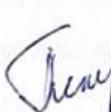


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА  
*AKKERMANSIA MUCINIPHILA* ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНИКА  
ЧЕЛОВЕКА

  
Выполнил: Валиахметова Диана  
Земфировна  
направление подготовки  
06.04.01 Биология направленность  
(профиль) Фундаментальная и прикладная  
микробиология  
  
Руководитель: Гимранова Ирина  
Анатольевна, к.м.н., заведующая кафедры  
Фундаментальной и прикладной  
микробиологии

Выпускная квалификационная  
работа допущена к защите:  
«17 » 06 2025 г.

Выпускная квалификационная работа  
защищена с оценкой «отлично»  
«24 » 06 2025 г.

Уфа, 2025

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.    Микрбиота кишечника .....	9
1.2    Дисбиоз кишечника .....	10
1.3    Роль кишечной микробыты в развитии заболеваний .....	12
1.4 <i>Akkermansia muciniphila</i> .....	16
1.5    Генетические и метаболические характеристики <i>Akkermansia muciniphila</i> .....	18
1.6    Роль <i>Akkermansia muciniphila</i> в метаболических процессах .....	21
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	30
2.1.    Объекты исследования.....	30
2.2.    Методика забора материала.....	30
2.3.    Подготовка реактивов для забора образцов .....	33
2.4.    Культивирование микроорганизмов .....	34
2.5.    Методика получения чистой культуры.....	41
2.6.    Идентификация исследуемого штамма.....	44
2.7.    Определение устойчивости исследуемого штамма микроорганизма к антибиотикам .....	47
2.8.    Метод перпендикулярных штрихов для определения антагонистической активности .....	48
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	51
3.1.    Выделение <i>Akkermansia muciniphila</i> из исследуемых образцов .....	51
3.2.    Идентификация <i>Akkermansia muciniphila</i> с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии.....	52
3.3.    Описание морфологических и тинкториальных свойств полученных штаммов <i>Akkermansia muciniphila</i> .....	53
3.4.    Сравнительная характеристика частоты идентификации <i>Akkermansia muciniphila</i> из различного биологического материала.....	54
3.5.    Определение антагонистических свойств выделенного штамма <i>Akkermansia muciniphila</i> к условно-патогенным микроорганизмам.....	56
3.6.    Определение антибиотикорезистентности к препаратам выделенного штамма <i>Akkermansia muciniphila</i> .....	57

ВЫВОДЫ.....	59
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	60

## ВВЕДЕНИЕ

Желудочно-кишечный тракт человека является сложной экосистемой, населенной разнообразными микроорганизмами. Бактерии составляют основную часть этой микробиоты и играют важнейшую роль в поддержании физиологического равновесия организма. Они оказывают значительное влияние на иммунную систему, метаболизм и общее состояние здоровья хозяина. Эти данные могут быть использованы для изучения новых возможностей и углубления понимания процессов метаболизма.

*Akkermansia muciniphila* выделяется как перспективная полезная бактерия нового поколения благодаря своему естественному присутствию в слизистом слое кишечника. Она обладает симбиотическими свойствами, которые способствуют расщеплению слизи и улучшению барьерной функции кишечника.

Некоторые исследования показывают, что наличие бактерии *Akkermansia muciniphila* связано с улучшением метаболизма глюкозы и повышением чувствительности к инсулину. Это открытие имеет особое значение для людей с предрасположенностью к диабету 2 типа, поскольку улучшение этих показателей может способствовать профилактике и контролю данного заболевания. Данные исследований свидетельствуют о том, что эта полезная бактерия в кишечной микробиоте может улучшать усвоение глюкозы и снижать уровень сахара в крови, что, в свою очередь, уменьшает риск развития диабета и его осложнений.

Кроме того, *Akkermansia muciniphila* может существенно способствовать снижению уровня воспалительных маркеров в организме. Это имеет особое значение, поскольку хроническое воспаление связано с развитием множества заболеваний, включая метаболический синдром и сердечно-сосудистые болезни. Хроническое воспаление может вызывать повреждение тканей и органов, а также негативно сказываться на общем состоянии здоровья. Поэтому поддержание оптимального уровня этой

бактерии может быть полезным для уменьшения воспалительных процессов и улучшения общего самочувствия.

Стоит подчеркнуть, что *Akkermansia muciniphila* играет ключевую роль в поддержании здоровья кишечной слизистой оболочки. Здоровая слизистая оболочка необходима для нормального функционирования кишечника и предотвращения различных заболеваний. Эта бактерия способствует укреплению барьерной функции кишечника, что помогает избежать повышенной проницаемости, известной как "синдром дырявого кишечника". Данное состояние связано с рядом заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона и язвенный колит. Увеличенная проницаемость может привести к попаданию токсинов и непереваренных остатков пищи в кровоток, что вызывает воспалительные реакции и нарушения иммунной системы. Поэтому поддержание баланса кишечной микробиоты, в частности благодаря *Akkermansia muciniphila*, является важным аспектом для сохранения здоровья и профилактики различных заболеваний.

Таким образом, благодаря своим благоприятным воздействиям на метаболизм и здоровье кишечника *Akkermansia muciniphila* рассматривается как перспективный кандидат для создания пробиотиков, способных способствовать контролю веса и улучшению метаболического состояния.

**Цель:** Получение чистой культуры *Akkermansia muciniphila* из содержимого толстого кишечника человека и исследование её биологических свойств.

**Задачи:**

1. Выделение и идентификация чистой культуры *Akkermansia muciniphila* из содержимого толстого кишечника человека, грудного молока, зубного камня;

2. Описание морфологических и тинкториальных свойств полученных штаммов *Akkermansia muciniphila*;
3. Сравнительная характеристика частоты идентификации *Akkermansia muciniphila* из различного биологического материала;
4. Определение антагонистических свойств выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* к условно-патогенным микроорганизмам;
5. Определение антибиотикорезистентности к препаратам выделенного штамма *Akkermansia muciniphila*.

**Практическая значимость.** Результаты этого исследования являются значительным вкладом, открывающим новые горизонты для разработки пробиотических препаратов и углубляющим наше понимание поддержания здоровой микробиоты. Они также способствуют созданию инновационных диагностических и терапевтических методов, которые учитывают индивидуальный состав микробиоты каждого пациента. Это позволит внедрить персонализированные подходы к восстановлению микробного баланса, что может значительно повысить эффективность лечения и профилактики заболеваний, связанных с кишечной микробиотой.

**Область применения результатов исследования.** Результаты исследования могут быть использованы для разработки индивидуализированных терапевтических подходов, направленных на восстановление микробиоты кишечника.

## **Участие в конференциях:**



## **Публикации:**

1. Характеристика особенности кишечной микробиоты у детей с избыточной массой тела / Д. З. Валиахметова, Г. Р. Газизуллина, Э. Р. Акрамова [и др.] // Интерпретация результатов лабораторных исследований :

Материалы XXIX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Москва, 01–03 апреля 2024 года. – Москва: Блок-Принт, 2024. – С. 49-50. – EDN WLGSQG.

2. Особенности питания и кишечной микробиоты у подростков с ожирением / З. А. Шангареева, И. А. Гимранова, Г. Р. Газиззулина [и др.] // Здоровое питание и нутриционная поддержка: медицина, образование, инновационные технологии : СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ XIX ВСЕРОССИЙСКОГО ФОРУМА, Санкт-Петербург, 08–09 ноября 2024 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургское региональное отделение общественной организации «Союз педиатров России», 2024. – С. 86-92. – EDN XJIEFS.

3. Исследование микробиоты стекловидного тела у пациентов с диабетическим макулярным отеком (первые результаты) / М. М. Бикбов, К. И. Кудоярова, И. А. Гимранова [и др.] // Точка зрения. Восток - Запад. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 15-19. – DOI 10.25276/2410-1257-2024-3-15-19. – EDN KLIGKN.

4. Микробиологическая характеристика конкриментов почек у пациентов с мочекаменной болезнью / В. Н. Павлов, А. М. Пушкарев, В. Л. Медведев [и др.] // Инновационная медицина Кубани. – 2024. – Т. 9, № 2. – С. 129-134. – DOI 10.35401/2541-9897-2024-9-2-129-134. – EDN NDXHME.

## **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1. Микробы кишечника**

Кишечная микробиота играет важную роль в поддержании гомеостаза как у людей, так и у других млекопитающих. Он отвечает за переваривание питательных веществ и метаболизм организма, обеспечивает "колонизационную устойчивость", защищая от патогенов, и регулирует иммунные реакции. Растущая распространённость метаболических заболеваний, таких как диабет 2-го типа, ожирение и сердечно-сосудистые заболевания, стала серьёзной проблемой общественного здравоохранения в последние десятилетия. Эти состояния не только влияют на качество жизни миллионов людей по всему миру, но и создают значительную нагрузку на системы здравоохранения, требуя больших затрат на лечение и профилактику. В связи с этим учёные и медицинские работники всё больше обращают внимание на факторы, способствующие возникновению этих заболеваний, среди которых важную роль играет микробиота кишечника [22].

Увеличивающееся количество исследований, посвященных микробиоте кишечника человека, открыло множество связей между кишечными микроорганизмами и различными аспектами здоровья. Эти исследования охватывают широкий спектр тем, включая влияние микробиоты на иммунную систему, метаболизм, психическое здоровье и возрастные изменения в организме [9]. Одним из ключевых аспектов этих взаимосвязей является дисбактериоз кишечника, состояние, при котором нарушается нормальный баланс микробиоты [18].

Современные исследования всё чаще показывают, что изменения в составе микробиоты кишечника — сообщества микроорганизмов, обитающих в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) — могут способствовать развитию и прогрессированию колоректального рака (КРР) [30].

Недавние исследования показывают, что *Akkermansia muciniphila*, один из представителей кишечной микробиоты, может значительно улучшать состояние при метаболических нарушениях. Этот микроорганизм рассматривается как перспективный «полезный микроб нового поколения», способный положительно влиять на метаболические процессы в организме. Данные исследований указывают на то, что *A. muciniphila* может снижать инсулинерезистентность, улучшать липидный профиль и уменьшать воспалительные процессы, что делает его многообещающим кандидатом для разработки новых подходов к профилактике и лечению метаболических заболеваний [56].

## 1.2 Дисбиоз кишечника

Дисбиоз представляет собой важное и многогранное понятие, которое занимает центральное место в современных исследованиях человеческого микробиома. Оно характеризует состояние, при котором нарушается естественный баланс микробов в организме, что может негативно сказаться на здоровье. Особенno важно изучать дисбиоз в связи с его возможными последствиями для различных заболеваний, поскольку изменения в микробиоме могут быть связаны с такими состояниями, как воспалительные заболевания кишечника, метаболический синдром, аллергические реакции и даже психические расстройства. Ученые активно исследуют различные аспекты дисбиоза, включая его причины, механизмы возникновения и влияние на здоровье человека [26].

Дисбактериоз может проявляться в разных формах и включает несколько основных компонентов. Во-первых, это может быть снижение числа комменсальных или ключевых таксонов — полезных бактерий, которые играют важную роль в поддержании здоровья кишечника и всего организма. Во-вторых, дисбактериоз может сопровождаться избыточным ростом патобионтов — микроорганизмов, способных вызывать заболевания или негативно сказываться на здоровье в определённых условиях. Это

состоение может привести к различным проблемам, таким как воспалительные заболевания кишечника, аллергические реакции и даже метаболические изменения в метаболическом потенциале микробиоты также играют ключевую роль в развитии дисбактериоза [29]. Микроорганизмы, обитающие в кишечнике, участвуют в сложных метаболических процессах, таких как переваривание пищи и синтез витаминов. При нарушении баланса микробиоты могут возникнуть проблемы с усвоением питательных веществ, что, в свою очередь, может привести к дефицитам и различным заболеваниям [5].

Кроме того, снижение микробного разнообразия является еще одним важным признаком дисбактериоза. Разнообразная микробиота обладает большей устойчивостью к внешним стрессовым факторам и лучше выполняет свои функции. Уменьшение этого разнообразия может ослабить защитные механизмы организма, делая его более подверженным инфекциям и другим заболеваниям. В человеческом кишечнике обитает несколько основных типов бактерий, среди которых выделяются *Bacillota* (ранее известные как *Firmicutes*), *Bacteroidota* (ранее именуемые *Bacteroidetes*), *Actinobacteriota*, *Pseudomonadota* (классифицировавшийся ранее как *Proteobacteria*) и *Verrucomicrobiota*. Эти микробные группы играют важную роль в поддержании здоровья и нормальном функционировании пищеварительной системы. Два из этих типов — *Bacillota* и *Bacteroidota* — составляют около 90% всей микробиоты кишечника, что подчеркивает их значимость для общего состояния организма. Они участвуют в ферментации пищевых волокон, в результате чего образуются короткоцепочечные жирные кислоты, являющиеся ключевыми источниками энергии для клеток кишечника и способствующие регуляции метаболизма и иммунной функции [47].

При избыточном весе и ожирении было обнаружено, что в кишечной микробиоте наблюдается значительно более низкая доля таких полезных

микроорганизмов, как бифидобактерии, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila*. Эти штаммы бактерий играют важную роль в поддержании здоровья кишечника и всего организма в целом [5].

### **1.3 Роль кишечной микробиоты в развитии заболеваний**

Многочисленные исследования показали, что существует значительная связь между микробиотой и различными заболеваниями, такими как метаболические расстройства, аутоиммунные заболевания, аллергии и даже психические расстройства. Однако следует отметить, что наличие этой связи не всегда указывает на причинно-следственные отношения. Это означает, что, хотя микробиота может ассоциироваться с определёнными состояниями здоровья, не всегда можно однозначно сказать, является ли она причиной этих заболеваний или же результатом других факторов [34].

Метаболический синдром и диабет 2-го типа являются сложными заболеваниями, тесно связанными между собой, и их распространённость в мире продолжает расти. Эти состояния затрагивают миллионы людей и создают серьёзные экономические и социальные проблемы для системы здравоохранения [1]. В последние годы внимание исследователей сосредоточилось на взаимосвязи между этими заболеваниями и кишечной микробиотой, что помогает глубже понять механизмы их возникновения [28].

Данные исследования указывают на то, что дисбаланс в составе микробиоты, называемый дисбиозом, может существенно влиять на развитие метаболического синдрома и диабета 2-го типа. Например, изменения в разнообразии и составе кишечных микробов могут приводить к нарушениям метаболизма глюкозы, повышению инсулинерезистентности и возникновению воспалительных процессов в организме [44].

Для лучшего понимания механизмов, стоящих за заболеваниями, связанными с микробиотой, научные исследования начинают смещать акцент с простого анализа ассоциаций на более глубокое изучение причинно-

следственных связей [10]. В этом контексте активно применяются современные методы, включая геномные и метагеномные анализы, а также экспериментальные модели на животных и клинические испытания на людях. Ученые стремятся выяснить, каким образом изменения в составе и функциях микробиоты могут влиять на возникновение и развитие различных заболеваний [23].

