

СЕКЦІЯ XXIV. БІОХІМІЯ, БІОТЕХНОЛОГІЇ, БІОМЕДИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ ТА МЕДИЧНА ДІАГНОСТИКА

DOI 10.62731/mcnd-09.10.2026.011

СКРИНІНГ, СЕЛЕКЦІЯ, ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ ЕКОБЕЗПЕКА

Цехмістренко Оксана Сергіївна 

д-р. с.-г. наук, професор

Білоцерківський національний аграрний університет; Україна

Шулько Ольга Павлівна 

канд. с.-г. наук, доцент

Білоцерківський національний аграрний університет; Україна

Бабань Вікторія Петрівна 

канд. с.-г. наук, доцент

Білоцерківський національний аграрний університет; Україна

Стрімке розширення асортименту пробіотичних препаратів, дієтичних добавок і функціональних харчових продуктів актуалізує питання науково обґрунтованого відбору мікроорганізмів, здатних не лише проявляти корисні властивості, а й зберігати їх у технологічному процесі та бути безпечними для організму-хазяїна і мікробних екосистем. Відповідно до консенсусного визначення International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP), пробіотиками є живі мікроорганізми, які при введенні в адекватній кількості забезпечують користь для здоров'я організму-хазяїна [1]. Отже, походження мікроорганізму з кишечника здорової людини чи тварини, грудного молока, ферментованого продукту або іншої природної екосистеми саме по собі не є доказом його пробіотичного статусу.

Принципово важливим є розмежування понять «потенційно пробіотичний штам» і «пробіотик». Кандидатний штам може демонструвати кислотостійкість, жовчостійкість, адгезивність, антагоністичну або іншу функціональну активність, однак для коректного використання терміна «пробіотик» він повинен бути

належно ідентифікованим і охарактеризованим, мати прийнятний профіль безпечності, надходити до організму живим у достатній кількості та мати підтверджений позитивний ефект. Для харчових продуктів і дієтичних добавок доказ користі має стосуватися того самого штаму, який представлений у кінцевому продукті [2]. Такий підхід переводить розроблення пробіотиків із площини емпіричного пошуку «корисних бактерій» у систему послідовної селекції та доказової валідації.

Сучасна схема розроблення пробіотичної культури охоплює вибір джерела ізоляції, отримання чистих культур, первинний скринінг, функціональний відбір, оцінювання безпечності, таксономічну та штамову ідентифікацію, технологічну селекцію, доклінічну оцінку, клінічну або іншу релевантну біологічну валідацію та контроль стабільності штаму в готовому продукті. Послідовність цих етапів не є формальною: вона дозволяє поступово звужувати масив ізолятів, не витрачаючи складні аналітичні ресурси на культури, які не відповідають базовим критеріям чистоти, росту, функціональності або безпечності.

Набір скринінгових тестів має визначатися передбачуваним місцем дії та способом застосування майбутнього пробіотика. Для пероральних культур традиційно оцінюють стійкість до кислого середовища та жовчних кислот. Сучасні моделі доцільно будувати з урахуванням тривалості експозиції, компонентів травних секретів, харчової матриці та послідовної зміни шлункової і кишкової фаз. Такі тести є корисним первинним фільтром, але не відтворюють повної складності умов *in vivo*.

Функціональний скринінг повинен бути пов'язаний із передбачуваним механізмом дії. Для одних культур важливими можуть бути адгезивні властивості, для інших – антагоністична активність, здатність підтримувати епітеліальний бар'єр, модулювати імунну відповідь або утворювати певні метаболіти. Адгезію досліджують на клітинних лініях, ізольованому муцині, органоїдах та інших модельних системах. При цьому тривала колонізація кишечника не є обов'язковою умовою пробіотичного ефекту: значна частина визнаних пробіотичних штамів перебуває у травному тракті транзиторно. Тому висока адгезивність є потенційно корисною властивістю, але не універсальним критерієм ефективності.

Оцінювання безпечності є не завершальним формальним етапом, а одним із центральних фільтрів селекції. Тривала історія використання певного виду в харчових технологіях може свідчити на користь його

безпеки, однак не скасовує необхідності характеристики конкретного штаму. Підлягають виключенню культури з патогенним або токсигенним потенціалом, клінічно значущими факторами вірулентності, здатністю утворювати небажані токсини або інші метаболіти, несумісні з передбачуваним застосуванням. Залежно від таксономічної належності додатково досліджують гемолітичну активність, утворення біогенних амінів, D-молочної кислоти, цитотоксичність, потенційну транслокацію та генетичну стабільність [4].

