



## Изучение *in vitro* влияния ДНК пробиотического штамма *Bifidobacterium bifidum* на количественный уровень и колонизационные свойства кишечных микросимбионтов

Захарова Ю.В. , Сухих А.С., Леванова Л.А., Плотникова Е.Ю.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», 650056, Кемерово, Россия

**Цель** — оценка *in vitro* влияния ДНК, выделенной из пробиотического штамма *Bifidobacterium bifidum* 791, на количественный уровень и адгезивные свойства фекальных изолятов бифидобактерий и условно-патогенных микроорганизмов разных видов.

**Материалы и методы.** ДНК выделяли из пробиотического штамма *B. bifidum* 791. Биомассу бифидобактерий отмывали от питательной среды. Взвесь бактерий в буферном растворе трижды подвергали ультразвуковой обработке с частотой 40 кГц в течение 30 мин с последующим центрифугированием. Супернатанты объединяли и очищали хроматографически на Сефарозе CL-4В. В качестве тест-культур использовали *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli lac*–, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, изолированные из кишечника взрослых относительно здоровых людей.

**Результаты.** Раствор нуклеиновой кислоты концентрацией 3,54 мкг/мл не влиял на количественный уровень бифидобактерий ( $p = 0,61$ ). Содержание ДНК в растворе 14,15–21,23 мкг/мл способствовало увеличению титров *B. bifidum* и *B. breve* на 2 lg КОЕ/мл по сравнению с контролем ( $p = 0,01$ ), но не влияло на титры *S. aureus*, *E. coli lac*–, *E. faecalis*, *C. albicans* ( $p = 0,73$ ). Раствор ДНК повышал аутоагрегацию бифидобактерий в 1,5–2,0 раза. Способность к аутоагрегации под влиянием бифидобактериальной ДНК у *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans* не изменялась, у *E. coli lac*– увеличивалась в 2,3 раза ( $p = 0,05$ ).

**Заключение.** Раствор ДНК пробиотического штамма *B. bifidum* 791 концентрацией 14,15–21,23 мкг/мл стимулирует размножение и аутоагрегацию *B. breve*, *B. bifidum* фекального происхождения.

**Ключевые слова:** ДНК; бифидобактерии; количественный уровень; аутоагрегация.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Захарова Ю.В., Сухих А.С., Леванова Л.А., Плотникова Е.Ю. Изучение *in vitro* влияния ДНК пробиотического штамма *Bifidobacterium bifidum* на количественный уровень и колонизационные свойства кишечных микросимбионтов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(5): 424–430.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-5>

Поступила 21.03.2020

Принята в печать 01.08.2020

## *In vitro* study of the effect of *Bifidobacterium bifidum* probiotic strain DNA on the cell concentration and colonization properties of intestinal microsymbionts

Yulia V. Zakharova , Andrey S. Sukhikh, Lyudmila A. Levanova, Ekaterina Yu. Plotnikova

Kemerovo State Medical University, 650056, Kemerovo, Russia

**Aim.** To estimate *in vitro* the effect of DNA isolated from the probiotic strain *Bifidobacterium bifidum* 791 on the cell concentration and adhesive properties of fecal isolates of bifidobacteria and opportunistic microorganisms of different species.

**Materials and methods.** DNA was isolated from the probiotic strain *Bifidobacterium bifidum* 791. Biomass containing bifidobacteria was washed from the nutrient medium. The suspension of bacteria in the buffer solution was subjected to ultrasonic disintegration with a frequency of 40 kHz three times for 30 minutes, followed by centrifugation. The supernatants were combined and purified chromatographically on CL-4B Sepharose. *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli lac*–, *Enterococcus faecalis*, and *Candida albicans* were used as test cultures, isolated from the intestines of conditionally healthy adults.

**Results.** The nucleic acid solution with a concentration of 3.54 µg/ml did not affect the cell number of bifidobacteria ( $p = 0.61$ ). The DNA content in the solution of 14.15–21.23 µg/ml increased the titers of *B. bifidum* and *B. breve* by 2 lg CFU/ml compared to the control ( $p = 0.01$ ), but did not affect the titers of *S. aureus*, *E. coli lac*–, *E. faecalis*, *C. albicans* ( $p = 0.73$ ). The DNA solution stimulated the self-aggregation of bifidobacteria in 1.5–2.0 times. The ability to autoaggregate under the influence of bifidobacterial DNA in *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans* did not change, in *E. coli lac*– increased 2.3 times ( $p = 0.05$ ).

