

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019. В.38.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

СОҲИБНАЗАРОВА ХОНСУЛУВ АБДУВОҲИДОВНА

**СУТ АЧИТУВЧИ БАКТЕРИЯЛАРНИНГ БАКТЕРИОЦИНЛАРИ ВА
УЛАРНИ ДЕРМАТОЛОГИЯДА ҚЎЛЛАШ ИМКОНИАТЛАРИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of Doctoral of philosophy (PhD)

Соҳибназарова Хонсулув Абдувоҳидовна

Сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоцинлари ва уларни дерматологияда қўллаш имкониятлари 3

Соҳибназарова Хонсулув Абдувоҳидовна

Бактериоцины молочнокислых бактерий и их применение в дерматологии 21

Sohibnazarova Khonsuluv Abduvohidovna

Bacteriocins of lactic acid bacteria and their application in dermatology..... 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works..... 43

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019. В.38.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

СОҲИБНАЗАРОВА ХОНСУЛУВ АБДУВОҲИДОВНА

**СУТ АЧИТУВЧИ БАКТЕРИЯЛАРНИНГ БАКТЕРИОЦИНЛАРИ ВА
УЛАРНИ ДЕРМАТОЛОГИЯДА ҚЎЛЛАШ ИМКОНИАТЛАРИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

Фалсафа доктори (PhD) диссертация мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссияси В2020.2.PhD/В431 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация Микробиология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (info-microbio@academy.uz) ҳамда «ZiyoNet» ахборот-таълим портали (www.ziynet.uz) манзилларига жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Миралимова Шахло Мирджамаловна
биология фанлари доктори

Расмий оппонентлар:

Маматқулов Иброҳим Хамидович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Абдулмянова Лилия Илясовна
биология фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Ўзбекистон Миллий университети

Диссертация ҳимояси Микробиология институти DSc.02/30.12.2019.В.38.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2022 йил «15» июнь соат 10:00даги мажлисида бўлади (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти конференция залида). Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz.

Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин. () рақамли билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 5-қават, кутубхона). Тел.: (+99871)241-92-28.

Диссертация автореферати 2022 йил «03» июнда тарқатилди.

(2022_ йил «03» июнь № 3 рақамли реестр баённомаси)



Арипов Тахир Фатихович

Арипов Тахир Фатихович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси,
б.ф.д., профессор, академик

Жураева Роҳила Назаровна

Жураева Роҳила Назаровна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.н., катта илмий ходим

Гулямова Тошхон Гофуровна

Гулямова Тошхон Гофуровна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда антибиотикларга чидамли бактериялар тез тарқалганлиги сабабли антибиотикларнинг самарадорлиги йўқолиб бормоқда. Маълумки, антибиотиклар бир вақтнинг ўзида юқумли касалликларни даволашга имкон берган ва миллионлаб одамларнинг ҳаётини сақлаб қолган. Таъкидлаш жоизки, биринчи бемор антибиотик терапиясини бошлагандан бир неча йил ўтиб бактериал инфекция яна ривожланди. Антибиотикларга нисбатан чидамлилик дори-дармонларнинг ҳаддан ташқари кўп қўлланилиши, нотўғри фойдаланиш, шунингдек, иқтисодий рағбатлантириш камайиши ва мураккаб норматив талаблар сабабли фармацевтика саноатида янги дори воситаларининг ривожланиши сустратишига олиб келмоқда. *Staphylococcus aureus* бактерияси инсон ва ҳайвонларда кенг тарқалган патоген ҳисобланади. Шунингдек, у тери инфекциялардан тортиб, пневмония ва менингит каби ҳаёт учун хавфли бўлган касалликларни келтириб чиқаришда иштирок этади. *S. aureus* эксфолиатив токсин ишлаб чиқариши натижасида импетиго, фолликулит, фрункулёз ва тери ости абсцесси касалликларини келтириб чиқаради. Атопик дерматит (АД) каби махсус ҳолатлар терини *S. aureus* инфекциясига мойил қилади. ЖССТ тилларанг стафилакокларнинг (MRSA) метициллинг, янги антибиотикларга нисбатан чидамли штаммлари патогенлар гуруҳининг аҳамиятга эга бактериялари сифатида тавсифланган. Шу сабабли, микроорганизмларга қарши табиий моддаларни излаш ҳамда фаол микроб метаболитлардан бактериоцинларни ажратиш олиш муҳим аҳамиятга эга.

Жаҳоннинг турли илмий марказларида синтетик антибиотикларга алтернатив сифатида пробиотик микроорганизмларни, антимикроб метаболитларни излаш ва тиббиётга жорий этиш борасида илмий тадқиқот ишлари олиб борилмоқда. Бу борада, фаол бактерия штаммларидан бактериоцин ажратиш олиш ва тозалаш, озуқа муҳитлар таркибини такомиллаштириш, пептидларнинг антимикроб спектрини тадқиқ этиш ва уларни турли соҳаларда патоген ва шартли патоген бактерияларга қарши самарали восита сифатида қўллаш, шунингдек, бактериоцинлар микробларга қарши, иммуномадуляторлик, антиконсероген ва антиоксидан моддалар сифатида фойдаланиш, сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоцинларни инфекция кўзгатувчиларга қарши қўллаш ҳамда антимикроб препаратларни ишлаб чиқишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Республикамизда аҳолини сифатли ва самарали дори воситалари билан таъминлашга алоҳида эътибор қаратилмоқда, шунингдек, самарали терапевтик таъсирга эга бўлган янги биопрепаратлар ишлаб чиқиш бўйича инновацион ютуқлардан фойдаланиш борасида муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида¹ (4-йўналиш) «...дори воситалари ишлаб чиқаришга

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисида ги Фармони

инновацион технологияларни янада жорий этиш бўйича илмий-тадқиқот ва тажриба-конструкторлик ишларини ташкил этиш ҳамда ички бозорни тўлдириш ва дори воситалари ишлаб чиқаришни маҳаллийлаштириш бўйича таклифлар ишлаб чиқиш» вазифалари белгилаб берилган. Мазкур вазифаларини амалга оширишда, жумладан, бактериоцинларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва дерматологик инфекция кўзғатувчиларига қарши қўллаш самарадорлигини аниқлаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 10 апрелдаги ПҚ-5707-сон «2019-2021-йиллар республика фармацевтика саноатини жадал ривожлантиришга оид чора-тадбирлар тўғрисида»ги қарори, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 30 декабрдаги ПҚ-4554-сон «Ўзбекистон Республикаси фармацевтика соҳасида ислохотларни чуқурлаштиришга доир кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги қарори, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 21 январдаги ПФ-55-сон «2022-2026-йилларда республика фармацевтика тармоғини ривожлантиришни жадаллаштиришга доир кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида» Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Жаҳон илмий адабиётларида сут ачитувчи бактерияларнинг юқори фаол штамmlарини ажратиб олиш ва танлаш ҳамда улардан пробиотиклар сифатида амалиётда қўллаш бўйича кўплаб маълумотлар мавжуд (Ageryi A.A.2013, Kumar S. 2014; Abushelaibi A. 2017, Tallapragada P. 2018 ва бошқалар). Адабиётларда бактериоцинлар ҳосил қилувчи бактерия штамmlарининг морфологик ва физиологик хусусиятларини ўрганиш (Wang Y. 2010; Seo B.J. 2015; Dahunsi A.2018, Chuah L.O. 2019), бактериоцинларни ажратиб олиш ва тозалаш, муҳитлар таркибини оптималлаштириш ва лактобактериялар штамmlарини бактериоцинларни максимал даражада ишлаб чиқариш шароитлари ёритилган (Batdorj B. 2006, Song D.F. 2014). Кўпгина адабиёт манбаларида бактериоцинларнинг тиббиётда ва ветеринарияда фойдаланиш учун юқори салоҳиятга эга эканлигини кўрсатади (Lagha M., H.Mathur 2017;P. Simonova 2020). Хусусан, сут ачитувчи бактериялар ҳамда уларнинг бактериоцинлари ва бошқа метаболитларининг дерматологияда қўлланилиши бўйича маълумотлар келтирилган (Kong 2012; Williams M.R. 2015; Maguire M 2017).

Шу билан бирга, бактериоцинларни қуйидаги мақсадларда қўллаш самарадорлиги ҳақида маълум қилинган: озиқ-овқат маҳсулотларини сақлаш (F.Huang2021) ошқозон ярасини даволаш (Hannana M 2017) саратонга қарши восита сифатида (Sumanpreet K. 2015, Ahmadi Sh. 2017) оғиз бўшлиғини

парвариш қилиш учун (Санае А. Ишижима. 2012; ММСолтан Даллал, 2021); кишлоқ хўжалигида ўсимликларнинг ўсишини ривожлантиришида қўллаш (E.J. Gray 2006; Strafella S.2021) бўйича маълумотлар келтирилган.

Таъкидлаш жоизки, Республикамиз олимлари томонидан илгари бактериоциноген сут ачитувчи бактерияларининг маҳаллий штамmlарини ажратиш олиш ва уларни хеликобактерга қарши восита сифатида ошқозон ярасини даволашда қўллаш бўйича тадқиқотлар олиб борилган (Огай Д.К., 2002; Кутлиева Г.Дж, 2002; Миралимова Ш.М. 2009., 2017; Элова Н.А., 2019). Дерматологик патогенларга қарши сут ачитувчи бактерияларининг бактериоцинларини қўллаш самарадорлиги биринчи марта ўрганилмоқда.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Микробиология институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг Т.4-16 «Бактериоцинларни ишлаб чиқарувчи микроорганизмларни излаш ва улардан озик-овқат саноатида фойдаланиш имкониятларини баҳолаш» (2017-2018 йй.), ПЗ-2017091515 «Сут ачитувчи бактериялар бактериоцинларини олиш, физик-кимёвий хусусиятларини ва антимикроб фаоллигини ўрганиш» (2018-2020 йй.) мавзуларидаги амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади бактериоцин ҳосил қилувчи сут ачитувчи бактерияларни ажратиш ва уларнинг бактериоцинларининг дерматологик инфекция кўзғатувчиларига қарши ташқи қўлланадиган янги антимикроб препаратларни ишлаб чиқишдаги самарадорлигини баҳолашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Сут ачитувчи бактерияларни ажратиш олиш уларни антимикроб ва бактериоцин ҳосил қилувчи штамmlарини идентификация қилиш;

бактериоциноген лактобациллаларнинг пробиотик хоссаларини аниқлаш;

дерматологик инфекция кўзғатувчиларига қарши фаолликка эга бўлган бактериоцин ишлаб чиқарувчи штамmlарни танлаш;

бактериоцин ҳосил қилувчи штамmlарнинг бактериоцин ишлаб чиқариш шароитларини оптималлаштириш;

бактериоцинларни тозалаш, физик-кимёвий ва биологик хусусиятларини аниқлаш;

бактериоцинларни тери инфекциясининг ҳайвон моделида ташқи тарафдан қўллаш самарадорлигини баҳолаш;

Тадқиқотнинг объекти сифатида бактериоцин ишлаб чиқарувчи *Lactiplantibacillus plantarum* штамmlари, уларнинг антимикроб фаол бактериоцинлари, *S. aureus* клиник штамmlари олинган.

Тадқиқотнинг предметини сут ачитувчи бактерияларининг бактериоцинлари юқумли дерматологик касаллик кўзғатувчиларига қарши антагонист сифатида, уларнинг физик кимёвий хусусиятлари ташкил этган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотда микробиологик, биокимёвий, биотехнологик, молекуляр-генетик ва статистик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор Ўзбекистонда маҳаллий сут ачитувчи бактерия штамmlарининг тери инфекцияларини кўзғатувчиларга қарши фаоллиги ва бактериоцин *S. aureus* метициллинга чидамли штамmlарини ўсиш зонасини тўхтатиши аниқланган;

педиоцинга ўхшаш бактериоцинларни тозалаш схемаси ишлаб чиқилган ва гомоген пептидлар ажратиб олинган ва асосланган;

маҳаллий сут ачитувчи бактериялари штамmlарининг Па гуруҳи бактериоцинларини (Педиоцинга ўхшаш бактериоцинлар) ишлаб чиқариш қобилияти аниқланган;

илк бор антибиотикларга чидамли стафилококларнинг антагонистик хусусияти сифатида маҳаллий сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоцинлари дерматологияда хайвон моделида атопик дерматитни даволашда қўллаш имконияти асосланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

сут ачитувчи бактерияларининг тери инфекцияларининг кўзғатувчиси *S. aureus* нинг метициллинга чидамли клиник изолятларига ҳамда озик-овқат патогенига қарши *L. monocytogenes* га фаол бўлган бактериоцинлар ажратилган; бактериоцинни 3 босқичда тозалаш схемаси ишлаб чиқилган; антибиотик билан солиштирганда бактериоцин ярани тикланишини тезлаштира олиши аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги замонавий микробиологик, биотехнологик, молекуляр-биологик ва кимёвий усуллар қўлланилганлиги улар асосида олинган илмий натижалар етакчи хорижий журналларда чоп этилганлиги статистик қайта ишлаш, ўртача статистик хатолик, ишончлилик интерваллари, стандарт оғишларни ҳисоблаш, назарий маълумотларга мос келиши, Фишер дисперсион таҳлили (ANOVA) ёрдамида ҳисоблаш билан амалга оширилди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти сут ачитувчи бактерияларнинг маҳаллий штамmlари *L. plantarum* Mal бактериоцинининг янги хоссалари аниқланган ҳамда *L. monocytogenes* га қарши антимикроб таъсир кўрсатишдан ташқари метициллинга чидамли *S. aureus* (MRSA) ривожланишини ингибирлаш хусусиятига эга эканлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоциноген штамmlари коллекцияси яратилган ва *L. plantarum* Mal бактериоцинининг тозалаш схемаси ишлаб чиқиш, антибиотикларга чидамли патогенларга нисбатан белгиланган микроорганизмларга қарши хусусияти туфайли фармацевтика ва озик-овқат саноатида фойдаланиш учун тавсия қилиш, янги маҳаллий бактериоцин ишлаб чиқарувчи штамmlарнинг пробиотик хусусиятларини аниқлаш, уларни пробиотик препарат шаклида шунингдек, озик-овқат саноатида қўллашга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Бактериоцин ҳосил қилувчи сут ачитувчи бактерияларни ажратиш ва уларнинг

бактериоцинларини турли соҳаларда қўлланилиши бўйича олинган илмий натижалар асосида:

Маҳаллий доривор ўсимликлардан ажратиб олинган ва пробиотик хусусиятлари аниқланиб, *Lactobacillus plantarum* Mal ва *Lactobacillus plantarum* K-2 штаммларидан №С-НИ-22 “Ўсимлик ва микроб бирикмалар асосида диабетга қарши инновацион биопрепарат яратиш” амалий лойиҳасида каламуш моделининг қон таркибида қанд миқдорини пасайтиришда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2021 йил 4 мартдаги 4/1255-651-сон маълумотномаси). Натижада, сут ачитувчи бактериялари штаммларининг диабетга қарши хусусиятлари аниқланган ва улар асосида диабетга қарши гипогликемик фаол бўлган пробиотик препарат яратиш имконини берган;

Маҳаллий доривор ўсимликлардан ажратиб олинган сут ачитувчи бактерия штаммлари 16S рРНК нуклеотидлар кетма-кетлиги National Center for Biotechnology Information (NCBI) маълумотлар базасида *Lactobacillus plantarum* Mal (MT758354.1), *Lactobacillus plantarum* P-1 (MT758355.1), *Lactobacillus plantarum* K-2 (MT758470.1), *Lactobacillus plantarum* TM-5 (MT758469.1) рақами билан рўйхатга киритилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2021 йил 4 март 4/1255-650-сон маълумотномаси). Натижада, дунё миқёсида 16S rRNA генини нуклеотидлар кетма-кетлигидан филогенетик таҳлил учун фойдаланиш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича 23 та илмий иш чоп этилган, шулардан 6 таси илмий мақола бўлиб, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда, жумладан, 4 таси республика нашрларида, 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 107 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида олиб борилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва асосий вазифалари тавсифланган, тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожлантириш устувор йўналишларига мослиги, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий этиш, чоп этилган илмий ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг "Сут ачитувчи бактериялар ва уларнинг антимикроб фаол метаболитлари" деб номланган биринчи бобида сут ачитувчи бактерияларни (САБ) ўрганиш соҳасида сўнги йилларда нашр этилган тадқиқотлар таҳлил қилинган. САБнинг антимикроб метаболитлари, жумладан, бактериоцинлар, уларнинг ҳосилалари, тозалаш усуллари ва турли касалликларни даволаш самарадорлиги тавсифи берилган.

