

## **Məşğələ 12**

Aqqlütinasiya reaksiyası və onun variantları (təxmini və geniş). Hemaqqlütinasiya reaksiyaları (HAR). Hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası (HALP). Passiv hemaqqlütinasiya reaksiyaları (PHAR). Kumbs reaksiyası, immobilizasiya reaksiyası. Presipitasiya reaksiyası (PR) və onun variantları (həlqə presipitasiyası, gəldə immun diffuziya, immunoelektroforez). Toksinin neytrallaşma reaksiyası (TNR). Radial immundiffuziya reaksiyası (RİR).

### **Müzakirə olunan suallar:**

1. Aqqlütinasiya reaksiyasının mahiyyəti.
2. Aqqlütinasiya reaksiyasının mexanizmi.
3. Aqqlütinasiya reaksiyasının növləri: təxmini, geniş. Diaqnostik titr anlayışı.
4. HAR (hemaqqlütinasiya reaksiyası), HALR (hemaqqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası)
5. PHAR (passiv hemaqqlütinasiya reaksiyası)
6. Kumbs reaksiyası (düz və dolayı variantlar).
7. Hərəkətli bakteriyaların immobilizasiya reaksiyası.
8. Presipitasiya reaksiyasının mahiyyəti.
9. Presipitasiya reaksiyasının mexanizmi.
10. Presipitasiya reaksiyasının variantları:
  - həlqə presipitasiya.
  - gəldə presipitasiya: ikiqat immundiffuziya (Ouxterlon üsulu), radial immun diffuziya.
  - immunoelektroforez.
  - müqabil immunoelektroforez.
11. Toksinin neytrallaşma reaksiyası, mahiyyəti, tətbiqi.
12. Radial immundiffuziya reaksiyası.

**Aqqlütinasiya reaksiyaları.** Bir sıra yoluxucu xəstəliklər zamanı, 1-ci həftənin sonunda, bəzən də bir qədər gec, xəstənin qan zərdabında spesifik immun cisimlər əmələ gəlməyə başlayır. Əgər xəstəliyin törədicilərini sınaq şüşəsində uyğun qan zərdabı ilə qarışdırıb 2 saat 37°C-də termostatda və 24 saat otaq temperaturunda saxlasaq, onda mikroblar bir-birinə yapışaraq sınaq şüşəsinin dibinə çökər. Həmin çöküntüdə "əzilən" və "asılan" damla hazırlayıb mikroskop altında baxsaq mikrobların bir-birinə yapışmış koma-koma olduqlarını görürük. Mikrobların bir-birinə yapışmasına səbəb olan maddəyə *aqlütinin*, mikroba isə aqlütinogen deyilir.

Aqlütinasiya – mikroblara və ya başqa hüceyrələrə elektrolit iştirakı ilə spesifik anticisimlərlə təsir etdikdə, onların bir-birinə yapışaraq çökməsinə deyilir. Bu çöküntü aqlütinant adlanır. Aqlütinasiya reaksiyasını qoymaq üçün üç komponentin olması vacibdir: 1) antigen (aqlütinogen), ölü və ya diri mikrob emulsiyası, eritrosit və s. 2) anticisim (aqlütinin), xəstənin qan zərdabında və ya immun zərdabda olur. 3) elektrolit (natrium xlorun izotonik məhlulu).

Xəstəlik zamanı əmələ gələn aqlütininlərin miqdarı sabit qalmayıb, get-gedə artır, xəstəliyin əvvəlində az, ortalarında isə daha çox olur. Bunu xəstənin qanını ikinci dəfə tədqiq etməklə müəyyən etmək olar. Aqlütininlərin artma dinamikası orqanizmdə infeksiyanın olduğunu bir daha sübut edir. Eyni zamanda, aqlütininlər gizli infeksiya zamanı da əmələ gəlir ki, bunun da mühüm epidemioloji əhəmiyyəti var.

Aqlütinasiya reaksiyaları bir çox infeksiyon xəstəliklərin diaqnostikasında tətbiq edilir. Ondan iki məqsəd üçün istifadə edilir: 1) məlum antigenin köməyi ilə xəstənin qan zərdabında anticisimləri aşkar etmək və xəstəliyə diaqnoz qoymaq üçün; 2) məlum anticisimlərin köməyi ilə naməlum mikrobların növünü və ya tipini təyin etmək üçün. Başqa immunitet reaksiyalarında olduğu kimi, burada da naməlum komponent əvvəldən məlum olan komponentə əsasən aşkar edilir.

Aqqlütinasiya reaksiyası 2 yolla aparılır: əşya şüşəsinin səthində (buna təxmini də deyilir), bir də geniş aqqlütinasiya (sınaq şüşələrində).

Əşya şüşəsi səthində aqlütinasiya reaksiyası qoymaq üçün yağsızlaşdırılmış şüşənin səthinə 1 damla spesifik zərdab və 1 damla da fizioloji məhlul qoyulur (nisbətən aralı). Zərdab 1:5 nisbətində əvvəlcədən durulaşdırılmış olur. Kənarda olan mikrob emulsiyasından ayrı-ayrılıqda hər damlaya 1 damla əlavə edilir və homogen qarışıq alınincayadək pipetkanın ucu ilə qarışdırılır. Reaksiya otaq temperaturunda 1-3 dəqiqəyə baş verir/

Kontrolda bərabər bulanıqlıq alınır, yəni aqlütinasiya getmir, çünki anticisim yoxdur. O biri damlada isə çöküntü görünür. Reaksiya müsbətdir, aqlütinasiya getmişdir.

Nəticə şübhəli olsa, lupa ilə baxmaq olar.

Geniş aqlütinasiya reaksiyasını qoymaq üçün aşağıdakı tərkib hissələr və alətlər lazımdır:

1. Tədqiq edilən qan zərdabı (immun və ya xəstənin);
2. Müvafiq mikrobun aqar və ya bulyon kulturası və ya diaqnostikum (korpuskulyar antigen);
3. Fizioloji məhlul;
4. Dərəcəli və Paster pipetkası;
5. Ştativdə sınaq şüşələri.

Reaksiyanı qoymaq üçün dirsək venasından, barmaqdan, dabandan, qulağın slrğalığından, kürəkdən qan götürülür. Zərdabı ayırmaq üçün qan sınaq şüşələrində 1saat (10-15 dəq termostatda) saxlanılır ki, yaxşı laxtalanın. Laxtalanmış qan ucu iti Paster pipetkası ilə sınaq şüşəsinin divarından ayrılır, sonra şüşələr soyuducuda, zərdab qandan tam ayrılana qədər saxlanılır. Steril pipetka ilə zərdab sorulur və başqa sınaq şüşəsinə tökülür. Zərdab bulanıq olarsa onu sentrifüqadan keçirmək lazım gəlir.

Aqlütinasiyaedici zərdabları hazırlamaq üçün dovşanlar hiperimmunizasiya edilir. Onlara 4-5 dəfə, 5-6 gün fasilə ilə dəri altına, sonra isə venadaxilinə, dozasını get-gedə artırmaqla, öldürülmüş mikrob suspenziyası yeridilir. Axırncı üç inyeksiya diri mikroblarla aparılır. İmmunizasiya qurtardıqdan bir həftə sonra heyvandan az miqdarda qan götürülür, zərdab ayrılır və onun titrini təyin etmək üçün aqlütinasiya reaksiyası qoyulur. Serumun titri kifayət qədər yüksək olmadıqda, immunizasiya yenidən davam etdirilir. Titr yüksək olduqda heyvandan çoxlu miqdarda qan götürülür, yaxud o, tamamilə qansızlaşdırılır.

Aqlütinasiyaedici serumun titri, onun homoloji mikrobu aqlütinasiya edən ən yüksək durulaşmasına deyilir. Zərdabın titri onun töküldüyü ampulanın üstündəki etikətdə qeyd edilir.

Bu üsulla alınmış aqlütinasiyaedici zərdablar, növ serumları adlanırlar. Lakin, buna baxmayaraq, onlar qrup aqlütininlərdən məhrum olmayıb, kiçik durulaşmalarda antigen xassələrinə görə qohum (yaxın) olan mikrobları bir-birinə birləşdirə bilirlər. Ona görə də, mikrobun növünü təyin etmək üçün 1:100-ə nisbətindən başlayıb son titrə qədər durulaşdırılmış zərdabla həcmi aqlütinasiya reaksiyası qoymaq lazımdır.

Zərdabın kiçik durulaşmalarında mikrobun müsbət aqlütinasiya verməsi diaqnostik əhəmiyyətə malik olmur və qeyri-spesifik reaksiya kimi qiymətləndirilir.

