

Mövzu 4

BAKTERİYALARIN GENETİKASI.

ANTIMİKROB PREPARATLAR, TƏSİR

MEXANİZMLƏRİ VƏ TƏTBİQİ QAYDALARI.

MİKROORQANİZMLƏRİN ANTİBİOTİKLƏRƏ

DAVAMLILIĞI. MİKROORQANİZMLƏRİN

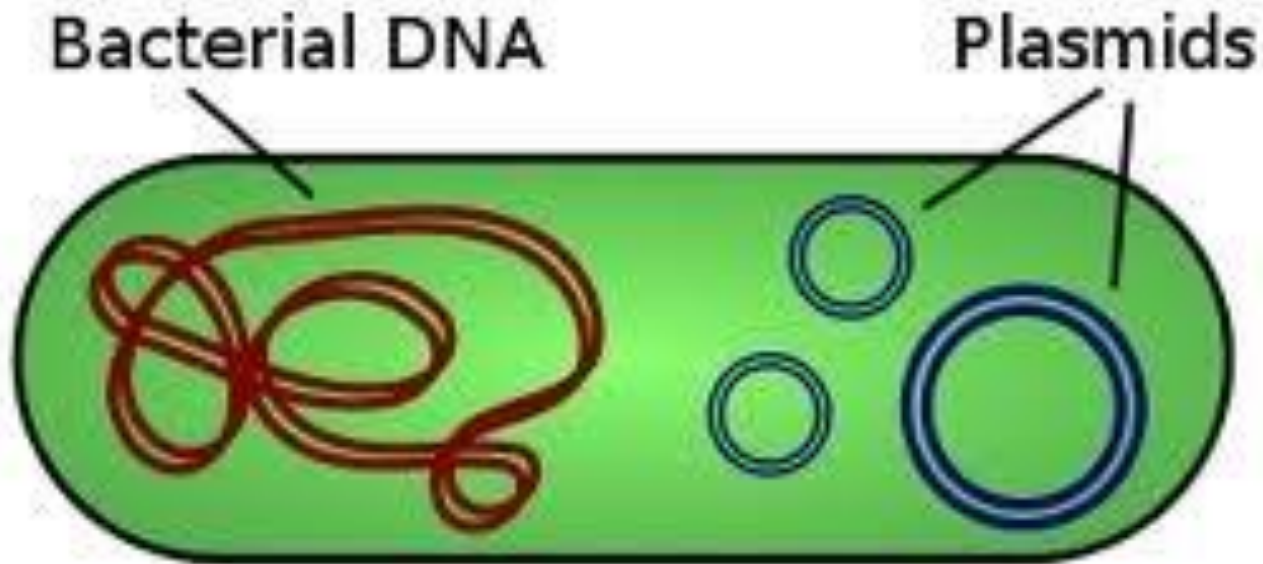
ANTİBİOTİKLƏRƏ HƏSSASLIĞININ TƏYİNİ.

Bakteriyaların genetikası

Bakteriyalarda genetik aparatın təşkili

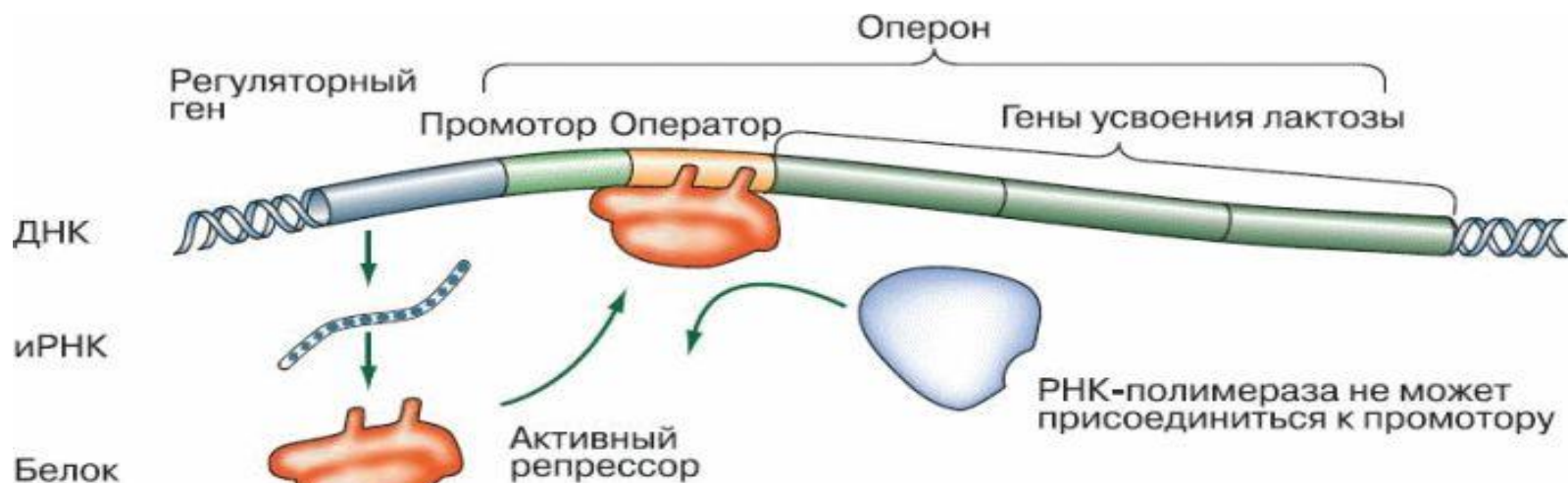
- Bakteriyalarda irsi məlumatlar həm **nukleoid (xromosom)** DNT-də, həm də, xromosomdan kənar strukturlarda - **plazmidlərdə**, eləcə də **miqrasiya edən genetik elementlərdə** saxlanılır.
- İrsiyyətin maddi əsasını DNT təşkil edir. Belə ki, orqanizmin bütün əlamətləri DNT molekulunda nukleotidlər ardıcılığı şəklində saxlanılır.
- Yalnız bəzi viruslarda (RNT tərkibli viruslar) irsi məlumat RNT molekullarında saxlanılır.
- Məlum olduğu kimi DNT molekulu spiral şəkilli iki sapdan (zəncirdən) ibarətdir. DNT molekulunun hər bir zənciri nukleotidlərdən təşkil olunmuşdur.

Bakteriyalarda genetik aparatın təşkili

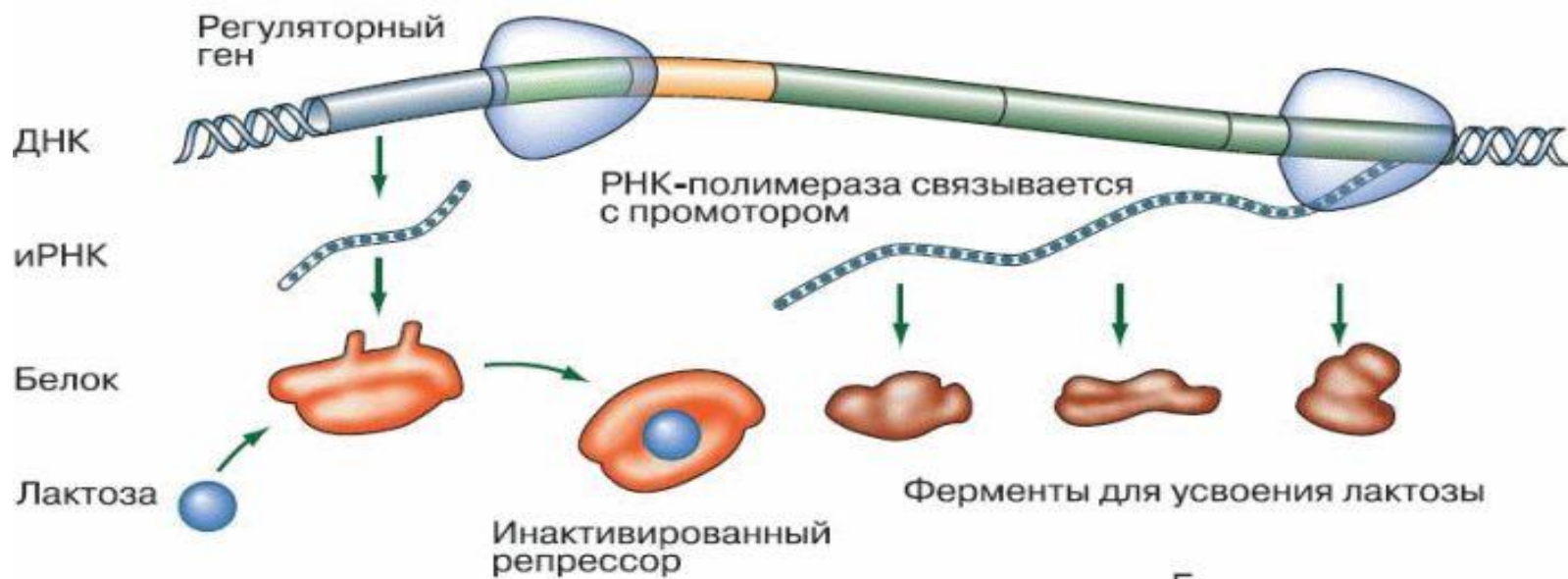


Genlər

- DNT molekulunda bir zülalın (maddənin) sintezini kodlaşdıran hissə **gen** adlanır. Orqanizmin bütün əlamətləri onun xromosomundakı genlərdə kodlaşdırılmış olur.
- Funksiyasına görə struktur və requlyator genlər fərqləndirilir. **Struktur genlər** konkret bir zülalın quruluşu haqqında məlumat daşıyır, **requlyator genlər** isə struktur genlərin işini tənzimləyir.



А



Б

Bakteriya nukleoidi

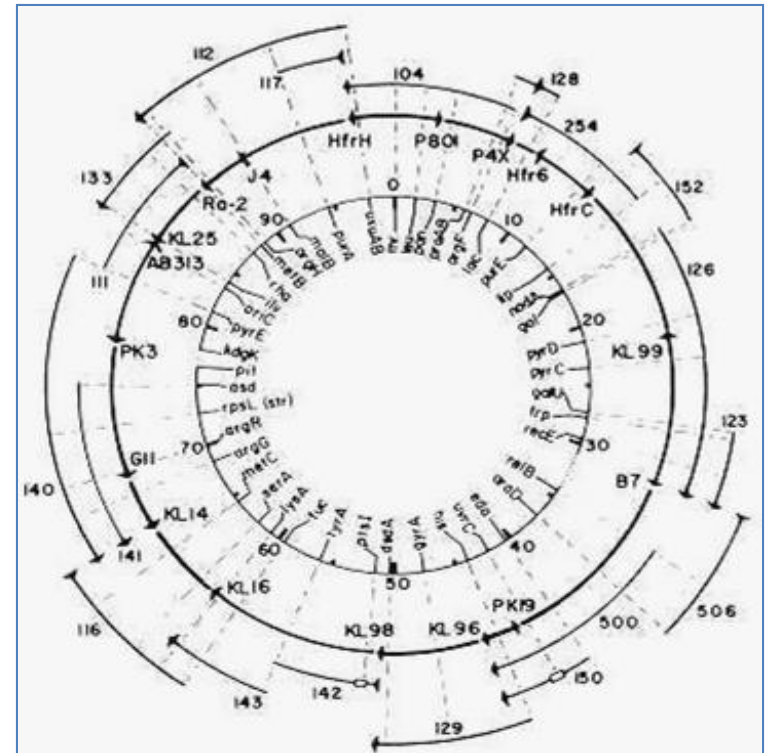
- Bakteriyalarda **nukleoid** 4000-ə qədər gendən ibarət bir həlqəvi xromosomdan ibarətdir, yəni bakteriya hüceyrəsi **haploiddir**, xromosomun ikiləşməsi bütün hallarda onun bölünməsinə müşayiət edir.
- İnkişaf etməkdə (bölünməkdə) olan bakteriya hüceyrələrində xromosomların miqdarı adətən 2-4, bəzən isə hətta 10-15-ə qədər ola bilər. Bakteriya hüceyrəsinin adi xromosomunun molekulu təqribən 5×10^6 nukleotid cütündən ibarətdir (müqayisə üçün, insan genomu $2,9 \times 10^9$ nukleotid cütündən ibarətdir). Bakteriya hüceyrəsinin (*Escherichia coli*) xromosomunun uzunluğu açılmış vəziyyətdə təqribən 1mm-ə qədər olur.

Genotip

- Hüceyrənin bütün genlərinin toplusu onun irsi əlamətlərini - ***genotipini*** təyin edir.
- Hər hansı bir maddənin sintezini təmin edən genlər müvafiq maddənin adının başlanğıc kiçik hərfləri ilə işarə edirlər. Məsələn, arginin amin turşusunun geni *arg*⁺, laktaza fermentinin geni isə *lac*⁺ kimi göstərilir.
- Antibiotiklərə və faqlara həssaslıq *s* (*sensitive* - həssaslıq) hərfi ilə, rezistentlik isə *r* (*resistance* - davamlı) hərfi ilə işarə edilir. Məsələn, streptomisinə həssaslıq geni *str*^s, davamlılıq geni isə *str*^r kimi göstərilir.

Genetik xəritə

- Genetik analiz vasitəsilə mikroorqanizmlərin xromosomunda genlərin yerləşməsi – lokalizasiyası təyin edilir və bunun əsasında **genetik xəritə** hazırlanır.
- Genetik xəritə xromosomun həlqəvi təsvirindən ibarət olur ki, bunun üzərində bütün genlərin lokalizasiyası göstərilir.



Fenotip

- Genotipdən fərqli olaraq *fenotip* ancaq müşahidə edilən xarici əlamətləri ifadə edir.
- Fenotip genotipdən asılı olaraq dəyişilə bilər. Genotipin fenotipdəki təzahürü *ekspressiya* adlanır. Lakin genotip özünü heç də həmişə fenotipdə göstərmir, yəni ekspresiya olunmur.
- Bakteriyalarda fenotip də genotip kimi işarə edilir, lakin fenotipin adı böyük hərflə yazılır. Məsələn, *arg*⁺ genotipinə *Arg*⁺ fenotipi, *lac*⁺ genotipinə isə *Lac*⁺ fenotipi uyğundur.

Xromosomdan kənar genetik elementlər

- Bəzi bakteriyalarda xromosomdan kənar elementlərə - *plazmidlərə*, eləcə də *miqrasiya edən genetik elementlərə* rast gəlinir.
- Bunlar mikrob hüceyrəsi üçün həyati əhəmiyyətə malik deyil, yalnız onların dəyişkənliyini və xarici mühit şəraitinə uyğunlaşmanı təmin edir.

Plazmidlər

- **Plazmidlər** bakterianın xromosomdan kənar DNT molekulları olmaqla təqribən 40-50 gəndən ibarət olur (1000 - 400000-600000 nukleotid cütü).
- Bəzi plazmidlər həlqəvi şəkildə bakterianın sitoplazmasında sərbəst yerləşirlər (***episomlar***), bəziləri isə xromosoma birləşmiş şəkildə olurlar ki, bunlara ***inteqrasiya olunmuş plazmidlər*** deyilir.

Plazmidlər aşağıdakı xüsusiyyətlərə malikdirlər:

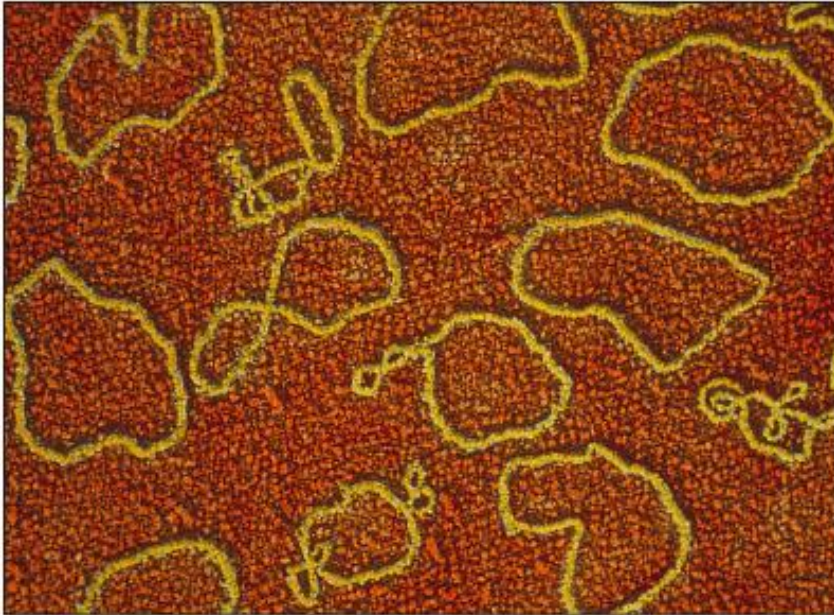
- Xromosomdan kənar kiçik DNT molekullarıdır;
- Xromosomdan asılı olmadan çoxalırlar;
- Bir bakteriyadan digər bakteriyaya ötürülə bilirlər;
- Qapalı həlqə və xətti formada ola bilirlər;

Plazmidlər

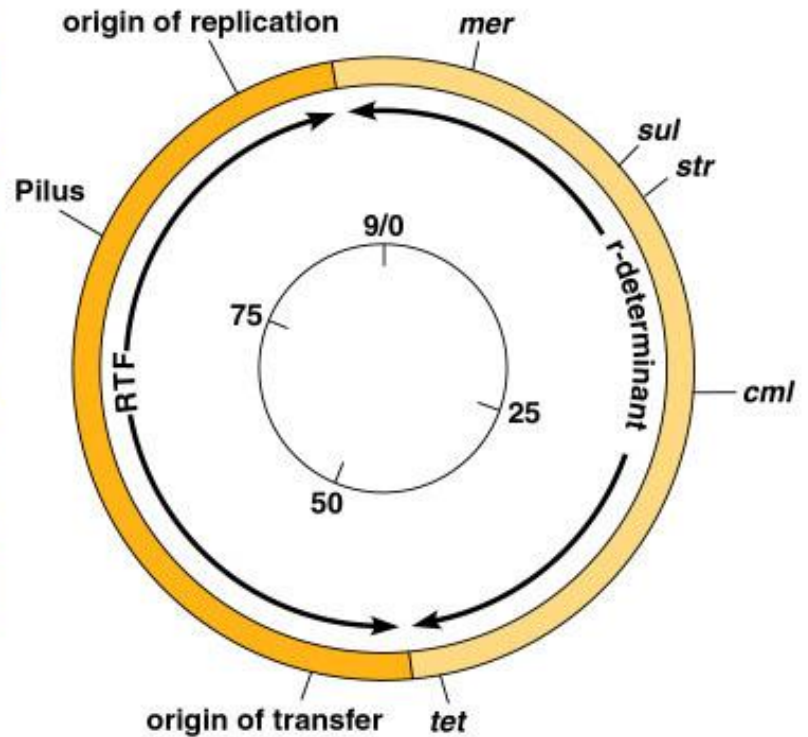
Plazmidlər bakteriyaların irsi aparatının bir hissəsi olmaqla onlara antimikrob preparatlara qarşı davamlılıq, toksin əmələ gətirmə, bakteriosinlərin sintezi və bu kimi başqa xüsusiyyətlər verə bilər. Göstərilən maddələrin sintezini təmin edən genlər plazmidlərdə yerləşir.

