

ПРЕ- ВА ПОСТМЕНОПАУЗА ДАВРЛАРИДА АЁЛЛАР ЙЎҒОН ИЧАК МИКРОБИОТАСИ ЎЗГАРИШЛАРИНИ ЎРГАНИШ УСУЛЛАРИ



Ўразметова Нодира Шарафатдиновна, Каримова Мақсуда Ахмеджоновна
Урганч давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Урганч ш.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У ЖЕНЩИН В ПЕРИОДЫ ПРЕ-, ПОСТ- И МЕНОПАУЗЫ

Уразметова Нодира Шарафатдиновна, Каримова Мақсуда Ахмеджоновна
Ургенчский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ургенч

METHODS FOR STUDYING CHANGES IN THE COLON MICROBIOTA IN WOMEN DURING PRE-, POST-, AND MENOPAUSE

Urazmetova Nodira Sharafatdinovna, Karimova Maksuda Akhmedjonovna
Urgench State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Urgench

e-mail: ms.karimova86@mail.ru

Резюме. Турли тиббий-биологик тадқиқотлар бажариши, ишонarli натижалар олиши, асосли хулосалар қилиши ва амалий соғлиқни сақлашга муваффақиятли жорий этиши учун етарли даражадаги клиник материал йиғилиши, замонавий усуллар қўлланиши, олинган ва статистик ишланган рақамли маълумотлар талқин ва таҳлил қилиниши лозим. Бу илмий-тадқиқот ишининг тўғри режасида ишланган ҳамда бажарилган тақдирдагина амалга ошади. Шунингдек, тадқиқотнинг дастури (дизайни) аниқ ва реал тузилган бўлиши лозим. Шу сабабли ушбу мақолада пре- ва постменопауза давларида аёллар йўғон ичак микробиотаси ўзгаришларини ўрганиш усуллари ва тадқиқотнинг дастури келтирилди.

Калит сўзлар. пременопауза, менопауза, постменопауза, йўғон ичак микробиотаси, бактериоскопик усул, бактериологик усул, Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp.

Abstract. For conducting various medical and biological studies, obtaining reliable results, formulating well-founded conclusions, and successfully implementing them in practical healthcare, it is necessary to accumulate a sufficient volume of clinical material, apply modern methods, and interpret and analyze the obtained and statistically processed numerical data. This can only be achieved through proper planning and execution of the given research project. In addition, the research program (design) must be clearly and realistically developed. In this regard, this article presents methods for studying changes in the gut microbiota of the large intestine in women during the premenopausal and postmenopausal periods, as well as the research program.

Keywords: premenopause, menopause, postmenopause, gut microbiota of the large intestine, bacterioscopic method, bacteriological method, Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp.

Кирриш. Сўнгги йилларда инсон танасининг 4 та биотопида (ошқозон-ичак тракти, юқори нафас йўллари, сийдик-таносил йўллари, тери) жойлашган меъерий микробиотада юзага келадиган ўзгаришларни аниқлаш долзарб муаммолардан бири бўлиб қолмоқда. Турли ташки ва ички омиллар таъсирида йўғон ичак меъерий микробиотасининг бузилиши ундаги индиген ва факултатив микрофлора вакиллари сифатий ва микдорий жиҳатдан мувозанати бузилиши билан тавсифланади ҳамда ичак дисбиози, деб номланади [4, 7, 8]. Ичак дисбиозига олиб келувчи омилларга кўплаб

физик, кимёвий ва биологик омилларни мисол қилиш мумкин. Ошқозон-ичак трактида одам организми метаболизмида иштирок этадиган, ичакларни инфекциядан ҳимоя қилувчи ва иммунитет тизимининг вазифаларини модуляция қилувчи микроорганизмларнинг катта диапазони яшайди [2, 5, 6].

Микробиотани шаклланишида асосий рол ўйнайдиган омиллардан бири, гарчи замонавий тадқиқотларда етарлича ўрганилмаган бўлсада, ҳаёт давомида аёл жинсий гормонларининг ўзгариши ҳисобланади. Ичак микробиотаси географик, мавсумий, ёш омилларига, шунингдек

овкат ҳазм қилиш трактининг ҳолатига ва овқатланишга қараб ўзгариши мумкин. Микрофлора таркибидаги мавсумий тебранишларнинг сабаблари атроф-муҳит ҳарорати бўлиб, макроорганизм ва унинг флораси ўртасидаги мувозанат ҳолатига таъсир қилиши мумкин [1, 3]. Инсон танасида энергиянинг 10% игача бўлган қисми ичак микрофлорасининг бевосита иштирокида ҳосил бўлади [5]. Тухумдонларнинг инволюцияси даври учун мавжуд касалликларнинг ёмонлашиши, метаболик ва эндокрин касалликларнинг ривожланиши билан белгиланадиган янги патологиянинг намоён бўлиши билан тавсифланади. Аёлларнинг ўртача умр кўриш давомийлигини ҳисобга олган ҳолда, менопауза даврида аёллар саломатлиги муаммосининг долзарблиги шубҳасиздир [7].