**Conclusion.** A DNA solution of the probiotic strain *B. bifidum* 791 with a content 14.15–21.23 µg/ml stimulates the reproduction and autoaggregation of fecal *B. breve*, *B. bifidum*.

**Keywords:** DNA; bifidobacteria; cell concentration; self-aggregation.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Zakharova Yu.V., Sukhikh A.S., Levanova L.A., Plotnikova E.Yu. *In vitro* study of the effect of *Bifidobacterium bifidum* probiotic strain DNA on the cell concentration and colonization properties of intestinal microsymbionts. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(5): 424–430. (In Russ.).  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-5>

Received 21 March 2020

Accepted 1 August 2020

## Введение

В настоящее время продолжается активное изучение кишечного микробиома. Это связано с многосторонним влиянием микробиоты на гомеостаз макроорганизма, которое осуществляется за счет ее участия во всех видах обмена веществ [1], нейрофизиологических процессах [2], поддержании иммунологической реактивности, реализации генетической программы человека [3]. Известно, что с качественными и количественными изменениями кишечной микробиоты связаны многие патологические состояния: метаболический синдром [4], колоректальный рак [5], атеросклероз [6]. Это не только предопределяет необходимость лечения основного заболевания, но и требует коррекции кишечного микробного сообщества. Основной задачей при коррекции является восстановление количественного уровня индигенных микросимбионтов — бифидобактерий и лактобацилл. Для этого назначают пробиотические препараты [7]. Однако нередко коррекция с помощью пробиотиков является неэффективной или дает непродолжительный эффект. Пробиотические микроорганизмы, особенно те, которые не заключены в кишечнорастворимую капсулу, при прохождении через разные отделы желудочно-кишечного тракта гибнут, поэтому толстого кишечника достигает лишь небольшая часть их популяции. Нередко штаммы пробиотических микроорганизмов испытывают антагонизм со стороны нормобиоты человека и гибнут в межвидовой борьбе либо транзитом проходят через толстокишечный биотоп вследствие лиганд-рецепторной несовместимости [8]. В связи с этим для нормализации микробиологического равновесия приоритетом является стимуляция роста и размножения собственной микробиоты.

Факторами, стимулирующими активность бифидобактерий, являются углеводы [9], ненасыщен-

ные жирные кислоты, антиоксиданты, аминокислоты [10]. Однако большинство средств, оказывающих пребиотическое и метабиотическое действие, не обладают селективностью, что затрудняет коррекцию микробиологических нарушений. Кроме того, некоторые препараты имеют противопоказания. В связи с этим востребованными являются средства, способные стимулировать размножение и колонизационные свойства только у бифидобактерий, но не у факультативной микробиоты.

В естественных условиях микроорганизмы формируют биопленки, которые представляют собой высокоорганизованное структурированное микробное сообщество, характеризующееся высокой устойчивостью к неблагоприятным воздействиям [11, 12]. В составе биопленок обнаруживают внеклеточные нуклеиновые кислоты [13], которые играют огромную роль в функционировании многовидовых бактериальных консорциумов. Данные биополимеры наряду с экзополисахаридами формируют межбактериальный матрикс [14]. При экзогенном воздействии и разрушении внеклеточных ДНК структура биопленки нарушается, что приводит к увеличению чувствительности бактерий к окружающим неблагоприятным факторам [12]. Кроме того, биополимеры выполняют роль аутоиндукторов, позволяющих бактериям контролировать численность популяции. Изучение структуры и механизмов функционирования биопленок патогенных и условно-патогенных микроорганизмов позволило разработать методы и способы борьбы с биопленочными инфекциями [15, 16]. Так, ферментативное разрушение внеклеточных нуклеиновых кислот используется для повышения чувствительности патогенных бактерий к антибиотикам [17].

Индигенная микробиота кишечника также заключена в полисахаридный матрикс. От стабильности пристеночной бактериальной биопленки

зависит здоровье человека, поэтому возникает необходимость изучения особенностей жизнедеятельности и способов управления популяцией бифидобактерий, основанных на естественных механизмах функционирования биопленочных микробных сообществ.

