

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ
Направление: 06.04.01 - Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ
СООБЩЕСТВ

Работа завершена:

« 4 » 06 2022 г.



(А.В.Миронова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.б.н., ст. преподаватель
« 5 » 06 2022 г.



(Е.Ю.Тризна)

И.о. зав. кафедрой

д.б.н., доцент
« 6 » 06 2022 г.



(А.Р. Каюмов)

Казань-2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Стадии развития бактериальных биопленок	7
1.2. Формирование биопленок <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
1.2.1 Прикрепление бактерий к поверхности	8
1.2.2 Формирование и созревание трехмерной биопленки	9
1.2.3 Дисперсия (рассеивание) биопленки	12
1.3. Особенности взаимодействия бактерий в смешанных биопленках <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
1.4. Вторичные метаболиты <i>Staphylococcus aureus</i>	21
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	23
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	24
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1 Антибактериальные вещества, использованные в работе	24
2.2 Бактериальные штаммы	24
2.3 Питательные среды	24
2.4 Условия культивирования бактерий	25
2.5 Определение минимальной подавляющей концентрации и минимальной бактерицидной концентрации	25
2.6 Окраска различных компонентов матрикса биопленок	26
2.7 Определение проницаемости внеклеточного матрикса биопленок для антибактериальных веществ [Anderl, Franclin, 2000]	27
2.8 Получение бесклеточной культуральной жидкости	28

2.9 Подсчет КОЕ [Herigstad <i>et al.</i> , 2000].....	28
2.10 Резазуриновый тест	29
2.11 МТТ-тест.....	29
2.12 Статистическая обработка результатов.....	30
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	31
3.1 Характеристика проницаемости внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> для противомикробных препаратов.....	31
3.2 Оценка действия бесклеточной культуральной жидкости <i>S. aureus</i> в отношении грамотрицательных бактерий	36
3.3 Оценка эффективности сочетанного применения бесклеточной культуральной жидкости <i>S. aureus</i> с антибактериальными препаратами в отношении грамотрицательных бактерий	40
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	46

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КОЕ	Колонии образующая единица
BM	Питательная среда
LB	Питательная среда Лурия-Бертани
МПК	Минимальная подавляющая концентрация
МБК	Минимальная бактерицидная концентрация
МН	Питательная среда Мюллера-Хинтона
TSB	Питательная среда триптон соевый бульон
MTT	3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенил-тетразолиум бромид (реактив)
DMSO	Диметилсульфоксид
QS	Чувство кворума (англ. Quorum Sensing)
HQNO	N-оксид гептил-4-гидроксихинолин
AIP	Аутоиндуцирующий пептид (англ. Autoinducing peptide)
PSM	Фенол-растворимый модулин (англ. Phenol-soluble modulin)
EPS	Внеклеточные полимерные вещества (англ. Extracellular polymeric substances)
SCV	Вариант малых колоний (англ. Small colony variant)
PNAG	Полимер $\beta 1 \rightarrow 6$ -связанный N-ацетилглюкозамин
PIA	Полисахаридный межклеточный адгезин (англ. Polysaccharide intercellular adhesin)

ВВЕДЕНИЕ

Биопленки представляют собой сообщества бактерий, формирующиеся на различных поверхностях биологического и небиологического происхождения, и заключенных в экзополисахаридный матрикс, продуцируемый бактериальными клетками [Paharik *et al.*, 2016]. Формирование биопленки обеспечивает микроорганизмам защиту от широкого спектра агрессивных факторов окружающей среды, таких как воздействие УФ-излучения, токсичность металлов, воздействие кислот, обезвоживание и соленость [Schulze *et al.*, 2021]. Биопленки могут образовываться на медицинских устройствах, таких как контактные линзы, катетеры, протезы, сердечные клапаны и кардиостимуляторы, а также на различных поверхностях тела, включая кожу или слизистые оболочки дыхательных и пищеварительных путей [Yan and Bassler, 2019]. Они являются не только способом выживания и персистенции факультативных патогенов вне организма хозяина, но и важным резервуаром для инициации новых инфекций [Luo *et al.*, 2022]. В клинических условиях они являются одной из основных причин хронических инфекций [Reigada *et al.*, 2021].

Бактерии в составе с биопленок проявляют повышенную устойчивость к противомикробным соединениям [Beaudoin *et al.*, 2017, Orazi *et al.*, 2017, Briaud *et al.*, 2019]. Устойчивость к антибиотикам внутри биопленок может быть достигнута за счет множества факторов, включая метаболические изменения у бактерий внутри биопленки, снижение проникновения антибиотиков из-за внеклеточного матрикса, инактивацию антибиотика соединениями во внеклеточном матриксе и повышенный обмен механизмами бактериальной резистентности, в связи с высокой компетентностью клеток внутри биопленки [Otto, 2018, Schulze *et al.*, 2021].

В естественных условиях преобладают полимикробные биопленки, состоящие из нескольких видов микроорганизмов [Luo *et al.*, 2022]. Межмикробные взаимодействия в таких биопленках могут иметь

синергетический или антагонистический характер, и это может влиять на течение, лечение и исход заболевания, связанного с полимикробной инфекцией [Bernardy *et al.*, 2020, Thi *et al.*, 2020]. Кроме того, в составе полимикробных сообществ происходит смена метаболического профиля бактерий и как следствие изменение структуры и свойств биопленки в целом [Cendra *et al.*, 2019]. Эти изменения, в свою очередь, могут влиять на чувствительность бактерий в биопленках к антибиотикам [Hall *et al.*, 2017, Uruén *et al.*, 2020, Luo *et al.*, 2021, Singh *et al.*, 2021].

На данный момент исследования межвидовых взаимодействий в биопленках недостаточно широко представлены и механизмы, лежащие в основе бактериальной коммуникации, остаются не до конца изученными.

Целью работы являлось охарактеризовать изменения чувствительности к антибиотикам в смешанных бактериальных сообществах.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Охарактеризовать проницаемость внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* для противомикробных препаратов;
- 2) Оценить эффективность действия бесклеточной культуральной жидкости *S. aureus* в отношении грамотрицательных бактерий;
- 3) Оценить эффективность сочетанного применения бесклеточной культуральной жидкости *S. aureus* с антибактериальными препаратами в отношении грамотрицательных бактерий.



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Казанский (Приволжский) федеральный
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Миронова А.В.
Самоцитирование
рассчитано для: Миронова А.В.
Название работы: Молекулярные механизмы изменений чувствительности к антибиотикам бактериальных сообществ
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

ЗАИМСТВОВАНИЯ	2.55%	ЗАИМСТВОВАНИЯ	2.55%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	96.9%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	96.9%
ЦИТИРОВАНИЯ	0.55%	ЦИТИРОВАНИЯ	0.55%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 07.06.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 07.06.2022 15:36

Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Каюмов Айрат Рашитович

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.