

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОКУЛЬТУР И КОНСОРЦИУМОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ КАК СКРИНИНГ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Пеньдюхова А.С.¹,
Белькова Н.Л.¹,
Охотина Ю.С.¹,
Иванчиков Е.А.²,
Щёкотова А.В.²,
Семёнова Н.В.¹,
Рычкова Л.В.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский
государственный университет
технологий и управления»
(670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40В,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Пеньдюхова Анна Сергеевна,
e-mail: annapend@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В последние годы особое внимание уделяется изучению консорциумов пробиотических бактерий. В этих ассоциациях свойства отдельных микроорганизмов могут усиливаться, в частности их антагонистическая активность, которая является эффективным показателем для скрининга пробиотического потенциала. Разработка пробиотиков на основе таких консорциумов с антибактериальными свойствами имеет решающее значение в свете растущей проблемы лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Цель работы. Изучение антагонистической активности монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий.

Материалы и методы. Антагонистическую активность монокультур лактобацилл и их консорциумов оценивали параллельно двумя методами: методом перпендикулярных штрихов и методом лунок.

Результаты. Все штаммы лактобацилл и их консорциумы в зависимости от метода исследования обладали разной степенью антагонистической активности. В пяти консорциумах антагонизм к тестовым культурам был сильнее, чем в монокультурах, в то время как в одном консорциуме эффект антагонистической активности снизился по сравнению с монокультурами. Результаты исследования антагонистической активности двух консорциумов (*Limosilactobacillus fermentum* 44/1 и *Lactisecibacillus rhamnosus* 12L, *Latilactobacillus curvatus* LCR-111-1 и *Lactiplantibacillus plantarum* 8PA3) противоречат данным о биосовместимости штаммов в этих консорциумах. Выявлены различия в степени антагонистического воздействия лактобацилл на грамположительные и грамотрицательные виды условно-патогенных бактерий.

Заключение. Исследование показало, что важными требованиями для создания пробиотического консорциума с эффективным пробиотическим потенциалом являются как биосовместимость пробиотических штаммов, так и антагонистическая активность консорциума. Для изучения антагонистических свойств лактобацилл следует увеличить количество изолятов целевых грамположительных и грамотрицательных бактерий и нормобиоты. Это позволит определить эффективные стратегии применения пробиотиков в условиях распространения лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Ключевые слова: лактобациллы, пробиотические консорциумы, пробиотический потенциал, антагонистическая активность, условно-патогенные бактерии, полирезистентные изоляты

Для цитирования: Пеньдюхова А.С., Белькова Н.Л., Охотина Ю.С., Иванчиков Е.А., Щёкотова А.В., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. Антагонистическая активность монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий как скрининг их пробиотического потенциала. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 121-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.12

Статья поступила: 29.03.2024

Статья принята: 18.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF MONOCULTURES AND CONSORTIA OF LACTOBACILLI AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AS A SCREENING OF THEIR PROBIOTIC POTENTIAL

Pendyukhova A.S.¹,
Belkova N.L.¹,
Okhotina Yu.S.¹,
Ivanchikov E.A.²,
Shchekotova A.V.²,
Semenova N.V.¹,
Rychkova L.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² East Siberian State University
of Technology and Management
(Klyuchevskaya str. 40V, Ulan-Ude 670013,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anna S. Pendyukhova,
e-mail: annapend@yandex.ru

ABSTRACT

Background. In recent years, special attention has been paid to the studying the consortia of probiotic bacteria. In these associations, the properties of individual microorganisms can be enhanced, in particular, their antagonistic activity which is an effective indicator for screening of probiotic potential. The development of probiotics based on such consortia with antibacterial properties is critical in the light of the growing problem of drug resistance in microorganisms.

The aim of the work. To study the antagonistic activity of monocultures and consortia of lactobacilli against multidrug-resistant isolates of opportunistic bacteria.

Materials and methods. The antagonistic activity of lactobacilli monocultures and their consortia was assessed simultaneously by two methods: the cross streak method and the well diffusion method.

