

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА  
МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ**

*Қўл ёзма ҳуқуқида*

**УДК:579.61:615.339(579-8)**

**МАГБУЛОВА НИГОРА АЛИЖОНОВНА**

**Биотехнологик препарат «ФарГАЛС»ни одам ичак микрофлораси  
вакилларига таъсири**

**5A140102- Тиббий микробиология ва вирусология**

**Магистр**

**академик даражасини олиш учун ёзилган**

**диссертация**

Илмий раҳбар:

б.ф.н., доц. Расулова Т.Х.

ТОШКЕНТ-2014

## Мундарижа

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Кириш</b> .....                                                                                     | 3  |
| <b>I боб. Адабиётлар шарҳи</b> .....                                                                   | 8  |
| 1. Тиббиётда қўлланиладиган биотехнологик препаратлар .....                                            | 8  |
| 2. Микроорганизмларни макроорганизмларга таъсири .....                                                 | 13 |
| 3. Одам организмининг нормал микрофлораси .....                                                        | 16 |
| 4. Шартли-патоген микроорганизмлар .....                                                               | 19 |
| <b>I боб бўйича хулосалар</b> .....                                                                    | 33 |
| <b>II боб. Материаллар ва методлар</b> .....                                                           | 35 |
| 1. Одам ичак микррфлораси вакиллари ажратиб олиш .....                                                 | 35 |
| 2. Микробларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш .....                                              | 40 |
| 3. Темир оксидловчи бактерияларни ажратиб олиш .....                                                   | 43 |
| <b>II боб бўйича хулосалар</b> .....                                                                   | 46 |
| <b>III Боб. Натижалар таҳлили</b> .....                                                                | 48 |
| 1. Одам ичак микрофлораси вакиллари ажратиб олиш .....                                                 | 48 |
| 2. Тадқиқотдаги микроорганизмларни синовдаги биотехнологик<br>препаратларга сезгирлигини аниқлаш ..... | 51 |
| 3. Темироксидловчи фаол ассоциациясини ажратиб олиш ва тажрибаларда<br>синаш .....                     | 63 |
| <b>Ҳотима</b> .....                                                                                    | 66 |
| <b>Хулосалар</b> .....                                                                                 | 69 |
| <b>Адабиётлар рўйхати</b> .....                                                                        | 70 |

## **Кириш**

**Мавзунинг долзарблиги:** Шубхасиз XX асрнинг иккинчи яrimi антибиотиклар эраси бўлиб келмоқда. Бу ўз навбатида кўпчилик оғир инфекцион касалликлар билан курашишта катта ютуқларга эришишга сабаб бўлмоқда ва оқибатда инсон ҳаёти давомийлиги узайши кузатилмоқда. Лекин шу билан бирга микроорганизмларни дори-дармонларга мослашиши натижасида янги резистент штаммлар пайдо бўлиши аниқланмоқда. Оқибатда полирезистент микроорганизм кўзғатадиган касалликларни дунё бўйлаб кўпайиши таъкидланмоқда. [26].

Шу туфайли патоген ва кенг қўлланиладиган антибиотиклар ва кимёвий препаратларга чидамли микрофлорага қарши янги эффектив моддаларни излаш ва яратиш долзарб муаммолардан бўлиб келмоқда.

ФарГАЛС (FarGALS) препарати «антисептик ва ярани битказувчи воситалар» фармакотерапевтик гуруҳига киради, ва Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Фармқомитаси томонидан рўйхатга олинган, ҳамда клиник синовларга рухсат этилган. У автотроф темироксидловчи бактериялар ўстирилган муҳитидан филтрлаб олинган суюқлик бўлиб, кўриниши қизғиш рангда, рН нордон (3,0), буриштирувчи (вяжущий) таъсир этади. Тўқималарга ножўя таъсир кўрсатмайди, сиртдан қўллашга мўлжалланган. Лекин ҳозирда ундан (per os), яъни ичга қабул қилиш имкониятлари ўрганилмоқда. [24]

**Тадқиқот мақсади:** Янги биотехнологик препарат ФарГАЛСни одам ичак микрофлораси вакилларига таъсирини ўрганишдан иборат бўлди.

### **Тадқиқот ишига қўйилган вазифалар:**

1. Ўткир юқумли ичак касаликлари билан касалланган беморлардан *Salmonella* авлодига мансуб бактериялар ажратиб олиш, туригача аниқлаш.
2. ЎзР ФА Микробиология институтини коллекциялар лабораториясида сақланадиган патоген ва шартли патоген бактерияларни ҳамда янги ажратиб олинган штаммларни ФарГАЛС препаратига нисбатан синаш.

3. Янги биотехнологик препарати ФарГАЛС ни таъсир этиш концентрациясини ва динамикасини ўрганиш.

4. Янги биотехнологик препарат ФарГАЛСни одам ичак микрофлораси нормал вакиларига таъсирини ўрганиш.

5. Дастлабки тадқиқотларда ажратиб олинган темир оксидловчи бактерияларни ассоциациясини культурал суюқлигини ҳамда янги биотехнологик препарат ФарГАЛСни одам ичак микрофлораси вакилларига таъсирини таққослаб ўрганиш.

**Тадқиқот объекти:** ЎзР ФА Микробиология институтини коллекциялар лабораториясида сақланадиган патоген ва шартли патоген бактерияларга *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ҳамда янги ажратиб олинган *Salmonella typhimurium*, *Bifidobacterium sp.5*, *Bifidobacterium sp.6* янги биотехнологик препарат ФарГАЛС ни таъсирини ўрганиш.

**Тадқиқотнинг асосий масалалари ва фаразлари:** Тадқиқотнинг асосий масалалари қуйдагидан иборат:

1. Ўткир юқумли ичак касаликлари билан касалланган беморлардан *Salmonella* авлодига мансуб бактериялар ажратиб олиш, туригача аниқлаш.

2. Янги биотехнологик препарат ФарГАЛСни одам ичак микрофлораси нормал вакилларига ва баъзи патоген ва шартли патоген бактерияларга таъсирини ўрганиш.

3. Темир оксидловчи бактериялар ассоциациясининг культурал суюқлигини ҳамда ФарГАЛСни одам ичак микрофлораси вакилларига таъсирини таққослаб ўрганиш.

Шунингдек ФарГАЛС препарати ўткир юқумли ичак касаликларининг кузгатувчи бактерияларга қарши қулланиши мумкинлиги, ҳамда юқори фаол темир оксидловчи бактерияларни культурал суюқлигини янги биотехнологик препарат яратишда қуллаш мумкинлиги тахмин қилинди.

**Мавзу бўйича қисқача адабиётлар таҳлили:** Шубҳасиз XX асрнинг иккинчи ярими антибиотиклар эраси бўлиб келмоқда. Бу ўз навбатида кўпчилик оғир инфекцион касалликлар билан курашишта катта ютуқларга эришишга сабаб бўлмоқда ва оқибатда инсон ҳаёти давомийлиги узайши кузатилмоқда. Лекин шу билан бирга микроорганизмларни дори-дармонларга мослашиши натижасида янги резистент штаммалар пайдо бўлиши аниқланмоқда. Оқибатда полирезистент микроорганизм кўзғатадиган касалликларни дунё бўйлаб кўпайиши таъкидланмоқда.

Шу туфайли патоген ва кенг қўлланиладиган антибиотиклар ва кимёвий препаратларга чидамли микрофлорага қарши янги эффектив моддаларни излаш ва яратиш долзарб муаммолардан бўлиб келмоқда.

Янги биотехнологик препарат ФарГАЛС ни фақатгина бактериал ва микоз этиологияли трофик яралар, ётаверишдан уюшиб жонсиз бўлиб қолган жойлар, кимёвий ва термик тери жароҳатлари, операциялардан кейинги яраларни йирингланиши, жароҳатлар, тери лейшманиози, тери яллиғланиши (ўсмирлар тошмаси, дерматитлар, экземалар, яралар, оддий учук ва б.); оғиз бўшлиғи шилимшиқ қавати яллиғланиши (стоматитлар, гингивитлар, пародонтитлар ва б.); цервицитлар, кольпитлар, вульвовагинитлар; ринитлар, ангина, отитлар, сфеноидит, синуситларга эмас, бироқ ичак инфекцияларни даволашда терапевтик восита ҳисоблаш мумкин.

Дастлабки натижалар кўрсатишича ФарГАЛС гепатит В ва С вирусларига юқори фаол бўлиб, бу шу йўналишдаги тадқиқотларни давом этиш мақсадга мувофиқ эканлигини тасдиқлайди.

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги уни операциялардан кейинги ялиғланган яраларни даволашдаги самарадорлиги билан бир вақтда ФарГАЛС турли йирингли-ялиғланиш жараёнларни, микотик шикастланишларни ва бошқа инфекцион касалликларни даволашда қўлланиши мумкинлиги эҳтимолдан хом эмас. Уни *H.pylori* га қарши юқори фаолликни гастродуоденал касалликларни даволаш билан боғланган тадқиқотларни давом эттириш лозим эканлигини тасдиқлайди.

**Тадқиқот методи:** Сальмонелла ва бифидобактериялар авлодига мансуб бактерияларни ажратиб олиш усуллари, антибиотикни микроорганизмларга таъсирини кўриш усуллари қўлланилган. Ҳамда микробиологик, серологик ва статистик методлардан фойдаланилди.

**Тадқиқот натижалари ва амалий аҳамияти:** Янги биотехнологик препарати ФарГАЛС ни фақатгина бактериал ва микоз этиологияли трофик яралар, ётаверишдан уюшиб жонсиз бўлиб қолган жойлар, кимёвий ва термик тери жароҳатлари, операциялардан кейинги яраларни йирингланиши, жароҳатлар, тери лейшманиози, тери яллиғланиши (ўсмирлар тошмаси, дерматитлар, экземалар, яралар, оддий учуқ ва б.); оғиз бўшлиғи шилимшиқ қавати яллиғланиши (стоматитлар, гингивитлар, пародонтитлар, афтлар ва б.); цервицитлар, кольпитлар, вульвовагинитлар; ринитлар, ангина, отитлар, сфеноидит, синуситларга эмас, бироқ ичак инфекцияларни даволашда терапевтик восита ҳисоблаш мумкин. Бу соҳада тадқиқотлар охирига етказмаганлиги сабабли ФарГАЛС препаратини ичак микрофлораси вакилларига таъсирини ўрганиш эътиборга мувофиқ бўлди.

**Мавзунинг илмий янгилиги:** Янги биотехнологик препарат ФарГАЛС ни одам ичак микрофлораси вакилларига таъсирини ўрганилди.

**Натижаларни эълон қилинганлиги:** Илмий иш бўйича 1 тезис ЎзР ФА Микробиология институти ўтказилган анжуманда чоп этилди ва 2 тезис Республика ёш олимлар илмий-амалий конференциясида чоп этилди. Ҳамда 1 тезис бўйича доклад тайёрланди.

**Диссертация ишининг тузулиши:** Диссертация кириш, илмий адабиётлар шарҳи, тадқиқотнинг материали ва методлари, шахсий изланишлар натижалари баён этилган 3 боб, хотима, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Илмий иш компьютерда терилган 74 бетли матндан иборат, унда 10 та жадвал ва 11 расмдан иборат бўлди.

Мазкур магистрлик диссертация ишининг амалий қисми ЎзФА Микробиология институти сув ва маъданлар лабораториясида бажарилди.

“Микробиология ва биотехнология” кафедраси ушбу лабораториянинг етакчи илмий ходими, б.ф.д. М.Г. Сагдиевага доимий ёрдами ва қимматли маслахатлари учун ўз миннатдорчилигини билдиради.

## **I боб. Адабиётлар шарҳи**

### **1. Тиббиётда қўлланиладиган биотехнологик препаратлар**

#### **Антибиотикларни умумий тавсифи**

1942 йилда бактерияларни кўпайишини тўхтатувчи ва нобуд қилувчи кимёвий моддаларни “антибиотиклар” деб номлай бошлашди. Антибиотикларни янада тўлароқ тавсифи – баъзи шишлар ва турли бактерияларга танлаб таъсир кўрсатувчи микроорганизмларнинг юқори фаол метаболик маҳсулотлари. Микроорганизмлар билан бир қаторда баъзи ўсимликлар (саримсоқ, пиёз ва бошқалар) ҳам антибактериал моддалар ҳосил қилиши маълум.

Антибиотиклар кимёвий таркиби, келиб чиқиши, микроб ҳужайраларига таъсир этиш механизмлари, микробларга қарши спектрлари, антибиотикларга чидамли штаммларни пайдо бўлишига қараб синфларга ажратилади. Кўпчилик актиномицетлар ва замбавлодлар ҳамда баъзи бактериялар антибиотик ҳосил қилади.

Кимёвий таркиби бўйича антибиотиклар бир қанча гуруҳларга ажратилади.

1. Бета-лактамли антибиотиклар, ёки бета-лактамли, — бета-лактамли ҳалқали азот тутувчи гетероциклик бирикмалар. Уларга бензилпенициллин ва яримсинтетик пенициллинлар (метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин ва б.) ни ўз ичига оловчи пенициллин гуруҳи ҳамда цефалексин, цефамандол, цефурексим, кефзол, мандал, кефлор ва бошқаларни ўз ичига оловчи цефалоридин гуруҳи киради.

2. Тетрациклин ва унинг яримсинтетик ҳосилалари: окситетрациклин, хлортетрациклин, морфоциклин, метациклин, диоксициклин, вибромицин киради. Улар турли радикалли тўрта бензол ҳалқасидан иборат.

3. Аминогликозидлар: уларга стрептомицин (стрептомицин сульфати ва унинг ҳосилалари: стрептидина, стрептозы, N-метилглюкозамин) гуруҳи киради. Аминогликозидли антибиотиклар (неомицин, мономицин, канамицин, амикацин, пентамицин, тобрамицин) ҳам шу гуруҳга киради.



4. Макролидлар — макроциклик лактон ҳалқа тутувчи бирикмалар (эритромицин, олеандомицин).

5. Левомецетин – табиий антибиотик хлорамфиниколга ўхшаш синтетик модда бўлиб, ўз ичига нитрофенил, дихлорацетамин и пропандиолларни олади.

6. Рифамицинлар – уларга табиий антибиотик рифамицин ва унинг яримсинтетик ҳосиласи рифампицинлар киради. Улар мураккаб кимёвий структурага эга бўлиб, макроциклик ҳалқа туттади.

7. Полиенли антибиотиклар — нистатин, леворин, амфотерицин В. Улар бир қанча қуш боғламаларга ( $\text{CH}=\text{CH}$ )- эга.

Улар билан бир қаторда тиббиётда кам қўлланиладиган ва бошқа кимёвий таркибга эга бўлган антибиотиклар ҳам мавжуд.

Таъсир этиш механизми бўйича антибиотиклар бир биридан кескин фарқланади. Уларга нишон битта ёки бир қанча микроб ҳужайрасини маълум морфологик компонентларини ёки органеллаларни фаолияти ва синтези учун зарур бўлган биокимёвий реакциялар бўлади.

Антибиотиклар микроорганизмларга, асосан бактерияларга, бактерицид ва бактериостатик таъсир кўрсатади.

Кўпчилик антибиотиклар (бензилпенициллин ва унинг яримсинтетик ҳосиласи, барча цефалоспоринлар, аминогликозидлар, рифамицинлар) бактерицид таъсирга эга. Баъзан антибиотиклар (левомецетин, тетрациклин, макролидлар) уларга сезгир бактерияларга бактериостатик таъсир кўрсатади.

Таъсир этиш микробга қарши спектри бўйича антибиотиклар иккита гуруҳга ажратилади: кенг спектрли ва тор спектрли. Тор спектрли антибиотикларга йиринг ҳосил қилувчи кокклар, баъзи граммусбат бактериялар ва спирохеталарга салбий таъсир этувчи бензилпенициллин киради. Шу гуруҳга фақат баъзи замбавлод ва содда ҳайвонларга таъсир этувчи полиенли антибиотиклар (нистатин, леворин, амфотерицин В) ҳам киради.

Кенг спектрли антибиотиклар кўпчилик граммулбат ва грамманфий бактерияларга антибактериал таъсир кўрсатади. Баъзилари риккетсия, хламидия, микоплазма ва бошқаларга қарши эффектив. Кенг спектрли антибиотикларга тетрациклин, левомицетин, аминогликозидлар, макролидлар, рифампицинлар киради. [4]

Антибиотикларни таъсирини аниқлаш учун микробиологик таҳлил ўтказилади. Бунда микроорганизмларни ўсишига антибиотикларни таъсири аниқланади. Таҳлил асосини тадқиқот материалдаги антибиотик концентрациясини маълум антибиотик тест микробларга кўрсатадиган таъсири билан солиштириш ташкил қилади. Тест микробни ўсишини тўхташи зич озиқа муҳитга антибиотикни диффузияси орқали амалга оширилади. [13,15]. Бу усулни бажариш учун унинг турли моддификацияларидан фойдаланиш мумкин [15,31,32]. Агарга диффузиялаш тезлиги антибиотикни синфига, муҳитни таркиби ва рНга, буферга, ҳароратга ва инкубация даврига боғлиқ. Шунинг учун микробиологик усулда антибиотик концентрацияси аниқланганда максимал диффузияни таъминлаш учун оптимал шароитлар танланади. [10,15]

#### **«FarGALS» препаратини характеристикаси**

ФарГАЛС (FarGALS) препарати «антисептик ва ярани битказувчи воситалар» фармакотерапевтик гуруҳига киради, ва Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Фармқомитаси томонидан рўйхатга олинган, ҳамда клиник синовларга рухсат этилган. У автотроф темироксидловчи бактериялар ўстирилган муҳитидан филтраб олинган суюқлик бўлиб, кўриниши қизғиш рангда, рН нордон (3,0), буриштирувчи (вяжущий) таъсир этади. Тўқималарга ножўя таъсир кўрсатмайди, сиртдан қўллашга мўлжалланган. Лекин ҳозирда ундан (per os), яъни ичга қабул қилиш имкониятлари ўрганилмоқда. [24]

ФарГАЛС препарати барча синалган микроорганизмларга (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*

*aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Helicobacter pylori*) антимиқроб таъсир кўрсатган, лекин бу турлича намоён бўлган. Кўпчилик культураларга қарши у юқори активлик кўрсатди (ингибирлаш зонаси 15 мм дан кўп) ва фақат *S. marcescens* ва *C. tropicalis* активлиги ўртача бўлган (ингибирлаш зонаси 15 мм дан кам). *H. pylori* да (12-бармоқли ичак ва меда ялиғланишини, гастритларни чақиради) қарши эса жуда юқори активлиги эътиборни тортади. Вабо вибрионларини барча синалган культураларини ҳам 5 минутли таъсирдан бошлаб ўсишини тўхтатган. ФарГАЛС вабо вибрионларига 1:2 дан то 1:32 гача суюлтирилганда ҳам таъсир кўрсатган. 239 штаммга эса – 1:64 суюлтиришида ҳам. [24,29]

Ярали инфекцияларида ҳам ФарГАЛС дан фойдаланиш самарали бўлган. Препарат 2-3 кун давомида қўлланилганда ярани битта бошлаши кузатилган. Ижобий натижа ҳамма даволанган беморларга бўлган. Препарат 2-3 кун давомида қўлланилганда ярани бита бошлаши кузатилган. Ижобий натижа ҳамма даволланган беморларга бўлган. Клиник эффективлиги билан бирга традицион терапияга нисбатан препарат юқори иқтисодий самарадорликга ҳам эга. [24,29]

Ўрта ва катта ёшдаги оёқ микози билан оғриган кишиларда “ФарГАЛС” ва “Витацинк” билан даволанганда препаратларни терапевтик эффективлиги кузатилган. [27]

ФарГАЛС препарати ёгон ичак аденокарценомаси (АКАТОЛ), ингичка ичак аденокарценомаси (АКАТОН) ва саркома 180 экспериментал шишларига катта таъсир қилишларнинг аниқланган. Ишларни ўсишдан тўхташи шунга кўра 88,55%, 86,05% ва 80,68% ташкил қилди.

ФарГАЛС препаратини терапевтик миқдорларга қўлланилиши саркома 180, АКАТОЛ ва АКАТОН шишларини 77%, 75,5%, 65,7% (1:2 суюлтирилганда) ва 78,3%, 74%, 67% (1:20 суюлтирилганда) ўсишини тўхтатади, қондаги кўрсаткичларни салбий томонга ўзгартирмайди (гемоглобин ва эритроцитлар миқдори). Шу билан бирга сичқонларга саратон

чакирувчи АКАТОЛ штамми имплантация қилинганда перефирик қондаги эритроцитларни сони камайгани кузатилган. [41]

Дастлабки натижалар кўрсатишича ФарГАЛС гепатит В ва С вирусларига юқори фаол бўлиб, бу шу йўналишдаги тадқиқотларни давом этиш мақсадга мувофиқ эканлигини тасдиқлайди.

