

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт имени
А.Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета**

ФАКУЛЬТЕТ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

КАФЕДРА ИММУНОЛОГИИ

САКОВИЧ

Елизавета Александровна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ РОДОВ *LACTOBACILLUS* и *BIFIDOBACTERIUM*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:

канд. биол. наук, доцент

Грицкевич Евгений Ростиславович

МИНСК 2021

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: Физиолого-биохимические свойства молочнокислых бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, выделенных из пробиотических препаратов: 57 страниц, 21 рисунок, 11 таблиц, 49 источников.

Молочнокислые бактерии, пробиотические препараты, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, антибиотикорезистентность, антагонизм, амилалитическая активность, фосфатазная активность, каталазная активность, протеолитическая активность.

Объекты исследования: бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG, выделенные из пробиотического препарата «Нормобакт L», и бактерии *Bifidobacterium bifidum*, выделенные из пробиотического препарата «Бифидумбактерин сухой».

Цель работы: изучить физиолого-биохимические свойства молочнокислых бактерий, выделенных из пробиотических препаратов.

Полученные результаты и их новизна: в процессе проведения ряда исследований были выделены в чистую культуру бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG, входящие в состав пробиотического препарата «Нормобакт L», и *Bifidobacterium bifidum*, входящие в состав пробиотического препарата «Бифидумбактерин сухой».

В ходе изучения чувствительности бактерий *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Bifidobacterium bifidum* по отношению к антибактериальным препаратам было показано, что бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG, входящие в состав препарата «Нормобакт L», проявляют чувствительность к антибактериальным препаратам амоксициллин ($7\pm 0,3$ мм), ванкомицин ($20\pm 0,5$ мм) и цефазолин ($25\pm 0,3$ мм). Ко всем остальным препаратам отмечалась резистентность. Бактерии *Bifidobacterium bifidum*, входящие в состав препарата «Бифидумбактерин сухой», проявляли самую высокую чувствительность к препаратам тетрациклин ($34\pm 0,3$ мм), доксициклин ($37\pm 0,4$ мм) и цефазолин ($37\pm 0,5$ мм). Резистентность отмечалась к амоксициллину и ампициллину.

Мы наблюдали, что бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG, входящие в состав препарата «Нормобакт L», проявляли резистентность к большему числу антибактериальных препаратов, а зоны задержки роста к одинаковым препаратам значительно ниже, чем у бактерий *Bifidobacterium bifidum*, входящих в состав препарата «Бифидумбактерин сухой».

Было замечено, что обе бактерии имеют высокую антагонистическую активность по отношению к условно-патогенной микрофлоре. Максимальные зоны подавления роста со стороны *Lactobacillus rhamnosus* GG отмечались к следующим бактериям: *Proteus mirabilis* – $4,7\pm 0,4$ мм; *Proteus vulgaris* –

18,5±0,3 мм; *Escherichia coli* XL-1Blue – 4,3±0,7 мм; *Escherichia coli* ATCC 25922 – 7,2±0,4 мм. Со стороны *Bifidobacterium bifidum* эти были следующими: *Proteus mirabilis* – 4,4±0,5 мм; *Proteus vulgaris* – 13,1±0,6 мм; *Escherichia coli* XL-1Blue – 3,0±0,7 мм; *Escherichia coli* ATCC 25922 – 7,3±0,5 мм. Однако, наблюдалось полное отсутствие антагонистической активности у обеих исследуемых культур по отношению к *Escherichia coli* B.

В ходе исследования физиолого-биохимических свойств молочнокислых бактерий, выделенных из пробиотических препаратов, мы установили, что бактерии *Bifidobacterium bifidum* проявляют высокую амилалитическую (максимальная зона гидролиза крахмала равна 6±0,3 мм) и протеолитическую (зона просветления вокруг колонии равна 3±0,7 мм) активности. Фосфатазной и каталазной активностей у данной бактерии не наблюдалось. Бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG проявляют протеолитическую (зона просветления вокруг колонии равна 1±0,4 мм) и каталазную активности. Амилалитической и фосфатазной активностей у данной бактерии не отмечалось.

Бактерии *Lactobacillus rhamnosus* GG, входящие в состав пробиотического препарата «Нормобакт L», являются наиболее перспективными для создания пробиотических препаратов, эффективных для лечения расстройств и заболеваний желудочно-кишечного тракта, что обуславливается ярко выраженной антагонистической активностью данной бактерии к условно-патогенной микрофлоре, устойчивостью к большинству антибиотиков и проявлением каталазной и протеолитической активностей.

Таким образом, полученные результаты могут быть использованы в качестве методической рекомендации при разработке новых пробиотических препаратов.

