (В),схематик кўриниши.

23.2. Гепатит В вируси. Ҳозирги кунда гепатит В вируси Orthohepadnavirus авлодига ва Hepadnaviridae 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 таркибида вирус репликацияси учун зарур бўлган ДНК – полимераза мавжуд. Бемор қон зардобида вируснинг 3 та морфологик формаси учраши мумкин (23.2-расм). Энг кўп сферик шаклдаги 22 нм ўлчамдаги, камроқ ипсимон 50-230 нм ва фақат 7% ҳолларда тўлиқ структурали (капсид ва суперкапсидли) Дейна бўлакчаси учрайди. Дейнабўлакчаси инфекцион хусусиятга эга, қолган 2 та формалари инфекцион хусусиятга эга эмас, чунки уларни таркиби фақат суперкапсиддан таркиб топган.



23.2-расм. Гепатит В вирус структураси (схема) А- 1-ДНК нинг бир ипли қисми; 2- ДНК нинг икки ипли қисми; 3-ДНК – полимераза; 4-НВс-Ag; 5- НВе-Ag; 6- НВs-Ag. В- бемор қон зардобида учрайди: 1-Дейн бўлакчаси; 2,3-НВs-Ag тутувчи бўлакчалар; С-ташқи қобиғи детергентлр билан олиб ташланган вирионнинг мағизи.

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 ҳужайраларида топилиши мумкин.

HBe-Ag. Дейн бўлакчаси таркибига кирмайди, лекин у билан боғланган бўлади. Бемор қонида касалликнинг инкубацион даврида пайдо бўлади. HBe-Ag вазифаси ҳозигача ноъмалум, лекин энг сезгир диагностик кўрсаткич ҳисобланади.

HBs-Ag. Гепатит В вирусини асосий Аг ҳисобланади. У суперкапсид таркибида учрайди. Қонда кўпроқ унинг дефектли 1 ва 2 морфологик типлари учрайди. Уларнинг ҳосил бўлиши вирус метоболитик цикли репликациясининг асорати ҳисобланади. HBs-Ag вирус юққандан кейин 1,5 ойдан кейин 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 фикирларга қараганда гепатоцит ҳужайраларини хавфли ўсма ҳужайраларига трансформация бўлишига олиб келиши мумкин.

23.3. 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 вируси бўлиши шарт, агар гепатит В вируси (ҳамкор) бўлмаса бу вирус кўпая олмайди. Вирион сферикшаклда 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.

23.4. Гепатит С вируси. Вирус ҳозирги кунда *Flaviviridae* оиласига киритилган. Ташқи томондан кўриниши кичик сферик шаклдаги (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 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 типи Японияда аниқланади.

Гепатип С вируси таркибида структура оқсллари учрайди, булардан ташқи қобиқ оқсили- Е1, 2 (Е2) 3 (Е3) вирус ҳаёт фаолиятида ўта муҳим аҳамиятга эга. Улардан Е1 и Е2 оқсиллар бирикиб ташқи оқсил комплексини ҳосил қилади ва вирусни сезгир ҳужайра билан бирикиши ва унга киришини таъминлайди.

Вирус геномининг энг ажойиб ҳусусиятларидан 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, ташқи қобиқ антигени ҳисобланган Е1 и Е2 антигенлар ўзгаради , янги вирус вариантларини ҳосил бўлишига олиб келади. Бемор организмида вирус антигенларига қарши АТ ҳосил бўлади, лекин вирус ўзининг ташқи антигендетерминантларини 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 ҳужайралари юқори тезликда ишлайди ва тезда фаолиятлари суслашиб қолади, бу эса касалликнинг суринкали узоқ 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 кейин қонда специфик АТ топилади.

23.5. Гепатит Е вируси. Жигарнинг ўткир яллиғланишини келтириб чиқаради, интоксикация кузатилади, кам ҳолларда сариқлик наъмаён бўлади. Вирус Calicivirus авлодига ва Caliciviridae оиласига мансуб. Вирион сферик шаклда, 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 кейин вирус специфик АТ ҳосил бўлади.

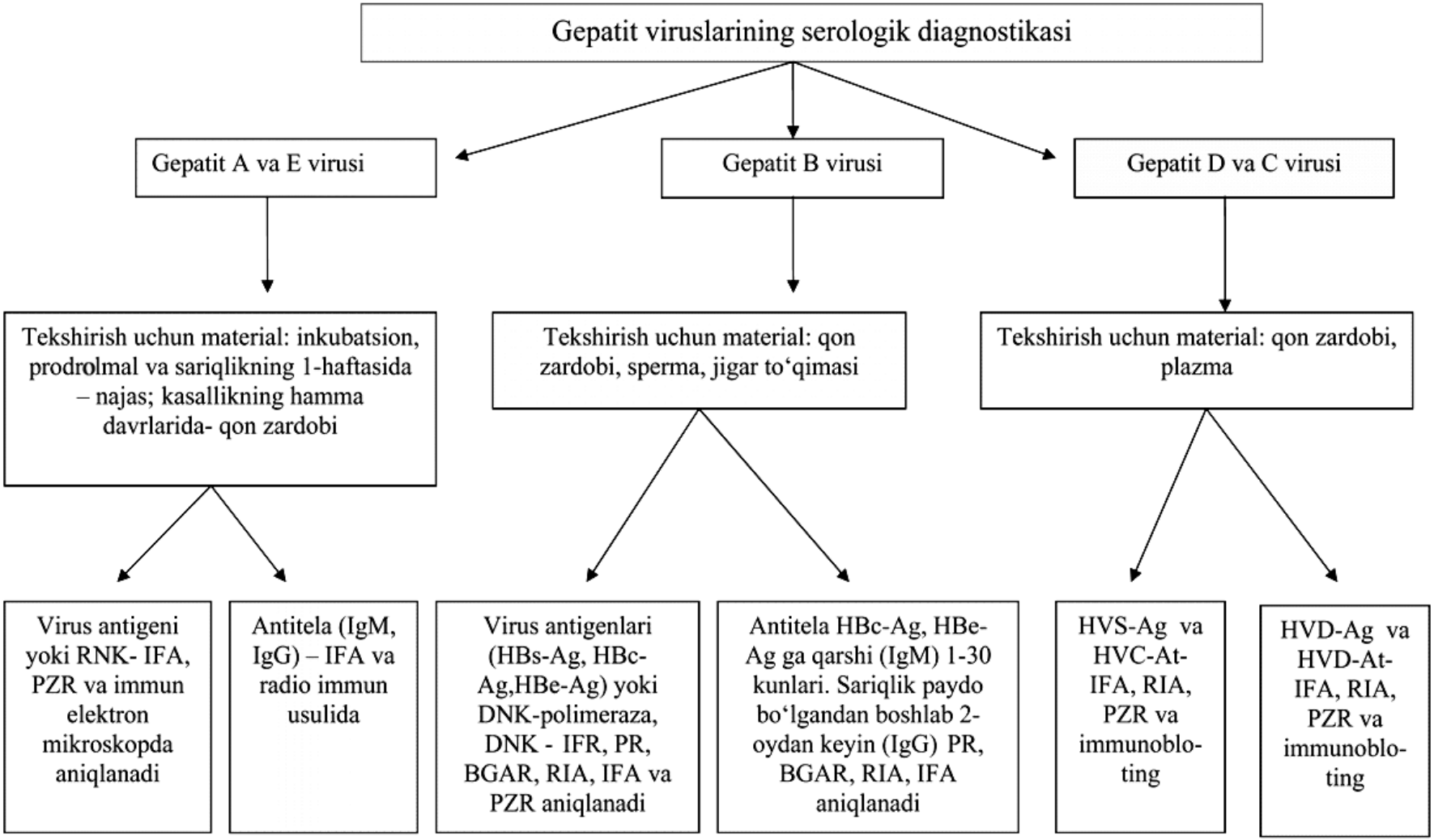
23.6. Гепатит G вируси. Вирусни токсономик ўрни ҳалигача тўлиқ аниқланган эмас. Ҳозирги кунда шартли равишда Flaviviridae оиласига киритилган. Вирион сферик шаклда ва таркибида сегментланмаган +РНК молекуласи тутади. Антиген набори бўйича 3 та типлари учрайди. Гепатит G вируси нуқсонли вирус деб қаралмоқда, 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 кейин вирус специфик АТ (IgM) ҳосил бўлади.

23.7. Гепатотроп вирусларнинг лаборатория диагностикаси.Гепатит вирусларининг лаборатория диагностикасида вирусологик усуллар деярли қўлланилмайди, чунки кўпчилик вирусларнинг ажратиб олиш йўлга қўйилмаган, ажратиб олинган тақдирда ҳам амалий вирусологик лабораторияларда қўллаб бўлмайди. Шунинг учун гепатотроп вирусларнинг лаборатория диагностикасида асосан серологик, кам холларда РИА, ИФУ ва молекуляр генетик усуллар қўлланилади. гепатотроп вирусларнинг лаборатория диагностикаси 28-схемада келтирилган.

Гепатит В вирусини лаборатория диагностикаси.Гепатит В билан оғриган касаллар қон зардобида, вирус юққандан сўнг 3-5 ҳафтадан 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 деярли 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.

Сурункали 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 диагностикасини асосини ташкил қилади.



23.1- схема. Гепатит вирусларининг серологик диагностикаси.

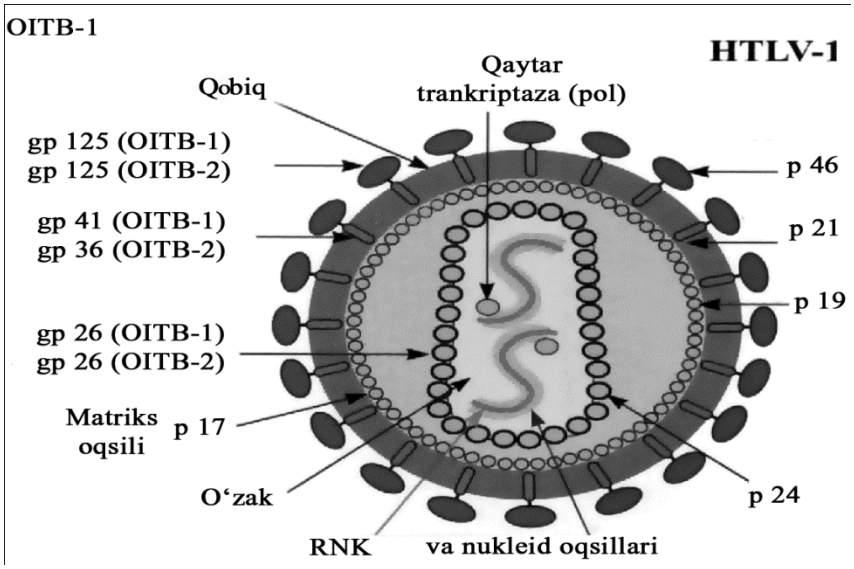
Ҳозирги кунда гепатит В вирусини антиген ва антителаларини аниқлашда преципитация реакцияси асосида бир қатор экспресс усуллар ишлаб чиқилган .

Билвосита гемагглютинация реакция ёрдамида гепатит В вирусини HBs-Ag ни бемор қон зардобидан аниқлаш. Бу мақсадда стандарт (комерсия) эритроцитар диагностикумлардан (HBs-Ag га қарши АТ лар билан эритроцитлар шимдирилган) фойдаланилади. Махсус полистерол пластинка чуқурчаларида бемор қон зардоби автоматик микропипеткалар ёрдамида диагностик титрга мўлжаллаб суюлтирилади. Сўнгра ҳар бир чуқирчага бир ҳажмда антитела юклатилган эритроцит суспензияси томизилади. Албатта паралел зардоб ва диагностикум контроли қўйилади. Планшетка хона температурасида ёки 37ºС да 2 соат термостатда сақланади ва натижа кўрилади. Натижани кўришда планшетка силкитилмайди, чунки силкитишреакциянинг (реакцияни натижалаш 80 расмга қаралсин) натижасига салбий таъсир кўрсатади.

24-БОБ.ОРТТИРИЛГАН ИММУН ТАНҚИСЛИГИ ВИРУСИ (ОИТВ)

ОИТВ одамларда ўта хавфлиорттирилган иммун танқислиги синдроми (ОИТС) касаллигини келтириб чиқаради. Хорижий адабиётларда ОИТСни «Aquired immunodeficiency syndrom» - (AIDS), русчада «Синдром прибретенного 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 тааллуқли ДНК полимераза (ревертаза) геном таркибидаги генитик тўплам маълумотларни орқага йўналтириш хусусиятига эгадир, нормада генетик маълумотлар ДНК дан РНК га ўтказилади.



24.1-расм. Одам иммун танқислик вирусининг схематик структураси.

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 ташқи томондан капсид (р18-24 кД) билан ўралган бўлиб вирусни мағизини ташкил қилади, шакли конуссимон (97-расм). Вирус ташқитомондан 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 гликопртеинли тиканаклар 41 ва 125gp кД оқсиллардан таркиб топкандир. 125gp тиканакни ташқи юзасида жойлашган бўлиб ҳужайралар таркибидаги СД4 молекулалар билан махсус бирикади ва вирусни сезгир ҳужайра юзасига адсорбциясини таминлайди. 41 гликопротеин қобиғнинг ичида жойлашган бўлиб “бириктириб кетувчи” (белок слияния) оқсил ҳисобланади, вирусни ҳужайрага киришини бошқаради. Юқорида келтирилган оқсил, гликопртеинлар ва ферментлар вируснинг антиген хусусиятини намоён қилади. Лекин ОИТВ асосий антигени юза (41ва 125gp кД) гликопротеинлар ва мағиз (р24) оқсили ҳисобланади.

ОИТВ организмга жинсий алоқа, парентрал муолажалар (ностерил игна, шприц ва бошқа асбоб ускуналарни қўллаш). Қон ва унинг ўрнини босувчи дориларни қўллаш, аъзо ва тўқималарни кўчириб ўтқазиш (трансплатация) вақтида юқади. ОИТВ билан оғриган

беморларнинг кўпчилигини гомо- ва бисексуаллар (ўз жинси ва бошқа жинсдагилар билан жинсий алоқа қилувчилар), фоҳишалар, наркоманлар (гиёҳвандлар) ташкил қилади.

Организимга кирган ОИТВ учун нишон ҳужайралар асосан мембранасида СД4 молекула тутувчи ҳужайралар ҳисобланади. Бу ҳужайраларни асосини Т-хелпер ҳужайралари ташкил қилади (расм 98). Бундан ташқари моноцит ва макрофаглар ва нерв ҳужайралар мембранасида ҳам бундай СД4 рецепторлар камроқ учрайди. ОИТВ организмнинг ҳимоя системасидан усталик биланўзини 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 механизими асосан вируснинг ХПТ асосланган. ОИТВ вируси ҳужайра апоптозини (ҳужайрани программалаштирилган ўлими), аутоиммун реакцияларни активлаштиради, синцитиев ҳужайралар ҳосил қилади (кўп ядроли ҳужайралар) ва лимфоид олд ҳужайраларни зарарлайди.

Юқорида келтирилган сабаблар асосида Т-хелпер(СД4) ҳужайралари миқдор жиҳатдан жуда камайиб кетади, бу эса организмда чуқур иккиламчи иммун танқислик ҳолатини келтириб чиқаради. Организмҳимоясиз бўлиб қолади, бунинг натижасида оппортунистик микроорганизмлар (нормал иммун химояда касаллик келтириб чиқармайди) касаллик келтириб чиқариши 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.

24.1. ОИТВ нинг лаборатория диагностикаси. ОИТС вирусини лаборатория диагностикаси эпидемиологик жиҳатдан жуда муҳим бўлиб, ҳозирги кунда касалликнинг тарқалишини олдини олишдаги энг асосий хусусиятлардан бири ҳисобланади, чунки ҳозирги кунгача вирусга қарши эффектив вакцина олингани йўқ. Касалликка эрта ва ўз вақтида диагноз қўйиш унинг тарқалишини олдини олади. Ҳозирги кунда ОИТС вируси диагностикасидаги энг эффектив усул бемор қон

зардоби таркибидаги вирусспецифик антитела ва антигенларни касалликнинг турли даврларида серологик аниқлаш ҳисобланади. ОИТС вирусининг 41gp, 125gp ва 24gp антигенларига қарши АТ лар касалликнинг сероконверсия давридан, бирламчи клиник кўриниши ва кийиги инфекциянинг ривожланиш босқичларида ҳам аниқланади. Диагностикада асосан ИФА ва иммуноблотинг (вестерблот) усуллари қўлланилади.

Иммунофермент усулида ОИТВ антителасини касал қон зардоби 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. Иммунсорбент чуқурчаларга ОИТВ 1-конъюгатидан ишчи дозасида0,25 мкл томизилади. Сўнгра планшетка чуқурчасига 0,75 мкл назорат намунасидан (К+, К-) қўшилади. Назорат намуналарини ишлатиш қўлланилаётган стрипларни сонига боғлиқ бўлганлиги учун қуйидаги схемани қўллаш мумкин:

1 стрипда -1 чуқурча К+, 2 чуқурча К-;

2 стрипда - 2 чуқурча К+, 2 чуқурча К-;

3 ва ундан ортиқ -2 чуқурча К+. 3 чуқурча К-.

Масалан, агар ИФА 2 та стрипда қўйилаётган бўлса, стрипни А-1 ва А-2 чуқурчаларига микродозатор ёрдамида 0,75 мкл К+, ва 2 та чуқурчага В-1 ва В-2 га эса 0,75 мкл К- 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 37º С 60 минут сақланади.

2. Планшетдаги ингредиентлар вошер (планшетни ювиш мосламаси) ёрдамида олиниб дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади, планшет 4 маротаба ювувчи ишчи раствор билан ювилади. Ҳар бир ювишда 40 секунд эритма ушлаб турилади ва дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади.

3. Ҳамма стрип чуқурчаларига 100 мкл конъюгат-2 ни ишчи дозасида микропипетка ёрдамида томизилади. Планшет қопқоғи беркитилиб 37ºС 30 мин сақланади.

4. Планшетдаги ингредиентлар вошер (планшетни ювиш мосламаси) ёрдамида олиниб дезинфекцияловчи суюқлик бор идишга тўкилади, планшет 4 маротаба ювувчи ишчи эритмада ювилади (2 п. ўхшаш).

5. Ҳамма стрип чуқурчаларига 100 мкл СС (субстрат аралашмаси, буфер раствори) томизилади. Планшет қопқоғи беркитилиб қоронғи жойда 20 - 24º С 25-30 мин сақланади.

6. Планшетдаги реакцияни тўхтатиш учун ҳамма чуқурчаларга 100 мкл дан стоп – реагент қўшилади ва 1- 2 мин кейин натижа аниқланади.

Реакция натижасини аниқлаш. Реакция натижалари тўлқинузунлиги 450 нм бўлган спектрофотометда ва 620-680 нм референс-ёруғлик фильтрда аниқлаш мумкин. Реакцияни рўй берганлиги айтиш мумкин, қачонки К+ чуқурчадаги аниқланган оптик зичлик (ОЗ) 1,0 дан кам бўлмаса ва К- наъмунали чуқурчадаги ОЗ ўртача кўрсаткичи 0, 15 ошмаса. Масалантекширилаётган 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 қўйиш 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 зардобида 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 ҳужайраларни нисбий ва абсолют миқдорлари нормадан ишонарли камайиб кетади ва лимфоцитларнинг функционал хусусиятларида ҳам чуқур ўзгаришлар кузатилади.

ОИТС касаллигида қўлланадиган даволаш препаратлари. Ҳозиргикунгача 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.

25-БОБ.КАСАЛХОНА ИЧИДА ТАРҚАЛУВЧИ ЮҚУМЛИ КАСАЛЛИК ҚЎЗҒАТУВЧИЛАРИ

Клиник амалиётда антибиотикларнинг кенг қўлланилиши юқумли касалликларнинг эпидемиологияси структурасида янги ўзгаришлар келтириб чиқарди. Кучли вирулент қўзғатувчиларнинг (*Shigella, Staphylococcus, Salmonella* ва бош.) касаллик 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 ортган граммусбат бактериялар (стафилококк ва стрептококклар ва бошқ.)

II –бирламчи антибиотикларга чидамлиликшаклланган грамманфий бактериялар.

III- антибиотикларга табиий чидамли бўлган замбуруғлар.

Бу группа микроорганизмларнинг кўпчилиги одам учун сапрофитҳисобланади. Уларнинг касаллик келтириб чиқариш хусусияти маълум шароитларда амалга ошади: ташқи муҳитнинг ноқулай омиллари таъсирида; организмнинг иммун тизими фаолиятини сустлашиши; рентген ва радиоактив нурланишлар; иммундепресантлар 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, яъни касалхонага даволаниш учун келган ва ётқизилган беморларда касаллик келтириб чиқариши мумкин.

Бу группа микроорганизмлар кўпроқ ҳолларда “Касалхона ичида тарқалувчи юқумли касалликлар”ни этиологиясида асосий ролни ўйнайди. Бу ном билан ҳар қандай микробларни тушуниш мумкин, яъний касалхонага доваланиш учун келган ва ётқизилган беморларда касаллик келтириб чиқариши мумкин.

КТЮК спектри 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%), грамманфий бактериялар, респиратор вируслар ва кандида авлодига мансуб замбуруғлар ўйнайди.

25,1-жадвал

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	Кўпрок симтомсиз “госпитал”штаммларни ташиб юрувчилар, асосан респератор 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 қўзғатувчилари 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 қўзғатувчиларнинг вакиллари ўта вирулентли, чидамли “госпитал” штаммлар ҳосил қилади. КТЮК нинг тарқалишига турли факторлар қатнашиши мумкин, булардан асосийлари 86-жадвалда келтирилган.

25,2-жадвал

КТЮК нинг тарқалишига сабаб бўлган факторлар

Ташқий факторлар	Пацентлар микрофлораси	Стационарда қўлланилувчи инвазив тиббиий муолажалар	Тиббиёт ходимлари
Аппаратура ва инструменлар	Тери, шиллиқ қаватлар	Сийдик қопчасига катетер қўйиш (узоқ 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	Эндоскапия	

25,3-жадвал

КТЮК келиб чиқишига мойиллик қилувчи ҳолатлар ва асосий уларни этиологик агентлари

Мойиллик қиловчи ҳолатлар	Асосий қўзғатувчилар
Сийдик йўлида катетер бўлиши	Serrata marcescens, Pseudomonas aerugenosa, Proteus sp.
Бегона критмалар (танача-венага қўйилган катетер,канюла, протезлар)	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus areus, Propionbacterium acnes, Candida ва Aspergillus турлари
Опреатив, жаррохлик аралашувлари	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus areus, Bacteroides турлари, Clostridium perfringens, Pseudomonas aerugenosa ва бошқа анаэроб, факультативлар.
Куйиш	Pseudomonas aerugenosa
Спленэктамия (талокни олиб ташлаш	Streptococcus pneumoniae
Қандли диабет	Pseudomonas aerugenosa, Staphylococcus areus, Candida albicans ва фикомицитлар
Қон ҳосил бўлишни бузилиши	Creptococcus neoformans, сув чечак вируси, ЦМВ, Listeria monocytogens
Алкогализм	Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogens
Гликокортикоидларни қабул қилиш	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus areus, Mycobacterium tuberculosis,турли вирус ва замбуруғлар.

Юқумли касалликни “Ятроген”(КТЮК) деб аташ мумкин - қачонки беморда юқумли касаллик касалхонада тиббий аралашувда ёки даволаш профилактик муассасаларида даволаш мақсадида бўлгандан кейин маълум вақт (шу юқумли касалликни инкубацион даври) мабойнида келиб чиқса ва аниқланса.

Оппортунистик инфекциялар учун инкубацион давр ўртача 2-4 куни ташкил қилади, облигат паразитлар учун эса вариабил бўлиши

мумкин ва инфекция характерига 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 тасаврга эга бўлишлари зарур.

25.1. КТЮК нинг лаборатория диагностикаси.

Нозокоминал юқумли касалликларни эрта аниқлаш уларнинг яхши прогнозидан дарак беради. Қисман ятроген инфекциянинг белгилари, даволанаётган беморнинг сабабсиз қўққисдан тана температурасини кўтарилиши бўлиши мумкин. Агар КТЮК га шубҳа қилинса микробиолигик текширув ўтказилади. Нозокоминал юқумли касалликларни диагностикасини қўшимчакасалликлар қийинлаштириши мумкин.

Текшириш учун патологик материалларни олиш ва бактериологик текширув ўтказишда қуйидагиларга аҳамият берилиши зарур:

1) Текшириш материаллари асептик қоидаларга риоя қилинган ҳолда стерил махсус контейнерларга олинади, чунки потенциал қўзғатувчи ҳар қандай бактерия бўлиши мумкин;

2) Олинган патологик материални максимал тез лабораторияга етказиш;

3) Проба (материал) ҳар доим олиниши керак.

Нозокоминал юқумли касалликларни диагностикасида асосан бактериологик, вирусологик, микологик ва серологик усуллар қўлланилади. Бактериологик, вирусологик ва серологик усуллар олдинги бўлимларда келтирилган, диагностика усуллари деярли фарқ қилмайди. Шу билан бир қаторда шартли патоген бактерияларнинг диагностикасида уларнинг пробалардаги миқдорий кўрсаткичларига ҳам аҳамият берилади.

26-БОБ. ЗАМБУРУҒЛАР КЕЛТИРИБ ЧИҚАРУВЧИ КАСАЛЛИКЛАР ВАЛАБОРАТОРИЯ ДИГНОСТИКАСИ.

26.1.Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар

Замбуруғлар табиатда энг кўп тарқалган организмлар бўлиб, уларнинг асосий вакиллари сапрофит ҳаёт кечиришади. Уларда фотосинтетик пигментлар бўлмайди, улар гетротроф, аниқроғи хемоорганогетротроф, витаминларга мухтож, аэроб шароитда

яшайди, ўзлари учун энергияни оксидланиш ва қайтарилиш реакциялари орқали органик моддалардан ўзлаштириб олади. Таббиатда тарқалган бирнеча минг замбуруғлардан 100 га яқини одамлар учун патоген ҳисобланади. Замбуруғлар эукариотик организмлар бўлиб бошқа микроорганизмлардан 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 граммусбат бактериялар бўлиб, вегитатив ҳужайралари кислотага чидамсиз ҳисобланади. Замбуруғлар кўриниши бўйича Гифал (моғал) ва дрожжисимонларга (ачитқи) бўлинади.

Гифал (моғал) замбуруғлар тарқалган нозик чирмашган иплар 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 (99 - расм).

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 тушунилади.

Кўпчилик замбуруғларларнинг характерли хусусияти уларнинг ўстириш шароитига қараб гифал, мицелийлар ва дрожжисимон ўсиш хусусятидир (деморфизим). Масалан, инфекцияланган организмда улар ачитқисимон (ачитқисимон фаза), озиқ муҳитларда эса гиф ва мицелийлар ҳосил қилади. Замбуруғларнинг бундай реакцияси температура факторига боғлиқ. Хона температурасида улар мицелийлар ҳосил қилишса, 37ºС 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 дийилади. Бундай (вегитатив) замбуруғлар куртакланиб, фрагментланиб ва жинсиз спорали бўлиб кўпайяди. Замбуруғ спорлари (спорангиоспора) мицелийларнинг ичида юмалоқ кўринишда (спорангия) етилади ва гифларнинг учида (конидие) шаклланиб 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 ҳужайрадан қиз ҳужайра куртакланиб кўпайяди. Бир ҳужайрали катта бўлмаган конидие микроконидие, кўп ҳужайрали катта конидие макроконидиелар деб аталади. Жинсиз кўпайювчи замбуруғларга хломидоконидие ёки хломидоспорали (қалин ҳужайра деворли ва кичик ҳужайралар комплекси) ва склероция (қаттиқ пардали ҳужайра массаси) – нақулай шароитларда замбуруғларнинг тинч турувчи формаси бўлиб, уларни таббиатда сақланиб туришини таминлайди.

Замбуруғ типлари. Жинсий йўл билан кўпаювчи уч группа замбуруғлар (юқори ривожланган) буларга - зигомицитлар, аскомицетлар ва базидомицетлар киради. Фақат жинсиз йўл билан кўпаювчи (тубан замбуруғлар) алоҳида шартли гуруҳга дейтромицетларга 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 ҳужайрали ачитқи замбуруғлардан ташқари). Улар ўз номларини уруғ ташувчиорганлари – сумка ёки аска номидан олишган. Уларнинг таркибида 4 ёки 8 гаплоид жинсий спора (аскоспор) тутади. Кўпчилик *Aspergillus* ва *Penicillium* авлоди вакиллари анаморф хусусиятга эга, яъний фақат жинсизспоралар (конидий) ёрдамида жинсиз йўл билан кўпайяди. *Aspergillus* авлоди вакилларининг уруғ, конидие ташувчи гифлари йўғонлашган бўлиб стрегмалар, фиалидияларда занжирсимон конидие бўлади (99-расм). *Penicillium* авлодивакилларида эса панжасимон бўлиб (кистевик), уруғ ташувчи конидийлар йўғонлашиб, майдароқ структураларга - стрегмалар, фиалидияларга ва уларда конидийлар занжирсимон бўлиб жойлашади.

26.1-жадвал

Тиббиёт учун аҳамият касб этувчи патоген замбуруғлар

Таксонлари	Асосий авлодлари	Одамларда касаллик келтириб чиқариши
ЗИГОМИЦИТЛАР (Тип Zygomycota, синф Zygomycetes)		
Тартиб Mucoralis	Mucor, Rhizopus, , Rhizomucor, Absidia, Cunnighamella	Зигамикозлар
Тартиб Entomophthorales	Basidiobolus, Conidiobolus	
АСКОМИЦЕТЛАР (Тип Ascomycota)		
Синф Ascomycotes		
Тартиб Saccharomycetales	Ачитқи: Saccharomyces, Pichia (телеморфлар Candida spp)	Микотик кўплаб касалликлар
Тартиб Onygenatis	Arthroderma (телеморфлар Trichophyton, Microsporum spp.)	Дерматомикозлар
Тартиб Eurotiales	Телеморфлар баъзи Aspergillus ва Penicillium spp.	Асперлиллёз, пенициллёз, гиалогифомикоз
Тартиб Microascalis	Pseudallescheria boydii (телеморфлар Scedosporium apiospermum)	Мицутома, гиалогифомикоз
Синф Archiascomycetes		
Тартиб Pneumocystidales	Pneumocystis carinii	Зотилжам
БАЗИДИОМИЦЕТЛАР (Тип Basidiomycota, синф Basidiomycetes)		
Тартиб Agaricales	Amanita, Agaricus	Замбуруғлар билан захарланиш
Тартиб Tremellales	Ачитқи: Filobasidiella (телеморфлар Cryptococcus neoformans)	Криптококкоз
ДЕЙТЕРОМИЦЕТЛАР (Тип Deiteromycota)		
Тартиб Cryptococcales	Тубан ачитқи замбуруғлари: Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia	Кўплаб микозлар
Тартиб Moniales, Monialiceae	Epidermophyton, Coccidiodes, Paracoccidiodes, Sporthrix, Aspergillus	Кўплаб микозлар
Тартиб Moniales, Dematiaceae	Phialophora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria	Хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз
Тартиб Sphaeropsidales	Phoma	Феогифомикоз

Аскомицетларга Saccharomyces авлоди вакиллари ва телеморфлардан *Candida spp.* (ачитқи замбуруғлари) киради. Ачитқи замбуруғлари – бир ҳужайрали, ҳақиқий мицелий ҳосил қилиш хусусиятини йўқотган, овалсимон диаметр ўлчами 3-15 мкм бўлган ҳужайралардир (100-расм). Улар куртакланиб, бинар бўлиниш ёки жинсий йўл билан аскаспор ҳосил қилиб кўпаяди. Ачитқи

замбуруғларнинг вакиллари одамларда касаллик келтириб чиқаради. Патоген турлари сохта мицелийлар ҳосил қилади.

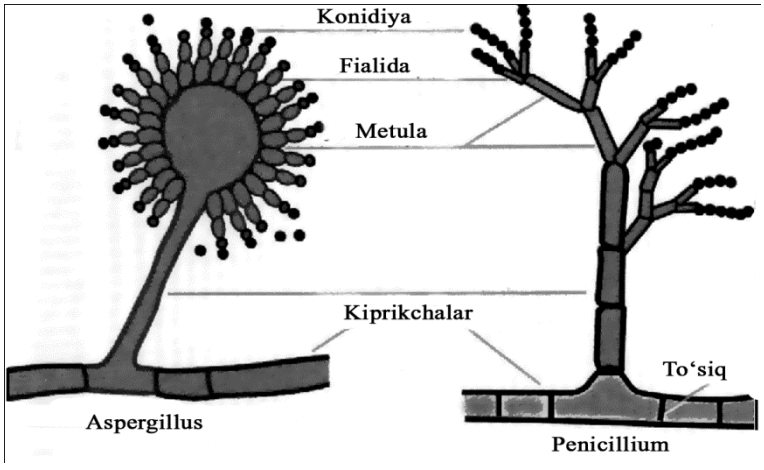
Кўпчилик аскомицетлар антибиотиклар сентиз қилади тиббиётда биотехнологияда қўлланилади.

Базидомицетлар- қалпоқчали (шляпочные) замбуруғлар септаланган мицелийлар тутади. Улар жинсий спора – базидоспралар ҳосил қилиб, уларнинг охиридан қиз ҳужайра мицелий ажралиб чиқади.

Дейтромицетлар - (тубан замбуруғлар) замбуруғларнинг шартли типлари бўлиб, ҳамма жинссиз йўл билан кўпаювчи замбуруғлар шу гуруҳга киритилган. Шартли гуруҳ дейилишига 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 тубаначитқи замбуруғлари киради. Масалан *Candida* авлоди вакиллари, тери шиллиқ қаватлар, жинсий органларда кандидомикоз касалликларини келтириб чиқаради. Улар узунчоқ ёки юмалоқ, диаметри 2-5 мкм, куртакланиб кўпаяди, псевдогифлар (занжирсимон ёки ҳужайралар чўзилган) ҳосил қилади. *Candida albicans* га хламидоспорлар ҳосил қилиш характерлидир (100-расм).

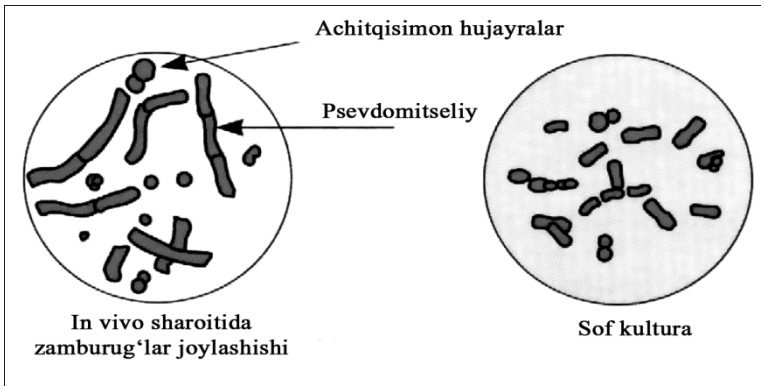
26.2. Замбуруғлар келтириб чиқарувчи касалликлар лаборатория дигностикаси.Микозларнинг микробиологик диагностикаси асосан микроскопик культурал, серологик ва бошқа текшириш йўллари билан амалга оширилади.



26.1-расм.Замбуруғлар морфологияси ва структураси

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.

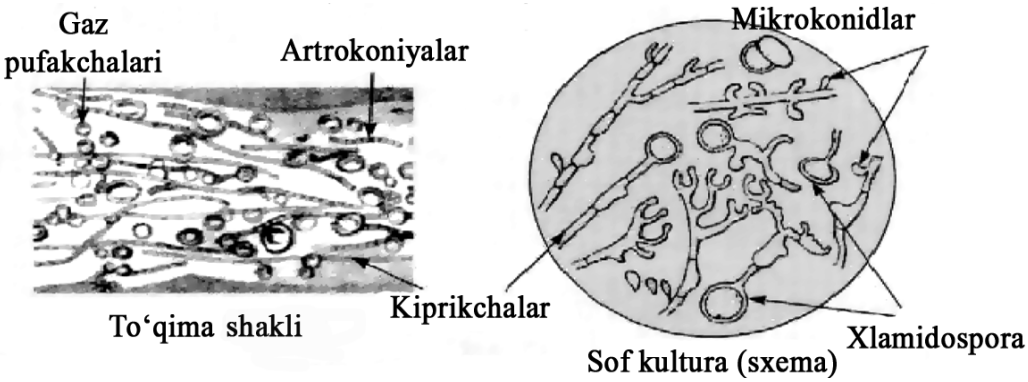


26.2-расм. Ачитқи Замбуруғларининг морфологик кўриниши

Дерматомикоз ва кандидомикозларнинг микробиологик диагностикаси. Дерматомикозларни асосан *Trichophyton, Microsporum* авлодларига мансуб бўлган ва бир неча *Epidermophyton* турлари ва кам ҳоларда Candida лар келтириб чиқаради.

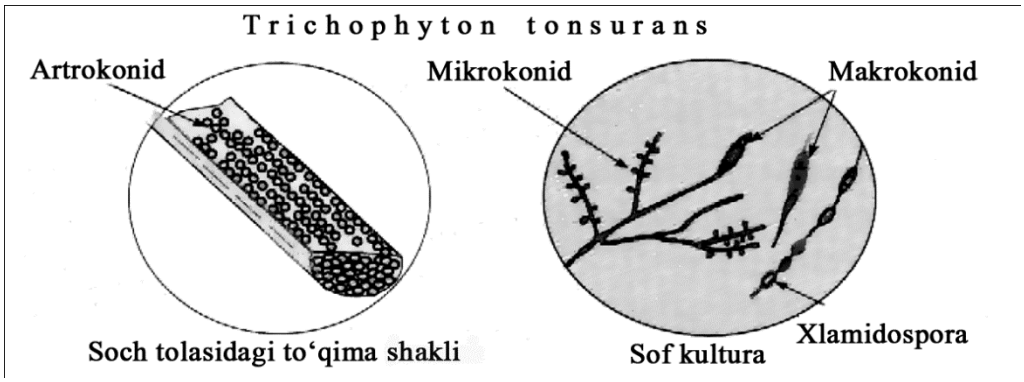
Фавус (син.парша –кал). суринкали антропаноз касаллик бўлиб, қўзғатувчиси *Trichophyton schoenleinii*. Асосан болалар касалланади. Касалликдатери, тирноқ ва соч зарарланади. Характерли хусусияти жароҳатланган соҳада сариқ йиғилма пўст (спора, мицелий, эпидермис ҳужайралари ва ёғ йиғилиб қолиши-скутула) 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 шикастланади, шу сабабли ҳам у синмайди. Бош териси кучли яллиғланганда соч толаси бутунлай суғирилиб чиқади. Текшириш чоғида зарарланган узун сочларнинг микроскопик манзарасида юмалоқ занжирчалар ва уюмлар кўринишида ҳар хил каталикдаги, кўп қиррали полиморф споралар кўзга ташланади.



26.3-расм. Trichophyton schoenleinii

Соч ичида юпқа септаланган мицелий ипчалари билан бир вақтда ҳаво пуфакчалари ва ёғ томчилари ҳам (101-расм) бўлади. Силлиқ тери ва тирноқ тангачаларида тормоқланган мицелий, юмалоқ 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 тармоқланган мицелийлар бўлади. Бу ўринда шуни 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.



26.4-расм. Trichophyton tonsurans

Трихофития касаллиги ўткир ва суринкали формаларда ўтади. Trichophyton авлодига мансуб замбуруғлар фавусдан ташқари кўплаб тери, сочва 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

(102-расм). Тери, тана (темиратки) ва сочнинг зарарланиши кузатилади. *Trichophyton violaceum* ҳам антропаноз 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 audounii* ҳамда *Microsporum ftrrugineum* тери, соч ва кам ҳолларда тирноқларни шикаслайди.

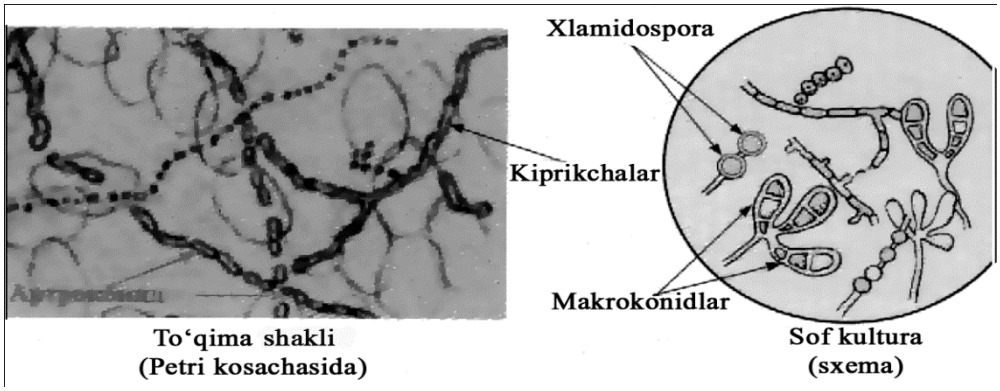
Юқори контагиоз касаллик ҳисобланади, кўпроқ касаллик болаларда кузатилади. Соч толалари шикасланганда, микроскоп остида кўрилганда, соч толасини атрофида мазайка кўринишда антроконидийлари ўраб (муфты- эктотрикс типи) олади.

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 турадиганоқимтир доғлардан олинади. Доғларнинг ҳар ер-ҳар еридан перифериями томон скапельда бир неча буюм ойнасига қирма олинади. Қирмани мутахассис скапельни 35-45º бурчак остида (терига 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, кейин катта қуруқ 40 х системасида кўздан кечирилади.Темиратки қўзғатувчиси суртмада калта, лекин йўғон қайрилган мицелий иплари ва тўп-тўп, шакли юмалоқ қўш контурли споралари билан ифодаланади. Мицелийларнинг узунлиги 8-12 мкм ни ташкил этади.

Эритразмада (*Epidermophyton, Trichophyton*) қўзғатувчи эпидермиснинг юза қаватини, аксарият, терининг табиий бурмалари юза қаватини шикаслайди. Эритразмада сон-ёрғоқ бурмаларида, чов, қўлтиқ, орқа тешик (анус) соҳаси ва аёлларда кўкрак бези 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 кислатаси томизилади ва у буғланиб кетгунча алангада қиздирилади. Кейин 2% ли метилен 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, коринебактерияларнинг ипсимонформаларига ўхшаш бўлади. Замбуруғларни турларига қараб баъзида занжир бўлиб мицелийлари жойлашади. Бўялганда мицелий зангори рангга, спораси эса тўқ, кўкимтир-зангори рангга бўялади. Теринг шикастланган жойига люминцент лампадан нур туширилса, у қизғиш бўлиб товланади.



26.5-расм. Epidermophyton floccusum

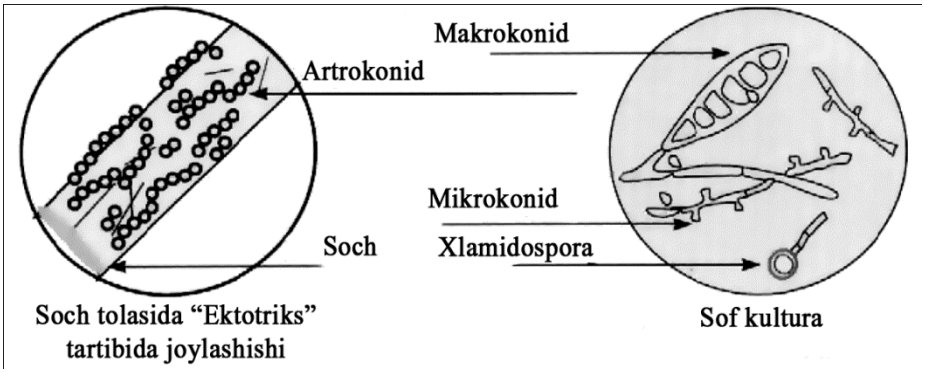
Оёқ панжа эпидермофитияси, асосан қўзғатувчилари *Trichophyton, interdigitalis; Trichophyton rubrum* ва *Epidermophyton floccusum* келтириб чиқаради. Оёқ панжа эпидермофитиясида даслаб материал тавон гумбазидан олинади. Скарификаторда ёки скальпелда тавон гумбази яхшилаб қириб тозаланади, кейин текширишга қирма олинади. Бармоқ оралари бурмаларидан ҳам қирма суртма олинади. Пуфакчалардан материал олинганда унинг бир чети пинцет билан ушлаб қирқилади ва пўстидан препарат тайёрланилади. 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 объективида ҳам (оъбектив 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 холестрининг парчаланиш маҳсулотлари, замбуруғларнинг мицелийлари кўринишида кўзга ташланиши мумкин. Уларни сохта (псевдо) мицелий дийилади. Бундай пайтларда сохта мицелийларни замбуруғлар биланалмаштирмаслик 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 шаклда) 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 тўпламини соч қобиғиданқўзғатилади. Шунда емирилган соч ичидаги соч бўйлаб ётган мицелий ипларини кўриш мумкин.



26.6-расм. Microsporumcookie

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 озиқ муҳитларда уларни ундириш усули билан аниқланади.

Микологик усул.Олинган патологик материал озиқ муҳитларга (Сусло –агар, Сабуро ва бош.) экилади 25ºС да ўстирилади 1-3 ҳафта.Тоза культурасида қўзғатувчини септаланган мицелий ипчаларининг учлари йўғонлашган, тормоқланган (кийик шохига ўхшаш -фаршда) ва артероспора, хламидоспоралар (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), озиқли 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 ҳужайралар диаметри 3-25 мкм, битта кичик куртаги бўлади. Яққол кўзга ташланиладиганполисахаридли капсуласи бўлади.Тоза культураси – озиқли муҳитларда яхши ўсади (Сабуро муҳитида қаварик сметанага ўхшаш юзаси ялтироқ колониялар ҳосил қилади), суртма қилиб кўрилганда овал шаклдаги дрожжисимон диаметри 4-8 мкм ҳужайралар кўринишида бўлади. Иммунтанқис 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 20-25ºС мицелий формада, 37º С кўпайганда дрожжисимон формада бўлади. Капсуласи бўлмайди.

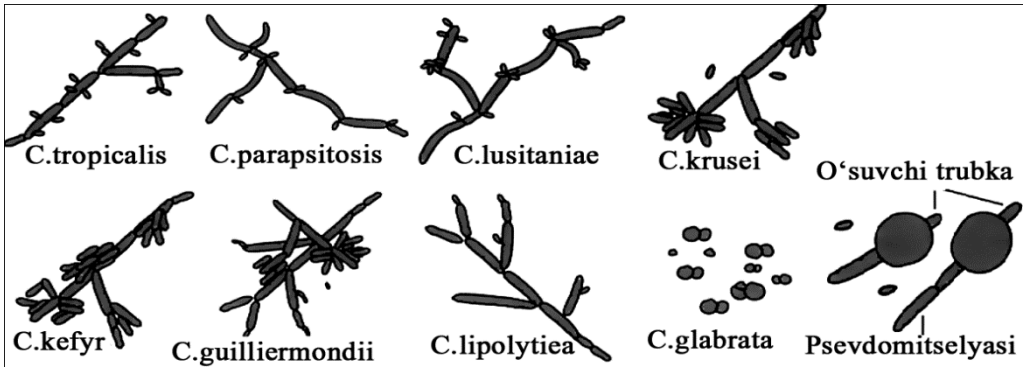
Тўқима формаси: -тўқималарда кичик, сал чўзинчоқ-юмалоқлашган формада, диаметри 2-5 мкм, узунчоқ учидан куртакланиб кўпайяди. Тоза культурасида –тармоқланган, септаланган мицелий иплари тутади. Уларда микроконидий ва макроконидийлар учрайди. Макроконидийлари катта ноксимон формада бўлиб, улардан тиканаклар чиқиб туради, диаметри 8-20 мкм тенг. Микроконидийлар осилиб турган томчини эсатади, диаметри 2-6 мкм.

Бластомикоз (шимолий америка бластомикози, Гилкрист касаллиги)-қўзғатувчиси *Blastomyces dermatitidis*. Касаллик суринкали формада ўтади, вицерал формаси ўпкада инфильтрат 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 20-25º С мицелий формада, 37º С кўпайганда дрожжисимон формада бўлади. Капсуласи бўлмайди.

Диагностикаси. Текшириш учун йиринг, балғам, биоптатлар, тери қирмаси ва бош.олинади. Тайёрланган препарат ишқор эритмаларида (30% ли ўювчи калий ёки ўювчи натрий) ишлов берилиб гемотаксилин ва эозин ёки Грам усулларда бўялади. Микроскопда катта икки контурли ноксимон, қалин қобиқ билан ўралган ва битта куртакли ҳужайралар учрайди. Озиқ муҳитлардан Сабуро муҳитида кулранг-

сариқ колониялар ҳосил қилиб яхши ўсади. Серологик усулда КБР қўйилади.

Кандидамикоз. Бу авлоднинг 200 дан ортиқ турлари мавжуд. Бу авлодга ҳозирги кунда бир қанча шаклланган ва шаклланмаган (тубан) замбуруғлар киритилган. Кандида авлоди вакиллари одамларда шиллиқ қаввати, тери, тирноқлар ва ичкий органларни жароҳатлаб кандидомикоз касаллигини келтириб чиқаради. Кандидомикоз касаллигини келтириб чиқаришда олдинги ўринларда C. albicans df C. Tropicalis nehflb туради. C. albicans нинг характерли хусусияти улардаги бластоспор (куртак), яъний куртакланиётган ҳужайра ва хломидоспор қалин деворли, икки контурли оввал спора (расм 106) кўринишида бўлади.



26.7- расм. Кандида авлодига мансуб забуруғларнинг морфологияси (схема)

Лаборатория диагностикаси. Микроскопик, бактериологик ва серологик усуллар қўлланилади.

Микроскопик усулда олинган патологик материалдан (оғиз шиллиқ қавватидан, бодомча безидан олинган суртма, йиринг, балғам, 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 ҳужайралар топилади. Бу ҳужайралар юмалоқ кўринишидан ташқари йўғон, калта ёки узин иплар шаклида бўлиши ҳам мумкин, буларнисохта псевдо мицелийлари дийилади. Бўяб кўрилганда (Романовский усулида) кандидалар пушти –бинафша рангга, қўшимчалар – қизғиш рангга бўялади. Грам усулида бўялганда замбуруғлар тўқ бинафша ранг олади ёки текис бўялмайди, ҳужайранинг чека қисми бинафша рангга, ўртаси эса оч бинафша бўлади. C. albicans микроскопда

текширилганда ачитқи замбуруғларига ўхшаб кетади, лекин улардан фарқланиб спора ҳосил қилмайди. Микроскоп остида қаралганда 2-4 х 5-7 мкм шакли овал ёки юмалоқ бластоспоралари кўринади, бир томонлама ёки икки томонлама куртакланаётган қиз ҳужайралар кўзга ташланади. Сохта мицелицлари энсиз, катталиги 1,5-2,5 мкм. Шуни айтиб ўтиш керакки, кўриш майдонида 1, 2 дона замбуруғ ҳужайраларини бўлиши хали кандидоз диагнозини билдирмайди. Бундай ҳолат соғлом одамларда ҳам учрайди. Фақат10-25 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 22-37º С 24-48 соат сақланади.

Сабуро ва Сусло муҳитида *C. albicans* оқимтир-крем рангли, ялтироқ, бир томчи майонезни эслатувчи колониялар ҳосил қилади. Сахаролитик хусусиятлари бўйича ҳам улар бир-бирларидан фарқланади. *C. albicans ва C. tropicalis* сахарозани парчалайди, қолган турлари парчаламайди.

Серологик усул. Бемор қон зардобидан АТ ларни АР, КБР, ПР ва ИФА аниқланади.

27-БОБ. ПАРАЗИТАР ИНВАЗИЯЛАРНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ДИАГНОСТИКА УСУЛЛАРИ.

Содда жониворлар келтириб чиқарувчи юқумли касалликлар лабораторная диагностикасига қуйидагилар киритилади:

- микроскопик (протозоологик);
- культурал;
- иммунологик;
- аллергик;
- биологик**.**

27.1. Макроскопик усуллар

- *Стронгилид тухумларини* топиш учун материал ич келгандан сўнг 1 соат ичида йиғилади; *стронгилид личинкаларини, анкилостомид* ва *трихостронгилид тухумларини* топиш учун ич келгандан сўнг 4 соат ичида йикилади.
- *Ичбуруғ* амёбаларининг вегетатив (ҳаракатчан) шаклларини аниқлаш учун ич келгандан сўнг 20 дақиқа ўтмасдан ёки 4°С да сақланиши 40 дақиқадан кечикмасдан текширилиши зарур.

• *Шистосомозга* шубҳа қилинганда сийдик куннинг10^{00} ва 14^{00} г'а қадар бўлган соатлар оралиғида олинади ёки кундалик сийдикнинг ҳамма порцияларини йиғиш лозим. Сийдик жисмоний ҳаракатлардан сўнг (20-30 та ўтириб-туриш) йиғилгани маъкул. Шистосомалар тухумларини топиш учун инвазиянинг ўпка шаклида балғамга 5%ли натрий гидрооксид эритмаси билан ишлов берилади. Аралашма 24 соат сақланади, сўнгра центрифуга қилинади, чўкмадан микроскопия учун суртмалар тайёрланади. Ичак ёки сийдик-таносил *шистосомози* ташхисида нажас ёки сийдик таҳлиллари манфий натижа берганда йўғон ичак ёки сийдик пуфаги шиллик, қавати биоптатлари текширилади. Бунинг учун биопсияга мўлжалланган шприц ёрдамида зарарланган ичак ёки сийдик пуфагининг шиллик, қаватидан гуруч донаси катталигида намуналар олинади ва 5-10 дақиқага сувга ёки физиологик эритмасига солинади.

• *Микрофилярийларни* аниқлаш учун бармоқдан ёки кулоқ супрасидан 2-6 мл қон олинади ва антикоагулянтли (натрий цитратнинг 5% эритмаси) центрифуга пробиркасига солинади. Центрифуга қилинади, зардобтўкиб ташланади, 20% ли этанол эритмаси кўшиб эритроцитлар гемолизланади ёки музлатилади, суртмалар тайёрланади, бўялади ва микроскопия қилинади.

• *Эхинококкли* пуфакчадан олинган суюқлик центрифуга қилинади, эхинококк сколексларини топиш мақсадида микроскопия учун суртма тайёрланади.

• *Амебиазга* оммавий текшириш учун стерил идишларзарур бўлади.

• *Трихинелла* личинкалари бўлган мушакларни консервация қилиш учун натрий хлориднинг концентрланганэритмасидан фойдаланилади.

• *Содда жониворларга* (лямблияларга) текширилганда тирик вегетатив шаклларини ич келгандан сўнг 5-7дақиқа давомида топиш мумкин. 5-7 дақиқадан сўнгвегетатив шакллар топилмайди, у материални цисталарга текшириш зарур бўлади.

• *Криптоспоридия* дигностикасида ҳозирги кунда энг яхши эришиладиган бактериоскопик усул ҳисобланади, чунки қўзғатувчининг ооцистини нажасдан топиш мумкин. Бунинг учун бемор нажасидан суртма тайёрланиб криптоспоридияларни ооцититини бошқа шунга ўхшаш *содда жониворлар ва кандида замбуруғларидан фарқлаш учун* от карбол фуксин билан Циль— Нильсен усулида бўялади ва иммерцион системада микроскопда кўрилади. Криптоспоридияларни ооцисти бу усулда малина рангини эслатиб бўялади ва думалоқ 3–5

мкм кўринишга эга бўлиб аниқ қобиғи кўриниб туради. Ооцисталарни бундай бўялиши, уларга кўриниши ўхшаб кетувчи ёғсимон моддалардан, детрит гранулаларидан фарқлайди. Микрофлоралар эса яшил рангда бўялиб кўринади.

Нажасдаги жинсий етилган гелминтлар ёки уларнинг бўлакларини оддий кўз ёки лупа ёрдамида топишда макроскопик усул кўлланилади.

27.1.2. Нажасни содда жониворларга текшириш.

Нажасни оддий кўз билан (визуал) кўриш усули.Паразитар инфекцияга текширилувчиларнинг нажаси дефекациядан сўнг кўздан кечирилганда тирикҳаракатчан острицаларни, баъзан аскаридаларни, дифиллоботриозли беморларда лентасимонларнинг стро билалари қисмларини, чўчқа ёки қорамол солитерлари билан зарарланганларда гелминтларнинг бўлакчаларини кўриш мумкин. Дастлаб нажаснинг ҳамма синамалари кўздан кечирилади, сўнгра улар дистилланган сув билан суюқ даражагача суюлтирилади ва кичик бўлакларда текширилади.

Сифатли кўриш учун тиндириш усули қўлланилади:

- нажас шиша стаканларда катта ҳажмдаги сув билан аралаштирилади ва тиндириш учун кўйилади;
- чўкма усти суюқлиги тўкилади, чўкма яна қайтадансув билан аралаштирилади (бир неча марта, тиниқлашгунча);
- намунанинг озгинаси Петри косачасига солинадива лупа остида кўрилади;
- барча шубҳали заррачалар пинцет ёки препарат игнаси билан буюм ойначаси Петри косачасига олинади; гелминтларнинг қисмларига ўхшаш тузилмалар топилганда, улар лупа ёки микроскоп орқали кўрилади;
- гелминтларнинг майда қисмлари ёки цистодаларнинг сколекслари глицерин ёки физиологик эритманинг томчисида микроскоп остида х7 (х10) окуляр, х8(х10) объективда кўрилади.

Копроовоскопия (нажасда гелминт тухумлари бор-йўқлигини текшириш) усули

Като ва Миур бўйича қалин суртма тайёрлаш усули

Ушбу усул буюм ойначасида нажаснинг ингичка қатламини глицерин ва фенол аралашмасига намлангангигроскопик целлофан остида кўришга асосланган.

Текшириш тартиби:

- Буюм ойначасига 30-50 мг нажас сурилиб, таёқчабилан тарқатилади;

• нажас Като эритмасида (100 мл 6%ли фенол эритмаси +100 мл глицерин + 1,2 мл 3%ли малахит яшили)намланган целлофан билан ёпилади;

• целлофан устидан юпқа, текис қават ҳосил бўлгунча валик билан текисланади;

• хона ҳароратида 1 соат ёки 40°С ли термостатда20-30 дақиқа ушлаб турилади;

• морфологик тузилишни аниқлаш учун х10 объектив, х7 окуляр катталикда микроскопия қилинади.

Ичак ва жигар гелминтларини топишда кўлланилади. Усул клиник гелминтозларга аҳолини оммавий текшириш учун тавсия қилинган.

Уксус-эфирли усул

Текшириш тартиби:

• градуирланган пробиркага 5 мл 5% ли уксус эритмаси солинади. Унга 1 гр нажас кўшилади (пробиркадаги эритма ҳажми 6 мл га етади);

• нажас уксус кислотаси билан аралаштирилади,пробирка силкитилади, резина тиқин билан ёпилади, бир хил аралашма ҳосил бўлгунча силкитилади, 1 -дақиқа кўйиб қўйилади;

• металл элакча орқали бошқа пробиркага куйилади;4 мл эфир кўшилади, яъни 10 мл ли белгигача-етказилади, тиқин билан ёпилади ва 30 сония давомида сўрувчишкафда силкитилади;

• аралашма 3000 айл./дақ. 1 дақиқа ёки 1500 айланма/дақиқада 2 дақиқа центрифуга қилинади;

• центрифугалашдан сўнг пробиркада 4 қават ҳосилбўлади; юқори қисмида эфирли экстракт, «нажасли қават», уксус кислотаси эритмаси, тубдаги чўкма;

• чўкма буюм ойначасига пипетка билан томизилади(ҳар бир буюм ойначасига 2 томчидан);

• чўкманинг 1 томчисига 1%ли Люголь эритмаси томизилади ва иккала томчи қоплагич ойнача билан ёпилади;

• Люголь эритмали томчи содда жониворларнингцисталари ва оо-цисталарига, Люгол эритмаси бўлмаган томчи эса гелминтларнинг тухумлари ва личинкаларига текширилади;

• гелминтларнинг тухумлари ва личинкаларини х8(х10) катталикдаги объектив, х7 (х10) катталикдагиокуляр; гелминтларни ва содда жониворларнинг цисталарини - х40 катталикдаги объектив орқали микроскопия қилинади.

Ичак ва жигар гелминтларининг тухумлари, личинкаларини, ичак содда жониворларининг цисталари ваооцисталарини аниқлаш учун

қўлланилади. Аҳолинидиагностик эпидемиологик текширувларида ичак важигар гелминтозларининг универсал диагностика усули ҳисобланади. Трематодозлар, шу жумладан, описторхознинг ташхисида махсус усул сифатида қўлланилади.

Флотация усули

Кўпчилик холларда текширилаётган нажасда гелминтларнинг тухумлари кам бўлганлиги учун уларни суртмада топиш бирмунча қийинчиликлар туғдиради. Шунинг учун амалий лабораторияларда бойитиш усулларидан фойдаланилади. Усул флотацион эритманинг ва гелминт тухумлари нисбий оғирлигининг фарқини қайд этишга асосланган.

Текшириш тартиби:

• 30-50 мл ҳажмли кимёвий стаканни Петри косачасига қўйиб, унга флотацион эритма (зичлиги 1,3 бўлган аммоний нитрат эритмаси 1500 г моддани 1 литриссик, сувга ҳисобида тайёрланган; флотацион эритма-
нинг солиштирма оғирлиги ареометр ёрдамида ўлчанади) куйилади;

• стаканга 2,5 г нажас солиниб, таёқча билан аралаштирилади, қалқиб чиққан йирик заррачалар олибташланади;

• бир вақтнинг ўзида стаканга 50 мл тузли эритмаҳам қўшилади;

• юза парда буюм ойнаси билан олиб ташланади,стакан буюм ойнаси билан ёпилади, флотацион эритмапипетка билан буюм ойначасигача солинади; аралашмаэкспозиция учун 30-60 дақиқага қолдирилади;

• экспозициядан сўнг кимёвий стакандан буюм ойначаси олинади, унинг суюкдикка тегиб турган юзаси ағдарилади, қуруқ; юзаси эса катта ўлчамдаги ойнага қўйилади;

• қоплагич ойначасиз х8 (х10) катталикдаги объектив, х7 (х10) катталикдаги окуляр, морфологиясиниянада аниқлаштириш учун х40 катталикдаги окулярбилан микроскопия қилинади.

Кўпинча ичак гелминтлари тухумларини, нематода вацестодаларнинг тухумларини аниқлашда ишлатилади.

Берман усули.Ушбу усул личинкаларнинг мусбат термо- ва гидротаксисига асосланган.Ушбу усулни бажариш учун Берман аппараты зарурбўлади. Металл элакчали шиша воронка штативга мустаҳкамланади.Воронканинг пастки қисмига қисқичлирезина найча кийдирилади.

Текшириш тартиби:

• 20-50 г нажас металл, элакка солинади;

- нажас намунаси бўлган тўр кўтарилади ва воронкага 50°С гача қиздирилган сув солинади (шишанингпастки қисми сувга ботган бўлиши керак);
- ушбу ҳолатда сув 2-4 соат ушлаб турилади, сўнггарезина найчанинг қисқичи тезда очилади ва суюқликцентрифуга пробиркасига ўтади, у 2 дақиқа давомидацентрифугаланади, кейин чўкма усти суюқлиги тўкибташланади;
- буюм ойначасига чўкмадан олинади;
- х8 (х10) катталикдаги объектив, х7 (х10) катталикдаги окуляр орқали микроскопия қилинади. Морфологияни аниқроқ кўриш учун х40 катталикдаги объектив,х40 катталикдаги окулярда микроскопия ўтказилади.

