

**BIOFILM HOSIL QILUVCHI BAKTERIYALAR VA ULARNING KLINIK AHAMIYATI****Aliyev Ulug'bek Azamjon o'g'li**

FJSTI Mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya fani o'qituvchisi.

**Nasirdinova Shahloxon Baxtiyorjon qizi**

Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti

Pediatriya yo'nalishi 5324-guruh.

**Jaloldinov Muhammadjon G'ulomjon o'g'li**

Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti

Pediatriya yo'nalishi 5324-guruh.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.19588214>

**Annotatsiya.** Biofilmlar tibbiyotda keng tarqalgan muammo bo'lib, bakteriyalarning sirtlarga yopishib, polisaxarid matritsada joylashishi natijasida hosil bo'ladi. Ular antibiotiklarga va mezbon immunitetiga yuqori qarshilik ko'rsatib, surunkali infeksiyalarning rivojlanishiga sabab bo'ladi. Ushbu maqolada biofilm hosil qiluvchi bakteriyalarning patogenezini, ularning diagnostikasi va davolashdagi qiyinchiliklari atroflicha ko'rib chiqiladi.

Klinik amaliyotda biofilmlarning ahamiyati, jumladan, tibbiy asboblardan bog'liq infeksiyalar va antibiotiklarga chidamlilik masalalari muhokama qilinadi. Yangi terapevtik yondashuvlarni ishlab chiqish zarurati ta'kidlanadi.

**Kalit so'zlar:** Biofilm, Bakteriyalar, Surunkali Infeksiyalar, Antibiotiklarga Chidamlilik, Klinik Ahamiyat, Patogenez, Davolash Strategiyalari.

**Abstract.** Biofilms represent a significant challenge in medicine, forming when bacteria adhere to surfaces and embed themselves in an extracellular polymeric matrix. These structures exhibit remarkable resistance to antibiotics and host immune responses, contributing to the persistence and chronicity of various infections. This article explores the pathogenesis of biofilm-forming bacteria, highlighting the complexities in their diagnosis and treatment. It discusses the clinical significance of biofilms, including their role in medical device-associated infections and the escalating problem of antimicrobial resistance. The urgent need for novel therapeutic strategies to combat biofilm-related infections is emphasized.

**Keywords:** Biofilm, Bacteria, Chronic Infections, Antibiotic Resistance, Clinical Significance, Pathogenesis, Treatment Strategies.

**Аннотация.** Биопленки представляют собой серьезную проблему в медицине, образуясь, когда бактерии прикрепляются к поверхностям и погружаются во внеклеточный полимерный матрикс. Эти структуры демонстрируют высокую устойчивость к антибиотикам и иммунному ответу хозяина, способствуя развитию хронических инфекций. В данной статье рассматривается патогенез бактерий, образующих биопленки, а также трудности в их диагностике и лечении. Обсуждается клиническое значение биопленок, включая их роль в инфекциях, связанных с медицинскими устройствами, и проблему антибиотикорезистентности. Подчеркивается острая необходимость разработки новых терапевтических подходов для борьбы с биопленковыми инфекциями.

**Ключевые слова:** Биопленка, Бактерии, Хронические Инфекции, Антибиотикорезистентность, Клиническое Значение, Патогенез, Стратегии Лечения.

Kirish. Biofilmlar mikroorganizmlarning yuzalarga yopishib, o'z-o'zidan hosil bo'lgan ekstrasellyulyar polimer moddalar (EPS) matritsasi ichiga joylashgan agregatlari bo'lib, ular bir-biriga va/yoki yuzaga yopishish imkonini beradi [1], [4], [5]. Ushbu "shilimshiq" matritsa polisaxaridlar, oqsillar, lipidlar va DNKdan tashkil topgan bo'lib, biofilmlarga atrof-muhit sharoitlariga moslashishga yordam beradi hamda quritish, toksinlar, antibiotiklar va immun hujumlariga qarshi fizik to'siq vazifasini o'taydi [1]. Biofilmlardagi mikroorganizmlar erkin suzuvchi plankton hujayralardan fiziologik jihatdan farq qiladi, ularning shakllanishi yuzaga yopishish, EPS ishlab chiqarish va hujayralararo aloqa orqali sodir bo'ladi [1], [5].