Диссертациянинг "Бактериоциноген сут ачитувчи бактериялар ва уларнинг бактериоцинларини ўрганиш усуллари" деб номланган иккинчи бобида сут ачитувчи бактерияларни ажратиб олиш, ажратилган изолятларни пробиотик хусусиятлари ва бактериоциноген фаоллигини, уларнинг антибиотикларга сезувчанлигини ўрганиш усуллари тавсифи берилган. Лактобактерияларнинг фенотипик ва генотипик идентификациялаш усуллари акс этирилган, тадқиқотда культивирлашнинг стандарт ва оптималлаштириш шароитлари келтирилган. Шунингдек, бактериоцинларни тозалаш протоколи ва уларнинг физик-кимёвий хусусиятларин аниқлаш усуллари ҳамда тери инфекциясининг ҳайвон моделида бактериоцинларнинг самарадорлигини ўрганиш бўйича тажрибалар тавсифи келтирилган.

Диссертациянинг "Бактериоциноген лактобактериялар в уларнинг хусусиятлари" деб номланган учинчи бобида олинган натижалар ўсимликлардан (доривор ўсимликлар *Malva neglecta*, *Anethum graveolens*, *Mentha suaveolens*, *Capsicum annuum*, *Valeriana officinalis*, *Raphanus L. sativa*) ҳамда ферментацияланган (тузланган карам, бодринг, помидор) маҳсулотлардан сут ачитувчи бактериялар (САБ) ажратиб олинган. Умумий 80 та САБ изолятлари ажратиб олинган. Культураларнинг антимикроб фаоллиги агардаги кудукча усулидан фойдаланган ҳолда аниқланди. Изолятларнинг юқори антимикроб фаоллиги *Staphylococcus aureus* 00359446/wood, *Klebsiella pneumoniae* B-1823, *Pr.morganii* 399, *Serratia marcescens* 367, *E.coli* 477, *L. monocytogenes* ATCC 1911 ва *Ps.aeruginosa* 003841/114 га нисбатан аниқланди (1-жадвал).

Ўн бешта изолятдан микроорганизмларга қарши антимикроб фаоллиги ўрганилганда 5 та *Lactiplantibacillus sp Mal*, *Lactiplantibacillus sp Val*, *Lactiplantibacillus sp P-1*, *Lactiplantibacillus sp TM-5*, *Lactiplantibacillus sp K-2* культураларида оксил табиатли метаболитлар бактериоцинлар аниқланди. Бактериоцинлар *L.monocytogenes* 1911, *Pr. morgani* 399, *E.coli* 477, *Ps.aeruginosa* 003841/114, *K. pneumoniae* B-1823 ва *E.faecalis* га қарши фаол эканлиги тасдиқланди (2-жадвал). САБ ларнинг бактериоцинлари сезгир патогенлар келтириб чиқарадиган инфекцияларга қарши курашиш учун антибиотикларга муқобил сифатида кейинги тадқиқотларнинг истиқболли объектига айланиши мумкин. Сезгир шартли патогенлар (ШП) орасида *Ps. aeruginosa* ва *S. aureus* антибиотикларга чидамли штаммларнинг тарқалиши туфайли алоҳида хавотирга сабаб бўлмоқда.

Сут ачитувчи бактерияларнинг антимикроб фаоллиги

№	Култур алар	Манба	Ўсишни тўхтатиш зонасини (мм)									
			<i>S. aureus</i> 00359446/ wood	<i>K.</i> <i>pneumonia</i> e B-1823	<i>Pr.</i> <i>morgani</i> 399	<i>E. coli</i> 477	<i>C.albicans</i> 003592/72 3	<i>S. marcescens</i> 367	<i>L.monocytog</i> <i>enes ATCC</i> 1911	<i>E. faecalis</i>	<i>C. freundii</i> 002801/27	<i>Ps.</i> <i>aeruginosa</i> 003841/114
1	<i>L.spp P-1</i>	<i>Capsicum annum</i>	15,3±0,57	20,6±1,06	22±0	22,3±0,67	0	20,5±0,8	25,5±0,87	0	20,3±0,57	20,3±0,57
2	<i>L.spp Mal</i>	<i>Malva neglecta</i>	30,3±1,57	33,5±0,37	32,6±0,57	30,3±	0	20,5±0,57	30±0,5	0	22,3±0,5	28,5±0,57
3	<i>L. spp Val</i>	<i>Valeriana officinalis</i>	14,6±0,5	25,3±0,57	25,6±0,57	17,3±0,8	0	20,5±0,87	25±0,5	0	25±0	20,3±0,3
4	<i>L. spp TM-5</i>	<i>Mentha</i>	12,3±0,57	12,6±0,5	12,5±0,87	28,3±0,67	0	12,3±0,5	15±0,57	0	0	0
5	<i>L. spp TII-2</i>	<i>Raphanus sativus</i>	30,3±0,8	12,5±0,57	20,6±0,57	30± 0,9	0	0	0	0	0	20,3±0,57
6	<i>L.spp Tb</i>	Туз.бодринг	20,6±0,36	15,6±0,57	40,3±1,15	15,3±0,56	0	30,3±0,5	0	15,3±0,5	0	25,6±0,57
7	<i>L. spp SB</i>	<i>Lactuca sativa</i>	30,3±0,67	15,6±0,93	20,6±0,57	25,6±0,87	0	27,3±0,57	0	0	0	20,3±0,5
8	<i>L. spp КБ</i>	<i>Cucurbita pepo</i>	33,3±0,57	36,3±0,87	30,6±0,87	12,3±0,26	0	0	35,3±0,87	20,3±0,57	25±0,87	25,3±0,57
9	<i>L. spp У-1</i>	<i>Anethum graveolens</i>	45±0,27	35,6±0,92	31,6±0,57	29,6±0,87	0	18,3±0,57	32,3±0,87	20,6±0,87	0	32,3±0,87
10	<i>L.spp K-2</i>	Туз.карам	20,8±0,59	23±0,59	20±0,59	27,5±0,59	15,4±0,31	30±0,59	20±0,59	25±0,59	29±0,59	35±0,59
11	<i>L. spp IK</i>		32±0,59	28±0,59	15±0,59	20 ±0,31	0	20±0,31	30±0,59	20±0,59	20±0,59	15±0,59
12	<i>L.spp АД-7</i>		25,5±0,57	20±1,41	30,3±0,57	30,3±0,57	0	23,6±0,38	10,3±0,37	30,6±0,57	0	0
13	<i>L.spp КIII-2</i>		20,6± 0,57	18,5±0,57	20,3±0,57	18±0,23	0	0	10,3±0,87	0	0	20,5± ±0,57
14	<i>L.spp КР</i>		25,6±0,5	18±0,5	25,3±0,87	20,3±0,89	0	40±1,5	0	0	0	15,4±0,57
15	<i>L.spp SХА-III</i>		30,3±0,57	0	18,3±0,87	15,3±	0	25,6±0,87	21,6±0,57	0	0	12,3±0,5

Сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоциноген фаоллиги

№	ШП САБ									
		<i>S. aureus</i> 003594/wood 46	<i>K. pneumoniae</i> B- 1823	<i>Pr. morgani</i> 399	<i>E. coli</i> NC101	<i>S. marcescens</i> 367	<i>L. monocytogenes</i> 1911	<i>E. faecalis</i>	<i>C. freundii</i> 002801/27	<i>Ps. aeruginosa</i> 003841/114
1	<i>L. plantarum</i> P-1	15,3 ± 0,57	20,3 ± 0,28	21,3± 0,57*	22,5± 0,5*	20,3 ± 0,57	25,3± 0,28*	0	20,8 ± 0,76	20,3± 0,57*
2	<i>L. plantarum</i> K-2	20,1± 0,28	15,4± 0,11	20,6± 0,57*	30,4± 0,20	25,1± 0,28	25,2± 0,28*	20,5± 0,57*	18,2± 0,28	20,3± 0,57*
3	<i>L. plantarum</i> Mal	30,2 ±0,25	35,1 ± 0,17	30,6± 0,57*	30,2± 0,30*	20,5± 0,28	30,06± 0,11*	0	22,6 ± 0,57	28,8 ± 0,28
4	<i>L. plantarum</i> Val	14,6 ± 0,52	25,3 ± 0,57	25,3± 0,47*	17,6 ± 0,57	20,1 ± 0,17	25,1± 0,3	0	22,3 ± 0,28	20,3± 0,32*
5	<i>L. plantarum</i> TM-5	0	10,5± 0,5*	8,3± 0,57	28,5± 0,5	8,6 ± 0,52	10,5± 0,5	0	0	0

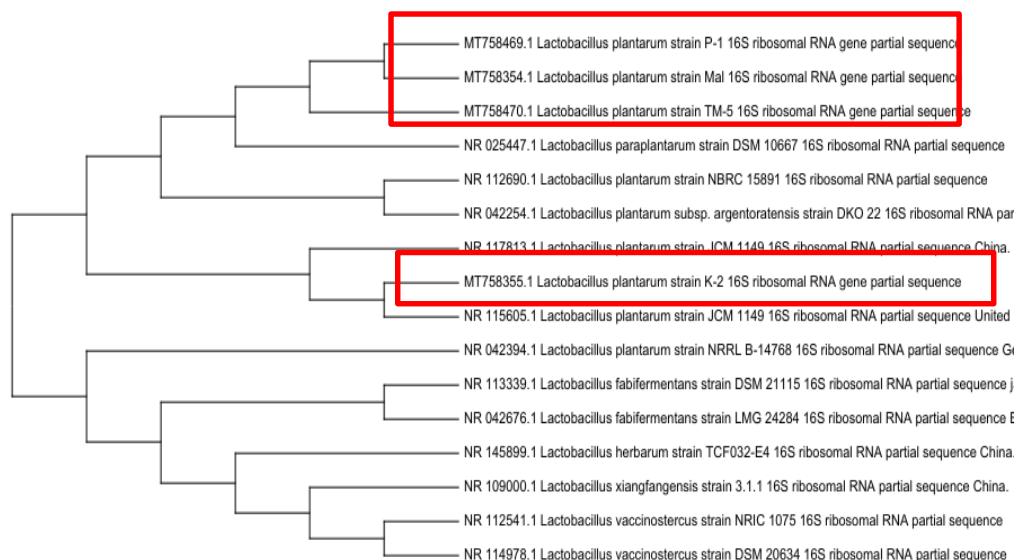
Изох: *- сут ачитувчи бактерияларнинг бактериоциноген фаоллиги

Бактериоциноген изолатлар фенотипик ва генотипик усуллар билан идентификация қилинди.

Сут ачитувчи бактерияларнинг ўрганилаётган культураларининг тур мансублигини аниқлаш учун 8f ва 926 r праймерлари ёрдамида 16S rRNA гени кетма кетлиги ўрганилди. 1500 ж.н ампликон олинди, бу мақсадли геннинг кутилган ҳажмига тўғри келади.

Сут кислота бактерияларининг 5 та штаммида Сэнгер секвенси натижасида 16S rRNA генининг 500-800 ж.н. фрагментларининг нуклеотидлар кетма-кетлиги аниқланди.

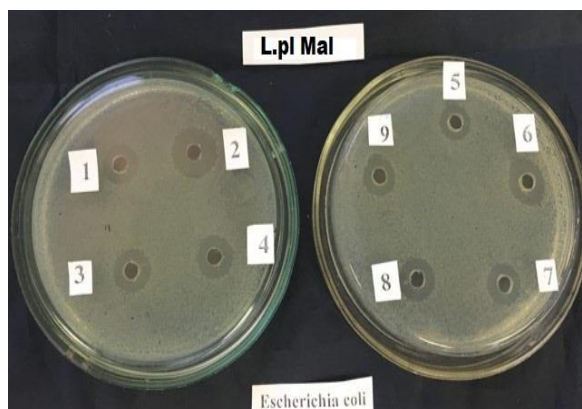
Таҳлил натижаларига кўра ўрганилаётган сут ачитувчи бактерия штаммлари *Lactiplantibacillus plantarum* (5 штамм) турига тегишлилиги аниқланди, нуклеотидлар кетма-кетлигининг гомологияси 96-99% ни ташкил этди. Phylogeny.fr онлайн ресурси ёрдамида нуклеотидлар кетма-кетлиги асосида шажара дарахти тузилди (1-расм).



1-Расм. *L. plantarum* штамларининг 16S rRNA гени асосида тузилган шажара дарахти

Ушбу филогенетик дарахт штамларнинг келиб чиқиши хақида маълумот беради. *L. plantarum* K-2 штамми *L. plantarum* NBRC JSM1149 (Хитой) штаммига яқин жойлашган чунки Хитой карамининг ферментирланган шаклидан ажратиб олинган, *Lactiplantibacillus plantarum* TM-5, *Lactiplantibacillus plantarum* Mal, *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 штамлари бир-бирига яқин ҳамда кейинги ўхшашликлардан узоқда жойлашган. Бу уларнинг маҳаллий келиб чиқишига мансублигини кўрсатади.

