

**BAKTERIAL FERMENTLARNI LABORATOR SHAROITDA ANIQLASH  
VA IDENTIFIKATSIYA QILISH TEXNOLOGIYALARI***PhD Xudoyarova G.N**Sayfullayeva Xabiba Abdikadirovna**Ergasheva Zuhro Davlatovna**Xomidova Orosta Ilxomovna**(farmatsiya yo'nalishi talabalari)**ZARMED UNIVERSITETI SAMARQAND KAMPUSI*

**Mavzuning dolzarbligi.** Hozirgi kunda mikrobiologiya va laborator diagnostika sohasining jadal rivojlanishi bakterial mikroorganizmlarni tez, aniq va ishonchli identifikatsiya qilish usullarini takomillashtirishni talab etmoqda. Bakterial fermentlar mikroorganizmlarning metabolik faoliyatini ifodalovchi muhim biologik ko'rsatkichlardan biri bo'lib, ularning fermentativ xususiyatlarini o'rganish bakteriyalarni tur va avlod darajasida aniqlashda muhim ahamiyat kasb etadi. Patogen va shartli patogen bakteriyalarni laborator sharoitda identifikatsiya qilishda fermentativ testlardan foydalanish mikrobiologik diagnostikaning asosiy bosqichlaridan hisoblanadi.

Katalaza, oksidaza, ureaza, koagulaza, amilaza va boshqa fermentlarni aniqlash usullari bakterial turlarni bir-biridan farqlash, infeksiya qo'zg'atuvchilarini aniqlash hamda samarali davolash strategiyasini tanlash imkonini beradi. Shu bilan birga, zamonaviy laborator texnologiyalar rivojlanishi natijasida bakterial fermentlarni aniqlashning yuqori sezgirlikka ega bo'lgan biokimyoviy va avtomatlashtirilgan diagnostik usullari amaliyotga keng joriy qilinmoqda. Antibiotiklarga rezistentlik muammosining ortib borishi ham mikroorganizmlarni tezkor identifikatsiya qilish zaruratini kuchaytirmoqda. Bakterial fermentlarni o'rganish nafaqat klinik mikrobiologiyada, balki epidemiologik nazorat, sanitariya-gigiyena tekshiruvlari, farmatsevtika va biotexnologiya sohalarida ham muhim ilmiy va amaliy ahamiyatga ega. 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:** bakterial fermentlar, mikrobiologiya, laborator diagnostika, identifikatsiya, enzimatik diagnostika, mikroorganizmlar, biokimyoviy testlar, laborator tekshiruv, ferment faoliyati

**Tadqiqotning maqsadi:** Bakterial fermentlarning biologik va fermentativ xususiyatlarini o'rganish, ularning mikroorganizmlarni laborator sharoitda identifikatsiya qilishdagi ahamiyatini baholash hamda bakterial fermentlarni aniqlashning zamonaviy mikrobiologik va biokimyoviy usullarini tahlil qilishdan iborat. Shuningdek, laborator diagnostikada qo'llaniladigan fermentativ testlarning samaradorligi, aniqligi va amaliy ahamiyatini o'rganish ham tadqiqotning asosiy maqsadlaridan biri hisoblanadi.

