

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Хакимова Л.Р.^{1,3}, Потапова С.М.², Ахметова Л.Р.², Гимранова И.А.³

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АУТОШТАММОВ *LACTOBACILLUS SPP.* ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИКОВ

¹Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, 450054, г. Уфа, Россия;

²ООО Научно-внедренческое предприятие Башкирская инновационная компания «БашИнком», 450015, г. Уфа, Россия;

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450000, г. Уфа, Россия

Пробиотики представляют собой фармацевтические препараты, БАД или пищевые добавки с живыми бактериями, которые оказывают восстанавливающее влияние на здоровье человека, способствуют активации иммунной системы, улучшают течение аллергических состояний. Часто в качестве пробиотиков, используются бактерии Lactobacillus spp. Правильное употребление пробиотиков может быть эффективным при лечении дисбактериозов, диареи различного генеза, заболеваний полости рта, мочеполовой системы и т. п. Цель исследования: отбор аутоштаммов, которые могут быть использованы в качестве основы при создании пробиотических препаратов. Изучены 182 штамма Lactobacillus spp., из них отобраны девять: 9SM, Dec 1, Ku-f, 12 Pet-f, 14 Ul-d, 15 Sul-c, 10 POD, 7LV, Куз 2, которые идентифицированы до вида и внесены во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) (Москва). Все отобранные аутоштаммы лактобактерий обладают высоким уровнем перекрёстной адгезии, показали индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ) ≥ 40,0 больше, чем у 50% пациентов. Лучшую адгезию показал аутоштамм 10 POD (ИАМ ≥ 40,0 у 80% исследуемых пациентов). Все исследуемые штаммы Lactobacillus spp. устойчивы к ванкомицину, промежуточную устойчивость к антибиотиком норфлоксацину имеют штаммы Ku-f, Куз 2, 15 Sul-c, устойчивыми оказались Dec 1 и 7LV. Исследуемые штаммы активно ингибируют рост E. coli и S. aureus, обладают высокой адгезионной способностью, имеют хорошую кислотообразующую и антагонистическую активности, что указывает на их высокую эффективность в качестве пробиотических бактерий. Показано, что рассматриваемые аутоштаммы Lactobacillus spp. могут быть определены как кандидаты для создания новых эффективных пробиотиков.

Ключевые слова: Lactobacillus spp.; аутоштаммы; антагонизм; адгезия; кислотообразование; антибиотикоустойчивость.

Для цитирования: Хакимова Л.Р., Потапова С.М., Ахметова Л.Р., Гимранова И.А.

Изучение биологических свойств аутоштаммов *Lactobacillus spp.* для создания пробиотиков. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2023; 68 (8): 480-488. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488>.

Для корреспонденции: Хакимова Лилия Ралисовна, канд. биол. наук, науч. сотр. ИБГ УФИЦ РАН; доц. каф. фундаментальной и прикладной микробиологии БГМУ; e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.03.2023

Принята к печати 28.03.2023

Опубликовано 01.08.2023

Khakimova L.R.^{1,3}, Potapova S.M.², Ahmetova L.R.², Gimranova I.A.³

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF LACTOBACILLUS SPP. TO CREATE PROBIOTICS

¹Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 450054, Ufa, Russia;

²Research and innovation company Bashkir innovation company – Bashinkom LLC, 450015, Ufa, Russia;

³Bashkir State Medical University (BSMU), 450008, Ufa, Russia

Probiotics are pharmaceutical preparations, dietary supplements or nutritional supplements with live bacteria that have a restorative effect on human health, contribute to the activation of the immune system, and improve the course of allergic conditions. The bacteria most commonly used as probiotics are Lactobacillus spp. Proper use of probiotics can be effective in the treatment of dysbacteriosis, diarrhea of various origins, diseases of the oral cavity, genitourinary system, etc. The purpose of the study: the selection of autostrains that can be used as a basis for the creation of probiotic preparations. In our study, 182 strains of Lactobacillus spp. were studied, nine of them were selected: 9SM, Dec 1, 12 Pet-f, Ku-f, 14 Ul-d, 15 Sul-c, 10 POD, 7LV, Kuz 2, which were identified to species and included in the All-Russian Collection of Industrial Microorganisms (Moscow). All these autostrains of lactobacilli have a high level of cross-adhesion. They showed an index of microorganism adhesiveness (IAM) ≥ 40.0 greater than in 50% of patients. The 10 POD autostrain showed the best adhesion (IAM ≥ 40.0 in 80% of the studied patients). All studied strains of Lactobacillus spp. resistant to vancomycin, strains Ku-f, Kuz 2, 15 Sul-c have intermediate resistance to the antibiotic norfloxacin, and Dec 1 and 7LV turned out to be resistant. The studied strains actively inhibit the growth of E. coli and S. aureus, have a high adhesive ability, have good acid-forming and antagonistic activities, which indicates their high efficiency as probiotic bacteria. As a result of the research, it was shown that the examined autostrains of Lactobacillus spp. can be identified as candidates for the creation of new effective probiotics.

Key words: Lactobacillus spp.; autostrains; antagonism; adhesion; acid formation; antibiotic sensitivity.

For citation: Khakimova L.R., Potapova S.M., Ahmetova L.R., Gimranova I.A. Study of biological properties of *Lactobacillus*

spp. to create probiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (8): 480-488 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488>.

For correspondence: *Khakimova L.R.*, PhD. Sci. Biol., Researcher Institute of Biochemistry and Genetics; e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

Information about authors:

Khakimova L.R., <https://orcid.org/0000-0003-0979-0283>;

Potapova S.M., <https://orcid.org/0000-0001-8795-0153>;

Ahmetova L.R., <https://orcid.org/0000-0003-4102-9021>;

Gimranova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-6024-0191>.

Conflict of interest. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 21.03.2023

Accepted 28.03.2023

Published 01.08.2023

В современном мире остается актуальным вопрос поиска новых штаммов-кандидатов бактерий рода *Lactobacillus* для создания новых пробиотических препаратов и продуктов функционального питания. Использование новых штаммов лактобацилл в биотехнологии для производства пробиотиков становится возможным лишь после детального изучения их биологических свойств и правильной идентификации [1]. Термин «пробиотик» предложен ещё в 60-х годах XX века, с тех пор он несколько раз менялся, в 2002 году ВОЗ ввёл новое общепринятое определение: пробиотики - «живые микроорганизмы, которые могут благотворно влиять на хозяина при приёме в достаточных дозах» [2].

