

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турсыова
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Турганова Малика Адилжановна
Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства
микровицетов, продуцентов антибиотика

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

Специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2023

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

ДОПУЩЕНЫ К ЗАЩИТЕ
Заведующий кафедрой
«Химическая и
биохимическая
инженерия» доктор Ph.D.
А.А.Аминова
«01» 12 2023г

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика»

По специальности 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнила



Турганова М.А

Научный руководитель



Джамалова Г.А, к.
с/х н., доцент,
ассоциированный
профессор

Рецензент



Борібай З.С,
канд. биол. наук
ассоц.проф. ИАО
Университет Пархоз;

Алматы 2023

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Специальность 6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
«Химическая и
биохимическая
инженерия» доктор Ph.D.
А.А.Амитова



«27» *Амитова* 2023г

ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающейся Турганова Малика Адилжановна

Тема: Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика.

Утверждена приказом №40 от 23.11. 2022 г.

Срок сдачи законченной работы 16 мая 2023 г.

Исходные данные к дипломной работе получены на основе экспериментальных расчетных и лабораторных работ.

Краткое содержание дипломной работы:

- а) Введение. Литературный обзор
- б) Объект, материалы и методика исследования
- в) Результаты исследований, заключение и выводы

Перечень графического материала: в работе представлено 26 рисунков и 2 графика.

Рекомендуемая основная литература: состоит из 114 наименований.

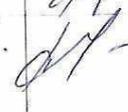
ГРАФИК

подготовки дипломной работы (проекта)

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	12 февраля 2023 г	выполнено
Материал и методика исследований	7 марта 2023 г	выполнено
Результаты исследования. Заключение и выводы	20 апреля 2023 г	выполнено

Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу (проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Основная часть	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	20.04.23.	
Нормоконтролер	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	09.06.20.	
Материалы и методика исследований	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	20.04.23.	
	Сериков Т.А., магистр техники и технологии, тьютор	20.04.23.	

Научный руководитель, к.с.х.н.,
доцент, ассоц.проф.



Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению
обучающийся



Турганова М.А

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа на тему «Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика» включает 29 страниц, 26 рисунков, 5 таблиц, 2 графика. Обзор литературы выполнен при изучении 114 источников научной литературы.

Цель. Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика.

Задачи:

1 Изучить биотехнологические ресурсы микромицетов, используемых для производства антибиотиков.

2 Определить чувствительность бактерий к антибиотику вырабатываемый микромицетами *Streptomyces spp.* диско-диффузным методом.

3 Изучить зоны ингибирования антибиотика, полученный из микромицета *Streptomyces spp.*

Культуральные свойства микромицетов-продуцентов антибиотика были определены чашечным методом путем подсчёта количества инокулята с использованием стандарта McFarland, были определены средние оптические плотности и построены графики.

Антимикробные свойства микромицетов-продуцентов антибиотика были определены при использовании метода диско-диффузии путем введения в среду с бактерией диска, пропитанного антибиотиком, измерены зоны ингибирования и приведены литературные данные для данного метода исследования.

Ключевые слова: микромицеты, микроорганизмы, антибиотики, оптическая плотность, биомасса, зона ингибирования.

АҢДАТПА

«Микромицеттердің, антибиотик продуценттерінің мәдени және микробқа қарсы қасиеттеріне температураның әсерін зерттеу» тақырыбындағы дипломдық жұмыс 29 бет, 26 сурет, 5 кесте, 2 графиктен тұрады. Әдебиеттік шолу 114 ғылыми әдебиет көздерін зерделеу арқылы жүргізілді.

Мақсат. Микромицеттердің, антибиотик продуценттерінің культуралық және микробқа қарсы қасиеттеріне температураның әсерін зерттеу.

Тапсырмалар:

1 Антибиотиктерді алу үшін қолданылатын микромицеттердің биотехнологиялық ресурстарын зерттеу.

2 Микромицеттер *Streptomyces spp* шығаратын антибиотикке бактериялардың сезімталдығын анықтаңыз. дискінің диффузиялық әдісі.

3 *Streptomyces spp* микромицеттерінен алынған антибиотиктің тежелу аймақтарын зерттеу.

Антибиотиктерді өндіретін микромицеттердің культуралық қасиеттері McFarland стандарты бойынша егу санын санау арқылы пластина әдісімен анықталды, орташа оптикалық тығыздықтар анықталды және графиктер салынды.

Антибиотиктерді өндіруші микромицеттердің микробқа қарсы қасиеттері бактериялары бар ортаға антибиотик сіңдірілген дискіні енгізу арқылы дискілік диффузия әдісімен анықталды, тежелу аймақтары өлшенді және осы зерттеу әдісі бойынша әдебиет деректері келтірілді.

Түйінді сөздер: микромицеттер, микроорганизмдер, антибиотиктер, оптикалық тығыздық, биомасса, тежелу аймағы.

ANNOTATION

Diploma work on the topic "Study of the effect of temperature on the cultural and antimicrobial properties of micromycetes, antibiotic producers" includes 29 pages, 26 figures, 5 tables, 2 graphs. The literature review was carried out by studying 114 sources of scientific literature.

Target. Study of the effect of temperature on the cultural and antimicrobial properties of micromycetes, antibiotic producers.

Tasks:

1 To study the biotechnological resources of micromycetes used for the production of antibiotics.

2 Determine the sensitivity of bacteria to the antibiotic produced by micromycetes *Streptomyces* spp. disk diffusion method.

3 To study the zones of inhibition of the antibiotic obtained from the micromycete *Streptomyces* spp.

The cultural properties of antibiotic-producing micromycetes were determined by the plate method by counting the number of inoculum using the McFarland standard, the average optical densities were determined and graphs were plotted.

The antimicrobial properties of micromycetes-producers of antibiotics were determined using the disk diffusion method by introducing an antibiotic-impregnated disk into the medium containing bacteria, the zones of inhibition were measured, and literature data for this research method were given.

Key words: micromycetes, microorganisms, antibiotics, optical density, biomass, zone of inhibition.

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	1
1	Аналитический обзор литературы	2
1.1	Микромицеты, продуценты антибиотиков	2
1.2	Антибиотики, производимые микромицетами.	4
1.2.1	Классификация антибиотиков	4
1.2.2	Химическое строение	5
1.2.3	Антибиотики (препараты, зарегистрированные в Казахстане) широкого спектра действия	6
1.3	Биотехнологические методы производства антибиотиков	10
2.	Объект, материалы и методика исследования	14
2.1	Объект исследования	14
2.2	Материалы исследования	15
2.3	Методы исследования	17
3	Результаты исследования	19
3.1	Подготовка к исследованию	19
3.2	Проведение исследования культуральных свойств	20
3.3	Результаты культуральных свойств	21
3.4	Проведение исследования антимикробных свойств	24
3.5	Результаты антимикробных свойств	25
3.5.1	Литературные данные	26
	Заключение	28
	Список использованной литературы	29

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Изучение влияния температуры позволяет рассмотреть наиболее благоприятные условия для роста и развития микромицетов, способствующие улучшению производства антибиотиков для борьбы с инфекционными бактериальными заболеваниями.

Цель. Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика.

Задачи:

1 Изучить биотехнологические ресурсы микромицетов, используемых для производства антибиотиков.

2 Определить чувствительность бактерий к антибиотику вырабатываемый микромицетами *Streptomyces spp.* диско-диффузным методом.

3 Изучить зоны ингибирования антибиотика, полученный из микромицета *Streptomyces spp.*

Научное значение: Результаты исследований позволяют создать оптимальные условия для культивирования микромицетов и являются приоритетными с учетом возрастающей проблемы антибиотикорезистентности многих бактериальных видов.

Прикладное значение: Изучение влияния такого фактора, как температура, помогает выбрать более эффективные антибиотики для борьбы с бактериальными инфекциями.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа (29 стр.) включает введение (1 стр.), обзор литературы (11 стр.), объект и методы исследования (5 стр.), результаты исследования (8 стр.) и заключение с выводами (1 стр.). Обзор литературы выполнен при изучении 114 источников научной литературы. В дипломной работе представлены 5 таблиц и 26 рисунков.

1 Аналитический обзор литературы

1.1 Микромицеты, продуценты антибиотиков

Грибы – большая и разнообразная группа эукариот характеризуется спорообразованием, эффективной секрецией не клеточные ферменты и абсорбционный способ питания, большинство грибов являются нитчатыми, аэробными и наземными [1]. Мицелиальные грибы являются хорошо известными производителями множества вторичных метаболитов с различной биологической активностью, многие из этих соединений, такие как пенициллин, циклоспорины и тетрациклин, имеют большое значение для здоровья человека [2]. Микромицеты, производители антибиотиков: *Penicillium*, *Streptomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Phoma* [3].

Streptomyces – род грамположительных микроорганизмов, обитающий в различных средах, и по форме напоминает нитчатые грибы, способны продуцировать биоактивные вторичные метаболиты и антибиотики, такие как противогрибковые, противовирусные, противоопухолевые [4]. Этот род (*Streptomyces*) производит более двух третей клинически полезных антибиотиков природного происхождения, относящихся к аминогликозидам, бета-лактамам, макролидам и тетрациклинам [5].

Род *Fusarium* был описан в начале 19 века, а Волленвебер и Рейнкинг, организовали род с 65 видами в 1935 году, и первый случай заражения этим заболеванием был зарегистрирован в 1958 году, на сегодня трансплантация органов, длительное лечение стероидами и агрессивная цитотоксическая терапия являются основными факторами риска фузариоза [6].

Род грибов *Penicillium* – для получения антибиотика пенициллина используют различные штаммы грибов *Penicillium notatum* или *Penicillium chrysogenum*. Он действует как разрушитель клеточной стенки бактерий [7].

Пенициллиновые антибиотики, делят на 2 группы: природные и полусинтетические. Природные пенициллины получают в процессе ферментации антибиотика *Penicillium*: пенициллин G (бензилпенициллин), пенициллин V (феноксиметилпенициллин), пенициллин VK (феноксиметилпенициллин калия) [8].

Пенициллин G и пенициллин V являются антибиотиками узкого спектра действия, проявляющими активность в основном в отношении грамположительных кокков и бацилл и грамотрицательных кокков: *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Leptotrichia buccalis* [9]. Пенициллин V, является одним из наиболее распространенных антибиотиков, используемых в стоматологии, который обладает бактерицидным действием [10].

Род грибов *Aspergillus* – это род плесневых грибов, которые размножаются только бесполым путем. Эти плесневые грибки также продуцируют вторичные метаболиты, имеющие важное значение в биотехнологии. Микели (1729) ввел название *Aspergillus* вместе с Халлером

(1768), подтверждающий род [11]. Изучением биосинтеза антибиотиков отдельными штаммами *Aspergillus nidulans*. Процедуры улучшения штаммов таких гибридов могут привести к производству новых антибиотиков на коммерчески приемлемом уровне [12].

Виды из рода *Aspergillus* считаются в первую очередь наземными, играющими важную роль [13]. *Aspergillus* колония – плотный белый мицелий, который приобретает различные цвета в зависимости от вида, цвета конидий, гифы ветвящиеся. Различие видов основано на образовании спор, а также на их форме и текстуре, могут вызвать заболевание легких [14].

Самый высокие грибы нитчатые, некоторые примитивные грибы, такие как по мере роста *Chytridomycota* в виде отдельных округлых клеток или дихотомических разветвленные цепочки клеток с корневидными ризоидами для прикрепления к питательному веществу ресурс [15].

Микромицет *Tolypocladium inflatum* – лечение различных заболеваний, сердечно-сосудистой системы и системы гемостаза человека. Мицелий получали путем культивирования чистых культур на сусле-агаре при 25°C в течение 7–20 дней. Затем эти образцы отделяли от среды, растирали жидким азотом и переносили в стерильную керамическую ступку [16].

Грибы существуют либо как сапрофиты, либо как паразиты. Гиалиновые гифомицеты, такие как *Aspergillus fumigatus*, представляют собой септированные плесневые грибы, в гифах которых отсутствует пигмент [17]. Влияние ароматических углеводов на скорость роста мицелия и спорообразование грибов находясь в почве, микробные популяции часто окружены соединениями, которые могли бы служить источником углерода и энергии, но они токсичны [18].