Различные исследования показали, что микробиотические профили пациентов с колоректальным раком значительно отличаются от профилей здоровых людей. [30, 19, 2]. Эти изменения могут быть связаны с нарушениями в метаболизме, воспалительными процессами и реакциями иммунной системы. Кроме того, состав микробиоты может варьироваться в зависимости от локализации опухоли — дистального или проксимального рака [17]. В фекальном микробиоме здоровых людей можно выделить четыре основных бактериальных типа: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, Протеобактерии и Актинобактерии. У пациентов с колоректальным раком наблюдается преобладание двух из этих типов: *Bacteroidetes*, представленных в основном родами *Porphyromonas* и *Prevotella*, а также *Firmicutes*, среди которых выделяются *Enterococcus* и *Streptococcus* [45, 12].

Исследование Ulger Y и др. было направлено на оценку клинического прогностического значения кишечного микробиома у пациентов с колоректальным раком (КРР) с использованием метагеномного анализа, а также на изучение микробного состава в образцах биопсии опухолевой ткани. В результате исследования было установлено, что у пациентов с КРР наблюдается значительное повышение уровней *Bacteroidetes*, *Clostridia* и *Enterococcus* на уровне таксономии типа. При сравнении с контрольной группой было выявлено заметное увеличение количества видов *Gemmiger formicilis*, *Prevotella copri* и *Ruminococcus bromii* на уровне таксономии видов [46].

В 2024 году García Menéndez G и соавторы провели исследование, в котором анализировали микробиом с использованием секвенирования и биоинформационического анализа образцов, полученных из стенки толстой кишки и внутренней части опухоли. Образцы были собраны путем соскоба во время хирургических вмешательств. Результаты показали, что относительная численность (RA) *Bacillota* и *Bacteroidota* была одинаковой как в толстой кишке, так и в опухолевой ткани. В то же время *Pseudomonadota* оказалась преобладающим таксоном в микроокружении опухоли, демонстрируя на 10,3% более высокую численность по сравнению с толстой кишкой. Кроме того, *Verrucomicrobia* в основном обнаруживалась в толстой кишке, тогда как *Fusobacteriota* преобладала в микроокружении опухоли [20].

Исследования также показывают, что повышенная распространённость штаммов *E. coli* с генным комплексом pks у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) может указывать на то, что эти бактерии играют роль в патогенезе колоректального рака (КРР). *E. coli* pks+ чаще обнаруживаются в опухолях у пациентов с CRC по сравнению с соседними нормальными тканями, а также в опухолях более поздних стадий. Это может указывать на то, что инфекция или колонизация кишечника этими штаммами могут быть связаны с прогрессированием заболевания. Эти штаммы способны производить колибактин, который вызывает повреждение ДНК и может способствовать неопластическим изменениям в клетках кишечного эпителия [8, 4].

Наличие различных таксонов, таких как *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Fusobacteriota*, подчеркивает сложность микробной экосистемы желудка. Особенно интересным является обнаружение бактерий полости рта (например, *Fusobacterium*), которые могут влиять на состояние микробиоты желудка и, возможно, на процесс канцерогенеза. Интересно, что высокая экспрессия IAT в опухолевых тканях была связана с улучшением выживаемости пациентов с гастроэнтеральным раком, что делает ее

потенциально важным прогностическим фактором для безрецидивной выживаемости. Кроме того, анализ уровней IAT и разнообразия микробиоты слизистой оболочки показал, что более высокая экспрессия IAT коррелирует с увеличением богатства и равномерности микробиоты в группе с высоким уровнем IAT. Это свидетельствует о возможном взаимодействии между микробиотой слизистой оболочки и иммунопатологическими процессами, связанными с опухолью [40].

Положительная корреляция между BDCA2+pDC (плазмоидные дендритные клетки) и Foxp3+Treg (регуляторные Т-клетки) может свидетельствовать о том, что эти клетки взаимодействуют в контексте опухолевого микроокружения, возможно, способствуя иммуносупрессии и прогрессии опухоли. Корреляции между определенными родами бактерий и иммунными клетками также подчеркивают потенциальное влияние микробиоты на иммунный ответ в опухолевом контексте. Например, положительная корреляция с *Stenotrophomonas* и *Selenomonas* может указывать на их возможную роль в поддержании или активации иммунного ответа, тогда как отрицательная корреляция с *Cotatonas* и *Gaiella* может свидетельствовать о их подавляющем влиянии на иммунные процессы [31].

Также стоит отметить, что *Helicobacter pylori* (НР) действительно является канцерогеном I класса и связан с развитием рака желудка, однако его уничтожение не гарантирует полное предотвращение этого заболевания. Это связано с тем, что рак желудка может развиваться под влиянием различных факторов, включая генетическую предрасположенность, диету, курение и другие микробиоты, которые могут оказывать влияние на слизистую оболочку желудка [57, 58].

По мере прогрессирования заболеваний, связанных с НР, наблюдается изменение микробиома желудка. Уменьшение численности НР может сопровождаться увеличением других патогенных или потенциально патогенных микроорганизмов, таких как *Firmicutes*, *Proteobacteria* и другие.

Эти изменения могут способствовать воспалению и другим процессам, связанным с канцерогенезом.

В 2022 году было выявлено три микробных сообщества в желудке, охватывающих все его ткани. Первое сообщество характеризовалось высоким содержанием *Helicobacter*, в то время как два других сообщества преобладали типами *Firmicutes* и *Proteobacteria* соответственно. В опухолевых тканях было обнаружено значительное количество бактерий, ассоциированных с гастроинтестинальными заболеваниями, таких как *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* и *Veillonella*, которые в основном входили в состав микробного сообщества *Firmicutes*. Кроме того, модели *Randomforest*, созданные на основе микробных сообществ с высоким содержанием *Helicobacter* и *Firmicutes*, продемонстрировали высокую эффективность в различении предраковых стадий с использованием различных донорских бактерий [32].

Исследования указывают на то, что определённые микробные сообщества, такие как *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* и *Phascolarctobacterium*, могут быть связаны с развитием гастроинтестинальных заболеваний, включая гастрит и рак желудка (ГХ). Комбинация *Lactobacillus* и *Streptococcus* в качестве специфического микробного маркера для ГХ открывает новые горизонты в диагностике. Эти бактерии могут служить индикаторами изменений в микробиоте, которые связаны с воспалительными процессами или предраковыми состояниями. Ранняя неинвазивная диагностика на основе анализа микробиоты может значительно улучшить выявление заболеваний на ранних стадиях и повысить эффективность лечения. [50].

#### **1.4 *Akkermansia muciniphila***

В 2004 году Мюриэль Дерриен в своей докторской диссертации, защищенной в Вагенингенском университете в Нидерландах, выделила из образцов здоровых человеческих фекалий бактерии, способные расти на

агарах с муцином. Эти микроорганизмы могут использовать муцин в качестве единственного источника питания, особенно на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта [37]. Её обнаружение как важного компонента кишечного микробиома, занимающего специфическую нишу в человеческом кишечнике, стало основой для новых гипотез о здоровье кишечника, значении полезных микроорганизмов и их взаимодействии с организмом. Хотя открытие этой бактерии произошло относительно недавно, *A. muciniphila* занимает ключевую роль в микробиоте человека [27].

*Akkermansia muciniphila* обладает способностью расщеплять кишечный муцин, который является основным компонентом слизистой оболочки кишечника. В процессе своего метаболизма эта бактерия преимущественно производит пропионовую и уксусную кислоты. Эти короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) имеют важное значение для здоровья кишечника, так как они служат источником энергии для эпителиальных клеток и обладают противовоспалительными свойствами. *A. muciniphila*, вероятно, играет ключевую роль в обеспечении конкурентного преимущества между организмом хозяина и микробами, способствуя балансировке микробиоты и поддержанию гомеостаза [13, 15]. Благодаря этому, *A. muciniphila* становится ключевым организмом на границе между просветом кишечника и клетками хозяина, выполняя важные функции в поддержании здоровья кишечной микробиоты.

Интересно отметить, что *Akkermansia muciniphila* является единственным культивируемым представителем группы *Verrucomicrobia* среди кишечных бактерий человека. Это делает её особенно важной для научных исследований, поскольку она может служить индикатором состояния микробиоты и здоровья кишечника. Кроме того, её легко идентифицировать с помощью современных филогенетических и метагеномных методов анализа, что открывает возможности для более глубокого изучения её функций и взаимодействий с другими микроорганизмами [15].

Исследования показывают, что *A. muciniphila* может играть роль в метаболизме и иммунной системе человека, а также связывается с различными состояниями здоровья, включая ожирение и диабет. Это делает её объектом активного изучения в области медицины и нутрициологии, так как понимание её функций может привести к разработке новых подходов к профилактике и лечению различных заболеваний [27].

Кроме того, *A. muciniphila* существует в симбиотических отношениях с хозяином. Это подразумевает, что она не только извлекает питательные вещества из организма, но и активно способствует поддержанию его здоровья. Бактерия передает сигналы иммунной и метаболической системам, что помогает регулировать иммунный ответ и процессы обмена веществ [21].

*Akkermansia muciniphila* приобретает всё большую значимость как модельный организм в научных исследованиях, посвящённых её влиянию на здоровье человека и структуру кишечного микробиома. Эта бактерия вызывает интерес у учёных благодаря своим уникальным характеристикам и потенциальным преимуществам для здоровья. В результате исследований наблюдается растущий интерес к разработке коммерческих продуктов на основе *A. muciniphila*. Исследователи создают генетические модели этой бактерии, что способствует более глубокому пониманию её биологических функций и механизмов действия. Также активно разрабатываются пробиотические составы с *A. muciniphila*, которые могут способствовать улучшению здоровья кишечника и общего состояния организма. Таким образом, *A. muciniphila* становится не только объектом научного изучения, но и многообещающим кандидатом для создания новых терапевтических решений в области гастроэнтерологии и микробиологии [33].

## **1.5 Генетические и метаболические характеристики *Akkermansia muciniphila***

*Akkermansia muciniphila* — это грамотрицательная, овальной формы, неподвижная анаэробная бактерия, не образующая спор и устойчивая к

кислороду. Она является частью нормальной микрофлоры кишечника человека и играет ключевую роль в поддержании здоровья. Бактерия была названа в честь Антона Д. Л. Аккерманса, что отражает её уникальную способность расщеплять муцин и эффективно использовать слизь как основной источник углерода и азота [37].

В 2011 году был успешно секвенирован геном бактерии *A. muciniphila*, что стало важным шагом в изучении её биологических характеристик и функциональных возможностей. Этот процесс секвенирования подтвердил её уникальную специализацию на расщеплении муцина, что является ключевым аспектом её роли в микробиоме кишечника. Кроме того, результаты исследования указали на её возможную функцию на границе между просветом кишечника и клетками хозяина, что подчеркивает значимость этой бактерии в поддержании здоровья кишечной микрофлоры и взаимодействия с клетками организма. Геном *A. muciniphila* имеет размер 2,7 мегабаз, что позволяет ему содержать обширную информацию о различных белках, необходимых для выполнения её функций. В частности, он включает данные о 61 белке, связанном с деградацией муцина. Это количество составляет примерно 2,8% от общего числа предсказанных белков в геноме. Среди этих белков можно выделить различные классы ферментов, такие как гликозилгидролазы, протеазы, сульфатазы и сиалидазы. Эти ферменты играют ключевую роль в процессе расщепления муцина, позволяя *A. muciniphila* эффективно использовать муцин в качестве источника питательных веществ и энергии [48].

Исследование показало, что 43% всех белков, которые, как предполагается, выделяются в окружающую среду, являются гипотетическими белками. Многие из них могут играть роль в деградации и переработке муцина. Пассел и его команда провели глубокий геномный анализ *A. muciniphila*, который обнаружил два локуса CRISPR и большое количество последовательностей, полученных от вирусов. Это указывает на

значительное влияние вирусных инфекций на эволюционное развитие и процесс формирования новых видов *A. muciniphila* [6].

Хотя стандартный штамм *A. muciniphila*, известный как МисТ (ATCC BAA-835), стал объектом широких исследований, недавние исследования выявили множество других штаммов этого микроорганизма, которые значительно отличаются как по геномным, так и по фенотипическим характеристикам. В результате комплексного геномного анализа было обнаружено 215 различных штаммов и 234 изолята *A. muciniphila*, доступных в базе данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI). Эти штаммы можно классифицировать на отдельные клады на основе их последовательностей 16S рРНК, что указывает на то, что *A. muciniphila* представляет собой сложную и разнообразную группу, возможно, обладающую различными подвидовыми характеристиками и уникальными свойствами [36].

Штаммы *A. muciniphila* отличаются не только своим генетическим составом, но и набором генов, что может значительно влиять на их функциональные возможности и взаимодействия в кишечном микробиоме. Например, некоторые из этих штаммов варьируются по уровню выработки короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые играют важную роль в поддержании здоровья желудочно-кишечного тракта и метаболических процессов организма [55]. Также наблюдаются значительные различия в толерантности к кислороду между штаммами *A. muciniphila*, что критически важно для их успешной колонизации эпителиальной поверхности кишечника [7]. Эти вариации могут существенно влиять на способность штаммов адаптироваться к различным условиям микробной среды и взаимодействовать с другими компонентами кишечного микробиома, что, в свою очередь, может иметь долгосрочные последствия для здоровья человека [36].

Исследование, проведенное Беккен и ее коллегами, выявило, что бактерия *A. muciniphila* обладает большей приспособляемостью, чем считалось ранее. Ученые установили, что различные штаммы этой бактерии способны не только выживать, но и успешно развиваться в условиях низкого содержания кислорода. Это открытие имеет важное значение, так как микроаэрофильные условия, характерные для кислородного уровня вблизи слизистой желудочно-кишечного тракта, являются естественной средой обитания для *A. muciniphila*. Результаты исследования показывают, что эта бактерия может адаптироваться к изменениям в окружающей среде, что позволяет ей эффективно конкурировать с другими микроорганизмами за ресурсы и пространство [7].

### **1.6 Роль *Akkermansia muciniphila* в метаболических процессах**

Различные исследования показали, что бактерия *Akkermansia muciniphila* играет важную роль в метаболизме кишечника, разлагая и вырабатывая энергию за счет разложения муцина, который выделяется слизистой оболочкой кишечника. Муцин — это высокомолекулярный гликопротеин, который образует защитный слой на поверхности кишечной стенки, обеспечивая ее целостность и защищая от патогенов и агрессивных факторов [39]. Это, в свою очередь, играет ключевую роль в поддержании баланса муцина в организме. Недостаток муцина может привести к различным негативным последствиям для здоровья, включая усиленную активацию гликолиза и других метаболических процессов, отвечающих за выработку энергии.

Когда уровень муцина снижается, это может вызвать изменения в метаболизме клеток, что, в свою очередь, приводит к тому, что организм начинает искать альтернативные источники энергии. Усиленная активация гликолиза — это один из ответов на дефицит муцина, поскольку клетки начинают более активно перерабатывать глюкозу для получения необходимой энергии. Однако такая перестройка метаболизма может иметь

свои недостатки, включая увеличение образования молочной кислоты и возможное развитие метаболического стресса [43, 16].

