A. SALEHOV, A. İSAYEV, Ş. CANƏHMƏDOVA,
F. HÜSEYNOVA, F. XANMİRZƏYEV, S. VƏKİLOVA,
G. ƏLİYEVA, Y. ABBASOVA

PARAZİTAR XƏSTƏLİKLƏRİN LABORATOR DİAQNOSTİKASI METODLARI

Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyi
V.Y.Axundov adına Elmi-Tədqiqat Tibbi Profilaktika İnstitutu

PARAZİTAR XƏSTƏLİKLƏRİN LABORATOR DİAQNOSTİKASI METODLARI

(METODİK VƏSAİT)

Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyinin Elmi-Tibbi Şurasının 26.09.2024-cü il tarixli qərarı və Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirinin 11 oktyabr 2024-cü il tarixli əmrinə əsasən metodik vəsait kimi çapa tövsiyə olunur

"ZƏNGƏZURDA" Çap Evi
Bakı - 2024

Vəsait V.Y.Axundov adına Elmi-Tədqiqat Tibbi Profilaktika İnstitutunun Parazitar və Tropik xəstəliklər şöbəsində hazırlanmışdır

Tərtib edənlər: V.Y.Axundov adına Elmi-Tədqiqat Tibbi Profilaktika İnstitutunun əməkdaşları:
tibb elmləri doktoru **Salehov A.Ə.**, tibb elmləri doktoru, professor **İsayev A.B.**, baş elmi işçilər - tibb üzrə fəlsəfə doktoru, dosent **Canəhmədova Ş. N.,** tibb üzrə fəlsəfə doktoru **Hüseynova F.H.**, tibb üzrə fəlsəfə doktoru **Xanmirzəyev F.İ.**, elmi işçilər - **Vəkilova S.V.**, **Əliyeva G.O.**, **Abbasova Y.C.**

Rəyçilər: Azərbaycan Tibb Universitetinin Epidemiologiya və Biostatistika kafedrasının dosenti, tibb üzrə fəlsəfə doktoru **Vahabov E.F.,** V.Axundov adına ET Tibbi Profilaktika İnstitutunun Epidemiologiya şöbəsinin bölmə müdiri, tibb üzrə fəlsəfə doktoru **Süleymanova S.F.**

Salehov A.Ə., İsayev A.B., Canəhmədova Ş. N., Hüseynova F.H., Xanmirzəyev F.İ., Vəkilova S.V., Əliyeva G.O., Abbasova Y.C. Parazitar xəstəliklərin laborator diaqnostikası metodları. (Metodik vəsait). Bakı: "ZƏNGƏZURDA" Çap Evi, 2024, – 40 səh.

DOI: https://doi.org/10.36719/826/2024

© **A. Salehov**, **A. İsayev**, **Ş. Canəhmədova**, **F. Hüseynova**, **F. Xanmirzəyev**, **S. Vəkilova,** **G. Əliyeva**, **Y. Abbasova, 2024**
© ZÇE, 2017

GİRİŞ

Təqdim olunan vəsaitdə parazitar xəstəliklərin törədiciləri, onların bioloji xüsusiyyətləri, orqan və toxumalarda yerləşməsi, inkişaf tsikli, hər parazitə uyğun diaqnostika metodu, müayinə üçün materialın götürülməsi, saxlanılması, müayinə edilməsi və alınan nəticələrin qiymətləndirilməsi, parazitar və immunoloji müayinə metodları ilə yanaşı, molekulyar-bioloji müayinə metodları da – zəncirvari polimeraz reaksiya (ZPR) öz əksini tapmış və onların klinik parazitologiyada əhəmiyyəti göstərilmişdir.

Parazitar xəstəliklər insanlar arasında ən geniş yayılan patologiyalardandır. Onların törədiciləri müxtəlif olub ölçülərinə, morfologiyasına, biologiyasına, inkişaf tsiklinə, yerləşdiyi toxuma və orqanlarda yaratdığı patoloji proseslərə görə bir-birindən fərqlənən təkhüceyrəli protozoozları və çoxhüceyrəli helmintləri əhatə edir. Parazitar xəstəliklərin əksəriyyəti çox vaxt, xüsusilə, başlanğıc mərhələdə simptomsuz keçir, kliniki əlamətlər spesifik olmur və bu səbəbdən dəqiq diaqnoz qoymaq mümkün olmur. Bu halda laborator müayinələrin rolu əvəzolunmazdır.

Vəsait infeksionistlər, parazitoloqlar, həkim-laborantlar, laborantlar, o cümlədən ali tibb təhsili müəssisələrinin məzunları üçün nəzərdə tutulmuşdur. Parazitin növündən, yerləşdiyi orqan və toxumalardan, inkişaf tsiklindən asılı olaraq müxtəlif parazitoloji müayinə metodları tətbiq olunur. Parazitar xəstəliklərin laborator müayinəsi zamanı aşağıdakı şərtlərə əməl olunması olduqca vacibdir.

I. Biomaterialı parazitoloji müayinəyə göndərən klinisist xəstənin epidemioloji və klinik anamnezinə, ilkin klinik əlamətlərinə görə təqribi diaqnoz qoymalı və laborator müayinənin hansı parazitoza görə aparılmasını qeyd etməlidir. Deməli, parazitoloji müayinə metodunun düzgün seçilməsi ilk növbədə biomaterialı laborator müayinəyə göndərən həkimin peşəkarlığından, onun parazitar xəstəliklərə dair biliyindən asılıdır.

II. Laborator müayinəni həyata keçirən həkim-laborantın və laborantın peşəkarlığı da olduqca önəmlidir; müayinə metodunun düzgün seçilməsi və yüksək səviyyədə həyata keçirilməsi, o cümlədən mikroskop altında standartlara uyğun baxılması mühüm əhəmiyyət kəsb edir.

III. Müayinə üçün götürüləcək material parazitin növündən, onun inkişaf tsikli və bioloji xüsusiyyətlərindən, yerləşdiyi orqan və toxumadan və s. asılı olaraq müəyyən edilir. Bağırsaq parazitozlarını aşkar etmək üçün nümunə nəcisin müxtəlif yerlərindən götürülərək xüsusi qaba qoyulur, qarışdırılır və alınan qarışıqdan nümunə götürülərək müayinə edilir. Bağırsaq möhtəviyyatı, öd, sidik müxtəlif porsiyalarda götürülür və müayinə edilir.

IV. Götürülmüş nümunənin saxlanılması, onun laboratoriyaya vaxtında çatdırılması da mühüm əhəmiyyət kəsb edir.

V. Müayinə metodunun seçilməsi, onun həyata keçirilməsi üçün lazım olan reagentlərin keyfiyyəti, lazım olan məhlulların düzgün hazırlanması da olduqca vacib şərtlərdəndir.

VI. Parazitoloji müayinənin nəticələri bir sıra amillərdən asılıdır:

- Yoluxma intensivliyi (qanda, sümük iliyində, sidikdə, nəcisdə, bağırsaq möhtəviyyatında və s.) mühüm əhəmiyyət kəsb edir;
- Bağırsaq helmintozlarında yalnız erkək fərdlər olarsa müayinə zamanı istənilən nəticə alınmır;
- Miqrasiya edən helmintlərin (askarid, strongiloid, ankilostomid və s.) miqrasiya mərhələsi zamanı helmintoloji müayinə müsbət nəticə vermir və ona görə seroloji müayinələrin aparılmasına ehtiyac yaranır;
- Yoluxmuş insanda bəzi parazitozların (toksoplazmoz, toksokaroz, trixinelloz, exinokkoz və s.) parazitoloji müayinəsini aparmaq mümkün olmur, bu zaman seroloji müayinələr aparmaq yeganə seçimdir;
- Parazitoloji və immunoloji müayinələr zamanı ən azı iki metoddan paralel istifadə olunması daha məqsədəuyğundur;
- Helmintoloji müayinə 1-2 gün ara verməklə təkrar aparılmalıdır;
- Malyariyaya qarşı müayinə qalın qan damlası və nazik qan yaxması ilə paralel aparılmalıdır;

LABORATOR DİAQNOSTİKA METODLARI

Helmintozların laborator müayinəsi helmintlərin, onların hissələrinin, yumurtalarının və sürfələrinin nəcisdə, bağırsaq möhtəviyyatında, bəlğəmdə, sidikdə, qanda, dəridə, birləşdirici toxuma və rektal selikdə, abseslərin möhtəviyyatında, punktatlar, sist, qovuq və ifrazatlarda tapılmasına əsaslanır.