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги уни операциялардан кейинги ялиғланган яраларни даволашдаги самарадорлиги билан бир вақтда ФарГАЛС турли йирингли-ялиғланиш жараёнларни, микотик шикастланишларни ва бошқа инфекцион касалликларни даволашда қўлланиши мумкинлиги эҳтимолдан хом эмас. Уни *H.pylori* га қарши юқори фаолликни гастродуоденал касалликларни даволаш билан боғланган тадқиқотларни давом эттириш лозим эканлигини тасдиқлайди. [29]

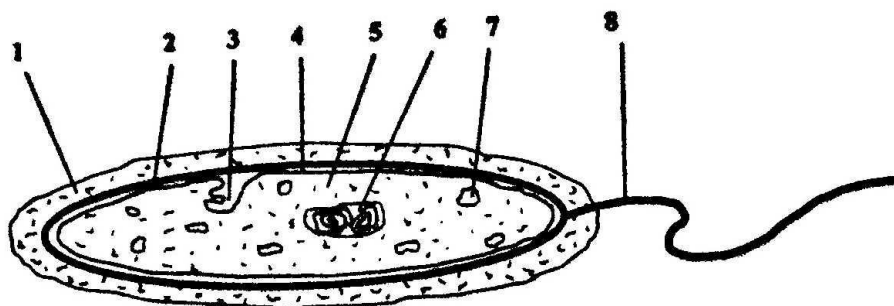
#### **Темир оксидловчи бактерияларни қисқача характеристикаси**

Фойдали қазилмалар конларида микроорганизмлар турли минерал моддаларни трансформациясида фаол иштирок этади, яъни – элементлар ўзгаришларида, уларни чўкиш ва эришида, янги бирикмалар ҳосил бўлишида, элементларни ва бирикмаларни миграциясида ва ниҳоят фойдали қазилмаларни шаклланишида. [18,22]

Темир ва олтингугуртоксидловчи конларда кўплаб учрайди. *Acidithiobacillus* авлодига кирувчи тион бактериялар жиддий аэроб бўлиб, улар фақат эркин кислород бўлган муҳитда ривожланади. Ўз ҳаёт фаолияти учун бу микроорганизмлар анорганик моддаларни оксидланиш реакцияларидан энергия олади. Тион бактерияларни гидрометаллургик жараёнлари учун энг муҳим хусусиятлари уларни сульфидли минералларни оксидланишида кимёвий оксидловчиларни регенерациясида иштирок этиши. [22]

Деярли барча сульфиттутувчи кўмир, олтин, уран ва бошқа рудалар конларда учрайдиган *Acidithiobacillus ferrooxidans* темироксидловчи микроорганизмлари бактериологик оксидланиш ва элементларни эритиб ажратиш олишда энг катта амалий аҳамиятга эга. [17,19] Улар спорасиз

ҳаракатчат хемолитоавтотроф хужайралар (1-расм). Бактрериялар узунлиги 0,8...1 мкм, эни 0,4...0,5 мкм, улар битта 12 мкм узунлигидаги хивчин ёрдамида ҳаракатланади.



**1-расм. *A. ferrooxidans* тузилиши:**

1 - капсула; 2 – ҳужайра девори, 3 - мезосомалар;  
4 - цитоплазматик мембрана, 5 – цитоплазма, 6 – нуклеоид,  
7 - рибосомалар; 8 – хивчин

*A. ferrooxidans* доимий ҳамроҳи бу – *Acidithiobacillus thiooxidans*. У 1922 йилда Ваксман ва Иоффе томонидан ажратиб олинган. Бактериялар кескин ацидофил бўлиб pH 0,3 ўсади. Улар учун энергия манбаи бўлиб  $S_2O_3^{2-}$ ,  $S_4O_6^{2-}$ ,  $S^0$  хизмат қилади. Ҳар иккала бактерия сульфидли ва олтингугуртли конларда доимий учрайди. [21]

*Leptospirillum* бактериялар ҳам *A. ferrooxidans* билан бирга конларда учрайди. Лептоспириллар вибрион, спираль ёки кокк шаклида бўлиб  $Fe^{2+}$  ва пиритни 30 °C ҳароратида оксидлайди. [30]

## **2. Микроорганизмларни макроорганизмларга таъсири**

Бифидобактериялар, лактобактериялар, бактероидлар ва ичак таёқчалари – фойдали микроблар. Бифидо – ва лактобактериялар одам ичагини биринчи бўлиб, тўғилиш вақтидаёқ, эгаллай бошлайди. Фойдали микроблар овқат ҳазм бўлишида иштирок этадилар, липидлар алмашувига таъсир кўрсатадилар, никотин ва фоллий кислоталари, К витамин, В гуруҳи витаминларини ҳосил бўлиши ўзлаштирилишига ёрдам берадилар. Уларсиз аминокислоталар синтези амалга ошолмайди, улар антиаллерген таъсирга эга

ва иммун тизимини инфекцион касалликларга чидамлилигини таъминлайди. Фойдали микробларни жуда муҳим хусусияти, шубҳасиз, уларни канцерогенлар миқдорини камайтира олиши, яъни, онкологик касалликларни ривожланиши эҳтимолини камайтирашдир.

Зарарли микроорганизмлар – стафилококклар, протейлар, стрептококклар ва б. – улар касаллик қўзғатувчилар. Нормал микрофлорани фаолияти кўп ҳолларда уларни организмга зарар етказмаслигига қаратилган бўлади. Фойдали микроорганизмлар ичакда зарарли микробларни кўпайишини, меъда-ичак тизими деворларини шикастмаслигини олдини олади. Одам соғлом бўлганда, ундаги фойдали ва зарарли микроорганизмлар тинч бирга яшайди. Лекин бу мувозанат турғин бўлмайди, ва бузилган захоти патоген микроорганизмлар сони кескин кўпая бошлайди. Организмни бундай ҳолати, яъни, микрофлорани сони ва сифати нормал ҳолатга нисбатан ўзгариши ва натижада патоген микрофлора учун қулай муҳит пайдо бўлиши, дисбактериоз дейилади.

Одатда меъда ва ўникки бармоқли ичакда микроорганизмлар бўлмайди, ёки жуда кам, асосан граммуслатлар, учрайди. Ичак тизимини дистал бўлимларига қараб микроорганизмлар сони ортиб боради. Ичакда мейёрда ичак таёқчаси, чиритувчи бактериялар, аэроб ва анаэроб лактобациллалар, энтерококклар, дрожжасимон замбавлодлар оптимал нисбатда яшайди. Бу ҳолат, баъзида эубиоз дейилади.

Фикрланишча, ичак дисбактериози ичак микрофлораси орасида мувозанатни бизилиши оқибатида пайдо бўлади. Бунга турли сабаблар олиб келади: антибиотиклар нотўғри фойдаланиш, нотўғри овқатланиш, иммунитетни пасайиши ва бошқалар. Конкурент муносабатлар бузилиши туфайли аъзони нормал микрофлораси ўрнини патоген микроорганизмлар эгаллайди, масалан, кандида ёки аспергил замбавлодлари.

Дисбактериоз оқибатида кўпгина оғир касаллаҳиклар ривожланади:

1. Патоген микрофлора фаол ривожланади, чунки нормал микрофлора вакиллари патогенларга қарши зарур бўлган метаболитларни етарлича ишлаб чиқармайди.

2. Кўпчилик озиқ модда ва минераллар ёмон ўзлаштирилади, организмда улар дефицити пайдо бўлади, бу эса ўз навбатида моддалар алмашинувини бузулишига олиб келади.

3. Овқат хазм бўлишида пайдо бўладиган токсик (захарли) метаболитлар детоксикацияси бузилади, улар кўп миқдорда қонга сўрилади, бу эса жигарга юкламани оширади.

4. Организмни иссиқлик билан таъминланиши бузилади, чунки бижғитувчи бактериялар тўла қийматли бижғишни амалга оширолмай кам энергия ажратади.

5. Ёғон ичак эпителийини энергия билан таъминланиши камаяди, бу эса аутоиммун касалликлар (яралли колит) ва функционал касалликлар (ёғон ичак ножухалик синдром) сабаби бўлади.

6. Витаминлар ( $B_{12}$ , пантотен кислотаси ва б.) синтези ва организмга етказилиши бузилади.

7. Вирусларга қарши химоя камаяди, шишларга қарши назорат сусаяди, маҳаллий иммунитет бузилади.

Оқибатда одам аъзоларини деярли ҳаммасида фаолият ўзгаради ва натижада соғлиқ бўшашиб, касалликлар ривожланади.

Дисбактериоз ҳолати кам ёки кун вақт давом этиб тўғриланиши мумкин, ёки оғирроқ шаклига ўтиши мумкин.

Дисбактериоз тушунчасига ингичка ичакда микробларни кўпайиши ва ёғон ичакда уларни таркиби ўзгариши киради. Демак, дисбактериоз – бу бактериологик тушунча. Унинг энг ҳавфли ҳолатида меъда-ичак тизими бактериялари қонга ўтади (бактериемия) ёки ҳатто сепсис бўлиши мумкин. Ичак микрофлораси таркиби ичак ва бошқа овқат хазм қилиш аъзоларини касалликларида, антибиотиклар билан ва иммунодепрессантлар билан даволланганда, ташқи муҳитни зарарли омиллари таъсир қилганда ўзгаради.

Дисбактериозни клиник аломатлари дисбиотик ўзгаришлар каерда жойлашишига кўра турлича намоён бўлади. [8,10,35,40]

### ***3. Одам организмининг нормал микрофлораси***

Соғлом одам организмида учрайдиган микроб биоценозларининг йиғиндиси одам микрофлорасини ташкил қилади ва бу эволюция жараёнида микро- ва макроорганизмларнинг ўзаро мослашиши маҳсулидир.

Чақалоқ микрофлора билан туғилмайди, микробиоценозлар унинг ҳаёти жараёнида шаклланади. Она бачадонида ҳомила стерил бўлади. Бола туғилишидан бошлаб, бир неча йиллар ичида ҳар бир биотипга хос микрофлора шаклланади (қин, она териси ва сути, ҳаво, озиқ-овқатлар микрофлораси ҳисобига). Лекин уларнинг сифат ва миқдорий таркиби кўпгина омиллар (ёши, жинси, овқатланиши, ташқи муҳит микроорганизмлари, иқлим ва ҳ.к.)га боғлиқ. Бундан ташқари, микроб биоценозларининг ўзгаришида даволаш-профилактика мақсадларида қўлланиладиган антибиотиклар, кимётерапия ва иммунологик дориларнинг аҳамияти жуда катта. Дори воситалари микроорганизмларнинг маълум бир таъсирчан популяцияларига танлаб таъсир кўрсатади, ўз навбатида бошқа тур микробларнинг сақланиб қолиб, кўпайишига сабаб бўлади. Одам ёки ҳайвонлар организмидаги микроорганизмлар доимий (облигат, аутохтон) ва факультатив (транзитор, тасодифий, аллохтон) гуруҳга ажратилади. [4,5,8,10,11,12]

Аутохтон микроорганизмлар организмга биринчи кунлардан тушиб, умрнинг охиригача сақланиб қолади.

Аллохтон микроблар макроорганизмга маълум шароитда (ташқи муҳитдан ифлосланган озиқ-овқатлар билан, иммун тизим сусайганда) муайян вақтгагина тушади. Булар сапрофит, шартли-патоген ва патоген бўлиши мумкин.[4,5,11,25]

Йўғон ичак орагнизми биоптатлари ичида энг кўп микроб тутувчи жой ҳисобланади. 1 г нажасда  $10^9$ - $10^{11}$  та 500 турдан ортиқ микроорганизм



учрайди. Одам кунига нажас билан  $17 \times 10^{12}$  микробларни ташқарига чиқаради. Облигат микрофлоранинг 98-99% анаэроб микроорганизмлар – бактероид, бифидобактерия, лактобактерия, пептококк, клостридия ва бошқалар ҳисобланади.

Одам ичак микрофлораси ҳаёти давомида ўзгаради. Янги туғилган чақалоқларнинг ичагига асосий микрофлора, она сути орқали тушади (1-жадвал). [11,12]

**1-жадвал.**

**Соғлом одамлар ичагидаги бактериялар миқдори[3,12]**

| <b>Бактериялар</b>                                                             | <b>1 г нажасдаги бактериялар миқдори</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Бифидобактериялар                                                              | $10^8 - 10^{10}$                         |
| Лактобактериялар                                                               | $10^6 - 10^9$                            |
| Эшерихиялар                                                                    | $10^6 - 10^8$                            |
| Стафилококклар (гемолитик, плазмокоагуляция қилувчи)                           | $10^3$ кўп эмас                          |
| Стафилококклар (эпидермал, гемолиз қилувчи ва гемолиз қилмайдиган сапрофитлар) | $10^4 - 10^5$                            |
| Стрептококклар                                                                 | $10^5 - 10^7$                            |
| Клостридиялар                                                                  | $10^3 - 10^5$                            |
| Эубактериялар                                                                  | $10^9 - 10^{10}$                         |
| Дрожжесимон замбавлодлар                                                       | $10^3$ кўп эмас                          |
| Бошқа шартли-патоген энтеробактериялар                                         | $10^3 - 10^4$ кўп эмас                   |

Сунъий боқиладиган, ойига етмай туғилан ва нимжон чақалоқлар ичаги микробиоценозида бифидумбактериялар миқдори камайгани аниқланган, бунинг ҳисобига ичак таёқчаси, энтерококклар, стафилококклар ва лактобактериялар кўпайиб кетади. Сигир сути ичадиган чақалоқларда грамманфий анаэроблар (энтеробактерия, кокклар) кўпаяди.

Сунъий овқатлантириладиган чақалоқларда онасини эмган чақалоқларга нисбатан ичак касалликлари кўпроқ кузатилади. Болаларда меъда-ичак микрофлорасининг нормал шаклланиши учун болани туғилганидан бошлаб то 1-2 ёшгача эмизиш жуда катта аҳамиятга эга.

Шундай қилиб, йўғон ичак микрофлорасини қуйидаги 4 гуруҳга бўлиш мумкин:

1. Микрофлоранинг асосий массасини спора ҳосил қилмайдиган қатъий анаэроблар ташкил этади, буларга *Bifidobacterium* туркумининг граммусбат бактериялари киради. Йўғон ичак микрофлорасининг 96-98% бифидобактериялар ва бактериодларга тўғри келади.

2. Иккинчи гуруҳ грамманфий *E.coli* ва граммусбат энтерококклар, спора ҳосил қилмайдиган *Lactobacillus* туркумининг сут ачитқи таёкчалари, яъни факультатив анаэроблардан ташкил топган. Улар улушига барча микробларнинг 1-4% тўғри келади.

3. Учинчи гуруҳга факультатив анаэробларнинг қолдиқ микрофлорасидан ташкил топган (йўғон ичак микробларнинг 0,01-0,001%). Бу гуруҳга *Staphylococcus*, *Proteus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Candida* лар мисол бўла олади.

4. Тўртинчи гуруҳга *Enterobacteriaceae* оиласининг ичак инфекцияларини кўзғатиши мумкин бўлган доимий ва вақтинча учрайдиган вакиллари (*Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter* ва бошқа туркум аъзолари) киради.[5,8,10,11,12]

Нормал микрофлорадаги мувозанатни сон ва сифат томонидан бузилишига “дисбактериоз” дейилади. Охирги вақтда “ичак дисбиози” тушунчаси кенг қўлланилади. Дисбиоз бу – инсон организми унинг микрофлораси ва атроф муҳит орасидаги муносабатларни бузулиши. Ичак дисбактериози иккиламчи бўлиб, кўпчилик касалликларда шаклланади ва маълум биотоп микрофлорасини сон ва/ёки сифат таркибини ўзгариши билан характерланади.

Баъзида у метаболик ва иммун ўзгаришлар билан кузатилади. [7]

### **Соғлом одам йўғон ичаги нормал микрофлорасини классификацияси**

Ичак нормал микрофлораси сон жихатидан 3 асосий гуруҳга ажратилади:

1. **Асосий ёки облигат микрофлора.** Йўғон ичак учун зарур. Бу асосан грамусбат, спорасиз анаэроб бактериялар – бифидобактериялар ва грамманфий бактериоидлар. Одам микробиоценозини 90-95% ташкил топган.

2. **Ҳамроҳ микрофлора.** Асосан аэроб бактериялар – лактобактериялар, шарсимонлар, ичак таёқчаси (*E.coli*) киради. Бу бактериялар микробиозни 5% дан кўп эмас. Лактобактериялар ва *E.coli* бифидобактерияларни кўмакчиси ҳисобланади.

3. **Қолдиқ микрофлора.** (шартли-патоген ёки или факультатив микрофлора). Бу гуруҳ бактерияларга стафилококклар, кандидалар, протейлар, кўкйиринг таёқча, энтеробактериялар, кампилобактериялар киради. Микроорганизмларни умумий сонидан 1% дан кўп эмас. [3,5,12,33,37]

#### **4 Шартли-патоген микроорганизмлар**

Систематик нуқтаи назардан бу жуда катта ва ҳилма ҳил гуруҳ бўлиб, у маълум шароитда кишиларда касаллик чақиради. Шартли-патоген микроорганизмлар бактерияларни, микоплазмаларни, риккетсияларни, замбавлодларни, содда ҳайвонларни ичида учрайди. Бир ҳил вируслар, масалан а-герпесвируслар 1 ва 2 турлари, Р-герпесвирус, паповавируслар ҳам кўп белгилар билан буларга киради.

Ҳозирги замон одам патологиясида 100 тага яқин тур этиологик аҳамиятга эга.

Буларнинг ичида энг муҳим аҳамиятга кейинги авлод вакиллари эга: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pneumocysta*.

Баъзи бир одам ва ҳайвонлар паразитларини, масалан сальмонеллаларни, одам паразити бўлгани билан ҳам шартли-патоген деб ҳисоблаш мумкин. Айтиб ўтган бактериялар симбиоз ҳолатда бўлиши мумкин. Лекин баъзи бир

шароитларда улар рақобатдош бўлиб, инфекцион касалликларни чақириши мумкин. [4,8,12]

### Стафилококклар

Стафилококклар энг кўп тарқалган микроорганизмлардан ҳисобланиб, одам ва ҳайвонларда касаллик келтириб чиқаради. *Staphylococcus* авлодига мансуб коккларни биринчи бўлиб Р.Кох (1878 й.) ва Л.Пастер (1880 й.) аниқлаган. Ф.Розенбах (1884 й.) эса беморларнинг йирингли яллиғланиш учоқларидан топиб, унинг асосий биокимёвий хусусиятларини ўрганган.

**Морфологияси.** Стафилококклар юмалоқ бўлиб, диаметри 0,8-1,0х0,5-1,5 мкм. Суртма тайёрлаб микроскопда кўринлганда улар узум шингилига ўхшаб кўринади. Баъзан калта занжир, якка ёки диплококк (жуфт-жуфт) кўринишида. Стафилококк хивчинсиз, ҳаракатсиз, капсула ва спора ҳосил қилмайди. Грам усулида мусбат бўялади. Асосан патоген турлари нозик капсулага эга. ДНК таркибидаги Г+Ц микдори 31-39% ни ташкил қилади.

**Ўсиши.** Стафилококклар нафас олишига кўра факультатив аэроб кислородга талабчан эмас. рН 7,2-7,4 ва 37°C ҳарорат уларнинг ўсиши учун қулай шароит, лекин 10°C дан 45°C гача бўлган ҳароратда ҳам ўсиши мумкин. Гўшт-пептонли бульонда (ГПБ) бир ҳил қуйиқа ҳосил қилиб кўпаяди. Стафилококклар гўшт-пептонли агарда (ГПА) думалоқ, четлари текис, диаметри 1-4 мм бўлган ялтироқ S-шаклдаги колониялар ҳосил қилади.

Уй шароитда етарли ёруғлик ва ҳаво бўлган хонада стафилококклар оқ, баъзан тилла ранг ёки лимонга ўхшаш сариқ липохромлардан иборат бўлган пигментлар ҳосил қилади. Улар сутли ва картошкали агарда 20-25°C да тез ҳосил бўлади. Бу моддалар сувда эримайди, аммо спирт ва органик эритувчиларда эрийди. Колониялар ранги улар таркибидаги пигментларга боғлиқ. Стафилококклар ассосан, S-, баъзан R-, G- ва L-шаклидаги колонияларни ҳам ҳосил қилиши мумкин. Патоген стафилококклар қонли агарда эритроцитларни гемолиз қилиш хусусиятига эга.

**Биокимёвий хусусияти.** Стафилококкларнинг ферментатив хусусияти яхши ривожланган бўлиб, оксил ва қандларни парчалайдиган ферментлар ажратади. Лактоза, глюкоза, маннит, мальтоза, сахароза ва глицеринни кислотагача парчалайди, лекин газ ҳосил қилмайди. Желатинни 4-5 кунда воронкасимон кўринишда суюлтиради. Стафилококклар сутни ивитади, нитратларни нитритларгача қайтаради.

