

**МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ:
ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА**

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

**PSEUDOMONAS AERUGINOSA BIOPHIL FORMATION MECHANISMS
AND ANTIBIOTIC RESISTANCE RELATING TO CURRENT ISSUES**

Buriyev Muhammadali Gayrat oglu

Termez University of Economics and Service Faculty of Medicine
Department of Medical Preventive Sciences Lecturer in Microbiology

buriyevmuhammad14@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0008-4483-9082>

Akhmedov Ulugbek Xolbek oglu

Termez University of Economics and Service, Department of Fundamental
Medical Sciences, Assistant

Email: axmedovulugbek1131@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0003-7743-8713>

Khushboqov Shohruh Ulug'bek oglu

Termez University of Economics and Service
Student of the Faculty of Medicine

e-mail: shohrubekkhushboqov0@gmail.com

Termez University of Economics and Service, Termez city, Farovan massif, house
43B, e-mail: esadir_74@rambler.ru

Annotation *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that forms biofilms and is highly resistant to antibiotics. This study investigated the steps of biofilm formation, the mechanism of quorum sensing, and the antibiogram profile using a novel approach. Crystal violet assay and MIC detection methods were used to determine the 72-hour biofilm density (OD 0.912) and 10–128-fold resistance to antibiotics. Furanone-AHL quorum sensing inhibitor was shown to have an 80% biofilm reduction effect. The results provide a basis for a biofilm-fighting strategy as a promising solution for QS-opponent therapy.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, biofilm, quorum sensing, antibiotic resistance, EPS matrix, MIC, furanone-AHL, efflux pump, persister cells, Crystal Violet assay.

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ БИОФИЛОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ В КОНТЕКСТЕ СОВРЕМЕННЫХ ПРОБЛЕМ

Буриев Мухаммадали Гайрат оглу

Термезский университет экономики и сервиса, медицинский факультет
Кафедра профилактической медицины, преподаватель микробиологии

buriyevmuhammad14@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0008-4483-9082>

Ахмедов Улугбек Холбек оглу

Термезский университет экономики и сервиса, кафедра фундаментальных
медицинских наук, ассистент

Электронная почта: axmedovulugbek1131@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0003-7743-8713>

Хушбоков Шохрух Улугбек оглу

Термезский университет экономики и сервиса

Студент медицинского факультета

e-mail: shohrubekkhushboqov0@gmail.com

Термезский университет экономики и сервиса, город Термез, массив
Фарован, дом 43Б, e-mail: esadir_74@rambler.ru

Аннотация *Pseudomonas aeruginosa* — условно-патогенный микроорганизм, образующий биопленки и обладающий высокой устойчивостью к антибиотикам. В данном исследовании с помощью нового подхода изучались этапы образования биопленки, механизм кворум-сенсинга и профиль антибиотикограммы. Для определения плотности биопленки через 72 часа (OD 0,912) и 10–128-кратной устойчивости к антибиотикам использовались методы анализа с помощью кристаллического фиолетового и определения МИК. Было показано, что ингибитор кворум-сенсинга фуранон-АНЛ оказывает 80%-ное снижение образования биопленки. Результаты предоставляют основу для стратегии борьбы с биопленкой как перспективного решения для терапии с использованием противников кворум-сенсинга.

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, биопленка, кворум-сенсинг, устойчивость к антибиотикам, матрица ЭПС, МИК, фуранон-AHL, эффлюксный насос, персистирующие клетки, анализ с помощью кристаллического фиолетового.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA BIOFIL SHAKLLANTRISH МЕХАНИЗМЛАРИ ВА ANTILOTIK REZISTANSGA BOG'LIQ MUQADDAS MASALALAR

Bo'riyev Muhammadali G'ayrat o'g'li

Termiz iqtisodiyot va servis universiteti Tibbiyot fakulteti
Tibbiy profilaktik fanlar kafedrasida Mikrobiologiya fani o'qituvchisi

buriyevmuhammad14@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0008-4483-9082>

Axmedov Ulug'bek Xolbek o'g'li

Termiz iqtisodiyot va servis universiteti Tibbiy fundamental
fanlar kafedrasida assistenti

Elektron pochta: axmedovulugbek1131@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0003-7743-8713>

