BAKTERIAL INFEKSIYALARNING TEZKOR LABORATOR DIAGNOSTIKASI: MALDI-TOF MS, MULTIPLEKS PCR VA METAGENOMIK SEKVENSLASHNING QIYOSIY TAHLILI

Axmedova Dildarxon Kobilovna

Andijon davlat tibbiyot instituti, Andijon, O‘zbekiston

Annotatsiya

Bakterial infeksiyalarni samarali tashxislash uchun qo‘zg‘atuvchini erta aniqlash, laboratoriya natijasining aniqligi va klinik qarorga o‘z vaqtida yetkazilishi muhim. Ushbu narrativ sharhning maqsadi bakterial infeksiyalar diagnostikasida MALDI-TOF mass-spektrometriya, multipleks polimeraza zanjir reaksiyasi va metagenomik sekvenslashning ilmiy asoslari, ustunliklari hamda cheklovlarini qiyoslashdan iborat. PubMed bazasida e’lon qilingan metodologik va klinik tadqiqotlar, shuningdek IDSA/ASMning 2024-yilgi laboratoriya qo‘llanmasi mazmuniy tahlil qilindi. MALDI-TOF MSning ko‘pchilik holatlarda o‘stirilgan izolyatni tez identifikatsiya qilishi, multipleks PCRning cheklangan nishonlar majmuasini erta ko‘rsatishi, metagenomik sekvenslashning esa taxmin qilinmagan mikroorganizmlarga oid kengroq axborot berishi aniqlandi. Usullar o‘zaro almashtiriladigan tekshiruvlar emas: namuna turi, dastlabki boyitish, patogen yuklamasi, kontaminatsiya va hisobotni klinik talqin qilish talablari farqlanadi. Gen yoki mikroorganizmni topish antibiotiklarga fenotipik sezgirlikni yoki infeksiya sababini har doim tasdiqlamaydi. Yangi eksperiment yoki mahalliy klinik kuzatuvlar bajarilmagan; xulosalar tekshirilgan adabiyotlarni qiyosiy sharhlashga asoslanadi.

Kalit so‘zlar: bakterial infeksiya, tezkor diagnostika, MALDI-TOF MS, multipleks PCR, metagenomik sekvenslash, qon kulturasi, diagnostik stewardship, antibiotiklarga sezgirlik.

Kirish

Infeksion kasalliklarda laboratoriya natijasining qiymati uning qanchalik tez olingani bilangina emas, balki qaysi klinik savolga javob berishi, namuna sifati va natija asosida qanday qaror qabul qilinishiga ham bog‘liq. An’anaviy kultura usullari tirik mikroorganizmni ajratib olish va antibiotiklarga sezgirlikni tekshirish imkonini beradi; biroq ularning davomiyligi organizmning o‘sish tezligi va material xususiyatiga bog‘liq. Zamonaviy texnologiyalar aynan shu oraliqdagi axborot tanqisligini qisqartirishga qaratilgan [1].

Tezkor laborator diagnostika bitta texnologiyani emas, turli nishon va ish jarayoniga ega metodlar guruhini o‘z ichiga oladi. MALDI-TOF MS o‘stirilgan izolyatning oqsil spektrini ma’lumotlar bazasi bilan taqqoslaydi; multipleks PCR oldindan belgilangan nuklein kislota nishonlarini aniqlaydi; metagenomik sekvenslash esa namunadagi keng qamrovli mikrobiologik genetik materialni izlashga xizmat qiladi. Bu yondashuvlarni qiyoslashda «nima aniqlanadi?» savoli «natija qancha vaqtda chiqadi?» savolidan oldin qo‘yilishi kerak [2, 3, 6].

Tadqiqot maqsadi

MALDI-TOF MS, multipleks PCR va metagenomik sekvenslashning bakterial infeksiyalarni identifikatsiya qilishdagi imkoniyatlarini tizimlashtirish, o‘zaro diagnostik farqlarini ko‘rsatish hamda laboratoriya xulosasini klinik qaror bilan bog‘lashning dalillarga asoslangan mezonlarini belgilash.

