

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА НА ОСНОВЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

**Зугеева Р.Е.,
Смурова Н.Е.,
Горкавенко А.С.,
Клименко Е.С.,
Белькова Н.Л.,
Семёнова Н.В.,
Рычкова Л.В.**

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

Автор, ответственный за переписку:
Зугеева Раиса Евгеньевна
e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Лактобациллы, являясь представителями нормобиоты, представляют большой интерес как наиболее важный и перспективный объект биотехнологии для создания пробиотических препаратов и функционального питания. Ключевым критерием выбора штаммов является подтвержденная безопасность, а именно отсутствие генов вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам (АМП). Важным аспектом в биобезопасности лактобацилл также является отсутствие плазмидного материала в геноме.

Цель работы. Оценить безопасность штаммов лактобацилл на основании фенотипической чувствительности к АМП и полногеномного анализа для обоснованного отбора штаммов-кандидатов в состав пробиотических консорциумов.

Материалы и методы. В исследование вошло 34 штамма лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа здоровых и условно-здоровых детей и подростков Иркутской области. Идентификацию штаммов проводили с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования. Чувствительность к АМП определяли диско-диффузионным методом. Проводили скрининг геномов штаммов лактобацилл на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и плазмидных последовательностей.

Результаты. Фенотипический анализ чувствительности штаммов лактобацилл к АМП выявил как общие для всей коллекции черты, так и видоспецифичные особенности, преимущественно в отношении оксациллина и пенициллина G. В геномах всех проанализированных штаммов лактобацилл гены устойчивости к АМП и вирулентности отсутствовали. Плазмиды обнаружены в геномах 26 из 34 штаммов. По способности к горизонтальному переносу 37 плазмид были немобильными, 22 – мобильными и 1 – конъюгативная. Штаммы с мобильными и конъюгативными плазмидами были исключены из списка кандидатных штаммов в пробиотические консорциумы.

Заключение. Предложенный алгоритм отбора штаммов лактобацилл, включающий оценку фенотипической чувствительности к АМП, скрининг генома на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и мобильных плазмидных элементов, позволяет отбирать безопасные штаммы для дальнейшего конструирования пробиотических консорциумов.

Ключевые слова: лактобациллы, микробный консорциум, пробиотик, чувствительность к антибиотикам, полногеномное секвенирование, плазмиды

Статья поступила: 22.07.2026
Статья принята: 24.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Горкавенко А.С., Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. Обоснование выбора штаммов лактобацилл для создания пробиотического микробного консорциума на основе их биологической безопасности. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 117-125. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.12

RATIONALE OF THE SELECTION OF LACTOBACILLI STRAINS FOR THE DEVELOPMENT OF A PROBIOTIC MICROBIAL CONSORTIUM BASED ON THEIR BIOLOGICAL SAFETY

Zugeeva R.E.,
Smurova N.E.,
Gorkavenko A.S.,
Klimenko E.S.,
Belkova N.L.,
Semenova N.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazev Str., 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Raisa E. Zugeeva
e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

ABSTRACT

Background. Lactobacilli, being representatives of the normobiota, are of great interest as the most important and promising biotechnological targets for the development of probiotics and functional nutrition. The key criterion for strain selection is proven safety, specifically the absence of virulence and antimicrobial resistance (AMR) genes. An important aspect of the biosafety of lactobacilli is the absence of plasmids in the genome.

Aim. To evaluate the safety of lactobacilli strains based on their phenotypic susceptibility to antimicrobials (AMs) and whole-genome analysis for the evidence-based selection of candidate strains for probiotic consortia.

Materials and methods. The study included 34 strains of lactobacilli isolated from the intestinal biotope of healthy and apparently healthy children and adolescents in the Irkutsk region. The strains were identified using MALDI-TOF mass spectrometry and whole-genome sequencing. Susceptibility to AMs was determined using the disk diffusion method. The genomes of lactobacillus strains were screened for the presence of AMR, virulence, and plasmid sequences.

Results. A phenotypic analysis of the susceptibility of lactobacilli strains to AMs revealed both collection-wide characteristics and species-specific features, mainly in relation to oxacillin and penicillin G. The genes for AMR and virulence were absent in the genomes of all analyzed lactobacillus strains. Plasmids were found in the genomes of 26 of the 34 strains. In terms of horizontal transfer, 37 plasmids were non-mobilizable, 22 were mobilizable, and 1 was conjugative. Strains with mobile and conjugative plasmids were excluded from the list of candidate strains for probiotic consortia.