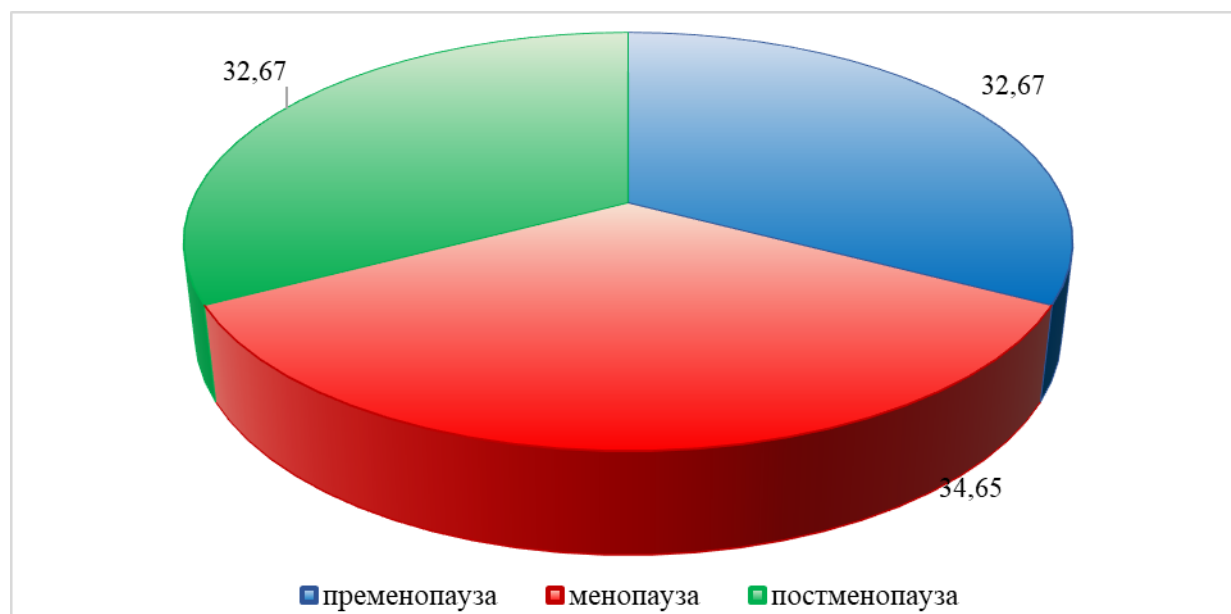
Менопауза ва постменопауза даврида айланма эстрогеннинг камайиши туфайли соғлиқ учун турли хил салбий таъсирлар пайдо бўлиши мумкин. Пременопауза ва постменопаузада аёллар ичак микрофлораси турли хил бўлиши кузатилади [6]. Менопаузадаги аёлларда ичак микробиотаси ўсимликдан олинган фитоэстрогенлар бўлган изофлавоноларни қабул қилгандан кейин ўзгарган. Бошқа бир тадқиқот шуни кўрсатдики, сийдикдаги эстроген метаболитлари даражаси ичак микрофлораси хилма-хиллиги билан ижобий боғлиқдир [5, 8].

Материал ва усуллар. Тадқиқотни амалга ошириш бўйича тадқиқотга жалб этилган аёллардан биологик ашё (нажас) олиниб, бактериологик тадқиқотлар ўтказилди. Унган барча микроорганизмлар авлоди, туригача

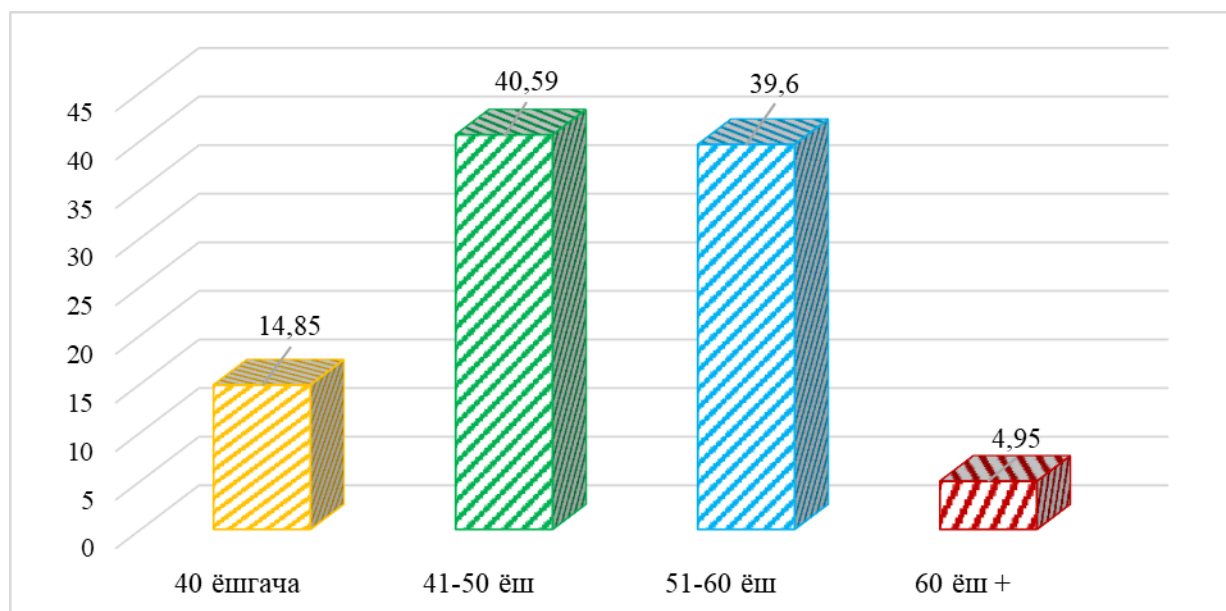
идентификация ҳамда дифференциация қилинди. Йиғилган клиник-микробиологик материал ҳажми етарли бўлгач, тадқиқотлар тўхтатилди. Барча тадқиқотлар Бухоро давлат тиббиёт институти микробиология, вирусология ва иммунология кафедрасининг ўқув-илмий бактериологик лабораториясида 2024-2025 йилларда амалга оширилди. Пременопауза, менопауза ва постменопауза даврига мансуб амалий жиҳатдан соғлом аёллар Бухоро вилояти Пешкў тумани Қучоқ, Чибоғони, Боғижусо, Садир маҳалла фуқаролар йиғинларига қарашли қишлоқларда доимий истиқомат қилишган.

Ўрганилган аёллар йўғон ичак меъёрий микрофлорасини аниқлаш ва баҳолаш учун бактериологик тадқиқот ўтказиш, индиген ва факультатив микроорганизмлар идентификацияси ва дифференциациясини муваффақиятли ўтказиш, асосли хулосалар қилиш учун услубий база яратилиши, барча методикалар стандартлаштирилган ва унификация қилинган бўлиши лозим.