Исследования показали, что 2023 году были проведены исследования, направленные на изучение влияния на метаболизм желчных кислот и метаболических процессов при метаболически-ассоциированной жировой болезни печени. В эксперименте использовались мыши породы C57BL/6, разделенные на три группы в зависимости от рациона: группа с низким содержанием жиров, группа с высоким содержанием жиров и группа с высоким содержанием жиров, дополненная *Akkermansia muciniphila*. Результаты показали, что *A. muciniphila* может улучшать метаболизм желчных кислот, регулируя кишечную ось FXR-FGF15 и изменяя структуру и функции кишечной микробиоты. Это сопровождалось уменьшением количества *Alistipes*, *Lactobacilli*, *Tyzzerella*, *Butyricimonas* и *Blautia*, а также увеличением *Ruminiclostridium*, *Oscillibacter*, *Allobaculum*, *Anaeroplasma* и *Rikenella* [52].

В исследовании, проведённом Ву В. и его коллегами, было установлено, что добавление *A. muciniphila* способствовало снижению веса, а также уменьшению стеатоза и повреждений печени, вызванных диетой с высоким содержанием жиров. Кроме того, *A. muciniphila* изменяла состав кишечной микробиоты: наблюдалось снижение количества бактерий *Alistipes*, *Lactobacilli*, *Tyzzerella*, *Butyricimonas* и *Blautia*, а также увеличение числа *Ruminiclostridium*, *Osclibacter*, *Allobaculum*, *Anaeroplasma* и *Rikenella*. Эти изменения в составе микробиоты кишечника имели значительную корреляцию с уровнями желчных кислот [53].

Количество бактерии *Akkermansia muciniphila* в кишечнике заметно уменьшается у пациентов, страдающих от сахарного диабета 1 типа (СД1). Это уменьшение связано с рядом метаболических и иммунологических изменений, которые могут негативно сказаться на состоянии здоровья. *A. muciniphila* обладает уникальной способностью снижать уровни эндотоксина

в сыворотке крови, что может быть особенно важно для людей с диабетом, поскольку высокие уровни эндотоксинов ассоциируются с воспалительными процессами и ухудшением метаболического состояния.

Кроме того, данная бактерия стимулирует секрецию слизи и экспрессию Reg3 $\gamma$  у мышей с диабетом (модель NOD), которые не страдают от ожирения. Это свидетельствует о ее способности поддерживать целостность кишечного барьера и защищать организм от воспалительных процессов. *A. muciniphila* ингибирует развитие сахарного диабета 1 типа, снижая экспрессию Toll-like рецепторов (TLR), что, в свою очередь, уменьшает инфильтрацию островковых клеток поджелудочной железы моноцитами. Это важно, так как избыточная инфильтрация моноцитов может приводить к разрушению бета-клеток и прогрессированию диабета.

Кроме того, *A. muciniphila* способствует увеличению количества регуляторных Т-клеток Foxp3+, которые играют ключевую роль в поддержании иммунного гомеостаза и предотвращении аутоиммунных реакций. Таким образом, поддержание нормального уровня *A. muciniphila* в кишечной микробиоте может оказывать значительное влияние на профилактику и контроль сахарного диабета 1 типа, а также на общее состояние здоровья пациента [59].

В 2021 году проведенные исследования продемонстрировали, что бактерия *Akkermansia muciniphila*, особенно в пастеризованном виде, вызывает значительные изменения в метаболизме организма. Эти изменения проявляются в увеличении уровня ряда метаболитов, которые ранее связывали с положительным воздействием на здоровье человека. Полученные результаты убедительно свидетельствуют о том, что *A. muciniphila* не оказывает прямого воздействия на организм, а действует косвенно. Она влияет на кишечную микробиоту, создавая условия для производства так называемых «полезных метаболитов» и «доброжелательных бактерий». Это открытие подчеркивает важность *A.*

*muciniphila* как ключевого игрока в поддержании здоровья кишечника и общего состояния организма, поскольку она способствует формированию благоприятной микробной среды, которая может оказывать положительное влияние на различные аспекты здоровья, включая метаболизм и иммунный ответ [25].

*A. muciniphila* действительно синтезирует термостойкий белок, известный как Amuc1100. Этот белок играет важную роль в взаимодействии с Toll-подобными рецепторами 2 и 4, которые располагаются на клетках хозяев. В ходе экспериментов *in vitro* было установлено, что рекомбинантный белок Amuc1100 способен снижать трансэпителиальное электрическое сопротивление в монослоях клеток Caco-2. Это наблюдение позволяет предположить, что Amuc1100 может оказывать значительное влияние на улучшение функциональности кишечного барьера.

Снижение электрического сопротивления указывает на возможные изменения в проницаемости клеточных мембран, что может быть связано с улучшением или восстановлением барьерной функции кишечника. Таким образом, Amuc1100 может способствовать поддержанию здоровья кишечника, а также оказывать положительное влияние на защитные механизмы организма. Эти результаты подчеркивают *важность Akkermansia muciniphila* и ее белка Amuc1100 в контексте изучения заболеваний, связанных с нарушением кишечного барьера, и открывают новые перспективы для разработки терапевтических стратегий на основе пробиотиков. [14].

*A. muciniphila* — анаэробная бактерия, что означает, что она чувствительна к кислороду и предпочитает расти в бескислородной среде. Это создает определенные трудности при ее культивировании и применении в медицинской практике. Кроме того, для ее роста требуются специфические питательные вещества, которые чаще всего содержатся в продуктах

животного происхождения, что может ограничивать ее использование в вегетарианских и веганских диетах.

Оттман и его коллеги разработали метаболическую модель в масштабе генома, которая предназначена для тщательной оценки способности бактерии *A. muciniphila* использовать различные субстраты. В рамках этого исследования было установлено, что *A. muciniphila* обладает способностью эффективно использовать моносахариды, извлекаемые из муцина, включая такие соединения, как фукоза, галактоза и N-ацетилглюкозамин. Эти дополнительные компоненты, получаемые из муцина, играют важную роль и могут быть необходимы для достижения оптимального роста и развития данной бактерии. Таким образом, результаты работы Оттмана и его команды подчеркивают значимость этих моносахаридов в метаболических процессах *A. muciniphila* и их влияние на ее жизнеспособность и функциональность [38].

Исследования, проведенные Генри Уэйдом и его коллегами, показали, что бактерия *Akkermansia muciniphila* оказывает значительное влияние на кишечник. Этот штамм активирует белок CREBH, который играет важную роль в регуляции различных клеточных процессов. Активация CREBH способствует подавлению стресса эндоплазматического ретикулума, что является критически важным для поддержания нормальной функции клеток кишечника. Кроме того, *Akkermansia muciniphila* усиливает экспрессию генов, которые участвуют в поддержании целостности кишечного барьера. Это особенно важно, поскольку целостный кишечный барьер помогает предотвращать проникновение патогенов и токсинов в организм. Увеличение экспрессии этих генов также связано с процессами регенерации энтероцитов (IEC), что способствует восстановлению и поддержанию здоровья кишечной стенки [49].

Другие исследователи провели серию экспериментов, в ходе которых было установлено, что увеличение количества кишечных бактерий

*Akkermansia muciniphila* оказывает защитное воздействие на организм, особенно при острой и хронической гиперлипидемии. Это связано с повышением уровня экспрессии рецептора липопротеинов низкой плотности (LDL), который играет важную роль в метаболизме липидов и поддержании нормального уровня холестерина [42].

Кроме того, было отмечено, что *Akkermansia muciniphila* способствует снижению стресса эндоплазматического ретикулума в печени. Это имеет ключевое значение для предотвращения различных заболеваний печени, связанных с метаболическими нарушениями. Стресс эндоплазматического ретикулума может активировать воспалительные процессы, что негативно сказывается на здоровье [42].

В экспериментах с мышами, имеющими дефицит CREBH (клеточного регулятора экспрессии белка, связанного с гиперлипидемией), было показано, что увеличение количества *Akkermansia muciniphila* не только снижает воспалительные реакции, но и улучшает общее состояние организма. Эти результаты подчеркивают значимость микробиома кишечника и его влияние на метаболические процессы, а также открывают новые терапевтические перспективы для лечения заболеваний, связанных с нарушениями липидного обмена и воспалением [42].

В ходе исследования был проведён количественный анализ мРНК кишечных цитокинов с помощью полимеразной цепной реакции, который показал, что как *Akkermansia muciniphila*, так и Amuc\_1100 эффективно снижают повышенную экспрессию фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкина-6 (IL-6), вызванную лечением 5-фторурацилом. Эти цитокины играют ключевую роль в воспалительных процессах, и их избыточная продукция может способствовать развитию различных заболеваний. Результаты исследования продемонстрировали, что оба микроорганизма не только уменьшают уровень этих провоспалительных цитокинов, но также

снижают активацию везикул с пириновым доменом 3 (NLRP3), которые участвуют в регуляции воспалительных реакций [11].

*Akkermansia muciniphila* и Amuc\_1100 показали значительное снижение массы тела у мышей с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) и способствовали уменьшению уровней аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови. Эти результаты сопоставимы с эффектами, наблюдаемыми при лечении аторвастатином, что подчеркивает их потенциальную роль в борьбе с метаболическими расстройствами [41].

Кроме того, *Akkermansia muciniphila* и Amuc\_1100 значительно улучшали липидный профиль в сыворотке, что является важным для пациентов с НАЖБП, так как это заболевание часто связано с дислипидемией. Снижение концентрации липополисахаридов (ЛПС) в сыворотке также указывает на то, что эти микроорганизмы могут играть ключевую роль в снижении системного воспаления, связанного с метаболическими нарушениями [41].

В толстой кишке было зафиксировано увеличение экспрессии мРНК белков плотных соединений, что может свидетельствовать о повышении барьерной функции кишечника. Это особенно важно, поскольку нарушение барьера может привести к транслокации бактерий и их продуктов в системный кровоток, что усугубляет воспалительные процессы [11].

Белок Amuc1100, получаемый из микробиоты кишечника, является важным компонентом внешней мембраны бактерии *Akkermansia muciniphila*. Этот белок привлек внимание исследователей благодаря своим уникальным структурным и функциональным характеристикам, которые открывают новые возможности для терапии различных заболеваний. Amuc1100 обладает разнообразным иммунно-метаболическим воздействием, что делает его перспективным терапевтическим агентом [54].

Основным механизмом действия Amuc1100 является его способность модулировать сигнальные пути, такие как TLR2/4 и JAK/STAT. Эти пути играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа и метаболических процессов в организме. Модуляция TLR (рецепторов Toll-подобных) позволяет Amuc1100 влиять на активацию иммунных клеток, что может привести к снижению воспалительных реакций и улучшению состояния при различных метаболических нарушениях [54].

Путь JAK/STAT, в свою очередь, отвечает за передачу сигналов от цитокинов и играет важную роль в поддержании гомеостаза в организме. Влияние Amuc1100 на эти сигнальные пути может способствовать улучшению функций иммунной системы и метаболизма, что делает его многообещающим кандидатом для разработки новых методов лечения, направленных на коррекцию метаболических расстройств и воспалительных заболеваний [54].

В ходе проведенных исследований были выявлены гены, которые играют важную роль в деградации муцина, взаимодействии с хозяином и других значимых метаболических процессах, связанных с бактерией *A. muciniphila*. Например, метагеномный анализ кишечной микробиоты у пациентов с диабетом 2-го типа показал наличие генов, связанных с *A. muciniphila*, способствующих повышению чувствительности к инсулину. Это открытие подчеркивает важность данной бактерии для метаболического здоровья [24].

Метатранскриптомика представляет собой метод исследования, позволяющий анализировать транскрипты РНК из сложных микробиальных сообществ, что дает возможность изучить активную экспрессию генов в различных физиологических условиях. Например, данный метод был успешно использован для анализа профилей экспрессии генов *A. muciniphila* в кишечной микробиоте мышей, которые питались диетой с высоким содержанием жиров. Результаты этих исследований показали, что *A.*

*muciniphila* способна адаптировать свой метаболизм в ответ на изменения в рационе хозяина. Это свидетельствует о ее потенциальной роли в метаболических изменениях, связанных с диетическими факторами, и подчеркивает значимость этой бактерии для поддержания здоровья кишечника и общего метаболического состояния организма [3].

Бактерия *Akkermansia muciniphila*, находящаяся в кишечнике человека, играет важную роль в состоянии желудочно-кишечного барьера. Исследования показывают, что при определенных условиях она может нарушать барьерную функцию кишечника, что может привести к различным заболеваниям и расстройствам [35].

Тем не менее, следует отметить, что *Akkermansia muciniphila* также рассматривается как перспективный пробиотик. Ее уникальные свойства могут оказывать благоприятное влияние на организм, особенно в условиях высотной гипоксии, которая может возникать при различных клинических ситуациях, таких как пребывание на высоких высотах или некоторые заболевания [35].

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **2.1. Объекты исследования**

Для реализации данного исследования была тщательно сформирована группа здоровых людей без лишнего веса, обращающихся в поликлинику для планового осмотра. Все участники исследования были совершеннолетними, что является важным требованием для участия в подобных научных проектах. Кроме того, каждый из них предоставил информированное согласие на участие, что обеспечивает этичность и законность проведения исследования.

Перед началом исследования каждый участник заполнил анкету, содержащую различные персональные данные, включая фамилию, имя и отчество, пол, а также информацию о наличии или отсутствии сопутствующих заболеваний. Анкета также включала сведения о принимаемых лекарственных препаратах, если таковые имелись у участников. Кроме того, в анкету были добавлены анамнестические данные, которые могут быть важны для анализа и интерпретации результатов. Этот процесс сбора информации был нацелен на формирование полной картины здоровья участников и их медицинской истории, что является необходимым для получения достоверных результатов исследования.

### **2.2. Методика забора материала**

В процессе данного исследования для сбора клинического материала применялись разнообразные методы забора биоматериала, что позволило получить более широкий и репрезентативный набор данных. В качестве основных образцов для анализа использовались утренний кал, грудное молоко и зубной камень. Участники исследования были отобраны из возрастной группы 20-30 лет, при этом особое внимание уделялось отсутствию у них сопутствующих заболеваний и признаков избыточного

веса. Эти критерии были критически важны для обеспечения однородности выборки и повышения надежности полученных данных.

Все этапы забора материала проводились с максимальной осторожностью для предотвращения загрязнения образцов посторонними микроорганизмами. Это включало использование стерильных инструментов и контейнеров, а также соблюдение всех необходимых гигиенических стандартов. Такой подход обеспечивал чистоту и достоверность собранных образцов для дальнейшего анализа, что, в свою очередь, способствовало получению надежных и валидных результатов исследования.

Для забора образцов использовались специализированные среды и емкости, подобранные в зависимости от типа исследуемого материала. Стерильная баночка применялась для сбора образцов кала, обеспечивая защиту от загрязнений и соответствие требованиям для последующего анализа. Для молока использовалась коммерческая среда, специально разработанная для оптимального сохранения его свойств в процессе транспортировки. Для сбора образцов зубного камня использовалась пробирка с транспортной средой, что сыграло ключевую роль в поддержании качества образца. В качестве транспортной среды был выбран ВНІ бульон (Brain Heart Infusion Broth) с добавлением 0,5% муцина. Эта комбинация была выбрана не случайно: она эффективно сохраняет жизнеспособность микроорганизма на протяжении всего времени транспортировки в лабораторию. Выбор данной среды обусловлен ее способностью поддерживать стабильность искомого штамма, что крайне важно для получения достоверных результатов исследования. Таким образом, все компоненты набора были тщательно продуманы и подобраны для обеспечения максимальной надежности и точности анализа.

