

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ИНДИГЕННЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ КИШЕЧНИКА, ПЕРСПЕКТИВНЫХ В КАЧЕСТВЕ АУТОПРОБИОТИКОВ

SAFETY ASSESSMENT OF PERSPECTIVE AS AUTOPROBIOTICS INDIGENIC INTESTINAL LACTOBACILLI

E. Borovkova
E. Alieva
D. Kovalyov
N. Shapakov
A. Karaseva
A. Tsapieva
A. Suvorov
Guo D.
Yang J.
Zhao S.

Summary. Identification, determination of phenotypic antibiotic resistance, genome annotation and the search for antibiotic resistance genes were performed to address the issue of the safe use of three strains of indigenous intestinal lactobacilli as autoprobiotics. As a result of the study the strains were identified as *Lactobacillus paracasei* 347–16, *Lactobacillus plantarum* 123–17 and *Lactobacillus plantarum* 83–18, had typical for lactobacilli phenotypic antibiotic resistance profile, different number of plasmids and a similar set of antibiotic resistance genes located on chromosome.

Keywords: autoprobiotics, lactobacilli, antibiotic resistance, antibiotic resistance genes.

Боровкова Екатерина Андреевна

ФГБОУ ВО «Ставропольский Государственный
медицинский университет» Минздрава России
katerina_borovkova@mail.ru

Алиева Елена Васильевна

Д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Ставропольский
Государственный медицинский университет»
Минздрава России
elalieva.ru@mail.ru

Ковалёв Дмитрий Анатольевич

К.х.н., ФКУЗ «Ставропольский противочумный
институт» Роспотребнадзора
kovalev_da.stv@list.ru

Шапаков Николай Андреевич

Научный сотрудник, ФКУЗ «Ставропольский
противочумный институт» Роспотребнадзора
www.brendan@mail.ru

Карасёва Алёна Борисовна

Научный сотрудник, ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины», Санкт-Петербург
tarno@list.ru

Цапиева Анна Николаевна

Научный сотрудник, ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины», Санкт-Петербург
anna.tsapieva@gmail.com

Суворов Александр Николаевич

Д.м.н., профессор, ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины», Санкт-Петербург
alexander_suvorov1@hotmail.com

Guo Danyang

Институт Агро-продуктов Шаньдунской
Сельскохозяйственной Академии, провинция Шаньдун,
КНР
guody@mail.ru

Yang Jinyu

Институт Агро-продуктов Шаньдунской
Сельскохозяйственной Академии, провинция Шаньдун,
КНР
364593000@qq.com

Zhao Shuangzhi

Институт Агро-продуктов Шаньдунской
Сельскохозяйственной Академии, провинция Шаньдун,
КНР
40379694@qq.com



Введение

Новым вектором в коррекции дисбиотических состояний кишечника, в частности, вызванных применением антибиотиков широкого спектра действия, является аутопробиотикотерапия. Аутопробиотик может быть приготовлен на основе аутоштаммов микроорганизмов симбионтной резидентной нормофлоры конкретного индивидуума в лабораторных условиях, и предложен ему же для восстановления индивидуальной микробиоты [2]. Микроорганизмы рода *Lactobacillus*, как правило, считаются непатогенными и широко используются в различных биотехнологических процессах получения пищевых продуктов и фармацевтических препаратов [9]. Однако многие виды лактобацилл были признаны устойчивыми к антибиотикам [10], и могут являться резервуаром генов антибиотикорезистентности с возможностью их горизонтального переноса к патогенным бактериям желудочно-кишечного тракта человека или животных [19]. Поэтому к лактобациллам-кандидатам в аутопробиотики должны предъявляться те же требования биологической безопасности, что и к пробиотическим бактериям. Согласно действующим нормативным документам оценка безопасности микроорганизмов, перспективных в качестве пробиотиков, проводится с помощью комплекса фенотипических и генетических методов исследования. Штаммы должны иметь изученный спектр антибиотикорезистентности в отношении современных применяемых в медицине антибиотиков, обусловленный хромосомной природой, а также должны быть исследованы на наличие (отсутствие) внехромосомных элементов (плазмид, транспозонов, бактериофагов и др.) [3, 4]. С помощью технологии полногеномного секвенирования, дающей исчерпывающую информацию об особенностях генов и структуре всего генома, можно судить о наличии факторов патогенности и ге-

