

BAKTERIAL FERMENTLARNI O'RGANISH VA LABORATOR IDENTIFIKATSIYA QILISH USULLARI

PhD Xudoyarova G.N.

Otaqulova Ozoda G'ani qizi (davolash ishi yo'nalishi talabasi)

ZARMED UNIVERSITETI SAMARQAND KAMPUSI

Mavzuning dolzarbligi. Bakteriya 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: Bakteriya fermentlari, identifikatsiya, enzimatik diagnostika, mikroorganizmlar, biokimyoviy testlar, laborator tekshiruv, ferment faoliyati

Tadqiqotning maqsadi: Bakterial 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.

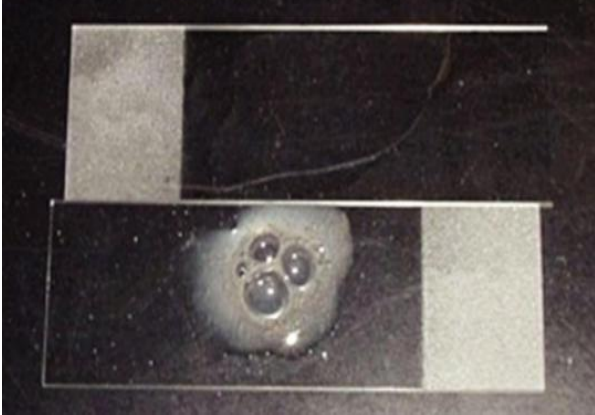
Tadqiqot uchun materiallar. Tadqiqotda turli laborator sharoitda olingan bakterial isolatlar ishlatilgan. Ferment faoliyatini aniqlash uchun quyidagi metodlar qo'llanildi:

- 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).

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.

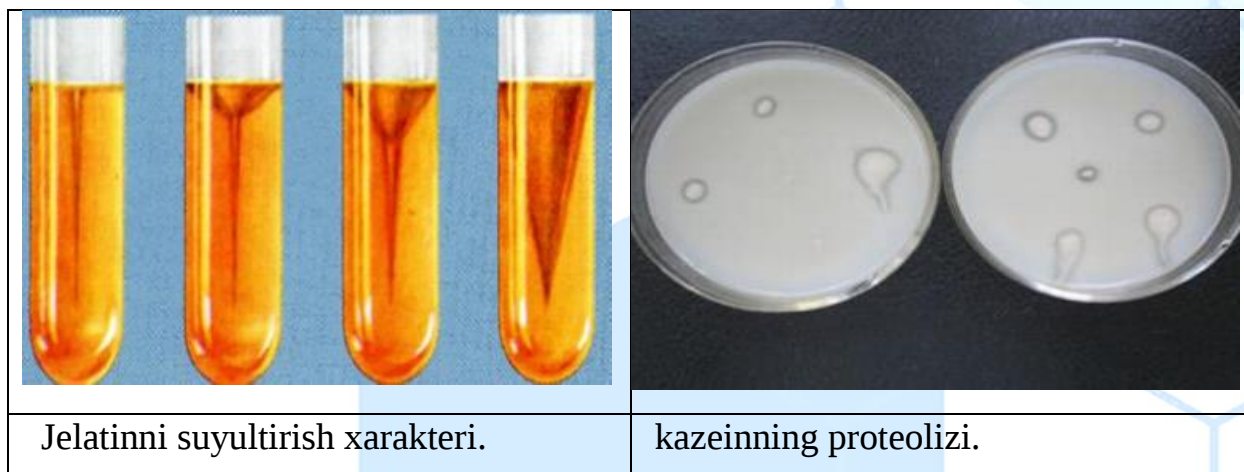
	
Shisha buyum oynachalarda va zich oziq muhit yuzasida bakterial katalazani aniqlash.	

Transferazalar - alohida radikallar (PO_3 , H_2 , CH_3), molekulalarning 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, yog'lar 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 o'rganiladi. Bakteriyalarning uglevodlarni parchalash qobiliyati saxarolitik faollik, parchalash qobiliyati esa proteolitik faollik deb ataladi.

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.

	
A	B
Kligler (a) va Olkenitskiy (b) muhitida enterobakteriyalarning o‘ssishi. Muhitning qora rangi vodorod sulfidining paydo bo‘lishini ko‘rsatadi.	

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

Liazalar - 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 diglitsididlarga parchalaydi. Sariqli agarda bu fermentning ta'siri koloniyalar atrofida opalescent zona (kamalak) shaklida namoyon bo'ladi.

Plazmokoagulaza qon plazmasining koagulyatsiyasini (tromb hosil bo'lishini) keltirib chiqaradi. 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

Бактериал изолат	Катализа (%)	Липаза (%)	Оксидаза (%)	Аминопептидаза (%)
Staphylococcus spp.	95	60	20	85
Escherichia coli	40	30	70	50
Pseudomonas spp.	30	45	90	35
Bacillus spp.	90	55	25	80

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

Хулоса. 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.

Фойдаланилган адабиётлар:

1. Khan T., Alzahrani O.M., Sohail M. et al. Enzyme profiling and identification of endophytic and rhizospheric bacteria isolated from *Arthrocnemum macrostachyum*. *Microorganisms*. 2022;10(11):2112. doi:10.3390/microorganisms10112112.
2. Oumer O.J., Abate D. Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. *Biomed Res Int*. 2018;2018:2961767. doi:10.1155/2018/2961767.
3. "3 Enzyme Tests in Bacterial Identification." *Methods in Microbiology*. 1988;19:105-160. (Enzim testlarining bakteriyalarni identifikatsiyasidagi o'rni haqida sharh).
4. Jamaludin S.L., Rehena J.F., Seumahu C.A., Rumahlatu D. Isolation and identification of protease enzyme producing bacteria from fermentation of gonad sea urchin. *Ilmu Kelautan*. 2018;23(4):187-198.
5. Forbes B.A., Sahm D.F., Weissfeld A.S. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 14th ed. St. Louis: Elsevier; 2021.
6. Madigan M.T., Bender K.S., Buckley D.H., et al. Brock Biology of Microorganisms. 16th ed. Boston: Pearson; 2018.

7. Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. Microbiology: An Introduction. 13th ed. Boston: Pearson; 2019.
8. Hafezi A., Khamar Z. The method and analysis of some biochemical tests commonly used for microbial identification: a review. *Compr Health Biomed Stud.* 2024;3(2):e160199.
9. O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni saqlash vazirligi. Bolalarda pnevmoniyani tashxislash va davolash bo‘yicha klinik protokol. Toshkent; 2022.
10. World Health Organization. WHO Model List of Essential Medicines for Children. Geneva: WHO; 2023.