Nəcisin müayinəsi. Nümunənin götürülməsi və laboratoriyaya çatdırılması – Nəcis bir xörək qaşığından az olmamaq şərti ilə götürülərək nəcis üçün nəzərdə tutulmuş xüsusi qapalı şüşə və ya plastik qablara qoyularaq, salafan torbalarda laboratoriyaya çatdırılır. Nəcisin götürüldüyü gün laboratoriyaya çatdırılması daha məqsədəuyğundur. İsti vaxtlarda nəcis nümunələri laboratoriyaya çatdırılana qədər ya sərin yerdə, ya da soyuducuda saxlanmalıdır.

Şəkil 1. *Xüsusi qapalı şüşə və ya plastik qablar*

Kütləvi müayinələr və uzunmüddətli saxlamalar zamanı konservantlardan istifadə edilir. Praktik səhiyyədə əsasən aşağıdakı konservantlardan istifadə edilir: MİF (mertiolat - yod-formalin), SAF (sirkə turşusu, natrium asetat, formalin), Barbaqal məhlulu (100 ml distillə suyu, 0,85 q NaCl, 3 ml formalin), həmçinin yuyucu toz məhlulu (1000 ml su, 10 q quru yuyucu toz – Lotos). Helmint yumurtalarını yaxşı fiksə etmək üçün nəcis nümunələri 1:2 nisbətində konservantlarda həll edilir və qapalı flakonda saxlanılır.

Helmint yumurtalarının inkişafının qarşısını almaq üçün Barbaqal məhlulu nəcis nümunələri daxil edilənə kimi 50-60°C-yə qədər qızdırılmalıdır.

Nəcisin makroskopik müayinəsi – Nəcisin makroskopik müayinəsi helmintin özünun və ya onun fraqmentlərinin tapılmasına əsaslanır. Bu, helmintin ya özünün sərbəst və ya spesifik diaqnostik müalicədən sonra xaric olması ilə mümkündür. Bu metoddan dehelmintizasiyanın effektivliyini və parazitin növünü təyin etmək üçün istifadə edilir.

Bu məqsədlə müalicədən sonra nəcis kütləsi laboratoriyaya gətirilir və həmin laboratoriyada nəcis kütləsi su ilə qarışdırılaraq adi gözlə və ya lupa vasitəsilə müayinədən keçirilir.

Çökdürmə və süzmə metodu – bu metod aşağıdakı ardıcıllıqla həyata keçirilir.

1. Nəcis dərin qabda su ilə qarışdırılır, çökdürülür və üst hissəsi boşaldılır.

2. Sonra yenidən su əlavə edilir və yenidən çökdürü-lərək üst hissəsi boşaldılır.

3. Çöküntu qara fonda petri kasasında və ya küvetdə adi gözlə müayinə edilir.

4. Aşkar edilmiş helmintlər və ya onun hissələri digər su əlavə edilmiş qaba keçirilir, növləri və sayları təyin edilir.

5. Tapılan nematodları uzun müddət saxlamaq üçün Barbaqal məhlulundan, sestod və trematodları saxlamaq üçün isə 70%-li spirt və ya 1%-li formalin məhlulundan istifadə edilir.

Nəcisin və digər nümunələrin mikroskopik metodlarla müayinəsi – Helmint yumurtaları və sürfələrini aşkar etmək üçün müxtəlif sistemli bioloji mikroskoplardan, keyfiyyət və kəmiyyət metodlarından istifadə edilir.

Şəkil 2. *Mikroskopik müayinə*

KEYFİYYƏT HELMİNTOOVOSKOPİK MÜAYİNƏ METODLARI

Adi yaxma metodu – Əşya şüşəsinin üzərinə bir damla fizioloji məhlul (xörək duzunun 0,85%-li məhlulu) və ya lüqol məhlulu (100 ml distillə olunmuş su, KJ - 3,0 qr, kristal yod - 1,5 qr) qoyulur. Onun üzərinə isə müayinə edilən materialdan noxud boyda qoyularaq yaxma hazırlanır və üzəri örtük şüşəsi ilə örtülərək mikroskop altında müayinə olunur (obyektiv 40 olmaqla). Adi yaxma üsulu digər üsullardan biri ilə (məs: Kalantarov, Kato-Miura, Fyulleborn və s.) yanaşı aparılmalıdır.

Diaqnostik əhəmiyyəti: Yüksək intensivlikli invaziyalar zamanı əksər helmintlərin yumurta və sürfələri aşkar edilir.

Kato-Miura metodu – Kato məhlulundan (6 ml malaxit abısının 3%-li sulu məhlulu, 500 ml qliserin və 600 ml 6%-li fenol məhlulu) istifadə edilərək nəcisdən yaxma hazırlanır. Bunun üçün şəffaf hidrofil selofan 20x40 mm ölçüdə kəsilərək ağzı bağlı qabda olan Kato məhlulunda 24 saat saxlanılır. Müayinə zamanı 100 mq nəcis əşya şüşəsinin üzərinə qoyulur. Kato məhlulunda saxlanılan selofandan biri əşya şüşəsi üzərindəki nəcisin üzərinə qoyulur və selofanın üzəri şüşə çubuqla sıxılaraq yaxma hazırlanır, 30-40 dəqiqədən sonra yaxmaya mikroskop altında baxılır.

Diaqnostik əhəmiyyəti: Bu metod adi yaxma metodundan daha effektli olub kütləvi müayinələr zamanı daha

əlverişlidir. Bu müayinə əksər helmintlərin, xüsusən də, askarid və tükbaş yumurtalarının aşkar edilməsi üçün effektli olsa da, ankilostoma yumurtaları çətin tapılır, cırtdan qurdun onkosferlərinin və kiçik trematod yumurtalarının tapılması üçün əlverişli deyil.

Helmint yumurtalarının flotasiyası metodları – Bu metodlarda yüksək sıxlığa malik duz məhlullarından istifadə edilir. Müayinə zamanı helmint yumurtalarının sıxlığı həmin məhlulların sıxlığından az olduğu üçün asanlıqla məhlulun üzərinə çıxır və onları əşya şüşəsi üzərinə keçirərək mikroskop altında müayinə edirlər. Bu metodlarda daha çox NaCl, sink sulfat ($ZnSO_4$), natrium, kalium və ammonyakın nitrat duzlarından ($NaNO_3$, $KaNO_3$, NH_4NO_3) istifadə edilir.

Fyulleborn metodu – Bu metodda xörək duzunun - NaCl doymuş məhlulundan istifadə edilir (doymuş məhlul 0,4 kq NaCl 1 litr suda həll edilir, xüsusi çəkisi 1,2 olur).

Müayinənin gedişi: 2,5-5,0 q nəcis xörək duzunun doymuş məhlulunda qarışdırılır. Şüşə bankanın üzərinə əşya şüşəsi qoyulur və nəcis qarışdırılmış doymuş məhluldan əşya şüşəsinə toxunana kimi bankaya əlavə edilir. 45 dəqiqədən sonra əşya şüşəsi çevrilərək götürülür və mikroskop altında baxılır. Bu metodla müayinə zamanı mayalanmamış askarid və trematod yumurtaları məhlulun üzərinə qalxmırlar, ona görə çöküntü də müayinə edilməlidir. Ankilostoma yumurtalarının flotasiyası 10-20 dəqiqəyə, askarid və tükbaş yumurtalarının tam flotasiyası 10-20 dəqiqəyə baş verir.