Микромицеты, представители рода *Arthrobotrys*, продуцируют протеолитические ферменты с фибринолитической активностью, эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали, что препарат протеиназы из *Arthrobotrys longa* (лонголитин) был перспективен для клинического применения, используются в терапии инфаркта миокарда, инсульта и легочной тромбоз артерий [19].

Ученые синтезировали наночастицы серебра с антибиотическими свойствами, используя водный экстракт древесной вешенки *Pleurotus ostreatus*, обладающий противораковыми, противомикробные препараты ингибировали рост пяти различных бактериальных штаммов – *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, антибактериальные эффекты зависели от размера и дозировки наночастиц [20].

Нитевидные грибы продуцируют микотоксины в качестве своих метаболитов, соединения могут вызывать заболевания с такими симптомами, как тошнота и диарея. *Aspergillus Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* являются лучшим примером микотоксинов [21].

1.2 Антибиотики, производимые микромицетами

Антибиотики – это химические вещества, которые вредны для других живых организмов, к микроорганизмам, вырабатывающим антибиотики, полезные для профилактики или лечения заболеваний, относятся бактерии и грибки [22].

1.2.1 Классификация антибиотиков: по биологическому происхождению.

Антибиотики, образуемые несовершенными грибами:

- Пенициллины – *Penicillium chrysogenum*
- Цефалоспорины – *Acremonium chrysogenum*
- Гризеофульвин – *P. Griseofulvum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium albidum*, *Aspergillus nidulans* [23].
- Фузидиевая кислота – *Fusarium coccineum* [23].
- Трихоцетин – *Trichotecium roseum* [24].
- Циклоспорины – *Beauveria nivea*, *Trichoderma polyspora* [25].
- Тетрациклины, хлортетрациклин, стрептомицин, эритромицин, хлорамфеникол – *Streptomyces spp.* [26].
- Кумарин – *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* и *Aspergillus niger* [27].

Наиболее часто применяемыми бета-лактамными антибиотиками для терапии инфекционных заболеваний являются пенициллин и цефалоспорин [28].

Для противобактериальные антибиотика широкого спектра действия тетрациклина было обнаружено резистентность в *E. coli*, обычно используемого для лечения как людей, так и животных, в связи с этим была высказана серьезная озабоченность по поводу возможной роли субтерапевтических в повышении устойчивости к антибиотикам [29].

Противогрибковые антибиотики: Нистатин (лечение кандидозных инфекций кожи, слизистых оболочек и полости рта), Гризеофульвин (ингибитором митоза, приводит к нарушению репликации грибковых клеток) [30].

Penicillium griseofulvum, выделенный из почв продуцирует гризеофульвин, фульвокислоту, рокефортин С, ханоклавин I. *Penicillium nalgiovense* способен синтезировать амфотерицин В [31].

Хлортетрациклин и окситетрациклин открытые в конце 1940-х годов, были первыми описанными членами группы тетрациклинов. Эти молекулы были продуктами *Streptomyces aureofaciens* и *S. rimosus* соответственно [32].

1.2.2 Химическое строение.

Пенициллин группа β -лактамных антибиотиков, структура тиазолидиновое кольцо, слитое с β -лактамным. Тетрациклины имеют кольцевую систему из четырех линейных аннелированных шестичленных колец и характеризуются общим октагидронафтаценовым скелетом, а Цефлоспорины – это β -лактамные антибиотики, содержат дигидрометатиазинового кольцо, кислостойчивы [33].

Устойчивость к противомикробным препаратам (УПП) представляет

серьезную угрозу для здоровья человека во всем мире т.к в 2019 году выявлена резистентность *E.coli* к цефалоспорином третьего поколения , резистентная к карбапенемам *A baumannii*, резистентная к фторхинолонам *E coli*, устойчивые к цефалоспорином третьего поколения *K. pneumoniae* [34].

Антибиотики фторхинолонового ряда: моксифлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин представляют собой ведущие антибиотические офтальмологические препараты, полезны для профилактики и лечения различных глазных инфекций [35].

Первое соединение, принадлежащее к семейству тетрациклинов у хлортетрациклина, был открыт в 1948 г. доктором Бенджамин Дуггар, был выделен из *Streptomyces aureofaciens* [36].

Разработка антибиотиков в качестве средств для лечения инфекционных заболеваний, вероятно, сыграло более важную роль в медицинской практике, чем любое другое отдельное достижение [37]. С момента открытия пенициллина и до наших дней микромицеты, являются одним из широко продуктивных источников антибиотических соединений для медицины и сельского хозяйства [38].

Вторичные метаболиты накапливаются из центральных метаболитических путей и пулов первичных метаболитов, являются начальными строительными блоками и играют решающую роль в развитии грибов и активно формируют взаимодействие с другими организмами [39].

Классификация антибиотиков их основные группы:

–β-лактамы, макролиды,

–фторхинолоны, тетрациклины,

–аминогликозиды. Инфекционные заболевания, вызываемые бактериями и грибами, остаются серьезной проблемой здравоохранения во всем мире из-за быстрого развития устойчивости к существующим лекарствам [40].

Новый класс синтетических тетрациклинов – фторциклинами, антибиотик широкого спектра действия, обладающий активностью против бактерий, включая специфический отток тетрациклина и рибосомную защиту, активностью в отношении многих грамотрицательных бактерий в том числе устойчивых к бета-лактамам *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Acinetobacter spp* [41].

Фумагиллин – Антибиотик был открыт в 1949 году и получен из микромицета *Aspergillus fumigatus* [42]. Фумагиллин используется для лечения, вызванного грибом *Pneumocystis carinii* у пациентов с ВИЧ-инфекция и микроспорициальном кератоконъюнктивит, это безопасное, эффективное, недорогое местное средство для лечения [43].

Нистатин описанный Е. L. Hazep, R. Brown (1950) является антибиотиком тетраеновой группы, образуется *Streptomyces poursei*, противогрибковый препарат, в настоящее время используется главным образом перорально для лечения желудочно-кишечного микоза и местно при слизисто-кожном кандидозе [44].

Цефазолин – β -лактамный антибиотик, класс цефалоспориновых кислот, широкий спектр антимикробной активности отношении грамположительных и грамотрицательные аэробов. Исследован способ синтеза β -лактамного антибиотика цефазолина ферментативным ацилированием 7-амино-3-(5-метил-1,3,4-тиадиазол-2-ил) тиометил-3-цефем-4-карбоновая кислота с использованием иммобилизованной синтеза цефалоспориновой кислоты из рекомбинантного штамма *E. Coli* [45].

1.2.3 Антибиотики (препараты, зарегистрированные в Казахстане) широкого спектра действия.

Амоксициллин – представляет собой новый полусинтетический пенициллин, но лучше всасывающийся, используется для лечения бактериальных заболеваний, таких как синусит, мочевыводящих путей, пневмонии и др [46].

Клоксациллин антибиотик группы пенициллинов узкого спектра действия, устойчивый к бета-лактамазам, является препаратом при инфекциях кожи, мягких тканей (бактериальный целлюлит, рожа, лимфангит), костей (остеомиелит/остит) и суставов (бактериальная инфекция сустава) [47].

Цефалексин – собой цефалоспорин первого поколения пользуется для лечения инфекций, вызванных бактериями, включая инфекции верхних дыхательных путей, инфекции уха, инфекции кожи, инфекции мочевыводящих путей и инфекции костей. Противопоказаны пациентам с аллергией на пенициллин, так как это создает повышенный риск аллергической реакции на цефалексин и другие цефалоспорины [50] [51].

Цефтриаксон – парентерального антибактериального средства для лечения различных инфекций, широким спектром антимикробной активности, охватывающей обычные грамположительные и грамотрицательные бактерии, имеет низкий профиль аллергенности и токсичности [52].

Нистатин (Nystatin) – антибиотик, продуцируемый *Streptomyces noursei*, активен в отношении дрожжеподобных грибов рода *Candida*, подавления кандидоз слизистых оболочек ротовой полости, половых органов, ЖКТ. Побочные реакции: диспепсические расстройства, аллергические реакции [53].

Гризеофульвин (Griseofulvin). Системный противогрибковый антибиотик выделен из мицелия *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium albidum*, *Penicillium patulum* показано, что *Aspergillus versicolor* и *Nematospora coryli* продуцируют антибиотик, применяют при поражении кожи, волос, ногте [54]. Механизм действия: гризеофульвин нарушает функции белка, из которого строится митотическое веретено и таким образом нарушает деление грибковых клеток, что приводит к развитию фунгистатического эффекта. Побочные реакции: нейротоксическое действие (головная боль, сонливость, слабость, головокружение, нарушения зрения, периферические полиневриты), аллергические реакции [55].

Известный английский бактериолог А. Флеминг в 1929 г. выделил гриб, идентифицированный как *Penicillium notatum*, и установил, что культуральная жидкость этой плесени способна оказывать антибактериальное действие по отношению к патогенным коккам назвал пенициллином. Промышленное производство этого ценнейшего препарата было начато при активности культуральной жидкости не выше 30 мкг/мл, или 50 ед./мл [56] [57].

Патент помогает понять, как пенициллин путешествовал и распространялся по всему миру после Второй мировой войны, когда промышленное регулирование стало играть важную роль, а именно знание их терапевтической эффективности против инфекций, таких как сифилис и гонорея быстро распространились в медицинском мире и в фармацевтическая индустрия [58].

Пути биосинтеза антибиотиков пенициллина, тетрациклина: синтез пенициллина аналогична логике синтеза белка рибосомой [59]. Биосинтез тетрациклина тесно связан с биосинтезом жирных кислот, но в этом случае (отдаленно) родственные ферменты осуществляют оба процесса [59].

Цефалоспорины: были впервые выделены из культур *Cephalosporium acremonium* из канализации в 1948 году итальянским ученым Джузеппе Броцу [60]. Строение: Цефалоспорины состоят из шестичленного кольца, атомов серы, присоединенного к β -лактамному кольцу [60].

Цефдинир – это пероральный цефалоспориновый антибиотик третьего поколения, активен *in vitro*, чем цефиксим в отношении Золотистый стафилококк и энтерококк фекальный, но он менее активен в отношении Энтеробактерии [61]. Поколений цефалоспоринов:

–I поколение (цефазолин, цефалексин) – активны в отношении грамположительных кокков (пневмококки, β -гемолитические стрептококки и стафилококки) [62].

–II поколение (цефуроксим, цефаклор, Цефметазол, Цефаранид) – это гетерогенные группы антибиотиков с различной противомикробной активностью в отношении *Enterobacter*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella*, *H. Influenza* [62].

–III поколение (цефотаксим, цефтриаксон) – расширенный охват грамотрицательных бактерий, которые включают в себя такие виды, как *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aerogenosa* и менингококки, продуцирующие β -лактамазу, обычно используются для лечения сепсиса неизвестного происхождения, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом [63].

–IV поколение (цефепим) – обладают повышенной активностью в отношении стрептококков и MRSA. По активности цефалоспоринов 4 поколения может быть сравним с цефтазимом в отношении *синегнойной палочки* [62] [64].

Механизм действия: Цефалоспорины составляют синтез пептидогликанового слоя бактериальной клеточной ткани, связываясь с

пенициллин связывающими белками [60].

Использование антибиотиков широкого спектра действия при перианальных заболеваниях до или после лечения остается распространенным явлением. Наиболее распространенными аэробными бактериями были *E. coli*, а распространенными анаэробными бактериями были *B. Fragilis* [65].

Цефуроксим – антибиотики второго поколения, рекомендуется для лечения Менингит, вызванный *Streptococcus pneumoniae* или *Staphylococcus aureus*, гонорея (высокой активностью в отношении всех видов гонококков), инфекции нижних дыхательных путей, вызванные *H. influenzae*, *Klebsiella*, *E. Coli* [66].