Results. All strains of lactobacilli and their consortia, depending on the research method, had varying degrees of antagonistic activity. Five consortia had stronger antagonism to test cultures as compared to monocultures, while in one consortium, the effect of antagonistic activity was reduced compared to monocultures. The results of studying the antagonistic activity of two consortia (*Limosilactobacillus fermentum* 44/1 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* 12L, *Latilactobacillus curvatus* LCR-111-1 and *Lactiplantibacillus plantarum* 8PAZ) contradict data on the biocompatibility of strains in these consortia. Differences in the degree of antagonistic effects of lactobacilli on gram-positive and gram-negative species of opportunistic bacteria were revealed.

Conclusion. The study showed that both the biocompatibility of the probiotic strains and the antagonistic activity of the consortium are the important requirements for creating a probiotic consortium with effective probiotic potential. To study the antagonistic properties of lactobacilli, the number of isolates of target gram-positive and gram-negative bacteria and normobiota should be increased. This will allow us to determine effective strategies for using probiotics in conditions of the spread of drug resistance of microorganisms.

Key words: lactobacilli, probiotic consortia, probiotic potential, antagonistic activity, opportunistic bacteria, multidrug-resistant isolates

For citation: Pendyukhova A.S., Belkova N.L., Okhotina Yu.S., Ivanchikov E.A., Shchekotova A.V., Semenova N.V., Rychkova L.V. Antagonistic activity of monocultures and consortia of lactobacilli against multidrug-resistant isolates of opportunistic bacteria as a screening of their probiotic potential. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 121-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.12

Received: 29.03.2024
Accepted: 18.06.2024
Published: 15.07.2024

ОБОСНОВАНИЕ

В последнее время организм человека рассматривают как систему симбиотических отношений с населяющим его сообществом микроорганизмов. Это сообщество включает в себя бактерии, археи, вирусы, грибы и простейшие и называется микробиотой [1, 2]. Исследования показывают, что дисбаланс кишечной микробиоты не только приводит к проблемам с пищеварительной системой, но также повышает вероятность возникновения сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний и вызывает нарушения психоэмоционального состояния [3–5].

Пробиотики являются эффективным средством для восстановления здорового баланса кишечной микробиоты [2]. Сегодня особый акцент делается на исследовании ассоциаций (консорциумов) пробиотических микроорганизмов, в которых разнообразие штаммов и видов бактерий определяет спектр положительного воздействия на организм [6]. В научной литературе указывается, что одной из важных причин непостоянной клинической эффективности многоштаммовых пробиотических препаратов является отсутствие учёта биосовместимости микроорганизмов при создании консорциума. Это приводит к снижению жизнеспособности микроорганизмов и потере значимых свойств. К тому же сообщается, что консорциумы микроорганизмов часто нестабильны [6]. Поэтому главная цель разработки комплексного пробиотика – подбор микроорганизмов, обладающих биосовместимостью и сходными биологическими и технологическими свойствами и сохранение постоянного состава этих штаммов. Оценку биосовместимости штаммов проводят методом прямого совместного культивирования, учитывая способность лактобацилл вырабатывать бактериоцины и другие биологически активные вещества, определяющие степень антагонизма штамма по отношению к представителям своего рода и влияющие на характер межштаммовых взаимодействий [7–9].

Для характеристики фундаментальных механизмов пробиотического воздействия бактерий на различные функции макроорганизма используют современные методы, включая секвенирование нового поколения: геномные, протеомные и метаболомные исследования. Новые научные технологии позволяют оценивать роль нормальной микробиоты человека и выявлять тонкие механизмы её реакции на разные стрессовые воздействия окружающей среды, определять факторы, поддерживающие биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие, необходимое для стабильных отношений между макроорганизмом и симбиотическими микроорганизмами [10, 11].