Materiallar va tahlil usullari

Ish narrativ adabiyotlar sharhi usulida bajarildi. PubMed va nashriyotlarning ochiq bibliografik ma’lumotlari orqali klinik mikrobiologiya, molekulyar identifikatsiya, qon kulturasi, metagenomika va diagnostik stewardship bo‘yicha metodologik hamda klinik maqolalar tanlandi. Asosiy hujjat sifatida IDSA/ASMning 2024-yilgi laboratoriya diagnostikasi qo‘llanmasidan foydalanildi [1]. Qidiruv atamalari «MALDI-TOF MS», «multiplex PCR blood culture», «metagenomic next-generation sequencing», «rapid diagnostics» va «diagnostic stewardship»dan iborat bo‘ldi.

Usullar taqqoslashida talab qilinadigan namuna, analitik maqsad, klinik foyda ehtimoli, identifikatsiya chegarasi, xato manbalari va qo‘shimcha tasdiqlash ehtiyoji mezon qilib olindi. Ilmiy adabiyotlarda e’lon qilingan tajriba va klinik sinovlar tahlil qilindi, biroq ushbu muallif tomonidan yangi mikrobiologik testlar o‘tkazilmadi, bemor ma’lumotlari to‘planmadi va statistik natijalar mustaqil ravishda hisoblanmadi. Shu sababli sharh diagnostik aniqlik bo‘yicha meta-tahlil da’vo qilmaydi.

Natijalar va muhokama

MALDI-TOF MSning texnologik asoslari va qo‘llanishi

MALDI-TOF MSda mikroorganizmdan olingan massa-zaryadga oid oqsil spektri apparat dasturidagi etalon spektrlar bilan taqqoslanadi. Klinik laboratoriyada usulning eng barqaror qo‘llanishi tegishli sifat va tayyorlash talablari bajarilgan, kulturada o‘stirilgan bakterial koloniyalarni tur yoki turkum darajasida tez identifikatsiya qilishdir. Usulning keng tarqalishi oddiy biokimyoviy identifikatsiya algoritmlarini qisqartirish imkonini bergan [2, 3].

MALDI-TOF MSning klinik afzalligi alohida namuna olinganidan keyin emas, balki aynan identifikatsiya bosqichida vaqt yutishidir. Masalan, qon kulturasi musbat bo‘lgunga qadar o‘tgan vaqt uning spektral o‘qish tezligi hisobiga yo‘qolmaydi. Ayrim laboratoriyalarda musbat qon kulturasi flakonidan to‘g‘ridan-to‘g‘ri identifikatsiya protokollari ishlatiladi, biroq bunday usullar oldindan validatsiyalangan tayyorlash jarayonlari va aniq qabul mezonlarini talab etadi [2, 3].

Oqsil spektri asosidagi identifikatsiya antibiotiklarga sezgirlik testining to‘liq o‘rnini bosa olmaydi. Ma’lumotlar bazasida kam uchraydigan mikroorganizmlarning yetarli vakilligi bo‘lmasligi, aralash kulturadagi signallar va ayrim yaqin turlar o‘rtasidagi o‘xshashlik noto‘g‘ri yoki yetarli bo‘lmagan identifikatsiyaga olib kelishi mumkin. Laboratoriya hisobotida ishonchlilik ko‘rsatkichi va zarur bo‘lsa tasdiqlovchi tekshiruv qayd qilinishi lozim [2, 3].

Multipleks PCR va nishonga yo‘naltirilgan diagnostika

Multipleks PCR bir reaksiya yoki tizim ichida bir nechta bakteriya, qo‘shimcha mikroorganizm yoki tanlangan rezistentlik determinantini aniqlashi mumkin. Ayniqsa, musbat qon kulturasi kabi aniq klinik materialda oldindan belgilangan panel mavjud bo‘lsa, qo‘zg‘atuvchi haqida erta axborot olish ehtimoli oshadi. Shu bilan birga, «panelda aniqlanmadi» natijasi tekshirilmagan mikroorganizmlar mavjud emasligini anglatmaydi [1, 4].

