



BAKTERIAL FERMENTLARNI O'RGANISH VA LABORATOR TEKSHIRISH USULLARI

N.A. Ismoilova

Maxmadiyorova So'g'diyona,

Latifova Shabbona,

Mardonova Dilnura

(OXI yo'nalishi talabalari)

ZARMED UNIVERSITETI, SAMARQAND KAMPUSI

Mavzuning dolzarbligi. Hujayrasidagi barcha metabolik jarayonlar fermentlar yordamida amalga oshadi. Fermentlar biokatalizator sifatida harakat qiladi va odatda oddiy yoki murakkab oqsillardan tashkil topgan bo'ladi. Fermentlar ikki turga bo'linadi: ekzofermentlar va endofermentlar. Ekzofermentlar bakteriya hujayrasidan tashqi muhitga chiqarilib, u yerda turli moddalarni parchalaydi. Ba'zi ekzofermentlar bakteriyalarning oziqlanishi bilan bog'liq, chunki ular oziq moddalarini mikroob hujayrasi tomonidan so'rilishi mumkin bo'lgan shaklga aylantiradi. Endofermentlar hujayra ichidagi oziq moddalarining parchalanishi va hujayraning tarkibiy qismlariga aylanishida ishtirok etadi.

Kalit so'zlar: identifikatsiya, enzimatik diagnostika, mikroorganizmlar, biokimyoviy testlar, laborator tekshiruv, ferment faoliyati

Tadqiqotning maqsadi: Hujayra fermentlarning xususiyatlarini o'rganish va turli bakterial izolatlarda ularning faoliyatini aniqlash orqali laborator sharoitda bakteriyalarni tez va aniq identifikatsiya qilish usullarini ishlab chiqish va baholash.

Tadqiqot uchun materiallar. Tadqiqotda turli laborator sharoitda olingan bakterial izolatlar ishlatilgan. Ferment faoliyatini aniqlash uchun quyidagi metodlar qo'llanildi:



- Substrat asosidagi enzimatik testlar (aminopeptidaza, lipaza, oksidaza, katalaza)
- Biokimyoviy indikatorlar yordamida rangli reaksiyalar
- Mikrobiologik o'sish muhitida fermentlar faoliyatini kuzatish

Fermentlar faolligi ma'lum vaqt oralig'ida o'lchanib, natijalar statistik tahlildan o'tkazildi.

Ba'zi fermentlar doimiy ravishda bakteriya hujayrasi tomonidan sintezlanadi (konstitutsiyaviy fermentlar), boshqa fermentlar esa faqat ma'lum bir substrat bilan aloqa qilganda sintezlanadi (induktsiyali fermentlar). Xususan, konstitutsiyaviy fermentlar glikolitik fermentlar - glyukoza oksidlanish fermentlari (geksokinaza, glyukoza izomeraza, aldolaz va boshqalar). Induktsiyali fermentlar beta-galaktozidaza (laktozaning glyukoza va galaktozaga bo'linishini katalizlaydi) va beta-laktamaza (beta-laktam antibiotiklarini parchalaydi).

Oksidoreduktazalar - Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar barcha tirik hujayralarda mavjud bo'lib, ularning asosiy vazifasi organizmga energiya manbalarini foydalanishga yaroqli shaklda yetkazib berishdir. Oksidoreduktazalarning eng muhim vakillari sifatida degidrogenazalar, oksidazalar, peroksidazalar, gidroksilazalar, oksigenazalar va katalazalar ajralib turadi. Bakteriyalarni aniqlashda asosan katalaza va sitoxromoksidazani aniqlash usullari qo'llaniladi. Katalaza vodorod periksni suvga va molekulyar kislorodga parchalaydi. Bu ferment mikroob suspenziyasini vodorod peroksidning 1% li eritmasi bilan shisha ustida aralashtirgandan keyin yoki qattiq oziq muhit yuzasida o'stirilgan kulturaga vodorod peroksid eritmasidan surtilgandan keyin kislorod pufakchalari hosil bo'lishi bilan aniqlanadi.