Однако характеристика, основанная на генетических механизмах и потенциале их реализации, должна быть исследована в условиях как *in vivo*, так и *in vitro*. Требования к пробиотическим штаммам включают устойчивость к низкому pH желудочного сока и желчным кислотам, антагонизм по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам, стабильность состава

и жизнеспособность бактерий при длительном сроке хранения. Кроме того, безопасность применения пробиотиков должна быть подтверждена в исследованиях *in vitro* и *in vivo* на животных и в первой фазе клинических исследований [12].

Изучение биосовместимости штаммов и биотехнологического потенциала консорциума *in vitro* – начальная, но очень важная стадия разработки эффективного пробиотического препарата на основе консорциума.

В правильно подобранном пробиотическом консорциуме может возникнуть эффект синергии – явления, при котором совместное действие нескольких факторов даёт более значительный эффект, чем действие каждого из них по отдельности. Синергетический эффект позволяет консорциуму сформировать единую систему, способную противостоять воздействию других микроорганизмов. Защитные свойства консорциума обусловлены антагонистической активностью бактерий и синтезом целого ряда биологически активных веществ [13].

Антагонистическая активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов является не только одной из классических характеристик пробиотических бактерий, но и важным показателем эффективности и безопасности пробиотического продукта, определяемым *in vitro* [14]. По мере развития знаний о структуре и функциях кишечной микробиоты становится всё более очевидным, что в дополнение к большому количеству внешних факторов, вызывающих микробный дисбаланс, значительно более вредное воздействие на микробиоту оказывают антибиотики. Устойчивость условно-патогенных микроорганизмов к антимикробным препаратам, которая растёт с каждым годом, представляет собой одну из глобальных проблем здравоохранения во всём мире [15]. В связи с этим разработка эффективных консорциумов пробиотических штаммов, обладающих антагонизмом к полирезистентным условно-патогенным микроорганизмам, является крайне необходимой.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антагонистической активности монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий.

МЕТОДЫ

Объекты исследования

Грамположительные факультативно анаэробные и/или микроаэрофильные бактерии семейства *Lactobacillaceae*

Штаммы лактобацилл и их консорциумы были получены в рамках научно-исследовательской работы по теме: «Получение микрoэкологическx средств на основе разных штаммов лактобацилл» от ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (ВСГУТУ) (договор № 6 от 10.05.2023).

давления роста тест-культур (М) и среднеквадратично-го отклонения (m).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы PAST v. 4.03 (Швеция). Вычисляли непараметрический критерий оценки статистической значимости (Mann – Whitney U-test) для данных по антагонистической активности консорциумов и отдельных штаммов лактобацилл, входящих в их состав. Различия статистических показателей считались значимыми при $p < 0,05$.

Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск), а также оборудования ЦКП «Прогресс» и Биотехнологического центра ВСГУТУ (г. Улан-Удэ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании монокультур лактобацилл методом перпендикулярных штрихов антагонистическую активность в отношении тест-культур бактерий проя-

вили 5 штаммов: *L. curvatus* LCR-111-1, *L. rhamnosus* 12L, *L. plantarum* 8PA3, *L. casei* МДП-1 и *L. paracasei* k-406 (табл. 2).

Слабыми антагонистами по результатам эксперимента являются штаммы *L. plantarum* 8PA3, *L. rhamnosus* 12L и *L. paracasei* k-406 в отношении грамположительного изолята *S. aureus* № 19. В отношении грамотрицательных изолятов *E. hormaechei* № 2, *K. pneumoniae* № 9, *K. pneumoniae* № 12, *P. aeruginosa* № 34, *P. aeruginosa* № 38 и *E. coli* № 10 все 5 штаммов лактобацилл проявляли средний антагонизм.

При исследовании методом лунок антагонистическую активность проявили два штамма: *L. acidophilus* 100АШ и *L. fermentum* 44/1, – в отношении всех изолятов тест-культур, тогда как остальные пять штаммов лактобацилл не оказывали влияния. При этом штамм *L. acidophilus* 100АШ был слабым антагонистом в отношении грамположительного изолята *S. aureus* № 19 и высокоактивным антагонистом наряду с *L. fermentum* 44/1 в отношении грамотрицательных изолятов № 2, № 9, № 12, № 34, № 38 и № 10.