Mikrobun növünü və ya tipini təyin etdikdə *monoreseptor*, yaxud *tipospesifik* zərdablar daha düzgün nəticələr əldə etməyə imkan verir. Çünki, bu zərdablarda qrup aqlütininləri olmur. Onları əldə etmək üçün immun serumları spesifik mikrob antigenlərinə qohum olan qeyri-spesifik mikrob antigenlərilə «doydurmaqla» qrup anticisimlər xaric edilir. Termostatda saxlandıqdan sonra aqlütinant ayrılır. Belə serumlar monoreseptor serumlar adlanırlar. Onlar, yalnız spesifik anticisimlərə malik olurlar və qrup aqlütinasiyası əmələ gətirmirlər. Belə serumlarla işlədikdə həcmi aqlütinasiya reaksiyasının qoyulmasına ehtiyac olmur. Bu zaman adətən mikrobların şüşə lövhə üzərində aqlütinasiyası ilə kifayətlənmək olar.

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

Praktik serologiyada çox vaxt aqlütinasiya reaksiyalarını qoymaq üçün ölü mikrob emulsiyasından, yəni kimyəvi yolla hazırlanmış diaqnostikumdan istifadə edilir.

Fiziki üsulla diaqnostikum hazırladıqda isə bakteriya emulsiyası 56°C-də su hamamında 1saat qızdırılır, sonra ondan qidalı mühitlərə əkilir. Əgər mühit steril qalarsa, yəni mikrob bitməzsə, onda emulsiya standartlaşdırılır.

Həcmi üsulla aqqlütinasiya reaksiyası sxem üzrə qoyulur.

Cədvəl

Sınaq boruları rediyentlər, ml-lə	i	i	ü	ü	i	ı	i	i	Kontrol	
									Zərdab üçün	İltura üçün
Cl-un 0,85%-li məhlulu										
100 nisbətində aqlütinasiyaedici zərdab antigen (damlalarla)										
Qandabın son durulaşması	100	100	100	100	500	200	400	2800	100	

Əvvəlcə əsas durulaşmanı hazırlamaq (məs.: 1:100 nisbətində) üçün 0,1ml qan zərdabını 9,9ml, fizioloji məhlulla qarışdırılır. Sonra ştativə qoyulmuş bir sıra (məs.:10) sınaq şüşələrinin 1-ci, 2-ci və axırıncısına 1ml həmin durulaşmadan tökürlər. 1-ci və axırıncıdan başqa, bütün sınaq şüşələrinin hər birinə 1ml fizioloji məhlul əlavə edilir. Göründüyü kimi, 2-ci sınaq şüşəsində 2ml məhlul alınır. 2-ci sınaq şüşəsindən 1ml 3-cüyə, 3-cüdən 4-cüyə və i.a. keçirilir.

Axırdan 2-ci sınaq şüşəsinə zərdab durulaşması əlavə edilmir. Titrlemə qurtardıqdan sonra axırıncı sınaq şüşəsindən başqa qalan bütün sınaq şüşələrinə müvafiq miqdarda diaqnostikum əlavə edilir (1 damla). Beləliklə, axırıncı sınaq şüşəsi zərdab, ondan əvvəlki isə diaqnostikum üçün kontrol olur. Sonra sınaq şüşələri yaxşıca qarışdırılır, 2 saat termostatda, 1 gün otaq temperaturunda saxlandıqdan sonra reaksiyanın nəticəsi qeyd edilir. Əmələ gəlmiş aqlütinant, yəni çöküntü müxtəlif cür olur, ən tipik aqqlütinasiya, təcrübi sınaq şüşələrində çöküntünün əmələ gəlməsidir, bu zaman çöküntünün üzərində olan maye tam şəffaf olur. Belə aqlütinasiya hərəkətli bakteriyalar üçün xarakterikdir. Xırdadənəli çöküntü az tipik hesab olunur. Adətən, səpgili yatalaq, dizenteriya, bruselyozda belə olur. Çox vaxt aqlütinasiya natamam olur, yəni mikrobların yapışmasından alınan çöküntü və ya dənəciklər bulanıq mayədə üzür. Nəticəni aydınlaşdırmaq üçün sınaq şüşəsi çalxalanır. Bu zaman şəffaf mayədə emulsiya pambıq ləpəsi kimi üzür, bərk silkələnsə, bu parçalanır və yenidən homogen emulsiyaya çevrilir. Xırda dənəvər aqlütinant bütöv qalır və bulanıqlıq vermir. Aqlütinasiya reaksiyasının nəticəsi gözlə yaxşı görünməzsə, aqlütinoskopdan istifadə edilir. Əgər təkcə 1:100 nisbətində aqqlütinasiya gedibsə, diaqnoz şübhəli olur (məsələn, Vidal reaksiyasında), yəni ya xəstəlik yenicə başlamış, anticisimlər hələ azdır, ya da nə vaxtsa xəstəlik keçirilib, yəni immuniteti var. 1:200 nisbətindən başlayaraq çöküntü varsa, diaqnoz təsdiq edilir. Əgər kontrolda da çöküntü varsa, bu onu göstərir ki, ya reaksiya düzgün qoyulmayıb, ya da tərkib hissələr yarırsızdır.

Reaksiyanın intensivliyini təyin etmək üçün sınaq boruları 18-20 saat otaq temperaturunda saxlanılır və sonra son nəticə qeyd edilir. Reaksiyanın intensivliyi (+) işarələrlə göstərilir. Tam aqlütinasiya 4 müsbətlə (++++) qeyd edilir. Bu halda maye tam şəffaf olmalıdır, borunun dibində isə bir-birinə yapışmış mikrob hüceyrələrindən ibarət çöküntü olmalıdır. Mikroblar nə qədər az aqlütinasiya olunarsa, maye bir o qədər çox bulanıq olur və dibdə əmələ gələn çöküntü bir o qədər az olur. Bundan asılı olaraq reaksiyanın nəticələri 3 (+++), 2 (++) və ya 1 (+) müsbətlə qeyd edilir.

Aqlütinasiya reaksiyasına əsasən mikrobun bu və ya başqa növə mənsub olması haqqında yalnız o zaman fikir yürütmək olar ki, həmin mikrob spesifik serumla, onun son titrinə və ya titrin yarısına qədər durulaşmada aqlütinasiya versin. Bəzən damçı üsulu ilə aqlütinasiya qoyulur. Bunun üçün 6 sınaq şüşəsinin hərəsinə müvafiq olaraq 38, 12,16, 18, 19 və 20 damla fizioloji məhlul əlavə edilir. Sonra həmin pipetka ilə qan zərdabından 2 damla 1-ci sınaq şüşəsinə tökülür, qarışdırılır, oradan 8 damla 2-ciyə, ondan 4 damla 3-cüyə, bundan 2 damla 4-cüyə, 4-cüdən 1 damla 5-ciyə tökülür, 6-cı sınaq şüşəsi kontroldur. Sınaq şüşələrinin hərəsinə 1 damla antigen əlavə edib qarışdırılır. Beləliklə, zərdab 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 nisbətlərində durulaşır. Əgər 1:400 nisbətlərində aqlütinasiya baş verərsə diaqnoz təsdiq edilir.

**Təcili (təxmini) aqlütinasiya reaksiyası.** Bəzi hallarda, xüsusilə xəstəlik müxtəlif növ mikroblar tərəfindən törədildikdə, işi yüngülləşdirmək məqsədilə təqribi aqlütinasiya reaksiyası qoyulur. Ən çox qarın yatalağı və paratiflər zamanı bu reaksiyadan istifadə edilir. Xəstədən alınmış mikrob ilə əşya şüşələri üzərində üç zərdabla reaksiya aparılır. İki əşya şüşəsinin üzərinə 1:10 və ya 1:25 nisbətində durulaşdırılmış qarın yatalağı və A və B paratif bakteriyalarına qarşı alınmış zərdablar, nəzarət üçün üçüncü şüşənin üzərinə NaCl-un izotonik məhlulu tökülür. Bu damlaların hər birinin üzərinə tədqiq olunan mikrobun suspenziyasından bir damla əlavə olunur. Şüşələr 2-3 dəq. müddətində ehmalca titrədilir. Təqribi təcrübədə müsbət nəticə verən zərdabla geniş həcmi aqlütinasiya reaksiyası aparılır. Bəzən mikrob iki serumla müsbət aqlütinasiya reaksiyası verir. Onda bu serumların hər biri ilə ayrı-ayrılıqda həcmi aqlütinasiya reaksiyası aparılır.