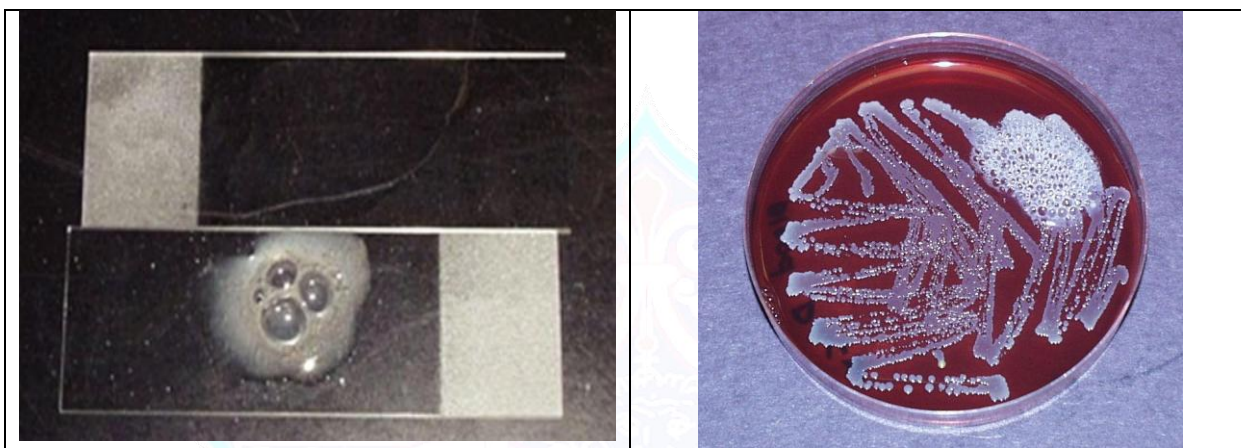
**Tadqiqot uchun materiallar.** Tadqiqotda turli laborator sharoitda olingan bakterial isolatlar ishlatilgan. Ferment faoliyatini aniqlash uchun quyidagi metodlar qo'llanildi:

- 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 (induksiyali fermentlar). Xususan, konstitutsiyaviy fermentlar glikolitik fermentlar - glyukoza oksidlanish fermentlari (geksokinaza, glyukoza izomeraza, aldolaz va boshqalar). Induksiyali fermentlar beta-galaktozidaza (laktozaning glyukoza va galaktozaga bo'linishini katalizlaydi) va beta-laktamaza (beta-laktam antibiotiklarini parchalaydi).

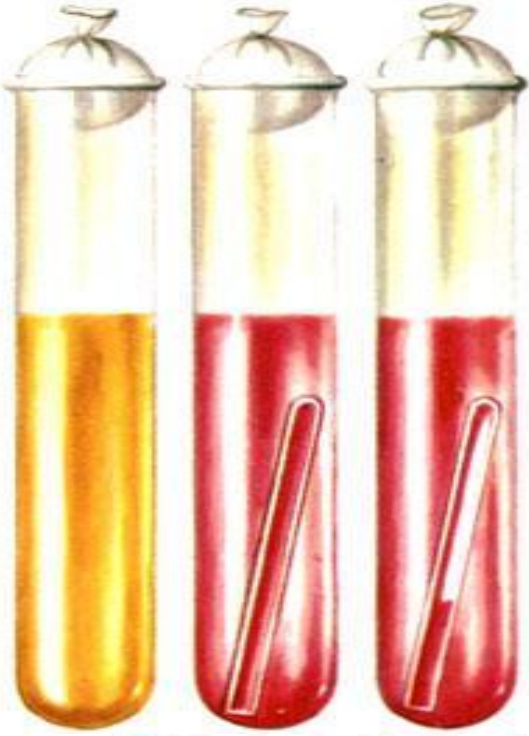
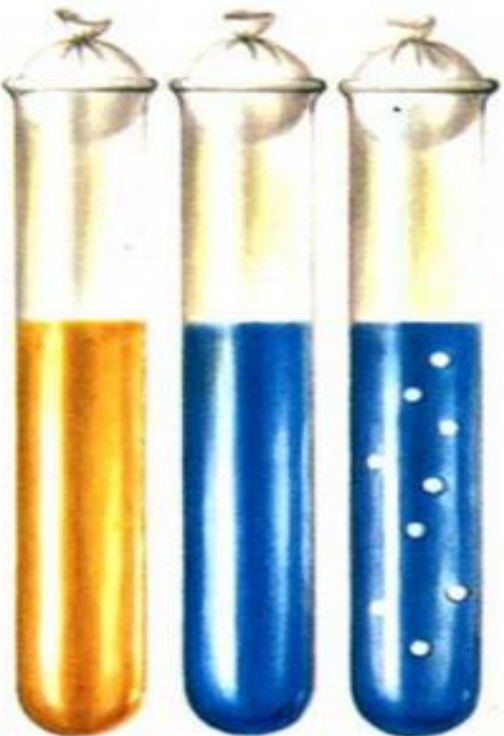
**Oksidoreduktazalar** - Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar barcha tirik hujayralarda mavjud bo'lib, ularning asosiy vazifasi organizmga energiya manbalarini foydalanishga yaroqli shaklda yetkazib berishdir. Oksidoreduktazalarning eng muhim vakillari sifatida dehidrogenazalar, 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 aralastirgandan 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.