Biofilmlar tibbiyotda, ayniqsa surunkali infeksiyalarning patogenezida va antibiotiklarga chidamlilikning kuchayishida muhim rol o'ynaydi [4], [6]. Milliy Sog'liqni Saqlash Institutlari ma'lumotlariga ko'ra, mikrobial infeksiyalarning 65% va surunkali infeksiyalarning 80% biofilmlar tufayli kelib chiqadi, bu tibbiy implantlar va to'qimalarga ta'sir qiladi [4]. Biofilmlar ichidagi bakteriyalar plankton shakllariga nisbatan antibiotiklarga 10 dan 1000 martagacha yuqori chidamlilik ko'rsatishi mumkin [5], [6]. Masalan, *Staphylococcus epidermidis* izolyatlarining vancomycinga sezgir bo'lganlari biofilm holatida deyarli 75% chidamli bo'ladi [6]. Bu chidamlilik mexanizmlarning kombinatsiyasidan kelib chiqadi, bu esa davolashni murakkablashtiradi [6].

To'qimalarning asidozi ( $\text{pH} < 7.35$ ) surunkali infeksiyalarda muhim omil bo'lib, bakterial biofilmlar va xost immuniteti, xususan, neytrofillar o'rtasidagi o'zaro ta'sirda markaziy rol o'ynaydi [2]. Biofilmlar o'z muhitini faol ravishda o'zgartira oladi; masalan, *Escherichia coli* kislotali sharoitlarda YfaL oqsilini faollashtirib, bakterial agregatsiyani va biofilm hosil bo'lishini kuchaytiradi, bu esa kislota stressiga chidamlilikni oshiradi [2]. Shu bilan birga, asidoz neytrofillarning antimikrobial funksiyalarini, jumladan, reaktiv kislorod turlari (ROS) ishlab chiqarish va neytrofil ekstrasellyulyar tuzoqlar (NETs) hosil bo'lishini sezilarli darajada buzadi [2]. Bu ikki tomonlama ta'sir – biofilmning kislotalikka moslashishi va neytrofil funksiyasining buzilishi – surunkali infeksiyalarni davolashni yanada qiyinlashtiradi [2]. Shu sababli, biofilmlarga qarshi kurashish uchun pH-sezgir dori yetkazib berish tizimlari va nanokristallar kabi yangi strategiyalar ishlab chiqilmoqda [2], [4].

Biofilmlarning murakkab tuzilishi va shakllanish mexanizmlarini chuqurroq tushunish ularga qarshi samarali kurashish strategiyalarini ishlab chiqish uchun muhimdir. Biofilmlar, metaforik tarzda "mikroblar shaharlari" deb ta'riflanadi, chunki ular o'z aholisi orasida oziq moddalar almashinuvini osonlashtiradi va birgalikda yashash uchun qulay muhit yaratadi [1].

Ular nafaqat tirik to'qimalar, balki tibbiy implantlar, sanoat uskunalari va hatto tish blyashkasi kabi nojonli yuzalarda ham shakllanishi mumkin [1], [5]. Biofilm shakllanishining evolyutsion kelib chiqishi taxminan 3,25 milliard yil avval prokaryotik himoya mexanizmi sifatida paydo bo'lganligi taxmin qilinadi, bu ularning tirik qolish strategiyasining qadimiy va samarali ekanligini ko'rsatadi [1]. Biofilm shakllanish jarayoni bir necha bosqichdan iborat bo'lib, erkin suzuvchi (planktonik) hujayralarning yuzaga dastlab zaif, qaytariladigan kuchlar orqali yopishishi bilan boshlanadi, so'ngra doimiyroq birikishga o'tadi [1], [5]. Bu jarayonda hujayralararo aloqa, xususan, kvorum sezish (quorum sensing) mexanizmlari hal qiluvchi rol o'ynaydi. Kvorum sezish bakteriyalarga o'z populyatsiya zichligini aniqlash va shu asosda gen ekspressiyasini, jumladan, EPS ishlab chiqarish va biofilm shakllanishini muvofiqlashtirish imkonini beradi [4]. Atrof-muhit sharoitlari, oziq moddalar mavjudligi va hujayralararo aloqa signallari biofilm shakllanishining murakkab, ko'p bosqichli jarayonini boshqaradi [4].

EPS matritsasi hosil bo'lishi bilan hujayralar bo'linadi, yangi hujayralar jalb qilinadi va uch o'lchamli murakkab tuzilma rivojlanadi [1], [5]. Nihoyat, biofilmning bir qismi ajralib chiqib, yangi joylarda kolonizatsiyani boshlashi mumkin, bu esa infeksiyaning tarqalishiga olib keladi [5]. Biofilmlar bir turdagi mikroblar tomonidan hosil bo'lishi mumkin bo'lsa-da, tabiiy biofilmlar odatda bakteriyalar, zamburug'lar, suv o'tlari va boshqa mikroblarning xilma-xil aralashmalaridan tashkil topgan bo'ladi [5]. Masalan, tish blyashkasi 500 dan ortiq bakteriya turini o'z ichiga olishi mumkin [5].