**Цель** исследования — оценка *in vitro* влияния ДНК, выделенной из пробиотического штамма *Bifidobacterium bifidum* 791, на количественный уровень и адгезивные свойства фекальных изолятов бифидобактерий и условно-патогенных микроорганизмов разных видов.

### Материалы и методы

ДНК извлекали из штамма *B. bifidum* 791, полученного из Государственной коллекции нормальной микрофлоры ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Использование штамма данного вида было связано с преобладанием среди бифидобактерий у детей с эубиозом *B. bifidum* и высокой частотой его встречаемости у взрослых людей [1].

Предварительно выращивали культуру *B. bifidum* 791 в течение 48 ч на жидкой Бифидум-среде (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск) при температуре культивирования 37°C. Содержание бифидобактерий в биомассе составило 10<sup>8</sup> КОЕ/мл. Бульонную культуру помещали в стерильные центрифужные пробирки и отмывали трижды фосфатным буфером (3 мМ хлорида калия, 8 мМ гидрофосфата натрия, 140 мМ хлорида натрия, 2 мМ дигидрофосфата натрия рН 7,2) от питательной среды. На каждом этапе отмывки культуры от питательной среды проводили центрифугирование при 3–4 тыс. об/мин.

Для ресуспендирования клеточной массы использовали буферную систему в объеме 2 мл на 1 г бактериальной массы. Взвесь бактерий в буферном растворе трехкратно обрабатывали ультразвуком в дезинтеграторе «ТИ-Н20 MF3» («Elma») с частотой 40 кГц на протяжении 30 мин. Порционная дезинтеграция микробных клеток была направлена на разрушение их клеточных стенок с максимальной возможностью сохранения целостности внутриклеточных структур. Далее при 5 тыс. об/мин проводили центрифугирование.

Полученные супернатанты очищали от разрушившихся бактериальных компонентов хроматографически на Сефарозе CL-4В. Элюирование ДНК проводили физиологическим раствором.

Наличие двуцепочечной ДНК определяли при электрофорезе аликвоты образца объемом 10 мкл в 3% агарозном геле с применением бромистого этидия в качестве красителя. Электрофорез осуществляли при напряжении электрического поля 200 В в течение 15 мин.

С полученной ДНК снимали инфракрасные спектры на спектрофотометре «СФ-2000». Согласно методике [18] измеряли поглощение пробы при

$\lambda = 260$  и  $\lambda = 280$ , что позволило определить чистоту образца и концентрацию ДНК.

Для определения характера воздействия выделенной ДНК в качестве тест-культур использовали *B. bifidum* ( $n = 10$ ), *B. infantis* ( $n = 12$ ), *B. breve* ( $n = 15$ ), изолированные из кишечника взрослых относительно здоровых людей. Влияние раствора ДНК на размножение условно-патогенных кишечных микросимбионтов оценивали на кишечных изолятах *Escherichia coli lac*– ( $n = 8$ ), *Staphylococcus aureus* ( $n = 10$ ), *Candida albicans* ( $n = 10$ ), *Enterococcus faecalis* ( $n = 8$ ). Идентификацию всех микроорганизмов проводили на основании комплекса морфологических, культуральных и биохимических свойств. Биохимическую идентификацию вели с использованием коммерческих тест-систем «ENTERO-TEST» («Lachema»), «ANAERO-TEST 23» («Lachema»), «AUXOCOLOR» («BioRad»). Оценивали влияние раствора ДНК на специфическую адгезию, аутоагрегацию бифидобактерий и условно-патогенных микросимбионтов. Показатели специфической адгезии изучали на модели эритроцитов человека 0(I) группы Rh+ [19]. Определяли индекс адгезии микроорганизмов (ИАМ). Низкоадгезивными считали микроорганизмы при ИАМ = 1,76–2,5; среднеадгезивными — при ИАМ = 2,51–4,0; высокоадгезивными — при ИАМ > 4,0. Аутоагрегацию бактерий (А) исследовали по методу [20]. Культуры относили к низкоагрегативным штаммам при А < 10%, к среднеагрегативным — при А = 10–40% и к высокоагрегативным — при А > 40%.