“Бактериоцинлар ва уларнинг хоссаларини олиш шароитларини оптималлаштириш” деб номланган тўртинчи бобида лактобактерияларнинг маҳаллий штамларидаги бактериоцинларнинг ҳосил бўлишини оптималлаштириш, супернатантдан оқсилларни ажратиб олиш ва тозалаш, физик-кимёвий хоссаларини (бактериоцинни рН чидамлилиги, хароратга чидамлилиги ва молекуляр оғирлиги) ўрганиш ва ҳосил бўлган бактериоцинларнинг биологик фаоллигини аниқлашга оид синовлар натижалари келтирилган. Лактобактерияларнинг 5 та штаммининг бактериоциноген фаоллиги 9 хил таркибли МРС озуқа муҳитида ўстириб ўрганилди. Натижалар шуни кўрсатадики, *L. plantarum* P-1 штаммида *L. monocytogenes* ни ингибирлаш зонасининг диаметри стандарт МРС муҳитига (№8) нисбатан Tween-80 кўшилмаган МРС-агар(№2) муҳитида 13 мм га ошган ва 8 мм дан 21 мм ни ташкил қилган, мос равишда; *L. plantarum* Mal штаммида— 4 мм га мос равишда 16 мм дан 20 мм ни ташкил этди; *L. plantarum* K-2 штаммида 7 мм га 16 мм дан ва 20 мм ни ташкил этди, *L. plantarum* Val штаммида ингибирлаш зонасининг диаметри 7 мм га ошган ва мос равишда 8 мм дан 15 мм ни ташкил этади; *L. plantarum* TM-5 да, №2 муҳитида ингибирлаш зонаси 7 мм га ошди мос равишда 8 мм дан 15 мм ни ташкил этди (2-расм).

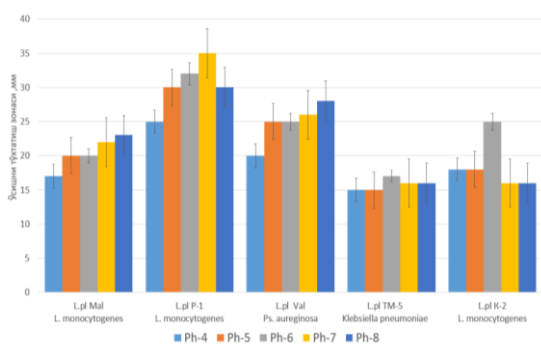


2-Расм. Ўзгартирилган озуқа муҳитида ўстирилганда бактериоциноген лактобактериялар культурал суюқлигининг антимикроб фаоллиги

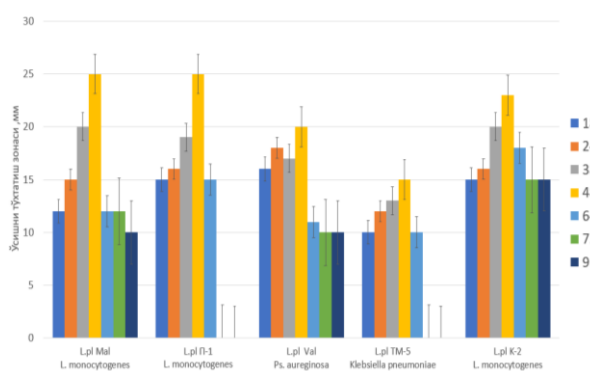
Бактериоцин тутган супернатантларнинг антимикроб фаоллиги озуқа муҳитининг рН қийматига ҳам боғлиқдир (3- расм).

Шундай қилиб, *L. plantarum* Mal, ва *L. plantarum* Val штамлари учун оптимал рН қиймати рН=8 ни ташкил этди, ингибирлаш зонаси мос равишда 23 мм ва 28 мм, *L. plantarum* P-1 штаммида эса оптимал рН=7 қийматини ташкил этди ва ингибирлаш зонаси 26 мм, *L. plantarum* ТМ-5 ҳамда *L. plantarum* К-2 штаммида эса рН=6 га тенг бўлиб, ингибирлаш зонаси 16 мм ва 25 мм ташкил этди. Бактериоцин ҳосил бўлишига культивирлаш давомийлигининг таъсирини ўрганиш шуни кўрсатдики, бактериоцин ҳосил бўлиши ва фаоллиги культивирлаш вақтига боғлиқ бўлиб 48 соатлик инкубациядан сўнг бактериоциноген фаоллик энг юқори бўлгани кузатилган (4-расм).

Турли ҳарорат бактериоцинларнинг ҳосил бўлишини ўрганиш шуни кўрсатдики, оптимал ўсиш 37 ° С га тенглиги аниқланди. Ўстириш ҳароратининг пасайиши ва ошиши бактериоцин ишлаб чиқариш камайишига олиб келиши кузатилди (3-жадвал).



3-Расм Бактериоцин ҳосил бўлишига рН кўрсаткичининг таъсири



4-Расм бактериоцин ҳосил бўлишига культивирлаш вақтининг таъсири

**Ўстириш ҳароратининг бактериоцин ҳосил бўлишига таъсири
($M \pm m, n=3$)**

БЛ	Тест культуралар	Турли ҳароратда тест-культураларнинг ингибирлаш зонаси, мм				
		10°C	20°C	30°C	37°C	40°C
<i>L.plantarum</i> Mal	<i>L.monocytogenes</i>	8±0,25	12±0,5	19±0,25	25±0,5*	25±0,28
<i>L.plantarum</i> Val	<i>Ps. aeruginosa</i>	10±0,5	12±0,11	18±0,5	20±0,2*	15±0,5
<i>L.plantarum</i> P-1	<i>L. monocytogenes</i>	11±0,5	15±0,28	20±0,11	25±0,5*	25±0,25
<i>L.plantarum</i> TM-5	<i>K. pneumoniae</i>	0	0	15±0,5	18±0,5*	16±0,5
<i>L.plantarum</i> K-2	<i>L. monocytogenes</i>	10±0,5	15±0,5	18±0,28	25±0,2*	22±0,5

Изох * максимал бактериоцин фаоллиги ($p < 0,05$)

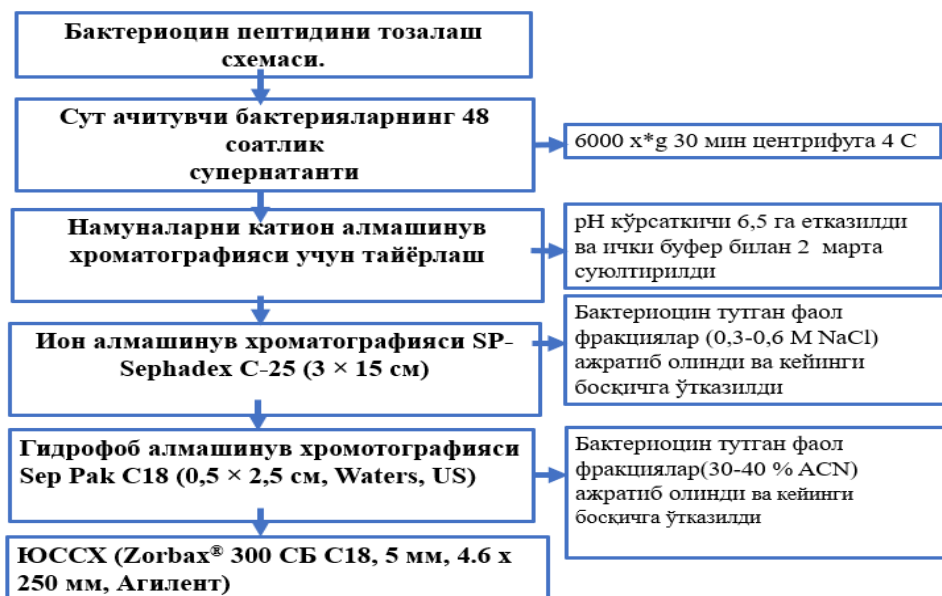
Бактериоцинларни тозалаш усулини танлаш учун бактериоциноген лактобактериялар танланган оптимал шароитларда ўстирилди. ҳарорат 37°C, култивация вақти 48 соат. Культураларни ўстириш муҳитининг оптимал рН қиймати культуралар учун ҳар хил эди: *L.plantarum* TM-5 штамми учун рН=6; *L.plantarum* P-1 рН=7; *L.plantarum* Mal, *L.plantarum* K-2 ва *L.plantarum* Val штаммлари учун рН=8 ташкил этди. Тозалаш схемаси уч босқичдан иборат бўлиб: катион алмашинув хроматографияси, гидрофоб таъсирлашув хроматография ва ЮССХ (5-расм).

Тозалашнинг биринчи босқичида *L. plantarum* Mal, *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* P-1, *L. plantarum* Val ва *L. plantarum* TM-5 штаммлари SP-Sephadex C-25 (3 × 15 см) катион алмашинув хроматографияси ёрдамида тозаланганда фаол фракциялар 20 мМ фосфат буферисидаги (рН 6,5) 0,3 ва 0,6 М NaCl эритмалари билан элюция қилинган намуналар эканлиги аниқланди.

Шу ажратилган бактериоцинлар кейинги босқичда Sep Pak C18 картриджи (0.5 x 2.5 см, Waters, US) ёрдамида тозalandи ва асосий фаол фракциялар ацитонитрилнинг 30-40% ли (0.1% ли трифтор сирка кислотасидаги) эритмалари ёрдамида элюция қилинган намуналар эканлиги аниқланди (5- расм).

Бактериоцинларнинг 3 босқичли тозалангандан сўнг, уларнинг рН ва температурага чидамлилиги ўрганилди. Буни *Listeria monocytogenes* га фаоллиги ўзгаришига қараб баҳоланди. *Lactiplantibacillus plantarum* K-2 бактериоцинининг антимикроб фаоллиги 80°C ҳароратда 15 мин давомида 28,5 мм, 90°C ва 100°C ҳароратда эса 25 мм, стерелизация шароитидан сўнг эса 24 мм ни ташкил этди.

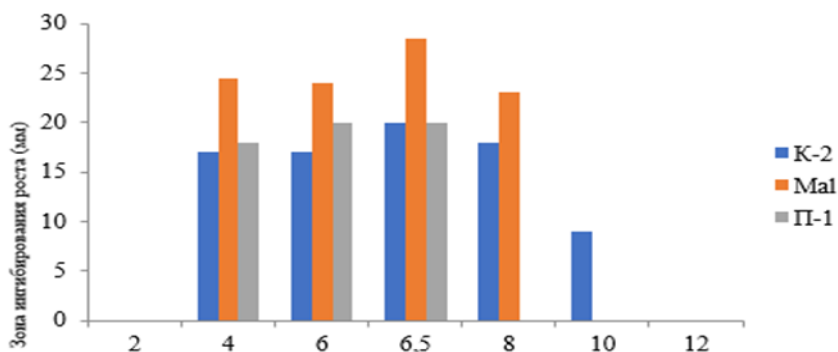
Lactiplantibacillus plantarum Mal бактериоцинида эса 15-30 мин давомида таъсир этирилган ҳароратлар диапазонида антимикроб таъсир зонаси диаметри деярли ўзгармаган.



5-Расм. Бактериоцинни тозалаш схемаси

Lactiplantibacillus plantarum P-1 бактериоцининг антимикроб фаоллик зонаси диаметри 25 мм га тенг бўлиб, ҳарорат кўтарилиши билан пептид фаоллиги секин-аста пасайган 15 ва 30 мин давомида стерилизация қилиш таъсирида эса антимикроб фаоллик зонаси диаметри 18 - 15 мм гача пасайган.

Шундай қилиб, барча штаммларнинг олинган бактериоцинлари ҳарорат таъсирига чидамли эканлиги аниқланди. *Lactiplantibacillus plantarum* K-2 ва *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 бактериоцинларининг фаоллиги юқори ҳарорат таъсирида кам даражада пасайган бўлса, *Lactiplantibacillus plantarum* Mal бактериоцинининг фаоллиги стерилизациядан кейин ҳам ўзгармаган, яъни бактериоцин ҳароратнинг юқори кўрсаткичларига чидамлилиги кузатилди. Мухит рН нинг турли қийматларида бактериоцин фаоллиги рН=2 дан рН=12 гача оралиғида ўрганилди. Бактериоцинлар ўз фаоллигини рН 4 дан 8 гача бўлган қийматда сақлаб туриши аниқланди (6-расм).

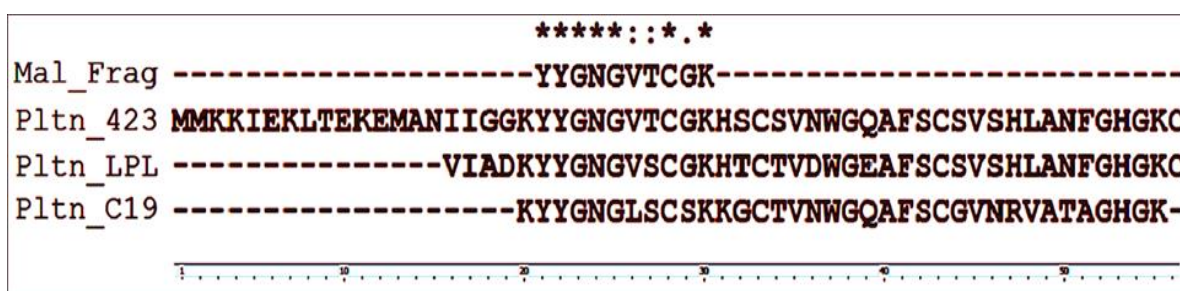


6- Расм. Бактериоцинга рН кўрсаткичининг таъсири

Махаллий БЛ дан ажратилган бактериоцинлар юқори ҳарорат ва рН 4-8 гача чидамлилиги исботланди. Бу озиқ овқат саноатида ва фармацевтика саноатида бактериоцинлардан фойдаланиш имкониятларини кенгайтиради.

Тозаланган бактериоцин идентификацияси масса спектрометрияси усули ёрдамида амалга оширилди. *L. plantarum* Mal бактериоцинининг молекуляр массаси Q-TOF-LC/MS хроматомасс спектрометрияси бўйича ўрганилганда молекуляр оғирлиги 3947,5056 а.м.б ни ташкил қилади. 98 та пептиддан фақат битта пептид YGNGV мотивига эга бўлиб, бу ўрганилган бактериоцин Mal Па синф бактериоцинларига тегишли эканлигини тасдиқлайди.

L. plantarum Mal бактериоциннинг YYGNGVTCGK кетма кетлигига эга бир қисми *L. plantarum* 423, C19 ва LPL штаммларидаги плантарицинларнинг маълум тузилмалари билан солиштирилди (7-расм).