**Mikroaqlütinasiya reaksiyası.** Şüşə üzərində mikroaqlütinasiya reaksiyası mikrob çox az olduqda tətbiq edilir. Müayinə materialı əkildikdən 5-6 saat sonra vəba vibrionlarını aşkar etmək üçün maye mühitdə əmələ gələn ərp şüşə üzərinə qoyulur. Bu zaman ərpdə vibrionların miqdarı az olur və hətta aqlütinasiya reaksiyası müsbət olduqda belə, onu adi gözlə aşkar etmək olmur. Ona görə də vibrionlarla birlikdə şüşənin üzərinə spesifik aqlütinasiyaedici vəba serumu əlavə edilir, yəni damla aqlütinasiya reaksiyası aparılır. Sonra qurudulur, fiksasiya edilir və Pfyffer fuksini ilə boyadılıb, mikroskopiyaya edilir. Reaksiya müsbət olduqda, bütün görmə sahəsi təmiz, mikrobsuz görünür. Yalnız tək-tək yerlərdə mikrobların bir yerə toplandığı müşahidə olunur. Reaksiya mənfi olduqda isə, bütün görüş sahələrində bərabər səviyyədə yayılmış mikroblar görünür.

Bu və ya digər mikrob tərəfindən törənmiş infeksiya xəstəliyi təsdiq etmək üçün xəstənin qan serumunda aqlütininləri (anticisimləri) aşkar etmək lazım gəldikdə, aqlütinasiya reaksiyasından istifadə edilir. Məsələn, qarın yatalağı və paratiflərdə (Vidal reaksiyası), səpkili yatalaqda (Provaçek rikketsiyaları ilə reaksiya), bruselyozda (Rayt və Xeddelson reaksiyaları), tulyaremiya və başqa xəstəliklərdə qoyulan aqlütinasiya reaksiyalarını göstərmək olar.

Aqlütinasiya reaksiyaları müəyyən duruşmalarda müsbət olduqda, diaqnostik əhəmiyyət kəsb edir. Məsələn, serumun 1:200 nisbətində durulaşmasında müsbət olduqda qarın yatalağının, bruselyozun diaqnozu təsdiq olunur. Tulyaremiyada reaksiya 1:100 nisbətində müsbət olduqda diaqnostik əhəmiyyətə malik olur. Bu reaksiyaların dinamikada öyrənilməsi daha düzgün nəticələr verir. Bunun üçün xəstədən təkrari qan götürülür və yenidən həmin diaqnostikumla aqlütinasiya reaksiyası aparılır. Xəstəlik zamanı bir qayda olaraq, anticisimlərin miqdarı artır və buna görə də aqlütininlərin titri yüksəlir. Əgər aqlütinasiya reaksiyası keçirilmiş xəstəlik, yaxud vaksinasiya nəticəsində əmələ gəlmiş spesifik anticisimlərin iştirakı ilə müsbət olarsa, onda anticisimlərin titri artmır, bəzən hətta azalır.

Xəstələrin serumu ilə aparılan aqlütinasiya reaksiyalarında O-, H- və Vi-anticisimlərin aşkar edilməsinin əhəmiyyəti böyükdür. O-anticisimlərin aşkar edilməsi qarın yatalağı xəstəliyinin olmasını göstərir. H-anticisimlər xəstəliyi keçirmiş şəxslərdə və ya vaksinasiya olunmuşlarda, Vi-anticisimləri isə bakteriya gəzdirlərdə aşkar olunur.

O-, H- və Vi-anticisimlərini aşkar etmək üçün O-, H- və Vi-diaqnostikumlardan istifadə edilir. O-diaqnostikumlarını su hamamında 100<sup>0</sup>C temperaturda 1,5-2 saat müddətində qızdırmaq və ya spirtdə işləmək nəticəsində qamçı antigenləri parçalanmış qatı mikrob əldə etmək üçün mikrob suspenziyası formalinlə işlənir. Formalin O-antigenini neytrallaşdırır, H-antigeninə təsir göstərmir. Vi-diaqnostikumu, tərkibində Vi-antigeni olan spirtde işlənmiş salmonellaların müəyyən ştammlarından əldə edilir.

**Məlum qan zərdabının köməyi ilə naməlum mikrobun təyini.** Məlum olmayan mikrobun kultural və biokimyəvi xüsusiyyətlərini öyrənməklə mikrobun yalnız hansı cinsə aid olduğunu aşkar etmək olar. Aqlütinasiya reaksiyası ilə mikrobun növünü təyin etmək olar. Bunun üçün məlum olmayan mikroorqanizmin təmiz kulturası əvvəlcədən müəyyən növ mikroblara qarşı hazırlanmış aqlütininli zərdablarla paralel surətdə yoxlanılır. Belə zərdablar ampulada hazır şəkildə olur. Bəzən laboratoriyada müxtəlif növ aqlütininli zərdablar hazırlamaq lazım gəlir. Belə zərdabların hazırlanmasında dovşandan, zərdab çox lazım olduqda isə atdan istifadə olunur. Bu məqsədlə 6-8 aylıq 1,5kq çəkili dovşanın qulağı təmizlənir, kökündən sıxılır və onun qulaq venasına lazımi mikrob emulsiyası yeridilir, 4-5 gün fasilə ilə 3-4 dəfə emulsiya yeridilir. İlk doza 100-700 mln bakteriya, sonrakılar isə 500 mln - 1mlrd arasında olur. Sonuncu inyeksiyadan 5-7 gün sonra heyvandan 1ml qan götürüb aqlütininlərin titri təyin edilir. Titr kifayət dərəcədə

olduqda, yəni axırıncı peyvənddən 8 gün sonra 50-70 ml qan götürülür. 15-20 dəq termostatda saxlanılır, zərdab ayrılır, daha yaxşı ayırmaq üçün Paster pipetkasiyla laxta qabın divarından ayrılır, soyuqda 1 sutka saxlanılır və xüsusi pipetka ilə zərdab götürülür, ampulaya tökülüb lehimlənir. Sterilliyi uzun müddət saxlamaq üçün ona qliserin, xinozol, xloroform və s. qatılır. Məlum qan zərdabı vasitəsilə məlum olmayan mikrobun növü təxmini aqlütinasiya reaksiyası vasitəsilə təyin edilir, 1:100 nisbətində durulaşdırılmış müxtəlif zərdabdan Petri kasasına iri damlalar qoyulur, Kolle qələmi ilə yoxlanılacaq kulturadan hər damlanın kənarına 1 damla qoyulur, qarışdırılır, reaksiya müsbət olarsa, damlanın birində çöküntü alınır. Təxmini aqlütinasiya vasitəsilə ən çox bağırsağ infeksiyaları törədiciləri təyin edilir.

**Hemaqlütinasiya reaksiyası (HAR).** Bu reaksiyanı qoymaq üçün qan zərdabından istifadə edilmədiyindən hemoqlütinasiya reaksiyası seroloji reaksiya hesab olunmur. Bu, virus fermentinin (hemaqlütininin) eritrositlərə olan təsiridir. Hər bir virus növü müxtəlif heyvan eritrositlərini hemaqlütinasiyaya uğradır. Məsələn, qrip, paraqrip, parotit virusları toyuq və dəniz donuzunun eritrositlərini, poliomielit və ensefalit virusları qoyun eritrositlərini və s. hemaqlütinasiyaya uğradır.

HAR sınaq şüşələrində, pleksiqlas lövhələrdə, əşya şüşələri üzərində qoyulur. Reaksiyanı aparmaq üçün təzə götürülmüş qan fibrinsizləşdirilir və ya antikoagulyantlarla qarışdırılır, sonra steril tənziədən süzülərək çöküntüsü ayrılır və bu çöküntü 20-30dəq müddətində 3 dəfə 600-1000dövr/dəq sürətlə sentrifüqadan keçirilir (fizioloji məhlulla yumaqla). Çöküntüdə olan eritrosit kütləsi fizioloji məhlulla əvvəlki həddinə çatdırılır. 100%-li hesab olunan bu eritrosit kütləsindən 1%-li suspenziya hazırlanır. Sonra pleksiqlas lövhələrdə müayinə materialları 1:10 nisbətindən başlayaraq 1:1280 nisbətində durulaşdırılır. Bunun üçün 1-ci çökükdən başqa, qalanlara 0,5ml fizioloji məhlul tökülür. 1-ciyə isə 0,9 ml fizioloji məhlul tökdükdən sonra oraya 0,1 ml mikroblu material əlavə edib, oradan da 0,5 ml qarışıq 2-ciyə, 2-cidən 3-cüyə və i.a. keçirilərək müayinə materialı durulaşdırılır. Bundan sonra hər bir çöküyə 1%-li eritrosit suspenziyasından 0,5 ml əlavə edilir, sonra lövhə çalxalanaraq qarışdırılır. 30dəq termostatda və ya 45 dəq otaq temperaturunda saxlandıqdan sonra nəticəyə baxılır. Eritrositlər çöküyün dibində (divara tam yayılmış halda) “çətir” şəklində böyük çöküntü əmələ gətiribsə, reaksiya müsbət hesab olunur (+++). Əksinə, eritrositlər “düymə” şəklində dibə çökübsə, reaksiya mənfi sayılır. Bununla yanaşı mütləq kontrol reaksiya da qoyulmalıdır, bu məqsədlə çöküklərə 0,5ml fizioloji məhlul və 0,5ml eritrosit kütləsi tökülür.