Пробиотики изначально использовали для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), больных с эзофагитом, хроническим гастритом, язвенной болезнью [3, 4], в последующем многочисленные исследования доказали высокую эффективность применения пробиотиков и при других заболеваниях. Длительное употребление молока, обогащенного *L. fermentum*, улучшает обучение и память у пациентов с болезнью Альцгеймера [5]. При лечении колоректального рака некоторые штаммы пробиотиков могут быть полезны в качестве адъювантного терапевтического агента, например, мультигенные и мультиштаммовые пробиотики, включая *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. acidophilus* [6, 7]. Многие пробиотики играют положительную роль в поддержании здоровья мочеполовой системы и борьбе с раком, диабетом, ожирением, ишемическим инсультом, аллергиями [7-14]. В последние десятилетия большое количество исследований направлено на изучение применения пробиотиков для лечения заболеваний полости рта и ухода за полостью рта. Пробиотики, содержащие *L. reuteri*, *L. brevis*, *Streptococcus salivarius* и т. д., способствуют улучшению здоровья полости рта, причём все они представляют собой микроорганизмы, выделенные из полости рта [13-19]. Имеются предположения, что пробиотики могут уменьшать гипервоспаление при COVID-19 благодаря своим противовоспалительным эффектам [20].

Бактерии рода *Lactobacillus* составляют значительную часть популяции защитных микрооргани-

змов в микробиоте человека. Лактобациллы - грамположительные палочковидные бактерии, анаэробы или факультативные анаэробы. Имеют протеолитическую активность, опосредованную продуцируемыми ими протеазами и пептидазами, синтезируют ферменты, расщепляющие гексозы, дисахариды и полисахариды, производят ДНК-азу и/или РНК-азу и псевдокаталазу и др. Антагонистическая активность бактерий *Lactobacillus spp.* опосредована их способностью создавать кислую среду, синтезом антибиотических соединений, перекиси водорода, лизоцима [21, 22].

Одной из важных характеристик *Lactobacillus spp.* является их антимикробная активность в отношении патогенной и условно-патогенной микробиоты человека [23] с помощью различных механизмов, включая выработку противомикробных веществ, конкуренцию с патогенами за питательные вещества, стимуляцию иммунной системы человека [24]. Такие пробиотические бактерии играют защитную роль посредством адгезии и колонизации слизистых оболочек, эффективно конкурируя с патогенами за специфические рецепторы [25, 26].

Пробиотики должны соответствовать нормам генетической безопасности, кроме этого, их эффективность определяется и устойчивостью к антибактериальным средствам, адгезивной активностью, отсутствием конкурентных отношений с индигенной микрофлорой. Всё вышеперечисленное может быть достигнуто за счёт персонализированного подбора пробиотических препаратов [27]. Наиболее высокой степени индивидуализации препаратов можно достичь при использовании аутоштаммов микроорганизмов, выделенных из микробиоценоза самого человека [22]. По данным литературы, различия в способности промышленных аутоштаммов к адгезии к клеткам эпителия зависят от совместимости рецепторов штамма и клеточных рецепторов. На основании этих данных предлагается создать препараты из полного биоценоза человека. Аутопробиотики должны иметь хорошую адгезивную способность и к эпителиоцитам других субъектов для более широкого круга назначения. Использование аутопробиотиков из микробиоценоза человека может рассматриваться как отдельное направление персонализированной

медицины. Такой индивидуальный подход к подбору препаратов позволяет повысить эффективность как профилактики, так и лечения, снизить риск развития нежелательных лекарственных реакций у каждого пациента [22].

Цель исследования - отбор коллекции аутоштаммов, которые могут быть использованы в качестве штаммов при создании пробиотических препаратов.

Материал и методы. Выделение, культивирование и идентификация *Lactobacillus spp.* В качестве биоматериала взят утренний кал от 264 пациентов, находящихся на лечении у гастроэнтеролога (г. Уфа) с разными проблемами желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), который сопровождался дисбактериозом. Все больные дали добровольное информированное согласие на исследование. Все работы проводились с использованием общепринятых методов бактериологии по оценке дисбактериоза кишечника. Аутоштаммы выделяли из фекалий путём последовательных десятикратных разведений физиологическим раствором исследуемого материала до 10^8 . Исследуемый материал из различных разведений заседали на агаризованную МРС (*Lactobacillus* MRSagar) (HiMedia, Индия) на 48 часов, инкубировали при температуре 37 °С. В результате культивирования выращены типичные колонии размером более 1 мм. Через двое суток после второго пассажа изолированные колонии лактобактерий пересевали на жидкую среду МРС-1 (жидкая питательная среда для выделения и культивирования *Lactobacillus spp.*) для получения биомассы микроорганизмов. Далее, при выделении аутоштаммов рассматривали только доминирующие колонии лактобацилл из всего многообразия видов этих индигенных микроорганизмов (до 5-ти разных видов).

Для идентификации использован ряд методов, включая бактериологический. Для выращивания культур бактерий рода *Lactobacillus* использованы модифицированные питательные среды МРС: жидкую (МРС-1), полужидкую, содержащую 0,15% агара (МРС-2) и плотную, содержащую 2% агара (МРС-4). Состав питательной среды МРС, г/л: пептон - 10,0; дрожжевой экстракт - 20,0; глюкоза - 20,0; твин-80 - 1,0; дикалия гидрофосфат - 2,0; натрия ацетат - 5,0; триаммония цитрат - 2,0; магния сульфат - 0,2; марганца сульфат ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) - 0,05; мясная вода - до 1 л; рН 6,2. Оптимальная температура роста (37 ± 1) °С.

Идентификация проводилась после морфологического подтверждения клонов аутоштаммов лактобактерий с применением метода MALDI-TOF масс-спектрометрии по микробным маркерам из числа высших жирных кислот (VITEK® MS, Франция). Отдельные аутоштаммы секвенированы по консервативному гену 16S рРНК по заказу в НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика (Москва).