Ankilostoma yumurtası

Nəcisdə askarid yumurtaları

Şəkil 3. *Nəcisdə aşkar edilən helmint yumurtaları*

Kalantarov metodu – Bu metodu həyata keçirmək üçün Natrium nitritit duzunun ($NaNO_2$) doymuş məhlulundan istifadə edilir. 1 litr suya 1 kq Natrium nitrit duzu əlavə edilərək qaynadılır və tənzifdən keçirilir. Bu məhlulun xüsusi çəkisi 1,38-dir. 5-10 qram nəcis həcmi 100 ml olan şüşə qablara qoyulur, sonra hazırlanmış məhluldan az miqdarda nəcis üzərinə əlavə edilir və qarışdırılır. Qabın üzərinə əşya şüşəsi qoyulur, məhlul əşya şüşəsinə toxunana kimi əlavə edilir və 20-30 dəqiqə saxlanılır. Sonra məhlula toxunan əşya şüşəsi və ya məhlulun üz hissəsi dəmir həlqə ilə yığılaraq mikroskopla müayinə edilir. Bu üsulun prinsipi ondan ibarətdir ki, qurd yumurtaları məhlulun üzərinə çıxır.

Diaqnostik əhəmiyyəti: Bu usulla yumurtaların flotasiyası 10-20 dəqiqəyə başa çatır. İstifadə olunan duz məhlulunun konsentrasiyası yüksək olduğu üçün çöküntüyə baxılmır.

Helmint yumurtalarının sedimentasiya metodları – Bu metodda hidrofil xüsusiyyətə malik olan helmint yumurtaları və sürfələri iki fazalı mühitdə toplanır, həll olmamış nəcis hissələri, lipofil xüsusiyyətə malik yağ və digər hissəciklər həlledicinin həlqəsində toplanırlar.

Helmint yumurtalarının tam sedimentasiyası üçün mühitin pH-nın 4-dən 6-ya qədər olması məsləhətdir. Bu zaman helmint yumurtalarının hidrofilliyi mühitin pH-ı ilə paralel artır.

Telman metodu (Berezançev və Avtuşenko modifikasiyası)

Müayinə aşağıdakı ardıcıllıqla həyata keçirilir:

1. 1,5 q nəcis şüşə stəkanda 5 ml 50%-li xlorid turşusunda və ya 10%-li natrium qələvisində (NaOH) qarışdırılır.
2. Qarışıq içərisində 5 ml efir olan sınaq şüşəsinə tökülür, ağzı tıxacla bağlanır və çalxalanılır.
3. Sonra metal tordan digər sınaq şüşəsinə süzülür və ya filtrasiya edilmədən 1 dəqiqə sentrifuqada fırladılır.
4. Sınaq şüşəsində 3 qat qarışıq əmələ gəlir; yuxarıdakı 2 təbəqə kənara tökülür.
5. Sınaq şüşəsində qalan çöküntünün üzərinə su əlavə edilir, çalxalanır və yenidən sentrifuqadan keçirilir.
6. Sentrifuqadan keçirilmiş çöküntüdən 2-4 damcı götürülür və 50-100 dəfə böyütməklə mikroskopda baxılır.

Diaqnostik əhəmiyyəti: Metod bütün helmint yumurtaları, o cümlədən, trematod yumurtalarının aşkar edilməsi üçün effektlidir. Metod zəif invaziyalarda da həssasdır.

Telman metodu (Kryuçkova modifikasiyası) – Bu metodda efir və HCl əvəzinə 2-li doymuş qələvi məhlulundan istifadə edilir ki, bu məhlul şistosoma, ankilostoma, askarid yumurtalarının aşkar edilməsi üçün effektivdir.

Krasilnikov metodu – Son illər helmint yumurtalarını çökdürmək üçün müxtəlif detergentlərdən – yuyucu tozların sulu məhlullarından istifadə edilir.

1. Bu metodda 1%-li “Lotos” və ya 1,5%-li “Ekstra” və ya “Tvin” məhlulu hazırlanır.

2. 2-2,5 q nəcis 20-30 ml hazırlanmış yuyucu toz məhlullarından biri ilə qarışdırılır.

3. Bir sutka ərzində çökdürülür və ya 1000 dövrə/dəq. olmaqla sentrifuqada fırladılır. Bu zaman helmint yumurtaları əmələ gəlmiş 3 təbəqəli çöküntü alt təbəqənin üzərinə yığılır.

4. Çökdürülmüş alt təbəqənin üzərindən pipetka ilə götürülmüş materialdan 2-3 preparat hazırlanır, örtük şüşəsi ilə örtülür və müayinə edilir.

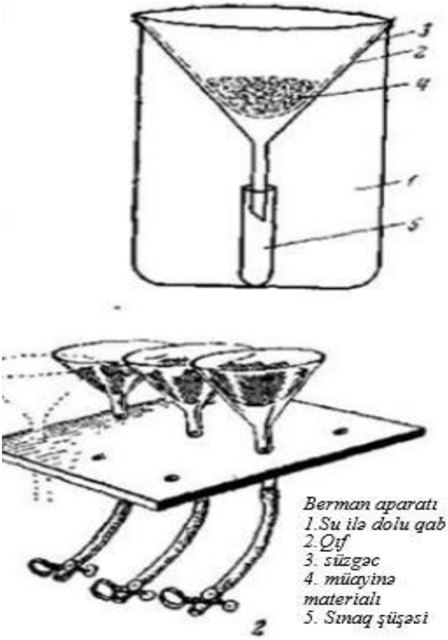
Diaqnostik əhəmiyyəti: Krasilnikov metodu bütün növ helmint yumurtalarının aşkar edilməsi üçün effektlidir. Bu üsulla helmint yumurtaları konservasiya edildikdə 1 ilə kimi qala bilir. Lakin ankilostomid, himenolepis, trixostrongiloid yumurtalarının qişası deformasiya olduğundan nisbətən az müddət qalır. Təqdim olunan üsul sadə olduğu üçün kütləvi müayinələrdə istifadəsi məqbul hesab edilir.

Nəcisdə helmint sürfələrinin aşkar edilməsi metodları - Berman metodu:

1. Müayinə zamanı Berman aparatından istifadə edilir. Berman aparatı ştativə keçirilmiş şüşə qıf, qıfa keçirilmiş rezin boru və borunun üzərində sıxıcıdan ibarətdir.

2. Qıfa isti (45-50°C) su tökülür və ştativə birləşdirilir.

3. Qıfın içərisindəki suyun üzərinə həmin suya toxunmaq şərtilə metal tor qoyulur. Metal torun üzərinə 5-10 qr nəcis qoyulur və otaq temperaturunda 3-4 saat saxlanılır. İsti ölkələrdə çökdürmə müddətini bir saata qədər qısaltmaq olar.



4.Sıxıcı açılır və sentrifuqanın sınaq şüşəsinə məhlulun aşağı hissəsindən 10-15 ml tökülür.

5. 1-2 dəq. ərzində 1000 dövrə/dəq. olmaqla sentrifuqadan keçirilir və alınmış çöküntu əşya şüşəsi üzərinə tökülərək mikroskopla müayinə edilir.

Berman metodu (Supryaqa modifikasiyası) – Bu metodla təzə nəcis, o cümlədən, soyuqda saxlanmış nəcis müayinə edilir.

Müayinənin gedişi:

1. Laboratoriyaya gətirilən nəcisin üzərinə 10-15 ml isti su (40°C) tökülür;

2. 20-30 dəqiqədən sonra məhlul sınaq şüşəsinə keçirilir;

3. 10-15 dəq. çökdürülür və ya 1500 dövrə/dəq. olmaqla sentrifuqadan keçirilir;

4. Sonra çöküntü mikroskop altında müayinə edilir. Bu zaman hərəkətli, zəif hərəkətli və ya hərəkətsiz sürfələr aşkar edilir. Hərəkətsiz sürfələr mikroskopda böyük böyüdücü altında müayinə edilir. V.G.Supryaqa göstərir ki, nəcisi 6°C-də soyuducuda saxladıqda 1-1,5 sutka ərzində strongiloid sürfələri diri qalır. İsti suyun təsirindən soyuducuda saxlanan nəcisdəki sürfələr aktivləşir və ölmüş sürfələr morfoloji dəyişikliyə uğramırlar.

Xarada-Mori metodu – Təqdim olunan üsul ankilostomid yumurtalarını aşkar etmək üçün məqsədəuyğun hesab edilir. Üsulun prinsipi isladılmış filtr kağızında ankilostomid yumurtalarından sürfələrin xaric olmasına əsaslanır ki, bu zaman həmin yumurtaları asanlıqla tapmaq olur.