7-расм. *L. plantarum* Mal бактериоцинининг триптик фрагменти

Кетма кетлик натижасида ўрганилаётган фрагмент *L. plantarum* ортологлари плантарицинлар билан солиштирганда *L. plantarum* 423 штаммидаги 21-30 қолдиқларига 100% мос эканлиги ва LPL нинг 6-15 қолдиқларига 90% қолдиқлари мос келади. C-19 штаммидаги 2-11 плантарицин қолдиқлари билан 80% мос тушди, ўрганилган фрагментларда *L. plantarum* Mal фрагменти кетма-кетлигидаги треонин (T7) ва глицин (G9) қаршисидаги ортологидagi иккита серин қолдиқлари (S8 ва S10) бундан мустасно эканлиги аниқланди.

Диссертациянинг “**Бактериоцинларнинг дерматологик касалликлар кўзгатувчи микроорганизмларга таъсири**” деб номланган бешинчи бобида дерматологик касалликларга чалинган беморлар терисидан ажратилган патоген изолятларга нисбатан бактериоцинларнинг *in vitro* ва *in vivo* микроорганизмларга қарши фаоллигини ўрганишга бағишланган.

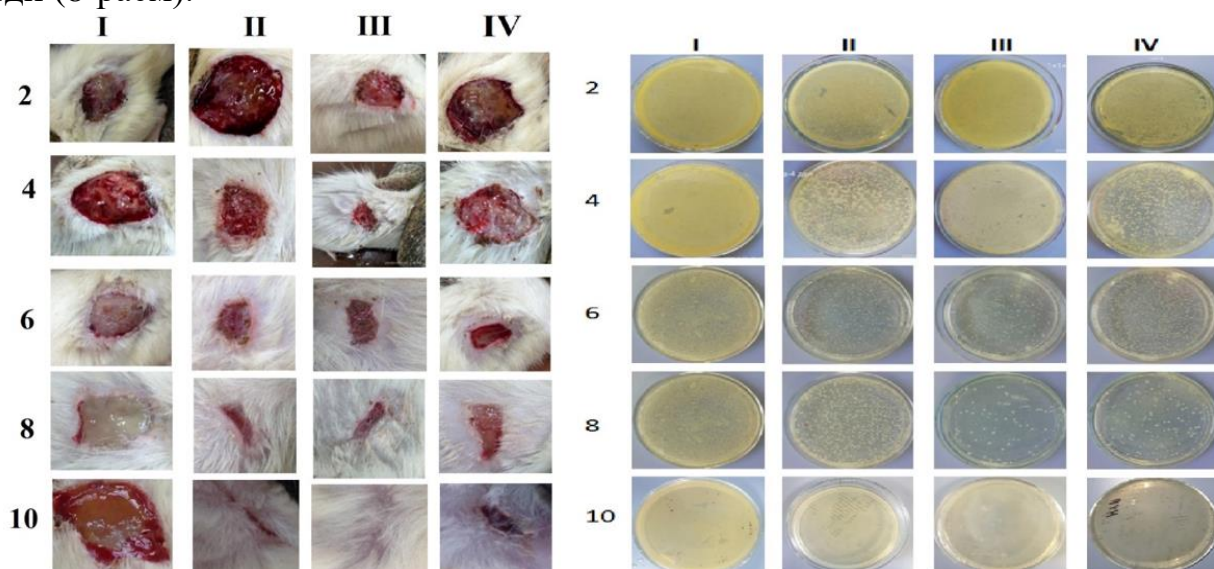
Ўрганилган БЛ ларнинг 5 та штаммларидан тўрттаси *Staphylococcus aureus* нинг ўрганилган барча 10 та клиник изолятларига қарши фаоллик кўрсатди, ингибирлаш зонасининг диаметри 15 дан 32,5 мм ташкил этди. Шундай қилиб, бешта ажратилган бактериоциноген лактобактерияларнинг клиник *Staphylococcus aureus* изолятларнинг барчасига шу жумладан антибиотикка чидамли бўлганларига нисбатан юқори антимиқроб фаолликни кўрсатди (4-жадвал).

Сут ачитувчи бактерияларнинг *S. aureus* изолятларига антимикроб ва бактериоциноген фаоллиги

№	МКБ	<i>S. aureus</i>				
		Д-1	Д-2	Д-3	Д-4	Д-5
1	<i>L. plantarum P-1</i>	15,3±0,12*	20,4±0,04	0	0	30,5±0,2*
2	<i>L. plantarum Mal</i>	12,4±0,09*	20,2±0,17*	30,53±0,17	26,53±0,12*	20,5±0,16*
3	<i>L. plantarum Val</i>	10,5±0,3	33,2±0,29	30,02±0,3	25,2±0,12	30,2±0,15
4	<i>L. plantarum TM-5</i>	14,9±0,04	20,4±0,09	30±0	0	18,0±0,12
5	<i>L. plantarum K-2</i>	15,5±0,08	20,6±0,12	20,4±0,08	0	30,5±0,08*
6	<i>L. plantarum IK</i>	35,5±0,05	32±0	28,2±0,3	33,9±4,3	20,5±0,12

Изох: *- бактериоцинларнинг юқори фаоллик зонаси ($p < 0,05$)

Тажрибалар назорат гуруҳида *S. aureus* Д-5 клиник изоляти томонидан чақирилган йирингли яллиғланиш жароҳати ўз-ўзидан битиши мумкинлигини кўрсатди (8-расм).



8-Расм. Бактериоциннинг каламушларнинг йирингли ярасига таъсири

I - назорат; II - *L. plantarum Mal* бактериоцини асосли суртма дори; III - *L. plantarum K-2*, *L. plantarum P-1*, *L. plantarum Mal* бактериоцини асосли суртма дори; IV - антибиотик асосли суртма дори (Синтомицин 5%);

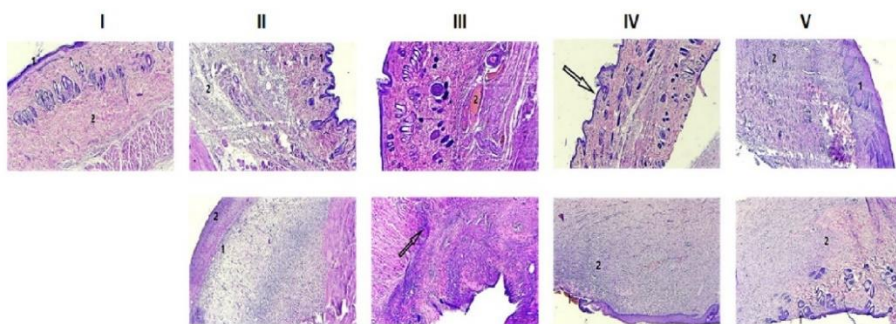
Шундай қилиб, тажриба бошланганидан 4 кун ўтгач, жароҳатларнинг битиши назорат гуруҳига нисбатан 9,5% га, антибиотиклар гуруҳига нисбатан - 51% га, ва бактериоцинлар комплекси бўлган гуруҳларда сезиларли даражада юқори - 68,4% ва 77,4% гача ортиши кузатилди.

8 кундан сўнг, бу йирингли яралар даволаш кўрсаткичлари назорат гуруҳида 63,43%, антибиотик гуруҳида 88,44%, бактериоцин билан ва комплекс гуруҳларида 86,66% ва 90,11% ни ташкил этади. Шунини таъкидлаш керакки, бактериоцинлар мажмуаси бўлган малҳам концентрацияси 0,3% бўлган 5%-ли синтамицин малҳами билан солиштирганда, бактериоцинлар мажмуаси бўлган гуруҳларда яранинг битиш тезлиги 1,67% га юқорирок бўлган.

Тажриба якунида (10 кундан кейин) антибиотик гуруҳида регенерация назорат гуруҳига нисбатан 16,48%, *L. plantarum* Mal бктериоцикли гуруҳда антибиотиклар гуруҳига нисбатан 5,0% юқори бўлган. Энг юқори самарали таъсир бактериоцин комплекси гуруҳида кузатилган, бу ерда даволаниш 100% бўлган.

Шундай қилиб, бактериоцинлар мажмуасини ўз ичида олган малҳам ушбу тажрибада энг катта самарадорликни кўрсатди. Фақат ушбу гуруҳда 10 кундан кейин жароҳатнинг тўлиқ битиши кузатилди. Малҳам таркибидаги бактериоцинлар концентрацияси антибиотиклар концентрациясидан 500 баробар кам эканлигини ҳисобга олсак, бактериоцинларни ташқи суртма дорилар таркибига киритиш учун самарали ва муқобил сифатида қараш мумкин.

Назорат сифатида олинган каламушлар терисининг гистологик таҳлилига кўра кўп қатламли эпителийда ўзгаришлар мавжуд бўлиб, дермиснинг папиллар ва ретикулум қатламлари бузилган. Ёғ безлари ва соч фолликулалари кам миқдорда. (9-расм). Табақалашган юпқа эпителий мавжуд эмас. Тўқима юзаси бўшашган бириктирувчи тўқима билан қопланган. Асаб тўқималари, лимфоцитлар инфильтрацияси ва каттароқ тўқималарда лимфоцитлар инфильтрацияси қайд этилган. Мушак қатлами қалинлашган.



9-расм Хайвон тери қаватининг гистологик таҳлили

I – Соғлом тери, II –назорат, III – *L. plantarum* Mal монобактериоцин малҳами, IV – Бактериоцин комплекси билан даволанган хайвон териси, V – антибиотикли малҳам билан ишлов берилган хайвон териси.

Комплекс бактериоцин сурилган хайвонлар терисининг эпителий хужайраларида ўзгаришлар кузатилган. Периферия бўйлаб қон кетиш жойлари ва зич жойлашган инфильтрация кузатилган, бутун юза бириктирувчи тўқима билан қопланган. Мушак қатлами меъёрда.

Антибиотик билан даволанган хайвонлар гуруҳидан олинган тўқималарнинг гистологик манзарасида папилляр қават чегаралардан чиқиб кетган. Эпителий моноқатлам ҳолида эмас, жуда сийраклашган. Патологик ҳолат туфайли десквация кузатилади. Дермиснинг папилляр ва ретикуляр қатламида ёғ безлари ва соч фолликулалари мавжуд. Дермисда лимфоцитлар инфильтрацияси билан ўралган бириктирувчи тўқима ҳосил бўлган. Мушак қатлами яхши ривожланмаган.

ХУЛОСАЛАР

1. Маҳаллий доривор ўсимликлардан ва ферментацияланган маҳсулотлардан сут ачитувчи бактерияларнинг 80 та изолятлари ажратиб олинди. Танлаб олинган 15 та юқори антимикроб фаолликка эга лактобактерия изолятларидан 5 та изолят бактериоцин ҳосил қилиш қобилятига эгаллиги аниқланди ва ушбу штаммлар *Lactiplantibacillus plantarum* турига мансублиги тасдиқланди.

2. Танланган бешта штаммдан тўрттаси - *Lactiplantibacillus plantarum* Mal, *Lactiplantibacillus plantarum* K-2, *Lactiplantibacillus plantarum* TM-5, *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 пробиотик хусусиятларига кўра потенциал пробиотик штаммлар эканлиги: антагонистик фаолияти, симулирланган ошқозон шираси ва ингичка ичак шираси, сафро, NaCl таъсирига чидамли эканлиги ва ичак эпителийси хужайраларига адгезияланиш хусусиятига эга эканлиги аниқланди. *Lactiplantibacillus plantarum* Val ципрофлоксацинга нисбатан чидамлилиги уни пробиотик сифатида фойдаланиш имконини бермайди, лекин *Lactiplantibacillus plantarum* Val *Proteus morgani* ва *Pseudomonas aeruginosa* га қарши бактериоцин ишлаб чиқарувчи сифатида аҳамиятга эгаллиги билан изоҳланди.

3. Бактериоциноген лактобактерияларнинг 3 та штамми *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* Mal ва *L. plantarum* P-1 да *S.aureus* клиник изолатларига қарши бактериоцин ишлаб чиқарилиши қайд этилди.

4. Танланган оптимал ўстириш шароитлари (озуқа муҳити таркиби, ҳарорати, ўстириш давомийлиги, озуқа муҳити pH) олинадиган бактериоцин миқдорининг *Lactiplantibacillus plantarum* Mal штаммида 1,3 баробаргача (pH-8, 37 °C, 48 с), *Lactiplantibacillus plantarum* K-2 штаммида 1,46 баробаргача (pH-6, 37 °C, 48 с), *Lactiplantibacillus plantarum* TM-5 штаммида 1,03 баробаргача (pH-6, 37 °C, 48 с), *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 штаммида 1,23 (pH-7, 37 °C, 48 с) ва *Lactiplantibacillus plantarum* Val 1,15 баробаргача (pH-8, 37 °C, 48 с) ошиши аниқланди.

5. Бактериоциноген лактобактерияларнинг бактериоцинларини 3 босқичли: ион алмашинув, гидрофоб таъсирлашув ва юқори самарали суюқлик хроматографияси методлари ёрдамида тозалаш протоколи ишлаб чиқилди. *L. plantarum* Mal тозаланган бактериоцини тавсифланди ва аминокислоталар кетма-кетлигига асосланиб, бактериоцин Па гуруҳига киритилди.

6. *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* P-1 ва *L. plantarum* Mal культураларининг тозаланган бактериоцинлари асосида вазелинли суртма тажриба сичқонлари терисидаги MRSA келтириб чиқарган ярани самарали даволаши кузатилди. Тери инфекциясининг ҳайвон моделида бактериоцинларни ўз ичига олган малҳамдан фойдаланганда яраларни даволашнинг юқори самарадорлиги эришиш мумкинлиги исботланди. Бунда бактериоцин тутувчи суртма билан даволанганда жароҳатларнинг битиши 5 кунга қисқарди ва 10 кунни ташкил этди. Назорат сифатида олинган синтомицин антибиотици асосидаги суртма таъсирида жароҳатнинг битиш давомийлиги 15 кунни ташкил этди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019. В.38.01 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ
МИКРОБИОЛОГИИ**

ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

СОХИБНАЗАРОВА ХОНСУЛУВ АБДУВОХИДОВНА

**БАКТЕРИОЦИНЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ
ПРИМЕНЕНИЕ В ДЕРМАТОЛОГИИ**

03.00.04 – Микробиология и вирусология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам

Ташкент – 2022

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2020.2.PhD/B431

Диссертация выполнена в Институте микробиологии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (info-microbio@academy.uz) и Информационно-образовательном портале «Ziynet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель: **Миралимова Шахло Мирджамаловна**
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: **Маматкулов Иброхим Хомидович**
доктор медицинских наук, профессор

Абдулмянова Лилия Илясовна
доктор биологических наук

Ведущая организация: **Национальный Университет Узбекистана**

Защита диссертации состоится «15» июня 2021 года в 10:00 часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.B.38.01 при Институте микробиологии (Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А.Кадырий, 7Б, конференц-зал Института микробиологии. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегестрировано за № ____). Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А.Кадырий, 7Б, административное здание Института микробиологии, 5-й этаж, библиотека. Тел.: (+99871) 241-92-28.

