



Калашникова И.Г., Некрасова А.И., Грицюк О.В., Федец З.Е., Панькова М.Н.,
Загайнова А.В., Жернов Ю.В., Макаров В.В., Юдин С.М.

Влияние различных углеводных субстратов на антагонистическую активность пробиотических штаммов *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium longum* в отношении условных патогенов

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Углеводы, в том числе пищевые сахара и пребиотические олиго- и полисахариды, могут влиять на функциональную активность пробиотических бактерий посредством модуляции их метаболических процессов. Важным свойством пребиотиков является селективная активация эндогенных защитных популяций микрофлоры кишечника, что способствует подавлению роста патогенных и условно патогенных микроорганизмов. При этом специфичность различных пребиотических добавок по отношению к определённым экзогенным пробиотическим микроорганизмам остаётся неясной. Пробиотики могут быть компонентом многих пищевых продуктов и БАД к пище, поэтому важно понимать, как различные питательные субстраты влияют на их метаболическую и функциональную активность. Это знание позволит разрабатывать более эффективные продукты и добавки для поддержания бактериального баланса кишечника. Исследования *in vitro* позволяют оценить влияние отдельных компонентов на пробиотические штаммы. В настоящей работе изучено влияние различных углеводных субстратов на антагонистическую активность экзогенных пробиотических штаммов *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium longum* в отношении ряда условно патогенных микроорганизмов.

Цель исследования — оценить влияние различных углеводных субстратов, в том числе пищевых сахаров и пребиотиков, на антагонистическую активность штаммов *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium longum* в отношении условно патогенных микроорганизмов.

Материалы и методы. Методом двухэтапного культивирования в условиях комбинированной системы изучена антагонистическая активность двух пробиотических штаммов в отношении семи патогенных микроорганизмов в присутствии девяти различных углеводных субстратов.

Результаты. Установлено, что пробиотические штаммы способны проявлять избирательные антагонистические свойства в отношении одного и того же патогена в зависимости от присутствия разных источников углеводов. Так, например, было выявлено, что лактоза и сахароза способствуют повышению степени антагонистической активности лактобактерий в отношении *Staphylococcus aureus* с умеренной на высокую относительно как безуглеводного, так и положительного контроля, содержащего глюкозу, а инулин и фруктоолигосахариды (ФОС) подавляют конкурентные свойства данного штамма относительно *Pseudomonas aeruginosa*. Исследуемый штамм *Bifidobacterium longum* проявляет умеренную антагонистическую активность в отношении *E. coli* и *C. jejuni*, однако некоторые субстраты (сахароза, маннит, инулин, хитозан) способны угнетать данное свойство. В то же время такие субстраты, как лактоза, мальтоза, сахароза, хитозан и N-ацетил-D-глюкозамин, способствуют повышению антагонистической активности с низкой до умеренной в отношении *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. На основании полученных данных можно предположить, что N-ацетил-D-глюкозамин (NAG), маннит, мальтоза и лактоза представляют интерес как субстраты, повышающие антагонистический потенциал исследуемых штаммов в отношении ряда условных патогенов *in vitro*.

Ограничения исследования. Не проводилось совместное культивирование пробиотических штаммов и не оценивалась зависимость антагонистической активности от концентрации субстрата. Кроме того, не моделировались условия желудочно-кишечного тракта, что ограничивает экстраполяцию результатов *in vitro* на реальные физиологические условия.

Заключение. Мы выявили существенное влияние углеводного компонента питательной среды на антагонистические свойства исследуемых пробиотических штаммов, что может в дальнейшем учитываться при разработке пробиотических композиций, синбиотиков или специализированных продуктов питания.

Ключевые слова: пробиотики; антагонистическая активность; пребиотики; патогены; микробиота кишечника; лактобактерии; бифидобактерии

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Калашникова И.Г., Некрасова А.И., Грицюк О.В., Федец З.Е., Панькова М.Н., Загайнова А.В., Жернов Ю.В., Макаров В.В., Юдин С.М. Влияние различных углеводных субстратов на антагонистическую активность пробиотических штаммов *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium longum* в отношении условных патогенов. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(12): 1604–1610. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-12-1604-1610> <https://elibrary.ru/kqztpb>

Для корреспонденции: Калашникова Ирина Григорьевна, e-mail: IGKalashnikova@cspfmba.ru

Участие авторов: Калашникова И.Г. — концепция и дизайн исследования, сбор материала и обработка данных, проведение исследования, написание текста; Некрасова А.И. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Грицюк О.В., Федец З.Е., Панькова М.Н. — проведение исследования, разработка методологии; Загайнова А.В. — обеспечение исследования, администрирование проекта; Жернов Ю.В., Макаров В.В. — определение концепции, привлечение финансирования, обеспечение исследования; Юдин С.М. — привлечение финансирования, обеспечение исследования. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 388-00154-22-00 «Создание мицеллярных пробиотиков нового поколения для направленного изменения состава микробиоты человека при хронических неинфекционных заболеваниях».