Адгезия *Lactobacillus spp.* к буккальному эпителию. Соскоб буккального эпителия осуществляли стерильным деревянным шпателем с внутренней поверхности щеки человека. Для изучения адгезивной активности по А. Г. Бойцову и соавт. [28], в пробирки вносили 800 мкл суспензии эпителиальных клеток и 600 мкл суспензии лактобактерий. Содержимое про-

бирок тщательно перемешивали и инкубировали в течение 2 ч при температуре 37 °С с периодическим повторным перемешиванием путём переворачивания пробирок. После инкубации неадсорбированные клетки бактерий удаляли путём двухкратного отмывания и центрифугирования (1000 об/мин в течение 3-х минут). Из осадка готовили мазки, которые после фиксации окрашивали генциановым фиолетовым. При микроскопии препарата подсчитывали количество клеток бактерий, прикрепившихся к поверхности каждой эпителиальной клетки. Подсчёт проводили не менее чем у 5-ти клеток эпителиоцитов и определяли индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ) по среднему числу адгезировавшихся микроорганизмов. Микроорганизмы считали неадгезивными при $ИАМ \leq 10,5$; низкоадгезивными - от 10,51 до 20,5; имели среднюю степень адгезии при ИАМ от 20,51-39,5, высокоадгезивными - при $ИАМ \geq 40$ и больше.

Исследование кислотообразующей активности аутоштаммов. Культуры аутоштаммов лактобактерий выращивали на питательной среде МРС. Через 2 суток путём смыва 0,9% раствором натрия хлорида получали суспензию лактобацилл в концентрации 10^9 КОЕ/мл. В пробирки разливали по 25 мл среды и вносили по 2,5 мл суспензии чистых культур. Содержимое тщательно перемешивали и выдерживали в течение 44 ± 4 ч при температуре 37 °С. После инкубации проводили определение кислотности в каждой пробирке. Для этого пробы (по 10,0 мл) титровали раствором гидроксида натрия в концентрации 0,1 моль/л в присутствии индикатора фенолфталеина: добавляли по 2-3 капли индикатора до появления стойкого слабо-розового окрашивания, затем по каплям добавляли гидроксид натрия. Активность кислотообразования определяли в градусах Тернера (T°) и вычисляли по формуле: $T = a * k * 10$, где:

a - количество миллилитров раствора гидроксида натрия в концентрации 0,1 моль/л; k - поправка к титру раствора гидроксида натрия в концентрации 0,1 моль/л; T - условная величина, выраженная в мл щелочи, использованная на титрование 10 мл исследуемой суспензии.

Учёт активности кислотообразования считали согласно полученным данным: 99,9 ($^\circ T$) и менее - низкая активность; 100,0-149,9 ($^\circ T$) - средняя; 150,0 ($^\circ T$) и более - высокая.

Определение чувствительности *Lactobacillus spp.* к антибактериальным препаратам (АМП) с помощью диско-диффузионного метода (ДДМ). Использовали чашки Петри диаметром 90 мм, содержащие не менее 20-25 мл питательной среды. Диски с АМП (НИЦФ, Санкт-Петербург) наносили с помощью стерильного пинцета через 10-15 минут после посева. Расстояние от диска до края чашки и между дисками составляло 15-20 мм. Чтобы диски равномерно контактировали с поверхностью питательной среды, аккуратно прижимали их пинцетом. Сразу после этого чашки помещали в инкубатор, содержащий $5 \pm 2\%$ CO_2 при 37 °С. Оценку результатов проводили через 18-24 ч инкубации [29]. Все исследуемые штаммы про-

верены на устойчивость к АМП: ванкомицин (ВА) 30 мкг, меропенем (МПН) 10 мкг, амикацин (АН) 30 мкг, рифамицин (РИФ) 5 мкг, тетрациклин (ТЕТ) 30 мкг, норфлоксацин (НОР) 10 мкг, левофлоксацин (ЛФЦ) 5 мкг, эритромицин (ЭРИ) 15 мкг, кларитромицин (КТМ) 15 мкг, азитромицин (АРН) 15 мкг, гентамицин (ГЕН) 10 мкг, цефтриаксон (ЦРО) 30 мкг, цефтазидим (ЦАЗ) 30 мкг, цефотаксим (ЦТК) 30 мкг, цефепим (ЦПМ) 30 мкг, имипенем (ИМ) 10 мкг, амоксициллин (АКЦ) 20 мкг, ампициллин (АМП) 10 мкг, бензилпенициллин (ПЕН) 10 мкг, левомицетин (ЛЕВ) 30 мкг.

Антагонизм штаммов *Lactobacillus spp.* к условно-патогенным микроорганизмам (УПМ). Антагонистическую активность лактобактерий определяли диффузионным методом (метод перпендикулярных штрихов), основанным на диффузии антибиотических веществ, образуемых испытуемыми штаммами лактобактерий, в толщу агаровой среды, содержащей тест-культуру и подавляющей рост последней. На поверхности агаровой среды в чашке Петри высевали штрихом экспоненциальную культуру исследуемого штамма лактобактерий и инкубировали при опти-

мальной для него температуре (30 и 37 °С соответственно, для мезофильных и термофильных форм) в течение определённого времени (например, 24 ч или 48 ч) для образования и диффузии в агар ингибиторных соединений. Затем перпендикулярно от края чашки к штриху выросшей культуры лактобактерий подседали тест-штаммы (*Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*), не касаясь в зоне 1 мм штриха лактобактерий. Чашку вновь инкубировали в условиях, благоприятных для роста тест-культуры. О наличии и степени антагонистической активности у испытуемых лактобактерий судили по величине зоны ингибирования на границе со штрихом роста лактобактерий.

Результаты. Лактобактерии на жидкой среде МРС-1 вырастали в виде равномерной мути и гомогенного белого осадка на дне пробирки, на полужидкой среде МРС-2 образовывали изолированные колонии в виде тяжей. На плотной среде МРС-4 штаммы *L. plantarum* образовывали выпуклые, непрозрачные, белые колонии, штаммы *L. fermentum* - слабо выпуклые, полупрозрачные, сероватые колонии. Под микроскопом видны палочковидные одиночные клетки.

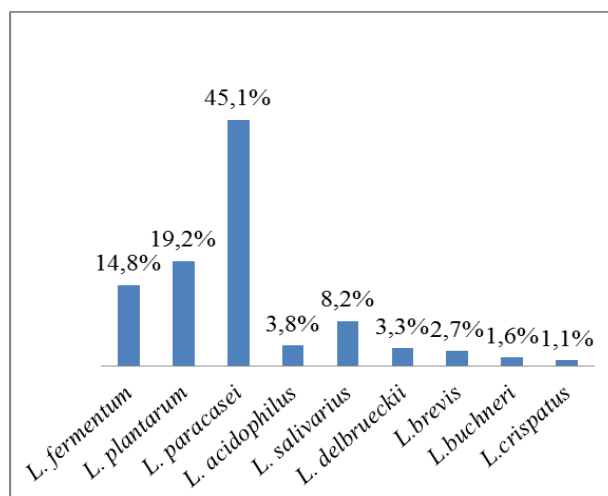


Рис. 1. Частота встречаемости видов *Lactobacillus spp.* при выделении из кишечника человека при дисбактериозах.