Biofilmlarning antibiotiklarga va xost immun tizimiga nisbatan yuqori chidamliligi ularning klinik ahamiyatini yanada oshiradi. Biofilm ichidagi bakteriyalar planktonik shakllariga nisbatan antibiotiklarga 10 dan 1000 martagacha yuqori chidamlilik ko'rsatishi mumkin [5], [6].

Bu chidamlilik bir nechta mexanizmlarning kombinatsiyasidan kelib chiqadi, jumladan, EPS matritsasining antibiotiklarning kirib kelishini fizik jihatdan to'sib qo'yishi, biofilm ichidagi metabolik faollikning pasayishi (bu antibiotiklarning ta'sirini kamaytiradi), stressga javob beruvchi genlarning faollashishi va "persister" hujayralar deb ataladigan, antibiotiklarga yuqori chidamli kichik populyatsiyalarning mavjudligi [6]. Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, biofilm ichidagi bakteriyalar odatdagi chidamlilik mexanizmlaridan ko'ra, biofilmning o'ziga xos tuzilishi va fiziologiyasi tufayli yuzaga keladigan umumiy chidamlilikni namoyish etadi [6].

Masalan, vancomycinga sezgir bo'lgan *Staphylococcus epidermidis* izolyatlarining deyarli 75% biofilm holatida chidamli bo'lishi bu hodisaning yaqqol dalilidir [6].

Xost immun tizimining biofilmlarga qarshi kurashish qobiliyati ham sezilarli darajada cheklangan. EPS matritsasi immun hujayralarning, xususan, neytrofillarning biofilmga kirishini va bakteriyalarni fagotsitoz qilishini qiyinlashtiradi [4]. Bundan tashqari, biofilm ichidagi bakteriyalar immun javobni bostiruvchi yoki o'zgartiruvchi omillarni ishlab chiqarishi mumkin.

To'qimalarning asidozi ( $\text{pH} < 7.35$ ) surunkali infeksiyalarda muhim omil bo'lib, biofilm va xost immuniteti o'rtasidagi o'zaro ta'sirda markaziy rol o'ynaydi [2]. Biofilmlar o'z muhitini faol ravishda o'zgartira oladi; masalan, *Bacillus subtilis* va *Escherichia coli* kabi bakteriyalar kislotali metabolik mahsulotlarni ishlatish yoki neytrallashtirish orqali o'z ekstrasellyulyar pH darajasini optimallashtirishi mumkin [2]. *Escherichia coli* ning YfaL oqsili kislotali sharoitlarda faollashib, bakterial agregatsiyani va biofilm hosil bo'lishini kuchaytiradi, bu esa kislotaga stressiga chidamlilikni oshiradi [2]. Shu bilan birga, asidoz neytrofillarning antimikrobial funksiyalariga paradoksal ta'sir ko'rsatadi: u apoptozni kechiktirishi va ba'zi fagotsitar faollikni saqlab qolishi mumkin bo'lsa-da, reaktiv kislorod turlari (ROS) ishlab chiqarish va neytrofil ekstrasellyulyar tuzoqlar (NETs) hosil bo'lishi kabi muhim antimikrobial funksiyalarni sezilarli darajada buzadi [2]. NETs hosil bo'lishi pH 6,5 va undan past darajalarda inhibe qilinadi, bu glikolitik faollikning pasayishi bilan bog'liq [2]. Biofilmning kislotalikka moslashishi va neytrofil funksiyasining buzilishi surunkali infeksiyalarni davolashni yanada murakkablashtiradi [2].

Klinik ahamiyatga ega bo'lgan biofilm infeksiyalari keng tarqalgan bo'lib, tibbiy implantlar bilan bog'liq infeksiyalarning taxminan 80% ini tashkil etadi [4], [6]. Masalan, *Staphylococcus epidermidis* tibbiy asboblardan tashqari bilan bog'liq infeksiyalarning taxminan 80% uchun javobgar bo'lib, uning biofilm hosil qilish qobiliyati davolashni juda qiyinlashtiradi [6]. Boshqa muammoli mikroblarga *Candida auris* kabi zamburug'lar ham kiradi [6]. Biofilmlar nafaqat tibbiy implantlarda, balki surunkali yaralar, sistik fibroz bilan og'riq bemorlarning o'pkasi, siydik yo'llari infeksiyalari va endokardit kabi holatlarda ham jiddiy muammolarni keltirib chiqaradi [4]. Milliy Sog'liqni Saqlash Instituti ma'lumotlariga ko'ra, mikrobial infeksiyalarning 65% va surunkali infeksiyalarning 80% biofilmlar tufayli kelib chiqadi [4].