Поступила: 02.10.2025 / Поступила после доработки: 24.11.2025 / Принята к печати: 02.12.2025 / Опубликована: 15.01.2026

Irina G. Kalashnikova, Alexandra I. Nekrasova, Olga V. Gritsyuk, Zlata E. Fedets, Marina N. Pankova, Angelika V. Zagainova, Valentin V. Makarov, Yuri V. Zhernov, Sergey M. Yudin

The effect of various carbohydrate sources on the antagonistic activity of probiotic strains *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* against opportunistic intestinal pathogens

Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Carbohydrates, including dietary sugars and prebiotic oligo- and polysaccharides, can influence on the functional activity of probiotic bacteria by modulating their metabolic processes. An important property of prebiotics is the selective activation of endogenous protective populations of intestinal microflora, which helps to suppress the growth of pathogenic and opportunistic microorganisms. However, the specificity of various prebiotic supplements for specific exogenous probiotic microorganisms remains unclear. Probiotics can be components of a wide range of foods and dietary supplements, so it is important to understand how various nutritional substrates influence on their metabolic and functional activity. This knowledge will enable the development of more effective products and supplements aimed at maintaining intestinal bacterial balance. "In vitro" studies allow evaluating the effects of individual components on probiotic strains. In this work, the effect of various carbohydrate substrates on the antagonistic activity of exogenous probiotic strains *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* against a number of opportunistic microorganisms was studied.

Objective — to study the effect of various carbohydrate substrates, including well-known prebiotics, on the antagonistic activity of probiotic strains studied against opportunistic pathogens. The choice of a carbohydrate that improves the competitive properties of probiotic strains of *L. paracasei* and *B. longum*.

Materials and methods. The antagonistic activity of two probiotic strains against seven pathogenic microorganisms was studied in the presence of nine different carbohydrate substrates using a two-stage cultivation method in a combined system.

Results. Probiotic strains were established to exhibit selective antagonistic properties against the same pathogen, depending on the presence of a particular carbohydrate source. For example, lactose and sucrose were found to contribute to an increase in the degree of antagonistic activity of lactobacilli against *Staphylococcus aureus* from moderate to high relative to the control and other substrates, and inulin and FOS suppress the competitive properties of this strain relative to *Pseudomonas aeruginosa*. The studied strain of *Bifidobacterium longum* exhibits moderate antagonistic activity against *E. coli* and *C. jejuni*, however, a number of substrates (sucrose, mannitol, inulin, chitosan) are capable of inhibiting this property. At the same time, substrates such as lactose, maltose, sucrose, chitosan, and N-acetyl-D-glucosamine increase antagonistic activity from low to moderate against *K. pneumoniae*, *Paeruginosa*, and *A. baumannii*. Based on the data obtained, it can be assumed that N-acetyl-D-glucosamine (NAG), mannitol, maltose, and lactose are of interest as substrates that increase the antagonistic potential of the studied strains against a number of opportunistic pathogens.

Limitations. Antagonistic activity in co-cultivation of probiotic strains has not been studied. It is also difficult to assess the functional properties of the studied strains depending on the prebiotic in the gastrointestinal tract. In addition, the effect of the concentration of carbohydrate substrates used in the work on the antagonism of target probiotic strains has not been studied.

Conclusion. We have identified a significant effect of the carbohydrate component on the antagonistic properties of the probiotic strains studied, which can be further taken into account in the development of probiotic compositions, synbiotics, and functional foods.

Keywords: probiotics; antagonistic activity; prebiotics; pathogens; intestinal microbiota; lactobacilli; bifidobacteria

Compliance with ethical standards. The study does not require the submission of a conclusion from the biomedical ethics committee or other documents.