Натижалар ва муҳокама. Ўтказилган микробиологик тадқиқотларга жами 101 нафар аёллар жалб этилиб, уларнинг 33 нафари ($32,67 \pm 4,67\%$) пременопауза даврига, 35 нафари менопауза даврига ($34,65 \pm 4,74\%$) ва 33 нафари ($32,67 \pm 4,67\%$) постменопауза даврига тўғри келди (2.2-расм). Ушбу 2.2-расмда келтирилган рақамлардан кўриниб турибдики, ўрганилган аёллар сони бўйича қиёсланаётган гуруҳлар бири-бирига репрезентатив бўлган. Бу эса ишонарли натижалар олиш ва асосли хулосалар олиш учун имконият яратган.



Расм 1. Тадқиқотга жалб қилинган аёлларнинг менопауза даврларига мос тақсимланиш кўрсаткичлари, %



Расм 2. Тадқиқотга жалб қилинган аёлларнинг ёш категориялари бўйича тақсимланиш параметрлари, %

Жадвал 1. Тадқиқотга жалб этилган менопауза давридаги аёлларнинг акушер-гинеколог кўриги натижалари

Гинекологик клиник белгилар	Натижалар, n=101	
	Мутлоқ	%
Ўзгаришсиз	22	21,78±4,11
Қин шиллиқ қавати юпқалашиши ва оқариши	79	78,22±4,11
Ажралмалар миқдори ўзгариши	79	78,22±4,11
Қин намланишининг камайиши	61	60,40±4,87
Қин шиллиқ қаватида кичик ёриқлар аниқланади	39	38,61±4,84
Қин ялтирок ва қурук	33	32,67±4,67
Нуктали қонашлар мавжуд	33	32,67±4,67
Қин ички девори бурмалари текисланган	16	15,84±3,63
Яллиғланиш ва қизариш аломатлари кузатилади	16	15,84±3,63
Бачадон бўйни кичрайган	6	5,94±2,35
Жигарранг ажралмалар бор	5	4,95±2,16
Тос туби мушаклари тонуси пасайган	5	4,95±2,16

Ушбу ўрганилган аёллар, шунингдек ёш бўйича ҳам тақсимланди, чунки менопауза давларини аниқлашда аёллар ёши муҳим ўрин тутди. Аниқланишича (2.3-расм), уларнинг 15 нафари (14,85±3,54%) 40 ёшгача бўлишган, 41 нафари (40,59±4,89%) 41-50 ёшда, 40 нафари (39,40±4,87%) 51-60 ёшда ва 5 нафари (4,95±2,16%) 60 ёш ва ундан юқори бўлишган.

Кўриниб турибдики, барча ёш категориялари пременопауза, менопауза ва постменопауза давларига мос келади. Уларнинг ўртача ёши 49,36±0,72 ёшга тенг бўлди. Ушбу аёллар ижтимоий ҳолати ёки эгаллаб турган касблари бўйича ҳам тақсимланди. Ўрганилганларнинг 35 нафари (34,65±4,74%) пенсионер, 24 нафари (23,76±4,24%) уй бекаси, 9 нафардан (8,91±2,83%дан) ўқитувчи ва тиббиёт хамшираси, 6 нафари (5,94±2,35%) тикувчи, 5

нафардан (4,95±2,16%дан) тадбиркор, фаррош ва ҳисобчи, 2 нафари (1,98±1,39%) фермер ҳўжалигида ишчи бўлишди. Уларнинг касби бўйича организмга салбий таъсир этувчи омилар бўлмади.

Уларнинг барчаси турмушга чиқишган бўлиб, мунтазам равишда жинсий ҳаёт кечиришган. Ҳаёти давомида ҳомиладорлик ва туғишлар сони 2-7 та бўлиб, туғруқлар сони ўртача 3,48±0,13 тани ташкил этган.

Ушбу аёллар биологик ашё олиш мақсадида маҳалла фуқаролар йиғинлари ҳудудидаги қишлоқ оилавий поликлиникасига таклиф этилди ва акушер-гинеколог кўригидан ўтказилди. Ташқи жинсий аъзоларда амалий жиҳатдан тафовут кузатилмади (100%), кўзгу орқали текширилганда асосан менопаузага хос гинекологик белгилар аниқланди (1-жадвал).

Жадвал 2. Ўрганилган аёллар томонидан кўрсатилган умумий ва гинекологик шикоятлар учраш даражаси

Шикоятлар	Натижалар, n=101	
	Мутлоқ	%
Уйқу бузилиши	94	93,07±2,53
Сийдик тута олмаслик	82	81,19±3,89
Тез-тез сийиш	77	76,24±4,24
Хосизлик	61	60,40±4,87
Асабийлик	56	55,45±4,95
Хотира сусайиши	48	47,52±4,97
Соч тўкилиши	47	46,53±4,96
Кайфият ўзгариши	47	46,53±4,96
Кучли терлаш	60	59,41±4,89
Тананинг юқори қисмида тўсатдан иссиқлик қуйилиш ҳисси	43	42,57±4,92
Депрессия (тушкунлик)	44	43,56±4,93
Тери қуруқлашиши	40	39,60±4,87
Юрак уришининг тезлашиши	39	38,61±4,87
Ортиқча вазн	38	37,92±4,82
Гинекологик шикоятлар		
Жинсий истакнинг пасайиши	48	47,52±4,97
Қин ва сийдик йўлларида атрофик ўзгаришлар	30	29,70±4,55
Ҳайз кўриш бузилиши	43	42,57±4,92
Ҳайз кўриш тўхтаган	47	46,53±4,96
Жинсий алоқада оғриқ ва ноқулайлик	12	11,88±3,22
Қинда қичишиш	7	6,93±2,53

Аниқланишича, текширилганларнинг 79 нафарида (78,22±4,11%) менопауза билан боғлиқ гинекологик ўзгаришлар аниқланди, қолган аёллар (21,78±4,11%, n=22) қинида айтарли гинекологик ўзгаришлар кузатилмади. Ушбу 2.1-жадвалда келтирилган гинекологик ўзгаришлар менопаузага боғлиқ ўзгаришлар бўлиб, патология олди ҳолати сифатида баҳоланди. Яллиғланиш аломатлари (15,84±3,63%, n=16) яққол намоён бўлмагани боис ушбу аёллар тадқиқот гуруҳларидан чиқариб юборилмади.

