

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: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
РОЛЬ ПРЕБИОТИКОВ ПОЛИСАХАРИДНОЙ ПРИРОДЫ В
АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ

Обучающийся 4 курса

группы 01-805

" ___ " _____ 2022 г.



(Сливкина В.А.)

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент

" ___ " _____ 2022 г.



(Яковлева Г.Ю.)

Заведующий кафедрой
д-р биол. наук, профессор

" ___ " _____ 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

Казань–2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	
ВВЕДЕНИЕ	
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Микробиологическое сообщество влагалища женщины.....	
1.2 Представители нормофлоры урогенитального тракта женщины	
1.2.1 <i>Lactobacillus crispatus</i> – основной представитель нормофлоры влагалища.....	
1.2.2 Роль <i>Lactobacillus iners</i> в микрофлоре влагалища.....	
1.2.3 Пробиотическая активность <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	
1.3 Нарушение в микрофлоре влагалища.....	
1.3.1 Этиология и патогенез бактериального вагиноза.....	
1.3.2 Характеристика <i>Gardnerella vaginalis</i>	
1.3.3 <i>Candida albicans</i> – основной возбудитель вульвовагинального кандидоза	
1.4 Влияние пребиотиков полисахаридной природы на организм женщины .	
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1 Микроорганизмы и условия их культивирования.....	
2.2 Определение антагонистической активности лактобацилл.....	
2.3 Определение кислотообразующей активности лактобацилл.....	
2.4 Оценка возможности использования <i>Lactobacillus crispatus</i> полисахаридов как источника углерода.....	
2.5 Статистическая обработка результатов.....	
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	

3.1 Культуральные и морфологические свойства лактобацилл, используемых в работе.....	
3.2 Антагонистическая активность лактобацилл.....	
3.3 Кислотообразующая активность лактобацилл.....	
3.4 Оценка возможности использования <i>Lactobacillus crispatus</i> полисахаридов как источников углерода, альтернативных глюкозе.....	
3.5 Изменение антагонистической активности лактобацилл в отношении <i>G. vaginalis</i> и <i>Candida sp.</i> в присутствии полисахаридов.....	
3.6 Изменение кислотообразующей активности <i>L. crispatus</i> в присутствии полисахаридов.....	
ВЫВОДЫ	6
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	8

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии рода *Lactobacillus* – обширная группа микроорганизмов, населяющие различные экониши, такие как растения, силос, молочнокислые продукты, а также организм человека и животных (ротовая полость, желудочно-кишечный тракт, мочеполовую систему и дыхательные пути) [Köning, 2009]. Они эффективно используются при лечении и профилактике кишечных инфекций, а также инфекционной и антибиотикоассоциированных диареи [Sazawal *et al.*, 2006]. Лактобациллы являются перспективными средствами лечения воспалительных заболеваний кишечника [Hedin *et al.*, 2007], синдрома раздраженного кишечника и предотвращения колоректального рака [Rafter *et al.*, 2007].

Использование бактерий рода *Lactobacillus* в качестве дополнительного средства при лечении бактериального вагиноза является перспективным направлением в терапии данного заболевания [Qian *et al.*, 2021].

В последнее время наметилась тенденция на сохранение естественного сообщества лактобацилл с помощью пребиотиков полисахаридной природы. Получены данные о позитивном влиянии препаратов олигофруктозы и инулина на кишечную микрофлору, в том числе на бактерии рода *Lactobacillus* [Kaur, Gupta, 2002]. Предполагается, что пребиотики на основе полисахаридов будут оказывать сходное воздействие на микрофлору влагалища, что обозначит новый подход в терапии бактериального вагиноза [Collins *et al.*, 2017].

Целью данной работы является оценка действия пребиотиков полисахаридной природы на антагонистическую активность лактобацилл.

В ходе работы решались следующие задачи:

- 1) Определить антагонистическую активность лактобацилл в отношении *Candida sp.* и *Gardnerella vaginalis*.
- 2) Оценить кислотообразующую способность лактобацилл.

3) Определить возможность *Lactobacillus crispatus* использовать полисахариды как источник углерода, альтернативный глюкозе.

4) Оценить изменение антагонистической активности лактобацилл в отношении *Gardnerella vaginalis* и *Candida sp.* в присутствии полисахаридов.

5) Определить изменение кислотообразующей активности *Lactobacillus crispatus* в присутствии полисахаридов.

ВЫВОДЫ

1) Антагонистическая активность *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* в отношении *G. vaginalis* и *Candida sp.* достоверно не отличались.

2) Все исследуемые лактобациллы способны к синтезу органических кислот, при этом более активными продуцентами являются бактерии, ведущие гетероферментативное брожение (*Lactobacillus crispatus*; *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*).

3) Олигофруктоза является предпочтительным пребиотиком для *Lactobacillus crispatus*, увеличивая концентрацию ее биомассы в среднем в 3.6 раза по сравнению с другими полисахаридами.

4) Сочетание полисахаридных пребиотиков и глюкозы в среде MRS повышает антагонистическую активность лактобацилл в отношении как *Candida sp.*, так и *Gardnerella vaginalis*. Замещение глюкозы в среде MRS пребиотиком практически полностью подавляло антагонистическую активность лактобацилл в отношении *Gardnerella vaginalis* и снижало активность в отношении *Candida sp.*

5) Внесение в полноценную среду (MRS) культивирования *Lactobacillus crispatus* пребиотиков полисахаридной природы (олигофруктозы и инулина) не привело к увеличению образования молочной кислоты, в то время как увеличение концентрации глюкозы в среде MRS в 2 раза увеличило концентрацию кислоты в 1.3 ± 0.1 раза на 2 сутки культивирования.

6) Культивирование *Lactobacillus crispatus* на среде MRS без глюкозы привело к снижению концентрации молочной кислоты в среднем в 2.0 ± 0.1 раза по сравнению с полноценной средой MRS, использование инулина вместо глюкозы увеличило концентрацию молочной кислоты в 1.4 ± 0.2 раза на 2 сутки культивирования. Внесение в среду MRS

олигофруктозы вместо глюкозы привело к максимальному повышению концентрации молочной кислоты (в 1.6 ± 0.3 раза) на 6 сутки культивирования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1) **Collins, S. L.** Promising Prebiotic Candidate Established by Evaluation of Lactitol, Lactulose, RaffiNo.se, and Oligofructose for Maintenance of a Lactobacillus – Dominated Vaginal Microbiota. [Text] / S. L. Collins, A. McMillan, S. Seney, C. van der Veer, R. Kort, M. W. Sumarah, G. Reid // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2017. – V. 84(5). – P. 1-37.
- 2) **Hedin, S.** Evidence for the use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. / S. Hedin, K. Whelani, J.O. Lindsay // *Proc. Nutr. Soc.* – 2007. –V. 66. – P.307-315.
- 3) **Kaur, N.** Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. [Text] / N. Kaur, A.K. Gupta // *J Biosci* – 2002. – V. 27. – P. 703-714.
- 4) **Köning, H.** Biology of microorganisms on grapes, in must and wine. / H. Köning, J. Frohlich, G. Uden// Springer Verlag – 2009. – V.3. – P.15.
- 5) **Qian, Z.** Probiotic Lactobacillus sp. Strains Inhibit Growth, Adhesion, Biofilm Formation, and Gene Expression of Bacterial Vaginosis-Inducing Gardnerella vaginalis. [Text] / Z. Qian, H. Zhu, D. Zhao, P. Yang, F. Gao, C. Lu, D. Chen // *Microorganisms*. – 2021. – V. 9(4). – P. 728.
- 6) **Rafter, J. M.** Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. / J.M. Rafter, M. Bennet, G. Caderni // *Am. J. Clin. Nutr.*.. – 2007. – V. 85. – P. 488-496.
- 7) **Sazawal, S. G.** Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials. / S.G. Sazawal, U. Hiremath, U. Dhingra // *Lancet Infection Dis.* – 2006. – V. 6. – P.374-382.