Əvvəlcə 15x1,15 sm ölçüdə filtr kağızının üzərinə 0,5 q nəcis qoyulur. Filtr kağızının hər ucu təmiz saxlanılmalıdır. Nəcisli kağız su ilə doldurulmuş sınaq şüşəsinə elə yerləşdirilir ki, nəcisli tərəf su ilə örtülsün, digər tərəf sınaq şüşəsindən kənara çıxsın ki, onu tıxac ilə bərkitmək olsun. Sınaq şüşəsini 28°C termostatda 5-6 gün saxlayırlar. Bu zaman filyari formalı sürfələr suya daxil olur və dibə çökür.

Sonra filtr kağızı götürülüb atılır və mayeyə lupa ilə baxılır. Bu üsulla ankilostomanı və nekatoru morfoloji cəhətdən ayırmaq olur.

Nəcisdə helmint yumurtalarının kəmiyyətcə qiymətləndirilməsi metodları. Stoll metodu:

Müayinənin gedişi:

1. 60 ml-lik şüşə qaba 56 ml 0,4%-li natrium-hidroksid (NaOH) məhlulu tökülür.
2. Sonra həmin məhlulun üzərinə 4 ml nəcis əlavə edilir və şüşə çubuqla qarışdırılır.
3. Sınaq şüşəsinə 10 şüşə muncuq əlavə edilir, ağzı bağlanır və 1 dəqiqə çalxalanır.
4. Çalxalanmış məhluldan çökməmiş 0,075 ml suspenziya götürülür (bu, 0,005 q nəcisə uyğundur), əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və örtük şüşəsi ilə örtülür.
5. Sonra mikroskop altında baxılır və yumurtalar sayılır.
6. Alınan nəticələr 0,005 q nəcisdə olan yumurtaların sayını göstərir.
7. Alınan rəqəmi 200-ə vurmaqla 1 qr nəcisdəki yumurtaların sayını tapmış oluruq.

Zəif intensivlikli invaziyalarda Stoll metodu o qədər də effektli olmur. Bu məqsədlə bəzən Fyulleborn, Kalantarov və ya Krasilnikov üsullarından istifadə edilir.

Nəcisin götürülməsi, konservasiya edilməsi, kəmiyyət və keyfiyyətcə tədqiqi üçün ÜST-ün ekspertləri tərəfindən təklif olunan metod:

Müayinənin gedişi:

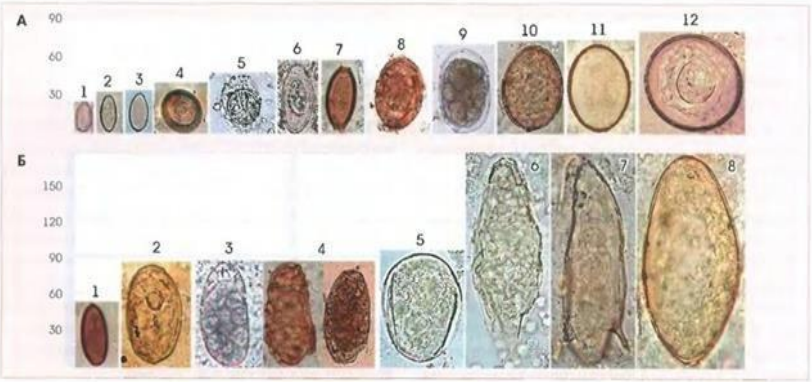
1. Ağzında tıxacı olan 8-10 ml həcmli flakona 4 ml su tökülür və işarə edilir.
2. Yenidən həmin flakona 1 ml su əlavə edilərək ikinci işarə qoyulur, su boşaldılır və iki işarə arasına etiket yapışdırılır.

3. Sonra flakona 1-ci işarəyə qədər 10%-li formalin məhlulu tökülür və üzərinə ikinci işarəyə qədər nəcis əlavə edilir.

4. Flakonun ağzı tıxacla bağlanır, homogen məhlul əmələ gələnə qədər çalxalanır və yenidən flakon dolana qədər 10%-li formalin əlavə edilir.

5. Alınmış qarışıqdan 1 damcı əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və yumurtalar mokroskopun görmə sahəsində sayılır.

6. Nəticə 5 mq nəcisdə olan yumurtaların sayına uyğun gəlir. Həmin rəqəmi 200-ə vurmaqla 1 qr nəcisdəki yumurtaların sayını tapmaq olur.



А. 1. Metagonimus yokogawai. 2. Opistorchis felineus. 3. Clonorchis sinenesis. 4. Tenia (онкосферы тениид). 5. Hyminolepis nana. 6. Enterobius vermicularis. 7. Trichocephalus trichiurus. 8. Ascaris lumbricoides (оплодотв.). 9. Ancylostoma duodenale. 10. Diphillobotrium latum. 11. Nanophietus Schichobalowi. 12. Hyminolepis diminuta. **Б.** 1. Dicrocelium lanceatum, 2. Paragonimus westermani. 3. Trichostrongylus spp. 4. Ascaris lumbricoides (неоплодотв.). 5. Schistosoma japonicum. 6. Schistosoma haematobium. 7. Schistosoma Mansoni. 8. Fasciola hepatica

***Şəkil 4.** Helmint yumurtalarının klassifikasiyası; yumurtalar ölçülərinə görə paylanmışdır*

Digər materialların, toxumaların və orqanların helmintozlara görə müayinə metodları:

Duodenal möhtəviyyatın müayinəsi – Duodenal möhtəviyyat öd və mədəaltı vəz axacaqlarında, öd kisəsi və onikibarmaq bağırsaqda parazitlik edən helmintlərin yumurta və sürfələrinin aşkar edilməsi məqsədilə müayinə edilir. Helmintoloji müayinə üçün duodenal şirənin hər 3 porsiyası götürülməlidir. Duodenal möhtəviyyatın bərk hissəcikləri və asılı maddələri müayinə edilməlidir. Maye hissəsinə efir əlavə edilir, çalxalanır, sentrifuqadan keçirilir və çöküntüyə mikroskop altında baxılır. Böyük böyüdücü altında (obyektiv 90) opistorxis, klonorxis, ankilostomid, trixostrongilid yumurtalarına, kiçik böyüdücüdə (obyektiv 40) isə fassiola yumurtası və strongiloid sürfəsinə baxılır. İrin və selik olduqda duodenal möhtəviyyat və öd efirlə qarışdırılıb çalxalanır. Qusuntuda askarid, exinokokk qovuğu partladıqda exinokokk fraqmentləri aşkar edilir.

Bəlğəmin müayinəsi - Bəlğəmin müayinəsi paroqonim, şistosom yumurtalarını, miqrasiya edən nematod sürfələrini, exinokokk qovuğu fraqmentini tapmaq üçün aparılır.

Bəlğəm adi gözlə və ya lupa ilə müayinə edilir, toxuma hissəcikləri mikroskop altında yoxlanılır. Bəlğəmdən eyni zamanda əşya şüsəsi üzərində yaxma hazırlanır və baxılır. İrinli bəlğəm eyni miqdarda 0,5%-li qələvi məhlulu ilə qarışdırılır və 5 dəq. çalxalanır, sonra sentrifuqadan keçirilir. Sonra alınmış çöküntü müayinə edilir. Şis-

tosom yumurtasını tapmaq üçün sutkalıq bəlğəm 5%-li qələvi ilə qarışdırılır, bir sutka çökdürülür və sentrifuqadan keçirilir. Miqrasiya edən helmint sürfələrini tapmaq üçün bəlğəm Berman metodu ilə müayinə edilir.

Sidiyin müayinəsi – Sidikdə şistosom yumurtaları və bəzən mikrofilyariyalar aşkar edilir. Bunun üçün 2 üsuldan istifadə edilir:

Konsentrasiya metodu:

Müayinənin gedişi:

1. Müayinə olunan sidiyin sutkalıq və ya birdəfəlik porsiyasından 100-300 ml götürülərək 30-45 dəqiqə ərzində çökdürülür.
2. Alınmış çöküntüdən 10-15 ml 1-2 dəqiqə ərzində 1500 dövr/dəq olmaqla sentrifuqadan keçirilir.
3. Sonra çöküntüdən əşya şüşəsi üzərinə 1 damcı qoyularaq mikroskop altında baxılır.

