

MOLEKULYAR DIAGNOSTIKA VA PCR IMKONIYATLARI

Toshkent davlat tibbiyot universiteti o'qituvchisi

Aitmuratova Gauxar Abatovna

Toshkent davlat tibbiyot universiteti 1-Davolash fakulteti

2-kurs 212-A guruh talabalari

Izzatullayeva.Z.X, Odilova S.B, Umbetova E.Y,

Annotatsiya: Ushbu ilmiy maqolada molekulyar diagnostikaning zamonaviy mikrobiologiyadagi o'rni, ayniqsa polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) texnologiyasining imkoniyatlari tahlil qilinadi. PCR usuli patogen mikroorganizmlarni aniqlashda yuqori sezgirlik va spetsifiklikka ega bo'lib, infeksiya kasalliklarni erta tashxislash, epidemiologik monitoring va klinik qaror qabul qilish jarayonlarida muhim ahamiyat kasb etadi. Maqolada PCR texnologiyasining ishlash mexanizmi, uning turlari (real-time PCR, multiplex PCR, RT-PCR), qo'llanilish sohalari hamda afzallik va cheklovlari ilmiy manbalar asosida yoritilgan. Shuningdek, molekulyar diagnostikaning klinik mikrobiologiyaga integratsiyasi natijasida diagnostik samaradorlik oshgani ko'rsatib berilgan.

Kalit so'zlar: Molekulyar diagnostika, PCR, real-time PCR, mikrobiologiya, patogen aniqlash, amplifikatsiya, genetik markerlar.

Аннотация: В данной научной статье анализируется роль молекулярной диагностики в современной микробиологии, в частности возможности технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью и специфичностью при выявлении патогенных микроорганизмов и имеет важное значение для ранней диагностики инфекционных заболеваний, эпидемиологического мониторинга и принятия клинических решений. В статье на основе научных источников освещены механизм действия технологии ПЦР, её виды (real-time PCR, multiplex PCR, RT-PCR), области применения, а также

преимущества и ограничения. Кроме того, показано, что интеграция молекулярной диагностики в клиническую микробиологию повышает диагностическую эффективность.

Ключевые слова: Молекулярная диагностика, ПЦР, *real-time PCR*, микробиология, выявление патогенов, амплификация, генетические маркеры.

Abstract: *This scientific article analyzes the role of molecular diagnostics in modern microbiology, particularly the capabilities of polymerase chain reaction (PCR) technology. The PCR method demonstrates high sensitivity and specificity in detecting pathogenic microorganisms and plays a crucial role in the early diagnosis of infectious diseases, epidemiological monitoring, and clinical decision-making. Based on scientific sources, the article describes the mechanism of PCR technology, its types (real-time PCR, multiplex PCR, RT-PCR), fields of application, as well as its advantages and limitations. It also demonstrates that the integration of molecular diagnostics into clinical microbiology has improved diagnostic efficiency.*

Keywords: *molecular diagnostics, PCR, real-time PCR, microbiology, pathogen detection, amplification, genetic markers.*

So‘nggi o‘n yilliklarda mikrobiologik diagnostika an‘anaviy madaniyat usullaridan molekulyar biologiya asosidagi texnologiyalarga o‘tish bosqichini boshdan kechirmoqda. Klassik usullar ko‘pincha uzoq vaqt talab qilishi va ayrim mikroorganizmlarni o‘stirish qiyinligi sababli cheklangan bo‘lib qolmoqda [1]. Shu nuqtai nazardan, nuklein kislotalarni aniqlashga asoslangan molekulyar diagnostika infeksiyon kasalliklarni aniqlashda inqilobiy yondashuv sifatida e‘tirof etiladi [2].