Əşya şüşəsi üzərində HAR qoymaq üçün yağsızlaşdırılmış şüşə üzərinə 1 damla müayinə materialı qoyub ona 1 damla 5%-li eritrosit suspenziyası qarışdırılır. 2-3dəq ərzində aqlütinasiya baş verir.

HAR reaksiyası müsbət olduqda virusun tipini təyin etmək üçün (yəni identifikasiya məqsədilə) müayinə davam etdirilir və HALR qoyulur.

**Hemaqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası (HALR).** Məlum olduğu kimi müxtəlif viruslar müxtəlif heyvanların eritrositlərini aqlütinasiya etmək qabiliyyətinə malikdir, yəni viruslar heyvan eritrositlərinin reseptoruna birləşərək onları hemaqlütinasiya edir.

Əgər virusa spesifik zərdabla təsir edilərsə, onda eritrositlərin aqlütinasiyası baş verməz. Antigenlə anticismin bir-birinə təsiri nəticəsində meydana çıxan bu proses hemaqlütinasiyanın ləngimə (tormozlanma) reaksiyası adlanır, hemaqlütinasiya getmir.

HALR mikropanellərdə aparılır. Reaksiyanın aparılması texnikası belədir: qan zərdabı 1:10 nisbətindən başlayaraq 1:2560 nisbətində qədər dilyutor ilgəklərlə fizioloji məhlulla durulaşdırılır. Hər bir durulaşmadan 0,25ml götürülür ayrı-ayrı sınaq şüşələrinə tökülür və onların üzərinə tərkibində 4-5 vahid hemaqlütinin olan mayedən 0,25ml əlavə etdikdən sonra 30dəq 37<sup>0</sup>C-li termostatda saxlanılır. Bu müddətdən sonra onun üzərinə 0,5ml 1-2%-li eritrosit kütləsi əlavə edilir. Sonra, sınaq şüşələri yenidən termostatda 30dəq və ya otaq temperaturunda 45dəq saxlanılır. Bundan sonra nəticə hesablanır. Eritrositlərin aqlütinasiyasının qarşısını alan zərdabın ən yüksək durulaşması onun titri hesab olunur. Hemaqlütinasiya reaksiyası və hemaqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası virus xəstəliklərinin diaqnostikasında geniş istifadə olunur. Anticismin təsirindən virus neytrallaşdığına görə hemaqlütinasiya getmir, hemaqlütinasiyanı ləngidən ən böyük durulaşma dərəcəsi zərdabın titri hesab olunur.

**Hemadsorbsiya reaksiyası.** Bu reaksiya virusla yoluxdurulmuş toxuma kulturası üzərinə eritrositlərin çökməsindən ibarətdir. Bir sıra virusların hemadsorbsiya qabiliyyəti vardır: qrip, paraqrip, qızılça, ensefalit və s. Reaksiyanı qoymaq üçün insanın (“O”- qrup), dəniz donuzunun,

toyuğun və s. eritrositləri götürülür. Bunun üçün əvvəlcədən viruslarla yoluxdurulmuş toxuma kulturasından qidalı mühit çıxarılır və oraya 0,2ml 0,4%-li steril eritrosit suspenziyası tökülür. Sonra sınaq şüşələri otaq temperaturunda məli vəziyyətdə 3-5dəq, ya da 30-40dəq soyuducuda saxlandıqdan sonra adsorbsiya olmayan eritrositləri ayırmaq məqsədilə onlar ya ehtiyatla silkələdilir, ya da bir neçə dəqiqə barabanda fırladılır. Bundan sonra mikroskopun 8№-li obyektivi ilə baxılır. Əgər eritrositlər yoluxdurulmuş hüceyrələrin üzərinə nizamsız və ya müəyyən formada, xarakterik şəkillərdə, məs: qrip virusu adoud şəkində çökmüşsə, hemadsorbsiya reaksiyası müsbət hesab olunur. Reaksiya mənfi olduqda isə eritrositlər, əsasən sərbəst qalır, bəzən də tək-tək çökmüş olur. Spesifik zərdab əlavə edildikdə isə hemoadsorbsiya reaksiyası getmir.

**Qeyri-düz (passiv) hemaqlütinasiya reaksiyası (PHAR).** Xəstənin qan zərdabında olan spesifik anticisimləri aşkar etmək üçün bu reaksiyadan istifadə edilir. Reaksiyanın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, virus antigeni ilə sensibilizə olunmuş eritrositlər uyğun immun zərdabın iştirakı ilə aqqlütinasiyaya uğrayır. Belə ki, spesifik anticismin təsirindən sensibilizə olunmuş eritrositlər bir-birinə yapışaraq çökür, bu zaman sınaq şüşəsinin dibində hemoqlütinant əmələ gəlir.

PHAR yüksək həssaslığı və spesifikliyilə seçilərək ən az miqdar anticismin və polisaxarid təbiəti, natamam antigenin aşkara çıxarılmasına səbəb olur.

Reaksiyanı qoymaq üçün lazım olan tərkib hissələr:

- 1) Müayinə olunacaq zərdab
- 2) Eritrositlərin sensibilizasiyası üçün həll olunmuş antigen
- 3) Eritrositlər
- 4) Fizioloji məhlul

Reaksiya sınaq şüşələrində və ya çöküklü lövhələrdə (pleksiqlas lövhə) aparılır. Reaksiyanı qoymaq üçün ən əvvəl eritrosit kütləsi hazırlanır. Bunun üçün insan, qoyun, toyuq qanı götürülür, fibrinsizləşdirilir və ondan 0,1-1ml həcmdə eritrosit çöküntüsü ayrılaraq özündən 10 dəfə çox fizioloji məhlulla 2-3 dəfə yuyulur. Yuyulmuş eritrositlərdən 48 saat müddətində istifadə edilə bilər, ona görə də 4°C temperaturda soyuducuda saxlanılır.

Yumadan sonra eritrositlər antigenlə sensibilizasiya edilir. Bunun üçün 2,5%-li 0,1ml eritrosit kütləsi özündən iki dəfə artıq həcmdə antigenlə qarışdırılır, antigen eritrositlərə adsorbsiya olunsun deyə termostatda 2 saat saxlanılır. Sonra bu qarışıq sentrifuqadan keçirilir, iki-üç dəfə fizioloji məhlulla yuyulur və bundan hemoqlütinasiya üçün 0,5-1%-li eritrosit kütləsi hazırlanır (mütləq soyuducuda saxlanılır).

**Müayinə olunacaq zərdabın hazırlanması.** Müayinə olunacaq zərdab fizioloji məhlulla 10 dəfə durulaşdırılır, sonra ondan qeyri-spesifik anticisimlər ayrılır. Bunun üçün 0,5-1ml durulaşdırılmış zərdab üzərinə 2 damla antigenlə sensibilizə olunmuş qoyun eritrositləri tökülür, qarışıq 20dəq otaq temperaturunda saxlanılır, sonra sentrifuqada tərkib hissələrinə ayrılır. Qeyri-spesifik anticisimlərin bu cür adsorbsiya əməliyyatı üç dəfə təkrar olunur, axıncı dəfə sentrifuqadan keçirildikdən sonra maye sorulur və 56°C-də 30dəq inaktivləşdirilir.

**Reaksiyanın aparılma qaydası.** Yuxarıdakı qayda üzrə hazırlanmış zərdab durulaşdırılır (müxtəlif infeksiyalarda müxtəlif durulaşma dərəcəsinədək) və 0,5ml olmaqla çöküklərə və ya da sınaq şüşələrinə tökülür. Hər bir durulaşmaya 0,5ml 0,5-1%-li sensibilizə olunmuş eritrosit kütləsi əlavə edilir. 2 saat termostatda və ya 1 sutka otaq temperaturunda saxlandıqdan sonra nəticəyə baxılır.