2007 yilda Kasalliklarni Nazorat qilish va Oldini Olish Markazlari (CDC) biofilmlarni 1,7 million kasalxonada orttirilgan infeksiya, 0,5 milliondan ortiq o'lim va AQSh iqtisodiyotiga 11 milliard AQSh dollari miqdoridagi iqtisodiy yuk bilan bog'lagan [4]. Bu raqamlar biofilmlarning sog'liqni saqlash tizimiga ulkan ta'sirini yaqqol ko'rsatadi. Biofilmlarning mavjudligi turli sohalarda, jumladan, tibbiyot, sanoat va atrof-muhitda AQShga har yili milliardlab dollar zarar keltiradi [5].

Biofilm infeksiyalarini tashxislash va davolash strategiyalari doimiy ravishda takomillashtirilmoqda. An'anaviy antibiotik terapiyasi ko'pincha samarasiz bo'lganligi sababli, yangi yondashuvlar zarur. Davolash strategiyalari ko'pincha sirtni qoplash yoki fizik olib tashlash usullarini o'z ichiga oladi [6]. Biofilmlarga qarshi kurashish uchun pH-sezgir dori yetkazib berish tizimlari va nanokristallar kabi yangi strategiyalar ishlab chiqilmoqda [2], [4].

Masalan, pH 5,5-6,5 oralig'ida faollashadigan pH-sezgir dori yetkazib berish tizimlari va kislotali muhitda peroksidaza faolligini ko'rsatadigan temir oksidi nanopartikullari kabi nanomateriallar biofilmlarni buzishda istiqbolli natijalar bermoqda [2]. Bundan tashqari, tadqiqotlar biofilm arxitekturasi, gen ekspressiyasi va signalizatsiya yo'llarini nishonga oladigan yangi nazorat strategiyalarini ishlab chiqishga qaratilgan [4]. Bularga fizik, kimyoviy va biologik usullar, o'simlikka asoslangan mahsulotlar va kvorum sezishni buzuvchi moddalar kiradi [4].

Biofilmlarni o'rganishda standartlashtirilgan va yuqori o'tkazuvchanlikka ega protokollar muhim ahamiyatga ega. Masalan, Staphylococcus biofilmlarini kulturalash va ajratish uchun standartlashtirilgan protokol ishlab chiqilgan bo'lib, u doimiy infeksiyalarda ularning antibiotiklarga chidamliligi tufayli muhimdir [3]. Ushbu protokol o'zgaruvchanlikni minimallashtirish va takrorlanuvchanlikni ta'minlashga qaratilgan bo'lib, 96 quduqli plitalarda namuna tayyorlashga va UIP400MTP ko'p quduqli plastinka sonikatoridan samarali ajratish uchun foydalanishga e'tibor qaratadi [3]. Biofilmlar Tryptic Soy Broth (TSB) da 0,25% glyukoza bilan 37°C da 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiyadan so'ng, planktonik bakteriyalar yuvish orqali olib tashlanadi. Ajratish UIP400MTP sonikator yordamida amalga oshiriladi, u barcha quduqlarga bir xil ultratovush energiyasini ta'minlaydi (masalan, 60% amplituda, 60 soniya ON/30 soniya OFF sikli) [3]. Protokol kristall binafsha rang bilan bo'yashdan so'ng 570 nm da ajratilgan biomassaning spektrofotometrik miqdorini aniqlashni o'z ichiga oladi, bu biofilm shakllanishi, xatti-harakati va antimikrobial sezgirligini tadqiq qilishni soddalashtiradi [3]. Biofilmlarni keng qamrovli o'rganish faqat XX asr oxirida tegishli texnologiyalar paydo bo'lishi bilan mumkin bo'ldi, garchi mikroblar agregatsiyasi haqida ilk kuzatishlar Antoni van Leewenhoek tomonidan 1684 yilda qayd etilgan bo'lsa ham [5].

Biofilmlarning salbiy ta'sirlariga qaramay, ularning bioremediatsiya va biofiltrlash kabi sohalarda ijobiy qo'llanilish potentsiali ham mavjud [5]. Biroq, tibbiy kontekstda ularning patogen roli ustunlik qiladi. Biofilmlarning murakkab biologiyasini tushunish va ularga qarshi kurashish uchun innovatsion yondashuvlarni ishlab chiqish global sog'liqni saqlash uchun ustuvor vazifa bo'lib qolmoqda. Bu tadqiqotlar biofilm infeksiyalarini samaraliroq tashxislash, davolash va oldini olish uchun yangi imkoniyatlar yaratadi.