Аннотация. Для решения вопроса о безопасном использовании индигенных лактобацилл кишечника в качестве аутопробиотиков проводили идентификацию, определение фенотипического профиля чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам, изучение генома и поиск генов антибиотикорезистентности трёх штаммов *Lactobacillus* spp. В результате исследования штаммы были идентифицированы как *Lactobacillus paracasei* 347–16, *Lactobacillus plantarum* 123–17 и *Lactobacillus plantarum* 83–18, имели типичный для лактобацилл фенотипический профиль антибиотикорезистентности, обладали разным числом плазмид и схожим набором генов антибиотикорезистентности хромосомной локализации.

Ключевые слова: аутопробиотики, лактобациллы, антибиотикорезистентность, гены антибиотикорезистентности.

нов устойчивости к антибиотикам [1]. Определенные к настоящему времени геномные последовательности практически всех видов рода *Lactobacillus* [22] позволяют оценить безопасность лактобацилл по наличию генов антибиотикорезистентности, а также возможность их передачи другим микроорганизмам. Выявленные у лактобацилл гены устойчивости к антибиотикам достаточно многочисленны. К ним относятся гены, кодирующие пенициллин связывающие белки *pbp* и β -лактамазы *bla*; ген D-аланин D-аланин лигазы *ddl* F-типа, участвующий в резистентности к ванкомицину; гены устойчивости к аминогликозидам (ацетилтрансферазы *aac*, нуклеотидилтрансферазы *ant* и фосфотрансферазы *aph*); гены устойчивости к хлорамфениколу (гены хлорамфениколацетилтрансферазы *cat* и мембраносвязывающих переносчиков *cmlA*); гены устойчивости к тетрациклину (гены рибосомальных защитных белков *tetM*, *tetS*, *tetQ*, *tetW* и гены эффлюксных помп *tetL*, *tetP*); гены устойчивости к эритромицину (ген, кодирующий метилазу рРНК *ermB* и гены, кодирующие макролидные эффлюксные насосы *mefE* и *mefB*); гены устойчивости к клиндамицину (ген, кодирующий эффлюксный белок линкозамидов *lsa*); гены устойчивости к фторхинолонам (гены А и В субъединиц ДНК-гиразы *gyrA* и *gyrB*, гены субъединиц А и В топоизомеразы IV *parC* и *parE*) и др. [15, 13].

Таким образом, целью исследования являлась оценка безопасности использования трёх штаммов индигенных лактобацилл кишечника в качестве аутопробиотиков. Задачи исследования включали:

1. Идентификацию штаммов лактобацилл;
2. Определение фенотипического профиля чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам штаммов лактобацилл;
3. Характеристику генома штаммов лактобацилл и поиск генов антибиотикорезистентности.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись индигенные лактобациллы кишечника трех добровольцев в возрасте от 20 до 60 лет, проживающих на территории Северо-Кавказского Федерального округа. Штаммы выделяли для возможной коррекции микрофлоры кишечника с помощью кисломолочного аутопробиотика на их основе после курса антибиотикотерапии. Идентификацию штаммов проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (М-ПЦР) и 16S рРНК типирования по методикам, изложенным в [5].

Антибиотикорезистентность лактобацилл определяли диско-диффузионным методом (ДДМ) с помощью индикаторных дисков с бензилпенициллином (10 Ед), ампициллином (10 мкг), цефазолином (30 мкг), цефотаксимом (30 мкг), гентамицином (10 мкг), эритромицином (15 мкг), ципрофлоксацином (5 мкг), ванкомицином (30 мкг), клиндамицином (2 мкг), доксициклином (30 мкг), хлорамфениколом (30 мкг) и меропенемом (10 мкг) (НИЦФ, Санкт-Петербург) на агаризованной питательной среде МРС (НИЦФ, Санкт-Петербург) по МУ 2.3.2.2789–10.2.3.2 (2010) [3].