- ***F-plazmidlər*** (ingiliscə, *fertility* – *nəsilvermə*) – konyuqasiyada iştirak edir
- ***R-plazmidlər*** (ingiliscə, *resistance* - *davamlı*) - əsasən dərman preparatlarına qarşı davamlılığı təmin edir
- ***tox⁺-plazmidlər*** - ekzotoksinlərin (məsələn, difteriya və botulizm protoksinlərinin) sintezini təmin edir
- ***Col⁺-plazmidlərlər*** - E.coli -nin kolisini və digər bakteriosinlərin sintezini təmin edir

Plazmidlør



(a)



(b)

Miqrasiya edən genetik elementlər

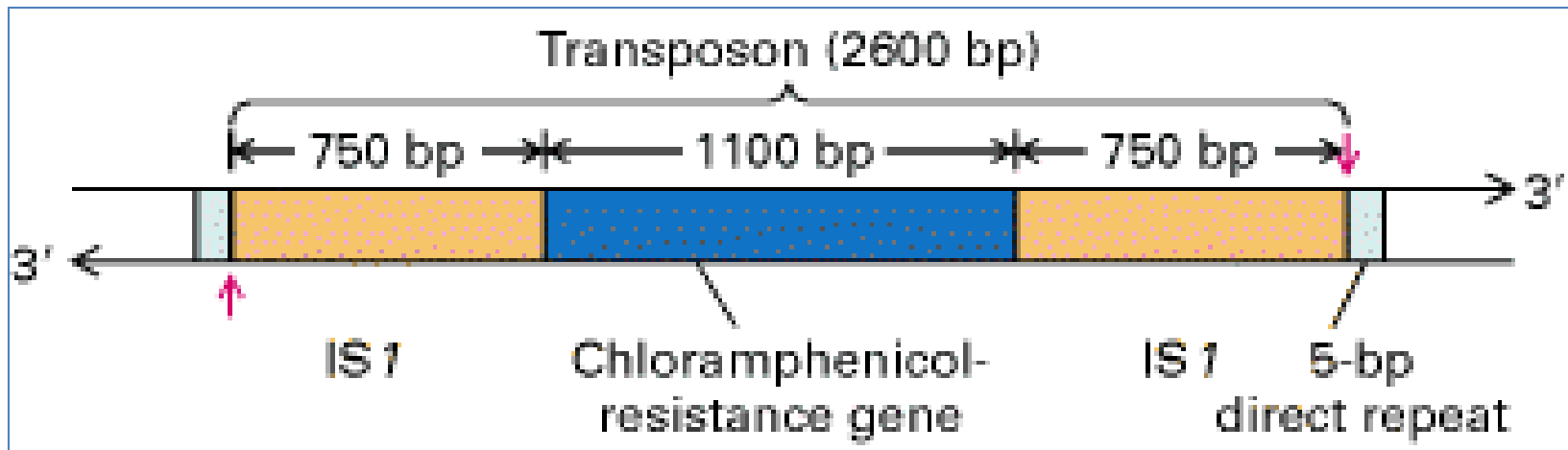
- DNT molekulunun kiçik fraqmentlərindən ibarət olaraq bir xromosomdan digərinə, eləcə də xromosomdan plazmidə və ya əksinə olaraq ***miqrasiya etmək (transpozisiya) xüsusiyyətinə*** malikdirlər.
- Bu xüsusiyyət miqrasiya edən elementlərdə xüsusi rekombinasiya fermentinin – ***transpozazanın*** olması ilə əlaqədardır.
- Miqrasiya edən genetik elementlərə
 - insersiya elementləri (IS-elementlər),
 - transpozonlar (Tn-elementlər),
 - qüsurlu faqlar aiddir.

İS-elementlər

- ***Inseriya elementləri, yaxud İS-elementlər*** (ingiliscə, *insertion sequence* – *araya girən ardıcılıq*) miqrasiya edən genetik elementlərin ən sadəsidir.
- Təqribən 1500 nukletid cütündən ibarət olan İS-elementlər bir sahədən digər bir sahəyə yerdəyişmək qabiliyyətinə malikdirlər.
- Onların tərkibinə ancaq öz yerdəyişməsinə təmin edən genlər daxil olur. Bunlar sərbəst replikasiya qabiliyyətinə malik deyillər, ona görə də sərbəst halda aşkar edilmirlər.

Transpozonlar

- **Transpozonlar (Tn-elementlər).** Bunlar 2000-25000 nukletid cütündən ibarət DNT fraqmentləridir.
- Tərkibinə spesifik struktur gen və iki IS-element daxildir.
- Transpozonun tərkibində olan struktur gen bakteriya hüceyrəsinə müəyyən əlamət, əsasən antibakterial agentlərə qarşı çoxsaylı davamlılıq, toksin əmələ gətirmə və s. xassələr verə bilər.
- Bakteriya hüceyrəsinə daxil olduqda onlar duplikasiya, orada yerlərini dəyişdikdə isə delesiya və inversiya törədirlər



Bakteriyalarda dəyişkənliyin növləri

- **Qeyri-irsi dəyişkənlik (modifikasiya).** Buna bəzən fenotipik dəyişkənlik də deyirlər, belə ki, bu zaman genotip deyil, ancaq fenotiplə əlaqədar olan dəyişkənliklər baş verir.
- **İrsi dəyişkənlik.** Genotiplə əlaqədar olduğundan buna bəzən genotipik dəyişkənlik də deyilir. Mikroorqanizmlərdə irsi dəyişkənlik ***mutasiya və genetik rekombinasiyalar*** nəticəsində baş verə bilər

Modifikasiya

- Modifikasiya nəticəsində mikroorqanizmlərin morfoloji, kultural, biokimyəvi və s. kimi müxtəlif xüsusiyyətlərində dəyişəkənliklər baş verə bilər.
- ***Morfoloji xüsusiyyətlərdə*** modifikasiya dəyişkənliyi özünü mikrob hüceyrələrinin forma və ölçülərinin dəyişməsi ilə göstərə bilər
- Modifikasiya dəyişkənliyi özünü ***mikroorqanizmlərin kultural əlamətlərində*** də göstərə bilər.
- Modifikasiya dəyişkənliyi ***mikroorqanizmlərin biokimyəvi (fermentativ) xassələrində*** də ifadə oluna bilər.
- Modifikasiyanın standart təzahürü bəzi mikroorqanizm populyasiyalarında özünü ***dissosiasiya*** kimi göstərir.

Dissosiasiya

- Dissosiasiya dəyişkənliyinin mahiyyəti ondan ibarətdir ki, bəzi bakteriyaları bərk qidalı mühitlərdə kultivasiya etdikdə müxtəlif (iki və ya daha artıq) tipli koloniyalar əmələ gətirirlər
- Bunların bəziləri hamar olduğu üçün onları ***S-koloniyalar*** (ingiliscə, *smooth*-hamar), qırıxıq koloniyaları isə ***R-koloniyalar*** (ingiliscə *rough* – kələ-kötür) adlandırırlar.
- Dissosiasiya nəticəsində bəzən aralıq formalara - selikli ***M-koloniyalara*** (ingiliscə, *mucoid* – selikli), çox kiçik ***D-koloniyalara*** (ingiliscə, *dwarf* – çox kiçik, cırtdan) da rast gəlinir.

R - S dissosiasiya

- S-koloniyaalar müəyyən şəraitdə R-koloniyalara və əksinə çevrilə bilərlər, lakin R-formanın S-formaya çevrilməsi daha az müşahidə edilir.
- İnsan üçün patogen olan bakteriyaların əksəriyyəti S-koloniyaalar əmələ gətirir, lakin *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis* və s. istisnaq təşkil edir.



S- və R-koloniyalardan olan mikroorqanizmlərin müqayisəli xarakteristikası

S-koloniya	R-koloniya
Koloniya hamar, parlaq, düzgün qabarıq formalıdır	Koloniya qeyri-düzgün, bulanıq və qırıqdır
Bulyonda bulanıqlıq əmələ gətirir	Bulyonda çöküntü əmələ gətirir
Hərəkətli növlərdə flagellalar olur	Flagellalar olmaya bilər
Kapsulalı növlərdə kapsula olur	Kapsula olmur
Biokimyəvi cəhətdən aktivdirlər	Biokimyəvi xassələri zəifdir
Patogen bakteriyalar yüksək virulentlidirlər	Virulentlikləri zəifdir
Əsasən xəstəliyin kəskin fazasında təcrid olunurlar	Adətən xəstəliyin xroniki formalarında təcrid olunurlar

İrsi dəyişkənlik

- Genotiplə əlaqədar olduğundan buna bəzən genotipik dəyişkənlik də deyilir.
- Mikroorqanizmlərdə irsi dəyişkənlik ***mutasiya və genetik rekombinasiyalar*** nəticəsində baş verə bilər.

Mutasiya

- **Mutasiya** (latınca, *mutatio* - dəyişmək) – xromosomlarda və genlərdə baş verən irsi dəyişkənlikdir. Mutasiya nəticəsində hər hansı bir əlamətin itirilməsi və ya əksinə olaraq qazanılması baş verir. Bir qayda olaraq bu dəyişkənlik sonrakı nəsillərə ötürülür.
- ***Təbii (vəhşi) ştammdan*** fərqləndirmək üçün mutasiya nəticəsində yaranan ştammi ***mutant ştamm*** adlandırılır.

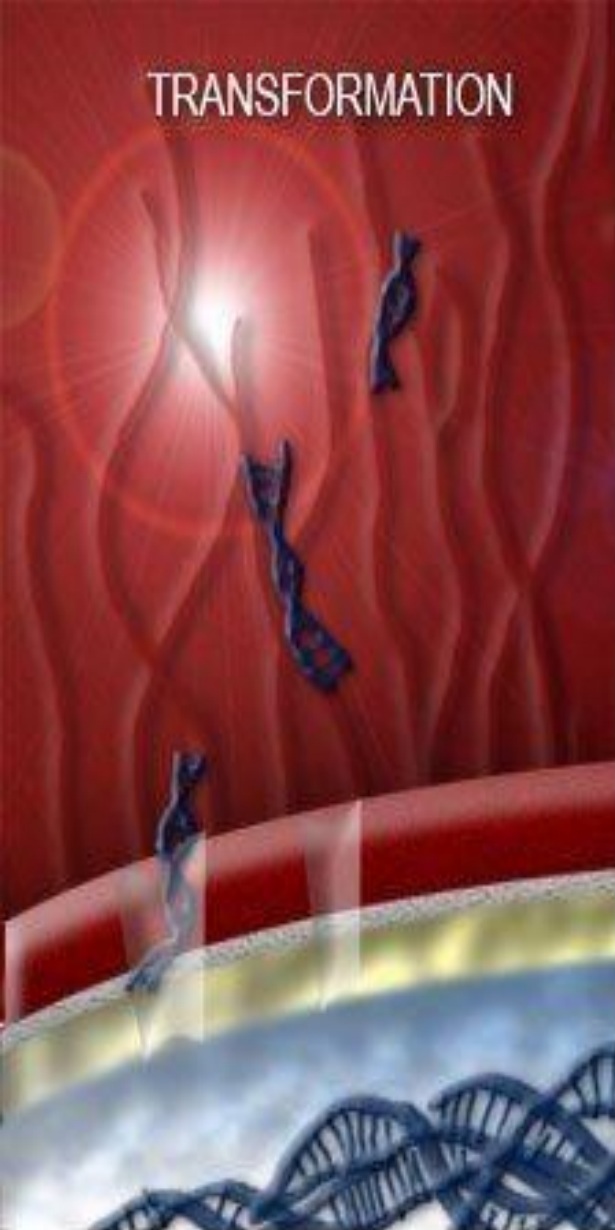
Mutasiyalar

- ***Spontan mutasiyalar***
 - *geri dönən mutasiya*, yaxud *reversiya*
- ***induktiv mutasiyalar***
 - ***mutagenlər*** (kimyəvi maddələr, şüalar – ultrabənövşəyi, rentgen, ionlaşdırıcı və s.)
- ***Nöqtəvi (gen) mutasiyaları***
 - ***freymşift*** (ing. *frame* - çərçivə, *şift* - dəyişiklik) ***mutasiyalar***
 - ***missens*** (ing. *mis* - yanlış, *sens* - məna) ***mutasiyalar***
 - ***nonsens*** (ing. *non* - inkar bildirən ön şəkilçi, *sens* - məna) ***mutasiyalar***
- ***Xromosom mutasiyaları (delesiya, inversiya, duplikasiya)***
- ***Fenotipik nəticələrinə görə - neytral mutasiyalar, şərti-letal mutasiyalar, letal mutasiyalar***

Genetik rekombinasiyalar

- Gen mübadiləsi iki mikroorqanizm hüceyrəsi arasında irsi məlumatın - genlərin ötürülməsi vasitəsilə reallaşır. Bu zaman irsi informasiyanı verən fərd **donor**, qəbul edən isə **resipient** adlanır.
- Rekombinasiya nəticəsində resipient hüceyrəyə donor xromosomu bütövlüklə deyil, onun ancaq müəyyən hissəsi ötürülür. Bu, natamam ziqotanın – **meroziqotanın** yaranmasına səbəb olur.
- Rekombinasiya prosesində resipient hüceyrə **rekombinant** hüceyrəyə çevrilir. Beləliklə, rekombinant hüceyrənin genotipi tərkibində donorun müəyyən genləri olan resipient genotipindən ibarət olur.
- Genetik materialın bir bakteriya hüceyrəsindən digərinə ötürülməsi **transformasiya, transduksiya və konyuqasiya** yolu ilə baş verir.

TRANSFORMATION



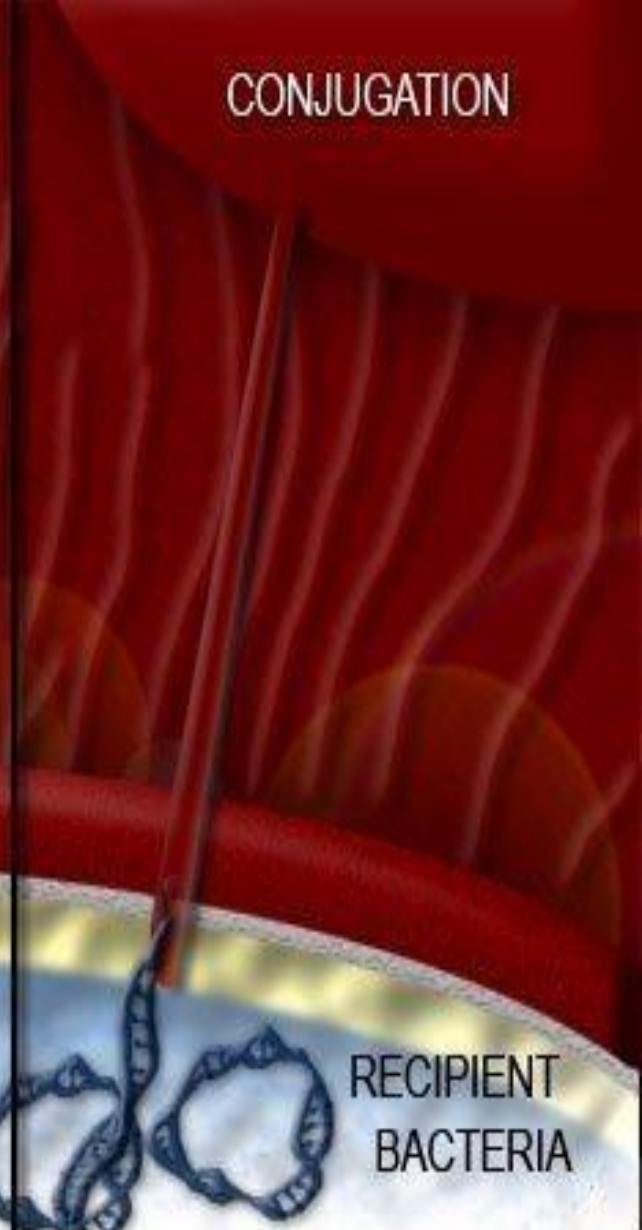
Transformation involves uptake of short fragments of naked DNA by naturally transformable bacteria.

TRANSDUCTION



Transduction involves transfer of DNA from one bacterium into another via bacteriophages

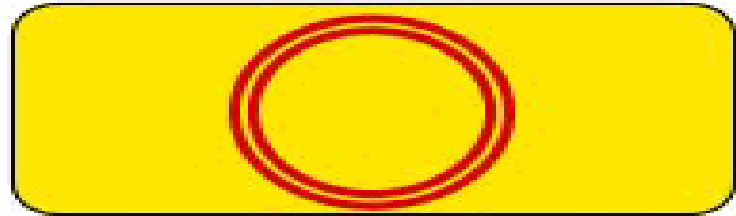
CONJUGATION



Conjugation involves transfer of DNA material via sexual pilus and requires cell-to-cell contact

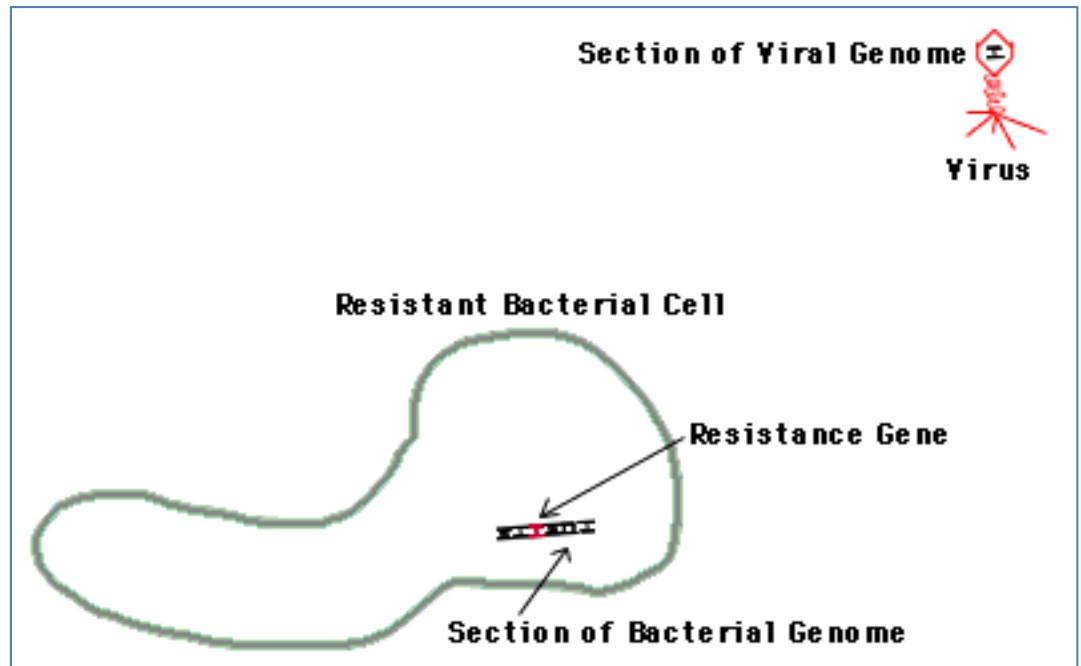
Transformasiya

Transformasiya -
donorun genetik
materialının
(DNT-nin) heç bir
vasitə olmadan
birbaşa resipient
hüceyrəyə
ötürülməsinə
deyilir