Исследование для проверки профилактического эффекта гризеофульвина, антибиотика, используемого для лечения грибковых инфекций, одна группа получала ежедневные пероральные дозы гризеофульвина, а другая – плацебо в течение 30 дней до вакцинации. Результаты у 52% в группе гризеофульвина и у 60% в группе плацебо развились инфекции, пик интенсивности инфекций приходится на третью неделю после вакцинации, выздоровлением к концу четвертой недели [67].

Терапевтические свойства тетрациклинов, нейродегенерации и заболеваний, деградацией тканей, тетрациклины переживают ренессанс, поскольку их активность в отношении прокариотических организмов и болезненных состояний млекопитающих, связанных с воспалением, пересматривается [68].

Антибиотики тетрациклины фармакологическим действием в отношении многих грамположительных и грамотрицательные бактерии, возбудители включений конъюнктивита и орнитоза. Первым тетрациклиновым антибиотиком является ауреомицин, выделенный из *Streptomyces aureofaciens* в 1948 г., а затем разрабатывались окситетрациклин, тетрациклин и демеклоциклин, которые являются природными продуктами [69].

Биосинтеза тетрациклинов, содержащих нафтаценовую структуру с четырьмя кольцами серии ферментативных стадий и генетическую регуляцию в организме-продуценте *Streptomyces aureofaciens* [70].

Способ получения противогрибкового антибиотика эмерициллипсина А (патент). Штамм микромикета *Emericellopsis alkalina* относится к митоспоровым грибам – анаморфам аскомицетного аффинитета: рода *Нуросреа*, семейства *Bionectriaceae* [71].

Тетрациклины и химически модифицированные тетрациклины (СМТ) были рационально разработаны для ингибирования активности ММР и, таким образом, снижения потенциального риска распространения опухолевых клеток [72].

В целом тетрациклины можно разделить на три группы в зависимости от их фармакокинетических и антибактериальных свойств:

–тетрациклин, окситетрациклин, хлортетрациклин;

- доксициклин и миноциклин;
- глицилциклин тигециклин [73].

Тетрациклины борются с акне благодаря действию на *S. acne* и противовоспалительным механизмам. Антимикробная активность возникает за счет ингибирования синтеза белка в бактериальной клетке они обратимо связываются с 30S-субъединицей бактериальной рибосомы, что предотвращает связывание РНК-переносчика [74].

Оценили токсичность тетрациклина, ампициллина, хлорамфеникола и стрептомицина для видов *Vibrio harveyi*. Они не обнаружили токсических эффектов при длительных испытаниях и для концентраций, обычно встречающихся в окружающей среде [75].

1.3 Биотехнологические методы производства антибиотиков

Синтетические и биотехнологические методы конкурируют друг с другом в производстве антибиотиков. Синтетические методы могут представлять серьезную угрозу для окружающей среды. Производство антибиотиков должно осуществляться с соблюдением мер безопасности, используя современные методы, чтобы минимизировать воздействие на окружающую среду [76].

Микроорганизмы имеют преимущество в производстве путем крупномасштабного культивирования. Это отражено в доле продуктов ферментации в мировом производстве антибиотиков с общим объемом 100 000 тонн, включая 60 000 тонн пенициллинов, 5 500 тонн тетрациклинов и 2 500 тонн цефалоспоринов [77].

Производство цефалоспоринов: Для производства необходимо удаление белков, полученный раствор цефалоспоринов подвергается процессу очистки и сушки для получения порошков. Промышленная система для производства цефалоспоринов была разработана компанией Jiangsu Jiuyu High-Tech Co. Ltd, система позволяет получать выход цефалоспоринов выше 92% [78].

Цефазолин натрия получения: Смесь нагревали до 70–72°C добавляли 20,0 г 7-аминоцефалоспоровой кислоты (7-ACA), охлаждали до 20°C и доводили рН раствора до 4,8. Смесь перемешивали в течение 3 часов, рН 4,5 и 5,5, к раствору ацетата натрия добавляли по каплям раствор цефазолина в течение 1 часа при 10–15°C. Проба высушенного образца продукта, приготовленного каждым экспериментом, составляла около 98% [79].

Бойер и Коэн с получили первый коммерческий продукт – человеческий инсулин, синтезировав последовательность ДНК, вставив ее в плазмиду, обычной бактерии *Escherichia coli*. Генная инженерия может быть использована для разработки новых антибиотиков, она также может быть использована для увеличения выхода и скорости производства известных антибиотиков [80].

Все штаммы *P. chrysogenum* выращивали в жидкой комплексной среде или минимальной среде при 27°C и 120 об/мин или выращивали на твердой

среде. Для инокуляции колб и плотной среды использовали споры, собранные с 7–дневных культур, выращенных на среде M322[81].

Состояние посевов было оценивается с помощью обычных фитопатологических процедур, микромицеты были выделены из растений и почвы с помощью голодания спиртовой агар, почвенный агар, картофельно-сахарозный агар и среда Чапека [82].

Агар Сабуро – культивирования различных видов микромицетов. Например, на агаре Сабуро *Trichoderma spp.* спорообразование изолятов отмечено на 4-й день [83].

Высокая скорость роста эндофитных и фитопатогенных штаммов *Fusarium poae*, *Alternaria alternata* и *Ceratocystis sp.* Штаммы *Penicillium funiculosum* могут существовать как сапрофиты в почве и как эндофитные растительные симбионты [84].

Размер фермент ферментера зависит от процесса, представляет собой большой цилиндр, закрытый сверху и поверхностный клапан, в который входят различные установленные трубы вода (для охлаждения), ферменты контролируются температура, кислорода, рН [70].

Основные этапы промышленного производства пенициллина следующие:

- 1) Подготовка материала, стерилизация среды.
- 2) Инокуляция среды в ферментер.
- 3) Принудительная аэрация стерильным воздухом во время инкубации.
- 4) Удаление мицелия плесени после ферментации.
- 5) Выделение и очистка пенициллина [85].

Развитие инокулята начинается на твердых средах, а далее используются жидкие среды, готовят обычно в виде суспензии спор, которую переносят в ферментер, помещая в металлический сосуд, прикрепленный к ферментеру [86].

Промышленное производство пенициллина. Пенициллины G и V производятся погружным способом в ферментерах, процесс является высокоаэробным, скоростью аэрации 0,5–1,0 оптимальным диапазоном температур 25–27 °С, рН поддерживают на уровне 6,5 [87].

Производство тетрациклина: метод восстановительное дехлорирование хлортетрациклина, в присутствии металлического палладия или платины при температуре 100°C. 2 способ прямую ферментацию тетрациклина микроорганизмами вида *Streptomyces aureofaciens* в водной питательной среде, в результате чего получают как тетрациклин, так и хлортетрациклин [88].

Хлортетрациклин получают путем размножения микроорганизмов вида *Streptomyces attreofaceins* в водной питательной среде в аэробных условиях, после стерилизации среды засевают инокулятом *S. aureofaciens* проводят в течение 120 часов при 25°C на роторном шейкере. Добавляют 7-хлор-5a(11a)-дегидротетрациклина получают хлортетрациклин [89].

Чрезмерное и неправильное использование антибиотиков привели к

значительному увеличению устойчивости к противомикробным препаратам (УПП). Исследовательская область должна быть направлена на приток новых антибактериальных препаратов-кандидатов в конвейер разработки [90]. После появления пенициллина поиска лекарств навсегда изменился. Он не только спас тысячи жизней, но и открыл эру открытия природных продуктов [91].

Применение пробиотиков является эффективным терапевтическим приёмом, редуцирующим негативные последствия для микробиоты макроорганизма в целом, пробиотические препараты: лактобактерин, бифиформ (капсулы, «Ферросан АС», Дания), линекс (капсулы, «Lek d.d.», Словения) [92].

Бета-лактамы антибактериальные препараты «лидируют по доли потребления в 2019 году, составляя 50% от общего потребления, идут группы Хинолоновые антибактериальные препараты», «Макролиды, Линкозамиды» и «Аминогликозиды» с долей потребления 30%, 10% и 7% соответственно [93].

Производство антибиотиков путем ферментации либо для использования непосредственно в терапии человека, либо в качестве исходного сырья для синтеза химически модифицированных производных основной структуры антибиотика по-прежнему составляет большую часть вклада антибиотиков в лечение заболеваний человека [94].

Большинство антибиотиков, происходят из представителей рода *Streptomyces*. Секвенирование нескольких штаммов *Streptomyces* показало, что каждый штамм содержит гены, кодирующие ферменты для синтеза 20 или более вторичных метаболитов, но лишь небольшая часть этих генов экспрессируется в различных условиях культивирования [95]. *Streptomyces aureofaciens* выращивают в лабораторных ферментерах, брожение проводили при 27°C в 5-литровых ферментерах и через 36 часов 100 мл культуральной жидкости переносили в три литра ферментационного стандарта, инкубировали в 5-литровом ферментере при 27°C [96].

Изолят штамма *E. coli* подвергали скринингу на устойчивость к тетрациклину с использованием метода диффузии в агаровом диске, как описано Шведской контрольной группой по антибиотикам 12% комменсальных штаммов *E. coli* были фенотипически устойчивы к тетрациклину [97].

Чувствительность к антибиотикам была протестирована с использованием диско-диффузионного метода. Изоляты *E. coli* были устойчивы к антибиотикам: цефиксим (41,6%), тетрациклин (75%) и эритромицин (58,3%) [98].

Тетрациклин из ферментированного материала был восстановлен методом экстракции, ферментированный субстрат тщательно перемешивали с 500 мл дистиллированной воды и содержимое перемешивают в течение 1 ч. на роторном шейкере при 150 об/мин. По окончании экстракции жидкость

отфильтровывали через фильтровальная бумага и полученный прозрачный фильтрат использовали для анализа тетрациклина [99].

Basch and Chiang (1998) сообщили об использовании стратегии генной инженерии для снижения уровня нежелательные побочные продукты ферментации цефалоспорина С. Они показали, что с помощью рекомбинантный штамм *A. chrysogenum* с повышенной число копий приводил к снижению уровня DAOC в ферментеры крупного производства [100].

Чувствительность к антибиотикам у 24 выделенных штаммов *E. Coli* из сырого молока результаты исследования показали, что 100% исследованных культур проявили устойчивость к ампициллину, 57,1% пиперациллину, 80,3% тетрациклину, 14,3% были среднеустойчивые, а 28,6% изученных культуры были чувствительны [101].

Антихеликобактерный эффект 22 микромицетов изучали в отношении одного стандартного штамма и 11 клинических изолятов *H. pylori*. Доказано, что наиболее активными против этого микроорганизма грибами являются *Penicillium ochlochloron* и *Penicillium funiculosum* [102].

2. Объект, материалы и методика исследования

2.1 Объект исследования

Объектом исследования в данном исследовании является представитель рода микромицетов – *Streptomyces* spp.

Streptomyces – типовой род семейства *Streptomycetaceae*, класса *Schizomycetes*. Встречаются в почве, навозе, воде, а также способны выживать при резких колебаниях уровня питательных веществ и условий окружающей среды [103] [104]. Растут в форме нитей или мицелия, образуют конидии, которые укладываются цепочками из спороносных воздушных гиф [105]. Фенотипические колонии имеют относительно гладкую поверхность, цвет варьировался от белого до кремового или желтовато–коричневого оттенков и от желтого до оранжевого или коричневого [106]. Хромосомы *Streptomyces* длиной 8–9 Мб является линейной, содержащей основные гены, количество которых равно 8 [107].

Представители, продуцирующие антибиотики:

- *S. aureofaciens* (вырабатывающий тетрациклин, хлортетрациклин);
- *S. rimosis* (окситетрациклин) (Рисунок 2.1);
- *S. griseus* (стрептомицин) (Рисунок 2.2);
- *S. erythraeus* (эритромицин);
- *S. venezuelae* (хлорамфеникол) (Рисунок 2.2) [108].