Filtrasiya metodu:

1. 5-10 ml sidik nümunəsi (saat 11:00-dan 15:00-a kimi götürülmüş) eyni həcmdə yuyucu vasitə ilə qarışdırılır.
2. Sonra filtr kağızından keçirilir. İsladılmış filtrdə və ya Qarris hematoksillini ilə boyandıqdan sonra helmint yumurtaları və sürfələri sayılır.

Bu üsul xüsusən şistosomozun zəif intensivli invaziyalarında effektivdir.

Qanın müayinəsi – Əsasən filyariyozlara diaqnoz qoymaq üçün mikrofilyariyaların qanda tapılmasına əsaslanır. Bəzən miqrasiya edən digər helmintlər də aşkar edilir.

Müayinə zamanı aşağıdakı metodlardan istifadə olunur:

Adi yaxma metodu:

1. Barmaqdan 0,02-0,06 ml qan üzərində bölgüləri olan kapilyar borulara götürülür.

2. Yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərinə 0,02 ml qan əlavə edilərək yaxma hazırlanır.

3.Yaxma örtük şüsəsiz mikroskop altında müayinə edilir. Preparatın qurumaması üçün yaxmanın üzərinə 1-2 damla su və ya xörək duzunun izotonik məhlulu əlavə edilir.

Müayinə üçün qan gündüz və axşam saatlarında götürülür.

Yaxma - "Zənginləşdirmə" metodu – 20 damla qan sınaq şüşəsində 10 ml distillə suyu ilə qarışdırılır. Hemolizi sürətləndirmək üçün sınaq şüşəsi bir neçə dəfə çalxalanır.

Çökdürdükdən və ya sentrifuqadan keçirdikdən sonra alınmış qarışıq hərəkətli sürfələrə görə müayinə edilir. Nəticəsi müsbət olan preparat qurudulur, metanolla fiksə edilir və Romanovski-Gimza üsulu ilə rənglənir.

Mikrokapilyar metodu (və ya V.M.Supryaqa metodu) – İçərisində heparin olan mikrokapilyar və ya Pançenkov kapilyarları vasitəsi ilə barmaqdan qan əlavə olunur. Kapilyarı qanla doldurduqdan sonra onun bir ucu plastilinlə örtülür. Qan çökdürülür və ya sentrifuqadan keçirilir (bir dəqiqədə 2000 dövrə olmaqla 3 dəqiqə). Kapilyarın üzərinə immersiyon yağ çəkilir və mikroskop altında

kiçik böyüdücü ilə baxılır. Mikrofilyariyalar soyuducuda saxlandıqda 2-5 gün hərəkətli qalırlar.

Dərinin helmintlərə görə müayinəsi – Dərinin müayinəsi onkoserkoza, miqrasiya edən nematodlara, şistosomlara və digər parazitlərə görə aparılır. İynənin ucu ilə dərinin epidermisi qaldırılır. Dəri hissəcikləri dəridə dəyişiklik və qaşınma olan yerlərdən neştərlə (skalpel) götürülür.

Adi və ya zənginləşdirilməyən müayinə metodu – Dəridən götürülmüş nümunə əşya şüşəsi üzərinə qoyulur, üzərinə doymuş xörək duzu məhlulu əlavə edilir və mikroskopda baxılır.

Mikrofilyariya tapılmış preparatdan daimi preparat hazırlayırlar. Bunun üçün preparat qurudulur, metanol ilə fiksə edilir, Romanovski-Gimza və ya Delafild hematoksilin ilə rənglənir.

Preparatın zənginləşdirilməsi metodu – Dəridən götürülmüş hissəciklər xörək duzunun doymuş məhlulu tökülmüş sınaq şüşəsinə yerləşdirilir, 24-27°C-də 24-36 saat saxlanılır.

Sonra üst hissə atılır, alınmış çöküntüdən götürüb mikroskopda müayinə edilir.

İbtidailərin müayinə metodları:

Lyambliozun müayinəsində hazırda iki qrup üsullardan istifadə edilir:

- Parazitoloji
- Seroloji

Parazitoloji müayinə üsulları ilə nəcis və bağırsaq

möhtəviyyatı müayinə edilir. Nəcisdə lyambliyanın sistləri, bağırsaq möhtəviyyatında isə trofozoitləri aşkar edilir.

1. Adi yaxma metodu. Üsulun mahiyyəti və gedişi helmintozlarda olduğu kimidir. Lakin qeyd etməliyik ki, bu üsulun effektivliyi o qədər də yüksək deyil. Ona görə də yalnız bu üsulla müayinə istənilən nəticəni vermir.

2. Formalin - efir vasitəsilə çökdürmə – zənginləşdirmə metodu.

Sentrifuqanın sınaq şüşəsinə noxud boyda nəcis qoyulur və 7 ml 10%-li formalinin fizioloji məhlul ilə qarışığında həll edilir (10 ml formalin + 90 ml fizioloji məhlul). Sonra üzərinə 3 ml etil efiri əlavə edilir, çalxalanır və dəqiqədə 1500 dövr olmaqla 3 dəq. sentrifuqada fırladılır. Alınmış çöküntü üzərindəki məhlul boşaldılır, sınaq şüşəsində qalan çöküntü əşya şüşəsi üzərinə keçirilir, örtük şüşəsi ilə örtülərək mikroskop altında müayinə edilir.

3. Konservant metodları:

a) Səfərəliyev konservantı.

Müayinə edilən material 1:3 nisbətində R.S. Səfərəliyev konservantı ilə qarışdırılır. Konservantla qarışdırılmış material əşya şüşəsi üzərinə keçirilir və mikroskop altında baxılır (40 və 90 obyektivdə). Konservantın tərkibi: distillə suyu - 82,5 ml, Sink sulfat - 1,65 qr, formalin - 10 ml, qatı sirkə turşusu - 5 ml, fenol - 2,5 qr. İbtidailər konservantda 5 ilə kimi qalır.

b) Turdiyev konservantı.

Müayinə edilən material 1:3 nisbətində qarışdırılır, əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və mikroskop altında müayinə

edilir. Konservantın tərkibi: Natrium - nitratın suda 0,2%-li məhlulu - 80 ml, lüqol məhlulu - 8 ml (4%-li kalium-yodid və 2%-li kristal yod qarışığı), formalin - 10 ml, qliserin - 2 ml. Bu konservantda da ibtidailər uzun müddət qalır.

4. Onikibarmaq bağırsaq möhtəviyyatının müayinəsi:

Ödün hər porsiyası və bağırsaq möhtəviyyatında olan bərk hissələr əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və baxılır. Maye hissəsi isə sentrifuqada fırladılır, maye hissəsi atılır, çöküntü əşya şüşəsi üzərinə keçirilərək müayinə edilir.

5. İmmunoloji metodlar. İmmunoferment analiz (İFA) metodu:

- **Nəcisin müayinəsi** – Xəstənin nəcisində lyambliya antigenlərinin tapılmasına əsaslanır. Bunun üçün divarına lyambliya antitelləri hopdurulmuş sınaq şüşəsindən istifadə edilir. Nəcis həll edilərək suspenziya hazırlanır və sınaq şüşəsinə tökülür. 1 saat termostatda inkubasiya edildikdən sonra 3 dəfə bufer məhlulu (Na_2HPO4 - 1,15 qr, H_2O_4 - 0,20 qr, NaCl - 4,5 qr, TV1N-20 - 0,25 ml, 500 ml distillə suyu) ilə yuyulur. Üzərinə konyuqat əlavə edilir, 1 saat termostatda saxlanılır və yenə də 3 dəfə bufer məhlulu ilə yuyulur. Sonra üzərinə 5-aminosalisil turşusu və hidrogen peroksidin 0,05%-li məhlulu əlavə edilir, otaq temperaturunda 1 saat saxlanılır və nəticə təyin edilir.