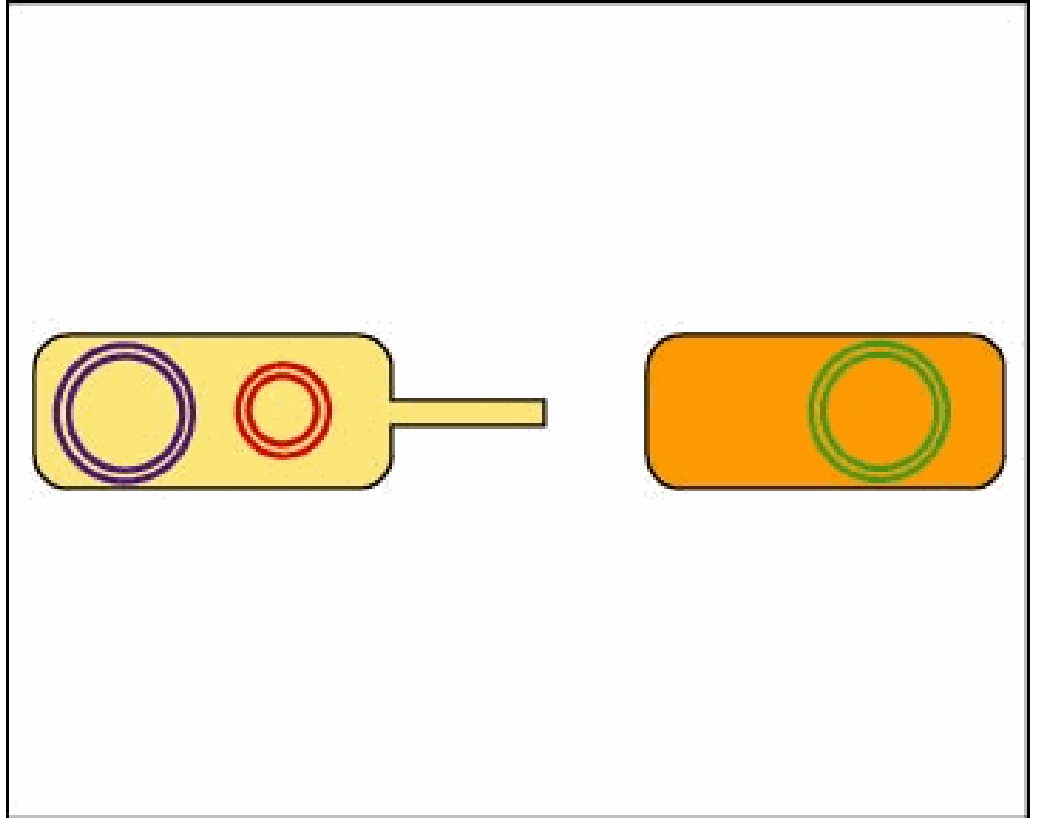
Transduksiya

Transduksiya –
genetik materialın
(DNT molekulunun
bir hissəsinin)
bakteriofaqlar
vasitəsilə donör
hüceyrəsindən
resipientə
ötürülməsinə deyilir



Konyuqasiya

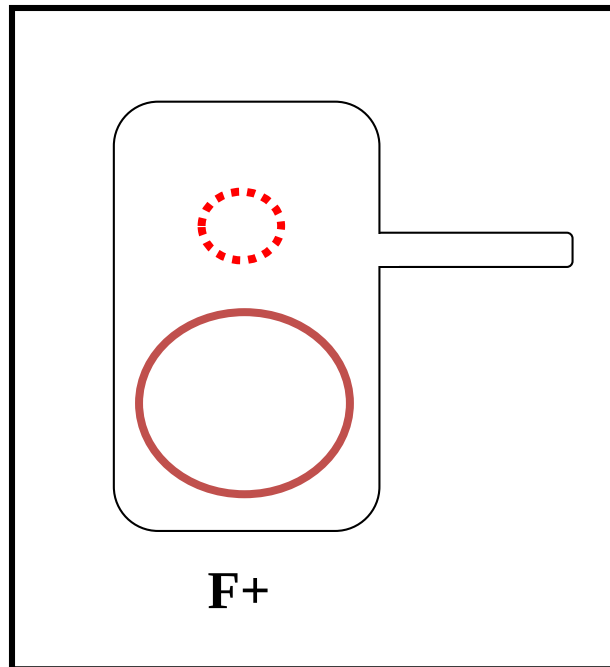
Konyuqasiya - genetik materialın ötürülməsinin ən çox rast gəlinən mexanizmidir. Bu zaman genetik material donordan resipientə bilavasitə təmas vasitəsilə ötürülür.



Konyuqasiya

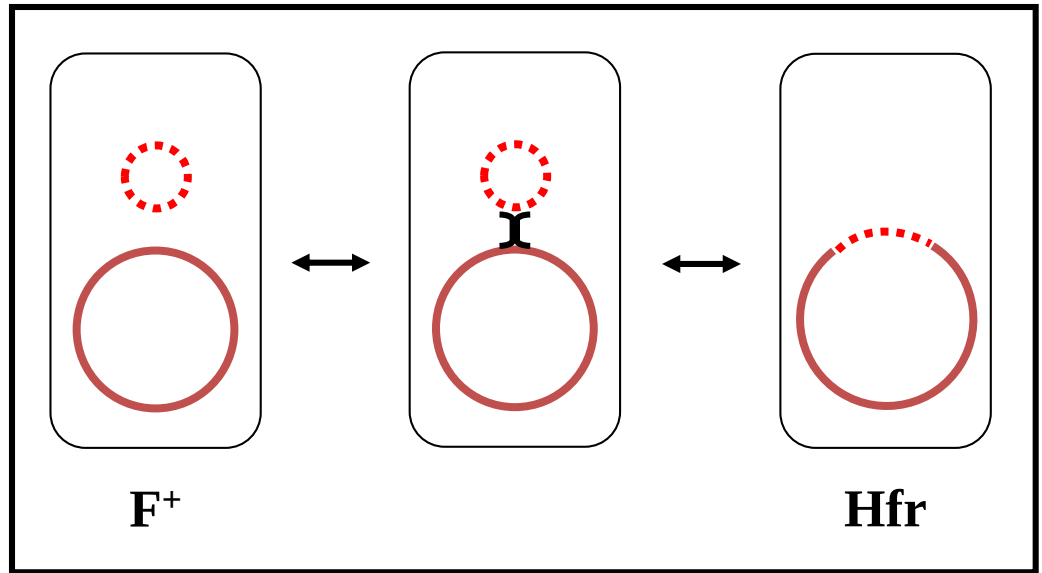
- Konyuqasiya prosesi də digər rekombinasiyalar kimi iki tip hüceyrənin olmasını tələb edir. Bu zaman donor **F-plazmidinə**, yaxud **F-amilinə** (ingiliscə, *fertility* – nəsilvermə) malik olmalıdır, bu hüceyrə F^+ adlanır. Resipient hüceyrədə bu amil olmadığından o, F^- kimi işarə edilir.
- Konyuqasiya prosesində F-amil donor xromosomundan asılı olmadan demək olar ki, bütün hallarda resipient hüceyrəyə ötürülür.
- F-amil malik olduğu hüceyrədə cinsi, yaxud konyuqativ pililərin (F-pili, seks-pili) əmələ gəlməsini kodlaşdıran genlərə malik olur.
- Konyuqasiyadan sonra resipient hüceyrə F^+ -hüceyrəyə çevrilir ki, bu da F-amili digər F^- -hüceyrələrə ötürə bilər.

F⁺ hücyrə



Hfr-ştammlar

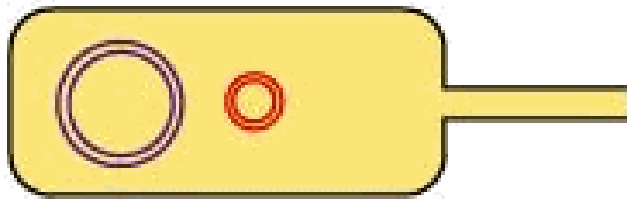
F-plazmidi bakteriya xromosomuna integrasiya etdikdə yüksək rekombinasiya qabiliyyətinə malik və **Hfr** (ingiliscə, *high frequency of recombinations* – yüksək rekombinasiya tezliyi) kimi işarə edilən ştammlar əmələ gəlir



Hfr-ştammla F⁻ hüceyrə arasında konyuqasiya

- Hfr-ştammla F⁻-hüceyrə arasında konyuqasiya prosesində F-amil bir qayda olaraq ötürülmür, bakteriya xromosomları isə yüksək tezliklə ötürülür.
- Beləliklə, bu cür konyuqasiyadan sonra ***resipient yenə də F⁻-hüceyrə olaraq qalır.***
- ***Hfr-konyuqasiya*** zamanı xromosom DNT replikasiya olunur, nəticədə əmələ gəlmiş DNT surətinin bir zənciri resipient F⁻-hüceyrəyə ötürülür, beləliklə, donor hüceyrə özünün genetik sabitliyini saxlayır.

Hfr-ştammla F⁻ hüceyrə arasında konyuqasiya



Virusların genetikası

Virus genomunun xüsusiyyətləri

- Virusların genomu ancaq bir nuklein turşusundan - ya DNT, ya da RNT-dən təşkil olunur;
- Digər orqanizmlərdə genom DNT-dən ibarət olduğu halda, viruslarda genom rolunu həm də RNT oynayır (RNT tərkibli viruslarda);
- DNT tərkibli virusların genomu ikisaplı, seqmentləşməyən DNT-dən ibarət olub, infeksiyon xassəyə malikdir (*Poxvirus* və *Hepadnovirus* cinsləri istisnadır, belə ki, onların DNT-dəki zəncirlər müxtəlif uzunluqlara malikdir);
- Reoviruslardan və retroviruslardan başqa əksər RNT tərkibli virusların genomu təksaplıdır;
- RNT tərkibli virusların genomu seqmentləşmiş (fragmentlərə ayrılmış), yaxud seqmentləşməmiş ola bilər;
- Pozitiv genomlu (+RNT) virusların genomu infeksiyon xassəyə malikdir;
- Negativ genomlu (-RNT) virusların genomu infeksiyon xassəyə malik deyil;

Viruslarda dəyişkənliyin növləri

- **Modifikasiya**
- **Mutasiya**
 - *Fenotipik təzahürü olmayan (neytral),*
 - *Fenotipik təzahürlərə malik mutasiyalar*
 - *letal,*
 - *şərti-letal - temperatura həssas mutantların (ts-mutantlar)*
 - *Virusların infeksiyon spektrinin artması*
 - *Virusların antivirus preparatlarına davamlılığı*

Viruslar arasında genetik qarşılıqlı münasibətlər

- Həsas hüceyrəyə bir neçə virus eyni zamanda daxil olarkən reproduksiya prosesində onlar arasında müəyyən qarşılıqlı münasibətlər labüddür.
- **Genetik rekombinasiya** iki və daha çox virus arasında ayrı-ayrı genlərin mübadiləsindən ibarətdir. Ən çox DNT tərkibli viruslarda müşahidə edilir, nəticədə iki və daha çox valideyin genlərinə malik olan rekombinant viruslar əmələ gəlir.
- **Genetik reaktivasiya** müxtəlif genləri qeyri-aktiv vəziyyətdə olan iki qohum virus arasında baş verir. Rekombinasiya nəticəsində əmələ gələn viruslarda genlər aktiv vəziyyətə keçir, yəni genlərin yenidən aktivləşməsi (reaktivasiyası) baş verir.

Viruslar arasında qeyri-genetik qarşılıqlı münasibətlər

- ***Komplementasiya*** - bir virusun genomu ilə kodlaşdırılan zülal digər virusun reproduksiyasını təmin edir. Komplementasiya ayrı-ayrılıqda reproduksiya oluna bilməyən iki qüsurlu virus arasında müşahidə edilir, nəticədə bu virusların biri və ya hər ikisi reproduksiya olunur.
- ***Fenotipik qarışma*** - həssas hüceyrənin iki müxtəlif virusla yoluxması hallarında bəzən bir virus nəslə hər iki valideyin virusun fenotipik əlamətlərinə malik olur.
- ***Fenotipik maskalanma*** - bir virusun genomu digər bir virusun kapsid qışası ilə əhatə olunur, nəticədə ***psevdotiplər*** əmələ gəlir.

Gen mühəndisliyi

- Gen mühəndisliyinin əsasında nukleotid ardıcılıqlarına parçaladıqdan sonra DNT-nin prokariot və eukariot hüceyrələrə köçürülməsi durur.
- Nəticədə əmlə gəlmiş belə hüceyrələr – **hibridlər** yad gen fragmentlərinə malik olmaqla köçürülmüş genin ekspressiyasını təmin edir.
- Gen mühəndisliyinin son məqsədlərindən biri müəyyən genin kodlaşdırdığı məhsulun və ya əlamətin resipient orqanizmdə təmin edilməsindən ibarətdir.



Gen mühəndisliyi (genin əldə edilməsi)

- Bunun üçün əvvəlcə həmin məhsulu, yaxud əlaməti kodlaşdıran gen (DNT molekulu) əldə edilir, yaxud sintez edilir. Bundan sonra **restriktaza** adlanan fermentlərdən istifadə edərək DNT molekulunu fragmentlərə parçalayırlar. Bu ferment endonukleazalara aid olub, DNT molekulunu ancaq müəyyən yerlərdən parçalamaq qabiliyyətinə malikdir.
- Restriktazaların təsirindən alınmış DNT molekulu fragmentləri **restriktlər** adlanır. Lazım gəldikdə restriktlərin uc hissələrini **DNT-liqazalar** vasitəsilə birləşdirmək də mümkündür.

Gen mühəndisliyi (genin köçürülməsi)

- DNT-fraqmentlərini vektora birləşdirirlər. **Vektor** yad DNT fraqmentini resipient hüceyrəyə keçirən agentə deyilir.
- Vektor kimi ən çox plazmidlərdən, faqlardan, yaxud da onların kombinsiyasından – ***kosmid*** və ***fazmidlərdən*** istifadə edilir.
- Rekombinant DNT-ni (rDNT) vektor vasitəsilə resipient hüceyrəyə köçürmək ***üçün transformasiya, transfeksiya və mikroinyeksiya*** üsulları tətbiq edilir.

Gen mühəndisliyi (genin köçürülməsi)

- Təbii **transformasiya** vasitəsilə rDNT *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* və *E.coli*-nin bəzi şammlarına köçürülə bilər.
- rDNT-nin prokariot və eukariot hüceyrələrə fəq vasitəsilə köçürülməsi **transfeksiya** adlanır. Bəzi hallarda eukariot hüceyrələrini vektor virusla yoluxdururlar. Bu halda vektor kimi ən çox polioma və SV-40 viruslarından istifadə edilir.
- **Mikroinyeksiya** üsulu vasitəsilə DNT molekulunu, həmçinin rDNT-ni heyvan və bitkilərin kultivasiya edilən hüceyrələrinə şüşə mikroinyeşlərdən istifadə etməklə köçürürlər.
- rDNT-ni resipient hüceyrələrə **liposomlar** vasitəsilə də köçürmək olar. Liposomlar fosfatidilserin və xolesterinin bərabər qarışığı əsasında hazırlanır. rDNT və liposom qarışığını ultrasəsle işləyir, sonra isə onu resipient hüceyrə ilə birlikdə inkubasiya edirlər

Gen mühəndisliyi (son məhsulun əldə edilməsi)

- rDNT-ni *permissiv hüceyrələr* (ingiliscə, *permission* – icazə, imkan vermə) adlandırılan resipient hüceyrələrə köçürürlər. Bu hüceyrələr elə hüceyrələrdirlər ki, köçürülən rDNT parçalanmadan həmin hüceyrənin tərkibində qalır və vektorun replikasiyası mümkün olur, başqa sözlə rDNT-nin ekspressiyası müşahidə olunur.
- Gen mühəndisliyində prokariotlardan *E.coli*, *B.subtilis*, eukariotlardan isə *Saccharomyces cerevisiae* maya göbələkləri daha çox istifadə edilir.
- Hazırda rDNT-də müvafiq genlərin ekspressiyası əsasında insulin, somatotrop hormon, interferonlar, interleykinlər və s. istehsal edən bakteriya və maya göbələkləri şammlarının superprodusientləri alınmış və biotexnologiyada istifadə edilir.

Gen mühəndisliyinin müasir imkanları

- rDNT-nin heyvanların rüşeym hüceyrələrinə (yaxud yumurta hüceyrəyə) mikroinyeksiyası yolu ilə **transgen heyvanlar** əldə etmək mümkün olmuşdur. Belə orqanizmlərin genomunun tərkibində donorun müəyyən genlərinin olması hesabına onlar yeni əlamətlər qazanırlar.
- Eyni qayda ilə fitopatogen mikroorqanizmlərə, soyuğa və s. amillərə davamlı xüsusiyyətlərə malik **transgen bitkilər** də alınmışdır. Bəzi mikroorqanizmlərin immunodominant antigenlərinin genlərini bitkilərə köçürməklə tərkibində müəyyən «vaksinlər» olan meyvə və yerkökü sortları alınmışdır.
- Son dövrdə genetikanın uğurlarından biri də **genetik klonun**, yəni **genetik surətlərinin** yaradılmasıdır. Genetik klon ilk dəfə keçən əsrin sonlarında Şotland alimləri Yan Velhmut və Ken Kembpell tərəfindən yaradılmışdır.

Genetik metodların diaqnostikada tətbiqi

- Zəncirvari polimeraza reaksiyası
- Molekulyar hibridləşdirmə üsulu
- Restriksion analiz
- Sekvenləşdirmə üsulu

Zəncirvari polimeraza reaksiya (ZPR)

Müayinə olunan materiallarda törədicinin DNT, yaxud RNT fraqmentlərinin sürətlərinin çoxaldılaraq aşkar edilməsinə əsaslanan üsuldur. ZPR yüksək həssaslıq və spesifikliyə malik olmaqla müayinə olunan materiallarda törədicinin DNT, yaxud RNT fraqmentlərinin çox kiçik hissələrini belə aşkar etməyə imkan verir.