Выделены 182 штаммов *Lactobacillus spp.*, которые идентифицированы до вида: *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. crispatus*. Чаще всего встречались аутоштаммы вида *L. paracasei* (до 45,1%), значительно реже *L. fermentum*, *L. plantarum* (14,8% и 19,2%, соответственно) и очень редко выделялись прочие виды (рис. 1). В ходе анализа способности к адгезии к буккальному эпителию, антагонизму к патогенным бактериям и другим характеристикам отобраны наиболее эффективные и перспективные 9 аутоштаммов лактобактерий, филогенетическое положение которых подтверждено при секвенировании консервативного гена 16S рРНК. Все они депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) (Москва), и промаркированы для коллекции (табл. 1).

Таблица 1

Наименование штаммов для коллекции		
№ п/п	Название штамма	Вид <i>Lactobacillus spp.</i>
1	9SM	<i>L. paracasei</i>
2	Dec 1	<i>L. plantarum</i>
3	12 Pet	<i>L. fermentum</i>
4	Ku-f	<i>L. fermentum</i>
5	14 Ul-d	<i>L. delbrueckii</i>
6	15 Sul-c	<i>L. paracasei</i>
7	10 POD	<i>L. fermentum</i>
8	7LV	<i>L. plantarum</i>
9	Куз 2	<i>L. paracasei</i>

Адгезия *Lactobacillus spp.* к буккальному эпителию. Проведённые исследования показали, что

выделенные от конкретного лица аутоштаммы лактобактерий обладали наибольшей адгезивностью к буккальным эпителиоцитам того же индивидуума (ИАМ \geq 40,0), и меньшей способностью к адгезии, к эпителиоцитам других людей. Перекрёстная адгезия

аутоштаммов лактобактерий, полученных от других лиц к эпителию конкретного индивидуума показала, что можно выделить аутоштаммы *Lactobacillus spp.*, которые адгезировались к эпителиоцитам разных людей с высоким уровнем индекса адгезии (табл. 2).

Таблица 2

Перекрёстная адгезивность аутоштаммов к буккальным эпителиоцитам (в %)

Аутоштаммы <i>Lactobacillus spp.</i>	Высокая, ИАМ \geq 40	Средняя, ИАМ \geq 20,51-39,5	Низкая, ИАМ \geq 10,5-20,5	Неадгезивная, ИАМ \leq 10,5
9SM	70	20	10	0
Dec 1	70	20	10	0
12 Pet	50	40	10	0
Ku-f	50	40	10	0
14 UI-d	60	10	30	0
15 Sul-c	70	20	10	0
10 POD	80	20	0	0
7LV	70	20	10	0
Куз 2	60	30	10	0

Примечание. ИАМ - индекс адгезивности микроорганизмов.

Высоким уровнем адгезии из 182 выделенных от разных лиц аутоштаммов лактобактерий обладали высоким уровнем перекрёстной адгезии 9 аутоштаммов. Они по-

казали ИАМ \geq 40,0 у более, чем 50% пациентов. Лучшую адгезию показал аутоштамм 10 POD (ИАМ \geq 40,0 у 80% исследуемых пациентов) (рис. 2, а, б).

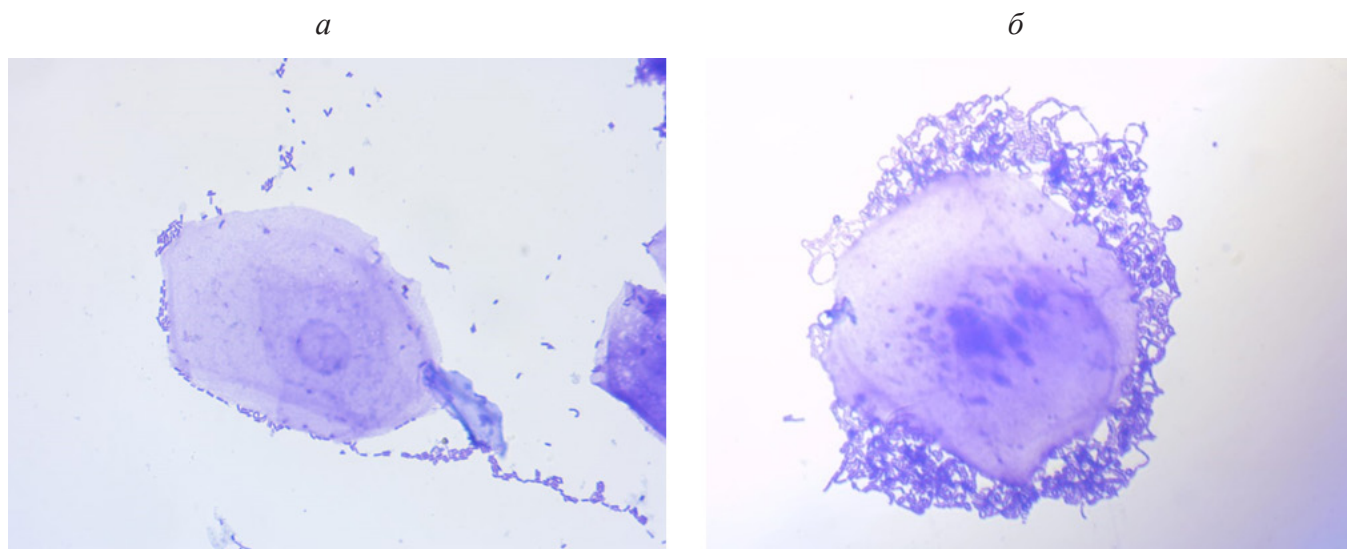


Рис. 2. Адгезия *Lactobacillus spp.* к буккальному эпителию.

а - низкий индекс адгезии к эпителиоцитам (ИАМ \geq 10,5-20,5); б - высокий индекс адгезии к эпителиоцитам (ИАМ \geq 40).