Геномную ДНК штаммов *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 выделяли и очищали по стандартному протоколу фенол-хлороформной экстракции и депротеинизации. Полногеномное секвенирование проводили на платформе Illumina HiSeq 4000 (Shanghai, BIOZERON Co., Ltd). Библиотеки для секвенирования готовили с использованием набора реагентов TruSeq™ Nano DNA Sample Prep Kit (Illumina, USA) в соответствии с инструкцией производителя. Первичную обработку данных секвенирования проводили с помощью программы Trimmomatic [11] на основе параметров, установленных по умолчанию. Сборку контигов осуществляли с использованием программ Celera Assembler 8.3 (<https://www.mybiosoftware.com/celera-assembler-6-1-genome-shotgun-assembler.html>) и Falcon 0.3.0 (<https://github.com/PacificBiosciences/FALCON-integrate>).

Аннотацию геномов и функциональный анализ потенциальных генов антибиотикорезистентности лактобацилл проводили с использованием сервера RAST (<https://rast.nmpdr.org/>) [20]. Поиск генов антибиотикорезистентности также осуществляли с помощью онлайн-программ Resistance Gene Identifier (RGI 5.1.0) и Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD3.0.8) [8]. Для адресного поиска генов антибиотикорезистентности анализировали геномные последовательности исследуемых штаммов лактобацилл с помощью базы данных GenBank NCBI, используя инструмент поиска основного локального выравнивания BLAST ([https://](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Гены, предположительно участвующие в наблюдаемых фенотипах устойчивости аннотировали как предполагаемые детерминанты антибиотикорезистентности в соответствии с их наибольшим совпадением BLAST и порога идентичности аминокислотной последовательности (более 95%).

Результаты исследования

Идентификация лактобацилл. С помощью М-ПЦР было выявлено, что изоляты №№ 123–17 и 83–18 принадлежат к виду *L. plantarum*, а изолят № 347–16 к виду *L. paracasei*. Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК лактобацилл, проведённый в ходе 16S рРНК типирования, подтвердил результаты идентификации с помощью М-ПЦР. Было выявлено 100% сходство с последовательностями 16S рРНК, депонированными в GenBank, что позволило однозначно установить видовую принадлежность штаммов лактобацилл как *L. paracasei* 347–16 (референс-последовательность в GenBank *L. paracasei* CACC566 CP048003.1) *L. plantarum* 123–17 (референс-последовательность в GenBank *L. plantarum* SRCM101511 CP028235.1) и *L. plantarum* 83–18 (референс-последовательность в GenBank *L. plantarum* SRCM102737 CP028261.1).

Антибиотикорезистентность лактобацилл. В результате изучения антибиотикограмм *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 было установлено, что все штаммы обладали однотипным спектром фенотипической чувствительности и устойчивости к антибактериальным препаратам. Так, лактобациллы проявляли чувствительность к бензилпенициллину, ампициллину, цефазолину, цефотаксиму, меропенему, эритромицину, клиндамицину, доксициклину, хлорамфениколу и резистентность к ципрофлоксацину, ванкомицину и гентамицину.

Краткая характеристика геномов *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18. Биоинформационный анализ первичных данных секвенирования геномной ДНК *L. paracasei* 347–16 позволил получить 3 скаффолда, соответствующие 1 хромосоме и 2 плазмидам микроорганизма. Общая длина нуклеотидной последовательности составила 3219033 п.о., ГЦ состав — 46,1%. При аннотации генома с помощью сервера RAST было выявлено 3290 белок кодирующих последовательностей и 74 открытых рамок считывания РНК. В ходе биоинформационного анализа данных секвенирования геномных ДНК штаммов *L. plantarum* было получено 5 скаффолдов, соответствующих 1 хромосоме и 4 плазмидам *L. plantarum* 123–17 и 9 скаффолдов, соответствующих 1 хромосоме и 8 плазмидам *L. plantarum* 83–18. Протяжённость геномов составила 3238595 п.о. для штамма *L. plantarum* 123–17 и 3363821 п.о. для