For citation: Kalashnikova I.G., Nekrasova A.I., Gritsyuk O.V., Fedets Z.E., Pankova M.N., Zagainova A.V., Zhernov Yu.V., Makarov V.V., Yudin S.M. The effect of various carbohydrate sources on the antagonistic activity of probiotic strains *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* against opportunistic intestinal pathogens. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian Journal*. 2025; 104(12): 1604–1610. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-12-1604-1610> <https://elibrary.ru/kqztph> (In Russ.)

For correspondence: Irina G. Kalashnikova, e-mail: IGKalashnikova@cspfmbsa.ru

Contribution: Kalashnikova I.G. — concept and design of research, collection of material and data processing, writing text, conducting research; Nekrasova A.I. — concept and design of research, editing; Gritsyuk O.V., Fedets Z.E., Pankova M.N. — conducting research, methodology development; Zagainova A.V. — providing research, project administration; Zhernov Yu.V., Makarov V.V. — definition of the concept, attraction of financing, provision of research; Yudin S.M. — attraction of financing, provision of research. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was performed within the framework of the state task No. 388-00154-22-00 "Creation of micellar probiotics of a new generation for targeted changes in the composition of the human microbiota in chronic non-communicable diseases".

Received: October 2, 2025 / Revised: November 24, 2025 / Accepted: December 2, 2025 / Published: January 15, 2026

Введение

Микробиота кишечника играет ключевую роль в поддержании здоровья человека: участвует в формировании барьерной функции, метаболизме, синтезе витаминов и регуляции иммунного ответа [1]. Нарушение постоянного состава данного сообщества вследствие различных факторов ассоциировано со многими патологическими состояниями организма [2]. Антибиотикотерапия, несбалансированное питание с низким потреблением пищевых волокон и избыточным содержанием легкоусвояемых углеводов разрушают некоторые нормальные защитные системы микробиома кишечника, делая людей более восприимчивыми к инфицированию условно патогенными микроорганизмами [3]. В связи с этим существует необходимость восстановления здорового состояния бактериального сообщества желудочно-кишечного тракта. Наиболее распространённым в насто-

ящее время способом коррекции дисбактериозов является применение пробиотических средств [4].

Пробиотические микроорганизмы определяются как живые непатогенные микроорганизмы — представители защитных групп нормального кишечного микробиоценоза здорового человека и природных симбиотических ассоциаций, поступающие в составе пищевой продукции для улучшения состава и биологической активности защитной микрофлоры кишечника человека (ТР ТС 021/2011). Различные штаммы *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* давно зарекомендовали себя как оптимальные для коррекции дисбактериозов, поэтому по сей день входят в состав пробиотических препаратов, обогащённых и специализированных продуктов питания и биологически активных добавок [5, 6]. Одно из свойств данных пробиотических микроорганизмов — способность подавлять рост патогенных микроорганизмов посредством продукции органических кислот, бактериоцинов, конкуренции

Таблица 1 / Table 1

Используемые в работе штаммы условно патогенных микроорганизмов

Strains of opportunistic microorganisms used in the study

Тест-штамм Test strain	Источник Source	Условия культивирования Cultivation conditions
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145	TSA (триптиказо-соевый агар), аэробные условия, 18–24 ч при температуре плюс 37 °C Trypticase soy agar (TSA), aerobic conditions, 18–24 hours at 37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i>	Коллекция ФГБУ ЦСП ФМБА России Collection of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia Collection of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia	ЖСА (желточно-солевой агар), аэробные условия, 24–48 ч при температуре плюс 37 °C Yolk salt agar (YSA), aerobic conditions, 24–48 hours at 37 °C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	TSA, аэробные условия, 24–48 ч при температуре плюс 37 °C TSA, aerobic conditions, 24–48 hours at 37 °C
<i>Clostridium difficile</i>	ATCC 700057	Бруцеллёзный агар с 7% (об/об) дефибрированной цельной бараньей крови. Культивирование при температуре плюс 37 °C в течение 48–72 ч в строго анаэробной атмосфере на основе азота, содержащей 5% (об/об) водорода и 10% (об/об) углекислого газа Brucellosis agar with 7% (v/v) defibrinated whole sheep blood. Cultivated at 37 °C for 48–72 hours in a strictly anaerobic nitrogen-based atmosphere containing 5% (v/v) hydrogen and 10% (v/v) carbon dioxide
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	TSA, аэробные условия, 18–24 ч при температуре плюс 37 °C TSA, aerobic conditions, 18–24 hours at 37 °C
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Коллекция ФГБУ ЦСП ФМБА России Collection of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia Collection of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia	TSA, аэробные условия, 18–24 ч при температуре плюс 37 °C TSA, aerobic conditions, 18–24 hours at 37 °C
<i>Campylobacter jejuni</i>	NCTC 11638	Columbia с 10% (об/об) дефибрированной цельной бараньей крови. Культивировали в микроаэрофильных условиях (атмосфере, содержащей 5–10% кислорода и 5–10% углекислого газа), 24–48 ч при температуре плюс 42 °C Columbia with 10% (v/v) defibrinated whole sheep blood. Cultivated under microaerophilic conditions (an atmosphere containing 5–10% oxygen and 5–10% carbon dioxide) for 24–48 hours at 42 °C

