

Кубрикова Ю.В., Оруджова А.Н., Соколовская Л.Н., Хаустова С.Ю., Олсуфьева А.В.

Изучение пробиотических свойств некоторых представителей рода *Weissella*

.....
Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»
=====

УДК 579.62

Изучение пробиотических свойств некоторых представителей рода *Weissella*

Кубрикова Ю.В., Оруджова А.Н., Соколовская Л.Н., Хаустова С.Ю., Олсуфьева А.В.

Московский Финансово-промышленный университет «Синергия»

Аннотация

*Обзор посвящен изучению пробиотических свойств микроорганизмов рода *Weissella*. Приведены современные данные, экспериментально подтверждающие положительную роль вида *W. confuse*. Были описаны признаки пробиотических организмов у штаммов вида *W. confuse*. Их способность вырабатывать глюкоолигосахариды, защитную систему белков, способность вырабатывать H_2O_2 и способность к адгезии с клетками кишечника. Для поиска статей были использованы базы данных *Web of science* и *Elibrary* с 2012 по 2024 годы.*

Ключевые слова: ПРОБИОТИКИ, WEISSELLA, CRISPR-CAS, ЭКОПОЛИСАХАРИДЫ, МИКРООРГАНИЗМЫ

Введение

В настоящее время повышенный интерес к пробиотическим микроорганизмам способствует проведению новых исследований. Помимо изученных ранее родов *Lactobacillus*, интересы ученых привлекают бактерии рода *Weissella*, которые до проведения многочисленных исследований считались патогенными. Было высказано предположение, что некоторые представители *Weissella* могут обладать пробиотическими свойствами, антимикробной активностью, подавлять рост патогенной микрофлоры, способностью ферментировать клетчатку, вырабатывать экзополисахариды. Эти свойства пробиотиков могут быть использованы в различных областях пищевой промышленности и в медицинской практике, как вещества стимулирующие иммунитет и противодействующие

развитию аллергии.

Микроорганизмы, относящиеся к роду *Weissella*, представляют собой неспорообразующие грамположительные бактерии. Род *Weissella* впервые был описан в 1993 году Джеймсом Коллинзом при изучении микробиоты сухих греческих колбас естественного происхождения с помощью метода секвенирования [1]. Из-за врожденной устойчивости к ванкомицину *Weissella* spp. часто путают с *Lactobacillus* spp. На сегодняшний день идентифицировано 19 видов бактерий относящихся к этому роду. Все виды обладают большой способностью к ферментации продуктов и обнаруживаются в кишечнике позвоночных и беспозвоночных животных, в почве, гниющей подстилке, ферментированных продуктах. Так в пищевых продуктах на основе соленой ферментированной капусты, известной как кимчи, обнаружены *W. cibaria*, *W. koreensis*, *W. hellenica*, *W. paramesenteroides*, *W. Soli*, а также обнаружены в гниющей листовой подстилке и гниющем силосе, *W. viridescens* и *W. confusa* были обнаружены в квашенной капусте и производстве сыров и кисломолочных продуктов [2, 3]. Наряду с *Lactobacillus* многие представители рода *Weissella* обнаружены во влагалищном содержимом женщин и ротовой полости новорожденных детей, появившихся на свет от естественных родов. Интересно то, что род *Weissella*, населяющий кишечник позвоночных, участвует в образовании биопленки, способной ингибировать увеличение *Clostridium* [3, 4]. Чжао и др. показали, что у животных, страдающих анорексией, наблюдалось снижение численности *Weissella* и увеличение *Clostridium* в отличие от животных с нормальным весом, у которых преобладали *Weissella* и *Lactobacillus* [5]. По-видимому, *Weissella* участвующие в метаболических процессах, косвенно влияют на усвоение питательных веществ, необходимых для роста и развития. Обнаружение *W. confusa* и *W. cibaria* в сыром верблюжьем молоке (Чжао и др.) и полости рта детей вероятно объясняется энтеромаммарным путем переноса микроорганизмов из кишечника в ткани молочной железы, когда дендритные клетки или макрофаги переносят бактерии кишечника матери в молочную железу и затем выделяют бактерии с молоком [5]. *W. cibaria* обладает высоким ингибирующим потенциалом при воздействии на *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*. Штаммы этого вида способны подавлять экспрессию генов противовоспалительных цитокинов и угнетать фактор некроза опухоли, восстанавливая выработку тканевого ингибитора металлопротеиназы [6]. Исследование штаммов *Weissella confuse* MD1 *Weissella cibaria* MD2, выделенных из ферментированного теста показали, что