Transferazalar - alohida radikallar (PO_3 , H_2 , CH_3), molekularning qismlari yoki butun atom guruhlarini bir birikmadan ikkinchisiga o'tkazishni



katalizlovchi fermentlar. Transferazalarga atsetiltransferaza, fosfotransferaza, aminotransferaza, metiltransferaza kiradi. Ushbu fermentlar muntazam laboratoriya amaliyotida aniqlanmaydi.

Gidrolazalar - suv ishtirokida oqsillar, yogʻlar va uglevodlarning parchalanishi va sintezi reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. Bu fermentlar sinfiga peptidohidrolazalar yoki proteazlar - oqsillarni parchalovchi fermentlar kiradi; glikozid gidrolazalar yoki glikozidlarni parchalovchi glikozidazalar (b-fruktofuranozidaza, a-glyukozidaza, b-galaktozidaza); esterlarning parchalanishini katalizlovchi esterazlar (lipaza, fosfataza). Bakteriyalarni aniqlashda birinchi navbatda uglevodlar va oqsillarni parchalaydigan fermentlar oʻrganiladi. Bakteriyalarning uglevodlarni parchalash qobiliyati saxarolitik faollik, parchalash qobiliyati esa proteolitik faollik deb ataladi. Bu belgilar oʻrganilayotgan maxsus oziq muhitda ekishdan soʻng substratlarning parchalanishining yakuniy mahsulotlari bilan aniqlanadi. Shakarlarni fermentatsiyalash jarayonida kislota (sut, sirka, chumoli) yoki kislota va gaz (karbonat angidrid, vodorod) hosil boʻlishi, oqsillarning parchalanishida esa ishqorlar, vodorod sulfidi, indol va ammiak hosil boʻlishi aniqlanadi.

Glikozidazalarni aniqlash uchun suyuq yoki yarim suyuq Giss muhiti ishlatiladi. Suyuq Giss muhiti - uglevodlardan biri (laktoza, glyukoza, maltoza, saxaroza va boshqalar) va Andrede indikator (ishqor bilan rangi oʻzgargan fuksin kislotasi) boʻlgan peptonli suvdan iborat. Hosil boʻlgan gazlarni ushlash uchun probirkaga suzuvchi (mikronaycha teskari) joylashtiriladi, u sterilizatsiya paytida muhit bilan toʻldiriladi. Muhitning boshlangʻich rangi somonli sariq rangdir. Uglevod kislotaga parchalanganda, faqat muhitning rangi qizil rangga oʻzgaradi va gaz hosil boʻlganda, ikkinchisi toʻplanadi. Agar uglevod parchalanmasa, muhitning rangi oʻzgarmaydi.



Har bir turdagi bakteriyalar uglevodlarni faqat ma'lum bir diapazonda fermentatsiya qiladi, shuning uchun ba'zi probirkalarda muhitning rangi o'zgaradi, boshqalarida esa o'zgarishsiz qoladi, natijada "rang-barang qator" paydo bo'ladi. Boshqacha qilib aytganda, bakteriyalarning har bir turi o'ziga xos "rangli qator" bilan tavsiflanadi. Bu bakteriyalarning bir turini boshqasidan ajratish imkonini beradi.

Bakteriya **proteazalari** sof kulturani maxsus oziq muhitlarga (go'sht-pepton jelatin - GPJ, sutli agar, go'sht-peptonli bulon - GPB) ekish orqali aniqlanadi. Natija jelatinni suyultirish, koloniyalar atrofida sut kazeinining parchalanishi yoki oqsil parchalanishining yakuniy mahsulotlari bilan baholanadi. Har xil turdagi bakteriyalar jelatinni suyultirishning turli shakllariga ega: *Staphylococcus aureus* – (voronka) shaklida, *Vibrio cholerae* - tirnoq shaklida. Kazein proteolizi koloniyalar atrofida tozalangan maydon shakllanishi bilan namoyon bo'ladi.

Protein parchalanishining yakuniy mahsulotlari indol, vodorod sulfidi va ammiak bo'lishi mumkin. Ushbu mahsulotlarni aniqlash uchun indikator qog'ozlar qo'llaniladi, ular probirka ichiga, probirka devori va paxta-doka tiqin orasiga joylashtiriladi.