Бу микроорганизмлар, ассосан, патоген турлари бир қатор патогенлик ва ҳимоя ферментларини ишлаб чиқаради: каталаза,  $\beta$ -лактамаза, гиалуронидаза, плазмакоагулаза, протеиназа, фосфатаза, ДНКаза, липаза ва лейцитиназа ва ҳ.к.

**Токсин ҳосил қилиши.** Патоген стафилококклар бир неча хил экзотоксин ҳосил қилади. Тилларанг стафилококклар лейкоцидин, альфа, бета, гамма гемолизинлар (одам ва баъзи ҳайвонлар эритроцитларини лизисга учратади), А- $\text{F}$  энтеротоксинлар, А ва В эксфолиатинлар (терига таъсир кўрсатади) ишлаб чиқаради. Айрим стафилококкларни ГПБ да ўстириб филтрдан ўтказилган суюқлигида энтеротоксин борлиги аниқланган. Бу токсин озиқ-овқат билан меъда-ичак системасига тушса, кишиларда овқатдан заҳарланишига сабаб бўлади.

Стафилококклар эксфолиатив токсин ажратади, бу омил болалар терисида импетиго, скарлатина тошмасига ўхшаш тошмалар ва чақалоқларда ичи суюқлик билан тўла пуфакчали-пўрсилдоқ яралар пайдо қилади.

Айрим стафилококклар лизогенлик хусусиятига эга бўлиб, токсин ҳосил қилишликни назорат қилувчи тох ген мўтаъдил фагнинг ДНК да жойлашган, бу омил бошқа турдаги стафилококкларга ҳам ўтиши мумкин.

**Антиген тузилиши.** Стафилококкларнинг хужайра девори ва капсуласига кирадиган моддалар: пептидогликан, тейх кислотаси, А-оксил, полисахарид ва бошқалар антигенлик хусусиятига эга. Ҳозир бу бактерияларнинг бир қанча серовар ва типмахсус антигенлари борлиги аниқланган.

**Чидамлилиги.** Стафилококклар бошқа патоген коккларга нисбатан физик кимёвий омиллардан қуритиш, музлатишга ва қуёш нури таъсирига чидамлидир. Стафилококклар қуритилган йирингда 200 кун, чангда 50-100 кун, тупрокда 10 ойгача тирик сақланиши мумкин. Улар 70°C гача қиздирилганда бир соатда, 80°C да эса 10-60 дақиқадан сўнг, қайнатилганда бир неча сонияда ўлади. Дезинфекцияловчи омиллардан 5% фенол эритмаси таъсирида 15-30 дақиқада, 1% формалин таъсирида эса 2-5 дақиқада ҳалок бўлади. Анилин бўёқларидан генцианвиолет ва бриллиант кўки тез таъсир этади. Стафилококклар нисбатан сульфаниамид препаратлар ва антибиотикларга чидамли, уларнинг антимиқроб дориларга чидамлилиги цитоплазмасидаги R-плазмидлар ҳисобига юзага келади.

Стафилококклар ташқи муҳитда, одам ва ҳайвонлар организмида кўп учрайди.

**Одамларда касалликнинг патогенези.** Стафилококклар одам организмига тери, ҳаво-томчи, чанг, алиментар йўллар орқали юқади. Касаллик манбаи бактерия ташиб юрувчи соғлом кишилар, бемор ва касал ҳайвонлар ҳисобланади. Ҳозир стафилококклар кўзгатадиган 120 дан ортиқ касаллик аниқланган. Бундай ҳолат уларни одам организмидаги кўпгина тўқима ва аъзоларни шикастлай олишидан далолат беради. Буларга тери, тери ости ёғ қавати, лимфа тугунларидаги (фурункул, карбункул, лимфааденит, флегмона, пиодермиялар), нафас аъзоларидаги (бронхит, зотилжам, плеврит), йирингли яллиғланишларни мисол қилиб келтириш мумкин. Стафилококклар кулоқ, халқум, бурун ва ёндош бўлиқлари (отит, ангина, гайморит, тонзилит, фронтит), кўз аъзоларини (конъюнктивит, мугуз парда яраси), марказий нерв тизими (менингит, мия абсцесси), юрак-қон томир тизими (эндокардит, миокардит), меъда-ичак тракти (энтероколит, озиқ-овқатдан заҳарланиш), ўт пуфаги (холецистит), ҳаракат-таянғ тизими (остеомиелит, артрит) ҳам шикастлайди. Санаб ўтилган ҳар қандай маҳалий жараён авж олса, сепсис ёки септикопиемия ривожланади.

Стафилококклар болаларда, айниқса чақалоқларда ҳилма-ҳил касалликларни келтириб чиқаради, айрим ҳолларда бу ўлимга олиб келади. Стафилококклар иккиламчи инфекциянинг ривожланишига сабабчи бўлиши ҳам мумкин.

Патоген стафилококк тушган пишлоқ, творог, сут, торт, музқаймоқ ва бошқа озиқ маҳсулотлари истеъмол қилинганда заҳарланишлар (токсикоинфекция) юзага келади.

Бактерияларга қарши кимёвий дорилар, айниқса антибиотиклардан кенг ва нотўғри фойдаланиш, стафилококк штаммалари орасида дориларга чидамли типлари пайдо бўлишига олиб келмоқда. Бутун дунёда стафилококкларнинг касалхона ичи инфекцияси сифатида туғруқхоналар, жарроҳлик бўлимлари ва болалар касалхоналарида юқиши, тиббиёт ходимлари ва аҳоли орасида бактерия ташиб юрувчилар сонининг ортиши кузатилмоқда.

**Иммунитети.** Одам организми стафилококка нисбатан бирмунча чидамли, бу фагоцитоз ва табиий ҳимоя омиллари, махсус антителолар (антитоксин, преципитин, опсонин ва агглютинин) борлиги ҳисобига юзага келган, чунки стафилококкларнинг сапрофит ва шартли-патоген турлари одам нормал микрофлораси таркибига киради. Стафилококк касаликларида сўнг кучсиз иммунитет ҳосил бўлади. Иммунитетнинг кучсиз бўлиши одам аъзо ва тўқималарида стафилококк антигенларига ўхшаш антигенлар (мимикрия антигенлари) мавжудлиги билан ҳам боғлиқ. Бу эса бемор организмида стафилококкларнинг кўпайиши учун қулай шароит туғдиради.[4,5,8,10,12]

### **Эшерихиялар**

Ичак таёқчаси *E.coli* ни 1885 йилда немис олими Теодор Эшерих диспепсия билан оғриган бемор нажасидан ажратиб олган. *E.coli* табиатда кенг тарқалган бўлиб, одам ва сут эмизувчиларнинг ичакларида яшайди. Бундан ташқари, қуш, балиқ, судралиб юрувчилар, амфибия ва ҳашаротлар

ичагида ҳам бўлади. Ичак таёқчаси нажас билан кўп миқдорда ажралиб, ташқи муҳит (тупроқ, сув, турли буюмлар) ни ифлослантиради.

*Escherichia* авлоди *E.coli*, *E.fergusonii*, *E.hermanii*, *E.vulneris*, ва *E.blattae* (суварак ичагида топилган) турлардан ташкил топган бўлиб, улар биокимёвий ва физиологик хусусиятлари жиҳатидан бир-биридан фарқ қилади.

**Морфологияси.** Ичак таёқчаси морфологиясига кўра *Enterobacteriaceae* авлодига мансуб энтеробактерияларга ўхшайди. Энтеробактериялар – грамманфий таёқчасимон микроблар. Кўпчилик штаммлари ҳаракатчан, чунки бутун юзаси бўйлаб (перитрих) хивчинлари бор. Баъзи турлари капсула ҳосил қилади, ичак бактерияларнинг устки қисмида умуй жинсий киприкчалари мавжуд.

Ичак таёқчаси ҳажми 1,1-1,5х2,0-6,0 мкм. Буларнинг айрим штаммлари ҳаракатчан (перетрих), айримлари эса ҳаракатланмайди, яъни хивчинлари йўқ. Ҳозирги вақтда 30% патоген эшерихийларда жинсий киприкчалар борлиги аниқланган. Баъзи штаммлари микрокапсула ёки шилимшиқ капсула ҳосил қилади. Грамманфий, спора ҳосил қилмайди.

Бактерия хужайраси майда туклар (фибриялар) билан қопланган. Нуклеоид ДНК сида Г+Ц 48-52% ни ташкил этади.

Ўсиши. *E.coli* факультатив анаэроб, 37°C ҳароратда ва рН 7,2-7,5 бўлганда яхши ўсади. Эшерихийлар 22-37°C да ўз фаолиятини сақлаб қолади, аммо паст ҳароратда ўсиши тўхтайдди. Улар гўшт-пептонли агарда шакли юмалоқ, ранги тиниқ ва ялтироқ, четлари эса бўртган, диаметри 1-2 мм ли S-шаклдаги колониялар ҳосил қилади. Лекин мутациялар ҳисобига R-шаклга эга колониялар ҳам вужудга келиши мумкин, бу ҳолда улар асосий биологик хусусиятларини йўқотади.

Гўшт-пептонли бульонда бир хил куйқа, сўнг чўкма ҳосил қилиб кўпаяди. Ичак таёқчаси дифференциал озик муҳитларда уларнинг таркибига кўра турли рангдаги колонияларни ҳосил қилади. Масалан: Эндо муҳитидаги



тўқ қизил ялтироқ колониялар, муҳит таркибидаги лактозани ичак таёқчаси парчалаганлиги ҳисобига ҳосил бўлади.

**Ферментатив хусусияти.** Ичак таёқчаси ферментатив хусусиятига кўра жуда фаол бўлиб, лактоза, глюкоза, маннит, мальтоза ва бошқа углеводларни кислота ва газ ҳосил қилиб парчалайди. Аммо ичак таёқчаси штаммларининг 10-12% лактозани парчаламайди, улар “нотипик штаммлар” деб аталади. Бу авлод аъзолари индол ҳосил қилади, нитратларни нитритларгача қайтаради, аммо  $H_2S$  ҳосил қилмайди.

**Токсин ҳосил қилиши.** Ичак таёқчаси, асосан, эндотоксин ажратади. Ичак таёқчасининг айрим энтеропатоген штаммлари 2 хил энтеротоксин ва 4 хил гемолизинлар синтез қилади. Токсин ажратиш хусусияти Ent- ва Hly-плзмидалар орқали назорат қилинади.

**Антиген тузилиши.** Эшерихийларда О-, К- ва Н-антиагенлар бор. Шулардан О-антиген асосий бўлиб, уларнинг серологик гуруҳларини белгилайди. О-антиген соматик, ҳароратга чидамли, шунинг учун  $100^{\circ}C$  да қайнатилганда ва автоклавда агглютинация қилиш хусусиятини йўқотмайди.

Ҳозирги вақтда ичак таёқчасининг 170 дан ортиқ О-серологик гуруҳлари борлиги аниқланган.

К-антиген юза жойлашган бўлиб, ҳароратга чидамсиз В-, L- ва ҳароратга чидамли А-антигенлардан ташкил топган. Эшерихийларда 100 дан ортиқ турли К-антигенлари бор. Н-антиген хивчинда жойлашган бўлиб, оксилдан иборат, термолабил тип махсусликка эга. Ичак таёқчасида 50 дан ортиқ турли Н-антигенлар мавжуд.

Эшерихийларнинг антиген тузилишига қараб антиген формуласи белгиланади. Ичак таёқчасининг антиген тузилиши мутация, генетик рекомбинация ва фаг конверсияси каби омиллар таъсирида ўзгариши мумкин.

Эшерихийлар орасида фаговар ва колициноварлари ҳам борлиги кузатилган. Унинг бу хусусиятидан касалликка лаборатория ташҳисини қўйишда, эпидемиологик ҳолатини аниқлашда фойдаланилади.

**Чидамлилиги.** Ичак таёқчаси кимёвий, физик омиллар таъсирига шигелла, сальмонеллаларга нисбатан чидамли, шунинг учун ташқи муҳитда (сув ва тупроқда) бир неча ҳафта ва ойлаб яшайди. Дезинфекцияловчи эритмалар: 5% ли фенол, 3% ли хлорамин эритмаси таъсирида бир неча дақиқада ўлади. Эшерихийлар 55°C гача қиздирилганда 1 соат, 60°C да эса 15 минутда нобуд бўлади.

**Одамлардаги патогенези.** Эшерихийлар шартли-патоген микроорганизмлардир. Уларнинг оддий шароитда яшаб касаллик қўзғатмайдиган одам учун фойдали (комменсаль) турлари мавжуд.

Эшерихийлар тиф, паратиф, ичбавлод ва ичакда йиринг пайдо қиладиган тури бактерияларга нисбатан антогонистдир. Бундан ташқари, улар организм учун зарур моддалар, фермент ва витаминларни синтез қилади. Эшерихийларнинг энтеробактериялар оиласига мансуб патоген микробларнинг кўпайиши тўхтатиш хусусиятидан фойдаланиб, улардан ичак касалликларини даволаш ва олдини олиш учун ишлатиладиган биологик препаратлар (колибактерин, коли-аутовакцина) тайёрланади.

Патоген ичак таёқчаси клиник белгилари оғир кечиши ва давом этиши билан бир-биридан фарқ қиладиган юқумли касалликларни келтириб чиқаради. Ичак таёқчаси, асосан, коли-энтерит касаллининг қўзғатувчиси ҳисобланади.

Инфекция манбаи бемор ва бактерия ташувчиларидир. Патоген микроб алиментар йўл билан, баъзан билвосита алоқа, ҳаво-томчи ва чанг орқали юқади. Асосий юқиш йўли фекал-орал, бунда одам ифлосланган озиқ-овқат, сув орқали касалланади.

Ҳозир *E.coli* нинг энтероинвазив, энтеропатоген, энтерогеморрагик, энтеротоксиген ва энтероадгезив турлари тафовут қилинади. Уларнинг бундай ҳар хил хоссалари плазмида ва бактериофаглар томонидан чуқур ўрганилган.

**Иммунитети.** Ёш болалардан коли-инфекция иммунитети чуқур ўрганилган эмас, касалликдан сўнг типмахсус кучсиз иммунитет пайдо бўлади.

Кесишма иммунитет бўлмаганлиги сабабли одам умрида бир неча марта кли-инфекция билан касалланиши мумкин. Коли-инфекциядаги иммунитет кучсизлигига *E.coli* нинг микрокапсуласи борлиги туфайли фагоцитоз қилувчи хужайралар фаоллигининг пасйиши ҳам сабаб бўлади.

**Коли титр** деб *E.coli* бир донаси учрайдиган суюқликнинг энг кам ҳажмига айтилади (нормада 250-300 мл).

**Коли-индекс** – 1 л суюқликда топиладиган *E.coli* сони (меъёрда 3-4 тагача).[4,5,8,10,12,25,28,39,40]

### **Сальмонеллалар**

Сальмонелла авлодига мансуб бактериялар табиатда кенг тарқалган бўлиб, 2000 дан ортиқ серологик вариантлари мавжуд. Сальмонелла авлодига қорин тифи, паратифлар А, В, С ва овқатдан захарланишнинг қўзғатувчилари киради. Авлоднинг номи 1900 йили Линьер томонидан, 1885 йили чўчқалар ўлати вақтида ушбу авлоднинг асосий вакилини ажратиб олган америкалик олим Дэвид Сальмон шарафига берилган. Бу касалликлар, асосан, ифлосланган сув ва овқат маҳсулотлари орқали юқади. Боллингер (1876 й) сальмонеллэз билан касалланган ҳайвонлар гўштини истеъмол қилганда касалланишнинг юқорилигини таъқидлаб ўтган. Кейинги йилларда сальмонеллаларни фарқлаш Кауффман-Уайт схемаси асосида олиб борилган. Кейинчалик (1987 й) Ле Минор ва Повофф сальмонеллаларни ферментатив хусусиятларин бўйича таснифлашни таклиф қилишди.

Касалхона ичи касалликлари (госпиталь инфекция) сўнгги йилларда факт ривожланаётган давлатларда эмас, балки дунёдаги етук давлатларда ҳам муаммоли масалалардан ҳисобланади. Бу борада бизнинг давлатимиз ҳам эътибордан холи эмас. Даволаш масканларининг кўпайиб бориши, даволаш соҳасида эса терапевтик ва диагностик, техник асбоб-анжомларнинг ҳаддан зиёд кўплиги, қолаверса иммунитетни сусайтирувчи дори-дармонларининг

беадад қўлланилаётганлиги, аъзо ва тўқималарни кўчириб ўтказиш ва ҳ.к. омиллар оқибатида касалхона ичи касалликлари ортиб бормоқда. Бу ҳол даволаш масканларида беморлардан бир-бирига бошқа инфекциялар ўтиши, шунингдек, шифокорларга ҳам касалликнинг юқиш хавфни туғдирмоқда.

Мутахассисларнинг ҳисоблашича ҳозирга келиб касалхона ичи касалликлари касалхонага ётқазилган 5% гача беморларга юқиб қолиши мумкин. Биргина АҚШда 120 мингдан ортиқ бемор нозокомиал инфекцияга чалинган, бундан келган зарар йилига 5-10 млрд. Долларни ташкил қилади.

Касалхоналардаги сальмонеллэзнинг асосий қўзғатувчиси *S.typhimurium* ҳисобланади.

*S.typhimurium* орасидан 3 та биологик вариант ажратиб олинган, булар антиген тузилишига кўра бир-бирига ўхшайди, аммо оқ сичқонларга оғиз орқали юборилганда патогенлиги ва антибиотикларга чидамлилиги билан фарқ қилади. Шунинг учун касалхонадаги сальмонеллэздан ажратиб олинган сальмонеллалар бир вақтнинг ўзида 15-20 та антибиотик ва бошқа сульфаниламид дориларга чидамли бўлди. Бу хусусиятлар уларнинг бактерия цитоплазмасидаги R-плазмида билан боғлиқ бўлиб, конъюгация натижасида осонгина реципиент бактерия ҳужайраларига берилади.

**Патогенези.** Касалхона ичи сальмонеллэзи 3 хил йўл билан: маиший, ҳаво, чанг ва озиқ-овқатлар орқали тарқалади. Касалликнинг клиник белгилари турлича бўлиб, симптомсиз бактерия ташиб юрувчидан то оғир гастроэнтерит ва бутун организмга тарқалган шаклларда бўлиши мумкин.

Касалхона ичи сальмонеллэзи чақалоқларда жуда оғир ва узоқ давом этади. Бунда чақалоқларда кучли заҳарланиш, меъда-ичак йўлларида чуқур жароҳатлар пайдо бўлиб, беморда бактеремия ва сепсис ривожланади, натижада боланинг аҳволи жуда оғирлашади. 3 ёшдан ошган болаларда бир оз енгил кечади ва симптомсиз шакллари кузатилади.

Сальмонеллэздаги заҳарланиш оқибатида гипоталамуснинг фаолияти ва моддалар алмашинув жараёнлари бузилади. Бунда чақалоқлар организмидан кўп миқдорда сув ва туз чиқиб кетади, натижада организм сувсизланади ва

заҳарланиш (токсикоз) кучаяди. Бир ёшдан катта болаларда нейротоксикознинг синдромлари пайдо бўлади. Бундай болаларга стафилококк, юқори нафас йўлларининг вирусли инфекциялари, зотилжам, эшерихиоз ва бошқа касалликлар қўшилса, касаллик оғир кечади ва ҳатто ўлимга сабаб бўлиши ҳам мумкин. [4,5,7,8,10,12]

### Протейлар

Шу бактерияни 1885 йил Г.Хаузер айниган гўштдан биринчи бўлиб ажратиб олган. У агарли муҳитда ўстирилганда ташқи кўринишини ўзгартириб, ёйилиб ўсади. Шу сабабли бу авлодга *Proteus* деб ном берилган. У беш турдан иборат: *P.vulgaris*, *P.mirabilis*, *P.morgani*, *P.rettgeri*, *P.inconstans*.

**Морфологияси.** *Proteus* авлодига мансуб барча турлар полиморф, грамманфий таёқча шаклида бўлиб, узунлиги 1-3 мкм, эни 0,4-0,8 мкм. Уларнинг коксимон, ипсимон шакллари ҳам бўлиб, спора ва капсула ҳосил қилмайди, ҳаракатчан, хивчинлари перитрих жойлашган. Электрон микроскоп ёрдамида текширилганда уларда фимбриялар борилиги аниқланган. Протеуслар *Enterobacteriaceae* оиласига мансуб бактерияларнинг барча хусусиятларига эга. Нуклеотидаги ДНК таркибида Г+Ц 38-44% ни ташкил этади.