способны значительно снижать уровень холестерина. Клетки продемонстрировали сильную антиоксидантную активность, поглощая свободный радикал 1,1 – дифенил – 2 пикрил – гидразила и подавляя перекисное окисление линолевой кислоты [7]. Наряду с имеющимися данными, демонстрирующими ферментативную пользу *Weissella* и способность оказывать иммуностимулирующее, антибактериальное, противораковое и противовоспалительное действие, ряд ученых представляет род *Weissella* как условно-патогенные микроорганизмы, являющиеся причиной бактериемии, абсцессов, постоперационного остеомиелита у млекопитающих со сниженным иммунитетом [6, 7]. В 2003 году доктор Фернандес-Гарайсабал и др. университет Complutense, Мадрид описали *W. confusa* как причину системной инфекции у здорового примата и неонатального сепсиса у жеребенка и доказали связь *W. confuse* с инфекциями млекопитающих [8, 9]. В связи с этим до сих пор в научных кругах нет единого мнения по поводу полезности или опасности нахождения *Weissella* на слизистых оболочках.

Свойства рода *Weissella*

Виды *Weissella* привлекают внимание еще и тем, что способны в большей степени чем другие молочнокислые бактерии продуцировать внеклеточные α -глюкоолигосахариды, катализируемые глюкансукразами. Например, *W. cibaria* выделенная из сыра из западных Гималаев (Кумари и др.) геномный анализ которой показал способность вырабатывать экзополисахариды, синтезировать витамины и незаменимые аминокислоты, понижать уровень холестерина [10]. Производство экзополисахаридов является наиболее существенно значимым признаком пробиотических микроорганизмов. К α -глюканам относят декстраны, широко используемые в медицине и пищевой промышленности. Например декстран, вырабатываемый *W. confuse*, показал способность увеличивать срок хранения, объем и мягкость пшеничного хлеба на закваске, выступать в качестве загустителя и стабилизатора [11]. Синтез α -глюканов может выполнять защитную функцию и проявлять антиадгезивные свойства против патогенных бактерий на слизистой оболочке кишечника, тем самым снижая риск инфекции и способствуя нормальному функционированию кишечника [12]. Помимо этого исследования Юрашковой Д. и др. показали, что экзополисахариды могут осуществлять гликемический контроль, влиять на усвоение кальция и магния, снижать уровень холестерина [13]. Поэтому *W. confuse* можно рассматривать как кандидата в пробиотики.

Пробиотическая особенность штаммов *W. confuse*

В ряде экспериментов Эй Пхвай Тхант и др. показали устойчивость штаммов *W. confuse* к условиям нахождения в желудке и кишечнике (рН, желчь, ферменты) [14]. Оценивалась пробиотическая активность штаммов *W. confuse* W 1 W 2, полученных из тайского сладкого ферментированного риса. Было обнаружено, что при рН 3 через 3-4 часа более 99% клеток оставались выжившими и способными к дальнейшему функционированию. Также штаммы *W. confuse* продемонстрировали высокую устойчивость к желчным солям. В условиях воздействия пепсина и панкреатина более 50% показали свою способность выдерживать ферменты желудка и тонкого кишечника. В сравнении с известными пробиотиками *Lactobacillus rhamnosus* GG, которые известны своей устойчивостью к резко кислой среде 1,5 рН, штаммы *W. Confuse* не показали способности выживать и давать последующий рост в резко кислых условиях среды. Несмотря на то, что штаммы *W. confuse* могут выживать в условиях рН не ниже 3, их все равно можно использовать в качестве пробиотиков. Они показали очень хорошую устойчивость к рН3 и рН4, ферментам ЖКТ и желчи. Вероятно, такая толерантность к специфическим условиям ЖКТ может быть связана с выработкой белков реакции на стресс, шаперонов и протеаз. *W. confuse* обладает высокой степенью адгезии к эпителиальным клеткам кишечника и способностью вытеснять патогенные бактерии и тем самым подтверждая свой пробиотический потенциал [14].