Стронгилоидоз личинкаларини топишда самарали.Стронгилоидоз ташхиси учун махсус усул.

Анал бурмалари қирмаларини текшириш

- Ёпишқоқ, тасмадан (лента) фойдаланиб, анал бурмалари қирмаларини текшириш усули (Грэхэм бўйича):
- 8-10 см катталикдаги ёпишқоқ, тасма бўлаги буюмойначасига ёпиштирилади;
- анал бурмаларидан қирма олишдан олдин буюм ойначасидаги ёпишқоқ, тасма ажратиб олинади ва ёпишқоқ, томони билан анусга ҳамда анус атрофидаги бурмаларга ёпиштирилади;
- анус атрофидаги теридан тасма ажратиб олинади ва буюм ойначасига ёпишқоқ томони билан ёпиштирилади;
- х8 (х10) катталикдаги объектив, х7 (х10) катталикдаги окуляр орқали микроскопия қилинади.

Анал атрофидаги бурмаларда бўлган гелминтлар тухумлари, острица тухумлари ва тениидлар онкосфераларини аниқлашда самарали ҳисобланади. Энтеробиоз,тениаринхоз ва тениозлар ташхисида ҳам қўлланилади.

Копропротозоскопия(нажасни содда жониворларга текшириш**)**

Натив суртма усули. Ташхис учун шаклланмаган нажас, шиллиқ; ёки қон бўлган қисмлари танлаб олинади.

Текшириш тартиби:

- буюм ойначасининг чап қисмига 1 томчи илиқ ҳолдаги натрий хлорид эритмаси ва ўнг томонига 1 томчи10% ли Люголь эритмаси томизилади;
- озгина нажас буюм ойначасидаги физиологикэритма томчисига қўшилади ва эмулсия ҳосил бўлгунчааралаштиради, сўнгра

Люгольэритмали томчига кўшибаралаштирилади;

- намуна қоплагич ойнача билан ёпилади;
- аввал х8 (х10) катталикдаги объектив, х7 (х10) катталикдаги окуляр орқали, сўнгра х40 катталикдаги объективда микроскопия қилинади.

Ичак протозоозлари (лямблиоз, балантидиаз, амебиаз, кокцидиоз) ташхисида қўлланилади.

Балантидиазга текшириш учун Берман усули.

Текшириш тартиби:

- 10-15 г нажас кимёвий стаканга солинади, 45°Сли илиқ дистилланган сув қўшилади (нажас сув биланбутунлай қопланиши шарт);

2 соат ушлаб турилади, чўкма усти суюқлиги центрифуга пробиркасига солинади ва 1500 айланмадақиқада 2 дақиқа центрифуга қилинади;

- чўкма усти суюқлиги тўкиб ташланади, чўкма буюм ойначасига ўтказилади (ҳар бир ойначага 2 томчидан) ва қоплагич ойнача билан ёпилади;
- х10 катталикдаги объектив, х10 катталикдагиокуляр орқали микроскопия қилинади. Морфологиянианиқроқ кўриш учун х40 катталикдаги объектив, х40катталикдаги окулярда микроскопия ўтказилади.

Балантидиаз ташхисида ишлатилади.

Нажасни ичак содда жониворлари ва гелминтларга консервантлар билан комплекс текшириш усули

Ушбу усул содда жониворлар ва гелминтлар келтириб чиқарган ичак паразитар касалликларининг универсал ташхис усули ҳисобланади. Усул «КТ ФЭО МЦН»диагностик тизимлари: Турдиев консерванти, формалин эфирли бойитиш, Цил-Нилсен бўйича бўяш усулимодификациясиданфойдаланишга асосланган.

Нажас Турдиев консервантига солинади. Сақланганпаразитни кейинги текширишлари куйидагича кечади:

- консервантдан нам суртма усули;
- консервацияланган материалнинг эфир - формалинли бойитилиш ишловидан кейинги чўкмадан суртма тайёрлаш усули;
- консервацияланган материалнинг эфир - формалинли бойитилиш ишловидан кейинги чўкмадан суртма тайёрлаб, уни Цил-Нильсен бўйича бўяш усули.

Консервантдан нам суртма тайёрлаш усули

Текшириш тартиби:

• буюм ойначасида 2 та суртма тайёрланади: консервантли нажасдан ойначанинг ўнг ва чап қисмларига 2томчидан олинади, томчилар тахта таёқчалар билан ёйилади;

• томчиларнинг биттасига 1 % ли Люгол эритмаси кўшилади;

• ҳар бир томчи қоплагич ойнача билан ёпилади;

• х8 (х10) катталикдаги объектив, х7 катталикдагиокулярда (криптоспоридийларни топиш учун х90 ёких100 катталикдаги объективдан фойдаланилади) иммерсия ёғида микроскопия қилинади.

Содда жониворлар цисталари ва трофозоитлари,шунингдек, гелминтлар тухумлари ва личинкаларини аниқлашда самарали ҳисобланади. Протозоозларташхиси учун қўлланилади.

27.1. 3. Дуоденал суюқликни текшириш усуллари

Ўт суюқлигининг натив суртма усули

Текшириш тартиби:

• ўт суюқлигидан шиллиқ бўлаклар, толалар, патологик аралашмалар танлаб олинади;

• буюм ойначасига ўт суюқлигидан шиша таёқча ёрдамида юпқа суртма тайёрланади;

• қоплагич ойначасиз аввал х8 (х10) катталикдагиобъектив, х7 (х10) катталикдаги окуляр орқали микроскопия қилинади, гелминтлар морфологиясини аниқлашва содда жониворларга текшириш учун х40 катталикдаги объектив кўлланилади.

Трематода, описторхис, клонорх, фасциол тухумларини, содда жониворлар: лямблияларнинг вегетатив шаклларини, стронгилид, трихостронгилид, анкилостомид личинкаларини аниқлашда қўлланилади.

27.1.4. Балғамни текшириш усуллари

Балғамнинг натив суртма усулида

Текшириш тартиби:

• балғам шиша идишга йиғилади, сўнгра пипетка билан буюм ойначасига томизилади;

• суртма икки буюм ойначаси орасида текис тарқатиш йўли билан тайёрланади;

• х8 (х10) катталикдаги объектив, х10 катталикдагиокулярда, морфологияни аниклаш учун х40 катталикдаги окуляр да микроскопия қилинади.

Ўпка, бронхларда паразитлик қилувчи гелминтлартухумларини, баъзан шистосомлар тухумларинианиқлаш учун фойдаланилади.

Пневмоцистозга шубҳа туғилганда балғам текширилиши лозим. Лаваж суюқлигини вақтинча сақлаш учун консервация воситасида сақлаш лозим (4°С гача совитиш орқали). Балғамдан ташқари ҳалқум ва ҳиқилдоқ суюқлиги, бронхлар аспирати, ўпка тўқимасининг биоптатлари, босма суртмалар текширилиши мумкин.

27.2. Культурал усуллар.

Содда жониворларни культурал усулларда ажратиб олиш учун озиқ муҳитлар таркибида қон, натив зардоб, тухим оқсили,углеволар аминокислоталар ва бош.моддалар тутиши зарур.Муҳит реакцияси кучсиз ишқорий (рН 7,0—7,6).Кўпчилик содда жониворлар 37 °С яхши ўсиб чиқади, лекин лейшманий ва трипаносомаларни кўпайиши учун 20—26 °С оптимал ҳисобланади.

Лейшманиоз ва трипаносомоз касалликларида текшириш учун материал бўлиши мумкин: бемор қони, суяк кўмигидан, лимфо тугунидан, талоқдан олинган пунктат, орқа мия суюқлиги, яралар атрофидан, инфильтратдан олинган қирма.

Трипаносом валейшманийларни ажратиб олишда NNN-агар муҳити қўлланилади. Таркиби- агар-агар — 14,0 г, натрия хлорид — 6,0 г, янги дефибрисизлантирилган қуён қони, — 150 мл, дистилланган сув — 900 мл. Дистилланган сувга хлорид натри ва агар қўшилади ва аралашма тўлиқ эригунча қиздирилади, 1,5 атм. да 20—30 мин стерилизация қилинади, совутилади 56 °С гача ва асептик шароитда қон қўшилади ва пробиркаларга 4 мл қуйилиб45^0 қийшайтириб қўйилади. Муҳит пробиркада қотгандан кейин, бир кун термостатга 37^{0}С қўйилиб, стериллигиконденсацион сув ҳосил бўлиши текширилади.Агар конденсацион сув кам ҳосил бўлган бўлса, стерил шароитда 1 мл НХ изотоник суюқлиги,1%-й пептон суви, Хенкс раствори, гидролизат лактальбумин қўшилади ва пробиркалар музлаткичларда сақланади. Текширилаётган материал конденсацион сувга экилади.Экишдан олдин 8—10 мл цитратли қон 5—6 маротаба НХИ суқлиғи билан суюлтирилади ва 5 мин1000 об/мин центрифуга қилинади.Стерил пипетка билан юза қават сўриб олинади, чўкмада лейкоцит ва паразитлар бўлиши мумкин. Чўкма яна 10 мин 1500 — 2000 об/минцентрифуга қилинади. Охирги чўкма текшириш учун ишлатилади. лейшманиялар 2— 10-чи кунларда муҳитда ўсиб чиқади.

Дизентерия амебаси, балантидия, ичак трихомонадаларга, микроскопик усулларда осонроқ диагноз қўйилади, бактериологик усулга нисбатан,лекин,бази ҳолларда културал усул қўлланилади.

Павлова муҳити.Дизентерия амебаси, балантидия, ичак

трихомонадаларникультурал усулда ажратиб олишда қўлланилади, таркиби (г/л): натрия хлорид — 8,5, натрия фосфат — 0,6, кали гидрофосфат — 0,46. Тузлар дистилланган сувда эритилади,стерилизация қилинади ва пробиркаларга 9,5 мл қуйилади, пробиркалар совутилиб, хар бир пробиркага 0,5 мл от қон зардоби қўшилади, асептик шароитда.

Рейса муҳити: ГПБ (1 -қисми) натрий хлоридни изотоник эритмаси (4-қисми) аралаштирилиб, стерилизация қилинади ва 10-15 қисим муҳитьга 1 қисим от ёки буқа қон зардоби асептик шароитда қўшилади. Тайёрланган муҳитлар 8-10 мл дан пробиркаларга қуйилади.

Бу муҳитларда дизентерия амебаси, балантидия, ичак трихомонадалари яхши ўсади.

Содда жониворларни тайёрланган озиқли муҳитда яхши ўстириб олиш учун, пробиркаларга текширилаётган материал (шаклланган нажас 0,5 см, суюқ бўлса бир неча томчи) 5-6 пробиркага бир йўла экилади. Патологик материални пробиркалардаги озиқли муҳитга экишдан олдин 37°С иситилади ва 1-2 та қовулоқ билан грунч крахмали қўшилади, замбуруғларни кўпайишини тўхтатиш мақсадида. Крахмал (5-10 г) пробиркада пахтали тампон билан беркитилиб 90°С 1 соат 4 кун стерилизация қилинади. Крахмал куйган бўлса, уни ишлатиб бўлмайди.

Пробиркага экилган экмалар (24, 48, 72 ва 120 соатда) натижаси текширилади, пробирка тагига чўккан қуйқа пастер пипеткаси ёрдамида сўриб олиниб, ҳар бир муддатда янги озиқли муҳит қуйилган пробиркаларга экилади, шу билан бирга бир томчи материал олиниб буюм ойнасига томизилиб устига ёпқич ойна қуйилиб микроскопия қилинади.

27,1-жадвал.

Протозой юқумли касалликларининг лаборатория текшириш усуллари

№	Юқумли касаллик қўзғатувчиси	Текшириш учун материал ва микроскопик усул	Культурал ва биологик усуллар	Иммунологик текширув усуллари

1	Амебиаз	Нажас (натив)препарат ёки Люгол эритмаси, гемотоксилин билан бўяб кўрилади.	Амёба Павлова,жигар экстракти қўшилган Рейс муҳитида ажратиб олинади.2 — 3-ҳафталик каламуш болалари, мушикча, кучукча ва денгиз чучқачаларига юқтирилади.	РП, ИФА
2	Малярия	Қон –қалин томчи суртма тайёрланади ва Романовски— Гимза усулида бўяб кўрилади.	-	РИФ, ИФА (тропик малярияда)
3	Токсоплазмоз	Қон, лимфо тугинидан пунктат, ликвор – суртма тайёрланади ва Романовски— Гимза усулида бўяб кўрилади. Гистологик препарат- лимфо тугинидан, бош миядан.	Оқ чичқонларга юқтирилади.	КБР, РИФ, БГАР, ИФА, Тери орасига ток-соплазмин билан аллергик синама қўйилади
4	Трипаносомоз	Қон, лимфо тугинидан пунктат, ликвор – суртма тайёрланади ва Романовски— Гимза усулида бўяб кўрилади (касалликни ўткир даврида). Гистологик препарат- лимфо тугинидан, бош миядан.	Қон, лимфо тугинидан пунктатдан, ликвордан культурасини NNN,Вейнман муҳитларида ажратиб олинади. Оқ сичқон, каламуш ва мартишек маймунлаи сезгир.Денгиз чўчқачаларига (америка) трипаносомози сезгир.	РА,РП, КБР, РИФ, ИФА (фақат америка трипаносо-мозида қўйилади).

5	Висцерал лейшманиоз	Суяк кўмигидан, лимфо тугинидан ва талоқдан пунктат олиниб суртма тайёрланади ва Романовски— Гимза усулида бўяб кўрилади. Суяк кўмиги, талоқ ва жигардан гистологик препараттайёрланади.	Қондан лейшманияни NNN,Роджерс муҳит-ларида ажратиб олинади. Оқ чичқон ва юмронқозиқларга юқтирилади	КБР, РИФ, БГАР, ИФА
6	Тери лейшманиоз и	Тери элементларидан қирма олиниб –суртма тайёрланади ва Романовски— Гимза усулида бўяб кўрилади	Теридан қирма олиниб NNN, Роджерс-муҳитларида ажратиб олинади. Оқ чичқон ва юмронқозиқларга юқтирилади.	ИФА, лейш-манин билан тери аллергик синамаси.
7	Лямблиоз	Нажас, ўн икки бормоқли ичак суюқлигидан натив суртма тайёрланиб микроскопда кўрилади.	Оқ чичқонларга юқтирилади.	-
8	Сийдик таносил органлари трихомониаз и	Сийдик таносил органлари шиллиқ ажралмасидан, натив ёки метилен кўкида бўяб суртма кўрилади.	Тоза культураси Павлова муҳитида ва ГПБ ажратиб олинади.	-
9	Ичак трихомоиниа зи	Нажас - натив ёки метилен кўкида бўяб суртма кўрилади.	-	-
10	Балантидиаз	Нажас – натив препарат.	Тоза культураси Павлова, Рейс муҳитида ажратиб олинади. 2 — 3-ҳафталик каламуш болалари, мушикча, кучукча ва денгиз чучқачаларига юқтирилади.	-

27.3. Серологик аллергологик ва биологик текширув усуллари.

Серологик усул.Протозооз инфекцияларда серодиагностика ёрдамчи усуллардан ҳисобланади, аммо инфекцион жараённи динамикасини ўрганишда аҳамиятга эга.Серологик реккцияда антиген диагностикум билан, бемор организмида АТ топилса, антитела ёрдамида қўзғатувчининг АГ организмда бор йўқлиги аниқланади. Серологик реакцияларнинг қўйиш принциплари бошқа касалликларда қўйилаётган иммунологик реакциялардан фарқ қилмайди.

28-БОБ.ОҒИЗ БЎШЛИҒИНИНГ НОРМОФЛОРАСИ ВА УНИНГ ФУНКЦИОНАЛ АҲАМИЯТИ

Инсон қаерда бўлмасин, уни доимо улкан, кўз билан кўриб бўлмайдиган мавжудотлар дунёси ўраб туради. Бу мавжудотлар – микроблардир.

Микробларни қаерда учратиш мумкин? Деярли барча жойда. Ҳақиқатдан ҳам улар ҳарерда ҳозиру-нозир. Улар бизнинг сайёрамизда 3-4 млрд. йил олдин, ҳали ўсимликлар ва ҳайвонлар пайдо бўлмасдан олдин вужудга келган бўлиб, ҳозирда тирик мавжудотларнинг сон жиҳатдан энг кўп ва тур жиҳатдан энг хилма-хил гуруҳи ҳисобланади.

Микроблар тупроқ, ҳаво, сув ва биз истеъмол қиладиган озиқ-овқатларда ҳам мавжуд. Улар турли градусдаги ҳарорат, юқори туз концентрацияси ва қуёш инсоляциясига чидамли бўлиб, барча экологик ўчоқларда, яъни Антарктида музликларидан тортиб, Камчатка гейзерлари, Ўлик денгизнинг шўр сувлари ва Африка чўлларида ҳам учрайди. Ҳаттоки, Тинч океани тубининг энг чуқур жойларида ҳам микробларанқланган.

Микроорганизмларнинг чидамлилиги олимларни ҳайратда қолдиради. Масалан, ядро реакторларида ҳам микроблар кўпаяди. Космосда учувчи аппаратларда 6 йил давомида замбуруғлар сақланиб қолган.

Ҳароратга чидамлилигига нисбатан микроблар 3 гуруҳга бўлинади: психрофил, мезофил ва термофил. Ҳатто –270 ^{0}C ҳароратда ҳам бир неча соат давомида ўз ҳаёт фаолиятини сақлаб қоладиган микроблар борлиги аниқланган.Микроскопик сувўтлари қиш ойларида оппоқ қорни қизил рангга бўяб, кўпаяди.Табиий иссиқ сув манбаларида кучсиз кислотали pH муҳитда микроблар +90 ^{0}C дан юқори, ишқорий муҳитда эса –100 ^{0}C гача бўлган ҳароратда ҳам

сақланиб қолади. Куйдирги касаллиги қўзғатувчисининг спораси +400 ^{0}С да 30 сониягача ўз ҳаёт фаолиятини сақлаб қолади.Шунга қарамасдан патоген бактерияларнинг барчаси ва сапрофитларнинг кўп қисми мезофил микроблар ҳисобланади.

Антарктида кўлларидан бирида туз миқдори кўп бўлганлиги учун – 240 ^{0}С да ҳам музламайди, лекин унда бактериялар ва ачитқилар яшаши аниқланган. Микроблар турли хил сув манбаларида: шўр ва чучук, музли совуқ ва иссиқ, саёз ва чуқур, кўл, дарё, денгиз ва океан сувларида кўпайиши мумкин. Ҳаттоки, дистилланган сувда ҳам патоген бактерия – кўк-йиринг таёқчаси - *Pseudomonas aeruginosa* нинг жадал кўпайиши аниқланган.

1996 йили ерга тушган метеорит таркибида тошга айланган, ердаги бактерияларга ўхшаш микроб қолдиқлари топилган бўлиб, бу бошқа сайёраларда ҳам микроблар мавжудлигидан далолат беради.

Микроблар инсон атрофидаги борлиқда бўлганлиги учун, одам танасининг ташқи муҳит билан алоқада бўладиган аъзоларида: тери, оғиз бўшлиғи, ошқозон-ичак, юқори нафас олиш йўллари, уретра, қин шиллиқ қаватлари, қўз ва қулоқда учрайди. Бола туғилаётгандан бошлаб улар она ва ташқи муҳит омилларидан бола организмига тушади ва бутун умр давомида унда сақланиб қолади. Натижада, микроб-макроорганизмдан иборат экологик тизим пайдо бўлади.

Қадимдан одамлар озиқ маҳсулотларни тайёрлашда микроблар иштирок этадиган жараёнлардан фойдаланганлар, масалан: хамир тайёрлаш, карам ва сабзавотларни тузлаш, пиво, шароб, сут ва пишлоқ маҳсулотларини тайёрлаш ва ҳ.к.лар.

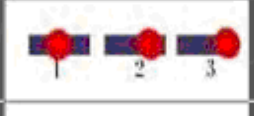
Кундалик ҳаётда биз, микроблар иштирокида олинадиган маҳсулотлардан кенг фойдаланамиз. Буларга вакциналар, антибиотиклар, витаминлар, ферментлар, турли хил органик моддалар ва бошқаларни мисол қилса бўлади. Яна шуни таъкидлаш лозимки, оқсил ишлаб чиқариш тезлиги бўйича ҳеч қандай тирик мавжудот микробларга тенглаша олмайди.

Одам оғиз бўшлиғи микроорганизмларнинг жуда кўп турлари ва гуруҳларининг яшаши ва кўпайиши учун қулай шароитлар мавжуд бўлган экологик биотоп ҳисобланади. И.И. Олейник (1987) таърифича оғиз бўшлиғи — бу бир вақтда ҳам термостат, ҳам озиқ муҳитдир. Ҳарорат ва намликнинг доимийлиги, турли тўқимавий тузилмаларнинг мавжудлиги оғиз бўшлиғига овқат, сув, ҳаво билан тушган бактерияларнинг адгезияси ва кўпайишига шароит яратади. 1-расмда

соғлом одамнинг юқори ва пастки жағларини тишлари билан кўрсатилган.

28.1- расм. Юқори ва пастки жағларнинг тузилиши

Микроорганизмлар миқдори оғиз бўшлиғининг турли қисмларида, яъни милклар, сўлак безлари йўллари, сўлак ва тиш карашида турлича бўлади. Масалан, сўлакда 50 млн.дан 5 млрд.гача бактериялар бўлади. Тиш карашининг 1 г да микроблар камроқ – 10 млн.дан 1 млрд.гача бўлади. Бу бактерияларнинг кўпчилиги анаэроб типда нафас олади, яъни улар қатъий анаэроб ёки микроаэрофиллар ҳисобланади. 2-расмда бактерияларни Грам усулида қандай ранггабўялишига кўра турлари кўрсатилган. 1884 йилда Даниялик олим Х. Грам томонидан таклиф этилган бу усулга кўра, бактериялар граммусбат (кўк-бинафша рангга бўялувчилар) ва грамманфий (қизил рангга бўялувчилар) бактерияларга бўлинади.

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	
Хламидиялар		Актиномицетлар	

Изоҳ: * - спораларнинг жойлашиши: 1-марказий, 2-субтерминал, 3-терминал

28.2-расм. Бактерияларнинг асосий шакллари

Ҳужайра деворининг тузилишига кўра граммусбат бактериялар қалиндеворлилар, грамманфийлар эса юпқадеворлилар ҳисобланади. Бактериялар таксономиясида ҳам ҳужайра деворининг тузилиши ҳамда кимёвий таркибига катта аҳамият берилади.

Бактерияларнинг миқдорий ўзгариши жуда кўп омилларга боғлиқ: намуна олиш вақти, овқатланиш тартиби, гигиеник муолажалар ўтказилиши ва бошқалар ҳамда олинган намунага ишловбериш (гомогенизациялаш) ва уни ўрганиш усули. Шуни таъкидлаш лозимки, бактерия ҳужайралари асосан микроскопик усул билан аниқланади, бироқ (шундай қабул қилинган), ҳар бир текширилаётган материалда 1

та тирик ҳужайрага 4 та ўлик ёки яшай олмайдиган ҳужайра тўғри келади.

Маълумки, онанинг туғруқ йўллари стерил эмас ва туғилиш вақтида микроорганизмлар болага тушади. Аммо она организмининг ҳамма бактериялари ҳам чақалоқ оғиз бўшлиғида колонизация қила олмайди, бу боланинг генотипи ва физиологик хусусиятлари билан боғлиқ. Туғилганидан 6-8 соат ўтгач оғиз бўшлиғидаги бактериялар миқдори орта бошлайди. Бу даврда турли аэроб ва факультатив анаэроб бактериялар: нейссериялар, сарциналар, лактобактериялар, стрептококклар, стафилококклар, коринебактериялар ва бошқалар аниқланади.

Оғиз бўшлиғи микрофлорасининг хилма хиллиги бола ҳаётининг 2-4 ойлигида энг юқори даражага етади. Бу вақтда оғиз бўшлиғида нейссериялар, *Str.salivarius* ва бошқа стрептококклар ҳамда *Candida* авлодига мансуб ачитқисимон замбуруғлар ҳам аниқланиши мумкин. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг бурамалари ва крипталарида қатъий анаэроблар – вейлонеллалар ва айрим фузобактериялар пайдо бўлади.Оғиз бўшлиғи микробиоценозининг шаклланиш даврида тишларнинг чиқиш вақти асосий давр ҳисобланади. Тишлар, эмалга нисбатан юқори адгезивлик хусусиятига эга бўлган, қатъий анаэроб бактерияларнинг кўпайиши учун шароит яратади. Буларга стрептококклар (*Str.mutans, Str.sanguis*) ва актиномицетлар киради. Мактабгача бўлган ёшдаги болаларда оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати ва милк микрофлораси катта ёшдагилар микрофлорасини эслатади. Бу ёшдагиларда бифидобактериялар, пептострептококклар, фузобактериялар ва спириллалар ҳам учрайди, лекин кўп болаларда бактероидлар, спирохеталар ҳамда содда жониворлар гуруҳи вакиллари бўлмайди.

Нормал микрофлора ва бола иммун тизимининг ўзаро таъсирлашуви эътиборга лойиқ ҳақиқат бўлиб, бу бола организмида турли бактерияларга қарши антителоларнинг топилиши билан тасдиқланади.Модомики бу маълумотлар асосан бир ёшдан катта бўлган ёш гуруҳларига тўғри келгани ва болалар тишларини чиқиш даврига мос келгани учун, эҳтимол бу таъсирлашув тишлар чиқиш даврида милкдаги яллиғланиш реакцияси билан боғлиқ бўлади.

Гистологик текширишларга кўра, оғиз бўшлиғи соҳалари (милк, тил, лунж, тишлар, тиш протезлари) турли хил эпителиялар билан қопланган. Бундан ташқари, оғиз бўшлиғининг турли қисмларида pH муҳити, оксидланиш-қайтарилиш потенциали, кислород,

углекислоталар ва озиқ моддалар миқдори ҳам ҳар хил бўлади. Афтидан ушбу омиллар оғиз бўшлиғининг турли қисмларида мувофиқ микробларни яшаши учун тўғри келадиган шароитлар яратади.

1-жадвалдаги маълумотлардан кўриниб турибдики, соғлом болалар ва катталардан деярли бир хилдаги микроорганизмлар ажратиб олинган, лекин болаларда катталарда учрамайдиган *St. saprophyticus*ва лактозамусбат эшерихийлар ҳам аниқланган. Миқдорий кўрсаткичлар солиштирилса, катталарда болаларга нисбатан анаэроб микроблар сонисезиларли даражада кўпроқ эканлиги кўзга ташланади. Бунда шуни таъкидлаш лозимки, факультатив микрофлорага нисбатан қарама-қарши кўриниш кузатилади. Афтидан, бу болалар организми учун мувофиқ жараён ҳисобланиб, ҳали уларнинг оғиз бўшлиғида анаэроб микрофлорани ривожланиши учун керакли шароитлар яратилмаганлиги билан боғлиқ.

28,1-жадвал

Катталар ва болалар оғиз бўшлиғи нормал микрофлорасининг тавсифи(lg (M±m) КҲҚБ/мл)

№	Микроб гуруҳлари	1 мл сўлакдаги микроблар миқдори	
		катталардаги меъёри	болалардаги меъёри
1	Анаэробларнинг умумий миқдори	7,60± 0,41	5,69±0,15
2	Лактобактериялар	5,90± 0,14	4,60± 0,14
3	Пептострептококклар	6,00±0,39	3,77±0,11
4	Аэробларнинг умумий миқдори	6,30±0,41	5,30±0,17
5	*St. aureus*	-	-
6	Сапрофит стафилококклар	-	2,15±0,51
7	*St. epidermidis*	3,15±0,30	4,15±0,14
8	А гуруҳистрептококклари	-	-
9	Энтерококклар	4,30±0,19	5,15±0,15
10	Эшерихийлар	-	2,30±0,17
11	*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	1,30±0,25	2,15±0,18

Оғиз бўшлиғи микрофлораси нормада ташқи муҳит омиллари таъсирига чидамли, бироқ унинг бу компенсатор имкониятлари чегараланган. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг юзаси катталигидан, ундаги микрофлора таркиби етарлича хилма-хилдир. Соғлом ўсмирлар лунж шиллиқ қаватида микроорганизмларнинг 14 хил авлоди, шу жумладан *Enterobacteriaceae* оиласи вакиллари ҳам

учрайди. Адабиётлардаги маълумотлар бўйича, 84-100% ҳолларда пептострептококклар, стрептококклар, стафилококклар, 50% ҳолларда пептококклар, микрококклар, вейлонеллалар, лактобациллалар, 20% ва ундан кам ҳолларда коринебактериялар, бифидобактериялар, нейссериялар, бактериоидлар, порфиромонадалар ва *Candida* уруғига мансуб замбуруғлараниқланган.

Шундай қилиб, оғиз бўшлиғи – микроблар дунёсининг турли хил вакиллари учун ноёб экологик жойдир. Унда 800 тур атрофида прокариотлар, протозоалар ва замбуруғлар учрайди(Мухамедов И.М., 2005) (2-жадвал).

28,2-жадвал

Оғиз бўшлиғи нормал микрофлораси

Микроорганизмлар	Сўлакда		Тиш-милк чўнтакларида (учраш даражаси, %)
	учраш даражаси, %	1мл даги сони	
А гуруҳи.Резидент гуруҳ. *1. Аэробларва факультатив анаэроблар*			
Str. mutans	100	10^5	100
Str. salivarius	100	10^7	100
Str. mitis	100	10^6-10^8	100
Сапрофит нейссериялар	100	10^5-10^7	++
Лактобактериялар	90	10^3-10^4	+
Стафилококклар	80	10^3-10^4	++
Дифтероидлар	80	аниқланмади	+
Гемофиллар	60	аниқланмади	0
Пневмококклар	60	аниқланмади	аниқланмади
Бошқа кокклар	30	10^2-10^4	++
Сапрофит микобактериялар	++	аниқланмади	++
Тетракокклар	++	аниқланмади	++
Ачитқисимон замбуруғлар	50	10^2-10^3	+
Микоплазмалар	50	10^2-10^3	аниқланмади
Содда ҳайвонлар:			
Entamoeba gingivalis	0	0	45
Trichomonas clongata	0	0	25
2. Қатъий анаэроблар			
Вейлонеллалар	100	10^6-10^8	100
Пептострептококклар	100	аниқланмади	100
Бактероидлар	100	аниқланмади	100
Фузобактериялар	75	10^3-10^4	100
Ипсимон бактериялар	100	10^2-10^4	100
Актиномицетларва анаэроб дифтероидлар	100	аниқланмади	++
Спирилла ва вибрионлар	++	аниқланмади	++
Спирохеталар (сапрофит	+/-	аниқланмади	100

боррелия, трепонема ва лептоспиралар)			
Б гуруҳи. Доимий бўлмаганмикрофлора			
1.Аэроб ва факультативанаэроблар Грамманфий таёқчалар			
Aerobacter	3	$10\text{-}10^2$	0
Pseudomonas	+/-	аниқланмади	0
Proteus	+/-	аниқланмади	0
Alkaligenes	+/-	аниқланмади	0
Бациллалар	+/-	аниқланмади	0
2. Қатъий анаэроблар			
Клостридиялар:	+/-	аниқланмади	0
Clostridium putrificum	+/-	аниқланмади	0
Clostridium perfingens	+/-	аниқланмади	0

Изоҳ:0 – аниқланмайди;+/- – кам аниқланади; + – кўпинча аниқланмайди; ++ – кўп аниқланади.

2-жадвалдаги кўрсаткичларнинг таҳлили, сўлакда учраш даражаси бўйича юқори ўринларни аэроб ва анаэроб шарсимон бактериялар эгаллашини кўрсатди. Таёқчасимон бактериялардан бактероидлар ва актиномицетлар кўпроқ учрайди. Қизиғи шундаки, сўлакда аниқланган ушбу нисбат тиш-милк чўнтакларида ҳам тўлиқ сақланиб қолади, бироқ айрим бактериялар (масалан, фузобактериялар ва спирохеталар) кўпроқ учрайди. Шуни таъкидлаш лозимки, сўлакда учраш даражаси юқори бўлган микроблар таркиби ва миқдори бўйича тиш-милк чўнтакларида ҳам учрайди.

Бошқа биоценозлар каби оғиз бўшлиғи микробиоценозини шаклланишида ҳам овқатланиш катта аҳамиятга эга. Маълумки, оғиз бўшлиғи бактерияларининг озиқланиши учун асосий материал - бу тишларнинг орасида сақланиб қоладиган овқат қолдиқларидир. Бу жойлардаги овқат қолдиқлари микробларнинг кўпайиши учун “ўчоқли” шароитлар яратиши шубҳа туғдирмайди. Аммо “қолдиқлардаги” яшаш тарзи оғиз бўшлиғи резидент микрофлорасининг таркибий ва миқдорий нисбатининг доимийлигини тушунтириб бера олмайди. Бундан ташқари, бактерияларнинг оғиз бўшлиғида доимий учрайдиган жойларидан бири тил орқаси ҳисобланади, у ерда эса овқат қолдиқлари бўлишини фараз қилиш қийин. Ва ниҳоят, цивилизация ривожланиши билан, оғиз бўшлиғини овқат қолдиқларидан тозалаш учун энг замонавий гигиеник воситаларни мунтазам қўлловчи инсонлар сони ортиб бормоқда. Бироқ, уларда ҳам оғиз бўшлиғи

микробларининг умумий сони ўртача кўрсаткичлардан деярли фарқ қилмайди.

Ушбу далиллар шундай хулосага олиб келадики, оғиз бўшлиғи резидентлари учун энг асосий озиқ модда манбаиоғиз суюқлиги (сўлак) ҳисобланади.

Бу тахминнингтўғрилигини қуйидагилар исботлайди:

- *биринчидан,* сўлак оғиз бўшлиғида доимо бўлади ва унинг ҳамма тузилмаларини ювиб туради;

- *иккинчидан,* маълумбирқовушқоқликкаэга (муцини бор), сўлак суюқлиги оғиз бўшлиғи тўқималарида ушланиб қолади ва уни юпқа қатлам ҳосил қилиб қоплаб туради;

- *учинчидан,* сўлак ўзининг таркибида ионлар тутади, улар ионлар мувозанати ва буферлик хоссаларини таъминлаб туради;

- *тўртинчидан,* организмда ҳосил бўладиган асосий метаболитлар (минерал моддалар, оқсиллар, аминокислоталар, углеводлар, витаминлар, пурин ва пиримидинлар, кўпгина ферментлар) сўлакда бўлади;

- *бешинчидан,* сўлак бактерияларга қарши хоссаларга эга(лизоцим, шиллиқ иммуноглобулинлари, лейкоцитлар ва б.).

Буларнинг барчаси сўлакни универсал озиқ муҳит сифатида қабул мумкинлигидан далолат беради. Озиқ муҳитнинг универсаллиги унинг таркибининг бир хиллигида эмас, балки унинг кўп турдаги микробларни озиқ моддаларга бўлган эҳтиёжларини тўлиқ қондиришидадир. Шуни таъкидлаш лозимки, сўлак таркиби ўзгарувчандир. Бу фақат одамнинг ирсий хусусиятларигагина эмас, балки овқатланиши, соғлиғи, ёши ва ҳ.к. боғлиқ бўлади.

Бактериялар оғиз бўшлиғида сўлакдан ташқари, асосан яна 3 та жойда учрайди:

1 – тиш карашида, тишнингтож қисмида, агар кариес ўчоғи бўлса кариоз бўшлиқда;

2 – гингивиал жўякларда;

3 –тилнинг орт қисмларида.

Турли муаллифларнинг маълумотларига кўра, 1 мл сўлакдаги бактериялар сони 43 млн.дан 5,5 млрд.гача ўзгариб туради, яъни ўртача 750 млн.ни ташкил қилади. Тиш караши ва милк (гингивиал) жўякларида микроблар миқдори деярли 100 баравар кўп – тахминан 1 г намунада (чамаси 80% сув) 200 млрд. ҳужайра бўлади.

Шу билан биргаликда, оғиз бўшлиғидаги микробларнинг барчаси сўлак билан тўлиқ таъминланади деб ҳисобламаслик керак. Агар сўлак

безлари йўлидан бевосита стерил сўлак олиб, уни тажрибада озиқ муҳит сифатида қўлланилса, оғиз бўшлиғининг кўплаб резидентлари бундай сўлакда кўпаймайди. Бу тажрибадан шуни хулоса қилиш мумкинки, оғиз бўшлиғида микроблар учун мақбул муҳит кўп омиллар ва механизмлар ҳисобига юзага келади. Булар биргаликда оғиз бўшлиғи ўзига хос экологик биотоп эканлигини намоён этади.

ОҒИЗ БЎШЛИҒИ НОРМАЛ МИКРОФЛОРАСИНИНГВАЗИФАЛАРИ

Охирги маълумотларга кўра, бизнинг организмимиз нормал микрофлораси, шу жумладан оғиз бўшлиғи микрофлораси жуда кўп вазифаларни бажаради. Бу вазифаларнинг умумий сони 50 дан ортиқ бўлиб, уларни шартли равишда иккигагуруҳга бўлиш мумкин: салбий ва ижобий вазифалар.

Бу вазифаларнинг ичида энг асосийси: оғиз бўшлиғини экзоген инфекциялардан ҳимоя қилиш ва шахсий микробли гомеостазни таъминлашдир.Колонизацион резистентликни таъминлаш ҳам нормал микрофлоранинг муҳим вазифаларидан бири ҳисобланади.Нормал микрофлоранинг оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватини патоген микроблардан ҳимоя қилиш хусусияти - микробларга қарши резистентликнинг кучли механизмидир.

Нормал микрофлора кучли иммуномодулятор ҳисобланади, чунки у иммунокомпетент ҳужайраларни “доимо тайёр” ҳолатда тутиб туради, натижада бу ҳужайралар томонидан инфекцияларга қарши тез ва самарали иммун жавоб ривожланиши таъминланади.

Маълумки, эндоген ва экзоген табиатли микробли трансформацияларда кўп миқдорда метаболитлар ва ферментлар ҳосил бўлиши ҳисобига нормал микрофлора турли хил метаболик жараёнларда фаол иштирок этади.Бошланғич субстрат, биокимёвий реакциялар оқими таъсирида, оғиз бўшлиғидаёқ катаболизмнинг ё оралиқ, ё охирги маҳсулотига айланади.

Бундан ташқари,нормал микрофлора – чексиз ирсий материал банки ҳисобланади.Нормофлора вакиллари ўртасида доимо ирсий материал алмашинуви бўлиб туради, бу жараёнга у ёки бу экологик биотопга тушувчи патоген микроблар ҳам жалб этилиши мумкин.

Нормофлоранинг яна бир ижобий вазифаларидан бири – бу уларнинг детоксикациялаш жараёнида иштирок этишидир, яъни улар ташқаридан тушган ёки эндоген микрофлоранинг метаболизми

жараёнларида ҳосил бўладиган заҳарли маҳсулотларни зарарсизлантиради.

Нормал микрофлора газ, сув-туз алмашинувини бошқаришда, pH муҳитни сақлаб туришда фаол қатнашиши аниқланган. Бундан ташқари, уларнинг К, Е, B_{12}, биотин, рибофлавин, пантотен кислотаси, фолий кислотаси ва бошқа витаминларни синтезида иштирок этиши исботланган.

29-БОБ. ОҒИЗ БЎШЛИҒИ АСОСИЙ БИОТОПЛАРИНИНГ ТАВСИФИ ВА УЛАРНИ ЎРГАНИШ УСУЛЛАРИ

Оғиз бўшлиғини экологик биотоп сифатида бир нечта кичик қисмларга бўлиш мумкин, улар бир-биридан шарт-шароити ва озуқа манбаи бўйича фарқ қилади:

1 – оғиз бўшлиғининг шиллиқ қавати;

2 – сўлак бези йўллари ва улардаги сўлак;

3 – милк суюқлиги ва милк эгати соҳаси;

4 – оғиз суюқлиги (сўлак);

5 – тиш караши.

Ҳар бир биотопнинг ўзига хос физик-кимёвий хусусиятлари (pHмуҳити, қовушқоқлиги, ҳарорати, органик моддалар ва овқат қолдиқларининг мавжудлиги, газларнинг парциал босими)биотоплар микробиоценоз таркибинингхилма-хиллигини таъминлайди. Одам организмининг микроблар дунёси билан ўзаро таъсирлашувида оғиз бўшлиғи, унинг шиллиқ қавати ва юз-жағ соҳасининг лимфоид аппарати муҳим аҳамиятга эга.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати – сатҳи бўйича жуда кенг ва яшаш шароити турлича бўлган биотоп. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг биоқобиғи қатъий тузилишга эга бўлганлиги сабабли шиллиқ қават микрофлораси унинг турли қисмларида сезиларли фарқланади. Шиллиқ қават юзасида грамманфий анаэроб ва факультатив-анаэроб микрофлора ҳамда микроаэрофил стрептококклар кўпроқ бўлади.

Тил ости, лунжлар ички юзаси,оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати бурмалари ва крипталаридакўпинча қатъий анаэроблар: вейлонеллалар, пептострептококклар, лактобактериялар ҳамда стрептококклардан *Str. mitis* учрайди. Бошқа микроаэрофил стрептококклар(*Str. salivarius)*кўпинчатил ортида жойлашади.

Қаттиқ ва юмшоқ танглай, танглай бандларива муртакларда кўп миқдорда турли хил стрептококклар, коринебактериялар,

нейссериялар, гемофиллар ва псевдомонадалар ҳамда ачитқисимон замбуруғлар ва нокардиялар учрайди.

Сўлак бези йўллари ва сўлак – оғиз бўшлиғининг энг кам ўрганилган биотопларидан бири ҳисобланади. Кўпчилик тадқиқотчиларнинг маълумотларига кўра, ферментлар, лизоцим, шиллиқ иммуноглобулинларининг юқори бактерицид фаоллиги, номахсус ва махсус ҳимоя омилларининг таъсири натижасида соғлом одам сўлак бези йўлларидаги сўлак стерил бўлиши лозим. Бошқа тадқиқотчилар эса кам миқдорда бўлса ҳам асосан қатъий анаэроб бактериялар (вейлонеллалар, пептострептококклар) бўлиши мумкинлигини таъкидлашади.

Бу саволга аниқ бир жавобни олиш қийин, чунки стерил ҳолатда материал олиш мушкул бўлиб, намуна олинаётганда унга шиллиқ қават ёки оғиз суюқлиги микрофлораси тушиб қолиши мумкин. Ҳозирги вақтда сўлакни стерил олиш учун сўлак бези чиқиш йўлига махсус канюла бириктирилади, лекин бу усулнинг ишончлилиги ҳам чегараланган.

Милк суюқлиги милк эгатчасида секрецияланадиган транссудат бўлиб, у бир зумда милк шиллиқ қавати ва сўлак микрофлораси билан контаминацияланади. Бу биотопда ипсимон ва спиралсимон қатъий-анаэроб бактериялар (фузобактериялар, лептотрихлар, актиномицетлар, спириллалар, анаэроб вибрионлар, кампилобактериялар и спирохеталар) кўпроқучрайди. У асосан *Bacteroides, Porphyromonas* ва *Prevotella* авлодлари вакиллари колонизация қиладиган жой. Бу биотопда яна протозоалар, ачитқисимон замбуруғлар ва микоплазмалар ҳам учраши мумкин.

Милк суюқлигида, санаб ўтилган микроорганизмларнингмиқдори пародонтитда патологик милк чўнтаклари (пародонтал чўнтак) шаклланганида бирданига ортади. Милк чўнтакларида детрит ва овқатларнинг ушланиб қолиниши, суюқлик айланишини бузилиши натижасида редокс-потенциал кескин пасаяди ва турли хил қатъий-анаэроб флоранинг,жумладан,*Porphyromonas gingivalis, Prevotella melaninogenica,* бактероид гуруҳининг бошқа вакилларини кўпайиши учун қулай шароит яратилади. Бу бактерияларнинг заҳарли омилларипародонтдаги яллиғланиш жараёнини зўрайишида асосий аҳамиятга эга ҳисобланади.

Пародонтал чўнтак ва милк суюқликларини текшириш учун одатда микропипетка, канюла, капиллярлар ёрдамида намуна олинади ва бактериологик усул билан текширилади. Соғлом одамнинг 1 мл милк

суюқлигидаги бактериялар сони 100 000 ҳужайрадан ортмайди, гингивит ёки пародонтит ривожланганида – 10 млнва 100 млнгача ошади.

Оғиз бўшлиғи микроэкологик тизимининг ажралмас қисми бўлган нормал микрофлора резистентликни таъминловчи асосий омил ҳисобланади (Бухарин О.В. ҳаммуал. б.б., 1996).

Шу туфайли, охирги йилларда стоматологлар соғлом одамлар ва стоматологик беморлар оғиз бўшлиғи турли қисмларининг (милк, тил, лунж ва танглай) колонизацион резистентлигини ўрганишга катта аҳамият беришмоқда (Мухамедов И.М. ва б., 2005; Алимова Р.Г., 2007).Соғлом одамларда олинган натижалар 3-жадвалда келтирилган.

Ушбу тадқиқотларнингнатижаларига кўра, оғиз бўшлиғидаги микроб популяциясининг зичлиги кўп ҳолларда биотопнинг тузилишига боғлиқ бўлади. Энг юқори кўрсаткич милкда, энг паст кўрсаткич танглай шиллиқ қаватларида аниқланди. 100% текширилган инсонларда миқдор ва тур таркиби жиҳатидан граммусбат микрофлора устунлик қилди.

29,1-жадвал

Соғлом одам оғиз бўшлиғининг турли қисмларидаги колонизацион резистентликнинг ўзига хослиги (M±m) КҲҚБ/см²)

№	Микроблар гуруҳи	Оғиз бўшлиғи қисмлари			
		милк	тил	лунж	танглай
1	Лактобактериялар	1,90 ±0,1	1,70 ±0,1	1,15±0,1	1,0±0,1
2	*Str. salivarius*	4,30±0,2	2,90±0,2	1,60 ±0,2	1,30±0,1
3	*Str. mutans*	2,11±0,1	2,30±0,4	1,15±0,1	1,0±0,1
4	*Str. mitis*	3,30±0,2	2,15±0,2	1,30±0,1	1,47±0,1
5	Стафилокклар	4,90±0,3	3,60 ±0,5	4,0±0,2	1,30 ±0,1
6	Эшерихийлар	0	1,30±0,1	0	0
7	Клебсиеллалар	0	0	0	0
8	*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	2,15±0,2	3,15±0,1	0	0

Шуни таъкидлаш жоизки, соғлом одамлар оғиз бўшлиғи микрофлорасининг асосий қисмини *Streptococcus* авлоди вакиллари, айниқса *Str. salivarius* ташкил қилди. Граммусбат кокклар ичида асосий ўринни стафилококклар эгаллади, уларнинг миқдори тил юзаси ва милкда кўпроқ бўлиб, уларни ичида *St. epidermidis*кўпчиликни ташкил этди.

Оғиз бўшлиғида ўрганилган микроорганизмлар ичида энг суст колонизацион резистентликка грамманфий таёқчалар (эшерихийлар, клебсиеллалар) эга бўлди, *Candida*уруғига мансуб замбуруғлар эса фақатгина тил ва милкнинг шиллиқ қаватларидагина колонизация қила олиши аниқланди.Оғиз суюқлиги оғиз бўшлиғининг энг муҳим биотопидир, чунки уни ёрдамида оғиз бўшлиғинингҳар хилқисмлари микробиоценоз аъзолари ўзаро таъсирлашади ва макроорганизм у орқали уларга турли хил таъсирларни амалга оширади. Оғиз суюқлигининг асосий қисмини, сўлак безлари ажратадиган сўлак ташкил этади ва унингтаркибида турли хил бактериялар бўлади. Оғиз бўшлиғининг шиллиқ қавати, милк эгати, чўнтаклари, бурмалари ва тиш карашида кўпаядиган микроблар доимий равишда оғиз суюқлигига тушиб туради. Улар оғиз суюқлигида узоқ вақт яшаш қобилиятларини сақлаб қолади, кўп турлари эса (хусусан, шиллиқ қават ёки тиш эмалига адгезия қила олиш омилларига эга бўлмаганлари) фаол кўпаяди. Чамаси, бу ҳаракатчан микроорганизмларга - вибрионлар, селеномонадалар, спирохеталар ва спириллалар ҳам таалуқли. Бундан ташқари,оғиз суюқлигида кўп миқдорда вейлонеллалар, микроаэрофил стрептококклардан *Str.salivarius*, факультатив анаэроб стрептококклар, аэрококклар ва микоплазмалар учрайди.

Баъзи тадқиқотчилар,*Str.mutans* ва *Veilonella alcalescens* каби кариесоген бактерияларнингсимбиози кузатилишини тажрибада кўрсатдилар. Бактерияларнинг *Veilonella*турлари*Str.mutans* ишлаб чиқарган сут кислотасини парчалаб, тиш эмалининг деминерализациясига қаршилик қилади. Бу тиш юзасида юзага келадиган мураккаб экологик тизимдаги микроорганизмларнингўзаро таъсирлашувига биттагина мисолдир. 4-жадвалда,алоҳидаёки биргаликдатиш кариесиниюзага келтирадиганбактериялар кўрсатилган.

29,2-жадвал

Тиш кариесини келтириб чиқарувчи микроорганизмлар

Streptococcus	*Actinomyces*	*Lactobacillus*
Str.mutans	*A.naeslundii*	*L.acidophilus*
Str.cricetus	*A.vicosus*	*L.casei*
Str.rattus	*A.israelli*	*L.salivarius*
Str.sobrinus		*L.fermentum*
Str.ferus		

Str.faecalis		
Str.milleri		
Str.sanguis		
Str.salivarius		

Тиш караши таркибида оғиз бўшлиғи микрофлорасининг деярли барча вакиллари аниқланади. Аммо уларнинг миқдори турли одамларда ва улар ҳаётининг ҳар хил даврларида ўзгариб туради. Унинг шаклланишида, шубҳасиз, макроорганизм ва бутун ҳаёт давомида унга таъсир этувчи ижтимоий-экологик омилларнинг (парҳез, турмуш тарзи, иш шароитининг зарарли омиллари) муҳим ўрни бор. Тиш караши таркибидаги микрофлорани ўрганиш учун материал зонд ёки металл шпатель ёрдамида олиниб, аналитик тарозда тортилади. Ундан сўнг материал механик майдаланади ёки ультратовуш билан дезинтеграцияланади ва озиқ муҳитларга экиб анаэроб шароитда инкубация қилинади ва миқдорий аниқлаш усулида ўрганилади. 1 г материалдаги бактериялар миқдори колонияҳосил қилувчи бирликда (КҲҚБ) аниқланади.

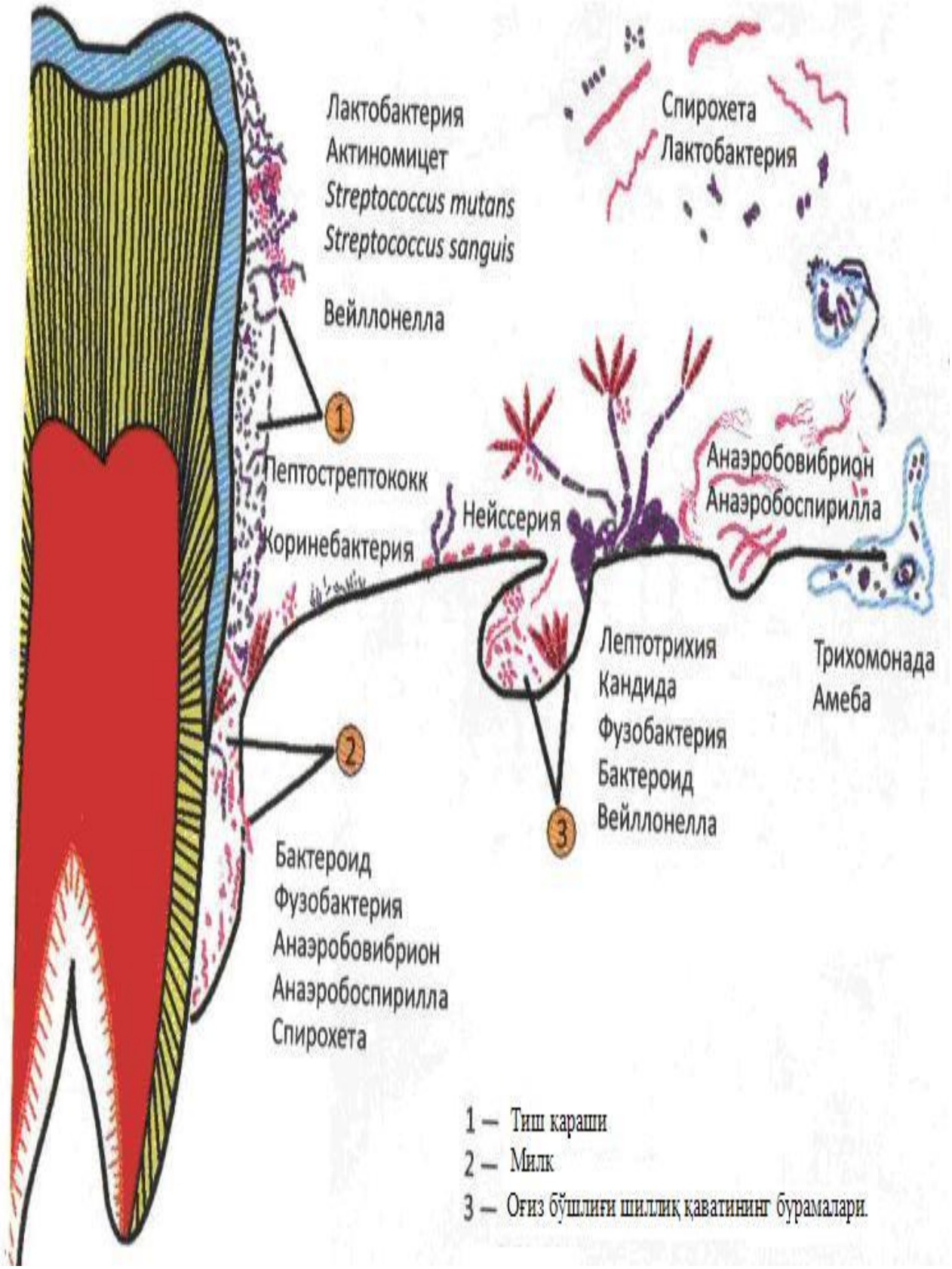
3-расмда, соғлом одам оғиз бўшлиғининг шиллиқ қавати ва тишларида жойлашадиган асосий микроорганизмлар кўрсатилган.

Замонавий тасаввурларга кўра, тиш эмалининг юзасида қуйидагилар жойлашади:

1. Кутикула– эмалнинг редукциялашган эпителийси.
2. Пелликула – эмалнинг сўлак таъсирида ҳосил бўлувчи органик полимер қобиғи.
3. Тиш караши ёки тиш биоқобиғи. Электрон ва иммунлюминесцент микроскопялар ёрдамида тиш караши асосан микроблар ва органик табиатли моддалардан иборат эканлиги аниқланган.

Тиш караши шаклланишининг бир нечта асосий механизмлари мавжуд:

- тиш эмали эпителиал ҳужайраларига бактерияларнинг адгезияси ва инвазияси, кейин уларнинг микроколонияларини ҳосил бўлиши;
- *Str.mutans* ва *Str.sanguis* ишлаб чиқарган гликанларнинг преципитацияси;



29.1-расм.Тиш схемаси ва унда микроорганизмларнинг жойлашиши

- пелликулани ҳосил қилувчи сўлак гликопротеинларининг тиш эмалига бирикиши ва уларга бактерияларнинг адгезияси;

- бактерияларни антителолар билан бирикиши, сўнгра уларни тиш эмали юзасига фиксацияси.Иммунлюминесцент микроскопия ёрдамида тиш карашидаги бактерияларнингустки қисми А ва G синфига мансуб иммуноглобулинлар билан қопланганлиги аниқланган.

Микроблар овқат ҳазм қилиш ва витаминлар синтезида қатнашади ҳамда органик кислоталар ишлаб чиқаради. Кариес юзага келишига сабабчи бўлган ҳолда улар организм иммун тизимини кучайтирувчи ижобий таъсир кўрсатади ва шу билан бир вақтда, тиш карашида, милк тўқимаси ва периодонтга салбий таъсир этувчи адъювантлар ва иммунсупрессив омилларнинг тўпланишини таъминлайди. Ва ниҳоят, улар патоген микрофлоранинг кучли антагонисти ҳисобланадива шу билан бир вақтда, ўзлари ҳам инвазия қилишга қодир бўлиб, жиддий касалликларнинг ривожланишига сабабчи бўлишлари мумкин.

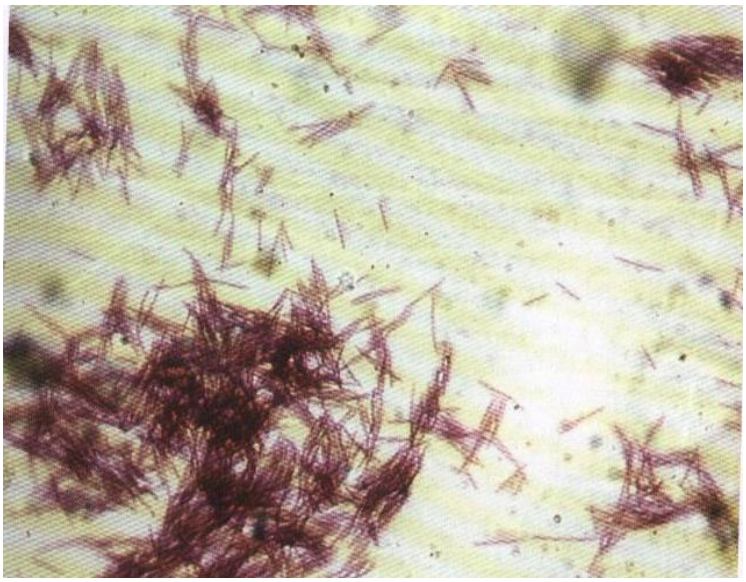
Тиш карашини ҳосил бўлиши,тиш тозаланиб бўлинганидан кейинги илк дақиқалариданоқ бошланади ва уни вужудга келиш жараёнида микробиоценоз тавсифида сезиларли ўзгаришлар содир бўлади. Бунда, микрофлора таркибида аэроб ва факультатив анаэроблар, асосан граммусбат кокклардан, қатъий анаэроб грамманфий таёқчалар ва эгилган шакллиларгача устунлик қилади.

1-босқич - тиш карашининг шаклланиши - тиш яхшилаб тозалаганидан сўнг (ёки ультратовуш аппаратида ишлов берилганидан сўнг) биринчи 1-4 соат давомида. У асосан кокклар (стрептококлар, нейссериялар, вейлонеллалар) ва калта таёқчалардан (дифтероидлар) иборат бўлади. Уни “бошланғич” тиш караши деб аталади.

2-босқич – динамик караш – 4-5 кун ичида вужудга келади. У граммусбат кокклар миқдорини камайиши ва грамўзгарувчан ипсимон шакллилар – лептотрихийлар ҳамда грамманфий вейлонелла ва фузобактериялар микдорининг ошиб бориши билан тавсифланади. “Юқори табиий санацияли” деб номланган ҳолат мослашиш қобилияти яхши ривожланган одамларда кузатилиб, уларнинг тиш карашин микробиоценози шундай таркибда,ҳаётларининг узоқ вақт даври давомида сақланиб қолиши мумкин.Бундай тиш караши “мувозанатли” деб аталади, чунки бунда тишлар мунтазам равишда тозаланмаса ҳам микробларнинг ўзаро нисбати сақланиб туради.

3-босқич – етилган тиш караши – 6-7 кун ва ундан кўпроқ вақт давомида вужудга келади. Бундай тиш карашида микробларнинг доимий миқдорий ўзгаришлари кузатилса-да, таркиби жиҳатидан деярли ўзгаришлар бўлмайди. Унда аэроб микроб турлари (нейссериялар, ротиялар) ва факультатив-анаэроб стрептококкларнинг миқдори кескин камаяди, ипсимон бактериялар ва занжир ҳосил қилувчи таёқчалар сони эса кўпаяди. Бундай тиш караши узоқ вақтгача мувозанатда бўлади ва уни етилган барқарор тиш караши деб аташ мумкин.

Бироқ айрим ҳолларда, яъни, тишлар нотўғри ёки номунтазам равишда тозаланганида, тиш караш таркибидаги микробларнинг оғиз бўшлиғини гигиеник ҳолатига таъсир этувчи салбий ҳолатлари ортади. Масалан, грамманфий қатъийанаэроб бактериялардан бактероидлар, фузобактериялар, граммусбатлардан эса актиномицетлар, микроаэрофил стрептококклар, пептострептоккоклар ва энтероккоклар миқдори кескин ошади (4-расм). Бу ерда яна клостридийлар, бактероидларнинг вирулент вакиллари, превотеллалар, порфиромонадлар ва актинобациллалар кўп миқдорда пайдо бўлиши мумкин. Бундай тиш карашиетилган барқарор бўлмаган ёки ривожланувчи тиш караши деб номланади. У оғиз бўшлиғининг салбий гигиеник ҳолатини тавсифлайди ва бундай инсонларда гингивит ва пародонтит ривожланишига олиб келади.



29.2-расм. Фузобактериялар

Тишни тозалаш ва оғиз бўшлиғини чайиш, тиш чўткаси, тиш тозалагич, тиш иплари ва бошқалардан фойдаланишни ўз ичига олган

профилактик чора-тадбирлар етилган тиш карашини ортиқчасини йўқотишга ва 3-босқичдаги тиш карашини мувозанатда сақлашга қаратилган. Биринчи дақиқа ва соатлардан энг юқори даражада колонизация қила олиш стрептококк, вейлонелла ва нейсеррияларга хос. Бунда стрептококклар миқдори юқори даражада барқарор сақланади. Стрептококклар метаболизми маҳсулотлари ҳисобланган кислоталарни истеъмол қилувчи вейлонеллалар миқдори тезликда кўпайиб боради, дифтероидлар сони секинроқ ошади, сўнгра бактероидлар, фузобактериялар, шу жумладан, ўсиш омилларини синтез қиладиган анаэроб микроблар сони ортади. Тиш карашининг етилиши ва анаэроб бактерияларнинг ошиб бориши билан аэроблар (нейссериялар) сони секин-аста камаяди.

Тиш карашининг шаклланиш жараёнидабактерияларнинг умумий сони 1-босқичда 100 дан 5000 гача, 2-босқичда 1-10 млнгача кўпаяди.3- босқичда,кўп омилларга боғлиқ ҳолда 1 г карашда ўнлаб ва юзлаб млрдбактериялар учрайди.