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) 1983-yilda K. Mullis tomonidan ishlab chiqilgan bo‘lib, u DNK fragmentlarini *in vitro* sharoitda eksponensial ko‘paytirish imkonini beradi [3]. Bugungi kunda PCR klinik mikrobiologiya,

virusologiya, epidemiologiya va genetik tibbiyotda eng keng qo'llaniladigan usullardan biridir. Ushbu texnologiya patogenni madaniyatda o'stirmasdan turib aniqlash imkonini beradi, bu esa diagnostika vaqtini sezilarli darajada qisqartiradi [4].

Molekulyar diagnostikaning rivojlanishi, ayniqsa real-time PCR texnologiyasining paydo bo'lishi, nafaqat sifat, balki miqdoriy tahlilni ham amalga oshirish imkonini berdi. Bu esa virus yuklamasini aniqlash, antibiotiklarga chidamlilik genlarini topish va infeksiyon jarayon dinamikasini kuzatishda muhim ahamiyatga ega [5].

Mazkur maqola tizimli adabiyotlar tahliliga asoslangan bo'lib, molekulyar diagnostika va PCR texnologiyasiga oid xalqaro ilmiy manbalar o'rganildi. Tahlil jarayonida PubMed, Scopus va Web of Science bazalarida chop etilgan maqolalar tanlab olindi. Asosiy e'tibor PCR usulining nazariy asoslari, texnik imkoniyatlari va klinik qo'llanilish samaradorligini baholovchi tadqiqotlarga qaratildi.

PCR jarayoni uch asosiy bosqichdan iborat: denaturatsiya, primerlarning birikishi (annealing) va elongatsiya. Har bir sikl natijasida DNK nusxalari soni ikki barobar ortadi, bu esa qisqa vaqt ichida millionlab nusxalar olish imkonini beradi [3].

Tahlilda quyidagi PCR turlari ko'rib chiqildi:

- **Klassik (end-point) PCR** – amplifikatsiya mahsuloti reaksiya yakunida aniqlanadi.
- **Real-time PCR (qPCR)** – amplifikatsiya jarayoni real vaqt rejimida kuzatiladi va miqdoriy baholash imkonini beradi [6].
- **RT-PCR** – RNK viruslarini aniqlash uchun avval teskari transkripsiya amalga oshiriladi [7].
- **Multiplex PCR** – bir vaqtning o'zida bir nechta nishon genlarni aniqlash imkonini beradi [8].

Manbalar tanlashda ularning ilmiy ishonchliligi, sitatalanish darajasi va metodologik aniqligi mezon sifatida olindi.

Adabiyotlar tahlili PCR texnologiyasi mikrobiologik diagnostikada sezilarli ustunliklarga ega ekanini ko'rsatdi. Birinchidan, PCR usuli juda yuqori sezgirlikka ega bo'lib, hatto namunada juda kam miqdordagi patogen DNK yoki RNK mavjud bo'lsa ham uni aniqlay oladi [4]. Tadqiqotlarga ko'ra, PCR ayrim bakteriyalarni aniqlashda 10–100 genom nusxasigacha sezgirlikka erishadi [6].

Ikkinchidan, usulning spetsifikligi yuqori bo'lib, maxsus primerlar yordamida aniq mikroorganizmlarni farqlash mumkin. Bu ayniqsa klinik jihatdan o'xshash simptomlarga ega infeksiyalarni differensial diagnostika qilishda muhim [5].

Real-time PCRning joriy etilishi diagnostika jarayonini yanada optimallashtirdi. Ushbu usul amplifikatsiya mahsulotini real vaqt rejimida aniqlash orqali kontaminatsiya xavfini kamaytiradi va natijani tezroq olish imkonini beradi [6]. Masalan, SARS-CoV-2 ni aniqlashda real-time RT-PCR "oltin standart" sifatida qabul qilingan [9].

Multiplex PCR texnologiyasi bir vaqtning o'zida bir nechta patogenlarni aniqlash imkonini berib, ayniqsa respirator va ichak infeksiyalarida diagnostika samaradorligini oshiradi [8].