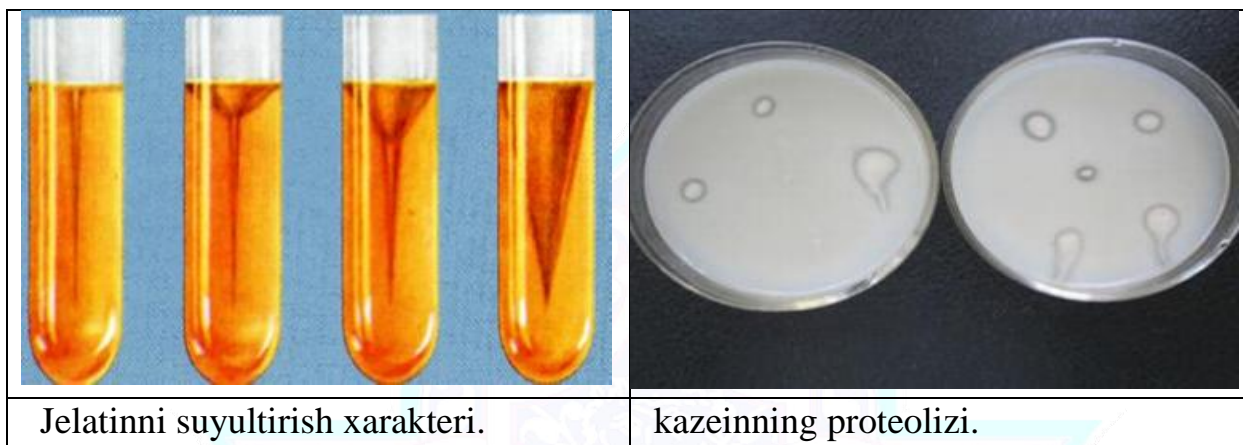
**Gidrolazalar** - suv ishtirokida oqsillar, yog‘lar va uglevodlarning parchalanishi va sintezi reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. Bu fermentlar sinfiga peptidohidrolazalar yoki proteazlar - oqsillarni parchalovchi fermentlar kiradi; glikozid gidrolazalar yoki glikozidlarni parchalovchi glikozidazalar (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. Bu belgilar o‘rganilayotgan maxsus oziq muhitda ekishdan so‘ng substratlarning parchalanishining yakuniy mahsulotlari bilan aniqlanadi. Shakarlarni fermentatsiyalash jarayonida kislota (sut, sirka, chumoli) yoki kislota va gaz (karbonat anhidrid, vodorod) hosil bo‘lishi, oqsillarning parchalanishida esa ishqorlar, vodorod sulfidi, indol va ammiak hosil bo‘lishi 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 o‘zgargan fuksin kislotasi) bo‘lgan peptonli suvdan iborat. Hosil bo‘lgan gazlarni ushlab uchun probirkaga suzuvchi (mikronaycha teskari) joylashtiriladi, u sterilizatsiya paytida muhit bilan to‘ldiriladi. Muhitning boshlang‘ich rangi somonli sariq rangdir. Uglevod kislotaga parchalanganda, faqat muhitning rangi qizil rangga o‘zgaradi va gaz hosil bo‘lganda, ikkinchisi to‘planadi. Agar uglevod parchalanmasa, muhitning rangi o‘zgarmaydi.