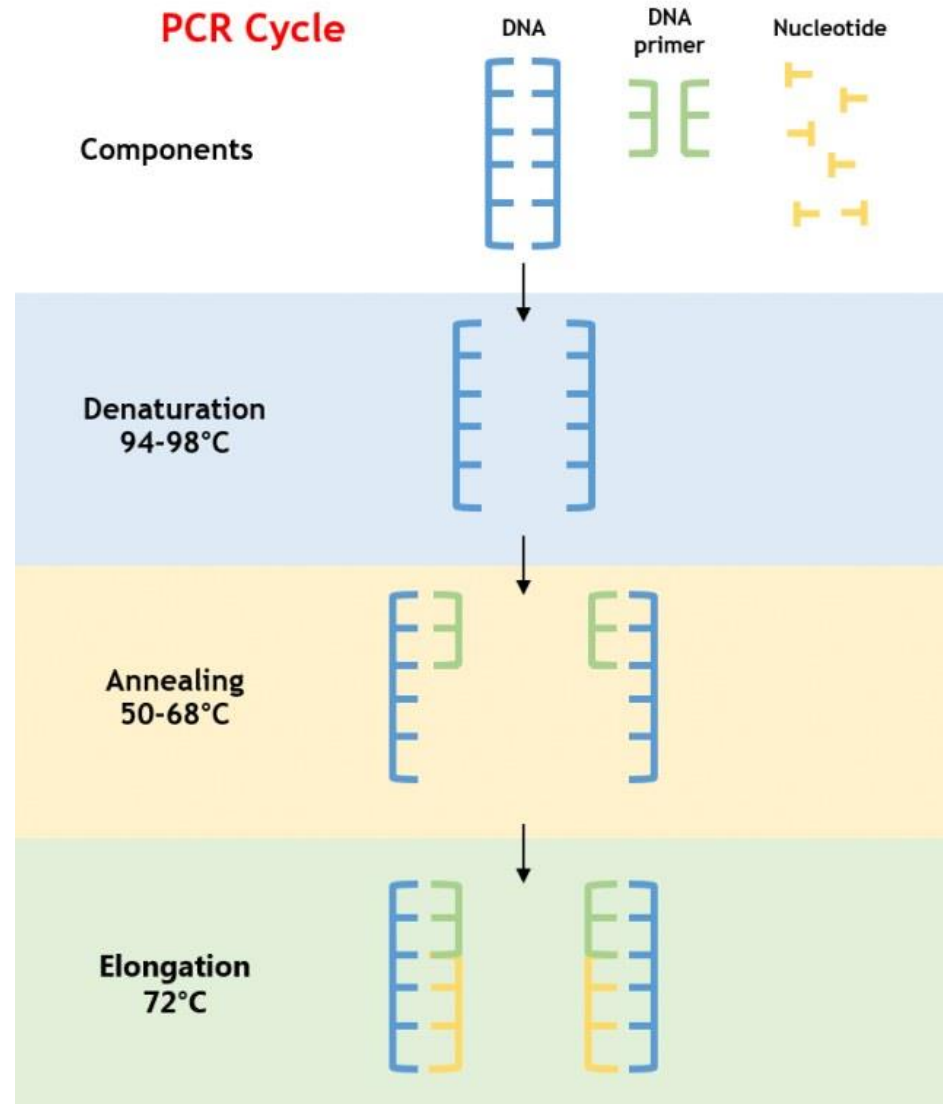
- I. **denaturasiya**: ikizəncirli DNT-matriksi 0.5-2 dəq müddətində 92-96 °C-yə (yaxud, termiki stabil polimeraza istifadə edilirsə - 98°C-yə) qədər qızdırmaqla DNT zəncirləri arasındakı hidrogen əlaqələri pozulur və DNT zəncirləri ayrılır.
- II. **DNT**-praymer və polimeraza fermenti mühitə əlavə edilir. DNT-praymer DNT zəncirinə komplementar olduqda onunla birləşir. Göstərilən dövrə adətən, 70-80 dəfə təkrar edilir. Müayinə materialında axtarılan DNT fraqmentləri olduğu təqdirdə yeni DNT zəncirlərinin əmələ gəlməsi hesabına onun miqdarı dəfələrlə artır (amplifikasiya).
- III. Sonda DNT-nin elektroforetik identifikasiyası aparılır.

Real time PCR

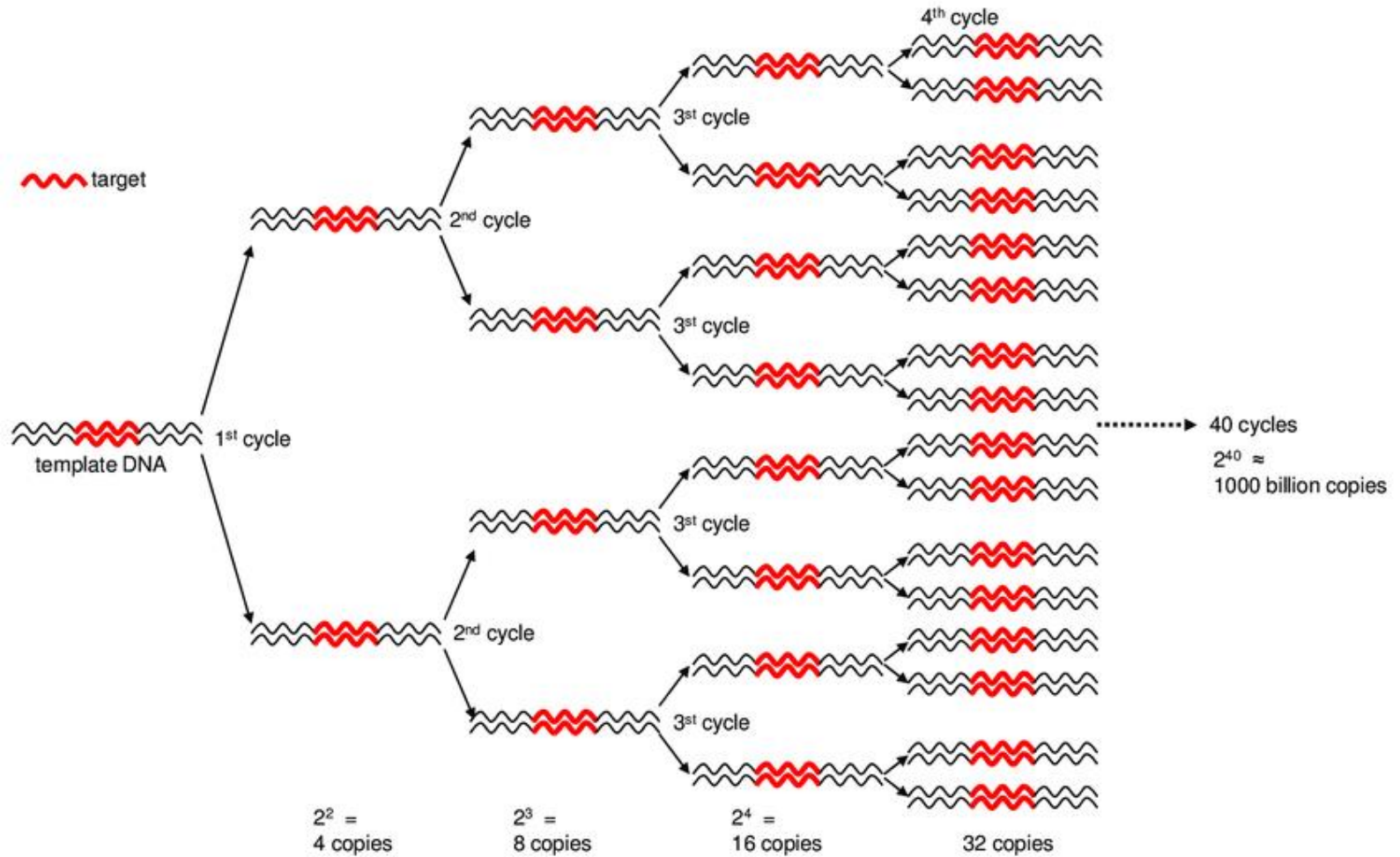
- **Real vaxtda ZPR (*real time PCR*)**
amplifikasiya məhsullarının bilavasitə
amplifikasiya zamanı toplanmasını aşkar
etməyə imkan verir.
- Amplikonların toplanmasının kinetikasi
bilavasitə tədqiq olunan matriks
nüsxələrinin sayından asılı olduğundan,
törədicinin DNT və RNT-nin kəmiyyət
ölçülərini aparmağa imkan verir.
- Əldə edilmiş məlumat aparılan
müalicənin effektivliyinə nəzarət üçün
istifadə edilə bilər



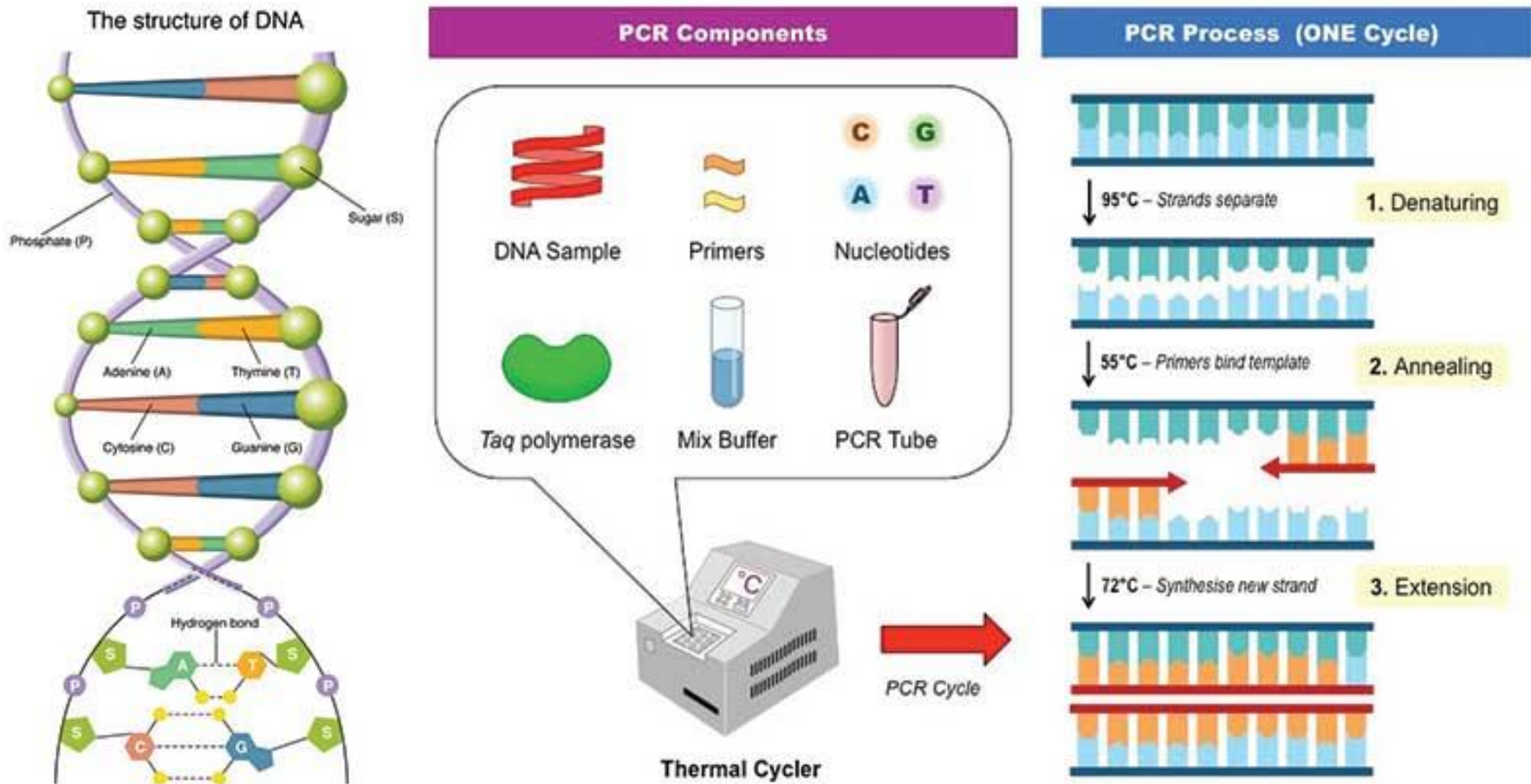
Amplifikasiyanın prinsipi



Amplifikasiyanın sxemi

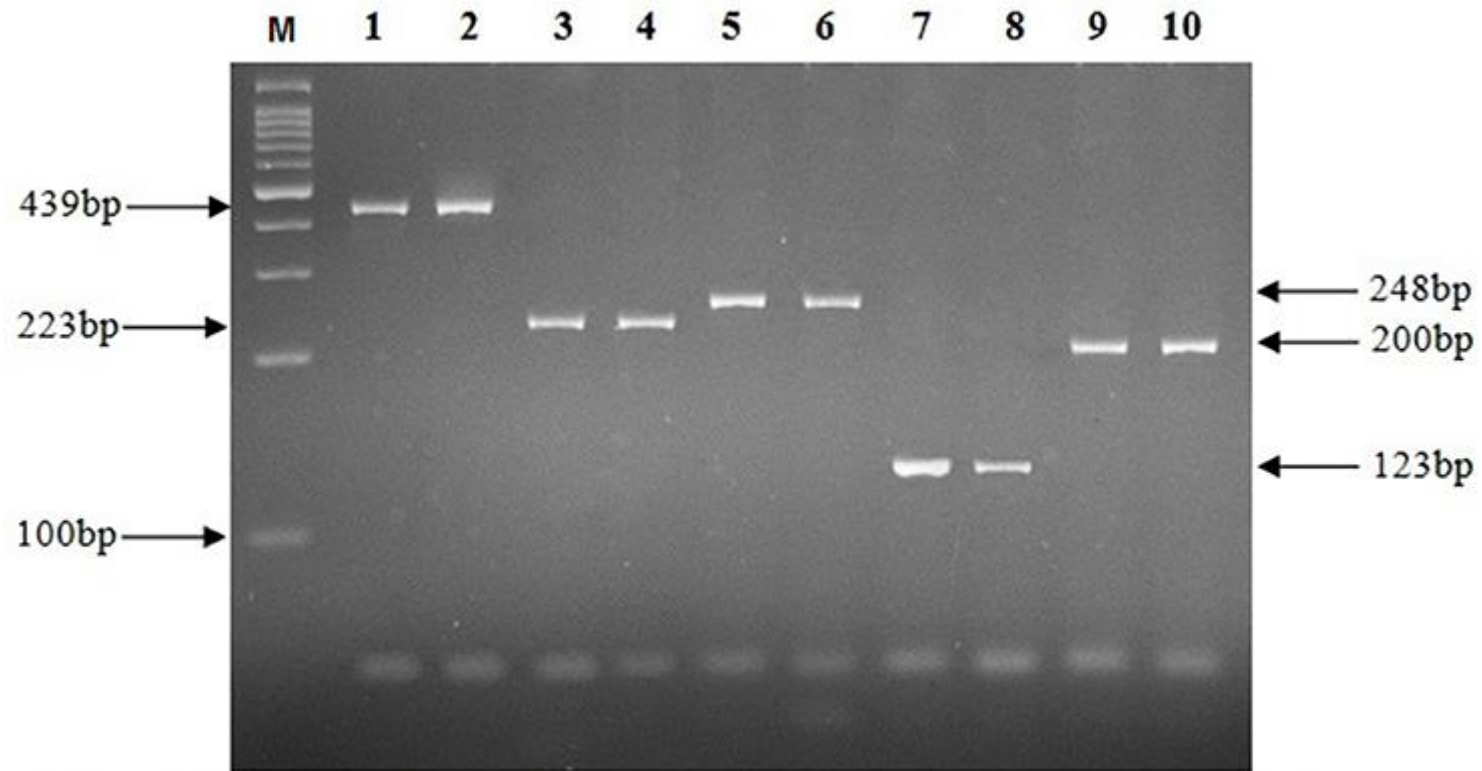


Zəncirvari polimeraza reaksiyasının prinsipi



DNT-nin elektroforetik identifikasiyası

(2%-li aqaroza gelində elektroforez)



M, Molecular size marker; Lanes 1, 2, 439 bp fragment of *hsp65* gene; Lanes 3, 4, 223 bp fragment of *mtp40* gene; Lanes 5, 6, 248 bp fragment of *IS1081* gene; Lanes 7, 8, 123 bp fragment of *IS6110* gene; Lanes 9, 10, 200 bp fragment of *mpb64* gene

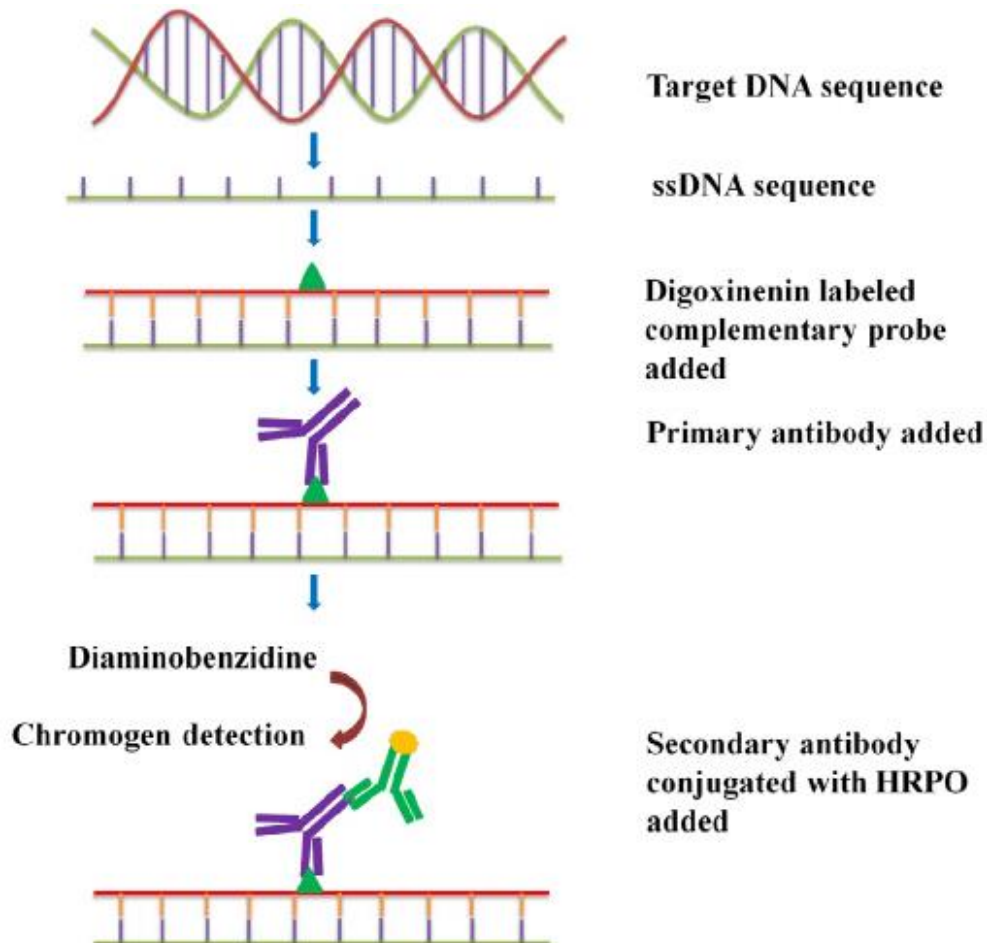
ZPR amplifikator cihazı



Molekulyar hibridləşdirmə üsulu

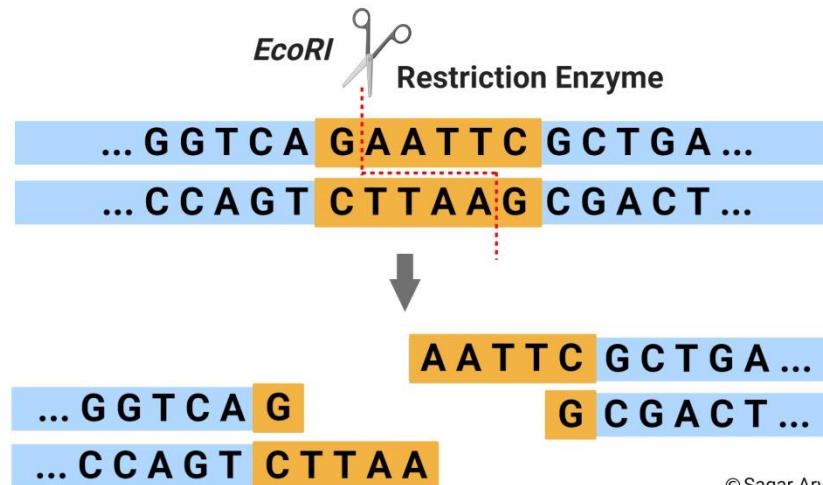
- Bu üsulla müayinə edilən materialda nuklein turşuları radioaktiv izotopla, yaxud fermentlə nişanlanmış zondlar vasitəsilə aşkar edilir.
- Zond kimi axtarılan nuklein turşusu molekuluna komplementar olan təkzəncirli DNT, yaxud RNT molekulundan istifadə edilir.
- Müayinə materialında zonda müvafiq (komplementar) nuklein turşusu olduğu təqdirdə onlar öz aralarında birləşir (hibridləşir) və ikili spiral əmələ gətirir.
- Hibridləşmiş molekullar radioimmun, yaxud immunoferment analizlərin köməyi ilə aşkar edilir.