Рисунок 2.1 – Колонии *S. rimosis* и *S. aureofaciens* вырабатывающие тетрациклин, хлортетрациклин, окситетрациклин [109]

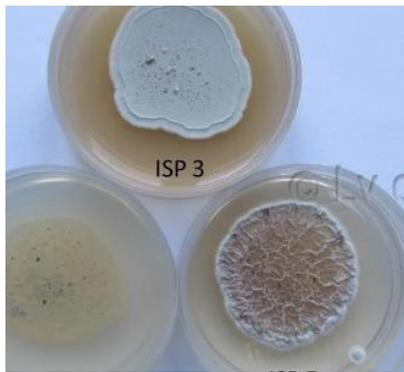


Рисунок 2.2 – Колонии *S. venezuelae* и *S. griseus* вырабатывающие хлорамфеникол, стрептомицин [110]

2.2 Материалы исследования

В ходе исследовательской работы использовались различные материалы, описанные ниже.

2.2.1 Приборы и оборудования.

– Аналитические весы РА114С

Предназначение: Используют преимущественно для взвешивания испытуемой пробы, компонентов питательных сред и реактивов [111].

Характеристика: Точность: 0.1 мг; Класс точности I специальный; Предел взвешивания: 110 г; Диаметр чаши: 90 мм; Габариты (мм): 196×287×320 калибровка и устойчивость (Рисунок 2.3) [112].

– Автоклав ВК-7501

Предназначение: Для стерилизации посуды и питательных сред, уничтожения (разрушения) микроорганизмов [111].

Характеристика: Режим работы №1: 132°C; t=20 мин; p=2 атм. Режим работы №2: 120°C; t=45мин; p=1 атм.; Габариты (мм): длина=740±50 ширина=570±50 высота=1070+50 (Рисунок 2.3) [114].



Рисунок 2.3 – Аналитические весы РА114С [113] и Автоклав ВК-7501 – Ламинарный бокс ВО-120-РР

Предназначение: Рабочее помещение биологической безопасности для микробиологических исследований [111].

Характеристика: II класс безопасности; Переднее стекло 3-х слойное 6 мм; Габариты (мм): 1220×800×1500; Размеры (мм): камеры 1135×600×640;

Скорость нисходящего: потока 0,33 м/с, 60 кадров в минуту (Рисунок 2.4) [115].

– Термостат ТС-1/80 СПУ

Предназначение: Состоит из изолированной камеры, которая позволяет удерживать постоянство температуры, равномерно распределенной в камере [111].

Характеристика: Максимальный температурный диапазон: от $T_{окр}+5$ до $+60^{\circ}\text{C}$; Время установления рабочего режим при макс. температуре: 120мин; Габариты (мм): длина = 525; ширина = 521; высота = 721; Максимальное отклонение температуры: $\pm 0,4$ (Рисунок 2.4) [116].

– Фотоколориметр КФК-3-«ЗОМЗ» Janway.6300

Предназначение: Прибор, позволяющий измерять оптическую плотность или коэффициент пропускания растворов в оптических кюветах [118].

Характеристика: Время установления рабочего режима (мин): 30; Диапазон измерений оптической плотности, Б: 0-2; Диапазон показаний оптической плотности, Б: 0-3; Рабочая длина кювет(мм): 1,3,5,10,20,30,50; Диапазон длин волн (нм): 315 – 990 (Рисунок 2.4) [119].



Рисунок 2.4 – Ламинарный бокс ВО-120-PP [115], Термостат ТС-1/80 СПУ [117] и Фотоколориметр КФК-3-«ЗОМЗ»Janway.6300

2.2.2. Питательные среды.

Czapek Dox Agar (TM Media, Индия; соответствует ISO 9001:2015, ISO 11133:2014, ISO 13485:2016) – это полусинтетическая твердая питательная среда, для культивирования грибов. Внешний вид характеризуется, как гомогенный сыпучий порошок. Среда имеет светло-желтую окраску (Рисунок 2.5) [120].

Czapek Dox Broth (TM Media, Индия; соответствует ISO 9001:2015, ISO 11133:2014, ISO 13485:2016) – это полусинтетическая жидкая питательная среда, для культивирования грибов. Внешний вид характеризуется, как гомогенный сыпучий порошок. Среда имеет светло-желтую окраску (Рисунок 2.5) [121].



Рисунок 2.5 – Czapek Dox Agar и Czapek Dox Broth [122]

2.3. Методы исследования

2.3.1 Посев микроорганизмов на твердые питательные среды.

Инокулирование микроорганизмов на твердые питательные среды проводили в соответствии стандарту ISO 7218-2015. С помощью дозатора вводили микроорганизмы и равномерно распределяли шпателем Дригальского по чашке Петри.

2.3.2 Посев микроорганизмов на жидкие питательные среды.

Инокулирование микроорганизмов проводили с помощью петли. Количество инокулята было определено стандартом McFarland 0,5 путем доведения микробной суспензии до соответствующей оптической плотности.

2.3.3 Культивирование микроорганизмов.

Культивирование микроорганизмов проводили в термостате при определенной, заданной температуре (20, 30 и 40 в соответствии с опытной частью).

2.3.4 Стерилизация.

В данном исследовании использовались различные методы стерилизации:

- Термическая;
- Давлением и насыщенным паром;
- Ультрафиолетовыми лучами.

2.3.5 Подсчет микроорганизмов.

Подсчет микроорганизмов в жидкой питательной среде проводили в соответствии стандарту ISO 7218-2015 и рассчитывали число микроорганизмов, построили график тренда.

2.3.6 Определение антибактериальной активности.

Изучение антибактериальной активности основано на способности антибактериальных препаратов (АБП) диффундировать на пропитанных антибиотиком бумажных дисках в питательной среде, угнетая рост микроорганизмов, посеянных на поверхности агара [123].

2.3.7 Приготовление исходной суспензии.

Приготовление исходной суспензии проводили в соответствии стандарту ISO 6887-6-2015. В питательную среду добавляли культуры

микроорганизмов, после перемешивания получили суспензию, по которой определяли оптическую плотность.

2.3.8 Измерения на фотоколориметре.

Измерения на фотоколориметре проводили с подготовки образца и переноса культуры в кювету, настраивали прибор при определенном диапазоне длин волн и режим измерения. Далее проводили измерения и вычисляли среднюю оптическую плотность.

3. Результаты исследования

Согласно поставленной цели данной дипломной работы, определенной как изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика, исследование было соответственно на:

- 1) Изучение культуральных свойств в зависимости от температуры,
- 2) Изучение антимикробных свойств в зависимости от температуры.

Показатели температуры в данном исследовании были выбраны исходя из среднего показателя оптимума для роста микромицетов в 30 °С. Для определения зависимости от температуры были взяты показатели больше и меньше на 10 °С.

3.1 Подготовка к исследованию

Лабораторные исследования начали с того, что подготовили образец почвы, лабораторную посуду (чашки Петри, колбы, шпатель Дригальского и т.д.), питательные среды. Для изучения *антимикробных свойств*, приступили к приготовлению питательной среды, на аналитических весах взвесили 12.5 г Czapek Dox Agar и высыпали содержимое в коническую колбу, затем добавили 250 мл воды. Получили светло-желтую жидкость. Затем отправили в автоклав при температуре 120 °С от 30 до 40 минут (Рисунок 3.1).

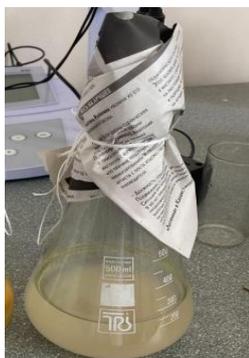


Рисунок 3.1 – Приготовление питательной среды из Czapek Dox Agar и помещение в автоклав

По истечении времени разлили полученную среду в чашки Петри, подписали их название и указали температуры, при которых будет проходить дальнейшее исследование (Рисунок 3.2).

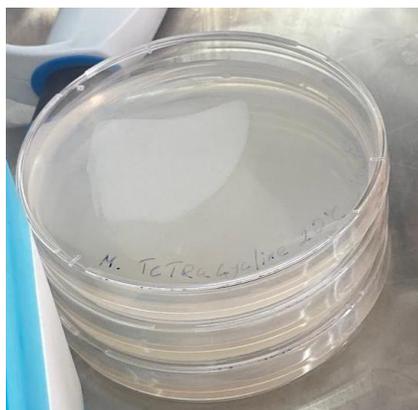


Рисунок 3.2 – Разлив и указание температуры для питательной среды Czapek Dox Agar

Для изучения *культуральных свойств* объекта исследования, сам объект был переведен в жидкую питательную среду Czapek Dox Broth, при которой осуществляли культивирование в течение 24 ч (Рисунок 3.3).



Рисунок 3.3 – Микромицеты в жидкой питательной среде Czapek Dox Broth

3.2 Проведение исследования культуральных свойств

Изучение проводили на фотоколориметре, определяя оптическую плотность суспензии через каждые 6 ч.

Так как оптическая плотность дает косвенные показатели о количестве микроорганизмов было принято решение о подсчете начального количества микроорганизмов, а также подсчету показательных данных чашечным методом для удобства последующих вычислений.

Таким образом, исходная суспензия объемом в 2 мл была доведена по оптической плотности до стандарта McFarland 1 (что соответствует количеству в 1×10^8 КОЕ/мл) и взята в объеме 1 мл, т.е. $0,5 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Показательные данные были выбраны для оптических плотностей 0,1, 0,5 и 1. Количество микроорганизмов для этих показателей были подсчитаны чашечным методом в соответствии с ISO 7218. Данные о числах микроорганизмов даны в таблице 3.1 и рис. 3.4.

Таблица 3.1 – Количество микроорганизмов для оптических плотностей

№	Оптическая плотность	КОЕ/мл
1	0,100	$0,5 \times 10^8$
2	0,500	3×10^8
3	1,000	7×10^8

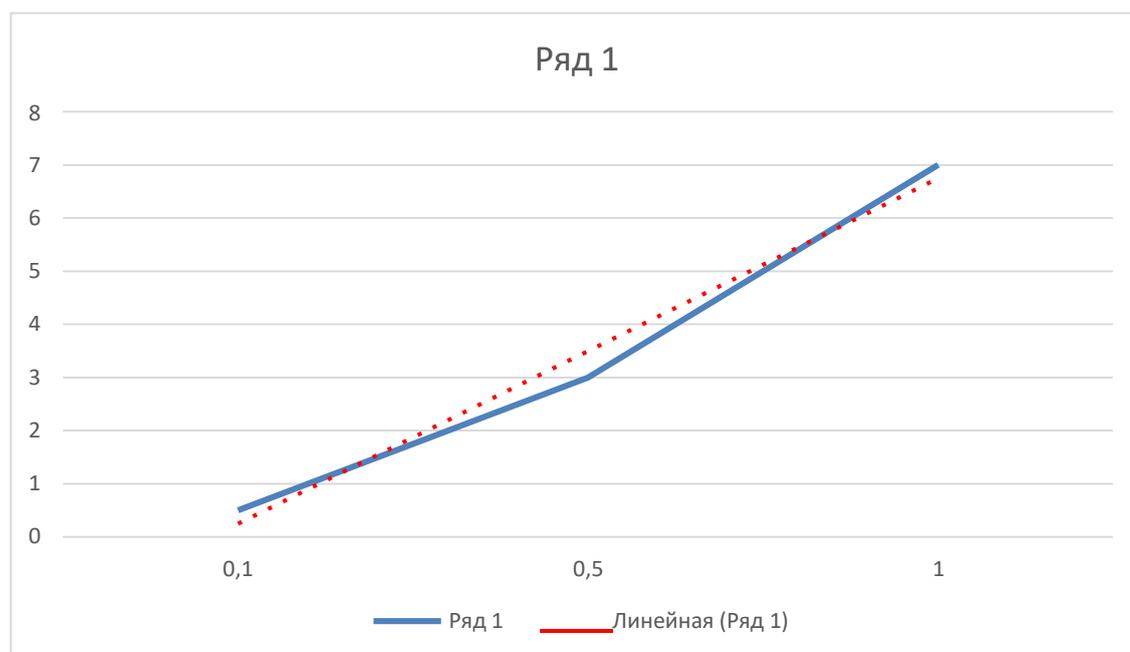


Рисунок 3.4 – Красная это линия тренда, синяя график показателей

Таким образом, исходя из линии тренда, было построено уравнение тренда:

$$y = 7.254x + 0.369$$

3.3 Результаты культуральных свойств

3.3.1 Расчет средних значений оптической плотности.