за субстраты и места адгезии, а также модуляции иммунного ответа хозяина. Предполагается, что пребиотики могут усилить данные механизмы [6]. Пребиотики — это пищевые ингредиенты, селективно используемые определёнными представителями кишечной микробиоты, которые способствуют их росту и активности, благотворно влияя на здоровье человека (СанПиН 2.3.2.1078–01). Взаимодействие пробиотиков и пребиотиков, известное как синбиотический эффект, может усиливать конкурентную активность пробиотических штаммов и их устойчивость в кишечной экосистеме (колонизационную резистентность), повышая эффективность функциональных продуктов и биодобавок [7–9]. Однако зачастую исследования сосредоточены на способности штаммов метаболизировать определённый пребиотический субстрат [10, 11], при этом влияние на функциональную активность, в том числе на конкурентные свойства, остаётся малоизученным. В данной работе мы попытались охарактеризовать способность пробиотических штаммов подавлять активность патогенной микрофлоры в присутствии различных углеводных субстратов (как углеводов, присутствующих в продуктах питания, так и известных пребиотиков). Наиболее распространёнными в настоящее время специфичными субстратами, показавшими эффективность в отношении родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, являются инулин и фруктоолигосахариды (ФОС) [12], поэтому мы исследовали их влияние. Они входят в состав детского и лечебно-профилактического питания, однако их избыточное потребление может сопровождаться дискомфортом со стороны ЖКТ [13]. Это подтверждает необходимость тщательного подбора пробиотических компонентов, стимулирующих преимущественно полезные популяции микробиоты кишечника, в том числе определённые виды лакто- и бифидобактерий, при этом не вызывающих побочных эффектов.

Таким образом, исследование направлено на изучение влияния различных углеводных субстратов на функциональную антагонистическую активность пробиотических микроорганизмов, получение экспериментальных данных для разработки продуктов питания, содержащих пробиотические бактерии, для поддержания оптимального состава и метаболической активности кишечной микрофлоры.

Материалы и методы

Штаммы и культивирование. Объектами исследования являлись пробиотические штаммы *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 29н/21 VKM B-3711D и *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 202/21 VKM B-3717D, ранее выделенные из образцов микробиоты кишечника здоровых добровольцев и находящиеся в коллекции биобанка лаборатории микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России. В качестве тест-объектов использовали штаммы условно патогенных микроорганизмов, представленные в табл. 1.

Для культивирования лакто- и бифидобактерий использовалась модифицированная агаризованная среда MRS (де Ман, Рогоза и Шарп) без глюкозы для исключения влияния стандартного углевода. Исследуемые субстраты (лактоза, инулин, N-ацетил-D-глюкозамин (NAG), хитозан, сахароза, ФОС, маннит, мальтоза) добавляли в количестве 20 г/л, предварительно стерилизуя через мембранный фильтр. В качестве положительного контроля использовалась стандартная среда MRS (Condalab, Испания) с 20 г/л глюкозы, в качестве отрицательного — MRS без добавления углеводов. Условия культивирования тест-штаммов условно патогенных микроорганизмов представлены в табл. 1. Бактерии культивировали при температуре плюс 37–38 °C в течение 48–72 ч в соответствующих условиях (*Lactobacillus* — в атмосфере с 5% CO₂; *Bifidobacterium* — в анаэробной атмосфере (газовая смесь 85% N₂, 10% H₂, 5% CO₂)).