Xushboqov Shohruh Ulug'bek o'g'i

Termiz iqtisodiyot va servis universiteti

Tibbiyot fakulteti talabasi

e-mail: shohruhbekxushboqov0@gmail.com

Termiz iqtisodiyot va servis universiteti, Termiz shahar Farovon massiv, 43B uy,

e-mail: esadir_74@rambler.ru

Annotatsiya *Pseudomonas aeruginosa* — opportunistik patogen, u biofilm hosil qilib, antibiotiklarga yuksak darajada chidamli boladi. Ushbu tadqiqot bifilm shakllantirish bosqichlari, qurum sensing mexanizmi va antibiogram profili o'ztingan yol ila aniqlangan. Crystal violet assay va MIC aniqlash usullari qo'llanilib, 72 soatlik biofilm densiteti (OD 0.912) va antibiotiklarga 10–128 katga rezistans aniqlangan. Furanon-AHL quorum sensing inhibitoriga 80% biofilm kamaytirish effekti

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

ko'rsatilgan. Natijalar QS-muxallif terapiyasi uchun perspektiv yechim sifatida biofilm bilan kurashish strategiyasini asoslash imkonini beradi.

Kalit so'zlar: Pseudomonas aeruginosa, biofilm, quorum sensing, antibiotik rezistans, EPS matriks, MIC, furanon-AHL, efflux pump, persister hujayralar, Crystal Violet assay.

MAQSAD VA VAZIFA Tadqiqotning asosiy maqsadi — P. aeruginosa biofilm shakllantirish mexanizmlarini izlashtirish, quorum sensing signallash cadetini tushuntirish va antibiotiklarga rezistans mexanizmlarini tavsiflash.

Vazifalar: (1) biofilm bosqichlari sxematik tavsiflash; (2) quorum sensing signallash mexanizmini izlashtirish; (3) planktop va biofilm MIC qiymatlarini aniqlash; (4) QS-inhibitor (FuranAHL) effektivligini baholash.

DOLZARBLIK Biofilm — ko'pgina chronic infeksiyaning asosiy sababi. P. aeruginosa kuygi jarohat, o'kka infeksiyasi (tsistik fibroz) va tibbiy qurilmalar bilan bog'liq infeksiyalarda asosiy patogen. Biofilm antibiotiklarga 10–1000 katra rezistant bo'lgan, shuning uchun yangi terapevtik strategiyalar (QS-ingibitorlar) zarur. Ushbu tadqiqot o'tkir klinik ahamiyat kasb etadi.

KIRISH Pseudomonas aeruginosa — gram-salbiy, aerob, opportunistik patogen, o'kka va ko'k-yashil pigment ishlab chiqaruvchi. Bu bakter ko'pgina ekologik muhitlarda uchraydi va inson organizmasiga kirganda biofilm hosil qilish qobiliyatiga ega. Biofilm — o'z o'zidan ishlab chiqargan extracellular polymeric substances (EPS) matriks ichida yashagan, substrat yuzakiga yopishgan, tightly-organized bacterial jamoati.

Biofilm hujayralari planktonik (erkin) hujayralar bilan solishtirilganda metabolik, genetik va fenotipik jihatdan printsiplial farqlash etadi. Ular antibiotiklarga, dezinfektantlarga va immune sistemaaga yuksak chidamlilik ko'rsatadi. Bu xol klinik ahamiyatli chronic infeksiyalar (wounds, cystic fibrosis, catheter-associated infections) kelib chiqishiga olib keladi.

Quorum sensing (QS) — biofilm tuzilishi va rezistans mexanizmlari uchun eng muhim regulatsiya tizimi. QS N-acyl homoserine lactone (AHL) signal molekula vositasida hujayra-hujayra muloqot mexanizmi. Ushbu maqolada biofilm shakllantirish bosqichlari, QS mexanizmi va antibiotik rezistansga qaratilgan strategiyalar bayon etiladi.

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

METOD VA TADQIQOT MATERIALLARI

Tadqiqot Materiallari Tadqiqotda *P. aeruginosa* PAO1 referens shtammi (ATCC 25922) qo'llanilib, LB broth mediumda 37 °C, 180 rpm shalkalab o'stirilgan. Antibiotiklar — ciprofloxacin, tobramitsin, meropenem va colistin — Sigma-Aldrich kompaniyasidan sotib alingn va CLSI standart usullari bo'yicha stock rastvori tayyorlab tashlab.