**Ўсиши.** Протейлар озик муҳитларга талабчан эмас, шунинг учун оддий муҳитларда (Эндо, Левин, Плоскирев) яхши ўсади. *P.vulgaris* ва *P.mirabilis* агарли муҳитда ўзига хос ёйилиб ўсади, яъни Н-шаклдаги колониялар ҳосил қилади. Қиялаштирилган пробирка ичида конденсацион суви бўлган агарга (Шукевич усули билан) экилса, ўрмалаб ўсиб бутун юзасини қоплайди. Протейининг айрим штаммлари турли тузлар, фенол ва бошқа моддалар таъсирида ёйилиб ўсиш хусусиятини йўқотади ва йирик, четлари текис О-шаклдаги колониялар ҳосил қилади. Уларнинг гўшт-пептонли бульонда ўстирилганда бир хил қуйқа ва чўкма ҳосил қилиб кўпаяди. Протейлар факультатив анаэроб, 20-37°C ҳароратда яхши ўсади.

**Биокимёвий хусусияти.** Протейлар кўп қандларни кислота ҳосил қилиб парчалайди. Турлари эса бир-биридан қандларни парчалаши, индол, уреаза, водород сульфид, орните декарбоксилаза ҳосил қилиши ва бошқа хусусиятлари билан фарқ қилади.

**Антиген тузулиши.** Протейлар 2 антигенга эга: биринчиси О-антиген 49 та, иккинчиси хивчин-Н антигени 19 та. О-антиген хужайра деворидаги липополисахариддан иборат. Протейларнинг кўпгина антигенлари бошқа энтеробактериялар билан кесишма реакцияларга киришади.

**Чидамлилиги.** Протейлар ташқи муҳитга, дезинфекцияловчи моддаларнинг паст концентрацияли эритмаларига, шунингдек, кўпгина антибиотикларга чидамли, шу сабабли улар касалхона ичи инфекцияси гуруҳига мансуб.

*P.vulgaris* ва *P.mirabilis* кўпчилик ҳайвонлар ва одам организмида яшайди. Протейларни кўлмак сув, тупроқ ва овқат маҳсулотларидан ажратиб олиш мумкин.

**Касалликнинг одамлардаги патогенези.** *Proteus* авлодига мансуб бактериялар шартли-патоген микроорганизмлар ҳисобланади. Уларнинг патогенлиги вирулентлиги ва эндотоксини билан боғлиқ. Протейлар, асосан, овқатдан захарланишнинг қўзғатувчилари ҳисобланади.

Инфекция оғиз орқали юқади. Касалликнинг пайдо бўлиши меъда-ичак йўлига тушган протейлар миқдорига боғлиқ. Протей бактерияларнинг парчаланиши натижасида кўп миқдорда эндотоксин ҳосил бўлади ва касаллик ривожланади.

Протейлар бошқа грамманфий бактериялар (*E.coli*, *Pseudomonas*), стафилококк ва баъзи анаэроб бактериялар билан бирга йирингли касалликлар кечишини оғирлаштиради.[4,5,12,25,28,33,34,35,38,40]

### **Кандидоз қўзғатувчиси**

Кандидозга *Candida* авлодига мансуб ачитқисимон замбавлодлар сабаб бўлади. Касаллик қўзғатувчиси 1839 йили Лагенбак томонидан кашф этилган. Кандидидалар бир хужайрали организм бўлиб, кўртакланиб

кўпаяди. Улар конидий, аскоспоралар ҳосил қилмайди, ҳақиқий мицелийлари йўқ, сохта мицелийлари кетма-кет куртакланиш натижасида пайдо бўлади. Бу замбавлодлар махсус авлодни ташкил этиб, 80 дан ортиқ турни ўз ичига олади, шулардан 20 таси одамларда касаллик келтириб чиқаради. Буларга *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.krusei* ва бошқалар киради. Булардан, асосан, *C.albicans*, *C.tropicalis* кандидозга сабаб бўлади. Бу турни 1853 йили Ш.Робен биринчи бор аниқлаган.

*Candida* авлодига мансуб замбуруғлар думалоқ тухумсимон ёки узунчоқ хужайралар бўлиб, асосан, куртакланиб кўпаяди. *C.albicans* хламидоспоралар ҳосил қилади. Уларнинг занжирсимон узунчоқ хужайралардан иборат сохта мицелийлари бор.

Ачитқисимон замбуруғлар аэроб бўлиб, оддий муҳитларда 20-30°C ҳароратда ўсиб, силлиқ колониялар ҳосил қилади, аммо Сабуро муҳитида яхши кўпаяди.

Кандидоз замбуруғларининг антиген тузилиши мураккаб, хужайра деворидаги гликопротеидлар турларнинг антиген махсуслигини белгилайди. Кўп турлари 6 та серологик гуруҳга, *C.albicans* эса А, В, С серогуруҳларга бўлинган. *Candida* авлодига замбуруғлар ташқи муҳитда кенг тарқалган - *C.albicans* эса одам ичагининг нормал микрофлораси ҳисобланади.

*Candida* авлодига мансуб замбавлодлар ташқи муҳитга чидамли, қуритилган ҳолда йиллаб сақланади. Дезинфекцияловчи воситалар 2-5% ли фенол, формалин, хлорамин, лизол эритмалари тезда ўлдиради. Бу замбавлодлар одамларнинг оғиз бўшлиғи, меъда-ичак, сийдик-таносил аъзоларининг шиллиқ қаватларидан яшайди. Бундан ташқари, улар ҳўл меваларда, сабзавотлар, овқат маҳсулотлари, чиқинди сувлар, идиш-товоқлар ва буюмларда ҳам бўлади.

Антибиотикларни ўз билгича қўллаш ҳам кандидозларга сабаб бўлади, улар одам организмидаги нормал микрофлоранинг симбиозини бузади, натижада дисбактериоз ривожланади. Бу ичакда айрим микробларнинг

кўпайиб кетишига ёки сапрофит ҳолатдан шартли патоген ва патоген ҳолатга айланишига сабаб бўлади.[4,5,7,8,10,12,38,39,40]



### ***I боб бўйича хулосалар:***

Шубҳасиз XX асрнинг иккинчи ярими антибиотиклар эраси бўлиб келмоқда. Бу ўз навбатида кўпчилик оғир инфекцион касалликлар билан курашишта катта ютуқларга эришишга сабаб бўлмоқда ва оқибатда инсон ҳаёти давомийлиги узайши кузатилмоқда. Лекин шу билан бирга микроорганизмларни дори-дармонларга мослашиши натижасида янги резистент штаммалар пайдо бўлиши аниқланмоқда. Оқибатда полирезистент микроорганизм қўзғатадиган касалликларни дунё бўйлаб кўпайиши таъкидланмоқда.

Шу туфайли патоген ва кенг қўлланиладиган антибиотиклар ва кимёвий препаратларга чидамли микрофлорага қарши янги эффектив моддаларни излаш ва яратиш долзарб муаммолардан бўлиб келмоқда.

Юқорида келтирилган адабиёт шарҳини умумлаштирилиб айтганда, янги биотехнологик препарати ФарГАЛС ни фақатгина бактериал ва микоз этиологияли трофик яралар, ётаверишдан уюшиб жонсиз бўлиб қолган жойлар, кимёвий ва термик тери жароҳатлари, операциялардан кейинги яраларни йирингланиши, жароҳатлар, тери лейшманиози, тери яллиғланиши (ўсмирлар тошмаси, дерматитлар, экземалар, яралар, оддий учук ва б.); оғиз бўшлиғи шилимшиқ қавати яллиғланиши (стоматитлар, гингивитлар, пародонтитлар, афтлар ва б.); цервицитлар, кольпитлар, вульвовагинитлар; ринитлар, ангина, отитлар, сфеноидит, синуситларга эмас, бироқ ичак инфекцияларни даволашда терапевтик восита ҳисоблаш мумкин.

Дастлабки натижалар кўрсатишича ФарГАЛС гепатит В ва С вирусларига юқори фаол бўлиб, бу шу йўналишдаги тадқиқотларни давом этиш мақсадга мувофиқ эканлигини тасдиқлайди.

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги уни операциялардан кейинги яллиғланган яраларни даволашдаги самарадорлиги билан бир вақтда ФарГАЛС турли йирингли-яллиғланиш жараёнларни, микотик шикастланишларни ва бошқа инфекцион касалликларни даволашда

қўлланиши мумкинлиги эҳтимолдан хом эмас. Уни *H.pylori* га қарши юқори фаолликни гастродуоденал касалликларни даволаш билан боғланган тадқиқотларни давом эттириш лозим эканлигини тасдиқлайди. Бу соҳада тадқиқотлар охирига етказмаганлиги сабабли ФарГАЛС препаратини ичак микрофлораси вакилларига таъсирини ўрганиш эътиборга мувофиқ бўлди.

## II боб. Материаллар ва методлар

Ишнинг материали деб биотехнологик препарат “ФарГАЛС” ва ЎЗР ФА Микробиология институтининг коллекциялар лабораториясидан олинган *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ҳамда янги ажратиб олинган *Salmonella thyphimurium* ва *Bifidobacterium* ҳисобланади.

### ***1. Одам ичак микрофлораси вакиллари ажратиб олиш***

#### ***Salmonella* авлоди вакиллари ажратиб олиш ва аниқлаш**

*Enterobacteriaceae* оиласига мансуб патоген *Salmonella* авлоди вакиллари соф культурасини ажратиб олиш учун текшириш материали келтирилган вақтдан 2 соат кечиктирмасдан лабораторияга олиб борилди. Шароит бўлмаган ҳолатда текшириш материаллари термостат ёки музлатгичда (қон, ўт суюқлигидан ташқари) сақланди. Текшириш материаллари Плоскирёв, Левина, Эндо, Висмут-сульфит агарига экилди. Экмалар алоҳида-алоҳида колонияларни олишга қаратилди.

Экмалар оптимал ҳарорат - 37°C да 18-20 соатдан 48 соатгача қолдирилди.

Колонияни олишни бактериологик илмоқдан фойдаланган ҳолда, спиртовка алангасида, алоҳида бўлиб турган колониядан, четки колонияларга тегиб кетмасдан марказ томонидан олинди. Колониялар биологиясини ўрганиш учун бактериал колониялар электив озиқа муҳитларида ўстирилди.[6,14]

Эндо агари – грамманфий микроорганизмларни ажратиб олиш учун қўлланилади.

Эндо муҳити таркиби:

|                                       |       |
|---------------------------------------|-------|
| Ҳайвон тўқимасининг пептик қайнатмаси | 10,00 |
| Лактоза                               | 10,00 |
| Калий гидрофосфат ( $K_2HPO_4$ )      | 3,50  |
| Натрий сульфит ( $Na_2SO_3$ )         | 2,50  |

|                 |         |
|-----------------|---------|
| Фуксин (асосли) | 0,50    |
| Агар-агар       | 15,00   |
| pH              | 7,5±0,2 |

Тайёрланиши:

41,5 г юқоридаги таркибли кукунга 1000 мл дистилланган сув солинади ва бир хил массали эритма ҳосил бўлгунча қайнатилади. 1,1 атм (121°C) 15 дақиқа автоклавдан ўтказилади. Петри чашкасига қўйишдан олдин яхшилаб чайқатилади ва қўйилади.

Бу ерда асосли фуксинга жуда эҳтиёт бўлиш керак, чунки у жудаям кучли канцероген кукун бурунга, терига тегиб кетишини олдини олиш керак.

Плоскирёв ағари – бу озиқа муҳити сальмонеллалар учун дифференциал селектив озиқа муҳити сифатида тавсия этилади.

Озиқа муҳит таркиби: г/л

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Ҳайвон тўқимасининг пептик қайнатмаси | 2,50    |
| Ўштли экстракт                        | 2,50    |
| Лактоза                               | 5,00    |
| Ўт кислотаси аралашма                 | 4,25    |
| Натрий цитрат                         | 5,00    |
| Натрий тиосульфат                     | 4,25    |
| Темир цитрат                          | 0,50    |
| Бриллиант қўки                        | 0,00016 |
| Нейтрал қизил                         | 0,012   |
| Агар-агар                             | 7,50    |
| pH                                    | 7,0±0,2 |

Тайёрланиши:

Юқоридаги таркибли кукундан 63,0 г олиб 1000 мл дистилланган сувда тўла эриши учун қайнатилади. Автоклавга қўйилмайди. 50°C гача совутиб, стерил чашкага қўйилади.

Висмут-сульфит ағари таркиби: г/л

|                    |            |
|--------------------|------------|
| Микробиологик агар | (12,4±2,5) |
|--------------------|------------|

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| Озиқлантирувчи ачитқи экстракти   | 0,64  |
| D(+) глюкоза                      | 4,5   |
| Висмут лимон кислотаси            | 1,7   |
| Натрий сульфит                    | 2,55  |
| Мора тузи                         | 1,15  |
| Динатрийфосфат                    | 2,55  |
| Бриллиант кўки                    | 0,016 |
| Кальцийланган сода                | 0,6   |
| Натрий хлорид                     | 2,5   |
| Килькининг панкреатик гидролизати | 27,1  |

Тайёрланиши:

55 г куруқ озиқлантирувчи агарга 1 л дистилланган сув солинади ва 3-5 мин қайнатилади. 45-50°C гача совутилади ва Петри чашкасига 4-5 мм қалинликда қўйилади. Чашкалар ёпиқ ҳолда 80-100 мин, 18-25°C қолдирилди, яъни қуритилди. Тайёр озиқа муҳити яшил, тиниқ бўлмаган ҳолда.

Кукун ҳолатдаги Висмут-сульфит агари ёпиқ, куруқ, химояланган тарзда 2-25°C гача сақланди.

Салмонеллаларни идентификацияси 3 босқичда олиб борилди:

1. Дастлабки идентификация;
2. Дифференция қилиш ва турни аниқлаш;
3. Идентификация тури ва унинг тур ичидаги дифференциацияси.

Биринчи босқичда эътибор культурани биохимик хоссаларини аниқлашга қаратилди.

Иккинчи босқичда дифференциация қилувчи тестлардан фойдаланган ҳолда сальмонелла тури аниқланди.

3-босқичда турга хос белгилар қўшимча биохимик тестлар ёрдамида аниқланади.

Аввал шпатель билан муҳит четига, сўнг бутун озиқа муҳит юзасига ёйилади. Шундай усул ёрдамида алоҳида колониялар ҳосил қилинади. Кейин

косачалар термостатдан олиб текширилди. Шубҳали колониялар ҳосил бўлганда, соф культура ажратиб олинди ва ўрганилади. Бир неча (5-6) шубҳали колониядан олиб уч қандли агар муҳитига экилди.

Уч қандли агар таркиби: л/гр

|                                                                                                   |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Куруқ озиклантирувчи агар                                                                         | 25 гр   |
| Лактоза                                                                                           | 10 гр   |
| Сахароза                                                                                          | 10 гр   |
| Глюкоза                                                                                           | 1 гр    |
| Темир ( II) аммоний сульфат $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ | 0,2 гр  |
| Натрий тиосульфат $(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$                   | 0,3 гр  |
| Мочевина                                                                                          | 10 гр   |
| Фенол қизили (0,4 %- сувли эритмаси)                                                              | 4 мл    |
| Дистилланган сув                                                                                  | 1000 мл |

Тайёрланиши: 1 л дистилланган сувга 56,5 гр озика муҳит қўшилади ва муҳит эригунча қайнатилади. Тайёр бўлган озикани стерил пробиркаларга косяк қилиб қуйилади. Автоклавда муҳитлар 0,5 атмосфера босимида  $-115^\circ\text{C}$  стерилизация қилинади.

Бу муҳитга намуна қуйидагича экилади. Шубҳали колониядан стерил микробиологик илмоқ ёрдамида олиб секин аста пробирка деворига тегисмасдан конденсатцион суюқлигида аралаштириб юқорига қараб штрих қилиб экилади ва газ ҳосил бўлишини аниқлаш учун экишга муҳит марказидан унинг тубигача санчилади.

Экилган муҳит термостатда қолдирилди. 18-24 соатдан сўнг экилган муҳит термостатдан олиб текширилди. Уч қандли агар муҳитининг таркибида лактоза, глюкоза, мочевина ва индикатор мавжуд. Анаэробноз шароитда глюкоза парчаланadi. Шунинг учун бунда муҳитнинг қийшиқ қисми ўзгармасдан, тик қисмининг ранги индикаторга мослашиб ўзгаради. Сальмонеллалар лактоза ва мочевинани парчаламайди. Агар муҳитнинг барча қисмлари ўзгарса, сальмонелла йўқ деб жавоб берилади. Шундан сўнг фақат глюкозаси парчаланган муҳитларгина текширилади:

1. Суртмадан препарат тайёрлаб, Грам усулида бўялади ва микроскоп остида текширилади. Агар грамманфий таёқчасимон бактериялар кўринса, текшириш ишлари давом эттирилади.

2. Сахаролитик хоссасини ўрганиш учун Гисс қаторига экилади.

3. Протеолитик хоссасини ўрганиш учун лакмусли сутга ва индикатор қоғози ўрнатилган гўшт-пептонли шўрвага экилади. Экилган муҳитлар термостатда 37°C ҳароратда 24 соат қолдирилади.

4. Сальмонеллаларни фарқлаш учун агглютинация реакцияси ўтказилади. Буюм ойначаси устида поливалент (А, В, С, D, Е) зардоб билан агглютинация реакцияси қўйилади. Агар реакция мусбат бўлса, шу зардоб таркибига кирувчи гуруҳ қон зардоблари билан алоҳида агглютинация реакцияси қўйилади. Уларнинг бирида агглютинация реакцияси берса О-антиген ва Н-антигеннинг биринчи фаза ва иккинчи фаза зардоблари билан агглютинация реакцияси қўйилади ва натижалар ўқилади [5,6,14]

Касалликлардан ажратиб олинган микроорганизмлар культуралари ишлатилаётган антибиотикларга нечоғлик сезgirлиги албатта текшириб кўрилади. Бу-антибиотиклар билан даволаш ишини анча тўғри олиб боришга имкон беради. Микробларнинг антибиотикларга сезgirлигини текшириб кўриш шунинг учун ҳам зарурки, сўнгги йилларда турли антибиотикларга чидамли бўлиб қолган микроорганизм штамmlари пайдо бўлди.[5,14]

### **Бифидобактерияларни ажратиб олиш**

Бифидобактерияларни соф культураларни ажратиб олиш учун 3-5 кунли чақалоқлар нажасидан фойдаланилди. Бунинг учун 10 соғлом чақалоқ нажаси шиша таёқча ёки Пастер пипеткаси ёрдамида стерилланган пробиркаларга йиғилди. Фекалий миқдори 0,5-1,0 г ташкил қилди, шунга яраша 10 баробар суюлтиришлар учун физиологик эритма тайёрланди. Фекалийлар физиологик эритма билан яхшилаб аралаштирилгач  $10^{10}$  даражасигача суюлтиришлар тайёрланди.

Кейинги боскичда суюлтиришлар Блаурокк озиқа муҳитига экилди. Бунинг учун Блаурокк муҳити баланд (10 см) устин қилиб пробиркаларга қуйилди ва автоклавда дастлаб буғ билан қиздирилиб сўнг 121°C 1 атм. Босимда 20 дақиқа давомида стерилланади.

Бифидобактерияларни ўстириш учун қаттиқ, ярим суюқ ва суюқ Блаурокк (HiMedia) муҳитларидан фойдаланилади.

Култура тозалигини аниқлаш учун қаттиқ озиқа муҳитларидан фойдаланилади: стандарт куруқ Эндо муҳити (ТУ 42, 14-96-77), LB озиқа агари, 5% қонли агар.

Муҳитлар дастлаб 30 дақиқа буғда қиздирилиб, сўнг 121°C 30 дақиқа давомида стерилланади.

Экишдан аввал муҳит эркин кислородни чиқариш учун 30-40 дақиқа давомида қайнатилади, тезда совутилади (40-45°C гача) ва муҳитни пастки қатламига экилади.[6,14]

Ажратилган штаммларни ФарГАЛС препаратига чидамлилиги текширилди.

## ***2. Микробларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлаш***

### **Диск диффуз усули**

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги агарга ва бульонга (шўрва) диффузия усули ҳамда “Флеминг йўли” билан аниқланди. [1,2,23] Тест-культура сифатида одам ичак микрофлораси вакиллари қаторига кирувчи касалхона ичи шартли патоген микроорганизмларни баъзи штаммаларидан фойдаланилди. Тажрибалар гўшт пептон агарида ўтказилди. («HiMedia», Хиндистонда ишлаб чиқарилган) [6,14,16]. Бунинг учун Петри ликобчаларидаги озиқ муҳит юзасига тест культураларни стерил сувдаги суспензияси экилади ва қисқа вақт қуритилгач, агарда диаметри 8 мм бўлган тешикчалар ҳосил қилинади. тешикчаларга 0,02 мл дан ФарГАЛС турли концентрациялардан қуйилади. Тажриба 3-5 марта такрорланади. Шунингдек, аввал тешикчалар ҳосил қилиб, препарат томизилиб, сўнг тест-



культуралар Петри ликобчасини четидан бошлаб, то тешикчага тест-культуралар экилди.