После определения значений на фотоколориметре рассчитали средние значения оптической плотности при определенных температурах, промежутках времени и получили следующие результаты, указанные в таблице 3.2

Далее построили график зависимости оптической плотности по времени (Рисунок 3.5).

Таблица 3.2 – Результаты измерения на фотоколориметре

Температура						
	20°C		30°C		40°C	
t (ч)	ОП	Средняя ОП	ОП	Средняя ОП	ОП	Средняя ОП
0 ч	0.089/0.087	0.088	0.089/0.090	0.0895	0.091/0.088	0.0895
6 ч	0.102/0.094	0.098	0.120/0.128	0.124	0.125/0.121	0.123
12 ч	0.210/0.213	0.2115	0.490/0.512	0.501	0.884/0.876	0.88
18 ч	0.257/0.259	0.258	0.891/0.926	0.9085	1.242/1.288	1.265
24 ч	0.311/0.327	0.319	0.921/0.929	0.925	1.265/1.267	1.266

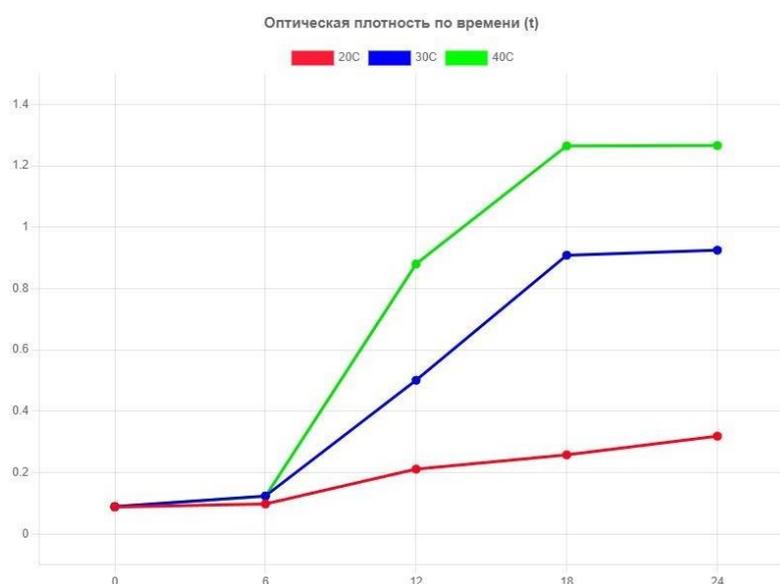


Рисунок 3.5 – График зависимости средних значений оптической плотности по времени

На рисунке 3.5 показан возрастающий график, где видно отсутствие роста на 6 ч, изменения в оптической плотности наблюдается только с 12 ч при указанных температурах.

Так, например, при температуре 20°C на 12 ч наблюдается прирост 0.2115, а наибольший при такой же температуре составил 0.319 (24 ч).

При температуре 30°C минимальная оптическая плотность приходится на 12 ч и равна 0.501, в свою очередь максимальная оптическая плотность составила 0.9085 и 0.925 при 18 ч и 24 ч соответственно.

Наивысший экспоненциальный прирост *Streptomyces* наблюдается при температуре 40°C и максимальная оптическая плотность составила 1.266 (24 ч), когда наименьший прирост при этой же температуре приходится на 12 ч равный 0.88.

Таким образом, получаются различные результаты прироста биомассы грибов–микровицетов *Streptomyces spp.* в том числе и возможность

получения метаболитов, таких как антибиотики.

3.3.2 Подсчет микроорганизмов чашечным методом.

Для определения количества микроорганизмов присутствующих в пробе использовали средние значения оптической плотности и уравнение тренда: $y=7.254x+0.369$. Соответственно получаем значения y (КОЕ/мл) для каждой температуры. Данные указаны в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Количество клеток микроорганизмов в КОЕ/мл

Температура					
20°C		30°C		40°C	
ОП	Количество клеток, КОЕ/мл	ОП	Количество клеток, КОЕ/мл	ОП	Количество клеток, КОЕ/мл
0.088	1×10^8	0.0895	1×10^8	0.0895	1×10^8
0.098	1×10^8	0.124	1.2×10^8	0.124	1.2×10^8
0.2115	1.9×10^8	0.501	4×10^8	0.501	4×10^8
0.258	2.2×10^8	0.9085	6.9×10^8	0.9085	6.9×10^8
0.319	2.6×10^8	0.925	7×10^8	0.925	7×10^8

Таким образом, сравнивая, стандарт McFarland 1 и таблицу 3.3 видно количество клеток микроорганизмов, которые оцениваются в ожидаемом диапазоне колониеобразующих единицах на миллилитр (КОЕ/мл) равный 1×10^8 КОЕ/мл.

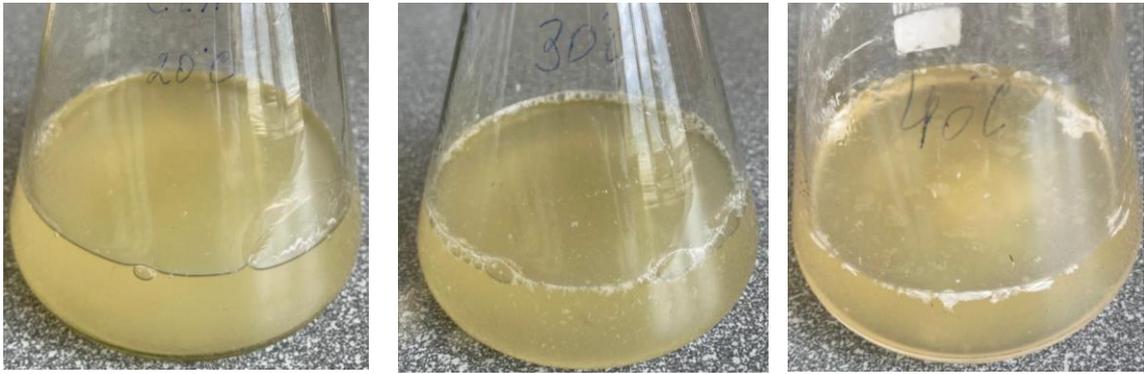
Тогда данному выражению соответствуют оптические плотности равные 0.088; 0.098 (при 20°C); 0.0895 (при 30°C) и 0.0895 (при 40°C). Также по данным таблицы, видно какое количество клеток микроорганизмов соответствует оптической плотности и указанных температурах.

3.3.3 Получение образцов жидкой питательной среды.

Жидкие питательные среды, содержащие *Streptomyces*, способны образовывать пленки на поверхности жидкости или гифоподобные структуры, в том числе и мицелий, с возможностью дальнейшего роста.

Так, например, для температуры 20 °C видим образование простой пленки без каких-либо метаболических структур (Рисунок 3.6).

При температуре 30 °C наблюдается образование мелких, светлых гифоподобных структур белого цвета, находящиеся в питательной среде (Рисунок 3.6) тогда как при температуре 40°C видим образование крупных сцепленных биомасс напоминающий мицелий (Рисунок 3.6).



20°C

30°C

40°C

Рисунок 3.6 – Микромицеты в жидкой питательной среде при различных температурах

3.4 Проведение исследования антимикробных свойств

Для получения антибиотиков использовали микромицеты рода *Streptomyces spp.* выделенные из почвы. Агаровый посевной материал выращивали на чашках Петри в течение 7 суток в термостате при температуре 27–28°C, после полученную культуру фильтровали через 2-ой слой марли, промывали дистиллированной водой, мицелий отделили.

Таким образом, получаем биопрепарат тетрациклин светло-коричневого цвета с характерным грибным запахом. С учетом того, что возможно содержание и других антибиотиков (хлортетрациклин, стрептомицин, эритромицин, хлорамфеникол) на основе штамма *Streptomyces* (Рисунок 3.7) [124].

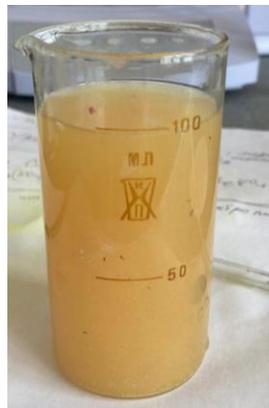


Рисунок 3.7 – В результате получилась жидкость светло-коричневого цвета. После получения антибиотика в подготовленные чашки Петри внесли бактерии *e.Coli* и распределили с помощью шпателя Дригальского после, дали посевному материалу абсорбироваться в течение 15 мин при комнатной температуре (Рисунок 3.8) [111].

Пропитав, фильтровальную бумагу антибиотиком произвели аппликацию дисков и инкубацию, что приводит к "преддиффузии" АБП в агар и к увеличению диаметра зоны подавления роста. Далее чашки Петри с посевами отправили в термостат при температурах 20 °C, 30 °C, 40 °C в течение 18–24 ч. (Рисунок 3.8) [123].



Рисунок 3.8 – Распределение бактерии *e. Coli* по чашкам Петри

3.5 Результаты антимикробных свойств

Для изучения антимикробных свойств, с помощью метода диско-диффузного анализа, были определены зоны ингибирования объекта исследования для показательного микроорганизма – бактерии *E. Coli* (Рисунок 3.9).

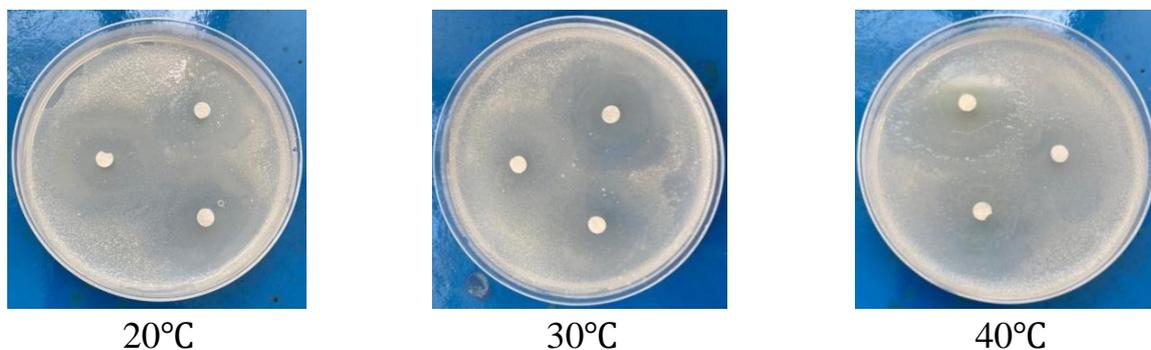


Рисунок 3.9 – Зоны ингибирования объекта исследования при различных температурах

Представленные данные в таблице 3.4, отражают информации о зонах ингибирования для каждой температуры, с учетом повторности.

Таблица 3.4 – Зоны ингибирования антибиотика тетрациклина

Температура проведения опыта	20°C			30°C			40°C		
Повторность	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Результат	1.1	1.4	1.1	1.3	1.7	2	3.6	1.3	2.0
	1.2 ± 0.17			1.6 ± 0.35			2.3 ± 1.18		

Исходя из табличных данных видно, что с повышением температуры от 20°C до 40°C увеличивается скорость роста микроорганизмов, в том числе и объекта исследования соответственно, продуцирование антибиотика будет

аналогично повышено, в связи, с чем и увеличивается зона ингибирования с 1.2 до 2.3 в сравнении двух крайних температур.

Таким образом, наблюдается наибольший рост бактерии, ее высокая чувствительность к антибиотику «тетрациклину» при температуре равной 40°C и зоне ингибирования 2.3±1.18. Это говорит о том, что при повышении температур зона действия антибиотика может увеличиваться, а также возрастает чувствительность бактерии к антибиотику.

3.5.1 Литературные данные.

На основании литературных данных, была рассмотрена исследовательская работа Нельсона Фири (Замбия, Южная Африка), в которой описывалась резистентность бактерии *e.Coli* к тетрациклину при 35°C при зоне ингибирования 12±14 мм. [125].