Маълумки, суяк тўқимасига ўхшаб, тиш асосини ҳам кальцийдан иборат бўлган гидроксиапатит ташкил қилади. Эволюция жараёнида умуртқали ҳайвонлар зардобидаги Ca^{2+}нинг миқдорини бир меъёрда сақловчи тизимвужудга келган. Зардобда Ca^{2+}миқдорини бироз пасайиши ҳам паратиреоид гормоннинг(ПТГ) ишлаб чиқарилишини кучайтиради. ПТГ таъсирида остеокласт ҳужайралар фаоллашади ва суяк тўқимасининг резорбцияси кучаяди. ПТГ буйракнинг дистал эгилган найчаларида Ca^{2+}нинг реабсорбцияни тезлаштиради. Натижада, Ca^{2+}нингпешоб билан чиқиб кетиши камаяди. ПТГнинг бошқа муҳим таъсири – буйракнинг проксимал эгилган найчаларидаD_3витамин комплекси синтезини фоаллаштиришидир, бу ўз навбатида ичакдаCa^{2+} нинг сўрилишини кучайтиради ва суяк тўқимаси резорбциясини ошириб,ПТГишлаб чиқарилишини камайтиради. Бу тизимнинг бир ёки бир нечабўғимларинизарарланиши ёхуд ташқи таъсирлар (овқатда кальций моддасини камлиги ёки кўплиги, D витаминини етишмаслиги) натижасида кальций моддасининг алмашинуви бузилади – гипо- ёки гиперкальциемия келиб чиқади.

Асосан углеводга бой овқатлар истеъмол қилинганидан сўнг, сўлакда бактерияларнинг ферментатив фаоллигиникескин кучайиши, яъни “метаболик портлаш“ юз бериши аниқланган.“Метаболик портлаш“нинг асосида гликолизни фаоллашуви ётади, бунинг натижасида нордон катаболитлар – сирка, сут, чумоли ва бошқа

кислоталар ажралади варН муҳит кислотали тарафга кескин силжийди.

Ўз навбатида бу кальций ионларини тишнингқаттиқ тўқимасидан чиқишига (деминерализациясига) ҳамда бактерияларда фосфорилланиш жараёнида фосфатлар миқдорини камайишига олиб келади. Бундан ташқари, тиш караши бактериялари ортиқча углеводларни полисахаридларзаҳираси- декстран ва леванларкўринишида тўплайди.Кариес билан касалланган беморларда,*Str.mutans,Str.sanguis,A.odontolyticus* каби кариесоген микроб турлари ва анаэроб актиномицетларнинг кўплиги натижасида органик кислоталарни ишлаб чиқарилиш миқдори ишончли юқори бўлиши ҳисобига метаболик фаоллашувнинг меъёрлашиши секинроқ кечади.

Сўнгги йилларда, тиш караши микробиоценози таркибидаги айрим резидент-қатнашувчи бактерияларни кариесоген стрептококкларга антагонист сифатидагиаҳамияти аниқланди. Биринчи навбатда бундай микробларга, кислоталарни фаол равишда парчалайдиган грамманфий анаэроб кокклар - вейлонеллалар киради.Бу уларга кариесрезистентликнинг ўта муҳим микроэкологик омили сифатида қарашга имкон беради.

Тиш караши пломбалар юзасида ҳам ҳосил бўлади, лекин унинг таркиби пломбанинг тури ва сифатига қараб турлича бўлиши мумкин. Фосфат-цементли пломбалар юзасида микрофлора кўп бўлади.Колонизациянинг ўртача даражасиамальгамлар ва макрофил композитли пломбалаш материаллари учун хос. Ва ниҳоят, микрофил композитли ва баъзи гибридли пломбаларда бактерияларнинг суст аффинитети туфайли тиш караши кам ва ёмон шаклланади. Одатда, микрофил композитли пломбалардаги караш таркибида фақатгина микроаэрофил стрептококклар ва актиномицетлар унча кўп бўлмаган миқдорда аниқланади. Шу билан бирга, бир синфга мансуб пломбалар орасида, барқарорлаштирувчи, кариесоген, пародонтопатоген бактерия ва замбуруғларнинг уларга адгезияси бўйича сезиларли фарқлар бўлиши мумкин. Пломба ашёларининг юзасида бактерия ва замбуруғларни колонизацияси, уларнинг юзасига қандай турдаги ишлов берилганига ҳам (силлиқлаш, пардозлаш) бевосита боғлиқдир.

Буларнинг барчасини янги пломба ашёларини ишлаб чиқаришда ҳамда уларни кариесни даволаш учун қўлланилаётганда

ёки беморда сурункали пародонтит мавжуд бўлганда (бу ҳолда, агар тишнинг бўйинчасига пародонтопатоген бактериялар юқори адгезияланадиган пломба материаллари қўлланилса, бу пародонтитнинг зўрайишига туртки бўлиши мумкин) ҳисобга олиниши лозим. Бундай бактерияларга дифтероид ва бактероидлар киради. Азалдан маълумки, морфологик жиҳатдан бўғма таёқчаларига ўхшаш граммусбат таёқчасимон бактерияларни дифтероидлар деб, ичак бактерияларига ўхшаш грамманфий таёқчаларни эса бактероидлар (грекчадан *oides* - ўхшаш) деб аташган.Дифтероидларга коринебактериялар, пропионбактериялар, эубактериялар, актиномицетлар мансуб бўлса, бактероидларга эса превотеллалар, порфирмонадалар ва асл бактероидлар киради.

Пародонтит, стоматитлар, одонтоген инфекция қўзғатувчиларининг турли-туманлигини, уларнинг антибиотикларга сезувчанлигини ўзгариб туришини ҳисобга олган ҳолда, қўзғатувчини ўз вақтида аниқлаб, унинг антибиотикларга сезувчанлигини текшириб даволаш касалликнинг зўрайишини олдини олишда катта аҳамиятга эга. Бу айниқса, касалликнинг тажовузкор тез ривожланувчи шаклларида ўта муҳим ҳисобланади.

Шиллиқ қават микрофлорасининг миқдори 2 хил усул билан аниқланади:

1. Микроскопик – ойначада босма-суртма тайёрлаб;
2. Бактериологик – намуна агарли озиқ муҳитларга экилади ваинкубациядан сўнг пластинанинг 1 см^2 ўсган колониялар сони саналади (меъёрда бу кўрсаткич 200 дан 20 000 гача бўлади).

Умуман олганда, **микроскопик текширув усули** кам маълумот беради, аммо, бу усул икки нарсани тасдиқлайди:

биринчидан, тиш караши (биоқобиғи) суртмасини микроскопда (қоронғилатилган майдонда) бўялмаган ҳолда кўрилганда бактерияларнинг майда кокксимонларига нисбатан ипсимон ва ҳаракатчан спиралсимон шаклларини кўплигини;

иккинчидан, фиксация қилиб Грам усулида бўялган суртмада грамманфий микрофлоранинг, айниқса, ипсимон, мицеллиали ва спиралсимон шаклларининг граммусбат коккларга нисбатан кўплигини аниқлаш мумкин.

Ҳар иккала микроскопик белги пациент пародонт тўқимаси ва тиш қатори гигиеник ҳолатини сезиларли ёмонлашиши

мумкинлигини билдиради.Бу пародонт яллиғланишининг (пародонтит) белгисидир.

Қўзғатувчининг идентификацияси ва уни антибиотикларга нисбатан сезувчанлигини аниқлаши мумкин бўлган **бактериологик текширув усули** пародонтит ташҳисоти ва унинг этиологиясини аниқлашда “олтин стандарт” ҳисобланади. Бактериологик текшириш усули бактериялар сонини аниқлаш (миқдорий бактериологик усул) ва анаэроб ташиш муҳитларини(тиогликол муҳити, Стюарт ва Амиеснинг ташиш муҳитлари) қўллаш ҳамда анаэроб шароитларда ўстириш (менадионли ва геминли 5% ли қонли агар) талабларига жавоб бериши лозим. Анаэроб бактерияларни анаэроб шароитларда антибиотикларганисбатан сезувчанлигини аниқлашни енгиллаштириш учун 1991 йилда диффуз усулнинг модификацияси (кассетали усул)таклиф этилди.

1. Суюқ озиқ муҳитда миқдорий суюлтириш.

Тиогликол муҳити, глюкоза қўшилган юрак-мияли бульон ёки АС муҳити қўлланилади. Материални 10, 100, 1000 (ва ҳ.к.) марта суюлтирилмаларини тайёрлаб, ҳар бир суюлтирмадан алоҳида Петри косачасидаги агар юзасига 0,1 мл томизиладива шишали шпатель ёки тампон ёрдамида озиқ муҳитнинг бутун юзасига бир текисда суртилади (“газон” усулида экиш).

2. Қаттиқ озиқ муҳитда миқдорий тақсимлаш.

Петри косачасидаги қаттиқ озиқ муҳитда миқдорий тақсимлашни J. Gold (1965) бўйича, ВТ. Мельников ва В.Н. Царев (1992) модификацияси усулида ўтказилади. Ушбу мақсадга эришиш учун Петри косачасидаги 5% қонли-геминли агар шартли учта секторга бўлинади. 1-секторга экишда, тампоннинг бир юзаси билан материални агарли муҳит устига Петри косачасининг юқори қисмидан ярмигача синчиковлик билан суртиб чиқилади ва яна орқага қайтилади. Сўнгра стерил стандарт бактериологик қовузлоқ билан учта штрих қилинади, унинг асосида сектор шакллантирилади. Кейин ўша қовузлоқ билан аввалги экишга перпендикуляр равишда, Петри косачасининг чеккасига қараб ва орқага қайтиб материал суртилади, натижада 2-сектор шаклланади. Сўнгра қовузлоқ қиздирилади ва 2-сектордан юқоридагига ўхшатиб яна учта штрих қилинади, натижада 3-сектор шаклланади.

Миқдорий текшириш натижаларини баҳолашда қуйидаги формуладан фойдаланилади:

$$N = 2 \times n \times k,$$

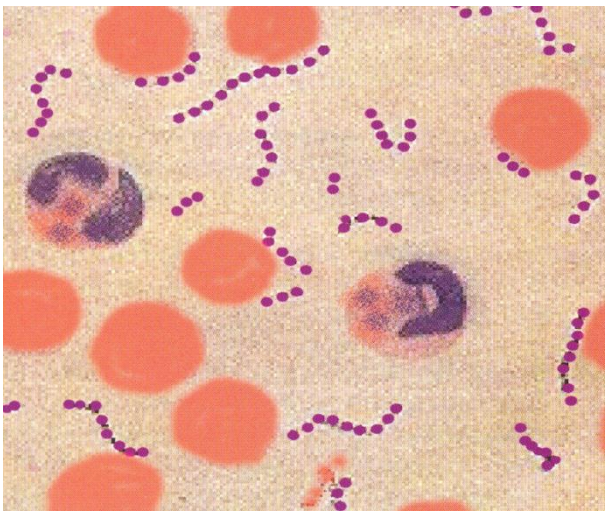
бу ердаn — ўсиш аниқланган охирги сектордаги микроб колониялари сони;

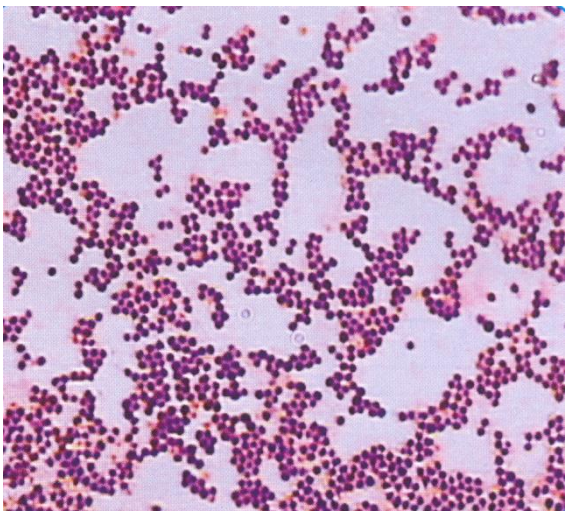
к— 1, 2 ва 3-секторларга мос келувчи 10^2, 10^4, 10^6КҲҚБ га тенг кўпайтирувчи.

Оғиз бўшлиғи микрофлорасининг кариесоген фаоллигини баҳолаш, стрептококклар ва лактобактериялар сонини аниқлаш ва уларни тез ажратиб олиш учун (3-5 кунда) озиқ муҳитли махсус пластиналаришлатилади. Кейин микроорганизмларни анаэроб шароитларда ўстириш 37^0С да 7 кунгача давом этади. Анаэробиозни яратиш учун микроанаэростатлар ёки анаэроб камералардан фойдаланилади. Улардаги атмосфера ҳавоси вакуум-насос ёрдамида тортиб олиниб, таркибида 80% азот, 10% карбонат ангидрид ва 10% водород бўлган газли аралашмага алмаштирилади. Кичик лабораториялар шароитида бир таркибли, масалан, карбонат ангидридли ёки инерт газлардан (аргон, неон ва ҳ.к.) фойдаланишга рухсат этилади.

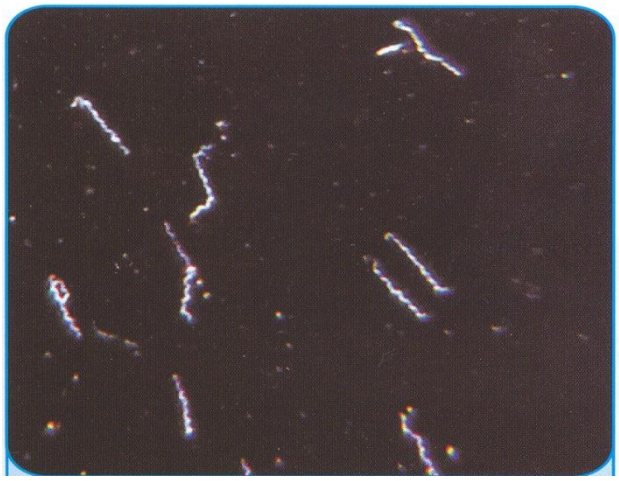
Қўзғатувчиларнинг идентификацияси қуйидаги идентификациялашкўрсаткичлари асосида ўтказилади:

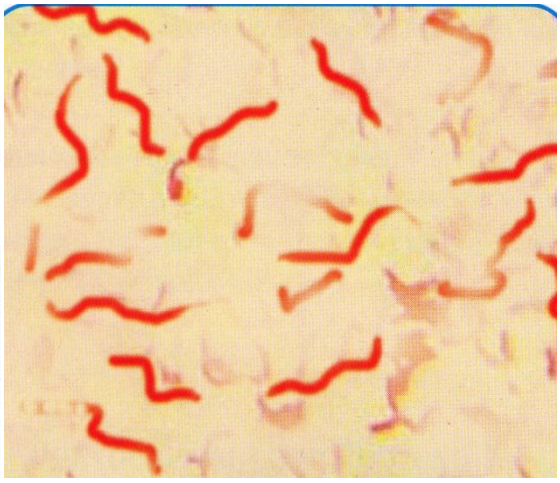
- микробларнинг морфологик ва тинкториал белгилари (5,6,7,8-расмлар);
- культурал хоссалари (колониясининггавсифи, пигмент ҳосил қилиши, ўзига хосҳиди, селектив озиқ муҳитларда ўсиши);
- биокимёвий хусусиятлари;
- таксономик муҳим антибиотикларга сезувчанлиги (амикацин, амосиклав, азитромицин, левофлоксацин, офлодекс, цефтриаксон ва б.);
- хемотаксономиккўрсаткичлари (хромотографик таҳлил усули);
- антигенлари(ИФА ва серологик усуллар);
- генодиагностикаси (ПЗР);



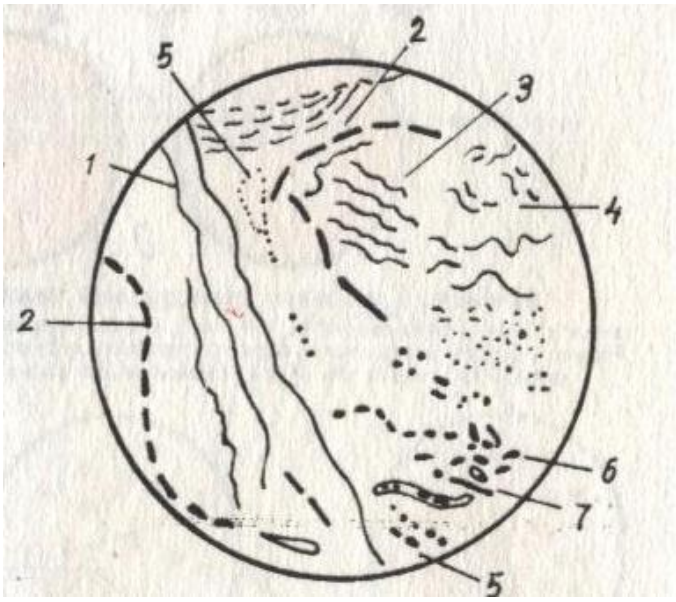


29.3-расм. Стрептококклар**6-расм.** Стафилококклар





29.3-расм. Тиш карашидаги спирохеталар
(Бурри ва Романовский-Гимза усулларида бўялган)



1-лептотрихиялар (*Leptotrichia buccalis*);
2-лактобактериялар (*L. salivarius, L. ascidophilus*);
3, 4-трепонемалар (*T. macrodentum, T. denticola, T. orale*);
5 ,6 – диплококклар ва стрептококклар (*Str. salivarius, Str. mitis, Str. sanguis, Veillonella sp.*);
7 –фузобактериялар (*F. nusleatum, F. planti*)

29.4-расм. Тиш караши

I-босқич:алоҳида колонияларни олиш.

Текширувнинг биринчи кунида материал озиқ муҳитларга экилади (миқдорий бактериологик усул афзалроқ). Ташувчи муҳитлардан

фойдаланилганда ҳар хил микроб турларининг миқдорий нисбатини аниқлаш ва гипердиагностикани истисно қилиш мумкин (масалан, стафилококкли инфекцияда). Экилган озиқ муҳитлар анаэростатда 37°С да 2 кундан (тез ўсувчи кокклар, фузобактериялар, клостридийлар) 7 кунгача (секин ўсувчи актиномицетлар ва порфиромонадлар) инкубация қилинади.

Текширувнинг иккинчи кунида колониялар хусусиятларини макроскопик усулда текширилади. Анаэроб инфекция қўзгатувчиларини аниқлашда қуйидаги ҳолатларга аҳамият бериш жуда муҳим:

- колонияларнинг морфологик типини аниқлаш («қовурилган тухум”,“кул ранг доғ”, “камалак ёйлари”га ўхшаш ва ҳ.к.)
- қора пигментнинг мавжудлиги;
- бета- ёки альфа- гемолизнинг борлиги;
- ўзига хосҳиднинг борлиги.

Инфекцияга шубҳа қилинган колониялардан фиксация қилинган ва натив суртмалар тайёрланиб, Грам усулида бўялади ва микроскопда қоронғилатилган майдонда ҳаракатчанлиги аниқланади.

II-босқич:анаэроб бактерияларнинг соф культурасини олиш.

Текширувнинг иккинчи кунида, колониялар тавсифи ўрганилгандан сўнг,улардан намуна олиб юрак-мия қўшилган қиялатилган агарга ёки бульонга, ярим суюқ АС муҳитига экилади.

Учинчи куни ўсиш натижалари ўрганилади.

III-босқич:ажратилиб олинган культураларни идентификация қилиш.

Анъанавий анаэроб текширувда, бактериялар биокимёвий хусусиятлари бўйича идентификация қилинади. Охирги йилларда анаэроб бактерияларни аниқ идентификация қилишнинг янги усуллари ишлаб чиқилди:

1.Газли-хроматографик усул.

2.ПЗР.

3.Лазерли-флюоресцент спектроскопия.

4.Антибиотикларга сезгирлигини баҳолаш.

Актиномицетлар диагностикасида текшириш учун материал сифатида оғиз бўшлиғи, тишнинг пародонтал чўнтаги ва гингивиал ковакдан суртма олинади. Суртма тайёрлаш билан бир қаторда,

намунани 5 мл ташувчи муҳитга (0,06 % тиогликол муҳити) солинади, микробнинг морфологик ва тинкториал хусусиятларини суртмани Грам, Циль-Нильсен ва Романовский-Гимза усулларида бўяб текширилади.

*Actinomyces*культурасини ажратиб олиш учун қаттиқ озиқ муҳит сифатида тиогликолли, крахмал-аммиакли ва қонли агар ҳамда Сабуро муҳитларидан фойдаланилади. Экилган озиқ муҳитларни аэроб ва анаэроб шароитларда, 35-37°С да 15 кун давомида инкубацияқилинади. Ажратиб олинган культураларнинг морфологик, культурал, физиологик ва биокимёвий хоссаларини умумқабул қилинган усуллар ёрдамида аниқланади.

Юз-жағ соҳасидаги касалликларга якуний ташҳис қўйишда, стоматологик статусни баҳолаш кўрсаткичларига асосланилади, аммо даволашда касалликни этиологияси муҳим аҳамиятга эга бўлади.

Масалан,пародонтитлар қуйидагича ажратилади:

- ювенил пародонтит(*Actinobacillusactinomycetemcomitans*келтириб чиқарган); бу микроб имидазол ҳосилаларига нисбатан табиий чидамлиликка эга;
- сурункали тарқалган пародонтит ва ярали-некротик пародонтит(фузоспирохеталартўплами келтириб чиқарган); одатда фузобактериялар биринчи авлод макролидларга чидамли;
- қандли диабет,гематологик касалликларива ОИВ бор беморларда ривожландиган сурункали тарқалган пародонтит; бу ҳолларда яллиғланишни, фторхинолон гуруҳи препаратларини қўллашни талаб қилувчибактерияларнинг трансбионт турлари (энтеробактериялар ва кўк йиринг таёқча)келтириб чиқаради;
- кандидали пародонтит; бунда замбуруғларнинг кўпайиши кетоконазол ҳосилаларини (итраконазол,флуконазол) қўллашни талаб қилади; ҳозирги вақтда нистатин кам самара бермоқда.

30.БОБМЕЪЁРДА ВА ПАТОЛОГИК ҲОЛАТЛАРДА ОҒИЗ БЎШЛИҒИ ИММУН ТИЗИМИНИНГ АҲАМИЯТИ

Охирги ўн йилликда клиник амалиётга иммунологик таҳлилларнинг кенг тадбиқ этилиши шуни кўрсатдики, оғиз бўшлиғининг кўп касалликлари, асосан турли яллиғланишли жараёнлар

организмнингумумий иммун ҳолатига ва оғиз бўшлиғининг маҳаллий ҳимоя омилларига бевосита ёки билвосита боғлиқ.

Адабиётларда, оғиз бўшлиғининг касалликларипатогенезида иммунитетнинг ўрни шубҳасизлиги исботланган жуда кўп илмий ишларнинг натижалари ёритилган (Олейник И.И. вабошқ., 1983, 1987; Царев В.Н., 2010).

Шиллиқ қаватлар билан қопланган аъзо ва тўқималарнинг яллиғланишибилан кечадиган касалликларда, нафақат умумий, балки турли хил маҳаллий махсус ва номахсус ҳимоя омиллари ҳам муҳим аҳамиятга эга эканлиги аниқланди. Бундан ташқари, шиллиқ қаватлар иммунитети умумий иммунитетнинг бир кўриниши ҳисобланмай, балки ўзи мустақил тизим бўлиб (асосан, sIgA ишлаб чиқарилишида), аксинча умумий иммунитетнинг шаклланишига сезиларли таъсир кўрсатади.Шу сабабли ҳам шифокор-стоматолог беморнинг умумий ҳолати билан бирга иммун статуси ҳамда оғиз бўшлиғи маҳаллий ҳимоя омиллари ҳолатини ҳам тўғри баҳолай олиши лозим.Аниқ бир беморнинг иммунитети ҳолатини тўғри баҳолай олиш нафақат уни даволашда, балки бошқа кўпгина стоматологик касалликларининг профилактикасида ҳам ёрдам беради.

Беморларни текширишда иммунологик усулларни кенг қўллаш билан бир қаторда, иммун статусга таъсир кўрсатувчи ички ва ташқи омиллар (экологик, физик-кимёвий, биологик) таъсирини ҳам ҳисобга олиш ва уларни чуқур ўрганиш лозим. Ушбу омилларнингинсон организмига таъсири яхши ўрганилмаса, беморни иммунологик текшириш натижалари тўғри баҳоланмайди ва бемор нотўғри даволанади.

Маълумки, антиген таъсирига иммун тизимнинг жавоб бериши ёки бермаслигини махсус генлар назорат қилади. Шу билан биргаликда, бир антиген таъсирида юзага келадиган у ёки бу даражадаги махсус реакцияга бир қатор омиллар ҳам таъсир кўрсатади ва ўз навбатида, касалликнинг кечиши, оғирлиги ва натижаси уларга ҳам боғлиқ бўлади.

Организм реактивлигини пасайишига кўпинча доимий таъсир кўрсатувчи экологик омиллар сабабчи бўлади. Бу омиллар организмнинг умумий иммун тизимига ва шу билан бирга, оғиз бўшлиғи маҳаллий ҳимоя тизимига ҳам сезиларли таъсир кўрсатади. Бундай экологик омилларга иқлим шароитлари ва йил фасллари, атроф-муҳитнинг кимёвий зарарланиши, биологик ва физик омиллар, асосан, электромагнит тўлқинлар, шовқинлар, нурланиш ҳамда қаттиқ асабилашиш ва руҳий шикастланишлар киради.

Ҳозирги вақтда, жанубда яшовчи аҳолида организм реактивлиги юқорироқ, шимолда яшовчиларда эса пастроқ деган фикрлар мавжуд. Иқлим шароитлари иммунологик бир-хиллик яратади, чунки одам бошқа иқлим шароитларига тушганида унинг организми реактивлиги пасаяди ва уларда оғиз бўшлиғининг турли касалликларини келиб чиқиш даражаси ортади.

Оғиз бўшлиғининг ҳимоя механизмлари 2 гуруҳга бўлинади:

1. Номахсус резистентлик - барча микроорганизмлар(ёт омиллар) таъсиригачидамлилик.

2. Махсус(иммун) - микроорганизмларнинг маълум бир турларига қарши ишлаб чиқариладиган иммун жавоб.

Кариесоген ва бошқа турли бактерияларга қаршиоғиз бўшлиғининг номахсусҳимоя омиллари, сўлакнинг микробларга қарши хоссаслари ва шиллиқ, шиллиқ ости қавати хужайраларининг тўсиқ бўла олиш вазифаси билантаъминланади.

*Номахсус ҳимоя омиллари.*Макроорганизмнинг номахсусҳимоя омилларини механик, кимёвий вафизиологик таъсир механизмлари фарқланади.

Механик ҳимоя, шикастланмаган шиллиқ қаватнинг тўсиқ бўла олиш вазифаси орқали, яъни микроорганизмларнинг сўлак билан ювилиши, овқатланиш жараёнида шиллиқ қаватларни тозаланиши, бактериялар адгезия бўлган эпителий ҳужайраларининг кўчиши кабилар билан ифодаланади.

Сўлак, микроорганизмларни ювиб туришидан ташқари, таркибида биологик фаол моддалар бўлганлиги сабабли уларга бактерицид таъсир ҳам кўрсатади.

*Кимёвий ва физиологик ҳимоя механизмлари.*Сўлакдаги лизоцим (ацетилмурамидаза ферменти) — муколитик фермент бўлиб, у организмнинг барча секретор суюқликларида, айниқса кўз ёши, сўлак ва балғамда кўп миқдорда бўлади. Лизоцим бир қатор микроорганизмларнинг, биринчи навбатда, грамммусбат бактерияларнинг ҳужайра қобиғини лизис қилади. Бундан ташқари, у лейкоцитларнинг фагоцитар фаоллигини оширади, биологик тўқималар регенерациясида қатнашади. Лизоцимнинг табиий ингибитори гепарин ҳисобланади. Лизоцим кислота ва ультрабинафша нурлари таьсирига сезгир.

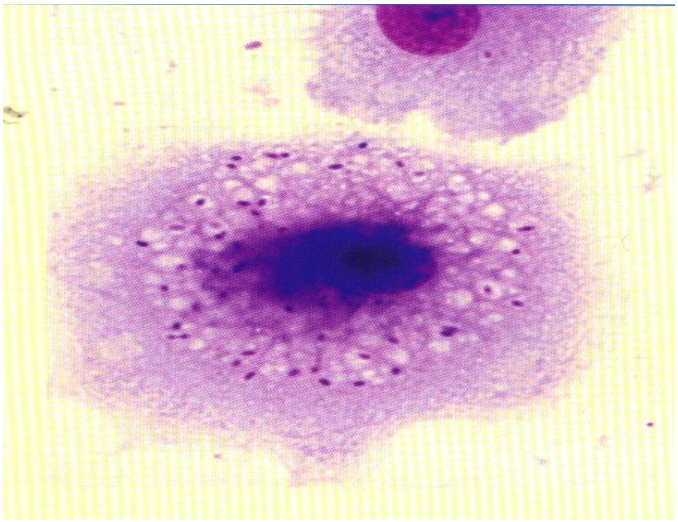
Сўлак ферментларининг ҳимоя вазифаси микроорганизмларни оғиз шиллиқ қаватларига ва тиш юзасига адгезия бўлишини бузишда намоён бўлади. Бунда, сўлак ферментлари *Str. mutans* кариесоген

штамминг ҳужайрасини юзасида жойлашган декстранларни парчалаб, бактерияни тиш юзасига фиксация қила олиш қобилиятини бузади, натижада тиш кариеси юзага келишининг олди олинади. Одамнинг аралашган сўлагида 60 дан ортиқ таъсири турлича бўлган ферментлар аниқланган. Булар орасида оқсил, нуклеин кислота ва углеводларни парчаловчи ферментлар (протеазалар, гликолитик ферментлар) юқори фаолликка эга.

Бета-лизинлар - бактерицид омиллар бўлиб, анаэроб ва спора ҳосил қилувчи аэроб микроорганизмларга нисбатан фаол таъсир кўрсатади.

Комплемент – қон зардобининг полимолекуляр оқсиллари тўплами бўлиб, унинг асосий биологик вазифалари бактерияларни лизисга учратиш ва фагоцитозни кучайтириш ҳисобланади. Комплемент бактерия ва вируслар опсонизациясида ҳамда яллиғланишни юзага келишида қатнашади.

Фагоцитоз – филогенетик жиҳатдан организмнинг энг қадимги номахсус ҳимоя реакциясининг шакли бўлиб, И.И. Мечников томонидан кашф этилган. Одам аралашган сўлагида доимо милк чўнтаклари эпителийси орқали оғиз бўшлиғига тушадиган лейкоцитлар ва лимфоцитлар бўлади. Фагоцитозда асосий вазифани нейтрофил гранулоцитлар ва макрофаглар бажаради (9-расм). Улар микроорганизмлар, бошқа ҳужайра ва заррачаларни қамраб олиб, уларни лизосомаларидаги протеаза, пептидаза, нуклеаза, фосфотаза, липаза, карбоксилаза каби ферментлари ёрдамида парчалайди. Бундан ташқари, нейтрофил фагоцитлар протеолитик ферментлар, эластазалар, Д ва Е катепсинларни ажратади, шиллиқ парданинг чандиқли ўзгаришларини резорбциясида қатнашади ва иммун бирикмаларни капиллярларнинг базал мембранасига бирикишини таъминлайди.



30.1-расм. Тугалланмаган фагоцитоз

Оғиз бўшлиғига миграция қилган лейкоцитлар сўлакнинг бактерияларга қарши фаоллигининг асосий манбаи бўлиб хизмат қилади. Шиллиқ қаватга тушган нейтрофил лейкоцитлар ўзининг фагоцитоз қила олиш қобилиятини сақлаб қолади. Бундан ташқари, сўлакда Т- ва В- лимфоцитлар ишлаб чиқарадиган антибактериал моддалар бўлади, улар ҳалқумнинг лимфатик ҳалқасидан миграция қилади.

Бактерияларга қарши ҳимоянинг гуморал ва ҳужайравий омиллари ўзаро узвий боғлиқ. Сўлакнинг бир қатор компонентлари – оксидаза ферменти, сўлак калликреини ва унинг иштирокида ҳосил бўлувчи кининлар – кучли хемотаксик фаолликка эга бўлиб, оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватларига амалга ошадиган лейкоцитлар миграциясини назорат қилади. Кининлар хемотаксик таъсирдан ташқари,оғиз бўшлиғи тўқималаридаги қон томирлар ўтказувчанлигининг ошиши билан ҳам лейкоцитлар миграциясини амалга оширади. Оғиз бўшлиғининг номахсус бактерияларга қарши ҳимоясини асосан, сўлак безлари ишлаб чиқарадиган ва у жойга миграция қилган лейкоцитлар ишлаб чиқарадиган лизоцим, РНКаза, ДНКаза, пероксидаза каби ферментлар таъминлайди. Шуни таъкидлаш лозимки, ушбу ферментлар бактериялар, вируслар, замбуруғлар ва содда ҳайвонларнинг ўсишини тўхтатадиган,микроорганизмларгақарши кенг доирада таъсир этувчи фаолликга эга.

Оғиз суюқлиги, таркибида коагуляция қилувчи ва фибринолитик таъсир этувчи омиллари борлиги туфайли коагуляция қила олиш хоссаларига ҳам эга. Унинг бу хусусияти маҳаллий гомеостазни таъминлашда, оғиз бўшлиғини тозаланишида, яллиғланиш,

регенератив ва бошқа жараёнларнинг ривожланишида муҳим аҳамиятга эга.

Бундан ташқари, сўлакда фибриназа ферменти ва протромбин комплексига кирувчи тромбопластин, гепаринга қарши субстанция ва бошқа омиллар ҳам мавжуд.

*Иммунитет*деб макроорганизмнинг унга тушган антигенга нисбатан танлаб таъсир этиш хусусиятига айтилади. Микробларга қаршимахсус ҳимоянинг асосий омили иммун гамма-глобулинлар (иммуноглобулинлар) ҳисобланади.

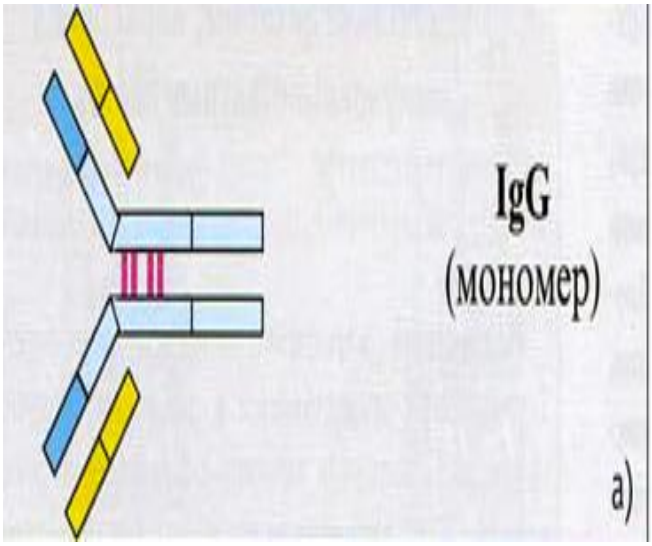
Иммуноглобулинлар – антитело вазифасини бажарувчи ва глобулин фракциясига тегишли бўлган қон зардоби ёки биологик секретларнинг ҳимоя оқсиллари. Иммуноглобулинларнинг 5 та синфи фарқланади: A, G, M, E, D (10-расм). Оғиз бўшлиғида IgA, IgG, IgM кўп учрайди. Таъкидлаш лозимки, оғиз бўшлиғидаги иммуноглобулинларнинг миқдори қон зардоби ва экссудатлардагига нисбатан фарқ қилади. Агар одам қон зардобида асосан, IgG кўп бўлиб, IgA кам миқдорда бўлса, сўлакда IgA миқдори IgG га нисбатан 100 баравар кўпроқ бўлади. Бу кўрсаткичлардан тахмин қилиш мумкинки, сўлакдаги махсус ҳимояни асосан, А синф иммуноглобулинлари амлга оширади.

Организмда IgA нинг икки тури мавжуд: зардобдаги ва шиллиқдаги(sIgA). ЗардобдагиIgA тузилиши бўйича IgGдан жуда кам фарқ қилади ва икки жуфт полипептид занжирдан ташкил топган бўлиб, улар ўзаро дисульфид боғлар орқали боғланган. Секретор IgA турли хил протеолитик ферментлар таъсирига чидамли.Секретор IgAмолекуласидаги ферментлар таъсирига таъсирчан пептид боғлар, секретор компонентнинг қўшилиши натижасида беркилиб қолади деган тахминлар ҳам мавжуд.Бу протеолизга чидамлилик муҳим биологик аҳамиятга эга.

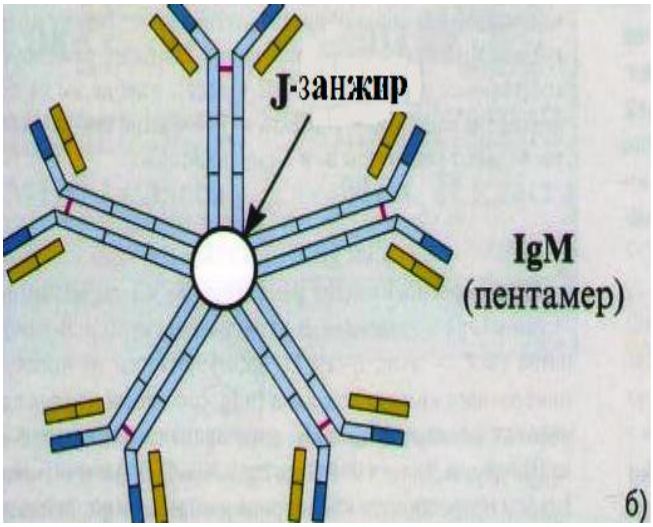
sIgA - глюкопротеин табиатга эга шиллиқ компонент билан сўлакнинг протеолитик ферментларидан ҳимояланган димер ёки тример макромолекула. Ушбу ўзига хос хусусиятларига кўра, sIgA ни узоқ вақтгача вирус ва бактерияларга қарши ягона омил деб ҳисоблашган. Аммо охирги йилларда, sIgA га нисбатан IgM, IgG ларнинг миқдори камроқ бўлса-да, сўлакда ўз фаолликларини сақлаб қолишлари аниқланди.

Секретор иммуноглобулинларнинг келиб чиқишида, маҳаллий синтез қилиниши муҳим аҳамиятга эга. Зардобдаги ва шиллиқдаги IgA лар тузилиши ва хоссалари жиҳатидан бир-биридан фарқ қилиши

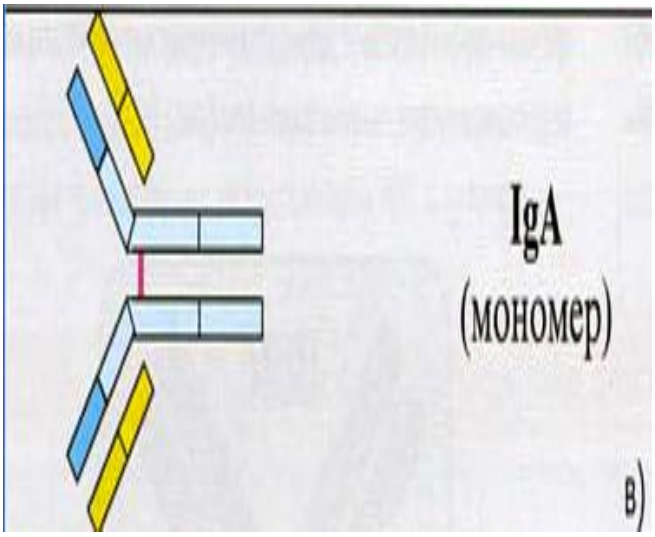
ҳамда зардобдаги иммуноглобулинлар ва уларнинг шиллиқдаги миқдорлари орасидаги корреляциянинг йўқлиги ушбу хулосанинг тўғрилигини тасдиқлашга хизмат қилади.

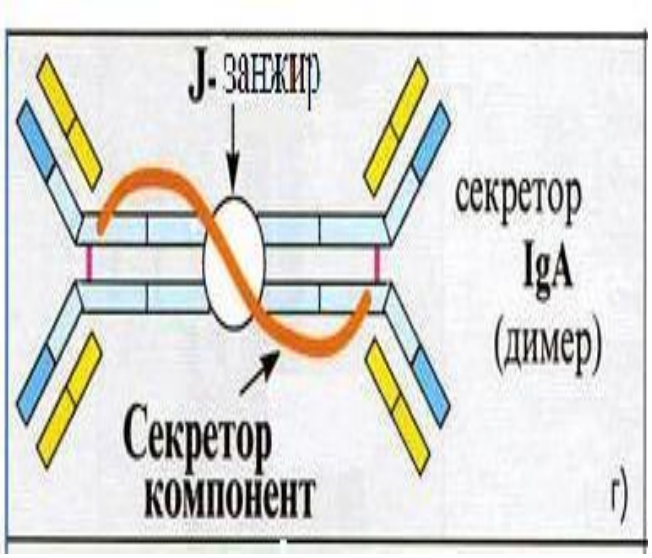


А) IgG (G синф иммуноглобулини қон зардобидаги антителоларнинг 80% ини ташкил этади; 4 та кичик синфи бор - IgG1, IgG2, IgG3, IgG4):
1. Ярим парчаланиш даври 7-23кун (кичик синфига боғлиқ).
2. Мономер: 2 та эпитоп-боғловчи қисмга эга.
3.Fc-фрагмент комплементни классик йўл билан фаоллашишида қатнашади.
4. Fc-фрагмент макрофаг, нейтрофил ва NK-ҳужайралар билан боғланиши мумкин.
5. Йўлдош орқали ўта оладиган ягона антитело.

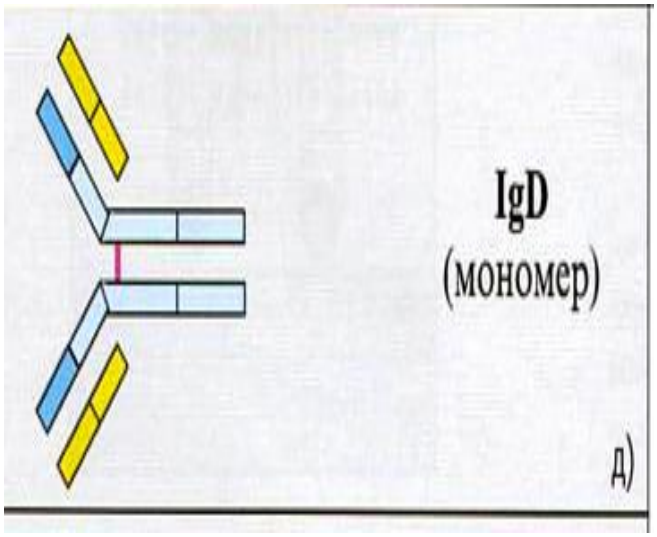


Б) IgM (M синф иммуноглобулини қон зардобидаги антителоларнинг 10 % ини ташкил этади):
1. Ярим парчаланиш даври 5 кун атрофида.
2. Иммун жавобда биринчи бўлиб синтез қилинади.
3. Пентамер: 10 та эпитоп-боғловчи қисмгаэга.
4. Fc-фрагмент комплементни классик йўл билан фаоллашишида иштирок этади.

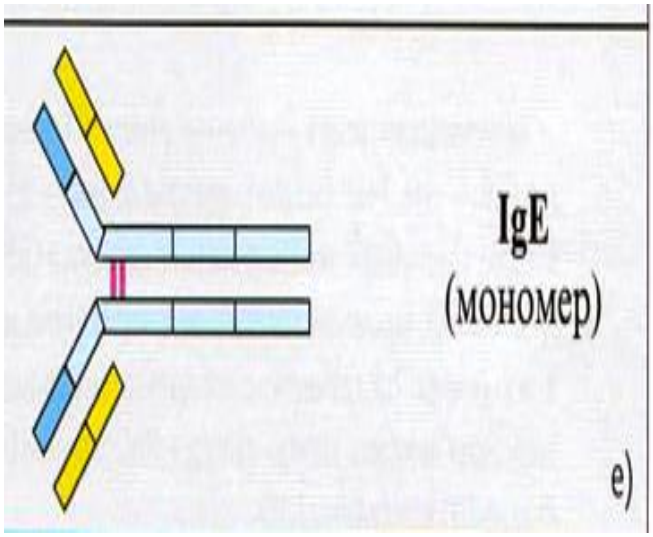




Г) Секретор IgA (sIgA) шиллиқ қаватлар, кўз ёши, сўлак, она сути таркибига кириб, вирус ва бактерияларни бетарафлайди. Димерида секретор компонент бўлиб, у антителони ферментлар таьсиридан сақлайди: эпитоп–боғловчиқисми 4та



Д) IgD (Д синф иммуноглобулини қон зардобидаги антителоларнинг 0,2 % ини ташкил этади):
1. Мономер: 2 та эпитоп-боғловчи қисмга эга.
2. В-лимфоцитлар юзасида mIg кўринишида жойлашади ва унинг фаоллашуви ва сусайишини назорат қилади.



Е) IgE (иммуноглобулин Е қон зардобидаги антителоларнинг 0,002 % ини ташкил этади):
1. Ярим парчаланиш даври 2 кун атрофида.
2. Мономер: 2 та эпитоп-боғловчи қисмга эга.
3. Паразитларга қарши иммунитет ва аллергик жараёнларда қатнашади.
4. АТ Fc-фрагменти семиз ҳужайралар ва базофиллар билан боғланади, аллерген билан таъсирлашиб, аллергик реакция келтириб чиқаради.

30.2 - расм. Иммуноглобулинларнинг тузилиши

IБундан ташқари, зардобдаги IgA ишлаб чиқарилиши бузилган ҳолларда (масалан, А-миелома, диссеминирланган қизил волчанкада

унинг миқдори кескин ортади), шиллиқларда унинг миқдори меъёрда сақланган ҳолатлар ҳам аниқланган.

А синфиммуноглобулини шиллиқ қават плазматик ҳужайралари ва сўлак безларида синтез қилинади. Маҳаллий синтез қилиниши бўйича IgM миқдор жиҳатдан IgG дан устунлик қилади (қон зардобида эса, аксинча, IgG миқдори кўпроқ бўлади). IgM нинг эпителиал тўсиқдан танланиб ўта олиш механизми мавжудлиги туфайли, секретор IgA танқислигида, сўлакда IgM нинг миқдори ортади. Сўлакда IgG нинг миқдори кам бўлади ва IgA ёки IgM танқислигида ҳам унинг миқдори ўзгармайди.

gG нинг юқори миқдори уни онадан болага йўлдош орқали ўта олиши ва Fc-қисмининг тузилишини ўзига хослиги билан боғлиқ. Онадан ўтган IgG нинг чақалоқ организмидаги ярим парчаланиш даври ўртача 30 кунни ташкил қилади, шунинг учун ҳам биринчи 3 ойда IgG миқдорининг камайиши кузатилади, бу жараён ўсаётган болада қон ҳажмининг ошиб бориши билан кучайиб боради. Кейинчалик онадан ўтган IgG нинг парчаланиш тезлигидан бола IgG нинг синтез қилиниши тезлиги ортиб боради ва бу синф иммуноглобулинларининг миқдори аста-секин ошиб боради.

Иммуноглобулинларнинг бошқа синфлари йўлдош орқали ўта олмайди, киндик қонидаги кам миқдордаги IgM, уни чақалоқ организми томонидан синтез қилиниши билан боғлиқ. Тўққиз ойлик болада IgM нинг миқдори катталарникига тенглашади. Янги туғилган чақалоқлар қонида IgA, IgD ва IgE лар жуда оз миқдорларда бўлади.

Пародонтит билан касалланган беморларнинг милк чўнтаклари текширилганда,у жойдан олинган намунада иммуноглобулинларнинг А, G, ва М синфлари, С3, С5 комплемент фракциялари ва лейкоцитлар борлиги аниқланади. Милк тўқималарида, кўп миқдорда плазматик ҳужайралар, лимфоцитлар ва макрофаглар (моноцитлар) учрайди. Буларнинг барчаси шундан далолат беради, кўпгина АГ-АТ реакциялари, ҳужайравий иммунитет жараёнлари пародонт тўқималарида ва альвеоляр суякда кечади.

Шу таъкидлаш лозимки, милк коваклари сўлак билан эмас, балки милк суюқлиги билан ювилади, бу суюқлик таркиби бўйича қон зардоби таркибига яқин. Милк суюқлигида, А, М, G синф иммуноглобулинлари, трансферрин, комплементининг айрим компонентлари бўлади. Ҳужайравий элементларнинг 90% ини пероксидаза ва лизоцим ферментларини синтез қилувчи тайёқча

ўзакли лейкоцитлар ташкил этади, мононуклеарлардан эса В-лимфоцитлар кўпроқ учрайди.

Таниқли иммунологлардан бири Challacombe S.J.(1994), ҳозирги вақтда sIgA ни оғиз бўшлиғидаги микроблар колонизациясига тўсқинлик қилувчи энг асосий омиллардан бири сифатида қараш мумкин деб таъкидлайди. Бунда, унинг асосий таъсир механизмларидан бири - адгезинлар билан бирикиши ҳисобига замбуруғларнинг уларга адгезия бўлишига тўсқинлик қилади. Озиқ муҳитга манноза ёки анти-IgA қўшилганда бу таъсир йўқолади.

30.3-расм. Стафилококкнинг фагоцитозга учраши

30.4-расм. Фагоцитознинг хемотаксис босқичи

sIgA таъсирларидан яна бири, бу*C. albicans*кўпайишига йўл қўймаслик ҳисобланади, бироқзамбуруғларнинг ҳужайра деворида sIgA таъсирига тўсқинлик қилувчи омиллар мавжуд бўлади. Зардобдаги IgA бундай таъсир кўрсатмайди.

Оғиз бўшлиғи кандидозининг илк босқичларида sIgA кандида колонизациясига самарали қаршилик кўрсатади деган фикрлар мавжуд. Лекин sIgA нинг шиллиқ компоненти уни микроблар таъсиридан сақлашига қарамасдан, *C. albicans, C. tropicalis*лар sIgA ни лизисга учрата олиши мумкин.Кандидали инфекциялар, айниқса, уларнинг сурункали шаклларида, микробларга қарши курашга ҳужайравий омиллар, фагоцит ва Т-лимфоцитлар фаол киришади (11,12-расмлар).

Кўпчилик олимлар, оғиз бўшлиғидаги нейтрофиллар юқори даражада фагоцитоз қила олиш қобилиятига эга, уларнинг бу хусусияти комплементни альтернатив йўл билан фаоллашиши ҳисобига амалга ошади деб таъкидлашади. Бироқ, бу жараёнда sIgA замбуруғ рецепторларини ёпиб, салбий таъсир кўрсатади деган маълумотлар ҳам мавжуд.

Номахсус ҳимоя омилларининг катталар ва болалардаги кўрсаткичлари 5-жадвалда келтирилган.

30,1-жадвал

Соғлом одам оғиз бўшлиғидаги номахсус ҳимоя омилларининг кўрсаткичлари

№	Кўрсаткичлар	Катталардаги меъёр	Болалардаги меъёр
1	Лизоцим,мг %	18,0±0,60	19,7±0,70
2	НФФ,%	55,3±1,20	58,1±1,50
3	sIgA,г/л	2,0±0,10	1,8±0,30

Жадвалдаги кўрсаткичларга асосан,ушбу кўрсаткичлар катталар ва болаларда бир-бирига яқин, бироқ, болаларда лизоцим миқдори ва нейтрофилларнинг фагоцитар фаоллигининг кўрсаткичи катталарникига нисбатан ишончсизкўпроқ, секретор IgA нинг миқдори эса ишончсиз камдир. Номахсус ҳимоя омилларининг ушбу кўрсаткичлари болалар организмининг анатомо-физиологик хусусиятларига ҳам боғлиқ бўлиши мумкин.

Бир нечта асосий иммун механизмларнитаърифлаш лозим:

а)макрофаг-остеокластли механизм. Бу механизм макрофагларни фаоллашиб, ИЛ-1*β* ни кўп ишлаб чиқариши билан боғлиқ, ИЛ-1*β* эса ўз навбатида, кальцийни суякдан резорбция қилиши учун остеокластларни фаоллаштиради;

б) макрофагли механизм - яллиғланишда пародонт тўқималарининг альтерациясини белгилайдиган, ўсмали-некротик омилнинг ажралиши билан кечадиган макрофаглар фаоллашишининг классик варианти;

в) киллерли механизм – секин юзага чиқувчи юқори сезувчанлик реакциясининг Т-эффекторлари ёки Т-киллерлар ажратадиган цитотоксинлар таъсирида вужудга келадиган альтерация;

г) антителоли механизм – ИЛ-1ά орқали ишга тушадиган тез юзага чиқувчи юқори сезувчанлик реакцияси, кейинчалик IgE ёки иммун бирикмалар томонидан гранулоцитларнинг фаоллашуви билан тавсифланади;

д) комлементга боғлиқ механизм - пародонтнинг бириктирувчи тўқимаси ёки милк эпителийсини ҳужайралари юзасига грамманфий бактерияларнинг (масалан, бактероидлар) полисахаридлари ёки иммун бирикмаларини бирикишида комплементни классик ёки альтернатив йўл фаоллашиши билан тавсифланади, натижада бу ҳужайраларни комплементга боғлиқ лизисга олиб келади.

Бемор организмида кальций ва фосфор алмашинувининг бузилиши билан боғлиқ ноиммун механизмлар:

а) метаболик, простагландин E_2 ва витамин D_3 нинг керагидан ортиқ ишлаб чиқарилиши билан боғлиқ (кальцийни жадал резорбциясини таъминлайди);

б) паратиреоид гормон (кальцийнинг ювилишини таъминлайди) ва кальцитонин (суяк тўқимасини кальций билан тўйинтиради) мувозанатини эндокрин бузилиши.

Пародонтитнинг патогенезида аҳамиятли томони шундаки, у қандай альтерация механизми ҳисобига юзага келишига қарамасдан клиник кўринишида аниқ фарқлар бўлмайди. Альтерация механизмлари одамнинг реактивлиги ва интерлейкин генларининг полиморфизмига боғлиқ бўлиб, уларни ҳозирда ПЗР усулида аниқлаш мумкин.

Маълумки, турли одамларда бактерия АГ ларига қарши юзага келадиган нормал иммун жавоб билан бир қаторда кучсизёки кучли иммун жавоблар ҳам мавжуд. Бироқ, ҳар иккала ҳолатда ҳам патогенетик жараённинг якунида пародонт тўқимасининг альтерацияси кузатилади. Кучсиз иммун жавобга эга бўлган одамларда, бу жараён пародонтопатоген бактерияларнинг фаоллашиши ва уларнинг токсинлари ҳисобига келиб чиқса, кучли иммун жавобга эга бўлганларда эса аллергик ва токсик-аллергик реакцияларҳисобига юзага келади. Ҳар иккала ҳолатда микроциркуляция ва альтерация жараёнларининг бузилиши бирга кузатилади, бу эса ўз навбатида, оппортунистик, асосан, анаэроб инфекциянинг ривожланиши учун

қулай шароиларни юзага келтиради. Юзага келган ноиложлик ҳолати аутоиммун механизмларнинг ишга тушишини таъминлайди:
- турли хил бактерияларга қарши ҳосил бўлган АТ лар (жумладан, кесишма таъсир кўрсатувчи АТлар) титрининг кескин ортиши билан кечадиган лимфоцитларнинг поликлонал фаоллашуви;
- организм тўқималари билан пародонтопатоген флора АГ эпитопларининг антиген мимикрияси;
- пародонтопатоген бактериялар антигенларига қарши ирсий кучсиз даражадаги иммун жавобда толерантликнинг йўқолиши;
- эндотоксинларларнинг заҳарли таъсири ҳисобига Т-супрессорлар иммунтанқислиги;
- АГ ларнинг ишлаб чиқарилиши ва уларнинг макрофагларнинг HLA-оқсиллари билан ўзаро таъсирлашувининг бузилиши.

Шундай қилиб, оғиз бўшлиғидаги микроорганизмларнинг миқдорий ва таркибий ўзгаришлари маҳаллий иммунитет кўрсаткичларини ўзгаришлари билан биргаликда кузатилади.

Хулосада шуни таъкидлаш лозимки, резистентлик омилларининг даражаси организм иммун ҳолатини баҳолаш учун етарли эмас. Шуни ҳисобга олиш керакки, иммун тизим кўпгина функционал элементларнинг бир-бирига боғлиқ мажмуасидир. Шунинг учун ҳам иммун тизимнинг иш фаолиятини ҳамда унинг патологик жараёнлардаги вазифаларини тушуниш учун унинг барча тузилмаларини ўрганиш лозим.

Қон зардобидаги A, M, G синф иммуноглобулинлари ва яллиғланиш олди цитокинларининг (TNFa, IL-1) қон зардобидаги концентрациясини ҳамда сўлакдаги sIgA миқдориниқаттиқ фазали иммунофермент усулида аниқланади. Т-лимфоцитлар ва уларнинг субпопуляциялари (CD3, CD4, CD8), В-лимфоцитлар (CD19, CD20) ва О-лимфоцитларнинг (CD56, CD57)қондаги миқдорини аниқлаш учун цитофлюориметрдан (CD антигенларга қарши моноклонал антителолар тутувчи диагностик реагентлар билан ишлайдиган анализатор) фойдаланилади. Бу асбоб иммун ҳужайралар таркибини, уларни мувофиқ диагностик реагентлар билан флюоресценцияси ва оптик кўрсаткичлари бўйича тезда аниқлайди.

31.БОБ.ПАТОЛОГИК ЖАРАЁНЛАРДА ОҒИЗ БЎШЛИҒИ МИКРОБИОЛОГИЯСИ

Одонтоген яллиғлаништиш ёки тиш атроф тўқималари яллиғланиши билан узвий боғлиқ жараён.

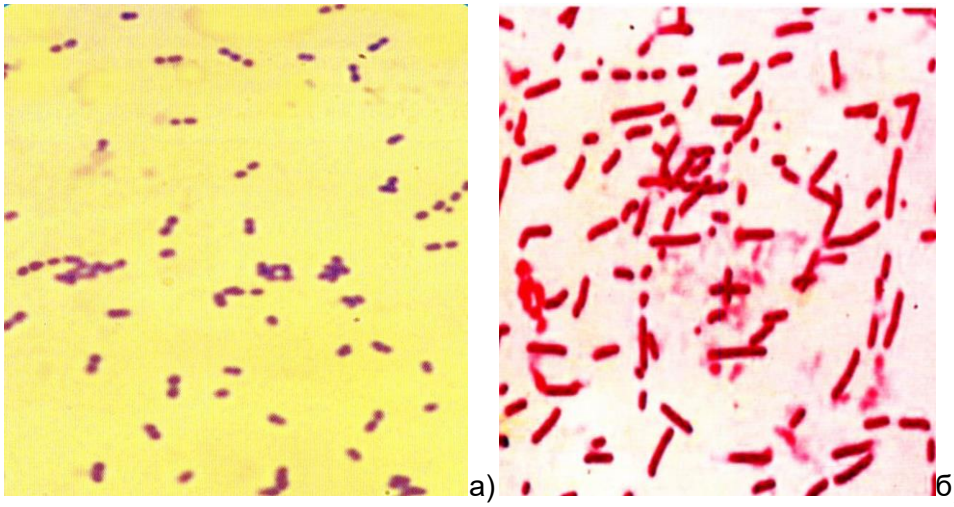
Кариозли жараёни микробларни дентин канали орқали пульпага тушишига имкон яратади ва натижада, пульпада аввалига ўчоқли, кейинчалик эса тарқалган (диффуз) пульпитнинг ривожланишига сабабчи бўлади. Микроблар ва уларнинг ҳаёт фаолияти давомида ишлаб чиқарадиган маҳсулотларининг кенг тарқалиши натижасида периодонтит келиб чиқади, сўнгра яллиғланиш жараёни суяк пардасига тарқалиб, аввал периостит, кейин эса остеомиелит ривожланади. Агар яллиғланиш юмшоқ тўқималаргача тарқалса, жағ олди абсцесс ва флегмоналари юзага келади.

Патологик жараённинг ривожланиши учун микробларда патогенлик ва вирулентлик омиллари мавжуд бўлиши лозим. Йирингли яллиғланишларни ривожланишида юқори инвазивлик хусусиятига эга бўлган микроблар катта аҳамиятга эга.Одонтоген жараёнларнинг чегараланган (пульпит, периодонтит, альвеолит, абсцесс) ва ривожланувчи (флегмона, остеомиелит, сепсис) шакллари фарқланади.

Пульпит— бу тож ёки илдиз пульпасида кечадиган пульпанинг ўткир ёки сурункали яллиғланиш жараёни.

Соғлом пульпа периодонт тўқимасини турли хил зарарли омиллардан ҳимоя қилувчи биологик тўсиқ ҳисобланади. Ўткир пульпит аввалига ўчоқли тавсифга эга бўлиб, серозли яллиғланиш кўринишида кечади. Бунда кўпинча “яшил” стрептококклар (қонли агарда яшил рангдаги α-гемолиз ҳосил қиладиган) ва ногемолитик D гуруҳи стрептококклари (энтерококклар), гуруҳ АГ ларига эга бўлмаган стрептококклар, лактобактериялар топилади(13-а,б расмлар). Агарда, ўткир серозли пульпит даволанмаса йирингли пульпитга ўтади, бунда, ундан пептострептококклар, F ва G гуруҳининг альфа- ва бета-гемолитик стрептококклари ажратиб олинади.

Ўткир пульпит сурункалига, тўқималар некрозида эса – гангренозли пульпитга ўтади. Пульпитнинг бу шаклларида некрозга учраган пульпадан жуда кўп миқдорда анаэроб бактериялар: пептострептококклар, микроаэрофил стрептококклар, бактероидлар, спирохеталар, актиномицетларни ажратиб олинади. Уларга чиритувчи бактериялар – клостридиялар ҳам қўшилиши мумкин.



а) б)

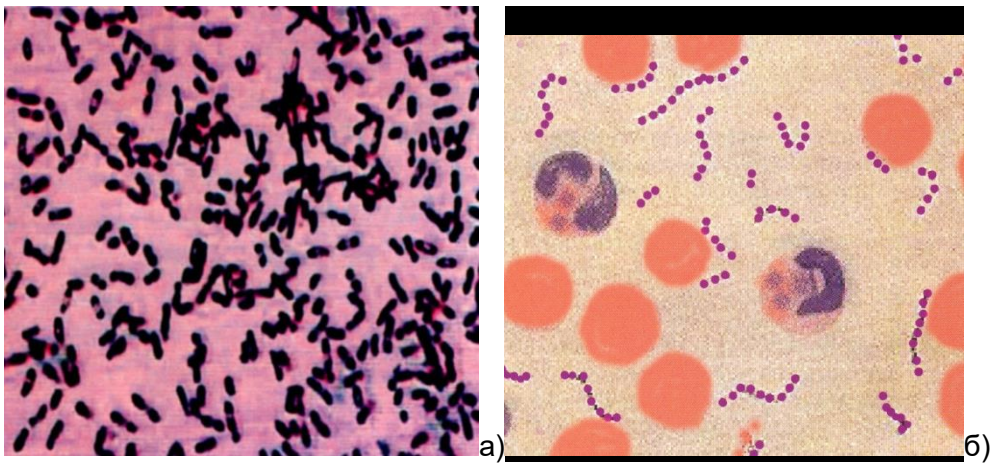
31.1-расм. Энтерококк (а) ва лактобактерияларнинг (б) соф культурасидан тайёрланган суртма

Периодонтит.Периодонт тўқимасига микробларнинг қаердан тушишига кўра апикал периодонтит (илдиз канали орқали тушади) ва маргинал периодонтит (патологик милк чўнтагидан киради) фарқланади.

Периодонтнинг серозли яллиғланиши пульпа ёки милк чўнтагида жойлашган яллиғланиш ўчоғидан тушадиган заҳарли маҳсулотлар таъсирида юзага келади.Йирингли периодонтит эса микробларнинг периодонт тўқималарига кирганидан сўнг келиб чиқади.