После проведения забора, собранный материал немедленно помещался в специализированные среды и емкости, подобранные в зависимости от типа исследуемого материала, обеспечивая герметичность и предотвращая потерю или изменение состава образца. В пробы зубного камня и грудного молока

добавляли вазелин, чтобы сохранить анаэробные условия. Фекалии заполняли полностью контейнер для поддержания также анаэробных условий. Пробирки с образцами маркировались, обеспечивая надлежащую идентификацию и были доставлены в специализированную микробиологическую лабораторию в течение двух часов для дальнейшего анализа.

Все полученные материалы были своевременно доставлены в бактериологическую лабораторию Микробиом человека ФГБОУ ВО БГМУ. В лаборатории проводилось культивирование образцов на различных питательных средах, что позволяло глубоко изучить микробиом и его компоненты, а также осуществлять дополнительные анализы для получения более точных и информативных результатов. Процесс культивирования был организован с соблюдением всех необходимых протоколов и стандартов, что гарантировало надежность полученных данных.

#### Общая схема исследования:

1. Забор клинического материала у здоровых людей;
2. Метод культурального посева кала, грудного молока и зубного камня на питательные среды;
3. Получение чистых культур;
4. Идентификация чистых культур полученных штаммов методом масс-спектрометрии;
5. Описание морфологических и тинкториальных свойств полученных штаммов;
6. Исследование антагонистических свойств выделенного штамма к условно-патогенным микроорганизмам;
7. Исследование антибиотикорезистентности к препаратам выделенного штамма;
8. Анализ полученных данных.

### 2.3. Подготовка реагентов для забора образцов

Перед забором образцов была подготовлена транспортная среда ВНІ бульон (Brain Heart Infusion Broth), которая обеспечивает сохранность штаммов в процессе транспортировки в лабораторию для последующего анализа (рисунок 1).



Рисунок 1. Питательная среда ВНІ бульон (Brain Heart Infusion Broth) (Himedia)

Набор реагентов представляет собой комбинацию сухих компонентов в пропорциях, выраженных в граммах на литр (г/л):

1. Настой мозга теленка – 12,50
2. Настой коровьего сердца – 5,00
3. Протеозопептон – 10,00
4. Глюкоза – 2,00

5. Натрия хлорид – 5,00
6. Натрий гидрофосфат – 2,50

Этапы приготовление ВНІ бульон:

1. В мерном цилиндре было отмерено 1 литр дистиллированной воды;
2. В ТС-колбу добавили воду и подогрели её;
3. В 1 литре дистиллированной воды растворили 37,0 г препарата;
4. Смесь кипятили на протяжении 3 минут;
5. Полученную смесь профильтровали через бумажный фильтр;
6. Готовую среду разлили по стерильным емкостям;
7. Стерилизовали среду в автоклаве при температуре 121°C в течение 15 минут.
8. Проверили, что pH готовой среды составляет 7,5 с помощью лакмусовой бумаги;
9. Добавили 0,5% муцина.

Перед использованием бульон ВНІ был охлажден до комнатной температуры. В процессе охлаждения он приобрел желтоватый оттенок, указывающий на его готовность к дальнейшему применению. Среда хранилась в условиях с оптимальным температурным режимом от 2 до 8 °C, что способствовало сохранению её свойств и предотвращению порчи. В течение семи дней бульон применялся в различных экспериментах и исследованиях, что подтверждает его стабильность и эффективность в этот период.

## **2.4. Культивирование микроорганизмов**

Культивирование микроорганизмов представляет собой специализированный метод, позволяющий размножать микроорганизмы в специально подготовленной питательной среде, учитывающей их потребности. Этот процесс проходит в контролируемых лабораторных условиях, что гарантирует стабильность и предсказуемость получаемых результатов. Ключевым моментом в культивировании является выбор

соответствующей питательной среды, состав которой может изменяться в зависимости от типа микроорганизмов, которые планируется вырастить.

Питательные среды должны включать все необходимые компоненты, такие как углероды, азот, витамины и минералы, которые способствуют росту и размножению микроорганизмов. Они могут быть как жидкими, так и твердыми, и их состав может быть обогащен различными добавками для улучшения условий роста. Например, для некоторых бактерий могут потребоваться специфические источники углеродов или дополнительные факторы роста, такие как аминокислоты или экстракты дрожжей.

Также следует принимать во внимание условия окружающей среды, такие как температура, pH и уровень кислорода, так как они имеют решающее значение для успешного культивирования. Все эти параметры должны находиться под строгим контролем, чтобы обеспечить максимальную эффективность и продуктивность процесса размножения микроорганизмов. В итоге, культивирование микроорганизмов является сложным и многоуровневым процессом, требующим глубоких знаний в области микробиологии и биотехнологии.

В микробиологии питательные среды занимают важное место и делятся на универсальные и специальные в зависимости от их назначения и использования. Универсальные среды общего назначения создают оптимальные условия для роста различных видов бактерий. Обычно они содержат основные питательные вещества, такие как углеводы, белки, витамины и минералы, необходимые для жизнедеятельности микроорганизмов. Кроме того, универсальные среды служат основой для разработки специализированных формул, так как обеспечивают базовые условия для создания более сложных сред.

С другой стороны, специальные питательные среды разрабатываются с конкретной целью — для культивирования тех бактерий, которые плохо или совсем не растут на универсальных средах. Такие среды могут содержать специфические добавки или ингибиторы, способствующие росту

определенных микроорганизмов и подавляющие нежелательные виды. Специальные среды могут быть адаптированы для изучения патогенных бактерий, симбиотических микроорганизмов или для проведения экспериментов по селекции и генетической модификации. Таким образом, правильный выбор питательной среды является ключевым шагом в микробиологических исследованиях и их практическом применении.

В ходе наших исследований мы применили питательную среду ВНИ агар.

ВНИ агар (Brain Heart Infusion Agar) представляет собой питательную среду, широко используемую в микробиологии для культивирования разнообразных микроорганизмов, включая как бактерии, так и грибы. Эта среда обогащена экстрактами мозга и сердца, что делает её отличным источником необходимых питательных веществ для роста многих требовательных к условиям микроорганизмов. В её состав входят экстракты мозга и сердца, пептон, NaCl, агар и дистиллированная вода. Для достижения специфических целей в некоторые случаи могут добавляться дополнительные компоненты, такие как глюкоза или кровяной агар. В рамках нашего исследования мы также добавили муцин (рисунок 2).



Рисунок 2. ВНІ агар (Brain Heart Infusion Agar) (Himedia)

После приготовления питательной среды наступает важный этап — бактериологический посев образцов на твердую среду, который проводится в чашках Петри. Этот процесс требует высокой точности и строгого соблюдения стерильности, чтобы избежать загрязнения. Для выполнения посева применяются специальные инструменты, такие как бактериологическая петля и шпатель. Бактериологическая петля обеспечивает равномерное распределение образцов по поверхности среды, создавая идеальные условия для роста микроорганизмов. Шпатель, в свою очередь, используется для переноса крупных образцов или для равномерного размазывания материала по агаровой среде.

В зависимости от исследуемого материала применялись разные методы посева образцов на питательные среды. Для грудного молока использовался дозатор объемом 100 мкл, который позволял аккуратно набирать образец и

равномерно распределять его по поверхности чашки Петри. Затем шпателем производилось тщательное втиранье молока в питательную среду, что обеспечивало более эффективный контакт микроорганизмов с питательными компонентами (рисунок 3).

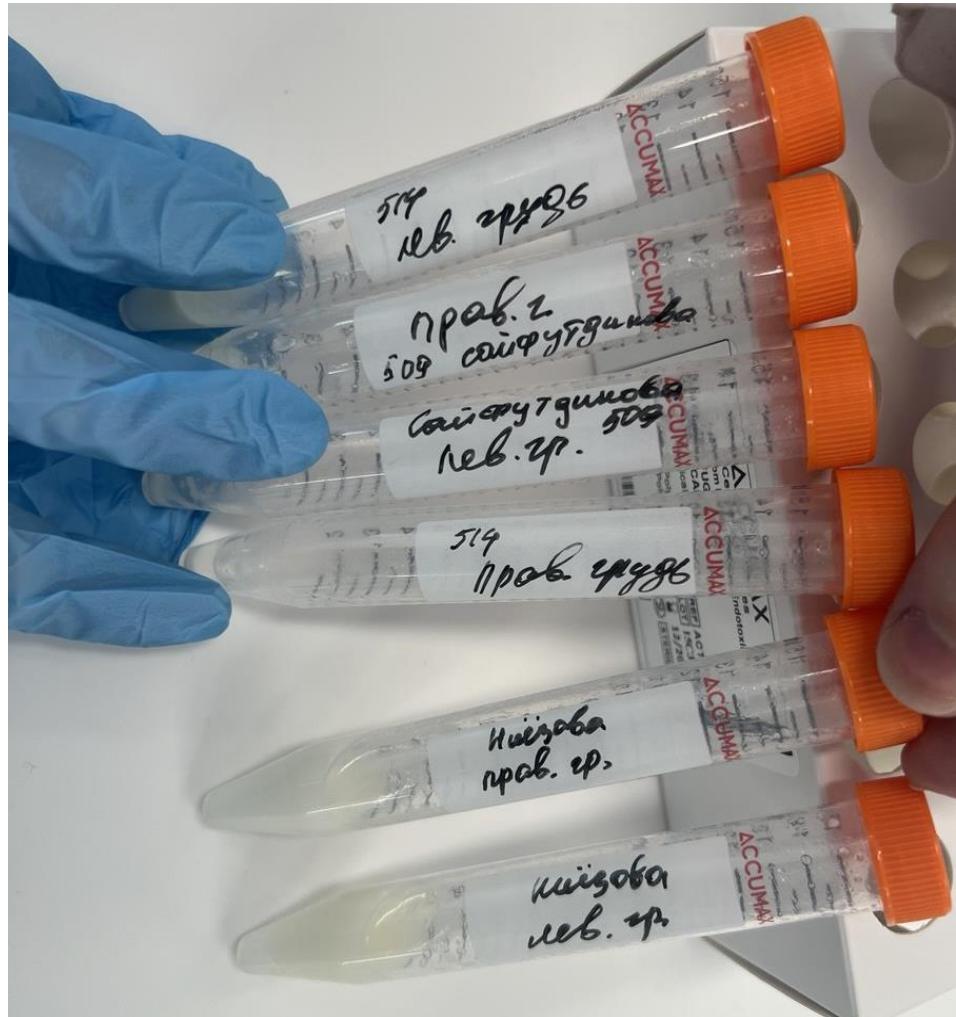


Рисунок 3. Грудное молоко в транспортной среде

Процесс обработки зубного камня начался с тщательного измельчения образца в стерильной ступке. На этом этапе важно получить однородный порошок, так как его консистенция оказывает влияние на последующие этапы исследования. После достижения необходимой степени измельчения порошок засевался в питательную среду с использованием бактериальной петли. Для равномерного распределения микроорганизмов по поверхности среды применялся метод штриха. Этот подход создает оптимальные условия для роста и размножения бактерий, что, в свою

очередь, позволяет провести более точный анализ и исследование состава зубного камня (рисунок 4).

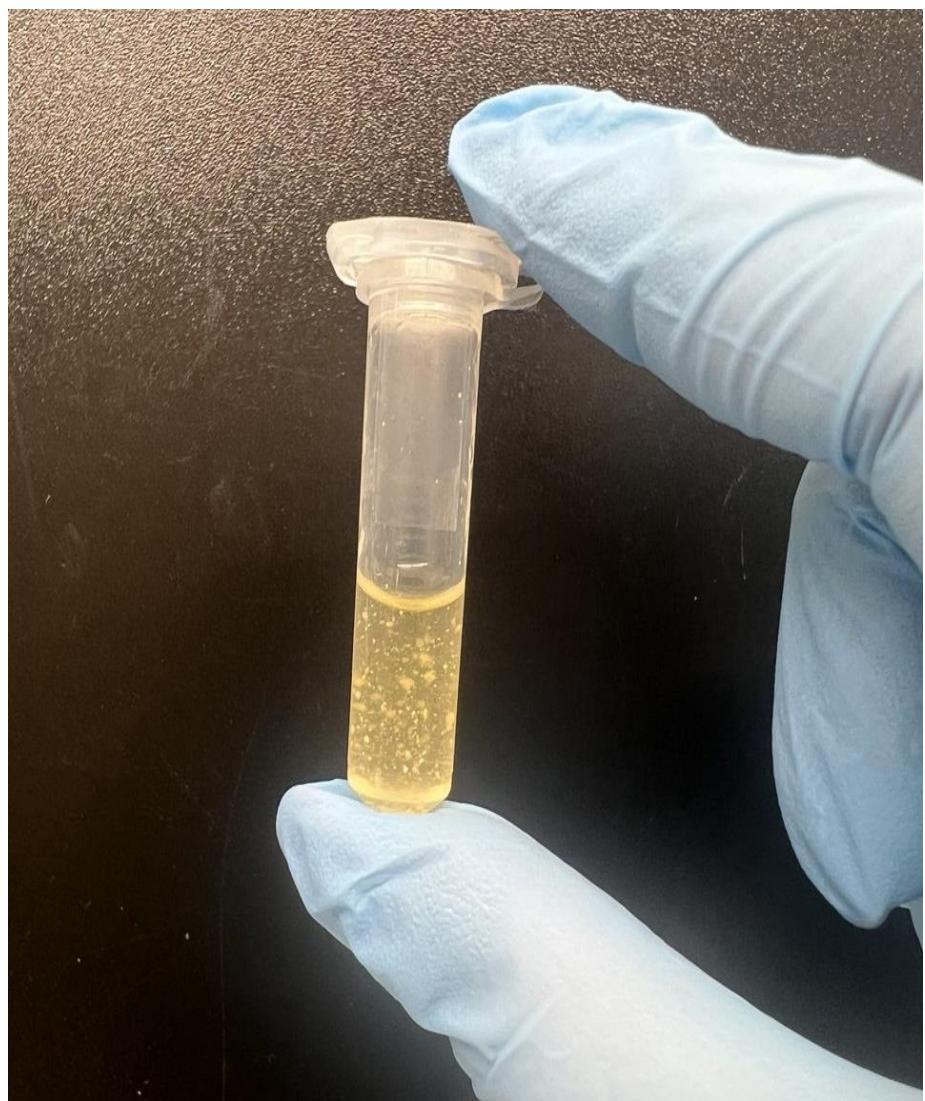


Рисунок 4. Измельченный зубной камень в транспортной среде

Образцы кала разводили в десятикратном разведении в питательном бульоне. Затем каждое из разведений набиралось дозатором в объеме 100 мкл, и полученные образцы равномерно распределялись по поверхности чашек с питательной средой. В завершение шпателем проводилось втирание, что способствовало эффективному взаимодействию между микроорганизмами и питательной средой, обеспечивая их дальнейший рост и размножение (рисунок 5).