Отобранные 9 аутоштаммов имели хорошую кислотообразующую и антагонистическую активности к УПМ (табл. 3).

В среднем зона подавления *S. aureus* составила 22 мм, а *E. coli* - 23,7 мм.

Все штаммы имели высокую степень кислотообразования (более 150,0 °Т), что показывает эффективность *Lactobacillus spp.* создавать кислую среду.

Все исследуемые штаммы проверены на устойчивость к АМП: ванкомицин (ВА) 30 мкг, меропенем (МПН) 10 мкг, амикацин (АН) 30 мкг, рифампицин (РИФ) 5 мкг, тетрациклин (ТЕТ) 30 мкг, норфлоксацин (НОР) 10 мкг, левофлоксацин (ЛФЦ) 5 мкг, эритромицин (ЭРИ) 15 мкг, кларитромицин (КТМ) 15 мкг, азитромицин (АРН) 15 мкг, гентамицин (ГЕН) 10 мкг, цефтриаксон (ЦРО) 30 мкг, цефтазидим (ЦАЗ)

Антагонизм аутоштаммов к УПП и их кислотообразующая активность

Штамм	Антагонизм к УПП		Кислотообразующая активность (Т°)
	<i>Staphylococcus aureus</i> , мм	<i>Escherichia coli</i> , мм	
9SM	22±2	23±2	250
Dec 1	22±1	25±2	235
12 Pet	22±1	24±3	255
Ku-f	24±2	25±3	250
14 Ul-d	23±2	24±2	250
15 Sul-c	19±1	20±2	250
10 POD	22±1	23±2	200
7LV	23±2	27±1	247
Куз 2	21±1	23±1	250

30 мкг, цефотаксим (ЦТК) 30 мкг, цефепим (ЦПМ) 30 мкг, имипенем (ИМ) 10 мкг, амоксициллин (АКЦ) 20 мкг, ампициллин (АМП) 10 мкг, бензилпенициллин (ПЕН) 10 мкг, левомицетин (ЛЕВ) 30 мкг.

Все 9 штаммов оказались устойчивы к ванкомицину (ВА) 30 мкг, который относится к группе гликопептидов и оказывает бактерицидное действие, нарушает синтез клеточной стенки, проницаемость цитоплазматической мембраны и синтез РНК бактерий, активен в отношении грамположительных бактерий: *Staphylococcus spp.* (включая штаммы, продуцирующие пенициллиназу и метициллинрезистентные штаммы), *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Listeria spp.*, *Actinomyces spp.*, *Clostridium spp.* (в том числе, *Clostridium difficile*).

Промежуточную устойчивость к норфлоксацину имели штаммы Ku-f, Куз 2, 15 Sul-c, устойчивыми оказались Dec 1 и 7LV. Норфлоксацин - синтетический АМП группы фторхинолонов широкого спектра действия. Оказывает бактерицидное действие, подавляя ДНК-гиразу, нарушает процесс суперспирализации ДНК. Высокоактивен в отношении большинства грамотрицательных бактерий: *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*, *Morganella morganii*, *Klebsiella spp.* (в том числе, *Klebsiella pneumoniae*), *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *Providencia spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitides*, активен в отношении некоторых грамположительных бактерий (в том числе, *S. aureus*).

Обсуждение. Выделение новых штаммов аутопробиотиков является важным направлением в персонализированной медицине, аутоштаммы обладают всеми достоинствами коммерческих пробиотиков. Для этого необходимо продолжать поиски таких полезных *Lactobacillus spp.*, исследовать их эффективность при лечении различных заболеваний.

Показано, что в выбранной группе пациентов, чаще всего встречались аутоштаммы вида *L. paracasei* (до 45,1%), значительно реже *L. fermentum*, *L. plantarum* (19,2 и 14,8%, соответственно) и очень редко выделялись остальные виды (см. рис. 1).

Высокая адгезивная способность штаммов важна для прикрепления к поверхности кишечника и образования биоплёнок. Адгезия кишечных бактерий к эпителиальным клеткам является важным шагом к колонизации поверхности кишечника или возникновению заболевания. Патогенные бактерии связываются с рецепторами эпителиальных клеток кишечника и образуют плотные контакты, размножаются и продуцируют ферменты или токсины, вызывающие заболевание у человека, они могут образовывать плотную биоплёнку, что увеличивает их резистентность к АМП [30]. *Lactobacillus spp.* с высокой адгезивной способностью могут ингибировать активность патогенных бактерий, которые колонизируют кишечный тракт, могут уменьшать взаимодействие между патогенными бактериями и слизистой оболочкой кишечника, конкурируя за рецепторы для адгезии эпителиальных клеток, и ингибировать образование биоплёнок патогенными бактериями [30-33]. Исследование адгезивных способностей лактобактерий имеют большую значимость. Показано, что пробиотики на основе *Pediococcus pentosaceus* 2-5 и *L. reuteri* L-3 ингибируют рост и адгезию энтеропатогенных бактерий к клеткам Caco-2, за счёт своей высокой адгезивной способности к данным клеткам (26,37% и 21,57%, соответственно) [34]. Наши результаты показали, что выделенные 9 аутоштаммов *Lactobacillus spp.* лактобактерий обладают высоким уровнем перекрёстной адгезии. Они показали ИАМ \geq 40,0 более чем у 50% пациентов. Лучшую адгезию показал аутоштамм 10 POD (ИАМ \geq 40,0) у 80% исследуемых пациентов (см. рис. 2). Штаммы *Lactobacillus spp.*, имеющие высокий уровень адгезии к эпителиоцитам не только конкретного лица, от которого эти аутоштаммы выделены, но и к эпителиоцитам других людей, имеют универсальные адгезивные свойства и могут быть предложены в качестве универсального пробиотика.

После успешного проникновения и колонизации кишечника аутоштаммами *Lactobacillus spp.* должны обладать способностью ингибировать прикрепление и размножение патогенных бактерий в кишечнике, поскольку основным механизмом кишечной инфек-

ции является адгезия патогенных бактерий к поверхности слизистой оболочки кишечника. Механизмы действия лактобактерий на кишечные патогены сложны и многофакторны, но в основном включают выработку ингибирующих веществ, ингибирование адгезии патогенных бактерий, модуляцию иммунной системы, улучшение барьерной функции организма [35]. Как показали наши исследования, все отобранные штаммы *Lactobacillus spp.* активно ингибируют рост *E. coli* и *S. aureus*, что свидетельствует об их высокой эффективности.