Йирингли периодонтитнинг ўзига хос хусусиятларидан бири, у ерда стафилококкларга нисбатан анаэроб бактериялар ва стрептококкларнинг кўп бўлишидир. Бунда, яллиғланишнинг бошланғич босқичида “яшил” ва ногемолитик стрептококклар учрайди. Агарда яллиғланиш микробларнинг илдиз канали орқали ўтиши билан боғлиқ бўлса, микроблар таркиби йирингли ёки гангренозли пульпитнинг микрофлораси билан ўхшаш бўлади.

Ўткир периодонтитнинг сурункалига ўтишдаврида анаэроб стрептококкларни (пептострептококклар) сони кўпаяди, сўнгра уларга гуруҳли ва гуруҳсиз АГ ларга эга бошқа стрептококлар ва қатъий анаэроблар қўшилади.Апикал гранулёмаларда актиномицетлар, бактероидлар, фузобактериялар ва спиралсимон микроблар топилади (14 а,б - расм).



а) б)

31.2-расм. Бактероидларнинг (а) соф культураси ва йирингдаги стрептококклар (б)

Пародонтит. Пародонт касаллигининг замонавий билим даражаси, субгингивал микрофлорани касалликни этиологияси ва патогенезидаги асосий омил ва орагнизмнинг маълум бир иммун жавоби ва ташқи муҳит шароитида таъсир этувчи хавфли омил деб ҳисоблайди. Пародонтда, яллиғланиш-деструктив жараённи ривожланиши учун микробли омил, организмнинг номақбул иммун жавоби ва оғиз бўшлиғининг салбий омиллари бўлиши лозим (Балашов А.Н., 1992; Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 2001; Плужникова М.М.) (15-расм).

Кўпгина олимлар, пародонт ҳолатига таъсир этувчи омилларнинг кўплигига қарамай, улардан асосийси тиш юза қисмида колонизация қиладиган микрофлора деб ҳисоблайдилар. Касалликнинг бошланғич даврида, яққол ҳимоя тизими реакциялари шароитида, анаэроб микрофлора кўпроқ бўлади. Узоқ давом этган яллиғланиш жарани натижасида организмнинг ҳимоя кучлари камайиб қолганида, шартли-патоген стрептококклар кўпайиб боради. Бактериялар томонидан ишлаб чиқариладиган заҳар ва ферментлар ҳужайра ичи тузилмаларини парчалайди. Бундан ташқари, Дмитриева Л.А.нинг (2001) маълумотларига кўра, бактериал агрессия вақтида моддалар алмашинувининг цитотоксик маҳсулотлари ажратилади.

31.3-расм. Пародонтит.

Пародонт тўқималарига бактериал таъсир патогенези 4 асосий бўғим ва уларнинг комбинациясидан ташкил топган деган фикр мавжуд. Биринчиси – бактериал инвазия, бу милк шиллиқ қаватига узоқ вақт давомида тиш карашини таъсирида юзага келади, иккинчиси – эндотоксинларнинг иммун жавоб ва комплемент тизимини фаоллаштириши натижасида яллиғланиш ва тўқималарни некрози юзага келади. Учинчиси – ферментлар (коллагеназа, гиалуронидаза, протеазалар, хондроитиназа) коллаген толалар ва ноколлаген оқсилларни парчалайди, тўқима ва капиллярлар ўтказувчанлигини оширади. Тўртинчиси – иммунопатогенез, пародонт касалликларида иммун жавобнинг аҳамияти тўлиқ ўрганилмаган бўлса ҳам, бу беморларда гуморал ва ҳужайровий иммун реакцияларни ривожланиши аниқланган (Окушко В.Р., 2002; Орехова Л.Ю., 1997; Шмагель К.В. ҳаммуал.б.б., 2003).

Пародонт касаллигининг этиологияси ва патогенезининг замонавий концепциясида, пародонтопатоген микроорганизмлар бир вақтнинг ўзида ҳам мумкин бўлган этиологик омиллардан бири, ҳам хавф омили бўлиб ҳисобланади. Олимларнинг асосий эътибори 8-10 хил микробларга қаратилган бўлиб, бу микробларнинг пародонт деструкцияси юзага келган жойларда бўлиши, ушбу касалликни ривожланишидаги хавфли омил деб баҳоланади (Акбарова Ю.А., Баженов Л.Г., 2001; H.Michel, 2002; R.B. Bosten, 2002).

Ҳозирда, пародонт касаллигининг аниқ бир нозологик шаклини пародонтопатоген микроорганизмларнинг маълум бир тури билан боғлай олмаймиз. Бироқ, фақатгина касалликни чақирувчи микробларнинг борлиги пародонт патологиясини ривожланиши учун етарли эмас деган фикр мавжуд. Касаллик ривожланиши учун яна кўпгина шароитлар ва махсус омиллар керак (Безрукова И.В., 2001; Курякина Н.В., Кутепова Т.Ф., 2000; N. Mastragelopulos, et al, 2002).

Оғиз бўшлиғидаги сурункали инфекция ўчоқлари (сурункали периодонтит, киста, сурункали остеомиелит, актиномикоз ваҳ.к.) тизимли касалликларнинг сабабчиси бўлиши мумкин.Айниқса бу, баъзи резидент микробларнинг АГ ларига нисбатан кучсиз иммун жавобга эга бўлган одамларга тегишлидир.

Сурункали гангренозли пульпитлар, сурункали периодонтитлар (грануляцияловчи ва гранулёматозли), пародонтит, сурункали перикоронит, сурункали остеомиелит оғиз бўшлиғининг сурункали одонтоген инфекция ўчоқлари ҳисобланади.

Тишларни тозалаш, кюретаж қилиш, тишларни олиш, тишлар имплантацияси, оғиз бўшлиғида ортопедик ва ортодонтик мосламаларни ўрнатиш каби муолажалар қисқа вақт давом этувчи бактериемияга олиб келиши мумкин. Бундан ташқари, оғиз бўшлиғидаги микроблар оғир некротик гингивитлар ва стоматитларда, абсцесслар ҳосил бўлганида патологик милк чўнтакларидан, некротик пульпитларда илдиз каналларидан, сурункали периодонтитда кисталар ва грануляциялардан қонга тушиши мумкин. Организм реактивлиги нормал ҳолатда бўлганида, қисқа вақт давом этувчи бу бактериемия фақатгина тана ҳароратининг кўтарилишида намоён бўлиши мумкин.

Резистентлик омилларининг фаоллиги сусайганида микробларни инфекция ўчоғидан чиқиб кўпайиши ва уларни бошқа тўқималарда колонизацияси кузатилиши мумкин. Бундай ҳолатда, оғиз бўшлиғи бактериялари ўта хавфли ҳисобланади, чунки уларнинг кўпчилиги ҳужайралар ва бошқа тузилмаларнинг юзасига адгезия қила олиш хусусиятига эга.

Декстран ҳосил қилувчи *Str. mutans* ва *Str*. s*anguis* стрептококкларикўпинча эндокардитни сабабчиси бўлади, гиёҳвандларда эса улар сепсисни келтириб чиқаради.Ушбу стрептококклар нафақат тишларнинг эмал юзасига, балки юрак клапанлари тўқимасига ҳам ёпиша олиш хусусиятига эга.

Оғиз бўшлиғи микроблари ўткир бактериал миокардит, инфекцион эндокардит ва бош мияда яллиғланиш жараёнларини юзага келишига сабабчи бўлиши мумкин. Айниқса, ҳамма резистентлик тизимларининг кескин пасайган ҳолатлар ва касалликларда (лейкемия, агранулоцитоз, иммунодепрессантлар қўлланилганда, иммунтанқисликларда) одонтоген зарарланиш хавфи жуда юқори бўлади. Анаэроб бактерияларни ўстириш техникасининг такомиллашиши, баъзи одонтоген касалликларнинг сабабчиси - оғиз бўшлиғидаги бактероидлардан бири - *Capnocytophaga (Bacteroides) ochraceus* эканлигини аниқлашга имкон берди. Бу микроб, некротик стоматогингивит сабаб бўлган септицемияли беморда топилган бўлиб, у доимо некрозга учраган тиш пульпаси ва периодонтал ўчоқлардан олинган намуналарда аниқланади.

Кўп бактериялар токсинлар ва биологик фаол моддалар ишлаб чиқаради. Бу моддаларнинг жуда кам миқдори ҳам хўжайин тўқималари ва аъзоларида чуқур ўзгаришларни келтириб чиқариши мумкин. Тиш караши ва каналларнинг некротик материалида биологик

фаол эндотоксин катта миқдорда аниқланади. Эндотоксин ёки грамманфий бактериялар мембранасининг ЛПС ва бошқа метаболитлари организмда қуйидаги патологик ҳолатларни келтириб чиқариши мумкин:

- нерв толаларидаги дегенератив ўзгаришлар;
- эндотоксинсубфебрил ҳарорат, бош оғриғи, бўғимлар ва мушаклардаги оғриққа сабабчибўлади;
- лейкоцитлар фаолиятининг бузилиши.

Пародонтнинг яллиғланиш касалликларига қуйидагилар киради:

- гингивит (16-расм);
- пародонтит (17, 18, 19-расм);
- пародонтоз;
- пародонтомалар;
- периимплантит.

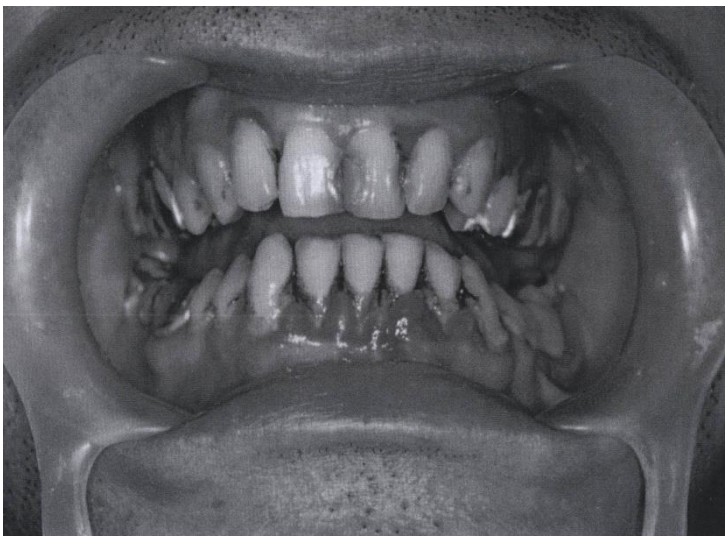
Пародонтнинг яллиғланиш касалликлари (гингивит ва пародонтит) аҳоли ўртасида кенг тарқалган (40 ёшдан кейин 90% дан юқори) бўлиб, катталар ўртасида юз-жағ тизими зарарланишида асосий сабаблардан бири ҳисобланади.

31.4-расм.Гингивит

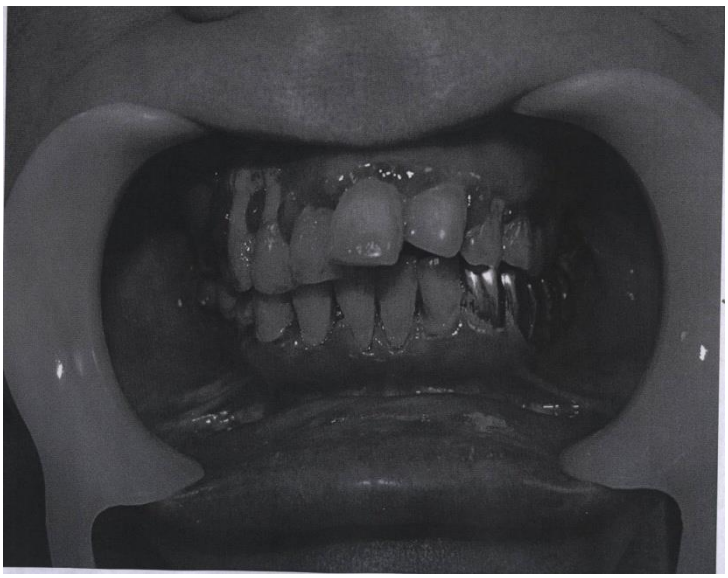
31.5-расм. Пародонтит

Маҳаллий ва чет эл муаллифларининг кўплаб тадқиқотлари тиш карашини миқдори билан сурункали гингивитнинг оғирлик даражаси ўртасида яққол боғлиқлик борлигини исботлади.

Оғиз бўшлиғи гигиенаси умуман ўтказилмаганида, 10-21-кунларга бориб катарал гингивит ривожланади, мувофиқ гигиеник тадбирлар амалга оширилганда эса, милклардаги яллиғланишйўқолади.



31.6-расм. Тез ривожланувчи пародонтит



31.7-расм.Пародонт тўқималарининг лизиси билан кечаётган пародонтит

Патологик милк чўнтакларидан ажратиб олинган анаэробларнинг кўпчилиги гиалуронидаза, ДНКаза, РНКаза, коллагеназа, протеаза каби гистолитик ферментларни ишлаб чиқаради, эндотоксин тутади, ёғ кислоталари, индол, аминлар ва аммиак каби цитотоксик моддалар ажратади.

Бундан ташқари, махсус ЛПС ларни сақлаши ҳисобига, ушбу микроблар суяк тўқимасини деструкциясига олиб келувчи, иммунпатологик механизмларнинг сабабчиси бўлиши мумкин. Пародонтитда ажратиб олинган яшил стрептококклар ўрганилганда, уларнинг 47% ида гиалуронидаза ва 23% ида — бета-глюкуронидаза топилган. Лекин нормада, милк эгатчасидан ажратиб олинган штаммларда бу ферментлар аниқланмаган.

Пародонт микрофлорасининг миқдорий ва сифатий таркиби микроскопик ва бактериологик усуллар ёрдамида ўрганилади.

Соғлом пародонт тўқимаси, милк остидаги тиш юзасида жойлашган, кам миқдордаги микрофлора билан алоқа қилади. Пародонт микроблари 1 дан 20 тагача ҳужайрадан иборат бўлган қалинликдаги қатламни ташкил қилади. Электрон микроскоп билан текширилганда милк соҳасида асосан граммусбат кокклардан ташкил топган жуда юпқа қатлам (60 мм атрофида) борлиги аниқланган. Микроскопиянинг қоронғилатилган майдонида ўтказилган текширишлар шуни кўрсатдики, ушбу бактериал популяциянинг 3/4 қисми кокклардан иборат бўлиб, таёқчасимон микроблар билан биргаликда эса – 90% ни ташкил қилади. Спирохеталар кам 1,8 %

ҳолатларда учрайди. Соғлом тўқималарда,микробларнинг ҳаракатчан шаклларини ҳаракатсиз шаклларига нисбати 1:49 ни ташкил қилади.

Микроб турини идентификация қилиш имкониятининг йўқлиги микроскопик усулнинг камчилиги ҳисобланади. Бактериологик текширишлар эса, милк эгатчасининг биоқобиқи асосан, граммусбат факультатив анаэроб кокклар ва таёқчасимон микроблардан иборат эканлигини аниқлашга имкон беради (барча изолятларнинг деярли 1/4 *Str.sanguis,* 1/8 эса *Str.mitis* ташкил этади). Микрококклар,*St. epidermidis,* пептострептококклар кам миқдорларда бўлади.Граммусбат факультатив анаэроб таёқчасимонлардан 35% ини қуйидаги актиномицетлар ва бошқа бактериялар ташкил этади: *A. israeli, A. naeslundi, A. viscosus, A. odontoliticus ҳамда Rothia dentocariosa, Arachnia propionica (Propionibacterium).*

Гингивитда, микробларнинг умумий сони соғлом пародонтдагига нисбатан 10-20 маротаба кўп бўлади.Касалликнинг клиник белгилари юзага чиқмасдан олдин микроскопия ёрдамида микрофлора таркибининг ўзгаришини аниқлаш мумкин: бунда кокклар ўрнини таёқчасимонлар эгаллайди ва грамманфий микрофлоранинг кўпайиши кузатилади.

Милк четларида жойлашган тиш караши бактериологик текширилганда, гингивит ривожланмасдан олдинги даврда турли хилдаги актиномицетларнинг кўпайиши аниқланди. Узоқ давом этган гингивитларда, милк ости микрофлорасида грамманфий таёқчасимонлар: фузобактериялар, бактероидлар, гемофил таёқчалар, кампилобактериялар сонининг ортиши кузатилди ва улар ҳаммамикрофлоранинг деярли 45% ини ташкил қилди. Граммусбат факультатив-анаэроб таёқчалар, асосан *Actinomyces naeslundli, A. viscosus. A. israelii 25%* ҳолатда, граммусбат факультатив-анаэроб стрептококклар эса 27% ҳолатда аниқланди. Жуда кам миқдорда пропионбактерия ва эубактериялар ажратиб олинди.

Стоматит — оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг яллиғланиши бўлиб, баъзан бирламчи юқумли касаллик сифатида, баъзан иккиламчи оппортунистик жараён сифатида ривожланади. Шунга мос ҳолда, стоматитларни патоген микроблар келтириб чиқарадиган юқумли ва резидент микрофлоранинг экзоген ёки эндоген табиатли зарарли омилларини бирламчи таъсирида юзага келадиганоппортунистик стоматитларга бўлиш мумкин.

Яллиғланиш жараёнининг жойлашишига кўра олдинлари қуйидаги атамалар ишлатилган: «стоматит» (патологик жараён оғиз

бўшлиғининг кириш қисми, лунжлар ва бошқа қисмларида жойлашганида), «глоссит» (тилда), «гингивит» (милкда), «хейлит» (лабларда). Бироқ, кўпинча оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг бир неча жойлари бирданига яллиғланади, масалан, гингивостоматит. Ҳозирги вақтда бу атамалар қўлланилмайди, чунки бирор касалликда ёки унинг турли босқичларида яллиғланишлар ҳар хил соҳаларда жойлашган бўлиши мумкин.

Оппортунистик стоматитлар (айрим адабиётларда “номахсус” деган атама қўлланилади) - бу экзоген ёки эндоген тавсифли бирламчи зарарловчи омиллар таъсирининг асорати ҳисобланади. Одатда, бу ўткир ёки сурункали жароҳатлар, физик ёки кимёвий зарарловчи омиллар таъсирида, юқумли ёки соматик касалликлар асорати сифатида, гормонал ўзгаришлар ва моддалар алмашинувининг бузилиши, организмдаги турли хил дистрофик жараёнлар натижасида организм резидент микрофлораси вакилларининг фаоллашувидан келиб чиқади.

Одатда, юза катарал стоматитларда, граммусбат аэроб кокклар ва таёқчасимон бактериялар, альтерация ва ярали-некротик жараёнлар билан тавсифланадиган чуқур стоматитларда эса қатъий анаэроб грамманфий микрофлора (фузобактериялар, бактероидлар, спиралсимонлар) ҳамда пептострептококклар аниқланади.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватида вақти-вақти билан ремиссия ва зўрайиш даврларининг алмашинуви билан узоқ давом этувчи, ўзига хос яраларнинг пайдо бўлиши билан тавсифланадиган**сурункали рецидивланувчи (қайталанувчи) афтоз стоматит**нинг (СРАС) этиологияси ҳақидаги савол ҳозиргача очиқ қолмоқда. Биринчи нуқтаи назар, СРАС ни экзоген инфекцион омиллар: вируслар, оғиз бўшлиғи стрептококклари, L-шаклли бактериялар таъсири билан боғласа, бошқаси — организмнинг эндоген омиллари, хусусан аутоиммун жараёнлардаги руҳий ҳолатларбилан кечувчи гормонал ўзгаришлар, организм сенсибилизацияси ва ҳ.к. билан боғлайди.

Етакчи ўринни инфекцион-аллергик механизмлар эгаллайди. Клиник жараён гиперемияланган доғ кўринишида бошланади, сўнгра доғ эрозияланади ва кулранг караш билан қопланади. Кўпинча афталар бурмага ўтиш жойи, тил юзасининг ён тарафлари, лаб ва лунжнинг шиллиқ қаватларида жойлашади. Кўп муаллифлар, СРАС ни фибринозли, некротик, гландулярли, чандиқли ва деформацияланувчи турларга ажратишади.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг муҳим кўп учрайдиган касалликларидан бири – **Венсаннинг ярали-некротик гингивостоматити** ҳисобланади. Стоматитнинг бу шаклини ривожланишида маҳаллий ҳимоя омиллари фаоллигини сусайиши, оғиз бўшлиғи гигиенасига аҳамият бермаслик, стресслар, чекиш катта аҳамиятга эга. Бу омиллар натижасида резидент микрофлора таркибидаги мувозанат бузилади ва дисбактериоз келиб чиқади. Мавсумийликка мойиллик мавжуд (кузги ва баҳорги даврлар).

Яралар оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг исталган жойида, кўпинча – милкларда, ретромоляр соҳада (пастки учинчи моляр тишлар чиқишининг қийинлашиши билан кечади) учрайди. Яралар оғриқли, четлари нотекис, туби кулранг караш билан қопланган, оғиз бўшлиғи ёмон ҳидли ва регионар лимфатик тугунлар катталашган бўлади. Патологик жараён тўқималарнинг ҳамма қатламларига тарқалиши ва натижада, нуқсонлар ривожланиши мумкин.

Эрозия ва яра қиртмаларидан тайёрланган суртмалар микроскопик текширилганда, кўп миқдорда урчуқсимон таёқчалар (фузобактериялар) ва спиралсимон микроблар - спирохеталар ва анаэробоспириллалар аниқланади. Шунинг учун, бунда бошқа анаэроб бактериялар – бактероидлар, пептострептококклар ҳам аниқланса-да, касалликни фузоспирохетоз деб номланди.

Фузоспирохетоз жараёни муртак безлари соҳасида кечганида Плаут-Венсан ангинаси келиб чиқади. Бу ангинанинг ярали ва дифтероид шакллари фарқланади.

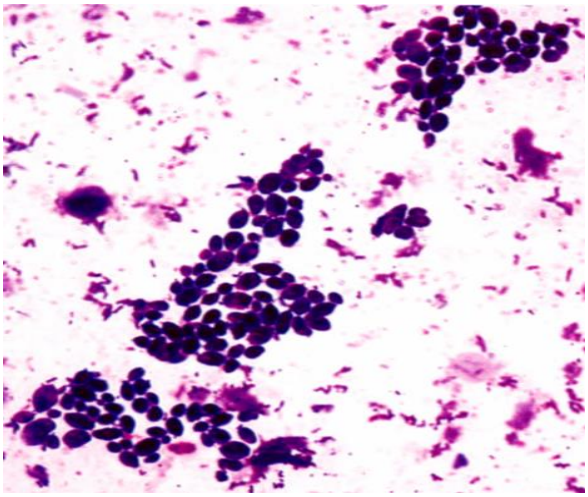
Юз-жағ соҳаси юмшоқ тўқималарининг тез ривожланувчи гангренаси кўпинча озиб кетган болаларда, айниқса, вирусли инфекциялардан (қизамиқ) сўнг, организм реактивлиги кескин сусайган ҳолларда учрайди.Бу ҳолларда ҳам қатъий анаэроблар, фузобактериялар ва спиралсимон микроблар кўпроқ аниқланади.

Ноаниқ этиологияли ярали-некротик зарарланишларга хавфли гранулёма, ёки ўрта тизма леталли гранулёма киради. Касалликнинг клиникаси танглайда катта яранинг ҳосил бўлиши билан тавсифланади. Жараёнга нафақат юз-жағ соҳасининг юмшоқ ва суякли тўқималари, балки бурун соҳасининг тўқималари ҳам қўшилади,бунда жароҳат юз устига чиқади ва секвестрация кузатилади.

Оғиз бўшлиғинингэнг кенг тарқалган икки касаллиги: **тишларнинг кариеси** ва **пародонт касалликлари** тиш юзасида караш ҳосил қилувчи микроорганизмлар билан боғлиқ. Тишларнинг кариеси одатда кўп миқдордаги *Str. mutans, Lactobacillus* билан боғлиқ.Сўлакдаги

микроблар сонини аниқлаш, касалларда кариес хавфини аниқлашда ва профилактик мақсадларда мониторинг қилиш учун фойдали бўлиши мумкин. Микроорганизмларнинг кўп миқдорда бўлиши, пародонт касаллигининг турли кўринишларида потенциал этиологик омиллар сифатида тавсифланган, бироқ карашнинг ҳосил бўлишида махсус микроорганизмларнинг иштироки тўғрисидаги фараз ҳали тўлиқ исботланмаган. Уларнинг этиологияси кўпинча мураккаб бўлиб, аутохтон микроорганизмлар ҳамда оғиз бўшлиғида мавжуд бўлган аллохтон микробларнинг ҳар қандай фаолликларига қўшимча ташқи омилларнинг таъсири билан ҳам боғлиқ бўлиши мумкин. Айнан тиш карашида оғиз бўшлиғи микроорганизмларининг асосий қисми жойлашади, тиш караши ҳажмининг 70% ини микроблар ташкил этади. Унинг 1мг қуруқ ҳажмида 250 хилгача микроорганизмлар бўлади.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати кандидози. Охирги йилларда кандидоз билан касалланиш ортиб бормоқда. Бу асосан, даволаш амалиётида антибиотиклар ва иммунодепрессантлардан (кортикостероидлар ва цитостатиклар) кенг фойдаланиш билан боғлиқ. Кандидоз — дисбиознинг бир кўриниши. *Candida* авлоди замбуруғлариоғиз бўшлиғи, овқат ҳазм қилиш тракти, нафас йўллари ва қин шиллиқ қаватининг типик резидент микроби ҳисобланади, лекин нормада кам миқдорда бўлади (20-расм). Бактерияларга қарши препаратларни узоқ вақт қўллаш натижасида нормал микрофлора таркиби бузилади. Бу жараёнда, организм макрофагал-гранулоцитар ҳимоя механизмлари ва Т-тизими фаоллигининг сусайиши ҳам катта ўрин тутади. Айнан шунинг учун ҳам кандидозли стоматит ОИТС нинг биринчи белгиларидан бўлиши мумкин.



31.8-расм. *Candida*уруғи замбуруғлари аралаш культурада (Грам бўйича бўялган)

Кандидознинг асосий клиник шакллари қуйидагилар ҳисобланади:

• ўткир псевдомембранозли кандидоз (оппоқ, сузмасимон караш билан тавсифланади — «тил (оғиз) оқариши» (21-расм):

• ўткир атрофик кандидоз;

• сурункали гиперпластик кандидоз;

• тилнинг сурункали атрофик кандидози;

• тери-шиллиқ қаватнинг (чуқур) кандидози.

31.9-расм. Псевдомембранозли кандидоз (Царёв В.Н. бўйича)

Оғиз бўшлиғи кандидозининг клиник кўринишлари турлича.Охирги йилларда кандидозли стоматитнинг маълум бўлган шакллари билан бир қаторда кандида билан боғлиқ пародонтит, яра-эрозияли стоматит каби кўринишлари ҳам учрамоқда. Касалликнинг бу шакллари кўпинча организм ҳимоя омилларини кескин заифлашганида, иммунтанқислик ҳолатлари, ОИТС да кузатилади. Жараённи асоратланиши микознинг генерализацияси ҳисобланади, бунда кандида-сепсис ривожланади. Бу ҳолат ўлим билан тугаши мумкин.

Кандидознинг ривожланишига бирга кечувчи оғир касалликлар ҳам сабабчи бўлиши мумкин: ҳавфли ўсмалар, сил, эндокринопатия (қандли диабет, гипотиреоз, гипопаратиреоз, буюрак усти безининг гипо- ва гиперфункцияси). Меъда-ичак касалликларида, хусусан меъда шираси кислоталилиги пасайганида ёки ахилияда,кўпинча оғиз бўшлиғи кандидози келиб чиқади. Қандли диабетда, углеводлар алмашинувининг бузилиши ҳам кандидоз ривожланиши учун қулай шароит ҳисобланади. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватларининг кандидози белгиларсиз кечаётган қандли диабетнинг биринчи клиник белгиларидан бири бўлиши мумкин. Сурункали кандидознинг ҳамма ҳолатларида, айниқса қайталанувчи кандидозларда, қандли диабет

ташҳисини инкор этиш учун қондаги глюкоза миқдорини текшириш лозим.

Бундан ташқари, нурланганда, спиртли ичимликлар ва наркотиклар таъсирида, оғиз орқали ичиладиган контрацептивларни узоқ вақт қўлланилганида ҳам кандидоз вужудга келиши мумкин.

Оғиз бўшлиғининг *Candida* уруғига мансуб замбуруғлар(*C. albicans, C.tropicalis. C.krusei)* биланчегараланган зарарланиши тил (оғиз) оқариши деб, кенгроқ тарқалган шакли эса – кандидоз деб аталади. Тил, лунж, лаблар, оғиз бурчакларини кандидалар билан зарарланиши учраб туради (22-расм).

31.10-расм. Кандидоз

Оғиз бўшлиғи кандидози гиперемияланган, қуруқ ва оғриқли шиллиқ қаватда оқ рангли, енгил кўчадиган караш ҳосил қилиши ва караш кўчирилганда, шиллиқ қаватда эрозияланган соҳаларни аниқланиши билан тавсифланади (23-расм).

31.11-расм. Болалардаги кандидоз

Яна шуни таъкидлаш лозимки, *Candida* кўпинчатурли бактериал инфекцияларда(сурункали тонзиллит, ичбуруғ, бўғма ва бўғма қўзғатувчисини ташувчилик)микроблар ассоциациясида ҳам иштирок

этади.Бундай ассоциацияларда, *Candida* бошқа микроблар патогенлигини намоён қилишида қатнашиб, юқумли касалликнинг асоратланишига олиб келади.

Юза замбуруғли инфекциялар (микозлар)кўпинча иммунтанқислигибор одамларда учрайди. Энг кўп учрайдиган юза микоз – бу оғиз бўшлиғи кандидоздир. 6-жадвалда микозни чақириши мумкин бўлган замбуруғлар ҳақида маълумотлар келтирилган.

31.1-жадвал

ОИВ-инфекцияли беморлар оғиз бўшлиғида юза микозни келтириб чиқарувчи замбуруғлар

Candida турлари	Бошқа замбуруғлар
C.albicans	*Saccharomyces cerevisiae*
C.glabrata	*Rhodotorula rubra*
C.famata	*Rhodotorula piliminae*
C.kefyr	*Fonsecaea pedrosi*
C.krusei	*Prototheca stagnura*
C.rugosa	*Trichosporon pullulans*
C.tropicalis	
C. guiliermondii	

Оғиз бўшлиғи кандидози– ОИВ-инфекциясининг илк белгиси ва ОИТС ривожланишини хабарчиси. Оғиз бўшлиғи кандидози иммун тизимнинг бошқа Т-ҳужайрали нуқсонларида ҳам учрайди, лекин ОИВ да қайталанади. Кўп муаллифларнинг маълумотларига кўра, ОИВ даги кандидознинг учраш даражаси қондаги CD4-ҳужайралар миқдорига боғлиқ. CD4-ҳужайралармиқдори 500/мкл дан кам бўлганида оғиз бўшлиғи кандидозининг учраши 62,1% ни, 200/мкл дан кам бўлганида 94,7% ни ташкил қилган. Муаллифлар, оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг гиперемияланиши, шиллиқ қаватнинг карашлар билан қопланиши, нуқтали қон қуйилишлари, эрозиялар ва бошқа ўзгаришларнинг бўлишинитасвирлашган. Кандидознинг клиник шаклларидан эритематоз ва псевдомембраноз шакллари кўпроқ учрайди. Бундан ташқари, адабиётларда, тилнинг зарарланиш белгилари: унинг шиши, сўрғичларининг йўқолиши, лейкоплакия ва кандидозли глосситлар ҳам таърифланган.

Кандидознинг ривожланишида оғизнинг шиллиқ қавати ва унинг маҳаллий иммунитети катта аҳамиятга эга. Оғиз шиллиқ қаватини тишларнинг ўткир қирралари, сифатсиз ясама тишлар,парчаланган тиш қопламалари ва бошқалар билан узоқ вақт жароҳатланиши оқибатида ҳам кандидоз вужудга келади. Сурункали жароҳатлар

натижасида оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг резистентлиги пасаяди ва унга *Candida* ларнинг кириши осонлашади ва касаллик юзага келади. Бундан ташқари, *Candida*уруғига мансуб замбуруғлар акрил пластмассадан тайёрланган олиб қўйиладиганясама тишлар юзасида яхши ўсади ва ясама тиш остидаги шиллиқ қаватнинг сурункали яллиғланишини келтириб чиқаради.

Ўткир атрофик кандидоз кучли оғриқ, ачишиш ва оғизнинг қуриши каби белгилар билан тавсифланади. Шиллиқ қават тиниқ қизил рангга киради, лекин қуруқ бўлади. Тил зарарланганда, унинг орқасиқизил рангига киради, ялтироқ, қуруқ бўлади, ипсимон сўрғичлари атрофияланади. Фасод бўлмайди ёки чуқур бурамаларида сақланиб қолиши мумкин,укўчганэпителийнинг конгломерати ҳисобланиб, қийинчилик билан кўчади ва кўп миқдорда *Candida*уруғи замбуруғларини тутади. Бу замбуруғлар фаол куртакланиш (мицелий, псевдомицелий) даврида бўлади.

Ўткир атрофик кандидозни олиб қўйиладиган ясама тишлар пластмассасига бўладиган аллергик реакциялардан фарқлаш лозим. Бу ҳолатда,ясама тиш олиб ташланганидан сўнг шиллиқ қаватдаги ўзгаришлар динамикасини клиник кузатиш ва бактериоскопик текширишни ўтказиш муҳим аҳамиятга эга.

Сурункали атрофик кандидозда,олиб қўйиладиган ясама тиш тақиб юрилганида, оғиз бўшлиғида қуриш, ачишиш, оғриқ кузатилади. Ясама тиш атрофидаги шиллиқ қават гиперемияланган, шишли ва оғриқли бўлади. Узоқ вақт олиб қўйилувчи ясама тишдан фойдаланувчи одамларда, сурункали атрофик кандидоз ясама тиш ости шиллиқ қаватининг зарарланиши (гиперемия, эрозиялар, папилломатоз) билан тавсифланади ва унга замбуруғли (ачитқили) яллиғланиш ҳамда кандидозли атрофик глоссит (тил орқаси қизил рангида, ялтироқ, қуруқ, ипсимон сўрғичлари атрофияланган) қўшилади. Оқ-кулранг караш кам миқдорда, фақатгина чуқур бурамаларда ва тилнинг ён томонларида бўлиб, қийин кўчади. Микроскоп остида карашда *Candida*уруғи замбуруғларининг мицелия ва споралари топилади. Бу учлик клиник белгилар- танглай, тил ва оғиз бурчакларининг яллиғланиши атрофик кандидознинг тавсифли белгилари бўлиб, унга ташҳис қўйишда қийинчилик туғдирмайди.

Лаборатория ташҳисотида қуйидаги усуллардан фойдаланилади:

1. ***Микроскопик*** — патологик материални (тиш караши, аъзо ва тўқималар биопсияси) микроскоп остида (ёруғлик, люминесцент) текшириш ва псевдомицелияларни топиш.

2. ***Бактериологик*** — материални Сабуро, томатли ёки картошкали муҳитга экиш ва ажратиб олинган культурани идентификациялаш.

3. ***Серологик*** — касал қон зардобида,ачитқи замбуруғи АГ ларига қарши АТ нингмиқдорини аниқлаш учун АР ва КБР қўйиш.

Кандидозларда, этиологик даволаш билан бир қаторда патогенетик даволаш усулларини ҳам қўллаш лозим.Ҳозирги вақтда *Candida*ларнинг 50% дан кўпроқ штаммлари нистатинга, 70-75% леворингачидамли. Кандидозга қарши асосий дори воситаларига азол ҳосилалари - кетоконазол (низорал), флуканазол (дифлюкан, флюкостат), итраконазол (орунгал) киради. Генерализациялашган жараёнларда амфотерицин-В ва вориконазол қўлланилади. Иммунтанқисликларда, иммуномодуляторлар қўшимча даволаш воситаси сифатида буюрилиши лозим.

32 БОБ.ЯСАМА ТИШЛАРНИНГ ОҒИЗ БЎШЛИҒИ МИКРОФЛОРАСИ ВА МАҲАЛЛИЙ ҲИМОЯ ОМИЛЛАРИГА ТАЪСИРИ

Ясама тишларнинг оғиз бўшлиғи муҳити ва уни ўтказиладиган тўқималарига узоқ вақт давом этадиган таъсири билан боғлиқ муаммо - ортодонтия ва ортопедия амалиётида ўта муҳим муаммолардан бири ҳисобланади.Ясама тиш материали,у жойлашдиган тўқималар билан мураккаб таъсирлашувга киришади, бу ўз навбатида оғиз бўшлиғи ҳолатига салбий таъсир кўрсатиши мумкин. Бу таъсир,ясама тиш материалининг турига, унинг тузилишидаги хусусиятлари, инсоннинг гигиена қоидаларига риоя қилиш даражаси, организмнингхусусий хоссаларига боғлиқ бўлади.

Ясама тишларни тақиб юриш таъсирида, яллиғланишнинг асосий уч хил клиник шакллари юзага келиши мумкин: чегараланган, тарқоқ, грануляцияланган. “Ясама тишли” стоматитни кўпинча келтириб чиқарадиган сабаблар қуйидагилар: механик шикастланиш, аллергия, *Candida* авлодига мансуб замбуруғлар ва ясама тиш элементлари юзасидаги микроблар тўпламига (“ясама тиш караши”) организмнинг реакцияси. Турлимуаллифларнинг маълумотларига кўра, ясама тишли стоматитларнинг учраш даражаси 30 дан 70% гачани ташкил этади(Ирсалиев Х.И., 2004; Нигматов Р.Н., 2005; Агзамходжаев С.С., 2006).Ясама тиши бор пациентлар кўпинча оғизнинг қуриши, оғиздаги ёқимсиз таъм, ачишиш ва яллиғланиш белгиларига шикоят қилишади.

Бу шикоятларнинг келиб чиқишига, организмга ва оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватларига акрил пластмасса маҳсулотлари (мономерқолдиғи, бензоил пероксиди, аминлар ва бошқ.), нусхаашёларининг катализаторлари ва айрим металларнинг (олтин, хром, никель, палладий, кобальт) таъсири натижасида юзага келадиган аллергик яллиғланишлар сабаб бўлади.Беморларда, бу омилларга қарши ривожланадиган аллергия ҳолатини тери-аллергик синамалар ва иммунологик усуллар ёрдамида ўрганилади. Бунда, оғиз бўшлиғининг айрим маҳаллий ҳимоя омилларидан: лизоцим, фагоцитар кўрсаткич, sIgA даражасининг ўзгариши аниқланади.

Кўпгина тадқиқотчилар,ясама тишли стоматитнинг ривожланишида асосий омил *Candida*уруғига мансуб замбуруғлар деб ҳисоблашади. Нормада, микробиологик усул ёрдамида, бу микроб 30% одамларда lg (2,0±0,1) КҲҚБ/мл миқдорда аниқланади. Тарқоқ ва грануляясама тишли стоматитларда *Candida* замбуруғи 35-94% ҳолларда аниқланади, босма-суртмаларда псевдомицелийнинг аниқланиши 50-98% ни ташкил этади. Шундай қилиб хулоса қилиш мумкинки, ясама тишлардан фойдаланилганида замбуруғларнинг ўсиши учун қулай шароитлар яратилади.Ясаматишларни асосан ёши катта одамлар тақишини ҳисобга олиб айтиш мумкинки, замбуруғлар сонининг ортишига янатизимли омиллар, масалан, қандли диабет, овқатланишнинг бузилиши, иммуносупрессия, кариестомия, ҳар хил дори воситалари таъсир кўрсатиши мумкин. Бундан ташқари, маҳаллий омиллар:механик жароҳатланиш, ясама тишлар гигиенасининг даражаси, углеводларни ортиқчатаънавул қилиш,*Candida*уруғи замбуруғлари ва бактерияларга қўшимча озуқа бериши.Ясама тишли стоматитларнинг айрим шаклларида замбуруғларга қарши даволашнинг (нистатин, амфотерицин-В)самара бериши, бу яллиғланишларда *Candida*уруғи замбуруғларининг билвосита иштирокидан далолат беради.Тўлиқ тиши йўққўпгина беморларда, замбуруғлар нафақат атрофидаги шиллиқ қаватдан, балкимясама тишларнинг юзасидан ҳам топилади, шу сабабли ҳам, замбуруғларни йўқотиш ва кўпайишини тўхтатиш учун, ясама тишлар ва оғиз бўшлиғини кандидозларга қаршиантисептик дори воситалари билан чайиб туриш лозим.

Оғиз бўшлиғида ясама тишларнинг бўлиши резидент микрофлора таркибини сифатий ва миқдорий жиҳатдан ўзгаришига олиб келади (Мухамедов И.М., 2006). Хром-никелли металлдан тайёрланган, олинмайдиган ясама тишлардан фойдаланганларда, 2 ҳафтадан

кейин бактерияларнинг умумий сони камаяди (металларнинг олигодинамик таъсири). Олиб қўйиладиганясама тишларда эсааксинча, 6 ойдан сўнг микрофлора миқдори ясама тиш қўйилишидан олдинги миқдорга нисбатан 2 бараварга ортади (Царёв В.Н., 1996). Барча тадқиқотчилар,тўлиқ олиб қўйиладиган ясама тишлар қўйилганда, резидент микрофлоранинг ўзгаришини аниқлашган. Бунда, эшерихийлар, кандидалар, сарциналарва актиномицетлар сонининг ортиши, лактобактерия ва спирохеталар сонининг камайиши ҳамда оғиз бўшлиғига хос бўлмаган микробларнинг (клебсиеллалар) пайдо бўлиши кузатилади.

“Ясама тишли” карашларнинг микробиологик таркиби ёруғлик ва электрон микроскоплар ёрдамида текширилганида, уларнинг бактериал таркиби гингивитларда бўладиган тиш караши таркибига ўхшаш бўлиб, фақатгина *Candida*уруғи замбуруғлари тиш караши таркибида кўпроқ учрайди.Улартайёқчасимон ва ипсимон бактериялар орасида тарқоқ ҳолда якка-якка жойлашган бўлади.

Кўп йиллардан буён ортопедик стоматологияда, ортодонтик аппаратлар ва пластинкали ясама тишлар асосини тайёрлаш учун акрилатлар ва уларнинг сополимерлари кенг қўлланилиб келинмоқда. Бунда, акрилатларнинг оғиз бўшлиғини маҳаллий ҳимоя омилларига таъсири алоҳида қизиқиш уйғотади.

Е.А. Земская, К. Сыктыгалиев (1982) маълумотларига кўра, тишлари тўлиқ йўқ,ясама тишларга муҳтож қариялар сўлагида лизоцимнинг ўртача миқдори, назорат гуруҳидаги шу ёшдаги одамларникига нисбатан озгина камайганлиги аниқланди (мос равишда (148±20) мкг/мл ва (175±32) мкг/мл).

Этакрил ва фторакс ашёли ясама тишлардан фойдаланувчи беморлар сўлагидаги лизоцим текширилганда, улар узоқ вақт (6 ой) давомида ясама тишларни таққанида, беморларнинг оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватини фермент ҳосил қилиш хоссаси пасайиб бориши кузатилди. Улардан фарқли равишда, бакрил ашёсидан тайёрланган ясама тишлардан фойдаланганлар аралашма сўлагидаги лизоцим миқдорида сезиларли ўзгаришлар кузатилмади ва бу кўрсаткич кузатишнинг барча даврларида ёшига мувофиқ нормага яқин кўрсаткичлар чегарасида сақланиб қолди.

Ушбу беморларда, sIgA миқдори текширилганда, ясама тиш қўйишдан олдин sIgA нинг ўртача миқдори (29±6) мг% ни ташкил этди. Бунда, сўлакдаги иммун оқсиллар миқдори биринчи ва такрорийясама тиш қўйишдан сўнг текширилганда, сезиларли ўзгаришлар

аниқланмади. Шуни таъкидлаш лозимки, этакрил ва бакрил ашёли ясама тишлардан фойдаланувчиларда,биринчи 30 кунгача сўлакдаги sIgA миқдори норма даражасида бўлди. Шу билан бир вақтда, ясама тишларни узоқ вақт (6 ой) тақилганида, sIgA нинг ўртача миқдори ошиши аниқланди, бундайҳолат асосан, ясама тишдан биринчи марта фойдаланувчиларда кузатилди.

С.Д. Арутюнова ва бошқаларнинг (2002),олиниб қўйилувчи ясама тишларни асоси учун пластмасса ашёларини танлаш бўйича ўтказган микробиологик текширувларида қизиқарли маълумотлар келтирилган. Тадқиқотчилар, оғиз бўшлиғида яллиғланишни келтириб чиқарувчиқатъий анаэроб ва факультатив анаэроб бактериялар, шу жумладан кариесоген ва пародонтопатоген микроблар- *Str. sanguis, Prevotella melaninogen, Fusobacterium nucleatum, Cor. xerosis* ҳамда *C. albicans*нинг адгезивлик хусусиятларини ўрганишди. Ушбу бактериялар 13 хил ашёдан тайёрланган ясама тишлар келтириб чиқарган пародонтит бўлган беморлардан бактериологик текширишларда ажратиб олинган.Ҳаммаўрганилган бактерия ва замбуруғлар иссиқ полимеризацияашёларига нисбатан энг юқори адгезивликга эга эканлиги аниқланди. Оғиз бўшлиғи нормофлорасини сақлаб қолиш ва ясама тишлар келтириб чиқарадиган яллиғланиш жараёнларини (стоматитларни) олдини олиш мақсадида, клиник амалиётда совуқ полимеризация ашёларидан (Редонт-03, Dentoplast Bredent, Leocryl ва СВЧ-полимеризация - Acron GC, Akr-MB, Этакрил-02) тайёрланадиган ясама тишларни қўллаш энг келажаги порлоқ ҳисобланади.

Нейлон асосида яратилган пластмассали ашёларга нисбатан оғиз бўшлиғи бактериал ва замбуруғли микрофлорасининг адгезивлик фаоллигини ўрганишга бағишланган тадқиқотлар янада қизиқиш уйғотди(Царёв В.Н. ва бошқ., 2005).Ушбу тадқиқотларда, баъзи граммусбат микроорганизмларнинг (*Str. sanguis, C.albicans*) янги ашёли ясама тишларга адгезияси назорат сифатида олинган фтораксга нисбатан сезиларли даражада паст эканлиги аниқланди.Эҳтимол,микробларнинг паст даражадаги адгезивлиги ушбу пластмассадан тайёрланган ясама тишлар қўйилганидан кейингимослашув даврини мувофиқлаштиради, яъни дисбиоз ва “ясама тишли” стоматитнинг ривожланишини олдини олиши мумкин.Шу билан биргаликда, грамманфий флора ўрганилганда, пигмент ҳосил қилувчи бактероидларнинг (превотеллалар) ўрганилаётган пластмассаларга нисбатан адгезивлик хусусияти

стрептококклар ва *Candida*уруғига мансуб замбуруғларнинг адгезивлиги билан деярли бир хил натижани қайд этди, шу билан бирга, фузобактерияларнинг бу хоссалари сезиларли паст эканлиги кузатилди. In vitro шароитларида ўтказилган тажрибаларнинг натижалари «Valplast», «Fexite-MP» ва «Flexite-Plus» номли янги пластмассали ашёлар фтораксга нисбатан ушбу камчиликдан холи эканлигини исботлади. Бироқ, маълумки in vitro шароитида ўтказилган тажрибалар in vivo шароитидан фарқ қилади, чунки тирик организмда турли бактерияларнинг кўп компонентли ўзаро таъсирлашуви, яънибактериялар коагрегацияси жараёни юз бериб, бунда ҳатто паст адгезивликка эга бактериялар ҳам ясама тишларга колонизация қила олиши мумкин. Шу сабабли ҳам ушбу ашёларнинг клиник синовларини ўтказилиши лозим.

О.В. Зайченко, Н.Д. Новикова, В.К. Ильин (2005)in vitro тадқиқотларида, акрил пластмассали ясама тишларга шартли-патоген микроорганизмларнинг колонизацияси ўрганилган. Ушбу текширишлар асосида муаллифлар, «СтомАкрил» ва «Фторакс» нинг ўрганилган барча намуналарида,*St. aureus* ва *E. coli* каби патоген бактерияларнинг тезда нобуд бўлишини аниқлашган. Бактериялар ва *C. albicans* кўпайишига энг чидамли ашё «СтомАкрил» эканлиги тасдиқланган.

Ўрганилган акрил пластмассаларга («СтомАкрил» ва «Фторакс») оғиз бўшлиғи шартли-патоген микрофлорасининг колонизация қила олмаслик сабабини қуйидагича тушунтириш мумкин: сув ҳаммомида ўтказилган полимеризация жараёнида бактерицид хусусиятга эга бўлган кўпгина мономерлар – метилметакрилат ва бошқа эрувчан моддалар сақланиб қолади.

Янги маълумотлардан бири шуки, ўрганилганашёлар юзасида микроорганизмнинг ҳалок бўлиш тезлиги (ёки сонининг камайиши) материалнинг турига ва кимёвий таркибига ҳамда энг кўп даражада микробларнинг текширилган штаммларига боғлиқ. Масалан, *Ps. aerugenosa* турли пластмассалар юзасида бошқа микробларга нисбатан узоқроқ сақланиб қолади.

М.Ю. Огородников вабошқ. (2007), полиуретан ва акрил пластмасса асосида тайёрланганолиб қўйиладиган ясама тишларга микроблар колонизациясининг динамикасини ўрганиш бўйича клиник-микробиологик текширишлар олиб боришган.Ушбу тадқиқот натижалари асосида муаллифлар, оғиз бўшлиғи микрофлорасининг асосий вакиллари фтораксли ёки иссиқ полимеризация ўхшашларидан

тайёрланган ясама тишларга кучли колонизация қила олиш қобилияти жуда юқори. Аммо, йирингли-яллиғланиш жараёнларини тутиб турувчиальфа-стрептококклар, пептострептококкларва вирулент анаэроб бактериялархамда *Candida*уруғи замбуруғларининг ортиқча кўпайиб кетиши сабабли *Veillonella*ва*Str. salivarius*каби микробиоценознинг муҳим вакиллари сиқиб чиқарилади.Бундан ташқари, текширишлар шуни кўрсатдики, фтораксли ва иссиқ полимеризация ўхшашларидан тайёрланган ясама тишларюзасига вирулент бактериялар биринчи кунлардан бошлаб тўплана бошлайди, кейинчалик эса уларнинг миқдоритезда ортиб боради.

Полиуретан ашёсиасосида тайёрланган ясама тишларни қўллашда юқоридагилардан фарқ қилувчи натижалар олинди. Масалан, вирулент ёки пародонтопатоген бактерияларнинг колонизация қила олиш хусусиятлари ўрганилганда, биринчи суткада ясама тиш устида *A. neslundii* дан бошқа бактериялар колонизация қилмади. Аммо кузатувнинг 7-30 кунларида ҳам *A. neslundii* нинг кучсиз колонизацияси аниқланди. Яна *Candida*уруғи замбуруғларининг ҳам полиуретанга колонизация қила олишихоссаси аниқланса-да, уларнинг миқдори нормал кўрсаткичлардан ортмади.

Шундай қилиб, ушбу текширишларга асосланиб айтиш мумкинки, полиуретандан тайёрланган ясама тишлар акрилдан тайёрланган ясама тишларга нисбатан шубҳасиз устунликка эга.Олинган натижалар асосида, стоматологик амалиётда, асоратларнинг олдини олиш ва пациентларни ортопедик даволаш сифатини ошириш мақсадида полиуретандан тайёрланган ясама тишларни қўллашни тавсия этиш мумкин.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати ҳолатини,ясама тишларни қўйишдан олдин ва кейинги текширишлар шуни кўрсатдики, ясама тиши йўқларга нисбатан ясама тишлардан фойдаланаётганларнинг оғиз бўшлиғиниясама тишлар тагидаги шиллиқ қавати кўпроқ механик омиллар таъсирига учрайди. Бу эса, ясама тиш остидаги кератинли қаватнинг қалинлашишига олиб келади. Preti G., Bassi F., Jani R.M. ва бошқ.(1996) фикрига кўра,кератин ҳажмининг ошиши, яъни кератизацияни оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг мослашувини кўриниши деб қаралади. Тўқималарнинг бундай мослашуви бўлмаса, ясама тишларидан фойдаланиш қийин бўларди. Олиб қўйилувчиясама тишларга нисбатан мослашиш жараёнида ясама тиш остидаги шиллиқ қават электрон микроскопда текширилганда, шу нарса аниқландики (Зуфаров С.А., 1980), пластинкали ясама тишнинг шиллиқ қаватга

механик таъсири натижасида ясама тиш остидаги эпителий ҳужайраларининг функционал фаоллиги ошади ва уларнинг қотиб қолиш жараёни тезлашади.

Кўпгина олимлар, сўлакни ферментатив фаоллиги, pH кўрсаткичлари ҳамда аралаш сўлак микрофлорасинингмиқдорий ва сифатий таркибига олиб қўйиладиган пластинали ясама тишларнинг таъсирини ўрганиш бўйича жуда кўп тадқиқотлар ўтказишган (Алимов С.И., 1976; Боровский Е.В.,2001; Ирсалиев Х.И.,2001).

Шиллиқ қаватда яллиғланишни келтириб чиқарувчи омиллардан бири бу оғиз бўшлиғи гигиенасининг бузилишидир. Оғиз бўшлиғида ясама тишларнинг бўлиши оғиз бўшлиғи гигиенасини сезиларли даражада ёмонлаштиради (Михайлов В.В.,1990; Темирбаев М.А.,1991; Копейкин В.Н.,1993).

Олиб қўйилувчиясама тишларга нисбатан мослашиш муаммолари кўриб чиқилганда, пластмассаларнинг ғоваклиги ва ғадир-будирлиги ясама тишни ифлосланишига олиб келади ва бу сезиларли даражада биологик мослашувни қийинлаштиради.

Ясама тиш стоматитидан ясама тишни кўтараолмасликни фарқлаш лозим. Ясама тишни кўтараолмасликда фақатгина субъектив сезгилар, масалан, шиллиқ қаватнинг ачишиш, оғизда яра бордек таассуротни бўлиши, таъм билишнинг бузилиши ва ҳ.к. кузатилади.

Ясама тишларнинг зарарли таъсири шундаки, уларнинг таркибидаги кимёвий моддалар оқсиллар билан бирикиб, антигенларни ҳосил қилади ва булар организм сенсибилизациясини чақиради. Масалан, акрил пластмассали ясама тишлар глосситлар, стоматитлар, бронхиал астма, экзема каби касалликларни келтириб чиқариши мумкин.

У.У. Рустамбеков (2007) томонидан қизиқарли маълумотлар олинган: оғиз бўшлиғидаги ҳар қандай аралашувлар, унинг микрофлораси ва маҳаллий ҳимоя омилларига таъсир қилади. Бунда аниқланишича, соғлом одамларда тиш нусхасидаги микрофлоранинг миқдорий кўрсаткичлари турлича бўлиб, масалан, ясама тиш қўйишдан олдин стафилококкларнинг миқдори(15,2±0,58) КҲҚБ/см^2 ни ташкил этган бўлса, ясама тиш қўйилганидан 60 кун ўтиб(10,0±0,42) КҲҚБ/см^2 га тенг бўлди.

Бироқ, микроорганизмларнинг энг катта гуруҳини стрептококклар ташкил этди.Аммо муаллифнинг таъкидлашича, тишнинг тож қисми парчаланган беморларда ушбу кўрсаткичлар кескин ўзгаради,

бунда,умумий микроблар сони соғлом одамлардагига нисбатан 3 марта ортади (32,1-жадвал).

32,1-жадвал

Акрил пластмассали ясама тишлардан фойдаланувчи одамлар оғиз бўшлиғининг маҳаллий микрофлорасини ҳолати (M±m) КҲҚБ/см²)

Микроблар гуруҳи	1 см² юзадаги микроблар миқдори				
	меъёр	ясама тиш қўйишдан олдин	ясама тишдан фойдаланиш вақти		
			14 кундан сўнг	30 кундан сўнг	60кундан сўнг
Стрептококклар	12,1±0,58	17,3±0,68*	7,0±0,22*	9,0±0,34*	6,0±0,23*
Стафилококклар	5,1±0,14	15,2±0,58*	8,0±0,23*	12,0±0,47*	10,0±0,42*
Дифтероидлар	5,0±0,15	2,1±0,06*	3,2±0,15*	3,4±0,14*	2,0±0,06*
Эшерихийлар	-	7,0±0,27	2,0±0,10	-	-
Лактобактериялар	5,0±0,13	3,0±0,15*	12,0±0,47*	8,0±0,23*	7,0±0,22*
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	4,0±0,12	2,10±0,06*	10,0±0,40*	8,0±0,33*	16,0±0,48*

Изоҳ: * - меъёрга нисбатан ишончли фарқ

Жадвалда келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, соғлом одамлар оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати микрофлорасида камгина микроблар учрайди, улардан энг кўп учрайдигани стрептококклар бўлиб, энг ками – замбуруғлардир. Бироқ оғиз бўшлиғида, олиб қўйиладиган ясама тишлар қўйишни талаб қилувчи, патологик ўзгаришлар вужудга келиши билан стрептококк ва стафилококклар сони ишончли ортади. Бироқ, дифтероидлар, лактобактериялар ва *Candida*уруғи замбуруғлари сони аксинча ишончли камаяди, лекин шу билан бирга бу биотопга хос бўлмаган микроблар – эшерихийлар миқдорини ўсиши кузатилади.

Пациентларда,ясама тиш қўйилгандан 14 кун ўтгач ижобий натижалар олинади, яъни стрептококклар, стафилококклар ва эширихийлар сони ишончли камаяди,аммо бунда лактобактериялар ва *Candida*уруғи замбуруғлари сони кескин ортади.

Олиб қўйиладиган ясама тишдан фойдаланишнинг кейинги даврларида (60 кундан сўнг) ижобий натижалар сақланиб қолди, лекин стафилококклар ва *Candida*уруғи замбуруғлари сонимеъёрга нисбатан 2-4 марта ошгани сергак тортиради, чункишу ҳолат ясама тиш стоматитини келтириб чиқариши мумкин.

Беморларда оғиз бўшлиғининг маҳаллий микрофлораси билан бир қаторда, уларнингоғиз суюқлиги микрофлораси ҳам текширилди (8-жадвал). Бунда, соғлом одамларда анаэроб микроблар миқдор

жиҳатдан доимо аэроблардан устунлик қилиши кузатилди. Бироқ оғиз бўшлиғида патологик жараёнлар (кариес, пародонтит ва б.) бошланганида сўлак микрофлораси миқдорий ва сифатий жиҳатдан жиддий ўзгариши аниқланди.Жадвал келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, ясама тиш қўйишга мурожаат қилган беморларнинг оғиз бўшлиғида анаэроблар (лактобактериялар миқдори 3 мартагача) камайган, афтидан бу pH муҳитини нейтрал томонга силжиши билан боғлиқ бўлиши мумкин. Бунда, кўпгина патогенлик омилларига эга микроблар - *St. aureus*, патоген стрептококклар ва эшерихийлар аниқланди. Қизиқарли томони шундаки, олиб қўйиладиган ясама тиш қўйилганидан 14 кун ўтиб,оғиз суюқлиги микрофлорасида ижобий силжишлар кузатилди.

Ясама тишларда учрайдиган ҳам тирик, ҳам ўлик микрофлора бутун организмга таъсир қилади. Уларнинг маҳаллий таъсири бактериал токсинларни ишлаб чиқаришларига асосланган бўлиб, бу токсинлар шиллиқ қават яллиғланишини юзага келтиради ёки шиллиқ қаватда яллиғланиш олдиндан бўлган бўлса, бу жараённи сақлаб туради (Балаклиец Н.И., 1991; Гаврилов Е.И., 2001).

Шунинг учун, ясама тишларни қўллаш муддатини узайтириш ва стоматологик касалликларнинг олдини олиш учун олиб қўйиладиганясама тишларни доимий равишда тозалаб туриш зарур (Щербаков А.С., 2001; Требузов В.Н.,2002).

Оғиз бўшлиғи гигиенасининг ёмонлашиши билан сўлакдаги иммуноглобулинлар миқдори ортади, маҳаллий иммунологик реакцияларнинг сусайиши стоматологик патологияларнинг ривожланишида асосий сабабчи ҳисобланади (Земская Е.А., 1982; Булгакова А.И., 2001).

32.2-жадвал

Акрил пластмассали ясама тишлардан фойдаланувчи одамларнинг оғиз суюқлиги микрофлорасини ҳолати (lg (M±m) КҲҚБ/мл)

Микроблар гуруҳи	1 мл сўлакдаги микроблар миқдори		
	меъёр	ясама тиш қўйишдан олдин	14 кундан сўнг
Анаэробларнинг умумий миқдори	7,6±0,28	4,2±0,14*	5,1±0,22*
Лактобактериялар	5,9±0,21	1,9±0,06*	3,3±0,14*
Пептострептококклар	6,0±0,24	2,3±0,05*	4,5±0,21*
Аэробларнинг умумий миқдори	6,3±0,25	8,9±0,28*	8,1±0,24*
Дифтероидлар	5,5±0,14	1,4±0,06*	1,9±0,05*

St. aureus	-	2,1±0,06	1,1±0,04
St. epidermidis	3,1±0,13	2,5±0,10	2,1±0,07
А гуруҳи стрептококклари	-	1,7±0,06	2,3±0,07
D гуруҳи стрептококклари	4,3±0,21	3,9±0,15	3,1±0,12*
Лактоза мусбат эшерихийлар	-	2,5±0,08	1,3±0,03
Лактоза манфий эшерихийлар	-	3,3±0,11	2,1±0,05
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	1,3±0,04	3,5±0,16*	2,5±0,11*

Изоҳ: * - меъёрга нисбатан ишончли фарқ

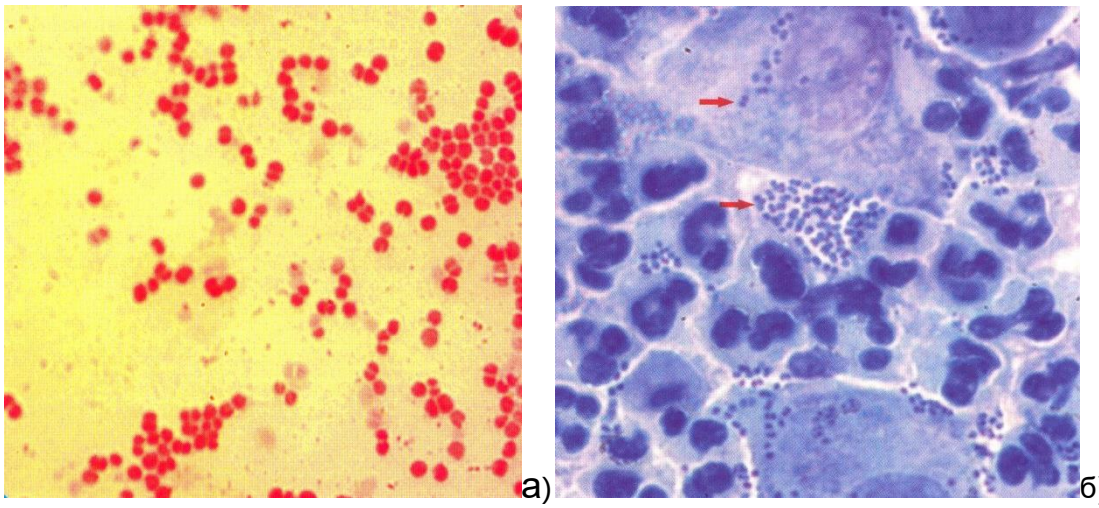
33 БОБ.БАКТЕРИАЛ ИНФЕКЦИЯЛАР ВА УЛАРДА ОҒИЗ БЎШЛИҒИДАГИ ЎЗГАРИШЛАР

Чақалоқларда **гонококкли стоматит** кам учрайди, асосан бу зарарланган туғиш йўлларидан бола туғилаётганда унинг оғиз бўшлиғига гонококкларнинг тушишидан келиб чиқади. К.А.Карышев (2009) маълумотларига кўра, бу касаллик катталарга нисбатан болаларда кўп учрайди, лекин жараён диагностикадаги камчиликлар туфайли аниқланмай қолади. Шу билан биргаликда, касалликнинг субъектив белгиларсиз кечиши, беморларни ўзини ўзи даволаши каби ҳолатлар туфайли беморлар шифокорлар назоратидан четда қолмоқда.

Оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг зарарланиши гомосексуалист эркакларда ва орогенитал жинсий алоқада бўлганларда қайд этилади. Б.М.Пашков (1963) фикрича 2 та юқиш йўли мавжуд. Бевосита ва тез-тез учрайдиган юқиш йўли – бу гонококкларнинг оғиз бўшлиғига экзоген йўл билан тушиши ҳисобланади (аутоинокуляция). Иккинчиси лимфо- ва гематоген йўллар. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати сўзаги асосан симптомсиз кечади. Кам ҳолларда томоқда оғриқ кузатилиб, тана ҳарорати ошади. Гонококкли стоматитнинг биринчи белгилари: оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати гиперемияси, шиш, унча катта бўлмаган эрозияларни пайдо бўлиши ва ёпишқоқ шиллиқ-йирингли ажралмалар. Даволанилмаса лунж, тил, ва милкларда эрозия ва яралар сони ошади. Яралар одатда кичик ўлчамда, юзаки, четлари нотекис, кам оғриқли, сариқ-кулранг ажралмаси бўлиб, бу ажралмадан гонококкларни топиш мумкин. Кўпинча гонококкли стоматит тилда яра ҳосил бўлиши билан ҳам бошланади (Lachner I. ва ҳаммуал., 1987).

Касалликнинг тарқалган босқичининг тавсифли белгиси – тилнинг марказий папилляр атрофияси ҳисобланади (Escobar V. ва ҳаммуал., 1984). Ундан қирма олиб текширилганда кўп миқдорда *Neisseria gonorrhoeae* топилади (24-расм). Шуни ёддан чиқармаслик керакки,

бундай клиник белгилейкоплакияда ҳамда кандидозда ҳам учрайди (бироқ сўзакда атрофия ўчоғи юзаси силлиқ ва бир хил бўлиб, оқиш фасод билан қопланмаган бўлади) (25-расм).



а) б)

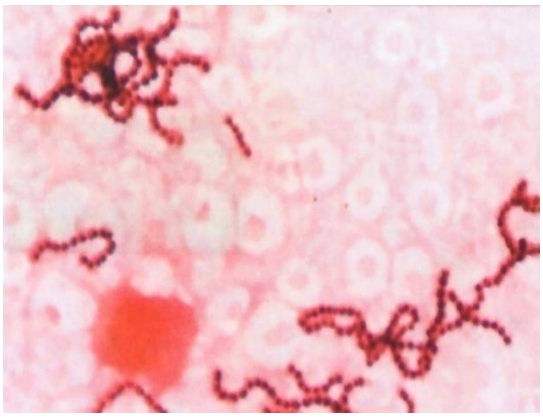
33.1-расм. Гонококкларнинг соф культураси (Грам бўйича бўялган)(а),йирингдан олинган суртмадаги гонококклар (метилен кўки билан бўялган) (б)

33.2 - расм. Гонококкли стоматит

Тилнинг зарарланиши доимо яра-мембранозли тавсифга эга бўлади. Умуман, бошида тилнинг вентрал устки қисми, кейинчалик эса ҳамма томони шикастланиши мумкин. Шиллиқ қават оч-қизил ва шишган кўринишда бўлиб, экссудатли папула пайдо бўлади, касаллик зўрайганида шикастланган жойлардан сариқ-йирингли ажралмалар ажралади ва бу ажралмаларда гонококклар аниқланади. Ҳар қандай ташқи таъсирлар (мацерация, майда жароҳатлар) эрозия ва ёриқларни юзага келтиради, улар эса тезда ярага айланиб, қонайди ва сариқ-кулранг фасод билан қопланади. Тилнинг орқа устки қисмидаги кўп сонли эрозия ва яралар ўткир аллергик глосситни эслатади.

Escobar V. ҳаммуаллифлари билан (1984), гонококк билан шикастланган ўчоқлар, кўпинча иккиламчи инфекция ҳисобига оғирлашишини ва махсус даволаш усуллари қўлланилмаса, узоқ вақтгача сақланиб қолишини кўрсатиб берди. Қўлланиладиган маҳаллий антисептиклар иккиламчи инфекция билан курашишга ёрдам беради, аммо яраларнинг эпителизациясига деярли ёрдам бермайди.

Скарлатина – иситмалаш, интоксикация, ўткир тонзиллит ва кўп майда тошмалар билан таърифланадиган ўткир юқумли касаллик. Скарлатина қўзғатувчилари - токсиген стрептококкларнинг А гуруҳига мансуб, яъни экзотоксин (син. – Дик токсини, скарлатинали токсин) ишлаб чиқарувчи микроорганизмлардир (26-расм).



33.3-расм. Қон суртмасидаги стрептококклар (Грам усулида бўялган)

Инфекция манбаи - кўпинча скарлатина билан, кам ҳолларда эса ангинабилан оғриган беморлар ва стрептококклар токсиген штаммларини ташувчилардир (соғлом ёки стрептококкли касалликлардан кейинги реконвалесцентлар). Стрептококкларнинг асосий юқиш йўли ҳаво-томчи йўли ҳисобланади. Маиший алоқа йўли (боғлов ашёлари, касалнинг буюмлари ва маиший буюмлар) ва озиқ-овқат маҳсулотлари орқали касалланиш иккиламчи аҳамиятга эга. Кириш дарвозалари бўлиб, оғиз-ҳалқум шиллиқ қавати ёки жароҳат (куйган жой) юзаси, айрим ҳолларда ўпкалар хизмат қилади. В.Д.Цизерлинг (1978) маълумотлари бўйича, стрептококкли инфекциянинг биринчи ўчоғи 97% ҳолларда оғиз-ҳалқумда, 2% - терида ва 1% ҳолатда ўпкада бўлади.

*Патогенези.*Одамларнинг А гуруҳ стрептококклари токсиген штаммлари билан касалланиши натижасида инфекцион жараёнга хос маҳаллий ва умумий белгилар ривожланади. Бу белгилар

макроорганизмнинг касаллик қўзғатувчини антигенлари ва ҳаёти фаолияти давомида ишлаб чиқаридан маҳсулотлари билан таъсирлашиши ҳисобига юзага келади. Стрептококкларнинг қобиғида жойлашган липотейхоева кислотаси уларни лимфоид ҳужайраларга бирикишини таъминлайди, М-оқсили фагоцитлар фаолиятни сусайтиради. Микроб ҳужайрасининг капсуласи эса макроорганизм биологик суюқликларидаги протеолитик ферментларга қарши чидамлилигини таъминлайди. Маҳаллий таъсири, кириш дарвозалари ҳисобланадиган тўқималарда яллиғланиш реакцияси билан тавсифланса, умумийси эса макроорганизм марказий нерв, юрак-томир ва бошқа тизимларнинг токсик шикастланиши кўринишида намоён бўлади. Скарлатинали тошма, стрептотоксикознинг клиник белгиси ҳисобланади. У морфологик, тери усти қаватларининг яллиғланиши, майда қон томирларнинг кескин кенгайиши ва кейинчалик эпителийнинг некрози билан тавсифланади.

Скарлатинада яширин давр 1 кундан 12 кунгача (кўпинча 1-3 кун) давом этади. Касаллик ўткир бошланади. Беморда алтираш, умумий ҳолсизлик, бош оғриғи, ютишда оғриқ пайдо бўлади, иштаҳа бузилади ва бир неча соат ичида тана ҳарорати кўтарилади (38-39^{0}C). Кейинчалик интоксикация белгилари (умумий ҳолсизлик, бош оғриғи кучаяди, иштаҳа йўқолади, болаларда кўнгил айниш ва қайт қилиш қўшилади) ва ўткир тонзиллит симптомлари (ютишда томоқдаги оғриқ, оғиз-ҳалқум шиллиқ қавати гиперемияси, жағ ости лимфа тугунларининг катталашиши ва оғриқлилиги) кучайиб боради. Шу билан бир вақтда, юмшоқ танглай лимфоид ҳужайралари шишади. Улар 1-1,5 мм диаметрдаги оч-қизил рангдаги бўртмачалар кўринишини олади. Касаллик бошланганидан 6-12 соат ўтгач бемор терисида экзантема пайдо бўлади. Бошланишида у бўйин, тананинг юқори қисми, оёқларнинг проксимал бўлимларида яққолроқ бўлиб, бурун-лаб учбурчаги соҳасида кузатилмайди. Гиперемия фонида тошма кўпгина қўшилиб кетган нуқтали элементлардан ташкил топган бўлади. Скарлатинанинг доимий белгиси ўткир тонзиллит ҳисобланади. Қадимдан “ангинасиз скарлатина бўлмайди” деган тушунча мавжуд бўлиб,унда тонзиллит скарлатинада доимий синдром эканлиги таъкидланади. Тонзиллит оғиз-ҳалқум ва бодомча безларининг гиперемияси ва шиши билан таърифланади. Кўпгина ҳолларда тонзиллит катарал, кам ҳолларда йирингли бўлади. Касаллик оғир кечганида бодомча безларнинг шикастланиши некротик ўзгаришлар билан бирга кечади. Бу беморларда некротик жараён

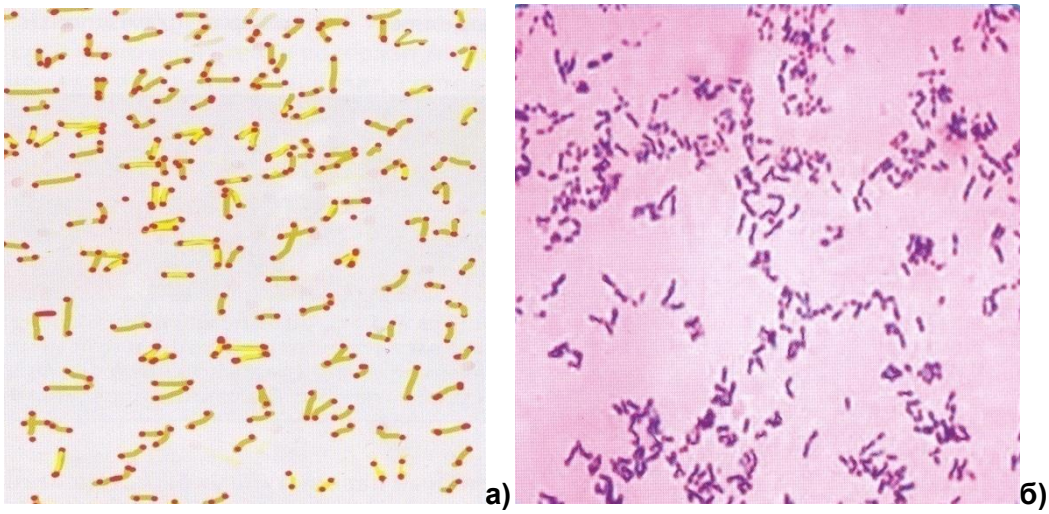
атрофдаги тўқималарга ҳам тарқалади. Бунда юмшоқ танглай билан тўқималарнинг оч-қизил гиперемияси кузатилади ва шунинг учун ҳам у “ловуллаб ёнувчи ҳалқум” деб аталади. Касалликнинг 3-4- кунида тил учи фасоддан тозаланади ва тил тўқ-қизил рангли, донадор кўринишига эга бўлади (27-расм). Унинг бундай кўриниши 7-10 кун давомида сақланиб қолади.

33.4-расм. Скарлатинадаги қизил тил

Асоратлари. Скарлатинанинг стрептококкли сепсис, аденофлегмона ва мастоидит каби оғир асоратлари этиотроп восита сифатида бензилпенициллин қўлланила бошлангандан сўнг амалиётда учрамаяпти. Ҳозирда фақат асоратлардан отит ва синусит учраб турибди. Касалликдан сўнг постстрептококкли касалликлар - инфекцион-аллергик (токсик) миокардит ва нефритлар ҳам юзага келиши мумкин.

Скарлатинани экзантема билан кечувчи бошқа касалликлардан фарқлаш лозим, буларга қизилча, сохта силнинг скарлатинасимон шакли, организмнинг дори ёки бошқа ёт табиатли антигенларга (гаптенлар) қарши аллергик реакцияси киради.

Бўғма (юнонча diphtheria, diphtheria – тери, парда) – қўзғатувчи кирган жойда (кўпинча оғиз-ҳалқум ва нафас олиш йўлларининг шиллиқ қаватлари) махсус токсин таъсири натижасида фибриноз яллиғланиш, парда ҳосил бўлиши билан бирга ривожланадиган ва яллиғланиш ўчоғи катталигига мос келадиган интоксикация, юрак-томир, асаб ва сийдик чиқариш тизимларининг шикастланиши билан кечадиган юқумли касаллик.



а) **б)**

33.5-расм. Бўғма қўзғатувчисининг соф культураси (Нейссер бўйича бўялган (а), Лёффлер бўйича бўялган (б)

Этиологияси. Бўғма қўзғатувчиси - токсиген бўғма коринебактериялари (*Corynebacterium diphtheriae*) четлари кенгайган таёқчалар ҳисобланади (28-расм). Токсиген коринебактериялар бўғма экзотоксинини синтез қилувчи tox+ генга эга бўлади.

Эпидемиологияси. Инфекция қўзғатувчисининг манбаи: бўғма билан касалланган бемор ва бўғма коринебактерияларининг токсиген штаммини ташувчилар ҳисобланади. Асосий юқиш йўли – ҳаво-томчи йўл бўлиб, қўзғатувчининг ажралиши оғиз-ҳалқум ва бурун яллиғланиш касалликлари, жумладан, ўткир вирусли респиратор инфекциялари бор одамларда кучаяди. Жуда кам ҳолларда, инфекция алиментар йўл билан юқиши мумкин. Иқлими иссиқ регионларда маиший-алоқа йўли орқали юзага келадиган тери бўғмаси кузатилади.

Патогенези. Бўғма қўзғатувчисининг кириш дарвозалари бўлиб оғиз-ҳалқум, бурун, ҳиқилдоқ, кам ҳолларда кўз, жинсий аъзолар шиллиқ қаватлари ва терининг жароҳатланган соҳалари хизмат қилади. Бўғма қўзғатувчисининг кириш жойида (кўпинча бодомча безлари соҳасида) фибриноз яллиғланиш юзага келиб, унинг асосида эпителий тўқимасининг некрози ва майда томирлар парези ётади, бу

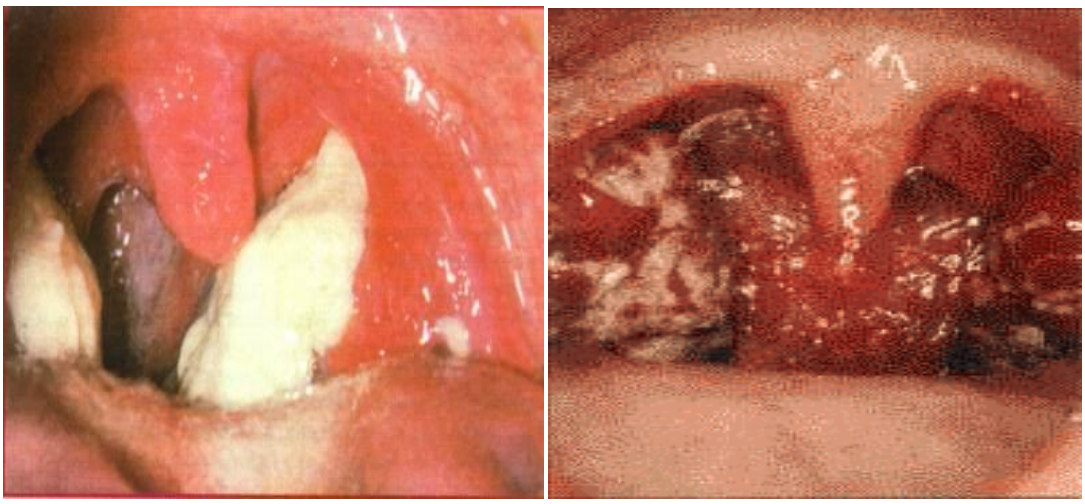
ҳолат фибрин билан бой экссудатни тер билан чиқишига олиб келади. Экссудатни тромбопластинга бой некротик соҳалар билан таъсирлашуви натижасида фибринозли пардалар ҳосил бўлади. Қон билан намиққан, некрозга учраган тўқималар, бўғма қўзғатувчиларининг авж олиб ўсишига хизмат қилувчи озиқ муҳит ҳисобланиб, экзотоксин ҳосил бўлиши ва уни фракцияларга бўлиниши натижасида патологик жараён зўраяди. Яллиғланиш ўчоғидан экзотоксин қонга тушади ва қон орқали ҳар хил аъзо ва тўқималарга боради. Бўғманинг оғир заҳарли шаклларида инфекцион-токсик шок ва диссеминирланган томир ичи ивиш синдроми (ДВС-синдром) ривожланиб, бу кўпинча эрта ўлимга сабаб бўлади. Ушбу ҳолатларда, нафас йўлларининг обструкцияси натижасидаги асфиксия ва зотилжам ҳам ўлим сабабчилари бўлиши мумкин.

Иммунитети. Бўғмага қарши туғма иммунитет онадан ҳомилага йўлдош орқали ўтган бўғма антитоксинлари билан боғлиқ. Унинг давомийлиги бир неча ҳафтадан бир неча ойларгача давом этади. Бўғмадан тузалгандан сўнг юзага келадиган иммунитет узоқ вақт давом этмайди. Масалан, эмланмаган, бўғма билан касалланиб тузалган болалар (6-9 ойдан сўнг) қонидаги бўғма антитоксинининг миқдори кўпинча ҳимоя қила олиш даражасигача етмайди (0,03 ХБ/мл).

Клиник кўриниши. Яширин даври бир неча соатдан 12 кунгача, кўпинча 2-7 кунни ташкил қилади. Продромал даври қисқа бўлади, касаллик бошланишидан 5-7 кун олдин 1-2 кун давомида иситмалаш, томоқда оғриқ, бодомча безлари гиперемияси кузатилади. Кўпинча (15-20% гача ҳолатларда) бўғмадан олдин ўткир респиратор вирусли инфекциялар юзага келади.

Касалликнинг энг кўп учрайдиган клиник шакли оғиз-ҳалқум бўғмаси бўлиб, у бўғма билан касалланган 95-97% катталар ва эмланган болаларда ҳамда 60-65% эмланмаган болаларда қайд қилинади.

Даволанишда бўғмага қарши зардоб олмаган, эмланмаган болаларнинг бир қисмида жараён зўраяди, бунда енгил клиник шакл оғир шаклга (зўрайиб борадиган ёки рецидивли кечувчи) ўтади (29-расм).



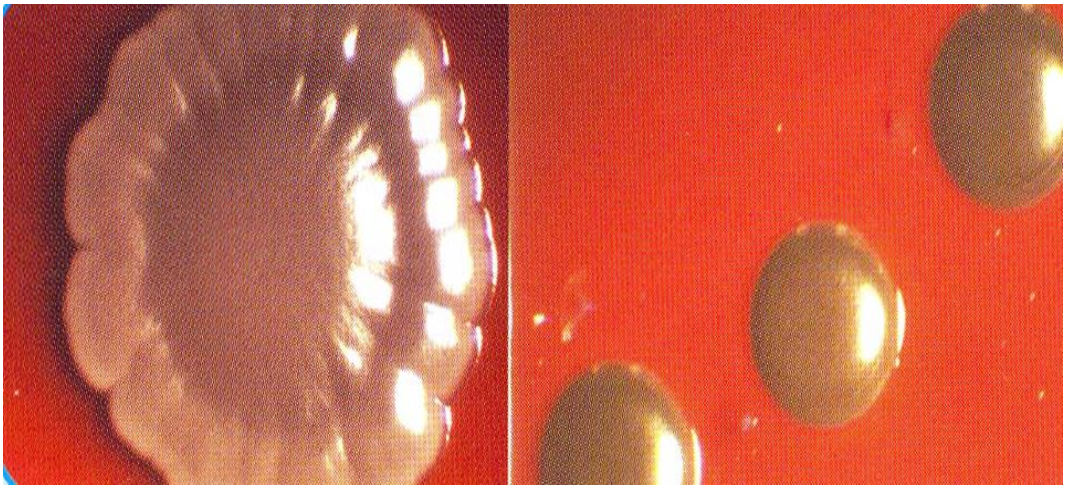
33.6-расм. Оғиз-ҳалқум бўғмаси

Бўғма кечишининг хусусиятлари беморнинг ёшига боғлиқ. Ёши кичик болалар ва 30 ёшдан ошган катталарда бўғма оғир кечади.

Эмланган болаларда бўғманинг тавсифи. Эмланган болаларда бўғманинг ҳамма клиник шакллари ичида, оғиз-ҳалқум бўғмасининг маҳаллий (чегараланган) шакли кўпроқ учрайди (тахминан 90%), жараённинг оғирлашиши ва тарқалиши кузатилмайди, асоратларсиз, ўз-ўзидан тузалиб кетиши аниқланган. Эмланган болаларда бўғманинг томоқдаги пардаси қонамасдан енгил олинади ва буюм ойначалари орасида қисман эзилади. Эмланган болаларда, эмланмаган болаларга қараганда, кўпроқ оғиз-ҳалқум бўғмасининг клиник белгилари аниқ намоён бўлмайдиган шакли кузатилади (30-расм). Асфиксия ва зотилжам ҳиқилдоқ бўғмаси асоратлари ҳисобланади.

33.7 - расм. Ҳалқум бўғмаси

Бактериологик текширувлар оғиз-ҳалқум, бурун шиллиғи суртмалари ва бошқа жойда жойлашган ўчоқлар ажралмасидан бўғма коринебактериялари культурасини ажратиб олиш, гелдаги преципитация реакцияси ёрдамида қўзғатувчининг токсиген хоссаларини ўрганиш ва биоварларини (gravis, mitis, intermedius, biflantis) аниқлаш учун унинг биокимёвий хоссаларини ўрганишни ўз ичига олади (31-расм).



33.8-расм. *C. diphteriae*gravis (чапда), mitis (ўнгда) колониялари

Патологик материални олиш учун стерил қуруқ тампонлар ишлатилади, ҳар хил жойларда жойлашган ўчоқлари учун алоҳида тампонлардан фойдаланилади. Ҳалқумдан шиллиқни эрталаб оч қорнига ёки овқатлангандан кейин 2 соатдан кам бўлмаган вақт ичида, чайиш ва маҳаллий даволаш усулларини қўллашдан олдин олиш лозим. Намунани танглай бодомча безларидан, танглайдан, ҳиқилдоқнинг орқа устки қисмидан кўз билан назорат қилиб туриб, тампонни айланма ҳаракатлантириб, шпатель ёрдамида тил босилиб туриб олинади. Тампон тил, лунж ва тишларга тегиб кетмаслиги шарт.

Бўғма фасоди борлигида материал зарарланган ва соғлом тўқималар чегарасидан олинади. Ҳар бир тампон алоҳида стерил пробиркага солинади ва у зич ёпилади. Бир одамдан олинган ашёли пробиркалар бирга боғланади, тамғаланади ва ашё олинганидан 2 соат ўтмасдан бактериологик лабораторияга юборилади.

Бўғма коринебактериялари токсигенлигини тасдиқловчи мусбат жавоб 48-72 соатдан сўнг, манфий жавоб 48 соатдан кейин берилади. 95-98% беморларда бўғма ташҳиси бактериологик усул билан тасдиқланади.

Дифференциал ташҳиси. Маҳаллий оғиз-ҳалқум бўғмасини кўпинча стрептококк ва стафилококкли этиологияли лакунар ва фолликуляр ангиналардан фарқлаш лозим бўлади.

Ангина ўткир бошланиши, 1-3 кунли продромал даври ва тўлқинсимон кечиши билан таърифланади. Стрептококкли ангинада тана ҳарорати кўпинча юқори, стафилококкли ангинада эса меъёрда ёки субфебрил бўлиб, кейинчалик кўтарилади. Ҳарорат реакцияси маҳаллий жараённинг кечиш муддатига мос келади. Оғиз-ҳалқумнинг чегараланган бўғмасига нисбатан интоксикация (айниқса, стрептококкли ангинада) жадалроқ кечади, унинг симптомлари хилма-хилроқ бўлади. Масалан, ангинада кучли бош оғриғи, қалтираш, кўпинча қайт қилиш, алаҳлаш, ҳаяжонланиш, оч қизил рангли лунж, кўз ялтираши ва лабларнинг қуриши кузатилади. Ютганда оғриқ, регионар лимфа тугунларининг қаттиқлиги ва оғриқлилиги ангинада кучлироқ намоён бўлади. Кўпинча, айниқса, ангина қайталанганда, лимфа тугунининг реакцияси бодомча безлардаги жараёнларга нисбатан кучлироқ кечади.

Бўғмадан фарқли равишда, бодомча безларининг ҳар хил қисмларидаги инфильтрация, шиш ва гиперемия бир хил намоён бўлмайди, уларнинг усти нотекис, фасодлари ҳар хил бўлади. Фолликуляр ангинада фолликулаларнинг йирингли эриши (микроабсцесслар) кузатилиб, уларнинг ёрилиши натижасида бодомча безлари устига йиринг ажралади, янги микроабсцессларни ҳосил бўлиши тана ҳароратини ошиши билан бирга кечади.

Лакунар ангинадаги фасодлар нуқтали, йўл-йўл бўлиб, улар бир-бирлари билан қўшилиб, ҳар хил катталикдаги ва шаклдаги оролчалар пайдо қилади.Фасодлар лакуна йўналишда жойлашган бўлиб, детрит ва йирингдан ташкил топган, юмшоқ, енгил олинадиган ва буюм ойначалари орасида эзиладиган бўлади. Фасод бодомча безлари юзаси бўйлаб тарқалганда уларнинг қалинлиги бир хил бўлмай,

лакуналар устида қалинроқ бўлади. Бундай фасодлар консистенцияси, ранги, қалинлиги бўйича ҳар хил, устки қисми нотекис бўлади, зич қисмларидан олишда қон кетиш кузатилади, улар буюм ойначалари орасида эзилмайди. Лакунар-фолликуляр ангинада бодомча безлари яллиғланиш реакцияларининг иккала тури бирга учрайди. Ўткир респиратор вирусли инфекциялар фонида ривожланувчи стафилококкли ангинада, сохта пардали фасод шаклланиши мумкин, у усти текис, яхлит, асосан юмшоқ бўлиб, баъзан бодомча безлари чегарасидан ҳам кенгроққа тарқалади.

Кенг тарқалган оғиз-ҳалқум бўғмасини Симановский-Плаут-Венсен ангинаси, оғиз-ҳалқум шиллиқ қаватларининг куйиши ва стоматитлардан фарқлаш лозим. Симановский-Плаут-Венсен ангинасида тана ҳарорати кўпинча субфебрил бўлади, интоксикация ва ютишдаги оғриқ яққол намоён бўлмайди, бодомча безларининг юқори қутбида ва танглайда ўйилгансимон яра жойлашган бўлиб, юмшоқ сузмасимон масса билан қопланган бўлади.

Оғиз-ҳалқум шиллиқ қавати куйганда некротик фасод асосан лаблар, тил, танглай, тилча ва ҳиқилдоқ орқа устки қисмида жойлашади. Бодомча безлари соҳасида некрозлар кам бўлади ёки бўлмайди.

Стоматит бўғмадан фарқли ўлароқ узоқ давом этувчи иситмалаш, сўлак оқиши, кучли оғриқ, оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати, шу жумладан бодомча безларида кўпгина афтоз элементлар борлиги билан тавсифланади. Афтоз элементлар юмалоқ текис некротик пилакчалар кўринишида бўлиб, атрофи гиперемияли ҳалқа билан ўралган бўлади. Оғир ҳолларда бу пилакчалар кенгайиб, катта соҳада некроз кузатилади.

Листериоз (синонимлари: листереллёз, Йўлбарс дарёси касаллиги, невреллёз, чақалоқлар гранулематози) – зооноз гуруҳга мансуб юқумли касаллик. Касаллик одамда ўткир сепсис шаклида (марказий нерв тизими, бодомча безлари, лимфатик тугунлар, жигар, талоқ шикастланиши билан) ёки сурункали шаклда (яққол клиник белгиларсиз) кечади.

Этиологияси. Қўзғатувчиси – *Listeria monocytogenes* калта (0,5-0,6 мкм), граммусбат, аэроб, ҳаракатчан таёқчалар ёки коккобактериялар бўлиб, силлиқ колониялар кўринишида ўсади. Капсула ва спора ҳосил қилмайди (32-расм). Листериялар ҳайвонлар учун патогенлик хоссаларига эга: 1) қуён ёки денгиз чўчқачалари кўз конъюнктивал халтачасига юборилгандан 3-5 кун ўтгач, кератоконъюнктивит

чақиради (Антони реакцияси); 2) вена ичи ёки қорин бўшлиғига юборилганда генерализациялашган листериоз чақиради, бунда қуёнларда моноцитоз ва сичқонлар жигарида ўчоқли некроз кузатилади.

33.9- расм. Листерия соф культурасидан олинган суртма (Грам бўйича бўялган)

Эпидемиологияси. Листериоз дунёнинг ҳамма давлатларида учрайди. ЖССТ (1993) маълумотларига кўра 1990 йил листериозли 1167 ҳолат аниқланган, уларнинг барчасида қўзғатувчи ажратиб олиниб, тасдиқланган. Ўлганлар ичида 147 таси чақалоқлар бўлган. Листериозда ўлим даражаси 5% дан 33% гача ўзгариб туради. Инфекциянинг табиатдаги манбаи бўлиб, кемирувчиларнинг кўпгина турлари, асосан сичқонсимонлар ҳисобланади. Шунингдек, листерияларни уй ҳайвонларидан (қуён, чўчқа, от, сигир, товуқ, ўрдаклар) ҳам ажратиб олишга муваффақ бўлинган.

Листериялар кўпинча, ҳар хил озуқаларда (ачитилган хашак, пичан, дон), одам нажаси (1-5%) ҳамда ҳар хил маҳсулотларда топилган. Листерияларнинг кенг тарқалганлигига қарамай, касалланиш унча юқори эмас (йилда 1 млн аҳолига 2-3 ҳолат). Асосан ёз фаслида, кўпинча шаҳар аҳолиси касалланади. Асосий юқиш йўли алиментар йўл бўлиб, кўпинча бактериялар билан ифлосланган маҳсулотлар истеъмол қилинганда юқади. Листериоз билан касалланган онадан ҳомилага ўтиши тасдиқланган. Одамнинг бемор ҳайвонлар билан мулоқот қилганида юқиш эҳтимоли кам.

Патогенези. Инфекция дарвозаси ошқозон-ичак йўли шиллиқ қавати ҳисобланади. Қўзғатувчи бодомча безлари орқали ҳам кириши мумкинлигини тонзиллитнинг ривожланиши ва регионар лимфа тугунларининг зарарланиши исботлайди (33-расм).

33.10-расм. Оғиз бўшлиғи листериози

Листериоз билан кўпинча бир ёшгача бўлган болалар ва 55 ёшдан катта одамлар касалланади. Касалликни юзага келишига иммун тизимни сусайтирувчи ҳолатлар (узоқ вақт кортикостероид, иммунодепрессантлар қабул қилиш, ўсма, қандли диабет, ОИВ-касаллиги ва бошқа касалликлар билан касалланиш) аҳамиятга эгадир. Қўзғатувчи қонга тушганида ўткир иситмалаш ҳолати юзага келади. Кейинчалик қўзғатувчи ретикулоэндотелиал тизим аъзоларига (жигар, талоқ, лимфа тугунлари) ва асаб тизимига бориб жойлашади. Асаб тизими шикастланганда менингит ва менингоэнцефалит ривожланади. Листериялар узоқ вақт буйракда сақланиб қолади. Буйракларида листериялар сақланиб қолган аёл ҳомиладор бўлганида, ҳомилани она қорнида зарарланиш эҳтимоли жуда катта.

*Симптомлари ва кечиши.*Касалликни яширин даври 2-4 ҳафта давом этади. Кечиши бўйича ўткир, ўткир ости ва сурункали шакллари тавофут қилинади.

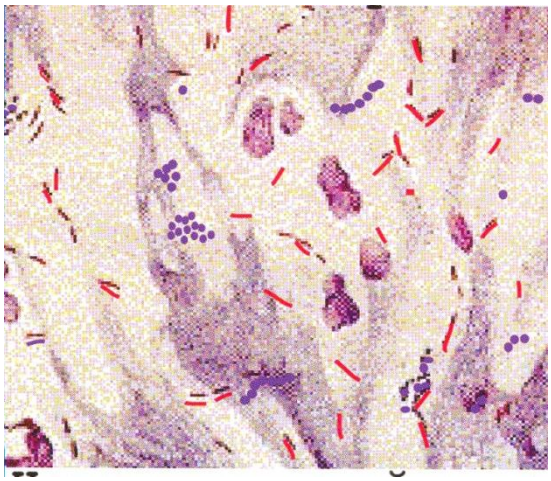
Ўткир шакли тўсатдан бошланади, қалтираш билан тана ҳарорати ошади, умумий интоксикация симптомлари (бош оғриғи, уйқусизлик, мушакларда оғриқлар, сержаҳллик, иштаҳа йўқолиши) юзага келади. Касаллик кўпинча экзантема билан кечади (кенг доғли ёки эритематоз тошма катта бўғимлар соҳасида кўпроқ, айрим ҳолларда, юзда капалак шакли кўринишида ҳосил бўлади). Безли шаклларида, санаб ўтилган симптомлардан ташқари, лимфа тугунларининг (жағ ости, бўйин, қўлтиқ ости, мезентериал) катталашиши ва оғриши кузатилади. Листериознинг асаб тизими билан боғлиқ шаклларида менингиал симптомлар юзага келади (ушбу шакли листериоз ташҳиси бактериологик тасдиқланган 75% болаларда кузатилади). Керинг, Брудзинский симптомлари, бош энса қисми мушакларининг ригидлиги кузатилади. Орқа мия суюқлиги босим билан чиқади, оқсилларнинг

қисман кўпайиши ва цитоз аниқланади. Глюкоза ва хлоридлар миқдори ўзгармайди. Энцефалит симптомлари кузатилиши мумкин. Айрим ҳолларда, листериознинг клиник кўринишида ўткир гастроэнтерит, ўткир пиелит, ўткир эндокардит симптомлари биринчи ўринга чиқади. Листериознинг ўткир шаклларида кўпинча жигар ва талоқ катталашади. Иситмалаш 3 кундан 2 ҳафтагача давом этиши мумкин.

Ташҳиси ва дифференциал ташҳиси. Клиник белгилар бўйича ташҳис қўйиш жуда мушкул. Ташҳис лаборатор текшириш усуллари ёрдамида тасдиқланиши лозим. Бактериологик усул билан қон, ҳалқум ювиндилари, орқа мия суюқлиги, ҳомила атрофи сувлари, йўлдош, ўлик туғилган чақалоқлар ва ўлганларнинг аъзолари текширилади.

Силда оғиз бўшлиғидаги ўзгаришлар. Оғиз бўшлиғининг сил билан зарарланиши – микобактерияларнинг эндоген, иккиламчи лимфо- ва гематоген йўллар билан тарқалишидан келиб чиқади (34-расм).

Энг кўп учрайдиган сил шакллари –бу тери сили (волчанка) ва ярали сил ҳисобланади. Кам ҳолларда, якка ҳолдаги сил бўртмалари (“совуқ абсцесслар”) - шиллиқ қаватдаги колликватив силнинг бир кўриниши ва жуда кам ҳолларда – индуратив эритема ва бирламчи сил яраси кузатилади.



33.11-расм. Балғамдан тайёрланган суртмадаги *M. tuberculosis* (Циль-Нильсен бўйича бўялган)

Бирламчи сил яраси 2-3 ёшли болаларда микобактерияларнинг кичик жароҳатлар ва кариозли тишлар орқали кириши натижасида юзага келади. Зарарланишлар асосан тил ёки милкларда жойлашган бўлиб, катта бўлмаган инфильтрат ва сиртқи лимфоаденопатия билан биргаликда ўзига хос бирламчи сил мажмуини ташкил қилади.

Кейинчалик яра чуқурлашади, лимфа тугунлари юмшайди ва йиринглайди.

Ҳиқилдоқ ва оғиз бўшлиғи сили бронхлар, трахея, юқори нафас олиш йўллари касалликлари гуруҳига мансуб. Ҳиқилдоқ ва оғиз бўшлиғи сили ўпка ва кўкрак ичи лимфа тугунлари силларининг бирламчи ва иккиламчи шаклларининг асорати сифатида учрайди.

Оғиз бўшлиғининг бирламчи силида сил микобактериялари олдин сил билан зарарланмаган ва сил микобактерияларига орттирилган иммунитети бўлмаган беморларнинг шиллиқ қавати орқали кириши мумкин. Бунда сил бўртмачаси оғиз бўшлиғи лимфоид тўқимасида юзага келиб, лимфа тугунларига дренаж ҳосил қилади (ошқозон-ичак йўлида ҳосил бўладиганга ўхшаш).

Иккиламчи силда оғиз бўшлиғининг зарарланишлари кўпинча фаол сурункали ўпка сили бор беморларда учрайди, бунда микобактериялар кўп миқдорда балғам билан ажралади ва оғиз бўшлиғининг шиллиқ қаватига киради. Баъзан оғиз бўшлиғи сили - ўпкадаги симптомсиз, фаол сурункали диссеминирланган кечувчи силнинг биринчи клиник белгиси бўлиши мумкин (35-расм).

33.12 - расм. Оғиз бўшлиғи сили

Оғиз бўшлиғи силининг асосий морфологик шакллари инфильтрат ва яра ҳисобланади. Инфильтрат чегараланган бўлиб, айрим ҳолларда ўсмалар (туберкуломалар) характерига эга ёки тарқалган бўлиши мумкин. Инфильтрат зич, юмшоқ, усти силлиқ ёки донадор бўлиши мумкин. Инфильтрат ранги ўткир шаклларида оч қизил, экссудатив шаклларида кулранг бўлади. Яралар шиллиқ қаватлар бурмаларида яширинган кичик ёриқлар кўринишида ёки кенг яралар ҳолатида бўлиб, милиар кулранг-сариқ тугунли тошмачалар ва шиш билан бирга кузатилади. Яранинг остки қисми қонаб турадиган, майда,

донадор грануляцияли бўлади. Яра четлари нотекис, кўпинча юмшоқ, аммо баъзан зичлашган бўлиши ҳам мумкин. Битаётганида яралар ўрнида чандиқлар ҳосил бўлади.

Милиар-ярали сил. Сил микобактерияларини инфекциянинг очиқ ўчоқларидан (кўпинча, оғир ривожланувчи жараён кўринишида кечаётган ўпкалардан) қайта кириши натижасида оғиз шиллиқ қаватида иккиламчи сил - милиар-ярали сил ривожланади. Бошланишида унча катта бўлмаган, одатда, биринчи даврларда оғриқсиз, кейинчалик жуда оғриқли яра ҳосил бўлади, у кенгайиб бориб, айрим ҳолларда катта ўлчамларгача етади (1,5х2,0 см). Одатда, яра унча чуқур бўлмайди, ўйилган кўринишда, юмшоқ, четлари нотекис, ичига ўгирилган кўринишида бўлади. Унинг таги ва четлари сариқ-кулранг караш билан қопланган бўртмачалар ҳисобига донадор гранулали бўлади. Атрофидаги тўқималар шишади. Тилдаги сил яралари тилнинг уч қисми, ён бўлимлари, орқа қисми, ўрта чизиғи бўйлаб ва унинг асосида жойлашган бўлиши мумкин. Регионар лимфатик тугунлар бошида сезилмайди, кейинчалик пайпаслаганда катталашган, эластик зич, оғриқли эканлиги аниқланади. Лаб ва лунж шиллиқ қавати сили, кам ҳолларда алоҳида бўлиб, кўпинча юқори нафас олиш йўллари ёки оғиз бошқа аъзоларининг силли зарарланишлари билан бирга учрайди. Зарарланиш шакли кўпинча ярали бўлади. Яра бошланишида ёриқлар кўринишида бўлиб, лабнинг (айниқса, оғиз бурчагида) ташқи ва ички устки қисм бурмалари чизиғида жойлашади.

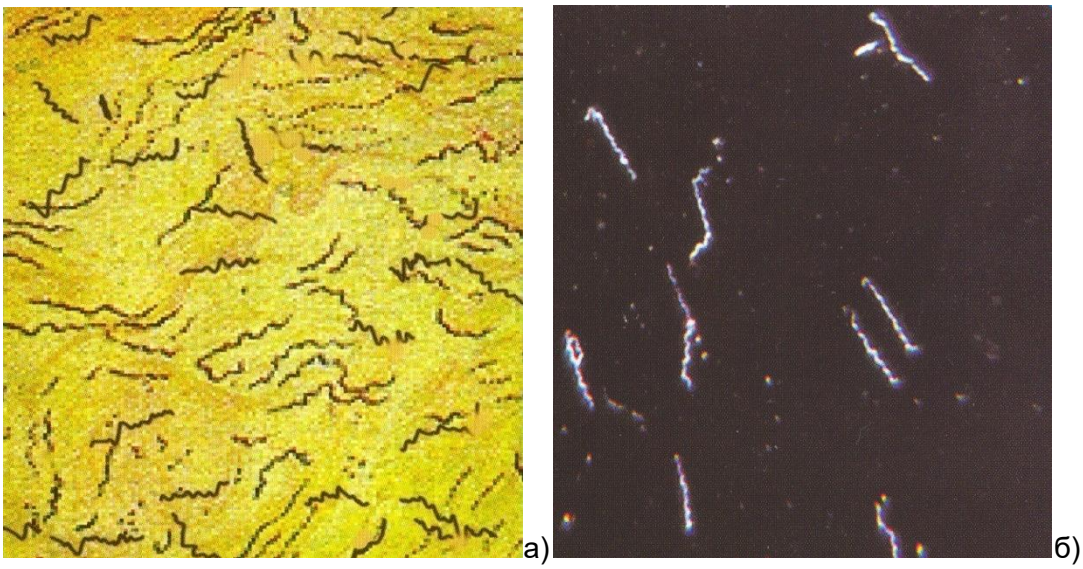
Лаб ва лунжлар шиллиқ қаватларидаги инфильтратив ва ярали жараёнлар нисбатан чегараланган, атрофи реактив кўринишларсиз, кам оғриқли, серсув грануляцияли, битишга мойиллиги, продуктив жараён тавсифини сақлаб қоладиган кўринишда бўлиши мумкин. Ўткир, асосан экссудатив фазада, сезиларли оғриқ, иккала лабларнинг шиши, милиар тугунли тошмачалар билан бирга кузатилади.

Милк сили алоҳида ҳолда кам учрайди. Милкнинг сил билан зарарланган тўқимаси аввал шишади, жуда юмшоқ, оғриқли, гиперемияланган ва қонаб турувчи бўлиб қолади. Кейинчалик жараён зўрайганда, яққол ифодаланган грануляцияли сил яраси ҳосил бўлади. Қаттиқ ва юмшоқ танглайни сил билан зарарланишлари ҳар хил бўлиши мумкин, яъни устки, бироз инфильтрацияли чегараланган ёриқсимон яралар кўринишидан, айниқса юмшоқ танглайда, кенг, бўртмачали папилломатоз инфильтратли ўзига хос нотекис яралар кўринишигача бўлиши мумкин. Бошланғич шаклларида шиллиқ қават

чегарали гиперемияланган кўринишда бўлиб, марказида эпителий бутунлиги бузилмаган ҳолда сариқ-оқ кичик доғ аниқланади. Ҳиқилдоқ силининг ўткир, кўпинча экссудатив зарарланишларида, юмшоқ танглай бодомча безлари одатда, гиперемияланган, инфильтрацияланган ва бошида, милиар тугунчалар билан қопланган бўлиб, кўп ўтмай уларнинг ўрнида ярачалар пайдо бўлади.

Дифференциал ташҳис биопсия материалини гистологик усул ёрдамида текшириш орқали амалга оширилади. Материал яраларнинг чуқур қаватларидан олинади. Бу усул жуда катта Пирогов-Лангханс ва эпителиоид ҳужайралар тутувчи казеинли гранулемаларни идентификация қилиш учун ўтказилади.

Заҳмда оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватидаги ўзгаришлар. Заҳм қўзғатувчиси – оқиш трепонемани (спирохеталар) тушишига нисбатан организм реакцияси мураккаб ва хилма-хилдир (36-расм).



а) б)

33.13 - расм. Қаттиқ шанкрдан тайёрланган суртмадаги (а), қоронғи майдондаги*T. pallidum* (б)

Сифилитик инфекция кечишида, яширин (3-4 ҳафта), бирламчи (6-8 ҳафта), иккиламчи (ўртача 2-3 йил) ва учламчи каби, кетма-кет бир-бири билан алмашувчи даврлар фарқланади.

Айрим ҳоллардагина, заҳм даврларсиз, яъни муайян қонунга мувофиқ бўлмаган ҳолда кечиши мумкин. Кўп одамларда инфекция тушгандан сўнг касаллик узоқ вақт симптомларсиз кечади. Шу сабабли, касаллик анча кеч серологик реакциялар мусбат натижа бергандагина (яширин серомусбат заҳм босқичи) ёки асаб тизими ёки ички аъзолар заҳми босқичида аниқланади. Оғиз шиллиқ қаватининг

зарарланиши касалликнинг бирламчи даврида кўп учрайди (1,5-10%). Қаттиқ шанкр лаблар қизил ҳошияси ёки оғиз шиллиқ қаватининг ҳар қандай қисмида ҳосил бўлиши мумкин, лекин, кўпинча лаблар, тил, бодомча безларида жойлашган бўлади.

Юқори ва кўпроқ пастки лаблар шанкри яра ёки эрозиялар кўринишида бўлиб, таги кўпинча бўртган ва қорамтир ҳолатда бўлади. Шанкр оғиз четларида, асосан терининг майда бурмаларида жойлашиши мумкин, у шакли бўйича ёриқни эслатади, бироқ қаттиқ шанкр бор бурма чўзиб кўрилганида унинг овалсимон шаклда эканлиги аниқланади. Қаттиқ шанкр оғиз четларида жойлашганида мацерацияни эслатади, асосида зичлашиш йўқлиги билан фарқланади(37-расм). Лаблардаги шанкр, кўпинча импетигинозли, травматик, герпетик эрозияни, яққол инфильтрати эса – эпителиомани эслатади. Кам ҳолларда лаблар қизил ҳошиясида гипертрофик қаттиқ шанкр учрайди. У ярим шарсимон, зич эластик, айрим ҳолларда, қўзиқорин шаклида тери сатҳидан кўтарилиб турувчи, диаметри 2-3 см тузилма кўринишига эга бўлади. Гипертрофик шанкр юзаси одатда ялтироқ, силлиқ, кам ажралмали бўлиб, субъектив туйғулар кам намоён бўлади.

Тил шанкри ялтироқ ёриқсимон эрозия ёки оғриқли яралар кўринишида бўлади.

Милк шанкри ярим ой кўринишида битта ёки бир неча (кўпинча икки) тишлар бўйнида жойлашган бўлиб, ташҳиси катта қийинчиликлар туғдиради. Милк қаттиқ шанкрининг яра шакли оддий ярачаларга жуда ўхшаш бўлиб, бирламчи сифиломага хос белгиларга эга бўлмайди.

Бодомча безлари шанкри ташҳиси жуда қийин ҳисобланади, у уч шаклдан бирига эга бўлиши мумкин: эрозив, ярали ва ангинасимон (амигдалит-шанкр). Бодомча безлари эрозив шанкри қизил ёки оқ-сарғиш рангдаги, 2-10 мм ўлчамдаги эрозия бўлиб, юмалоқ шаклда, асоси зичлашган, таги силлиқ ва ажралмасининг камлиги билан таърифланади. Эрозия атрофидаги бодомча безлари одатий рангда, лекин қаттиқлашган бўлади. Шанкрга жағ ости ва бўйин лимфа тугунларининг бир томонлама зарарланиши ва махсус склераденит хос.

33.14-расм. Заҳмнинг кўринишлари

Унга бир бодомча безининг катталашиши ва қаттиқлашиши ҳамда унда эрозия ёки яраларнинг йўқлиги ҳам хосдир. Бодомча безини шпатель ёрдамида пайпаслаганда унинг таранглиги сезилади. Катталашган, гиперемияланган бодомча бези ҳалқум оралиғини тўсади ва овоз ўзгаришига олиб келиши мумкин. Айрим ҳолларда ютишда оғриқ, умумий ҳолсизлик, оддий ангинадек тана ҳароратининг ошиши кузатилиши мумкин бўлиб, заҳм ташҳисини қийинлаштиради. Амигдалит-шанкрга жағ ости,асосан бир томонламалик бўйиннинг махсус лимфаденити хос.

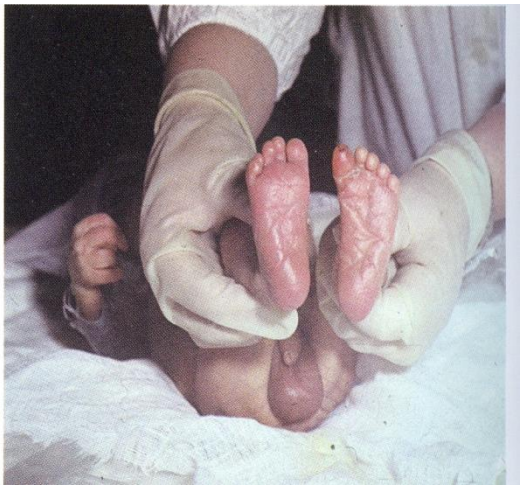
Заҳм бирламчи даврининг иккинчи диагностик белгиси регионар аденит ҳисобланади. Одатда, касалликнинг 3-ҳафтаси охири, 4-ҳафтаси бошларида яқин жойлашган лимфа тугунларининг катталашиши кузатилади. Шанкр оғиз бўшлиғида жойлашганида, кўпинча регионар (жағ ости) лимфа тугунлари бир томондан катталашган, кўпроқ оғриқсиз, ҳаракатчан ва уларнинг устидаги тери ўзгармаган бўлади.

Оғиз ва ҳиқилдоқ шиллиқ қаватларининг зарарланиши кўпинча иккиламчи заҳмда кузатилади, шу билан бирга иккиламчи рецидивли заҳмда шиллиқ қаватлардаги тошмалар касалликнинг ягона клиник белгиси бўлиши мумкин. Иккиламчи заҳм белгилари бўлган деярли 50% беморлар оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватида розеолёз ёки папулёз сифилидлар кўринишидаги шикастланишлар кузатилади. Оғиз шиллиқ қаватида пустулёз тошмалар камдан кам ҳолларда юзага келади. Заҳм папулаларининг оғизда, кўпинча, жойлашадиган жойи бодомча безлари ҳисобланади, шунинг учун бундай зарарланишлар папулёз сифилитик ангина деб аталади. Иккиламчи заҳмда, ҳиқилдоқни шикастланиши кузатилиши мумкин, унинг асосий симптомлари бўлиб

узоқ давом этадиган, деярли оғриқсиз, афониягача етадиган, умумий шамоллаш белгиларисиз кечадиган хириллаш ҳисобланади. Кўпгина беморларда ҳиқилдоқ шикастланишининг катарал, кам ҳолларда папулёз шакли кузатилади.

Турли муаллифларнинг маълумотларига кўра, учламчи фаол заҳмда шиллиқ қаватларнинг шикастланиши 18-38% беморларда кузатилади. Шиллиқ қаватларда гумма ва диффуз гуммозли инфильтратлар бўртмача элементларга қараганда кўпроқ ривожланади. Шиллиқ қаватлар сифилидлари тиниқроқ ранги, яққол шишганлиги (шиллиқ ости тўқималарда кўп миқдорда томирларни борлиги билан боғлиқ) билан фарқланади. Бунда оғиз шиллиқ қавати учламчи заҳм клиник белгисининг намоён бўладиган ягона жойи бўлиши мумкин. Гуммозли сифилид оғиз шиллиқ қаватининг ҳар қандай қисмида жойлашган бўлиши мумкин. Кўпинча гуммалар юмшоқ ва қаттиқ танглай ҳамда тилда ҳосил бўлади. Одатда, гумма ягона бўлади. Бошида оғриқсиз тугун ҳосил бўлади, у тобора катталашиб бориб, кейин ёрилади. Ёрилмаган гумма консистенцияси қаттиқ, юзаси силлиқ, аниқ чегараланган, тугун тепасидаги шиллиқ қават ўртача яллиғланган, ранги турғун-қизил бўлади. Гуммоз ўзаги ажралиб чиққанидан сўнг оғриқли яра ҳосил бўлади, у кратерсимон шаклга, четлари зич, таги грануляциялар билан қопланган бўлади. Яра битганидан кейин нурсимон (юлдузсимон) чандиқлар қолади. Бу жараён 3-4 ой давом этади.

Кичик ёшдаги болалар туғма заҳми (1 ёшдан 4 ёшгача).Мацерация ҳисобига оғиз четларида, пиококк ва ачитқисимон замбуруғлар таъсирида эрозив папулалар ҳосил бўлиши мумкин (38-расм).


а)

б)

33.15-расм. Болалардаги туғма (а)ва орттирилган заҳм (б)

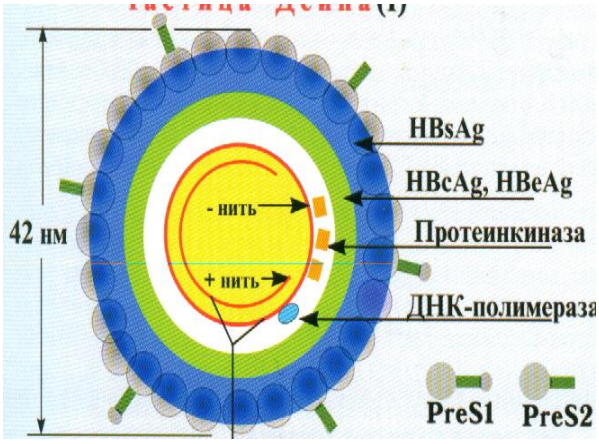
Бу папулалардан фарқли ўлароқ, сифилитик папулалар четларида тўқ-қизил рангдаги инфильтрат гардиши кўринади, шикастланиш оғиз четларидан шиллиқ қаватларга ўтади. Сифилитик папулаларда оддий мацерацияга хос бўлган шох қаватнинг шокиласи бўлмайди. Туғма заҳм папулалари орттирилган заҳм папулаларидан фарқ қилмайди.

Папулёз элементлар кўпинча тил, бодомча безлари, лаб ва милк шиллиқ қаватларида аниқланади. Айрим ҳолларда, ҳиқилдоқ шиллиқ қавати шикастланади, хириллаган товуш, афония юзага келади. Ҳамма лимфа тугунларининг яққол намоён бўлмаган катталашиши қайд қилинади. Сифилитик папулаларда оқиш трепонемалар осон топилади.

Заҳмнинг замонавий серологик ташҳисида қуйидаги усуллар қўлланилади: кардиолипинли антиген билан преципитация микрореакцияси; иммунофермент усули (ИФА); пассив гемагглютинация реакцияси (РПГА); иммунофлюоресценция реакцияси (РИФ); оқиш трепонемаларни иммобилизация қилиш реакцияси (РИТ). Бирламчи текширишда, танлаб олувчи (скрининг) микропреципитация реакцияси (РМП) ёки унинг модификацияси миқдорий ва сифатий вариантларида қўйилади, агарда натижа мусбат бўлса, махсус тасдиқловчи трепонема тестларидан бири (РПГА, ИФА, РСК, РИФ, РИТ) ўтказилади.

34.БОБВИРУСЛИ ИНФЕКЦИЯЛАР ВА УЛАРДА ОҒИЗ БЎШЛИҒИДАГИ ЎЗГАРИШЛАР

Сурункали вирусли гепатит В. Маълумки, вирусли гепатитлар дунёда энг кўп тарқалган касалликлар ҳисобланади. ЖССТ охирги маълумотларига кўра, ерда яшовчи ҳар учинчи инсон, яъни 2 млрд атрофидаги одамлар гепатит билан касалланган ва уларнинг кўпчилигини болалар ташкил қилади. Гепатит В вирусининг схематик тузилиши 39-расмда кўрсатилган.



34.1-расм. Гепатит В вирусининг схематик тузилиши

Шубҳасиз, бу вируслар жигар гепатоцитларига бевосита таъсири кўрсатишидан ташқари, яна одам организмига, шу жумладан оғиз бўшлиғига ҳам билвосита таъсир кўрсатади.

Шунинг учун ҳам сурункали вирусли гепатит В билан оғриган болалар оғиз бўшлиғи микрофлораси миқдорий ва сифатий таркиби ҳамда маҳаллий ҳимоя омиллари кўрсаткичлари ўрганилди (9-жадвал).

34.1-жадвал

Сурункали В вирусли гепатит билан оғриган болалар оғиз бўшлиғи микрофлорасининг даволанишдан олдинги ва кейинги кўрсаткичлари (lg (M±m) КҲҚБ/мл)

Микроблар гуруҳи	1 мл сўлакдаги микроблар миқдори			
	меъёр	сурункали вирусли гепатит В билан оғриган беморлар		
		даволашдан олдин	анъанавий даволашдан кейин	махсус даволашдан кейин
Анаэробларнинг умумий сони	5,80±0,4	3,55±0,3*	4,30±0,3*	5,45±0,3
Лактобактериялар	4,75±0,3	2,10±0,1*	2,60±0,2*	3,15±0,2*
Пептострептококклар	3,90±0,3	3,70±0,2	3,0±0,2	3,60±0,3
Аэробларнинг умумий сони	5,55±0,4	7,40±0,5*	6,0±0,5	6,10±0,4
St. aureus	0	2,40±0,2	1,15±0,1	0
St. epidermidis	4,40±0,3	3,70±0,3	3,0±0,2*	2,60±0,2*
Str. salivarius	4,70±0,4	3,20±0,2*	3,15±0,2*	3,60±0,3
Str. mutans	2,40±0,2	4,25±0,4*	4,0±0,3*	2,15±0,1
Str. mitis	2,80±0,2	3,70±0,4	3,60±0,3	2,10±0,1*
Лактоза мусбат*Escherichia*	1,40±0,1	2,70±0,2*	1,70±0,1	1,60±0,1
Лактоза	0	2,25±0,2	1,25±0,1	1,00±0,1

манфий*Escherichia*				
Proteus	1,45±0,1	3,45±0,3*	2,45±0,2*	2,00±0,1
Klebsiella	1,0±0,1	2,10±0,1*	1,10±0,1	1,00±0,1
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	2,15±0,1	5,70±0,5*	5,0±0,4*	4,60±0,4*

Изоҳ: * - меъёрга нисбатан ишончли фарқ

Текширувлар натижасида, меъёрий ва беморлардаги кўрсаткичлар солиштирилганда, ушбу беморлар оғиз бўшлиғи микроэкологиясида кескин фарқлар борлиги аниқланди.

Жадвалда келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, текширилган бемор болалар оғиз бўшлиғи микрофлорасининг ҳам анаэроб, ҳам факультатив гуруҳ микроблари кўрсаткичларида яққол ўзгаришлар мавжуд.

Анаэроб гуруҳ вакиллари миқдорининг ишончли камайиши қайд этилган, айниқса бу лактобактерияларда яққол намоён бўлган, уларнинг миқдори lg (2,10±0,10) КҲҚБ/мл ни ташкил қилган бўлиб, бу кўрсаткич меъёрга нисбатан 2 марта кам. Шу билан биргаликда, факультатив микроорганизмлар миқдорида ҳам ишончли ўзгаришлар аниқланган.

Сурункали гепатит В касаллиги билан касалланган болалар оғиз бўшлиғида граммусбат микроорганизмлар колонизациясининг яққол ошиб бориши кузатилди. Бунда граммусбат кокклар флораси вакилларидан *St. epidermidis*ва *Str. salivarius*миқдорининг камайиб кетганлиги, шу билан бир қаторда *Str. mutans* ва *Str. mitis* лар миқдори ошганлиги кузатилган. Лекин энг ҳавфлиси, бир қанча агрессив ферментлар тўпламига эга бўлган *St. aureus* штаммларининг пайдо бўлишидир, чунки айнан шу бактерия оғиз бўшлиғини мониторинг ҳолатини белгилайди. Грамманфий бактериялардан эса, эшерихий ва протей авлоди вакиллари миқдорининг кўпайиши қайд этилган.

Сурункали вирусли гепатит В билан оғриган бемор болалар оғиз бўшлиғи микробларининг колонизацион резистентлиги ўрганилганда: оғиз бўшлиғида ачитқисимон замбуруғларнинг учраш даражаси ва колонизациясининг ошганлиги эътиборга моликдир. Ушбу жараён оғиз бўшлиғининг ҳамма ўрганилаётган анатомик биотопларига таъсир қилган бўлиб, шу билан бирга уларнинг учраш даражаси 3-5 мартага, колонизацион зичлиги эса биотопга қараб 2-3 мартага ошганлиги аниқланди (10-жадвал).

Замбуруғлар таркиби ўрганилганда, кўпроқ *C. albicans, C. pseudotuberculosis, C. crusei, C. tropicalis*камайиб бориши бўйича

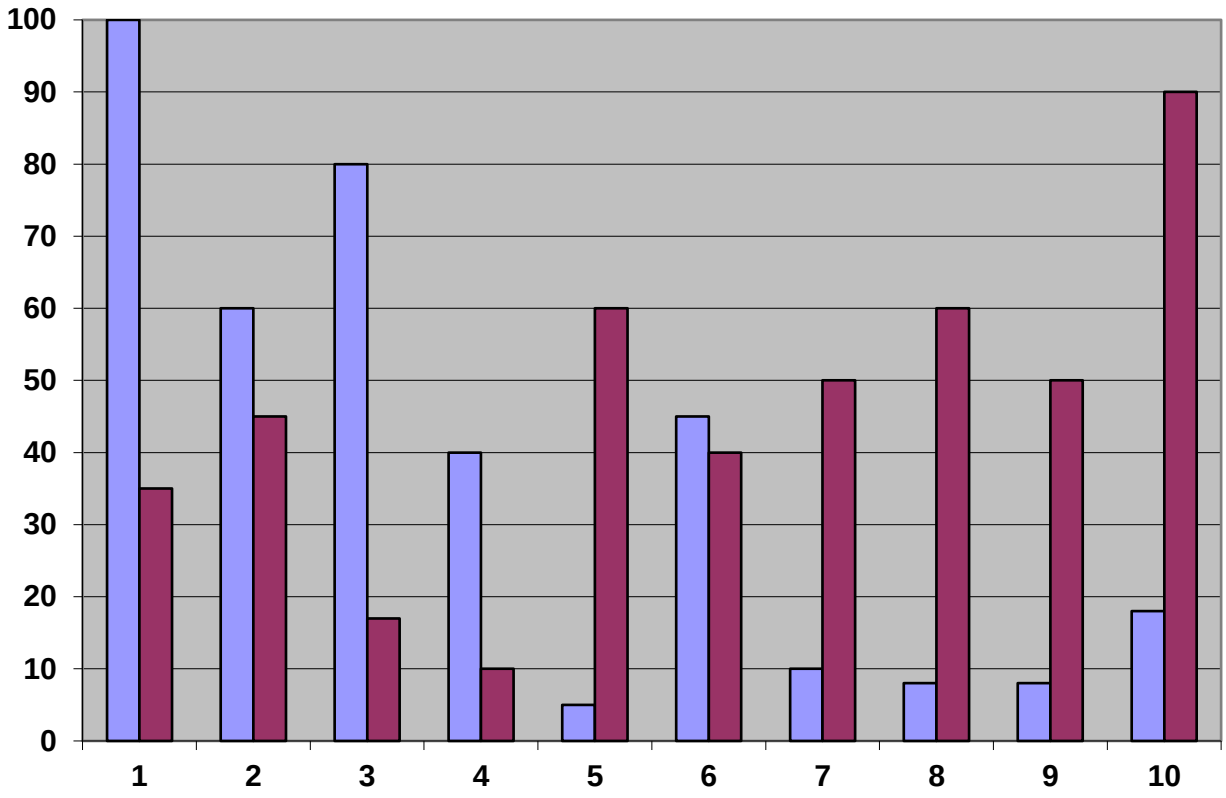
турлари учраши аниқланди. Тил ва милклар шиллиқ қаватида замбуруғлар колонизацияси танглай ва лунжга нисбатан юқорилиги қайд этилди. Шу билан бирга, замбуруғларнинг соғлом болалар микробиоценозига хос бўлмаган турлари ҳам учраши мумкинлиги аниқланган.