Reaksiyada iştirak edən bütün inqredientlər üçün kontrolların qoyulması vacibdir (normal zərdab+sensibilizə olunmuş eritrositlər, fizioloji məhlul+sensibilizə olunmuş eritrositlər).

Əgər eritrositlər çöküyün dibində kənarları diş-diş və ya “çətir” şəkində görünərsə, passiv hemoqlütinasiya reaksiyası müsbət hesab olunur. PHAR nəticəsi o vaxt düzgün hesab edilir ki, kontrolların hamısında eritrositlər düymə şəkində çökmüş olsun.

Əgər antigen zülal təbiətlidirsə eritrositə pis adsorbsiya olunur, ona görə də eritrositlər əvvəlcədən tannin məhlulu ilə (1:20000) işlənir ki, eritrositin adsorbsiya qabiliyyəti yüksəlsin.

Bunun üçün 2,5%-li eritrosit kütləsi fizioloji məhlulla bərabər həcmdə 1:20000 tannin məhlulu ilə qarışdırılır, 10-15dəq termostatda və ya 37°C-də su hamamında saxlanılır, sonra bu qarışıq sentrifuqadan keçilir və alınmış eritrosit çöküntüsü fosfat-buferli məhlulla yuyulur. Çöküntünün üzərində qalan məhlul ola bilər ki, çəhrayımtıl rəngə boyansın, bu, tanninin

eritrositlərə toksik təsir etdiyini göstərir. Tanninlə işlənmədən sonra eritrositlərin davamlılığı azalır. Ona görə də dovşanın inaktivləşdirilmiş normal zərdabından istifadə etmək daha məsləhətdir. Qeyri-düz hemaqlütinasiya reaksiyası antigeni aşkar etmək üçün də istifadə edilir. Bu halda eritrositləri anticisimlərlə sensibilizasiya etməklə toksinləri və bakteriya antigenlərini aşkar etmək olar.

**Passiv hemaqlütinasiyanın ləngimə reaksiyası (PHALR).** PHALR, əsasən anticisimlərin aşkar edilməsi və titrlənməsi üçün qoyulur. Reaksiya üçün aşağıdakı tərkiblər hazırlanır:

1. Müayinə olunan qan zərdabı fizioloji məhlulla 1:4 nisbətdə durulaşdırılır, qeyri-spesifik hemaqlütinindən azad olunsun deyə 56°C -də su hamamında 50dəq qızdırılır.
2. Normal zərdab, 10%-li normal qan zərdabı fizioloji məhlulla 5 dəfə durulaşdırılır
3. Eritrositar diaqnostikum əvvəlcə distillə edilmiş su ilə durulaşdırılır, 3 saat keçdikdən sonra isə 3 dəfə 2%-li normal qan zərdabı ilə durulaşdırılır.
4. Homoloji antigen lazımı dozada işlənir
5. Homoloji immun zərdab – bu kontrol üçün işlənir. Hazırlanması müayinə olunan qan zərdabındakı kimidir.

Reaksiyanı aparmaq üçün əvvəlcə antigenin PHAR verə bilən işçi dozası (HAB) təyin edilir. Sonra müayinə olunan zərdab 2%-li normal zərdabla durulaşdırılacaq çöküklərə 0,025ml həcmdə olmaqla tökülür. Hər bir durulaşmanın üzərinə 0,025ml PHAB antigen əlavə edilir. Lövhə çalxalanır və 15dəq saxlandıqdan sonra çöküklərin hamısına 0,025ml 1%-li eritrositar diaqnostikum da əlavə olunur. Otaq temperaturunda 1,5-2saat saxlandıqdan sonra reaksiyanın nəticəsi oxunur: reaksiya müsbətdirsə, çöküyün dibində disk əmələ gəlir, mənfidirsə “çətir” şəklində yayılır, bu da anticismin olmadığını göstərir. Zərdabın titri PHAR-nın tam getmədiyi durulaşma götürülür (eritrositlər “düymə”, disk şəklində tam çökür).

Hemaqlütinasiyanın getməməsi (ləngiməsi) müayinə olunan materialda antigenin olduğunu göstərir, yəni PHALR müsbətdir. Göstərilən reaksiya vasitəsilə tam anticisimlər meydana çıxarılır. Natamam anticisimləri bu reaksiyalar vasitəsilə aşkar etmək olmur, çünki onlar antigenlə birləşdikdə onu blokada edirlər. Bu anticisimlər eritrositlə, bakteriyalarla və ya rikketsiyalarla birləşir və onların aqlütinasiyasına maneçilik törədir.

Aqqlütinasiyanın getməməsini bir valenti anticismin iki hüceyrə ilə birləşə bilməməsi ilə izah etmək olar. Ona görə də buraya insan qlobulinlərinə qarşı hazırlanmış presipiedici zərdab əlavə etdikdə aqqlütinasiya baş verir (antiqlobulinlər iki valentlidir).

Məlim olduğu kimi hamiləlik zamanı rezus-mənfi analarda rezus-müsbət dölə qarşı anticisimlər əmələ gəlir. *Kumbs reaksiyası* ilə belə natamam anticisimlər aşkara çıxarılır. Reaksiya iki mərhələdə aparılır:

1. İkiqat durulaşdırılmış müayinə olunan zərdabın üzərinə rezus-antigenli eritrositlər əlavə edib 37°C-də 1-1,5 saat saxlanılır.
2. Bu zaman üzərində anticisimlər fiksasiya olunmuş və diqqətlə yuyulmuş eritrositlərin üzərinə insan qlobulininə qarşı hazırlanmış dovşan zərdabı əlavə edilir.

Aşağıdakı kontroller da qoyulur:

- a) Antiqlobulin zərdab+ məlum sensibilizə edilmiş eritrositlər
- b) Müayinə olunan zərdab+rezus-antigeni olmayan eritrositlər+antiqlobulin zərdab
- c) Normal zərdab+eritrosit+antiqlobulin zərdab

Kimbs reaksiyası düz və dolayı olur. Düz reaksiyada xəstənin qanında olan eritrositlə birləşmiş anticisimlərin, dolayıda isə qan zərdabında olan birləşməmiş anticisimlərin miqdarı aşkar edilir

**Reaksiyanın qoyulma qaydası.** Üç cür eritrosit kütləsi götürülür (müayinə olunan, normal (kontrol) və məlum aqqlütininlə sensibilizə olunmuş). Əvvəlcə fizioloji məhlulla yuyulur və onlardan 1%-li kütlə hazırlanır. Sonra antiqlobulin zərdab natamam anticisimlə sensibilizə olunmuş eritrositlə titrlənir. Bunların hər bir durulaşmasından ağ lövhə üzərinə 0,1ml əlavə olunur və hər bir damlaya da 0,005ml eritrosit kütləsi qarışdırılır. 30dəq 37°C-li termostatda saxlayıb nəticəyə baxılır. Hemaqlütinasiya varsa nəticə müsbətdir.

Natamam anticisimlər dolayı Kumbs reaksiyası ilə təyin edilir. Belə ki, rikketsiyalar və ya bakteriyalar müayinə olunan zərdabla işlənir, sonra oraya aqqlütinasiya verə bilən antiqlobulin zərdab əlavə edilir.

**Şüşə üzərində damla-aqlütinasiya reaksiyası.** Yağsızlaşdırılmış əşya şüşəsi üzərinə bir-birindən aralı iki damla, məlum aqlütinasiyaedici diaqnostik zərdab və NaCl-un izotonik məhlulu (nəzarət üçün) qoyulur. Sonra bakterioloji ilgəklə Petri kasasındakı koloniyadan, yaxud sınaq şüşəsindəki ət-pepton aqarının çəp səthindən, tədqiq olunan bakteriya kütləsi götürülür və o, ayrı-ayrılıqda immun zərdabda və NaCl-un izotonik məhlulunda homogen məhlul alınana qədər həll edilir. Nəticə 2-4 dəqiqədən sonra yoxlanılır.

Bu zaman nəzarət üçün qoyulan damlada dəyişiklik olmamalıdır. Əgər immun zərdab yoxlanılan bakteriyaya uyğundursa, onda pambığabənzər çöküntü-aqlütinant əmələ gəlir (reaksiya müsbət hesab edilir). Aqlütinasiya fenomeni əmələ gəlmədikdə, reaksiya mənfi hesab edilir.