Тиббий кўрик давомида ушбу аёллар томонидан бир нечта шикоятлар кузатилди. Ушбу шикоятларни таҳлил қилиш учун улар 2 та гуруҳга бўлиб келтирилди: умумий ва гинекологик шикоятлар (2-жадвал).

Келтирилган 2-жадвалдан кўриниб турибдики, ўрганилган аёлларнинг кўпчилиги ушбу шикоятларни кўрсатишган. Айниқса, гинекологик шикоятлар аёлларда пременопауза, менопауза даврлари аниқлангани, маълум бир қисмида постменопауза борлигининг белгилари ҳисобланади.

Шикоятлар орасида жинсий истакнинг пасайиши (47,52±4,97%, n=48), ҳайз кўриш тўхтагани (46,53±4,96%, n=47) ва ҳайз кўришнинг бузилиши (42,57±4,92%, n=43) шулар жумласидандир. Тез-тез кайфият ўзгариши, (59,41±4,89%, n=60), тананинг юқори қисмида тўсатдан иссиқлик қуйилиши ҳисси (42,57±4,92%, n=43), тез-тез депрессия аломатлари кузатилиши

(43,56±4,93%, n=44) каби умумий шикоятлар ҳам бу ҳолатни тасдиқлади.

Шуни таъкидлаш лозимки, пременопауза давридаги аёлларнинг (n=33) 15 нафари (45,45±3,54%) 40 ёшгача бўлган, 18 нафари эса (54,55±3,81%) 41-50 ёшли аёллар бўлишди, мос равишда менопауза давридаги аёллар 41-50 ёшли (22,77±4,17%, n=23) ва 51-60 ёшли (11,88±3,22%, n=12) аёллар бўлишди.

Постменопауза давридаги аёлларнинг 28 нафари (27,72±4,45%) 51-60 ёшли ва 5 нафари (4,95±2,16%) 61 ёш ва ундан катта ёшдаги аёллар бўлишди.

Ўрганилган аёллар томонидан кўрсатилган умумий гинекологик шикоятлар учраш ларажаси, шунингдек, қиннинг гинекологик текширувида аниқланган ўзгаришлар нитенсивлиги табиийки, менопауза даврига боғлиқ бўлди. Менопауза даврининг ўзгариши ҳамда аёллар шикоятлари, гинекологик ўзгаришлар интенсивлиги орасида кучли боғлиқлик бўлиб, у тўғри пропорционал бўлди.

Ўрганилган аёллар йўғон ичак меъёрий микрофлорасини аниқлаш ва баҳолаш учун бактериологик тадқиқот ўтказиш, индиген ва факултатив микроорганизмлар идентификацияси ва дифференциациясини муваффақиятли ўтказиш, асосли хулосалар қилиш учун услубий база яратилиши, барча методикалар стандартлаштирилган ва унификация қилинган бўлиши лозим.

Шу сабабли йўғон ичак меъёрий микрофлорасини аниқлаш ва баҳолаш учун бактериологик тадқиқот ўтказиш методикасини стандартлаштирилган ва унификация қилинган ҳолда келтириб ўтиш лозим топилди.

Одам биотоплари микробиотасини аниқлаш учун ўтказиладиган микробиологик тадқиқотлар бактериоскопик ва бактериологик тадқиқотдан иборат бўлганлиги сабабли улар айнан шу кетма кетликда келтирилди.

Бактериоскопик усул. Бактериологик текширишларни амалга ошириш учун бактериологик суртма тайёрланиб, хона ҳавосида қурилади, фиксация қилинади ва шундан сўнг микробиология учун махсус бўёқларда бўялади, ёруғлик микроскопида иммерсион тизимда микроскопланади.

Текшириладиган биологик материал яхши ёғсизлантирилган буюм ойначаси юзасига юпка қатлам қилиб ёйилади. Буюм ойначасида тайёрланган суртма хона ҳавосида қурилади ва яхши қуригандан сўнг фиксация қилинади (мустаҳкамланади). Фиксация қилинган суртма буюм ойначасига яхши ёпишади ва суртма бўялганда микроб хужайралари ювилиб кетмайди. Бундан ташқари, ўлган хужайралар тирик хужайраларга нисбатан бўёқни яхши қабул қилади. Фиксациянинг икки тури мавжуд бўлиб, физик усулда микроб хужайрасига юқори ҳарорат, кимёвий усулда кимёвий моддалар таъсир эттирилади.

Фиксациянинг физик усули. Бактериологик суртмали буюм ойначаси пинцет билан ёки ўнг қўлнинг бош ва кўрсаткич бармоқлари ёрдамида (суртма юқорида бўлган ҳолатда) ушланади ва спирт лампаси алангаси устидан 2-3 марта ўтказилади. Фиксация жараёни 2 секунддан ошмаслиги керак. Бажарилган фиксациянинг ишончлилигини қуйидаги усулда текшириш мумкин: буюм ойначасининг суртма бўлмаган қисмига чап қафтнинг орқа томони теккизилади. Суртма тўғри фиксация қилинган бўлса, ойна иссиқ бўлади, лекин терида қуйиш сезгисини юзага келтирмайди.

Фиксациянинг кимёвий усули. Суртмани фиксация қилиш учун 96⁰ ли этил спирти, ацетон, Никифиров аралашмаси (спирт ва эфирнинг 1:1 нисбатдаги аралашмаси), Карнуа суюқлиги (60 мл 96⁰ ли этил спирти, 30 мл хлороформ, 10 мл сирка кислотаси) каби кимёвий моддалар ва бирикмалар, улар аралашмалари ишлатилади. Қурилган суртмали буюм ойначаси фиксация қилувчи модда бўлган идишга 10-15 дақиқага солиб қўйилади ва сўнг хона ҳавосида қурилади. Қуриган суртма Грам ёки бошқа мураккаб бўяш усулларида бири билан бўялади.