Таблица 2 / Table 2

Антагонистическая активность *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus paracasei* в отношении условно патогенных микроорганизмов в присутствии различных субстратов. Сравнение средней величины зоны задержки роста по результатам трёх измерений по группе ($M \pm m$, мм)

Antagonistic activity of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus paracasei* against opportunistic microorganisms in the presence of various substrates. Comparison of the average size of the growth retardation zone based on the results of three measurements for the group ($M \pm m$, mm)

Штамм Strain	Лактоза Lactose	Инулин Inulin	NAG	Хитозан Chitosan	Сахароза Sucrose	ФОС FOS	Маннит Mannite	Мальтоза Maltose	K+ positive control	K- negative control
<i>Bifidobacterium longum</i>										
<i>P. aeruginosa</i>	15.3 ± 4.16**	12.7 ± 1.53*	12 ± 2*	11 ± 1*	12.3 ± 6.66	12.3 ± 2.52*	11.7 ± 3.51	11 ± 1*	6.3 ± 1.53	0
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	14 ± 1.73*	14 ± 1*	14.7 ± 2.89*	17.7 ± 2.08**	13 ± 5.2	17.3 ± 2.52**	11.67 ± 2.89	16.7 ± 1.53**	7 ± 0	0
<i>C. difficile</i>	26.7 ± 2.89*	17.3 ± 2.52**	14.3 ± 1.56**	13.3 ± 2.87**	19.7 ± 0.58**	18 ± 2.65**	13.3 ± 2.08**	20.3 ± 0.58**	40.6 ± 7.51	0
<i>E. coli</i>	17.7 ± 1.53**	26.3 ± 3.22**	15.3 ± 4.16	17.3 ± 2.51*	12 ± 2.65	20.7 ± 7.*	21.7 ± 2.0#	15 ± 4.36	10.7 ± 0.6	0
<i>A. baumannii</i>	11.7 ± 1.53*	13.7 ± 2.52*	13.3 ± 1.53**	0	16 ± 3.61#	16.3 ± 1.53#	13.7 ± 1.15*	13.3 ± 2.08*	5.7 ± 0.58	0
<i>C. jejuni</i>	12.7 ± 2.52*	0	8.7 ± 0.58**	0	12.7 ± 2.52*	11 ± 1#	10.3 ± 0.58#	28.7 ± 14.8	20.3 ± 0.58	0
<i>Lactobacillus paracasei</i>										
<i>P. aeruginosa</i>	13.3 ± 1.52*	13.7 ± 2.08*	12.6 ± 1.53*	12.7 ± 3.21*	11.3 ± 3.51*	11.3 ± 1.15**	14 ± 2.65*	12.3 ± 0.58**	20.3 ± 3.58	0
<i>S. aureus</i>	30.3 ± 1.53**	25 ± 0	14 ± 5.29	18 ± 1.73	45 ± 0.25#	18.3 ± 7.64	24 ± 5.29	18.3 ± 1.53	20 ± 0	0
<i>K. pneumoniae</i>	10 ± 1.73*	13.3 ± 0.58	16.7 ± 0.58	18.3 ± 1.53	12.3 ± 2.52	11 ± 1.73	14 ± 1.73	14.3 ± 3.21	15.7 ± 3.79	0
<i>C. difficile</i>	10.3 ± 2.31	0	12.3 ± 0.58	5 ± 0	0	0	0	0	13.3 ± 1.53	0
<i>E. coli</i>	17.7 ± 2.52#	21 ± 1*	19 ± 1**	18 ± 2#	19 ± 9.54*	19.3 ± 2.89**	26.3 ± 6.11	23.3 ± 1.53*	31.3 ± 2.31	0
<i>A. baumannii</i>	12.3 ± 0.58#	13.3 ± 3.06**	13.7 ± 1.53**	18.3 ± 4.16	14.7 ± 2.52**	20.7 ± 3.06	13.7 ± 1.15**	13.3 ± 2.08**	20.7 ± 1.15	0
<i>C. jejuni</i>	11.7 ± 2.89	0	0	9 ± 3.61	6.3 ± 1.52*	0	0	0	12 ± 2.65	0

Примечание. * — достоверные отличия от контроля ($p < 0,05$); ** — достоверные отличия от контроля ($p < 0,01$); # — достоверные отличия от контроля ($p < 0,001$).

Note: * — reliable differences from the control ($p < 0.05$); ** — reliable differences from the control ($p < 0.01$); # — reliable differences from the control ($p < 0.001$).

Двухэтапное культивирование в условиях комбинированной системы. Для исследования антагонистической активности *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 29н/21 VKM B-3711D и *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 202/21 VKM B-3717D использовали метод двухэтапного культивирования в условиях комбинированной системы (КСК), предложенный Сухиной М.А. и соавт. (RU 2670585 C1) [14, 15].