DNT hibridləşdirmənin sxemi



Restriksion analiz

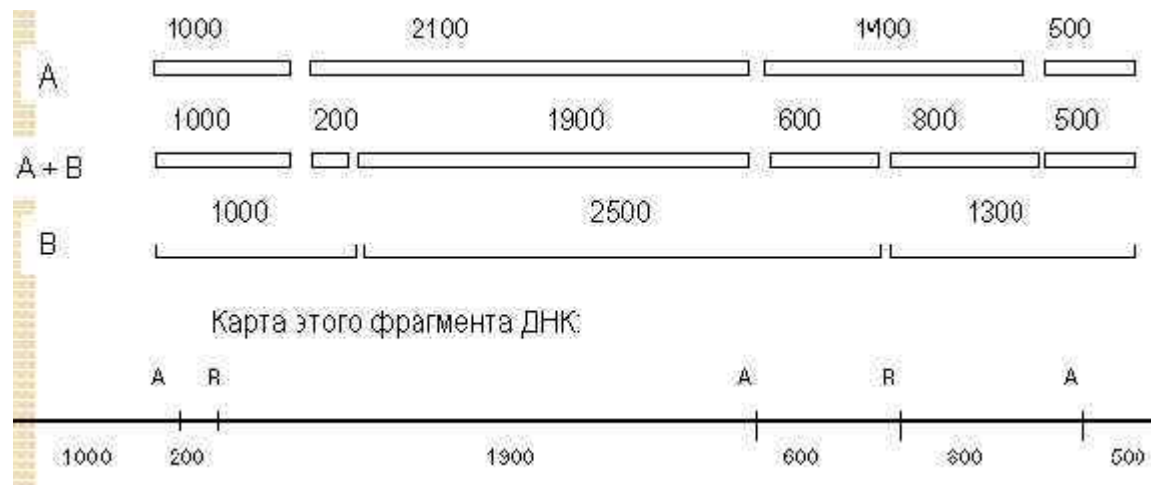
- **Restriksion analiz** əsasən mikroorqanizmlərin identifikasiyasında tətbiq edilir.
- Analizin prinsipi restriktazalar vasitəsilə parçalanmış DNT fraqmentlərinin elektroforetik üsulla identifikasiyasından ibarətdir.
- **Restriktaza** adlanan fermentlər endonukleazalara aid olub, DNT molekulunu ancaq müəyyən yerlərdən parçalamaq qabiliyyətinə malikdirlər.
- Restriksiya fraqmentinin uzunluq polimorfizmi (**restriction fragment length polymorphism - RFLP**) adlanan metod alınmış restriksiya fermentlərinin aqaroza gelində elektroforezi və etidium bromid ilə boyadıldıqdan sonra gəldə əmələ gələn DNT ləkələrinin yeri və sayının standartla müqayisə edilməsinə əsaslanır.



Restriksion analizin mexanizmi

ETAPLAR:

1. DNT-nin alınması
2. DNT-nin restriksiyası
3. elektroforez



Sekvenləşdirmə üsulu

DNT molekulunda nukleotidlər ardıcılığını təyin etməyə imkan verir (ingiliscə, *sequence* – ardıcılıq).

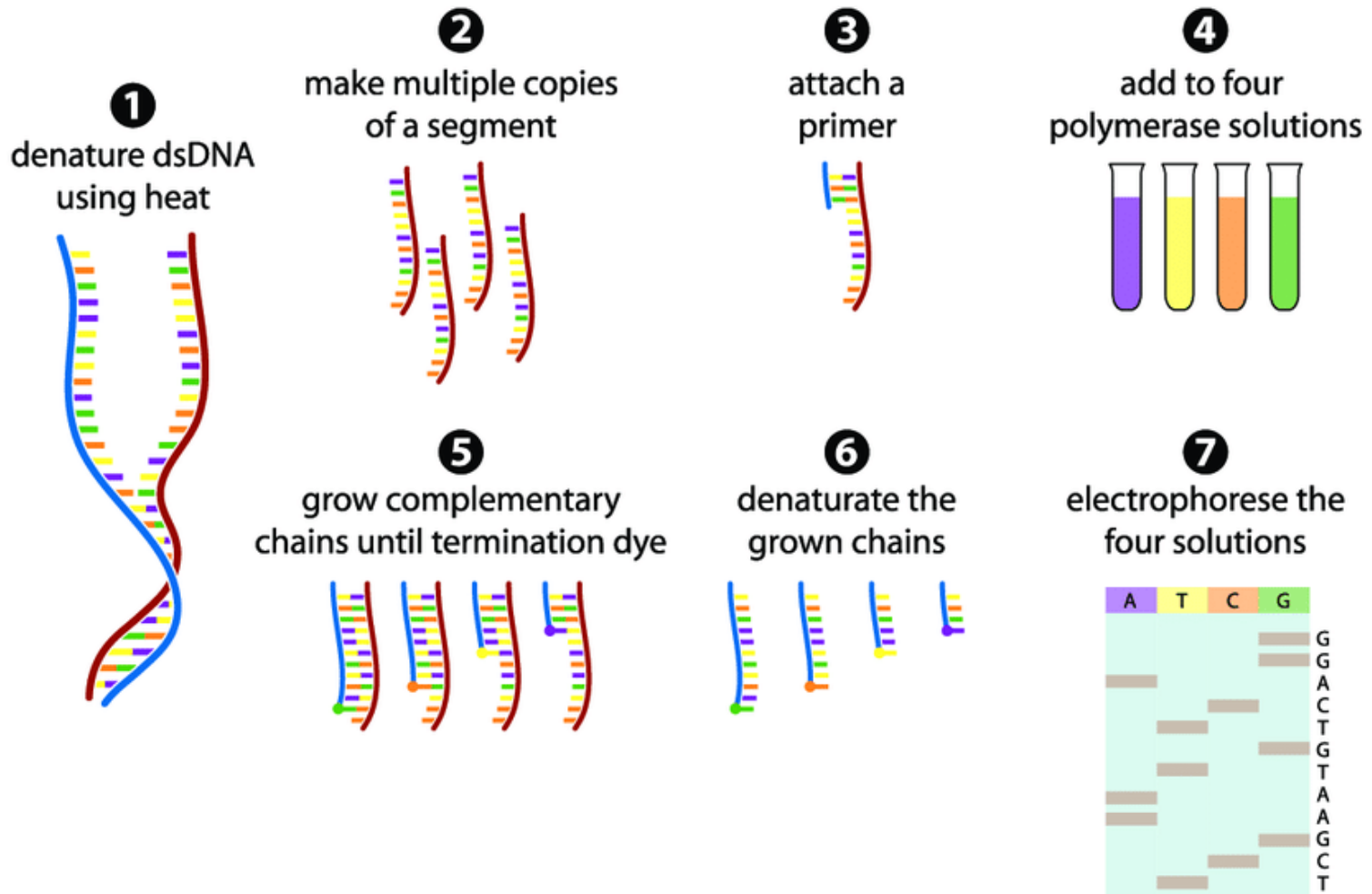
Sanger üsulu ilə sekvenləşdirmə daha çox tətbiq edilir. Bunun üçün əvvəlcə müayinə edilən DNT molekulu qələvi hidroliz vasitəsilə müxtəlif uzunluqlu təkzəncirli fraqmentlərə parçalanır.



Sangerə görə sekvenləşdirmə

- Alınmış qarışığa müxtəlif cür nişanlanmış didezoksinukleotidlər (adenin, timin, qvanin və sitozin) əlavə edilir. Nişanlanmış didezoksinukleotidlər hər bir DNT-fraqmentinin 3'-sonluğunda olan komplementar nukleotidlərlə birləşir. Beləliklə, müxtəlif uzunluqlu təkzəncirli DNT fraqmentləri 3'-sonluğunda hansı nukleotidin olmasından asılı olaraq fərqli nişanlanmış olur.
- Sonra nişanlanmış DNT fraqmentləri vertikal poliakrilamid gelində elektroforezə məruz qoyulur. Bu zaman fraqmentlər molekulyar kütlələrindən asılı olaraq müxtəlif məsafələr qət edir və sonda nişanlanmış didezoksinukleotidlər müayinə edilən fraqmentdəki nukleotidlər ardıcılığına müvafiq olan qaydada düzülürlər. Elektroforez prosesi kompüter təhlilinə malik avtomatik rejimli xüsusi qurğularda – **sekvenatorlarda** aparılır

Sanger üsulu ilə sekvenləşdirmə



Kimyəvi terapiyanın əsasları

- Yoluxucu xəstəliklərin kimyəvi terapevtik preparatlarla müalicəsi ***kimyəvi terapiya*** adlanır.
- Bu preparatların təsiri xəstəliyin ayrı-ayrı simptomlarına qarşı deyil, yalnız onu törədən etioloji amilə qarşı yönəldiyindən onları ***etiotrop preparatlar*** da adlandırırlar.

Paul Erlix kimyəvi terapiyanın banisidir

- **P.Erlixin reseptorlar nəzəriyyəsi.** P.Erlix 1885-ci ildə müəyyən etdi ki, kimyəvi maddələrin xəstəlik törədici mikroblara təsiri sonuncularda olan spesifik reseptorlarla əlaqədardır.
- Kimyəvi terapiyanın əsas prinsiplərindən biri P.Erlixin «**sehrli güllə**» **ideyası** idi. Bu, «canlıyı canlıda» məhv etmək, yəni törədiciyi məhv edərkən sahib orqanizmə zərər yetirməmək prinsipindən ibarət idi.
- **Kimyəvi terapevtik indeks** - preparatın törədiciyi öldürə biləcək minimal terapevtik dozasının, orqanizmin davam gətirə biləcəyi ən yüksək dozasına olan nisbətini ifadə edən bu indeks müasir dövrdə də kimyəvi terapevtik preparatların qiymətləndirilməsi üçün istifadə edilir.

Kimyəvi terapeutik preparatlar

- Hazırda antimikrob aktivliyə malik olan minlərlə kimyəvi birləşmələr məlumdur ki, onların yalnız bəziləri kimyəvi terapeutik vasitə kimi istifadə olunur.
- Kimyəvi terapeutik preparatların təsir göstərə biləcəyi mikroorqanizm qrupları onların *aktivlik spektrini* müəyyənləşdirir.
- Hansı mikroba təsir göstərməsindən asılı olaraq *antibakterial, göbələk əleyhinə, ibtidailər əleyhinə, virus əleyhinə və s. antimikrob preparatlar* ayırd edilir.

Təsir spektri

- ***Təsir spektrinə*** görə məhdud və geniş təsir spektrli preparatlar ayırd edilir.
- ***Məhdud təsir spektrli*** preparatlar yalnız bakteriyaların azsaylı növlərinə, ya qram müsbət, ya da qram mənfi bakteriyalara münasibətdə aktivlik göstərilər.
- ***Geniş təsir spektrli*** preparatlar isə həm qram müsbət, həm də qram mənfi bakteriyaların kifayət qədər çoxsaylı növlərinin nümayəndələrinə qarşı aktivlik göstərilər.

Təsir tipi

Təsir tipinə görə kimyəvi preparatlar:

- ***mikrobisid*** (bakterisid, funqisid və s.) və
- ***mikrobostatik*** (bakteriostatik, funqostatik və s.) təsirli ola bilər.
- Birinci qrupdan olan preparatlar mikroorqanizmləri məhv etməklə, ikincilər isə mikrobların inkişafını və çoxalmasını ləngitməklə təsir göstərirlər.

Alınma üsulu

Alınma üsulundan asılı olaraq antimikrob kimyəvi terapeutik preparatlar iki əsas qrupa bölünür:

- **sintetik kimyəvi preparatlar** - əsasən kimyəvi sintez üsulu ilə əldə edilir;
- **antibiotiklər** - əsasən təbii mənşəli olur, bəzən sintez və yarım sintez üsulu ilə əldə edilir.

Sintetik kimyəvi-terapevtik preparatların əsas qrupları

- **Sulfanilamidlər** (streptosid, sulfadimezin, sulfadimetoksin və s.)
- **Antimetabolitlər** - nikotin turşusunun hidrazidləri (izoniazid, ftivazid, tubazid və s.)
- **Xinolon qrupundan** olan preparatlar - nalidiksin turşusu (neviqramon), ofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin və s.
- **Nitroimidazol törəmələri** (metronidazol, ornidazol və s.)
- **8-oksixinolin törəmələri** (5-nitroksolin, xinozol, intestopan və s.)
- **Nitrofuran törəmələri** (furasilin, furazolidon, furagin və s.)
- **Imidazol törəmələri** (ketokonazol, mikonazol, klotrimazol və s.)
- **Triazol törəmələri** (flukonazol)

ANTİBİOTİKLƏRİN BİOLOJİ TƏSİRLƏRİNİN MƏXANİZMİ

Hüceyrə divarının
sintezinin pozanlar

DNT-nin sintezini
və ya funksiyasını
pozanlar

Zülal sintezini
pozanlar

Bakterial SPM
funksiyasını
pozanlar

Penisillinlər
Sefalosporinlər
Karbopenemlər
Monobaktamlar
Qlikopeptidlər
Fosfomisin
Basitrasin

Sulfanilamidlər
Trimethoprim
Florxinolonlar
Nitroamidazollar
Nitrofuranlar
Anzamisinlər

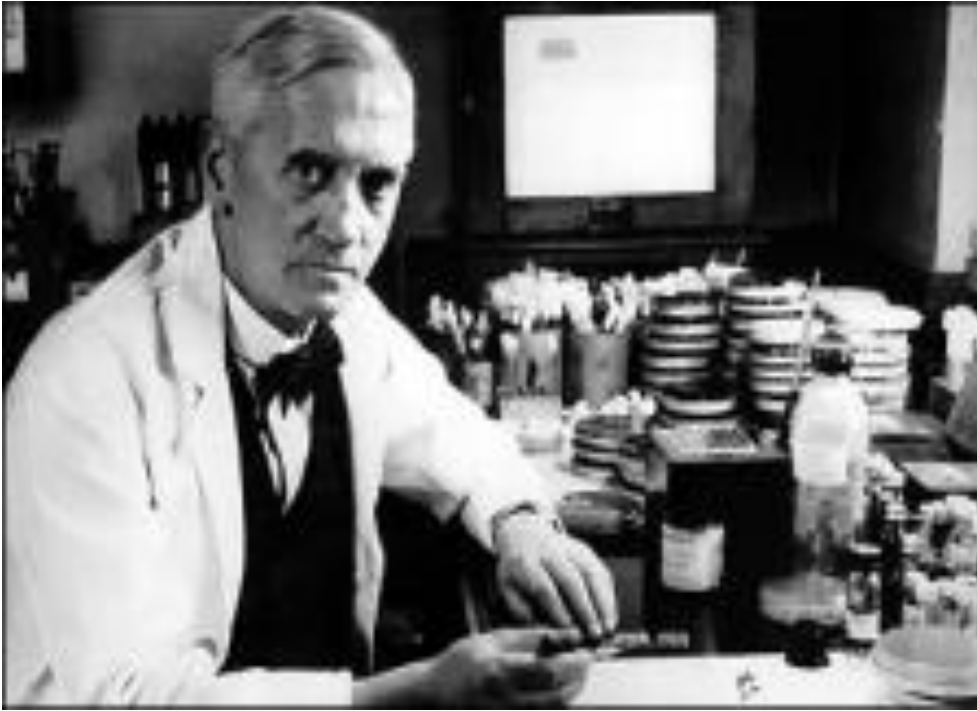
Aminoqlikozidlər
Tetrasiqlinlər
Makrolidlər
Linkozamqlar
Levomisetin

Polimiksinlər
Polienlər
İmidazollar

Antibiotiklər

- Antaqonizmin ən çox yayılmış forması mikroorqanizmlər tərəfindən ***antibiotiklər*** (yunanca, *anti* - əksinə, *bios*-həyat) adlanan maddələrin ifrazıdır.
- Bu maddələr çox kiçik konsentrasiyalarda digər mikroorqanizmlərin inkişafını dayandırır.
- «**Antibiotik**» termini elmə ilk dəfə 1942-ci ildə S.Vaksman tərəfindən daxil edilmişdir. Onun təbirincə ***antibiotiklər - müxtəlif mikroorqanizmlərin ifraz etdiyi və müəyyən bakteriyaların inkişafını dayandıran, yaxud onların məhvina səbəb olan maddələrdir.***

Antibiotiklərin kəşfi



1929-cu ildə ingilis mikrobioloqu **Aleksandr Fleming** təcrübə apararkən Petri kasasındakı qidalı mühitin səthində təsadüfən inkişaf etmiş kif göbələyinin (*Penicillium notatum*) kulturası ətrafında qızılı stafilokok koloniyalarının lizisini müşahidə etmişdir.

Antibiotiklərin təsnifatı

Mənşəyinə görə:

- ***Mikrob mənşəli antibiotiklər*** aşağıdakı qruplara bölünür:
 - Bakteriya mənşəli antibiotiklər (polimiksin, qramisidin və s.);
 - Aktinomiset mənşəli antibiotiklər (streptomisin, tetrasiklin, xloramfenikol və s.);
 - Göbələk mənşəli antibiotiklər (penisillinlər, sefalosporinlər və s.);
- ***Bitki mənşəli antibiotiklər*** (fitonsidlər)
- ***Heyvan mənşəli antibiotiklər*** (lizosim, interferon və s.)