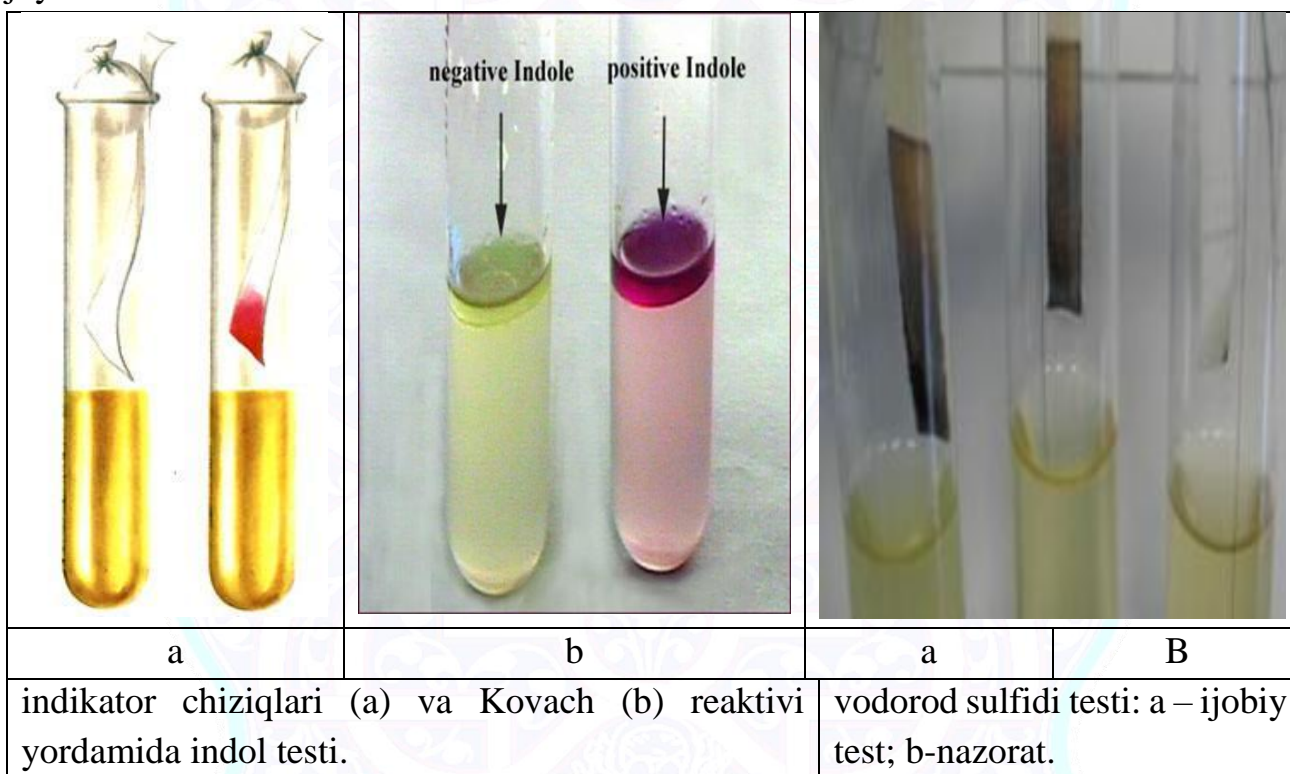
					
A	B	c	a	b	C
<p>– Suyuq Giss muhiti: a – boshlang'ich muhit: b – uglevodning kislotaga parchalanishi: c – uglevodning kislota va gazgacha parchalanishi.</p>			<p>- Yarim suyuqlik Giss muhiti: a – dastlabki muhit: b – uglevodning kislotaga parchalanishi: c – uglevodning kislota va gazgacha parchalanishi.</p>		

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.