штамма *L. plantarum* 83–18. ГЦ состав *L. plantarum* 123–17–44,6%. ГЦ состав *L. plantarum* 83–18–44,4%. При аннотации генома *L. plantarum* 123–17 с помощью сервера RAST было выявлено 2993 белоккодирующих последовательностей и 83 открытых рамок считывания РНК. В составе генома *L. plantarum* 83–18 с помощью сервера RAST было выявлено 2969 белоккодирующих последовательностей и 95 открытых рамок считывания РНК.

Гены антибиотикорезистентности *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18. С помощью программы для автоматического аннотирования RAST в хромосомных контигах штаммов *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 были обнаружены нуклеотидные последовательности генов, ассоциированных с резистентностью к фторхинолонам: гены *gyrA* и *gyrB*, кодирующие А и В субъединицы ДНК-гиразы, а также гены *parC* и *parE*, кодирующие А и В субъединицы топоизомеразы IV. Кроме того, на хромосомах всех трех штаммов был обнаружен ген, кодирующий металл-зависимую гидролазу семейства бета-лактамаз. У штаммов *L. plantarum* №№ 123–17 и 83–18 также были выявлены гены, аннотированные RAST как ответственные за устойчивость к тетрациклинам и гены, отвечающие за синтез эффлюксных насосов, обеспечивающих множественную лекарственную устойчивость. На плаزمиде анализируемых штаммов при помощи программы RAST гены антибиотикорезистентности обнаружены не были.

С помощью инструмента RGI на хромосомах *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 было выявлено 208, 182 и 174 кодирующих последовательностей генов антибиотикорезистентности соответственно, имевших различную степень сходства (от 20,6% до 72,2%) с последовательностями из базы данных CARD. Наибольшее число последовательностей имели сходство с генами, кодирующими ABC-транспортёры и эффлюксные насосы, которые потенциально могут обеспечивать устойчивость к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В, триметоприму и тетрациклину. На хромосомных контигах штаммов *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 также были обнаружены гены, отвечающие за резистентность к фторхинолонам и гены, потенциально кодирующие устойчивость к гликопептидным антибиотикам. Гены, кодирующие белки семейства ацетилтрансфераз aac(6') были обнаружены у всех трех штаммов лактобацилл, а ген, кодирующий белок семейства нуклеотидилтрансфераз ant(3'') был найден только у штамма *L. plantarum* 83–18. Помимо этого, на трех плаزمиде штамма *L. plantarum* № 83–18 было обнаружено шесть генов, кодирующих ацетилтрансферазу, гликозилтрансферазу и ABC-транспортёры.

Алгоритм BLAST базы данных NCBI выявил локализованные на хромосомах *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 гены, кодирующие фермент D-аланин-D-аланин лигазу F-типа (остаток тирозина в позиции 261 замещён остатком фенилаланина), а также гены *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*. Исследование нуклеотидных последовательностей пептидов, кодируемых генами *parC* и *gyrA* у всех трех штаммов лактобацилл показало отсутствие аминокислотных замен Glu84Gly в последовательности *parC* и Glu87Leu в последовательности *gyrA*. В геномах штаммов *L. plantarum* №№ 123–17 и 83–18 также был проведен целенаправленный поиск генов, кодирующих факторы устойчивости к тетрациклинам. В качестве референсных были выбраны аминокислотные последовательности пептидов TetM (AAN84501.1), TetS (Q2UXR9), TetW (ABO43851.1), TetL (WP_098034698) и TetP (SPS13865.1). Выравнивание референсных последовательностей пептидов и хромосомных контигов штаммов *L. plantarum* №№ 123–17 и 83–18 с использованием алгоритма tblastn показало совпадение около 27% с TetM, 29% с TetS, 27% с TetW, 28% с TetL и 70% с последовательностью TetP у обоих штаммов. При этом ген, кодирующий пептид TetP у штаммов *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 был аннотирован программой RAST как фактор устойчивости к тетрациклину. Последовательность пептида TetP была выровнена также на последовательность хромосомы штамма *L. paracasei* 347–16, однако в данном случае процент сходства последовательностей не превышал 37,31%. Таким образом, из всех наиболее часто встречающихся у лактобацилл генов устойчивости к тетрациклину, в геномах штаммов *L. plantarum* №№ 123–17 и 83–18 был найден ген, кодирующий пептид, на 70% сходный по последовательности с нуклеозид-трифосфат фосфатазой TetP, ассоциированной с резистентностью к тетрациклину.