Antibiotiklərin alınması

- Mikroorqanizmlərin kultivasiyası müddətində onlar qidalı mühitə ifraz olunur və qidalı mühitlərin tərkibindən kimyəvi yolla ayırmaqla əldə edilir.
- Bəzi hallarda antibiotikləri yarımsintez və sintez yolu ilə də əldə edirlər. Beləliklə antibiotiklərin alınmasının üç əsas üsulu mövcuddur:
 - ***Biosintez üsulu***
 - ***Yarımsintez üsulu***
 - ***Kimyəvi sintez üsulu***

Antibiotiklərin təsnifatı

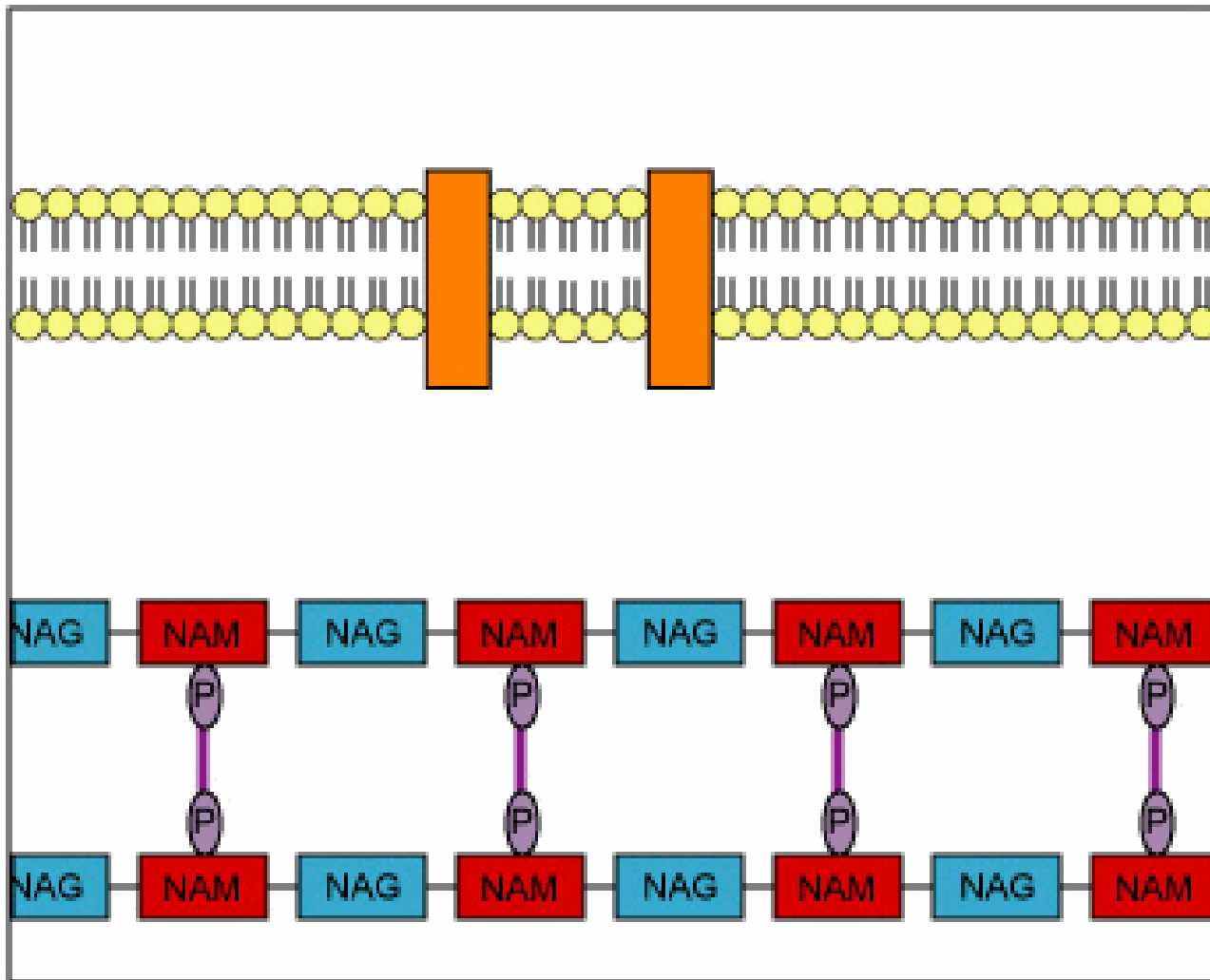
Kimyəvi tərkibinə görə

- **beta-laktam antibiotiklər** (penisillinlər, sefalosporinlər, karbapenemlər, monobaktamlar)
- **makrolidlər** (eritromisin, spiramisin, klaritromisin və s.)
- **azalidlər** (azitromisin)
- **tetrasiklinlər** (tetrasiklin, doksisiklin)
- **aminoqlikozidlər** (streptomisin, kanamisin, gentamisin)
- **levomisetin** (xloramfenikol)
- **qlikopeptidlər** (vankomisin və s.)
- **rifamisinlər** (rifampisin)
- **siklik polipeptidlər** (polimiksinlər, basitrasinlər)
- **polienlər** (nistatin, levorin, amfoterisin B və s.)

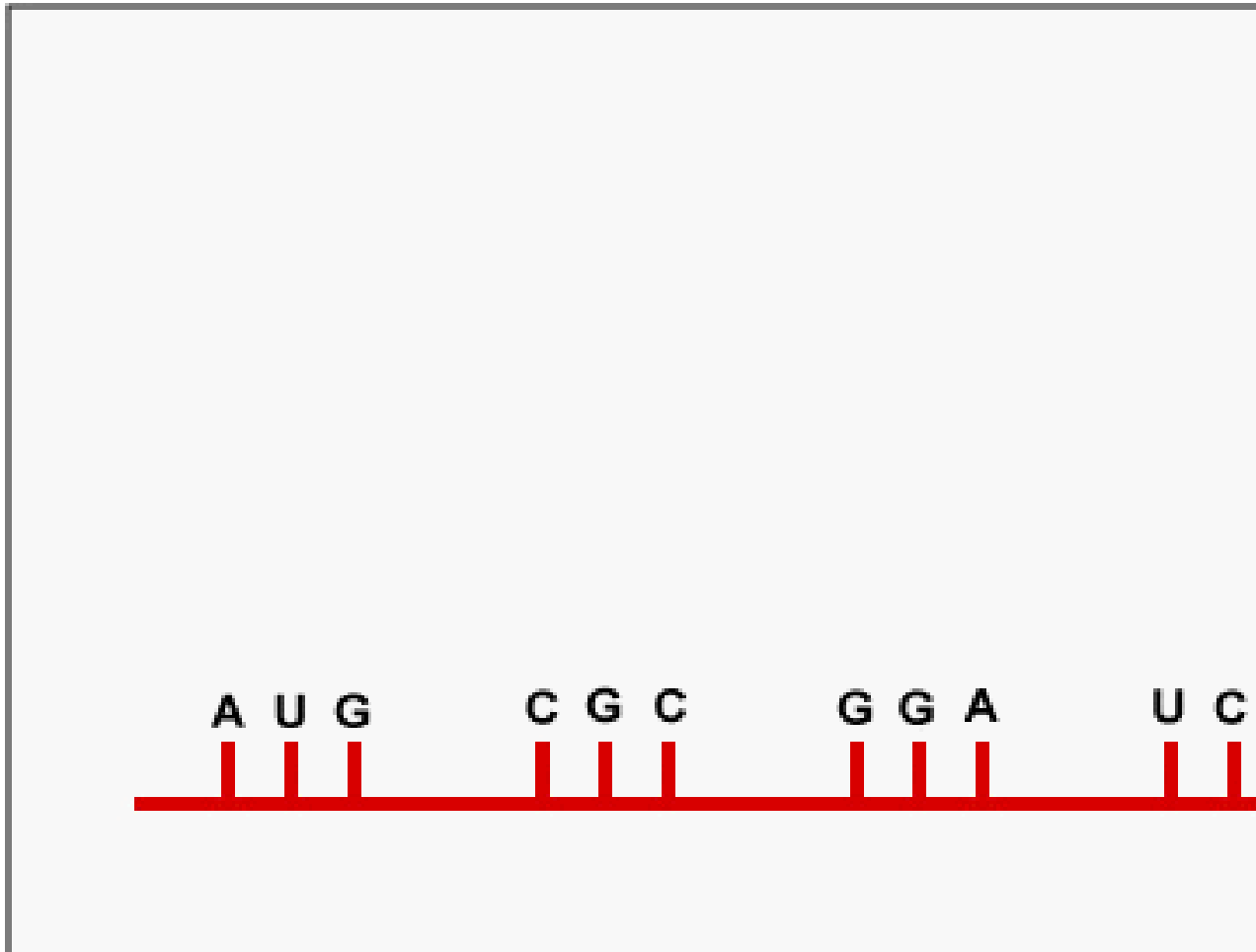
Antibiotiklərin antimikrob təsirinin mexanizmləri

- **Hüceyrə divarı sintezinin inhibitorları (antipeptidoqlikan antibiotiklər).**
Beta-laktam antibiotiklər (penisillinlər və sefalosporinlər), qlikopeptid antibiotiklər (vankomisin və teykoplanin)
- **Zülal sintezinin inhibitorları (antiribosomal antibiotiklər)**
Aminoqlikozidlər və terasiklinlər ribosomların 30S-subkomponentləri ilə, makrolidlər, xloramfenikol və linkozamidlər isə 50S-subvahidləri ilə birləşir, nəticədə bakteriya hüceyrələrində zülal sintezi dayanır.
- **Nuklein turşuları sintezinin inhibitorları - rifamisinlər (rifampisin) RNT-polimerazaya birləşərək transkripsiya prosesini blokada edir, yəni məlumat RNT-nin sintezini dayandırır.**
- **Sitoplazmatik membranın keçiriciliyinə təsir göstərən antibiotiklər (membranotrop antibiotiklər) - polipeptidlər (polimiksinlər), polien antibiotikləri (nistatin, levorin, amfoterisin B və s.)**

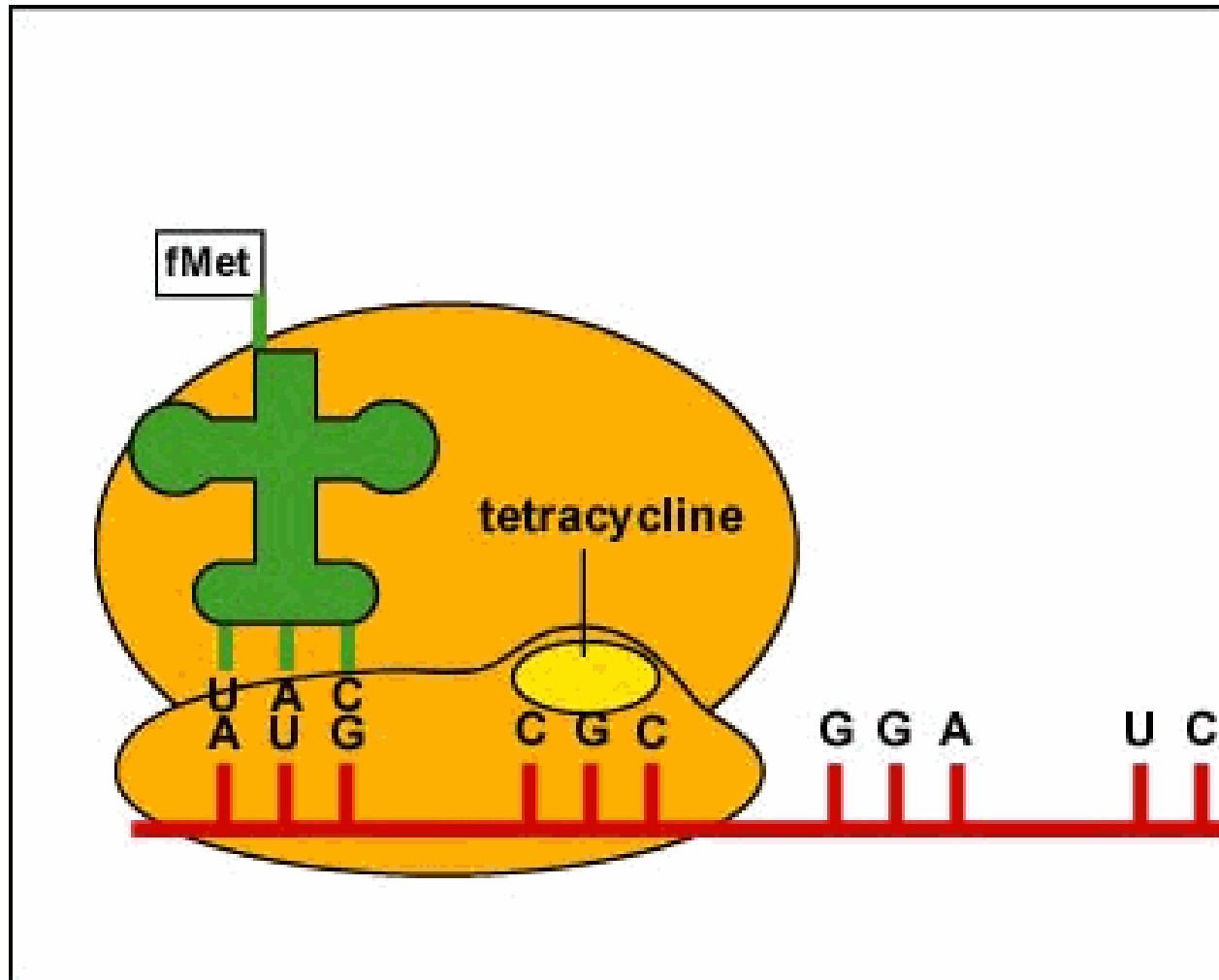
Hüceyrə divarında peptidoqlikan sintezinin penisillinlə inhibisiyası



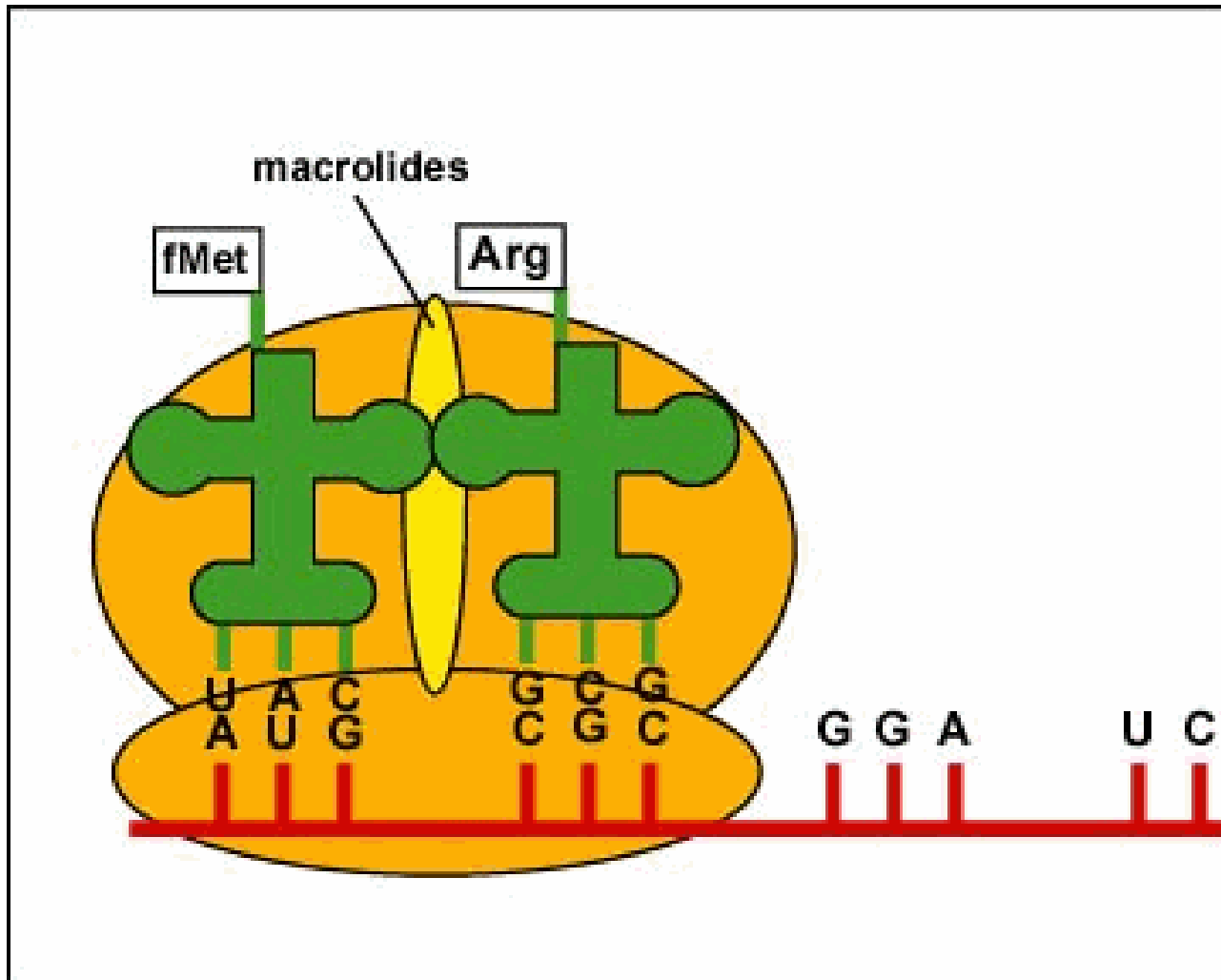
**Aminoqlikozidlər ribosomların 30S-subkomponentləri ilə birləşək
bakteriya hüceyrələrində zülal sintezini dayandırır**



**Tetrasiklinlər ribosomların 30S-subkomponentləri ilə birləşək
bakteriya hüceyrələrində zülal sintezini dayandırır**



**Makrolidlər ribosomların 50S-subkomponentləri ilə birləşək
bakteriya hüceyrələrində zülal sintezini dayandırır**



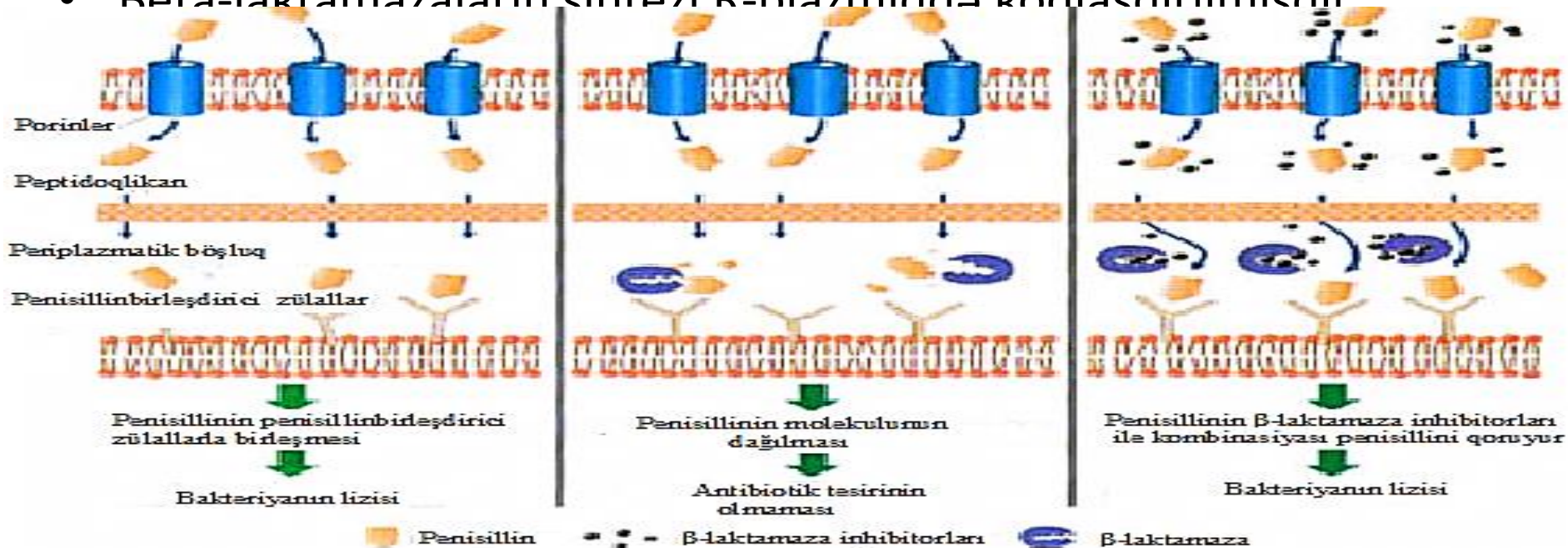
Mikroorqanizmlərin antibiotiklərə davamlılığı və onun mexanizmləri

Antibiotiklərə davamlılıq təbii və qazanılmış olmaqla iki cür olur.