Следует отметить, что эффект антагонистической активности лактобацилл может быть различным в зависи-

ТАБЛИЦА 2

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОКУЛЬТУР ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ И *E. COLI*

TABLE 2

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI MONOCULTURES AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AND *E. COLI*

Маркировка тест-культуры	Зоны задержки роста (М ± m)						
	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1	<i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. plantarum</i> 8PA3	<i>L. casei</i> МДП-1	<i>L. fermentum</i> 44/1	<i>L. paracasei</i> k-406
Метод перпендикулярных штрихов							
№ 2	10,5 ± 2,0	0	10,0 ± 0,2	10,0 ± 1,4	9,5 ± 0,2	0	9,5 ± 2,0
№ 9	12,0 ± 1,4	0	10,0 ± 0,1	12,0 ± 0,4	12,0 ± 0,8	0	11,5 ± 0,7
№ 12	12,5 ± 0,7	0	12,5 ± 0,7	12,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	0	12,0 ± 0,2
№ 19	10,0 ± 0,3	0	8,0 ± 1,4	8,8 ± 0,6	8,6 ± 0,3	0	8,5 ± 1,4
№ 34	10,0 ± 0,1	0	10,0 ± 0,3	10,0 ± 0,3	11,0 ± 1,4	0	10,0 ± 1,4
№ 38	11,5 ± 2,0	0	13,0 ± 0,2	11,0 ± 1,4	16,0 ± 5,6	0	12,5 ± 0,7
№ 10	10,0 ± 4,0	0	12,0 ± 1,4	11,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	0	11,0 ± 1,4
Метод лунок							
№ 2	0	22,0 ± 0,8	0	0	0	23,2 ± 0,6	0
№ 9	0	23,5 ± 0,4	0	0	0	23,3 ± 0,5	0
№ 12	0	22,5 ± 0,7	0	0	0	22,0 ± 0,8	0
№ 19	0	18,5 ± 0,6	0	0	0	23,0 ± 0,8	0
№ 34	0	24,3 ± 1,2	0	0	0	24,5 ± 0,7	0
№ 38	0	24,0 ± 0,8	0	0	0	22,3 ± 1,2	0
№ 10	0	22,7 ± 0,5	0	0	0	22,3 ± 0,9	0

Примечание. № 2 – *E. hormaechei*; № 9 – *K. pneumoniae*; № 12 – *K. pneumoniae*; № 19 – *S. aureus*; № 34 – *P. aeruginosa*; № 38 – *P. aeruginosa*; № 10 – *E. coli*.

мости от типа условно-патогенных микроорганизмов, с которыми они взаимодействуют. Вероятно, это связано с тем, что грамположительные и грамотрицательные бактерии имеют разные структуры клеточной стенки и механизмы взаимодействия с другими бактериями. Помимо этого, разные изоляты (№ 34 и № 38) одного вида – *P. aeruginosa* – показали различающиеся результаты антагонистической активности (разные зоны задержки роста). Это может указывать на то, что чем больше будет протестировано изолятов одного вида, тем эффективнее будут исследованы антагонистические свойства лактобацилл.

Среди консорциумов антагонистическая активность при исследовании методом перпендикулярных штрихов отмечена у двух (табл. 3):

- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8PA3, который проявил слабый антагонизм в отношении изолятов № 2, № 9, № 19, № 34 и средний антагонизм в отношении изолятов № 12, № 38 и № 10. Причём антагонизм консорци-

ума проявлялся статистически значимо слабее, чем антагонизм отдельных штаммов лактобацилл, входящих в его состав ($p = 0,002$);

- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. casei* МДП-1, проявивший слабый антагонизм в отношении изолята № 2 и средний антагонизм в отношении изолятов № 9, № 12, № 19, № 34, № 38 и № 10.