Мураккаб бўяш усулларида суртма 2 ва ундан ортиқ бўёқ билан бўялади. Бўёқларнинг

биттаси асосий, иккинчиси қўшимча бўёқ ҳисобланади. Бўёқлардан ташқари мураккаб бўяш усулларида турли хил рангсизлантирувчи моддалар: спирт, кислота ва ҳоказолар ишлатилади.

Грамм бўйича бўяш усули мураккаб бўяш усулига киради ва бактериялар хужайра деворининг биокимёвий хусусиятларига қараб уларни бир биридан дифференциация қилишга асосланган. Ушбу усулда бўяшда бактериал хужайра пораларининг ҳам аҳамияти катта. Бу усулни биринчи марта 1884 йилда даниялик шифокор Ганс Кристиан Грам таклиф этган.

Грамм бўйича бўяшнинг асосий хусусияти шундан иборатки, ҳар хил микроорганизмлар трифенилметан гуруҳидаги генциан, метил ёки кристалл бинафша каби бўёқларга турлича муносабатда бўлади. Стафилококк, стрептококк каби микроорганизмлар юқоридаги бўёқлар ва йод билан мустаҳкам бирикма ҳосил қилади. Бўялган микроорганизмлар спирт таъсирида рангсизланмайди, шунинг учун ҳам қўшимча бўёқ ҳисобланган фуксин билан бўялганда ҳам ўзининг дастлабки бинафша рангини ўзгартирмайди. Грамманфий микроорганизмлар (масалан, *Escherichia coli*) генциан кристалли ёки метил бинафша, йод билан спирт таъсирида осон парчаланадиган бирикма ҳосил қилади. Натижада улар рангсизланиб, фуксин билан бўялади ва қизил рангга эга бўлади. Микроорганизмларнинг Грамм бўйича бўялиши бактериологик ташҳис қўйишда катта аҳамиятга эга.

Грамм бўйича бўяш услуби: фиксация қилинган суртма устига фильтр қоғоз қўйиб, унга асосий бўёқ - карболли кристалл бинафша бўёғи томизилади ва 2 дақиқа бўялади; фильтр қоғоз олиниб, бўёқ қолдиғи тўкилади ва сув билан ювмасдан Люгол йоди эритмаси томизилади, йод суртма қорароқ кўриниш олгунча 1 дақиқа ушланади; Люгол эритмаси тўкиб ташланади, суртма рангсизланиши учун буюм ойначаси спиртли идишга бир неча марта солиб олинади ёки унинг устига томизилади, 20-25 секунд ушлаб турилади, суртмадан бинафша ранг ажралиши тўхтагач, рангсизлантириш жараёни тугаган ҳисобланади; бактериологик суртма сув билан яхшилаб ювилади; фуксиннинг спиртли-сувли эритмаси билан 2-3 дақиқа бўялади.

Граммусбат микроорганизмлар асосий бўёқ билан бинафша рангга, граммманфий микроорганизмлар эса қўшимча бўёқ билан бўялгани учун оч қизил рангга бўялади. Бу усулнинг камчилиги шундан иборатки, бўяш техникасига катъий риоя қилинмаса ва бактериологик суртма тайёрланиши сифатсиз бўлса, микроорганизмларни граммусбат ёки граммманфий эканлигини фарқлаш қийин бўлади.

Бактериологик усул. Маълумки, этиологияси аниқланган ҳолда ўз вақтида қўйилган ташҳис бу нафақат лаборатория тадқиқотлари таннархининг пасайиши, балки ўз вақтида, мақсадли равишда даволашнинг тайинланиши, касалхона ичи инфекцияларининг камайиши, беморларнинг стационарда бўлиш вақтининг қисқариши ҳамдир.

Юқоридаги фикрларни тасдиқлаган ҳолда айтиб ўтиш жоизки, унган патоген, шартли-патоген микроорганизмларнинг таксономик жойлашишини аниқлашда бактериологик усулнинг ўрни бекиёсдир. Бу усул ўз ичига олинган биологик ашёни тегишли озиқ муҳитларга экиш, уларни ундириш, соф культурасини ажратиб олиш, асосий таксономик белгиларини аниқлаган ҳолда авлоди ва туригача идентификация қилишни ўз ичига олади.

Анъанавий бактериологик тадқиқот 3 асосий босқичдан иборат:

текширилаётган биологик ашёни дифференциал-диагностик озиқ муҳитлар тутган Петри косачаларига экиш ва инкубация қилиш;

унган колонияларга таъриф бериш ва шубҳаланилган колониялардан соф культура ундириш мақсадида “қия қотирилган” озиқ муҳитларга қайта экиш ва инкубация қилиш;

морфологик, культурал, ферментатив (биокимёвий), антигенлик ва бошқа биологик хусусиятлари асосида унган штаммларни авлоди ва туригача идентификация, дифференциация қилиш, анитабактериал, антимикотик воситалар ҳамда махсус бактериофагларга сезгирлиги аниқлаш.

Бактериологик текширишларни ўтказиш вақти 72 соатдан 4-5 суткагача давом этишини доимо ёдда тутиш лозим. Аммо, бу муддатлар эпидемиологларни ҳам, клиницистларни ҳам қониқтирмаслигини ҳисобга олган ҳолда охириги 20 йилда тадқиқотчилар томонидан ташҳиснинг тезкор усулларни ишлаб чиқиш ва тавсия этиш борасида фаол тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу тадқиқотлар натижасида олинган ишланмалар бактериологик текширишлар вақтини тежайди, лаборатория идишлари ишлатилишини камайтиради, стериллашга кетган вақтни ва электр энергиясини тежайди.