Conclusion. The proposed algorithm for selecting lactobacilli strains, including the assessment of phenotypic susceptibility to AMs, genome screening for the presence of AMR and virulence genes, and mobile plasmid elements, enables the selection of safe strains for the further development of probiotic consortia.

Key words: lactobacilli, microbial consortia, probiotic, antibiotic susceptibility, whole-genome sequencing, plasmids

Received: 22.07.2026
Accepted: 24.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Zugeeva R.E., Smurova N.E., Gorkavenko A.S., Klimenko E.S., Belkova N.L., Semenova N.V., Rychkova L.V. Rationale of the selection of lactobacilli strains for the development of a probiotic microbial consortium based on their biological safety. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 117-125. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.12

ОБОСНОВАНИЕ

Кишечная микробиота — сложная динамичная экосистема, состоящая из множества микроорганизмов, которые играют фундаментальную роль в регулировании большинства аспектов физиологии макроорганизма [1]. Симбионты кишечника обеспечивают поддержание гомеостаза, модулируя метаболизм, поддерживая эпителиальный гомеостаз и улучшая иммунную толерантность кишечника. Дисбиоз кишечника может приводить к неблагоприятным состояниям, таким как метаболический синдром, воспалительные заболевания кишечника, ожирение [2, 3].

Лактобациллы, являясь представителями нормобиоты, представляют большой интерес как наиболее важный и перспективный объект биотехнологии для создания пробиотических препаратов и функционального питания для коррекции различных нарушений [4]. Представители семейства *Lactobacillaceae* характеризуются комплексом биологически значимых свойств, включая антагонистическую активность в отношении патогенной и условно-патогенной микробиоты, способность к синтезу органических кислот, витаминов группы В и других биологически активных соединений, а также участие в регуляции иммунных реакций и поддержания целостности барьерного эпителия кишечника. Указанные характеристики обуславливают их перспективность в качестве основы для конструирования пробиотических микробных консорциумов [5, 6].

Однако эффективность пробиотиков возможна лишь при строгом отборе штаммов с учетом их биологических и технологических свойств. Отбор штаммов для включения в состав пробиотических препаратов, основан на стандартах, которые были опубликованы Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций и Всемирной организацией здравоохранения [7]. Штаммы-кандидаты должны обладать устойчивостью к условиям желудочно-кишечного тракта, антагонистической активностью в отношении патогенных бактерий, а также способностью продуцировать активные вторичные метаболиты. Для разработки пробиотических консорциумов также важно оценивать биосовместимость штаммов и их способность к совместному культивированию [8].

Ключевым критерием выбора штаммов является подтвержденная безопасность, а именно отсутствие генов вирулентности и устойчивости к АМП [9]. Также важным аспектом в биобезопасности лактобацилл является отсутствие плазмидного материала [10]. Количество плазмид, их размер и функции значительно варьируют внутри представителей семейства *Lactobacillaceae*. Преимущественно плазмиды кодируют широкий спектр адаптивных признаков, таких как устойчивость к тяжелым металлам и другим стрессовым факторам, метаболизм аминокислот и углеводов, синтез бактериоцинов, экзополисахаридов и пигментов [11]. Однако известны случаи, когда плазмиды кодируют гены устойчивости к АМП. Содержание таких генов в плазмидной ДНК считается не безопасным, поскольку

возможен горизонтальный перенос генов другим представителям нормобиоты кишечника, а также условно-патогенным и патогенным микроорганизмам [12].

Полногеномный анализ позволяет провести скрининг всего генома на наличие генов вирулентности, устойчивости к АМП и мобильных генетических элементов [13]. Применение такого подхода позволит снизить риски, связанные с потенциальной передачей генетических детерминант вирулентности и резистентности, и провести эффективный отбор безопасных штаммов для последующей разработки пробиотических препаратов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить безопасность штаммов лактобацилл на основании фенотипической чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) и полногеномного анализа для обоснованного отбора штаммов-кандидатов в состав пробиотических консорциумов.