В отличие от монокультур лактобацилл, которые проявляют разную антагонистическую активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным изолятам условно-патогенных микроорганизмов, в консорциумах таких различий не наблюдается: по степени антагонистического воздействия изоляты объединяются независимо от типа клеточной стенки или каких-либо специфических механизмов взаимодействия.

При исследовании методом лунок антагонистическую активность проявили 6 консорциумов (высокоактивные антагонисты), в составе которых присутствуют штаммы *L. acidophilus* 100АШ и/или *L. fermentum* 44/1,

ТАБЛИЦА 3
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНСОРЦИУМОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ И *E. COLI*

TABLE 3
ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI CONSORTIUMS AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AND *E. COLI*

Маркировка тест-культур	Зоны задержки роста (M ± m)							
	<i>L. fermentum</i> 44/1 и <i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. fermentum</i> 44/1 и <i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. fermentum</i> 44/1	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. plantarum</i> 8PA3	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. casei</i> МДП-1	<i>L. acidophilus</i> 100АШ и <i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. acidophilus</i> 100АШ и <i>L. casei</i> МДП-1
Метод перпендикулярных штрихов								
№ 2	0	0	0	0	7,0 ± 0,1*	8,5 ± 0,7	0	0
№ 9	0	0	0	0	8,0 ± 0,3*	9,5 ± 0,7	0	0
№ 12	0	0	0	0	9,0 ± 0,2*	11 ± 0,3	0	0
№ 19	0	0	0	0	6,0 ± 0,3*	9,5 ± 0,7	0	0
№ 34	0	0	0	0	8,0 ± 1,4*	9,0 ± 1,4	0	0
№ 38	0	0	0	0	9,5 ± 2,0*	10 ± 0,2	0	0
№ 10	0	0	0	0	9,5 ± 2,0*	10,5 ± 0,7	0	0
Метод лунок								
№ 2	24,5 ± 0,7*	24,3 ± 0,9*	23,7 ± 1,2*	22,8 ± 1,4*	0	0	23,3 ± 1,2*	19,0 ± 6,3
№ 9	24,3 ± 0,6*	24,3 ± 0,9*	24,3 ± 0,5*	23,3 ± 0,5*	0	0	23 ± 0,8*	23,3 ± 0,5
№ 12	23,5 ± 1,5*	23,3 ± 0,5*	23,3 ± 1,2*	24,7 ± 0,5*	0	0	23,7 ± 0,5*	23,0 ± 0,8
№ 19	23,3 ± 0,9*	23,7 ± 1,2*	24,0 ± 0,3*	24,3 ± 0,6*	0	0	24,7 ± 1,5*	24,2 ± 1,2
№ 34	25,5 ± 1,0*	24,3 ± 0,9*	25,3 ± 1,2*	23,2 ± 1,6*	0	0	23,2 ± 1,4*	22,2 ± 6,7
№ 38	26,5 ± 1,8*	26,3 ± 1,7*	26,5 ± 1,0*	24,7 ± 1,2*	0	0	24,7 ± 1,2*	23,7 ± 0,9
№ 10	23,6 ± 2,0*	23,3 ± 1,2*	23,5 ± 1,9*	24,3 ± 2,0*	0	0	25,7 ± 1,2*	23,3 ± 2,4

Примечание. № 2 – *E. hormaechei*; № 9 – *K. pneumoniae*; № 12 – *K. pneumoniae*; № 19 – *S. aureus*; № 34 – *P. aeruginosa*; № 38 – *P. aeruginosa*; № 10 – *E. coli*; * – статистическая значимость различий между консорциумом и отдельными штаммами лактобацилл, входящими в его состав ($p < 0,05$).