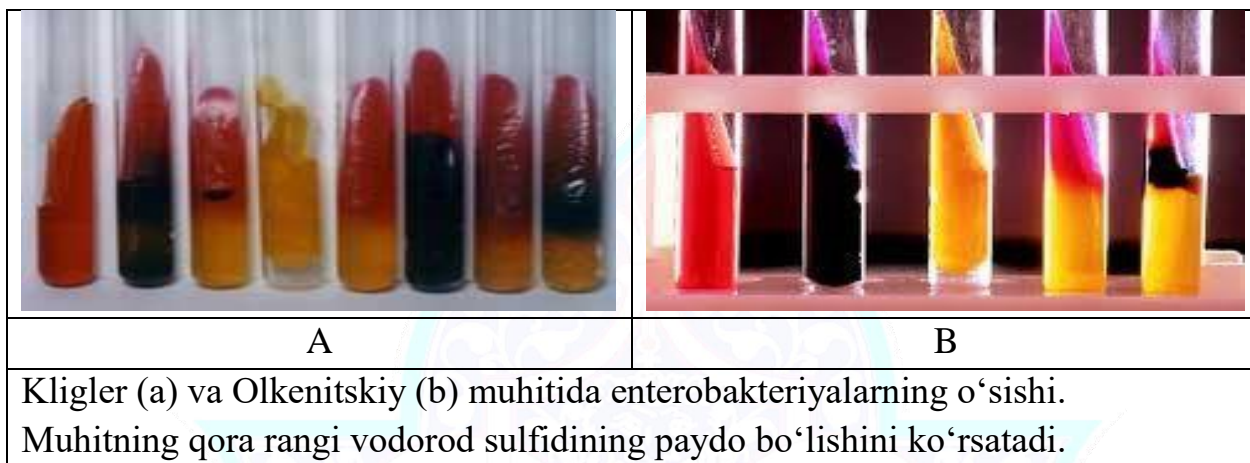


Protein parchalanishining yakuniy mahsulotlari indol, vodorod sulfidi va ammiak bo'lishi mumkin. Ushbu mahsulotlarni aniqlash uchun indikator qog'ozlar qo'llaniladi, ular probirka ichiga, probirka devori va paxta-doka tiqin orasiga joylashtiriladi.



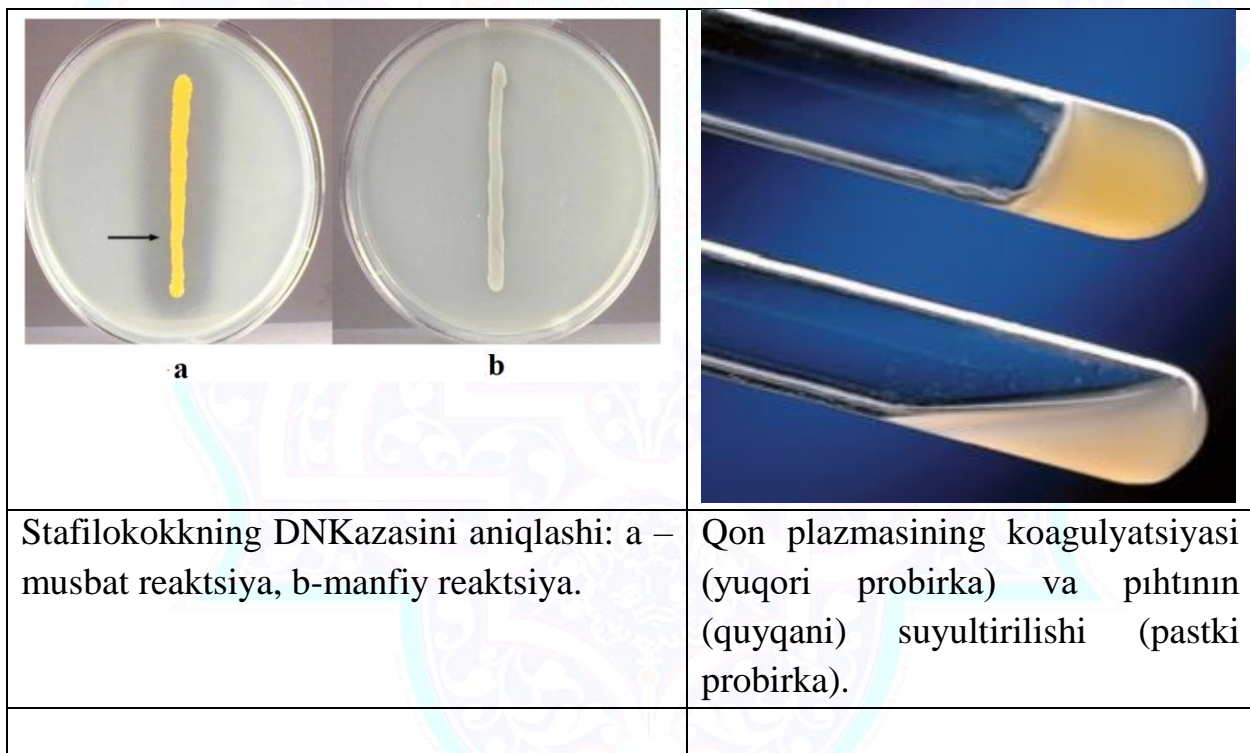
Vodorod sulfidining ko'rsatkichi (oltingugurt o'z ichiga olgan aminokislotalarning parchalanish mahsuloti – sistin, sistein, metionin) qo'rg'oshin asetatdir.