МЕТОДЫ

Объекты исследования

Штаммы лактобацилл, выделенные из кишечника здоровых и условно здоровых детей и подростков Иркутской области. Информация о пациентах после получения бактериальных культур обезличивалась, т. к. основной целью исследования было изучение биологических свойств выделенных штаммов.

Исследование одобрено комитетом по биоэтической этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Протокол № 6 от 21.12.2015 г.) и выполнено с информированного согласия подростков старше 15 лет или родителей/законных представителей детей младше 15 лет. При работе с лицами, участвующими в исследовании, соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией ВМА (в ред. 2013 г.) и Приказом МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 200н «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики».

Методы исследования

Выделение и идентификация штаммов

Выделение и идентификацию описанных культур проводили по ранее описанной методике [12]. Культивирование суспензии биоматериала проводили на жидкой питательной среде MRS (HiMedia Laboratories, Индия) при 37 °C в течение 48 ч. С последующим высевом на плотную питательную среду MRS (ФБНУ ГНЦ ПМБ, Россия). Чашки культивировали в анаэробных условиях с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз» (ИНКО, Россия) при 37 °C в течение 48 ч. Чистые культуры получали путем культивирования изолированных колоний. Идентификацию полученных изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием прибора Smart MS 5020 (Zhuhai DL Biotech, Китай). Достоверность идентификации оценивалась

по трехбалльной шкале согласно протоколу производителя. Интерпретация результатов проводилась согласно следующим критериям: значение оценки $\geq 2,0$ соответствовало достоверной идентификации на уровне вида, значение в диапазоне от 1,7 до 1,9 — достоверной идентификации на уровне рода, значение менее 1,7 расценивалось как недостоверный результат.

Диско-диффузионный метод определения чувствительности штаммов лактобацилл к АМП

Оценку чувствительности выделенных штаммов лактобацилл к АМП определяли диско-диффузионным методом [12]. Тестирование проводили к следующим группам АМП: β -лактамы (ампициллин (АМП, 10 мкг/мл)), пенициллины (амоксиклав (АМС, 10 мкг/мл), оксациллин (ОХС, 1 мкг/мл), пенициллин G (Р, 1 ЕД)), тетрациклины (тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/мл)), линкозамиды (клиндамицин (СМН, 2 мкг/мл)), макролиды (эритромицин (ЕРУ, 15 мкг/мл)), амфениколы (хлорамфеникол (СНЛ, 30 мкг/мл)) (НИЦФ, Россия).

Интерпретацию полученных результатов проводили согласно МУ 2.3.2.2789–10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке, безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов»: при диаметре зоны ингибирования ≤ 8 –10 мм штамм считали устойчивым к АМП (R), при значениях 11–20 мм — чувствительным при увеличенной экспозиции (I), при значениях ≥ 21 мм — чувствительным (S) [10].

Полногеномное секвенирование

Для выделения ДНК использовали клетки, отобранные в логарифмической фазе роста. Для этого культивирование проводили в жидкой среде Lactobacillus MRS Broth (HiMedia, Индия) при 37 °C в течение 12 ч. Клетки осаждали центрифугированием 9 мл культуральной жидкости при 2200 g в течение 10 мин на центрифуге Neofuge 1600R (Heal Force, Китай). Супернатант удаляли, осажденные клетки ресуспендировали в 100 мкл стерильного физиологического раствора и перенесли в стерильные пробирки объемом 1,5 мл. Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «Набор для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток» (diaGene, Россия). Для этого бактериальные клетки обрабатывали лизирующим раствором с добавлением лизоцима (конечная концентрация 1 мкг/мкл) и 4 мкл РНКазы А при 37 °C в течение 30 мин. Далее ДНК осаждали на силикагелевом сорбенте спин-колонки и промывали путем последовательного нанесения на спин-колонку промывочных растворов. После нанесения каждого раствора спин-колонку в пробирке центрифугировали. Очищенную ДНК элюировали деионизированной водой. ДНК хранили при температуре -80 °C.

Полногеномное секвенирование проводили на NGS-секвенаторе «HELICON G400» (MGI, Китай) в режиме двустороннего считывания (2 × 150 N) с использованием набора реагентов MGIEasy Fast FS Library Prep Set (FCL PE150) (MGI, Китай).