“Флеминг йўли” усулида агарда кенглиги 10 мм бўлган йўлакча қирқиб олинади, унга аввалдан 45°C қиздирилган гўшт-пептон ағари қўшилган турли концентрациядаги ФарГАЛС препарати солинади, қисқа вақт қурилади ва тест-культуралар экилади. Петри ликобчалари 24 соат давомида 37°C инкубирланади. Натижалар тешикчалар атрофидаги тест-культуралар ўсиши ингибирланган зона диаметри ва йўлакчагача бўлган ингибирлаш зонасини ўлчаш йўли билан аниқланади. Зоналар бўлмаганлар культуралар чидамли, 3-6 мм гача – ўртача чидамли, 7 мм дан ортиқ бўлганга – сезгир деб ҳисобланди.

ФарГАЛС препаратини минимал таъсир кўрсатувчи концентрациясини аниқлаш мақсадида суяқ муҳитда икки баробар суялтириш усулидан фойдаланилди, лекин препарат хусусиятлари сабабли кейинги суялтиришлар Петри ликобчаларидаги озиқа муҳитига экилади ва термостатда 37°C да 24-48 соат давомида ўстирилади.

**“Флеминг йўлакчаси” усули.** Бу усул антибиотиклар спектрини аниқлашда қўлланилади. Гўшт-пептон ағари солинган Петри ликобчасидан стерил скальпель билан кенглиги 1 см йўлакча қирқиб олинади ва олиб ташланади. Шундан сўнг эритилган ва 42-45°C гача совитилган гўшт-пептон ағари тутувчи пробиркага маълум концентрациясидаги антибиотик эритмаси қўшилади. Пробирка ичидаги яхшилаб аралаштирилгач, йўлакчага қуйилади. Бунда суяқлик йўлакча четидан чиқмаслиги лозим. Агар қотгандан сўнг йўлакчага перпендикуляр қилиб тадқиқотдаги микроорганизмлардан бир нечтаси экилади. Экмалар термостатга 18-24 соатга қўйилади.

Препаратга сезгир культуралар йўлакчадан бир қанча масофада ўсади, чидамлилари йўлакчагача ўсади.[6,14,16]

ФарГАЛС препарати бульонда ўстирилган культураларга турли концентрацияларда суялтирилиб қўшилганда чўкмага тушиб қолиши сабабли ва ундан титрини аниқлаш мақсадида фойдаланиш мумкин

бўлмаганлиги туфайли солинишидан аввал ва таъсир эткандан сўнг суяқ муҳитдаги хужайралар сонини аниқлаш мақсадида Виноградский-Брид, яъни фиксирланган бўялган препаратларда хужайраларни санаси усулидан фойдаланилди.

**Фиксирланган бўялган препаратларда хужайраларни санаш усули (Виноградский-Брид усули).** Бу усулдан турли табиий субстратларда – тупроқ, ифлосланган сувлар, сут, оптик тиниқ бўлмаган озик муҳитлар (таркибида сувда эримайдиган моддалар тутувчи, масалан крахмал, соя уни ҳамда чўкмага тушган моддалар бўлган холда) – микроорганизмлар сонини аниқлаш учун фойдалинилади.

Препарат тайёрлаш учун яхшилаб ёғсизлантирилган буюм ойнаси тагида  $4\text{ см}^2$  ёки  $6\text{ см}^2$  майдон белгиланган миллиметр қоғози қўйилиб, шиша устига микропипетка ёрдамида аниқ хажмдаги тадқиқотдаги суспензия (0,01; 0,02 ёки 0,03 мл) ёки бир томчи 1 мл пипеткадан томизилади. Охирги ҳолатда 1 мл даги томчилар сони аниқланиб, 1 мл унга бўлинади ва томчи хажми аниқланади.

Шишадаги суспензияга бир томчи 0,03-0,1% сувли агардан қўшиши тавсия қилинади. Суспензия илмоқ билан теккис қилиб белгиланган майдонга ёйилади. Препарат ҳавода қуритилади, 10-20 дақиқа 96% спирт билан фиксирланади ва 1-2 дақиқа давомида Циль фуксини ёки бошқа бўёқ билан бўялади. Бўёқ тўкилади, препарат 5-6 стакандаги сувга ботирилиб ювилади (оқар водопровод сувида эмас) ва ҳавода қуритилади. Шундай ҳолда препаратни узоқ вақт сақлаш мумкин. Хужайралар сони иммерсион объективда микроскопни кўриш майдонида саналади. Натижа аниқ бўлиши учун 50-100 гача кўриш майдонида хужайралар саналади. Бунда хужайраларни умумий сони 600 тадан кам бўлмаслиги лозим. 1мл тадқиқотдаги хужайралар сони  $M = \frac{aS}{sV}n$ , формуласи билан аниқланади. Бу ерда М — тадқиқотдаги суспензияни 1 мл даги хужайралар сони;  $a$  — кўриш майдонидаги хужайраларни ўртача сони;  $s$  — кўриш майдони юзаси ( $\text{мкм}^2$ );

$V$  — томизилган суспензия хажми (мл);  $S$  — суртма майдони ( $\text{мкм}^2$ );  $n$  — суспензияни суюлтирилиши.

Кўриш майдонини юзаси объект-микрометр ёрдамида аниқланади. Бунинг учун объект-микрометр препарат ўрнига ўрнатилади ва қайси объективга хужайралар саналса, шунда кўриш майдони диаметри аниқланади. Кўриш майдони юзаси  $S = \pi r^2$  формуласи бўйича ҳисобланади. [6]

### **3. Темир оксидловчи бактерияларни ажратиш олиш**

Дастлабки тадқиқотларда тажрибадаги микроорганизмлар ўрганиш мақсадида ГМЗ-3 биозаводини турли участкалардан намуналар олинган эди. Бу намуналарни микробиологик таҳлили серияли суюлтириш усулида олиб борилди. Мезофил темир ва олтин-гугуртоксидловчи бактериялар учун 9К (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), Ваксмана (*Acidithiobacillus thiooxidans*) ва Баалсруд (*Halothiobacillus denitrificans*) муҳитларига экилди, 28-30°C ўстирилди, ва ўртача термофил темироксидловчи бактриялар учун кам темир тутувчи (4,8 г/л) ҳамда ачитки экстракти қўшилган (0,02 мг/л) 9К муҳитига экилди, 43 ва 50°C ўстирилди. Серияли суюлтириш усули тирик хужайралар сонини аниқлашга имкон беради. Инкубация даври 15 суткани ташкил қилди, хужайралар титри Мак Креди жадвали бўйича стандарт усулда аниқланди. [6,17].

Музей коллекциясида сақланувчи геокимёвий фаол микроорганизмлар ассоциациясини фаоллигини тиклаш ва жонлантириш мақсадида культивирлаш муҳитларига ацидофил ассоциациялар экилди ва термостатли тебратгичларда ўстирилди. Муҳитдаги темирни 70% оксидлангач, культура 1:9 нисбатида, янги муҳитда экилди, ва бу амал тўрт марта такрорланди. Натижада фаол ацидофил ассоциация олинди. У бир соат давомида ҳаво билан бойитилиб турилган стерил муҳитига аввалги нисбатда қўшилди. Бир соатдан сўнг турли озиқа муҳитларидаги хужайралар сони аниқланди ва бактериал суспензияни ярми рН 2 гача келтирилган 1:4 нисбатидаги

концентрат қўшилган ферментерга солинди, иккинчи яримига эса мос озиқа муҳити қўшилиб бошқа ферментерга солинди. Хар иккала ферментер маълум хароартдаги термостатларга ўрнатилди, ва ҳаво бойитилиб турган ҳолда ўстирилди. Мунтазам равишда тирик хужайралар сони, оксидланган темир концентрацияси ва pH кўрсаткичи аниқланиб борилди. [9].

Тадқиқотлар микробиологияда умум қабул қилинган усуллари билан олиб борилди: 1 мл намунадаги хужайралар сонини серияли суюлтириш усулида, Мак Креди жадвалидан фойдаланган ҳолда; культурал суюқликдаги (КС) хужайралар морфологиясини фиксирланган бўялган препаратларда ўргандик. КС даги pH “Metler Toledo” маркали pH-метрда яниқланди; оксидланган темир концентрацияси трилон Б эритмаси қўшилган комплексометрик усулда текширилди.

Ацидофил темир- ва олтингургуртоксидловчи ассоциациялар қўйидаги озиқли муҳитларда ўстирилди:

***Acidithiobacillus ferrooxidans* учун Сильверман ва Люндгрэн 9К муҳити:**

**1- эритма:** в 700 мл дистилланган сувда  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ -3,0 г; KCl-0,1 г;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -0,5 г;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,5 г;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -0,01 г эритилади.

**2- эритма:** 300 мл дистилланган сувда  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -44,2 г эритилади ва 1 мл 10 н сульфат кислотаси қўшилади.

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ўрнига Мор тузини  $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  олиш мумкин. Бу ҳолда  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  эритмага қўшилмайди, 2-чи эритма эса қўйидагича тайёрланади: 300 мл дистилланган сувда 63 г  $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  эритилади ва 1 мл 10 н сульфат кислотаси қўшилади. Шу миқдордаги Мор тузи 9 г/л темирга ва 21,4 г/л  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  тенг келади.

Эритмалар алоҳида стерилланади: 1 - эритма 1 атм да ва 2 - 0,5 атм да. Фойдаланишдан олдин ҳар икала эритма аралаштирилади. Уш бу муҳит *A. ferrooxidans* учун энг қулай муҳит бўлгани туфайли бошқа муҳитлага нисбатан кўпроқ қўлланилади.

***Acidithiobacillus thiooxidans* учун Ваксман муҳити:**

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0,2 г;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -3,0 г;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,5 г;  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0,25 г;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , изи; олтин гугурт ( $\text{S}^0$ )-10 г;  $\text{H}_2\text{O}$  дист. – 1 л; pH 4,0. Олтин гугурт олдиндан оқар бўғ билан 3 кун давомида ёки спирт билан 2 соат давомида стерилланади. Сўнг спирт бўғлантирилади ва стерил олтин гугурт кукуни олинади. У асептик ҳолатда стерилланган муҳитга солинади.

Темир ва олтин гугурт оксидловчи термофил бактериялар учун муҳит:

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,4 г;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0,2 г;  $\text{KCl}$ -0,1 г;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -0,1 г;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -13,9 г, энергия манбаи сифатида  $\text{FeS}_2$ -2 г ёки олтин гугурт -5 г ишлатилади;  $\text{H}_2\text{O}$  дист. – 1 л; pH 2,0-3,0.

Культуралар  $50^\circ$  ва  $60^\circ\text{C}$  ёпиқ идишларда ўстирилади.

## ***II боб бўйича хулосалар:***

Шундай қилиб *Enterobacteriaceae* оиласига мансуб патоген *Salmonella* авлоди вакиллари аниқлаш мақсадида соф культураларни ажратиб олиш учун текшириш материали келтирилган вақтдан 2 соат кечиктирмасдан олиб борилиши лозим. Шароит бўлмаган ҳолатда текшириш материаллари термостат ёки музлатгичда (қон, ўт суюқлигидан ташқари) сақланади. Текшириш материаллари Плоскирёв, Левина, Эндо, Висмут-сульфит агарига экилади. Экмалардан алоҳида-алоҳида колониялар олишга эътибор қаратилади.

Салмонеллаларни идентификацияси 3 босқичда олиб борилади:

1. Дастлабки идентификация;
2. Дифференция қилиш ва турни аниқлаш;
3. Идентификация тури ва унинг тур ичидаги дифференциацияси.

Сальмонеллаларни фарқлаш учун агглютинация реакцияси ўтказилади. Буюм ойначаси устида поливалент (А, В, С, D, Е) зардоби билан агглютинация реакцияси қўйилади.

Касалликлардан ажратиб олинган микроорганизмлар культуралари ишлатилаётган антибиотикларга нечоғлик сезгирлиги албатта текшириб кўрилади. Бу антибиотиклар билан даволаш ишини анча тўғри олиб боришга имкон беради. Микробларнинг антибиотикларга сезгирлигини текшириб кўриш шунинг учун ҳам зарурки, сўнгги йилларда турли антибиотикларга чидамли бўлиб қолган микроорганизм штаммлари пайдо бўлди.

Бифидобактерияларни соф культураларни ажратиб олиш учун 3-5 кунли чақалоқлар нажасидан фойдаланилади. Культура тозалигини аниқлаш учун қаттиқ озиқа муҳитларидан фойдаланилади. Бифидобактерияларни ўстириш учун эса қаттиқ, ярим суюқ ва суюқ Блаурокк (Hi-media) муҳитларидан фойдаланилади.

Ҳужайралар сонини санаш учун Виноградский-Брид усулидан фойдаланиш мақсадга мувофиқ, чунки бу усул оптик тиниқ бўлмаган озиқ

муҳитлар (таркибида сувда эримайдиган моддалар тутувчи, масалан крахмал, соя уни, чўкмага тушган препарат) учун энг қулай усул. Бундан ташқари бу усулда тайёрланган препаратларни узоқ вақт сақлаш мумкин.

### **III Боб. Натижалар таҳлили**

#### ***1. Одам ичак микрофлораси вакиллари ажратиб олиш***

Ишнинг биринчи босқичида сальмонеллалар ва бифидобактериялар штаммлари ажратиб олинди ва соф культурагача тозаланди.

Сальмонеллаларни соф культуралари ўткир ичак касалликлари билан оғриган касаллар нажасидан ажратиб олинди.

Бунинг учун нажас – транспорт муҳити – фосфат буферда келтирилди – 10 та намуна.

Лабораторияга келтирилган намуналар озиқа муҳитларига экилди: Эндо, Левина, Плоскирёв агарига.

2-куни текшириш материаллари таҳлил қилинди ва текшириш намуналарида сальмонеллага шубҳа қилинган колониялар ажратилади.

Колониялар 2-2,5 мм диаметрли чети текис, усти силлиқ рангсиз қора марказга эга бўлади. Микроскопда препарат қаралганда тартибсиз жойлашган, ҳаракатчан перитрихлар, спора ва капсула ҳосил қилмайдиган грамманфий бактериялар сальмонелла деб тахмин қилинди.

Текширувлар давомида 10 та келтирилган намуналардан 2 культура ажратиб олинди.

Эндо муҳити микроорганизмларни лактозага нисбатан хоссасини ўрганишда ва уларни лактозани ферментация қилиши ва қилмаслигига кўра дифференциация қилишда фойдаланилди. Сульфит натрий ва асосли фуксин-граммусбат бактерияларга салбий таъсир қилади. Лактоза микроорганизмлар таъсирида альдегид ва кислотагача парчаланади. Шу ўринда альдегид фуксинга ўз ўрнини бўшатади ва микроорганизмлар қизил рангга бўялади. Шунинг учун лактоза мусбат бактериялар Эндо озиқа муҳитида оч пушти ва қизил темир ялтироқ-яшил колонияларни, лактозани парчалай олмайдиган бактериялар эса оч рангли, тиниқ рангсиз колонияларни ҳосил қилиб ўсади.

Плоскирёв озиқа муҳити сальмонеллаларни ажратишда дифференциал-селектив озиқа сифатида фойдаланилади. Ҳайвон тўқимасининг пептик



қайнатмаси, протеазопептон ва гўштли экстракт озиқа муҳитидаги энг муҳим озиқ моддалар ҳисобланади. Лактоза-ферментланувчи яъни парчаланувчи субстрат ҳисобланади. Ўт суюқлиги кислотаси, тиосульфат ва бриллиант кўки бошқа кераксиз граммусбат ва колиморф бактерияларнинг ўсишини тўхтатади. Айрим ичакдаги микроорганизмлар тиосульфат натрийни сульфит ва газли сероводородгача парчалайди. Сероводородли маҳсулот таркибини темир сульфиднинг қора преципитати ташкил қилгани учун колония маркази қора рангга киради.

Озиқа муҳити қизил-ғишт рангига ўхшаш бир маромдаги рангни ҳосил қилади.

Экмалар 35-37°C 18-24 соат давомида ўстирилади. Сальмонеллалар бу озиқа муҳитида рангсиз, марказида қора доғ ҳосил қилди. Куқун холидаги Плоскирёв муҳити +25°C дан паст ҳароратда сақланди. Тайёр озиқа муҳити эса +2...8°C да сақланди.

Висмут-сульфит ағари – сальмонеллаларни ажратиб олиш учун селектив муҳит ҳисобланади. Тайёр муҳит – тиниқ эмас, яшил-сарик рангда бўлади. Висмут-сульфит таркибидаги бриллиант кўки грамманфий флора ва шигеллаларни ўсишига йўл қўймайди. Сальмонеллаларнинг ўсиши жуда секин амалга ошди, у 24-28 соат давом этди.

Бактерия сероводород ҳосил қилгани учун муҳитни ҳам қорайтириб юборди. Бактериялар колонияси қора ва рангсиз, марказга эга бўлмаган ҳамда ўсганлари ҳам учратилди.

Бирламчи идентификация учун комбинирланган Олькеницкий муҳити қўлланилди. Чунки унда ҳамма ҳоссалар, сальмонеллани аниқлашга қаратилган. Бир вақтнинг ўзида битта культуранинг сероводород ҳосил қилиши, лактоза, глюкоза сахарозага нисбатан муносабати ўрганилди.

Ҳаракатчанлик хоссаси 0,3-0,4% ярим суюқ агарига укол ҳолида экилган культура бўйича кўрилди. Ҳаракатчан культура муҳит бўйича ёйилиб ўсади ва агарни хиралаштирди.

Индол ҳосил қилиши — индикатор қоғозининг бўялишига кўра аниқланди. Лизинни декарбоксилланиши айна шу аминокислота солинган муҳитга қараб белгиланди.

Фенилаланиннинг дезаминланиши хоссаси муҳитнинг юқори қисми яшил ранг бўлиши ва унга 10% темир хлорид томизганимизда қорайишига қараб аниқланди.

Ҳамма ўтказилган тестлар тасдиқлангандан кейин агглютинация реакцияси ўтказилди.

Агглютинация реакциясининг ижобий натижасидан кейин антибиотикларга нисбатан сезувчанлиги ўрганилди.

3-кун. Текшириш материалларида сероводород ҳосил қилган, лактоза ва глюкозани кислота ва газ ҳосил қилган, хидсиз типик культуралардан ажратиб олиниб “рангли қатор” га қўйилади. “Рангли қатор” га қўйишдан мақсад *Salmonella* авлодини бошқа авлодлардан ажратиб олишдир. Сўнг танлаб олинган культураларни серологик хоссаси ўрганилди. Бу босқич сальмонеллани турини аниқлаш мақсадида бажарилди.

Натижада 10 та намунадан 2 культура ажратиб олинди.

*Salmonella typhimurium* – 2 штамм

Бифидобактериялар 3-5 кунли чақалоқлар нажасидан Блаурокк ва 0,075; 0,1; 0,3; 0,5 % агар қўшилган маккажўхори-лактозали муҳитларида ўстирилиб ажратиб олинди. Тажрибаларда бифидобактериялар сони қайта экишларда камайиб борди, ва колониялар морфологияси ўзгариши кузатилди. Улар то думалоқ, то чўзунчоқ шаклда бўлди. Суртмалар микроскоп остида кўрилгандагина бифидобактериялар эканлиги тасдиқланди. 0,3% Блаурокк муҳитида колониялар бутун пробирка бўйлаб ингичка михлар шаклида, шарсимон, гречиха доналари каби ўсди. Ўлчами 3,2-6,0 мм колониялар 2-3 сутка ичида ўсиб чикди. Суюқ Блаурокк ва 0,07% маккажўхори-лактозали муҳитларида 24 соат ичида муҳитлар лойқаланиши ва 48-72 соат давомида культураларни яхши ўсиши кузатилди.

Натижада бифидобактерияларни 10 та бойитилган культураси олинди, ва бир қатор қайта экишлар оқибатида суяқ Блаурокк муҳитида бифидобактерияларни 2 та штамми ажратилди: *Bifidobacterium sp.5*, *Bifidobacterium sp.6*.

Ишни кейинги босқичида уларни морфологик-культурал хусусиятлари ўрганилди. Ёруғ майдонли микроскопик тадқиқотлар бифидобактериялар хужайраларини морфологик ҳилма-ҳиллигини кўрсатди (2 жадвал).

2-жадвал

### Бифидобактерияларни морфологик хусусиятлари

| Культура | Колониялар шакли                      | Хужайралар катталиги ва шакли                 | Ҳаракатчанлиги | Бўйялиши | Нафас олиш типи |
|----------|---------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------|----------|-----------------|
| 5        | Алоҳида жойлашган, ингичка михчасимон | Ҳ-симон таёқчалар, 4,2-0,5 мкм                | -              | +        | Анаэроб         |
| 6        | Шарсимон колониялар                   | Тармоқланган Ҳ, V-симон таёқчалар 3,2-5,0 мкм | -              | +        | Анаэроб         |

2-жадвалдан кўриниб турибдики тадқиқотдаги культуралар ҳар хил морфологик шакллarga эга: тармоқланган, сал эгилган таёқчалар.