Показатели устойчивости к антимикробным препаратам могут быть полезны врачам-клиницистам для лечения кишечных инфекций, где одновременный приём АМП может влиять на терапию. Некоторые виды лактобацилл обладают природной устойчивостью к ванкомицину и аминогликозидам [17, 36], тогда как другие гликопептиды обладают различной активностью в отношении разных видов и штаммов [34]. Чаще всего встречается устойчивость к метронидазолу и ванкомицину, соответственно не погибают при одновременном лечении данными антимикробными препаратами. Одновременно с этим, многие виды восприимчивы к пенициллину и ампициллину, поэтому при лечении рекомендуется соблюдать осторожность [38]. Отобранные штаммы имели устойчивость к ванкомицину, а штаммы Dec 1 и 7LV к норфлоксацину. Соответственно, при лечении данными АМП возможно одновременное применение и АМП и пробиотиков на основе соответствующих аутоштаммов *Lactobacillus spp.*

Заключение. Полученные аутоштаммы *Lactobacillus spp.* обладают высокой адгезионной способностью, кислотообразующей и антагонистической активностью и могут быть определены как кандидаты для дальнейших исследований и создания эффективных новых пробиотиков. Они могут применяться в качестве вспомогательных препаратов для повышения эффективности лекарственной терапии и контроля заболеваний, вызываемых энтеропатогенными бактериями. Чтобы использовать эти аутоштаммы в пробиотических препаратах, необходимо провести их дальнейшие испытания на животных моделях и полнее оценить их лечебный потенциал.

ЛИТЕРАТУРА

1. Точилина А. Г., Белова И. В., Соловьева И. В., Новикова Н.А., Иванова Т.П. Изучение биологических свойств штаммов рода *Lactobacillus*. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 5: 631.
2. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G. R., Merenstein D. J., Pot B. et al. Expert Consensus Document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 11: 506-14. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66.
3. Червинец В.М., Миронов А.Ю., Червинец Ю.В., Базлов С.Н. Состояние и значение микробиоценозов пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни, хроническом гастрите, эзофагите. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(1): 42-9. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-1-42-49.
4. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Миронов А.Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Тверь: Центр Тверского государственного медицинского университета; 2016.
5. Bonfili L., Cecarini V., Gogoi O., Gong C., Cuccioloni M., Angeletti M., Giacomo Rossi Eleuteri A.M. Microbiota modulation as preventative and therapeutic approach in Alzheimer's disease. *FEBS J.* 2021; 288: 2836-55. DOI: 10.1111/febs.15571.
6. Hu J., Wang C., Ye L., Yang W., Huang H., Meng F., Ding, Z. Shao-hua Shi. Anti-tumour immune effect of oral administration of *Lactobacillus plantarum* to CT26 tumour-bearing mice. *J. Biosci.* 2015; 40: 269-9. DOI: 10.1007/s12038-015-9518-4.
7. Kahouli I., Malhotra M., Westfall S., Alaoui-Jamali M.A., Prakash S. Design and validation of an orally administered active *L. fermentum-L. acidophilus* probiotic formulation using colorectal cancer Apc Min/+ mouse model. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017; 101: 1999-2019. DOI: 10.1007/s00253-016-7885-x.
8. Waigankar S. S., Patel V. Role of probiotics in urogenital healthcare. *J. Midlife Health.* 2011; 2: 5-10. DOI: 10.4103/0976-7800.83253.
9. Sunita G., Mallapa R.H., Kumar S.A., Kumar B.V. Probiotics for human health –new innovations and emerging trends. *Gut. Pathog.* 2012; 4: 15. DOI: 10.1186/1757-4749-4-15.
10. Kang J.H., Yun S.I., Park M.H., Park J.H., Jeong S.Y., Park H.O. Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 in high-sucrose diet-induced obese mice. *PLoS One.* 2013; 8: e54617. DOI: 10.1371/journal.pone.0054617.
11. Takeda S., Hidaka M., Yoshida H., Takeshita M., Kikuchi Y., Tsend-Ayush C. et al. Antiallergic activity of probiotics from mongolian dairy products on type I allergy in mice and mode of antiallergic action. *J. Funct. Foods.* 2014; 9: 60-9. DOI:10.1016/j.jff.2014.04.013.
12. Allaker R. P., Stephen A. S. Use of probiotics and oral health. *Curr. Oral. Health Rep.* 2017; 4: 309-18. DOI: 10.1007/s40496-017-0159-6.
13. Ince G., Gursoy H., Ipci S. D., Cakar G., Emekli-Alturfan E., Yilmaz S. Clinical and biochemical evaluation of lozenges containing *Lactobacillus reuteri* as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 2015; 86: 746-54. DOI:10.1902/jop.2015.140612.
14. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Чичановская Л.В., Ганзя Д.В., Григорьянц Э.О., Беляев В.С., Миронов А.Ю. Спектр газовых сигнальных молекул кишечных лактобацилл у больных ишемическим инсультом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(3): 163-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-3-163-169.
15. Ohshima T., Kojima Y., Seneviratne C.J., Maeda N. Therapeutic application of synbiotics, a fusion of probiotics and prebiotics, and biogenics as a new concept for oral candida infections: a mini review. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 10. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00010.
16. Yoo J.I., Shin I.S., Jeon J.G., Yang Y.M., Kim J.G., Lee D.W. The effect of probiotics on halitosis: a systematic review and meta-analysis. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2019; 11: 150-7. DOI: 10.1007/s12602-017-9351-1.
17. Sivamaruthi B.S., Kesika P., Chaiyasut C.A. Review of the role of probiotic supplementation in dental caries. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2020; 12: 1300-9. DOI: 10.1007/s12602-020-09652-9.
18. Zhang Y., Ding Y., Guo Q. Probiotic species in the management of periodontal diseases: an overview. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2022; 12: 806463. DOI: 10.3389/fcimb.2022.806463.
19. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Леонтьева А.В., Козлова Е.А., Стулов Н.М., Беляев В.С. и др. Микробном полости рта у больных пародонтитом, адгезивные и биопленкообразующие свойства. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(1): 45-51. DOI: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-45-51.
20. Bafeta A., Koh M., Riveros C., Ravaud P. Harms reporting in randomized controlled trials of interventions aimed at modifying microbiota: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2018; 169: 240. DOI: 10.7326/M18-0343.
21. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов. Воробьев А.А., Быков А.С., Бойченко М.Н., ред. 3-е изд. М.: Медицинское информационное агентство; 2022. ISBN 978-5-9986-0478-2.