Построение комбинированной системы проводилось следующим образом. На стандартную чашку Петри диаметром 90 мм вливали 25 мл расплавленного MRS-агара, после застывания пластинку разрезали стерильным скальпелем по диаметру и удаляли одну половину. Освободившееся пространство заполняли агаром, предназначенным для культивирования тест-микроорганизмов, до высоты, равной толщине исходного слоя агара.

Первый этап. На половину чашки с MRS-агаром наносили 100 мкл суспензии пробиотического штамма с мутностью 1 McF ($\sim 3 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) и инкубировали 48 ч в соответствующих условиях (анаэробных или микроаэрофильных).

Второй этап. На противоположную половину чашки с соответствующей средой вносили 100 мкл суспензии тест-штамма с мутностью 1 McF ($\sim 3 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) и инкубировали 24–48 ч.

После инкубации измеряли зону задержки роста (мм) от края колонии пробиотического штамма перпендикулярно до фронта роста тест-культуры.

Оценка результата и анализ данных. Оценку результата проводили следующим образом: измеренная зона задержки роста тестируемой культуры длиной до 1 мм — отсутствие антагонистической активности, измеренная зона задержки роста тестируемой культуры длиной от 1 до 10 мм — низкая антагонистическая активность, измеренная зона задержки роста тестируемой культуры длиной от 11 до 29 мм — умеренная антагонистическая активность, измеренная зона задержки роста тестируемой культуры длиной от 30 до 45 мм — высокая антагонистическая активность.

ренная антагонистическая активность, измеренная зона задержки роста шириной от 30 до 45 мм — высокая антагонистическая активность. Все исследования проводили в трёх независимых повторностях. Данные обрабатывали в программе Microsoft Excel 2019 с вычислением среднего значения ($M \pm m$); различия между вариантами считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента). Нормальность распределения данных определяли тестированием Шапиро — Уилка.

Результаты

По результатам определения антагонистической активности методом двухэтапного культивирования микроорганизма-антагониста и пробиотической культуры в условиях комбинированной системы данные о размере зоны задержки роста ранжировали в зависимости от степени их антагонистической активности: высокая, средняя, низкая (см. рисунок на вклейке):

- < 1 мм — отсутствие активности;
- 1–10 мм — низкая;
- 11–29 мм — умеренная;
- 30–45 мм — высокая.

Представленные в табл. 2 результаты показывают, что исследуемый штамм *Bifidobacterium longum* проявляет умеренную антагонистическую активность в отношении *E. coli* и *C. jejuni*, однако некоторые субстраты (сахароза, маннит, инулин, хитозан) способны угнетать данное свойство. В то же время такие субстраты, как лактоза, мальтоза, сахароза хитозан и N-ацетил-D-глюкозамин, способствуют увеличению антагонистической активности с низкой до умеренной в отношении *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). При этом инулин и ФОС сни-

жали выраженность антагонистического эффекта для ряда тест-культур, что может быть связано с их метаболизацией сопутствующими микроорганизмами.

Результаты, представленные в табл. 2, наглядно демонстрируют, что используемые субстраты могут избирательно как способствовать улучшению антагонистической активности *Lactobacillus paracasei* (например, лактоза и сахара в отношении *S. aureus*), так и угнетать данную функцию (инулин и ФОС в отношении *P. aeruginosa*, лактоза, глюкоза и N-ацетил-D-глюкозамин в отношении *K. pneumoniae*).

Также мы сравнили средние значения изменения зоны задержки роста попарно между субстратами. Результаты показывают статистически значимое влияние углеводного субстрата на уровень антагонистической активности пробиотических штаммов ($p < 0,05$). Основываясь на полученных данных в целом, можно заключить, что наибольший стимулирующий эффект наблюдался при использовании лактозы, NAG, маннита и мальтозы, улучшающих конкурентные свойства исследуемых *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium longum*. Таким образом, характер антагонистического взаимодействия зависит не только от вида пробиотического штамма, но и от специфики его метаболизма при использовании углеводного субстрата. Полученные данные демонстрируют, что для каждого сочетания «штамм – патоген» существует собственный профиль «полезных» и «нежелательных» углеводных субстратов. С точки зрения гигиены питания это означает, что при разработке продуктов с заявленным пробиотическим или синбиотическим эффектом недостаточно указать наличие пребиотика как класса веществ, а необходимо учитывать и его конкретное влияние на функциональную активность целевых штаммов.