- **Qanın müayinəsi** – Bu müayinənin mahiyyəti lyambliozla yoluxmuş şəxslərdə periferik qanda lyambliyaya qarşı xüsusi antitellərin (İgM, İgG) aşkar edilməsindən

ibarətdir. Xüsusi polisterol planşetlərə lyambliya antigenləri hopdurulur. Sonra müayinə edilən qan zərdabı 1:200 nisbətində durulaşdırılır, hər gözə 0,2 ml olmaqla tökülür. 1 saat termostatda saxlanılır, çıxarılır və 3 dəfə bufer məhlulu ilə yuyulur. Üstünə konyuqat əlavə edilir, yenidən 1 saat termostatda saxlanılır, çıxarılır və 3 dəfə bufer məhlulu (Na_2HPO_4 - 1,15 qr, H_2O_4 - 0,20 qr, NaCl - 4,5 qr, TV1N-20 - 0,25 ml, 500 ml distillə suyu) ilə yuyulur. Üzərinə 5-aminosalisil turşusu və hidrogen peroksidaza əlavə edilir. 1 saat otaq temperaturunda saxlanılır və optik sıxlıq təyin edilir.

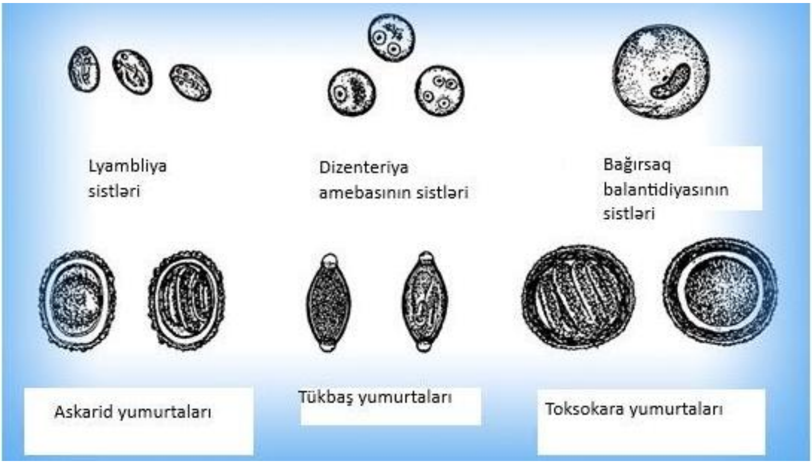
Digər bağırsaq ibtidailərinin müayinəsi.

Fizioloji məhlulla adi yaxma metodu – Fizioloji məhlulda hazırlanmış preparatlarda ibtidailərin trofozoitlərini və sistlərini aşkar etmək olur. Sistlər adətən yumru və ya oval formada, amöba trofozoitləri yumruvari və ya qeyri-hamar, qamçılıların trofozoitləri isə uzunsov və ya armudvari olur. Defekasiyadan 1 saat keçənə qədər nəcisdə hərəkətli trofozoitləri aşkar etmək olur. Trofozoitlərin hərəkətinin xüsusiyyətinə görə qamçılıların növünü təyin etmək olur.

İbtidailəri mikroskopun kiçik böyüdücüsü (obyektiv 10) altında aşkar etmək olur. Lakin trofozoitləri sistlərdən diferensasiya etmək üçün preparatlara böyük böyüdücüsü olan obyektiv altında (obyektiv 90) baxılır. Böyük böyüdücü altında parazitin hərəkətinin tiplərini, amöb trofozoitlərində eritrositləri və maya göbələklərini, amöb sistlərində xromatik hissəcikləri, həm də qamçılıların

trofozoitlərinin və sistlərinin forma və quruluşunu müşahidə etmək olur.

Adi yaxma metodunda metilen abısının bufer məhlulu və ya yod məhlulu da istifadə edilir. Nəcisdə parazitlərin sayı az olduqda adi yaxma metodu ilə müayinədə bəzən onları aşkar etmək mümkün olmur. Ona görə də çox vaxt adi yaxma metodu ilə yanaşı, zənginləşdirmə metodundan da istifadə edilir. Bu metodla müayinədə ibtidailərin yalnız sistlərini tapmaq olur, çünki bu metodda trofozoitlər parçalanır. Ona görə də əvvəlcə adi yaxma metodu ilə müayinə aparılır. Zənginləşdirmə metodu ilə müayinə adi yaxma metodunda mənfi nəticə alındıqda və xəstənin kliniki əlamətləri olduqda aparılmalıdır. Zənginləşdirmə üçün formalin-efir və ya formalin-etilasetat metodlarından istifadə edilir.



Şəkil 5. *Nəcisdə aşkar edilən helmint yumurtaları və bağırsaq ibtidailərinin sistləri*

Qanın parazitoloji müayinəsi – Qanda bir sıra ibtidailər (malyariya, tripanosomlar, leyşmaniyalar, babeziya) və helmintlər (filyariyalar, şistosomlar) parazitlik edirlər. Qan onların bir çoxunun yaşadığı əsas yerdir. Leyşmaniyalar və toksoplazmalar, əsasən toxuma makrofaqlarında olurlar. Qanda parazitləri aşkar etmək üçün əsasən qandan nazik yaxma və ya qalın damla hazırlanır, az hallarda isə qan sentrifuqa və ya filtrasiya edildikdən sonra tədqiq edilir. Qanda parazitlərin tapılması və identifikasiyası əşya şüşəsinin təmizliyindən və preparatın yüksək keyfiyyətlə hazırlanmasından çox asılıdır.

Bundan başqa, parazitlərə qarşı spesifik anticisimlərin tapılması üçün qan zərdabı və ya plazması da seroloji metodlarla yoxlanılır.

Malyariyanın laborator müayinəsi – İnsanda malyariyanı *P.falciparum, P.vivax, P.malariae, P.ovale* törədiciləri yaradır. Malyariyanın inkişafı insan orqanizmində qeyri-cinsi yolla (şizoqoniya) və ağcaqanadda cinsi yolla (sporoqoniya) baş verir. Malyariyanın laborator diaqnostikası xəstənin qanında malyariya parazitlərinin müxtəlif inkişaf formalarının eritrositlərdə aşkarlanmasına əsaslanır. Bu zaman trofozoitlər (cavan və yetkin) və onların cinsi formaları qametositlər (dişi və erkək) aşkar edilə bilər. Malyariyanın aşkar edilməsində parazitoloji metodlar üstünlük təşkil edir. Bəzən yoluxmanı aşkar etmək üçün seroloji metodlardan da istifadə edilir.

Parazitoloji müayinə üçün qanın nazik yaxması və qalın damlası mikroskop altında müayinə edilir. Nazik

yaxma metodu ilə eritrositlərin morfologiyası öyrənilir. Qalın qan damlası metodunda isə nazik yaxmaya nisbətən qanın həcmi 20-40 dəfə çox olur. Qan preparatı ən azı 5 dəqiqə olmaqla, 100 görmə sahəsindən az olmamaq şərti ilə mikroskopla müayinə edilir. Qalın damlanı 2 üsulla hazırlayırlar:

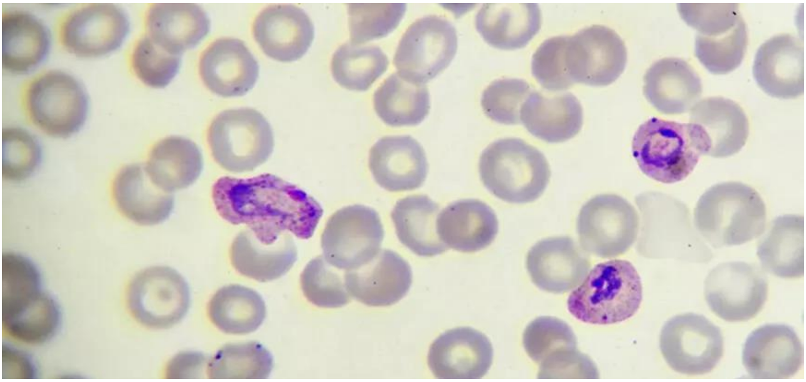
1. Qan əşya şüşəsi üzərinə qoyulur və qan damlasının diametri 15-20 mm olana qədər dairəvi hərəkət etdirilir.

2. Əvvəlcə əşya şüşəsi üzərində nazik yaxma hazırlanır və o quruyana qədər üzərinə 1-2 damla qan qoyulur. Preparatın rənglənməsi üçün 3-5%-li Romanovski-Gimza məhlulundan istifadə edilir. Romanovski-Gimza məhlulunu pH-ı 7,2 olan bufer məhlulunda hazırlayırlar. Bunun üçün fosfat duzlarının iki əsas məhlulundan istifadə edilir:

1) Na_2HPO_4 – susuz - 9,5 q 1 litr distillə suyunda (və ya Na_2PO_4 kristal – 23,7q 1 litr suda) həll edilir.