Изучали *in vitro* влияние выделенного фактора на бифидофлору и условно-патогенные микросимбионты. Бифидобактерии предварительно выращивали на плотной Бифидум-среде (все среды — производства ФБУН ГНЦ ПМБ) в анаэробных условиях с использованием газогенерирующих пакетов («Новое дело») и анаэрометров («BBL»). Факультативные бактерии выращивали на мясо-пептонном агаре, грибы — на среде № 2 Сабуро.

Брали 4 стерильные пробирки и разливали следующие ингредиенты:

- в первую пробирку помещали 9,5 мл жидкой Бифидум-среды и 0,5 мл раствора ДНК;
- во вторую пробирку — 8 мл среды и 2 мл раствора нуклеиновой кислоты;
- в третью пробирку — 7 мл среды и 3 мл раствора ДНК. Конечная концентрация ДНК в каждой пробирке в расчете на 1 мл составила 3,54, 14,15 и 21,23 мкг соответственно;
- в четвертую пробирку — жидкую Бифидум-среду в объеме 10 мл (контроль).

Во все пробирки вносили по одной колонии тест-культур (*B. infantis*, *B. bifidum*, *B. breve*) и культивировали 1 сут при 37°C. Содержимое пробирок титровали от 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-9</sup> КОЕ/г, затем проводили высеив на плотную питательную среду. Чашки ин-

кубировали в анаэробных условиях в течение 2 сут при 37°C, после этого в высевах из наибольших разведений подсчитывали колонии, результат выражали в КОЕ/мл.

Влияние раствора ДНК на факультативных представителей кишечного микробиоценоза изучали аналогичным образом на мясо-пептонном бульоне и жидкой среде Сабуро. После сокультивирования раствора ДНК и условно-патогенных микроорганизмов проводили высеив на плотные питательные среды. Лактозонегативные *E. coli* культивировали на среде Эндо, энтерококки — на энтерококкагаре, стафилококки — на желточно-солевом агаре, грибы *C. albicans* — на агаризированной среде № 2 Сабуро.

Для обработки полученных данных использовали программный комплекс «PS IMAGO» («IBM SPSS Statistics»). Описательная статистика представлена средними значениями количественных показателей в виде медианы и значений 25-го и 75-го квартилей. Характер распределения данных оценивали с помощью визуального метода, путем построения гистограмм. В связи с тем, что данные были распределены асимметрично, достоверность различий оценивали, используя критерий *U* Манна–Уитни и критерий  $\chi^2$ . Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Выделенная ДНК по спектрофотометрическим характеристикам соответствовала ДНК высокой степени очистки, т.к. соотношение ОП<sub>260</sub>/ОП<sub>280</sub> образца составило 1,88 [18]. В полученном растворе содержалось 70,75 мкг/мл двуцепочечной ДНК.

Установлено, что раствор ДНК с концентрацией 3,54 мкг/мл не обладал способностью стимулировать размножение бифидобактерий, т.к. коли-

чественное содержание тест-культур не отличалось от контрольной пробирки (таблица) ( $p = 0,61$ ). Раствор с содержанием ДНК 14,15–21,23 мкг/мл стимулировал размножение *B. bifidum* и *B. breve*, т.к. их титры были на 2 lg КОЕ/мл выше, чем в контроле ( $p = 0,01$ ). Однако он не влиял на размножение *B. infantis*, потому что количество бифидобактерий в опытных пробирках не отличалось от их содержания в контрольной пробе ( $p = 0,64$ ).

При оценке влияния раствора ДНК на количественный уровень условно-патогенной микробиоты установлено отсутствие его стимулирующего влияния на *E. coli lac-*, *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis*. После соинкубирования факультативной микробиоты с ДНК *B. bifidum* 791 содержание вышеуказанных условно-патогенных бактерий не отличалось от контроля ( $p = 0,73$ ).