Автореферат разослан: “03” июня 2022 г.

(реестр протокола рассылки № 3 от “03” июня 2021г.).



Арипов Тахир Фатихович

Арипов Тахир Фатихович
Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор, академик

Жураева Рохлиа Назаровна
Жураева Рохлиа Назаровна
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней, к.б.н. старший научный сотрудник

Гулямова Ташхан Гафуровна
Гулямова Ташхан Гафуровна
Председатель Научного семинара при Научном
совете по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Во всем мире происходит быстрое распространение антибиотикоустойчивых бактерий, что ставит под угрозу эффективность антибиотиков, которые в свое время сделали возможным лечение инфекционных заболеваний и спасли миллионы жизней. Спустя много десятилетий после того, как первые пациенты начали терапию антибиотиками, бактериальные инфекции снова стали угрозой. Кризис устойчивости к антибиотикам связан как с чрезмерным и неправильным использованием этих лекарств, так и с отсутствием разработки новых лекарств в фармацевтической промышленности из-за снижения экономических стимулов и сложных нормативных требований. *Staphylococcus aureus* – распространенный патоген человека и животных, который ответственен за различный спектр заболеваний от незначительных кожных инфекций до угрожающих жизни заболеваний, таких как пневмония и менингит. *S. aureus* вызывает такие кожные инфекции, как импетиго, фолликулит, фурункулез и подкожные абсцессы, в связи с продукцией эксфолиативного токсина – синдромом ошпаренной кожи. Особые условия, как например атопический дерматит (АД), предрасполагают кожу к инфекциям *S. aureus*. ВОЗ отнес метициллинрезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* (MRSA) к группе антибиотикоустойчивых патогенов с высоким уровнем приоритетности для исследований в области создания новых антибиотиков. Поэтому, имеет большое значение поиск природных веществ, активных против патогенных микроорганизмов и очистка бактериоцинов от микробных метаболитов.

В различных научных центрах мира проводятся исследования по поиску пробиотических микроорганизмов, их антимикробных метаболитов как альтернативы синтетическим антибиотикам и внедрения их в медицину. В связи с этим, особое внимание уделено выделению и очистке бактериоцинов из бактериальных штаммов-продуцентов, усовершенствованию состава сред, изучению антимикробного спектра пептидов и применению их в различных областях в качестве эффективного средства против патогенных и условно-патогенных бактерий, а также применению бактериоцинов в качестве антимикробных, иммуномодулирующих, антиканцерогенных и антиоксидантных средств, использованию молочнокислых бактерий, применению бактериоцинов против возбудителей и разработке противомикробных препаратов.

В Республике особое внимание уделяется обеспечению населения качественными и эффективными лекарственными препаратами, а также достижению определенных результатов в использовании инновационных достижений при разработке новых биопрепаратов с эффективным лечебным действием. В Стратегии дальнейшего развития Узбекистана¹ (4-направление) изложены задачи по «...организации проведения научно-исследовательских работ для дальнейшего внедрения инновационных технологий в производстве

¹ Указ Президента Республики Узбекистан за № ПУ-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

лекарственных средств и выработке предложений по насыщению внутреннего рынка и локализации производства лекарственных средств». При выполнении этих задач важно, в том числе, выделение бактериоцинов и определение эффективности их применения в отношении дерматологических возбудителей.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, Указом Президента Республики Узбекистан № ПФ-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», предусмотренных Указом Президента Республики за № ПУ-5707 от 10 апреля 2019 года «О дальнейших мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2019-2021 годах», Постановлением Президента Республики Узбекистан за № ПП-4554 от 30 декабря 2019 года «О дополнительных мерах по углублению реформ в фармацевтической отрасли Республики Узбекистан», Постановлением Президента Республики Узбекистан № ПФ-55 от 21 января 2022 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2022-2026 годах» а также другими нормативно-правовыми документациями, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в республике. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики: VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. В мировой научной литературе имеется много информации о выделении и отборе высокоактивных штаммов молочнокислых бактерий и их практическом использовании в качестве пробиотиков (Ageryri A.A.2013, Kumar S. 2014; Abushelaibi A.2017, Tallapragada P.2018 и другие). Опубликованные работы широко освещают изучение морфологических и физиологических характеристик штаммов бактерий, продуцирующих бактериоцины (Wang Y. 2010; Seo B.J. 2015; Dahunsi A.2018, Chuah L.O. 2019), выделения и очистки бактериоцинов, оптимизации состава питательных сред и условий культивирования штаммов лактобактерий для максимальной продукции бактериоцинов (Batdorj B. 2006, Song D.F. 2014). Во многих литературных источниках предполагается, что бактериоцины также имеют высокий потенциал для использования в медицине и ветеринарии (Lagha M., H.Mathur 2017; P. Simonova 2020). Имеются данные об использовании молочнокислых бактерий, их бактериоцинов и других метаболитов в дерматологии (Kong 2012; Williams M.R. 2015; Maguire M 2017;).

Вместе с тем, сообщалось об эффективности использования бактериоцинов для следующих целей: консервирование пищевых продуктов (F.Huang 2021), терапия язвенной болезни (Hannana M 2017), в качестве противоракового средства (Sumanpreet K. 2015, Ahmadi Sh. 2017), для уход за полостью рта (Sanae A. Ishijima. 2012; M.M.Soltan Dallal, 2021); для стимуляции роста растений в сельском хозяйстве (E.J. Gray 2006; Strafella S.2021).

Следует отметить, что учеными нашей Республики ранее проводились исследования по выделению местных штаммов бактериоциногенных молочнокислых бактерий и их применению для лечения язвенной болезни желудка в качестве антихеликобактерного средства (Огай Д.К., 2002; Кутлиева Г.Дж, 2002; Миралимова Ш.М., 2009., 2017; Элова Н.А., 2019.). Эффективность использования бактериоцинов молочнокислых бактерий против дерматологических патогенов изучается впервые.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ прикладных проектов Института микробиологии: Т.4-16 Фонда поддержки фундаментальных исследований АН РУз: «Поиск микроорганизмов-продуцентов бактериоцинов и оценка возможности их использования в пищевой промышленности» (2016-2017 гг.), ПЗ-2017091515 «Получение бактериоцинов молочнокислых бактерий, исследование физико-химических свойств и антимикробной активности» (2018-2020 г.).

Целью исследования является выделение бактериоцин-продуцирующих молочнокислых бактерий и оценка эффективности их бактериоцинов против возбудителей дерматологических инфекций для разработки новых антимикробных препаратов наружного применения.

Задачи исследований:

Выделение молочнокислых бактерий, отбор и идентификация антимикробных и бактериоцин-продуцирующих штаммов;

определение пробиотических свойств бактериоциногенных лактобацилл;

отбор штаммов - продуцентов бактериоцинов, активных против возбудителей дерматологических инфекций;

оптимизация процесса продукции бактериоцинов на основе бактериоцин образующих штаммов;

очистка, определение физико-химических и биологических свойств бактериоцинов;

оценить эффективность бактериоцинов при наружном применении на животной модели кожных инфекций.

Объектом исследования явились бактериоциногенные штаммы *Lactiplantibacillus plantarum*, антимикробная активность бактериоцинов, клинические изоляты *S. aureus*.

Предметом исследования являются бактериоцины молочнокислых бактерий как антагонисты возбудителей инфекционных дерматологических заболеваний, их физико-химические свойства и свойства продуцентов.

Методы исследований. При проведении исследований применяли микробиологические, биохимические, биотехнологические, молекулярно-генетические и статистические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Впервые в Узбекистане были изучены МКБ – продуценты бактериоцинов, активных против возбудителей кожных инфекционных

заболеваний и охарактеризована способность бактериоцина угнетать рост метициллин-резистентных штаммов *S. aureus*.

Разработана схема очистки педиоциноподобный бактериоцинов, получен и охарактеризован гомогенный пептид.

Показано способность местных штаммов МКБ продуцировать бактериоцины Па группы (педиоциноподобный бактериоцины)

Впервые продемонстрирована и обоснована возможность использования бактериоцинов местных штаммов МКБ в дерматологии как антагониста к антибиотико устойчивым стафилококкам при лечении атопического дерматита на животной модели.

Практические результаты исследования заключаются в следующем: выделены бактериоцины молочнокислых бактерий, активные как против метициллинрезистентных клинических изолятов *S. aureus* - возбудителей кожных инфекций, так и против пищевого патогена *L. monocytogenes*. Отработана схема очистки бактериоцина, включающая 3 этапа. Показана эффективность бактериоцин-содержащей мази, ускоряющей регенерацию раны по сравнению с антибиотиком.

Достоверность результатов исследования подтверждена применением современных микробиологических, биотехнологических, молекулярно-биологических и химических методов; опубликованностью результатов диссертации в ведущих зарубежных журналах, статистической обработкой результатов, проведенной с вычислением статистической средней ошибки, интервалов достоверности и стандартных отклонений при помощи критерия Стьюдента и дисперсионного анализа Фишера (ANOVA).

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что установлены новые свойства бактериоцинов местных штаммов молочнокислых бактерий *L. plantarum Mal*: наряду с антибактериальным действием к *L. monocytogenes*, он обладает способностью эффективно подавлять развитие метициллин-устойчивых штаммов *S. aureus* (MRSA).

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что создана коллекция бактериоциногенных штаммов молочнокислых бактерий, предложена схема очистки бактериоцина *L. plantarum Mal*. Установленные антимикробные свойства по отношению к антибиотикоустойчивым патогенам позволяют рекомендовать их к применению в фармацевтической и пищевой промышленности. Выявление пробиотических свойств выделенных новых штаммов-продуцентов бактериоцинов позволило установить возможность их использования в виде пробиотических препаратов, а также в пищевой промышленности.

Внедрение результатов исследования. В результате исследований по выделению бактериоцинпродуцирующих молочнокислых бактерий и применению ими бактериоцинов в различных областях:

Штаммы *Lactobacillus plantarum Mal* и *Lactobacillus plantarum K-2*, выделенные из местных лекарственных растений и обладающие пробиотическими свойствами, использовались в проекте С-НИ-22

«Разработка инновационного противодиабетического препарата на основе растительных и микробных соединений» для снижения уровня сахара в крови на модели сахарного диабета у крыс (справка Академии наук Республики Узбекистан за № 4/1255-651 от 4 марта 2021 г. № 4/1255-651 от 4 марта 2021 г). В результате проведенных исследований были выявлены антидиабетические свойства штаммов молочнокислых бактерий, и на их основе удалось создать пробиотический препарат с гипогликемическим действием;

Нуклеотидная последовательность 16S рРНК штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из лекарственных растений, зарегистрирована в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) под номером *Lactobacillus plantarum* Mal (MT758354.1), *Lactobacillus plantarum* P-1 (MT758355.1), *Lactobacillus plantarum* K-2 (MT758470.1), *Lactobacillus plantarum* TM-5 (MT758469.1) (справка Академии наук Республики Узбекистан за № 4/1255-650 от 4 марта 2021 г). Результат позволяет использовать ген 16S рРНК из нуклеотидной последовательности для филогенетического анализа во всем мире.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены в 2 международных и 5 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 23 научных труда, в том числе 6 научных статей, из которых 4 – в республиканских, 1 – в зарубежных научных изданиях.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объём диссертации составляет 107 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенных исследований, цель и задачи исследований, характеризуется объект и предмет, показано соответствие приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследований, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Молочнокислые бактерии и их антимикробные метаболиты**» тщательно проанализированы опубликованные исследования последних лет в области изучения молочнокислых бактерий (МКБ). Приведено описание антимикробных метаболитов МКБ, в том числе бактериоцинов, их свойств, методов очистки и эффективности для лечения различных заболеваний.

Во второй главе диссертации «**Методы изучения свойств бактериоциногенных молочнокислых бактерий и их бактериоцинов**»

приведены: описание методов выделения МКБ, изучение пробиотических свойств и бактериоциногенной активности выделенных изолятов и их чувствительности к антибиотикам. Отражены методы фенотипической и генотипической идентификации лактобацилл, описаны использованные в исследовании стандартные и оптимизированные условия культивирования. В этой же главе приведен протокол очистки бактериоцинов и способы изучения их физико-химических свойств, а также описан ход экспериментов по изучению эффективности бактериоцина на животной модели кожной инфекции.

В третьей главе **«Бактериоциногенные лактобациллы, их бактериоцины и свойства»** приведены собственные результаты исследований по выделению молочнокислых бактерий из различных растительных источников (лекарственные растения *Malva neglecta*, *Anethum graveolens*, *Mentha suaveolens*, *Capsicum annuum*, *Valeriana officinalis*, *Raphanus sativa* L.), а также ферментированных продуктов (квашеная капуста, маринованные огурцы и томаты). Всего было выделено 80 изолятов молочнокислых бактерий. Антагонистическую активность исследуемых культур определяли методом лунок в агаре. Показано что, высокую антагонистическую активность изоляты проявили по отношению к *Staphylococcus aureus* 00359446/wood, *Klebsiella pneumoniae* B-1823, *Pr.morgani* 399, *Serratia marcescens* 367, *E.coli* 477, *L. monocytogenes* ATCC 1911, и *Ps.aeruginosa* 003841/114 (таблица 1). Из пятнадцати изолятов с антимикробными свойствами антимикробную активность, обусловленную бактериоцинами, показали 5 культур *Lactiplantibacillus* sp *Mal*, *Lactiplantibacillus* sp *Val*, *Lactiplantibacillus* sp *P-1*, *Lactiplantibacillus* sp *TM-5*, *Lactiplantibacillus* sp *K-2*. При этом бактериоцины были активны против *L.monocytogenes* 1911, *Pr. morgani* 399, *E.coli* 477, *Ps.aeruginosa* 003841/114, *K. pneumoniae* B-1823, *E. faecalis* (таблица 2). Бактериоцины этих продуцентов могут стать перспективным объектом дальнейших исследований в качестве альтернатив антибиотиков для борьбы с инфекциями, вызванными чувствительными патогенами. Среди чувствительных патогенов особую озабоченность вызывают *Ps. aeruginosa* и *S. aureus* в связи с распространением антибиотикоустойчивых штаммов.