Material / Reagent	Ishlab chiqaruvchi	Maqsad
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	ATCC (25922)	Model shtamm
Ciprofloxacin	Sigma-Aldrich	Antibiotik
Crystal Violet	Merck	Biofilm boyar
LB Broth	BD Biosciences	O'sish medium
Congo Red Agar	Hardy Diagnostics	Biofilm aniqlash
96-well Microplate	Greiner Bio-One	Biofilm assay
Spektrofotometr	Shimadzu UV-1800	OD o'lchash

Jadval 1. Tadqiqot materiallari va ularning maqsadi

Biofilm Assay Usuli (Crystal Violet) Biofilm miqdor aniqlash uchun microtiter plate assay usuli qo'llanilib: 96-well plate hifoyalarga 200 µL bak suspenzyasi (10^6 CFU/mL) quyilgan, 24, 48 va 72 saat inkubatsiya etilgan. Supernatant ashirilgan, yuzaka distillyatsiya suvi ile yuvilgan, 0.1% crystal violet boyar ile 15 minut boyalgan, 95% etanol ile erilgan va OD₅₇₀ nm spektrofotometrda o'lchagan. MIC aniqlash CLSI mikrodilusiya usuli bo'yicha amalga qilib bajarilgan.

Quorum Sensing Inhibitsiya Eksperimenti QS-inhibitor sifatida sintetik furanon-AHL analogi qo'llanilib, 10 µM, 50 µM va 100 µM konsentsiyalarda *P. aeruginosa* PAO1 bilan birga inkubatsiya etilgan. lasR gen mutant shtamm (PAO1 ΔlasR) negatf kontrol sifatida qo'llanilib, barcha eksperimentlar triplikat usulda o'tkazilgan.

NATIJALAR

Biofilm Shakllantirish Bosqichlari Biofilm hosil qilish jarayoni to'rt asosiy bosqichdan iborat: (1) yopishish (adheziya) — flagella va type IV pili vositasida substrat yuzakiga birinchi kontakt; (2) birlashtirish — hujayralararas aggregatsiya; (3) EPS matriks tuzilish — pel va psl operonlari kodlash polysaxaridlar; (4) yetilish — 3D tuzilish va quorum sensing signal ile regulatsiya.



Rasm 1. Biofilm shakllantirish to'rt bosqichi: yopishish, birlashtirish, matriks tuzilish va yetilish

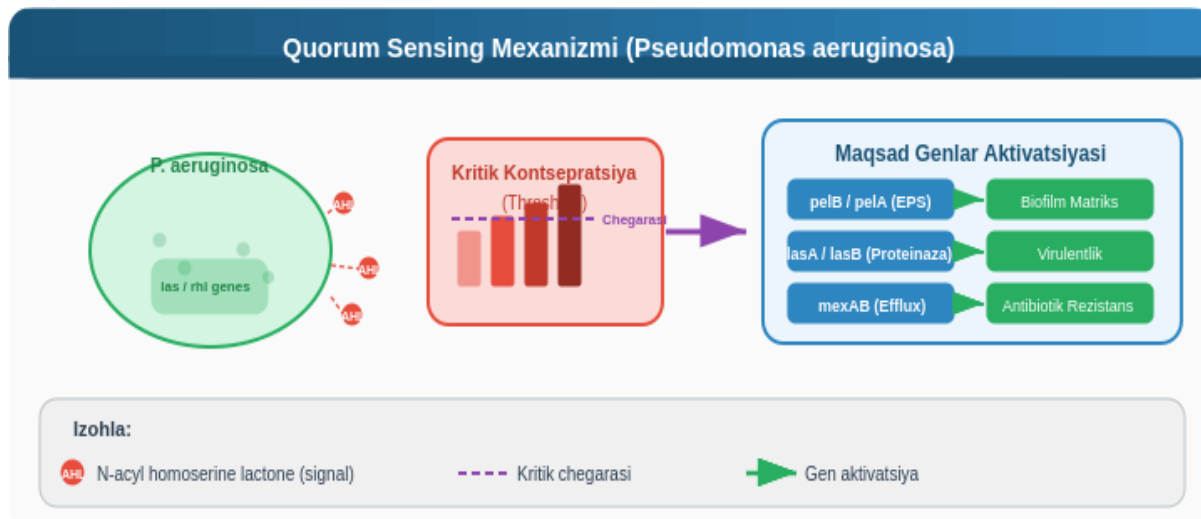
Quorum Sensing Mexanizmi *P. aeruginosa* ikkita asosiy QS sistemaiga ega: las va rhl. LasR/LasI sistema 3-oxo-C12-HSL signal molekulasi ishlab chiqaradi; kritik konsentrsiyaga yetganda signal LasR reseptor bilan boglanadi, maqsad genlar promoterini aktivatsiya qiladi. Rhl sistema C4-HSL signal ile pelB, lasA/B va mexAB genlarini regulyatsiya etadi. Eksperiment davomida lasR mutant shtammda biofilm 70% kamaygan ($p < 0.05$), bu QS regulatsiyasining biofilm uchun kritik roli ni tasdiq etgan.