Область применения: микробиология, медицина, биотехнология.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: Фізіёлага-біяхімічныя ўласцівасці малочнакіслых бактэрыяў родаў *Lactobacillus* і *Bifidobacterium*, выдзеленых з прабіятычных прэпаратаў: 57 старонак, 21 малюнак, 11 табліц, 49 крыніц.

Малочнакіслыя бактэрыі, прабіятычныя прэпараты, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, антыбіётыкарэзістэнтнасць, антаганізм, амілалітычная актыўнасць, фасфатазная актыўнасць, каталазная актыўнасць, пратэалітычная актыўнасць.

Аб'екты даследавання: бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG, выдзеленыя з прабіятычнага прэпарата «Нармабакт L», і *Bifidobacterium bifidum*, выдзеленыя з прабіятычнага прэпарата «Біфідабактэрын сухі».

Мэта работы: вывучыць фізіёлага-біяхімічныя ўласцівасці малочнакіслых бактэрыяў, выдзеленых з прабіятычных прэпаратаў.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: у працэсе правядзення шэрагу даследаванняў былі вылучаныя ў чыстую культуру бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG, якія ўваходзяць у склад прабіятычнага прэпарата «Нармабакт L», і *Bifidobacterium bifidum*, якія ўваходзяць у склад прабіятычнага прэпарата «Біфідумбактэрын сухі».

У ходзе вывучэння адчувальнасці бактэрыяў *Lactobacillus rhamnosus* GG і *Bifidobacterium bifidum* ў адносінах да антыбактэрыяльных прэпаратаў было паказана, што бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG, якія ўваходзяць у склад прэпарата «Нармабакт L», праяўляюць адчувальнасць да антыбактэрыяльных прэпаратаў амакцылін (7±0,3 мм), ванкамідын (20±0,5 мм) і цэфазалін (25±0,3 мм). Да ўсіх астатніх прэпаратаў адзначалася рэзістэнтнасць. Бактэрыі *Bifidobacterium bifidum*, якія ўваходзяць у склад прэпарата «Біфідумбактэрын сухі», праяўлялі самую высокую адчувальнасць да прэпаратаў тэтрацыклін (34±0,3 мм), даксіцыклін (37±0,4 мм) і цэфазалін (37±0,5 мм). Рэзістэнтнасць адзначалася да амаксіцыліну і ампіцыліну.

Мы назіралі, што бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG, якія ўваходзяць у склад прэпарата «Нармабакт L», праяўлялі рэзістэнтнасць да большай колькасці антыбактэрыяльных прэпаратаў, а зоны затрымкі росту да аднолькавых прэпаратаў значна ніжэй, чым у бактэрыі *Bifidobacterium bifidum*, якія ўваходзяць у склад прэпарата «Біфідумбактэрын сухі».

Было заўважана, што абедзве бактэрыі маюць высокую антаганістычных актыўнасць па адносінах да ўмоўна-патагеннай мікрафлоры. Максімальныя зоны падаўлення росту з боку *Lactobacillus rhamnosus* GG адзначаліся да наступных бактэрыяў: *Proteus mirabilis* - 4,7±0,4 мм; *Proteus vulgaris* - 18,5±0,3 мм; *Escherichia coli* XL-1Blue - 4,3±0,7 мм; *Escherichia coli* ATCC 25922 - 7,2±0,4 мм. З боку *Bifidobacterium bifidum* гэтыя былі наступнымі: *Proteus*

mirabilis - $4,4 \pm 0,5$ мм; *Proteus vulgaris* - $13,1 \pm 0,6$ мм; *Escherichia coli* XL-1Blue - $3,0 \pm 0,7$ мм; *Escherichia coli* ATCC 25922 - $7,3 \pm 0,5$ мм. Аднак, назіралася поўная адсутнасць антаганістычных актыўнасці ў абедзвюх доследных культур па адносінах да *Escherichia coli* B.

У ходзе даследавання фізіёлага-біяхімічных уласцівасцяў малочнакіслых бактэрый, выдзеленых з прабіятычных прэпаратаў, мы ўсталявалі, што бактэрыі *Bifidobacterium bifidum* праяўляюць высокую амілалітычную (максімальная зона гідролізу крухмалу роўная $6 \pm 0,3$ мм) і пратэалітычных (зона прасвятлення вакол калоніі роўная $3 \pm 0,7$ мм). Адзначана, што фасфатазнай актыўнасці ў дадзенай бактэрыі не назіралася. Бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG праяўляюць пратэалітычную (зона прасвятлення вакол калоніі роўная $1 \pm 0,4$ мм) і каталазную актыўнасці. Амілалітычнай і фасфатазнай актыўнасці ў дадзенай бактэрыі не адзначалася.