Биоинформационная обработка данных и сборка геномов

Биоинформационный анализ проводили по схеме, описанной ранее [6], с модификациями. Оценку качества необработанных данных секвенирования проводили с помощью программы FastQC v.0.74 [14]. Для удаления адаптерных последовательностей и последовательностей с низким качеством секвенирования использовали инструмент Trimmomatic v.0.39 для парных чтений [15]. Сборку геномов *de novo* до уровня контигов осуществляли с применением программного пакета Spades v.4.2.0 и надстройкой «isolate» для чтений с высокой степенью покрытия [16]. Качество и первичную статистику собранных геномов оценивали с помощью программы Quast v.5.3.0 [17]. Аннотацию бактериальных генов получали с использованием программного инструмента Prokka v.1.14.6 [18]. Видовую идентификацию на основе значений ANI (англ., Average Nucleotide Identity) проводили на веб-сервере MiGA. Принадлежность к определенному виду устанавливали при значении ANI более 95 % в результате попарного сравнения с базой эталонных геномов RefSeq [19].

Скрининг геномов на наличие генов устойчивости к АМП и вирулентности проводили с помощью инструмента ABRicate v.1.4.0 [20] с применением баз данных CARD, ResFinder и VFDB.

Поиск последовательностей плазмид в геномах лактобацилл проводили в программе MOB-Recon v.3.1.9 [21]. Предполагаемую мобильность плазмид определяли *in silico* по комбинации биомаркеров программы MOB-Recon.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация штаммов лактобацилл

В ходе исследования биоматериала детей и подростков было выделено 34 изолята лактобацилл. Все изоляты были грамположительными палочками, расположенными одиночно, в цепочках либо попарно. Идентификацию штаммов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием референтной базы данных прибора Smart MS 5020. Для видов *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Lactiplantibacillus plantarum* степень достоверной идентификации соответствовала высокому уровню от 2,14 до 2,37, что позволило отнести изоляты к соответствующим видам лактобацилл. Для *Limosilactobacillus mucosae* был зарегистрирован средний уровень достоверности от 1,72 до 1,75. Результаты идентификации изолятов методом масс-спектрометрии были подтверждены методом полногеномного секвенирования, видовой состав полученных изолятов представлен в таблице 1.

Все выделенные изоляты лактобацилл вошли в рабочую коллекцию пробиотических штаммов бактерий лаборатории биомедицинской микробиологии ИЭМ ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

ТАБЛИЦА 1

ВИДОВОЙ СОСТАВ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ИЗОЛЯТОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Вид бактерий	Количество изолятов, абс.
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	3
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	4
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	21
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	4
<i>Limosilactobacillus mucosae</i>	1

TABLE 1

SPECIES COMPOSITION OF THE IDENTIFIED LACTOBACILLI ISOLATES FROM CHILDREN AND ADOLESCENTS

Оценка чувствительности штаммов лактобацилл к АМП

При оценке чувствительности штаммов лактобацилл были выявлены как общие для всей коллекции черты для всех видов, так и признаки, дифференцирующие отдельные таксономические группы. Чувствительность некоторых штаммов лактобацилл к АМП была описана нами ранее [12], в настоящей работе они включены в сравнительный анализ наряду с результатами для новых штаммов (рис. 1).

Установлено, что все изученные штаммы лактобацилл, независимо от видовой принадлежности, характеризовались чувствительностью к амоксициллину и эритромицину. К ампициллину и тетрациклину для некоторых штаммов была показана чувствительность только при увеличенной экспозиции согласно рекомендациям EUCAST. Сохранение чувствительности к указанным антибиотикам является общим свойством штаммов исследованной коллекции (рис. 1).

Для видов *L. fermentum* и *L. plantarum* выявлен сходный профиль: все представители данных видов были устойчивы к оксациллину. В отношении пенициллина штаммы видов *L. fermentum* и *L. plantarum* демонстрировали либо чувствительность, либо чувствительность при увеличенной экспозиции. Исключением стал штамм *L. plantarum* 45P, проявивший устойчивость к пенициллину G. Также некоторые штаммы из данных групп показали устойчивость к клиндамицину (*L. fermentum* 67P и *L. plantarum* 70P). К остальным АМП данные виды лактобацилл проявили чувствительность или чувствительность при увеличенной экспозиции.