**Roz-benqal sınağı.** Bu sınaqdan bruselyozun diaqnostikası üçün istifadə edilir. Əşya şüşəsi üzərinə, yaxud plastinkaya 0,3ml tədqiq olunan qan zərdabı qoyulur. Onun üzərinə benqal-çəhrayısıyla boyadılmış brusella antigeni əlavə edilir. Şüşəni tərpətməklə komponentlər qarışdırılır, 4 dəqiqədən sonra nəticə yoxlanılır. Müsbət reaksiya zamanı çəhrayı rəngdə çöküntü – aqlütinant əmələ gəlir.

**Treponemlərin immobilizasiya reaksiyası.** Bu reaksiya ekspres (təcili) diaqnostika kimi sifilisin diaqnostikasında daha yüksək spesifikliyə malik olan reaksiya hesab edilir.

Reaksiyanın mahiyyəti odur ki, hərəkətli solğun treponema kulturası üzərinə sifilisli xəstənin qan zərdabı əlavə edildikdə treponemlər hərəkətsizləşir.

Hərəkətli treponema kulturası, yoluxdurulmuş dovşanın xayası xüsusi qidalı mühitdə (bu qidalı mühitdə treponemlər hərəkətli qalır) xırda-xırda doğranılmaqla alınır.

**Presipitasiya reaksiyası.** Presipitasiya reaksiyası məhlulda antigenə (presipitinogenə) immun serum (presipitin) və elektrolit vasitəsilə təsir etməklə onların qarşılaşdığı yerdə bulanıq həlgə əmələ gəlməsinə, sonra isə həlgənin çökdürülməsinə, yəni presipitat yaratmasına deyilir. Bu reaksiyada zülal və polisaxaridlərin kolloid məhlulunun ultramikroskopik ölçülü hissəcikləri çökdürülür.

Bu reaksiya mahiyyətcə aqlütinasiya reaksiyasına yaxındır. 1897-ci ildə Kraus təklif etmişdir. Kraus isbat etmişdir ki, əgər taun bakteriyalarının bulyon filtratı heyvana vurularsa, onun qan zərdabında spesifik anticisim əmələ gəlir, belə ki, filtratla qarışdırıldıqda onların qarşılıqlı təsirindən əvvəlcə *bulanlıq həlgə* əmələ gəlir, sonra isə bu, çöküntü şəklində şüşənin dibinə çökür. Bu hadisə *presipitasiya reaksiyası*, alınan çöküntü *presipitat*, reaksiya verən zərdab *presipitəedici zərdab*, zərdabın tərkibində olan və çöküntüyə səbəb olan spesifik immun cisimciklər isə *presipitinlər* adlanır. Sonralar müəyyən edildi ki, nəinki mikrob filtratları, hətta heyvan və bitki aləminə mənsub olan zülal maddələri də spesifik presipitin əmələ gətirmək qabiliyyətinə malikdir.

Presipitasiya reaksiyasından həm infeksiyon xəstəliklərin diaqnostikasında, həm də məhkəmə təbabətində şübhəli qan və sperma ləkələrini və s. təyin etmək üçün, zülallı qida məhsullarının saxtalaşdırılmasına şübhə olduqda və b. məqsədlə istifadə olunur.

Presipitasiya reaksiyası üçün antigen kimi nəinki bakteriyanın ekstraktının filtratı, hətta mikrobla zəngin olan orqanlar, patoloji materiallar (irin, bəlgəm, likvor, eksudat, sidik) da götürülə bilər.

Bulyon kulturası filtratından istifadə etdikdə bulyonun reaksiyasına fikir verilməlidir, çünki çox turş və qələvi mühit qeyri-spesifik presipitasiya verə bilər. Lazım gəlsə filtratın reaksiyasını turşu və ya qələvi əlavə etməklə tənzim etmək olar.

Presipitəedici zərdab əldə etmək üçün dovşan yoluxdurulur: antigen dəri altına, qarın boşluğuna və ya venaya hər 5 gündən bir 10-15 dəfə vurulur.

Presipitasiya reaksiyası yüksək dərəcədə spesifik və həssasdır. Presipitasiya reaksiyası vasitəsilə antigeni-zülalı 1:100000-ə və hətta 1:300000-ə nisbətində durulaşmada, yəni hətta elə kiçik miqdarda belə təyin etmək mümkün olur ki, bunu heç bir kimyəvi üsullarla aşkar etmək olmur. Görünən presipitatın əmələ gəlməsi üçün hər iki reagenti qarışdırıldıqda onlar ekvivalent miqdarda olmalıdırlar. Onların birinin artıq miqdarda olması, çökdürülən immun komponentin miqdarının azalmasına səbəb olur.

Presipitasiya reaksiyası mikrobioloji təcrübədə bir sıra bakterial və virus təbiətli infeksiyon xəstəliklərin diaqnostikası üçün istifadə edilir (epidemik serebrospinal meningit, sifilis, adenovirus xəstəlikləri və s.).

Məhkəmə təbabətində presipitasiya reaksiyası qan zülalının növ mənsubiyyətini aydınlaşdırmaq məqsədilə istifadə edilir. Qan ləkələri 0,85%-li xörək duzu məhlulunda isladılır və alınmış maye filtdən keçirilir. Sonra o, tərkibində insanın və ya müxtəlif növ heyvanın qan zülalına qarşı anticisimlər olan presipitasiyaedici serum üzərinə ehmalca əlavə edilir. Bu zaman presipitasiya reaksiyası, antigenin anticismə uyğun gəldiyi sınaq şüşəsində baş verir.

Sanitariya təcrübəsində presipitasiya reaksiyasının köməyi ilə ət, balıq, un məhsullarının saxtalaşdırılması aşkar edilir. Bu və ya digər ərzaqın hansı ətdən, balıqdan, yaxud undan hazırlandığı müəyyən edilir.

Presipitasiyaedici zərdblər, xüsusi istehsaledici institutlarda heyvanları (dovşanları) hiperimmunizasiya etmək yolu ilə hazırlanılır.

Heyvanların immunizasiyası üçün antigen kimi mikrob suspenziyasından, köhnə bulyon kulturası filtratından, mikrobların autolizatından və duzlu ekstraktından, eləcə də bakteriyaların tam antigenlərindən istifadə edilir.

Heyvanların immunizasiyası bir neçə ay müddətində dövrlərlə aparılır. İlk iki həftə ərzində antigeni kiçik dozalarla (0,5 ml) hər gün, sonra daha yüksək dozalarla 4-6 gün fasilə verməklə 8-16 həftə yeridilir. Antigenin axırını inyeksiyasından sonra, immun serumun titrini təyin etmək üçün az miqdarda qan götürülür və anticisimlərin titri yoxlanılır. Əgər titr yüksək olarsa, onda heyvanın qanı tamamilə götürülür.

Başqa diaqnostik zərdblərdən fərqli olaraq, presipitasiyaedici zərdblərin titri, həmin zərdbəla presipitasiya olunan antigenin maksimal durulaşması ilə təyin edilir. Bu onunla izah edilir ki, presipitasiya reaksiyasında iştirak edən antigen ultramikroskopik ölçülərə malik olur və vahid həcmdə onun miqdarı həmin həcmli serumda olan anticisimlərin miqdarından olduqca çox olur. Presipitasiyaedici serumlar 1:100000-ə nisbətindən az olmayan titrdə buraxılır.

**Həlqəvi presipitasiya reaksiyasının qoyulması.** Presipitasiya reaksiyalarını aparmaq üçün hazırlanmış (0, sm diametrlili) sınaq şüşəsinə 0,3-0,5ml miqdarında durulaşdırılmamış presipitasiyaedici serum tökülür. Paster pipetkəsi vasitəsilə antigendən, həmin miqdarda, sınaq borusunun divarı ilə (sınaq borusu maili vəziyyətdə tutulur) yavaş-yavaş damızdırmaqla əlavə edilir. Məhlullar qarışmasının deyə, sınaq şüşəsi ehtiyatla şaquli vəziyyətə gətirilir. Antigeni serumun səthinə düzgün olaraq qat-qat əlavə etdikdə, iki məhlul arasındakı sərhəddə halqa şəkilli bulanıq əmələ gəlir.