34.2- жадвал

Сурункали вирусли гепатит В билан оғриган болалар оғиз бўшлиғида микроблар колонизацион резистентлигининг тавсифи (M±m) КҲҚБ/см²)

Микроблар гуруҳи	Оғиз бўшлиғи соҳалари			
	милк	тил	лунж	танглай
Лактобактериялар	1,10±0,1	0,75±0,1	0	0
Str. salivarius	2,10±0,1	1,25±0,1	0,75±0,1	0
Str. mutans	2,40±0,1	2,70±0,1	2,10±0,1	1,60±0,1
Str. mitis	2,10±0,1	1,25±0,1	1,40±0,1	1,10±0,1
Staphylococcus	4,40±0,3	3,70±0,2	2,95±0,1	2,15±0,1
Escherichia	3,11±0,2	3,10±0,2	2,20±0,1	1,10±0,1
Klebsiella	2,10±0,1	1,90±0,1	1,40±0,1	1,55±0,1
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	4,70±0,4	3,85±0,3	3,55±0,3	3,15±0,2

Сурункали вирусли гепатит В билан касалланган ушбу болаларда оғиз бўшлиғида учрайдиган микробларнинг учраш даражаси ва спектриҳам ўрганилди. Ушбу текширишлар натижалари 40-расмда берилган. Натижалардан кўриниб турибдики, учраш частотасига кўра *Candida*уруғи замбуруғлари (90%), протеялар (60%), *St. aureus* (60%) юқори ўринларни эгаллайди.



1 – *Str. salivarius*	6 – *St. epidermidis*
2 – *Str. mutans*	7 – Эшерихийлар
3 – *Str. mitis*	8 – Протеялар
4 – Лактобактериялар	9 - Клебсиеллалар
5 – *St. aureus*	10 – *Candida*уруғига мансуб замбуруғлар

34.2-расм. Соғлом ва сурункали вирусли гепатит В билан касалланган болаларнинг оғиз бўшлиғида учрайдиган микробларни учраш спектри ва даражаси

Текширишларнинг кейинги босқичи, сурункали вирусли гепатит В билан касалланган ва анъанавий даволаш усули қўлланган касал болалар гуруҳида ўтказилди. Олинган микробиологик текширишлар 9-жадвалда кўрсатиб ўтилган. Анъанавий даволаш усули аэроб микробларга ҳам, факультатив гуруҳи микробларига ҳам ижобий таъсир этган. Лекин шуни таъкидлаш лозимки, ушбу ўзгаришлар фақатгина грамманфий микрофлорага тегишли бўлган натижалардагина ишонарли эканлиги аниқланган.

Сурункали вирусли гепатит В билан касалланган болаларда анъанавий даволаш усули билан бир қаторда, элюдрил, пародиум,

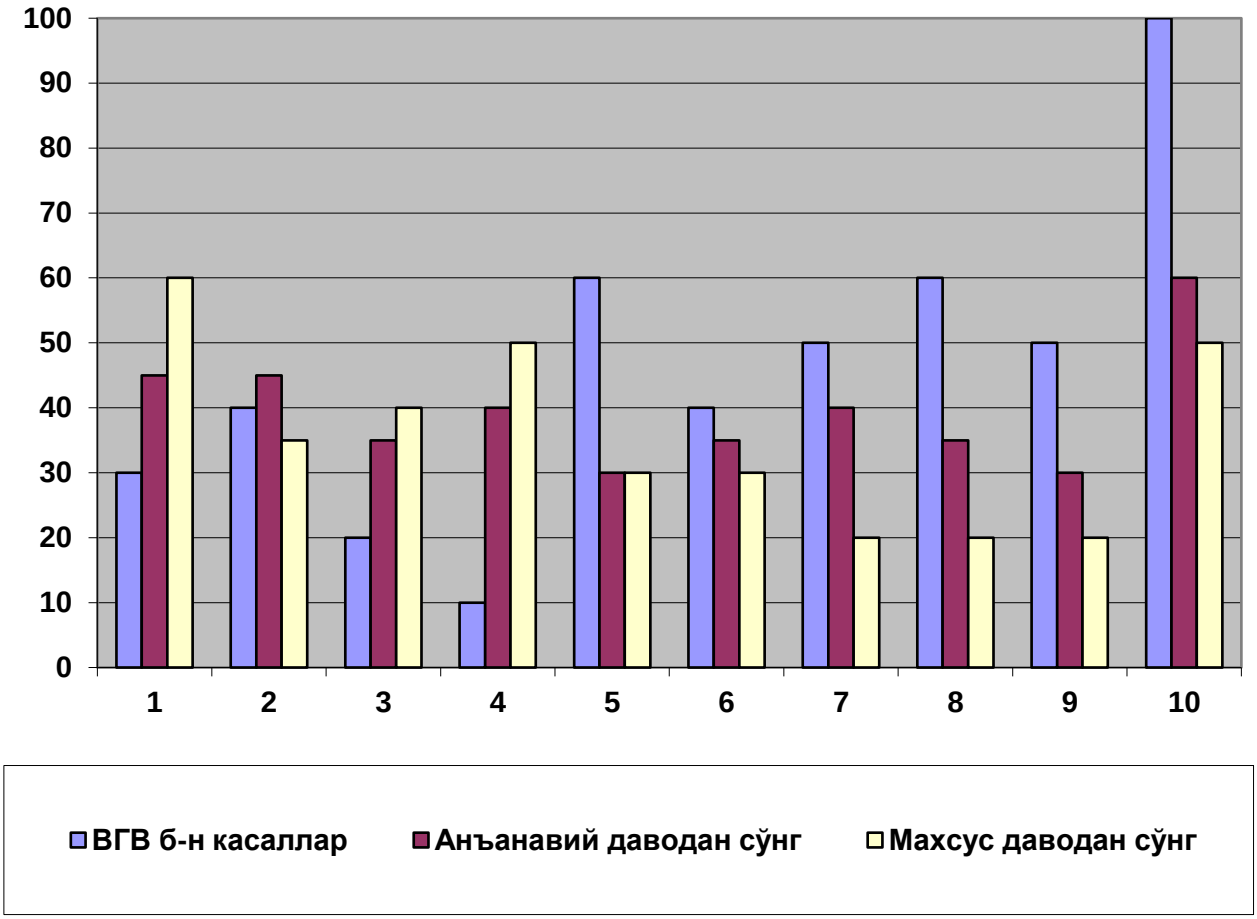
эльгидиум, виферон каби дори воситаларини қўллаб, махсус даволаш курслари ўтказилган теширувларда қизиқарли натижалар олинди. Олинган натижаларга кўра, оғиз бўшлиғи микрофлорасида ишончли ўзгаришлар кузатилган бўлиб, бунда, кўпгина микробиоценоз кўрсаткичларини яхшиланиши аниқланди, лекин бундай ўзгаришлар замбуруғларда кузатилмади, чунки қўлланган препаратлар антифунгицид таъсирга эга эмас эди.

Шу нарса аҳамиятлики, сурункали вирусли гепатит В билан касалланган болаларни анъанавий ва махсус усулларда даволаш, уларнинг оғиз бўшлиғи микробларини колонизацион резистентлик ҳолати, учраш спектри ва даражасига ижобий таъсир қилган (11-жадвал, 34.3-расм).

34.3-жадвал

Махсус даволашдан кейинсурункали вирусли гепатит В билан касалланган болалар оғиз бўшлиғидаги микробларнинг колонизацион резистентлигини тавсифи (M±m) КҲҚБ/см^2)

Микробларгуруҳи	Оғиз бўшлиғи соҳалари			
	милк	тил	лунж	танглай
Лактобактериялар	1,70±0,1	1,40±0,1	1,10±0,1	1,10±0,1
Str. salivarius	3,20±0,2	2,40±0,2	1,25±0,1	1,20±0,1
Str. mutans	2,25±0,1	2,20±0,1	2,10±0,1	1,40±0,1
Str. mitis	3,10±0,2	2,25±0,1	2,40±0,1	2,10±0,1
Staphylococcus	3,70±0,2	2,70±0,1	2,25±0,1	2,10±0,1
Escherichia	2,20±0,1	2,10±0,1	1,70±0,1	1,40±0,1
Klebsiella	1,10±0,1	1,40±0,1	1,55±0,1	2,10±0,1
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	3,70±0,3	2,40±0,1	2,25±0,1	3,10±0,2



1 – *Str. salivarius*	6 – *St. epidermidis*
2 – *Str. mutans*	7 – Эшерихийлар
3 – *Str. mitis*	8 – Протеялар
4 – Лактобактериялар	9 –Клебсиеллалар
5 – *St. aureus*	10 –*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар

34.3-расм. СВГВ билан оғриган болалар оғиз бўшлиғидаги микробларнинг даволанишдан олдинги ва даволашдан кейинги учраш даражаси ва спектри

Сурункали вирусли гепатит В (СВГ В) билан касалланган болаларда оғиз бўшлиғи микроэкологиясининг миқдорий ва сифатий ҳолатини ўрганиш билан бир қаторда, уларнинг оғиз бўшлиғини маҳаллий ҳимоя омилларини ҳолати ҳам ўрганиб чиқилди. Бунда асосан лизоцим титри, фагоцитоз кўрсаткичи, секретор иммуноглобулин А даражаси ўрганилди (12-жадвал). Олинган натижалардан кўриниб турибдики, СВГВ билан касалланган болалар оғиз бўшлиғида барча ўрганилган кўрсаткичлар бўйича иммунтанқислик ҳолати мавжуд. Бунда, лизоцим титри (13,7±0,5)мг%,

фагоцитоз кўрсаткичи (42,9±1,4) %, секретор иммуноглобулин А титри(1,2±0,1) г/л гатенг бўлган.

34,4-жадвал

СВГВ билан касалланган болалар оғиз бўшлиғи маҳаллий ҳимоя омилларининг даволашдан олдинги ва кейинги кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар	Меъёр	СВГВ билан касалланган болалар		
		даволашдан олдин	анъанавий даволашдан сўнг	махсус даволашдан сўнг
Лизоцим титри, мг%	19,8±0,6	13,7±0,5*	15,8±0,6*	17,0±0,5*
Фагоцитоз кўрсаткичи, %	59,1±1,6	42,9±1,4*	49,1±1,2*	53,2±2,1
sIgA миқдори, г/л	2,0±0,3	1,2±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1

Изоҳ: * - меъёрга нисбатан ишончли фарқ

Ушбу касал болаларда, анъанавий даволаш билан бир қаторда махсус даволаш усуллари: элюдрил, пародиум, эльгидиум, виферон дори воситалари қўлланилиб, даволангандан сўнг оғиз бўшлиғи маҳаллий ҳимоя омиллари текширувдан ўтказилган. Олинган текширишлар натижаларигакўра, ҳар икки ҳолатда ҳам фақатгина иккиўрганилган кўрсаткичлар бўйича ижобий томонга силжиш кузатилган (лизоцим титри, фагоцитар кўрстакич). Лекин, СВГВ билан касалланган болаларга махсус ёрдам кўрсатилгандан сўнг юқоридаги ижобий кўрсаткичлар анъанавий даволашдагига нисбатан янада яхшиланган, аммо секретор иммуноглобулин Амиқдори яна ўзгаришсиз қолган.

Шундай қилиб, СВГВ билан касалланган болаларнинг оғиз бўшлиғида ўтказилган микробиологик ва иммунологик текширувларнинг натижалари қуйидаги хулосалар чиқаришга имкон берди:

Биринчидан, ўтказилган текширувларга асосланиб шуни тахмин қилиш мумкинки, СВГВ билан касалланган болаларнинг оғиз бўшлиғи микрофлорасида дисбиотик ўзгаришлар юзага келади.

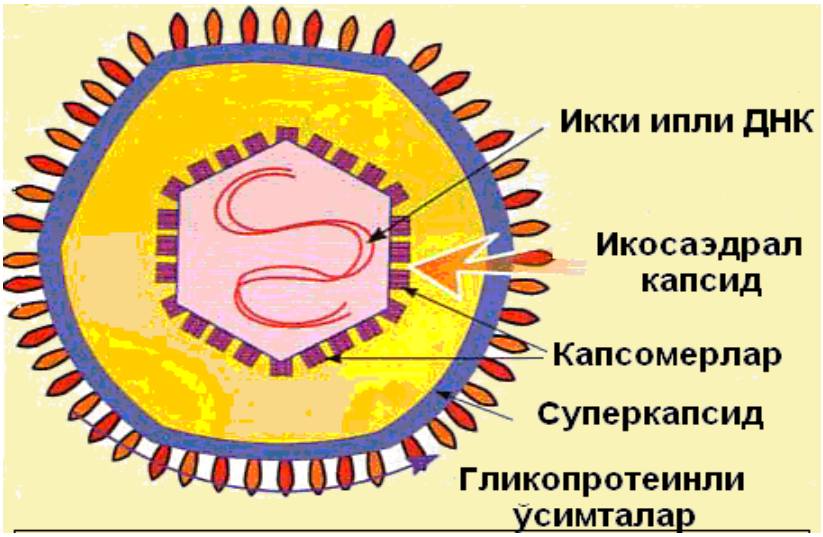
Иккинчидан, макроорганизмнинг умумий резистентлигининг камайиши, касал болалар оғиз бўшлиғининг маҳаллий ҳимоя омиллари ҳолатига салбий таъсир кўрсатади, натижада шиллиқ қаватларнинг колонизацион резистентлиги бузилади. Бу ўз навбатида, микроблар сонини керагидан ортиқча кўпайиши ҳолатига олиб келади.

Учинчидан, ушбу болаларда элюдрил, пародиум, эльгидиум ва виферон дори воситаларини қўллаб ўтказилган махсус стоматологик

даволаш оғиз бўшлиғининг ҳам микробиологик, ҳам иммунологик кўрсаткичларга ижобий таъсир кўрсатади ва умуман олганда, беморлар ҳолатини сезиларли яхшилайди.

Сурункали рецидивланувчи герпес лабнинг қизил ҳошиясида, танглай, кўз, жинсий аъзолар шиллиқ пардаларида, лаб терисида, бурун қанотларида якка ҳолда ёки зич тўплам ҳолида жойлашувчи тошмалар - майда пуфакчалар кўринишида намоён бўлади. Одатда ушбу тошмалар ачишиб туради. Кейинчалик пуфакчалар бирлашиб, эрозив (ярали) юза ҳосил қилади. Бу зарарланган соҳа овқатланганда ёки бошқа таъсирловчилар таъсирида оғриб туради. Бемор герпес вирусли инфекция билан касалланган сўнг бир умр ташувчи бўлиб қолади.

Ўткир герпетик стоматит - бу вирусли касаллик бўлиб, у катталарда ҳам, болаларда ҳам учрайди. Охирги йилларда ўткир герпетик стоматитга оғиз бўшлиғи бирламчи герпетик инфекциясининг кўриниши сифатида қаралмоқда (42-расм).



34.4-расм. Герпес вирусининг тузилиш схемаси

Ўткир герпетик стоматитда зарарланишнинг дастлабки элементлари афталарни эслатади, улар оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватининг шишли, гиперемияланган, яллиғланган ҳолатида вужудга келади. Касаллик оддий герпес вируси билан касалланмаган одамлар учун ўта юқумли ҳисобланади. Стоматит билан, асосан (70%) 1 ёшдан 3 ёшгача бўлган болалар ва ўсмирлар касалланади.

Клиник кўриниши кўпчилик беморларнинг оғиз бўшлиғи шиллиқ пардасида 5-10 та майда некроз соҳалари ҳосил бўлиши билан характерланади. Зарарланиш белгилари кўпинча лабда, тилда,

танглайда учраб, қўшилиб кетиши натижасида тўпламлар ҳосил қилади. Касаллик умумий дармонсизлик, тана ҳароратининг 37-37,5°С гача кўтарилиши, регионар лимфа тугунларининг катталашиши, гиперсаливацияга шикоятлар билан бошланади. Оғиз бўшлиғининг шиллиқ пардаси, айниқса милк чегараси шишган ва қизарган бўлади. Унда бир вақтнинг ўзида сероз суюқлик билан тўлган пуфакча ҳосил бўлади. Пуфакча тез ёрилади ва фибринозлифасод билан қопланган эрозияга айланиб кетади. Афтанинг шаклланиш жараёни 4-5 кун давом этади. Бунда бемор овқатланиш вақтида оғриқ, ачишиш ва қичишишга шикоят килади. Агар оғиз бўшлиғи етарли парвариш қилинмаса, катарал ўзгаришлар (шиш, гиперемия) ярали яллиғланишга ўтиб кетиши мумкин (43-расм).

34.5-расм. Герпес инфекциясининг кўринишлари

13-жадвалдаги кўрсаткичлардан кўриниб турибидки (Мухамедова М.С., 2007), ўткир герпетик стоматити бор болаларда дисбиотик ўзгаришлар ривожланади. Бунда, анаэроб микрофлоранинг миқдори камаяди ва факультатив микрофлоранинг спектри ва миқдори ошади.

Лактозамусбат эшерихийлар ва *Candida*уруғи замбуруғларининг умумий миқдори меъёрга нисбатан деярли 2 мартага ошганлиги аниқланди.Шуни таъкидлаш лозимки, герпетик стоматит билан касалланган болалар оғиз суюқлигида, соғлом болаларда учрамаган микроорганизмлар аниқланган. Бунда,*St. aureus*, лактозаманфий эшерихий ва А гуруҳи стрептококкларининг аниқланиши назарда тутилмоқда. Ушбу бактериялар штаммларининг агрессивлик хусусияти юқори бўлганлигисабабли, беморларга тиббий ёрдам кўрсатиш пайтида буни эътиборга олиш зарур.Тўғри парвариш қилинганида ва даволаш ўтказилганида,касалликни 8-10-кунларидан тузалиш даври бошланади. Агар эрозив элементлар миқдори камаймасдан кўпайса, беморнинг умумий аҳволи ёмонлашиб, ҳолсизлик, бош оғриғи, адинамия, тана ҳароратининг 39-40°С гача кўтарилиши каби клиник белгилар кузатилса, бунда касаллик ривожланаётганлиги қайд этилади. Агарда, ўткир герпетик стоматитда,мувофиқ даволаш чора-тадбирлари ўтказилмаса, касаллик қайталаниб турувчи шаклига ўтиб кетиши мумкин, бунда оғиз бўшлиғи шиллиқ пардасида тез-тез афталар ва пуфакчалар тошиб туради.

34,5-жадвал

Ўткир герпетик стоматит билан касалланган болалар ва катталар оғиз суюқлиги микрофлорасининг ҳолати (lg(M±m) КҲҚБ/мл)

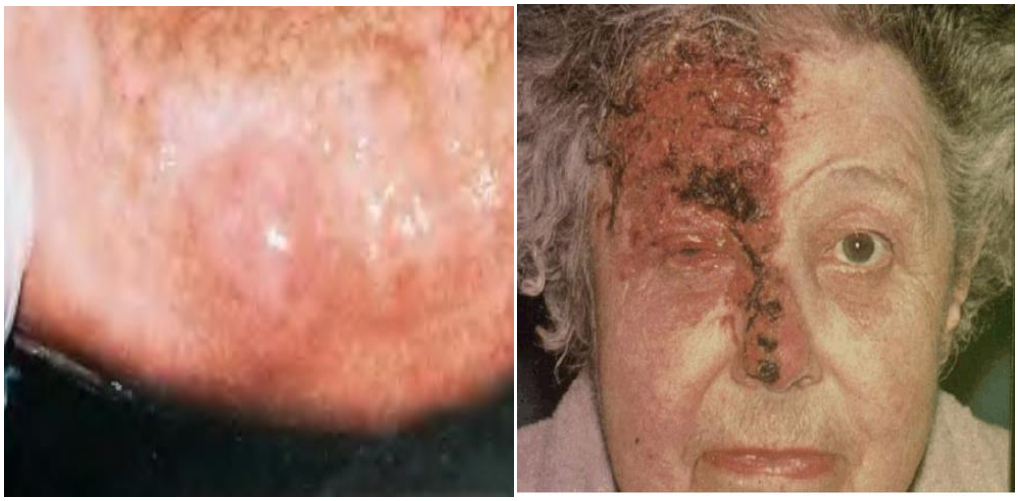
Микроблар гуруҳи	1мл сўлакдаги микроблар миқдори		
	катталардагимеъёр	болалардагимеъёр	касал болалар
Анаэробларнинг умумий сони	7,6 ±0,41	5,7±0,15	4,6±0,15*
Лактобактериялар	5,9±0,14	4,6±0,14	3,3±0,11*
Пептострептококклар	6,0±0,39	3,8±0,11	4,6±0,16*
Аэробларнинг умумий сони	6,3±0,41	5,3±0,17	7,1±0,41*
St.aureus	-	-	2,3±0,11
St.epidermidis	3,1±0,30	4,1±0,14	3,3±0,15*
А гуруҳи стрептококклари	-	-	1,1±0,05
D гуруҳи стрептококклари	4,3±0,19	5,1±0,15	3,5±0,13*
Лактоза мусбат эшерихийлар	-	2,3±0,17	5,5±0,31*
Лактоза манфий эшерихийлар	-	-	4,3±0,22
*Candida*уруғига мансуб замбуруғлар	1,3±0,25	2,1±0,18	3,3±0,21*

Изоҳ: * - болалардаги меъёрга нисбатан ишончли фарқ

Ўраб олувчи темиратки - терига везикулёз тошмаларнинг тошиши ва нерв толаларининг зарарланиши туфайли оғриқ синдроми билан тавсифланувчи вирусли касаллик бўлиб, қўзғатувчиси *Varicella zoster* ҳисобланади.

Герпес ҳақидаги биринчи маълумотлар эрамиздан анча олдин аниқланган. Герпес номи грекча "herpete" сўзидан олинган бўлиб, "ўрмалаш" деган маънони билдиради. Ушбу маъно касаллик ривожланишини клиник тасвири билан боғлиқ, бунда пуфакчалар нерв охирлари йўли бўйича бир чизиқ бўйлаб тарқалади, "ўрмалайди". Касаллик кенг тарқалган. Кўпинча ўрта ва катта ёшдаги одамларда, кам ҳолларда болаларда учрайди. Совуқ қотиш, шамоллаш, асабилашиши ҳолатлари, оғир кечувчи соматик касалликлар, ўтказилган жарроҳлик аралашувлари ва жароҳатлар касалликка олиб келувчи омиллар ҳисобланади. Касалликнинг яширин даври ўртача 1 ҳафтани ташкил этади.

Клиник кўриниши. Касаллик кучсиз қичишиш, ачишиш, кейинчалик тошмалар тошиши билан бошланади. Умумий белгилардан ҳолсизлик, тана ҳароратининг кўтарилиши кузатилади. Терида тўп-тўп бўлиб жойлашган, тиниқ сероз суюқлик билан тўлган пуфакчалар ҳосил бўлади.Тошмалар ўчоғи атрофидаги тери қопламаси гиперемияланган бўлади, кейинчалик вақт ўтиши билан пуфакчалар ичидаги суюқлик хиралашади. 5-7 кундан сўнг пуфакча ёрилади ёки кўчиб тушади. Улар ўрнида сариқ ёки оч жигарранг пўстлоқ ҳосил бўлади. Бу пўстлоқ 2-3 ҳафта сақланади. Кўпчилик ҳолларда пуфакчалар эпидермисда (терининг энг юза қаватида) жойлашади. Шунинг учун ҳам пўстлоқ тушиб кетгандан кейин тошмалар ўрнида гиперпигментация қолади ва аста-секин тери ранги меъёрий кўринишга келади. Лекин баъзан, касалликнинг нотипик кечиши ва иккиламчи инфекциянинг қўшилиши натижасида жараён терининг чуқурроқ қаватларигача ўтади. Бундай ҳолларда чандиқ ҳосил бўлади. Ўраб олувчи темиратки кўпинча симилловчи оғриқ билан кечади. Бунга сабаб вируснинг нерв ҳужайрасига мойиллигидир. Вирус нерв тугунларида яшайди ва сезувчи нерв толалари бўйлаб тарқалади (44-расм).Тошмаларнинг нерв толалари бўйлаб тошиши ҳам шу билан боғлиқдир. Оғриқ синдроми узоқ вақтгача, яъни бир неча ҳафта, ҳатто бир неча ойгача давом этади.



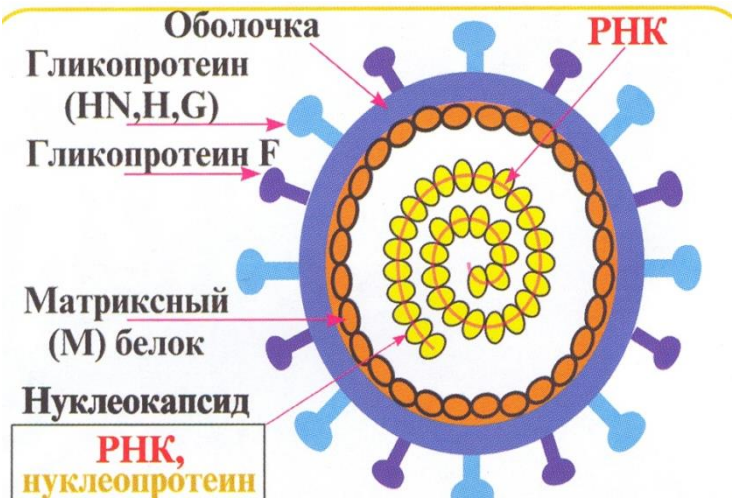
34.6-расм. Ўраб олувчи темиратки

Герпесли инфекциянинг кўзда учраши хавфлидир. Кўзда жойлашганда вирус уч шохли нервнинг назоцилиар шохчаси бўйлаб тарқалиши ва кўз шох пардасини зарарлаши мумкин. Ўраб олувчи темираткининг асоратларига яна юзнинг бир томонлама фалажлиги ва эшитув органларининг зарарланиши киради. Кучсиз беморларда ва касалликнинг оғир шаклларида менингит ва энцефалит каби асоратлар бериши ҳам мумкин.

Қизамиқ(лот. Morbilli) – юқори даражадаги мойилликка (контагиозлик 100% гача) эга бўлган ўткир вирусли касаллик бўлиб, юқори ҳарорат (40,5°С гача), оғиз бўшлиғи ва юқори нафас йўллари шиллиқ пардасининг яллиғланиши, конъюктивит ва терида доғли-папулез тошмалар, умумий интоксикация билан характерланади. Вирус ташқи муҳитда чидамсиз, одам организмидан ташқарида турли хил кимёвий ва физик омиллар (нурланиш, қайнатиш, дезинфекцияловчи эритмалар билан ишлов бериш) натижасида тезда нобуд бўлади (45-расм).

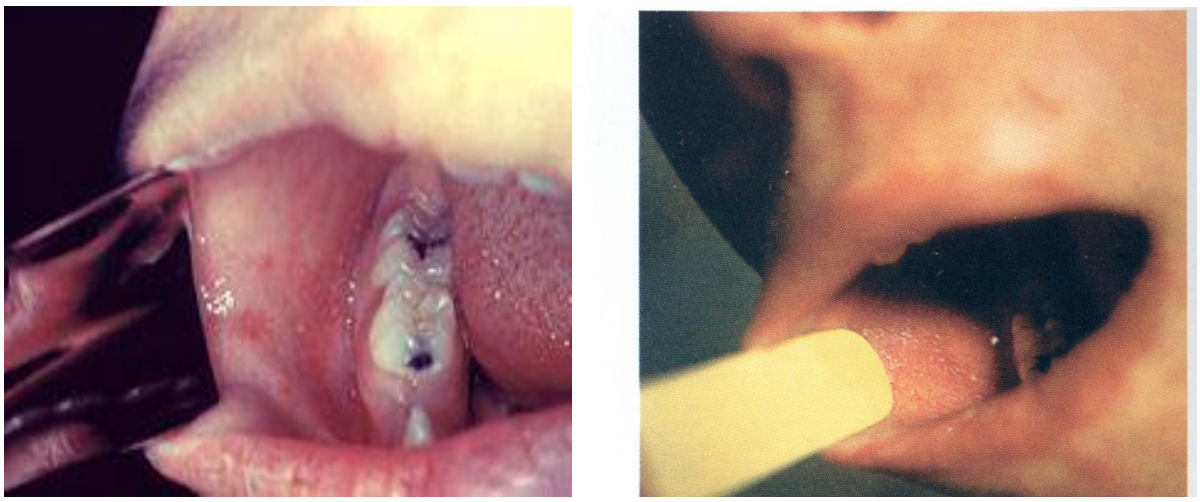
Инфекция ҳаво-томчи йўли билан юқади. Бемор йўталган ва аксирган вақтида вирус сўлак билан ташқи муҳитга кўп миқдорда ажралади.

Инфекция манбаи – касал одам. Бемор атрофдагилар учун касалликнинг яширин даврининг охирги 2 куни ва тошма тошишининг 4-кунигача юқумли ҳисобланади. 5-кундан сўнг касаллик юқмайди.



34.7-расм. Қизамиқ вирусининг тузилиши

Қизамиқ билан асосан 2-5 ёшли болалар ва болалигида ушбу касаллик билан касалланмаган катталар касалланади. Чақалоқларда онасидан ўтган иммуноглобулинлар бўлади (агар онаси аввал шу касаллик билан касалланган бўлса). Ушбу иммунитет чақалоқлар ҳаётининг дастлабки 3-ойигача сақланади. Касал онадан ҳомилага вирус трансплацентар йўл билн ўтган ҳолларда чақалоқлар туғма қизамиқ билан туғилиши мумкин. Касалликдан сўнг турғун иммунитет ҳосил бўлади ва қизамиқ билан қайта касалланиш кузатилмайди. Иммун тизим патологияси бўлган одамларда қизамиқ қайталаган ҳолатлар ҳам аниқланган. Қизамиқ қиш-баҳор ойларида (декабрь-май) кўп учрайди ва ҳар 2-4 йилда касалланишнинг кўтарилиши кузатилади. Одам организмига вирус юқори нафас йўллари шиллиқ пардаси орқали киради ва кейинчалик қон орқали (бирламчи вирусемия) вирус ретукулоэндотелиал тизимга (лимфа тугунига) тушади ва барча турдаги оқ қон таначаларини зарарлайди. Яширин даврнинг 3-кунидан лимфа тугунларида, муртакда ва талоқда цитоплазматик киритмалар тутган Warthin-Finkeldey йирик, кўп ядроли ҳужайраларини аниқлаш мумкин. Вирус лимфа тугунларида кўпайгач яна қонга тушади ва такрор (иккиламчи) вирусемия ривожланади. Бу вақтда касалликнинг клиник белгилари юзага чиқа бошлайди. Қизамиқ вируси иммун тизим фаолиятини пасайтиради (бевосита Т-лимфоцитларни зарарлаш орқали бўлиши мумкин) ва иммунитет сусайиши натижасида аъзоларда, асосан, нафас олиш аъзоларида оғир иккиламчи, бактериал асоратлар ривожланади.



34.8-расм. Қизамиқдаги Белский-Филатов-Коплик доғлари

Қизамиқда микроскопик кўриниш: нафас йўллари шиллиқ қаватида шиш, некроз ўчоғи, эпителийда метаплазия зоналари, шиллиқ ости қаватида лимфогистотиоцитар инфильтрация бўлади. Ретикулоэндотелиал тизимда - Warthin-Finkeldey ҳужайралари учрайди. Тери - дерманинг сўрғичли қатламида шиш кўринишидаги ўзгаришлар, периваскуляр лимфогистиоцитар инфильтрацияли қон қуйилишлар, касалликнинг 2-кунида эпидермисда некроз фокуслари пайдо бўлади, лунжнинг ички юзаси шиллиқ қаватида Белский-Филатов–Коплик доғлари кузатилади (46-расм).

Яширин даври 8-14 кун (кам ҳолларда 17 кунгача). Ўткир даврида - ҳароратнинг 38-40°С гача кўтарилиши, қуруқ йўтал, бурун битиши, ёруғликдан қўрқиш, аксириш, овознинг бўғилиши, бош оғриғи, қовоқнинг шишиши, конъюктиванинг қизариши, ҳалқум гиперемияси ва қаттиқ ва юмшоқ танглайда қизил доғлар - қизамиқ энантемаси кузатилади.

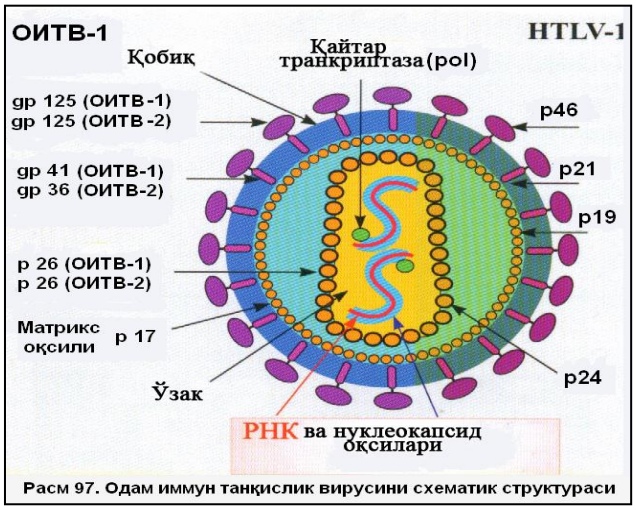
Қизамиқ тошмаси (экзантема) - касалликнинг 4-5-кунида пайдо бўлиб, дастлаб юзга, бўйинга, қулоқ орқасига, кейинги куни танага, 3-кунида эса тошмалар қўл ва оёқнинг ёзиладиган юзаларига тошади. Тошмалар майда папула ҳолида бўлиб, кейинчалик қўшилиб кетиши мумкин (бу унинг қизилчадан фарқлайдиган белгиси бўлиб, қизилчада бу тошмалар қўшилиб кетмайди).

Тошманинг йўқолиши 4-кундан бошланади. Бунда ҳарорат меъёрлашади, тошма тўқ рангга кириб, пигментацияланади ва кўчиши бошланади (тошма қандай кетма-кетликда тошган бўлса, шу кетма-кетликда қайтади). Пигментация 1-1,5 ҳафта давомида сақланиб туради.

Асоратлари: ларингит, нафас сиқиши (ҳиқилдоқнинг торайиши), трахеобронхит, бирламчи қизамиқ зотилжами, иккиламчи бактериал зотилжам, қизамиқ энцефалити, гепатит, лимфаденит, мезентериал лимфаденит.

ОИТС. ОИВ – инфекция одам иммунтанқислиги вирусларининг 1 ва 2 типлари келтириб чиқарадиган, иммун тизим ва асаб тизимида зарарланиш ва оғир юқумли инфекциялар (паразитар) ёки хавфли ўсмалар ҳамда энцефалопатия белгилари билан кечадиган касалликдир. ОИТС (орттирилган иммунтанқислик синдроми) ОИВ-инфекциясининг охирги босқичи ҳисобланади.

Эпидемиологияси. Касалликнинг бирдан бир инфекция манбаи - ушбу вирус (47-расм) билан касалланган одамдир. Касалликнинг клиник белгилари кузатилмаган шахслар, яъни вирус ташувчилар энг хавфли гуруҳ бўлиб, аҳоли ўртасида ОИВ инфекциясининг тарқалишида асосий сабабчи ҳисобланади.



34.9-расм. Одам иммунтанқислиги вирусининг тузилиши

Стоматолог ҳузурида касалликнинг юқиши қуйидаги ҳолларда содир бўлиши мумкин:

- дезинфекцияланмаган, қон ёки бошқа биологик суюқликлар билан зарарланган тиббий асбоблар ишлатилганида (турли хил аппаратлар, дисклар, зондлар, ниналар, шприцлар, кесувчи-санчувчи асбоблар ва ҳ.к.);

- оғиз бўшлиғида жароҳат ва яралар бўлганида;

- тиббий ходимлар териси қон билан ифлосланганда ёки қон кўзга тушганида.

Инфекция ҳаво-томчи йўли орқали юқмайди. Иммунтанқислик вируси қонда юқори миқдорда сақланади. Кейинги ўринларда камайиб

бориши бўйича қуйидаги биологик суюқликлар - сперма, қин ва цервикал безларининг шиллиқлари, сўлак туради.

Оғиз бўшлиғидаги ўсма касалликлари. Капоши саркомаси қон томирлар ўсмаси бўлиб, кўпинча Африка мамлакатлари аҳолисида учрайди. Бу ўсма ОИВ-инфекцияси билан бирга учрамаганда бироз хавфсиздир. ОИТС да Капоши саркомаси ёш одамларда ҳам юзага келиши мумкин. Бунда қизил рангдаги (тезда қўнғир рангга ўтади) доғлар тошиши аввалига болдирдан бошланади ва сўнгра тезлик билан тарқалиб кетади. ОИТС да кузатиладиган Капоши саркомаси одатдаги Капоши саркомасидан ўзининг хавфлилик даражасининг юқорилиги ва тери, шиллиқ қаватлар ва ички аъзоларга диссеминацияси билан фарқ қилади. Капоши саркомасига хос бўлган қўнғир тусдаги доғлар, яшайдиган мамлакатидан қатъий назар, ОИВ билан касалланган инсонларнинг 30% ида учрайди (48-расм).Терида дастлаб якка-якка ҳолда, кейинчалик тўп-тўп пушти, қизил, бинафша тусдаги доғсимон, папуласимон ҳосилалар пайдо бўлади.

34.10-расм. ОИТС габоғлиқ Капоши саркомаси

Оғиз бўшлиғида Капоши саркомаси кўпинча танглайда жойлашади, ривожланишнинг эрта босқичида кўк, қизил, қора ясси доғ кўринишида бўлади. Кейинги босқичларда зарарланиш ўчоқлари қораяди, юзаси тери сатҳидан кўтарилади, бўлакларга бўлиниб боради ва ниҳоят, яра ҳосил бўлади. Бу белгилар оғиз бўшлиғи саркомасига хос белгилардир. Ғадир-будир ҳосилаларнинг ҳосил бўлиши ва яра нуқсонлари туфайли қаттиқ ва юмшоқ танглайнинг бутун юзаси ўзгариши, деформацияланиши мумкин. Бу жараёнга милкнинг шиллиқ қавати ҳам қўшилиши мумкин. Капоши саркомасининг этиологик омили ҳозиргача номаълум. ОИТС билан касалланган беморларда одатда

тилда жойлашадиган ва ёшларда учрайдиган ясси ҳужайрали ўсма ривожланиши мумкин. Иммунодепрессантлар билан даволаш тадбирлари ўсмаларни, шунингдек оғиз бўшлиғи карциномасининг малигнизацияга учраш ҳолларини камайтиради.

ОИВ билан зарарланган одамларда оддий герпес вируси келтириб чиқарган стоматит белгилари тез-тез учраб туради. Герпес вируси билан бирламчи зарарланиш болаларда, ўсмирларда, кам ҳолларда ёшларда содир бўлади. Инфекция латент хусусиятга эга бўлгани учун қайталанишга (рецидивланишга) мойиллик бўлади. Намоён бўлганда эса умумий (иситма, ютинганда оғриқ, лимфатик тугунларнинг катталашиши) ва маҳаллий белгилар юзага чиқади. Ўткир герпетик тошмалар юз-жағ соҳасининг турли қисмларида жойлашиши мумкин. Энг кўп учрайдиган жойи - лаблар, милк, қаттиқ танглай. Дастлаб унчалик катта ўлчамга эга бўлмаган пуфакчалар пайдо бўлади, сўнгра улар қўшилиб катталашади. Пуфакчалар остидаги тўқима бутунлиги бузилганда яралар вужудга келади. Оғиз бўшлиғида пуфакчалар жуда тез ёрилади ва одатда бир зумда эрозияга айланади. Лабларнинг қизил ҳошиясида пуфакчалар қурийди ва қуруқ пўстлоқ ҳосил қилади.

Қайталанувчи герпетик стоматит кўпинча лабнинг қизил ҳошиясида жойлашади, баъзан атрофидаги тери соҳалари ҳам қўшилиб кетиши мумкин. Пуфакчалар тез катталашиб, бирлашади ва иккиламчи инфекция қўшилади. Пуфакчалар йиринглайди, натижада тўқ сариқ рангдаги пўстлоқ ҳосил бўлади, улар олиб ташланганда ўрнида эрозия ёки яра кўринади. Қаттиқ танглай ва милқдаги зарарланиш белгилари майда пуфакчалар кўринишида бўлиб, улар тез ёрилади ва шиллиқ қаватнинг ярали зарарланишига олиб келади. Клиник белгилар шамоллаш, руҳий зўриқиш, респиратор инфекциялар қўшилганда кучаяди.

Ўткир учли кондиломалар. Жойлашишига кўра касалланиш белгилари турлича: ўткир учли ёки ясси юзали бўртмалар кўринишда бўлиши мумкин.

Милқда ёки қаттиқ танглайда жойлашганда ўткир учли кўринишда бўлади. Ёноқда ва лабларда жойлашганда клиник кўриниш фокал эпителиал гиперплазия белгиларини эслатади, яъни: юмалоқ, юзаси бироз кўтарилган ва диаметри 5мм атрофида бўлади.

Тукли лейкоплакия. Жароҳатланиш ўчоғи тилда жойлашади, лекин ўлчами ва ташқи кўриниши турлича бўлади (49-расм). Тилнинг ён, орқа, устки юзаларида аниқланади ёки бутун тилни қоплаб олади .

34.11-расм. ОИВ да тукли тил лейкоплакияси

Шиллиқ қават оқимтир тусни олади, лекин гиперкератоз кузатилмайди. Палпацияда зичлашиш сезилмайди, бу эса касалликнинг ушбу шаклини юмшоқ лейкоплакия деб номланишига сабаб бўлади. Жароҳат ўчоғи тилнинг чап ва ўнг тарафларида, яъни билатерал ёки бир томонлама жойлашиши мумкин. Маҳаллий ёки тарқалган жароҳатларда шиллиқ қават ўзгаради, бурамалар ёки бўртмалар кўринишида кўтарилади, бу эса ташқи кўринишидан сочларни (тукларни) эслатади. Шунинг учун ҳам тукли лейкоплакия номи берилган. Дискомфортдан бошқа субъектив белгилар кузатилмайди.

Гистологик, вирусологик, шунингдек серологик текширишлар натижасида юмшоқ тукли лейкоплакиянинг сабабчиси Эпштейн-Барр вируси эканлиги аниқланган.

34.12-расм. ОИВ да оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати кандидози

Шундай қилиб, ОИВ инфекциясида касалликнинг дастлабки, яъни иммунтанқислик ривожлангунча бўлган даврида оғиз бўшлиғида рецидивланувчи (қайталанувчи) кандидоз ва герпес пайдо бўлади - бу касалликнинг илк кўринишидир. Уларнинг оғиз шиллиқ қаватидаги (ёноқ, қаттиқ ва юмшоқ танглай, милк, тил, шунингдек лаблар) оғир кўринишлари иммунтанқислик ривожланиши билан ортиб боради ва ОИТС босқичида эрозив-ярали кўринишда намоён бўлади. Айнан шунинг учун ҳам, оғиз бўшлиғи шиллиқ қаватида қайталанувчи патологияга эга одамлар ОИВ инфекциясига текширилишлари лозимдир (50-расм).

35.БОБ.СТОМАТОЛОГИЯДА МИКРОБЛАРГА ҚАРШИ ТЕРАПИЯ ВА ПРОФИЛАКТИКАНИНГ ПРИНЦИПЛАРИ

Илмий адабиётларда шундай фикр борки, ҳар хил турдаги анаэроблар, жумладан пародонтопатоген бактерияларнинг антибиотикларга сезгирлиги, умуман олганда бир-биридан фарқ қилмайди ва уларнинг эрадикацияси учун имидазол гуруҳи препаратлари ёки линкозамид гуруҳи антибиотикларини (линкомицин ва клиндамицин) қўллаш етарли.

Бироқ, бу ҳар доим бундай эмас. Охирги 10-20 йилда, алоҳида турдаги пародонтопатоген бактерияларнинг нафақат имидазоллар ва линкомицинга, балким бета-лактамлар, тетрациклинлар, левомицетин ва макролидларга ҳам резистентлиги бўйича етарли маълумотлар тўпланган.

Чидамлиликни ҳам табиий, ҳам орттирилган механизмлари мавжуд.Россияда, 1985-2005 йиллар даврда, Москва шаҳри шифохоналарида пародонтит ва юз-жағ соҳаси яллиғланиш касалликларидан ажратиб олинган облигат-анаэроб бактерияларнинг 1600 дан ортиқ штаммларини резистентлиги ўрганилганида, анаэробларга қарши таъсир механизмига эга классик препаратларга нисбатан резистент штаммларнинг сони ошиб бораётганлигини кўрсатди.

1985 йилга солиштирилганида, “эски” макролид препаратларга (эритромицин ва олеандомицин) нисбатан чидамлилик етарли даражада кескин (тахминан 3 марта) ошди (мувофиқ 65,0 % ва 72,5% гача).1985 йилда 25% дан, 2005 йилда 40% гача микробларнинг метронидазолга нисбатан чидамли штаммларнинг сони кўпайди. 1995

йилда тетрациклинга чидамли микроблар штаммларининг кескин кўпайгани қайд этилди. Ҳозирги даврда микроорганизмларнинг 30% гача антибиотикларга чидамли штаммлари аниқланмоқда.

Бактерия штаммларининг сезгирлиги in vitro текширилганида, сезгирлигини камайиб бориш даражасига кўра кимёпрепаратлар гуруҳларини қуйидагича жойлаштиришга имкон берди:

1. 90% дан ортиқ микроблар штаммларига сезгир ва юқори сезгир таъсир этувчи антибиотиклар (макролидлардан – кларитромицин, спиромицин, рокситромицин; бета-лактамлардан - амоксиклав, карбенициллин, цефтриаксон; ҳамда оксазолидинон, грамицидин С, левомицетин, рифампицин гуруҳларига мансуб янги антибиотиклар).

2. 81%дан 90%гача кўрсаткичга эга препаратлар (цефалоспоринлардан – цефамандол; макролидлардан – азитромицин ҳамда имипенем ва доксициклин).

3. 61%дан 80%гача кўрсаткичга эга препаратлар (линкозамидлардан – линкомицин, клиндамицин; бета-лактамлардан – амоксициллин, цефалексин; фторхинолонлардан – спарфлоксацин).

4. 30%дан 60%гача кўрсаткичга эга препаратлар (имидазоллардан – метронидазол; макролидлардан – эритромицин, олеандомицин; бета-лактамлардан – ампициллин, цефотаксим, цефтазидим ҳамда тетрациклин; фторхинолонлардан – ципрофлоксацин, ломефлоксацин, норфлоксацин).

5. 30%дан паст кўрсаткичга эга препаратлар (пенициллин, аминогликозидлар; фторхинолонлардан –налидикскислотаси, офлоксацин ҳамда клотримазол).

Охирги вақтда, пародонт касаллигига ҳам микроблар сабабчи эканлиги ҳеч кимда шубҳа уйғотмайди, шу сабабли уни даволашда микробларга қарши препаратлардан фойдаланиш зарур. Бироқ, микробларга қарши препаратлар ва уларнинг дозаларини танлашни, асосан эмперик йўл билан амалга оширилади, бу бир қатор ҳолатларда салбий натижалар ва асоратларга олиб келади (Грудянов А.И., Стариков Н.А., 1998; Puzucker P., 1993).

Шу билан бирга, 90% беморларда тиш карашини механик йўл билан тозалаб олиб ташлаш билан ҳам яхши терапевтик самарага эришиш мумкин. Айрим ҳолларда, фақатгина тиш карашини олиб ташлаш билан кутилган натижага эришилмаса, унда қўлланиладиган антибиотиклар қуйидаги талабларга жавоб бериши лозим (Грудянов А.И. ҳаммуал.б.б., 2002; Плахтий Л.Я., 2002; Царёв В.Н., 1997):

- дори воситаси юқори биомосликка ва ошқозон-ичакда яхши сўрилувчанликка эга бўлиши;
- маълум бир парчаланиш тезлигига эга бўлиши;
- милк суюқлигида тўпланиш хусусиятига эга бўлиши.

Микробларга қарши препаратларнинг пародонтопатоген бактерия штаммларига нисбатан сезгирлигини самарасини солиштириш бўйича кўп тадқиқотлар олиб борилган: пептострепотококклар, стрептококклар, актиномицетлар, бактероидлар ва фузобактерияларни қуйидаги антибиотик гуруҳларига - пенициллин, цефлоспоринлар, линкомицин, макролидлар ҳамда метронидазол ва нитразолга. Текширишларда макролид препаратларнинг (рулид, макропен, грамицидин-С, левомицетин, рифампицин, джозамицин ва б.) юқори фаоллиги аниқланди (Дмитриева Л.А. ҳаммуал.б.б., 1998; Шашкина И.В. ҳаммуал.б.б., 2001; Ellen R.P., Mc Culloch, 2000; Walker C.B., 1993).Аралаш инфекция аниқланганида, микробларга қарши доирасини кенгайтириш ва синергетик таъсир самарасини ошириш мақсадларида комплексли антибиотикотерпия қўллаш лозим (Gusberti F.A. et al., 1988; Killoy W.J., 1998; Puzucker P., 1993; Van Winkelhoff A.J. et al., 1992).

Америка Пародонтология Академияси маълумотларига кўра, микробларга қарши даволашни самараси препаратнинг фармакокинетик тавсифига ва қуйидаги маҳаллий омилларга боғлиқ: препаратни тўқималарда тўплана олиши, патоген микробларнинг сони ва резистентлиги, тиш карашида биоқобиқни ҳосил бўлиши, пародонтал чўнтакларда даволаш таъсир этмаётган патоген микробларнинг борлиги (Pallashi T.J., 2000; Van Winkelhoff A.J. et al., 2000).

Тизимли антибиотикотерапия анъанавий механик даволаш усули самара бермаган беморларга нисбатан буюрилади.Айниқса, бу ҳар хил тизимли касалликлари бор беморлар ва турли хил хавфли омиллари бор одамларда (масалан, чекиш, алкоголизм, тиш жойлашишининг аномалиялари, оғиз бўшлиғининг ёмон гигиенаси) намоён бўлади.Пародонтит бу цивилизация касаллиги эканлиги тасдиқланган ҳисобланади.Пародонтнинг яллиғланиш касалликларини одамнинг ҳаёт сифати кўрсаткичлари билан ўзаро боғлиқлиги тасдиқланган (Окушко В.Р., 2002; Плужникова М.М., 2002; Haber J., 1994; H. Michel, 2002; R. Bosten, 2002).

Стоматологияда яллиғланиш асоратларини антимикроб профилактикаси

Операциядан кейинги даврда шикастланиш инфекцияларини ривожланишига қуйидагилар таъсир кўрсатади: умумий ва маҳаллий иммунитетнинг ҳолати, операциядан олдинги тайёргарликни тавсифи, операция техникаси, тўқималарнинг операция давридаги жароҳатланиши, қон кетиши, ёт таначаларнинг борлиги, жароҳатнинг микроблар билан зарарланиши даражаси, микрофлоранинг вирулентлиги ва антимикроб препаратларга нисбатан резистентлиги.

Жароҳат инфекциясини ривожланиш эҳтимоллигига таъсир этувчи асосий омиллардан бири бу микроблар билан зарарланиш даражасидир. Шундан келиб чиқиб, жароҳатлар тоза, шартли тоза, контаминацияланган ва “ифлос”ларга бўлинади. Тоза жароҳатлар ҳосил қилувчи операцияларда (теридаги, оғиз ва бурун бўшлиқлари билан боғлиқ бўлмаган, режа асосида, асептика ва антисептиканинг ҳамма қоидаларига риоя қилиб амалга оширилган операциялар) антибиотикопрофилактика буюрилмайди.

Оғиз бўшилиғи билан боғлиқ ёки оғиз бўшлиғига алоқада бўлиш хавфи бўлган ҳамма операциялар, микрофлора миқдори нисбатан кўп бўлганлиги сабабли шартли тоза ҳисобланади.Бундай гуруҳга экзоген микроблар билан зарарланиш эҳтимоллиги бўлган жароҳатлар, масалан, жароҳатни бирламчи жарроҳлик тозаловини киритиш мумкин.Аммо, ҳамма пациентлар ҳам антибиотиклар билан профилактика қилинишига муҳтож бўлмайди.Масалан, оғиз бўшлиғидаги унча катта бўлмаган, кам жароҳатли операцияларда антибиотикопрофилактика ўтказилиши шарт эмас – масалан, тил юганчаси ва лаблар пластикаси ва б. ёки мисол учун, юзнинг унча катта бўлмаган лат еган жойлари ёки чуқур бўлмаган тилинган жароҳатларнинг жарроҳлик тозалови.Бундай аралашувларда яллиғланиш асоратларининг ривожланиш хавфи кам ва бундан ташқари, керак бўлганида, жароҳатнинг микробларга қарши даволашини маҳаллий дори воситалари билан олиб бориш имконияти мавжуд.

Контаминацияланганлар – бу йирингсиз яллиғланиш белгилари бор операцион жароҳатлар бўлиб, буларга сурункали полипозли (гиперпластик) гайморитни даволашдаги радикал гайморотомия операцияси, перикоронoритли ҳолатда “ақл тишини” олиб ташлашни мисол қилиш мумкин.

«Ифлос» – бу олдиндан микроблар билан зарарланган тўқималарни операцияси. Бундай жароҳатларга, очиқ кюретаждан

кейинги жароҳат ёки пародонтдаги қийқимли операциялар, радикал гайморотомиядаги яра тешиги пластикаси ва бошқалар мисол бўлади.

Контаминацияланган ва «ифлос» жарроҳлик аралашувларда доимо антибиотикопрофилактика ўтказиш кўрсатилган.Бундан ташкари, шуни назарда тутиш лозимки, “ифлос” жароҳатларда, микробларга қарши препаратлар операциядан олдин профилактик мақсадларда юборилган бўлса ҳам, кўпгина олимларнинг фикри бўйича, бактерияларга қарши терапияни операциядан кейинги даврда ҳам тўлиқ ҳажмда ўтказилиши мақсадга мувофиқ. Бинобарин, операциядан олдин қўлланилган антибиотикни (ёки шаклини), операциядан сўнг қўллаш учун препаратнинг бошқа гуруҳига ўзгартириш асосли эканлиги тасдиқланган (поғона-поғоналик принципи). Бу антибиотиклар таъсирида танланиб қолган бактерияларнинг резистент штаммларини самарали элиминация қилинишини таъминлайди.

Амбулатор стоматологик жарроҳлик амалиётида антибиотикопрофилактика икки ҳолатда қўлланилиши мумкин:

– операциядан кейин инфекцияни ривожланиш эҳтимоллиги юқори бўлса (тиш имплантацияси операциялари, сўлак безларидаги операциялар, синуслифтинг, жағ синишлари, альвеоляр ўсимта ва жағларни жарроҳлик йўли билан тиклаш, ўсмалар сабабли альвеоляр ўсимта ва жағларни резекцияси, сурункали остеомиелитдаги резекция ва б.);

- оғирлашган анамнезда иккиламчи (оппортунистик) инфекциялар ривожланганида – иммунтанқисликлар, диабет, семизлик, радиацион шикасталниш ва б., булар бевосита бемор ҳаётига хавф туғдиради.

Стоматологиядаги ва юз-жағ жарроҳлиги операциясидан кейинги йирингли-яллиғланиш асоратлари турли хил микробиологик кўринишга эга.Экстраорал кириш йўли билан қилинган операцияларда (агарда, оғиз бўшлиғи, гаймор бўшлиқлари, сўлак безлари билан боғлиқлик жойлари бўлмаса), микрофлора касалхона ичи инфекцияларини “классик” шаклларига мувофиқ келади (граммусбат бактериялар: *St.aureus,* коагулазаманфий стафилококклар - *St.epidermidis, St. saprophyticus, Streptococcus spp.,* энтерококклар; грамманфий бактериялар: *E. coli, Proteus mirabilis, Enterobacter spp.* ҳамдазамбуруғлар).Оғиз бўшлиғидаги операцияларда (ёки оғиз бўшлиғидан чуқурроқда жойлашган тўқималарга кириб боришда), оғиз бўшлиғининг резидент микрофлораси ёки периапикал яллиғланиш ўчоғининг микрофлораси билан зарарланиш эҳтимоллиги мавжуд: *Streptococcus spp. (Str.*

sanguis, Str. mutans, Str. salivarius), Peptococcus spp., Peptostreptococcus spp., Prevotelta spp., Porphyromonas spp., Fusobacterium spp., Actinomyces spp.

Ниҳоят, экстраорал кириш йўли билан амалга ошириладиган, аммо оғиз бўшлиғи билан алоқаси бўладиган операцияларда (жағ жароҳатланишидаги остеосинтез, ўқ билан яраланиш ва б.), қўш йўл орқали микроблар (шифохона ичи штаммлари ва оғиз бўшлиғи резидентфлораси) билан зарарланиш мумкин.

Стоматологик операцияларда, профилактика учун қўлланиладиган антибиотикларга қўйиладиган талаблар:

1. Антибиотикни таъсир фаоллиги у ёки бу операция соҳасига хос микрофлора аъзоларига мос келиши лозим.

2. Оғиз бўшлиғида ўтказиладиган амбулатор операцияларнинг, операциядан олдинги профилактикасида қўлланиладиган антибиотикнинг таъсир доирасига, жарроҳлик аралашувларда жароҳатни зарарловчи, оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати ва тиш карашининг резидент бактерияларини агрессив гуруҳлари кириши керак.

3. Антибиотик, сурункали одонтоген яллиғланиш ўчоғида (периодонтда, пародонтал чўнтакда) кўп учрайдиган гуруҳ микроорганизмларга қарши фаол бўлиши керак.

4. Дори воситасининг микрофлора резистентлигини юзага келтириш қобилияти жуда паст бўлиши лозим.

5. Дори воситаси жарроҳлик аралашуви соҳасида жойлашган тўқималарга яхши кира олиш зарур. Масалан, жағ суякларидаги операциялар, милк, суяк тўқималаридаги қийқима операциялар ва милк суюқлиги билан ажралиши керак.

6. Антибиотикнинг тўқималар ва операцион ярадаги миқдори, ҳар қандай мумкин бўлган патоген микробларга нисбатан антибиотикни энг кам ингибицияловчи миқдоридан (МИК) юқори бўлиши ва ушбу миқдорда жарроҳлик аралашувининг бутун вақти давомида сақланиб туриши лозим.

7. Антибиотик энг кам ножўя таъсирга эга бўлиши зарур (анестезияда қўлланиладиган ва бошқа дори воситалари билан таъсирлашмаслиги керак).

Операциядан олдинги профилактика учун буюриладиган турли хил антибиотикларнинг таъсир доираси, фармакодинамик ва фармакокинетик хусусиятларини ўрганиш натижасида, охирги йилларда уларни қўллаш бўйича қуйидаги қоидалар таклиф этилди:

1. Дори воситасини операциядан 1 соат олдин ёки 30 дақиқадан кеч

бўлмаган муддатда киритиш, бироқ турли хил антибиотиклар учун операция бошланишидан олдин 30-60 дақиқа орасида озгина фарқлар бўлиши мумкин.

2. Операцион жароҳатдаги антибиотикнинг самарали миқдори (яъни, $МИК_{90}$ юқори) бутун хирургик аралашув мобайнида ва энг муҳими яра тикилаётган вақтда сақланиб қолиши лозим, чунки бунда микроблар контаминацияси энг юқори даражага етган бўлади; бу вақтни “танг давр” деб аталиб, у операциядан кейинги 3 соат атрофидаги вақт оралиғини ўз ичига олади.

3. Антибиотикни фақат операция тугаганидан сўнг бериш, операциядан кейинги жароҳат инфекцияларини учраш даражасини камайтириш нуқтаи назаридан самарасиз ҳисобланади.

4. Операциядан 24 соат ўтганидан кейин ҳам антибиотик беришни давом эттириш номақбул ҳисобланади, чунки бу яллиғланиш реакциясини кечишига салбий таъсир этади ва кўпинча операциядан кейинги профилактика самарасини оширишга олиб келмайди (5 банд бундан мустасно).

5. Агарда жароҳат оғиз бўшлиғи билан туташган ва бунда яллиғланиш реакциясини чақирувчи қўшимча омиллар мавжуд бўлса (тўқималарни операцион жароҳати, узоқ вақт давом этган операция, имплантантларни кўплиги, бегона жисмлар, масалан, цистотомияда йодоформли тампонлар, биологик трансплантатларни ишлатиш, мисол учун, консервация қилинган суяклар ва б.), антибиотикларни операциядан кейинги даврда ҳам қўллашга тавсия этилади. Антибиотикни қўллаш муддати аралашув ҳажмига боғлиқ бўлиб, у асосан 5-7 кунни ташкил этади (Р.В. Ушаков, В.Н. Царёв, 1999-2002).

6. Инфекцион асоратларни операциядан олдинги профилактикасида, операцион жароҳатда ҳамма бактерияларни тўлиқ йўқотишга ҳаракат қилмаслик, уларни миқдорини иммун тизим самарали ишлайдиган ва йирингли инфекцияларни ривожланишини олди олинадиган миқдорларгача сезиларли камайтириш керак (Л.С. Страчунский, Р.С Козлов, 1997).

Жарроҳлик стоматологияси ва юз-жағ хирургиясида, антибиотикопрофилактика 17 жадвалда келтирилган схема ва препаратлар ёрдамида олиб борилиши мумкин.

Охирги йилларда, стоматологияда комбинацияли антибиотикопрофилактика кенг қўлланилмоқда. Бу антибиотикни операциядан олдин тизимли қўллаш ва шартли тоза жароҳатли ҳолларда, операциялардан кейин антибиотик тутувчи дори

воситаларини маҳаллий қўллашда намоён бўлади. Бунга, милк имплантациясида операциядан кейинги асоратларни профилактикаси учун қўлланиладиган «Диплен-дента» антибиотик тутувчи икки қобиқли адгезив стоматологик пўстлар мисол бўлиши мумкин (В.Н. Царёв, 2002).