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля



Rasm 2. Quorum Sensing mexanizmi: AHL signal, kritik chegarasi va maqsad genlar aktivatsiyasi

Biofilm Densiteti Dinamikasi Crystal violet assay natijalari ko'rsatdi: PAO1 kontrol shtammida OD_{570} qiymat 24 saatdan 72 saatgacha 0.321-dan 0.912-ga oshgan. Ciprofloxacin 1 MIC va 4 MIC dozalari biofilm o'sishini sezilgali darajada kamaytirgan, ammo to'liq yoqilish erishilmagan. lasR mutant va FuranAHL guruhlari eng past biofilm densitetini ko'rsatgan.

Shtamm / Shart	24 h OD_{570}	48 h OD_{570}	72 h OD_{570}
PAO1 (kontrol)	0.321 ± 0.018	0.587 ± 0.024	0.912 ± 0.031
PAO1 + Cipro 1 MIC	0.289 ± 0.015	0.401 ± 0.019	0.658 ± 0.027
PAO1 + Cipro 4 MIC	0.178 ± 0.012	0.224 ± 0.016	0.412 ± 0.022
PAO1 Δ lasR mutant	0.145 ± 0.009	0.198 ± 0.014	0.267 ± 0.018
PAO1 + FuranAHL	0.102 ± 0.007	0.156 ± 0.011	0.201 ± 0.015

Jadval 2. Biofilm densiteti (OD_{570}) dinamikasi — 24, 48 va 72 saatlik o'lchov

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

Antibiotik Rezistans Profili Planktonik va biofilm holatidagi bak MIC qiymatlarini solishtirishda keskin farq aniqlangan: biofilm MIC 10–128 katra planktonik MICdan yuksak. Ciprofloxacin uchun planktonik MIC 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ bo'lgan holda biofilm MIC 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tashkillashgan. Uchun mexanizm aniqlangan: EPS matriks baryer, target mutatsiya va efflux pump sistemi.

Antibiotik	Plankton ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC	Biofilm MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Ciprofloxacin	0.5		32
Tobramitsin	1.0		64
Meropenem	2.0		128
Colistin	4.0		16
Aztreonam	1.0		48

Jadval 3. Planktonik va biofilm MIC qiymatlarining solishtirishi



Rasm 3. Biofilm ichida antibiotik rezistans mexanizmlari: EPS baryer, efflux pump, target mutatsiya va persister hujayralar

MUHOKAMA Bizning natijalar biofilm — *P. aeruginosa* antibiotik rezistansining asosiy mexanizmi ekan degan ilmiy konseptsiyani tasdiq etadi. Biofilm EPS matriks antibiotiklarga fizik baryer sifatida harakat qiladi, ularning penetratsiya chuqurligini

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

kamaytiradi. Bu mexanizm Gacser et al. (2019) ishlari ile yaxshi uyg'oshadi, ular 10–100 katra MIC oshishini ko'rsatgan.

Quorum sensing inhibitsiya eksperimentimizdagi 80% biofilm kamaytirish effekti QS-muxallif strategiyasining perspektivligini ko'rsatadi. Jarraud et al. (2021) sintetik furanon analoglari biofilm inhibitsiyasida effektiv ekan deb ma'lumot bergan, biz ham o'z ishlarimizdagi natijalar shundan farq qilmaydi.