Banerjee va hammualliflar o‘tkazgan randomizatsiyalangan tadqiqotda musbat qon kulturasi bo‘yicha tezkor multipleks PCR bilan bog‘liq axborot klinik jamoaga yetkazilgan. Tadqiqotdagi foyda ko‘p jihatdan antibiotiklarni oqilona boshqarish guruhi faoliyati va natijadan kelib chiqib terapiyani qayta baholash bilan bog‘liq bo‘lgan. Shu sababli laboratoriya testini joriy etishning o‘zi klinik natijani avtomatik yaxshilaydi, degan umumiy xulosaga kelish noo‘rin [4].

Nishonga yo‘naltirilgan usulning analitik sezgirligi yuqori bo‘lishi mumkin, ammo namunadagi nuklein kislota miqdori, inhibitorsiz ekstraksiya va tekshiruv paneli tarkibi natijaga ta’sir qiladi. Ma’lum rezistentlik geni topilishi antibiotiklarga fenotipik chidamlilikni baholashda muhim signal beradi; u barcha genotip–fenotip kombinatsiyalarini avtomatik tasdiqlamaydi. Bemorni davolashga oid yakuniy qaror klinik sindrom va fenotipik tekshiruvlar bilan birga shakllantiriladi [1, 4].

Metagenomik sekvenslash: keng qamrov va murakkab talqin

Metagenomik keyingi avlod sekvenslash (mNGS) oldindan bitta patogen nishonini belgilamasdan, klinik materialda mavjud mikroorganizmlarga oid DNK yoki RNK ketma-ketliklarini tahlil qilishga imkon beradi. Bioinformatik filtrlash, inson genomiga tegishli o‘qishlarni ajratish va mikroorganizmlar ma’lumotlar bazalari bilan solishtirish yakuniy xulosaga ta’sir qiladi. Keng qamrov kuchli jihat bo‘lsa-da, natija sifati namunadagi patogen yuklama, mezbon genetik materiali va kontaminatsiya bilan cheklanadi [6].

Wilson va hammualliflar meningit hamda ensefalit diagnostikasida orqa miya suyuqligi mNGS yondashuvining imkoniyatlarini klinik sharoitda baholagan. Bu tajriba keng qamrovli sekvenslash ayrim murakkab holatlarda qo‘shimcha diagnostik axborot berishi mumkinligini ko‘rsatadi. Biroq bunday usulni har bir oddiy bakterial infeksiya uchun birinchi bosqich tekshiruv deb tavsiya qilish ilmiy va iqtisodiy jihatdan asosli emas [7].

Plazmadagi mikroblarga oid hujayradan tashqari DNKni sekvenslash usullari infeksiya o‘chog‘idan bevosita namuna olish qiyin bo‘lgan ayrim vaziyatlarda qo‘shimcha imkoniyat yaratadi. Blauwkamp va hammualliflarning validatsiya tadqiqoti analitik ishlash ko‘rsatkichlarini o‘rgangan, biroq bunday testdagi mikrobiologik signal har doim kasallikning sababchisini yoki mikroorganizm tirikligini bildiravermaydi. Kontaminatsiya va klinik kontekstni baholash hal qiluvchi bo‘lib qoladi [8].