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.

**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



**Letsitinaza** letsitinlarni fosfokolinlarga va suvda erimaydigan diglitsridlarga 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 kislota eritmasi qo‘llaniladi. Ijobiy reaksiya DNKning xlorid kislota bilan o‘zaro ta'siri natijasida hosil bo‘lgan loyqa fonda koloniyalar atrofida depolimerizatsiyalangan DNKning shaffof zonasi bilan namoyon bo‘ladi.

**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
Bacillus spp.	90	55	25	80

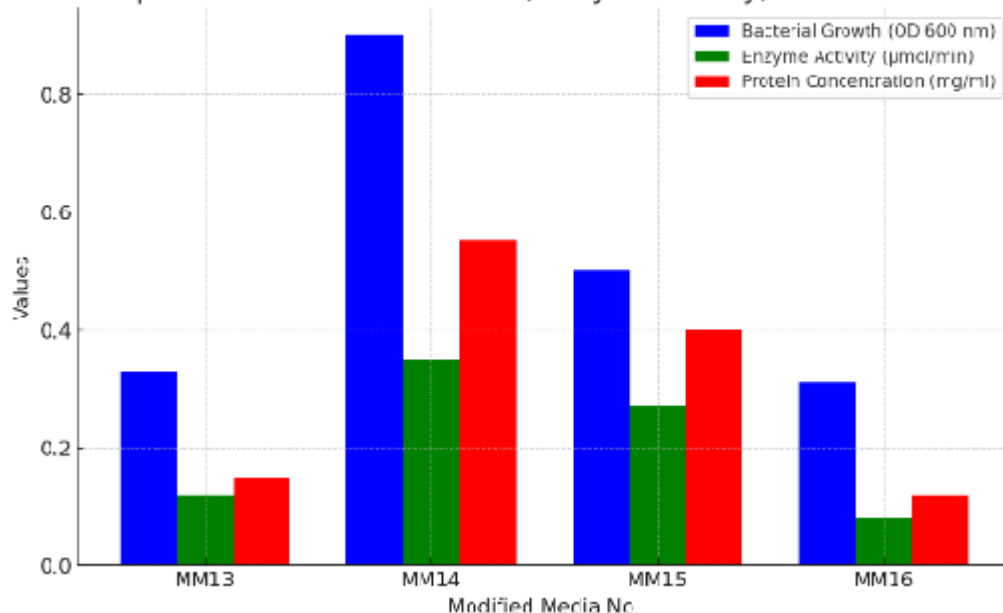
Natijalar turli bakterial turlarda ferment faolligining sezilarli farq qilganini ko‘rsatadi.