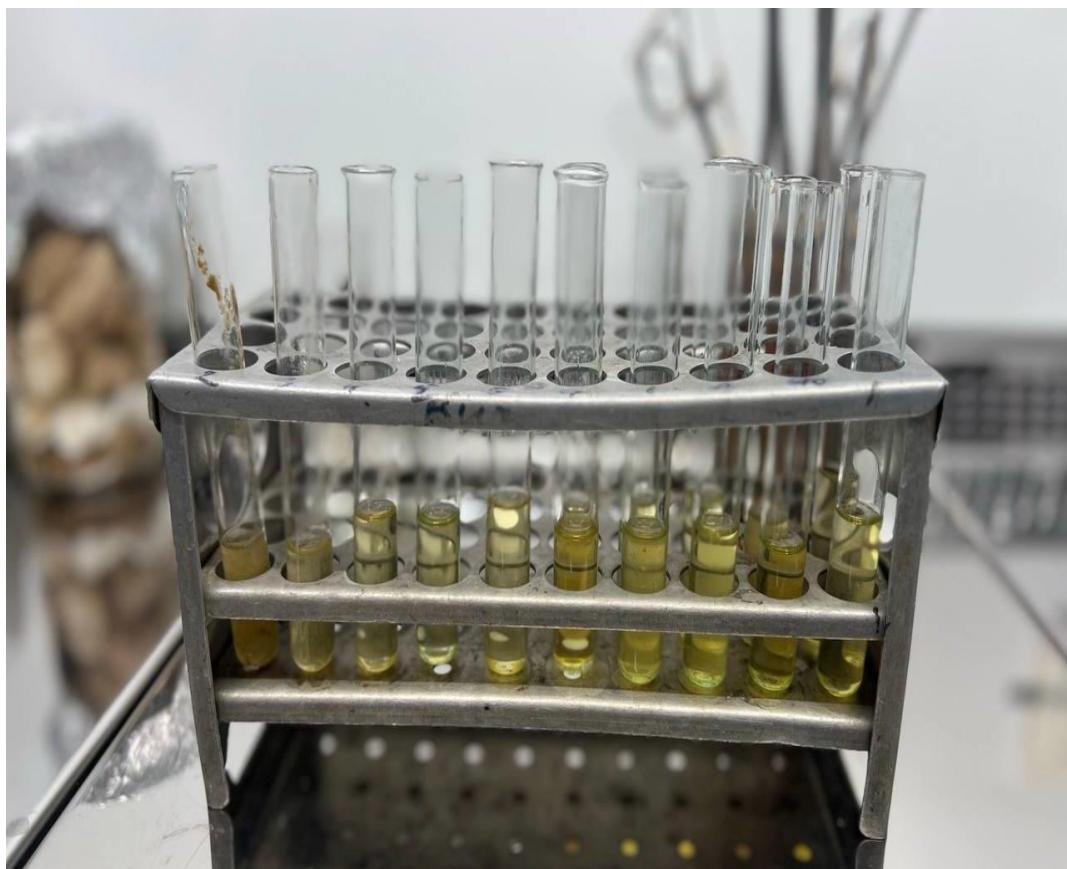


Рисунок 5. Десятикратное разведение образцов кала в питательном бульоне

После завершения процедуры посева чашки Петри обязательно маркируются на дне крышки. Это необходимо для удобной идентификации каждой чашки, а также для отслеживания информации о посевенных образцах, времени и условиях проведения эксперимента. Корректная маркировка является важным аспектом организации работы и анализа полученных результатов.

Затем чашки помещали в эксикатор, где зажигали свечку. После этого эксикатор накрывали крышкой и тщательно обматывали парафином, чтобы обеспечить герметичность и защитить от внешних воздействий. Далее эксикатор ставили в термостат, установленный на 37 градусов, что создавало идеальные условия для роста микроорганизмов (рисунок 6).



Рисунок 6. Термостат для культивирования микроорганизмов

## 2.5. Методика получения чистой культуры

Чистая культура микроорганизмов — это уникальная популяция, состоящая исключительно из одного вида или штамма, полностью изолированного от других. Этот метод работы с микроорганизмами играет важную роль в микробиологии, обеспечивая получение наиболее точных и надежных результатов исследований.

Чистые культуры имеют ключевое значение в микробиологии, поскольку они служат основой для проведения различных экспериментов, таких как идентификация микроорганизмов, исследование их чувствительности к антибиотикам и анализ метаболических путей. Кроме того, чистые культуры являются фундаментом для разработки новых медицинских препаратов, вакцин и биотехнологических процессов. Они также широко используются в промышленности, например, в производстве ферментов, пробиотиков и других биопродуктов.

Процесс получения чистой культуры микроорганизмов является ключевым этапом в микробиологии и начинается с выделения конкретного типа микроорганизмов из смешанной популяции. Для этого требуется аккуратный подход и применение различных методов, чтобы гарантировать изоляцию необходимого микроорганизма. Одним из наиболее распространенных методов является посев на селективные среды, которые созданы для поддержки роста определенных видов микроорганизмов, одновременно подавляя развитие других (рисунок 7).



Рисунок 7. Выделение чистой культуры

После успешной изоляции микроорганизмов следующим шагом становится их размножение в контролируемых условиях. Это создает оптимальные условия для роста и развития выбранного микроорганизма, что важно для последующих исследований и экспериментов. В процессе размножения также осуществляется приготовление мазка — важный этап, включающий нанесение культуры на предметное стекло.

Далее следует окраска по Граму, которая служит основным методом для определения морфологии и граммовой принадлежности бактерий. Этот метод позволяет различать бактерии на грамположительные и грамотрицательные, что имеет значительное значение для диагностики и выбора соответствующего лечения инфекций.

Завершающим этапом является микроскопия препарата. С помощью микроскопа исследуется структура и морфология клеток, что позволяет получить дополнительные сведения о выделенном микроорганизме и его характеристиках. Таким образом, процесс получения чистой культуры включает несколько последовательных этапов, каждый из которых играет важную роль в достижении точных и надежных результатов в микробиологических исследованиях.

## **2.6. Идентификация исследуемого штамма**

Масс-спектрометрия является высокоэффективным аналитическим методом, который все активнее используется в микробиологии. Этот подход предоставляет исследователям мощные инструменты для решения задач, связанных с идентификацией микроорганизмов, анализом их метаболитов и изучением сложных взаимодействий между различными микробными видами. Благодаря своим уникальным возможностям, масс-спектрометрия значительно повышает качество и скорость диагностики, а также углубляет понимание микробной экологии и патогенности.

Масс-спектрометрия времени пролета (MALDI-TOF MS) представляет собой один из наиболее популярных методов для быстрой и точной идентификации различных микроорганизмов, включая бактерии и грибы. Этот подход основывается на анализе белкового профиля микроорганизмов, что позволяет оперативно сопоставить полученные данные с известными образцами в базах данных. Такой метод особенно ценен в клинической микробиологии, где скорость диагностики играет ключевую роль для своевременного начала адекватного лечения.

При анализе чистой культуры микроорганизма или его экстрактов создается уникальный масс-спектр, который отражает таксономические особенности данного микроорганизма, включая его род, вид и даже конкретный штамм. Этот процесс основан на исследовании массы и структуры молекул, содержащихся в образце. Важную роль в интерпретации полученных спектров играет специализированное биоинформационическое

программное обеспечение, которое позволяет точно идентифицировать микроорганизмы как в чистых культурах, так и в смешанных образцах.

Идентификация происходит путем сопоставления масс-спектров исследуемых образцов с референсными спектрами, хранящимися в специализированных базах данных. Эти базы данных, как правило, предоставляются производителями оборудования для MALDI-TOF MS и содержат обширную информацию о масс-спектрах различных микроорганизмов. Если спектры совпадают или демонстрируют высокую степень сходства, это позволяет с большой уверенностью отнести исследуемый микроорганизм к определенной таксономической группе (рисунок 8).



Рисунок 8. Масс-спектрометр Autof MS (Китай)

Процесс идентификации микроорганизмов с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии включает несколько ключевых этапов:

1. Нанесение чистой культуры микроорганизма с помощью бамбуковой палочки на специальную пластину, предназначенную для MALDI-TOF масс-спектрометра.
2. Смешивание подготовленного образца с матрицей, которая способствует ионизации молекул в процессе анализа.
3. Включение прибора и программного обеспечения, а также спускание вакуума в оборудовании.
4. Установка пластины с обработанным образцом в MALDI-TOF масс-спектрометр.
5. Ввод информации о происхождении образца микроорганизма в программное обеспечение управления масс-спектрометром.
6. Запуск процесса измерения и получение результатов анализа (рисунок 9).

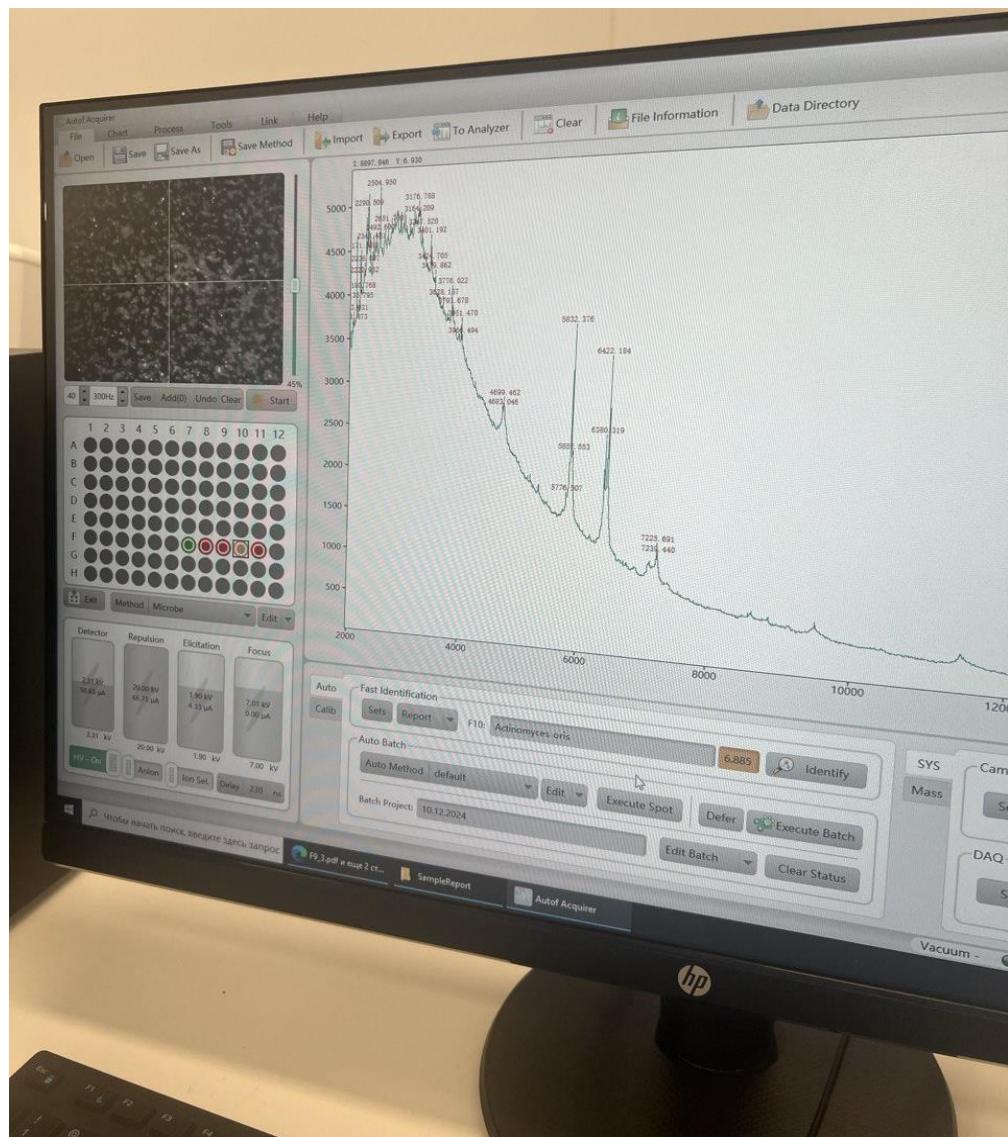


Рисунок 9. Получение результата на Масс-спектрометр Autof MS  
(Китай)

## **2.7. Определение устойчивости исследуемого штамма микроорганизма к антибиотикам**

Диско-диффузионный метод является одним из наиболее распространенных способов определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Метод основан на диффузии антибиотика из диска в агаровую среду, что создает градиент концентрации вещества. Если микроорганизм чувствителен к этому антибиотику, его рост будет подавлен в зоне, где концентрация антибиотика достаточна для ингибирования. В результате

формируется зона ингибиравания — область вокруг диска, где рост бактерий не происходит.

Для начала необходимо создать бактериальную суспензию, известную также как инокуль. Важно довести ее плотность до 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Это можно сделать, добавляя определенный объем микробной массы в суспензию или разбавляя ее стерильным изотоническим раствором.

Оптимально бактериальную суспензию следует нанести на агар в течение 15 минут, но не позже, чем через 60 минут после ее приготовления.

Бактериальную суспензию аккуратно наносят в центр чашки Петри с помощью пипетки. Затем стерильным шпателем равномерно распределяют суспензию по всей поверхности агара, вращая чашку для достижения однородного покрытия. Далее на поверхность питательной среды аккуратно размещают диски, пропитанные антибиотиками. Чашку затем помещают в термостат, где инкубируют при температуре 37 градусов в течение 24-48 часов. После завершения инкубации проводится анализ результатов, что позволяет оценить эффективность антибиотиков по размерам зон ингибиравания роста бактерий вокруг дисков.

## **2.8. Метод перпендикулярных штрихов для определения антагонистической активности**

В современной лабораторной практике применяется множество методов определения антагонистической активности, различающихся по сложности выполнения, скорости проведения, воспроизводимости и точности результатов. Среди диффузионных методов отсроченного антагонизма наиболее распространен метод перпендикулярных штрихов, отличающийся простотой исполнения и наглядностью результатов. Он позволяет визуализировать подавление роста тест-культуры под действием штамма-антагониста.

Методика:

1. Посев штамма-антагониста на поверхность агара в чашке Петри наносится штриховая культура исследуемого микроорганизма. Перед этим необходимо подготовить агар, который должен быть оптимален для роста выбранного штамма. После нанесения штриха чашку Петри помещают в инкубатор при температуре, подходящей для данного микроорганизма. Инкубация длится от 24 до 48 часов. В течение этого времени штамм-антагонист активно растет и выделяет ингибиторные соединения, которые проникают в агар, создавая условия для дальнейшего анализа.

2. Посев тест-культуры – после завершения первой инкубации и появления заметного роста антагониста, переходим ко второму этапу. Перпендикулярно к штриху антагониста подсеваем экспоненциальную культуру тест-штамма. Важно осторожно коснуться края зоны роста антагониста, чтобы обеспечить контакт между культурами. Этот этап имеет критическое значение, так как тест-штамм должен взаимодействовать с ингибиторными веществами, выделяемыми антагонистом.