Илмий-тадқиқот ишини бажариш жараёнида кўзгатувчиларнинг унган штаммларини авлоди ва туригача идентификация, дифференциация қилиш, анъанавий бактериологик текширишлар алгоритми тавсия қилинди:

беморлар контингентини танлаш → асептика қодаларига риоя қилган ҳолда биологик ашё олиш → уни бактериологик лабораторияга ташиш (транспортировка қилиш) → биологик ашёни тегишли озиқ муҳитларга экиш → термостатда инкубация (37°C, 24-48 соат) → шубҳаланилган колонияларга таъриф (морфологик, тинкториал,

культурал хусусиятларига қараб), соф культура ажратиб олиш учун “қия қотирилган” агарга экиш, термостатда инкубация → унган культуралар софлигини текшириш, микроорганизмлар штаммлари ферментатив, антигенлик, токсигенлик ва бошқа хусусиятларига таъриф, патогенлик омилларини аниқлаш, антибиотикларга сезгирлигини текшириш (микдорий ва/ёки сифатий) → унган штаммларни авлоди ва туригача идентификация қилиш, антибактериал препаратларга сезгирлик, патогенлик даражаларини аниқлаш.

Тадқиқот учун олинган биологик намуналар бактериологик лабораторияга келтирилгач, дархол (ex пемпоре) озиқ муҳитларга Гольд усули бўйича, секторларга бўлиб экилди.

Кўзгатувчи сифатида аниқланган *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp. идентификациясида Сасова В.А., Залесских Н.В. (2009), Исхакова Х.И. ва ҳаммуал. [2010] тавсиялари, *Enterococcus* spp. идентификациясида ҳам Исхакова Х.И. ва ҳаммуал. (2010) тавсияларидан фойдаланилди. Анаэроблар гуруҳига кирувчи *Bacteroides* spp. идентификациясида Баженов Л.Г. ва ҳаммуал. (2005), Мухамедов И.М. ва ҳаммуал. (2016) тавсиялари инобатга олинди.

Enterobacteriaceae оиласи вакиллари (*Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.) авлодигача идентификация қилишда уларнинг морфологик, тинкториал ва культурал (Эндо муҳити) хусусиятлари билан бир қаторда биокимёвий хусусиятларидан ҳам фойдаланилди. Ушбу микроорганизмларни ишончли идентификациясини таъминлайдиган 9 та тестдан фойдаланилди: лизиндекарбоксилаза борлиги, уреаза борлиги, сероводород ҳосил бўлиши, индол ҳосил бўлиши, глюкоза ферментацияси, лактоза ферментацияси, натрий цитратнинг утилизацияси, натрий малонатнинг утилизацияси, бактерия ҳаракатчанлиги.

Staphylococcus spp. идентификацияси морфологик (граммусбат, кўриш майдонида тўп-тўп жойлашиши), культурал (тухум сарикли-тузли агарда тилларанг пигмент борлиги, S-колония ҳосил қилиши, 10% NaCl ли муҳитда ўсиш, коагулазамусбат) ва биокимёвий (глюкоза, мальтоза, лактоза, маннит ферментацияси, уреаза борлиги) хусусиятлари асосида амалга оширилди.

Enterococcus spp. қуйидаги дифференциация қилувчи белгилар асосида идентификация қилинди: граммусбат, кўриш майдонида занжирсимон жойлашиш, ўт-эскулинли агарда бирлашиб кетган S-кўринишли қора рангли колониялар, лактоза, глюкоза ва маннитни кислотагача (газсиз) ферментлаш, 6,5% ли NaCl ли муҳитда ўсиш.

Bacteroides spp. аниқлашда қуйидаги дифференциация қилувчи белгиларга қараб идентификация қилинди: грамманфий таёқчалар, ҳара-

катсиз, қонли агарда хирарок, кичик S-қўринишли колониялар ҳосил қилди, гемолиз йўқ, сероводород ҳосил қилди, глюкоза, лактоза, сахарозани ферментлади, қатъий анаэроб шароитда ўсди. Анаэроб шароит эксикаторда “ёнар шам” усули ёрдамида амалга оширилди.

Унган штаммларни авлодигача идентификация қилишни таъминловчи баъзи усуллар келтириб ўтилди: Каталаза синамасини аниқлашда бир томчи 3%ли водород пероксиди буюм ойначасига томизилди ва унга текшириладиган культура қуюқ қилиб аралаштирилди. Буюм ойначаси устида ҳосил бўлган газ пуфакчалари каталаза фаоллиги борлигини билдирди.

Културанинг 45°C да ўсишини ўрганиш учун Петри косачасига қуйилган озик муҳитларда текшириладиган культуралар “штрихсимон” экилди. Натижа 45°C да 24-48 соат инкубация қилинган, баҳоланди.

Културанинг 10% NaCl ли муҳитдаги ўсиши 10% ли NaCl тутувчи зич озик муҳитда ўрганилди. Натижалар юқоридаги каби олиб борилди.

Анаэроб микроорганизмларни идентификация қилиш учун уларга CO₂ ли кислородсиз шароит шиша эксикаторда “ёнувчан шам” усули ва анаэроустат ёрдамида амалга оширилди. Эксикаторга жойлаштирилган экмалар 37°C да 24-48 соатга термостатда қолдирилди. Кейинги идентификация умум қабул қилинган бактериологик усуллар ёрдамида давом эттирилди.

Културанинг қайси авлодга мансублигини аниқлаш баробарида зарурат туғилганда туригача идентификация ўтказилган усуллар:

Плазмакоагуляция реакцияси куённинг қон плазмаси цитратидан тайёрланган эритмасида анъанавий усуллар асосида бажарилди.

Ипир-ипир ҳосил бўлиш реакциясида одам цитратли плазмасидан бир томчи буюм ойначасига томизилди ва унга текшириладиган культура аралаштирилди. Буюм ойначаси устида бир текисдаги хиралик бўлиб, плазмада ипир-ипир ҳосил бўлса, реакция “мусбат” ҳисобланди.

Маннит ферментацияси учун текшириладиган культуралар Петри косачасидаги озик муҳитлар секторларига “радиал йўлакчалар” қўринишида экилди. Инкубациядан (37°C да 24 соат) сўнг муҳитдаги йўлакчалар атрофида сарик рангнинг ҳосил бўлиши глицериннинг парчаланидан далолат берди.