Вероятно, большинство штаммов *W. confuse* безопасны для организмов млекопитающих. При проведении теста на гемолиз бактерии показали отсутствие гемолитической активности, что указывает на низкий потенциал вреда для организма. Пробиотические микроорганизмы не обладают гемолитической активностью, поэтому штаммы *W. confuse* могут быть выбраны в качестве пробиотиков. Штаммы *W. confuse* способны, как и другие молочнокислые бактерии, вырабатывать молочную кислоту, которая снижает рН окружающей среды, резко подавляя рост патогенных бактерий. Тем самым штаммы создают неблагоприятную среду для патогенных микроорганизмов и способствуют формированию нормальной микрофлоры [11, 14].

Исследуя антимикробную активность *W. confuse* штаммов W 1 W 2, было замечено что выращенные на модифицированном агаре MRS с добавлением 0,01 мг/мл пероксидазы хрена и тетраметилбензидина, окрасились в синий цвет при взаимодействии с воздухом, что указывает на выработку перекиси водорода. Перекись водорода широко известна своей

способностью подавлять рост патогенной микрофлоры. Эти результаты в очередной раз подтвердили антибиотикоактивность изучаемых штаммов. Молочная кислота и перекись водорода являются основными антибактериальными веществами против грамотрицательных бактерий таких как *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* и карбапенем-резистентного *Acinetobacter baumannii* и могут быть использованы для профилактики инфекций, вызванных данными бактериями [15].

Генные характеристики, связанные со свойствами пробиотиков

Геномный анализ штаммов W 1 W 2 W. confuse показал, что микроорганизмы не содержат гены устойчивости к противомикробным препаратам. Были обнаружены пять генов связанных с клеточной адгезией, антифагацитарными свойствами и выживанием при стрессе, что обеспечивает бактерии рост и функционирование в условиях кишечника. Эти гены были ранее описаны у непатогенных бактерий, и они связаны по большей части с защитными реакциями нежели с агрессивными реакциями, направленными против хозяина [16, 17]. Поэтому очевидно, что у бактерий *Weissella* отсутствует ген вирулентности, который был бы опасен для позвоночных. Также у штаммов W 1 W 2 W. confuse не обнаружен ген устойчивости к антибиотикам. Выше перечисленные особенности генов могут рассматриваться как положительные показатели безопасности и пригодности применения пробиотика. Кроме этого, анализ генома штаммов W 1 W 2 дал возможность понять какие защитные механизмы есть у представителей штаммов W. Confuse. Значительная часть ген-кодирующих белков показало участие в защитных реакциях на стресс, перепады температуры, изменение pH и толерантности к желчи.

Известно, что профаги — это вирусы, способные заражать бактериальную клетку и кодировать факторы вирулентности и антибиотикорезистентности, что может быть проблемой для применения пробиотиков [17]. При проведении секвенировании последовательностей бактериальной ДНК штаммов W 1 W 2 были выявлены три неповрежденные области профаговых последовательностей, но в этих областях не было обнаружено генов, отвечающих за антибиотикорезистентность и вирулентность. Открытие отсутствия таких генов имело ведущее значение при решении вопросов о возможности использования штаммов W 1 W 2 W. confuse как пробиотических организмов.

С помощью CRISPR-CAS была описана иммунная система и ее участие во вторжении чужеродных генов. Взаимодействие различных белков CAS с определенными

последовательностями CRISPR подтверждает наличие защитного механизма. Примерно половина известных на сегодняшний день бактерий и до 90% архей имеют последовательности CRISPR-CAS, которые являются адекватными иммунными системам. Наличие систем CRISPR-CAS у *Weissella confuse* доказывает способность этих бактерий защищаться от внедряющихся инородных агентов. Поэтому CRISPR-CAS система может быть использована в будущем в генной инженерии и генной терапии, в частности для редактирования геномов [18, 19].