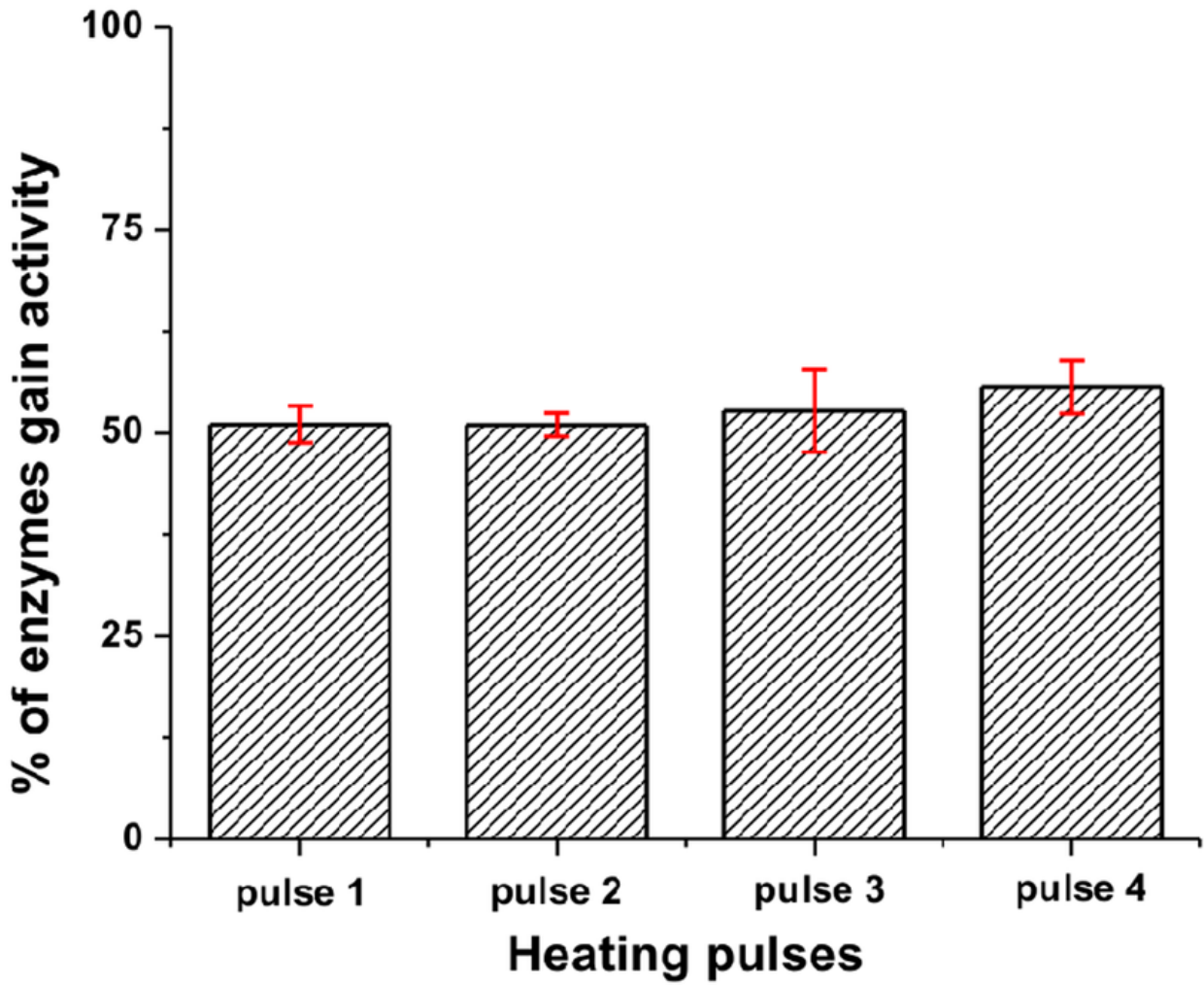
### Grafik ko‘rinish

#### Ferment faolligi turlari bo‘yicha taqqoslash

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

Effect of Temperature on Bacterial Growth, Enzyme Activity, and Protein Concentration





Enzyme	Properties	Producer Microbes-	Applications	Reference
PROTEASE (Proteolytic activity)	Acidic, Neutral, Alkaline, Thermophilic, Active in presence of inhibitory compounds	<i>Bacilli</i> ; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Clostridium</i> ; <i>Rhizopus</i> ; <i>Penicillium</i> ; <i>Aspergillus</i>	Washing Powders; Detergents; Tannery; Food Industry; Leather processing; Pharmaceuticals; Molecular Biology; Peptide synthesis	[1,3,11–19,34]
KERATINASE (Keratin-hydrolysing activity)	Specific Proteolytic Activity for Insoluble & Fibrous Proteins in furs, feathers, wool, hair; Thermophilic; Alkalophilic; Oxidation-Resistant	Bacteria; Actinomycetes; Fungi	Animal Feed Production; Textile Processing; Detergent Formulation; Leather Manufacturing; Medicine	[1,20–25,34]
AMYLASE (Starch-hydrolyzing activity)	Thermotolerant, Thermostable, Alkali-resistant-Exo-, endo-, de-branching, cyclodextrin-producing enzymes	<i>Bacillus</i> sp.; <i>Geobacillus</i>	Starch industry (for liquefaction); Paper, Food industry (Glucose & Maltose syrups, High Fructose Corn syrups, clarified fruit-juices); Pharmaceutical industries (Digestive aid); Brewing Industry (Starch-processing); Textile industry (Warp-sizing of fibers); Baking industry (delayed staling)	[1,26–34]