Reaksiyanı aparmaq üçün aşağıdakı inqredientlər lazımdır:

1. Presipitasiyaedici zərdb.
2. Müayinə olunan antigen (əvvəlcədən 1:1000 nisbətdə fizioloji məhlulla durulaşdırılmış).
3. Fizioloji məhlul

Reaksiyanın qoyulması hökmən zərdb (2-ci, 3-cü və 4-cü sınaq şüşələrində), antigen (5-ci və 6-cı sınaq şüşələrində) və nəzarət sınaq şüşələrindən istifadə ilə müşayiət olunur. Zərdbin kontrolu üçün üç sınaq şüşəsinə (2-ci, 3-cü və 4-cü sınaq şüşələrində) presipitasiyaedici serum tökülür (adətən 0,5 ml miqdarında). Onlardan birinə məlum spesifik antigen, ikincisinə tərkibində antigen olmayan ekstrakt və üçüncüsünə fizioloji məhlul əlavə edilir. Boruların birində reaksiya müsbət, o biri ikisində isə mənfi olmalıdır.

Antigen kontrolunda tədqiq edilən antigeni immun zərdb alınmış heyvanın növündən olan başqa heyvandan alınmış normal qan zərdbinin üzərinə əlavə edilir. Tərkibində antigen olmayan ekstrakt da kontrol olur. O, normal zərdbin üzərinə əlavə olunur. Bu iki sınaq şüşələrində (5-ci və 6-cı) presipitasiya baş vermir. Reaksiya antigenin və anticismin təbiətindən asılı olaraq, 5-10 dəqiqədən, 1-2 saat və ya 18-24 saatdan sonra qeyd edilir. Reaksiya müsbət olduqda, birinci sınaq şüşəsində zərdbəla müayinə olunan ekstraktın arasındakı sərhəddə ağ həlqə şəklində presipitat (bulanıq) əmələ gəlir.

Həlqə presipitasiya reaksiyasının düzgün nəticə verməsi üçün aşağıdakı şərtlər vacibdir:

- a) antigen və zərdb tam şəffaf olmalıdır
- b) sınaq şüşələri təmiz və şəffaf olmalıdır
- c) götürülən hər iki tərkib hissə ekvivalent olmalıdır.

Reaksiya adi otaq temperaturunda aparılır, həlqə dərhal, 10-20dəq sonra əmələ gəlir. Reaksiya 2-3 saatdan sonra tam başa çatır. Reaksiya ilə eyni vaxtda kontrollar da qoyulmalıdır.

1. Normal zərdb+tədqiq olunan antigen (" - " olmalıdır).
2. Presipitəedici zərdb+fizioloji məhlul (" - " olmalıdır).

### 3. Presipitəedici zərdab+ müvafiq antigen ("+" olmalıdır).

Pnevmoniya, meningit xəstəliklərində törədicinin tipini təyin etmək üçün, sifilisin serodiamozunda, müalicəvi antitoksik zərdabın titrlənməsində, eləcə də zülal və karbohidrat təbiətli maddələrin növünü təyin etmək üçün presipitasiya reaksiyasının tətbiqi gözəl nəticələr verir.

Ümumiyyətlə, presipitasiya reaksiyalarında, xüsusilə həlqə presipitasiya reaksiyasında, presipitatın əmələ gəlməsində iştirak edən antigenlərin miqdarını təyin etmək mümkün olmur. Ona görə də, aqarda presipitasiya reaksiyalarının müxtəlif variantlarından istifadə edilir. Bunlardan Ouxterlonun ikiqat immunodiffuziya reaksiyası daha geniş tətbiq edilir. Bu reaksiya aqarda, yəni gəldə aparılır və onun vasitəsilə müayinə olunan mikroorqanizmlərin antigenlərinin quruluşu öyrənilir.

Virus antigenləri tərkibində virus olan toxuma kulturası mayesindən alınır. Bu zaman onlar, allantois mayesindən və xorionallantois qişası suspenziyasından təmizlənilir və konsentrasiya edilir.

Bakterial antigenlər də, adi presipitasiya reaksiyası üçün hazırlanan antigenlər kimi hazırlanır. Spesifik zərdablar dovşanları immunizasiya etmək yolu ilə əldə edilir. Virus infeksiyalarında presipitasiyaedici anticisimləri aşkar etmək məqsədilə xəstə şəxslərdən qan xəstəliyin birinci həftəsində götürülür.

**Termopresipitasiya reaksiyası.** Antigeni qaynatmaq yolu ilə əldə edilən presipitasiya reaksiyasına *termopresipitasiya* deyilir. Bu reaksiyanı qoymaq üçün heyvanın müəyyən orqanlardan (tük, dırnaq, dəri və s.) götürülüb xırda-xırda doğranır, həvəngdə əzilir, fizioloji məhlulda qaynadılır, sonra pambıq-tənzip və ya asbest filtdən süzərək şəffaf antigen əldə edilir. Qaynama zamanı artıq zülalı maddələr pıxtalaşdığından onlar filtdən keçmir.

Mikrob mənşəli presipitinogen isə polisaxarid təbiətli olduğundan qaynama zamanı keyfiyyətini itirmir. Antigen alındıqdan sonra yuxarıda göstərilən qayda üzrə, yəni həlqə presipitasiya reaksiyası kimi reaksiya qoyulur. Məsələn, qarayara xəstəliyinin diaqnostikasında Askolinin termopresipitasiya reaksiyası qoyulur.

**Aqarda (gəldə) presipitasiya reaksiyası.** Son zamanlar immunoloji praktikada bu reaksiyadan geniş istifadə olunur. Bu üsulda antigen və anticisim müəyyən vaxt ərzində aqar səthində bir-birindən müəyyən məsafədə durur və sonra hər ikisi aqara diffuziya etməklə yaxınlaşır. Onların rastlaşdıqları yerdə gözlə aydın görünən "ağ zolaqlar" əmələ gəlir. Reaksiyanı aparmaq üçün Petri kasalarına şəffaf aqar tökülür. Bu reaksiya üçün jele ən yaxşı aqar növündən hazırlanır: aqar distillə edilmiş su ilə iki dəfə yuyulur, süzülərək çöküntüdən azad edilir, həm də 1%-li hazırlanır və sterilizasiya edildikdən sonra Petri kasalarına tökülür. Aqar bərkidildikdən sonra onun ortasından bir, ondan kənarda isə çevrə boyunca bir neçə dənə çuxurcuq kəsilib hazırlanır. Mərkəzdəki çuxura tərkibində anticisim olan zərdab (və ya antigen), ətrafdakılara isə tədqiq edilən antigenlər (və ya müxtəlif zərdablar, ya da eyni zərdabın müxtəlif durulaşmaları) tökülür. Reagentlər aqara diffuziya edir və antigenlə anticismin bir-birilə optimal nisbətdə rastlaşdıqları sahədə presipitasiya zolaqları əmələ gəlir, eyni vaxtda presipitasiya zolaqları verməyən kontroller da qoyulur.

Aqarda qoyulan presipitasiya reaksiyalarının bir növü antitoksik zərdabın köməyiylə difteriya çöplərinin toksigenliyini təyin etməyə imkan verir.

**İmmunelektroforez.** Bu reaksiya da gəldə aparılan presipitasiyanın bir növüdür. İlk dəfə 1953-cü ildə Qrabar və Vilyams bu reaksiyanı təklif etmişdir. İmmunelektroforez analiz gəldə gedən elektroforezlə immun diffuziyanın cəmindən ibarət olan bir prosesdir.

İmmunelektroforez analizinin mahiyyəti ondan ibarətdir ki, əvvəlcə buferləşdirilmiş aqarda zülalların elektroforezi gedir, yəni zülallar sabit cərəyanın təsiri ilə ayrı-ayrı fraksiyalara parçalanır. Sonra isə aqarda zülal fraksiyalarının hərəkəti istiqamətinə perpendikulyar hazırlanmış şırımlara (xəndəklərə) presipitəedici immun zərdab əlavə olunur. Həm antigen (zülal fraksiyaları) və həm də immun zərdabın tərkibində olan anticisimlər aqara diffuziya edir. Əgər antigenlərlə anticisimlər bir-birinə uyğun gəlsə, onların rastlaşdığı yerdə presipitasiya reaksiyası baş verir ki, bu da özünü qövs şəklində presipitasiya xətlərinin əmələ gəlməsi ilə biruzə verir. Presipitasiya qövslərinin miqdarına və yerləşməsinə əsasən antigenin (və ya anticismin) tərkibi aşkar edilir.

**Flokulyasiya reaksiyası.** Bu reaksiyadan botulizmin və digər ekzotoksin ifraz edən mikrobların törətdiyi infeksiyaların diaqnostikasında istifadə edilir. Belə bakterial infeksiyalara diaqnoz qoymaq üçün, neytrallaşma reaksiyası vasitəsilə, ekzotoksinin aşkar edilməsi kifayət edir.

Toksinin (anatoksinin) antitoksinlə in vitro neytrallaşma reaksiyasına flokulyasiya reaksiyası deyilir.