В процессе своей жизнедеятельности многие организмы вырабатывают вторичные метаболиты, например поликетидсинтазу. У штаммов W 1 W 2 также была выявлена способность в производстве вторичных метаболитов. Эти штаммы обладают кластером генов арилполиенов, кластером поликетидсинтаз и неопределенным кластером RIPP (рибосомально-синтезированный посттрансляционно синтезированный пептид). Как было выяснено кластер арилполиенов кодирует гены, которые способны защищать организм от активных форм кислорода [15]. Кластер участвующий в синтезе поликетидов кодирует гены, обладающие антимикробными, противораковыми свойствами, кластер RIPP состоит из генов, отвечающих за синтез разнообразных вторичных продуктов, которые часто проявляют антимикробную активность и способствуют выраженной конкуренции внутри микробных сообществ [20, 21].

Выше описанные кластерные последовательности также могут быть применены в биотехнологии и редактировании генома.

Выводы

Микроорганизмы рода *Weissella* повсеместно обнаруживаемые в природе, участвуют в естественной ферментации органики. Виды *Weissella* образуют естественные микробные сообщества и проявляют уникальные пробиотические свойства, способные продуцировать экзополисахариды, что делает их подходящими для применения в пищевой промышленности в качестве стабилизаторов и загустителей. Виды *W. confuse* и *W. cibaria* имеют уникальные гены, отвечающие за адаптивную иммунную систему, защищающую от чужеродных агентов, обладают антимикробными и противораковыми свойствами. Вторичные продукты жизнедеятельности этих бактерий оказывают профилактическое и лечебное действие в борьбе с диабетом, сердечнососудистыми заболеваниями, бактериальными инфекциями и аллергией. Несмотря на множество положительных

пробиотических характеристик было описано несколько случаев, где виды *W. confusa* и *W. cibaria* вели себя как агрессивные патогены, способные вызывать сепсис, эндокардит и перитонит. Следовательно, ряд ученых определяют род *Weissella* как условно-патогенные микроорганизмы. Поэтому, несмотря на уникальные положительные свойства, виды *Weissella* требуют более глубоких практических исследований.

Список использованных источников:

1. Фуско В. и др. Род *Weissella*: таксономия, экология и биотехнологический потенциал // Передовые разработки в микробиологии. – 2015. – Т. 6. – С. 155. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.0015>
2. Хён Сок и др. Оценка пробиотических свойств и профилактического потенциала штаммов *Weissella cibaria*, выделенных из кимчи // Жвт. – 2019. – Т. 112. – С. 108229. DOI: [10.1016/j.lwt.2019.05.127](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.127)
3. Сорнсени П. и др. Пробиотические свойства видов *Lactobacillus*, выделенных из ферментированного пальмового сока в Таиланде // Пробиотики и антимикробные белки. – 2021. – Т. 13. – С. 957-969. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09754-y>
4. Ли К.В. и др. Пробиотические свойства штаммов *Weissella*, выделенных из фекалий человека // Анаэробы. – 2012. – Т. 18. – №. 1. – С. 96-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.12.015>
5. Чжао Ё. *Lactobacillus fermentum* и его потенциальное иммуномодулирующее свойство // Журнал функциональных продуктов питания. – 2019.- Т.56.- С.21-32. DOI: [10.1016/j.jff.2019.02.044](https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.044)
6. Kang CE et al. Пробиотик *Weissella cibaria* проявляет антибактериальное и антибиопленочное действие против вызывающего кариес *Streptococcus mutans* // Микробный патогенез. – 2023. – Т. 180. – С. 106–151. DOI: [10.1016/j.micpath.2023.106151](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106151)
7. Лакра А.К. и др. Некоторые пробиотические возможности *Weissella confusa* MD1 и *Weissella cibaria* MD2, выделенных из ферментированного теста // Lwt. – 2020. – Т. 125. – С. 109261. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109261>
8. *Weissella confusa* infection in Primate (*Cercopithecus mona*) Ana I. Vela, Concepcion Porrero, Joaquin Goyache, Ana Nieto, Belen Sanchez, Victor Briones, Miguel Angel Moreno, Lucas Dominguez, and Jose F. Fernandez-Garayzabal // Emerging Infectious Diseases Vol. 9, No. 10, October 2003. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid0910.020667>
9. Петрова Л.В., Можяева К.В., Федоренко Д.А., Редкое наблюдение сепсиса, вызванное *Weissella Confusa*, на фоне иммуносупрессивной терапии у пациента с рассеянным склерозом при аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова 2019, т. 14, №1 DOI: [10.25881/BPNMSC.2019.66.40.030](https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2019.66.40.030)