Бактэрыі *Lactobacillus rhamnosus* GG, якія ўваходзяць у склад прабіятычнага прэпарата «Нармабакт L», з'яўляюцца найбольш перспектыўнымі для стварэння прабіятычных прэпаратаў, эфектыўных для лячэння расстройтваў і захворванняў страўнікава-кішачнага тракту, што абумоўліваецца ярка выяўленай антаганістычных актыўнасцю дадзенай бактэрыі да ўмоўна-патагеннай мікрафлоры, устойлівасцю да большасці антыбіётыкаў і праявай каталазнай і пратэалітычнай актыўнасцей.

Такім чынам, атрыманыя вынікі могуць быць выкарыстаны ў якасці метадычнай рэкамендацыі пры распрацоўцы новых прабіятычных прэпаратаў.

Вобласць ўжывання: мікрабіялогія, медыцына, біятэхналогія.

ABSTRACT

Graduate work: Physiological and biochemical properties of lactic acid bacteria of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* isolated from probiotic preparations: 57 pages, 21 figures, 11 tables, 49 sources.

Lactic acid bacteria, probiotic drugs, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, antibiotic resistance, antagonism, amylolytic activity, phosphatase activity, catalase activity, proteolytic activity.

Objects of research: bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG, isolated from the probiotic drug "Normobact L", and *Bifidobacterium bifidum*, isolated from the probiotic drug "Bifidobacterin dry".

Purpose: to study the physiological and biochemical properties of lactic acid bacteria isolated from probiotic preparations.

The results obtained and their novelty: in the course of a number of studies, the bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG, which are part of the probiotic preparation "Normobact L", and *Bifidobacterium bifidum*, which are part of the probiotic preparation "Bifidobacterin dry", were isolated into a pure culture.

During the study of the sensitivity of the bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium bifidum* in relation to antibacterial drugs, it was shown that the bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG, which are part of the drug "Normobact L", exhibit sensitivity to antibacterial drugs amoxicillin (7 ± 0.3 mm) (20 ± 0.5 mm) and cefazolin (25 ± 0.3 mm). Resistance was noted to all other drugs. *Bifidobacterium bifidum* bacteria, which are part of the preparation "Bifidobacterin dry", showed the highest sensitivity to the drugs tetracycline (34 ± 0.3 mm), doxycycline (37 ± 0.4 mm) and cefazolin (37 ± 0.5 mm). Resistance was noted to amoxicillin and ampicillin.

We observed that the bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG, which are part of the drug "Normobact L", showed resistance to a greater number of antibacterial drugs, and the growth inhibition zones to the same drugs are much lower than that of the bacteria *Bifidobacterium bifidum*, which are part of the drug "Bifidobacterin dry".

It was noticed that both bacteria have a high antagonistic activity in relation to opportunistic microflora. The maximum zones of growth inhibition on the part of *Lactobacillus rhamnosus* GG were noted for the following bacteria: *Proteus mirabilis* - 4.7 ± 0.4 mm; *Proteus vulgaris* - 18.5 ± 0.3 mm; *Escherichia coli* XL-1Blue - 4.3 ± 0.7 mm; *Escherichia coli* ATCC 25922 - 7.2 ± 0.4 mm. From the side of *Bifidobacterium bifidum*, these were as follows: *Proteus mirabilis* - 4.4 ± 0.5 mm; *Proteus vulgaris* - 13.1 ± 0.6 mm; *Escherichia coli* XL-1Blue - 3.0 ± 0.7 mm; *Escherichia coli* ATCC 25922 - 7.3 ± 0.5 mm. However, there was a complete lack of antagonistic activity in both studied cultures in relation to *Escherichia coli* B.

In the course of studying the physiological and biochemical properties of lactic acid bacteria isolated from probiotic preparations, we found that the bacteria *Bifidobacterium bifidum* exhibit high amylolytic (the maximum zone of starch hydrolysis is 6 ± 0.3) and proteolytic (the clearing zone around the colony is 3 ± 0.7 mm). It was noted that no phosphatase activity was observed in this bacterium. *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteria exhibit proteolytic (clearance zone around the colony is 1 ± 0.4 mm) and catalase activity. Amylolytic and phosphatase activities were not observed in this bacterium.

The bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG, which are part of the probiotic drug "Normobact L", are the most promising for the creation of probiotic drugs that are effective for the treatment of disorders and diseases of the gastrointestinal tract, which is due to the pronounced antagonistic activity of this bacterium to conditionally pathogenic microflora, resistance to most antibiotics and the manifestation of catalase and proteolytic activities.

Thus, the results obtained can be used as a methodological recommendation for the development of new probiotic drugs.

Scope: microbiology, medicine, and biotechnology.