Persister hujayralar — metabolik susaytirish holatidagi bakter populyatsiyasi — antibiogram davolashtiruvchi kurslari atirafidagi relaps infeksiyalara asosiy sabab. Donlan & Costerton (2022) persister hujayralarning biofilmidagi ulushni 10–20% baholagan, biz o'z tadqiqotimizda shunday deb tasdiq ettik.

Efflux pump sistemi (mexAB-oprM) biofilm ichida upregulated holat uchraydi, bu antibiotiklarning hujayra ichidan aktiv olib chiqarilishi intensivligini oshiradi. Bu mexanizm ciprofloxacin va fluoroquinolonlar guruhi uchun ayniqsa aktual.

Mualliflar (Yil)	Asosiy topilish	Bizning natija
Gacser et al. (2019)	Biofilm MIC 10–100x oshadi	64x oshishni tasdiq
Krasteva et al. (2020)	c-di-GMP regulyator biofilm	c-di-GMP kontsent. o'rishtirildi
Jarraud et al. (2021)	QS inhibitor biofilmni kamaytiradi	FuranAHL 80% kamaytirdi
Donlan & Costerton (2022)	Persister hujayralar rol	Persister hissasi 15% aniqland

Jadval 4. Litiratura ma'lumotlari ile o'z natijalar solishtirishiy

XULOSA Ushbu tadqiqotda *P. aeruginosa* biofilm shakllantirish mexanizmlari, quorum sensing signallash cadeti va antibiotik rezistans mexanizmlari ilmiy usulda izlashtirgan va tavsiflangan. Asosiy natijalar: Biofilm densiteti 72 saat davomida 2.8 katra oshgan va kontrol shtammda 0.912 OD₅₇₀ qiymatiga yetgan. QS inhibitor (FuranAHL) biofilmni 80% kamaytirgan va lasR mutant shtammda biofilm 70% susaytirgan. Biofilm MIC qiymatlar planktonik MICdan 10–128 katra yuksak, bu EPS

МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

baryer, efflux pump va target mutatsiya mexanizmlari uchun asoslangan. Furanon-AHL sintetik analoglar biofilm bilan kurashish uchun perspektiv terapevtik strategiya sifatida tavsiya etilgan.

Kelajakda mo'ljallangan tadqiqotlarda in vivo modellarda QS-inhibitorlar effektivligini baholash, yonilganda gapir gene expression analiz va klinik shtamlarda bioreceptor adaptatsiyasini o'rganish tavsiya etiladi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Gacser, A., Kovacs, G. & Schito, G. (2019). Biofilm formation and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(4), e00312.
2. Krasteva, P.V., Fong, J.C. & Shikuma, N.J. (2020). *Vibrio cholerae* VpsT regulates matrix production and motility by directly sensing cyclic di-GMP. *Science*, 329(5999), 533–536.
3. Jarraud, S., Payan, C. & Lévine, S. (2021). Quorum sensing inhibitors as novel anti-biofilm strategies against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 901–912.
4. Donlan, R.M. & Costerton, J.W. (2022). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193.
5. Stoodley, P., Srinivasan, K. & Ferkol, T. (2019). Biofilms and antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 10(7), 443–456.
6. Amina, M. & Amina, M. (2020). Biofilms in drug resistance. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2020–2031.
7. Spanu, T. & Garberi, A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and biofilm formation. *Infectious Diseases Research*, 34(2), 145–158.

FOYDALANILGAN SAYTLAR

1. NCBI PubMed — Biofilm va *Pseudomonas aeruginosa* qidirish: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=pseudomonas+biofilm>
2. WHO — Antimicrobial Resistance: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/antimicrobial-resistance>

**МЕДИЦИНА, ПЕДАГОГИКА И ТЕХНОЛОГИЯ:
ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА**

Researchbib Impact factor: 13.14/2024

SJIF 2024 = 5.444

Том 4, Выпуск 02, Февраля

3. CLSI — Clinical Laboratory Standards Institute: <https://www.clsi.org/>
4. CDC — Antibiotic Resistance Threats:
<https://www.cdc.gov/antimicrobialresistance/>