3. После посева тест-культуры чашку Петри снова помещают в условия, благоприятные для роста тест-штамма. Это может быть та же температура, что и для антагониста, или другая, в зависимости от требований конкретного микроорганизма. Инкубация продолжается до тех пор, пока не будет достигнуто заметное развитие тест-культуры. После завершения этого этапа оценивают степень ингибирования по размеру зоны отсутствия роста вокруг штриха антагониста. Эта зона отсутствия роста свидетельствует о наличии антагонистической активности и позволяет количественно оценить эффективность ингибирования (рисунок 10).

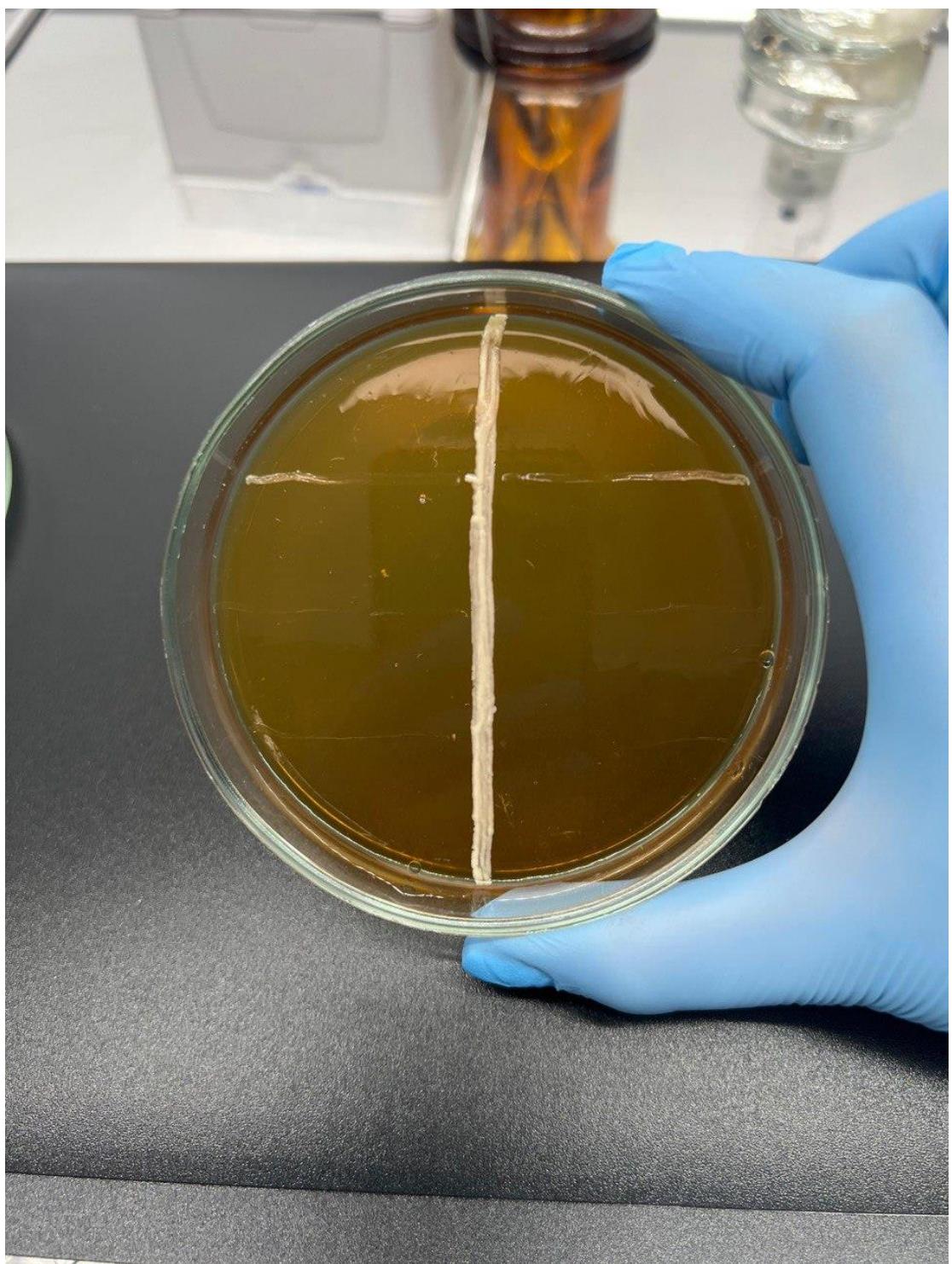


Рисунок 10. Определение антагонистической активности

Этот метод предоставляет возможность изучать взаимодействия между различными микроорганизмами и выявлять потенциальные антагонисты. Эти антагонисты могут быть использованы в микробиологических исследованиях, а также при разработке новых пробиотиков и антимикробных средств.

## **Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1. Выделение *Akkermansia muciniphila* из исследуемых образцов**

В ходе проведенного исследования из различных исследуемых образцов был выделен штамм, представляющий собой интерес для научного сообщества, а именно *Akkermansia muciniphila*. Этот микроорганизм стал объектом нашего внимания благодаря его потенциальной роли в поддержании здоровья человека и влиянии на метаболические процессы.

В рамках нашего исследования мы провели тщательный анализ пятнадцати образцов грудного молока, что позволило нам глубже понять микробиологический состав этого важного продукта. Из полученных данных стало известно, что в десяти из этих образцов была обнаружена бактерия *Akkermansia muciniphila*. Это открытие подчеркивает потенциальную роль данного микроорганизма в формировании микробиоты у новорожденных и его возможное влияние на их иммунное развитие.

Кроме того, в процессе исследования мы также проанализировали образцы кала здоровых людей, которые не имеют лишнего веса. В результате этого анализа было найдено пять образцов, содержащих *Akkermansia muciniphila*, из общего числа пятнадцати проанализированных образцов. Это свидетельствует о том, что данная бактерия может играть важную роль в поддержании нормального метаболизма и здоровья кишечника у людей с нормальным индексом массы тела.

Также стоит отметить, что из образцов зубного камня была выделена *Akkermansia muciniphila* в трех из пятнадцати образцов. Этот факт может говорить о разнообразии мест обитания данного микроорганизма и его потенциальной роли в поддержании микробиоты полости рта. Выделение этой бактерии из зубного камня может указывать на ее значимость не только в кишечной микробиоте, но и в других системах организма.

### **3.2. Идентификация *Akkermansia muciniphila* с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии**

В ходе нашего исследования была проведена тщательная и многоэтапная работа по выделению чистой культуры бактерий, что представляет собой один из самых важных этапов для дальнейшего анализа и понимания характеристик исследуемых микроорганизмов. Выделение чистой культуры является ключевым процессом, который позволяет нам получить однородную популяцию клеток, свободную от загрязнений другими микроорганизмами. Это критически важно для последующих экспериментов и анализов.

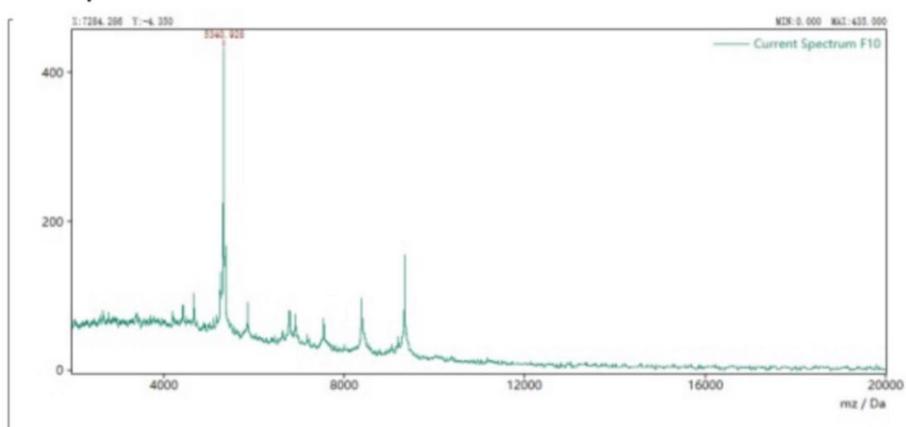
Для достижения этой цели мы использовали различные методы микробиологической диагностики, которые позволили изолировать и культивировать интересующий нас микроорганизм.

После успешного получения чистой культуры, мы применили масс-спектрометрический анализ. Этот метод позволяет идентифицировать бактерии на молекулярном уровне с высокой точностью и чувствительностью. Масс-спектрометрия предоставляет уникальную возможность изучать белковый состав и другие молекулы, что помогает в определении таксономического положения микроорганизма.

Результаты проведенного масс-спектрометрического исследования подтвердили, что выделенная культура соответствует *Akkermansia muciniphila*. Это открытие имеет значительное значение для нашего понимания роли данной бактерии в микробиоте человека, её функции и потенциального влияния на здоровье (рисунок 11).

Identification Result: Akkermansia muciniphila 9.141

**Mass Spectrum**



**Detailed Results**

NO.	Result	Score
1	Akkermansia muciniphila	9.141
2	Akkermansia muciniphila	9.139
3	Akkermansia muciniphila	9.029
4	Akkermansia muciniphila	9.029
5	Akkermansia muciniphila	8.992
6	Akkermansia muciniphila	8.933
7	Akkermansia muciniphila	8.773
8	Akkermansia muciniphila	8.613
9	Akkermansia muciniphila	8.474
10	Akkermansia muciniphila	8.151

Page 1 of 1

Autobio

Рисунок 11. Результаты идентификации на Масс-спектрометре

### 3.3. Описание морфологических и тинкториальных свойств полученных штаммов *Akkermansia muciniphila*

В ходе нашего исследования мы успешно выделили чистую культуру бактерии *Akkermansia muciniphila*, которая представляет собой важный объект изучения в микробиологии и медицине. После получения этой культуры мы перешли к следующему этапу — подготовке мазка. Мазок был изготовлен из культуры *Akkermansia muciniphila* и подвергнут окрашиванию по Граму. Этот метод является стандартным в микробиологии и позволяет различать бактерии на основе характеристик их клеточной стенки и морфологии.

После окраски мазка мы провели микроскопическое исследование, которое дало возможность визуализировать клетки бактерий и оценить их морфологические характеристики. Это исследование является важным шагом для дальнейшего анализа и понимания особенностей *Akkermansia muciniphila*, включая её форму, размеры и другие значимые характеристики.

*Akkermansia muciniphila* — это грамотрицательная бактерия, которая характеризуется своей уникальной морфологией и важной ролью в экосистеме кишечника. Она имеет форму палочек, располагаются одиночно, что придаёт ей цилиндрическую структуру. Спор и жгутиков не имеет (рисунок 12).

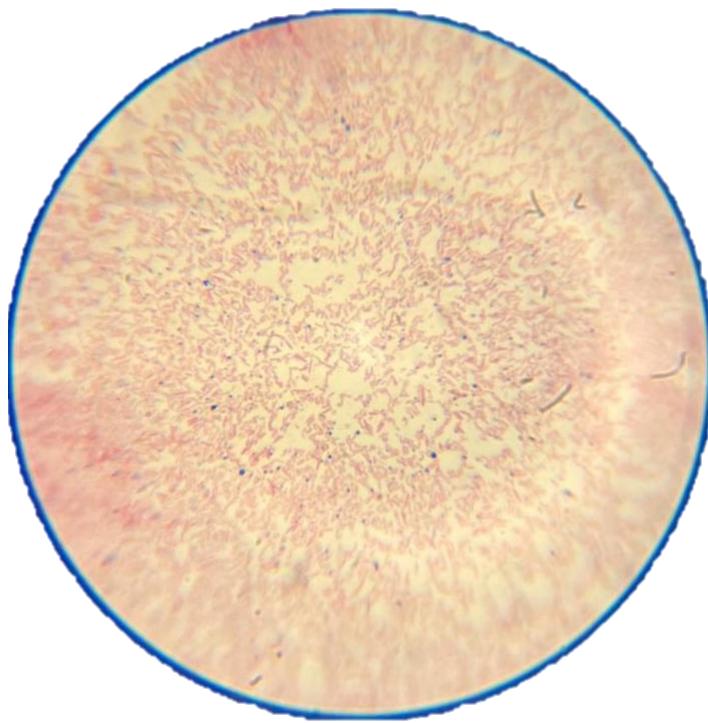


Рисунок 12. Мазок окрашенный по Граму

#### **3.4. Сравнительная характеристика частоты идентификации *Akkermansia muciniphila* из различного биологического материала**

В ходе нашего исследования мы провели тщательный и детализированный анализ частоты выявления бактерии *Akkermansia muciniphila* в различных биологических образцах, что является важным аспектом для понимания ее роли в человеческом организме и возможного

влияния на здоровье. Из полученных данных стало известно, что данная бактерия была обнаружена в десяти из пятнадцати проанализированных образцов, что свидетельствует о ее распространенности и потенциальной значимости.

Кроме того, мы также осуществили анализ образцов кала у здоровых людей с нормальным весом, что позволило нам получить более точные данные о присутствии *Akkermansia muciniphila* в этой группе. В результате нашего исследования мы выявили, что эта бактерия присутствует в пяти из пятнадцати проанализированных образцов кала, что может указывать на ее связь с нормальным метаболизмом и состоянием здоровья.

Также стоит отметить, что в процессе исследования мы взяли образцы зубного камня, где бактерия была выделена в трех из пятнадцати случаев. Это открытие подчеркивает возможность существования *Akkermansia muciniphila* не только в кишечной микрофлоре, но и в других биологических средах, таких как ротовая полость.

