

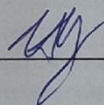
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.03.01 – Биология
Профиль (специализация): Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
КОНСТРУИРОВАНИЕ МУЛЬТИШТАММОВОГО ПРЕПАРАТА НА
ОСНОВЕ ЛАКТОБАЦИЛЛ С АНТИМИКРОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Обучающийся 4 курса

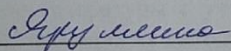
Группы 01-004



Латипова И.А.

Научный руководитель

канд. биол. наук, доцент

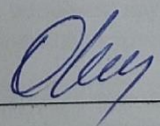


Яруллина Д.Р.

Заведующий кафедрой

микробиологии

д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

Казань – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	стр. 3
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Понятие о пробиотиках и их полезные свойства	6
1.2 Антимикробная активность лактобацилл: природа и практическое использование	13
1.3 Мультиштаммовые пробиотические препараты	18
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	22
2.1 Штаммы МКБ и условия их культивирования	22
2.2 Идентификация изолятов МКБ методом MALDI Biotyper	24
2.3 Определение антагонистической активности МКБ методом агаровых блоков	24
2.4 Анализ кислотообразующей активности	25
2.5 Оценка гидрофобности поверхности бактерий	26
2.6 Анализ автоагрегации	26
2.7 Определение биосовместимости МКБ	26
2.8 Оценка выживаемости МКБ в бытовых моющих средствах	26
2.9 Статистическая обработка результатов	27
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	28
3.1 Антагонистическая активность МКБ и ее природа	28
3.2 Адгезивные свойства исследуемых штаммов	31
3.3 Биосовместимость исследуемых штаммов	33
3.4 Выживаемость МКБ в бытовых моющих средствах	35
ВЫВОДЫ	38
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	39

ВВЕДЕНИЕ

Пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах приносят пользу здоровью хозяина [FAO Food and Nutrition, 2001]. За последнее десятилетие пробиотики привлекли к себе большое внимание благодаря многочисленным положительным эффектам, которые они оказывают на здоровье человека при использовании в лечении и профилактике заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), связанных с дисбактериозом. Но изучение пробиотиков активно продолжается, и расширяется область их применения [Ma *et al.*, 2023].

Одним из основных компонентов пробиотических препаратов являются лактобациллы, в том числе благодаря известной антимикробной активности [Zhang *et al.*, 2011]. Благодаря антагонистической активности и способности к брожению, лактобациллы используются во многих сферах, например, для приготовления ферментированных пищевых продуктов, пробиотиков, лекарственных средств [Servin, 2004]. Пробиотические дезинфектанты – это новый класс средств на основе микроорганизмов с антимикробной активностью, который используется для борьбы с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. К их преимуществам, по сравнению с классическими антибиотиками, относятся безопасность для здоровья и экологичность. Область применения пробиотических дезинфектантов включает сельское хозяйство и медицину [Zamojska *et al.*, 2021]. Тестируя и характеризуя новые штаммы лактобацилл, мы отбираем коллекцию биосовместимых штаммов, которые можно будет использовать в дальнейшем в производстве пробиотического препарата с антимикробным действием.

Целью работы является разработка научно-обоснованных подходов к созданию мультиштаммового пробиотического препарата на основе лактобацилл с антимикробным действием.

В соответствии с поставленной целью в работе решаются следующие задачи:

1) В имеющейся коллекции штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из растительного сырья и кишечника человека, провести отбор штаммов с пробиотическими свойствами, для включения в состав мультиштаммового пробиотического препарата и идентифицировать их методом MALDI Biotyper.

2) Оценить антагонистическую активность штаммов молочнокислых бактерий в отношении условно-патогенных бактерий и выяснить вклад молочнокислой ферментации в выявленную антагонистическую активность.

3) Оценить колонизирующий потенциал лактобацилл по гидрофобности клеточной поверхности и способности к автоагрегации.

4) Определить биосовместимость (способность к совместному культивированию и хранению) молочнокислых бактерий.

5) Оценить выживаемость отобранных штаммов молочнокислых бактерий в бытовых моющих средствах.

ВЫВОДЫ

1) В качестве основы мультиштаммового пробиотического препарата рассмотрены два коммерческих штамма молочнокислых бактерий (Wecare Пробиотики (Сучжоу) Co., Ltd), выделенный из квашеной капусты *Lactiplantibacillus plantarum* FCa3L и кишечные изоляты – три штамма *Limosilactobacillus fermentum*, два *Lacticaseibacillus rhamnosus* и один *Lactiplantibacillus plantarum*.

2) Выделенные нами штаммы превосходили коммерческих изолятов по ингибиторной активности в отношении выбранных тест-микроорганизмов. Все лактобациллы хорошо угнетали рост *Pseudomonas aeruginosa*.

3) Кислотообразующая активность изолятов лактобацилл варьировала в диапазоне от 0.55 ± 0.08 мМ/мл у *L. fermentum* HF-A4 до 1.46 ± 0.24 мМ/мл у *L. plantarum* FCa3L и не коррелировала с антагонистической активностью.

4) Большинство исследованных штаммов были умеренно гидрофильными, за исключением сильно гидрофильных *L. plantarum* LS 4-4 и *L. fermentum* HFD1. Автоагрегация через 4 часа составила от ($37.1 \pm 1.1\%$) у *L. fermentum* HF-A4 до ($58.7 \pm 7.9\%$) у *L. plantarum* FCa3L. Через 24 часа автоагрегация у всех штаммов повысилась, максимально до ($77.8 \pm 1.3\%$) у *L. plantarum* LS 4-4.

5) Большинство исследованных штаммов были биосовместимы, кроме пар *L. rhamnosus* LR-2.7/*L. fermentum* HF-A4, *L. fermentum* HF-F3/*L. fermentum* HF-A4, *L. fermentum* HF-F3/*L. plantarum* LS 4-4 и *L. fermentum* HF-F3/*L. fermentum* HFD1.

6) Средство №1 обладало мгновенным бактерицидным эффектом в отношении *Streptococcus* sp. и *Lactobacillus* sp. В средстве №2 данные бактерии сохраняли жизнеспособность в течение 14 дней на том же уровне, что в контроле (0.05% лактозы в физиологическом растворе).