Янги ажратиб олинган бифидобактериялар анаэроб шароитларда ўстирилган. Лекин культивация давомида аниқланишича кам миқдордаги кислородда ҳам ўсиш қобилиятига эга. Шунинг учун уларни микроаэрофил деб қабул қилиш мумкин.

Бифидобактериялар спора ҳосил қилмайдиган таёқчалар, ҳаракатсиз, Грам усулида бўялганда граммусбат, калин қатламли муҳитда ўсади. Хужайралар метилен кўки билан кучсиз бўялади.

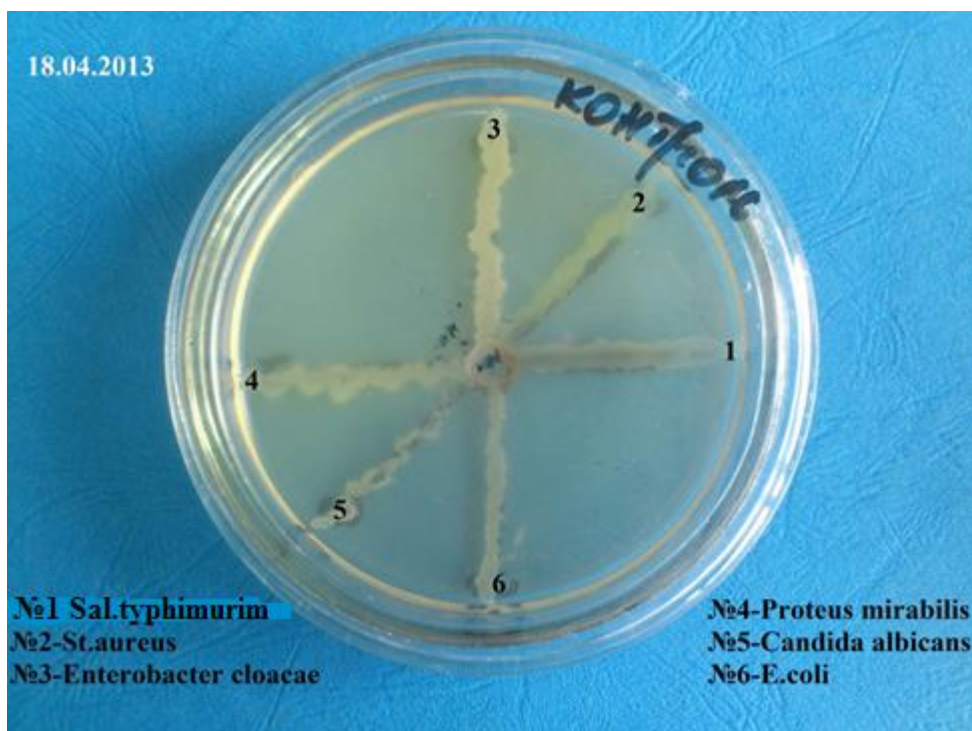
### 2. Тадқиқотдаги микроорганизмларни синовдаги биотехнологик препаратларга сезгирлигини аниқлаш

Кейинги боқичда ФарГАЛС препаратини микроорганизмларга қарши фаоллиги текширилди. Тест-культуралар сифатида ЎзР ФА Микробиология

институти коллекциялар лабораториясида олинган патоген ва шартли-патоген касалхона ичи микроорганизмларини кўйидаги штаммлари *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ҳамда одам ичидаги микрофлораси орасидан ажратиб олинган *Salmonella typhimurium* ва бифидобактериялардан фойдаланилди.

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги агарга диффузия усулида текширилди. Бунда тест-культураларни препаратдан қанча масофада ўсмай қолиши мм ўлчанади. Агардаги тешикчалар (лунка) диаметри 88 мм ташкил қилди ва уларга 0,02 мл ФарГАЛС препарати эритмаси томизилди, сўнг атрофига тест-культуралар экилди.

Контроль вариантыда препарат ўрнига стерил сувдан фойдаланилганда барча синалган культуралар яхши ўсиб чиқди (2 расм).



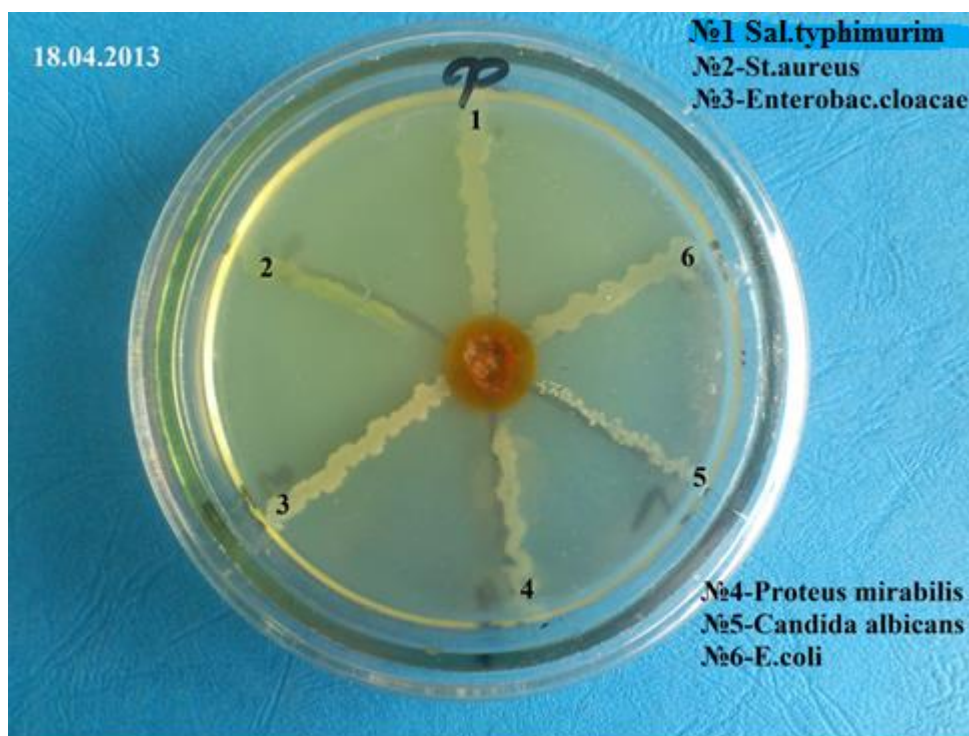
**2 расм – Контроль вариантыда тест-культураларни ўсиши.**

ФраГАЛС томизилганда олинган натижалар 3-жадвалда ва 3-расмда келтирилган.

**ФарГАЛС препаратини тест-культураларга таъсири, (n=15;M±m)**

| № | Микроорганизмлар              | Ўсишни<br>ингибирланиш<br>зонаси, мм |
|---|-------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 9±0,19                               |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 5±0,29                               |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 9±0,19                               |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 3±0,31                               |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 9±0,19                               |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 9±0,19                               |

Ўсмаслик зонаси 5 мм дан кўпроқ ташкил қилганда культуралар сезгир, 1-4 мм бўлганда ўртача сезгир ҳисобланди.

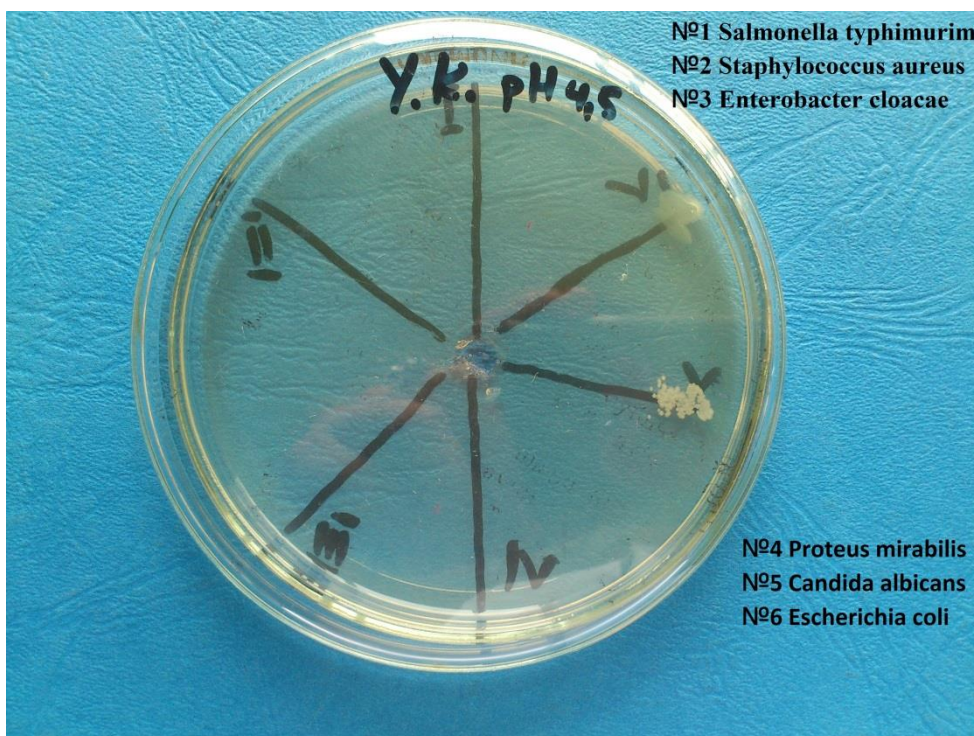


**3-расм – ФарГАЛС препаратини тест-культураларга таъсири.**

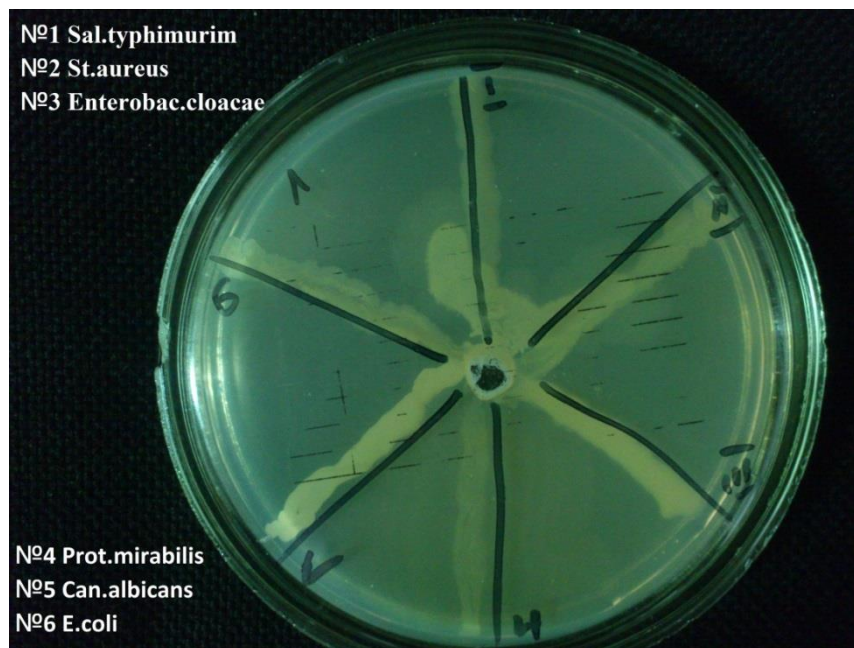
3-жадвалдан кўриниб турибдики *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ва *Staphylococcus aureus* культуралар ФарГАЛС га нисбатан сезгир бўлди, *Proteus mirabilis* эса ўртача сезгир бўлди.



ФарГАЛС препаратини pH 2,5 га тенг бўлганлиги туфайли, унинг микроорганизмларга таъсири pH билан боғлиқ деб тахмин қилиш мумкинлигини назарда тутиб pH ФарГАЛС никига яқин бўлган субстартлар синаб қўрилди. Тажриба учун кимёвий тоза сирка кислотаси pH 4,5 ва лимон кислотаси pH 2,5 олинди. pH лар “Mettler Toledo” маркали pH-метрда аниқланди. Дастлабки агарга диффузия усули қўлланилди (4- ва 5- расмлар).



**4 расм – Сирка кислотасини тест-культураларга таъсири.**



**5 расм – Лимон кислотасини тест-культураларга таъсири.**

4-расмдан кўриниб турибдики рН 4,5 бўлган сирка кислотаси вариантыда тест-культуралар ўсмади. Бунга саба сирка кислотасини учувчанлиги бўлиши мумкин. Лимон кислотаси вариантыда эса (5-расм) культуралар лункадан бошлаб ўсди, яъни рН 2,5 уларни ўсишига таъсир қилмади.

Кейинги тажрибаларда ФарГАЛС препаратини ингибирловчи концентрациясини аниқлаш мақсадида лункаларга турли нисбатларда суюлтирилган ФарГАЛС препарати томизилди (4-жадвал) ва сўнг тест-культуралар лункадан бошлаб экилди.

4-жадвал

**ФарГАЛС препарати турли нисбатларини тест-культураларга таъсири, (n=15; M±m)**

| № | Микроорганизмлар              | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм |          |      |       |
|---|-------------------------------|--------------------------------|----------|------|-------|
|   |                               | Препаратни суюлтирилиши        |          |      |       |
|   |                               | 1:1                            | 1:5      | 1:10 | 1:100 |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 3±0,19                         | 0        | 0    | 0     |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 5±0,31                         | 4,5±0,31 | 0    | 0     |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 0                              | 0        | 0    | 0     |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 5±0,31                         | 2±0,29   | 0    | 0     |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 4±0,31                         | 2±0,29   | 0    | 0     |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 3±0,19                         | 0        | 0    | 0     |

4-жадвалдан кўриниб турибдики ФарГАЛС концентрацияси камайиши ингибирланиш зоналарини қисқаришига олиб келди.

Олинган натижаларни янада тасдиқлаш учун, тажриба бошқа вариантда олиб борилди. бунда культураларни ҳар бири ГПБ 1 сутка давомида 30°C ўстиришди ва газон қилиб экилди ва агарда тешикчалар кесиб олингач, уларга турли концентрациясидаги препарат томизилди (5-жадвал).

**ФарГАЛС препаратини турли концентрацияларини тест  
культураларга таъсири, (n=15; M±m)**

| № | Микроорганизмлар              | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм |        |        |        |
|---|-------------------------------|--------------------------------|--------|--------|--------|
|   |                               | Препаратни суюлтирилиши        |        |        |        |
|   |                               | 1:1                            | 1:3    | 1:5    | 1:10   |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 6±0,31                         | 6±0,31 | 1±0,29 | 2±0,21 |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 10±0,31                        | 9±0,29 | 4±0,29 | 2±0,30 |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 4±0,31                         | 5±0,31 | 2±0,31 | 1±0,26 |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 8±0,29                         | 6±0,29 | 4±0,31 | 0      |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 8±0,29                         | 4±0,31 | 2±0,31 | 2±0,30 |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 6±0,29                         | 5±0,31 | 2±0,29 | 0      |

Бу вариантда ҳам суюлтириш культураларни ўсишига таъсир қилди.

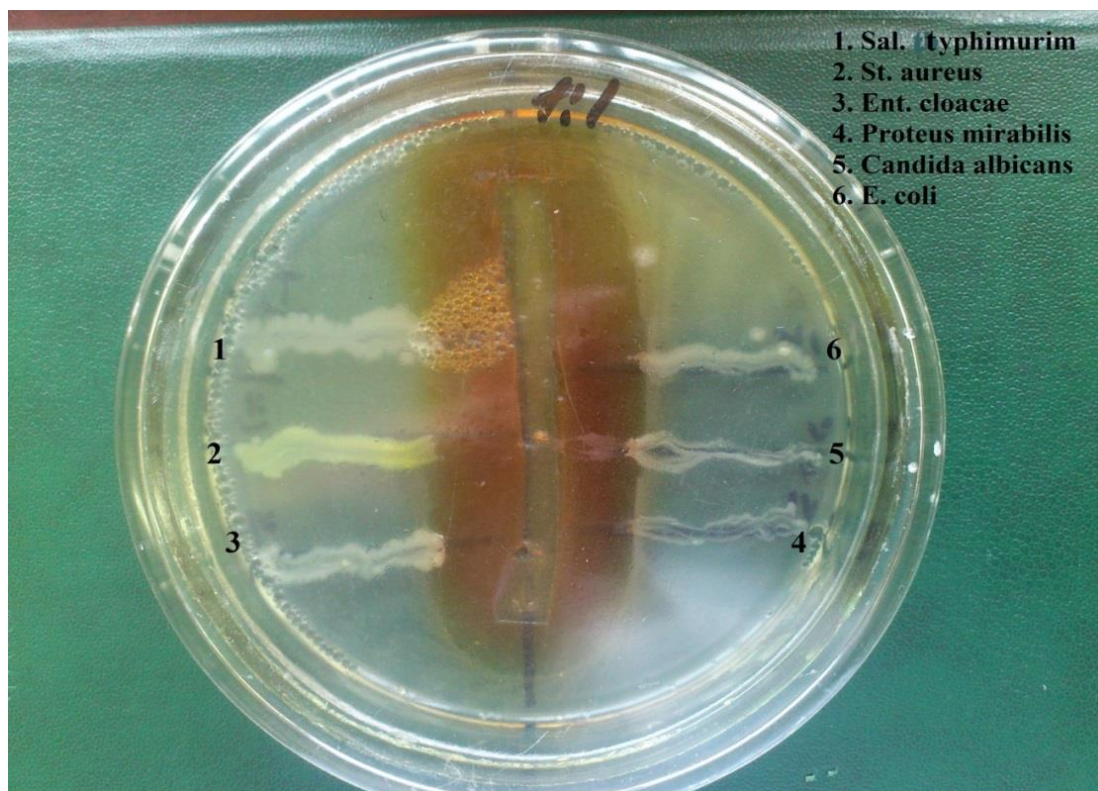
Шунингдек Флеминг йўлакчаси усули қўлланилди. Бунинг учун гўшт-пептон ағари солинган Петри ликобчасидан стерил скальпель билан кенглиги 10 мм йўлакча қирқиб олинди ва олиб ташланди. Шундан сўнг эритилган ва 42-45°C гача совитилган гўшт-пептон ағари тутувчи пробиркага маълум концентрациясидаги ФарГАЛС препарат эритмаси қўшилди. Пробирка ичидаги яхшилаб аралаштирилгач, йўлакчага қуйилди. Бунда суюқлик йўлакча четидан чиқмаслиги лозим. Агар қотгандан сўнг йўлакчага перпендикуляр қилиб тадқиқотдаги микроорганизмлар экилди. Экмалар термостатга 24 соатга қўйилди.

Препаратга сезгир культуралар йўлакчадан бир қанча масофада ўсди, чидамлилири йўлакчагача ўсди. Олинган натижалар 6-жадвал ва 6, 7, 8 расмларда келтирилган.