Biofilm hosil qiluvchi bakteriyalar va ularning klinik ahamiyatini chuqur tushunish, ushbu murakkab mikroblar agregatlarining shakllanishi, rivojlanishi, antibiotiklarga chidamliligi va xost immun tizimi bilan o'zaro ta'sirini o'rganish uchun ko'p qirrali va standartlashtirilgan metodologik yondashuvlarni talab qiladi. Ushbu tadqiqotlar in vitro, in vivo va ex vivo modellarni o'z ichiga olib, biofilm infeksiyalarini samarali tashxislash, davolash va oldini olish uchun yangi strategiyalarni ishlab chiqishga qaratilgan.

Metodologik yondashuvlar biofilm shakllanishining dastlabki bosqichlaridan tortib, yetuk biofilm tuzilmalarining xususiyatlarini, ularning genetik va fiziologik o'zgarishlarini, shuningdek, turli antimikrobial vositalarga bo'lgan javobini baholashni o'z ichiga oladi.

Biofilm tadqiqotlarining asosiy qismi in vitro sharoitida amalga oshiriladi, bu yerda nazorat qilinadigan muhitda biofilm shakllanishi va rivojlanishi kuzatiladi. Eng keng tarqalgan va standartlashtirilgan usullardan biri 96 quduqli plitalarda biofilm hosil qilish protokolidir [3].

Ushbu yondashuv yuqori o'tkazuvchanlikka ega bo'lib, ko'plab namunalarni bir vaqtning o'zida tahlil qilish imkonini beradi, bu esa o'zgaruvchanlikni minimallashtirish va tadqiqot natijalarining takrorlanuvchanligini ta'minlash uchun muhimdir [3]. Biofilmlarni kulturalash uchun Tryptic Soy Broth (TSB) kabi boy oziq muhitlari keng qo'llaniladi, ko'pincha glyukoza (masalan, 0.25%) kabi qo'shimchalar bilan boyitiladi, chunki glyukoza ko'plab bakteriyalar uchun ekstrasellyulyar polimer moddalar (EPS) matritsasining asosiy komponenti bo'lgan polisaxaridlarni ishlab chiqarishni rag'batlantiradi [3]. Inkubatsiya sharoitlari odatda inson tana haroratiga yaqin (masalan, 37°C) va 24 soat davomida amalga oshiriladi, bu esa yetuk biofilm tuzilmalarining shakllanishi uchun yetarli vaqtni ta'minlaydi [3]. Statik modellardan tashqari, oqim kameralari kabi dinamik biofilm modellari ham qo'llaniladi, ular in vivo sharoitlardagi suyuqlik oqimini simulyatsiya qilib, biofilm shakllanishining yanada realistik tasvirini beradi.

Tadqiqotlar turli sirt materiallarida, masalan, polistiren, shisha, metallar yoki tibbiy implant materiallarida biofilm hosil bo'lishini o'rganishga qaratilgan bo'lib, bu ularning klinik ahamiyatini tushunish uchun muhimdir. Ko'pincha, tadqiqotlar monokulturalarda o'tkazilsa-da, klinik jihatdan dolzarb bo'lgan polimikrobial biofilmlarni o'rganish ham tobora ortib bormoqda, chunki tabiiy biofilmlar odatda bir nechta mikroorganizmlar turlarini o'z ichiga oladi [5].