Таблица 1

Антагонистическая активность изолятов молочнокислых бактерий

№	Культуры	Источник	Диаметр зоны подавления роста, мм									
			<i>S. aureus</i> 00359446/ wood	<i>K. pneumoniae</i> B-1823	<i>Pr. morgani</i> 399	<i>E. coli</i> 477	<i>C. albicans</i> 003592/723	<i>S. marcescens</i> 367	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 1911	<i>E. faecalis</i>	<i>C. freundii</i> 002801/27	<i>Ps. aeruginosa</i> 003841/114
1	<i>L. spp P-1</i>	Перец острый	15,3±0,57	20,6±1,06	22±0	22,3±0,67	0	20,5±0,8	25,5±0,87	0	20,3±0,57	20,3±0,57
2	<i>L. spp Mal</i>	Просвирник незамеченный	30,3±1,57	33,5±0,37	32,6±0,57	30,3±	0	20,5±0,57	30±0,5	0	22,3±0,5	28,5±0,57
3	<i>L. spp Val</i>	Валериана лекарственная	14,6±0,5	25,3±0,57	25,6±0,57	17,3±0,8	0	20,5±0,87	25±0,5	0	25±0	20,3±0,3
4	<i>L. spp ТМ-5</i>	Мята душистая	12,3±0,57	12,6±0,5	12,5±0,87	28,3±0,67	0	12,3±0,5	15±0,57	0	0	0
5	<i>L. spp ТП-2</i>	Редька огородная	30,3±0,8	12,5±0,57	20,6±0,57	30± 0,9	0	0	0	0	0	20,3±0,57
6	<i>L. spp Tb</i>	Соленые огурцы	20,6±0,36	15,6±0,57	40,3±1,15	15,3±0,56	0	30,3±0,5	0	15,3±0,5	0	25,6±0,57
7	<i>L. spp SB</i>	Салат латук	30,3±0,67	15,6±0,93	20,6±0,57	25,6±0,87	0	27,3±0,57	0	0	0	20,3±0,5
8	<i>L. spp КБ</i>	Кабачок	33,3±0,57	36,3±0,87	30,6±0,87	12,3±0,26	0	0	35,3±0,87	20,3±0,57	25±0,87	25,3±0,57
9	<i>L. spp У-1</i>	Укроп огородный	45±0,27	35,6±0,92	31,6±0,57	29,6±0,87	0	18,3±0,57	32,3±0,87	20,6±0,87	0	32,3±0,87
10	<i>L. spp К-2</i>	Квашеная капуста	20,8±0,59	23±0,59	20±0,59	27,5±0,59	15,4±0,31	30±0,59	20±0,59	25±0,59	29±0,59	35±0,59
11	<i>L. spp ИК</i>		32±0,59	28±0,59	15±0,59	20 ±0,31	0	20±0,31	30±0,59	20±0,59	20±0,59	15±0,59
12	<i>L. spp АД-7</i>		25,5±0,57	20±1,41	30,3±0,57	30,3±0,57	0	23,6±0,38	10,3±0,37	30,6±0,57	0	0
13	<i>L. spp КШ-2</i>		20,6± 0,57	18,5±0,57	20,3±0,57	18±0,23	0	0	10,3±0,87	0	0	20,5± ±0,57
14	<i>L. spp КР</i>		25,6±0,5	18±0,5	25,3±0,87	20,3±0,89	0	40±1,5	0	0	0	15,4±0,57
15	<i>L. spp SХА-III</i>		30,3±0,57	0	18,3±0,87	15,3±	0	25,6±0,87	21,6±0,57	0	0	12,3±0,5

Таблица 2

Бактериоциногенные свойства лактобацилл

№	УП МКБ	<i>S. aureus</i> 003594/wood 46	<i>K. pneumoniae</i> B- 1823	<i>Pr. morgani</i> 399	<i>E. coli</i> NC101	<i>S. marcescens</i> 367	<i>L. monocytogenes</i> 1911	<i>E. faecalis</i>	<i>C. freundii</i> 002801/27	<i>Ps. aeruginosa</i> 003841/114
1	<i>L. plantarum</i> P-1	15,3 ± 0,57	20,3 ± 0,28	21,3± 0,57*	22,5± 0,5*	20,3 ± 0,57	25,3± 0,28*	0	20,8 ± 0,76	20,3±0, 57*
2	<i>L. plantarum</i> K-2	20,16± 0,28	15,4± 0,11	20,6± 0,57*	30,4± 0,20	25,16± 0,28	25,16± 0,28*	20,5± 0,57*	18,16± 0,28	20,26±0 ,57*
3	<i>L. plantarum</i> Mal	30,23 ±0,25	35,1 ± 0,17	30,6± 0,57*	30,2± 0,30*	20,5± 0,28	30,06± 0,11*	0	22,6 ± 0,57	28,8 ±,028
4	<i>L. plantarum</i> Val	14,6 ± 0,52	25,3 ± 0,57	25,3± 0,47*	17,6 ± 0,57	20,1 ± 0,17	25,1± 0,3	0	22,3 ± 0,28	20,3±0, 32*
5	<i>L. plantarum</i> TM-5	0	10,5± 0,5*	8,3± 0,57	28,5± 05	8,6 ± 0,52	10,5± 0,5	0	-	0

Примечание: бактериоциногенная активность молочнокислых бактерий *

Бактериоциногенные изоляты были идентифицированы фенотипическими и генотипическими методами.

С целью определения видовой принадлежности исследуемых культур молочнокислых бактерий проведена амплификация гена 16S rRNA с использованием праймеров 8f и 926r. Получены ампликоны размером приблизительно 1500 п.н., что соответствует ожидаемому размеру целевого гена.

В результате секвенирования по Сэнгеру определена нуклеотидная последовательность фрагментов гена 16S rRNA размером 500-800 п.н. у 5 штаммов молочнокислых бактерий.

По результатам анализа определена наиболее вероятная принадлежность исследуемых штаммов молочнокислых бактерий к видам *Lactiplantibacillus plantarum* (5 штаммов), при этом гомология нуклеотидных последовательностей составляет 96-99%.

Проведено множественное выравнивание секвенированных последовательностей с использованием *online*-ресурса Phylogeny.fr и построено генеалогическое древо для исследуемых штаммов молочнокислых бактерий (рис. 1).

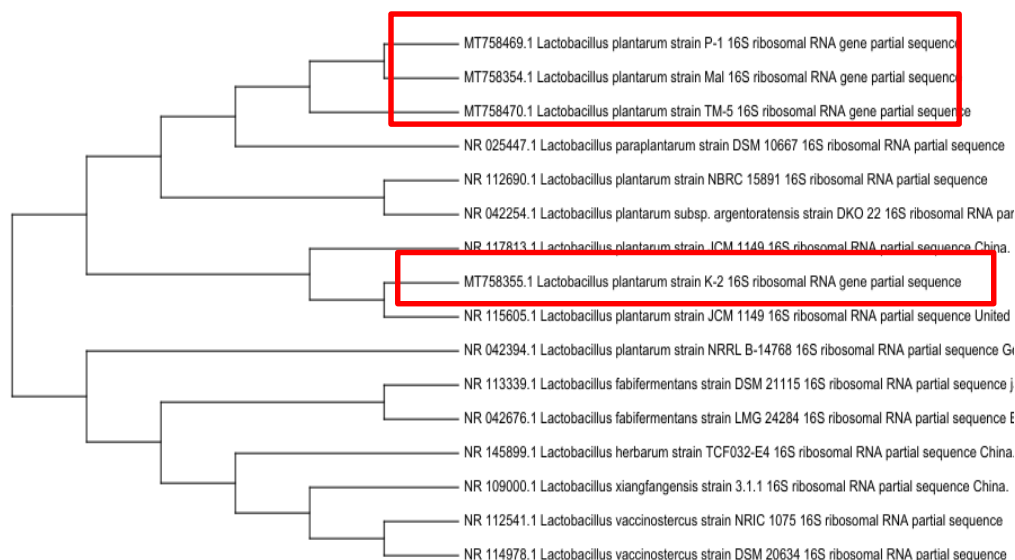


Рисунок 1. Филогенетическое генеалогическое древо на основе гена 16S rRNA штаммов *L. plantarum*

Генеалогическое древо позволило сделать предположение о происхождении штаммов: *L. plantarum* K-2 - в Китае, так как он выделен из китайской капусты и расположен близко к китайскому штамму *L. plantarum* NBRC JSM1149; изоляты *Lactiplantibacillus plantarum* TM-5, *Lactiplantibacillus plantarum* Mal, *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 расположены близко друг к другу и далеко от следующего наиболее сходного изолята, что предполагает их местное происхождение.

В четвертой главе «Оптимизация условий получения бактериоцинов и их свойства» приведены результаты исследований по оптимизации образования бактериоцинов местными штаммами лактобацилл, по выделению и очистке бактериоцинов из культуральной жидкости, по изучению физико-химических свойств (устойчивость бактериоцина к pH, температуре и молекулярная масса) и биологической активности полученных бактериоцинов.

Изучена активность бактериоцинов 5 штаммов бактериоциногенных лактобацилл (БЛ) при выращивании в 9 различных модифицированных МРС-средах. Результаты показали, что у штамма *L. plantarum* P-1 диаметр зоны подавления *L. monocytogenes* увеличивался на 13 мм при выращивании на среде МРС без добавления Твина-80 (№2) по сравнению со стандартной средой МРС (№8) - 21 мм и 8 мм соответственно; у штамма *L. plantarum* Mal - на 4 мм и составила 20 и 16 мм; у штамма *L. plantarum* K-2 - на 7 мм и составила 22 и 15 мм, у штамма *L. plantarum* Val увеличение зоны подавления тоже 7 мм и составила 15 и 8 мм; у *L. plantarum* TM-5 зона подавления на среде №2 увеличилась на 7 мм и составила 15 и 8 мм (рис. 2).

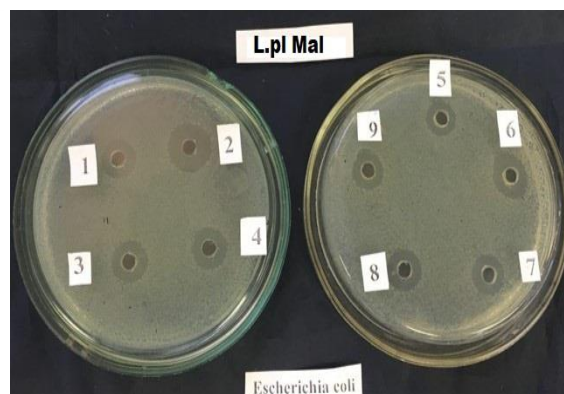


Рисунок 2. Антимикробная активность культуральной жидкости бактериоциногенных лактобацилл при выращивании на модифицированных средах

Антимикробная активность культуральной жидкости, содержащей бактериоцины, также зависела от начального значения pH среды культивирования (рис. 3). Так, оптимальным значением для *L. plantarum Mal* и *L. plantarum Val* является pH=8, где диаметр зоны подавления роста чувствительных штаммов составлял 23мм и 28мм соответственно. Для *L. plantarum P-1* оптимальное значение pH=7, при этом зона подавления роста составляет 26 мм в диаметре и для *L. plantarum TM-5* и *L. plantarum K-2* pH=6 с зоной подавления роста 16 мм и 25 мм.

Изучение влияния длительности культивирования на образование бактериоцина показало, что образование бактериоцина и его активность также зависит и от времени культивирования. Показано, что относительно более высокая активность наблюдалась через 48 часов инкубации (рис. 4).

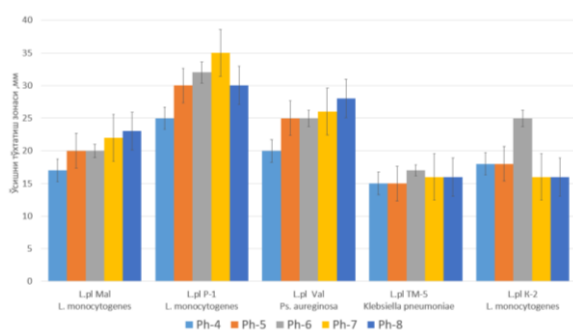


Рисунок 3. Влияние параметров pH в питательной среде на образование бактериоцина

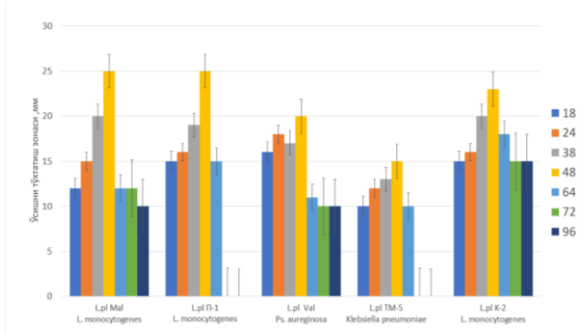


Рисунок 4. Влияние длительности культивирования на образование бактериоцина

Изучение образования бактериоцинов при разных температурных режимах показало, что оптимум продукции совпадает с оптимумом температуры роста, то есть 37°C. При снижении и повышении температуры культивирования продукция бактериоцина снижалась (табл.3).

Таблица 3

Влияние температуры культивирования на образование бактериоцина ($M \pm m, n=3$)

МКБ	Индикаторная культура	Диаметр зоны ингибирования роста тест-культур при разных значениях температур, мм				
		10°C	20°C	30°C	37°C	40°C
<i>L.plantarum Mal</i>	<i>L.monocytogenes</i>	8±0,25	12±0,5	19±0,25	25±0,5*	25±0,28
<i>L.plantarum Val</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	10±0,5	12±0,11	18±0,5	20±0,2*	15±0,5
<i>L.plantarum P-1</i>	<i>L.monocytogenes</i>	11±0,5	15±0,28	20±0,11	25±0,5*	25±0,25
<i>L.plantarum TM-5</i>	<i>K. pneumoniae</i>	0	0	15±0,5	18±0,5*	16±0,5
<i>L.plantarum K-2</i>	<i>L. monocytogenes</i>	10±0,5	15±0,5	18±0,28	25±0,2*	22±0,5

Примечание: * максимальная активность бактериоцина ($p < 0,05$)

Для подбора метода очистки бактериоцинов, БЛ культивировали в подобранных оптимальных условиях: температура 37°C, время культивирования 48ч. Оптимальное значение pH среды культивирования было разным для культур: для *L. plantarum TM-5* и *L. plantarum K-2* pH=6; *L. plantarum P-1* pH=7; *L. plantarum Mal* и *L. plantarum Val* pH=8.