Обсуждение

Считается, что модуляция здоровья экзогенными полезными бактериями в кишечнике осуществляется в том числе посредством двух механизмов: конкурентного исключения патогенов и (или) секреции метаболитов, которые могут влиять на физиологию хозяина [4, 16].

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что тип углеводного субстрата влияет на антагонистическую активность пробиотических штаммов *L. paracasei* и *B. longum* в условиях *in vitro*, что согласуется с данными литературы о различиях в метаболизме углеводов у представителей рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [17]. В нашей работе лактоза, N-ацетил-D-глюкозамин, маннит и мальтоза в большинстве случаев усиливали антагонистические свойства исследуемых штаммов, что может быть связано с повышенной продукцией органических кислот и других низкомолекулярных метаболитов. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), лактат и ряд бактериоцинов относятся к важным медиаторам антагонизма и могут ограничивать рост условно патогенных бактерий за счёт снижения pH и специфического воздействия на клеточную стенку или метаболизм патогенов [17]. Полученные нами данные *in vitro* также согласуются с рядом ранее опубликованных работ, в которых изучалось влияние углеводных субстратов на метаболическую и антагонистическую активность пробиотических штаммов. Так, например, Valdés-Varela L. и соавт. (2016) показали, что четыре пробиотических штамма *Bifidobacterium*, культивируемые совместно с *Clostridium difficile* в присутствии различных углеводов, изменяли спектр продуцируемых метаболитов, что влияло на активность *Clostridium difficile*, однако эффект зависел от конкретного штамма: одни штаммы проявляли большие конкурентные свойства, другие не демонстрировали выраженного эффекта [18]. Аналогичным образом Natividad J.M. с соавт. установили, что изменение углеводного профиля в среде культивирования существенно модифицирует метаболический ответ штаммов *Bifidobacterium*, в том числе продукцию ацетата и лактата. При этом разные углеводы стимулировали различные метаболические пути, что обуславливало

неодинаковую выраженность антагонизма *in vitro* [19]. Также, по данным Nagpal R. и соавт., лактоза и ФОС стимулировали продукцию молочной кислоты и усиливали подавление роста *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* некоторыми пробиотическими штаммами *Lactobacillus*, однако инулин в ряде случаев не оказывал стимулирующего действия в экспериментах *in vitro* [20].

Антагонистическая активность пробиотических штаммов может быть обусловлена секрецией различных метаболитов, в том числе КЦЖК, а пребиотики могут влиять на спектр секретируемых метаболитов целевых штаммов [21–23]. Работы Rossi M. и соавт. [21] и Valdés-Varela L. и соавт. (2017) [22] показали, что различия в ферментации *in vitro* инулина и ФОС *Bifidobacterium* приводят к качественно отличающимся профилям КЦЖК, что напрямую связано с антагонистической активностью. Инулин в основном стимулировал образование бутирата, тогда как ФОС – ацетата и лактата [21], что может объяснять наблюдаемую нами разнонаправленность антагонистического эффекта. Это подчёркивает важность тщательного выбора наиболее подходящих штаммов, субстратов и их комбинаций при селекции кандидатных пробиотических микроорганизмов и производстве пробиотиков на их основе [18].

Исследования Tarrach A. и соавт. [10] и Kaoutari A.El. и соавт. [24] продемонстрировали, что способность штаммов *Lactobacillus paracasei* эффективно ферментировать определённые углеводы определяется набором углеводов-активных ферментов (CAZyme). Это подтверждает необходимость индивидуального подбора углеводного субстрата с учётом генетических и метаболических особенностей конкретного пробиотического штамма начиная с исследований *in silico*.

В совокупности данные исследований подчёркивают, что углеводы не только служат источником энергии, но и являются регуляторами функциональной активности пробиотических микроорганизмов. Их влияние может проявляться через изменение pH среды, интенсивности ферментации, спектра метаболитов и продукции антагонистических соединений.

Исследования показали, что экзогенные пробиотические штаммы лакто- и бифидобактерий в сочетании со специально подобранным пребиотическим субстратом (так называемые синбиотики) имеют повышенный антагонистический потенциал в отношении ряда кишечных патогенов [3, 25, 26], что говорит о перспективности исследований, направленных на получение пробиотических штаммов с направленной эффективностью.