- **Təbii davamlılıq** mikroorqanizmlərin struktur və bioloji xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır.
- **Qazanılmış davamlılıq** mikroorqanizmlərin xarici mühit şəraitinə uyğunlaşması ilə əlaqədardır və antibiotiklərin təsiri nəticəsində baş verir.
 - *Hüceyrə divarının antimikrob agent üçün keçiriciliyinin azalması və onun hüceyrədaxili hədəflərə daşınmasının pozulması*
 - *Antimikrob agentin hüceyrədən çıxarılmasının sürətləndirilməsi.*
 - *Antimikrob təsir hədəfinin modifikasiyası*
 - *Antimikrob agentin inaktivləşdirilməsi*

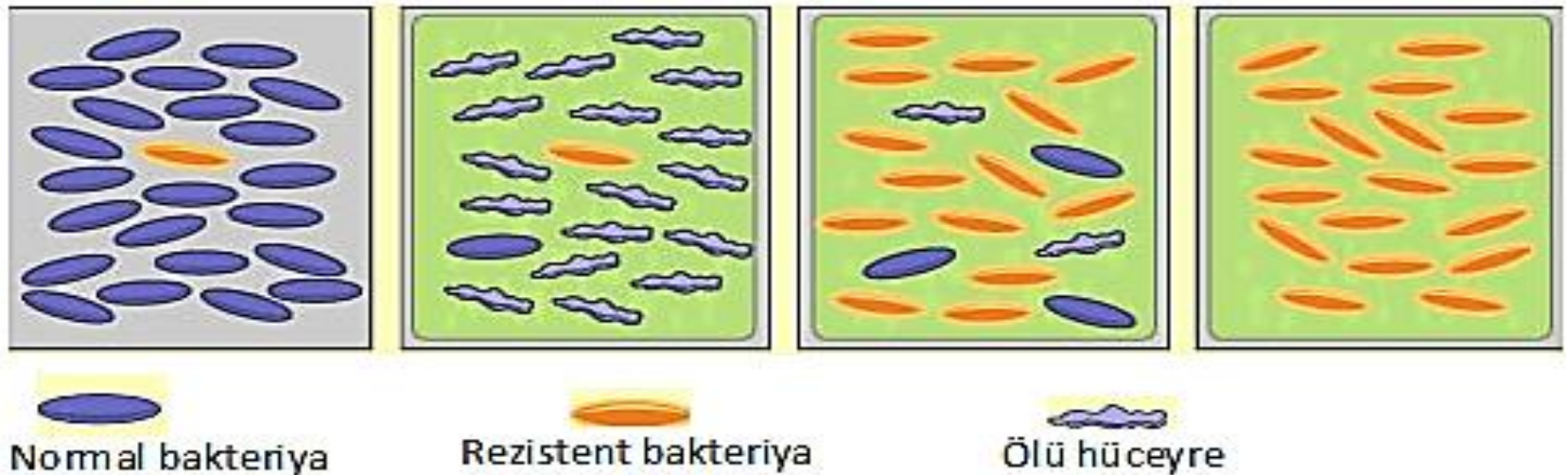
Antimikrob agentin inaktivləşdirilməsi

- Mikroorqanizmlərin dərman davamlılığının əsas mexanizmlərindəndir.
- Bəzi bakteriyalar antibiotikləri inaktivləşdirən xüsusi fermentlər sintez etmək xüsusiyyətinə malikdirlər.
- Bu fermentlər arasında penisillinlərin və sefalosporinlərin tərkibindəki beta-laktam həlqəsini qeyri-aktiv birləşmələr əmələ gətirməklə parçalayan **beta-laktamaza (penisillaza)** fermenti daha yaxşı öyrənilmişdir.
- Beta-laktamazaların sintezi R-plazmidə kodlaşdırılmışdır



Antibiotiklərə davamlılığın genetik əsasları

- Antibiotiklərə davamlılıq əsasən rezistentlik genləri ilə (r-genlərlə) təmin olunur. Rezistentlik genlərinə malik plazmidlər ***R-plazmidlər***, yaxud ***R-faktor*** adlanır. Rezistentlik genləri ilk növbədə mikroorqanizmlərin dərman davamlılığını təmin edən fermentlərin (məsələn, beta-laktamaza və s.) sintezini kodlaşdırır.
- Antibiotiklər r-genlərinin əmələ gəlməsini induksiya etmir, yalnız bu genlərə malik ***mikrob populyasiyasının seleksiyasına*** səbəb olur



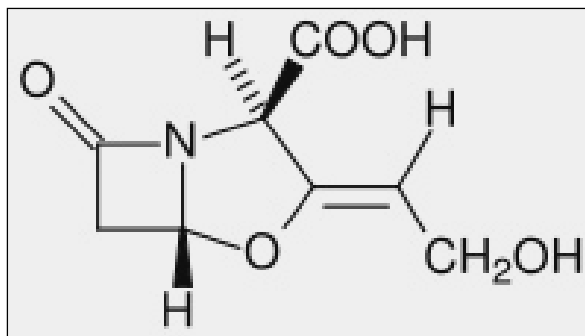
Antibiotiklərə davamlılığın genetik əsasları

- Mikroorqanizmlərin antibiotiklərə davamlılığının təmin olunmasında mikrob populyasiyasında baş verən **mutasiyalar** da müəyyən rol oynayır.
- Məsələn, bəzi *S.aureus* ştammlarının metisillinə davamlılığı onlarda gen mutasiyaları ilə əlaqədardır ki, bunun nəticəsində beta-laktam antibiotikləri ilə birləşməyə qabil olmayan penisillinbirləşdirici zülalların sintezi kodlaşdırılır. Bu səbədən də, **metisillinə rezistent *S.aureus* (MRSA)** ştammları bütün beta-laktam antibiotiklərinə qarşı rezistent olurlar.



Antibiotiklərə qarşı davamlılığın qarşısının alınma yolları

- antimikrob preparatların rasional istifadəsi
- yeni antibiotiklərin sintezi
- bəzi antibiotiklərin ***beta-laktamaza fermentinin inhibitorları (sulbaktam və klavulan turşusu)*** ilə kombinasiya edilməsi:
 - bu maddələrin tərkibindəki beta-laktam həlqəsi beta-laktamazalarla birləşərək onları neytrallaşdırır, nəticədə bu fermentlərin beta-laktam antibiotiklərinə təsirinin qarşısı alınır.
 - ampisillininin sulbaktamla (ampisid və s.), amoksisillinin isə klavulan turşusu ilə (auqmentin, amoksiklav və s.) kombinasiya edilmiş preparatları tibb praktikasında geniş tətbiq edilir



Antibiotiklərə qarş davamlılığın qarşısının alınma yolları

- Mikroorqanizmlərin antibiotiklərə davamlılığının qarşısının alınması üsullarından biri də müalicə zamanı ***antibiotiklərə həssaslığının*** nəzərə alınmasıdır.

Bakteriyaların antibiotiklərə həssaslığını təyin etmək üçün keyfiyyət və kəmiyyət üsullarından istifadə edilir.

- ***Keyfiyyət üsulu***. Disk-diffuziya üsulu (Kirbi-Bauer üsulu) daha çox tətbiq edilir.
- ***Kəmiyyət üsulu*** antibiotiklərin minimal inhibisiya və bakterisid konsentrasiyalarını təyin etməyə imkan verir.

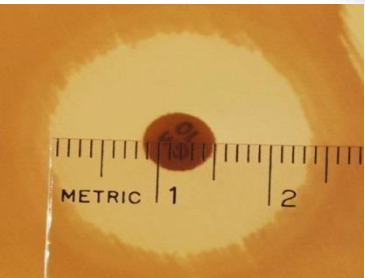
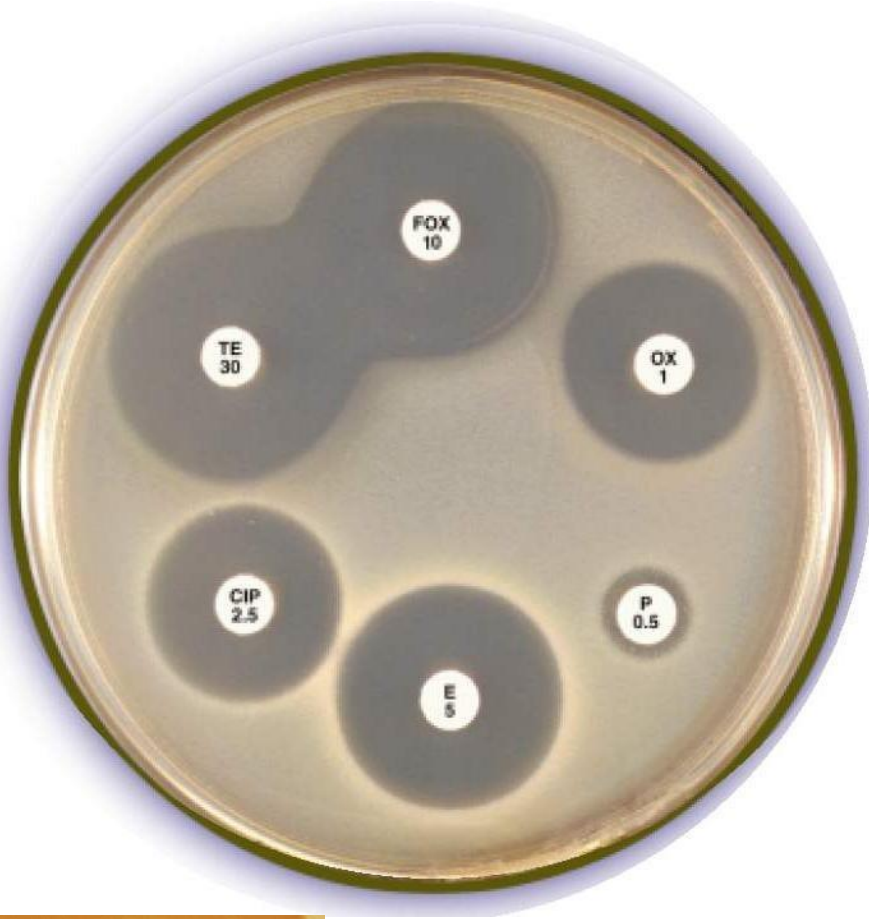
Keyfiyyət üsulu

- ***Disk-diffuziya üsulu*** (Kirbi-Bauer üsulu) daha çox tətbiq edilir. Bunun üçün mikrob kulturası inokulyasiya edilmiş bərk qidalı mühitin səthinə antibiotiklərin müəyyən miqdarı hopdurulmuş kağız disklər qoyulur.
- Diametri 90 mm olan kasadakı qidalı mühitin səthinə bərabər şəkildə (6-dan çox olmamaq şərtilə) disklər yerləşdirilir.
- Antibiotiklərə həssaslıq optimal şəraitdə bir gün inkubasiya edildikdən sonra disklərin ətrafında mikroorqanizmlərin inkişafına görə qiymətləndirilir.
- Bakteriya antibiotikə həssas olduğu təqdirdə müvafiq diskin ətrafında inkişaf müşahidə edilmir və müxtəlif diametrli steril zonalar əmələ gəlir.
- Steril zonanın diametri mikroorqanizmlərin antibiotiklərə həssaslıq dərəcəsindən asılı olur

Antibiotiklər hopdurulmuş kağız disklər



Disk-diffuziya üsulu



Mikrobun inkişaf etmediyi zonanın diametri mikroorqanizmin antibiotikə həssaslığına mütənasibdir.

Antibiotiklərə həssaslığın təyin edilməsinə standart yanaşmalar

- Antibiotiklərə həssaslığın təyin edilməsinə standart yanaşmalar mövcuddur.
- Bunlardan biri **EUCAST** (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Antimikrob Preparatlara Həssaslıq Testi Üzrə Avropa komitəsi*) prinsipləridir.
- Antibiotiklərə həssaslığın təyin edilməsində EUCAST prinsipləri kağız disklərdə antibiotiklərin miqdarı, istifadə edilən qidalı mühütlərin tərkibi, steril zona diameterinə əsasən qiymətləndirmə, hər bir mikroorqanizm üçün hansı antibiotiklərə həssaslığın test edilməsinin (***selektiv antibiotikoqram***) zəruriliyini nəzərdə tutur.
- EUCAST prinsipləri vaxtaşırı yeniləşdirilir

Kəmiyyət üsulu

Kəmiyyət üsulu antibiotikin minimal inhibisiya konsentrasiyasını (MİK) təyin etməyə imkan verir.

- Üsulun prinsipi antibiotikin müəyyən konsentrasiyaları əlavə edilmiş qidalı mühitlərdə mikroorqanizmlərin inkişafının dayanmasına əsaslanır.
- Mikroorqanizmlərin inkişafını dayandıran ən kiçik miqdar *minimal inhibisiya konsentrasiyası* (MİK), onların məhvinə səbəb olan ən kiçik miqdar isə *minimal bakterisid (mikrobosid) konsentrasiya* (MBK, yaxud MMK) adlanır.
- Bu göstəricilər adətən 1 ml-də mikroqramlarla (mkq/ml) ifadə edilir. Bəzi antibiotiklərdə bu göstəricilər təsir vahidləri (TV) ilə ifadə edilir. Antibiotikin **təsir vahidi** test mikroorqanizmin inkişafın dayandıran ən kiçik dozadır. Əksər antibiotiklər üçün 1 TV onun təqribən 1 mkq-na bərabərdir.

Ardıcıl durulaşdırma üsulu

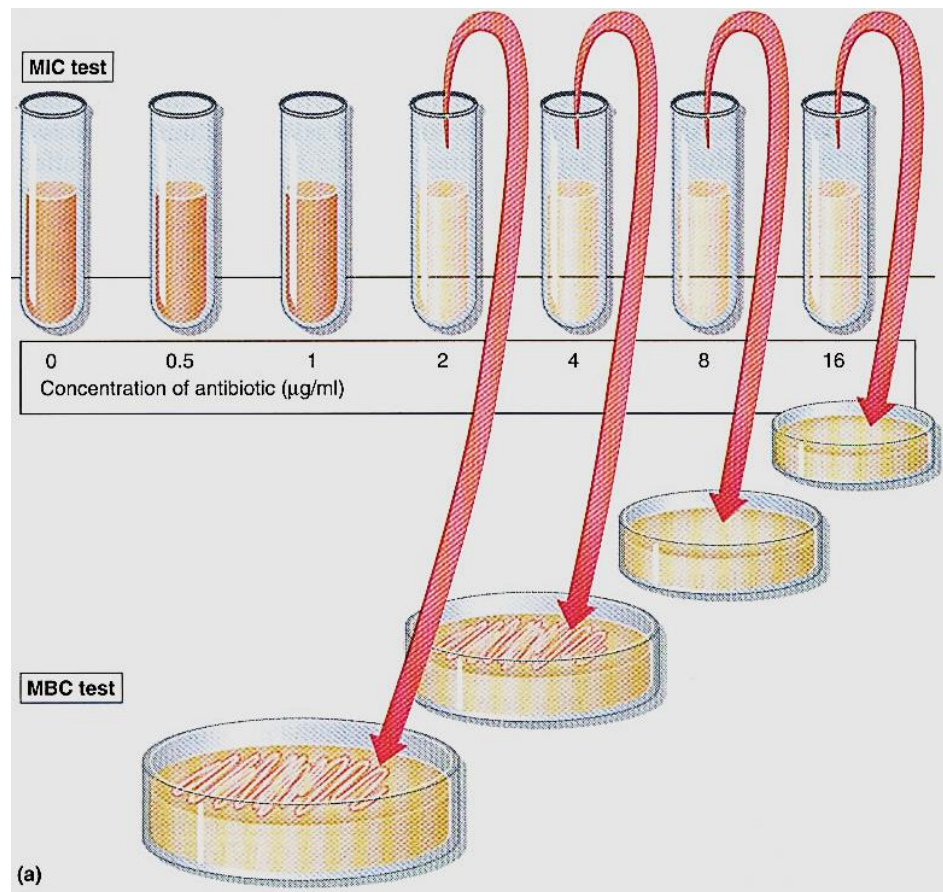
- Ardıcıl durulaşdırma üsulu ilə MİK mikrobun qidalı mühitdə inkişafını ləngidən antibiotikin minimal konsentrasiyası ilə təyin edilir.
- Məsələn, tetrasiklinin *Staphylococcus aureus* kulturasına qarşı MİK-nı müəyyən etmək üçün sınaq şüşələrindəki standart qidalı bulyonda bu antibiotikin ikiqat öldürücü konsentrasiyaları hazırlanır.
- Bunun üçün sınaq şüşəsinin tərkibi qarışdırılır və 2-ci şüşədən 3-cü şüşəyə, 3-cü-dən 4-cü-yə və s. 1 ml köçürülür, sonuncu sınaq şüşəsindən isə 1 ml kənar edilir

Minimal inhibisiya konsentrasiyasının ardıcıl durulaşa üsulu ilə təyini

Üsulun prinsipi antibiotikin müəyyən konsentrasiyaları əlavə edilmiş qidalı mühitdə mikroorqanizmlərin inkişafının dayanmasına əsaslanır



Рис. 8. Определение МПК методом серийных разведений (схема)