Обсуждение результатов

Для решения вопроса о безопасном использовании трёх штаммов индигенных лактобацилл кишечника в качестве аутопробиотиков были проведены видовая идентификация, аннотация геномов, а также поиск генов антибиотикорезистентности. Принадлежность выделенных штаммов к видам *L. paracasei* и *L. plantarum* позволяет ожидать позитивного лечебно-профилактического эффекта от аутопробиотикотерапии на их основе, поскольку эти виды являются типичными представителями микробиоценоза человека [17], обладают выраженными антагонистическими свойствами по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре [23], имеют статус генетически безопасных микроорганизмов [14], обладают высоким колонизационным потенциалом.

Выявленная с помощью ДДМ чувствительность штаммов лактобацилл к бензилпенициллину, ампициллину,

цефазолину, цефотаксиму, меропенему, эритромицину, клиндамицину, доксициклину и хлорамфениколу, а также устойчивость к ципрофлоксацину, гентамицину и ванкомицину подтверждается данными литературы. Так, большинство видов рода *Lactobacillus* имеют природную устойчивость к аминогликозидам (гентамицину, канамицину, стрептомицину и неомицину), ципрофлоксацину и триметоприму [27], и чувствительность к β -лактамам, хлорамфениколу, тетрациклину, эритромицину, линезолиду [6]. А резистентность к ванкомицину является, пожалуй, наиболее характерной для лактобацилл [16].

На основании аннотации геномов индигенных лактобацилл выявлена их типичная структура, характеризующаяся наличием замкнутой кольцевой хромосомы и различным числом плазмид (от двух у *L. paracasei* 347–16 до восьми у *L. plantarum* 83–18). С помощью методов биоинформатики в геномах *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 были найдены нуклеотидные последовательности кодирующие устойчивость к фторхинолонам, β -лактамам, гликопептидам, макролидам, линкозамидам, стрептограмину В, триметоприму. В геномах *L. plantarum* 123–17 и *L. plantarum* 83–18 также были найдены нуклеотидные последовательности, кодирующие устойчивость к тетрациклину. Все обнаруженные гены имели хромосомную локализацию. На плазмидах *L. plantarum* 83–18 с помощью программы RGI были обнаружены гены ацетилтрансферазы, гликозилтрансферазы и АВС-транспортёров, которые потенциально могут обеспечивать повышенную устойчивость к антимикробным веществам.

Наличие в исследованных геномах последовательностей, кодирующих D-аланин D-аланин лигазу (*ddl* F-типа), ДНК-гиразу (*gyrA*, *gyrB*) и топоизомеразу IV (*parC*, *parE*), а также генов, кодирующих ацетилтрансферазы (*aac*(6')) и нуклетидилтрансферазы (*ant*(3")), нашло свое отражение в фенотипических свойствах штаммов, выявленных ДДМ, так как лактобациллы проявляли резистентность к ванкомицину, ципрофлоксацину и гентамицину. Выявление нуклеотидной последовательности D-аланин D-аланин лигазы F-типа у трёх штаммов лактобацилл — кандидатов в аутопробиотики, фенотипически устойчивых к ванкомицину, по-видимому, свидетельствует о высокой взаимосвязи между генотипом и фенотипом для этого антибиотика.