причём у пяти из них антагонизм статистически значимо был более выражен, чем антагонизм отдельных штаммов:

- *L. fermentum* 44/1 и *L. acidophilus* 100АШ ($p = 0,002$);
- *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L ($p = 0,001$);
- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. fermentum* 44/1 ($p = 0,002$);
- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. acidophilus* 100АШ ($p = 0,002$);
- *L. acidophilus* 100АШ и *L. rhamnosus* 12L ($p = 0,002$);
- *L. acidophilus* 100АШ и *L. casei* МДП-1 ($p = 0,198$).

Исследуемые штаммы лактобацилл в составе заявленных консорциумов обладали высоким биотехнологическим потенциалом и уровнем биосовместимости, за исключением консорциума на основе штаммов *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, в котором проявлялся умеренный антагонизм ($\pm$) [16]. Сопоставление результатов биосовместимости штаммов и антагонистической активности консорциумов позволило выявить следующие особенности:

1. В консорциуме на основе штаммов *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8РАЗ, который характеризовался высоким уровнем биосовместимости (+), выявлено статистически значимое снижение эффекта антагонистической активности в сравнении с активностью монокультур.
2. В консорциуме на основе штаммов *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, в котором между штаммами проявлялся умеренный антагонизм ($\pm$), антагонистическая активность в отношении условно-патогенных микроорганизмов была статистически значимо более выраженной, чем у отдельных штаммов.

Исследование показало, что высокая степень совместимости штаммов лактобацилл не гарантирует эффекта синергии. В контексте лактобацилл синергия может выражаться в усилении или ослаблении антагонистической активности против патогенных микроорганизмов, влияя на пробиотический потенциал консорциума. Следовательно, ключевыми аспектами для создания эффективного пробиотического консорциума являются как биосовместимость пробиотических штаммов, так и антагонистическая активность консорциума. Пробиотический продукт, разработанный с учётом этих критериев, может демонстрировать повышенную эффективность и более широкий спектр полезных для организма свойств.

Антагонистическую активность пробиотических штаммов изучают различными методами: на первом этапе используются методы *in vitro* (диффузные методы, анализ в жидких питательных средах и др.), на втором – методы *in vivo* (приём живой культуры антагониста человеком или подопытным животным с последующим анализом изменений кишечной микробиоты). Все эти методы различаются по степени сложности выполнения, эффективности, возможности сравнения и точности получаемых результатов [17, 18]. Например, результаты, полученные двумя классическими методами (метод перпендикулярных штрихов и метод лунок), основанными на диффузии в толще агар компонента, продуцируемых лактобациллами, сложно сравнивать. Так, метод перпендикулярных штрихов даёт преимущество отдельным штаммам, продуцирующим ингибиторные сое-

динения небольшой молекулярной массы. Метод лунок удобен в свою очередь для тестирования антагонистической активности не только монокультур, но и консорциумов, поскольку в лунку помещают уже готовую суспензию бактерий, включая их метаболиты. Таким образом, оба этих метода дополняют друг друга и должны использоваться в сочетании, так как они позволяют получить более полную картину антагонистической активности лактобацилл и их консорциумов, которая является одной из характеристик пробиотического потенциала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что все лактобациллы и их консорциумы в зависимости от метода исследования обладали разной степенью антагонистической активности в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий. В пяти исследуемых консорциумах эффект антагонизма в отношении тест-культур был более выражен, чем у отдельных штаммов, а у одного консорциума, наоборот, наблюдалось снижение эффекта антагонистической активности, по сравнению с монокультурами. Полученные результаты исследования антагонистической активности двух консорциумов (*L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8РАЗ) не согласуются с данными по биосовместимости штаммов в этих консорциумах. Следовательно, совместимость штаммов не всегда приводит к положительному синергетическому эффекту, который может проявляться в усилении антагонистической активности. Таким образом, создание пробиотических консорциумов требует точной настройки и выбора штаммов бактерий с учётом как биосовместимости штаммов, так и антагонистических свойств консорциума, чтобы обеспечить эффективное и безопасное действие для улучшения здоровья человека.