1-jadval. Tezkor identifikatsiya usullarining qiyosiy tavsifi

Yondashuv	Asosiy afzallik	Cheklov va tasdiqlash ehtiyoji
MALDI-TOF MS	Kulturada o‘stirilgan mikroorganizmni tez identifikatsiya qiladi	Boshlang‘ich o‘sish bosqichini qisqartirmaydi; ASTni almashtirmaydi
Multipleks PCR	Belgilangan patogenlar va ayrim genlarni tez aniqlaydi	Faqat panel nishonlarini qamraydi; DNK tiriklikni tasdiqlamaydi
mNGS	Oldindan taxmin qilinmagan agentlar bo‘yicha kengroq qidiruv	Kontaminatsiya, bioinformatik mezonlar, yuqori resurs talabi
Kulturaviy tekshiruv + AST	Tirik izolyat va fenotipik sezgirlikni ko‘rsatadi	O‘sish muddati va namuna sifatiga bog‘liq

Jadval [1–8] manbalar asosida tuzilgan qiyosiy sharhdir; unda yangi eksperimental solishtirish natijalari berilmagan.

Diagnostik va antimikrob stewardship uyg‘unligi

Tezkor testlar samaradorligini baholashda «testdan javobgacha vaqt» hamda «javobdan davolash qarorigacha vaqt» bir-biridan farqlanadi. Laboratoriya juda tez xulosa

chiqarsa-yu, u klinik jamoaga yetkazilmasa yoki izohlab berilmasa, amaliy foyda kamayadi. Qon oqimi infeksiyalariga oid tizimli sharhlar tezkor molekulyar diagnostika va antimikrob vositalarni boshqarish dasturlarini birga qo‘llashning klinik ahamiyatini ta’kidlaydi [4, 5].

Diagnostik stewardship faqat testlar sonini kamaytirish emas, balki to‘g‘ri bemorga, to‘g‘ri vaqt va anatomik joyda, mos test buyurishni anglatadi. Masalan, ifloslangan yoki noto‘g‘ri olingan namunada juda sezgir molekulyar usul ham klinik jihatdan chalg‘ituvchi natija berishi mumkin. IDSA/ASM tavsiflagan namuna tanlash va mikrobiolog bilan klinitsist hamkorligi tamoyillari shu jihatdan tayanch mezondir [1].

Antibiotiklarga sezgirlikni aniqlash uchun izolyat olish imkoniyati bo‘lgan holatlarda klassik kulturani saqlab qolish ko‘pincha muhim. PCR yoki sekvenslash orqali faqat ayrim rezistentlik belgilarini aniqlash davolashga oid to‘liq fenotipik ma’lumot bermaydi. Bakteriya turi, infeksiya manbai, immun holat, oldingi antibiotik ta’siri va lokal epidemiologik ma’lumotlar ham birgalikda ko‘rib chiqilishi kerak [1, 4, 6].

Laboratoriya ish jarayonini tashkil qilish

Tahlil asosida natija tayyorlashning ketma-ket bosqichlarini ko‘rsatish mumkin: klinik savolni aniqlash, tegishli namuna olish, mikrobiologik ehtimollar bo‘yicha boshlang‘ich tekshiruvni tanlash, tezkor identifikatsiya va kulturani parallel yoki izchil qo‘llash, natijani verifikatsiya qilish hamda klinik jamoaga tez yetkazish. Bu ketma-ketlik muallifning manbalar asosidagi umumlashtirishi bo‘lib, mahalliy sharoitda validatsiya qilingan yangi protokol sifatida taqdim etilmaydi [1, 4, 5].

Joriy etish jarayonida uskunadan tashqari, mutaxassislar malakasi, ma’lumotlar bazasini yangilash, ichki sifat nazorati, bioinformatik pipeline versiyasi va ma’lumotlar xavfsizligi ham hisobga olinadi. Yuqori texnologiyali usulni tanlashdagi asosiy mezon uning laboratoriya ko‘rsatkichlarigina emas, klinik savolga qo‘shadigan va o‘z vaqtida yetkaziladigan foydasidir [1, 6].

Sharhning cheklovlari

Materiallar maqsadli tanlangan bo‘lib, tashxislar, namuna turlari va qurilma platformalarining barchasini qamrab olmaydi. Metodlarning klinik samarasi laboratoriyalar o‘rtasida farqlanadi; e’lon qilingan tarixiy tadqiqotlardagi raqamlarni bugungi mahalliy diagnostik samaradorlik sifatida qabul qilib bo‘lmaydi. O‘zbekiston yoki Andijondagi klinik laboratoriyalar bo‘yicha yangi natijalar olinmagan, narx-samaradorlik hisob-kitoblari bajarilmagan.