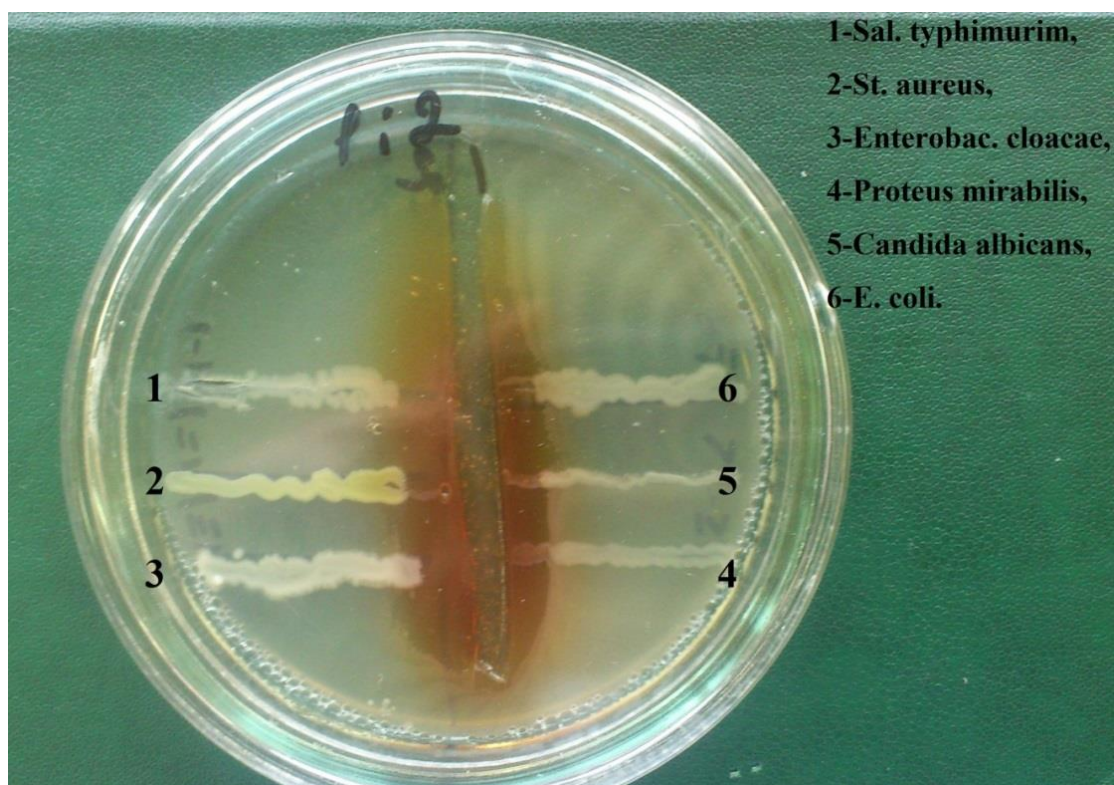
**Тест-культураларни ўсишини ингибирланиш зоналари (Флеминг  
йўлакчалари усули), (n=15; M±m)**

| № | Микроорганизмлар              | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм |          |          |
|---|-------------------------------|--------------------------------|----------|----------|
|   |                               | Препаратни суюлтирилиши        |          |          |
|   |                               | 1:1                            | 1:2      | 1:3      |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 9,3±0,29                       | 7,6±0,31 | 5,4±0,31 |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 9,3±0,21                       | 5,4±0,17 | 4,5±0,30 |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 8,7±0,15                       | 7,0±0,31 | 3,5±0,30 |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 5,7±0,15                       | 2,1±0,22 | -        |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 3,0±0,19                       | 2,2±0,15 | 0,4±0,31 |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 8,0±0,19                       | 2,4±0,31 | 1,5±0,30 |

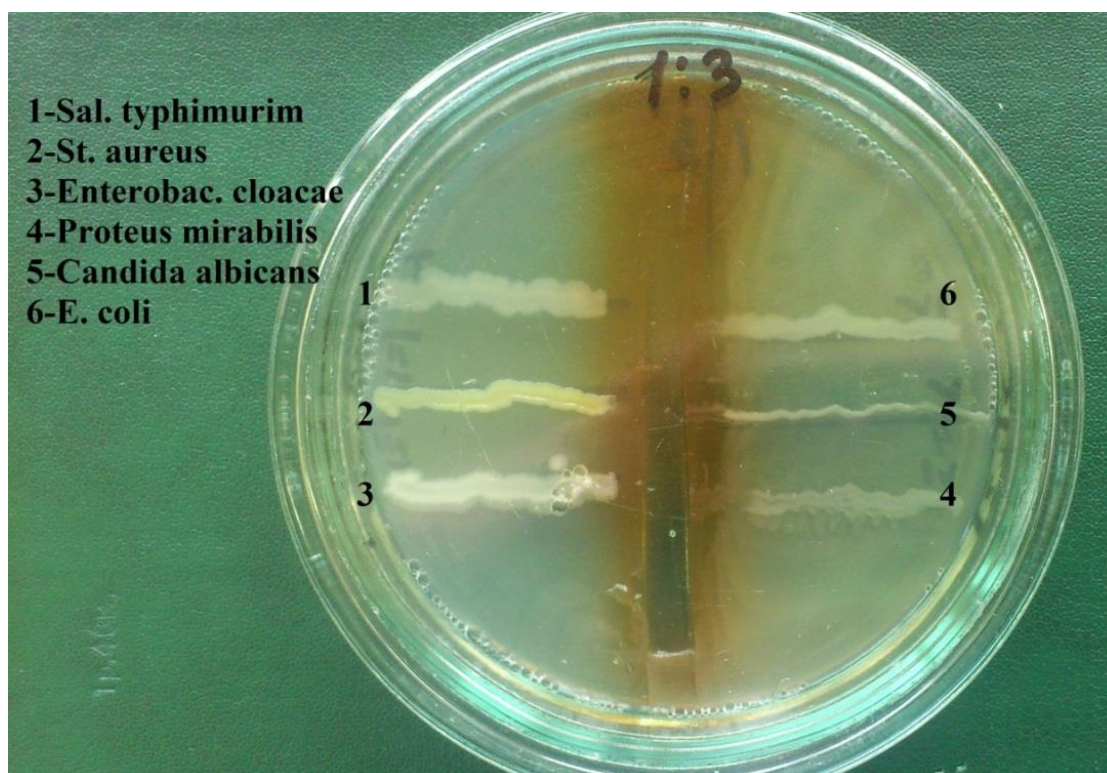




6-расм – Флеминг йўлакчалари усули, суюлтирилиш 1:1.

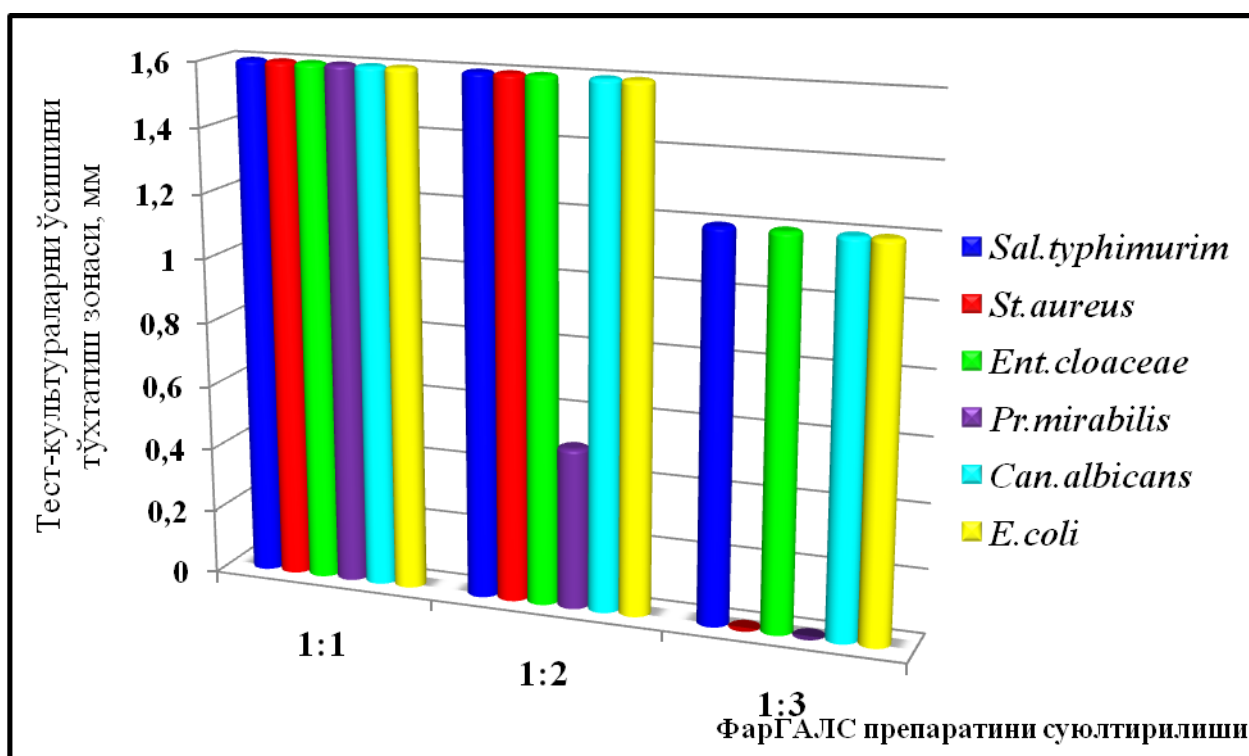


7-расм – Флеминг йўлакчалари усули, суюлтирилиш 1:2.



8-расм – Флеминг йўлакчалари усули, суюлтирилиш 1:3.

Тажрибаларимизда Флеминг йўлакчаси усулига ўзгартириш киритилди, агарда лунка қирқиб олинди ва унга 0,25 мл агар билан аралаштирилган препарат турли концентрацияларда солинди (9-расм).



9-расм – Тест-культураларни ингибирлаш зоналари.

ФарГАЛС препаратини ичак нормал микрофлорасининг вакиллари таъсирини аниқлаш мақсадида тест-культура сифатида янги ажратиб олинган бифидобактериялар *Bifidobacterium sp.5*, *Bifidobacterium sp.6* ва коллекциялар лабораторияси музеидан олинган *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus plantarum* синалди (7-жадвал).

7-жадвал

#### Бифидо- ва лактобактерияларга ФарГАЛС препаратини таъсири

| № | Микроорганизмлар               | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм   |                        |     |     |
|---|--------------------------------|----------------------------------|------------------------|-----|-----|
|   |                                | Cefazolin<br>(Cz <sup>30</sup> ) | Препаратни суюлтирилиш |     |     |
|   |                                |                                  | 1:1                    | 1:2 | 1:3 |
| 1 | <i>Bifidobacterium bifidum</i> | 7                                | 0                      | 0   | 0   |
| 2 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 7,5                              | 0                      | 0   | 0   |
| 3 | <i>Bifidobacterium sp.5</i>    | 8                                | 0                      | 0   | 0   |
| 4 | <i>Bifidobacterium sp.6</i>    | 9                                | 0                      | 0   | 0   |

Жадвалдан кўриниб турибдики препарат ҳеч қайси концентрацияда бу культуранга таъсир қилмади.

ФарГАЛС препаратини, микроорганизмларга таъсир этиш вақтини эффективлиги ўрганиш учун уни титрини аниқлаш лозим эди. Шу мақсадда серияли суюлтириш усулида тажрибалар олиб борилди. бу усул суёқ муҳитларда минимал ингибирловчи концентрациясини (МИК) ва минимал бактерицид концентрацияни (МБК) аниқлашга имкон беради.

Тадқиқотларни турли ҳажмдаги озиқ муҳида олиб бориш мумкин (1-10 мл). Бунда касал қўзғатувчини озиқага бўлган талаби ҳисобга олиниб суёқ озиқа муҳити танланади. Биз гўшт-пептон бульони (ГПБ) қўлладик. 1 мл ГПБ тутувчи пробиркаларда ФарГАЛС препаратини икки баробар фарқланувчи суюлтиришлари тайёрланди. Контроль сифатида тоза озиқа муҳити олинди. Ҳар бир пробиркага 0,05 мл физиологик эритмадаги 10<sup>6</sup>/мл микроб ҳужайраси солинди. Пробиркалар 37°C 18-24 соат давомида инкубирланди. Натижалар муҳитни оптик зичлиги ўзгаришини нефелометрик аниқлаш йўли билан ҳисобга олинди. ФарГАЛС препарати ГПБ суюлтирилганда чўкмага тушиши сабабли бир суткадан сўнг



пробиркалардаги вариантларни газон қилиб Петри ликобчалардаги қаттиқ муҳит юзасига экиш мақсадга мувофиқ бўлди. Яна бир сутка термостатда 37°C ўстирилди. Натижалар 8-жадвалда келитрилди.

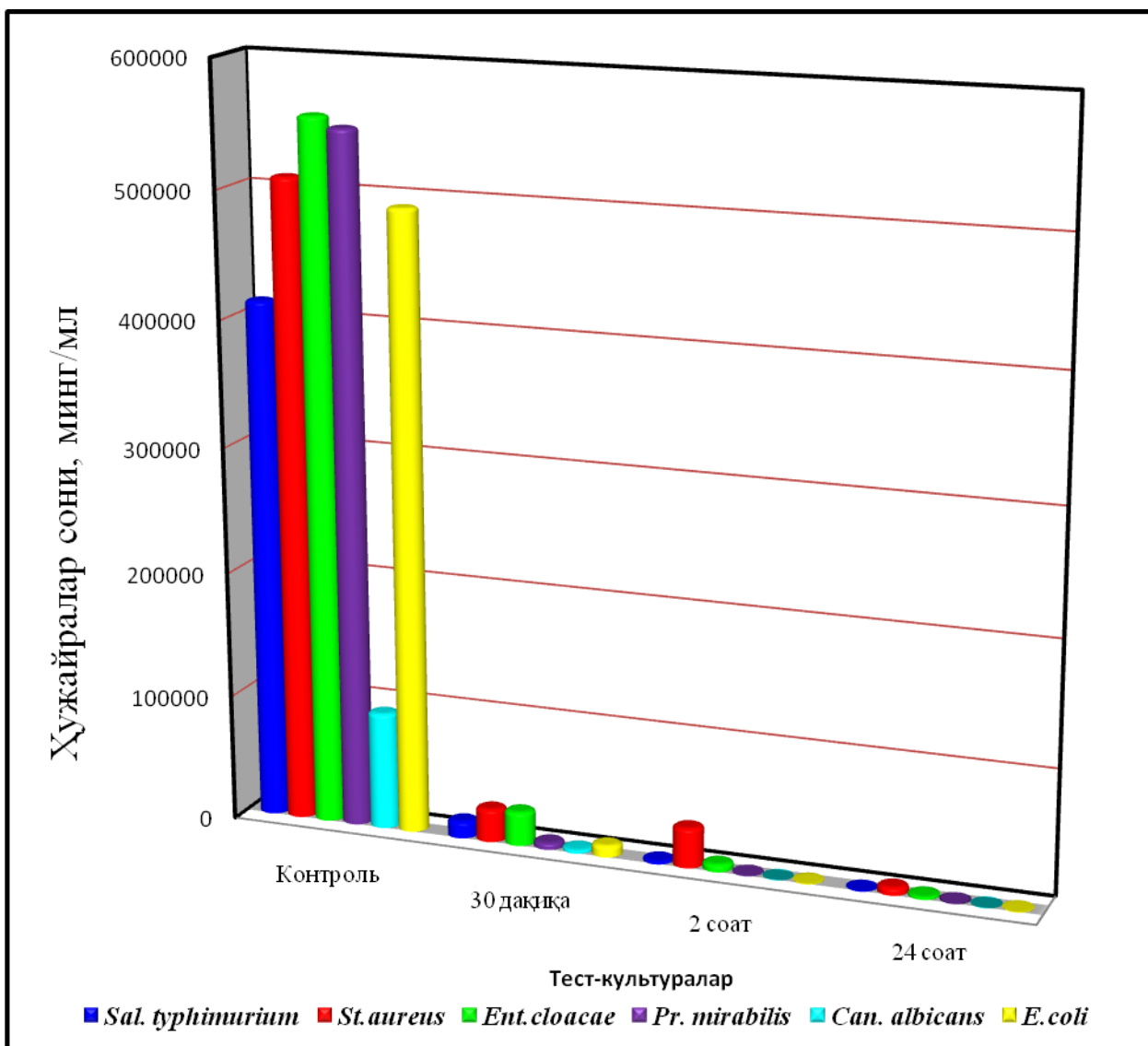
8-жадвал

### ФарГАЛС препаратини титри

| № | Микроорганизмлар              | Суюлтирилиш, марта |   |    |    |    |
|---|-------------------------------|--------------------|---|----|----|----|
|   |                               | 2                  | 4 | 8  | 16 | 32 |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | -                  | + | ++ | ++ | ++ |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | -                  | + | +  | ++ | ++ |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | -                  | + | +  | ++ | ++ |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | -                  | - | -  | +  | ++ |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | -                  | - | -  | ++ | ++ |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | -                  | + | +  | +  | ++ |

\*- культуралар ўсмади; +культуралар кам миқдорда ўсди; ++ культуралар яхши ўсди.

ФарГАЛС препаратини титри барча синалган культуралар бўйича 2 тенг бўлди. Кейинги тадқиқотларда шу суюлтиришда ФарГАЛС ни таъсир этиши динамикада ўрганилди. Бунинг учун ГПБ даги суткали культураларга, асептика техникаси қойидаларига амал қилган ҳолда, 1 мл 1:2 суюлтирилган ФарГАЛС препарати томизилди ва хужайралар сони препарат қўшилишдан аввал ва қўшилгандан сўнг ҳисобланди. ФарГАЛС препарати чўкмага тушишини ҳисобга олган ҳолда, ҳисоблаш учун Виноградский-Брид усули танланди. Хужайралар сонини препарат қўшилмасдан аввал, 30 дақиқадан сўнг, 2 соат ва 24 соатдан кейин аниқланди. Натижалар 10-расмда келтирилди.



**10-расм – ФарГАЛС препаратини тест-культураларга динамикада таъсири**

Кўриниб турибдики ФарГАЛС препарати 30 дақиқадан кейин бактерицид таъсир кўрсатди. Ўртача 2 соатдан кейин. Тирик хужайралар сонини аниқлаш учун 24 соат ФарГАЛС препарати таъсир қилган намуналардан ГПА тутувчи Петри ликобчаларга камайювчи штрих билан экилди. Бунда бирорта культуралар ўсиб чиқмади.

Ишни кейинги босқичида ичак касалликларини чақирувчи микроорганизмларга таъсир этадиган баъзи антибиотикларни ФарГАЛС препарати билан солиштириб кўриш қизиқиш ўйғотди. Клиник амалётида антибиотиклар ва кимёвий препаратларга сезгир микроорганизм деб, уларга шу моддаларни инфекция учоғида концентрацияси бактериостатик ёки бактерицид

таъсир кўрсатган ҳолда айтилади. Шунинг учун касал чакирувчининг сезгирлигини аниқлашда даволовчи препаратни инфекция учоғидаги концентрацияси, унинг максимал терапевтик дозаси, фармакокинетикаси ва токсиклиги аҳамитга эгадир.

Бактерияларни антибиотикларга сезгирлигини аниқлашда турли усуллар мавжуд, лекин, кўпроқ 2 та усулдан фойдаланилади: антибиотик шимдирилган стандарт дисклар ёрдамида агарга диффузиялаш усули ва антибиотикни серияли суюлтириш усули.

Биринчи усулда фильтрловчи картондан тайёрланган диаметри  $6\pm 0,5$  мм дисклар ишлатилади. Дискдаги антибиотик миқдори этикеткада кўрсатилади ва ХССТ (ВОЗ) тавсияга мос бўлади. Дискдаги антибиотик миқдори уни терапевтик дозасига боғлиқ ва мкг/мл ёки таъсир этиш бирлигида (ЕД) келтирилади. Ҳар бир диск битта антибиотикни битта дозасини тутати. Улар: 5 мкг/мл (рифампицин), 6 мкг/мл или 10 мкг/мл (бензилпенициллин), 10 мкг/мл (ампициллин, метициллин, оксациллин, гентамицин, сизомицин, доксициклин, фузидин), 15 мкг/мл (эритромицин, линкомицин, олеандомицин), 25 мкг/мл (карбенициллин), 30 мкг/мл (цефалексин, цефалотин, неомицин, стрептомицин, канамицин, мономицин, тетрациклин, левомецетин, ристомицин), 300 ЕД (полимиксин).

Турли антибиотик тутувчи дисклар ранги (оқ, яшил, сариқ ва ҳ.к.) ёки антибиотик номини 1-ҳарфи босилган коди билан фарқланади. Дисклар культура экилган агар юзасига ўрнатилади. Улар 6 тадан кўп бўлмаслиги керак. Термостатда  $35-37^{\circ}\text{C}$  18-20 соат давомида инкубирлангандан сўнг линейка ёрдамида дисклар атрофидаги тест-культураларни ўсмаслик зонаси ўлчанади, бунда дисклар диаметри ҳам ўлчамга киритилади.

Тадқиқотимизда Ampicillin ( $A^{10}$ ), Nystatin ( $Ns^{100U}$ ), Cefazolin ( $Cz^{30}$ ), Gentamicin ( $G^{10}$ ), Streptomycin ( $S^{25}$ ), Lincomycin ( $L^{15}$ ) каби антибиотикларни ФарГАЛС билан бирга синаб кўрдик (9-жадвал). Бунинг учун суткалик культуралар агар юзасига газон қилиб экилди ва устига дисклар қўйилди.  $30^{\circ}\text{C}$  бир сутка ўстирилгач, натижалар ҳисобга олинди.

## Тест-культураларни антибиотиклар ва ФарГАЛСга сезгирлиги

| № | Тест-культуралар              | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм |                 |                    |                  |                 |                 |                 |
|---|-------------------------------|--------------------------------|-----------------|--------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   |                               | ФарГАЛС                        | A <sup>10</sup> | Ns <sup>1000</sup> | Cz <sup>30</sup> | G <sup>10</sup> | S <sup>25</sup> | L <sup>15</sup> |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 9                              | 10              | 0                  | 11               | 18              | 16              | 10              |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 5                              | 0               | 0                  | 0                | 26              | 10              | 8               |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 9                              | 0               | 0                  | 14               | 16              | 18              | 0               |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 3                              | 11              | 11                 | 9                | 16              | 18              | 0               |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 9                              | 0               | 22                 | 0                | 0               | 0               | 0               |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 9                              | 0               | 0                  | 11               | 17              | 18              | 0               |

ФарГАЛС препарати синалган антибиотиклардан фарқли улароқ барча тест-культураларга таъсир этди.