Обнаруженная антагонистическая активность в отношении изолята *E. coli* может быть обусловлена, вероятно, одинаковым механизмом воздействия лактобацилл как на условно-патогенные бактерии, так и на нормобиоту. Анализ полученных результатов позволил выявить различия в степени антагонистического воздействия лактобацилл на грамположительные и грамотрицательные виды бактерий. Причём у разных изолятов одного вида также могут наблюдаться такие различия. Учитывая выявленные особенности, для более детального исследования антагонистических свойств лактобацилл в эксперимент следует включать более широкий спектр как грамположительных бактерий, так и изолятов нормобиоты. Кроме того, целесообразно было бы использовать не разные виды, а разные изоляты одного вида: *E. coli* и целевых кишечных условно-патогенных бактерий, например, *K. pneumonia* – одного из самых опасных видов оппортунистических патогенов. Это поможет определить более эффективные стратегии использования пробиотиков в условиях массового распространения лекарственной устойчивости условно-патогенных микроорганизмов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 1023041400005-8-3.4.1.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Doré J, Ortega Ugalde S. Human-microbes symbiosis in health and disease, on earth and beyond planetary boundaries. *Front Astron Space Sci.* 2023; 10(1180522): 1-8. doi: 10.3389/fspas.2023.1180522
2. Савинова Ю.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. История, современные направления и перспективы развития про- и пребиотических препаратов в России и за рубежом. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 211-227. [Savinova YuS, Belkova NL, Semenova NV, Rychkova LV. History, current trends and prospects for the development of pro- and prebiotic drugs in Russia and abroad. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 211-227. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.23
3. Романица А.И., Немченко У.М., Погодина А.В., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Воропаева Н.М., и др. Ассоциации клинических проявлений функциональных кишечных расстройств с характеристиками микробиоты толстой кишки у подростков: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 73-81. [Romanitsa AI, Nemchenko UM, Pogodina AV, Grigorova EV, Belkova NL, Voropaeva NM, et al. Associations of clinical features of functional bowel disorders with gut microbiota characteristics in adolescents: A pilot study. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 73-81. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.8
4. Kazemian N, Mahmoudi M, Halperin F, Wu JC, Pakpour S. Gut microbiota and cardiovascular disease: Opportunities and challenges. *Microbiome.* 2020; 8(36): 1-17. doi: 10.1186/s40168-020-00821-0
5. Mitrea L, Nemeş S-A, Szabo K, Teleky B-E, Vodnar D-C. Guts imbalance imbalances the brain: A review of gut microbiota association with neurological and psychiatric disorders. *Front. Med.* 2022; 9(813204): 1-21. doi: 10.3389/fmed.2022.813204
6. Kwoji ID, Aiyegoro OA, Okpeku M, Adeleke MA. Multi-strain probiotics: Synergy among isolates enhances biological activities. *Biology.* 2021; 10(4): 322. doi: 10.3390/biology10040322
7. Исаева Д.А., Шайхин С.М., Абилядилов А.С., Укбаева Т.Д. Лактобациллы с установленными пробиотическими свойствами. *Астана медициналық журналы.* 2020; 105(3): 65-70. [Isaeva DA, Shaikhin SM, Abilkhadirov AS, Ukbaeva TD. Lactobacilli with established probiotic properties. *Astana Medical Journal.* 2020; 105(3): 65-70. (In Russ.)].
8. Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients.* 2020; 12(4): 1107. doi: 10.3390/nu12041107
9. Volkova GS, Kuksova EV, Serba EM. Study of biological interstrain interactions and growth properties of production strains. *Topical Issues of Dairy Industry, Intersectoral Technologies and Quality Management Systems.* 2020; 1(1): 104-109.
10. Xie Z, Huang J, Sun G, He Sh, Luo Zh, Zhang L, et al. Integrated multi-omics analysis reveals gut microbiota dysbiosis

and systemic disturbance in major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2024; 334: 1-12. doi: 10.1016/j.psychres.2024.115804