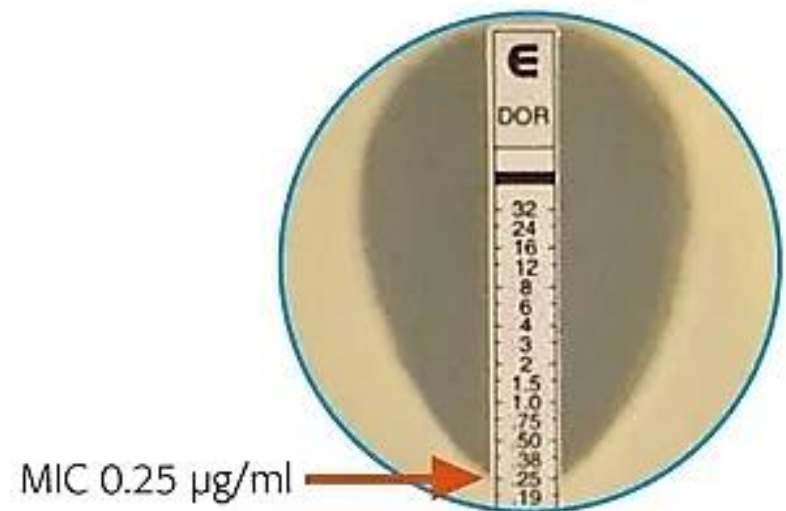
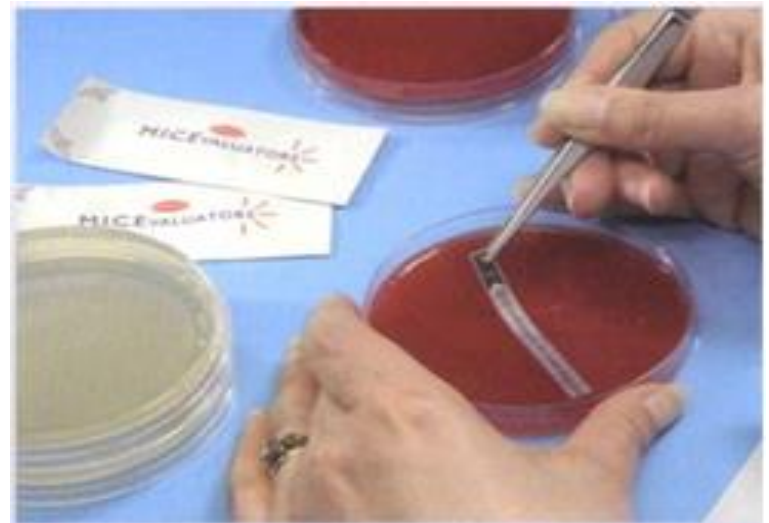
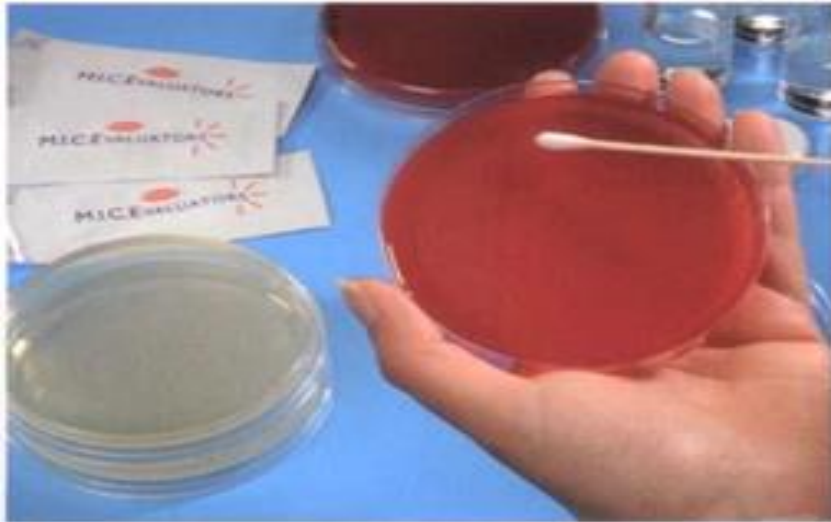
Minimal inhibisiya konsentrasiyasının ardıcıl durulaşma üsulu ilə təyini

İnqredientlər	Sınaq şüşəsinin nömrəsi (antibiotikin sonuncu konsentrasiyası), mkq/ml					Kontrol		
	1 (64)	2 (32)	3 (16)	4 (8)	5 (4)	kultura	bulyon	antibiotik
Bulyon, ml	-	1	1	1	1	1	1	-
Antibiotik məhlulu (64 mkq/ml), ml	1	1	-	-	-	-	-	1
Sınaqdan keçirilən kultura (standartlaşdırılmış suspensiya)	2	2	2	2	2	2	-	-
Optimal şəraitdə 18-24 saat inkubasiya								
Qeydiyyat nümunəsi	-	-	-	+	+	+	-	-
Nəticənin şərh: yoxlanılan kulturaya qarşı tetrasiklinin MİK - 16 mkq/ml								

Epsilometrik üsul (E-test)

- E-test müəyyən antibiotikin bir deyil, bir neçə (128, 64, 32, 16, 8, 4, ..., mkq/ml) öldürücü konsentrasiyaları hopdurulmuş kağız zolaqlardan istifadə edilməklə qoyulur.
- Bu zolaqlar disk-diffuziya üsulunda olduğu kimi kultura əkilmiş standart qidalı aqarın səthinə yerləşdirilir.
- İnkubasiyadan sonra zolaq ətrafında ellipsşəkli steril zona formalaşır ki, bu da kiçik konsentrasiyalar olan nahiyyədə daralır və MİK-in dəyərinə uyğun səviyyədə zolaqla “kəsişir”

E-test



E-test

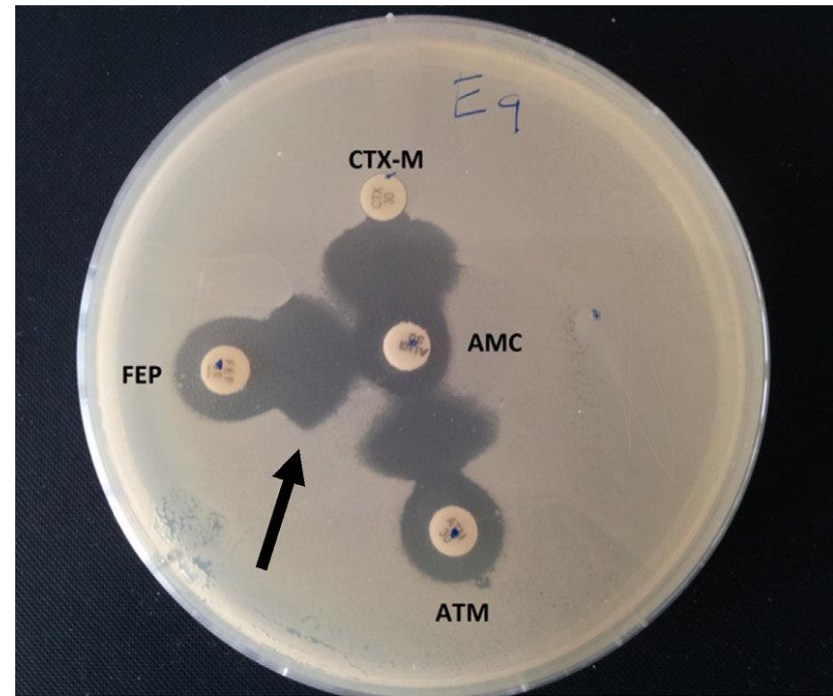


Mikroorqanizmlərin antibiotiklərə davamlılıq mexanizmlərinin öyrənilməsi

- Mikroorqanizmlər tərəfindən antibiotikləri parçalayan müxtəlif fermentlərin produksiyası antimikrob preparatlara rezistentliyin formalaşma mexanizmlərindən biridir.
- Belə fermentlərə, beta-laktam antibiotiklərinin tərkibindəki beta-laktam həlqəsini parçalamaqla onları inaktivləşdirən ***beta-laktamaza fermentləri*** aiddir.
- Mikroorqanizmlər tərəfindən bu fermentlərin produksiyası bir qayda olaraq plazmidlərdə yerləşmiş genlərlə kodlaşdırılır.
- Son zamanlar ***genişlənmiş spektrli beta-laktamaza (GSBL)*** sintez edən mikroorqanizmlər getdikcə artmaqdadır. Adi beta-laktamazalardan fərqli olaraq GSBL beta-laktamazalara davamlı olan antibiotikləri də parçalayaraq onlara qarşı davamlılığı təmin edir.

Mikroorqanizmlərdə GSBL sintezinin müəyyənləşdirilməsi (*fenotipik test*)

- Bakteriya kulturası inokulyasiya edilmiş bərk qidalı mühitin səthinə qoyulmuş beta-laktam antibiotiki (məsələn, sefepim) diskinin bilavasitə yanında tərkibində beta-laktamaza fermentinin inhibitoru və antibiotik olan disk (məsələn, amoksisillin+klavulan turşusu diski) də yerləşdirilir.
- Nəticə bir günlük inkubasiyadan sonra qiymətləndirilir.
- Bakteriya ştammi GSBL sintez etdiyi təqdirdə sefepim diski ətrafındakı steril zona amoksisillin+klavulan turşusu diski tərəfə uzanmış olur



Antibiotiklərin təsirindən baş verə bilən fəsadlaşmalar və onların qarşısının alınma yolları

- **Yüksək həssaslıq reaksiyaları - allergik reaksiyalar**
 - yüksək həssaslıq reaksiyalarının nəzərə alınması
- **Disbioz və disbakteriozlar**
 - uzunmüddətli istifadə zamanı antibiotiklərin göbələk əleyhinə preparatlarla kombinasiyası
 - uzunmüddətli istifadə zamanı normal mikroflora nümayəndələrindən – eubiotiklərdən istifadə
- **Toksik təsir**
 - əks göstərişlərin və əlavə təsirlərin nəzərə alınması

Virus infeksiyalarının kimyəvi terapiyasının prinsipləri

- Təsir xarakterinə və klinik əhəmiyyətinə görə virus infeksiyalarının müalicəsi üçün tətbiq edilən preparatları aşağıdakı qruplara ayırmaq olar:
- **Etiotrop (antivirus) preparatlar;**
- **Patogenetik preparatlar (xəstəliyin inkişaf mexanizmlərinə təsir göstərən preparatlar);**
- **Simptomatik (xəstəliyin əlamətlərini aradan qaldıran preparatlar).**

Etiotrop preparatlar

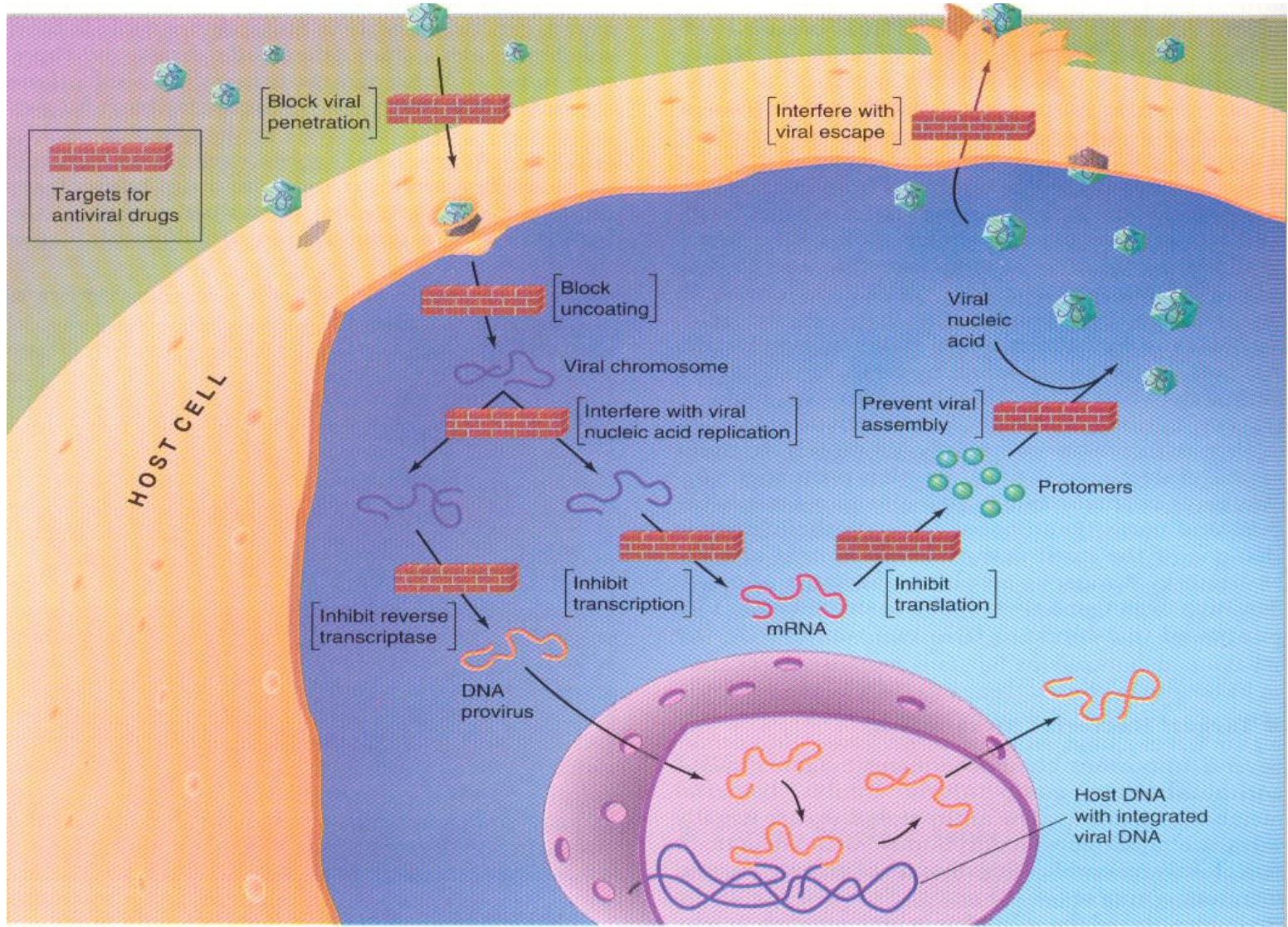
- Virus xəstəliklərinin müalicəsində istifadə edilən etiotrop preparatları bir neçə qrupa bölmək olar:
- **kimyəvi preparatlar**
- **interferonlar və onların induktorları**

Antivirus kimyəvi preparatlar

Antivirus preparatlar makroorqanizm hüceyrələrinə əhəmiyyətli zərər vermədən, ***virusların reproduksiyasının ayrı-ayrı mərhələlərini seçici olaraq ləngidir***. Buna əsasən sintetik antivirus preparatları aşağıdakı qruplara ayırmaq olar:

- **Virusların sahib hüceyrəyə adsorbsiyasının inhibitorları**
- **Sahib hüceyrədə virusların deproteinasiyanın inhibitorları** (*amantadin və remantadin*)
- **Virusların DNT-polimeraza fermentinin inhibitorları**
 - nukleozid (purin və primidin əsaslarının) analogları (idoksiuridin, vidarbin və s.)
 - selektiv olaraq virusla yoluxmuş hüceyrə hüddunda təsir göstərənlər (asiklovir, qansiklovir, famsiklovir, ribavirin, foskarnet və s.)
- **Əks-transkriptaza fermentinin inhibitorları** - azidotimidin (zidovudin), zalsitabin, lamivudin və s.
- **Virus proteazalarının inhibitorları** (sakvinavir, ritonavir və s.)
- **Son virus zülallarının sintezinin inhibitorları** (metisazon və marboran)

Antivirus preparatların təsir hədəfləri



İnterferonlar

- 1957-ci ildə A.Ayzeks və J.Lindeman ***virusların interferensiyasını*** (interferensiya - bir virusla yoluxmuş hüceyrənin digər viruslara qarşı qeyri-həssas olması fenomenidir) öyrənərkən məlum olmuşdur ki, bu fenomen antivirus xassəyə malik zülalla - interferonla əlaqədardır.
- Interferon - molekul kütləsi 15-70 kD olan zülal-qlikolipid olub, immun sistemin və birləşdirici toxumanın hüceyrələrində sintez olunur.
- Hansı hüceyrələr tərəfindən sintez edilməsindən asılı olaraq interferonun üç tipi fərqləndirilir:

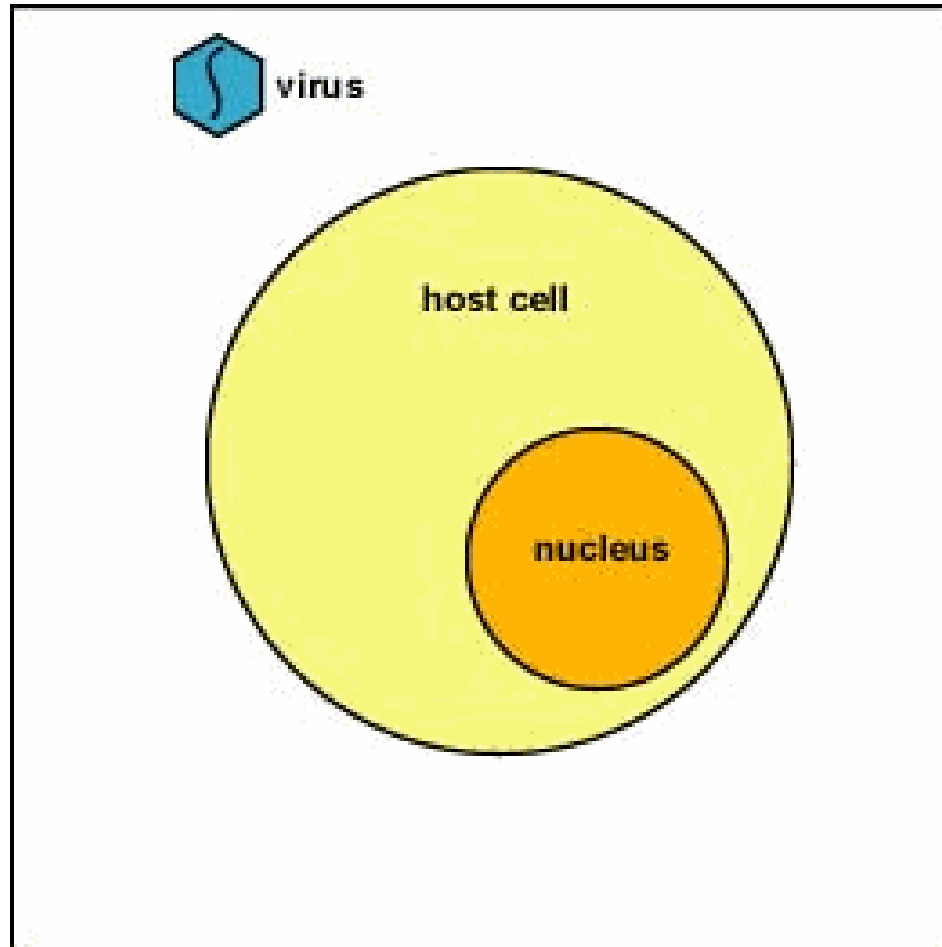
İnterferonlar

- **Alfa-interferon** leykositlərdə sintez olunur və leykositar interferon adlanır;
- **Beta-interferon** birləşdirici toxuma hüceyrələrində (fibroblastlarda) sintez edilərək fibroblast interferon adlanır;
- **Qamma-interferon** immun interferon adlanır, aktivləşmiş T-limfositlər, makrofaqlar, təbii killerlər, ümumiyyətlə, immun hüceyrələr tərəfindən sintez edilir.

İnterferonun təsir mexanizmi

- Interferon viruslara hüceyrə xaricində bilavasitə təsir etmir, xüsusi reseptorlarla birləşərək virusların reproduksiyasını ***zülalların sintezi mərhələsində*** ləngidir.
- Antivirus təsirlə yanaş, interferonlar şiş hüceyrələrinin proliferasiyasının (çoxalmasının) qarşısını almaqla şiş əleyhinə də təsir göstərir, faqositozu, təbii killerləri, anticisim hasilatını stimullaşdırmaqla, toxuma uyğunluğunun baş kompleksinin ekspressiyasını aktivləşdirməklə ***immunomodulyasiyaedici aktivliyə*** malikdir.

İnterferonun təsir mexanizmi



İnterferonun induktorları - interferonogenlər

- Hüceyrələr viruslarla yoluxduqda, interferon hasilatını kəskin artırır.
- Interferon hasilatı eləcə də interferonun induktorlarının, məsələn, RNT, DNT, mürəkkəb polimerlərin və s. təsiri zamanı da müşahidə edilir.
- Interferonun belə induktorları **interferonogenlər** adını almışdır. Hazırda tibb praktikasında sintetik interferonogenlər (sikloferon və s.) geniş tətbiq edilir.