Shu bilan birga, PCRning ayrim cheklovlari ham aniqlangan. Uskuna va reagentlarning qimmatligi, yuqori malakali mutaxassis talab etilishi hamda kontaminatsiyaga sezuvchanlik muhim muammolar sifatida qayd etilgan [2].

Molekulyar diagnostika, xususan polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) texnologiyasining klinik mikrobiologiyaga keng joriy etilishi diagnostika paradigmasini tubdan o'zgartirdi. An'anaviy mikrobiologik usullar — bakteriologik ekish, mikroskopiya va biokimyoviy identifikatsiya — ko'pincha uzoq vaqt talab qilishi, ayrim patogenlarning o'stirilmasligi yoki sekin o'sishi bilan cheklangan edi. PCR texnologiyasi esa patogenning nuklein kislotasini to'g'ridan-to'g'ri aniqlash orqali diagnostika vaqtini bir necha kunlardan bir necha soatgacha qisqartirdi, bu esa klinik qaror qabul qilish tezligini sezilarli darajada oshirdi [1].

PCRning eng muhim ustunliklaridan biri uning yuqori analitik sezgirligidir. Ilmiy tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, optimal sharoitlarda PCR reaksiyasi namunadagi juda kam miqdordagi DNK yoki RNK fragmentlarini ham aniqlay oladi. Bu ayniqsa bakteriemiya, sepsis, virusli infeksiyalar va latent infeksiyalarni erta bosqichda aniqlashda muhimdir [4]. Yuqori sezgirlik klinik jihatdan foydali bo'lsa-da, u noto'g'ri musbat natijalar xavfini ham oshiradi. Kontaminatsiya, laboratoriya muhitida amplikonlarning tarqalishi yoki oldingi namunalar qoldig'i PCR natijalariga ta'sir qilishi mumkin. Shu sababli, zamonaviy laboratoriyalarda "yopiq tizim" real-time PCR platformalaridan foydalanish tavsiya etiladi [6].

Real-time PCR (qPCR) texnologiyasi molekulyar diagnostikaning rivojlanishida alohida bosqich bo'ldi. Ushbu usul amplifikatsiya jarayonini real vaqt rejimida monitoring qilish orqali nafaqat sifat, balki miqdoriy baholash imkonini beradi. Virusologiyada bu imkoniyat nihoyatda muhim, chunki virus yuklamasi (viral load) ko'pincha kasallik og'irligi va davolash samaradorligining asosiy biomarkeri hisoblanadi. Masalan, OIV infeksiyasida antiretrovirus terapiya samaradorligi aynan virus yuklamasining kamayishi bilan baholanadi [5]. Xuddi shunday, gepatit B va C viruslari monitoringida qPCR klinik protokollarning ajralmas qismi hisoblanadi.

COVID-19 pandemiyasi davrida PCR texnologiyasining global miqyosdagi ahamiyati yana bir bor tasdiqlandi. Real-time RT-PCR SARS-CoV-2 ni aniqlashda "oltin standart" sifatida qo'llanildi va butun dunyoda millionlab testlar aynan shu usul asosida bajarildi [9]. Pandemiya molekulyar diagnostika infratuzilmasini kengaytirish zaruratini ko'rsatdi va ko'plab mamlakatlarda laboratoriya quvvatlari sezilarli darajada oshirildi. Bu holat PCRning nafaqat klinik, balki epidemiologik xavfsizlik tizimidagi strategik rolini ham namoyon etdi.

Multiplex PCR texnologiyasi diagnostik samaradorlikni oshirishda muhim innovatsiya bo'ldi. Ushbu yondashuv bir vaqtning o'zida bir nechta patogen yoki genetik markerlarni aniqlash imkonini beradi. Respirator infeksiyalar paneli,

ichak patogenlari paneli va jinsiy yo'l bilan yuqadigan infeksiyalar paneli klinik amaliyotda keng qo'llanmoqda. Tadqiqotlar multiplex PCR qo'llanganda differensial diagnostika tezlashishi va keraksiz antibiotik qo'llash kamayishini ko'rsatgan [8]. Bu esa antimikrob rezistentlikka qarshi kurashda muhim ahamiyatga ega.