Количественный уровень является важным, но не единственным фактором для формирования биопленок и поддержания стабильности микробного сообщества. Поддержание гомеостаза макроорганизма возможно только при контактном взаимодействии микросимбионтов и слизистой кишечника. Установлено, что выделенная ДНК не влияла на показатели специфической адгезии бифидобактерий. Среднее значение ИАМ бифидобактерий до культивирования с раствором ДНК для штаммов *B. bifidum* составило 2,71 (2,53; 3,43), для *B. infantis* — 3,2 (2,7; 3,54), для *B. breve* — 3,4 (2,9; 3,8), после культивирования бифидобактерий с раствором ДНК — 2,87 (2,67; 3,1), 3,3 (2,8; 3,5) и 3,1 (2,8; 3,3) соответственно ( $p = 0,8$ ). При этом аутоагрегация фекальных штаммов *B. bifidum* увеличилась с 34,41 до 54,3% ( $p = 0,04$ ), *B. infantis* — с 24,3 до 48,1% ( $p = 0,01$ ), *B. breve* — с 28,4 до 45,6% ( $p = 0,05$ ).

Количественное содержание *Bifidobacterium* spp. и условно-патогенных бактерий при культивировании *in vitro* с ДНК пробиотического штамма, lg КОЕ/мл, Me (LQ; UQ)

Quantitative content of *Bifidobacterium* spp. and opportunistic bacteria cultivated *in vitro* with DNA of probiotic strain, lg CFU/ml, Me (LQ; UQ))

Тест-культура Test culture	n	Контроль (без раствора ДНК) Control (without DNA solution)	Конечная концентрация ДНК в растворе, мкг/мл Final DNA concentration in solution, µg/ml		
			3,54	14,15	21,23
<i>B. bifidum</i>	10	8,0 (7; 9)	8,0 (8; 10)	9,5 (8; 10)	10,0 (8; 11)*
<i>B. infantis</i>	12	8,5 (8; 9)	8,0 (7; 9)	8,0 (7; 9)	8,5 (7; 10)
<i>B. breve</i>	15	8,0 (7; 10)	8,0 (7; 9)	10,0 (8; 10)*	10,0 (8; 10)
<i>E. coli lac-</i>	8	7,0 (5; 8)	7,0 (6; 8)	7,0 (5; 8)	7,0 (5; 8)
<i>S. aureus</i>	10	6,0 (5; 7)	5,5 (4; 6)	6,0 (5; 7)	5,5 (5; 6)
<i>C. albicans</i>	10	3,0 (2; 4)	3,5 (2; 4)	3,5 (2; 4)	3,0 (2; 4)
<i>E. faecalis</i>	8	6,0 (4; 8)	5,0 (4; 7)	6,0 (5; 8)	6,0 (5; 7)

**Примечание.** \* Статистически значимые различия между опытом и контролем при достигнутом уровне значимости  $p = 0,01$ .

**Note.** \* Statistically significant differences between experiment and control at the achieved significance level  $p = 0.01$ .

Раствор ДНК *B. bifidum* 791 не оказывал влияния на адгезивные свойства условно-патогенных микроорганизмов. Так, показатели адгезии до и после обработки раствором ДНК у *E. coli lac*– составили 2,8 (2,7; 3,8) и 3,08 (2,7; 3,8) ( $p = 0,8$ ), у *S. aureus* — 3,54 (2,72; 3,9) и 3,95 (2,9; 4,0) ( $p = 0,6$ ), у *E. faecalis* — 3,1 (2,6; 3,3) и 3,48 (2,8; 3,5) ( $p = 0,8$ ), у *C. albicans* — 2,1 (1,5; 2,2) и 3,08 (1,7; 3,2) ( $p = 0,6$ ). При этом установлено увеличение показателей аутоагрегации у *E. coli lac*– с 10,9 до 25,3% ( $p = 0,05$ ).

### Обсуждение

Микробиота кишечника представляет собой многокомпонентное сообщество, которое функционирует в виде биологических пленок [11, 15]. Формирование биопленок рассматривают как механизм, позволяющий успешно выживать популяциям в изменяющейся и неблагоприятной окружающей среде. Наиболее значимыми являются коммуникативные взаимодействия между микроорганизмами [21], которые представляют собой целую систему, обеспечивающую популяционный ответ на любой экзогенный раздражитель. В качестве сигналов, модулирующих поведение всей популяции микроорганизмов, используются бактериальные метаболиты [21], а также продукты микробного распада, например нуклеиновые кислоты [13, 21]. Однако известно также, что бактерии еще при жизни способны выделять ДНК в межклеточный матрикс биопленок [13, 18]. Основное ее отличие от ДНК, попавшей в матрикс из погибших клеток, — это одинаковый размер фрагментов, равный 21 000 кД. Такую ДНК рассматривают как продукт метаболизма бактерий.