Алгоритм BLAST не выявил аминокислотных замен Glu84Gly в последовательности *parC* и Glu87Leu в последовательности *gyrA*, связанных со сниженной чувствительностью к фторхинолонам [12]. Считается, что врожденная резистентность лактобацилл к ципрофлоксацину не всегда связана с мутациями в генах, кодирующих белки ParC и GyrA [18], так что фенотипическая

устойчивость к этому антибиотику могла быть опосредована иными механизмами и особенностями штаммов, такими как структура клеточной стенки, проницаемость мембраны или механизмы молекулярного транспорта [7]. К тому же, с помощью программы RGI в геномах *L. paracasei* 347–16, *L. plantarum* №№ 123–17 и 83–18 были выявлены гены, потенциально ответственные за устойчивость к фторхинолонам, так что противоречий между генотипическими и фенотипическими характеристиками штаммов в отношении чувствительности к ципрофлоксацину не возникает.

Фенотипическая чувствительность анализируемых штаммов лактобацилл к бензилпенициллину, ампициллину, цефазолину, цефотаксиму, меропенему, эритромицину и клиндамицину не коррелировала с наличием генетических детерминант антибиотикорезистентности к β -лактамам, макролидам и линкозамидам. Отсутствие фенотипической резистентности индигенных штаммов лактобацилл №№ 347–16, 123–17 и 83–18 к антибиотикам тетрациклинового ряда свидетельствует о том, что наличие данного гена недостаточно для проявления устойчивого фенотипа. Кроме того, нам представляется важным отсутствие в геномах исследуемых штаммов гена *tetM*, поскольку этот ген часто ассоциирован с конъюгативными транспозонами, такими как Tn916 [21], способствующими горизонтальному переносу генов резистентности к тетрациклину. Наличие подобных факторов не допускается при использовании штаммов в качестве пробиотиков и аутопробиотиков.