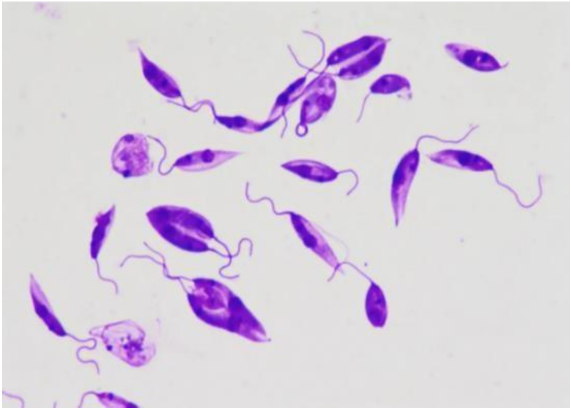
2) KH_2PO_4 – 9,07 q 1 litr suda həll edilir. Məhlullar ayrı-ayrı saxlanılır. Sonra 73 ml Na_2HPO_4 və 27 ml KH_2PO_4 – 900 ml suya əlavə edilir. Bu məhlullar bağlı qabda soyuducuda saxlanılır.

Preparatların rənglənməsi xüsusi küvetdə və ya iki paralel şüşə çubuq üzərində aparılır. Qalın damla 15-30 dəqiqə, nazik yaxma 40-45 dəqiqə müddətində rənglənir. Bundan sonra əşya şüşələri su altında yuyulur.



Şəkil 6. *Malyariya parazitlərinin müxtəlif inkişaf formalarının eritrositlərdə aşkarlanması*

Leyşmaniozun laborator müayinəsi – laborator diaqnoz limfa düyünlərində, dalaqda, sümük iliyindən götürülmüş materialda leyşmaniya amastiqotların aşkar edilməsinə əsaslanır. Bunlar əldə edilmədikdə qan da leyşmaniyalara görə yoxlanılır. Bunun üçün nazik yaxma, qalın damla hazırlanır və Romanovski-Gimza məhlulu ilə boyanır.



Şəkil 7. *Leyşmaniyalar*

Parazitar xəstəliklərin diaqnostikasında zəncirvari polimeraz reaksiya (ZPR) – ZPR molekulyar biologiyanın yüksək və dəqiq müayinə metodu olub, patogenlərin DNT və RNT-sinin biomaterialda tapılmasına əsaslanır. Reaksiya yüksək həssaslığı, spesifikliyi və nəticələrin tez bir zamanda alınması ilə seçilir.

Zəncirvari polimeraz reaksiyanın iş prinsipi – Tədqiqat üçün biomaterial yerləşdirilən sınaq şüşəsi xüsusi şəraitdə saxlanılır. Bu halda müxtəlif patogenlərin genetik informasiyalarını kodlaşdıran nuklein turşuları (DNT və ya RNT) sürətlə çoxalaraq özünün surətini (əksini) təkrarlayır. Müayinə olunan biomaterialda patogenin az bir hissəsi olsa belə, bir neçə saatdan sonra onların sayı yüz milyonlara qədər artır. Bu isə infeksiya və invaziyaların törədicilərinin və ya onların genetik hissəciklərinin tapılmasına şərait yaradır. ZPR-in laborator şəraitdə 2 metodu istifadə olunur:

1. ZPR – real zaman rejimi.
2. ZPR – əks transkripsiya.

ZPR – real zaman rejimi həm patogenin DNT-sini aşkar etməyə, həm də onların təkrarlanmış surətinin miqdarını saymağa imkan verir. Bu rejim eyni zamanda infeksiyanın dərəcəsini, istifadə olunacaq dərman maddəsinin dozasını və onun qəbul etmə qaydalarını təyin etməyə imkan verir.

ZPR – əks transkripsiya metodu axtardığımız genetik material DNT deyil, RNT olduğu halda istifadə edilir.

Bildiyimiz kimi, bəzi virusların genomu yalnız RNT-dən ibarət olur. Bu səbəbdən onları standart ZPR ilə tədqiq

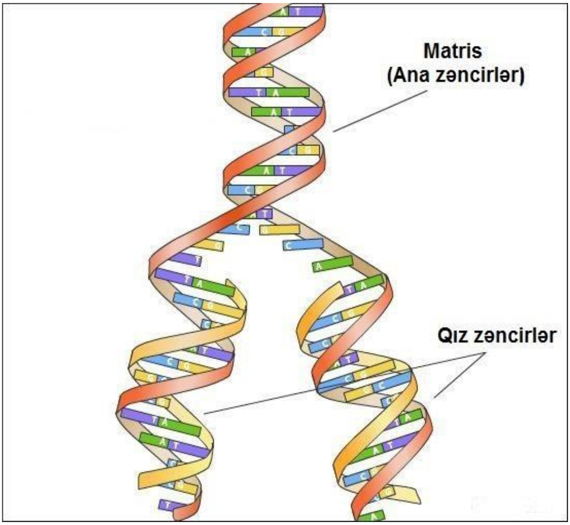
etmək mümkün olmur. Ona görə də xüsusi ferment olan əks transkriptaza fermentinin köməyi ilə RNT-də ikinci zəncir əmələ gətirilir. RNT-DNT-yə çevrilir, standart və ya real vaxt rejimi ZPR-i ilə surəti əldə edilir.

ZPR-in həyata keçirilməsi – ZPR həyata keçirmək üçün xüsusi cihaz – amplifikator istifadə edilir. Amplifikator hər bir mərhələ üçün lazım olan temperaturu və DNT-nin surətinin çoxalmasını – amplifikasiyasını təmin edir. Amplifikator molekul ayırd edilməsi üçün hazır olduqda, onu analiz edir, sonra keyfiyyət və kəmiyyət nəticəsini verir.

Məqsədli DNT – müayinə edilən patogenin DNT-si – bu, nukleotidlərin unikal quruluşundan ibarətdir. Məsələn, axtarılan patogenin DNT-sinin digər patogenlərdə olmayan hissəsi götürülür. Məqsədli DNT-ni ana DNT adlandırırlar.

DNT və RNT spiralları bir-birinə zəncirvari birləşmiş kiçik hissələrdən – nukleotidlərdən ibarətdir. Onların quruluşu genetik kodu təşkil edir, genetik kod isə genetik informasiyanı təmin edir.

ZPR-i aparmaq üçün iki praymer istifadə olunur. Praymer 20 nukleotid uzunluğunda olan təkspirallı DNT-nin qısa fraqmentidir. Bu praymerlər əsasında ZPR-in gedişində yeni DNT molekulu əmələ gəlir. Əgər praymerlər uyğun gəlmirsə, deməli, axtardığımız DNT müayinə etdiyimiz biomaterialda yoxdur.



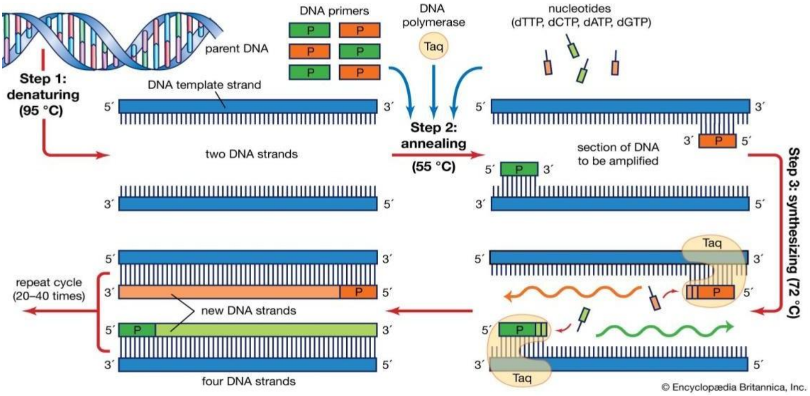
Şəkil 8. *DNT reduplikasiyası*

ZPR-in aparılması - Ən sadə halda ZPR aparmaq üçün aşağıdakı komponentlər tələb olunur:

- DNT bölməsinin amplifikasiya edilməli olan hissəsini təşkil edən matris DNT;
- İstədiyiniz fraqmentin uclarını tamamlayan iki praymer;
- termostabil DNT polimeraza;
- dezoksinukleotid trifosfatlar (A, G, C, T) - DNT molekulunun surətinin öz-özünü təkrarlaması üçün lazım olan material;
- polimerazanın işləməsi üçün zəruri olan Mg2+ ionları DNT polimerazanın aktivliyini kompensasiya edir.
- buffer məhlulu – biokimyəvi reaksiyalar üçün optimal şərait yaradan qarışıq.