В опытах *in vitro* показано, что выделенная из бульонной культуры *B. bifidum* 791 ДНК обладает бифидогенным эффектом. Стимуляция размножения бифидобактерий, вероятно, обусловлена несколькими механизмами. Основной механизм — аутоиндукторная роль ДНК бифидобактерий с последующей активацией генов, ответственных за размножение [13, 14]. Еще один механизм — стимуляция факторов колонизации за счет использования микробным сообществом внеклеточной ДНК как дополнительного источника нутриентов: фосфатов, связанного азота и углерода. Установлено, что в присутствии раствора ДНК увеличивается аутоагрегация как бифидобактерий, так и некоторых условно-патогенных микросимбионтов, потому что ДНК представляет собой «липкую» молекулу, способную связываться как с гидрофильными, так и с гидрофобными поверхностями бактериальных клеток [13]. Аутоагрегативные свойства микроорганизмов способствуют формированию микроколоний, что повышает возможность выживания бактерий при воздействии неблагоприятных условий. Увели-

чение аутоагрегации индигенной микробиоты ведет к увеличению антагонизма бифидобактерий к условно-патогенным микроорганизмам, т.к. высокоагрегативные бифидобактерии способны выводить из кишечника транзиторные бактерии, блокируя их взаимодействие с рецепторами слизистой оболочки [11]. Однако рост аутоагрегации *E. coli lac*– в присутствии раствора ДНК является нежелательным эффектом, поэтому данный компонент целесообразно использовать после селективной деконтаминации кишечника.

### Заключение

Раствор ДНК пробиотического штамма *B. bifidum* 791 является бактериальным продуктом, который *in vitro* способен регулировать количественный уровень и аутоагрегативные свойства фекальных изолятов *B. bifidum*, *B. breve*, что свидетельствует о перспективности использования данного компонента в качестве средства для коррекции кишечного микробиоценоза.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бовбель И.Э. Современные представления о микробиоте кишечника и возможности эффективного применения пробиотиков в практике врача-педиатра. *Медицинские новости*. 2017; (2): 25–31.
2. Аверина О.В., Даниленко В.Н. Микробиота кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы. *Микробиология*. 2017; 86(1): 5–24. <https://doi.org/10.7868/S0026365617010050>
3. Шендеров Б.А., Голубев В.Л., Данилов А.Б. Роль питания и симбиотической микробиоты в эпигенетике нейродегенеративных заболеваний. *Лечение заболеваний нервной системы*. 2015; (1): 3–14.
4. Щербак М.Ю., Власова А.В., Роживанова Т.А. Роль микробиоты кишечника в развитии ожирения в возрастном аспекте. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015; (2): 11–6.
5. Meng C., Bai C., Brown T.D., Hood L.E., Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2018; 16(1): 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2017.06.002>
6. Конев Ю.В., Лазебник Л.Б. Роль эндотоксина кишечной микробиоты в патогенезе атеросклероза. *Терапия*. 2015; 2(2): 19–27.
7. Yahfoufi N., Mallet J.F., Graham E., Matar C. Role of probiotics and prebiotics in immunomodulation. *Curr. Opin. Food Sci.* 2018; 20: 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.006>
8. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2005; (2): 56–61.
9. Moniz P., Ho A.L., Duarte L.C., Kolida S., Rastall R.A., Pereira H., et al. Assessment of bifidogenic effect of substituted xylooligosaccharides obtained from corn straw. *Carbohydr. Polym.* 2016; 136: 466–73. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.046>
10. Хорошилова И.А., Гранитов В.М. Применение про- и пребиотиков в лечении инфекционных поражений кишечника. *Медицинское обозрение. Наука и практика*. 2015; (3): 26–31.
11. Бондаренко В.М., Рыбальченко О.В., Орлова О.Г. Бактериальные биопленки условно-патогенных бактерий и их