Shu bilan birga, PCR texnologiyasining ayrim metodologik va klinik cheklovlari mavjud. Eng muhim muammolardan biri — usul tirik va o'lik mikroorganizmlarni farqlay olmasligidir. Masalan, antibiotik terapiyasidan keyin bemor namunalari mikroorganizmlar nobud bo'lgan bo'lsa ham, ularning DNK fragmentlari ma'lum vaqt saqlanib qolishi mumkin va PCR musbat natija berishi mumkin [2]. Bu holat davolash samaradorligini baholashda noto'g'ri talqinlarga olib kelishi ehtimoli bor.

Namuna olish va preanalitik bosqich ham PCR natijalariga sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Klinik namunani noto'g'ri olish, transport muhitining mos kelmasligi yoki RNK degradatsiyasi, ayniqsa virus diagnostikasida, soxta manfiy natijalarga sabab bo'lishi mumkin. Shu bois xalqaro qo'llanmalarda namunalarni standartlashtirilgan protokollar asosida yig'ish va saqlash qat'iy tavsiya etiladi [12].

Iqtisodiy jihat ham muhokama talab qiladigan muhim omildir. PCR uskunalari, floresan zondlar va yuqori sifatli reagentlar nisbatan qimmat bo'lib, resurslari cheklangan laboratoriyalar uchun joriy etish murakkab bo'lishi mumkin. Biroq sog'liqni saqlash iqtisodiyoti bo'yicha tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, tezkor va aniq diagnostika ko'pincha umumiy davolash xarajatlarini kamaytiradi, chunki u noto'g'ri terapiya, ortiqcha antibiotik qo'llash va kasalxonada yotish muddatini qisqartiradi [4].

So'nggi yillarda raqamli PCR (digital PCR, dPCR) texnologiyasi molekulyar diagnostikaning yangi bosqichi sifatida paydo bo'ldi. dPCR namunani minglab yoki millionlab mikroreaksiyalarga bo'lish orqali mutlaq miqdoriy aniqlash imkonini beradi va standart egri chiziqqa ehtiyojni yo'qotadi.

Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, dPCR past konsentratsiyali nuklein kislotalarni aniqlashda qPCRga nisbatan yuqori aniqlikka ega [10]. Bu texnologiya minimal qoldiq kasallikni aniqlash, transplantatsiya monitoringi va onkologik mutatsiyalarni topishda istiqbolli yo'nalish hisoblanadi.

PCR asosidagi diagnostikaning yana bir muhim yo'nalishi — antibiotiklarga chidamlilik genlarini aniqlashdir. Metitsillin-rezistent *Staphylococcus aureus* (MRSA), karbapenemaza ishlab chiqaruvchi enterobakteriyalar va boshqa rezistent patogenlarni tez aniqlash klinik infeksiya nazorat choralari o'z vaqtida ko'rishga yordam beradi. Molekulyar skrining kasalxona ichki infeksiyalarining oldini olishda muhim vosita sifatida e'tirof etilmoqda [12].

Kelajak istiqbollari nuqtai nazaridan, PCR texnologiyasi boshqa innovatsion platformalar bilan integratsiyalashib bormoqda. Izotermik amplifikatsiya usullari, xususan LAMP, murakkab termotsiklersiz ishlash imkonini berib, "point-of-care" diagnostika uchun qulaylik yaratmoqda [11]. Bundan tashqari, CRISPR/Cas tizimlariga asoslangan nuklein kislota aniqlash texnologiyalari yuqori spetsifiklik va tezkorlikni ta'minlash imkoniyatiga ega bo'lib, molekulyar diagnostikaning keyingi evolyutsion bosqichi sifatida qaralmoqda.