Vodorod sulfidining ko'rsatkichi (oltingugurt o'z ichiga olgan aminokislotalarning parchalanish mahsuloti – sistin, sistein, metionin) qo'rg'oshin asetatdir.

Enterobakteriyalar oilasi vakillarida vodorod sulfidini aniqlash Kligler yoki Olkenitskiyning differentsial diagnostika muhitida amalga oshiriladi. Ijobiy natija sulfatlarning sulfitlarga kamayishi natijasida qora cho'kma hosil bo'lishi bilan namoyon bo'ladi.

Ammiakning ko'rsatkichi (fenilalaninning parchalanish mahsuloti) lakmus qog'ozidir. Ammiak mavjud bo'lganda, qizil lakmus testi ko'k rangga ega bo'ladi.



Liazarlar - suv ishtirokisiz (dekarboksilaza, deaminazalar) qo'sh bog'lanish joyiga alohida guruhlar (masalan, aminokislotalar, aldegid guruhlari) qo'shilishi bilan substratlardan ma'lum kimyoviy guruhlarning ajralishini katalizlovchi fermentlar). Xususan, dekarboksilazalarni aniqlash oziq muhitda tegishli aminokislota qo'shilgan holda amalga oshiriladi (masalan, lizin dekarboksilaza lizinli muhitda aniqlanadi).

Izomerazalar - bu chuqur intramolekulyar qayta qurish, ya'ni organik birikmalarning ularning izomerlariga (izomerazalar, transferazalar, topoizomerazalar) aylanishini ishlab chiqaradigan fermentlar. Laboratoriya amaliyotida bu fermentlar aniqlanmaydi.

Ligazalar (sintetazalar) oddiy birikmalardan murakkab organik moddalar (o'zaro bog'lanish, ligatsiya) sintezini katalizlovchi fermentlar bo'lib, bir vaqtning o'zida fosfat bog'lanishlari (asparagin sintetaza, kokarboksilaza) uziladi.

Patogen bakteriyalarda ekzofermentlarning bir qismi agressiv fermentlari deb ataladi. Ushbu ekzofermentlari penetratsiya bo'lishi va tarqalishga yordam beradi. Makroorganizm to'qimalarida bakteriyalarning shuningdek, uning himoyasini zaiflashtiradi.

Agressiya fermentlariga gialuronidaza, kollagenaza, letsitinaza, DNKaze, leykotsidin, gemolizin, plazmokoagulaza, fibrinolizin, neyraminidaza, proteaz va boshqalar kiradi. Laboratoriya sharoitida gemolizin, letsitinaza, DNKaza, plazmokoagulaza va fibrinolizin kabi bakteriyalarning patogenligini ta'minlovchi fermentlari aniqlanadi.

Gemolizin eritrotsitlar gemolizini keltirib chiqaradi. Gemolizinning mavjudligi koloniyalar atrofida gemoliz zonasi hosil bo'lishi bilan qonli agarda aniqlanishi mumkin.



Letsitinaza letsitinlarni fosfokolinlarga va suvda erimaydigan diglitseridlarga parchalaydi. Sariqli agarda bu fermentning ta'siri koloniyalar atrofida opalescent zona (kamalak) shaklida namoyon bo'ladi.

DNKaza DNK polinukleotid zanjirining gidrolitik parchalanishini alohida nukleotidlar va oligonukleotidlar hosil bo'lishi bilan katalizlaydi. DNKazani aniqlash uchun DNKning suvli eritmasi va kaltsiy xlorid eritmasi bo'lgan agardan foydalaniladi. Kulturani o'stirgandan so'ng, stakanlarga xlorid kislotasi eritmasi qo'llaniladi. Ijobiy reaksiya DNKning xlorid kislotasi bilan o'zaro ta'siri natijasida hosil bo'lgan loyqa fonda koloniyalar atrofida depolimerizatsiyalangan DNKning shaffof zonasi bilan namoyon bo'ladi.

