

ПРОБЛЕМЫ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛАКТОБАЦИЛЛ

Волкова А.С., Анисимова Е.А., Яруллина Д.Р.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
elizaveta-real@mail.ru*

Бактерии рода *Lactobacillus* широко применяются для получения ферментированных пищевых продуктов и консервирования фруктов и овощей. Кроме того, они входят в состав нормальной микрофлоры человека и используются в препаратах для восстановления микробного гомеостаза – пробиотиках [1]. Большое практическое и медицинское значение бактерий этой группы определяет необходимость их быстрой и однозначной видовой идентификации. Сложность идентификации данного рода заключается в том, что при многочисленном видовом составе, различные виды могут иметь сходные фенотипические и физиологические характеристики [4]. При этом ряд видов способны вызывать оппортунистические инфекции, бактериемии, кариес, эндокардит и другие патологические состояния человека. Целью данной работы является сравнительный анализ методов таксономической идентификации бактерий рода *Lactobacillus*.

В данной работе использовали 15 штаммов лактобацилл выделенные нами ранее из природных эконисш, кисломолочных продуктов и пробиотиков, а так же 5 коллекционных штаммов. Предварительно все исследуемые бактерии были отнесены к роду *Lactobacillus* согласно ГОСТ 10444.11-89 по положительному окрашиванию по Граму, отсутствию спорообразования и каталазной активности. Видовую идентификацию выделенных бактерий проводили с помощью прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker, Германия) и на основе анализа последовательности гена 16S рРНК. Гены 16S рРНК амплифицировали методом ПЦР с применением пары праймеров 27f и 1392r и секвенировали методом Сэнгера на секвенаторе ABI Prism 3730 (Applied Biosystems). При фенотипической идентификации лактобацилл спектр утилизируемых сахаров определяли с помощью коммерческих тест-систем «АНАЭРОтест-23» и «СТРЕПТОтест-24» («MicroLaTest», Чехия).

Исследуемые лактобациллы отнесены к видам *L. fermentum* (9 штаммов) и *L. plantarum* (6 штаммов), а для референсных штаммов *L. fermentum* 90 TC-4, *L. brevis* DSM 20054, *L. brevis* ssp. *gravesensis* LMG 7934, *L. buchneri* DSM 20057, *L. rhamnosus* I2L подтверждена видовая принадлежность. Результаты видовой идентификации лактобацилл с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии и по последовательности гена 16S рРНК совпали для 19 из 20 образцов, поэтому MALDI-TOF масс-спектрометрия может использоваться как быстрый и надежный метод видовой идентификации лактобацилл. Однако

отметим, что по последовательности гена 16S рПНК и по спектру утилизации сахаров штамм *Lactobacillus* sp. HF-B1 идентифицирован как *L. plantarum*, в то время как методом MALDI-TOF масс-спектрометрии как *L. fermentum*. Также нами показаны ограничения анализа спектра утилизируемых субстратов в видовой идентификации лактобацилл: ферментационный профиль не позволил дифференцировать *L. brevis*/*L. buchneri*/*L. hilgardii*. Поэтому данный метод не пригоден для однозначной видовой идентификации лактобацилл

Таким образом, наши результаты подчеркивают, что решение проблем видовой идентификации лактобацилл лежит в комбинировании фенотипических, молекулярно-генетических и современных, таких как MALDI-TOF масс-спектрометрия, методов идентификации, а также в разработке индивидуальных подходов для конкретных штаммов лактобацилл.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-34-00268 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного центра протеомных исследований.

Литература

1. Giraffa G., Chanishvili N., Widyastuti Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology // Res Microbiol. 2010. Vol. 161. P. 480-487.
2. Moraes P.M., Perin L.M., Júnior A.S., Nero L.A. Comparison of phenotypic and molecular tests to identify lactic acid bacteria // Brazilian Journal of Microbiology. 2013. Vol. 44. P. 109-12.