Вид *L. delbrueckii* был чувствителен ко всем протестированным АМП. К оксациллину была выявлена чувствительность при увеличенной экспозиции. Штамм вида *L. mucosae* также проявил чувствительность ко всем АМП. Штамм вида *L. paracasei* проявлял чувствительность в отношении всех АМП, кроме оксациллина, к которому проявил устойчивость.

Наблюдалась вариабельность чувствительности к АМП среди штаммов вида *L. rhamnosus*. Устойчивые штаммы вида *L. rhamnosus* были выявлены только в отношении оксациллина и хлорамфеникола. К другим АМП представители вида *L. rhamnosus* были либо

чувствительны, либо чувствительны при увеличенной экспозиции.

Таким образом, фенотипический анализ чувствительности штаммов лактобацилл к АМП выявил как общие для всей коллекции черты, так и видоспецифические особенности, преимущественно в отношении оксациллина и пенициллина G.

Полногеномный анализ

Гены устойчивости к АМП и вирулентности в геномах лактобацилл

В геномах всех проанализированных штаммов лактобацилл гены устойчивости к АМП и вирулентности с помощью баз данных CARD, ResFinder и VFDB не были обнаружены. Отсутствие данных генетических детерминант позволяет определять исследуемые штаммы как безопасные на данном этапе проверки. Полученные данные геномного анализа подтверждают результаты фенотипической оценки чувствительности к АМП.

Плазмидные последовательности в геномах штаммов лактобацилл

В геномах 26 из 34 исследуемых штаммов были обнаружены плазмиды (рис. 2). Геномы восьми штаммов *L. rhamnosus* 27P, 28P, 34P, N94, 043-2023, 047-2023, 051-2023 и *L. mucosae* 026-2023 не содержали плазмид.

Количество и размер плазмид значительно варьировали у разных штаммов. В геномах отдельных штаммов обнаруживалось от одной до десяти плазмид. Всего проанализировано 60 плазмид, при этом 27 плазмид определены в геномах штаммов вида *L. rhamnosus*, 15 – вида *L. plantarum*, 8 – вида *L. fermentum*, 6 – вида *L. paracasei*, 4 – вида *L. delbrueckii*. Длина плазмид варьировала от 2336 до 171807 п.н. Большинство обнаруженных плазмид (37 плазмид) классифицированы как немобильные, то есть не способные к межклеточному переносу. При этом 22 плазмиды предположительно мобильные и только одна – конъюгативная, то есть способная к самостоятельному переносу. Конъюгативная плазмида была обнаружена у штамма *L. plantarum* 70P, что указывает на потенциально высокий риск горизонтального переноса генов и данный штамм не может быть использован в биотехнологических целях.

Некоторые штаммы вида *L. rhamnosus* (72P, 078-2023, 086-2023, 109-2023, 110-2023, 116-2023, 119-2023)

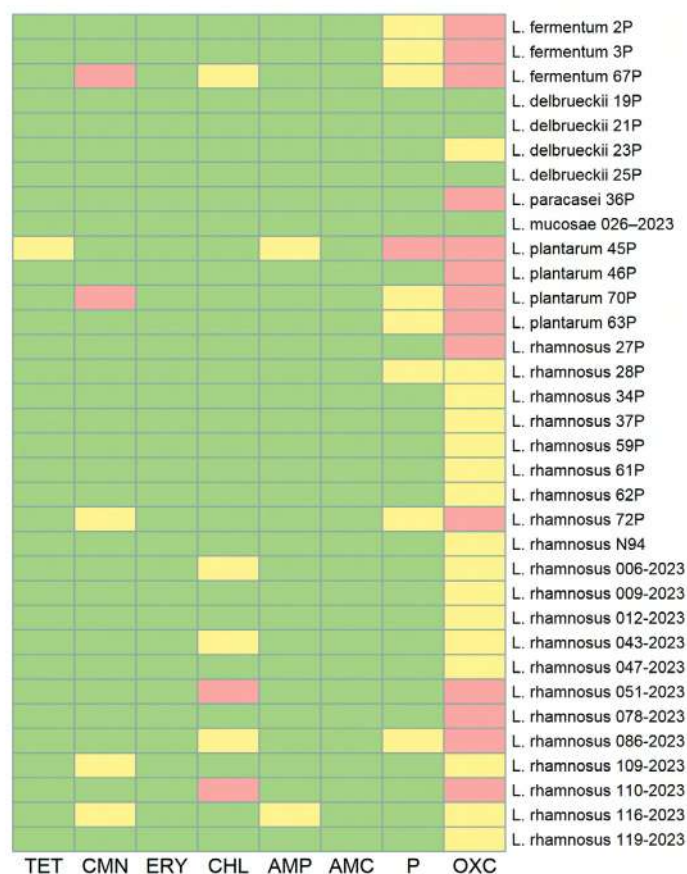


РИС. 1.