Zəncirvari polimeraz reaksiyanın mərhələləri – ZPR hər biri 20-35 dövrə olmaqla üç mərhələdən ibarətdir. DNT spirallarını ayırmaq üçün ikiqat spirallı DNT matrisi 0,5-2 dəqiqə ərzində 94-96°C-ə (və ya xüsusilə termostabil polimeraza istifadə olunarsa 98°C) qədər qızdırılır və biomaterialda olan bütün DNT molekulları iki RNT spiralına çevrilir. Bu mərhələ denaturasiya adlanır ‒ iki spiral arasındakı hidrogen bağları məhv edilir. Bəzən, ilk dövrədən əvvəl, reaksiya qarışığı matrisi və praymerləri tamamilə denaturasiya etmək üçün 2-5 dəqiqə əvvəlcədən qızdırılır.

Əgər patogenin genetik materialı DNT yox, RNT-dirsə, denaturasiyadan əvvəl ZPR əks transkripsiya ilə aparılır. Bu proses RNT-nin DNT molekuluna çevrilməsinə şərait yaradır. Spirallar ayrıldıqdan sonra praymerlərin təktelli matrisə bağlanmasına imkan vermək üçün temperatur aşağı salınır. Bu mərhələ yandırma adlanır. Əgər materialda axtarılan DNT varsa, praymerlər onun iki spiralına da birləşir. Yandırma temperaturu praymerlərdən asılıdır və adətən onların ərimə temperaturundan 4-5°C aşağı seçilir. Mərhələ müddəti 0,5-2 dəqiqədir.



Şəkil 9. *Zəncirvari polimeraz reaksiyanın mərhələləri*

Yandırmadan sonra DNT polimeraza fermenti aktivləşir. DNT polimeraza praymerdən istifadə edərək matris zəncirini təkrarlayır. Bu mərhələ elongasiya (uzanma) mərhələsi adlanır. Elongasiya temperaturu polimerazdan asılıdır. Tez-tez istifadə olunan polimerazlar 72°C-də ən aktivdir. Uzanmanın müddəti həm DNT polimerazanın növündən, həm də amplifikasiya olunmuş fraqmentin uzunluğundan asılıdır. Bütün mərhələlər tamamlandıqdan sonra təktelli fraqmentləri tamamlamaq üçün çox vaxt əlavə olaraq son elongasiya mərhələsi aparılır. Bu mərhələ 10-15 dəqiqə davam edir.

ZPR-i həyata keçirmək üçün ən azı 30 amplifikasiya aparılır. Hər bir mərhələdə DNT spiralları iki dəfə artır. Əgər birinci mərhələdə DNT-nin iki spiralı vardısa, ikinci mərhələdə 4, üçüncü mərhələdə 8 və s. olur.

ƏDƏBİYYAT

1. Allahverdiyev A.M., Bağırova M.İ. Leyşmaniozun epidemiologiyası, diaqnostikası, müalicəsi və profilaktikası. Bakı, Zərdabi nəşr, 2023, 128 s.
2. Allahverdiyev A., Bagirova M., Uzun S. et all. The value of a new microculture method for diagnosis of visceral leishmaniosis by using bone marrow and peripheral blood. Am. j Trop Med Hyg., 2005, 73(2): 276-80
3. Allahverdiyev A., Kocagoz T., Bagirova M. et all. Basis of anti-infective therapy against leishmaniasis and future perspectives. Frontiers in Anti-infective Drug Discovery. 2014, v.3, 194-316 pp.
4. Quliyev N.C., Salehov A.Ə. İnsanın bağırsaq helmintozlarının diaqnostikası, klinikası, müalicəsi və profilaktikası. Metodik tövsiyələr. Bakı, 2013, 20 s.
5. Əliyev N.N., Salehov A.Ə., Salehova G.B. və b. İnsan helmintozları və bağırsaq protozoozlarının diaqnostikası, klinikası, müalicəsi və profilaktikası. Metodik tövsiyələr. Bakı, 2017, 22 s.
6. Salehov A.Ə., Canəhmədova Ş.N., Xanmirzəyev F.İ. və b. Müasir şəraitdə helmintozların diaqnostikası, müalicəsi və onların səmərəliliyinin artırılmasının əsas prinsipləri. "Təbiət və Elm" Beynəlxalq elmi jurnal, İmpakt Faktor: 2.101. 2023, Cild: 5 Sayı: 1, s.7-13, DOI: https://doi.org/10.36719/2707-1146/28/7-13

7. Salehov A.Ə., Vahabov E.F, Hüseynova F.H. İnsanın parazitar xəstəlikləri. Bakı, 2023, 183 s.
8. Гаврилова Е. П., Васильев В. В., Лобзин Ю. В. Клиника, диагностика и лечение наиболее часто встречающихся гельминтозов человека. // Учебное пособие. СПб., 2014, 80 с.
9. Лысенко А.Я., Красильникова А.А. Лабораторные методы диагностики паразитарных болезней. Издательство МО РАМПД - 1999, 61 с.
10. Лысенко А.Я. Руководство по тропическим болезням. Москва, 1983, 510 с.
11. Одинцева В. Е., Александрова В. А. Методы диагностики и лечения глистно - протозойных инвазий у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Детские инфекции. 2010, 9 (2): 58–61
12. Сафаралиев Р.С. Социально-эпидемиологическая значимость кишечных протозоозов, усовершенствование их диагностики и химико-профилактики. 1992, 43 с.
13. Токмалаев А.К., Кожевникова Г.М. Клиническая паразитология (Протозоозы и гельминтозы), Москва, 2017, 392 с.
14. Eugene W Nester, C. Evans Roberts, Nancy N. Pearsall et al. Microbiology, A Human Perspective, 2003, 848 p.
15. Lynne Shore Garcia. Diagnostic Medical Parasitology 5-th ed. ASM Press: Washington D.C. 2007, 1202 p.

16. Sharon L., Charles E. Laboratory Diagnosis of Parasitic Infections. // Harrison's principles of internal medicine, 2021, Ch. 14.
17. WHO. Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneva, 1991, 114 p.
18. WHO. Basic malaria microscopy. Geneva. 2010, 79 p.
19. WHO. Bench Aids for the diagnosis of intestinal parasites. Geneva, 2019, Handbook

Mündəricat

Giriş 3
Laborator diaqnostika metodları 6
Keyfiyyət helmintoovoskopik müayinə metodları 9
Ədəbiyyat 35

SALEHOV A.Ə., İSAYEV A.B., CANƏHMƏDOVA Ş.N., HÜSEYNOVA F.H., XANMİRZƏYEV F.İ., VƏKİLOVA S.V., ƏLİYEVA G.O., ABBASOVA Y.C.

PARAZİTAR XƏSTƏLİKLƏRİN LABORATOR DİAQNOSTİKASI METODLARI

(Metodik vəsait)

Bakı: “ZƏNGƏZURDA” Çap Evi, 2024 – 40 səh.

Çap evinin rəhbəri:
Mübariz Binnətoğlu

Korrektor:
Şəbnəm Allahverdiyeva

Kompüter tərtibçisi:
Şamxal Şabiyev

Çapa imzalanmışdır: 09.12.2024
Kağız formatı: 60x84 1/16
H/n həcmi: 2,5 ç.v.
Sifariş: 826
Sayı: 100

“ZƏNGƏZURDA” Çap Evində çap olunub.
Redaksiya ünvanı: Bakı şəh., Mətbuat prospekti, 529-cu məh.
Tel.: +994 50 209 59 68
+994 55 209 59 68
+994 12 510 63 99
+994 55 253 53 33
e-mail: zengezurda1868@mail.ru