### ЧАСТОТА ИДЕНТИФИКАЦИИ *AKKERMANSIA MUCINIPHILA* ИЗ РАЗЛИЧНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

■ *Akkermansia muciniphila* ■ Не выделено

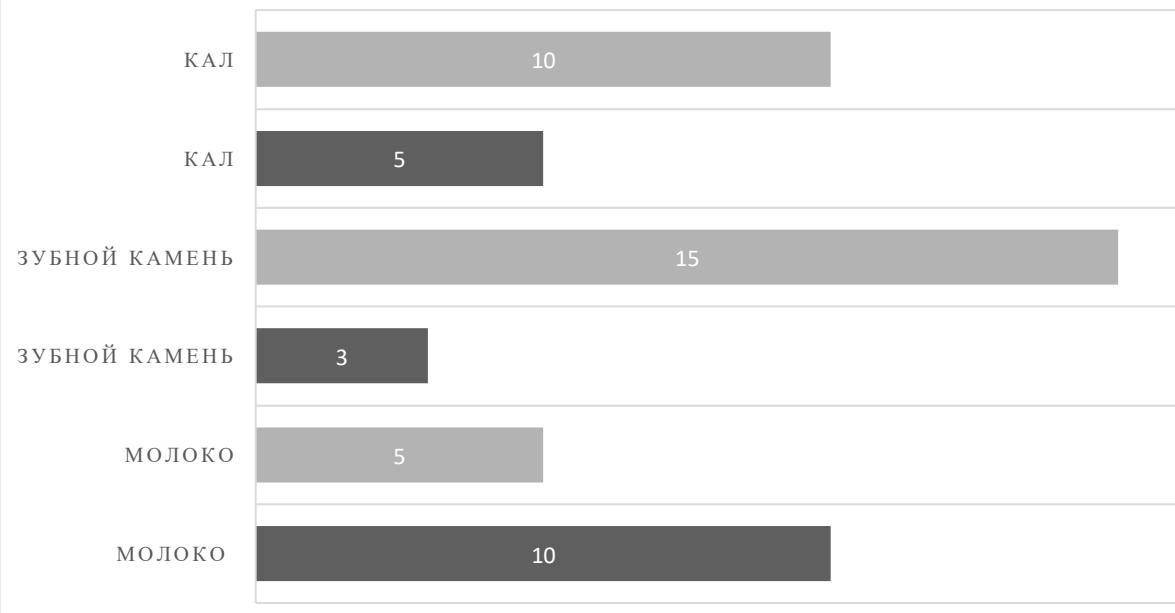


Рисунок 13. Частота идентификации *Akkermansia muciniphila* из различного биологического материала

### **3.5. Определение антагонистических свойств выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* к условно-патогенным микроорганизмам**

В рамках нашего исследования мы провели детальное изучение антагонистической активности выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* в отношении различных тест-штаммов, включая *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

При анализе антагонистических взаимодействий в ассоциации между бактериями *Akkermansia muciniphila* и тест-культурой *Staphylococcus aureus* было установлено, что антагонистическая активность микроорганизмов проявляется на среднем уровне. Это свидетельствует о том, что штамм *Akkermansia muciniphila* способен оказывать определенное подавляющее влияние на рост и развитие *Staphylococcus aureus*, что может быть полезно для дальнейших исследований в области микробиологии и разработки новых антимикробных средств.

Кроме того, антагонистическая активность штамма *Akkermansia muciniphila* была также оценена в отношении тест-культуры *Escherichia coli*. Результаты показали, что данная активность выражена значительно лучше, чем в случае с *Staphylococcus aureus*, что указывает на потенциальные возможности использования *Akkermansia muciniphila* для контроля роста *Escherichia coli*.

Однако при исследовании антагонистической активности по отношению к тест-культуре *Candida albicans* были получены менее обнадеживающие результаты. Здесь антагонистическая активность оказалась слабо выраженной, что может говорить о том, что *Akkermansia muciniphila* не столь эффективен в подавлении роста грибка *Candida albicans* по сравнению с бактериальными патогенами (рисунок 14).

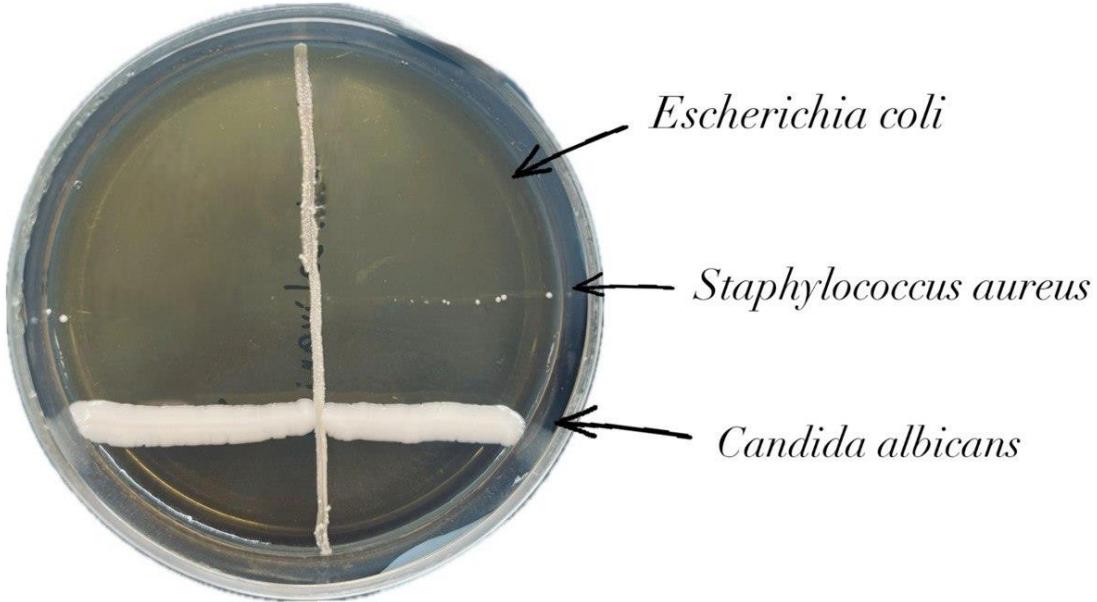


Рисунок 14. Результаты исследования antagonистических свойств микроорганизма *Akkermansia muciniphila*

### 3.6. Определение антибиотикорезистентности к препаратам выделенного штамма *Akkermansia muciniphila*

Для определения антибиотикорезистентности выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* были выбраны три антибиотика, а именно цефтриаксон, амоксициллин и азитромицин. Эти препараты были выбраны в связи с их распространенным использованием в клинической практике и известной эффективностью против различных бактериальных инфекций.

В ходе исследования влияния устойчивости выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* к указанным антибиотикам было обнаружено, что данный штамм проявляет устойчивость к двум из трех протестированных препаратов, а именно к цефтриаксону и азитромицину. Это говорит о том, что *Akkermansia muciniphila* имеет механизмы, позволяющие ему выживать в присутствии этих антибиотиков, что может быть связано с особенностями его метаболизма или структурой клеточной стенки.

Наименьшую эффективность против исследуемого штамма продемонстрировал препарат амоксициллин. Это может свидетельствовать о том, что *Akkermansia muciniphila* обладает способностями, позволяющими ему противостоять действию этого антибиотика, возможно, благодаря наличию определенных ферментов или других защитных механизмов. Результаты данного исследования подчеркивают важность дальнейшего изучения антибиотикорезистентности *Akkermansia muciniphila* и его взаимодействия с различными антибиотиками, что может иметь значительные последствия для понимания роли этого микроорганизма в микробиоме человека и его потенциального применения в медицине (таблица 1).

	<b>Наименование штамма</b>	<b>Антибиотики</b>		
		цефтриаксон	амоксициллин	азитромицин
1.	<i>Akkermansia muciniphila</i>	+	-	+

Таблица 1 – Результаты исследования чувствительности микроорганизма к антибиотикам

## ВЫВОДЫ

1. Для выделения и идентификации чистой культуры *Akkermansia muciniphila* из образцов, полученных из содержимого толстого кишечника человека, грудного молока и зубного камня, были определены оптимальные условия для забора, транспортировки и культивирования данного микроорганизма. Также был разработан специальный состав питательной среды, подходящий для его роста;
2. При описании морфологических и тинкториальных свойств полученных штаммов *Akkermansia muciniphila* было установлено, что данная бактерия представляет собой грамотрицательную палочку, которая располагается одиночно и не образует спор или жгутиков;
3. При анализе частоты обнаружения *Akkermansia muciniphila* в различных биологических образцах было установлено, что данный штамм чаще всего выделяется из грудного молока, в то время как реже его находят в зубном камне;
4. В ходе исследования антагонистических свойств выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* к условно-патогенным микроорганизмам было установлено, что данный штамм проявляет наибольшую антагонистическую активность против *Escherichia coli* и наименьшую против *Candida albicans*;
5. Исследование антибиотикорезистентности выделенного штамма *Akkermansia muciniphila* показало, что эта бактерия устойчива к цефтриаксону и азитромицину, в то время как амоксициллин эффективно подавляет её рост.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захарова И.Н., Бережная И.В., Симакова М.А. Микробиота кишечника и ожирение. Могут ли помочь пробиотики? Педиатрия.Consilium Medicum. 2021; 4:330–334. doi: 10.26442/26586630.2021.4.201341
2. Ahn J, Sinha R, Pei Z, Dominianni C, Wu J, Shi J, Goedert JJ, Hayes RB, Yang L. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Dec 18;105(24):1907-11. doi: 10.1093/jnci/djt300. Epub 2013 Dec 6. PMID: 24316595; PMCID: PMC3866154.
3. Aja E, Zeng A, Gray W, Connelley K, Chaganti A, Jacobs JP. Health Effects and Therapeutic Potential of the Gut Microbe Akkermansia muciniphila. *Nutrients.* 2025 Jan 31;17(3):562. doi: 10.3390/nu17030562. PMID: 39940420; PMCID: PMC11820462.
4. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science.* 2012 Oct 5;338(6103):120-3. doi: 10.1126/science.1224820. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22903521; PMCID: PMC3645302.
5. Bai Z, Wu Y, Gao D, Dong Y, Pan Y, Gu S. Gut Microbiome and Metabolome Alterations in Overweight or Obese Adult Population after Weight-Loss *Bifidobacterium breve* BBr60 Intervention: A Randomized Controlled Trial. *Int J Mol Sci.* 2024 Oct 10;25(20):10871. doi: 10.3390/ijms252010871. PMID: 39456659; PMCID: PMC11507383.
6. Becken B, Davey L, Middleton DR, Mueller KD, Sharma A, Holmes ZC, Dallow E, Remick B, Barton GM, David LA, McCann JR, Armstrong SC, Malkus P, Valdivia RH. Genotypic and Phenotypic Diversity among Human Isolates of *Akkermansia muciniphila*. *mBio.* 2021 May 18;12(3):e00478-21. doi: 10.1128/mBio.00478-21. PMID: 34006653; PMCID: PMC8262928.

7. Becken B, Davey L, Middleton DR, Mueller KD, Sharma A, Holmes ZC, Dallow E, Remick B, Barton GM, David LA, McCann JR, Armstrong SC, Malkus P, Valdivia RH. Genotypic and Phenotypic Diversity among Human Isolates of *Akkermansia muciniphila*. *mBio*. 2021 May 18;12(3):e00478-21. doi: 10.1128/mBio.00478-21. PMID: 34006653; PMCID: PMC8262928.
8. Bonnet M, Buc E, Sauvanet P, Darcha C, Dubois D, Pereira B, Déchelotte P, Bonnet R, Pezet D, Darfeuille-Michaud A. Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk. *Clin Cancer Res*. 2014 Feb 15;20(4):859-67. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1343. Epub 2013 Dec 13. PMID: 24334760.
9. Brüssow H. Problems with the concept of gut microbiota dysbiosis. *Microb Biotechnol*. 2020 Mar;13(2):423-434. doi: 10.1111/1751-7915.13479. Epub 2019 Aug 26. PMID: 31448542; PMCID: PMC7017827.
10. Chaudhari SN, McCurry MD, Devlin AS. Chains of evidence from correlations to causal molecules in microbiome-linked diseases. *Nat Chem Biol*. 2021;17(10):1046-1056. doi:10.1038/s41589-021-00861-z
11. Chen S, Qian K, Zhang G, Zhang M. *Akkermansia muciniphila* and its outer membrane protein Amuc\_1100 prophylactically attenuate 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022;614:34-40. doi:10.1016/j.bbrc.2022.04.135
12. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(6):e39743. doi: 10.1371/journal.pone.0039743. Epub 2012 Jun 28. PMID: 22761885; PMCID: PMC3386193.
13. de Vos WM. Microbe Profile: *Akkermansia muciniphila*: a conserved intestinal symbiont that acts as the gatekeeper of our mucosa. *Microbiology (Reading)*. 2017;163(5):646-648. doi:10.1099/mic.0.000444
14. Depommier C, Van Hul M, Everard A, Delzenne NM, De Vos WM, Cani PD. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* increases whole-body energy expenditure and fecal energy excretion in diet-induced obese mice. *Gut*

Microbes. 2020 Sep 2;11(5):1231-1245. doi: 10.1080/19490976.2020.1737307. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32167023; PMCID: PMC7524283.

15. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog*. 2017;106:171-181. doi:10.1016/j.micpath.2016.02.005
16. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54:1469–1476. doi: 10.1099/ijss.0.02873-0.
17. Flemer B, Lynch DB, Brown JM, Jeffery IB, Ryan FJ, Claesson MJ, O'Riordain M, Shanahan F, O'Toole PW. Tumour-associated and non-tumour-associated microbiota in colorectal cancer. *Gut*. 2017 Apr;66(4):633-643. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309595. Epub 2016 Mar 18. PMID: 26992426; PMCID: PMC5529966.
18. Fobofou SA, Savidge T. Microbial metabolites: cause or consequence in gastrointestinal disease?. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2022;322(6):G535-G552. doi:10.1152/ajpgi.00008.2022
19. Gao R, Wang Z, Li H, Cao Z, Gao Z, Chen H, Zhang X, Pan D, Yang R, Zhong H, Shen R, Yin L, Jia Z, Shen T, Qin N, Hu Z, Qin H. Gut microbiota dysbiosis signature is associated with the colorectal carcinogenesis sequence and improves the diagnosis of colorectal lesions. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020 Dec;35(12):2109-2121. doi: 10.1111/jgh.15077. Epub 2020 Jun 22. PMID: 32337748. MID: 39470880; PMCID: PMC11522171.
20. García Menéndez G, Sichel L, López MDC, Hernández Y, Arteaga E, Rodríguez M, Fleites V, Fernández LT, Cano RJ. From colon wall to tumor niche: Unraveling the microbiome's role in colorectal cancer progression. *PLoS One*. 2024 Oct 22;19(10):e0311233. doi: 10.1371/journal.pone.0311233. PMID: 39436937; PMCID: PMC11495602.