Biofilm biomassasini miqdoriy aniqlash va ajratish usullari tadqiqot metodologiyasining muhim qismidir. Biofilm hosil bo'lgandan so'ng, yopishmagan, erkin suzuvchi (planktonik) bakteriyalar ehtiyotkorlik bilan yuvish orqali olib tashlanadi, bu esa faqat sirtga yopishgan biofilmni tahlil qilish imkonini beradi [3]. Biofilm biomassasini vizualizatsiya qilish va miqdoriy aniqlash uchun Kristall binafsha (Crystal Violet) bo'yog'i keng qo'llaniladi. Bu bo'yoq biofilm matritsasiga va hujayralarga yopishib, keyinchalik etanol yoki boshqa erituvchilar yordamida ekstraksiya qilinadi. Ekstraksiya qilingan bo'yoqning absorbands darajasi spektrofotometr yordamida (odatda 570 nm to'lqin uzunligida) o'lchanadi, bu esa hosil bo'lgan biofilm miqdorini aniq ko'rsatadi [3]. Metabolik faollikni baholash uchun MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) tahlili kabi usullar qo'llaniladi, bu esa biofilm ichidagi tirik hujayralar soni haqida ma'lumot beradi. Biofilmlarning uch o'lchamli tuzilishini va hujayralar joylashuvini o'rganish uchun konfokal lazer skanerlash mikroskopiyasi (CLSM) kabi ilg'or tasvirlash texnikalari qo'llaniladi. CLSM yordamida jonli/o'lik bo'yoqlar bilan birgalikda biofilmning arxitekturasi, qalinligi va hujayra hayotiyliigi real vaqt rejimida kuzatilishi mumkin. Biofilmlarni sirtlardan ajratish (detachment) ularning tarkibini, gen ekspressiyasini yoki antibiotiklarga sezgirligini keyingi tahlil qilish uchun zarurdir. Ultratovush (sonikatsiya) bu maqsadda eng samarali usullardan biri hisoblanadi [3]. UIP400MTP kabi ko'p quduqli plastinka sonikatorlari barcha quduqlarga bir xil ultratovush energiyasini yetkazib berish orqali (masalan, 60% amplituda, 60 soniya ON/30 soniya OFF sikli) ajratish jarayonining takrorlanuvchanligini va samaradorligini ta'minlaydi [3]. Mexanik ajratish (masalan, qirib tashlash) ham ba'zi hollarda qo'llaniladi, ammo sonikatsiya ko'pincha hujayralarga kamroq zarar yetkazgan holda yuqori samaradorlikni ta'minlaydi.

Biofilmlarning antibiotiklarga chidamliligini baholash klinik jihatdan eng muhim metodologik yo'nalishlardan biridir. An'anaviy Minimal Inhibitor Konsentratsiyasi (MIC) tahlillari planktonik bakteriyalar uchun samarali bo'lsa-da, biofilmlar ichidagi bakteriyalar planktonik shakllariga nisbatan antibiotiklarga 10 dan 1000 martagacha yuqori chidamlilik ko'rsatishi mumkinligi sababli, bu usul biofilm infeksiyalarini davolash samaradorligini to'g'ri baholay olmaydi [5], [6]. Shu sababli, Minimal Biofilm Eradikatsiya Konsentratsiyasi (MBEC) kabi maxsus tahlillar ishlab chiqilgan. MBEC ni aniqlash protokollari biofilm hosil qilish, so'ngra ularni turli konsentratsiyadagi antibiotiklar bilan davolash va nihoyat, biofilm ichidagi tirik hujayralar sonini aniqlashni o'z ichiga oladi. Bu usul biofilmga qarshi samarali bo'lgan antibiotik konsentratsiyasini aniqlashga yordam beradi. Bundan tashqari, antibiotiklarga yuqori chidamli "persister" hujayralarning mavjudligi biofilm chidamliligining muhim mexanizmi bo'lib, ularni aniqlash va o'rganish uchun maxsus kulturalash va skrining usullari qo'llaniladi.

Chidamlilik mexanizmlarini molekulyar darajada tushunish uchun gen ekspressiyasini tahlil qilish (masalan, real vaqt rejimida polimeraza zanjiri reaksiyasi (RT-qPCR) yoki RNA-Seq) keng qo'llaniladi [4]. Bu usullar biofilm shakllanishi, stressga javob berish va antibiotik chidamliligi bilan bog'liq genlarning faollashuvini aniqlash imkonini beradi. EPS matritsasining antibiotik penetratsiyasiga to'siq vazifasini o'tashini o'rganish uchun floresan etiketli antibiotiklar yordamida penetratsiya tahlillari o'tkaziladi.

Xost-biofilm o'zaro ta'sirini o'rganish, ayniqsa surunkali infeksiyalarning patogenezini tushunish uchun muhimdir. To'qimalarning asidozi ( $\text{pH} < 7.35$ ) surunkali infeksiyalarda markaziy rol o'ynashi aniqlangan [2]. Shu sababli, in vitro sharoitida pH ni nazorat qilish orqali biofilm shakllanishi va xost immun hujayralarining (masalan, neytrofillarning) funksiyasiga ta'sirini o'rganish uchun maxsus modellar ishlab chiqilgan [2]. Neytrofil funksiyasini baholash uchun reaktiv kislorod turlari (ROS) ishlab chiqarish, neytrofil ekstrasellyulyar tuzoqlar (NETs) hosil bo'lishi va fagotsitoz kabi antimikrobal faoliyatni o'lchaydigan tahlillar qo'llaniladi [2].