Чувствительность штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа детей и подростков Иркутской области, к АМП. TET – тетрациклин, CMN – клиндамицин, ERY – эритромицин, CHL – хлорамфеникол, AMP – ампициллин, AMC – амоксициллин, P – пенициллин G, OXC – оксациллин. Зелёным цветом обозначены чувствительные штаммы, жёлтым — чувствительные при увеличенной экспозиции, красным — устойчивые штаммы.

FIG. 1.

Susceptibility of lactobacilli strains isolated from the intestinal biotope of children and adolescents in the Irkutsk region to AMs. TET – tetracycline, CMN – clindamycin, ERY – erythromycin, CHL – chloramphenicol, AMP – ampicillin, AMC – amoxicillin, P – penicillin G, OXC – oxacillin. Susceptible strains are indicated in green, susceptible to increased exposure are indicated in yellow, and resistant strains are indicated in red.

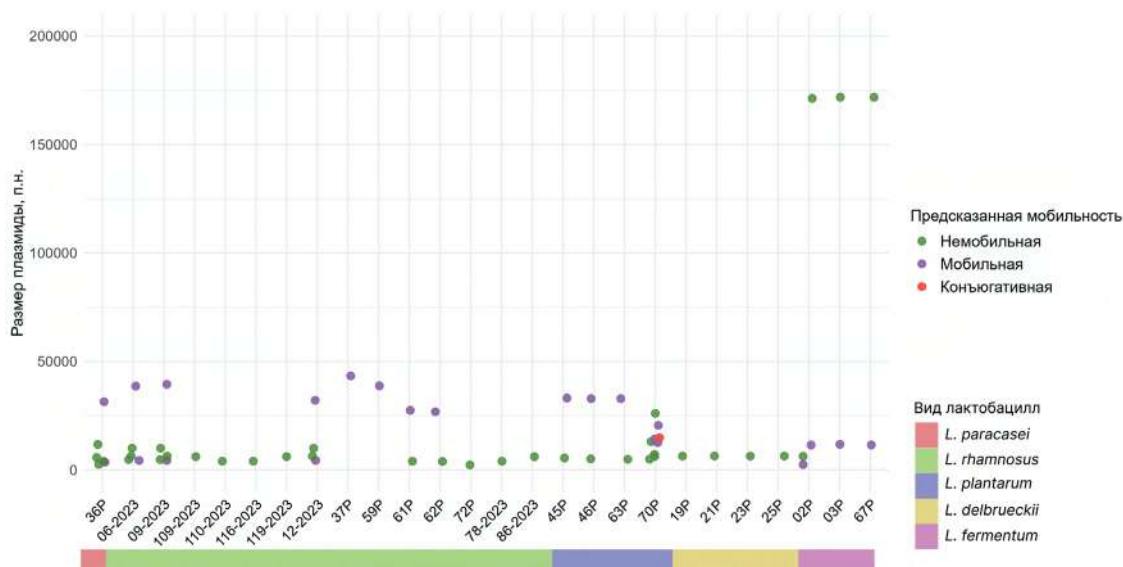


РИС. 2.

Характеристика размера и предсказанной мобильности плазмид штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа детей и подростков Иркутской области

FIG. 2.