Особливе місце в оцінюванні біо- та екобезпеки займає антимікробна резистентність. Необхідно розрізняти внутрішню резистентність, природно притаманну певному виду або таксономічній групі, та набуту резистентність, що виникла внаслідок мутації або горизонтального перенесення генетичного матеріалу. Найбільше занепокоєння викликають гени резистентності, локалізовані на плазмідах, транспозонах, інтегронах та інших мобільних генетичних елементах. Такі детермінанти потенційно здатні передаватися іншим представникам мікробіоти, тому їх наявність і генетичне оточення мають принципове значення для оцінювання ризику [4, 5].

У цьому контексті екобезпеку пробіотичної культури доцільно трактувати ширше, ніж відсутність прямої патогенності для споживача. Живий мікроорганізм після виробництва і застосування взаємодіє з мікробними угрупованнями організму-хазяїна, харчової або кормової матриці та, опосередковано, довкілля. Тому важливо оцінювати генетичну стабільність штаму, наявність мобільних детермінант антимікробної резистентності й вірулентності та потенціал горизонтального перенесення небажаних ознак. Фенотипове визначення чутливості до антимікробних препаратів доцільно поєднувати з повногеномним секвенуванням і біоінформатичним аналізом, оскільки фенотип сам по собі не встановлює локалізацію генетичних детермінант, а виявлення гена не завжди означає його фенотипову експресію.

У Європейському Союзі важливим інструментом оцінювання мікроорганізмів є концепція Qualified Presumption of Safety (QPS), яку застосовує European Food Safety Authority. QPS базується на точності таксономічної ідентифікації, обсязі наукових знань про відповідний таксон, відомих ризиках для людини, тварин і довкілля та, за необхідності, спеціальних кваліфікаціях. Включення виду до QPS-переліку не означає автоматичного визнання безпечним будь-якого його

штаму: для конкретної культури необхідно перевіряти виконання встановлених застережень, зокрема відсутність набутих детермінант антимікробної резистентності або токсигенності [6].

Надійна таксономічна та штамова ідентифікація є базовою передумовою пробіотичної біотехнології, оскільки властивості одного штаму не можна автоматично переносити на інші штами того самого виду. Фенотипові й біохімічні методи корисні для первинної характеристики. Секвенування гена 16S rRNA дозволяє уточнювати таксономічну належність, але має обмежену штамову дискримінацію. MALDI-TOF MS є швидким інструментом рутинної видової ідентифікації за наявності якісної референтної бази, тоді як остаточна характеристика нового штаму потребує методів вищої роздільної здатності.

Найбільш інформативним сучасним підходом до глибокої характеристики штаму є whole-genome sequencing (WGS). Повногеномне секвенування дозволяє підтверджувати таксономічну ідентичність, розрізняти близькоспоріднені штами, аналізувати філогенетичні зв'язки, виявляти гени антимікробної резистентності та фактори вірулентності, характеризувати мобільні генетичні елементи, оцінювати генетичну стабільність і спорідненість виробничої культури з референтним штамом [5]. Для порівняльного аналізу застосовують ANI, digital DNA-DNA hybridization, SNP-аналіз, MLST, cgMLST, core-genome та whole-genome phylogeny, аналіз пангеному. Проте геномний прогноз не є тотожним фенотиповому доказу: наявність гена свідчить про потенціал реалізації функції, але не обов'язково про її експресію за конкретних умов.

Таблиця 1

Етапи комплексного відбору пробіотичного штаму

Етап	Основні методи	Критерій відбору	Безпекове значення
Первинний скринінг	Посів, мікроскопія, фенотипування	Чистота, стабільний ріст	Виключення контамінації та нестабільних ізолятів
Функціональний відбір	Стрес-тести, адгезія, антагонізм, клітинні моделі	Властивості, релевантні застосуванню	Відбір кандидатів без надання їм передчасного пробіотичного статусу

Продовження табл. 1

Етап	Основні методи	Критерій відбору	Безпекове значення
Ідентифікація	16S rRNA, MALDI-TOF MS, WGS	Видова і штамova ідентичність	Простежуваність і коректне перенесення доказів
Оцінка безпечності	MIC, WGS, біоінформатика, цільові фенотипові тести	Відсутність неприйнятних факторів ризику	AMR, вірулентність, токсигенність, мобільні елементи
Технологічна селекція	Культивування, ліофілізація, shelf-life тести	Відтворюваність і стабільність	Контроль життєздатності та генетичного дрейфу
Біологічна валідація	Доклінічні та належно сплановані дослідження	Підтверджена користь	Співвідношення користь/ризик для цільового хазяїна

Подальший розвиток скринінгу пов'язаний з інтеграцією омiксних технологій. Геноміка характеризує генетичний потенціал і окремі показники безпечності, транскриптоміка та протеоміка – реакцію клітини на стрес і реалізацію генетичної інформації, а метаболоміка – спектр утворюваних метаболітів та взаємодію культури з матрицею. Найбільш інформативним є інтегративний підхід, за якого молекулярні прогнози зіставляють із фенотиповими результатами.