35,1 жадвал

Жарроҳлик стоматологияси ва юз-жағ хирургиясида антибиотикопрофилактика

Оғиз бўшлиғи билан туташмаган операциялар (тоза)	Юздаги ўсмасимон ва безарар ўсмалар, бўйиндаги кисталарни олиб ташлаш ва б.	Цефазолин 1 г в/и Ампициллин/сульбактам 1,5 г в/и Амоксициллин/клавунат 1,2 г в/и, бета-лактамларга аллергияси бўлса – ванкомицин 1 г в/и
Оғиз бўшлиғи билан туташган (шартли тоза) ва хавфли гуруҳдаги тоза операциялар	Милк имплантацияси, синуслифтинг, альвеоляр ўсимтани тиклаш, ретенацияланган тишларни олиб ташлаш, оғиз бўшлиғи кираверишини чуқурлаштириш ва б.	Рокситромицин 150 мг операциядан 30-60 дақ олдин Кларитромицин 500 мг м/иёки в/иоперациядан 30 дақ олдин Спирамицин 1,5 млн Б (ЕД)м/иёки в/иоперациядан 30 дақ олдин Цефазолин 1-2г в/иоперациядан 30 дақ олдин Цефуроксим 750 мг в/иёким/иоперациядан 30 дақ олдин Ципрофлоксацин 0,2 г в/иоперациядан 30 дақ олдин Клиндамицин 600-900 мг в/иоперациядан 30 дақ олдин Линкомицин 0,5 гм/иоперациядан 30 дақ олдин
Оғиз бўшлиғи билан боғлиқ (контаминацияланган) ва хавфли гуруҳдаги шартли тоза операциялар	Гипертрофик гайморитдаги радикал гайморотомия, жағ синганида тиш қатори чегарасидаги остеосинтез, тиш илдизи тепа қисми резекцияси ва цистэктомияси, перикоронит ҳолатида бўртиб чиққан тишларни олиб ташлаш (йирингли яллиғланишсиз) ва б.	Ампициллин операциядан 1 кун олдин ва операциядан кейин - 0,5 гкунига 4 маҳал, метронидазол (0,2-0,25 гкунига 3 маҳалдан)билан бирга Амоксициллин/клавунат операциядан 30 дақ олдин1,2 г в/и, операциядан кейин - 625 мг кунига 3 маҳалдан Рокситромицин 150 мг операциядан 30-60дақ олдин (хавфли гуруҳларда операциядан кейин - 150 мг кунига 2 маҳалдан, 3-5 кун) Кларитромицин 500 мг м/иёки в/иоперациядан 30 дақ олдин (хавфли гуруҳларда операциядан кейин – спирамицин ва рокситромицин - 150 мг кунига 2 маҳалдан, 3-5 кун Спирамицин 1,5 млн Бм/иёки в/иоперациядан 30 дақ олдин (хавфли гуруҳларда операциядан кейин – спирамицин ва рокситромицин - 3-5 кун) Клиндамицин 600-900 мг в/иоперациядан 30 дақ олдин Линкомицин 0,5 гоперациядан 30 дақ олдинм/и, операциядан кейин – 1 гкунига 2 маҳалдан, 3-5 кун
“Ифлос” операциялар	Актиномикоз ўчоғини	Ўша препаратлар 5 кундан 7 кунгача бўлган муддатда

	кесиш, секвестрэктомия, гайморотомия яра тешиги пластикаси билан бирга ва б.	Актиномикозда – операциядан 30 дақ олдин ампициллин 0,5 г в/иёким/и, операциядан кейин – 0,5 гкунига 4 маҳалдан ёки амоксициллин/клавунат операциядан 30 дақ олдин1,2 г в/и, операциядан кейин - 625 мг кунига 3 маҳалдан Бета-лактамларга аллергияси бўлса – макролидлар

Стоматологик аралашувларда инфекционэндокардитнипрофилактикаси

Инвазив стоматологик аралашувлар (жумладан эндодонтик даволаш) микроорганизмлар, уларнинг ҳаёт фаолияти маҳсулотлари ёки иммун комплексларни организмнинг узоқдаги соҳаларига гематоген тарқалишига олиб келиши мумкин.Бунинг натижасида юзага келадиган асоратлардан бири бу юқумли эндокардит ҳисобланади. Инфекцион эндокардит – бунда касаллик қўзғатувчи микроб юрак клапанлари, эндокард деворида, кам ҳолларда – аорта ва катта артерияларнинг эндотелияларида жойлашган бўлади.

Охирги йилларда, сепсиснинг кўринишларидан бири бўлган ўткир инфекцион эндокардитнинг учрашини кўпайиб бориши кузатилмоқда.Инфекцион эндокардитни даволашдаги замонавий ютуқларга қарамай, касалликдаги юқори ўлим фоизи (20 %дан 45% гача) унинг профилактикасини энг муҳим масалалардан бирига айлантирди (Б.С. Белов, 2000).

Кўпгина муаллифлар, инфекцион эндокардитнинг учраш даражасини кўпайиб бораётганини, жумладан стоматологик инфекцияларнинг (сурункали периапикал инфекциялар, периодонтитлар, гингивитлар, пародонтитлар микроорганизмлар гематоген диссеминациясини манбаи бўлиб хизмат қилади ва жараёнга юрак клапанлари жалб этилади) учраш даражасини юқорилиги ҳисобига, деб таъкидлайдилар.

Стоматологик пациентларни, инфекцион эндокардитнинг ривожланиш хавфи юқори ва ўртача бўлган тоифаларга ажратилади.

Юқори ривожланиш хавфи бўлган тоифага киради:

1) “кўк” турдаги мураккаб туғма юрак нуқсони;
2) анамнезида инфекцион эндокардит борлар (энг юқори хавфли тоифа);
3) сунъий юрак клапанлари;
4) хирургик имплантация қилинган тизимли ўпка шунтиёкинайчаси.

Ўртача ривожланиш хавфи бўлган тоифага киради:

1) юрак клапанларининг орттирилган дисфункцияси(масалан, юракнинг ревматик касаллиги);
2) гипертрофик кардиомиопатия;
3) юрак митрал клапанинг пролапсирегургитациява/ёкитавақасиникенгайиши билан бирга;
4) юракнинг бошқа туғма нуқсонлари (юрак бўлма ораси пардеворининг иккиламчи нуқсонлари, юрак бўлма ораси пардевори ва артериал томирдаги хирургик тикланган

нуқсонлари бўйича қилинган операциялардан 6 ой ўтганлар бундан мустасно. Бундай ҳолатларда микробларга қарши профилактика ўтказилмайди).

Инфекцион эндокардитнинг антибиотикопрофилактикаси қуйидаги стоматологик жарроҳлик манипуляцияларида тавсия этилади:

- Тишни олиб ташлаш.
- Милк имплантацияси.
- Амбулатор операциялар (ҳаммаси).
- Пайлар орасига қилинадиган маҳаллий анестезия.
- Пародонтдаги манипуляциялар, жумладан жарроҳлик аралашувлари (операциялар), тиш тошларини ультратовушли скалер ёрдамида олиб ташлаш, кюретаж.
- Тишлар ёки имплантатнипрофилактик тозалаганда қонаса.
- Милк тагига антибиотик шимдирилган материалларни қўйиш.

Антибиотикопрофилактикаўтказилмайди: милкларни қонашига олиб келмайдиган даволаш тадбирларида, инъекцияларда ва оғиз бўшлиғидаги маҳаллий анестезияда (пайлар орасига қилинадиганидан ташқари), сут тишларининг тушиши.

Стоматологик даволаш тадбирларида, эндокардитнинг профилактикасиқуйидагилардан иборат:

Амоксициллин: катталар – оғиз орқали 2 гдаволашдан 1 соат олдин, болалар – 50 мг/кг.

Оғиз орқали юборишга иложи бўлмаганида – ампициллин в/и: катталар – 2 гдаволашдан 30 дақиқа олдин, болалар – 50 мг/кг.

Пенициллинга аллергияси бўлса – клиндамицин: катталар – 500 мг оғиз орқали даволашдан 1 соат олдин, болалар – 20 мг/кг, ёки азитромицин ёки кларитромицин: катталар – 500 мг оғиз орқали даволашдан 1 соат олдин, болалар – 15 мг/кг.

Пенициллинга аллергияси бўлса ва оғиз орқали юборишга иложи бўлмаганида – клиндамицин в/и: катталар - 600 мг даволашдан 30 дақиқа олдин, болалар – 20 мг/кг.

Юз-жағ соҳасидаги операциялардан сўнг яллиғланиш асоратларини профилактикасининг биринчи шартларидан бўлиб асептикава антисептика қоидаларига риоя қилиш ҳисобланади.Бунда, операция соҳасига антисептик эритмалар билан ишлов бериш муҳим аҳамиятга эга. Шу мақсадда терига ишлов беришда, спирт-хлоргексидин эритмаси, йодонат, йодопирон вабошқа маҳаллий профилактика воситаларидан фойдаланилади.

Стоматологик амалиётдаги инфекцион жараёнларда бактерияларга қарши терапия

Стоматологик амалиётдаги инфекцион жараёнларда бактерияларга қарши терапия тактикаси қуйидагиларга боғлиқ:

1) жараён тавсифи (чегараланган ёки ёйилган, кучаювчи);
2) микроб флораси ва унинг сезгирлигини тавсифи;
3) пациент иммун тизимининг ҳолати (иммунтанқислик, аллергия).

Юмшоқ тўқималарнинг чегараланган йирингли-яллиғланиш касалликларида – одонтоген абсцессларнингантибактериал кимётерапиясида,асосан, оғиз орқали юбориладиган антибиотиклардан фойдаланилади. Иммун тизимида нуқсонлари бор пациентларда (қандли диабети бўлса, кимё- ёки радиотерапиядан сўнг ва б.) ҳамда инфекция тарқалишига хавф солувчи абсцесснинг жойлашувларида (кўз косаси, чакка ости, танглай қанотлари чуқурчаларининг абсцесслари ва б.) – хавфли гуруҳда, босқичма-босқичли кимётерапия ўтказиш мақсадга мувофиқ (18 жадвал).

Катталардаги одонтоген флегмоналарда (фасцитлар,чет эл номенклатураси бўйича) аралашфлора аниқланади: *Peptostreptococcus spp., Bacteroldes spp., Fusobacterium spp., Veillonella spp., Enterobacter spp., Streptococcus spp., Staphylococcus spp.* Болаларда *Peptostreptococcus spp., Streptococcus spp., Staphylococcus spp.* кўпроқ учрайди. Россия олимлари томонидан олинган натижаларга кўра (В.В. Шулаков, 2001), юз-жағ соҳаси флегмонасидаги микроб манзарасини 75,8% бактерияларнинг облигат-анаэроб ва микроаэрофил турлари ташкил этади.Оғиз-бўшлиғи ости йирингли-некротик флегмонасида полимикробли флора ажратиб олинади: *Fusobacterium spp., Bacteroides spp., Peptostreptococcus spp., Streptococcus spp., Actinomyces spp., Propionibacterium spp., Clostridium spp.* Охиргилари жароҳатларда, айниқса, ўқотар жароҳатларда, пептострептококклар билан бирга учрайди.

Касаллик оғир кечувчи беморларда, бактерияларнинг айтиб ўтилган турларидан ташқари, грамманфий энтеробактериялар, кўк йиринг тайёқчаси ва *S. aureus* ажратиб олиниши мумкин (кўпинча қандли диабет ва алкоголизм билан оғриган беморларда).

Одонтоген флегмонали беморлар стоматологик (юз-жағ) шифохоналарга ётқизилишини назарда тутиб, уларга босқичма-босқичли микробларга қарши терапия ўтказиш мақсадга мувофиқ. Даволаш муддати 10-14 кундан кам бўлмаган даврни ташкил этиши лозим. Оғир ҳолатларда

антибиотикларни вена ичига ва эндолимфатик йўл орқали юборилади (19 жадвал).

35.2 - жадвал

Одонтоген абсцессда эмпирик антибактериал кимётерапия

Танлов препарати	Босқичма-босқич терапия учун перорал шакллари	Альтернатив терапия	Босқичма-босқич терапия учун перорал шакллари
Ампициллин 500 мг м/икунига 4 маҳал + метронидазол 500 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Ампициллин 500 мг оғиз орқали кунига 4маҳал + метронидазол 500 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Клиндамицин 150 мг кунига 4 маҳал	
Ровамицин 3 млн ХБм/и кунига 2 маҳал	Ровамицин 3 млн ХБоғиз орқали кунига 2маҳал	Линкомицин 1 гкунига 2 маҳал	
Кларитромицин 500 мг м/и кунига 2 маҳал	Кларитромицин 500 мг оғиз орқали кунига 2маҳал		
Роскитромицин 150 мг оғиз орқали кунига 2 маҳал			
Хавфли гуруҳ			
Линкомицин 0,5-0,6 гм/и кунига 2 маҳал	Линкомицин 1 гкунига 2 маҳал	Клиндамицин 300 мг м/и кунига 2 маҳал	Клиндамицин 150 мг м/и кунига 4 маҳал
Эритромицин 500 мг м/и кунига 4маҳал + метронидазол 500 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал, 2-3 кун	Эритромицин 500 мг м/и кунига 4 маҳал +метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Кларитромицин 500 мг в/и кунига 2 маҳал	Кларитромицин 250 мг кунига 2 маҳал
Оксациллин 1 гм/и кунига 4 маҳал, 2-3 кун + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Оксациллин 1 гкунига 4 маҳал + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал		

35.3 - жадвал

Одонтоген флегмоналарда эмпирик антибактериал кимётерапия

Танлов препарати	Босқичма-босқич терапия учун перорал шакллари	Альтернатив (заҳира) терапия	Босқичма-босқич терапия учун перорал шакллари
1-2 катакли соҳа чегарасида жойлашганида			
Линкомицин 0,5- 0,6 гм/и кунига 2 маҳал	Линкомицин 1 гм/и кунига 2 маҳал	Клиндамицин 300 мг м/и кунига 2 маҳал	Клиндамицин 150 мг кунига 4 маҳал
Эритромицин 500 мг м/и кунига 4маҳал + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал, 2-3 кун	Эритромицин 500 мг м/и кунига 4маҳал + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Кларитромицин 500 мг в/икунига 1 маҳал (2-3 кун)	Кларитромицин 250 мг кунига 2маҳал
Оксациллин 1 гм/и кунига 4маҳал, 2-3 кун + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал	Оксациллин 1 гм/и кунига 4маҳал, 2-3 кун + метронидазол 200-250 мг оғиз орқали кунига 3 маҳал		
Тарқалган оғир ва ўрта оғир жараёнларда			
Цефуроксим 750-1500 мг в/и ёки м/и кунига 3 маҳал (оғирлигига қараб 3-5 кун)	Цефуроксим 500 мг кунига 2 маҳал	Доксициклин 0,1 гкунига 2 маҳал, 1-кун,кейин0,1 гкунига 1 маҳал	
Амоксициллин/клавунат 1 гв/и кунига 3 маҳал (оғирлигига қараб 3-5 кун)	Амоксициллин/клавунат 500 мг кунига 3маҳал	Цефуроксим 750-1500 мг в/и ёки м/и кунига 3 маҳал	Цефуроксим 500 мг кунига 2маҳал
		Ципрофлоксациллин в/и кунига 2 маҳал + метронидазол 500 мг кунига 3 маҳал	Ципрофлоксациллин 750 мг кунига 2маҳал

36 БОБ. ҲАР ХИЛ ИХТИСОСЛИКДАГИ СТОМАТОЛОГИК БЎЛИМЛАРНИНГ САНИТАР-ЭПИДЕМИОЛОГИК ТАРТИБИ

XXIacp – стоматологияда профилактика асри

Замонавий стоматологияни, тиббиётнинг бошқа соҳалари каби, санитар-гигиеник ва эпидемияга қарши тартибларсиз тасаввур этиб бўлмайди, чунки улар хоналарнинг нисбатан тозалигини, даволаш-профилактик муассасалардаги ускуналарни микроблар билан ифлосланиши ва касалхона ичи инфекцияларини юзага келишини олдини олишни таъминлайди.

Жамиятнинг замонавий ривожланиш босқичида, пациентларга стоматологик ёрдам кўрсатишда, санитар-гигиеник тартиб қоидаларига қатъий риоя қилиш талаб этилади. Бунда ҳар бир пациентни юқумли касалликлар, жумладан ОИВ ва парентерал вирусли гепатитларнинг муайян манбаи деб қаралиши лозим. Оғиз бўшлиғи, сўлак, қондаги микроорганизмлар тўғридан-тўғри ёки контаминацияланган тиббий буюм, асбоб ва ашёлар касалхона ичи инфекцияларини ривожланишига сабабчи бўлиши мумкин.

Ҳар хил инфекция қўзғатувчиларини ўтказувчи омиллар қуйидагилар бўлиши мумкин: тиббий ходимларнинг қўллари, асбоб-ускуналар ҳамда суюқ дори воситалари ва ҳаво. Шунинг учун тиббий ходимлар териси ва шиллиқ қаватларини пациент сўлаги, қони ва бошқа биологик суюқликларини тегишидан ҳимоя қилишлари лозим, шу сабабли улар ишлаганида тиббий қўлқоплар, махсус кийим, алмашинадиган оёқ кийим, ниқоб ва ҳимоя кўз ойнаклардан фойдаланишлари керак.

Шу билан бирга, беморларни даволаётганда ёзиш, телефон дастагига тегиш ва б. мумкин эмас, бунда инфекция қўзғатувчиларини ташқи муҳит буюмларига тарқалиши олди олинади.

Қўлларни ҳимоя қилиш учун тиббий қўлқоплар кийилади, бунда қўлдан соат ва зеб-зинатлар ечилган бўлиши керак. Тиббий ходимлар қўл терисидаги шикастланган жойлар лейкопластир, бармоққа кийизиладиган резинкалар билан ҳимояланган бўлиши лозим.

ЎзР ССВ 4-сонли буйруғи (04.01.2008й.) ва 0304-12-сонли санитар қоидалар ва меъёрларга (31.10.2012й.) асосан ўтказиладиган чора-тадбирлар:

1.1. Қон ва бошқа биологик суюқликлар сачраб кетганида қилинадиган ҳаракатлар тартиби қуйидагича: шикастланмаган терига

сачраганида – ифлосланган жойни тезда ювиб ташлаш, агарда оқар сув бўлмаса, қўл ювиш учун эритма ёки гел билан ювиб ташлаш.

1.2. Игна ёки бошқа ўткир асбоб билан жароҳатланганда қилинадиган ҳаракатлар тартиби қуйидагича: дарров жароҳатланган жойни совун билан ювиб ташлаш. Жароҳат юзасини оқар сувда ушлаб туриш (бир неча дақиқа ёки қон кетиши тўхтагунча), бунда қон жароҳатдан бемалол оқиб чиқиши зарур, оқар сув бўлмаса, қўл ювиш учун эритма ёки гел билан ишлов берилади.

1.3. Кўзга сачраганида – дарров оқар сув ёки физиологик эритма билан ювиб ташлаш даркор. Ўтириб, бошни орқага энгаштирилади ва ҳамкасабасидан кўзига сув ёки физиологик эритма қуйишни сўралади, бунда сув ёки эритма кўз қовоғлари тагига ҳам оқиб тушиши керак, уларни вақти-вақти билан уларни аста-секин тортиб турилади. Ювиш вақтида контакт линзаларини ечиш керак эмас, чунки улар ҳимоя тўсиғини ташкил қилади. Кўзларни ювиб бўлинганидан сўнг, контакт линзалари ечилади ва уларга одатдагидек ишлов берилади, шундан кейин улар кейинги қўллаш учун мутлақо безарар.

Одатда, стоматолог-шифокор махсус кийимда ишлаши лозим: тиббий халат ва қалпоқ, иш тури ва ихтисослигига қараб ҳар сменада ўзгартириладиган ниқоб.

1.4. Қон махсус кийимга текканида, уни тезда ечилади ва қўлқоплар ёрдамида сув ўтказмайдиган қопга солиб, кир ювиш хонасига топширилади, у ерда уни 0,1% хлор тутувчи эритмада 30 дақиқа давомида ушлаб турилади, кейин ювилади ва стерилизация қилинади.

Оғиз бўшлиғидаги яллиғланиш жараённи даволаганда, абсцесс очилганида ва унинг бўшлиқлари ва зарарланган илдиз каналларига ишлов берилганида, анамнезида бошидан ўтказилган В, С вирусли гепатитлар ёки HBsAg ташувчиси бўлган беморни даволаш тугаганидан сўнг албатта махсус усулда гигиеник ишлов берилиши лозим:

1.5. Қўлларни 40-60 сония ювиш: қўлларни ҳўллаш ва синчковлик билан ҳар томонлама ишқалаб совунлаш, совунни ювиб ташлаш ва қўлларни бир марталик сочиқ билан қуп-қуруқ қилиб артиш, сочиқда кранни ушлаб ёпиш. Қўлларга антисептик ишлов бериш (20-30 сония): антисептикни қўл панжасининг ҳамма соҳаларига ишлов беришга етадиган миқдорда ишлатиш ва қуругунча уқалаш лозим.

Тиббий ходимларга иш жойида овқатланиш ва пардоз-андоз қилишга рухсат этилмайди.

Охирги 20-30 йиллар ичида касалхона ичи инфекциялари муаммосининг аҳамияти бутун дунё соғлиқни сақлаш хизматларида кескин кучайиб кетди. Ривожланган давлатларда касалхона ичи инфекцияларининг эпидемиологик назоратини фаол жорий қилиниши натижасида улардан касалланиш 5-10% атрофида барқарор турибди.

Масалан, АҚШ шифохоналарида касалхона ичи инфекцияларини кузатиш дастури амалга оширилганидан сўнг касалланиш 3-4% камайди. Шу билан бирга, Россия ва МҲД давлатларида ҳар йили, тўлиқ бўлмаган маълумотларга кўра, касалхона ичи инфекциялари 20-30% ташкил қилади.

Юзага келган ҳолатнинг асосий сабабларидан бири санитар-эпидемиологик тартибнинг бузилиш ҳисобланади: шифокорларни ҳимоя кўз ойнаклари ва ниқобсиз ишлашлари, асбобларни етарли даражада стерилизация ва хоналарни муқобил дезинфекция қилинмаслиги. Буларни ҳаммаси мутахассисларни (жумладан стоматологик йўналишлардаги) етарли даражада маълумотга эга эмасликлари билан боғлиқ.

Кўриб чиқилаётган муаммонинг стоматология учун долзарблиги бир қатор жиҳатлар билан боғлиқ. Биринчи навбатда, физиологик шароитларда оғиз бўшлиғининг доимий микрофлораси 800 яқин турларни, жумладан юқори вирулентли ва ташқи муҳит таъсирига ўта чидамли микроб турларини ўз ичига олган. Сўлакда микроорганизмлар сони 10^9 КҲҚБ/мл, оғиз бўшлиғининг айрим соҳаларида 10^{12} КҲҚБ/г (милк қирмаларида) етиши мумкин. Юқорида кўрсатилганлардан маълум бўладики, стоматологик асбоблар, тиш қуймалари ва бошқа стоматологик буюмларнинг, пациент қабул қилинганидан кейин бактерия, замбуруғлар ва бошқа микроорганизмлар билан зарарланганлик даражаси жуда юқори бўлади.

Оғиз бўшлиғида энг кўп учрайдиган микроорганизмлар стрептококклар (*Str. salivarius, Str. mutans, Str. mitis, Str. sanguis, Str. milleri),* турли энтерококклар, стафилококклар ҳисобланади. Айрим одамларнинг оғиз бўшлиғидан гемофил тайёқчалар, нейссериялар, коринебактериялар, эйкенеллалар, шартли-патоген энтеробактериялар ажратиб олинади. Анаэроб граммусбат бактериялардан қуйидаги уруғлари учрайди: *Actinomyces, Lactobacillus, Bifidobacterium, Propionbacterium, Peprostreptococcus*. Оғиз бўшлиғидаги грамманфий анаэроб бактериялар ҳар хил турлардан иборат: *Bacteroides, Fusobacterium, Veilonella, Leptotrichia*, кам учрайдиганлари - *Treponema, Simonsiella* ва б. Одатда, оғиз

бўшлиғида яна турли хил микоплазмлар, замбуруғлар ва протозоаларни учратиш мумкин.

Инфекцияни стоматологик шифохона ходимларидан пациентларга ўтиш эҳтимоллиги жуда кам ҳисобланади. Тўғри, бундай хавфни баҳолаш бўйича аниқ эпидемиологик текширишлар ўтказилмаган. Алоҳидаги, тасодифий юқумли касаллик ҳолларини, оммавий зарарланиш ҳолларидан фарқли ўлароқ, аниқ бир зарарланиш манбаи билан боғлаш осон эмас.

Стоматолог қабулида, ҳам пациент, ҳам тиббий ходим қон, оғиз ва респиратор-нафас олиш йўллари орқали ҳар хил микроорганизмлар билан зарарланиш хавфига учраши мумкин. Бундай микроорганизмларга В, С, D вирусли гепатитлар, 1 ва 2 тип герпес вируслари, цитомегаловирус, ОИВ, микобактериялар, стафилококклар, стрептококклар ҳамда асосан юқори нафас йўлларини шикастловчи бошқа вирус ва бактериялар киради.

Стоматологик даволашда инфекциялар бир неча йўллар билан юқиши мумкин: қон билан бевосита алоқа, оғиз бўшлиғи шиллиқлари ва бошқа шиллиқ ажралмалари билан алоқа, зарарланган стоматологик асбоблар ва стоматологик кабинет юза қисмлари билан алоқа, ҳавода томчи ёки оғиз бўшлиғи ва нафас олиш йўлларидан ажралган аэрозоллар кўринишида ташилувчи микроорганизмлар билан алоқа.

Санаб ўтилган йўллар билан инфекцияни тарқалиши учун учта шароит кераклиги талаб қилинади: “зарарланиш занжири” – инфекцияни қабул қилувчи организм; касалликни чақира оладиган етарли миқдордаги патоген микроб; микробни организмга кириш жойлари. Инфекция тарқалишини олдини олишнинг самарали стратегияси ушбу занжир бўғимларидан бирини узиш ҳисобланади.

Инфекция тарқалишини олдини олишнинг комплекс чора-тадбирлари тиббиётнинг ҳамма соҳалари учун умумий бўлиб, қон орқали, жумладан гепатит вируслари ва ОИВ чақирадиган юқумли касалликлар қўзғатувчиларини тарқалиш хавфини камайтириши лозим. Пациент зарарланганлигини касаллик тарихидан аниқлаш қийин бўлганлиги сабабли, ҳамма пациентларни кўрикдан ўтказиш ва лаборатор текширувлар қилиниши лозим. Ушбу умумий хавфсизлик чоралари стоматологияга ҳам таалуқлидир. Амалиётдаги санитар-гигиеник ва профилактик чора-тадбирлар ичида, ҳамма ходимларни эмлаш муҳим аҳамиятга эга. Бу зарарланишни олдини олишни ва

гепатит В, сил, бўғма каби инфекциялардан мустаҳкам ҳимоя бўлишини таъминлайди.

Шифохонада самарали профилактика ўтказиш учун ҳамма ходимларнинг махсус тайёргарлиги катта аҳамиятга эга: бунда ҳам шифокорлар, ҳам ёрдамчи ходимларнинг амалдаги фармойиш ва қўлланмаларни бажаришга ва янгиларини мувофиқ қабул қилишга тайёр эканликлари назарда тутилади. Шунинг учун, стоматолог-шифокорлар нафақат юқумли касалликларнинг диагностикаси, кечиши ва даволаш усуллари тўғрисидаги билимларга эга бўлишлари, балким касалхона ичи инфекцияларини профилактика қилиш чора-тадбирларини ўтказилиши ва санитар-гигиеник тартибга риоя қилиниши бўйича назорат ўтказиб боришлари лозим.

Юқорида айтиб ўтилганлар, турли хил стоматологик бўлимларда дезинфекция ва стерилизацияларни ўтказилиши кераклигини талаб қилади. Шу билан бирга, инфекция тарқалишини олдини олувчи комплекс чора-тадбирлар, жумладан стерилизация ва дезинфекция тиббиётнинг ҳамма соҳалари учун умумий ҳисобланади. Унинг асосий мақсади – юқумли касалликларни тиббий асбоб-ускуналар орқали ўтишини узиб қўйиш ва юқиш хавфини камайтиришдан иборатдир. Санаб ўтилган чора-тадбирларнинг ҳаммаси одам ҳаёт сифатини белгиловчи замонавий профилактик соғлиқни сақлаш тизимининг асосини ташкил этади.

Ҳақиқатдан ҳам, Россия олимларининг маълумотларига кўра (В.С. Агапов, С.В. Тарасенко, В.Н. Царев, 2002, 2009) касалхона ичи инфекциялари профилактикасининг, жумладан йирингли-яллиғланиш жараёнларининг муаммоси стоматологияда энг долзарбларидан бири бўлиб қолмоқда. Муаллифлар, ҳозирги даврда стоматологик шифохоналарга ётқизилаётган йирингли-яллиғланиш жараёнлари бор беморларнинг сони касалхонага умумий ётқизилаётган беморларнинг 61% ташкил этишини таъкидлашмоқда. Яна муаллифлар, ҳозирги даврда стоматологик шифохоналардаги касалхона ичи инфекцияларининг агентлари сифатида нафақат стафилококклар, стрептококклар, кўк йиринг тайёқчаси ва бошқа ананавий маълум микроблар гуруҳларини, балким анаэроб қўзғатувчилар, айниқса аэротолерантликка эгаларини, яъни ҳаво кислороди таъсирига чидамлиларини ҳам назарда тутиш кераклигини таъкидламоқдалар. Анаэроб микроблрнинг шиллиқ, қон ва бошқа биологик омиллар билан зарарланган асбоб-ускуналар ва тиш қуймаларида яшаш қобилиятини сақлаб қолиш эҳтимоллиги мавжуд.

Мутахассисларнинг хавфсизлиги ҳамда кесишма инфекцияни олдини олишга фақатгина умумий ҳимоя чоралари, санитар ва эпидемияга қарши тартиб талабларига қатъий риоя қилибгина эришилади.

Стоматолог-шифокор қабулида бўладиган пациентларга қўлланиладиган асбоблар стерил, яъни ҳар қандай микроорганизмлардан тўлиқ халос бўлган бўлиши лозим. Ҳар қандай объектларда микробларни йўқ қилинадиган жараён деконтаминациялаш, яъни йўқ қилиш деб аталади. Бу жараённи амалга ошириш учун турли хил стерилизация ва дезинфекция усуллари ишлаб чиқилган бўлиб, улардан амалиётда кенг фойдаланилади.

Терапевтик ихтисослигидаги стоматологлар ишини ташкил қилишнинг асосий талаблари

1. Ишни бошлаш ва якунлашдан олдин хонадаги ҳамма юза қисмлар: манипуляция столи, стерил асбоблар сақланадиган стол, тиш даволаш креслоси, тиббий шкафлар, қўл ва асбобларни ювиш учун чаноғ, чаноғ жумраглари ва бошқалар дезинфекция қилувчи эритма билан намланган латта билан икки марта артилади.

2. Стерил асбоблар столда стерил шароитларда сақланади. Стерил стол 6 соатга ёйилади. Стерил тиббий асбобларни узоқроқ муддатгача (7 кунгача) сақлаб туриш учун махсус камера ёки столлардан фойдаланилади.

3. Манипуляция столидаги пахта сақловчи шиша идишларни ҳар куни стерилизация қилинади.

4. Стерил пахтали тампонларни сақлаш муддатини узайтириш учун уларни махсус пакетларда сақланади (20-25 донадан). Бундай ҳолларда, бикс очилганида ундан керакли миқдордаги пакетлар олинади. Қолган пакетлар 2- ва 3-кунлар ичида ишлатилиши мумкин.

5. Ҳар бир пациент учун алоҳида стоматологик тўплам ишлатилади, унинг таркибига қуйидагилар киради: зонд, пинцет, тишни даволаш ойнаси, текислагич, штопфер ҳамда борлар ва керак бўладиган эндодонтик асбоблар.

6. Пациент билан алоқда бўладиган ҳамма асбоблар стерил бўлиши керак.

7. Пульпит ва пародонтитлари бор беморларни даволаганда ишлатиладиган пульпоэкстракторларни ташлаш учун дезинфекцияловчи эритма солинган идиш бўлиши лозим. Ишлатилган

пульпоэкстракторни қайта, ҳатто бир беморда қайта ишлатишга рухсат этилмайди.

8. Тишни даволаш ойнасини дезинфекция қилиш учун янги тайёрланган водород перекисидининг 6% эритмасини ишлатиш мумкин, экспозиция вақти – 60 дақиқа. Ойна дезинфекция қилинганидан сўнг оқар сув билан чайилади, стерилланган салфетка билан артилади ва стерил шароитда салфетка билан ёпилган идишда, бошқа стерилланган асбоблардан алоҳида берилади.

9. Диатермокоагуляция учун учликлар, тиш тошларини олиш учун скеллерлар ва чайиш учун қўлланиладиган учликларни ҳар бир ишлатилганидан кейин дезинфекция қилиш, тозалаш ва стерилизациялаш лозим.

10. Даволаш тугаганидан сўнг ҳамма асбоблар, ашёлар ва бошқа тиббий буюмлар зарарлантирилиши керак.

36,1 жадвал

Стоматологияда кўпинча ишлатиладиган дезинфекцияловчи воситаларнинг рўйхати ва улар таъсирининг самараси

№	Дезинфекцияловчи воситалар	Бактерия-лар	Спора-лар	Вирус-лар	Замбуруғ-лар	Қуймаларга таъсири
1	Натрийгипохлорит	+	-	±	±	±
2	Кальцийгипохлорит	+	+	+	+	+
3	Глутар альдегид	+	+	+	+	±
4	Хлорамин	+	+	+	+	±
5	Хлоргексидин	+	-	±	-	+
6	Спиртлар	+	+	+	±	+
7	Водород пероксиди	+	+	+	+	±
8	АБ катамин	+	+	±	±	-
9	Бигуанидлар	+	±	±	±	+
10	Фенол	+	+	+	+	±
11	Формальдегид	+	+	+	+	±
12	Сиркаусти кислотаси	+	+	+	+	±
13	Йодофорлар	+	-	±	±	±

Изоҳ: «+» - таъсир этади; «-» - таъсир этмайди; «±» - кучсиз таъсир этади

Жарроҳлик ихтисослигидаги стоматологлар ишини ташкил қилишнинг асосий талаблари

1. Бир смена ичида ишни бетўхтов давом эттириш мақсадида бир маротаба стерилизация қилинадиган хона етарли даражада асбоблар билан таъминланган бўлиши лозим. Масалан, юқори жағ тишларини олиб ташлаш учун, камида 20 дона буйраксимон тоғорача, ҳар туридан 15 дона қисқичлар бўлиши керак. Ҳолбуки, паст жағ тишларини олиб ташлаш учун – 15 дона ойна ҳамда кюретаж

қошиқлари, элеваторлар, текислагичлар ва бошқа асбоблар керак бўлади.

2. Стерил столларни 6 соатга ёйилади. Стерил тиббий буюмларни узоқ вақт сақлаш учун махсус столлардан фойдаланилади. Стерил столни тайёрлаш билан боғлиқ бўлган ҳамма манипуляцияларни, стерил тиббий қўлқоплар, ниқоб ва халатда амалга оширилади. Стерил столдан тиббий буюмларни ҳамшира стерилланган асбоблар (корнцанг ёки пинцет) билан олиши керак. Ишлаш давомида стерилланган тиббий буюмларни олиш учун қўлланиладиган пинцет стерил идишда сақланади.

3. Смена давомида, стерил столдан ишлатилмаган тиббий буюмлар ва асбоблар, қайта стерилизацияга юборилади. Стерил столда дори тортилган шприцларни сақлашга рухсат этилмайди.

4. Жарроҳлик хонаси қўлга ишлов берувчи воситалар билан таъминланган бўлиши лозим: 70% этил спирти, хлоргексидиннинг 2,5% спиртли эритмаси, биглюконат, сагросепт ва бошқалар.

5. Жарроҳлик хоналарида ҳаво ва юза соҳаларни зарарлантириш учун бактерицид лампалардан фойдаланилади.

6. Ортопед-шифокорнинг ишида, шахсий стоматологик тўплам ва турли хил даволаш ишлари учун махсус борлардан ташқари, стоматологик дисклар, фрезалар, дисктутувчилар, қоплама тиш кесувчилар,қоплама тиш олиб ташловчилар, қуймаларни олиш учун қошиқлар, ортопедик шпателлар, резинали идишчалар, шпател-пичоқларвабошқа асбоблардан фойдаланилади. Пациентни даволашда қўлланиладиган ҳамма асбоблар стерил бўлиши лозим.

Стоматологик йўналишдаги муассасаларда санитар-гигиеник тартибни ташкил этиш, иш хоналаридан бошлаб, тиббиётда қўлланиладиган буюмларни дезинфекцияси, стерилизациясидан олдинги тозалаши ва кейинги стерилизацияси, беморлар ва тиббий ходимлар орасида касалхона ичи инфекцияларини тарқалишини олдини олувчи муҳим чоралар комплекси ҳисобланади.

Хусусий бўлим бўйича назорат саволлари

1. Кўкйўтал қўзғатувчисига характеристика беринг. “Йўтал пластинкаси” усулини тушунтиринг. Кўкйўтал қўзғатувчиси қайси муҳитларда ўсади?
2. Спирохеталар ҳаракати қандай аниқланилади? Нима учун қоронғи фонда ҳаракат аниқланади?
3. Бруцелла турларини айтинг. Одам организмининг қайси аъзоларида сақланади? Лаборатория ташхисини айтинг.
4. Одонтоген инфекцияларга таъриф беринг. Уларни келиб чиқиш сабабларини айтинг.
5. Кариес ҳосил бўлиш механизмини тушунтиринг.
6. Оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати касалликларини келтириб чиқарувчи микроорганизмларга характеристика беринг.
7. Оғиз бўшлиғи нормофлорасини аниқлаш усулларини айтинг.
8. Заҳм касалигида оғиз бўшлиғидаги ўзгаришларни айтинг
9. Замбуруғли касалликларда оғиз бўшлиғидаги ўзгаришларни айтинг
10. Йирингли яллиғланиш қўзғатувчиларини санаб беринг
11. Ноклостридиал анаэробларни санаб беринг
12. Қоқшолга қисқача таъриф беринг. Давоси ва профилактикасида қандай препаратлар ишлатилади?
13. Сил касаллиги хусусиятларини айтинг. Силда қандай бойитиш усуллари қўлланилади?
14. Бордетелла авлодига характеристика беринг. Микробиологик ташхис принципини айтинг.
15. Скарлатинани этиологияси ва микробиологик диагностикасини айтинг.
16. Стрептококкли пневмония қўзғатувчисига характеристика беринг ва патологик жараёнлардаги роли.
17. Менингококклар лаборатория ташхиси қандай ўтказилади?
18. Сўзак ва бленореия қўзғатувчисига характеристика беринг.
19. Бўғма қўзғатувчиси лаборатория ташхисини айтинг
20. Гемофил бактериялар қўзғатувчиларининг ўзига хослигини айтинг.
21. Микобактерияларга умумий таъриф беринг. Мохов қўзғатувчиси лаборатория ташхисини айтинг.
22. Қорин тифи ва паратиф қўзғатувчиларининг ўзига хослиги ва микробиологик диагностикасини айтинг.
23. Сальмонеллезлар микробиологик диагностикасини айтинг.

24. Ичбуруғ қўзғатувчисининг ўзига хослиги ва микробиологик диагностикасини айтинг.
25. Эшерихийлар, уларни (болаларда) ўткир ичак юқумли касалликларидаги роли (ЭПКП, ЭТКП, ЭИКП, ЭГКП)ни айтинг.
26. Вабо қўзғатувчиси. Морфологияси ва лаборатория ташхисини айтинг
27. Иерсиниоз қўзғатувчилари (псевдотуберкулез ва ичак иерсиниозлари)га характеристика беринг.
28. Кампилобактериозлар. Хеликобактерларни гастродуоденал патологиядаги ролини айтинг.
29. Овқатдан заҳарланиш токсикоинфекциялар ва интоксикацияларни ўзаро фарқини тушунтиринг.
30. Шартли –патоген микроорганизмларни одам патологиясидаги ролини айтинг.
31. Захм қўзғатувчиси ва тропик трепонематозлар (беджель, фрамбезия, пинта) лаборатория ташхиси қандай ўтказилади?
32. Лептоспироз касаллиги лаборатория ташхисини тушунтиринг.
33. Боррелиоз қўзғатувчиси (Лайм касаллиги) морфологиясини ва ўзига хослигини айтинг.
34. Ўлат қўзғатувчиси морфологиясининг ўзига хослиги нимада?
35. . Туляреми қўзғатувчиси лаборатория ташхиси қандай ўтказилади?
36. Куйдирги қўзғатувчиси морфологияси ва физиологясининг ўзига хослигини айтинг.
37. Бруцеллез қўзғатувчиси лаборатория ташхисини айтинг.
38. Газли анаэроб инфекция қўзғатувчиларига тавсиф беринг.
39. Спора ҳосил қилмайдиган анаэроблар ва уларни одам патологиясидаги роли (бактероидлар, фузобактериялар, пептококклар, пептострептококклар ва бош.)ни айтинг.
40. Қоқшол қўзғатувчиси токсинларини таъсир механизмини тушунтиринг.
41. Ботулизм қўзғатувчиси морфологияси ва лаборатория ташхисини тушунтиринг.
42. Candida авлодига мансуб замбуруғлар, катталар ва болалар патологиясидаги ахамиятини айтинг.
43. Дерматомицетлар - микроспория, трихофития, фавус, эпидермофития қўзғатувчилари лаборатория ташхисини ўзига хослигини айтинг.

44. Микоплазмаларга умумий характеристика беринг. Патологиядаги роли, диагностика усулларини айтинг.
45. Риккетсияларга умумий характеристика беринг. Ку-риккетсиоз қўзғатувчисининг лаборатория ташхисини айтинг.
46. Эпидемик ва қайталама тошмали тифлар лаборатория ташхисини ўзига хослиги нимада?
47. Хламидия ва хламидия инфекциялари. Микробиологик диагностикасининг ўзига хослигини тушунтиринг.
48. Грипп ва парагрипп вирусларига таъриф беринг. Вирусологик ташхисини айтинг.
49. Эпидпаротит вируси структура тузилиши ва лаборатория ташхисини айтинг.
50. Қизамиқ вирусига характеристика беринг.
51. Қутириш вируси структура тузилишини айтинг. Махсус профилактикасида антирабик вакцина ва зардоб қўллашнинг аҳамиятини айтинг.
52. Герпесвируслар оиласига қисқача тавсиф беринг ва уларни диагностика усулларини айтинг.
53. Пикорнавируслар оиласига қисқача таъриф беринг. Полиомиелит, ECHO ва Коксаки вируслари лаборатория ташхисини айтинг.
54. Қизилча вируси лаборатория ташхисини айтинг.
55. Парентерал юқувчи гепатотроп вируслар (B, C, D) лаборатория ташхисини ўзига хослигини айтинг.
56. Энтерал юқувчи гепатотроп вирусларга таъриф беринг (A, E).
57. Болаларда ротавируслар келтириб чиқарадиган гастроэнтеритлар кечишини ўзига хослигини тушунтиринг.
58. Одам иммун танқислик вирусига қисқача таъриф беринг. Лаборатор диагностикасида қандай усуллардан фойдаланилади?
59. Герпес вирусларга характеристика беринг. Оддий герпес вируси қандай касалликларни келтириб чиқаради? Лаборатория ташхисини айтинг.
60. Қутуриш вируси оиласи ва структура тузилишини айтинг?

1-илова

Талабалар мустақил бажарадиган амалий кўникмалар рўйхати:

1. Суртма тайёрлаш ва оддий усулда бўяш
2. Микроорганизмларнинг бульонли ва агарли культураларидан суртма тайёрлаш, Грам усулида бўяш
3. Тиш карашидан суртма тайёрлаш, Бурри усулида бўяш
4. Клебсиелла культурасидан суртма тайёрлаш, Бурри-Гинс усулида бўяш
5. Антракоид культурасидан суртма тайёрлаш, Циль-Нильсен усулида бўяш
6. “Осилган” ва “эзилган” томчи усулларида натив суртма тайёрлаш
7. Босма-суртма тайёрлаш ва Романовский-Гимза усулида бўяш
8. Микроорганизмларнинг антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш
9. Фагларнинг микробларга таъсирини аниқлаш
10. Тахминий агглютинация реакциясини қўйиш
11. Кенгайтирилган агглютинация реакциясини қўйиш
12. Пассив гемагглютинация реакциясини қўйиш
13. Иммунофермент анализ реакциясини қўйиш
14. Комплемент боғлаш реакциясини қўйиш
15. Асколининг преципитация реакциясини қўйиш
16. Гелда преципитация реакциясини қўйиш
17. Хеддельсон ва Райт реакцияларини қўйиш
18. Микробларни суюқ ва қаттиқ озиқ муҳитларга экиш усуллари
19. Шукевич ва “газон” усулларида экиш
20. Китт-Тароцци озиқ муҳитига экиш
21. Микроорганизмларни 3 қандли муҳитга экиш ва интерпретациялаш
22. Тиш карашидан суртма тайёлаш: Грам ва Бурри усулларида бўяш, микроскопда кўриш ва расмини чизиш
23. Сўлакни озиқ муҳитларга экиш ва соф культура ажратиб олиш
24. Оғиз бўшлиғи биотопларидан, тилдан босма суртма тайёрлаш ва микробларни аниқлаш

25. Бурун ҳалқум ва бодомча безлар шиллиқ қаватидан стерил тампон ёрдамида олинган материални қонли агарга экиш

26. Тилла ва керамика протезли беморларнинг сўлагини қонли агарга экиш

27. Кариеси бор беморлар сўлагини текшириш

28. Пародонтит билан касалланган беморлар сўлагини экиш

29. Кандидоз билан касалланган беморларни сўлагини экиш

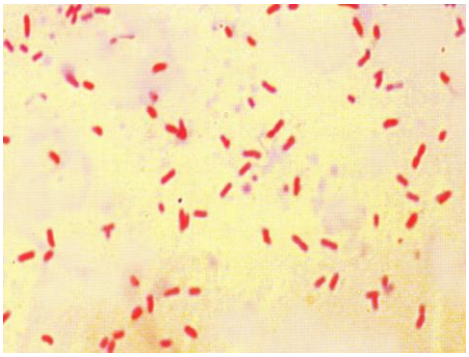
30. Сўлакда лизоцим титрини аниқлаш

2-илова

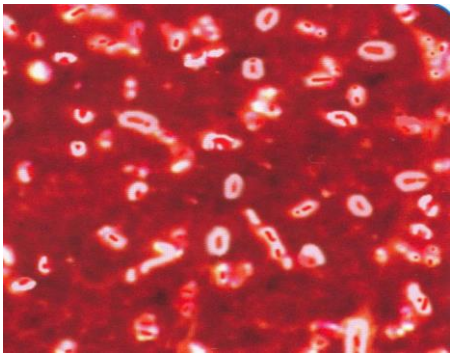
РАНГЛИ РАСМЛАР

БАКТЕРИОЛОГИЯ БЎЙИЧА РАСМЛАР:

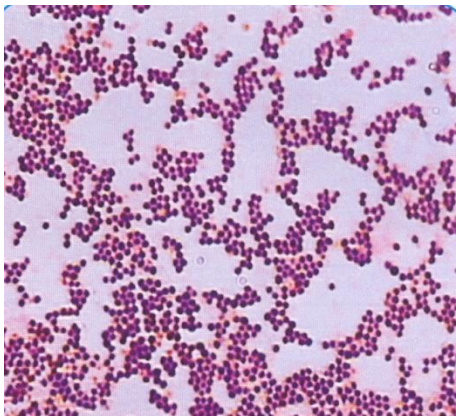
Микроорганизмлар таснифи



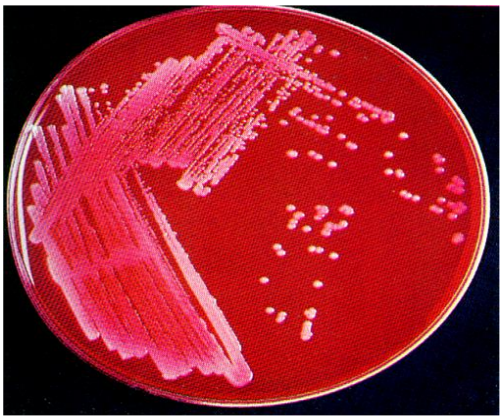
Ичак таёқчасининг соф культураси



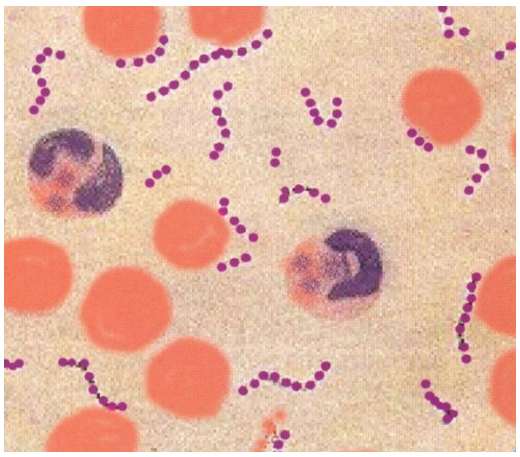
Клебсиелланинг соф культураси



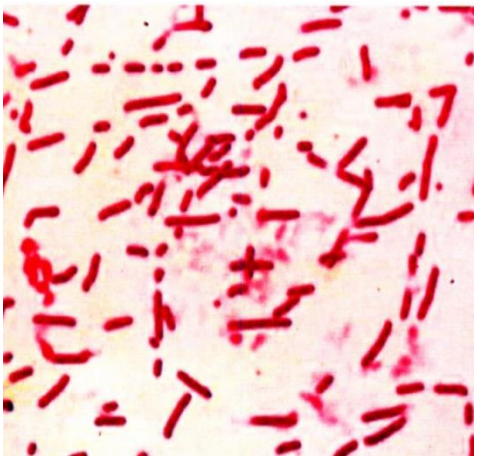
Стафилококкнинг соф культураси



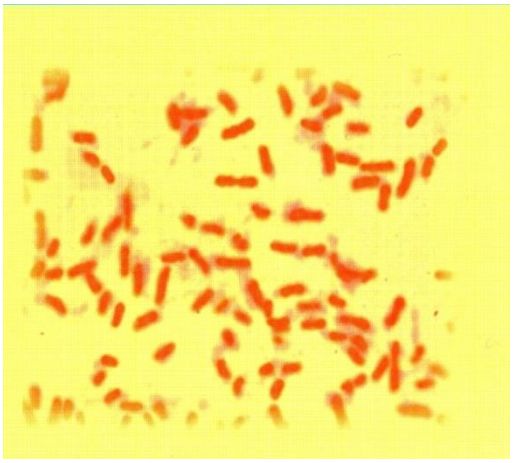
Қонли агарда стафилококкларнинг гемолизли ўсиши



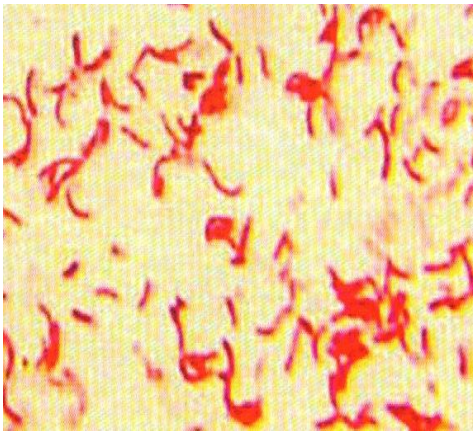
Йирингдаги стрептококклар



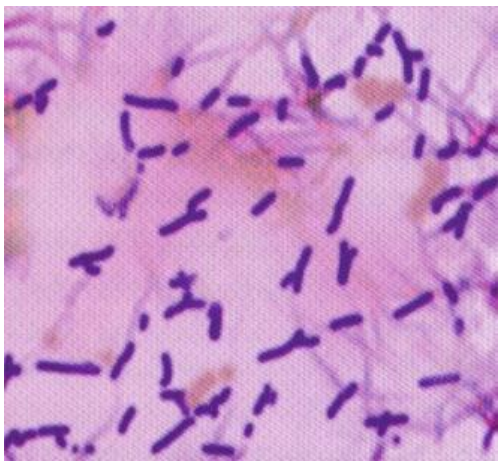
Лактобактериялар



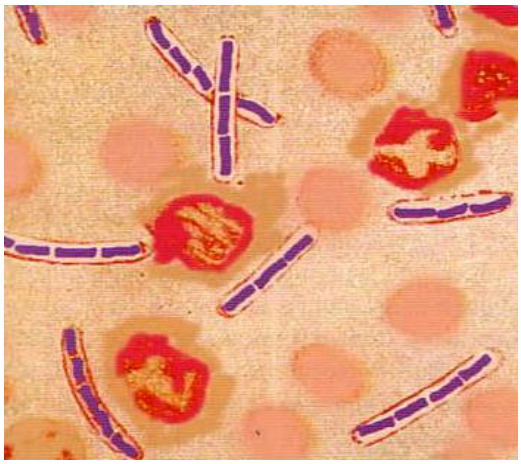
Кўк йиринг таёқча



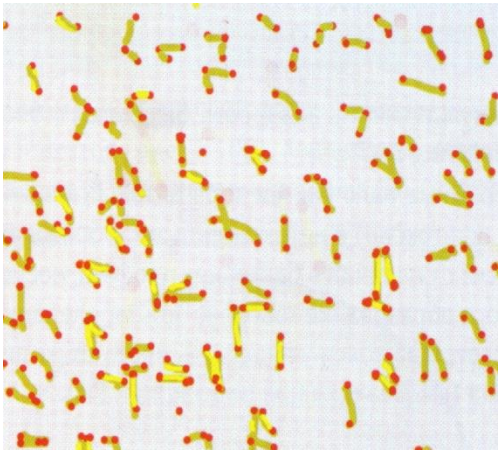
Хеликобактериялар



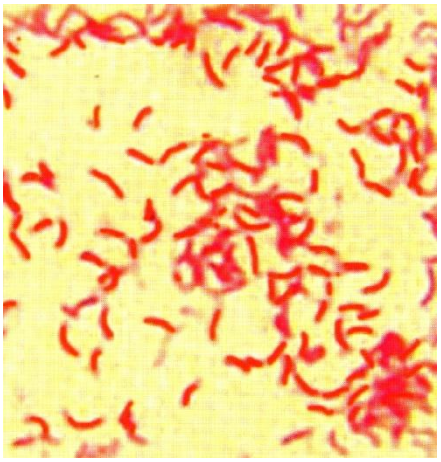
Бифидобактериялар



Сибир яраси қўзғатувчиси

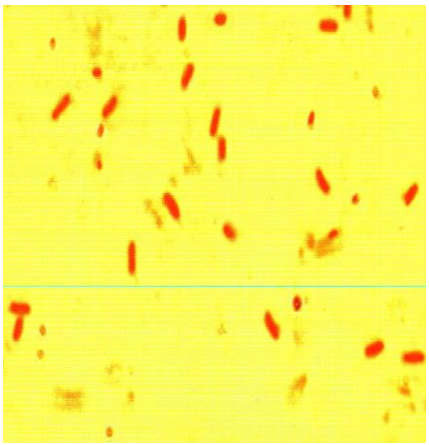


Дифтерия қўзғатувчиси Нейссер усулида бўялган

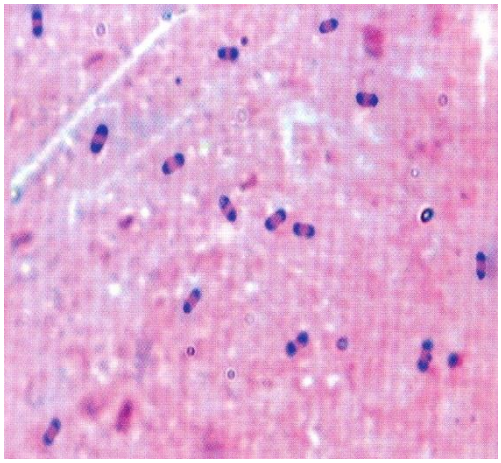


Вибрионлар

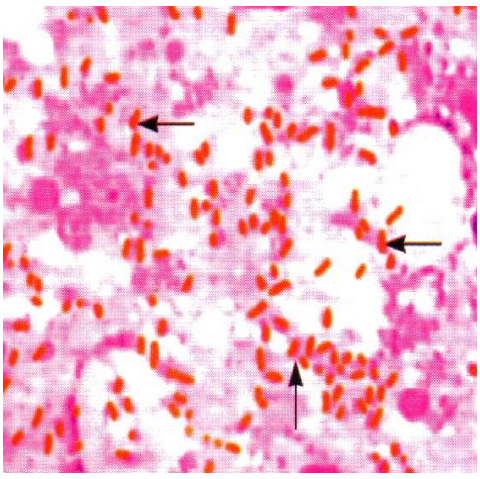
Пневмококклар



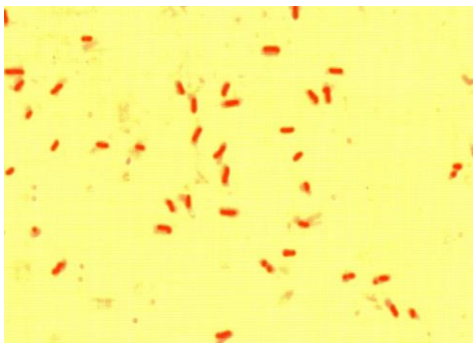
Бруцелла



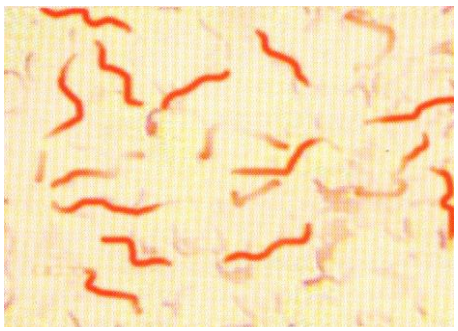
Ўлат қўзғатувчиси метил кўки билан бўялган



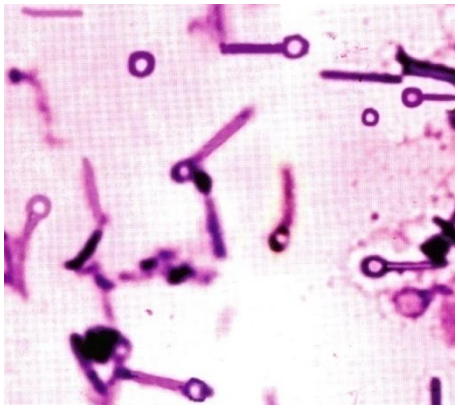
Франсиелла



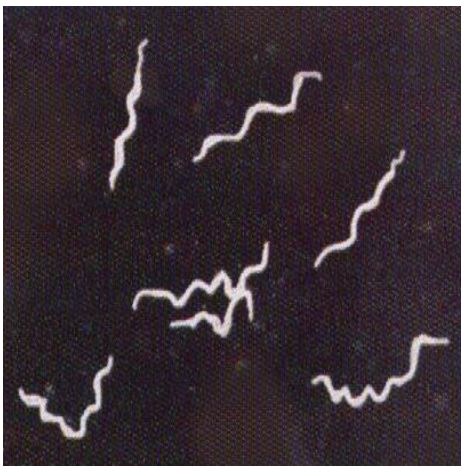
Легионелла



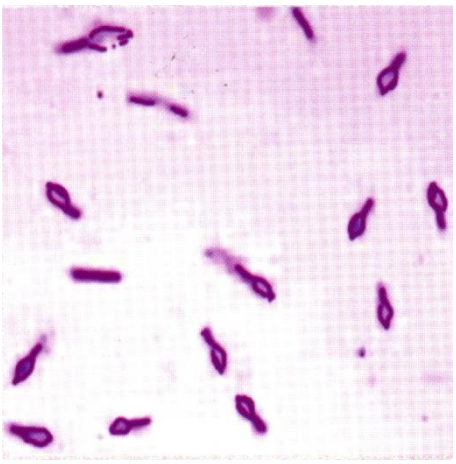
Спириллалар



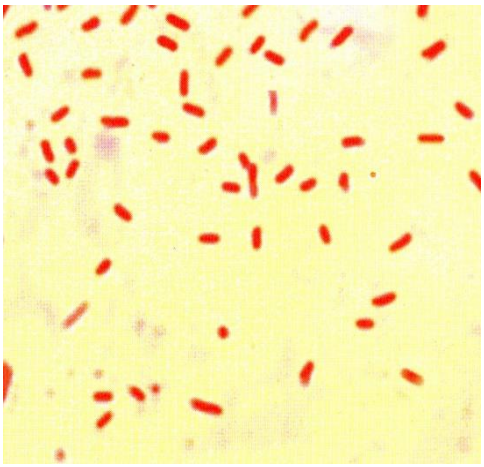
Қоқшол қўзғатувчиси



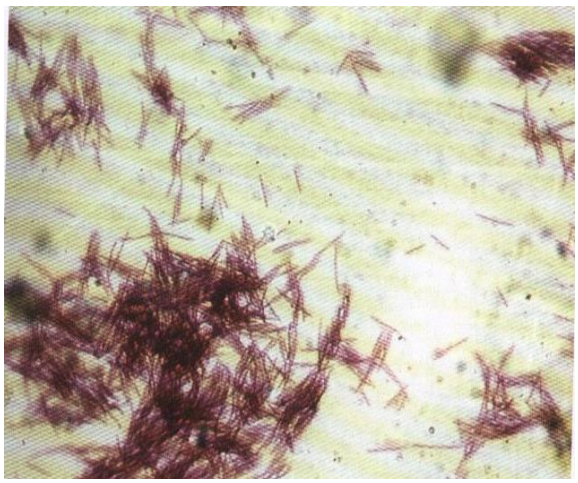
Боррелиялар



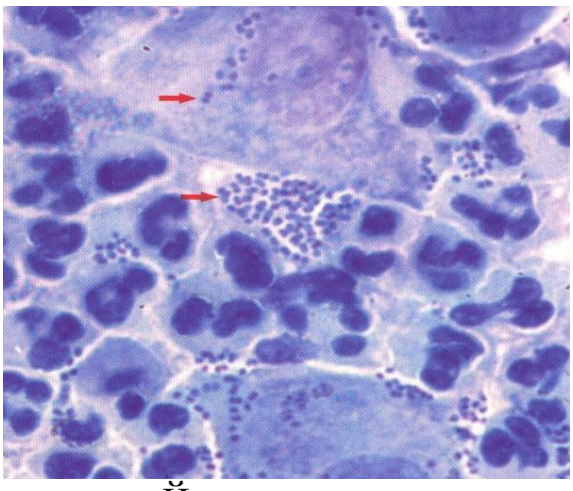
Ботулизм қўзғатувчиси



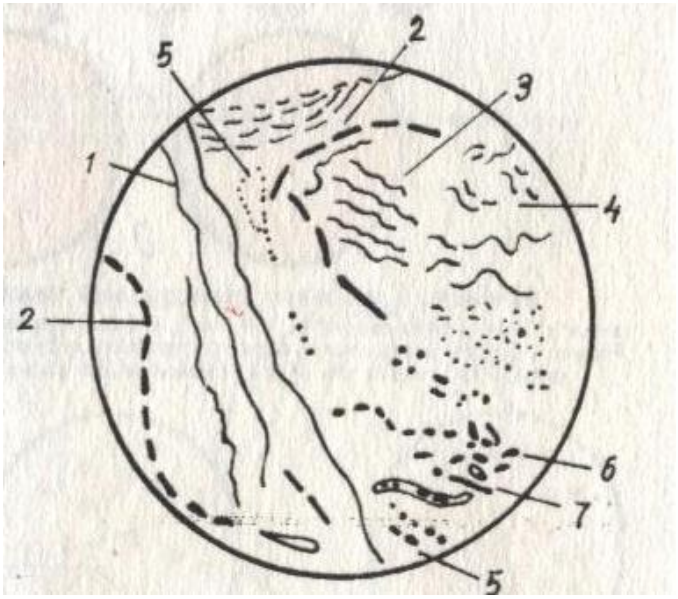
Шигелла



Фузобактериялар



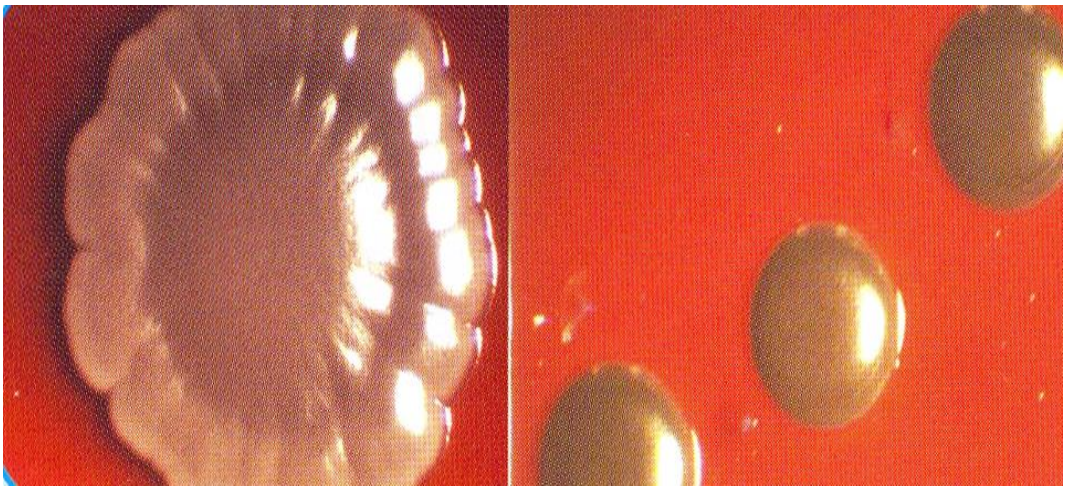
Йирингдан олинган суртмадаги гонококклар