Мохаммад Бокеяном (Иран) было проведено изучение влияния антибиотиков на бактерию *e.Coli* диско-диффузионным методом при температуре 37°C, в результате резистентность к антибиотику тетрациклину проявилась при зоне ингибирования 10±12 мм. [98].

Акосуа Бонсу Карикари и другими исследователями Ганы (Западная Африка) была изучена восприимчивость *E. Coli* к антибактериальным препаратам. Опыты проводили методом диско-диффузии на чашках при 38°C в течение 24–48 часов. Изоляты показали наименьшую устойчивость к эритромицину, зона ингибирования составила 15±22 мм. [126].

Реза Талехбиян и Мехди Херадманд (провинция Шахрекрод, Иран) были изучены чувствительность *E.coli*, на противомикробные препараты, методом диско-диффузии. Наибольшая чувствительность бактерии проявилась к антибиотику хлорамфеникол при температуре 39°C и зоне ингибирования 18±30 мм. [127].

Исследования Саад Мохамеда, Мухаймин Рифаи (Индонезия) на чувствительность *E.coli* к АБП определяли методом диско-диффузии Кирби-Бауэра. Испытания проводили при 36°C в течение 18–20 часов и 0,5 МакФарланда культур с последующей инкубацией. *E.coli* были чувствительны к антибиотику хлорамфеникол, зона ингибирования 15 ±17 мм.[128].

Луис Рашид Трабулси и Мария Элиза Зулиани (Сан-Паулу, Бразилия) рассмотрели чувствительность *E.coli* к антибиотикам методом диско-диффузии при 37°C в течение 20 часов. Наибольшая чувствительность бактерии проявилась к антибиотику хлорамфеникол, зона ингибирования 14±16 мм. [129].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена микробиологическая методика работы с микромицетами, влияние температуры на микромицет *Streptomyces*, путем рассмотрения антимикробных и культуральных свойств, которые позволяют создать наиболее благоприятные условия для роста и развития микромицетов, способствующие улучшению производства антибиотиков для борьбы с инфекционными и бактериальными заболеваниями. По выполненной работе можно сделать следующие *выводы*:

При изучении *культуральных свойств*:

– При температуре 20 °С Оптической плотности 0.088 соответствует, $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл микроорганизмов, а 0.319 соответствует, $2.6 \cdot 10^8$ КОЕ/мл микроорганизмов;

– При температуре 30°С количество микроорганизмов равно от $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл до значения $7 \cdot 10^8$ КОЕ/мл при средних оптических плотностях 0.0895 и 0.925 соответственно;

– Для температуры 40°С максимальное количество микроорганизмов при оптической плотности 1.266 в суспензии равно $9.55 \cdot 10^8$ КОЕ/мл;

– Минимальная скорость прироста в течение 24 ч составила 0.319% при минимальной температуре 20 °С т.е происходит образование пленки без содержания каких-либо метаболических структур;

– Средняя скорость прироста в течение 24 ч составила 0.925% при температуре 30°С т.е происходит образование гифоподобных структур;

– Максимальная скорость прироста в течение 24 ч при 40°С составила 1.266%, что говорит об образовании мицелий подобной биомассы.

При изучении *антимикробных свойств*:

– Использовался метод диско-диффузии для ингибирования бактерии *e.Coli* к антибиотику тетрациклин при 20°С, 30°С, 40°С;

– Изучены зоны ингибирования антибиотика, полученные из рода микромицетов *Streptomyces spp.* Скорость роста бактерии намного меньше при температуре 20°С и 30°С ;

– Определено, что при повышении температур до 40°С зона действия антибиотика увеличивается, а также возрастает чувствительность бактерии к антибиотику тетрациклин.

Таким образом, исследование помогает создать, оптимальные условия для культивирования микромицетов и актуальны с учетом возрастающей проблемы антибиотикорезистентности многих бактериальных видов, а также применяют для выбора более эффективных антибиотиков для борьбы с бактериальными инфекциями.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Bennett J. W. Review White Paper: Genomics for Filamentous Fungi Department of Cell and Molecular Biology // Article, Fungal Genetics and Biology, 1997. – pp. 3–7.
- 2 Wilhelm Nützmann, Volker Schroeckh, Axel Brakhage. Chapter Sixteen - Regulatory Cross Talk and Microbial Induction of Fungal Secondary Metabolite Gene Clusters // Methods in Enzymology, 2012. – vol 517. – pp. 325-341. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404634-4.00016-4>.
- 3 Alferovaa V.A., Baranovaa A.A. Antibiotics from Extremophilic Micromycetes // Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2020. – vol 46. – pp. 903–971. doi:10.1134/s1068162020060023.
- 4 Procopio Rudi, Silva, Ingrid, Martins, Mayra Azevedo, Joao Araújo, Janete. Antibiotics produced by Streptomyces // The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases. 2012. – 71 p.
- 5 Naeima M., Yousef H. Antimicrobial agents produced by Streptomyces // Egypt, 2018.
- 6 Abdullah M. S., Jacques F., Sybren G. Fusarium: Molecular Diversity and Intrinsic Drug Resistance // Duke University Medical Center, United States. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005464>.
- 7 Erik G., Tornqvist M., William H. Penicillin Production by High-Yielding Strains of *Penicillium Chrysogenum* // Department of Biochemistry, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, 1956. – 277 p.
- 8 Dumancas G.G., Hikkaduwa R.S., Koralege, E. R., Mojica E., Murdianti B.S. Penicillins // Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 2014 – pp. 768-772. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00764-8>.
- 9 Purnima Kumar, 33 - Pharmacology of Specific Drug Groups: Antibiotic Therapy // Pharmacology and Therapeutics for Dentistry (Seventh Edition), 2017–pp. 457-487. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39307-2.00033-3>.
- 10 Randolph R., Joseph E.8 - Intraoperative Complications: Infection // Misch's Avoiding Complications in Oral Implantology, 2018. – pp. 294-328. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37580-1.00008-1>.
- 11 Joan Bennett, *Aspergillus* // An Overview of the Genus, 2007 – pp.1-2.
- 12 Perry M. J., Makins J. F., Adlard M. W. Aspergillic Acids Produced by Mixed Cultures of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus nidulans* // Microbiology, 1984. – vol 130, Issue 2. <https://doi.org/10.1099/00221287-130-2-319>.
- 13 Abdel-Azeem A.M., Salem F.M. Chapter 1 - Biodiversity of the Genus *Aspergillus* in Different Habitats // New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, 2016. – pp. 3-28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00001-4>
- 14 Dr. ArtDisalvo. Mycology - Chapter Five // Filamentous fungi, South Carolina Department of Health And Environmental Control, 2018.
- 15 Walker M., White A. Introduction to Fungal Physiology // Fungi: biology

and applications, 2017. – pp. 3-58.

16 Fokichev N. S., Kurakov A. V., Osmolovskiy A. A. Thrombolytic Potential of Micromycetes from the Genus Tolypocladium // Obtained from White Sea Soils: Screening of Producers and Exoproteinases Properties. *Microbiol*, 2022. <https://doi.org/10.3390/microbiolres13040063>.

17 Margaret V., Kendall B.A., Griffin A.T., Filamentous Fungi // *ASM Journals*, 2016. – vol 4. doi: <https://doi.org/10.1128/Microbiolspec.DMIH2-0002-2015>.

18 Margesin R., Schinner F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments // Review: *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001. – pp. 1 - 14. doi 10.1007/s002530100701.

19 Sharkova T. S., Kornienko E. I., Kreier V. G. Morphological and physiological properties of the micromycete // *Microbiology: Arthrotrys longa*, a producer of longolytin, a proteolytic complex with a thrombolytic effect , 2016. – pp. 180–184. doi:10.1134/s0026261716020168.

20 Al-Bahrani. Article: Edible mushroom helps make antibiotic nanoparticles // *Nature India, research highlights* , 2016. doi: <https://doi.org/10.1038/nindia>.

21 Aseel T., Tahergorabi R. Chapter 22 - Milk Bacteria and Gastrointestinal Tract: Microbial Composition of Milk. // *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*, 2019. – pp. 265-275. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814468-8.00022-3>.

22 Lancelot Thomas, Hogben Selman. Antibiotic chemical compound // *Article History, Health & Medicine: The Editors of Encyclopaedia Britannica*, 2023.

23 Jason Trubiano, Lindsay Grayson - Fusidic Acid. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice // Infectious Diseases (Eighth Edition)*, 2015. – vol 1. – pp. 304-309. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00024-2>.

24 Stefan Asam, Michael Rychlik. Fusarium Mycotoxins in Food // *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, 2017. – pp. 295-336.

25 Wajiha Iram, Tehmina Anjum. Production of Cyclosporine A by Submerged Fermentation// *Fungal Metabolites*, 2015.–pp.1–28. doi:[10.1007/978-3-319-19456-1_4-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19456-1_4-1).

26 Dr. Yamunarani K., Dr. Sundaram A. K., Dr. Pandiyan M. Streptomycetes as a potential biocontrol agent // *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2019. – pp. 637-644.

27 Aguirre-Pranzoni C., Alejandro Orden. Coumarin metabolic routes in *Aspergillus* spp. // *Fungal Biology*, 2011. doi:[10.1016/j.funbio.2010.12.009](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.12.009).

28 Litzka O., Bergh K.T., Van den Brulle J. Transcriptional control of expression of fungal beta-lactam biosynthesis genes // *National library of medicine*, 1999. – pp. 95-105. doi: [10.1023/a:1001706729545](https://doi.org/10.1023/a:1001706729545).

29 Grenni, Ancona V., Caracciolo A .B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems // A review Paola. *Microchemical Journal*, Italy, 2018. – pp.

25-39. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.02.006>.

30 Patrick T., McKeny., Trevor A., Nessel Zito. Antifungal Antibiotics // the National Center for Biotechnology Information, 2023. – ID: [NBK538168](#).

31 [Kuvarina A. E.](#), [Roshka A.](#), [Rogozhin E. A.](#) Antimicrobial Properties and the Effect of Temperature on the Formation of Secondary Metabolites in Psychrophilic Micromycetes // [Applied Biochemistry and Microbiology](#), 2022. – vol 58. – pp. 243–250.

32 [Chopra I.](#), [Marilyn.](#) Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistancen // [RobertsMicrobiol Mol Biol Rev](#), 2001. – pp. 232–260. doi: [10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001](#).

33 Dilango Valentine. Antibiotics. Medicinal chemistry pharm // Textbook of medicinal chemistry alagarsamy – pp.1-41.

34 Dr Mohsen Naghav. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 2019 // Articles a systematic analysis, 2022. doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0).

35 Barry A. Schlech. Chapter 14 - New Anti-Infectives for Ophthalmology // [Ocular Therapeutics.Eye on New Discoveries](#), 2008. – pp. 317-330.

36 Nguyen F., Starosta A. L., Arenz S., Sohmen D. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms // [Biol. Chem](#), 2014. – pp .559–575. doi [10.1515/hsz-2013-0292](#).

37 Gutiérrez S., Casqueiro J., Martín J. F. Production of antibiotics // [Area of Microbiology, University of León, Spain. Biotechnology](#) – vol. V. – pp.3–7.

38 [Tyurin A.P.](#) Extremophilic Micromycetes // [Russian Journal of Bioorganic Chemistry](#), 2020.

39 [Keller N.P.](#) Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery // [Nature reviews. Microbiology](#), 2019. doi: [10.1038/s41579-018-01211](#).

40 [Küçükbay F. Z.](#), [Küçükbay H.](#) Chemical Structures and Classification of Antimicrobial Drugs // [Bentham Science Publishers](#). – pp.214-28. doi: [10.2174/9781681084794117060005](#).

41 [Cristina d’Urso de Souza Mendes](#), [Adelaide Maria de Souza Antunes](#). Pipeline of Known Chemical Classes of Antibiotics // [Antibiotics](#), 2013. – pp. 500-534. doi: [10.3390/antibiotics2040500](#).