### 3. Темироксидловчи фаол ассоциациясини ажратиб олиш ва тажрибаларда синаш

Тадқиқотимиздаги ФарГАЛС препарати темир оксидловчи бактерияларни культурал суюқлигидан олинганлиги сабабли, бизнинг дастлабки ишларимизда ажратиб олинган фаол темир оксидловчи бактериялар ассоциациясининг культурал суюқлигини ҳам синаб кўриш қизиқиш ўйғотади.

Қўйида темироксидловчи бактериялар ассоциациясини ажратиб олинишини қисқача эслатиб ўтамыз.

Кокпатас конидан келтирилган намуналардан 9К муҳитида 41°C, pH 1,4, 100 тебранма/мин тебратгичларда ўстирилиб темироксидловчи бакетриялар ажратиб олинди. Уларни сони концентратда кўп бўлмади ва икки валентли темирни уч валентлигача биооксидланиш жуда секин – 12 сутка – бўлди. Қайта-қайта 9К суюқ муҳитига культурал суюқлигини 1:1 нисбатида экиш натижасида фаол темир оксидловчи бакетриялар ассоциацияси олинди ва унинг ўсиши учун оптимал параметрлар танланди. 10-12 пассаждан сўнг культурал суюқлик ва муҳит 1:10 нисбатида олинди. Fe<sup>2+</sup> до Fe<sup>3+</sup> гача оксидланиши 20-22 соатгача қисқарди, хужайралар титри 10<sup>7-8</sup> хуж/мл ташкил қилди. Олинган фаол темироксидловчи ассоциациямиз биотехнологик

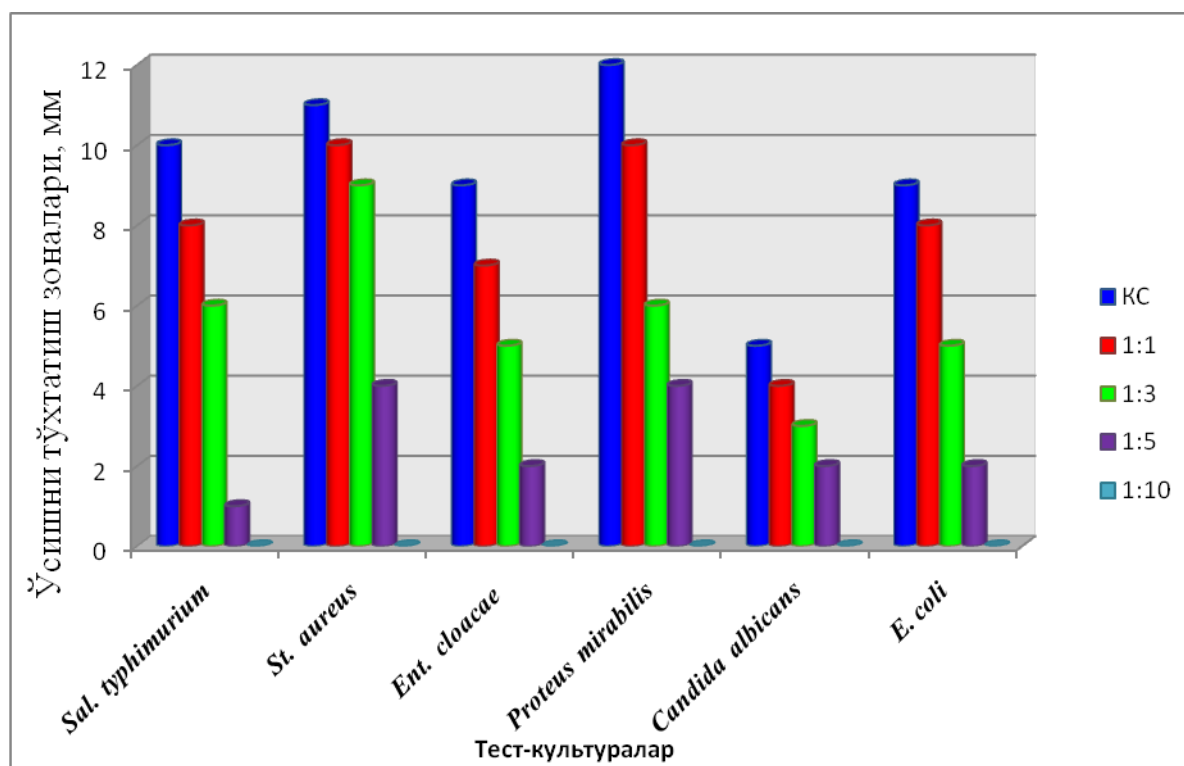
потенциалга эга.

Тадқиқотларда ажратилган темироксидловчи ассоциацияни текшириш учун агарга диффузиялаш усулидан фойдаланилди. Лункаларга культурал суюқлини 0,02 мл томизилди ва тест-культуралар экилди. Натижалар 10-жадвал ва 11-расмда келтирилган.

10-жадвал

**ФарГАЛС препарати ва ажратилган темироксидловчи ассоциацияни тест-культураларга таъсири, (n=15; M±m)**

| № | Тест-культурлар               | Ўсишни ингибирланиш зонаси, мм |                                        |         |        |         |      |
|---|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|---------|--------|---------|------|
|   |                               | Тадқиқотдаги моддалар          |                                        |         |        |         |      |
|   |                               | Фар<br>ГАЛС                    | Культура ассоциацияси<br>(суюлтирилиш) |         |        |         |      |
|   |                               |                                | 0                                      | 1:1     | 1:3    | 1:5     | 1:10 |
| 1 | <i>Salmonella typhimurium</i> | 9±0,19                         | 10±0,31                                | 8±0,19  | 6±0,30 | 1±0,20  | 0    |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 5±0,29                         | 11±0,19                                | 10±0,19 | 9±0,31 | 4±0,31  | 0    |
| 3 | <i>Enterobacter cloacae</i>   | 9±0,19                         | 9±0,20                                 | 7±0,31  | 5±0,20 | 2±0,31  | 0    |
| 4 | <i>Proteus mirabilis</i>      | 3±0,31                         | 12±0,31                                | 10±0,31 | 6±0,20 | 4±10,31 | 0    |
| 5 | <i>Candida albicans</i>       | 9±0,19                         | 5±0,30                                 | 4±0,30  | 3±0,19 | 2±0,30  | 0    |
| 6 | <i>Escherichia coli</i>       | 9±0,19                         | 9±0,31                                 | 8±0,30  | 5±0,31 | 2±0,18  | 0    |





**11-расм – Темироксидловчи ассоциацияни тест-культураларга  
таъсири, (n=15; M±m)**

10 жадвал кўриниб турибди-ки темир оксидловчи бактериялар ассоциацияси культурал суюқлиги таъсирида *Staphylococcus aureus* ҳамда *Proteus mirabilis* ўсмаслик зоналари ФарГАЛС препарати вариантыга нисбатан 2-3 марта каттароқ бўлди. *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae* ва *Escherichia coli* га нисбатан эса ҳар иккала вариантда ҳам бир хил таъсир кузатилди. *Candida albicans* га темир оксидловчи бактериялар ассоциацияси культурал суюқлиги ФарГАЛС га нисбатан кучсизроқ таъсир кўрсатди.

## Хотима:

ФарГАЛС (FarGALS) препарати «антисептик ва ярани битказувчи воситалар» фармакотерапевтик гуруҳига киради, ва Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Фармкомитаси томонидан рўйхатга олинган, ҳамда клиник синовларга рухсат этилган. У автотроф темироксидловчи бактериялар ўстирилган муҳитидан филтраб олинган суюқлик бўлиб, кўриниши қизғиш рангда, рН нордон (3,0), буриштирувчи (вяжущий) таъсир этади. Тўқималарга ножўя таъсир кўрсатмайди, сиртдан қўллашга мўлжалланган. Лекин ҳозирда ундан (per os), яъни ичга қабул қилиш имкониятлари ўрганилмоқда.

ФарГАЛС препарати барча синалган микроорганизмларга (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Helicobacter pylori*) антимикроб таъсир кўрсатган, лекин бу турлича намоён бўлган.

ФарГАЛС препаратини микробга қарши фаоллиги уни операциялардан кейинги ялиғланган яраларни даволашдаги самарадорлиги билан бир хил. ФарГАЛС ни турли йирингли-ялиғланиш жараёнларни, микотик шикастланишларни ва бошқа инфекцион касалликларни даволашда қўлланиши мумкинлиги эҳтимолдан холи эмас. Уни *H.pylori* га қарши юқори фаоллиги гастродуоденал касалликларни даволаш билан боғланган тадқиқотларни давом эттириш лозим эканлигини тасдиқлайди.

Ушбу магистрлик диссертациясида ЎзР ФА Микробиология институтининг коллекциялар лабораториясидан олинган *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ҳамда янги ажратиб олинган *Salmonella thyphimurium* ва *Bifidobacterium*

sp. штамmlарига янги биотехнологик препарат “ФарГАЛС” таъсири урганилганда олинган натижалар келтирилган.

Ишнинг биринчи қисми ўткир ичак касалликлари билан оғриган кишилар нажасидан *Salmonella* авлодига кирувчи патоген бактерияларни соф культурасини ажратиб олишга ва туригача аниқлашга ҳамда одам ичак микрофлорасини нормал вакилларида бифидобактерияларни соф культурасини ажратиб олишга бағишланган.

Тадқиқотга олинган барча культураларни ФарГАЛС препаратига нисбатан сезгирлиги ўрганилди. Буни аниқлашда диск-диффуз, Флеминг йўлакчалари, суюлтириш ва хужайраларни Виноградский-Брид усулида санаш методлари қўлланилди.

Тадқиқотларда *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ва *Staphylococcus aureus* культуралар ФарГАЛС га нисбатан сезгир, *Proteus mirabilis* эса ўртача сезгир бўлди.

ФарГАЛС концентрацияси камайиши ингибирланиш зоналарини қисқаришига олиб келди.

ФарГАЛС препаратини ичак нормал микрофлорасининг вакилларига таъсирини аниқлаш мақсадида тест-культура сифатида янги ажратиб олинган бифидобактериялар *Bifidobacterium sp.5*, *Bifidobacterium sp.6* ва коллекциялар лабораторияси музеидан олинган *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus plantarum* синалиб, препарат ҳеч қайси концентрацияда бу культураларга таъсир қилмагани аниқланди.

Тадқиқотларимизда Ampicillin ( $A^{10}$ ), Nystatin ( $Ns^{100U}$ ), Cefazolin ( $Cz^{30}$ ), Gentamicin ( $G^{10}$ ), Streptomycin ( $S^{25}$ ), Lincomycin ( $L^{15}$ ) каби антибиотикларни ФарГАЛС билан таққослаб ўрганилганда, ФарГАЛС препарати синалган антибиотиклардан фарқли улароқ барча тест-культураларга таъсир этди.

Биотехнологик препарат ФарГАЛС темироксидловчи бактерияларни культурал суюқлигидан филтрлаб олинган препарат бўлганлиги туфайли, бизнинг дастлабки тадқиқотларимизда ажратиб олинган фаол

темироксидловчи бактериялар ассоциацияси культурал суюқлигининг тест-культураларга таъсирини ўрганиш қизиқиш ўйғотди.

Темир оксидловчи бактериялар ассоциацияси культурал суюқлиги таъсирида *Staphylococcus aureus* ҳамда *Proteus mirabilis* ўсмаслик зоналари ФарГАЛС препарати вариантыга нисбатан 2-3 марта каттароқ бўлди. *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae* ва *Escherichia coli* га нисбатан эса ҳар иккала вариантда ҳам бир ҳил таъсир кузатилди. *Candida albicans* га темир оксидловчи бактериялар ассоциацияси культурал суюқлиги ФарГАЛС га нисбатан кучсизроқ таъсир кўрсатди. Шунинг учун, тахминимиз бўйича, дастлабки тадқиқотларда ажратиб олинган темир оксидловчи бактериялардан янги биотехнологик препарат олишда фойдаланиш мумкин.

## Хулосалар:

1. Ўткир юқумли ичак касаликлари билан касалланган беморлардан *Salmonella* авлодига мансуб бактериялар ажратиб олинди, *Salmonella typhimurium* туригача аниқланди.

2. ЎзР ФА Микробиология институтини коллекциялар лабораториясидан олинган *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ҳамда янги ажратиб олинган *Salmonella typhimurium* ФарГАЛС препаратига нисбатан синалди. Барча синалган культураларни ушбу препаратга нисбатан сезgirлиги кузатилди.

3. ФарГАЛС препарати 2 баробар суюлтирилганда барча тест культураларга таъсир этиши аниқланди. Препарат таъсири динамикаси ўрганилганда 30 дақиқадан сўнг хужайралар сони кескин камаяши, 24 соатдан сўнг эса микроскоп майдонида деярли учрамаслиги кузатилди.

4. Одам ичак микрофлораси нормал вакилларида бифидобактериялар *Bifidobacterium sp.5*, *Bifidobacterium sp.6* штамлари ажратиб олинди, хусусиятлари ўрганилди ва ФарГАЛС препаратига нисбатан синалганда штамларни препаратга нисбатан чидамлилиги кузатилди.

5. Темир оксидловчи бактерияларни юқори фаол ассоциацияси культурал суюқлиги тадқиқотдаги культураларга нисбатан синалганда унинг таъсири биотехнологик препарат ФарГАЛС билан деярли бир хиллиги аниқланганлиги туфайли дастлабки тадқиқотларда ажратиб олинган темир оксидловчи бактериялардан янги биотехнологик препарат олишда фойдаланиш мумкинлиги тахмин қилинди.

## **Адабиётлар рўйхати:**

### **Дарслик ва ўқув қўлланмалар:**

1. Афиногенов Г.Е., Елинов Н.П. Антисептики в хирургии. Л.: Медицина, 1987. – 144 с.
2. Баженов Л.Г., Артемова Е.В., Ризаева Е.В. Микробиологическая диагностика хеликобактериоза: Методические рекомендации. – Ташкент, 2005. – 18 с.
3. Бехало В.М., Бондаренко В.М., Сысолятина Е.В. Характер взаимодействия бактерий-комменсалов с факторами иммунитета при некоторых синдромах хронического воспаления кишечника. Фарматека, 2009, №13. -С.20-25.
4. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. 736 с.: ил.
5. Воробьёв А. А. Медицинская и санитарная микробиология: Учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 464 с. цв. ил.
6. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии – Москва. 1995. Из-во МГУ. 1995. 307с.
7. Инфекционные болезни: национальное руководство/ Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. Глава 8. Фармакотерапия. Иммунные препараты - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. -1056 с.
8. Коротяев А. И., Бабичев С. А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учебник для мед. вузов / СПб.: СпецЛит, 2008.- 4-е изд., испр. и доп. — 767 с.: ил.
9. Лурье А.А. Хроматографические материалы М.: Химия, 1978. 130 с.
10. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 2: учеб. по дисциплине «Микробиология, вирусология и

иммунология» для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечеб. Дело», 060103.65 «Педиатрия», 060104.65 «Медико-профилактич. Дело»/ под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 480 с.: ил.

11. Микробиоценоз кишечника. Современные представления о норме и патологии. Принципы коррекции нарушений. Методические рекомендации для врачей, под ред. С.А. Курилович; сост. И.О. Светлова, Г.С. Солдатов, М.И. Лосева, Т.И. Поспелова, Новосибирск, 1998, 26 стр.

12. Мухамедов И., Эшбоев Э., Зокиров Н. ва бошқ. Микробтология, Иммунология, Вирусология: Тиббиёт институтларининг табалари учун дарслик – Т.: “Ўзбекистон миллий энциклопедияси”, 2002. – 520 бет.

13. Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия. Справочник. — М., 1982.

14. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений // Под ред. А. И. Нетрусова. — М.: Издательский центр «Академия», 2005. — 608 с.

15. Тец В.В. Микроорганизмы и антибиотики. Инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов. — СПб.: КЛЕ\_Т, 2006. — 128 с.

16. Черкес Ф.К., Богоявленская Л.Б., Бельская Н.А. Микробиология/ Под ред. Ф.К. Черкес. – М.: Медицина, 1987. – 512 с., ил.

#### **Илмий журналлардаги мақолалар:**

17. Blowes D.W., Ptacek C.J., Jambor J.L., Weisener C.G. The geochemistry of acid mine drainage // In B.S. Lollar (ed.), Environmental geochemistry, Treatise on geochemistry. - Amsterdam, The Netherlands, Elsevier, 2003. -vol. 9.-p. 149-204.

18. Brasseur G., Levican G., Bonnefoy V., Holmes D., Jedlicki E., Lemesle-Meunier D. Apparent redundancy of electron transfer pathways via bc(l) complexes and terminal oxidases in the extremophilic chemolithoautotrophic

*Acidithiobacillus ferrooxidans* // Biochim. Biophys. Acta.-2004.-№1656.-p. 114-126.

19. Chong N., Karamanev D.G., Margaritis A. Effect of particle-particle shearing on the bioleaching of sulfide minerals.// Biotechnol. Bioeng. - 2002. - X°80(3). - p. 349-357.

20. Cleaver A.A., Burton N.P., Norris P.R. A Novel Acidimicrobium Species in Continuous Cultures of Moderately Thermophilic, Mineral-Sulfide- Oxidizing Acidophiles // Appl. Environ. Microbiol. - 2007. - №73 (13). - p. 4294-4299.

21. Coram N.J., Rawlings D.E. Molecular relationship between two groups of the genus groups of the genus *Leptospirillum* and the findings that *Leptospirillum ferriphilum* sp. nov. dominates South African commercial biooxidation tanks that operate at 40°C // Appl. and Environ. Microbiol. - 2002. - V. 68, № 2. - p. 838-845.

22. Kelly D.P., Wood A.P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov., and *Thermithiobacillus* gen. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. -2000. -№50.- p. 511-516.

23. Адарченко А.А., Красильников А.П., Николаев Н.Е. и др. Сравнительная активность антибиотиков и антисептиков на выборке *Enterobacteriaceae spp.*// Здравоохранение Белоруссии. - 1992. -№ 6. - с.35-40.

24. Баженов Л.Г., Мустанов А.Н., Екубжонов Ф.Т. и др. Антимикробная активность нового биотехнологического препарата «Фаргалс» и перспективы его клинического применения. Bulletin of the Intern.Scientific Surgical Association. -2008. - № 1. – с.23-25.

25. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 1998. - №1.-с.66-70.

26. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию резистентности к антимикробным препаратам. World Health Organization. - Женева, 2001.-20 с.



27. Комплексное лечение больных микозом стоп у старших возрастных групп / О. С. Имамов // Проблемы медицинской микологии. - 2011. - Т. 13, N 3. - с. 40-44.

28. Куваева И.Б. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора. М., Медицина, 1976 г., 247 с.; Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Дисбактериозы и эубиотики», ЖМЭИ, -1996. - №5. - с. 124-125.

29. Маматкулов И.Х., Баженов Л.Г., Алматов Б.И. Спектр антимикробной активности препарата «ФАРГАЛС» и возможность его использования для контроля нозокомиальных инфекций/ ВРАЧ-АСПИРАНТ Научно-практический журнал – 2012. - №4.1 (53).- с. 209-214.

30. Питер В.А., Рашидов И.Ш., Оливиер И.В., Эргашев У.А. Установка BIOX Кокпатаса // Горный вестник Узбекистана. - 2008. -№3(34).-с. 12-15.

31. Фирсов А. А. Соотношение концентрация—антимикробный эффект при моделировании in vitro фармакокинетических профилей нормальной и нарушенной элиминации антибиотиков // Антибиотики и химиотерапия.— 1989.— № 8.— с. 616—620.

32. Фирсов А. А., Гагаева Е. В. Фармакокинетические аспекты нефротоксичности аминогликозидов // Антибиотики.— 1989 — № 2 — с. 148-153;

33. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии -1998. - №1.- с. 61-65.

#### **Интернет сайтлари:**

34. <http://lechebnik.info/513/16.htm>

35. <http://medicinum.ru/blog-post/21-gastr/354-disbakterioz>

36. [www.fargals.com](http://www.fargals.com)

37. [www.normoflorin.ru](http://www.normoflorin.ru)

38. [www.pubmed.com](http://www.pubmed.com)

39. [www.rmj.ru](http://www.rmj.ru) (независимое издание для практикующих врачей)

40. [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

41. ОТЧЕТ: Определение противоопухолевой активности препарата ФарГАЛС и анализ морфологической характеристики в модельной канцеросистеме с использованием экспериментальных опухолей саркомы 180, аденокарциномы толстого кишечника (АКАТОЛ) и аденокарциномы тонкого кишечника (АКАТОН)/ Заведующая лабораторией биологии опухолей Республиканского Онкологического Научного Центра МЗ РУз, д.б.н. Гильдиева М.С./ [www.fargals.com](http://www.fargals.com)