11. Cheng F, Zhang K, Yang X, Shi L, Wei Y, Wang D, et al. Multi-omics analysis reveals the mechanism of *Lactocaseibacillus paracasei* IMAUJBC1 in alleviating hyperlipidemia. *J Func Foods.* 2024; 114: 1-11. doi: 10.1016/j.jff.2024.106079
12. ОФС.1.7.2.0012.15. Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков. Государственная фармакопея Российской Федерации; XIV изд. 2016. [Major Pharmacopoeial Article 1.7.2.0012.15. Production probiotic strains and strains for probiotic control. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation; XIV ed.* 2016. (In Russ.)]. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/proizvodstvennyye-probioticheskie-shtammy-i-shtammy-dlya-kontrolya-probiotikov/> [дата доступа: 24.05.2024].

13. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург: УрО РАН; 2007. [Bukharin OV, Lobakova ES, Nemtseva NV, Cherkasov SV. *Associative symbiosis.* Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2007. (In Russ.)].

14. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. [Guidelines for sanitary and epidemiological assessment of the safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2011. (In Russ.)].

15. Воропаева Н.М., Немченко У.М., Ситникова К.О., Савилов Е.Д., Чемезова Н.Н., Григорова Е.В., и др. Частота встречаемости штаммов с множественной антибиотикорезистентностью в структуре условно-патогенных микроорганизмов. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 145-153. [Voropaeva NM, Nemchenko UM, Sitnikova KO, Savilov ED, Chemezova NN, Grigorova EV, et al. Frequency of strains with multiple antibiotic resistance in the structure of opportunistic pathogens. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 145-153. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.16

16. Щёкотова А.В., Атласова Д.В. Изучение биологических взаимоотношений и биохимических свойств пробиотических микроорганизмов. *Вестник ВСГУ.* 2022; 3(86): 36-45. [Shchekotova AV, Atlasova DV. The study of biological relationships and biochemical properties of probiotic microorganisms. *ESSUTM Bulletin.* 2022; 3(86): 36-45. (In Russ.)].

17. Иркитова А.Н., Яценко Е.С. Оптимизация метода определения антагонистической активности пробиотических бактерий. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания.* 2017; 5(19): 113-117. [Irkutova AN, Yatsenko ES. Optimization of the method for determining the antagonistic activity of probiotic bacteria. *Technologies for the Food and Processing Industry of AIC – Healthy Food.* 2017; 5(19): 113-117. (In Russ.)].

18. Пеньдюхова А.С., Белькова Н.Л., Савинова Ю.С., Воропаева Н.М., Смурова Н.Е., Клименко Е.С., и др. Пробиотические консорциумы: структура и антагонистическая активность в отношении условно-патогенных бактерий и нормобиоты человека (на примере *Escherichia coli*) in vitro. *Acta biomedica*

scientifica. 2023; 8(4): 20-31. [Pendyukhova AS, Belkova NL, Savinova JS, Voropaeva NM, Smurova NE, Klimenko ES, et al. Probiotic consortiums: Structure and antagonistic activity against oppor-

tunistic bacteria and human normobiota (using the example of *Escherichia coli*) *in vitro*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 20-31. (In Russ.)). doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.3

Сведения об авторах

Пендюхова Анна Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Охотина Юлия Сергеевна – заведующая лабораторией биомедицинской микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Иванчиков Егор Андреевич – преподаватель кафедры «Биотехнология», ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», e-mail: ivanchikov92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9941-3715>

Щёктова Анна Владимировна – кандидат технических наук, доцент, директор Института пищевой инженерии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», e-mail: anna-krivonosova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6665-2958>

Семенова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Information about the authors

Anna S. Pendyukhova – Junior Research Officer at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Yulia S. Okhotina – Head of the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Egor A. Ivanchikov – Lecturer at the Department of Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management, e-mail: ivanchikov92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9941-3715>

Anna V. Shchekotova – Cand. Sc. (Tech.), Docent, Director of the Institute of Food Engineering and Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management, e-mail: anna-krivonosova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6665-2958>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), Deputy Director for Science, Chief Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>