10. Кумари М. и др. Физиологическая и геномная характеристика продуцирующего экзополисахарид *Weissella cibaria* CH2 из сыра западных Гималаев // *Food Bioscience*. – 2020. – Т. 35. – С. 100570. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100570>
11. Нами Й. и др. Выделение и оценка нового продуцирующего экзополисахарид штамма *Weissella confusa* ABRIIFBI-96, выделенного из иранского домашнего молочного ферментированного продукта «Тоф», в качестве основной закваски для пробиотического ферментированного молока // *LWT*. – 2024. – Т. 197. – С. 115910. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115910>
12. Парк С. и др. Клеточные антиоксидантные свойства нетоксичного экзополисахарида, выделенного из *Lactobacillales* (*Weissella cibaria*), выделенных из корейского кимчи // *Lwt*. – 2022. – Т. 154. – С. 112727. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112727>
13. Jurášková D., Ribeiro S. C., Silva C. C. G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from biosynthesis to health-promoting properties // *Foods*. – 2022. – Т. 11. – №. 2. – С. 156. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11020156>
14. Thant E. P. et al. Exploring *Weissella confusa* W1 and W2 Strains Isolated from Khao-Mahk as Probiotic Candidates: From Phenotypic Traits to Genomic Insights // *Antibiotics*. – 2024. – Т. 13. – №. 7. – С. 604. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070604>
15. Патроне В. и др. Интегрированный фенотипико-генотипический анализ кандидатных пробиотических штаммов *Weissella cibaria*, выделенных от молочных коров в Кувейте // *Пробиотики и антимикробные белки*. – 2021. – Т. 13. – С. 809-823. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09715-x>
16. Starikova E. V. et al. Phigaro: high-throughput prophage sequence annotation // *Bioinformatics*. – 2020. – Т. 36. – №. 12. – С. 3882-3884. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa250>
17. Юань С. и др. Полная последовательность генома *Weissella confusa* LM1 и сравнительный геномный анализ // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – Т. 12. – С. 749218. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.749218>
18. Лю Чжан и др. Применение различных типов систем на основе CRISPR/ Cas в бактериях // *Фабрики микробных клеток*. – 2020. – Т. 19. – С. 1-14. DOI: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-020-01431-z>
19. Део Д., Даврей Д., Кулкарни Р. Разнообразный репертуар кластеров генов биосинтеза экзополисахаридов у *Lactobacillus*, выявленный сравнительным анализом 106 секвенированных геномов // *Микроорганизмы*. – 2019. – Т. 7. – №. 10. – С. 444. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100444>
20. Шёнер Т.А. и др. Арильные полиены, широко распространенный класс природных продуктов бактерий, функционально связаны с антиоксидантными каротиноидами // *Химбиохимия*. – 2016. – Т. 17. – №. 3. – С. 247-253. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.201500474>

Кубрикова Ю.В., Оруджова А.Н., Соколовская Л.Н., Хаустова С.Ю., Олсуфьева А.В.
Изучение пробиотических свойств некоторых представителей рода *Weissella*

.....
Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»
=====

21. Нотон Л.М. и др. Идентификация кластеров генов вторичных метаболитов в роде *Pseudovibrio* выявляет обнадеживающий биосинтетический потенциал в направлении продукции новых биоактивных соединений // *Frontiers in microbiology*. – 2017. – Т. 8. – С. 1494. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01494>

=====

Цитирование:

Кубрикова Ю.В., Оруджова А.Н., Соколовская Л.Н., Хаустова С.Ю., Олсуфьева А.В. Изучение пробиотических свойств некоторых представителей рода *Weissella* [Электрон. ресурс] // *АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал*. – 2025. – № 1. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2025/1/st_117.pdf
DOI: <https://doi.org/10.51419/202151117>.