Мікроорганізм із перспективними біологічними властивостями не обов'язково є придатним для промислового використання. Технологічна селекція охоплює оцінювання швидкості росту, виходу біомаси, відтворюваності культивування, генетичної та фенотипової стабільності, стійкості до концентрування, кріоконсервування, ліофілізації, кисню та інших виробничих стресів. Важливими є стабільність у конкретній харчовій матриці, виживання протягом терміну придатності, сумісність із компонентами продукту та, для мультиштамових композицій, взаємна сумісність культур. Штам, який демонструє високу функціональну активність *in vitro*, але швидко втрачає життєздатність під час виробництва або зберігання, може виявитися непридатним для створення стандартизованого пробіотичного продукту.

Для промислового виробництва необхідна стандартизована система збереження культури. Формування Master Cell Bank та Working Cell Bank дозволяє обмежувати кількість пасажів, зменшувати генетичний дрейф, забезпечувати відтворюваність виробництва, контролювати чистоту культури та перевіряти ідентичність виробничих серій. Простежуваність від референтного штаму до готового продукту є важливою не лише для контролю якості, а й для біо- та екобезпеки, оскільки дозволяє пов'язати результати оцінювання ризику саме з тією культурою, що фактично використовується у виробництві.

Однією з принципових методологічних помилок залишається ототожнення лабораторної активності з доведеною пробіотичною ефективністю. Культура може переносити кисле середовище, бути жовчостійкою, адгезувати до клітинної лінії, продукувати антимікробні сполуки та впливати на експресію цитокінів, але сукупність цих властивостей усе ще характеризує її як кандидатний штам. Лабораторний скринінг відповідає на питання, чи має мікроорганізм достатньо перспективних властивостей для подальшого дослідження. Належно спланована біологічна валідація повинна встановити, чи забезпечує конкретний штам або визначена комбінація штамів у конкретній дозі та формі статистично і біологічно обґрунтовану користь для цільового хазяїна [1, 2].

Таким чином, сучасний підхід до скринінгу, селекції та ідентифікації пробіотичних мікроорганізмів є багаторівневою ризик-орієнтованою системою, у якій функціональна перспективність має оцінюватися паралельно з безпечністю та технологічною придатністю. Його логіку можна представити як послідовність: ізолят → охарактеризований кандидатний штам → ідентифікований і безпечний штам → технологічно придатна культура → штам із підтвердженою користю → стандартизований пробіотичний продукт. Центральною одиницею такої системи є конкретний, простежуваний і стабільний штам, а не вид мікроорганізму загалом.

Екобезпека повинна бути інтегрована у весь процес відбору, а не оцінюватися лише наприкінці. Вона передбачає контроль набутих детермінант антимікробної резистентності, факторів вірулентності й токсигенності, мобільних генетичних елементів, генетичної стабільності та простежуваності виробничої культури. Поєднання класичної мікробіології, молекулярної генетики, WGS, біоінформатики, омікських

технологій, клітинних моделей і технологічних випробувань дозволяє перейти від формального набору позитивних ознак до комплексної характеристики штаму. Лише за одночасного підтвердження функціональності, безпечності, технологічної стабільності та користі для організму-хазяїна використання терміна «пробіотик» є науково обґрунтованим.

Список використаних джерел

1. Hill C., Guarner F., Reid G. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2014. Vol. 11. P. 506–514. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66.
2. Binda S., Hill C., Johansen E. et al. Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. Art. 1662. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01662.
3. Marco M. L., Sanders M. E., Gänzle M. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2021. Vol. 18. P. 196–208. DOI: 10.1038/s41575-020-00390-5.
4. Emerging pre-clinical safety assessments for potential probiotic strains: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023. DOI: 10.1080/10408398.2023.2197066.
5. Whole genome sequencing for the risk assessment of probiotic lactic acid bacteria. 2022. PMID: 35694810.
6. European Food Safety Authority (EFSA). Qualified Presumption of Safety (QPS): current framework and resources for safety assessment of microorganisms. Current EFSA resources, 2026.
7. Umanets A., Surono I. S., Venema K. I am better than I look: genome based safety assessment of the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* IS-10506. *BMC Genomics*. 2023. Vol. 24. Art. 518. DOI: 10.1186/s12864-023-09495-y.
8. FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group. London, Ontario, Canada, 2002.