Новобиоцинга сезгирлик Мюллер-Хинтон муҳитига диффузия усули, новобиоцилли “қоғоз дисклар” ёрдамида олиб борилди. Натижалар дисклар ўрнатилган Петри косачаси инкубация қилинган (37°C да 24 соат) таҳлил қилинди, агар озик муҳитда ўсиш кузатилмаган зона диаметри 15 мм дан кам бўлса, культура новобиоцинга резистент ҳисобланди.

Қўзғатувчининг протеолитик хусусиятини ўрганиш учун индол ҳосил бўлиши кузатилди. Бунда озик муҳитда ўсган културадан индол ажралса, индикатор қизил рангга бўялди (“мусбат”), индикатор ўзгаришсиз қолса натижа “манфий” бўлди.

Фенилаланиндезаминазани аниқлаш учун (*Proteus* spp.) культуралар массив дозада озик муҳитга экилди, инкубация қилинди (37°C да 24 соат). “мусбат” реакция тўқ яшилдан оч яшил ранггача бўлди.

Фогес-Проскауэр реакциясида (*Staphylococcus* spp.) Кларкнинг 3 мл бўлган 1 суткаги кислотали муҳитидаги текшириладиган културага шу миқдорда 20% ли КОН эритмаси қўшилди, аралаштирилди ва термостатда қия ҳолатда қолдирилди, “мусбат” реакцияда суюқликнинг юзаси қизил-пушти рангли бўлди, “манфий” реакцияда эса ранги ўзгармади.

Микологик усул. Микроскопия - микозларни лаборатор ташхислашда асосий усулларида бири. Ушбу тадқиқот озик муҳитда биринчи колониялар пайдо бўлгандан бошлаб, ўтказилиши лозим. Микроскопик текширишдан олдин ачитки ёки моғор замбуруғи эканлигини аниқлаш зарур. Бу колониянинг ташқи қўринишидан, ўсиш синамаси натижасидан аниқланади.

Моғор замбуруғи микроскопиясида мицелий тури (гиф тузилиши, ранги, септага бўлингани; конидия ва спора тузилиши, катталиги, шакли, ранги; хужайра деворининг тузилиши, септага бўлингани) аниқланади.

Бўялган препарат тайёрлаш учун материал турли усулда бўялади: PAS-усулда бўяш (эумицетлар учун). Бу усулда бўяш микроорганизмлар деворидаги нейтрал полисахаридларни аниқлашда қўлланилади. Нейтрал полисахаридларга кўпчилик эумицетлар деворида жойлашган глюкокан-маннан мажмуаси кириб, шу туфайли улар бўялади (бактериал хужайралар, актиномицетлар, накардиялар PAS - салбий).

PAS-реакция - замбуруғли инфекция тўқима шаклининг микроскопик ташхис усули. Амалий лабораторияларда микроскопик ташхис учун бу усулнинг турли модификацияси қўлланилади: хром кислотаси билан оксидлаш - Бауэр реакцияси; Гридли усулида бўяш.

Грам усулида бўяш (Грам-Вайгерт модификацияси) - суртмадаги қўшимча микроорганизмларни аниқлаш учун.

Циль-Нильсен усулида бўяш - суртмадаги кислотага чидамли микроорганизмларни аниқлаш учун.

Агар текширилувчи биологик материал суюқ бўлса, ундан тиниклантирувчи суюқликларда (спирт ва глицерин аралашмаси) бўялмаган суртма тайёрланади.

Калий гидроксидли (KOH) препарат тайёрлаш. Қаттиқ материал (тери, тирноқ тангачалари) 10-20% ли KOH эритмасининг бир томчисига жойлаштирилади, томчи четида ишқор кристаллари пайдо бўлгунча қиздирилади, сўнг томчи ёпқич ойна билан ёпилиб, микроскопда кўрилади.

Капсулалар замбуруғларни аниқлашда алциан кўк билан бўяш (Моури усули). Бу усул капсуласи бўлган кислотали гетерополисахаридларни аниқлашга ёрдам беради.

Текширувдан олдин кератинланган материалга ишқор билан ишлов берилади, препарат оқартирилади. Ишқор эритмаси таъсир этганда кераксиз органик тузилмалар парчаланиб, сақланиб қолган замбуруғ тузилмалари микроскоп остида аниқ кўринади. Тиниқлаштириш учун KOH ва NaOH ишлатилади (камроқ кристалланишга мойил бўлгани учун асосан KOH ишлатилади). Аввал кичик объективда (объектив х20), сўнг иммерсиясиз катта объективда (объектив х40) микроскопия қилинади. Микроскопияда замбуруғ типик элементлари аниқланади - мицелий иплари, ачитқи спора ва хужайралари, гифлар, спорангийлар, шохланувчи хужайралар.

Кейинги босқич - микологик текшириш - замбуруғларни аниқлаш ва идентификация қилиш.

Микологик тадқиқот (культурал текширув) олинган биологик материалдан кўзгатувчини идентификация қилишга асосланган.

Озиқ муҳитларда униш муддати турли замбуруғлар учун ҳар хил эканлигини (2-4 кундан 4 ҳафтагача) ёдда тутиш лозим, диморф замбуруғга шубҳаланилганда 8 ҳафтагача ундирилади. Микологик лабораторияда асосий озиқ муҳит Сабуро муҳити (Сабуро декстроз ағари - қаттиқ муҳит ва Сабуро муҳити - суюқ муҳит) ҳисобланади. Бегона микрофлора ёки бактериялар унишини тўхтатиш учун Сабуро муҳитига антибиотиклар қўшилади, масалан хлорамфеникол, гентамицин, кам ҳолатда стрептомицин, пенициллин. Сапрофит замбуруғлар унишини тўхтатиш учун эса озиқ муҳитга циклогексимид, хлорамфеникол қўшилади. Циклогексимидли тайёр муҳитлар ҳам мавжуд (Mycobiotic mycosel).

Кўпчилик патоген замбуруғлар учун оптимал ундириш ҳарорати 20-25°C ва 30°C, баъзан эса 37°C (диморф замбуруғларга гумон қилинганда).