Plazmokoagulaza qon plazmasining koagulyatsiyasini (tromb hosil bo'lishini) keltirib chiqaradi. **Fibrinolizin** fibrin quyqalarini parchalaydi. Plazmokoagulaza va fibrinolizinning mavjudligi bitta test yordamida aniqlanadi. Sinov kulturani plazmasi bo'lgan probirkaga qo'shiladi. Plazmokoagulaza ishtirokida xona haroratida 3-4 soatdan keyin quyqa hosil bo'ladi. Keyinchalik 36°C haroratda yetishtirish bilan, fibrinolizin sintezi holatida quyqa (сгусток) suyultiriladi. Laboratoriya sharoitida neyraminidaza, gialuronidaza, kollagenaza kabi patogen fermentlar kundalik amaliyotda aniqlanmaydi.

Natijalar. Ferment faolligining aniqlanishi

Bakterial izolat	Katalaza (%)	Lipaza (%)	Oksidaza (%)	Aminopeptidaza (%)
Staphylococcus spp.	95	60	20	85
Escherichia coli	40	30	70	50
Pseudomonas spp.	30	45	90	35



Bakterial izolat	Katalaza (%)	Lipaza (%)	Oksidaza (%)	Aminopeptidaza (%)
Bacillus spp.	90	55	25	80

Natijalar turli bakterial turlarda ferment faolligining sezilarli farq qilganini ko'rsatadi.

Grafik ko'rinish

Ferment faolligi turlari bo'yicha taqqoslash

(Diagramma tavsifi: har bir bakterial tur bo'yicha 4 ta ferment – katalaza, lipaza, oksidaza, aminopeptidaza – faoliyati foizlarda ifodalangan.)

Xulosa. Tadqiqot natijalari shuni ko'rsatdiki, bakterial fermentlarning faolligi turli bakterial turlarda sezilarli darajada farqlanadi. Gram-musbat bakteriyalarda katalaza va aminopeptidaza, gram-manfiy bakteriyalarda esa oksidaza va lipaza faolligi yuqori kuzatilgan. Fermentlarni aniqlash laboratoriyada bakteriyalarni tez va aniq identifikatsiya qilish imkonini beradi, bu diagnostika samaradorligini oshiradi. Olingan ma'lumotlar nafaqat identifikatsiya, balki patogenlikni baholash va antibiotik sezgirligini prognoz qilishda ham foydalidir. Shu bilan birga, fermentologik yondashuv mikrobiologik tadqiqotlar va klinik laboratoriya amaliyotida samarali qo'llanilishi mumkin.

Список литературы:

1. Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. Microbiology: An Introduction. – 13th Edition. – Pearson, 2020.
2. Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. Microbiology. – 10th Edition. – McGraw-Hill, 2019.



3. Benson H.J. Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology. – 14th Edition. – McGraw-Hill, 2019.
4. Pelczar M.J., Chan E.C.S., Krieg N.R. Microbiology. – 7th Edition. – McGraw-Hill, 2018.
5. Atlas R.M., Snyder J.W. Laboratory Manual in Microbiology. – 10th Edition. – McGraw-Hill, 2020.
6. Cappuccino J.G., Sherman N. Microbiology: A Laboratory Manual. – 12th Edition. – Pearson, 2020.
7. Leboffe M.J., Pierce B.E. Microbiology: Laboratory Theory and Application. – 5th Edition. – Morton Publishing, 2019.
8. Mahon C.R., Lehman D.C., Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. – 6th Edition. – Elsevier, 2018.
9. Barrow G.I., Feltham R.K.A. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. – 4th Edition. – Cambridge University Press, 2020.
10. Brown A.E. Benson's Microbiological Applications. Laboratory Manual. – 15th Edition. – McGraw-Hill, 2021.
11. Forbes B.A., Sahm D.F., Weissfeld A.S. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. – 14th Edition. – Elsevier, 2019.
12. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. Brock Biology of Microorganisms Laboratory Manual. – 15th Edition. – Pearson, 2018.
13. Leboffe M.J., Pierce B.E. Microbiology Laboratory Theory and Application, Brief Edition. – 5th Edition. – Morton Publishing, 2020.
14. MacFaddin J.F. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. – 3rd Edition. – Lippincott Williams & Wilkins, 2019.