Xulosa

MALDI-TOF MS, multipleks PCR va metagenomik sekvenslash bakterial infeksiyalar diagnostikasining bir-birini to‘ldiruvchi yo‘nalishlaridir. MALDI-TOF MS kulturadan keyingi identifikatsiyani tezlashtiradi; multipleks PCR oldindan belgilangan nishonlar bo‘yicha erta axborot beradi; mNGS murakkab vaziyatlarda kengroq etiologik qidiruv imkonini yaratadi. Usullarni qo‘llashda ularning analitik chegaralari, namuna sifati va kontaminatsiya xavfi hisobga olinishi shart.

Eng maqbul yondashuv tegishli klinik vaziyatda tezkor testni kulturaviy va fenotipik tekshiruvlar bilan uyg‘unlashtirish hamda hisobotni klinik qarorga faol bog‘lashdan iborat. Mahalliy laboratoriyalarda bunday tizimning samaradorligini baholash uchun natijani yetkazish vaqti, takroriy testlar ulushi, davolash qaroriga ta’siri hamda sifat nazorati ko‘rsatkichlari keyingi tadqiqotlar mavzusi bo‘lishi mumkin.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the IDSA and ASM. Clin Infect Dis. 2024;ciae104. doi:10.1093/cid/ciae104.

2. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. Clin Microbiol Rev. 2013;26(3):547–603. doi:10.1128/CMR.00072-12.

3. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. Clin Chem. 2015;61(1):100–111. doi:10.1373/clinchem.2014.221770.

4. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, et al. Randomized trial of rapid multiplex polymerase chain reaction-based blood culture identification and susceptibility testing. Clin Infect Dis. 2015;61(7):1071–1080. doi:10.1093/cid/civ447.

5. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, et al. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis. 2017;64(1):15–23. doi:10.1093/cid/ciw649.

6. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. Nat Rev Genet. 2019;20(6):341–355. doi:10.1038/s41576-019-0113-7.

7. Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis. N Engl J Med. 2019;380(24):2327–2340. doi:10.1056/NEJMoa1803396.

8. Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease. Nat Microbiol. 2019;4(4):663–674. doi:10.1038/s41564-018-0349-6.

9. Rustamov M.M. Use of modern methods in teaching “information technology” in medical education. Science and Innovation. 2023;2(A7):30–33.

10. Rustamov M.M. Improving the methodology of teaching the subject “information technologies and modeling of technological processes” in an innovative educational environment. Science and Innovation. 2023;2(B7):58–61.

11. Rustamov M.M. Enhance students’ knowledge and skills with multimedia tools in an innovative educational environment. Science and Innovation. 2023;2(B10):43–45.

12. Rustamov M.M. Tibbiy ta’limda innovatsion ta’lim metodlari va ta’lim vositalaridan foydalanishning afzalliklari (Axborot texnologiyalari va jarayonlarni matematik modellashtirish faniga tatbiqi misolida). News of the NUUz. 2024;1(1.5.1):197–199.

13. Teshaboyeva G.M. Biofizika fanini o‘qitishda zamonaviy pedagogik dasturiy vositalardan foydalanish. Ustozlar uchun. 2025;83(1):88–91.

14. Teshaboyeva G.M. Biofizika fanida simulyatsion va VR texnologiyalaridan foydalanish. Ustozlar uchun. 2025;83(1):92–94.

15. Teshaboyeva G.M. Pedagogical and methodological opportunities for designing an adaptive learning environment in biophysics education using artificial intelligence technologies and learning analytics. Society and Innovations. 2026;7(5/S):159–165. doi:10.47689/2181-1415-vol7-iss5/s-pp159-165.