Кўпчилик патоген замбуруғлар учун инкубация давомийлиги 4 ҳафтадан ортиқ эмас, агар бу вақтда униш кузатилмаса, “манфий натижа” сифатида жавоб берилади. Агар диморф замбуруғларга гумон қилинса, 4 ҳафта давомида униш кузатилмаса, экмалар 8 ҳафтагача қолдирилади, унда ҳам униш бўлмаса “манфий натижа” сифатида жавоб берилади.

Микологик тадқиқотларда қуйидагилар ташхисий аҳамиятга эга:

ҳар қандай моғор замбуруғини идентификация қилиш, агар у микроскопик текширувда аниқланган бўлса;

меъёردа стерил биологик материалдан ачитқи ёки моғор замбуруғлари идентификация қилинса;

диморф замбуруғлар ундириб олинганда;

Стуртососсус авлодига мансуб замбуруғлар ажратилганда;

тери, соч ва тирноқдан диморф замбуруғлар ундириб олинганда.

Микроорганизмлар штаммлари патогенлик омилларини аниқлаш усуллари

Аёллардан олинган нажас намуналаридан бактериологик усул ёрдамида ундирилган микроорганизмлар штаммлари патогенлик омилларини ўрганиш учун қуйидаги анъанавий усуллардан фойдаланилди:

плазмакоагуляция қобиляти 0,9% ли стерил физиологик эритма билан 1:5 нисбатда эритилган цитратли қуён плазмасида ажратилган кўзгатувчининг 1 кунлик культураси экиб, ўрганилди;

лецитиназа фаоллиги ўрганилаётган микроорганизм штаммини тухум сариқли-тузли агар юзасига экиш, натижа ўсган колония атрофида “тожсимон”, хиралашган рангсизланиш ҳосил бўлган ёки бўлмаганлигига қараб, ўқилди;

гиалуронидаза фаоллиги гиалурон кислота тутувчи субстратда текширилаётган микроорганизм штамми экилиб, ўстирилиб, кейин 15%ли сирка кислотаси қўшилгач, муцин “лахта”си ҳосил бўлганлиги ёки йўқлигига қараб, аниқланди;

гемолитик хусусият ўрганилаётган микроорганизм штамми 1 кунлик культурасини 5% ли қонли агарга экиб, ҳосил бўлган ёки бўлмаган “гемолиз зонаси” га қараб аниқланди.

Хулоса:

1. Пре-, менопауза ва постменопауза давридаги аёллар йўғон ичак меъёрий микрофлораси ҳолатини аниқлаш методикаси унификация қилинди, стандартлаштирилди, микробиотанинг индиген, факультатив вакиллариининг авлоди ва туригача идентификацияси, дифференциациясининг ўтказилиши оптималлаштирилди.

2. Ушбу аёллар йўғон ичак меъёрий микрофлорасидаги грамманфий бактериялар, граммусбат кокклар, патоген замбуруғлар идентификацияси яхшиланиши улар аниқланиш даражасининг сезиларли кўпайишига сабаб бўлди, бу эса йўғон ичак меъёрий микрофлораси ҳолатини адекват баҳолаш имконини берди.

3. Йўғон ичак меъёрий микрофлораси аниқлаш мақсадида ўтказиладиган бактериологик

усулнинг алгоритми ишлаб чиқилди, бу эса бактериологик тадқиқот самарасини оширди, врач-бактериолог томонидан бактериологик тадқиқот учун сарфланадиган вақтнинг қисқариши, озиқ муҳитлар сарфланишини оптималлаштириш учун замин яратди.

Адабиётлар:

1. Алёшкин А.В., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Воропаева Е.А., Афанасьев М.С., Несвижский Ю.В., Рубальский Е.О. Микробиоценоз кишечника. // Вопросы диетологии 2015. Том 5. №4. -С15–52.
2. Безменко А.А., Шмидт А.А., Садовая Н.Д. Дисбактериоз кишечника у женщин на ранних сроках беременности // Журнал акушерства и женских болезней. - 2019. - №5. – С11-18.
3. Бисенова Н.М., Ергалиева А.С. Анализ микробиоценоза кишечника взрослых пациентов // J Clin Med Kaz. - 2015. - №3 (37). – С47-50.
4. Броневец И. Н. Дисбактериоз кишечника: диагностика, профилактика и лечение // Медицинские новости. 2016. -№11. -С55-58.
5. Дорофеев А.Э., Рассохина О.А., Коваленко Е.Г. Нарушения метаболизма кишечной микрофлоры у больных с синдромом раздраженной кишки. // Новости медицины и фармации. 2013. 7. -С17-18.
6. Карахалис Л. Ю., Мезенцева В. Ю. Портрет пациенток во время перехода к менопаузе и в постменопаузе // Бюллетень медицинской науки. 2024. №2. –С102-109.
7. Моложавая О. С., Ивахнюк Т. В., Макаренко А. Н., Брозь Р. В. Функции кишечной микрофлоры организма в норме и при патологии

// Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2016. №4. –С333-338.

8. Мухамедов И.М., Хўжаева Ш.А., Ризаев Ж.А., Алматов Б.И., Нуралиев Н.А. Клиник микробиология. Шифокорлар учун қўлланма – Тошкент, Янги аср авлоди, 2016. – 632 б.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У ЖЕНЩИН В ПЕРИОДЫ ПРЕ-, ПОСТ- И МЕНОПАУЗЫ

Уразметова Н.Ш., Каримова М.А.

Резюме. Для проведения различных медико-биологических исследований, получения достоверных результатов, формулирования обоснованных выводов и успешного внедрения их в практическое здравоохранение необходимо накопление достаточного объёма клинического материала, применение современных методов, а также интерпретация и анализ полученных и статистически обработанных числовых данных. Это может быть осуществлено только при условии правильного планирования и выполнения данного научно-исследовательского проекта. Кроме того, программа (дизайн) исследования должна быть чётко и реалистично разработана. В связи с этим в данной статье представлены методы изучения изменений микробиоты толстого кишечника у женщин в пре- и постменопаузальных периодах, а также программа исследования.

Ключевые слова: пременопауза, менопауза, постменопауза, микробиота толстого кишечника, бактериоскопический метод, бактериологический метод, Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp.