

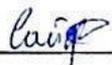
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.03.01 – Биология

Профиль (специализация): Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
АНАЛИЗ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ,
ПРИМЕНЯЕМЫХ В ТАТАРСТАНЕ

Обучающийся 4 курса
группы 01-005



Сайфутдинов А.Р.

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



Яковлева Г.Ю.

Заведующий кафедрой
микробиологии
д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

Казань – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	7
1.1 Происхождение и состав лечебных грязей.....	7
1.2 Классификация лечебных свойств пеллоидов.....	10
1.3 Механизмы действия пеллоидов	12
1.4 Эффективность пелоидотерапии	15
1.5 Основные показания и противопоказания к пелоидотерапии.....	20
1.6 Микрофлора кожи.....	21
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	24
2.1 Объект исследования	24
2.2 Метагеномный анализ образцов грязи.....	24
2.2.1 Выделение тотальной ДНК.....	24
2.2.2 Амплификация тотальной ДНК и секвенирование 16S рРНК.....	24
2.2.3 Биоинформатический анализ.....	25
2.3 Выделения бактерий с поверхности кожи	26
2.4 Идентификация выделенных бактерий методом прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии.....	26
2.5 Получение водных экстрактов лечебных грязей.....	27
2.6 Оценка антимикробного действия водных экстрактов лечебных грязей	27
2.7 Статистический анализ.....	28
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	29
3.1 Метагеномный анализ образцов грязи по 16S рРНК.....	29

3.1.1	Альфа-биоразнообразие микробных сообществ лечебных грязей...	29
3.1.2	Бета-биоразнообразие микробных сообществ лечебных грязей.....	30
3.1.3	Структура бактериальных сообществ лечебных грязей.....	30
3.2	Определение таксономической принадлежности бактерий, изолированных с поверхности кожи рук	34
3.3	Оценка антимикробного действия экстрактов грязи	35
	ВЫВОДЫ.....	39
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	41

ВВЕДЕНИЕ

С древних времен люди использовали грязь как средство для ухода за собой и лечения различных недугов [Maraver *et al.*, 2021]. Лечебная грязь, известная как пелоиды, это натуральный продукт, получаемый из отложений водоемов. Грязелечение, или пелоидотерапия, это применение грязи для лечебных целей, например, в виде грязевых ванн или компрессов [Antonelli *et al.*, 2018]. Еще в Древнем Египте египтяне мазали свои тела грязью от разливов Нила [Carretero, 2020]. Известно, что древние цивилизации, такие как египтяне, греки и римляне, также использовали грязь для ухода за кожей и лечения различных заболеваний [Gomes, 2018]. Во времена Римской империи римляне знали и использовали грязь в качестве лечебного средства [Munteanu *et al.*, 2020]. Использование грязи в курортных условиях было распространено на протяжении многих веков из-за ее лечебных свойств [Carretero, 2020]. Грязь широко применяется и в косметических сферах. Улучшая активность ферментов глутатиона и супероксиддисмутазы в коже, она помогает коже бороться со старением. Кроме того, она также может улучшить микробное сообщество кожи благодаря своим особым физическим свойствам и минеральным ионам. В области медицины грязь может лечить остеоартрит, особенно остеоартрит коленного сустава, который был широко изучен, а также может усиливать хемотаксис макрофагов [Veniale *et al.*, 2007; Poprygina *et al.*, 2020; D'Angelo *et al.*, 2021]. Глина, частично очищенная от ила, также имеет терапевтический эффект и широко используется в медицинской промышленности. Глина представляет собой разновидность очищенной грязи с небольшим количеством ила (содержание ила менее одной трети) [Flemming, 2000]. Кроме того, глина с низким энергопотреблением и отсутствием вторичного загрязнения играет все более важную роль в медицинской промышленности [Mousavi *et al.*, 2018].

Учитывая тот факт, что лечебные грязи богаты биологически активными органическими и минеральными веществами, а также живыми

микроорганизмами и особыми физическими свойствами, благодаря которым можно регулировать микрофлору кожи. Целью настоящей работы являлась оценка противомикробного действия водных экстрактов лечебных грязей, применяемых в республике Татарстан.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи.

1) Провести сравнительный метагеномный анализ лечебных грязей, применяемых в республике Татарстан.

2) С поверхности рук выделить бактерии и идентифицировать их с помощью метода прямого белкового профилирования MALDI-TOF.

3) Оценить противомикробные свойства лечебных грязей, применяемых в республике Татарстан, в отношении бактерий, выделенных с поверхности кожи рук, и патогенных микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1) Наибольшее таксономическим биоразнообразие отмечали в сообществе лечебной грязи торфяного месторождения «Таборли-3». (количество операционных таксономических единиц 394). В сообществе сапропелевой грязи месторождения «Бакирово» количество операционных таксономических единиц составляло 166. Менее половины видов являлись общими для исследуемых сообществ лечебных грязей (индекс Соренсена составил 0.462), представительство данных видов бактерий отличались в исследуемых сообществах (индекс различия Брея-Кёртиса составил 0.638).

2) В образцах пелоидов преобладали филы *Proteobacteria* и *Firmicutes*. В образце «Бакирово» количество бактерий, отнесенных к филуму *Proteobacteria* в 1.6 раз выше, а количество бактерий, принадлежащих к филуму *Firmicutes*, в 1.5 ниже, чем в образце «Таборли-3». Представители семейства *Sphingomonadaceae* и *Comamonadaceae* филума *Proteobacteria* являлись наиболее многочисленными в обоих образцах. Доминирующим семейством филума *Firmicutes* в образце грязи «Бакирово» являлось *Staphylococcaceae*. Количество бактерий данного семейства составляло 61.95% от общего числа микроорганизмов филума *Firmicutes*. В образце лечебной грязи «Таборли-3» преобладали семейства *Streptococcaceae* (21,4%), *Ruminococcaceae* (16.8%) и *Lactobacillaceae* (15.13%).

3) С поверхности кожи рук выделено и идентифицировано до вида используя метод прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии 9 бактерий, 5 из которых принадлежат к роду *Bacillus*, 2 – к роду *Staphylococcus* и 2 – к роду *Kocuria*.

4) Водные экстракты грязи из месторождения «Бакирово» оказали большее антимикробное действие в отношении нормальной микрофлоры кожи рук, чем экстракты грязи месторождения «Таборли-3». Водные экстракты пелоидов «Бакирова» подавляли рост *Staphylococcus epidermidis* и

Kocuria rhizophila 1. При использовании экстракта грязи из месторождения «Таборли-3» отмечали подавление роста только *Staphylococcus epidermidis*.

5) Водные экстракты пелоидов месторождения «Таборли-3» не проявили антимикробное действие в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida albicans* ATCC 10231. Водные экстракты пелоидов месторождения «Бакирово» подавили рост штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida albicans* ATCC 10231.