Characteristic of the size and predicted mobility of plasmids in lactobacilli strains isolated from the intestinal biotope of children and adolescents in the Irkutsk region

содержали только немобильные плазмиды, тогда как остальные обладали либо только мобильными плазмидами (37P, 59P), либо сочетали оба типа плазмид (06-2023, 09-2023, 12-2023, 61P, 62P). Штаммы вида *L. plantarum* содержали по одной мобильной и одной немобильной плазмиде, за исключением штамма 70P, в геноме которого детектировано шесть немобильных, три мобильных и одна конъюгативная плазмиды. Все штаммы вида *L. fermentum* имели как мобильные, так и немобильные плазмиды. Штаммы вида *L. delbrueckii* содержали в геноме только плазмиды не способные к межклеточному переносу. В геноме штамма вида *L. paracasei* было обнаружено четыре немобильных и две мобильных плазмиды.

Несмотря на то, что все исследуемые штаммы лактобацилл не содержали генов устойчивости к АМП и вирулентности, в геномах значительной части штаммов обнаружены последовательности мобильных плазмид, имеющих потенциал к передаче генетического материала. Плазмиды лактобацилл часто кодируют гены, определяющие адаптивные свойства, например, устойчивость к тяжелым металлам [11]. В условиях сложной системы кишечного микробиоценоза возможный перенос адаптивных генов к комменсальным или условно-патогенным микроорганизмам может давать им конкурентное преимущество. Это, в свою очередь, может стать причиной изменений качественного и количественного состава микробиоты кишечника. Поэтому на данном этапе скрининга наличие мобильных плазмид следует рассматривать как нежелательный признак.

Также следует отметить, что обилие мобильных генетических элементов может указывать как на генетическую пластичность, так и на нестабильность генома. Штаммы лактобацилл при длительном культивировании в условиях, имитирующих условия желудочно-кишечного тракта, могут терять плазмиды, что может негативно сказываться на воспроизводимости пробиотического эффекта [22]. Поэтому в данной работе мы рассматриваем отсутствие мобильных и конъюгативных плазмид не только как критерий безопасности, но и как маркер стабильности генома и свойств штаммов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложенный алгоритм отбора штаммов лактобацилл, включающий оценку фенотипической чувствительности к АМП, скрининг генома на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и мобильных плазмидных элементов, позволяет отбирать безопасные штаммы для дальнейшего конструирования пробиотических консорциумов. По результатам отбора в качестве перспективных кандидатов для формирования пробиотических консорциумов отобраны штаммы видов *L. mucosae* (026-2023), *L. rhamnosus* (27P, 28P, 34P, 72P, N94, 043-2023, 047-2023, 051-2023, 078-2023, 086-2023, 109-2023, 110-2023, 116-2023, 119-2023), *L. delbrueckii* (19P, 21P, 23P, 25P). Для подтверждения

биологической безопасности штаммов видов *L. plantarum* и *L. fermentum* необходимо провести подробный анализ мобильных плазмид, включающий функциональную аннотацию генов, картирование IS-элементов и транспозонов, а также оценку систем стабильности плазмид.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение пробиотического потенциала отобранных штаммов *in vitro* и их совместимости в условиях консорциума.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 125011600372-4.

Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 625913. doi: 10.3389/fcimb.2021.625913
2. Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Погодина А.В., Рычкова Л.В., Даренская М.А. Коморбидность функциональных расстройств кишечника и ожирения с точки зрения микробиома. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 56-66. [Klimenko ES, Belkova NL, Pogodina AV, Rychkova L, Darenskaya MA. Comorbidity of functional bowel disorders and obesity in terms of microbiome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 56-66. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.6
3. Маев И.В., Лямина С.В. Кишечная микробиота: новые возможности диагностики и лечения. *Клиническая медицина*. 2024; 102(4): 297-308. [Maev IV, Lyamina SV. Gut microbiome: new diagnostic and treatment options. *Klinicheskaya meditsina*. 2023; 102(4): 297-308. (In Russ.)]. doi: 10.30629/0023-2149-2024-102-4-297-308
4. 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
5. Shah AB, Baiseitova A, Zahoor M, Ahmad I, Ikram M, Bakhsh A, et al. Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: a comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects. *Gut Microbes*. 2024; 16(1): 2431643. doi: 10.1080/19490976.2024.2431643