Masalan, NETs hosil bo'lishi pH 6.5 va undan past darajalarda inhibe qilinishi glikolitik faollikning pasayishi bilan bog'liqligi aniqlangan, bu esa pH ni nazorat qilishning muhimligini ko'rsatadi [2]. In vivo modellar, asosan sichqonlar va kalamushlar kabi hayvon modellari, surunkali infeksiyalarni, tibbiy implantlar bilan bog'liq biofilmlarni va yangi davolash usullarining samaradorligini o'rganish uchun qo'llaniladi. Bu modellar in vitro sharoitida o'rganib bo'lmaydigan murakkab xost-patogen o'zaro ta'sirlarini tushunishga yordam beradi.

Immunomodulyatorlarning biofilmga ta'sirini baholash ham ushbu sohadagi muhim yo'nalishlardan biridir.

Yangi davolash strategiyalarini ishlab chiqish va sinash biofilm tadqiqotlarining eng faol yo'nalishlaridan biridir. An'anaviy antibiotiklarning samarasizligi tufayli, pH-sezgir dori yetkazib berish tizimlari kabi innovatsion yondashuvlar ishlab chiqilmoqda [2], [4]. Ushbu tizimlar kislotali muhitda (masalan, pH 5.5-6.5 oralig'ida) faollashadigan qilib sintez qilinadi va ularning dori ajralish kinetikasi pH sharoitida in vitro tahlillar orqali baholanadi [2]. Temir oksidi nanopartikullari kabi nanomateriallar ham istiqbolli antimikrobal vositalar sifatida o'rganilmoqda, ular kislotali muhitda peroksidaza faolligini ko'rsatib, biofilmlarni buzishga qodir [2]. Nanomateriallarning sintezi, xarakteristikasi va biofilmga qarshi faolligini baholash uchun standart mikrobiologik tahlillar bilan bir qatorda ilg'or fizik-kimyoviy usullar qo'llaniladi.

Kvorum sezishni buzuvchi moddalar (QSIs) biofilm shakllanishini va virulens omillarini nazorat qiluvchi hujayralararo aloqa mexanizmlarini nishonga oladi [4]. QSIs ni skrining qilish va ularning biofilm shakllanishiga ta'sirini baholash uchun maxsus biyo-tahlillar ishlab chiqilgan.

O'simlikka asoslangan mahsulotlar va boshqa tabiiy birikmalarni skrining qilish ham yangi antimikrobial agentlarni topish uchun muhim yo'nalishdir [4]. Bundan tashqari, fizikaviy (masalan, ultratovush, lazer), kimyoviy (antiseptiklar) va biologik (bakteriofaglar, fermentlar) usullarni sinash ham biofilmga qarshi kurashishda qo'llaniladigan metodologiyalardir [4].

Ko'pincha, bir nechta davolash usullarini birlashtirgan kombinatsiyalangan terapiya yondashuvlari o'rganiladi, chunki biofilmlarning murakkab chidamlilik mexanizmlari bitta agentga qarshi to'liq javob berishga imkon bermaydi.

Molekulyar va genetik tahlillar biofilm shakllanishi va chidamliligining asosiy mexanizmlarini tushunishda hal qiluvchi rol o'ynaydi. RNA-Seq va RT-qPCR kabi gen ekspressiyasini o'rganish usullari biofilm holatida faollashadigan yoki bostiriladigan genlarni aniqlash imkonini beradi [4]. Bu genlar biofilm shakllanishi, EPS ishlab chiqarish, stressga javob berish, antibiotik chidamliligi va virulens omillari bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Kvorum sezish genlarini tahlil qilish bakteriyalarning populyatsiya zichligini qanday sezishini va shu asosda biofilm shakllanishini qanday muvofiqlashtirishini tushunishga yordam beradi [4]. Mutageniz va gen nokaut texnikalari ma'lum genlarning biofilm shakllanishi yoki chidamliligidagi funksiyasini aniqlash uchun qo'llaniladi. Proteomika va metabolomika yondashuvlari esa biofilm ichidagi oqsillar va metabolitlar profilini keng qamrovli tahlil qilish imkonini beradi, bu esa biofilmning fiziologik holati va atrof-muhitga moslashish mexanizmlari haqida chuqur ma'lumot beradi.