Shuningdek, laboratoriya avtomatlashtirilishi va bioinformatika integratsiyasi PCR diagnostikasining samaradorligini yanada oshirmoqda. Yuqori o'tkazuvchan platformalar (high-throughput) bir vaqtning o'zida minglab namunalarni qayta ishlash imkonini berib, ommaviy skrining dasturlarini amalga oshirishni osonlashtirdi. Bu ayniqsa pandemiya sharoitida muhim ahamiyat kasb etdi.

Umuman olganda, mavjud ilmiy dalillar PCR texnologiyasi zamonaviy mikrobiologiyada yuqori diagnostik qiymatga ega ekanini tasdiqlaydi. Biroq maksimal klinik foydaga erishish uchun laboratoriya sifat nazorati, standartlashtirish, mutaxassislar malakasini oshirish va natijalarni klinik

kontekstda to'g'ri talqin qilish zarur. Molekulyar diagnostikaning kelgusi rivoji uning arzonlashuvi, miniaturizatsiyasi va klinik qarorlarni qo'llab-quvvatlovchi raqamli tizimlar bilan integratsiyasiga bog'liq bo'ladi.

Xulosa

Molekulyar diagnostika, xususan PCR texnologiyasi, mikrobiologik tashxis qo'yishda yuqori samaradorlikni ta'minlovchi zamonaviy usul hisoblanadi. Uning asosiy afzalliklari — yuqori sezgirlik va spetsifiklik, tezkor natija olish imkoniyati hamda keng qo'llanish doirasidir. Real-time PCR va multiplex PCR kabi modifikatsiyalar diagnostik imkoniyatlarni yanada kengaytirdi.

Shu bilan birga, usulning iqtisodiy va texnik cheklovlari, shuningdek kontaminatsiya xavfi mavjud. Kelgusida yangi molekulyar texnologiyalar bilan integratsiya PCR asosidagi diagnostikaning yanada takomillashishiga xizmat qiladi. Klinik amaliyotda PCRdan oqilona va standartlashtirilgan tarzda foydalanish infeksiyon kasalliklarni erta aniqlash va samarali davolashda muhim omil bo'lib qoladi.

Foydalangan adabiyotlar ro'yxati

1. Mackay I.M., Arden K.E., Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research*, 2002, Vol. 30(6), pp. 1292–1305.
2. Niemz A., Ferguson T.M., Boyle D.S. Point-of-care nucleic acid testing. *Trends in Biotechnology*, 2011, Vol. 29(5), pp. 240–250.
3. Mullis K., Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 1987, Vol. 155, pp. 335–350.
4. Yang S., Rothman R.E. PCR-based diagnostics for infectious diseases. *The Lancet Infectious Diseases*, 2004, Vol. 4(6), pp. 337–348.
5. Kubista M. et al. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 2006, Vol. 27(2–3), pp. 95–125.
6. Heid C.A. et al. Real time quantitative PCR. *Genome Research*, 1996, Vol. 6(10), pp. 986–994.

7. Corman V.M. et al. Detection of novel coronavirus by real-time RT-PCR. *Euro Surveillance*, 2020, Vol. 25(3), pp. 1–8.
8. Elnifro E.M. et al. Multiplex PCR: optimization and application. *Clinical Microbiology Reviews*, 2000, Vol. 13(4), pp. 559–570.
9. Lu R. et al. Genomic characterisation of SARS-CoV-2. *The Lancet*, 2020, Vol. 395(10224), pp. 565–574.
10. Hindson B.J. et al. High-throughput droplet digital PCR system. *Analytical Chemistry*, 2011, Vol. 83(22), pp. 8604–8610.
11. Notomi T. et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 2000, Vol. 28(12), pp. e63.
12. van Belkum A. et al. Molecular diagnostics in clinical microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*, 2013, Vol. 19(11), pp. 101–107.