Схема очистки состояла из трех этапов: катионнообменная хроматография, гидрофобная хроматография и ВЭЖХ (рис.5)

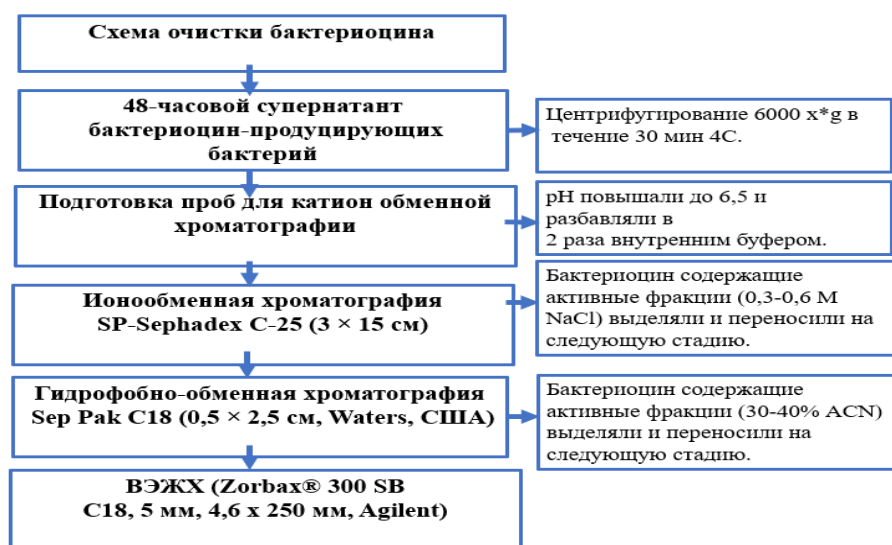


Рисунок 5. Схема очистки бактериоцинов

На первой стадии очистки бактериоцинов из *L.plantarum Mal*, *L.plantarum K-2*, *L.plantarum P-1*, *L.plantarum Val* и *L.plantarum TM-5* с использованием катионнообменной хроматографии SP-Sephadex C-25 (3 × 15 см) было обнаружено, что основными активными фракциями были образцы, элюированные растворами 0,3 и 0,6 М NaCl в 20 мМ фосфатном буфере (pH 6,5).

Эти же фракции смешивали и дополнительно очищали гидрофобной хроматографией с использованием картриджа Sep Pak C18 (0,5 × 2,5 см, Waters, US). Было определено, что основными активными фракциями были

элюированные образцы с 30–40% (0,1% трифторуксусной кислотой) растворами ацетонитрила в 0,1% трифторуксусной кислоты (Рис. 5).

После трехступенчатой очистки бактериоцинов изучено влияние рН и температуры на активность очищенного бактериоцина. Для этого анализировали изменение антимикробной активности бактериоцина по отношению к *Listeria monocytogenes* после подтверждения действия этих факторов.

Антимикробная активность бактериоцина *Lactiplantibacillus plantarum* К-2 составляла 28,5 мм, после выдерживания при 80°C в течение 15 минут она составляла 25,5 мм, а при 90°C и после кипячения (100°C)- 25мм, после стерилизации она составила 24 мм.

Для бактериоцина *Lactiplantibacillus plantarum* Mal при воздействии высоких температур в течении 15 минут и 30 минут, диаметр зоны подавления роста тест-культуры практически не менялся.

Для бактериоцинов *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 диаметр зоны подавления роста составлял 25 мм, после стерилизации в течение 15 и 30 мин активность снижалась до 18 и 15 мм (Рис-6).

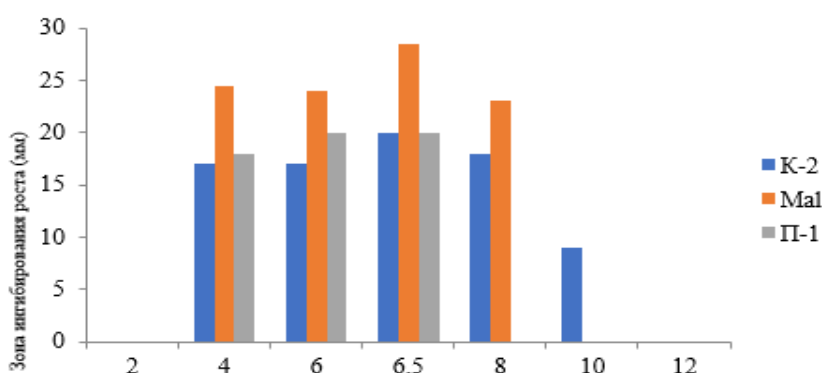


Рисунок 6. Влияние рН на активность бактериоцина

Таким образом, полученные бактериоцины всех штаммов оказались относительно устойчивыми к действию температур. В то время как активность бактериоцинов *Lactiplantibacillus plantarum* К-2 и *Lactiplantibacillus plantarum* P-1 незначительно снижалась при действии высоких температур, у бактериоцина *Lactiplantibacillus plantarum* Mal активность не менялась даже при стерилизации, то есть этот бактериоцин оказался термоустойчивым.

Активность бактериоцинов при разных значениях кислотности среды измеряли в диапазоне рН-2 - 12. Было обнаружено, что бактериоцины сохраняют активность при значениях рН от 4 до 8.

Бактериоцины, выделенные из местных БЛ, оказались устойчивыми к высоким температурам и рН 4-8. Это расширяет возможности использования бактериоцинов в пищевой и фармацевтической промышленности.

Идентификацию очищенного бактериоцина проводили методом пептидной массовой дактилоскопии с помощью масс-спектрометрии.

Молекулярная масса бактериоцина *L. plantarum Mal* по данным Q-TOF-MS хроматомасс спектрометрии равна 3947.5056 а.е.м. Из 98 пептидов только один пептид имел YGNGV-мотив, который подтверждает, что исследуемый бактериоцин *L. plantarum Mal* относится к классу II бактериоцинов.

Фрагмент молекулы бактериоцина *L. plantarum Mal* с последовательностью YYGNGVTCGK сравнивали с известными структурами плантарицинов из штаммов *L. plantarum* 423, C19 и LPL (рис.7).



Рисунок 7. Выравнивание последовательностей триптического фрагмента бактериоцина *L. plantarum Mal*

В результате выравнивания последовательностей исследуемый фрагмент имеет совпадение с ортологами – плантарицинами из *Lactobacillus plantarum*, выделенными из штамма 423 - 100%-ное совпадение с остатками 21-30 и LPL – 90%-ное совпадение с остатками 6-15. Исследуемый фрагмент также имел частичное совпадение (80%) с остатками 2-11 плантарицина из штамма C19, за исключением двух остатков серина (S8 и S10) в ортологе против треонина (T7) и глицина (G9), лейцина против валина, соответственно в последовательности фрагмента *Lactobacillus plantarum Mal*.

Пятая глава диссертации «Влияние бактериоцинов на микроорганизмы – возбудителей дерматологических заболеваний» посвящена изучению *in vitro* и *in vivo* антимикробной активности бактериоцинов по отношению к патогенным изолятам, выделенным с кожи больных дерматологическими заболеваниями.

Четыре из пяти исследованных нами штаммов лактобактерий проявили активность против всех 10 изученных клинических изолятов *Staphylococcus aureus*, диаметр зоны подавления роста составил от 15 до 32,5 мм в диаметре.

Таким образом, четыре культуры лактобацилл проявили высокую антимикробную активность по отношению ко всем клиническим изолятам *Staphylococcus aureus*, в том числе и к антибиотикорезистентным (таблица 4).

Таблица 4

**Антимикробная и бактериоциногенная активность
молочнокислых бактерий против изолятов *S. aureus***

№	МКБ	<i>S. aureus</i>				
		Д-1	Д-2	Д-3	Д-4	Д-5
1	<i>L. plantarum P-1</i>	15,3±0,12*	20,4±0,04	0	0	30,5±0,2*
2	<i>L. plantarum Mal</i>	12,4±0,09*	20,2±0,17*	30,53±0,17	26,53±0,12*	20,5±0,16*
3	<i>L. plantarum Val</i>	10,5±0,3	33,2±0,29	30,02±0,3	25,2±0,12	30,2±0,15
4	<i>L. plantarum TM-5</i>	14,9±0,04	20,4±0,09	30±0	0	18,0±0,12
5	<i>L. plantarum K-2</i>	15,5±0,08	20,6±0,12	20,4±0,08	0	30,5±0,08*
6	<i>L. plantarum IK</i>	35,5±0,05	32±0	28,2±0,3	33,9±4,3	20,5±0,12

Примечание: Примечание: *- максимальная активность бактериоцина ($p < 0,05$)

В результате *in vivo* экспериментов на животной модели гнойной раны у крыс показано, что при поражении раны, вызванном клиническим изолятом *S. aureus* Д-5, наблюдается спонтанная регенерация кожи у контрольной группы. Однако скорость регенерации в опытных группах была значительно выше (рис. 8).

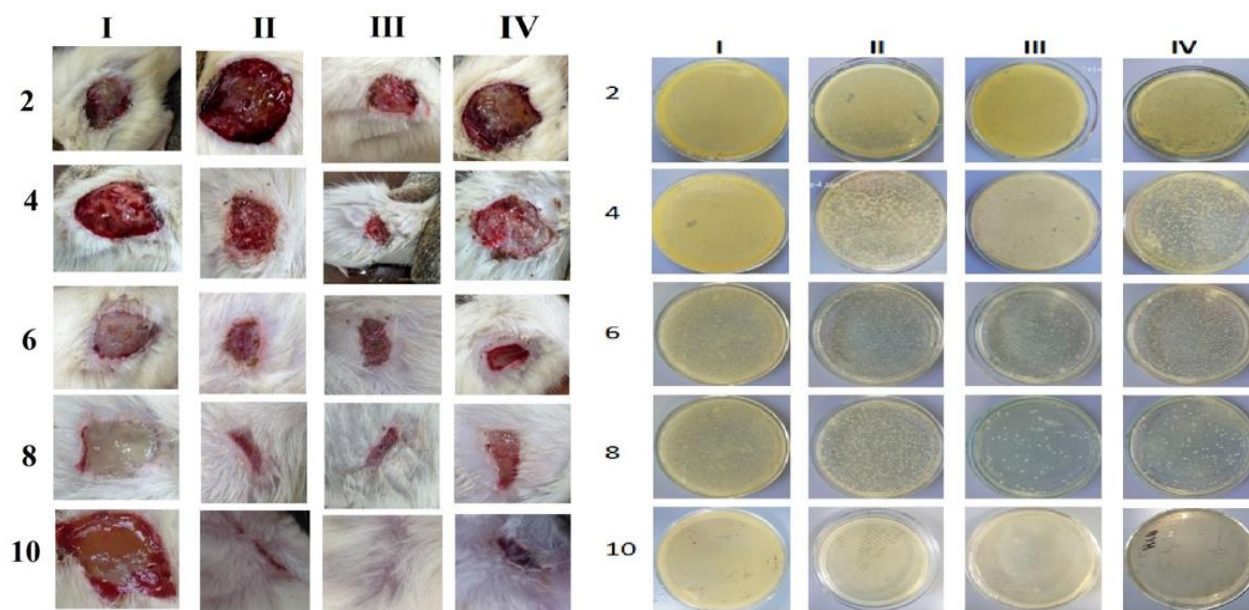


Рисунок 8. Действие бактериоцина на гнойную рану у крыс

I – контроль; II – мазь, содержащая бактериоцин Mal; III – мазь, содержащая пептиды *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* П-1, *L. plantarum* Mal; IV – мазь, содержащая антибиотик (Синтомицин 5%);

Так, через 4 дня после начала эксперимента, в контрольной группе наблюдалось заживление ран на 9,5%, в группе с антибиотиком – на 51%, значительно выше в группах с одним и комплексом бактериоцинов – на 68,4% и 77,4%, соответственно.

Через 8 дней эти показатели заживления ран составляли 63,43% в контрольной группе, 88,44% в группе с антибиотиком, 86,66% и 90,11% в опытных группах с одним бактериоцином и с комплексом. Следует отметить, что при концентрации мази с комплексом бактериоцинов 0,3% по сравнению

с концентрацией синтомициновой мази 5%, в группе с комплексом бактериоцинов процент заживления раны был выше на 1,67%.

В конце эксперимента (через 10 дней) в группе с антибиотиком регенерация была на 16,48% выше, чем в контроле, в группе с бактериоцином *L. plantarum Mal* – на 5,0% выше, чем в группе с антибиотиком и наибольший эффект наблюдался в группе с комплексом бактериоцинов, где заживление составляло 100%.

Таким образом, наибольшую эффективность в этом эксперименте показала мазь, содержащая комплекс бактериоцинов - только в этой группе наблюдалось полное заживление ран через 10 дней. Учитывая, что концентрация бактериоцинов в составе мази при этом в 500 раз меньше, чем концентрация антибиотиков, бактериоцины могут рассматриваться как эффективная и безопасная альтернатива для включения в состав наружных лекарственных средств.

Гистологическая оценка кожи животных из контрольной группы показала, что в многослойном эпителии наблюдаются изменения, нарушены папиллярный и ретикулярный слои дермиса. Сальных желез и волосяных фолликулов мало (рис 9.). Нет четко выраженного тонкого эпителия. Поверхность покрыта соединительной тканью. Вокруг нервных окончаний и на большом протяжении тканей наблюдается инфильтрация лимфоцитами. Мышечный слой расширен.

В группе животных, леченых комплексом бактериоцинов, наблюдаются изменения в эпителиальных клетках. Различима плотно расположенная инфильтрация и места кровоизлияния по периферии, все покрыто соединительной тканью. Мышечный слой в норме.

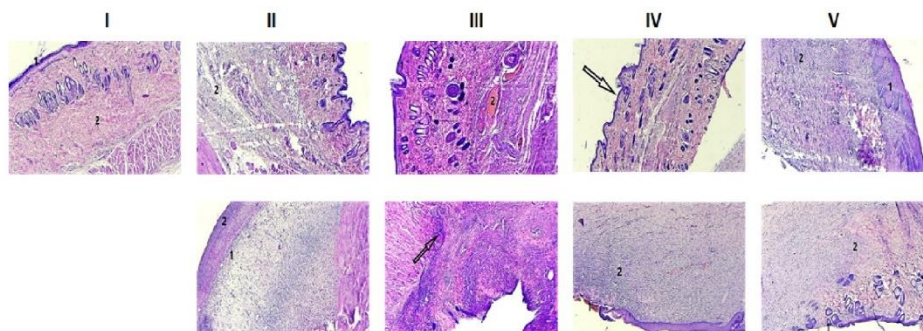


Рисунок 9 Гистологический анализ кожного покрова животных

I – здоровая кожа, II – контроль, III – кожа животных, леченных мазью с монобактериоцином *L. plantarum Mal*, IV – кожа животных, леченных мазью с комплексом бактериоцинов, V – кожа животных, леченных мазью с антибиотиком.

В группе животных, леченых антибиотиком, на гистологической картине папиллярный слой выходит за границы. Эпителий не представляет из себя монослой и сильно разрежен. В связи с патологическим состоянием, наблюдается десквамация. В папиллярном и ретикулярном слоях дермиса присутствуют сальные железы и волосяные фолликулы. В дермисе образован участок соединительной ткани, окруженный инфильтрацией лимфоцитов. Мышечный слой плохо развит.