- подавление пробиотическими лактобациллами. *Лечение и профилактика*. 2014; (2): 28–35.
- Петрова Н.В. Биопленки: этапы формирования, свойства и клинические последствия. *Клиническая патофизиология*. 2015; (3): 9–16.
  - Jakubovics N., Burgess J.G. Extracellular DNA in oral microbial biofilms. *Microbes Infect.* 2015; 17(7): 531–7. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.03.015>
  - Тец Г.В., Артеменко Н.К., Заславская Н.В., Тец В.В. Состояние бактериальных биопленок при длительном культивировании. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013; 155(4): 460–3.
  - Тюляндина Е.В., Годовалов А.П. Изучение действия лейкоцитов, активированных индуктором интерферона, на биопленки *Staphylococcus aureus*. *Авиценна*. 2016; 1(9): 21–2.
  - Данилова Т.А., Данилина Г.А., Аджиева А.А., Минко А.Г., Николаева Т.Н., Жуховицкий В.Г. и др. Влияние Мирамистина и Фоспренила на микробные биопленки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 163(4): 435–9.
  - Рахматулина М.Р., Нечаева И.А. Биопленки микроорганизмов и их роль в формировании резистентности к антибактериальным препаратам. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015; (2): 58–62.
  - Holmes D.S., Quigley M. A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem.* 1981; 114(1): 193–7. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90473-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90473-5)
  - Брилис В.И., Брилине Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. *Лабораторное дело*. 1986; 4: 210–2.
  - Del Re B., Sgorbati B., Miglioli M., Palenzona D. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000; 31(6): 438–42. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00845>
  - Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микробное распознавание «своей-чужой» в условиях кишечного микросимбиоза человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; (6): 46–51.
  - Konev Yu.V., Lazebnik L.B. Role of endotoxin of intestinal microbiota in the pathogenesis of atherosclerosis. *Terapiya*. 2015; 2(2): 19–27. (in Russian)
  - Yahfoufi N., Mallet J.F., Graham E., Matar C. Role of probiotics and prebiotics in immunomodulation. *Curr. Opin. Food Sci.* 2018; 20: 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.006>
  - Glushanova N.A., Shenderov B.A. Relationships between the probiotic and host indigenous lactobacilli under the conditions of mixed cultivation *in vitro*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2005; (2): 56–61. (in Russian)
  - Moniz P., Ho A.L., Duarte L.C., Kolida S., Rastall R.A., Pereira H., et al. Assessment of bifidogenic effect of substituted xylooligosaccharides obtained from corn straw. *Carbohydr. Polym.* 2016; 136: 466–73. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.046>
  - Khoroshilova I.A., Granitov V.M. The use of pro- and prebiotics in the treatment of infectious intestinal lesions. *Meditsinskoe obozrenie. Nauka i praktika*. 2015; (3): 26–31. (in Russian)
  - Bondarenko V.M., Rybal'chenko O.V., Orlova O.G. The bacterial biofilms of opportunistic bacteria and their suppression of probiotic lactobacilli. *Lechenie i profilaktika*. 2014; (2): 28–35. (in Russian)
  - Petrova N.V. Biofilms: stages of formation, properties and clinical consequences. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2015; (3): 9–16. (in Russian)
  - Jakubovics N., Burgess J.G. Extracellular DNA in oral microbial biofilms. *Microbes Infect.* 2015; 17(7): 531–7. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.03.015>
  - Tets G.V., Artemenko N.K., Zaslavskaya N.V., Tets V.V. Characteristics of bacterial biofilms during long-term culturing. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2013; 155(4): 460–3. (in Russian)
  - Tyulyandina E.V., Godovalov A.P. Study of the effect of white blood cells activated by an interferon inducer on biofilms *Staphylococcus aureus*. *Avitsenna*. 2016; 1(9): 21–2. (in Russian)
  - Danilova T.A., Danilina G.A., Adzhieva A.A., Minko A.G., Nikolaeva T.N., Zhukhovitskiy V.G., et al. Effects of miramistin and phosprenil on microbial biofilms. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2017; 163(4): 435–9. (in Russian)
  - Rakhmatulina M.R., Nechaeva I.A. Biofilms of microorganisms and their role for the formation of resistance to anti-bacterial drugs. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2015; (2): 58–62. (in Russian)
  - Holmes D.S., Quigley M. A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem.* 1981; 114(1): 193–7. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90473-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90473-5)
  - Brilis V.I., Briline T.A., Lentsner Kh.P., Lentsner A.A. The methodology of studying the adhesion process of microorganisms. *Laboratornoe delo*. 1986; 4: 210–2. (in Russian)
  - Del Re B., Sgorbati B., Miglioli M., Palenzona D. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000; 31(6): 438–42. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00845>
  - Bukharin O.V., Perunova N.B. Microbial «friend-foe» identification in human intestine microsymbiogenesis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; (6): 46–51. (in Russian)