Bu reaksiyanı ilk dəfə 1924-cü ildə Ramon təklif etmişdir. Reaksiyanın mexanizmi presipitasiya reaksiyalarında olduğu kimidir. Flokulyasiya reaksiyasının mahiyyəti ondan ibarətdir ki, toksin və ya anatoksin antitoksik zərdabın müvafiq miqdarı ilə qarışdırıldıqda, müəyyən şəraitdə, bulanıq və çöküntünün əmələ gəlməsinə səbəb olur. Deməli, toksin və ya anatoksin zərdabın tərkibində olan antitoksik anticisimlərlə neytrallaşır. Hansı sınaq şüşəsində toksinlə (anatoksinlə) antitoksin ekvivalent miqdarda görüşərsə, həmin sınaq şüşəsində bulanıq və çöküntü, yəni flokulyasiya fenomeni daha intensiv və tez baş verir. Bu hadisə inisial (erkən) flokulyasiya adlanır.

Flokulyasiya reaksiyasından ekzotoksinlərin və ya anatoksinlərin fəallığı və titrini, yaxud antitoksik zərdabların titrini təyin etmək üçün istifadə edilir.

Reaksiya iki mərhələdə aparılır. Birinci mərhələdə standart zərdaba əsasən, toksinin 1ml-də LF-in (Limes Flocculationis) miqdarı təyin edilir. Toksinin LF-i 1BV antitoksik zərdabla inisial flokulyasiya verən toksinin miqdarından ibarətdir. Toksinin gücü təyin edildikdən sonra reaksiyanın ikinci mərhələsi aparılır, yəni antitoksik zərdabın gücü təyin edilir.

Toksinin (anatoksinin) gücünü təyin etmək üçün 10 ədəd sınaq şüşəsi götürülür və onların hər birinə 1-2ml tədqiq olunan toksin (anatoksin) tökülür. Sonra həmin sınaq şüşələrinə artan dozada (0,1ml-dən başlayaraq 1ml-ə qədər) flokulyasiyaedici (tərkibində antitoksinin miqdarı məlum olan standart zərdab) antitoksik zərdab əlavə edilir. Sınaq şüşələri ehmalca çalxalanır və termostatda və ya su hamamında 37°C temperaturda inkubasiya edilir. Reaksiyanı 21°C-dən 45°C-yə qədər temperaturda aparmaq olar. İnisial flokulyasiyanı aşkar etmək üçün sınaq şüşələri 10 dəq, 15-20 dəq, 60 dəq-dən, 2-3 saatdan, 24 saatdan sonra yoxlanılır. Müəyyən müddətdən sonra, bəzən toksinin üzərinə antitoksik zərdab əlavə edilən kimi dərhal bəzi sınaq şüşələrində bulanıq əmələ gəlir. Əgər aqlütinaskop vasitəsilə bulanıq əmələ gələn sınaq şüşələri yoxlanılırsa, onda xırda-xırda pambıqvari çöküntünün-flokulyantın əmələ gəlməsi müşahidə olunur. Vaxt keçdikcə bu proses daha da intensivləşir və çöküntü sınaq şüşəsinin dibinə çökərək adi gözlə görünən kövrək çöküntüyə çevrilir. Çöküntünün üzərindəki maye isə şəffaflaşır. Hansı sınaq şüşəsində daha tez və intensiv bulanıq çöküntü əmələ gəlirsə, yəni erkən flokulyasiya fenomeni baş verirsə, deməli, həmin sınaq şüşəsində inisial flokulyasiya-toksinin antitoksinlə neytrallaşması baş vermişdir. Məsələn, flokulyasiyaedici zərdab 1ml-də 200 BV antitoksinə malikdir. İnisial flokulyasiya isə 2 ml toksinin üzərinə 0,2 ml antitoksik zərdab əlavə edilmiş sınaq şüşəsində baş vermişdir. Onda toksinin minimal flokulyasiyaedici dozası (LF) 20, yəni

$$\frac{(200 \times 0,2)}{2} = 20 \text{ olar.}$$

Toksinin (antitoksinin) müəyyən edilmiş inisial flokulyasiyaedici dozasına (LR-ə) əsasən tədqiq edilən zərdabda antitoksinin miqdarını təyin etmək olar. Bu mərhələdə də reaksiyanın texnikası birinci mərhələdə, yəni toksinin LF-nin təyin edilməsindəki kimi aparılır. Əgər inisial flokulyasiya 0,5 ml tədqiq olunan antitoksik zərdab tökülmüş sınaq şüşəsində baş verirsə, deməli, 0,5 ml zərdabın tərkibində 40 BV antitoksin vardır. Çünki 0,5ml həcmdə zərdab LR-i olan 2 ml toksini neytrallaşdırılmışdır. Onda zərdabın 1ml-i 80BV (40:0,5=80BV) antitoksinə malikdir.

Toksinin antitoksinə neytrallaşmasını və yaxud antitoksik zərdablarda antitoksinlərin miqdarını in vivo sınaqları ilə də müəyyən etmək olar. Bu məqsədlə tədqiq olunan toksinə həssas olan laboratoriya heyvanlarından istifadə edilir. Təcrübə aşağıdakı kimi aparılır. Bir sıra sınaq şüşələrinə (6-dan 10-a kimi) sabit miqdarda toksin və ya antitoksik zərdab tökülür. Onun üzərinə artan dozada: antitoksik zərdabın gücünü təyin etdikdə isə toksin əlavə olunur. 37°C-də 20-30 dəq saxlandıqdan sonra hər sınaq şüşəsindəki qarışıq ayr-ayrı laboratoriya heyvanlarına yeridilir.

Hansı heyvan sağ qalarsa, deməli, həmin heyvana yeridilmiş qarışıqda toksin antitoksinlə neytrallaşmışdır. Digər heyvanlar isə neytrallaşmamış toksinin təsirindən ölür. Sağ qalmış heyvanlara yeridilən qarışıqdakı toksinin və ya antitoksik zərdabın miqdarına əsasən toksinin və ya antitoksik zərdabın gücü təyin edilir.

Toksinin antitoksinlə in vivo neytrallaşma reaksiyalarına dəri-immunitet (allergik) reaksiyalarını da aid etmək olar. Məsələn, difteriyaya qarşı immunitetin olmasını aşkar etmək üçün Şık reaksiyası, skarlatinada isə Dik reaksiyası qoyulur. Orqanizmdə antitoksinlər (antitoksik immunitet) olduqda dəri içərisinə yeridilmiş az miqdarda toksin neytrallaşır və reaksiya mənfi hesab edilir.

Clostridium perfringensin ekzotoksinini neytrallaşma reaksiyası vasitəsilə aşkar etmək üçün, tərkibində anticisimlər (antitoksinlər) olan immun zərdabdan istifadə edilir. Belə diaqnostik immun zərdabı almaq üçün heyvanlar inaktivasiya olunmuş (formaldehidlə), yəni immun xassəsini saxlamış, lakin toksiki xassəsi neytrallaşmış toksinlə hiperimmunizasiya edilir. Clostridium perfringens antigen quruluşuna görə bir-birindən fərqlənən altı tip (A, B, C, D, E, F) ekzotoksin əmələ gətirir.

İçərisində ekzotoksinin olması güman edilən material (məsələn, bağırsağ möhtəviyyəti) 1:1 nisbətində NaCl-un izotonik məhlulu ilə durulaşdırılır və otaq temperaturunda 1 saat saxlanılır. Sonra o, pambıq-tənzif filtdən süzülür və filtrat 5000 dövr sürətlə 20 dəq müddətində sentrifüqləşdirilir. Çöküntünün üstündəki maye, çəkisi 16-18 qram olan iki ağ siçana qarın boşluğu və ya venadaxilinə yeridilir. Müayinə materialında ekzotoksin olduqda, heyvanlar 12 saat müddətində ölürlər. Toksin aşkar olduqdan sonra o, neytrallaşma reaksiyası vasitəsilə identifikasiya edilir. Diaqnostik antitoksik zərdablar (A, C, D, E) əvvəlcədən NaCl-un steril izotonik məhlulu ilə 10V/ml konsentrasiyaya qədər durulaşdırılır.

Müalicə və profilaktika məqsədilə işlədilən antitoksik zərdablar atların hiperimmunizasiyası yolu ilə alınır.

Alınmış zərdab, sterilliyə, apirogenliyə (preparat heyvanlara parenteral yeridildikdə yüksək temperatur əmələ gətirməsin) görə yoxlanılır və beynəlxalq vahidlə titri təyin edilir.