Выводы

1. Из лекарственного растительного сырья и ферментированных продуктов местного происхождения выделено 80 изолятов молочнокислых бактерий. Отобранные 15 изолятов с наиболее выраженной антагонистической активностью, из которых 5 изолятов, обладали бактериоциногенной активностью, принадлежали виду *Lactiplantibacillus plantarum*.
2. Четыре из отобранных пяти штаммов - *L. plantarum* TM-5, *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* Mal и *L. plantarum* P-1 являются потенциальными пробиотиками согласно их пробиотическим свойствам: антагонистическая активность, устойчивость к симулированному желудочному соку, соку тонкого кишечника, к желчи и NaCl, адгезивность. Штамм *L. plantarum* Val не рекомендуется использовать в качестве пробиотика в связи с его внехромосомно-кодируемой устойчивостью к цефатоксиму, однако *L. plantarum* Val имеет ценность в качестве продуцента бактериоцина против *Proteus morganii* и *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Установлено, что 3 культуры лактобацилл: *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* Mal и *L. plantarum* P-1 продуцируют бактериоцин против клинических изолятов *S. aureus*.
4. Подобраны оптимальные условия культивирования (состав питательной среды, температура, pH и продолжительность культивирования) позволили повысить выход бактериоцина у *L. plantarum* Mal в 1,3 раза (pH-8, 37 °C, 48 час); у *L. plantarum* K-2 в 1,46 раз (pH-8, 37 °C, 48 час), у *L. plantarum* TM-5 в 1,03 раза (pH-6, 37 °C, 48 час), у *L. plantarum* P1 в 1,23 раз (pH-7, 37 °C, 48 час) и у *L. plantarum* Val – в 1,15 раза (pH-8, 37 °C, 48 час).
5. Разработан протокол очистки бактериоцинов, состоящий из 3 этапов последовательной хроматографии: ионообменная, гидрофобная, ВЭЖХ. Охарактеризован полученный чистый бактериоцин *L. plantarum* Mal и на основании аминокислотной последовательности отнесен по Па группе бактериоцинов
6. Подобран оптимальный состав мази на основе вазелина и комбинации трех бактериоцинов: *L. plantarum* K-2, *L. plantarum* P-1 и *L. plantarum* Mal для лечения поверхностных ран кожи, вызванных МРСА. На животной модели кожной инфекции доказана высокая эффективность заживления поражений при использовании мази, содержащей бактериоцины. При этом время заживления раны при использовании бактериоцинов было на 5 дней короче и составляло 10 дней по сравнению с временем заживления при использовании коммерческой мази, содержащей антибиотик, которое составляло 15 дней.

**SCIENTIFIC COUNCIL No DSc.27.06.2017. B.38.01 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREES AT INSTITUTE OF MICROBIOLOGY**

INSTITUTE OF MICROBIOLOGY

SOHIBNAZAROVA KHONSULUV ABDUVOHIDOVNA

**BACTERIOCINS OF LACTIC ACID BACTERIA AND THEIR
APPLICATION IN DERMATOLOGY**

03.00.04 – Microbiology and virology

**DISSERTATION ABSTRACT
OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2022

The theme of the dissertation for degree of doctor of philosophy (PhD) has been registered under the number B2020.2.PhD/B431 at the Supreme Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan

The doctoral dissertation has been conducted at the Institute Microbiology.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (info-microbio@academy.uz) and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor: **Miralimova Shakhlo Mirjamaalovna**
Doctor of Biological Sciences

Official opponents: **Mamatqulov Ibrohim Khamidovich**
Doctor of sciences in medicine, professor

Abdulmyanova Liliya Ilyasovna
Doctor of Biological Sciences

Leading organization: **National university of Uzbekistan**

The defense of the dissertation will take place on «15» June 2022 year 10:00 at the meeting of the Scientific Council DSc.02/30.12.2019.B.38.01 of the Institute of Microbiology at the following address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri str., conference hall of the Institute of Microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre at the Institute of Microbiology under №__ (Address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri str., administration building of the Institute of Microbiology, floor 5, library. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz)

The abstract of the dissertation is distributed on «03» June 2022 year.

(Protocol at the register № 3 on «03» June 2022 year).



Aripov Takhir
Aripov Takhir
Chairman of the scientific council awarding scientific degrees, D.B.Sc., Academician

Juraeva Rohila
Juraeva Rohila
Scientific secretary of the scientific council awarding scientific degrees, PhD, senior researcher

Gulyamova Tashkhan
Gulyamova Tashkhan
Chairman of the Scientific Seminar under the scientific council awarding scientific degrees, Dr. Sc.B., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and the evaluation of the effectiveness of their bacteriocins against dermatological infections agents for the development of new antimicrobial preparations for external use.

The object of the research: bacteriocinogenic strains of *Lactiplantibacillus plantarum*, antimicrobial activity of bacteriocins, clinical isolates of *S. aureus*.

The scientific novelty of the study is as follows:

For the first time in Uzbekistan, lactic acid bacteria (LAB)- producers of bacteriocins active against pathogens of skin infectious diseases were studied and the ability of bacteriocin to inhibit the growth of methicillin-resistant strains of *S. aureus* was characterized.

A purification scheme for pediocin-like bacteriocins was developed, and a homogeneous peptide was obtained and characterized.

The ability of local LAB strains to produce group IIa bacteriocins (pediocin-like bacteriocins) was shown.

For the first time, the possibility of using bacteriocins of local LAB strains in dermatology as an antagonist to antibiotic-resistant staphylococci in the treatment of atopic dermatitis in an animal model has been demonstrated and substantiated.

Implementation of the research results:

As a result of research on the isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and the use of their bacteriocins in various fields:

Lactobacillus plantarum Mal and *Lactobacillus plantarum K-2* strains, isolated from local medicinal plants and having probiotic properties, were used in the S-NI-22 project "Development of an innovative antidiabetic drug based on plant and microbial compounds" to reduce blood sugar levels on a model of sugar diabetes in rats (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-651 dated March 4, 2021). As a result, the antidiabetic properties of lactic acid bacteria strains were revealed and, on their basis, it was possible to create a probiotic preparation with a hypoglycemic effect;

The nucleotide sequence of 16S rRNA of lactic acid bacteria strains isolated from medicinal plants is registered in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database under the number *Lactobacillus plantarum Mal* (MT758354.1), *Lactobacillus plantarum P-1* (MT758355.1), *Lactobacillus plantarum K-2* (MT758470.1), *Lactobacillus plantarum TM-5* (MT758469.1) (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-650 dated March 4, 2021). The result allows the use of the 16S rRNA gene from the nucleotide sequence for phylogenetic analysis worldwide.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of introduction, five chapters, conclusion, list of references, and appendixes. The volume of the dissertation is 107 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Соҳибназарова Х.А., Ибрагимова Ш.Н., Давуров.А.М., Ахмедова З.М., Миралимова Ш.М. Антагонистическая активность штаммов лактобацилл против клинических изолятов *Staphylococcus sp* // Инфекция, иммунитет и фармакология. 2018.- С.108-115 (03.00.00, № 7).
2. Соҳибназарова Х.А., Ибрагимова Ш.Н., Черкасова Г.В., Миралимова Ш.М. Доривор ўсимликлардан ажратилган *Lactobacillus* штаммларининг пробиотик хусусиятлари // Инфекция, иммунитет и фармакология. 2019.- Б.112-120 (03.00.00, № 7).
3. Соҳибназарова Х.А., Муминов М.И., Ибрагимова Ш.Н., Миралимова Ш.М., Якубов М.Д. Подбор и оптимизация питательных сред для повышения бактериоциногенных свойств лактобактерий // Вестник НУУз. 2019.-С.57-60 (03.00.00, №5).
4. Соҳибназарова Х.А., Якубов И.Т., Якубов М.Д., Миралимова Ш. М. Бактериоцины класса II: достижения и перспективы // Инфекция, иммунитет и фармакология. 2020.- С.144-153 (03.00.00, № 7).
5. I.T. Yakubov, Kh. A. Sakhibnazarova, V. Urlacher G. T. Mavlonov & Sh. M. Miralimova I. Purification and Identification of Bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* // Journal Chemistry of Natural Compounds № 57 2021.- pp 404-406 (Scopus, IF-0.809).

II бўлим (II часть; II part)

6. Sohbnazarova Kh.A., Muminov M.I., Miralimova Sh.M. Anti-staphylococcal and anti-pseudomonas activity of *Lactobacillus plantarum* Mal // Black Sea scientific journal of academic research. Vol 55. 2020.- p 43-49 (Research Gate, IF-0,82).
7. Miralimova Sh.M., Sohbnazarova Kh.A., Yakubov I.T., M.I. Muminov, Sh. Ibragimova Purification of *Lactobacillus plantarum* Mal bacteriocin // XIII International Symposium on the Chemistry of Natural compounds. October 16-19, 2019, Shanghai. P.16–19.
8. Sohbnazarova Kh.A. Bacteriocins potential to treat MRSA infections // Biosimilars and Biologics November 18-19. 2020. USA. 2020. P.18-19.
9. Соҳибназарова Х.А., Элова Н.А., Ибрагимова Ш.Н., Бекмухаммедова Н.К., Миралимова Ш.М. Бактериоциногенные лактобактерии выделенные из лекарственных растений Узбекистана // Материалы IV национального конгресса бактериологов и международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «Microbios -2018 г» 12-13 сентября, 2018. Омск. С.66.
10. Sohbnazarova Kh.A., Muminov M.I., Saidova I.M., Abdullayev A.A., Erkinov A.A. Study antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* Mal

- against clinical isolates of *S. aureus* // XXII международная медико-биологическая научная конференция молодых исследователей "Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье". Санкт-Петербург 2019. С. 605.
11. Сохибназарова Х.А., Ибрагимова Ш.Н., Саидова И.М., Миралимова Ш.М. Антимикробная активность бактериоцинов к возбудителям дерматологических и гинекологических заболеваний // «Медицинская наука XXI века – взгляд в будущее». 29 ноября 2019, Душанбе. С. 258.
 12. Сохибназарова Х. А., Муминов М.И., Ибрагимова Ш.Н., Миралимова Ш.М. Влияние протеолитических ферментов на новые высокоэффективные бактериоцины, вырабатываемые лактобактериями // «Медицинская наука XXI века – взгляд в будущее». 29 ноября 2019, Душанбе. С 257.
 13. Сохибназарова Х.А., Миралимова Ш.М., Ибрагимова Ш.Н., Саидова И.М., Давуров.А.М. Антимикробная и бактериоциногенная активность лактобацилл против условно- патогенных бактерий // Ёш олимлар илмий-амалий конференцияси. 2018. Тошкент. Б.68
 14. Якубов И.Т., Сохибназарова Х.А., Муминов М.И., Ибрагимова Ш.Н., Миралимова Ш.М., *Lactobacillus plantarum* K-2 штаммидан бактериоцин пептидини ажратиш ва қисман тозалаш // Институт химии растительных веществ им. Академика С. Ю. Юнусова АН РУз, конференция молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений». 2019. Тошкент. С.96.
 15. Сохибназарова Х.А., Якубов И.Т., Муминов М.И., Ибрагимова Ш., Миралимова Ш.М. *Lactobacillus plantarum* Mal штаммидан бактериоцин Mal пептидларини тоза холда ажратиш олиш // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари” Республика илмий конференцияси. 2019. Тошкент Б.342-344.
 16. Yakubov I.T., Sohibnazarova Kh.A., I.M.Saidova., Sh.Ibragimova., G.T.Mavlonov, Sh.M.Miralimova Purification and antimicrobial activity *Lactobacillus casei* P-1 bacriocin // S T E M M Science – Technology – Education – Mathematics – Medicine. 2019, Тошкент. P.181-182.
 17. Muminov M.I., Sohibnazarova Kh.A., Miralimova Sh. M., Davranov K. Screening for Exopolysaccharide synthesis in several *Lactobacillus* Strains isolated from local plants // STEMМ Science – Technology – Education – Mathematics – Medicine. 2019, Тошкент. P.174-175
 18. Сохибназарова Х.А., Саидова И.М., Ибрагимова Ш.Н., Бабабеков А.Р., Муминов М.И., Миралимова Ш.М. Антимикробная активность молочнокислых бактерий против клинических штаммов *Pseudomonasa aruginosa*, выделенных у больных сахарным диабетом // “Олима аёл – интеллектуал салоҳият ва жамият тараққиёти йўлидаги фидойи куч” мавзусида республика илмий-амалий анжуман. 2019, Тошкент . Б. 95-97.
 19. Muminov M.I., Sohibnazarova Kh.A., Saidova I.M., Yakubov I.T., Ibragimova Sh.N., Miralimova Sh.M. Three-step purification and molecular mass determination of bacteriocin isolated from *Lactobacillus plantarum* K-2

- // «Состояние и перспективы развития микробиологии и микробной биотехнологии в Узбекистане» 2019, Тошкент. С. 20-21.
20. Соҳибназарова Х.А., Элова Н.А., Ибрагимова Ш.Н., Миралимова Ш.М. Адгезивность местных штаммов лактобацилл к клеткам кишечника // «Состояние и перспективы развития микробиологии и микробной биотехнологии в Узбекистане». 2019, Тошкент. С.86-87.
21. Соҳибназарова Х.А., Муминов М.И., Ибрагимова Ш.Н., Миралимова Ш.М., Бактериоциногенная активность *Lactobacillus casei* П-1 против пищевого патогена *L. monocytogenes* // «Наука и инновации», межд. конф. молодых ученых. 2019, Тошкент. С.103.
22. Sohobnazarova Kh.A., Muminov M.I. Miralimova Sh.M Study effect of temperature on bacteriocins isolated from *Lactobacillus plantarum* Mal // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами. 2020, Тошкент. Б.257-258
23. Соҳибназарова Х. А., Муминов М. И. Саидова И.М, Баширхонов З.Х, Якубов И.Т., Миралимова Ш.М. Бактериоцин пептидини синтезловчи, *Lactobacillus plantarum* П-1 штаммининг идентификацияси // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами. 2020, Тошкент. Б.257-258.

Автореферат “Ўзбекистон кимё журнали” таҳририятидан таҳрирдан
ўтказилган.

Босишга рухсат этилди: 04.06.2022
Бичими: 60x84 $1/16$ «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда босилди.
Шартли босма табағи 2,9. Адади 100. Буюртма: № 108
Тел: (99) 832 99 79; (99) 817 44 54
Гувоҳнома reestr № 10-3279
“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмаҳонасида чоп этилди.
Манзил: Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6 уй.