Заключение

В результате идентификации трёх штаммов индигенных лактобацилл кишечника выявлено, что штаммы относятся к типичным представителям микробиоценоза человека — видам *L. paracasei* и *L. plantarum*. Имеют характерный для лактобацилл фенотипический спектр антибиотикорезистентности. Обнаруженные гены устойчивости к антибиотикам штаммов *L. paracasei* 347–16 и *L. plantarum* 123–17 расположены на хромосоме. Гены устойчивости к антибиотикам *L. plantarum* 83–18 имеют как хромосомную, так и плазмидную локализацию. В целом характерная для лактобацилл фенотипическая устойчивость к гликопептидам, аминогликозидам и фторхинолонам, а также хромосомная локализация обнаруженных генов антибиотикорезистентности позволяет использовать штаммы *L. paracasei* 347–16 и *L. plantarum* 123–17 для создания индивидуальных аутопробиотических препаратов. Для решения вопроса о безопасном использовании штамма *L. plantarum* 83–18 в качестве аутопробиотика необходимы дополнительные исследования фланкирующих областей генов ацетилтрансфераз и АВС-транспортёров, локализованных на плазмидах микроорганизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями // МедиАль. — 2014. — № 2(12). — С. 6–28.
2. Ермоленко Е.И., Липидус А.Л., Суворов А.Н. Оптимизация микробной терапии дисбиотических состояний посредством аутопробиотиков // Санитарная и клиническая микробиология. Материалы XI съезда ВНПОЭМП, Москва, 16–17 ноября 2017 года. С. 925.
3. Продовольственное сырьё и пищевые продукты. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов МУ 2.3.2.2789–10.2.3.2: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 06.12.2010. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. — 104 с.
4. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: методические указания МУК 4.2.2602–10: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 21.04.2010. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. — 60 с.
5. Цапиева А.Н., Боровкова Е.А., Карасева А.Б., Алиева Е.В., Суворов А.Н. Разработка метода идентификации индигенных лактобацилл кишечника при создании аутопробиотиков // Вопросы детской диетологии. — 2019. — Т. 17. № 3. — С. 52–59.
6. Abriouel H., Casado M. et. al. New insights in antibiotic resistance of Lactobacillus species from fermented foods // International Food Research Journal. — 2015. — V.78. — P. 465–481.
7. Abriouel H., Casado Muñoz M.d.C., et. al. New insights in antibiotic resistance of Lactobacillus species from fermented foods // Food Research International. — 2015. — V. 78. — P. 465–481.
8. Alcock et al. CARD2020: antibiotic resistance surveillance with the Comprehensive Antibiotic Resistance Database // Nucleic Acids Research. — 2020. — V. 48. — P. 517–525.
9. Bik E. M. Composition and function of the human-associated microbiota // Nutrition Reviews. — 2009. — V. 67. P. 164–171.
10. Bockelmann W., Pichner R., Kabisch J. et. al. New insights in antibiotic resistance of Lactobacillus species from fermented foods // International Food Research Journal. — 2015. V. 78. — P. 465–481.
11. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. et. al. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data // Bioinformatics. — 2014. — V. 30, № 15. — P. 2114–2120.
12. Brisse S., Fluit A. D.C., Wagner U., et. al. Association of alterations in ParC and GyrA proteins with resistance of clinical isolates of Enterococcus faecium to nine different fluorquinolones. Antimicrob // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. — 1999. — V. 43. — P. 2513–2516.
13. Campedelli I., Mathur H., Salvetti E. et. al. Genus-Wide Assessment of Antibiotic Resistance in Lactobacillus spp. // Applied and Environmental Microbiology. — 2018. — V. 85, I. 1, e01738–18.
14. Casado M., Benomar N. et. al. Biocide tolerance, phenotypic and molecular response of lactic acid bacteria isolated from naturally-fermented Aloreña table to different physico-chemical stresses // Food Microbiology. — 2016. — V. 60. P. 1–12.
15. Gueimonde M., Sánchez B., de Los Reyes-Gavilán C.G. et. al. Antibiotic resistance in probiotic bacteria // Frontiers in Microbiology. — 2013. — Vol. 4, № 202. — P. 1–6.
16. Guo H., Pan L., Li L., Lu J., et. al. Characterization of antibiotic resistance genes from lactobacillus isolated from traditional dairy products // Journal of Food Science. — 2017. — V. 82. P. 724–730.
17. Halder D., Mandal M., et. al. Indigenous probiotic Lactobacillus isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria // Biomedicine. — 2017. — V. 5(2).
18. Hummel A.S., Hertel C., Holzapfel W.H., Franz C. M.A.P. Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria // Applied and Environmental Microbiology. — 2007. — V. 73. — P. 730–739.
19. Mathur S., Singh R. et. al. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria // International Journal of Food Microbiology. — 2005. — V. 105. — № 3. — P. 281–295.
20. Overbeek R., Olson R., Pusch G. D., et. al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST) // Nucleic Acids Research. — 2014. — Vol. 42, № 1. — P. 206–214.
21. Roberts M.C., Schwarz S. Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms / Antimicrobial drug resistance: infectious disease. — NY: Humana Press, 2009. — P. 183–193.
22. Sun Z., Harris H. M., McCann A. et. al. Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera // Nature Communications. — 2015. — V. 6. — P. 8322.
23. Zawistowska-Rojek A, Tyski S. et. al. Are Probiotic Really Safe for Humans? // Polish Journal of Microbiology. — 2018. — Vol. 67, № 3. — P. 251–258.
24. Zheng M., Zhang R., Tian X., Zhou X., Pan X., Wong A. Assessing the risk of probiotic dietary supplements in the context of antibiotic resistance // Frontiers in Microbiology. — 2017. — V. 8:908.

© Боровкова Екатерина Андреевна (katerina_borovkova@mail.ru), Алиева Елена Васильевна (elalieva.ru@mail.ru),

Ковалёв Дмитрий Анатольевич (kovalev_da.stv@list.ru), Шапаков Николай Андреевич (www.brendan@mail.ru),

Карасёва Алёна Борисовна (tarno@list.ru), Цапиева Анна Николаевна (anna.tsapieva@gmail.com),

Суворов Александр Николаевич (alexander_suvorov1@hotmail.com), Guo Danyang (guody@mail.ru),

Yang Jinyu (364593000@qq.com), Zhao Shuangzhi (40379694@qq.com).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»