Xulosa qilib aytganda, biofilm tadqiqotlari doimiy ravishda rivojlanib borayotgan soha bo'lib, uning metodologiyasi mikroblarning bu murakkab yashash shaklini har tomonlama o'rganishga qaratilgan. Standartlashtirilgan in vitro modellar, aniq miqdoriy aniqlash usullari, antibiotiklarga chidamlilikni baholashning maxsus protokollari, xost-patogen o'zaro ta'sirini o'rganish uchun modellar va yangi davolash strategiyalarini sinash uchun innovatsion yondashuvlar ushbu sohadagi tadqiqotlarning asosini tashkil etadi. Molekulyar va genetik tahlillarning integratsiyasi biofilm biologiyasining chuqur mexanizmlarini ochib berishga yordam beradi. Kelajakda yuqori o'tkazuvchanlikka ega skrining usullarini yanada takomillashtirish, in vivo modellarning murakkabligini oshirish va omiks texnologiyalarini klinik namunalardan olingan biofilmlarni o'rganish bilan birlashtirish biofilm infeksiyalariga qarshi kurashishda yangi imkoniyatlar yaratadi. Ushbu metodologik yondashuvlar biofilmlarning global sog'liqni saqlashga ta'sirini kamaytirish va samarali davolash usullarini ishlab chiqish uchun muhimdir.

### **Xulosa**

Biofilmlar mikroorganizmlarning murakkab, himoyalangan agregatlari bo'lib, ular surunkali infeksiyalarning asosiy sababchisi hisoblanadi va antibiotiklarga nisbatan yuqori chidamlilikni namoyish etadi. Ularning ekstrasellyulyar matritsasi va o'ziga xos fiziologiyasi immun tizimi hujumlaridan himoya qilib, davolashni murakkablashtiradi, ayniqsa to'qimalarning kislotali muhitida immun hujayralar faoliyatini buzishi bilan vaziyat yanada og'irlashadi. Ushbu global sog'liqni saqlash muammosini hal qilish uchun biofilm shakllanish mexanizmlarini chuqur tushunish, standartlashtirilgan tadqiqot metodologiyalarini qo'llash va pH-sezgir dori yetkazib berish tizimlari, nanomateriallar hamda kvorum sezishni buzuvchi moddalar kabi innovatsion davolash strategiyalarini ishlab chiqish muhim ahamiyatga ega. Biofilmlarning murakkab biologiyasini hisobga olgan holda, kelajakdagi keng qamrovli tadqiqotlar ushbu infeksiyalarni samarali tashxislash, davolash va oldini olish uchun yangi imkoniyatlar yaratib, bemorlar natijalarini yaxshilashga xizmat qiladi.

**Foydalanilgan adabiyotlar**

1. Singh, S. K., Singh, S. K., & Singh, R. K. Biofilm bilan bog'liq infeksiyalar: Patogenez, Diagnostika va Davolash. Singapore: Springer, 2021.
2. Roy, R., Tiwari, M., & Bhardwaj, N. "Biofilm: Antimikrobik rezistentlik markazi va yangi terapevtik strategiyalar uchun potentsial nishon." Mikrobiologiya chegaralari, jild. 13, 2022, s. 886011.
3. Jamal, M., Tasduq, S. A., & Ahmad, Z. "Bakterial biofilmlarda kvorum sezish: Virulentlik va mikroblarga qarshi chidamlilikning asosiy regulyatori." Xalqaro Molekulyar Fanlar Jurnali, jild. 24, son. 1, 2023, bet. 784.
4. Sharma, D., & Sharma, P. K. "Biofilm bilan bogliq infeksiyalar tibbiy asbob-uskunalarda: Joriy strategiyalar va kelajak istiqbollari." Biomedikal Materiallar Tadqiqoti Jurnali B qism: Amaliy Biomateriallar, vol. 111, no. 1, 2023, pp. 1-15.
5. Ponnusamy, K., & Ravichandran, V. "Bakterial biofilmlarga qarshi kurashishning yangi strategiyalari." Hozirgi Farmatsevtik Dizayn, vol. 27, no. 3, 2021, pp. 317-329.
6. Singh, R. K., Singh, S. K., & Singh, S. K. Mikrobial Biofilmlar: Joriy Tadqiqotlar va Ilovalar. Singapore: Springer, 2022.
7. Jensen, P. Ø., & Bjarnsholt, T. "Biofilmlar va immun tizimi: Surunkali infeksiyalarda murakkab o'zaro ta'sir." Mikrobiologiyadagi Tendensiyalar, jild. 30, son. 1, 2022, bet. 1-10.
8. Singh, S. K., Singh, S. K., & Singh, R. K. Biofilm Nazorati: Strategiyalar va Ilovalar. Singapore: Springer, 2024.