## REFERENCES

- Bovbel' I.E. Intestinal microbiota and use of probiotics in pediatric practice. *Meditsinskie novosti*. 2017; (2): 25–31. (in Russian)
- Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: role in development and functioning of the nervous system. *Mikrobiologiya*. 2017; 86(1): 5–24. <https://doi.org/10.7868/S0026365617010050> (in Russian)
- Shenderov B.A., Golubev V.L., Danilov A.B. The role of nutrition and symbiotic microbiota in epigenetics of neurodegenerative disorders. *Lechenie zabolovaniy nervnoy sistemy*. 2015; (1): 3–14. (in Russian)
- Shcherbakova M.Yu., Vlasova A.V., Rozhivanova T.A. The role of the intestine microbiota in the development of obesity. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2015; (2): 11–6. (in Russian)
- Meng C., Bai C., Brown T.D., Hood L.E., Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2018; 16(1): 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2017.06.002>

## Информация об авторах

Захарова Юлия Викторовна<sup>✉</sup> — к.м.н., доц., доц. каф. микробиологии, иммунологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», 650056, Кемерово, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3475-9125>.  
E-mail: [yvz@bk.ru](mailto:yvz@bk.ru)

Сухих Андрей Сергеевич — к.фарм.н., доц., с.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО

## Information about the authors

Yulia V. Zakharova<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Chair of microbiology, immunology and virology, Kemerovo State Medical University, 650056, Kemerovo, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3475-9125>.  
E-mail: [yvz@bk.ru](mailto:yvz@bk.ru)

Andrey S. Sukhikh — Cand. Sci. (Pharm.), Assoc. Prof., senior researcher, Central research laboratory, Kemerovo State Medical University, 650056, Kemerovo, Russia.

«Кемеровский государственный медицинский университет»,  
650056, Кемерово, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9300-5334>.  
E-mail: [suhih\\_as@list.ru](mailto:suhih_as@list.ru)

*Леванова Людмила Александровна* — д.м.н., доц., зав. каф.  
микробиологии, иммунологии и вирусологии ФГБОУ ВО  
«Кемеровский государственный медицинский университет»,  
650056, Кемерово, Россия  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5977-9149>  
E-mail: [micro@kemsma.ru](mailto:micro@kemsma.ru)

*Плотникова Екатерина Юрьевна* — д.м.н., проф., проф.  
каф. поликлинической терапии, последипломной подготовки и  
сестринского дела ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный  
медицинский университет», 650056, Кемерово, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-1808>.  
E-mail: [eka-pl@rambler.ru](mailto:eka-pl@rambler.ru)

**Участие авторов:** Захарова Ю.В. — выполнение бактериологических исследований, написание статьи; Сухих А.С. — разработка методики и выделение ДНК бифидобактерий; Леванова Л.А. — дизайн и организация исследований; Плотникова Е.Ю. — статистическая обработка материала, написание статьи.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9300-5334>.  
E-mail: [suhih\\_as@list.ru](mailto:suhih_as@list.ru)

*Lydmila A. Levanova* — D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head, Chair  
of microbiology, immunology and virology, Kemerovo State Medical  
University, 650056, Kemerovo, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5977-9149>  
E-mail: [micro@kemsma.ru](mailto:micro@kemsma.ru)

*Ekaterina Yu. Plotnikova* — D. Sci. (Med.), Prof., Professor of the  
Department of outpatient therapy, postgraduate training and nursing,  
Kemerovo State Medical University, 650056, Kemerovo, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-1808>.  
E-mail: [eka-pl@rambler.ru](mailto:eka-pl@rambler.ru)

**Contribution:** Zakharova Yu.V. — performing bacteriological research, writing an article; Sukhikh A.S. — development of methods and isolation of bifidobacteria DNA; Levanova L.A. — design and organization of research; Plotnikova E.Yu. — statistical processing of the material, writing the article.