42 [Lamrani K.](#), [Ismaili-Alaoui M.](#), [Ettalibi M.](#) Production of fumagillin by *Aspergillus fumigatus* isolated from traditional trituration units // [Department of Biochemistry, Instituts, Madinate Al Irfane](#), 2007.

43 Garvey M.J, Ambrose P.G, Ulmer J L. Topical fumagillin in the treatment of microsporidial keratoconjunctivitis in AIDS // [Case Reports: Ann Pharmacother](#), 1995. doi: [10.1177/106002809502900909](#).

44 Meyler's Side. [Nystatin](#) // [Effects of Drugs the International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions](#), Fifteenth Edition, 2006.

45 Wan L., Sklyarenko A.V., Duanhua L., Sidorenko A. I. Enzymatic synthesis of cefazolin using immobilized recombinant cephalosporin-acid synthetase as the biocatalyst // [Bioprocess and Biosystems Engineering](#), 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00449-018-2007>.

46 Handsfield H. H., Clark H., Wallace J.F., Holmes K. K. Amoxicillin, a New Penicillin Antibiotic. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1973. – vol 3. doi: <https://doi.org/10.1128/aac.3.2.262>.

47 Kuzdenbaeva R.S., Makalkina L.G., Ikhambayeva A.N., Availability of Antibacterials in the Republic of Kazakhstan // Magazine №11-12 November-December, 2020.

50 Kaci Durbin. Cephalexin // MD, 2023.

51 Timothy F., Hashmi M. F. Cephalexin // MD, 2022.

52 Mistry R., Timothy M. Rawson. Haematological and hepatic adverse effects of ceftriaxone in ambulatory care: a dual-centre retrospective observational analysis of standard vs high dose // Article number: BMC Infectious Diseases, 2022. – vol 58.

53 Brautaset T., Sekurova O., Strøm A.R. Biosynthesis of the polyene antifungal antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei* ATCC 11455: analysis of the gene cluster and deduction of the biosynthetic pathway // Research Paper, 2000. – vol 7. – pp. 395-403.

54 Nigam P.S., Singh A. Metabolic pathways, production of secondary metabolites – fungi // encyclopedia of food microbiology (second edition), 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00202-0>.

55 Venkata D. V., Panda T. Studies on production of griseofulvin // Bioprocess Engineering, 1999. id: 84346529. doi: [10.1007/s004490050707](https://doi.org/10.1007/s004490050707).

56 Roswell Quinn. Rethinking Antibiotic Research and Development: World War II and the Penicillin Collaborative // Am Public Health, 2013. doi: [10.2105/AJPH.2012.300693](https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.300693). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3673487/>.

57 Егоров И.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. 6-е изд., перераб. и доп. // Изд-во МГУ; Наука, 2004. - 528 с.

58 Ana Romero de Pablos. Regulation and the circulation of knowledge: Penicillin // patents in Spain, 2011. – pp. 363-383.

59 Curriejon C., Fischbach M. The natural history of antibiotics // Current Biology, 2009. – vol 19. doi: [10.1016/j.cub.2009.04.001](https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.04.001).

60 Shahbaz K. Cephalosporins: pharmacology and chemistry // Pharmaceutical and Biological Evaluations, 2017. – vol 4. – pp. 234-238. doi: <http://dx.doi.org/10.26510/2394-0859.pbe.2017.36>.

61 Al-Badr A.A., Alasseiri FA. Cefdinir // Department of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy, King Saud University, P.O. Box 2457, Riyadh, Saudi Arabia, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800173-8.00002-7>.

62 Karki G. Cephalosporin: structure, classification, clinical use and mode of action // Online Biologie Note. Pharmaceutical Microbiology, 2018.

63 Klein N.C. Third-generation cephalosporins // The Medical Clinics of North America, 1995. – vol 79(4). doi: [10.1016/s0025-7125\(16\)30034-7](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30034-7).

64 Рождественский Д.А., Крапивко И.И., Конорев М.Р. Курс лекций по фармакологии в 2-х томах: Том I; Пособие – Витебск: ВГМУ, 2019. – 180 с.

URL: vsmu.by.

65 Mahdi B.M. Chapter 7 - Role of Antimicrobial Agents in the Management of Perianal Abscess // *New Concepts in the Management of Septic Perianal Conditions*, 2018. – pp. 71-77. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816111-1.00007-0>.

66 Kar A. *Pharmacognosy And Pharmacobiotechnology* // New Age International (P) Limited, Publisher Daryaganj New Delhi, 2007. – pp. 8-898.

67 Gonzalez-Ochoa A., Ricoy M.D., Bravo-Becherelle M. A. Study of Prophylactic Action of Griseofulyin–Hui'sianexperimental Infection with Trichophyton Concentric Um // *The Journal of Investigative Dermatology Elsevier - Publisher Connector*. – pp. 56-59.

68 Verma A. K., Bhatia B., Nelson M.L. Antibiotic and non-antibiotic tetracycline patents // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2007. – vol 18. Issue 1. doi:[10.1517/13543776.18.1.69](https://doi.org/10.1517/13543776.18.1.69).

69 Jinan, Shandong, Via Senato. 9-Aminomethyl Substituted Tetracycline Compound // *European Patent Application Published In Accordance With*, 2013. Art. 153. – pp. 1-58.

70 Industrial Production of Penicillins and Tetracyclines // UNIT 5 • Metabolic Diversity and Commercial Biocatalyses. – pp.417.URL: https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/108413/mod_resource/content/1/Cap%2015%20Brock.pdf.

71 Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Debets A.J. Are alkalotolerant fungi of the Emericellopsis lineage {Bionectriaceae) of marine origin // *IMA Fungus*, 2013. – vol 4. – pp. 211-226. doi: [10.5598/imafungus.2013.04.02.07](https://doi.org/10.5598/imafungus.2013.04.02.07).

72 Acharya R., Venit J. Chemically modified tetracyclines as inhibitors of matrix metalloproteinases, 2004. – vol 7. – pp. 195-208.doi: <https://doi.org/10.1016/j.drug.2004.04.002>.

73 Agwuh K.N., MacGowan A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006. – vol 58. – pp. 256–265.doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkl224>.

74 Emmy M., Graber. Treating acne with the tetracycline class of antibiotics // *Special Issue: Acne and Rosacea – What's new*, 2021. February.<https://doi.org/10.1002/der2.49>.

75 Kummerer, K., Al-Ahmad, A., Mersch- Sundermann V. Biodegradability of Some Antibiotics, Elimination of Genotoxicity and Wastewater Bacteria // *Damage in A Simple Test. Chemosphere*, 2000. – vol 40 . – pp. 701-710.

76 Andrija Šmelcerović, Siniša Djordjević. The importance and advantages of the biotechnological methods for the production of antibiotics and for the discovery of new structures udc // *Chemical Industry 'Nevena', Leskovac, Yugoslavia.The Scientific Journal Facta Universitatis Series: Working And Living Environmental Protection*, 2000. – vol 1 , no 5. – pp. 109 - 112.

77 Johanna Silber, Annemarie Kramer, Antje Labes, Deniz Tasdemir. Review from Discovery to Production: Biotechnology of Marine Fungi for the

Production of New Antibiotic // Geomar Centre for Marine Biotechnology (GEOMAR-Biotech), Am Kiel-Kanal 44, Kiel 24106, Germany, 2016.

78 Minghui Qiu, Weihong Xing. Example: Cephalosprin production // Comprehensive Membrane Science and Engineering (Second Edition), 2017.

79 Hussain S.A, Mahmood T., Chawala N. Improved and economical synthesis of cefazolin sodium // Drug Regulatory Authority Lahore, Pakistan. Faculty of Pharmacy, University of the Punjab, Lahore-54000, Pakistan, 2012 – vol 1. – pp. 23-26.

80 Bernard R., Glick., Molecular biotechnology : principles and applications of recombinant DNA // Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, Patten 4th ed, 2010. – pp. 5-1020.

81 Ziemons S., Koutsantas K., Becker K. Penicillin production in industrial strain *Penicillium chrysogenum* // P2niaD18 is not dependent on the copy number of biosynthesis genes. BMC Biotechnology, 2017. – vol 17.– pp. 325-341.

82 Gorkovenko V. S., Bondarenko I.I. Structure of Micromycete Complex in Agroecocenosis of Field Crops on Leached Chernozem of Western Ciscaucasia // Kuban State Agrarian University, Russia. J. Pharm. Sci. & Res, 2018. – vol 10(7).

83 Voitka D., Yuzefovich H. In vitro comprehensive assessment of antagonistic activity of trichoderma genus fungi against fusarium spp // International Scientific Agricultural Symposium „Agrosym “Institute of Plant Protection, Priluki, 2014.

84 Kurchenko I.M., Yurieva E.M. Growth of Micromycetes // Different Ecological Niches on Agar Nutrient Media, 2015. doi:[10.15407/microbiolj77.05.037](https://doi.org/10.15407/microbiolj77.05.037).

85 Najafpour G. Production of Antibiotics // Biochemical Engineering and Biotechnology; text book, 2007. – pp.1-20. doi:[10.1016/b978-0-12-384730-0.00202-0](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00202-0).

86 Marisha Garg. Production of Antibiotics // Article Biology Discussion, Industrial Microbiology.

87 Nigam P.S., Singh A. Metabolic Pathways Production of Secondary Metabolites – Fungi // Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), 2014. – pp. 570-578. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00202-0>.

88 Miller Philip Andrew. Production of tetracycline // United States Patent. US3005023A, 1957.

89 Daniel J.R., Solander N.O. Biological conversion of 5a (11a)-dehydro tetracyclines to broad-spectrum antibiotics // Patented United States Patent Office, 1960.

90 Miethke M., Pieroni M., Weber T. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics // Roadmap 726, 2021. – vol 5. doi:<https://doi.org/10.1038/s41570-021-00313-1>.

91 Boyd N.K., Teng C., R. Frei C.R. Brief Overview of Approaches and Challenges in New Antibiotic // Development: A Focus On Drug Repurposing. Review article, 2021. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.684515>.

- 92 Neschislyayev V.A., Mokin P.A. Antibiotic treatment and probiotics // «Medical & pharmaceutical journal "Pulse", 2020. – vol 22 №11.
- 93 Zhussupova G., Utepova D. Article: Evaluation of Antibiotic Use in Kazakhstan for the Period 2017–2019 // Moscow State Medical University Antibiotics, 2021.–vol 10.doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010058>.
- 94 Derek J. Hook Production of antibiotics by fermentation // Chapter 18 - Production of antibiotics by fermentation, 2012.
- 95 Shentu X., Liu N., Tang G. Improved antibiotic production and silent gene activation in *Streptomyces diastatochromogenes* by ribosome engineering // The Journal of Antibiotics,2016.–vol 69. – pp. 406–410.
- 96 Biffi G., Boretti G., Di Marco A. P. Production by *Streptomyces aureofaciens* in Liquid Culture Farmitalia // Metabolic Behavior and Chlortetracycline Research Laboratories, Milano, Italy Received for publication, 1954.
- 97 Karami N., Nowrouzian F. Tetracycline Resistance in *Escherichia coli* and Persistence in the Infantile Colonic Microbiota // Antimicrob Agents Chemother, 2006.–vol 50(1). – pp.156–161.doi: [10.1128/AAC.50.1.156-161.2006](https://doi.org/10.1128/AAC.50.1.156-161.2006).
- 98 Bokaeian M., Shiri Y., Bazi S. Antibacterial activities of *Cuminum cyminum* Linn. Essential Oil against Multi-Drug resistant *Escherichia coli* // International Journal of Infection, 2014.–vol 1. doi: <https://doi.org/10.17795/iji-18739>.
- 99 Basavaraj M. Pharmaceutical Biotechnology Production And Optimisation Of Tetracycline By Various Strains Of *Streptomyces* Under Solid State Fermentation Using Pineapple Peel As A Novel Substrate // Recent Research In Science And Technology, 2011.–vol 3(2).
- 100 Elander R. P. Industrial production of b-lactam antibiotics // Appl Microbiol Biotechnol, 2003.–vol 61:385–392.doi [10.1007/s00253-003-1274](https://doi.org/10.1007/s00253-003-1274).
- 101 Ushkalov V., Danchuk V., Ushkalov A. Antibacterial Susceptability Of *E. Coli* Strains Isolated From Raw Milk // National University Of Life And Environmental Sciences Of Ukraine,2021. – vol 2,Issue 3. doi: [10/38045/Ohrm.2021.3.08](https://doi.org/10/38045/Ohrm.2021.3.08).
- 102 Stamatis G., Rančić A., Soković M. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by micromycetes // FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2005. – vol 45, Issue 1. – pp. 71–74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.femsim.2005.02.004>.
- 103 Sharma A. STREPTOMYCES // Encyclopedia of Food Microbiology , 1999. – pp. 2134-2138. doi: <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.1545>.
- 104 Zambri P., Michelle A., Williams A. Chapter Five - How *Streptomyces* thrive: Advancing our understanding of classical development and uncovering new behaviors // Advances in Microbial Physiology, 2022. – vol 80. – 203-236. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2022.01.004>.
- 105 Dyson P. *Streptomyces* // Encyclopedia of Microbiology (Third Edition), 2009. – pp. 318-332. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00037-7>.