22. Ильин В.К., Кирюхина Н.В. Синдром нарушения колонизационной резистентности человека в искусственной среде обитания и его профилактика. *Acta Naturae*. 2014; 6(2(21)): 11-20.
23. Lappara J.M., Sanz Y. Comparison of *in vitro* models to study bacterial adhesion to the intestinal epithelium. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009; 49: 695-701. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02729.x.
24. Collado M.C., Meriluoto J., Salminen S. Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007; 45: 454-60. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02212.x.
25. Salminen M.K., Rautelin H., Tynkkynen S. *Lactobacillus* bacteremia, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: e35-44. DOI: 10.1086/500214.
26. Fontana L., Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Muñoz-Quezada S., Gil A. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*. 2013; 109(S2): S35-S50. DOI: 10.1017/S0007114512004011.
27. Шендеров Б.А. Роль персонального функционального питания в современных программах медицины антастарения. *Вестник восстановительной медицины*. 2009; 3 (31): 9-17.
28. Бойцов А.Г., Ришук С.В., Ильясов Ю.Ю., Гречанинова Т.А. Адгезия лактобактерий к клеткам вагинального и буккального эпителия. *Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И. Мечникова*. 2004; 4 (5):191-3.
29. Саблин О. А., Михайлов Н. В., Юрин М. В., Ильичина Т. А., Кондрашин А. С., Кобиашвили М. Г., Жибрун А. Б. Первичная резистентность *Helicobacter pylori* к антибиотикам в Санкт-Петербурге. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2012; 8: 18-23.
30. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., Hussain T., Ali, M., Rafiq M., Kamil M.A. Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018; 81: 7-11. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.
31. Vasiee A., Falah F., Mortazavi S.A. Evaluation of probiotic potential of autochthonous lactobacilli strains isolated from Zabuli yellow kashk, an Iranian dairy product. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 133: 3201-14. DOI: 10.1111/jam.15772.
32. Barzegari A., Kheyrolahzadeh K., Khatibi S.M.H., Sharifi S., Memar M.Y., Vahed S.Z. The battle of probiotics and their derivatives against biofilms. *infect. Drug. Resistance*. 2020; 13: 659-72. DOI: 10.2147/IDR.S232982.
33. Gou H.-Z., Zhang Y.-L., Ren L.-F., Li Z.-J., Zhang L. How do intestinal probiotics restore the intestinal barrier? *Front. Microbiol.* 2022; 13: 929346. DOI: 10.3389/fmicb.2022.929346.
34. Wang P., Chen S., Liao C., Jia Y., Li J., Shang K., Chen J., Cao P., Li W., Li Y., Yu Z., Ding K. Probiotic properties of chicken-derived highly adherent lactic acid bacteria and inhibition of enteropathogenic bacteria in Caco-2 cells. *Microorganisms*. 2022; 10(12): 2515. DOI: 10.3390/microorganisms10122515.
35. Mathipa M.G., Thantsha M.S. Probiotic engineering: towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens. *Gut. Pathog.* 2017; 9: 28. DOI: 10.1186/s13099-017-0178-9.
36. Gueimonde M., Sanchez B.G., de Los Reyes-Gavilán C., Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front. Microbiol.* 2013; 4:202. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00202.
37. Goldstein E.J., Citron D.M., Merriam C.V., Warren Y., Tyrrell K., Fernandez H.T. *In vitro* activities of dalbavancin and nine comparator agents against anaerobic Gram-positive species and corynebacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47:1968-71. DOI: 10.1128/AAC.47.6.1968-1971.2003.
38. Goldstein E.J.C., Tyrrell K.L., Citron D.M. *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*. 2015; 60(2): 98-S107. DOI: 10.1093/cid/civ072.
2. Ivanova T. P. Study of the biological properties of strains of the genus *Lactobacillus*. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 5:631. (in Russian)
2. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G. R., Merenstein D. J., Pot B. et al. Expert consensus document. The International scientific association for probiotics and prebiotics cStatement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 11: 506-14. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66.
3. Chervinets V.M., Mironov A.Yu., Chervinets Yu.V., Bazlov S.N. The state and role of esophagus, stomach, intestinal microbiota in patients with ulcer disease, chronic gastritis, esophagitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(1): 42-9. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-1-42-49. (in Russian)
4. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Mironov A.Yu. Symbiotic relationship between lactobacilli and microorganisms of the gastrointestinal tract. Tver: Tsentr Tverskogo gosudarstvennogo meditsivskogo universiteta; 2016. (in Russian)
5. Bonfili L., Cecarini V., Gogoi O., Gong C., Cuccioloni M., Angeletti M., Giacomo Rossi Eleuteri A.M. Microbiota modulation as preventive and therapeutic approach in Alzheimer's disease. *FEBS J.* 2021; 288: 2836-55. DOI: 10.1111/febs.15571.
6. Hu J., Wang C., Ye L., Yang W., Huang H., Meng F. et al. Antitumour immune effect of oral administration of *Lactobacillus plantarum* to CT26 tumour-bearing mice. *J. Biosci.* 2015; 40: 269-79. DOI: 10.1007/s12038-015-9518-4.
7. Kahouli I., Malhotra M., Westfall S., Alaoui-Jamali M. A., Prakash S. Design and validation of an orally administered active *L. fermentum*-*L. acidophilus* probiotic formulation using colorectal cancer Apc Min/+ mouse model. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017; 101: 1999-2019. DOI: 10.1007/s00253-016-7885-x.
8. Waigankar S.S., Patel V. Role of Probiotics in Urogenital Healthcare. *J. Midlife Health*. 2011; 2: 5-10. DOI: 10.4103/0976-7800.83253.
9. Sunita G., Mallapa R.H., Kumar S.A., Kumar B.V. Probiotics for human health – new innovations and emerging trends. *Gut Pathog.* 2012; 4: 15. DOI: 10.1186/1757-4749-4-15.
10. Kang J.H., Yun S.I., Park M.H., Park J.H., Jeong S.Y., Park H.O. Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 in high-sucrose diet-induced obese mice. *PLoS One*. 2013; 8: e54617. DOI: 10.1371/journal.pone.0054617.
11. Takeda S., Hidaka M., Yoshida H., Takeshita M., Kikuchi Y., Tsend-Ayush C. et al. Antiallergic activity of probiotics from mongolian dairy products on type I allergy in mice and mode of antiallergic action. *J. Funct. Foods*. 2014; 9: 60-9. DOI: 10.1016/j.jff.2014.04.013.
12. Allaker R.P., Stephen A.S. Use of probiotics and oral health. *Curr. Oral. Health Rep.* 2017; 4: 309-18. DOI: 10.1007/s40496-017-0159-6.
13. Ince G., Gursoy H., Ipci S.D., Cakar G., Emekli-Alturfan E., Yilmaz S. Clinical and biochemical evaluation of lozenges containing *Lactobacillus reuteri* as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 2015; 86: 746-54. DOI: 10.1902/jop.2015.140612.
14. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Chichanovskaya L.V., Ganzya D.V., Grigoryants E. O., Belyaev V.S. et al. Spectrum of gas signaling molecules of intestinal lactobacilli in patients with ischemic stroke. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(3): 163-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-3-163-169. (in Russian)
15. Ohshima T., Kojima Y., Seneviratne C.J., Maeda N. Therapeutic application of synbiotics, a fusion of probiotics and prebiotics, and biogenics as a new concept for oral candida infections: a mini review. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 10. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00010.
16. Yoo J.I., Shin I.S., Jeon J.G., Yang Y.M., Kim J.G., Lee D.W. The effect of probiotics on halitosis: a systematic review and meta-analysis. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 2019; 11: 150-7. DOI: 10.1007/s12602-017-9351-1.
17. Sivamaruthi B.S., Kesika P., Chaiyasut C. A review of the role of probiotic supplementation in dental caries. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 2020; 12: 1300-9. DOI: 10.1007/s12602-020-09652-9.
18. Zhang Y., Ding Y., Guo Q. Probiotic species in the management of periodontal diseases: an overview. *Front Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 806463. DOI: 10.3389/fcimb.2022.806463.
19. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Leont'eva A.V., Kozlova E.A.,

REFERENCES

1. Tochilina A. G., Belova I. V., Solovieva I. V., Novikova N. A.,

- Stulov N.M., Belyaev V.S. et al. Microbiome of the oral cavity in patients with periodontitis, adhesive and biofilm-forming properties. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(1): 45-51. DOI: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-45-51. (in Russian)
20. Bafeta A., Koh M., Riveros C., Ravaud P. Harms reporting in randomized controlled trials of interventions aimed at modifying microbiota: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2018; 169: 240. DOI: 10.7326/M18-0343.
 21. Medical microbiology, virology and immunology: Textbook for students of medical universities. Vorob'yov A.A., Bykov A.S., Boychenko M.N. 3rd ed. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2022. ISBN 978-5-9986-0478-2. (in Russian)
 22. Il'in V.K., Kiryukhina N.V. Disruption of the colonization resistance syndrome in humans in altered habitats and its prevention. *Acta Naturae*. 2014; 6(2 (21)): 10-8.
 23. Laparra J.M., Sanz Y. Comparison of in vitro models to study bacterial adhesion to the intestinal epithelium. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009; 49: 695-701. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02729.x.
 24. Collado M.C., Meriluoto J., Salminen S. Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007; 45: 454-60. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02212.x.
 25. Salminen M.K., Rautelin H., Tynkkynen S. *Lactobacillus* bacteremia, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: e35-44. DOI: 10.1086/500214.
 26. Fontana L., Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Muñoz-Quezada S., Gil A. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*. 2013; 109(S2): S35-S50. DOI: 10.1017/S0007114512004011.
 27. Shenderov B.A. The role of personal functional nutrition in modern anti-aging medicine programs. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2009; 3(31):9-17. (in Russian)
 28. Boytsov A.G., Rishchuk S.V., Ilyasov Yu.Yu., Grechaninova T.A. Adhesion of lactobacilli to cells of the vaginal and buccal epithelium. *Vestnik Sankt-Peterburgskoy meditsinskoy akademii imeni I.I. Mechnikov*. 2004; 4(5):191-3. (in Russian)
 29. Sablin O.A., Mikhailov N.V., Yurin M.V., Ilchishina T.A., Kondrashin A.S., Kobiashvili M.G., Zhibrun A.B. Primary resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics in St. Petersburg. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2012; 8:18-23. (in Russian)
 30. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A. et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018; 81: 7-11. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.
 31. Vasiee A., Falah F., Mortazavi S.A. Evaluation of probiotic potential of autochthonous lactobacilli strains isolated from Zabuli yellow kashk, an Iranian dairy product. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 133: 3201-14. DOI: 10.1111/jam.15772.
 32. Barzegari A., Kheyrolahzadeh K., Khatibi S.M.H., Sharifi S., Memar M.Y., Vahed S.Z. The battle of probiotics and their derivatives against biofilms. *Infect. Drug. Resistance*. 2020; 13: 659-72. DOI: 10.2147/IDR.S232982.
 33. Gou H.-Z., Zhang Y.-L., Ren L.-F., Li Z.-J., Zhang L. How do intestinal probiotics restore the intestinal barrier? *Front. Microbiol.* 2022; 13: 929346. DOI: 10.3389/fmicb.2022.929346.
 34. Wang P., Chen S., Liao C., Jia Y., Li J., Shang K. et al. Probiotic properties of chicken-derived highly adherent lactic acid bacteria and inhibition of enteropathogenic bacteria in Caco-2 cells. *Microorganisms*. 2022; 10(12): 2515. DOI: 10.3390/microorganisms10122515.
 35. Mathipa M.G., Thantsha M.S. Probiotic engineering: Towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens. *Gut. Pathog.* 2017; 9: 28. DOI: 10.1186/s13099-017-0178-9.
 36. Gueimonde M., Sanchez B.G., de Los Reyes-Gavilán C., Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol.* 2013; 4:202. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00202.
 37. Goldstein E.J., Citron D.M., Merriam C.V., Warren Y., Tyrrell K., Fernandez H.T. *In vitro* activities of dalbavancin and nine comparator agents against anaerobic Gram-positive species and corynebacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47: 1968-71. DOI: 10.1128/AAC.47.6.1968-1971.2003.
 38. Goldstein E.J.C., Tyrrell K.L., Citron D.M. Lactobacillus species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*. 2015; 60(2): 98-S107. DOI: 10.1093/cid/civ072.