6. Klimenko E, Belkova N, Gorkavenko A, Smurova N, Zugeeva R, Morozova A, et al. *Lactobacillus paragasseri* Ig94 With High L-Lactic Acid Production and Probiotic Potential. *Front. Biosci.* 2026; 18(2): 47162. doi: 10.31083/FBE47162
7. Araya M, Morelli L, Reid G, Sanders M, Stanton C, Pineiro M, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations.* 2002; 35–45.
8. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010; 60. [The system of pre-registration preclinical study of drug safety. *Selection, verification and storage of production strains used in the production of probiotics: Methodological guidelines.* – М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2010; 60. (In Russ.)].
9. Кишилова С.А., Леонова В.А., Митрова В.А., Рожкова И.В. Современные биотехнологические решения в области использования молочнокислых бактерий для молочной промышленности: от селекции штаммов до пробиотических продуктов. *Техника и технология пищевых производств.* 2025; 55(3): 624–633. [Kishilova SA, Leonova VA, Mitrova VA, Rozhkova IV. Advanced Biotechnological Solutions for Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry: From Strain Selection to Probiotic Products. *Food Processing: Techniques and Technology.* 2025; 55(3): 624–633. (In Russ.)]. doi: 10.21603/2074-9414-2025-3-2596
10. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2011; 104. [Methodological guidelines for the sanitary and epidemiological assessment of the safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production: *Methodological guidelines.* – М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 2011; 104. (In Russ.)].
11. Davray D, Deo D, Kulkarni R. Plasmids encode niche-specific traits in *Lactobacillaceae*. *Microbial Genomics.* 2021; 7(3): 000472. doi: 10.1099/mgen.000472
12. Smurova NE, Gorkavenko AS, Zugeeva RE, Belkova NL, Chemezova NN, Kondratov IG, et al. Analysis of Antibiotic Susceptibility of *Lactobacillus* Strains Isolated from Adolescent Gut Microbiota. *Bull Exp Biol Med.* 2026; 180: 618–621. doi: 10.1007/s10517-026-06687-w
13. Kondratov IG, Ogarkov OB, Sinkov VV, Suzdalnitsky AE, Koshcheyev ME, Orlova EA, et al. Prediction of metabolic profile and virulence factors of facultative-anaerobic bacteria from tuberculous necrosis foci based on whole-genome sequencing data. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2025; 179: 446–449. doi: 10.1007/s10517-025-06508-6
14. Andrews SA. *Quality Control tool for High Throughput Sequence Data.* <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> [date of access: July 07, 2026].
15. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15): 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170
16. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology.* 2012; 19(5): 455–477. doi: 10.1089/cmb.2012.0021
17. Mikheenko A, Prijbelski A, Saveliev V, Antipov D, Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics.* 2018; 34(13): i142–i150. doi: 10.1093/bioinformatics/bty266
18. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics.* 2014; 30(14): 2068–2069. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153
19. Rodriguez-R LM, Gunturu S, Harvey WT, Rosselló-Mora R, Tiedje JM, Cole JR, et al. The Microbial Genomes Atlas (MiGA) webserver: taxonomic and gene diversity analysis of Archaea and Bacteria at the whole genome level. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(W1): W282–W288. doi: 10.1093/nar/gky467
20. Seemann T. *ABRicate: mass screening of contigs for antibiotic resistance genes.* <https://github.com/tseemann/abricate/> [date of access: July 07, 2026].
21. Robertson J, Nash JHE. MOB-suite: software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. *Microbial genomics.* 2018; 4(8): e000206. doi: 10.1099/mgen.0.000206
22. Sağlam H, Karahan AG. Plasmid stability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains in artificial gastric juice, at elevated temperature, and in the presence of novobiocin and acriflavine. *Arch Microbiol.* 2021; 203(1): 183–191. doi: 10.1007/s00203-020-02017-4

Сведения об авторах

Зугеева Раиса Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Смурова Надежда Евгеньевна – лаборант-исследователь лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: nadinasmurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

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

Клименко Елизавета Станиславовна – младший научный сотрудник функциональной группы геномных исследований и биоинформационного анализа, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

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>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, профессор РАН, 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, член-корреспондент РАН, профессор, 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

Raisa E. Zugeeva – junior researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Nadezhda E. Smurova – laboratory assistant-researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: nadinasurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

Anna S. Gorkavenko – junior researcher 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>

Elizaveta S. Klimenko – junior researcher at the Functional Group of Genomic Research and Bioinformatics analysis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), assoc. prof., leading research at 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>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), professor of the RAS, chief researcher at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre of the 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.), corresponding member of the RAS, professor, Director of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>