106 Goredema N., Ndowora T. Morphological and molecular characterisation of *Streptomyces* spp. which suppress pathogenic fungi. // African Crop Science Journal , 2020.doi:[10.4314/acsj.v28i4.6](https://doi.org/10.4314/acsj.v28i4.6).

107 Hopwood D. Soil to genomics: the *Streptomyces* chromosome // Annu Rev Genet, 2006. doi: [10.1146/annurev.genet.40.110405.09063](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.09063).

108 Gaur A., Augustyn A. *Streptomyces* bacterium // The Editors of Encyclopaedia Britannica.

109 Рисунок. URL: http://lv-microbcollect.lviv.ua/en/strain_card/id/36/;
URL:<http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com/2010/09/una-pinta-de-tetraciclina.html?m=1>.

110 Рисунок. URL: http://lvmicrobcollect.lviv.ua/en/strain_card/id/216/;
<https://www.dsmz.de/collection/catalogue/details/culture/DSM-41107>.

111 Межгосударственный Стандарт Гост ISO 7218– 2015. URL: http://www.mibio.ru/docs/110/gost_7218-2015.pdf.

112 ОHAUS. Аналитические и прецизионные весы Pioneer техническое описание. URL: <https://ohaus.nt-rt.ru/images/manuals/pioneer.pdf>.

113 Рисунок. Аналитические и прецизионные весы. URL: https://images.satu.kz/75825395_w640_h640_laboratornye-analiticheskie-vesy.jpg.

114 Паспорт Стерилизатор паровой. URL: <http://sterilizator.by/wp-content/uploads/2016/08/vk-75-01-pasport.pdf>.

115 Бокс ламинарный 2 класс защиты, ВО-PP. URL: <https://labtorg.kz/labfurniture/laminars/laminar-bo-pp.html>.

116 ТС-1/80 СПУ Термостат Электрический Суховоздушный URL: https://Skbt-Spu.Pro-Solution.Ru/Wp-Content/Uploads/2021/01/Ts-1_80.pdf.

117 Рисунок. ТС-1/80 СПУ Термостат URL: https://images.satu.kz/161219573_w640_h640_thermostat-suhovozdushnyj-.jpg.

118 ГОСТ 31868-2012. URL: <https://vaterlab.ru/wp-content/uploads/2020/11/gost-31868-2012-voda.-metody-opredeleniya-czvetnosti.pdf>.

119 Фотометры Фотоэлектрические КФК - 3 URL: https://propribory.ru/static/upl/10-02-2020/Pjzc_SPTkihVJeP/kfk-3-re.pdf.

120 Питательные среды, Czapek Dox Agar. URL: <https://www.tmmedia.in/product/czapek-dox-agar/>.

121 Питательные среды, Czapek Dox Broth. URL: <https://www.tmmedia.in/product/czapek-dox-broth/>.

122 Рисунок.Czapek Dox Broth. URL:<https://www.tmmedia.in/wp-content/uploads/2023/03/TM368-1536x526.jpg>.

123 Методические указания МУК 4.2.2964-11.URL: https://mibio.ru/docs/110/muk_4.2.296311_escherichia_coli_produktiruyushchih_shiga-toksini.pdf.

124 Ермолова В.П., Самоукина Г.В. Патент: Штамм *Streptomyces Globisporus* к-35/15 в качестве средства для защиты растений от вредных насекомых – фитофагов // Всероссийский научно-исследовательский

институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), 2017.

125 Nelson Phiri. Determination Of Antimicrobial Resistant Of Salmonella Species And Escherichia Coli In Broiler Chickens Slaughtered In Commercial Abattoirs In Lusaka Province, Zambia // The University Of Zambia, Lusaka, 2019 – pp.1-80.

126 A.B Karikari, Kpordze S.W. Ready-to-Eat Food as Sources of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Salmonella and E. coli in Tamale, Ghana // Original Research article, 2022. – vol 3. doi: <https://doi.org/10.3389/fitd.2022.834048>.

127 Talebiyan R., Kheradmand M. Multiple Antimicrobial Resistance of Escherichia coli Isolated from Chickens in Iran // Research Article, 2014. – vol 2. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/491418>.

128 Mohamed A.S., Ardiyati T., Rifa'I M. Detection of class 1 integron-associated gene cassettes and tetracycline resistance genes in Escherichia coli isolated from ready to eat vegetables // Annals of Medicine and Surgery, 2020 . – vol 55. – pp. 327-331. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.04.044>.

129 Trabulsi L.R., Zuliani M.E. Estudos Sôbre A.E. Coli 0111:B4. Iii - Sensibilidade "In Vitro" À Sulf Adiazina E A Seis Antibióticos // Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 1969. – vol 11(5). – pp. 1-12.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
СӘТБАЕВ УНИВЕРСИТЕТІ

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Турганова Малика Адилжановна

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

На тему: Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика

Выполнено:

- а) графическая часть на 2 листах
- б) пояснительная записка на 38 страницах

Оценка работы

Дипломная работа Тургановой М. на тему «Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика» выполнена в соответствии с предъявляемыми требованиями и поставленными задачами. Актуальность работы состоит в практических исследованиях влияния температуры на микромицеты, позволяющие создать оптимальные условия для борьбы с антибиотикорезистентностью многих бактериальных видов. Рассмотрены виды микромицетов продуцентов и антибиотиков, производимые биотехнологическим способом, их классификация.

Дипломная работа состоит из 3 разделов, где аналитический литературный обзор состоит из 3 подразделов выполненный на основании изучения 114 литературных источников, что указывает на действительное теоретическое исследование и проработку материала. В результатах исследования представлен графический инструментарий для иллюстрации проведенного анализа и сделанных выводов, что указывает на умение студента анализировать информацию, делать соответствующие выводы. Во введении точно сформулирована цель, научное и прикладное значение, а в заключении описаны результаты и выводы, полученные в исследовании.

В целом представленная дипломная работа выполнена на высоком уровне, соответствует всем требованиям, предъявляемым к работам данного уровня, а его автор заслуживает оценки «отлично».

Рецензент

Канд. биол. наук,
ассоц. профессор
НАО Университет Нархоз



Бөрібай Э.С.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
СӘТБАЕВ УНИВЕРСИТЕТІ

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу
Турганова Малика Адилжановна

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Тема: «Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика»

Дипломная работа Тургановой М. представляет собой отлично проработанную и тщательно проанализированную работу, в которой демонстрируется глубокое понимание своей специальности и предоставленной темы. В дипломной работе рассмотрены методы для создания оптимальных температурных условий для роста и развития микромицетов при борьбе с бактериальными и инфекционными заболеваниями.

Автор работы провела глубокие теоретические исследования по теме на основе изучения 114 научных работ. Практическая часть описывает методы, использованные в лабораторной работе, а также иллюстрирована таблицами, рисунками и графическими данными. В заключении приведены выводы, научное и прикладное значение о проведенных исследованиях.

Дипломная работа заслуживает оценки «отлично», а ее автор – присвоения квалификации «Бакалавр техники и технологий» ОП «6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия».

Научный руководитель
к.с.х.н., доцент, ассоц. профессор



Джамалова Г.А.



Metadane

Tytuł

Изучение влияния температуры на культуральные и антимикробные свойства микромицетов, продуцентов антибиотика.docx

Autor/zy

Турганова Малика Адилжановна

Promotor

Гуля Джамалова

Jednostka organizacyjna

ИГиНГД

Alerty

W tej sekcji znajdują się statystyki występowania w tekście zabiegów edytorskich, które mogą mieć na celu zaburzenie wyników analizy. Niewidoczne dla osoby zapoznającej się z treścią pracy na wydruku lub w pliku, wpływają na frazy porównywane podczas analizy tekstu (poprzez celowe błędy pisowni) w celu ukrycia zapożyczeń lub obniżenia wyników w Raporcie podobieństwa. Należy ocenić, czy zaznaczone wystąpienia wynikają z uzasadnionego formatowania tekstu (nadwrażliwość systemu), czy są celową manipulacją.

Znaki z innego alfabetu		52
Rozstrzelenia		0
Mikrospacje		134
Ukryte znaki		12
Parafrazy		11

Metryka podobieństw

Należy pamiętać, że wysokie wartości Współczynników nie oznaczają automatycznie plagiatu. Raport powinien zostać przeanalizowany przez kompetentną / upoważnioną osobę. Wyniki są uważane za wymagające szczegółowej analizy, jeśli WP 1 wynosi ponad 50%, a WP 2 ponad 5%.



25

Długość frazy dla WP 2

6381

Liczba słów

52530

Liczba znaków

Aktywne listy podobieństw

Uwagi wymagają szczególnie fragmenty, które zostały włączone do WP 2 (zaznaczone pogrubieniem). Użyj linku "Pokaż w tekście" i zobacz, czy są to krótkie frazy rozproszone w dokumencie (przypadkowe podobieństwa), skupione wokół siebie (parafraza) lub obszerne fragmenty bez wskazania źródła (tzw. "kryptocytaty").

10 najdłuższych fragmentów

Kolor w tekście

LP	TYTUŁ LUB ADRES URL ŹRÓDŁA (NAZWA BAZY)	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=817460	22	0.34 %
2	http://rudocs.exdat.com/docs/index-412232.html	21	0.33 %
3	http://rudocs.exdat.com/docs/index-412232.html	20	0.31 %
4	https://ohranatruda.ru/ot_biblio/norma/401298/	17	0.27 %
5	https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=817460	16	0.25 %
6	https://gostassistant.ru/doc/b666e8cf-7bfd-49c9-9b23-a775cb31724c	13	0.20 %

7	https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=817460	13	0.20 %
8	https://ohranatruda.ru/ot_biblio/norma/401298/	13	0.20 %
9	Моделирование, прогнозирование и оптимизация факторов, влияющих на рост биомассы микроорганизмов 5/15/2018 Satbayev University (ИХиБТ)	12	0.19 %
10	https://analiz.visitkaprint.ru/formal-degid-khimiko-toksikologicheskij-analiz/	12	0.19 %

z bazy RefBooks (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
----	-------	--------------------------------	--

z bazy macierzystej (0.36 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	Моделирование, прогнозирование и оптимизация факторов, влияющих на рост биомассы микроорганизмов 5/15/2018 Satbayev University (ИХиБТ)	23 (3)	0.36 %

z Programu Wymiany Baz (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
----	-------	--------------------------------	--

z Internetu (2.73 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=817460	56 (4)	0.88 %
2	http://rudocs.exdat.com/docs/index-412232.html	41 (2)	0.64 %
3	https://gostassistant.ru/doc/b666e8cf-7bfd-49c9-9b23-a775cb31724c	35 (3)	0.55 %
4	https://ohranatruda.ru/ot_biblio/norma/401298/	30 (2)	0.47 %
5	https://analiz.visitkaprint.ru/formal-degid-khimiko-toksikologicheskij-analiz/	12 (1)	0.19 %

Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

LP	TREŚĆ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
----	-------	--------------------------------	--