1 - лептотрихиялар (*Leptotrichia buccalis*);
2 - лактобактериялар (*L. salivarius, L. ascidophilus*);
3, 4-трепонемалар (*T. macrodentum, T. denticola, T. orale*);
5 ,6 – диплококклар ва стрептококклар (*Str. salivarius, Str. mitis, Str. sanguis, Veillonella sp.*);
7 – фузобактериялар (*F. nusleatum, F. planti*)

Тиш караши

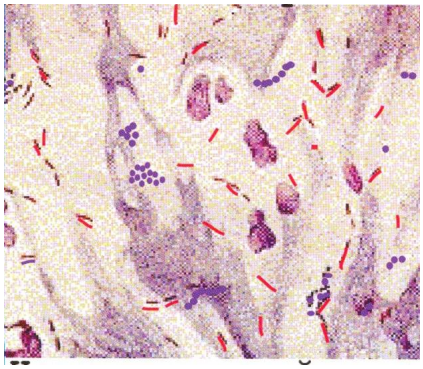
Гонококкли стоматит



C. diphteriae gravis (чапда), mitis (ўнгда) колониялари

Листериянинг соф культураси

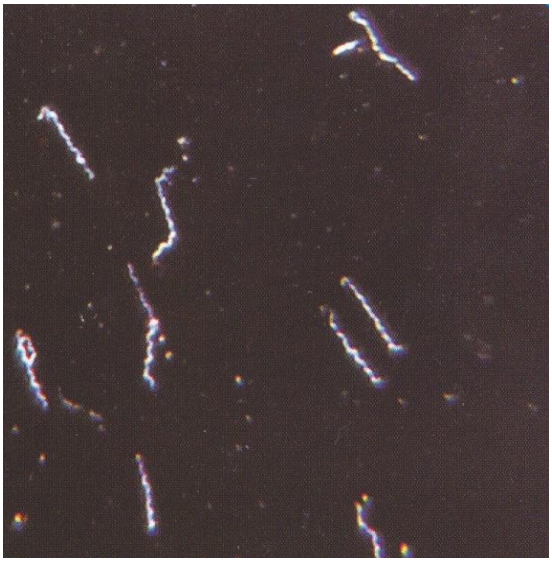
Оғиз бўшлиғи листериози



Балғамдан тайёрланган суртмадаги *M. tuberculosis* (Циль-Нильсен бўйича бўялган)

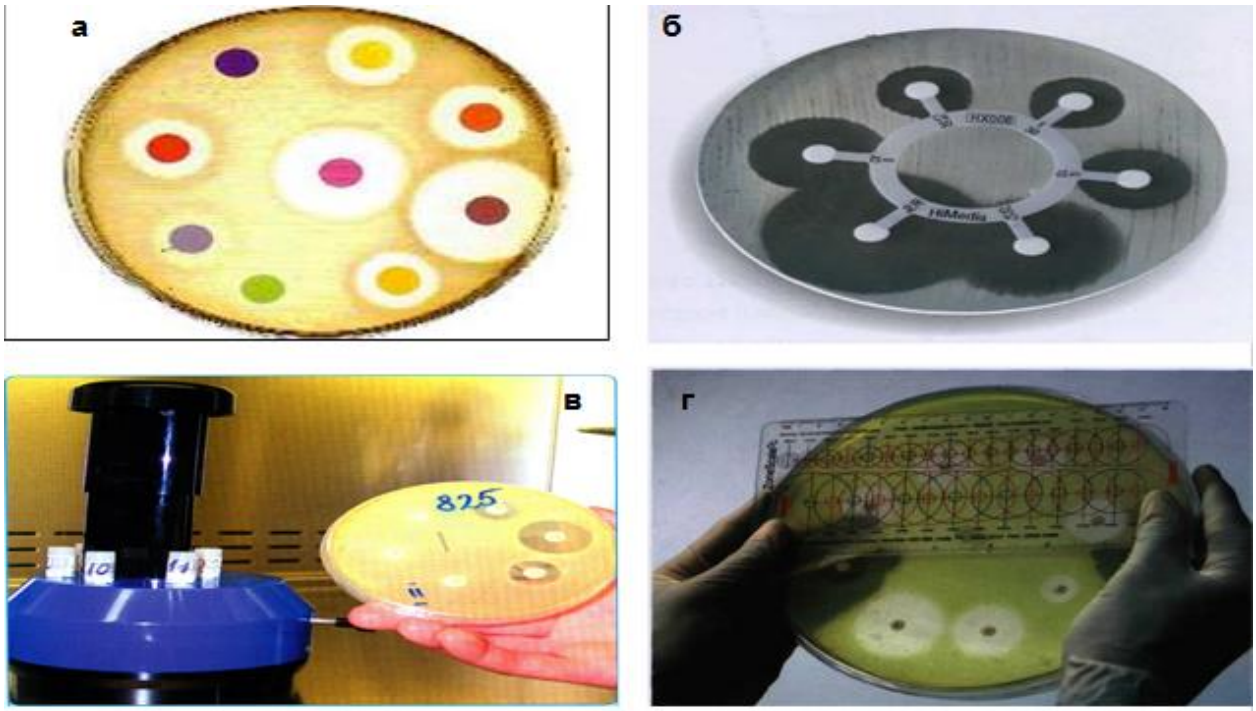
Оғиз бўшлиғи сили

а)

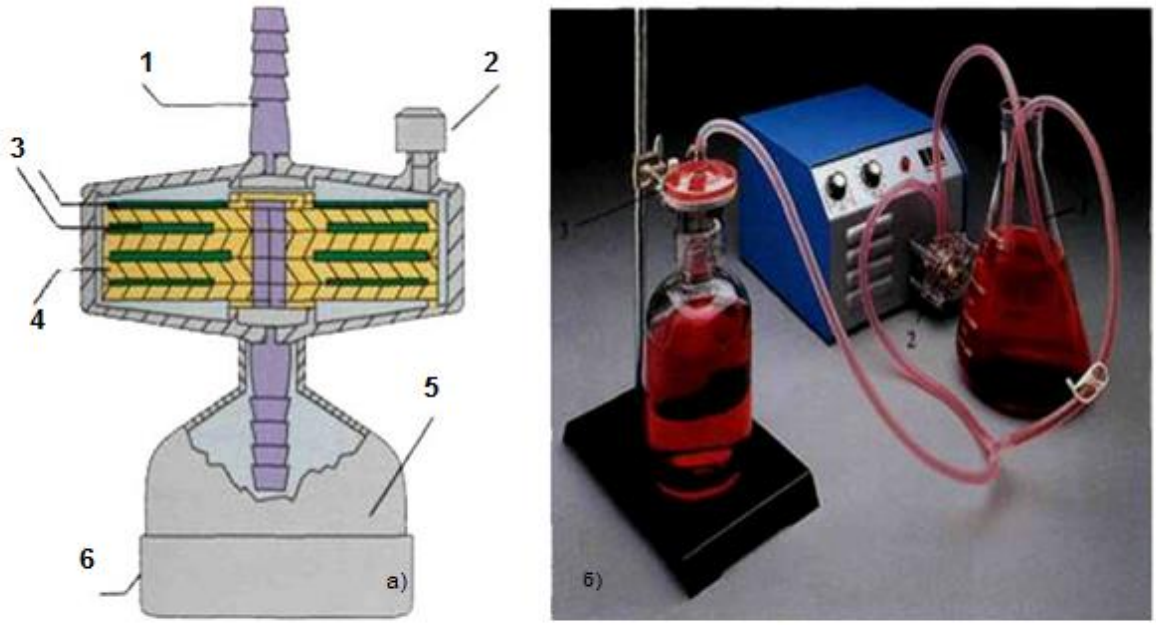


б)

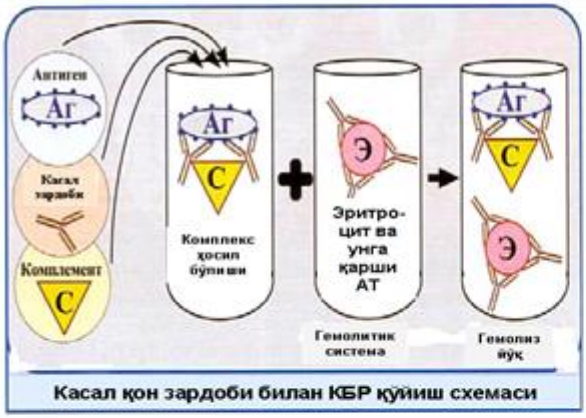
Қаттиқ шанкрдан тайёрланган суртмадаги (а),
қоронғи майдондаги *T. pallidum* (б)

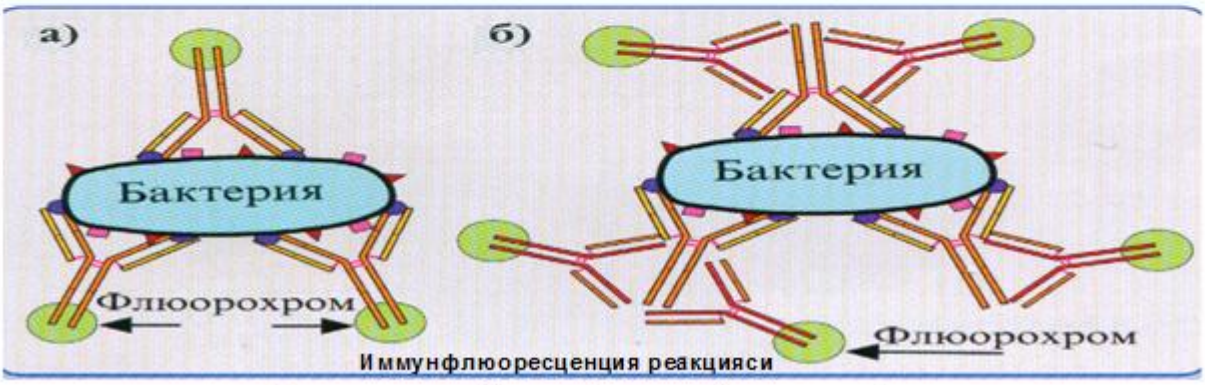


Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш. а - стафилококк культурасини антибиотикларга сезгирлигини диск дифузия усулида аниқлаш; б - битта антибиотикнинг турли дозаси шимдирилган дисклар қўллаш; в- антибиотик дискларни диспенсор ёрдамида қўйиш; г – бактерияларни ўсиши тўхталиб қолган зона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

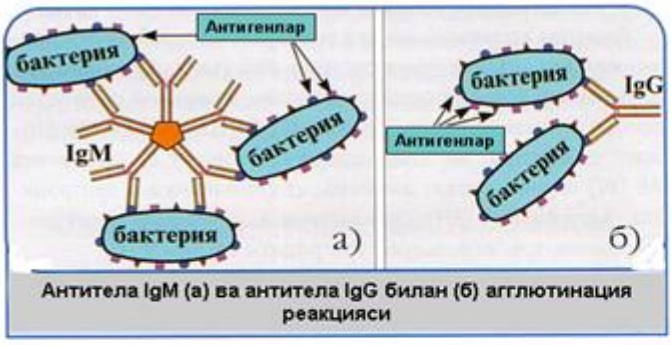


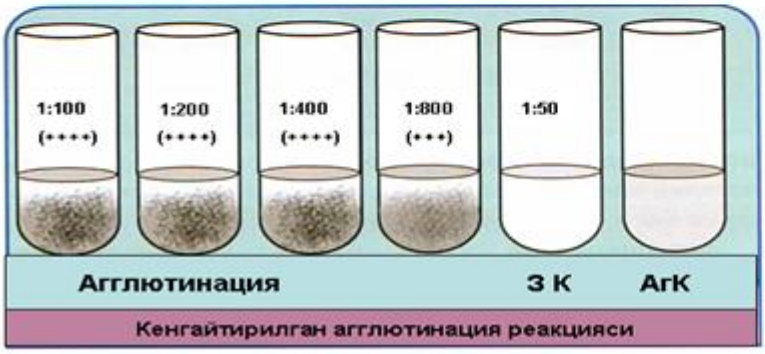
Мембрана фильтр билан стериллаш. а) мембрана фильтрлаш аппаратини кўндаланг кесими: 1- ¼ қадамли уланувчи трубка; 2-совутиш мосламаси; 3- ўрнатилган фильтрлар; 4- фильтр ўрнатиловчи маслама; 5-фильтрат йиғиловчи идиш; 6- идиш қопқоғи. б) фильтрловчи установкани кўриниши



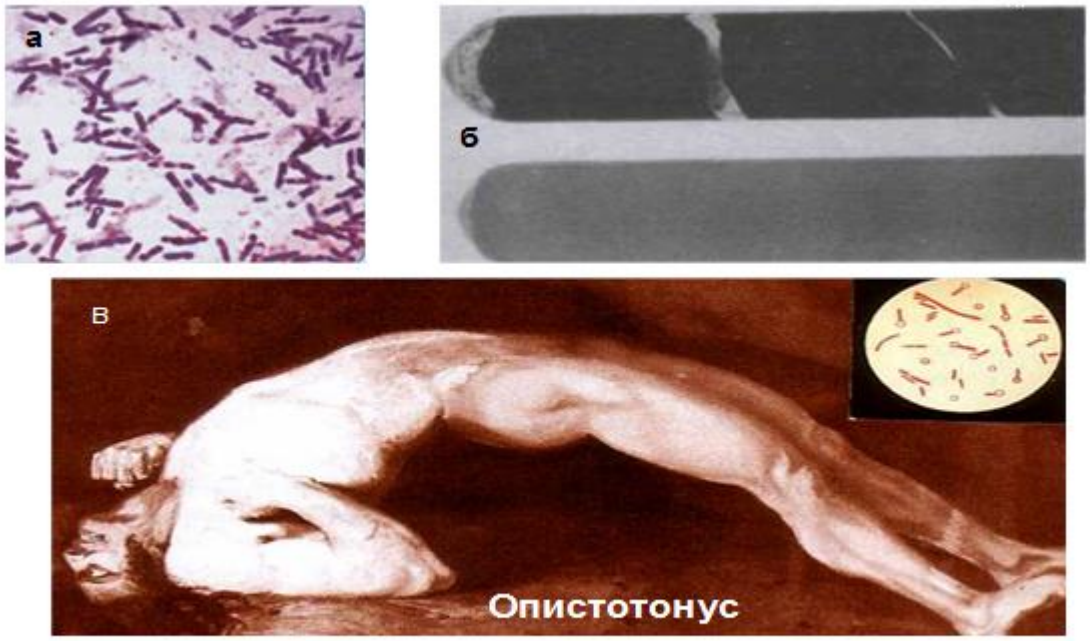


Комплементни боғлаш (юқорида) ва иммунфлюоресценция реакциялари (пасда): а бевосита; б- билвосита усуллари, схематик кўриниши

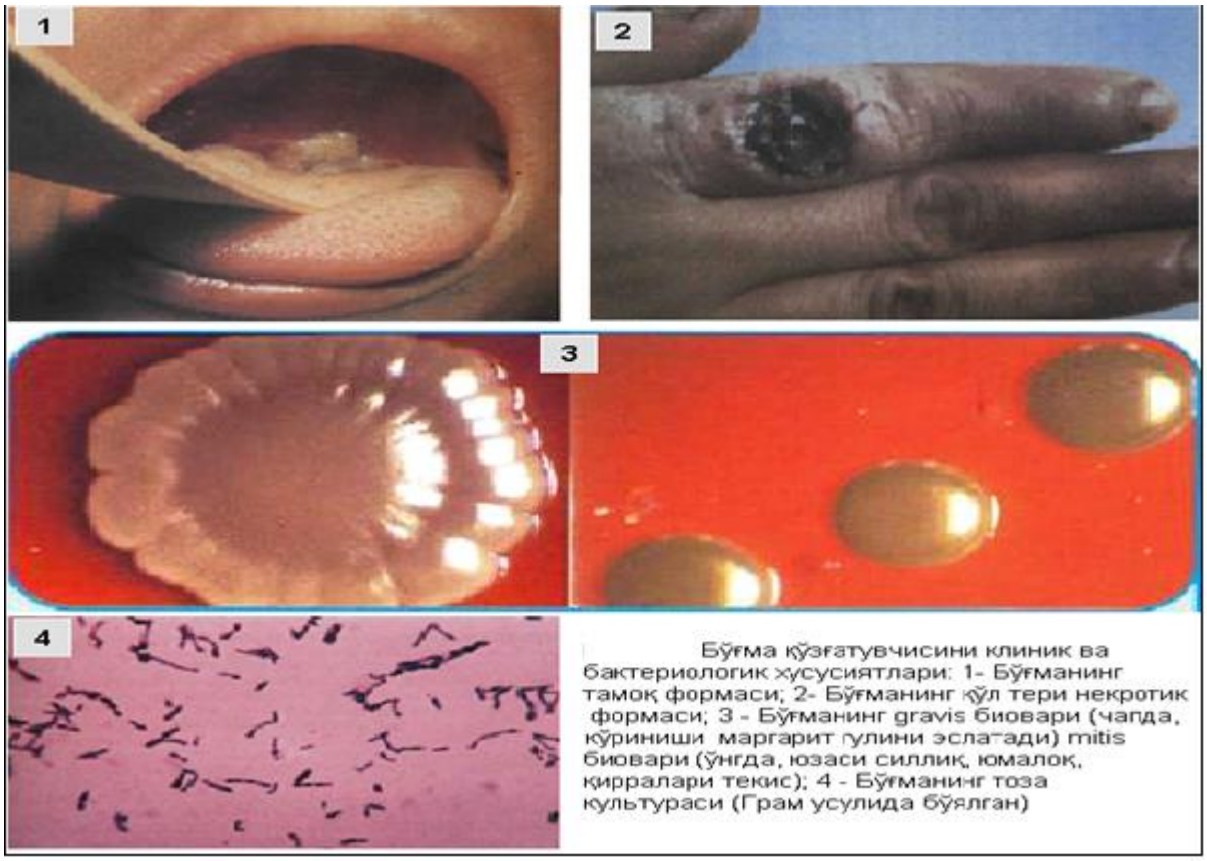




Агглютинация реакция-лари,механизми ва натижалари

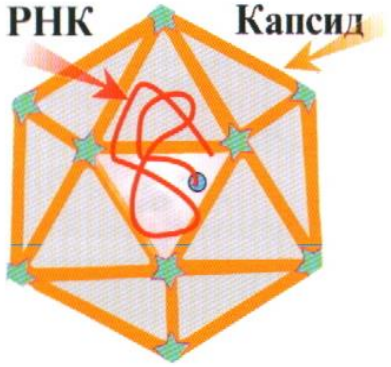


Анаэроб жароҳат касаллик қўзғатувчилари. а - Cl. perfringens ни тоза культураси, грам усулида бўялган; 6- Вильсон - Блэр муҳитли агарда Cl. Perfringens ўстириган, муҳит қорайган четлари кесилиб, ёрилган (юқорисида); в-қоқшолнинг классик кўриниши



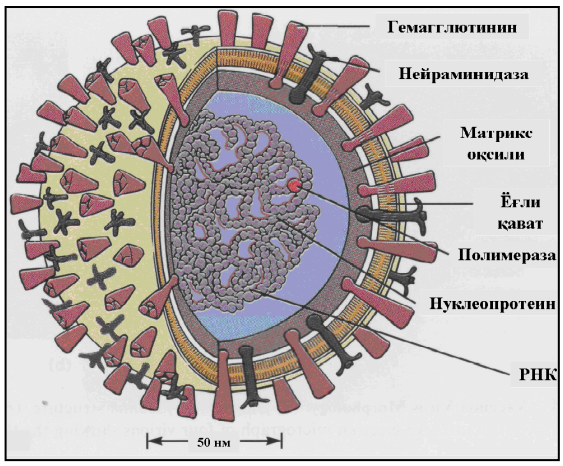
Бўғма қўзғатувчисини клиник ва бактериологик хусусиятлари: 1- Бўғманинг тамоқ формаси; 2- Бўғманинг қўл тери некротик формаси; 3 - Бўғманинг gravis биовари (чапда, кўриниши маргарит гулини эслатади) mitis биовари (ўнгда, юзаси силлиқ, юмалоқ, қирралари текис); 4 - Бўғманинг тоза культураси (Грам усулида бўялган)

ВИРУСОЛОГИЯ БЎЙИЧА РАСМЛАР

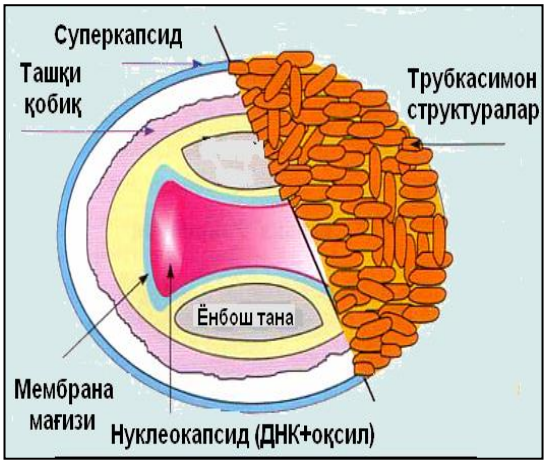


Гепатит А вируси (схема)

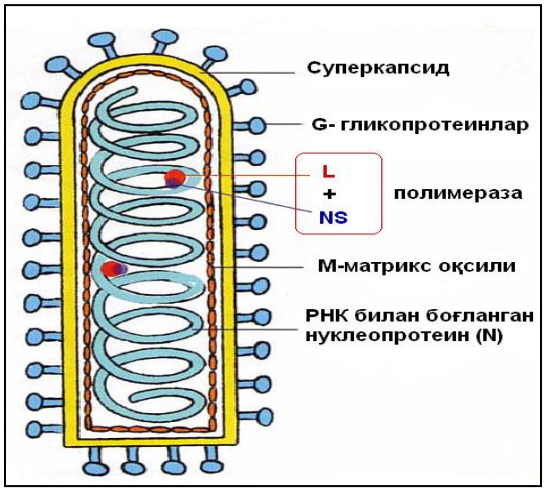
Папиллома вирус (схема)



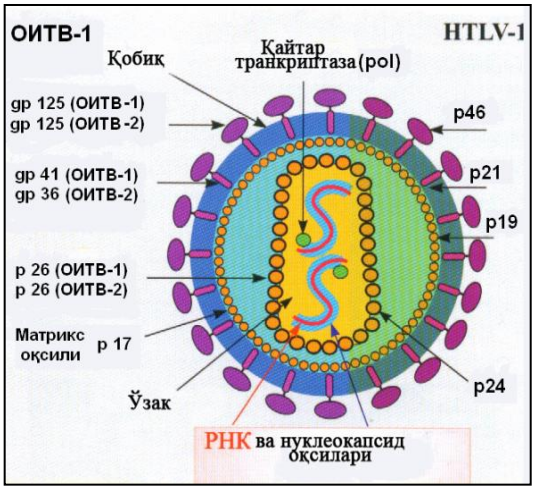
Грипп вируси



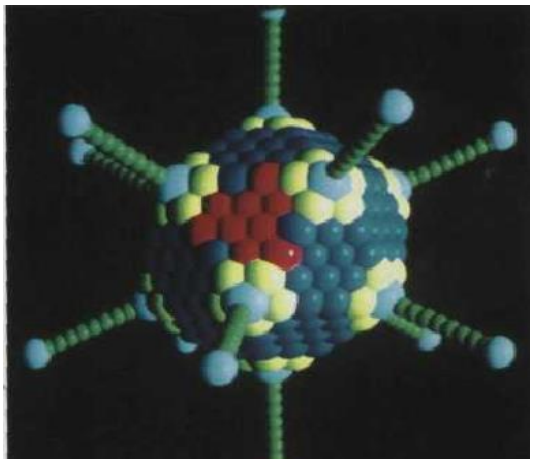
Поксвируснинг тузилиши



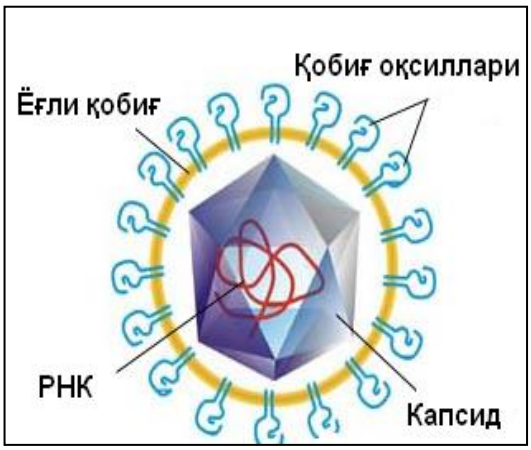
Рабдовируснинг тузилиши



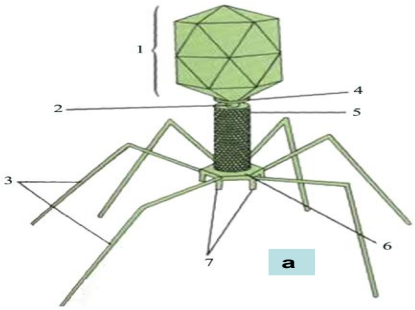
Одам иммунтанқислиги вируси

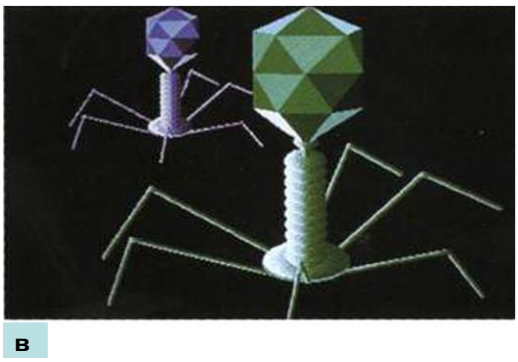


Аденовирус



Гепатит С вируси





Т-4-колибактериофаг: а – схематик тузилиши (1-бошчаси; 2-найча; 3-дум ипчалари; 4-дум қисмига бирикиш жойи; 5-дум қисми қобиғи; 6-олти қиррали пластинка; 7-дум ўсимтаси); в – Т-фагнинг рангли компьютер тасвири

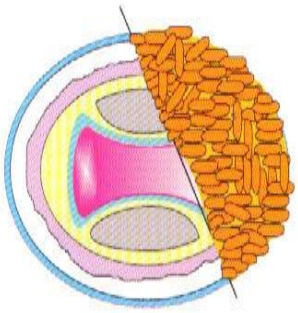
Товуқ эмбрионинг (8-10 кунлик) схематик кўриниши

Қобиқли вируслар

ДНК- икки ипли вируслар

Herpesviridae

Hepadnaviridae

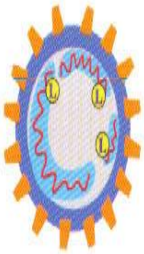


Poxviridae

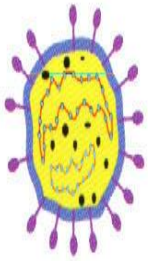
РНК- бир ипли вируслар

Coronaviridae

Paramyxoviridae



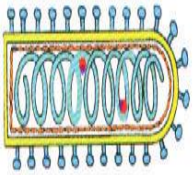
Bunyaviridae



Arenaviridae

Orthomyxoviridae

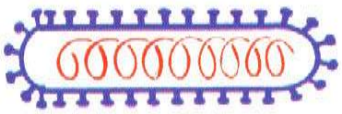
Retroviridae



Rhabdoviridae

Togaviridae

Flaviviridae



Filoviridae

Қобиқсиз вируслар

ДНК- икки ипли вируслар

Adenoviridae

Polyomaviridae
Papillomaviridae

ДНК- бир ипли вируслар

Parvoviridae

Circinoviridae

РНК- икки ипли вируслар

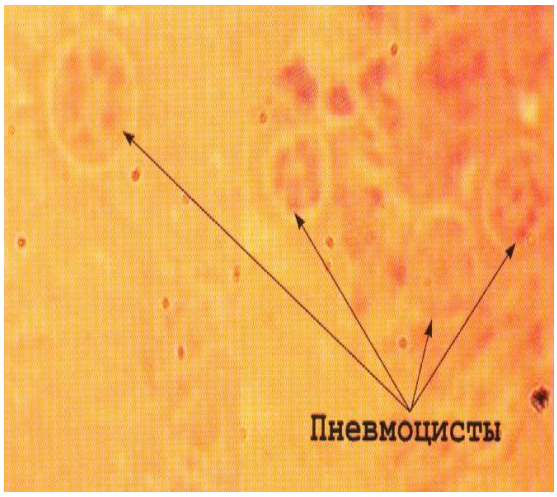
Reoviridae

РНК- бир ипли вируслар

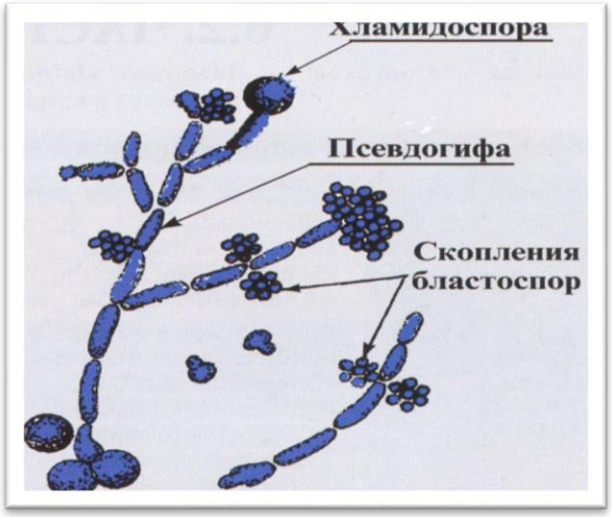
Picornaviridae

Caliciviridae

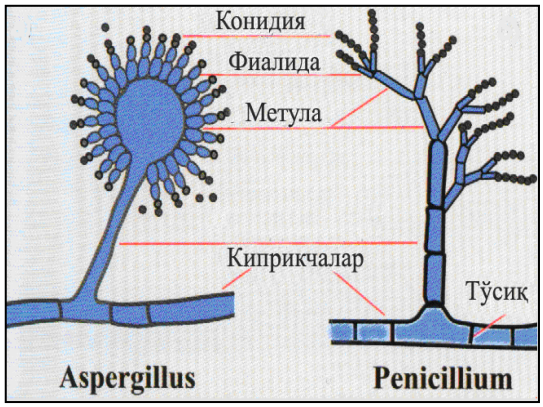
МИКОЛОГИЯ БЎЙИЧА РАСМЛАР



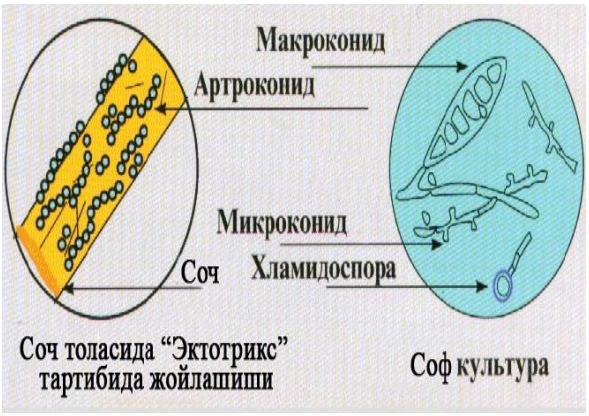
Ўпкадан тайёрланган суртмада Pneumocystis (carnii) jiroveci



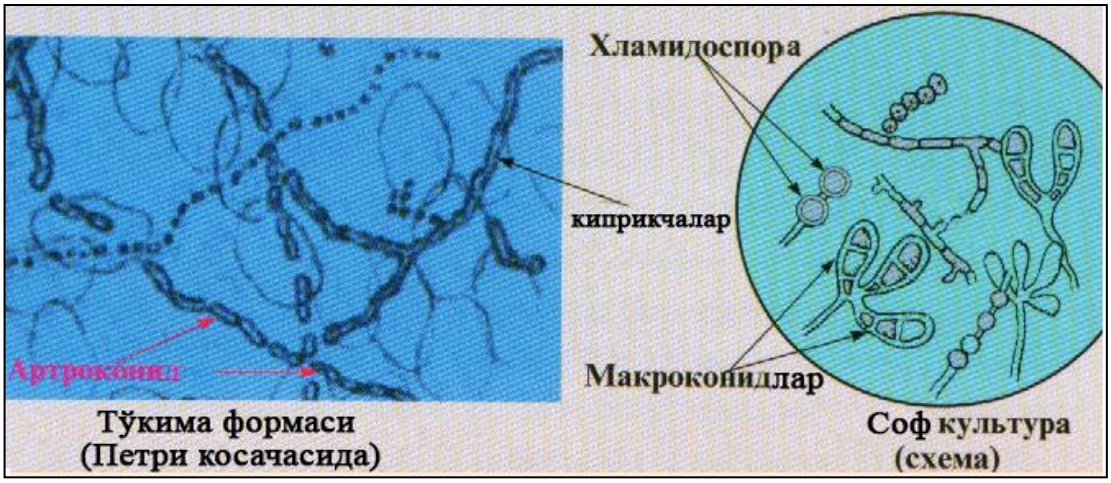
C. albicans замбуруғи



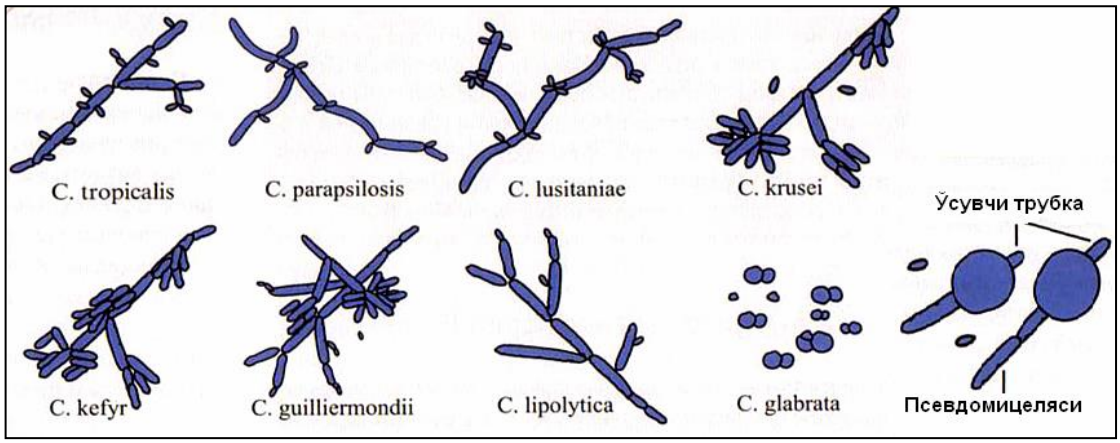
Замбуруғлар морфологияси



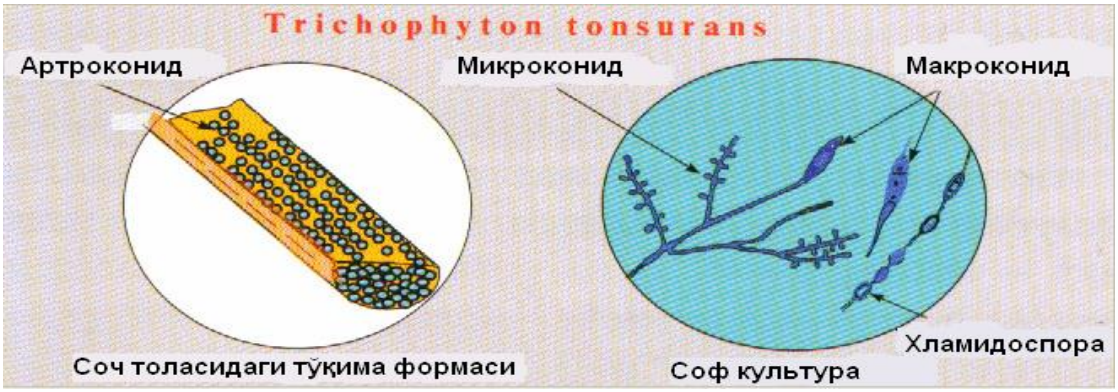
Microsporum cookie



Эпидермофития замбуруғи

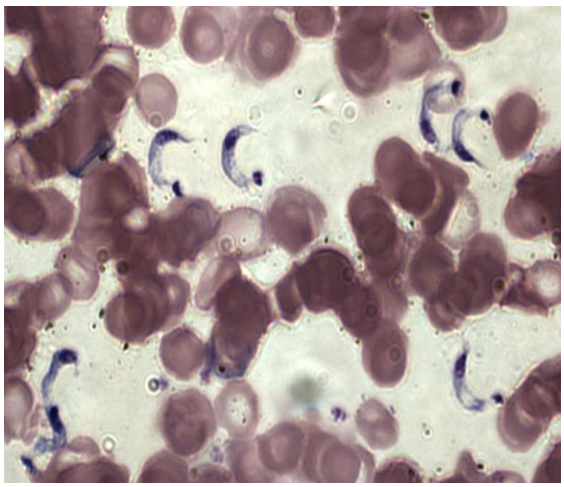


Кандида авлодига мансуб замбуруғларнинг морфологияси (схема)

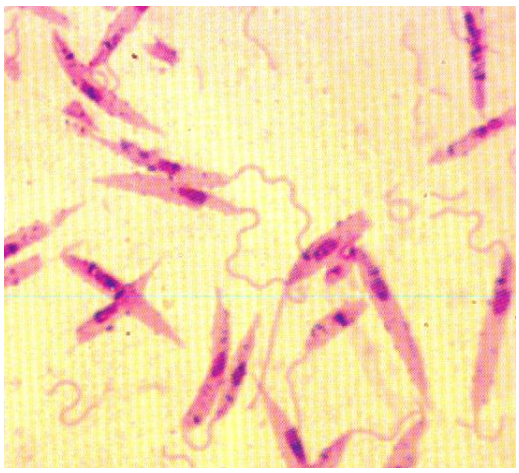


Trichophyton tonsurans

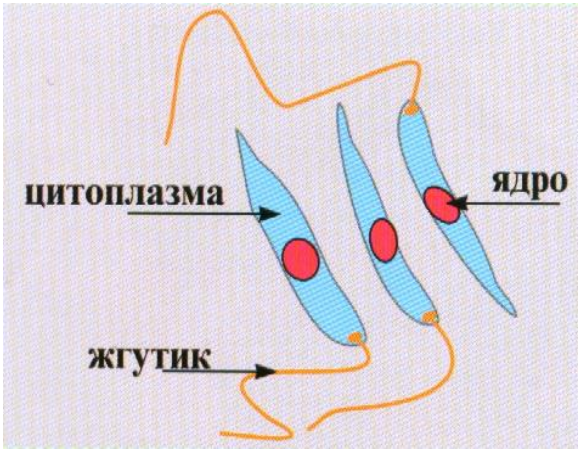
Trichophyton schoenleinii



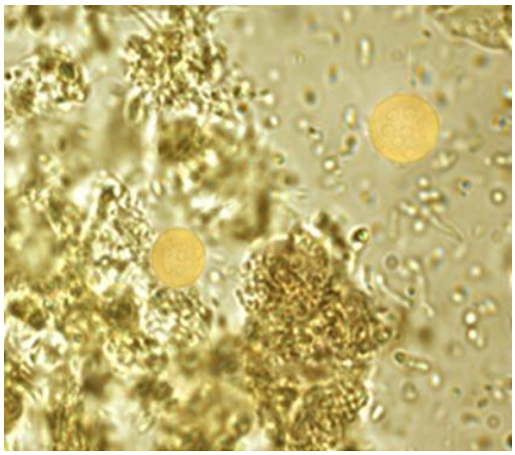
Қон суртмасидаги трипанасома



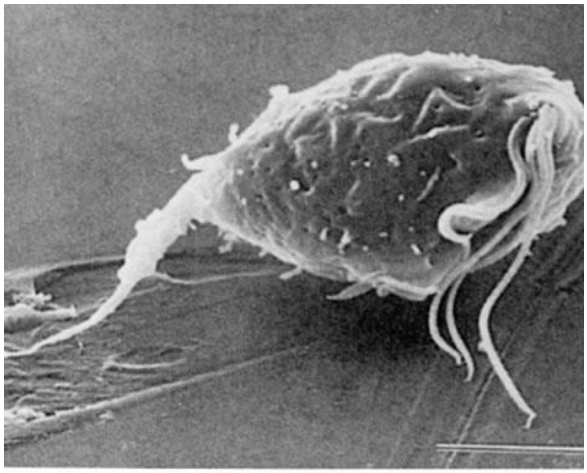
Лейшманийнинг соф культураси Романовский-Гимзада бўялган



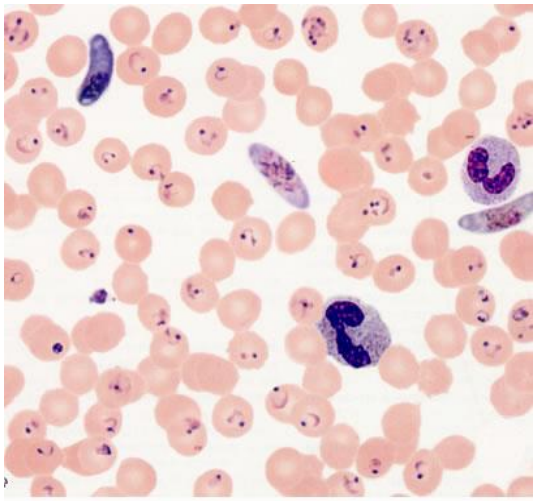
Лейшманийнинг тузилиш схемаси



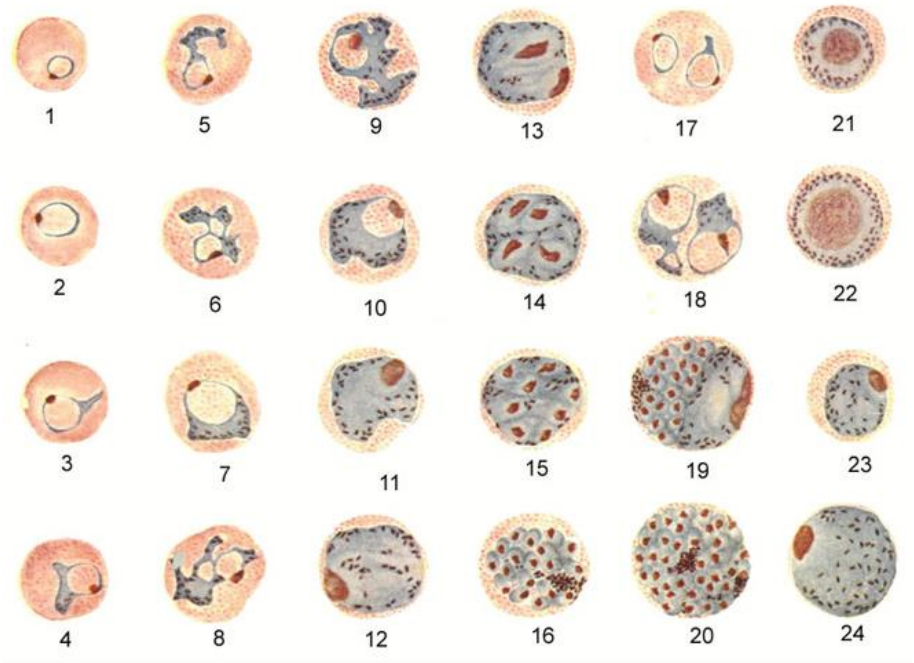
Entamoeba coli цисталари



Trichomonas vaginalis.

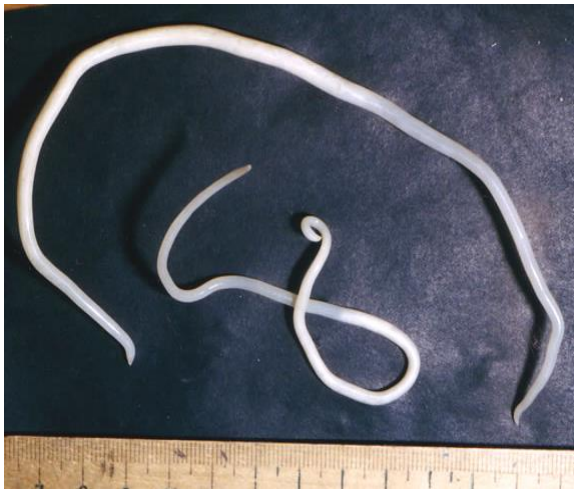


Тропик маляриялы бемор қони суртмаси

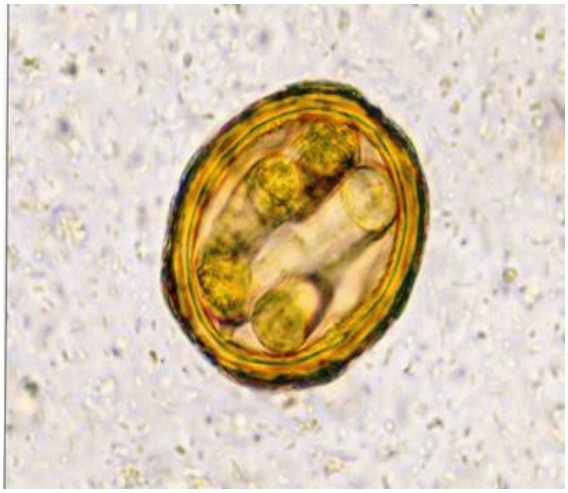


Қонда Plasmodium vivax нинг ривожланиш босқичлари:
1-2 – ёш трофозоитлар, 3-12 – етилган трофозоитлар, 13-15 – ёш шизонтлар, 16 – етилган шизонт, 17 – иккита ёш трофозоит битта эритроцитда, 18 – иккита етилган трофозоит битта эритроцитда, 19 -20 – иккита меруляция битта эритроцитда, 21-22 – микрогаметоцитлар, 23-24 – макрогаметоцитлар

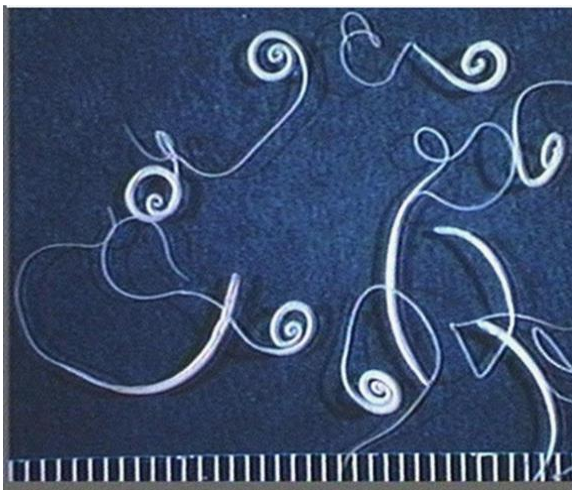
ГЕЛЬМИНТЛАР



Аскарида



Аскариданинг етилган тухуми



Қилбош гижжа

Қилбош гижжанинг тухуми

Острицалар

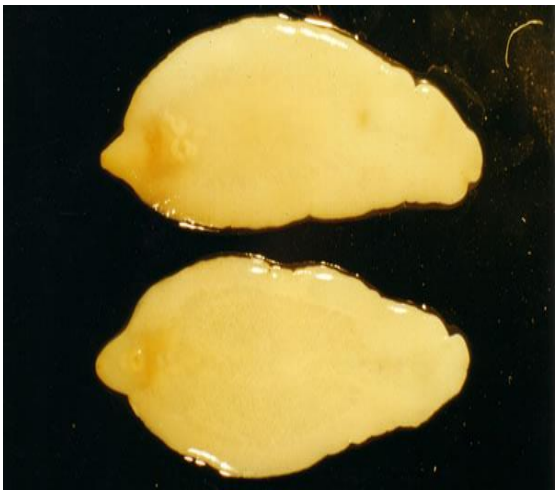
Острица тухумлари

Описторх

Описторх тухуми

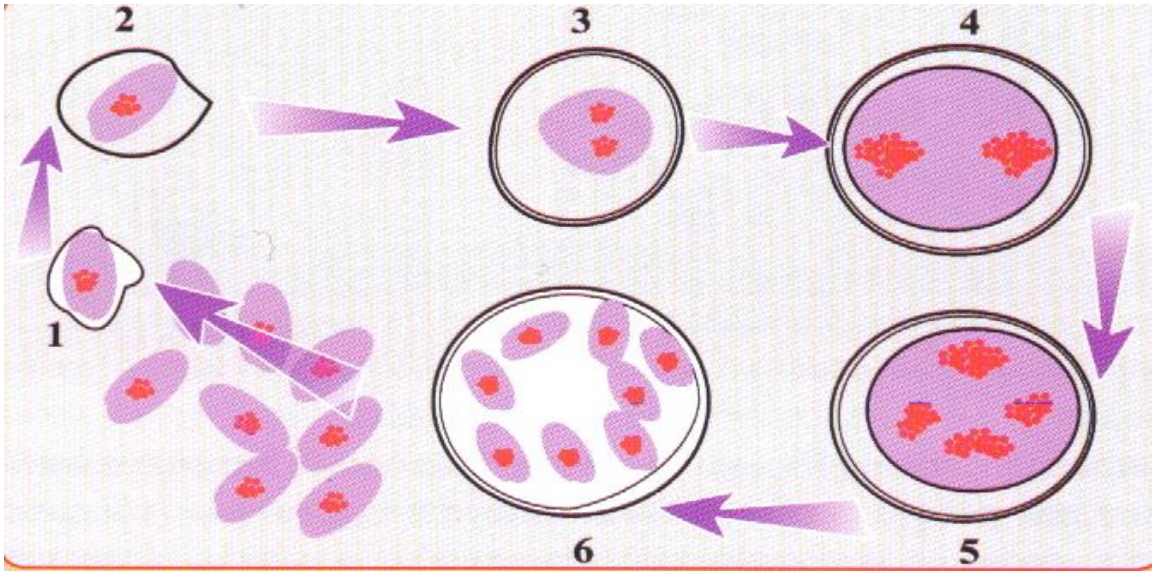
Стронгилоид личинкаси

Трихинелла личинкалари

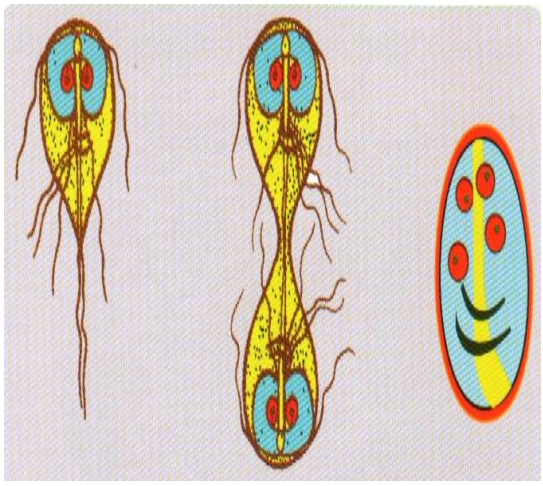


Жигар фасциолалари

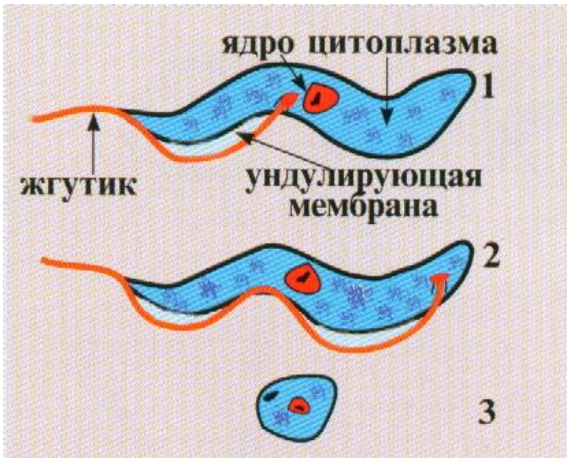
Фасциола тухуми



Пневмоцисталарнинг ҳаёт цикли схемаси: 1-2-амёбасимон трофозоитлар, 3-5- мейоз ва митоз босқичлари; 6- 8 та танача сақлаган циста

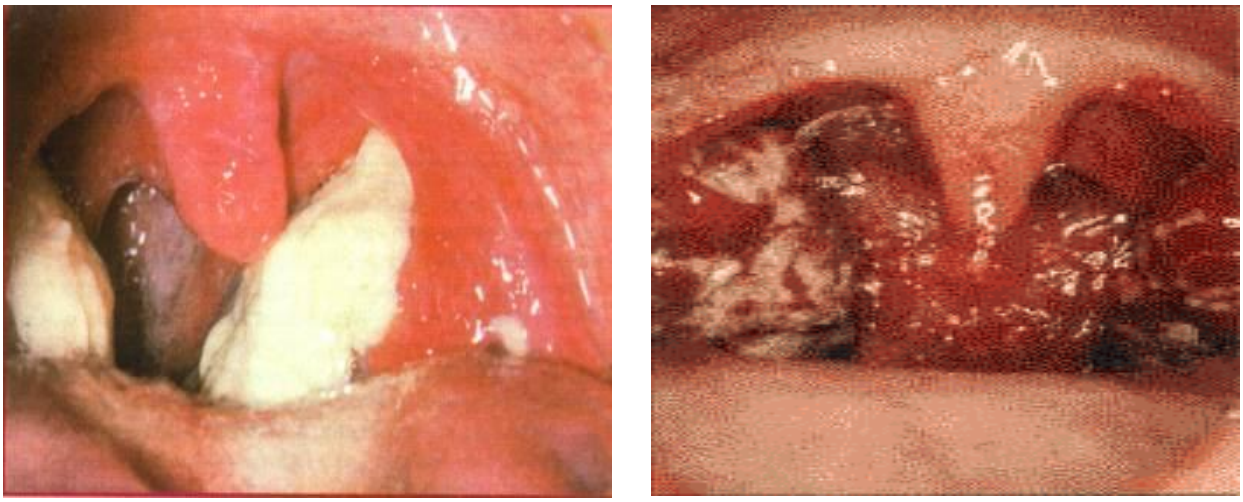


Лямблиянинг тузилиш схемаси: 1-вегетатив ҳужайра; 2-трофозоитнинг бинар бўлиниши; 3-циста.



Трипанасоманинг тузилиши

Скарлатинада қизил тил



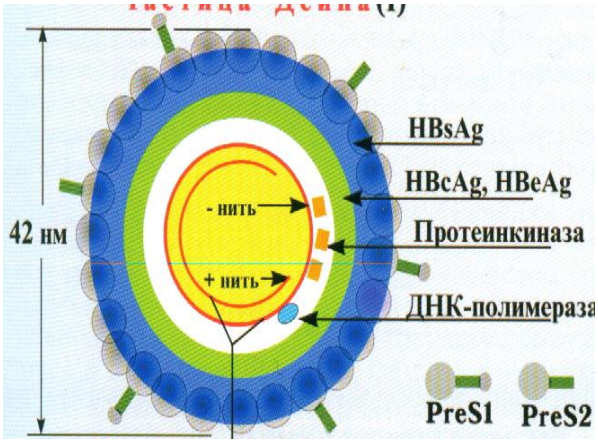
Оғиз-ҳалқум бўғмаси

Ҳалқум бўғмаси

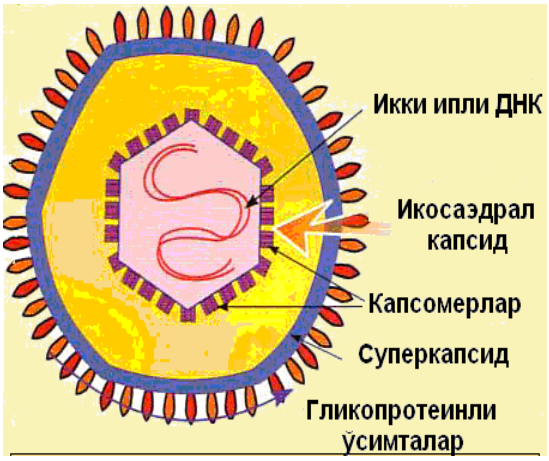
а)

б)

Болалардаги туғма (а) ва орттирилган заҳм (б)

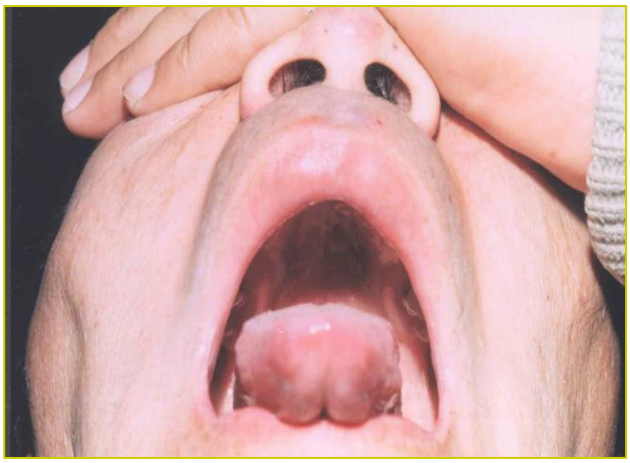


Гепатит В вируси схематик тузилиши



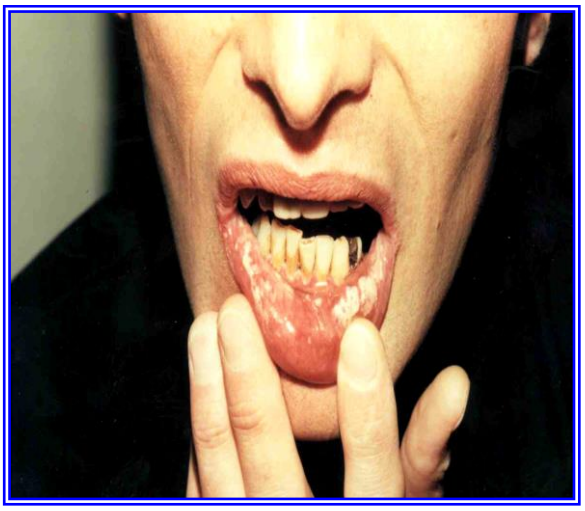
Герпес вирусининг тузилиш схемаси

Герпес инфекциясининг кўринишлари



ОИТС га боғлиқ Капоши саркомаси

ОИВ да тукли тил лейкоплакияси



ОИВ да оғиз бўшлиғи шиллиқ қавати кандидози

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

1. Арифов С., Эшбоев Э. ***Тери ва таносил касалликлари***. Т., 1997.
2. Борисов Л.Б. ***Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии*** (профессор Н.А. Зокировнинг ўзбек тилига таржимаси) 1992.
3. Бойченко М.Н. Зверова В.В. ***Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.*** 2010. в 2 та том. М. Дарслик.
4. Бойченко М.Н. Зверова В.В. ***Микробиология, вирусология.*** ГЭОТАР-Медиа. 2015. Ўқув қўлланма.
5. Воробьев А.А. Быков А.С. ***Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии.*** – М. МИА, 2003.
6. Диунов А.Г., Жариков Г.П., Тихомирова С.В. ***Медицинская паразитология для первокурсников.*** Ярославль, 2012. Ўқув қўлланма.
7. Ковалчук Л.В., Ганковский Л.В., Мешкова Р.Я. ***Клиническая Иммунология и аллергология с основами общей иммунологии.*** М. 2011. дарслик.
8. К.SH. Baltaeva.,SH.R.Aliev. ***Kimyoviy mikrobiologiya*** Toshkent, 2010. O'quv qo'llanma.
9. Мухамедов И.М. ва бошқ: ***“Стоматологияда клиник микробиология”.*** – Тошкент, 2015 (ўзбек ва инглиз тилларида). Ўқув қўлланма.
10. Мухамедов И.М. ва бошқ. ***“Микробиология полости рта ”*** – Тошкент, 2014. Ўқув қўлланма.
11. Мухамедов И.М. ва бошқ. ***“Клиник микробиология”*** Ўқув қўлланма. Тошкент, 2016 й.
12. Muchamedov I.M ва бошқалар. ***Microbiologia, virusologia va immunologia.*** Darslik, Тошкент 2006.
13. Мухамедов И.М., Воробьев А.А., Неъматов А.С., Нуралиев Н.А., Баженова С.С. ***Учебное пособие по общей микробиологии.*** Т., 2008.
14. Мухамедов И. ва бошқалар ***“Тиббиёт вирусологияси”.***Тошкент 2012. Ўқув қўлланма.
15. ***Медицинская микология.*** В.Б.Сбойчаков. ГЭОТАР-Медиа. 2008. Шифокорлар учун қўлланма.
16. ***Медицинская микробиология.*** Покровский В.П., Поздеев О.К. М., 2010. Дарслик.

17. Царев В.Н.- ***“Медицинская микробиология, вирусология и иммунология”.***- Москва, 2010. Дарслик
18. Царев В.Н.- ***“Медицинская микробиология, вирусология и иммунология полости рта”.-*** Москва, 2016. Дарслик
19. Y. Levinson- ***«Медицинская микробиология и иммунология»*** США, Калифорния, 2015. Дарслик
20. ***Медицинская микробиология, вирусология и иммунология*** – ВоробьеваА.А. М. МИА, 2012. Дарслик
21. Хаитов Р.М. ***Иммунология: структура и функции иммунной системы.*** ГОЭТАР МЕД, 2014. Ўқув қўлланма
22. Gerard J. Tortora, BerdellR. Funke, Christine L.Case ***Microbiology***- Benjamin Cummings USA, 2015.
23. Robert F. Boyd. ***Basic Medical Microbiology***. «LIPPINCOTT WILLIAMS @ WILKINS». 1995. Prinred in the United States of America.