**Xulosa.** Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, bakterial fermentlarning faolligi turli bakterial turlarda sezilarli darajada farqlanadi. Bakterial fermentlarni o‘rganish mikrobiologiya va laborator diagnostikaning muhim yo‘nalishlaridan biri hisoblanadi. Fermentativ faollik bakteriyalarning fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini aniqlashda, ularni tur va avlod darajasida identifikatsiya qilishda hamda patogen mikroorganizmlarni tezkor tashxislashda katta ahamiyatga ega.

Tadqiqotlar natijalari bakterial fermentlarni aniqlashga qaratilgan laborator usullar mikroorganizmlarni differensial diagnostika qilishda yuqori samaradorlikka ega ekanligini ko‘rsatadi. Katalaza, oksidaza, ureaza, koagulaza va boshqa fermentativ testlar bakterial identifikatsiyaning muhim tarkibiy qismlaridan biri bo‘lib, ular klinik amaliyotda kasallik qo‘zg‘atuvchilarini aniqlash va davolash strategiyasini tanlashga yordam beradi. Zamonaviy laborator texnologiyalar va mikrobiologik tahlil usullarining rivojlanishi bakterial fermentlarni aniqlash aniqligini oshirib, diagnostika jarayonini tezlashtirish imkonini yaratmoqda. Bu esa infeksiyon kasalliklarni erta aniqlash, antibiotiklardan oqilona foydalanish hamda antibiotiklarga chidamli

mikroorganizmlar tarqalishining oldini olishda muhim o‘rin tutadi. Shunday qilib, bakterial fermentlarni o‘rganish va laborator identifikatsiya qilish usullarini takomillashtirish klinik mikrobiologiya, epidemiologiya va laborator tibbiyotning rivojlanishida muhim ilmiy-amaliy ahamiyatga ega bo‘lib, ushbu yo‘nalishdagi tadqiqotlarni yanada kengaytirish dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi.

#### Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. *Medical Microbiology*. – 9-nashr. – Philadelphia: Elsevier, 2020. – 872 b.
2. Brooks G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A., Mietzner T.A. *Jawetz, Melnick and Adelberg’s Medical Microbiology*. – 28-nashr. – New York: McGraw-Hill Education, 2019. – 864 b.
3. Forbes B.A., Sahm D.F., Weissfeld A.S. *Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology*. – 14-nashr. – St. Louis: Mosby Elsevier, 2017. – 1064 b.
4. Willey J.M., Sherwood L.M., Woolverton C.J. *Prescott’s Microbiology*. – 11-nashr. – New York: McGraw-Hill Education, 2020. – 1088 b.
5. Madigan M.T., Bender K.S., Buckley D.H., Sattley W.M., Stahl D.A. *Brock Biology of Microorganisms*. – 16-nashr. – New York: Pearson, 2021. – 1024 b.
6. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C. *Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. – 7-nashr. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2017. – 1736 b.
7. Tille P. *Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology*. – 15-nashr. – St. Louis: Elsevier, 2022. – 1136 b.
8. Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. *Microbiology: An Introduction*. – 13-nashr. – Boston: Pearson Education, 2019. – 960 b.
9. Mahon C.R., Lehman D.C., Manuselis G. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. – 6-nashr. – St. Louis: Elsevier, 2019. – 1152 b.
10. Cappuccino J.G., Welsh C.T. *Microbiology: A Laboratory Manual*. – 12-nashr. – New York: Pearson, 2020. – 560 b.