21. Ghaffari S, Abbasi A, Somi MH, et al. Akkermansia muciniphila: from its critical role in human health to strategies for promoting its abundance in human gut microbiome. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023;63(25):7357-7377. doi:10.1080/10408398.2022.2045894
22. Ghani R, Chrysostomou D, Roberts LA, Pandiaraja M, Marchesi JR, Mullish BH. Faecal (or intestinal) microbiota transplant: a tool for repairing the gut microbiome. *Gut Microbes.* 2024 Jan-Dec;16(1):2423026. doi: 10.1080/19490976.2024.2423026. Epub 2024 Nov 5. PMID: 39499189; PMCID: PMC11540080.
23. Giovanni MY, Schneider JS, Calder T, Fauci AS. Refocusing Human Microbiota Research in Infectious and Immune-mediated Diseases: Advancing to the Next Stage. *J Infect Dis.* 2021;224(1):5-8. doi:10.1093/infdis/jiaa706
24. Glover JS, Ticer TD, Engevik MA. Characterizing the mucin-degrading capacity of the human gut microbiota. *Sci Rep.* 2022 May 19;12(1):8456. doi: 10.1038/s41598-022-11819-z. PMID: 35589783; PMCID: PMC9120202.
25. Grajeda-Iglesias C, Durand S, Daillère R, Iribarren K, Lemaitre F, Derosa L, Aprahamian F, Bossut N, Nirmalathasan N, Madeo F, Zitvogel L, Kroemer G. Oral administration of Akkermansia muciniphila elevates systemic antiaging and anticancer metabolites. *Aging (Albany NY).* 2021 Mar 2;13(5):6375-6405. doi: 10.18632/aging.202739. Epub 2021 Mar 2. PMID: 33653967; PMCID: PMC7993698.
26. Hooks KB, O'Malley MA. Dysbiosis and Its Discontents. *mBio.* 2017 Oct 10;8(5):e01492-17. doi: 10.1128/mBio.01492-17. PMID: 29018121; PMCID: PMC5635691.
27. Ioannou A, Berkhout MD, Geerlings SY, Belzer C. Akkermansia muciniphila: biology, microbial ecology, host interactions and therapeutic

- potential. *Nat Rev Microbiol.* 2025;23(3):162-177. doi:10.1038/s41579-024-01106-1
28. Juul F, Hemmingsson E. Trends in consumption of ultra-processed foods and obesity in Sweden between 1960 and 2010. *Public Health Nutr.* 2015; 18(17):3096-7.
29. Koller AM, Săsăran MO, Mărginean CO. Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Pediatric Obesity-A Systematic Review. *Nutrients.* 2025 Apr 29;17(9):1499. doi: 10.3390/nu17091499. PMID: 40362809; PMCID: PMC12073544.
30. La Vecchia M, Sala G, Sculco M, Aspesi A, Dianzani I. Genetics, diet, microbiota, and metabolome: partners in crime for colon carcinogenesis. *Clin Exp Med.* 2024 Oct 29;24(1):248. doi: 10.1007/s10238-024-01505-x. P Zhen J, Liu C, Liao F, Zhang J, Xie H, Tan C, Dong W. The global research of microbiota in colorectal cancer screening: a bibliometric and visualization analysis. *Front Oncol.* 2023 May 5;13:1169369. doi: 10.3389/fonc.2023.1169369. PMID: 37213286; PMCID: PMC10196493.
31. Ling Z, Shao L, Liu X, Cheng Y, Yan C, Mei Y, Ji F, Liu X. Regulatory T Cells and Plasmacytoid Dendritic Cells Within the Tumor Microenvironment in Gastric Cancer Are Correlated With Gastric Microbiota Dysbiosis: A Preliminary Study. *Front Immunol.* 2019 Mar 18;10:533. doi: 10.3389/fimmu.2019.00533. PMID: 30936882; PMCID: PMC6433099.
32. Liu D, Zhang R, Chen S, Sun B, Zhang K. Analysis of gastric microbiome reveals three distinctive microbial communities associated with the occurrence of gastric cancer. *BMC Microbiol.* 2022 Jul 23;22(1):184. doi: 10.1186/s12866-022-02594-y. PMID: 35870901; PMCID: PMC9308235.
33. Liu Y, Li Z, Lee SC, Chen S, Li F. Akkermansia muciniphila: promises and pitfalls for next-generation beneficial microorganisms. *Arch Microbiol.* 2025;207(4):76. Published 2025 Mar 4. doi:10.1007/s00203-025-04263-w

34. Lv BM, Quan Y, Zhang HY. Causal Inference in Microbiome Medicine: Principles and Applications. *Trends Microbiol.* 2021;29(8):736-746. doi:10.1016/j.tim.2021.03.015
35. Mishra KP, Bakshi J. Physiological benefits of *Akkermansia muciniphila* under high-altitude hypoxia. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2023;107(1):1-8. doi:10.1007/s00253-022-12305-2
36. Mueller KD, Panzetta ME, Davey L, McCann JR, Rawls JF, Flores GE, Valdivia RH. Pangenomic analysis identifies correlations between *Akkermansia* species and subspecies and human health outcomes. *Microbiome Res Rep.* 2024 Jun 11;3(3):33. doi: 10.20517/mrr.2024.09. PMID: 39421249; PMCID: PMC11480726.
37. Naito Y, Uchiyama K, Takagi T. A next-generation beneficial microbe: *Akkermansia muciniphila*. *J Clin Biochem Nutr.* 2018 Jul;63(1):33-35. doi: 10.3164/jcbn.18-57. Epub 2018 Jun 20. PMID: 30087541; PMCID: PMC6064808.
38. Ottman N, Davids M, Suarez-Diez M, Boeren S, Schaap PJ, Martins Dos Santos VAP, Smidt H, Belzer C, de Vos WM. Genome-Scale Model and Omics Analysis of Metabolic Capacities of *Akkermansia muciniphila* Reveal a Preferential Mucin-Degrading Lifestyle. *Appl Environ Microbiol.* 2017 Aug 31;83(18):e01014-17. doi: 10.1128/AEM.01014-17. PMID: 28687644; PMCID: PMC5583483.
39. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut.* 2020;69:2232–2243. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322260.
40. Qian C, Hui J, Peng Z, Sun X, Zhang J. Mucosal microbiota characterization in gastric cancer identifies immune-activated-related transcripts relevant gastric microbiome signatures. *Front Immunol.* 2024 Sep 23;15:1435334. doi: 10.3389/fimmu.2024.1435334. PMID: 39376571; PMCID: PMC11456469.
41. Qu D, Chen M, Zhu H, et al. *Akkermansia muciniphila* and its outer membrane protein Amuc\_1100 prevent high-fat diet-induced nonalcoholic

- fatty liver disease in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2023;684:149131. doi:10.1016/j.bbrc.2023.149131
42. Shen J, Tong X, Sud N, et al. Low-Density Lipoprotein Receptor Signaling Mediates the Triglyceride-Lowering Action of *Akkermansia muciniphila* in Genetic-Induced Hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(7):1448-1456. doi:10.1161/ATVBAHA.116.307597
43. Shin J, Noh JR, Chang DH, Kim Y-H, Kim MH, Lee ES, Cho S, Ku BJ, Rhee M-S, Kim B-C, et al.. Elucidation of *Akkermansia muciniphila* probiotic traits driven by mucin depletion. *Front Microbiol.* 2019;10: Article 1137.Xing J, Li X, Sun Y, Zhao J, Miao S, Xiong Q, Zhang Y, Zhang G. Comparative genomic and functional analysis of *Akkermansia muciniphila* and closely related species. *Genes Genomics.* 2019 Nov;41(11):1253-1264. doi: 10.1007/s13258-019-00855-1. Epub 2019 Aug 9. PMID: 31399846; PMCID: PMC6828834.
44. Sinisterra Loaiza LI, Fernández-Edreira D, Liñares-Blanco J, Cepeda A, Cardelle-Cobas A, Fernandez-Lozano C. Fecal microbiome analysis in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. *PeerJ.* 2025 Jun 11;13:e19108. doi: 10.7717/peerj.19108. PMID: 40520642; PMCID: PMC12166849.
45. Tingting Wang, Guoxiang Cai, Yunping Qiu, Na Fei, Menghui Zhang, Xiaoyan Pang, Wei Jia, Sanjun Cai, Liping Zhao, Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers, *The ISME Journal*, Volume 6, Issue 2, February 2012, Pages 320–329, <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.109>
46. Ulger Y, Delik A, Akkız H. Gut Microbiome and colorectal cancer: discovery of bacterial changes with metagenomics application in Turkish population. *Genes Genomics.* 2024 Sep;46(9):1059-1070. doi: 10.1007/s13258-024-01538-2. Epub 2024 Jul 11. PMID: 38990271.

47. Van Hul M, Cani PD, Petitfils C, De Vos WM, Tilg H, El-Omar EM. What defines a healthy gut microbiome? *Gut*. 2024 Oct 7;73(11):1893-1908. doi: 10.1136/gutjnl-2024-333378. PMID: 39322314; PMCID: PMC11503168.
48. van Passel MW, Kant R, Zoetendal EG, Plugge CM, Derrien M, Malfatti SA, Chain PS, Woyke T, Palva A, de Vos WM, Smidt H. The genome of *Akkermansia muciniphila*, a dedicated intestinal mucin degrader, and its use in exploring intestinal metagenomes. *PLoS One*. 2011 Mar 3;6(3):e16876. doi: 10.1371/journal.pone.0016876. PMID: 21390229; PMCID: PMC3048395.
49. Wade H, Pan K, Duan Q, et al. *Akkermansia muciniphila* and its membrane protein ameliorates intestinal inflammatory stress and promotes epithelial wound healing via CREBH and miR-143/145. *J Biomed Sci*. 2023;30(1):38. Published 2023 Jun 7. doi:10.1186/s12929-023-00935-1
50. Wang Y, Wang Y, Han W, Han M, Liu X, Dai J, Dong Y, Sun T, Xu J. Intratumoral and fecal microbiota reveals microbial markers associated with gastric carcinogenesis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024 Sep 17;14:1397466. doi: 10.3389/fcimb.2024.1397466. PMID: 39355268; PMCID: PMC11442432.
51. Winter SE, Bäumler AJ. Gut dysbiosis: Ecological causes and causative effects on human disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023 Dec 12;120(50):e2316579120. doi: 10.1073/pnas.2316579120. Epub 2023 Dec 4. PMID: 38048456; PMCID: PMC10722970.
52. Wu W, Kaicen W, Bian X, Yang L, Ding S, Li Y, Li S, Zhuge A, Li L. *Akkermansia muciniphila* alleviates high-fat-diet-related metabolic-associated fatty liver disease by modulating gut microbiota and bile acids. *Microb Biotechnol*. 2023 Oct;16(10):1924-1939. doi: 10.1111/1751-7915.14293. Epub 2023 Jun 28. PMID: 37377410; PMCID: PMC10527187.
53. Wu W, Kaicen W, Bian X, Yang L, Ding S, Li Y, Li S, Zhuge A, Li L. *Akkermansia muciniphila* alleviates high-fat-diet-related metabolic-associated fatty liver disease by modulating gut microbiota and bile acids.

- Microb Biotechnol. 2023 Oct;16(10):1924-1939. doi: 10.1111/1751-7915.14293. Epub 2023 Jun 28. PMID: 37377410; PMCID: PMC10527187.
54. Wu X, Yu D, Ma Y, Fang X, Sun P. Function and therapeutic potential of Amuc\_1100, an outer membrane protein of *Akkermansia muciniphila*: A review. Int J Biol Macromol. 2025;308(Pt 4):142442. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.142442
55. Wu Z, Xiao Y, Zhou F, Chen J, Chen X, Hou A, Wang Y, Li Z. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* Reduces Fat Accumulation via nhr-49-Mediated Nuclear Hormone Signaling Pathway in *Caenorhabditis elegans*. Molecules. 2022 Sep 20;27(19):6159. doi: 10.3390/molecules27196159. PMID: 36234692; PMCID: PMC9572206.
56. Yan J, Sheng L, Li H. *Akkermansia muciniphila*: is it the Holy Grail for ameliorating metabolic diseases? Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1984104. doi: 10.1080/19490976.2021.1984104. PMID: 34674606; PMCID: PMC8726741.
57. Yang J, Zhou X, Liu X, Ling Z, Ji F. Role of the Gastric Microbiome in Gastric Cancer: From Carcinogenesis to Treatment. Front Microbiol. 2021 Mar 15;12:641322. doi: 10.3389/fmicb.2021.641322. PMID: 33790881; PMCID: PMC8005548.
58. Yarahmadi A, Afkhami H. The role of microbiomes in gastrointestinal cancers: new insights. Front Oncol. 2024 Feb 1;13:1344328. doi: 10.3389/fonc.2023.1344328. PMID: 38361500; PMCID: PMC10867565.
59. Zhang J, Ni Y, Qian L, Fang Q, Zheng T, Zhang M, Gao Q, Zhang Y, Ni J, Hou X, Bao Y, Kovatcheva-Datchary P, Xu A, Li H, Panagiotou G, Jia W. Decreased Abundance of *Akkermansia muciniphila* Leads to the Impairment of Insulin Secretion and Glucose Homeostasis in Lean Type 2 Diabetes. Adv Sci (Weinh). 2021 Aug;8(16):e2100536. doi: 10.1002/advs.202100536. Epub 2021 Jun 4. PMID: 34085773; PMCID: PMC8373164.

## ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

обучающегося Валиахметовой Дианы Земфировны группы БМ-201  
по теме: «Способы культивирования и биологические свойства *Akkermansia muciniphila*  
выделенных из кишечника человека».

Обучающийся Валиахметова Диана Земфировна успешно закончила курс обучения по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Итогом обучения явилось выполнение выпускной квалификационной работы, которая является исследовательской работой обучающегося.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования и анализа данных источников литературы, а также обобщения полученной информации. В процессе выполнения экспериментальной части были проведены самостоятельные исследования, освоены методы группировки, сравнения и другие. Тема раскрыта полно, выводы отражают основные результаты исследования и могут быть использованы в практической деятельности.

В период выполнения выпускной квалификационной работы обучающийся показала себя трудолюбивым, добросовестным исследователем, проявила самостоятельность и творческую инициативу.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, аккуратно оформлена и может быть рекомендована к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистр).

Научный руководитель:  
к.м.н., заведующий кафедрой  
фундаментальной и  
прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

  
(подпись)

Гимранова И.А.



**ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА  
О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ**

обучающегося Валиахметовой Дианы Земфировны группы БМ-201  
по теме: «Способы культивирования и биологические свойства *Akkermansia muciniphila*  
выделенных из кишечника человека».

Целью данной работы явилось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:

научный сотрудник  
лаборатории биоинженерии растений  
и микроорганизмов Института химии и  
генетики УФИЦ РАН, к.б.н.

Дата 19.06.2025



Акимова Екатерина Сергеевна

Подпись Акимова Е.С.  
Заверяю *Акимова Е.С.* А.И. Амаков

**ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА  
О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ**

обучающегося Валиахметовой Дианы Земфировны группы БМ-201  
по теме: «Способы культивирования и биологические свойства *Akkermansia muciniphila*  
выделенных из кишечника человека».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:  
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной  
и прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Дата 17.06.25





АНТИПЛАГИАТ  
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

## СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Автор работы: Валиахметова Д. З.

Самоцитирование

рассчитано для: Валиахметова Д. З.

Название работы: СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА AKKERMANSIA MUCINIPHILA  
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Тип работы: Выпускная квалификационная работа

Подразделение: ФГБОУ ВО БГМУ МИНИСТРАЗДРАВА РОССИИ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ					
СОВПАДЕНИЯ	*	2.87%	СОВПАДЕНИЯ	*	2.04%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	██████████	94.96%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	██████████	96.74%
ЦИТИРОВАНИЯ	*	2.17%	ЦИТИРОВАНИЯ	*	1.22%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	██████████	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	██████████	0%
ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 23.06.2025			ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 23.06.2025 16:07		

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.8-42, титульный лист с.1, содержание с.2-3, введение с.4-7, выводы с.43-44

Модули поиска: Шаблонные фразы; Переводные заимствования; Перефразирования по коллекции IEEE; Цитирование; Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; СМИ России СНГ; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Рувики; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Коллекция НБУ; ИПС Адилет; СПС ГАРАНТ: аналитика; Патенты СССР, РФ, СНГ; IEEE; Кольцо вузов; Публикации РГБ; Диссертации НББ; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Медицина; Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Сводная коллекция ЭБС; Публикации eLIBRARY; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Переводные заимствования IEEE; СПС...

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

Дата подписи: 23.06.2025

ФГБОУ ВО БГМУ  
Минздрава России  
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА

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.