Поскольку жители индустриально развитых стран употребляют, как правило, недостаточное количество пищевых волокон, в клиническую практику врачей-диетологов и гастроэнтерологов вошло назначение пациентам с дисбактериозом пробиотических добавок. Также растёт количество представленных на рынке БАД и продуктов питания с добавлением пробиотиков, таких как инулин, ФОС, галактоолигосахариды (ГОС) и другие олиго- и полисахариды. Также в составе детского питания активно используются в качестве добавок ГОС и инулин [13]. Однако, как показали результаты настоящего исследования, стоит обратить внимание на то, что бактерии могут по-разному метаболизировать данные субстраты, что требует дополнительных исследований для создания наиболее эффективных композиций. Как и для всех функциональных пищевых ингредиентов, подтверждение пребиотического эффекта, полученного *in vitro*, должно быть показано в исследованиях *in vivo* с использованием проверенных методологий для получения надёжных научных данных.

Таким образом, полученные данные подтверждают целесообразность дальнейших исследований в области функциональной активности различных пробиотических микроорганизмов и их перекрёстных метаболических взаимодействий. Выбор пробиотического субстрата должен основываться не только на его способности стимулировать рост пробиотиков, но и на влиянии на функциональную активность

конкретного штамма, в том числе продукцию антагонистических метаболитов. Экспериментальные данные *in vitro*, подобные полученным в настоящей работе, могут использоваться как первый этап обоснования состава специализированных продуктов и БАД, а также при планировании дальнейших доклинических и клинических исследований.

Ограничения исследования. Не проводилось совместное культивирование штаммов *L. paracasei* и *B. longum*, что могло бы отразиться на конкурентных свойствах и показать их взаимодействие в синбиотических системах. Также не было проведено исследование по подбору наиболее эффективной концентрации субстрата, что необходимо учитывать при дальнейшей разработке пробиотических формул. Кроме того, с учётом возможной повышенной конкурентной способности синбиотической композиции остаются неясными динамика ассимиляции пробиотических бактерий в желудочно-кишечном тракте и их влияние на популяционный баланс кишечной микробиоты.

Заключение

Вид углеводного питательного субстрата оказывает существенное влияние на метаболический профиль пробиотических штаммов *L. paracasei* и *B. longum* и на их функциональную антагонистическую активность по отношению к кишечным патогенам.

Предварительное исследование *in vitro* функциональной активности экзогенных пробиотических штаммов и поиск способов модуляции их свойств, в том числе за счёт применения различных субстратов, в числе которых находятся и пребиотики, относятся к перспективным научно-практическим направлениям и требуют дополнительных исследований.

Сложные углеводы (поли- и олигосахариды, такие как инулин и ФОС) продемонстрировали более выраженный эффект в отношении антагонистической активности *L. paracasei* и *B. longum* по сравнению с моносахаридом (глюкоза), улучшая данную функцию у исследуемых штаммов.

Литература

(п.п. 1–12, 16–26 см. References)

- Шевелёва С.А., Маркова Ю.М., Sheveleva S.A., Markova Y.M. Безопасность и функциональный потенциал пробиотиков и пребиотиков, используемых в детском питании. *Трудный пациент*. 2022; 20(6): 22–38. <https://elibrary.ru/wmqrrk>
- Сухина М.А., Жуховицкий В.Г., Шельгин Ю.А. Способ оценки антагонистической активности лактобактерий толстокишечного биотопа пациента относительно разнообразных бактерий двухэтапным культивированием микроорганизма-антагониста и тестируемой культуры в условиях комбинированной системы. Патент РФ № 2670585 C1; 2018.
- Сухина М.А., Бургазова О.А., Жуховицкий В.Г., Юшук Н.Д. Антагонистическая активность лактобацилл толстой кишки. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012; 89(1): 41–9. <https://elibrary.ru/pjnhwd>
- Servin A.L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 2004; 28(4): 405–40. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.01.003>
- Manor O., Dai C.L., Kornilov S.A., Smith B., Price N.D., Lovejoy J.C., et al. Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 5206. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18871-1>
- Hopkins M.J., Macfarlane G.T. Nondigestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against *Clostridium difficile* in vitro. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69(4): 1920–7. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1920-1927.2003>
- Markowiak P., Śliżewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*. 2017; 9(9): 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Van Hul M., Cani P.D., Petifils C., De Vos W.M., Tilg H., El Omar E.M. What defines a healthy gut microbiome? *Gut*. 2024; 73(11): 1893–908. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2024-333378>
- Gurry T. Synbiotic approaches to human health and well-being. *Microb. Biotechnol.* 2017; 10(5): 1070–3. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12789>
- Kok C.R., Gomez Quintero D.F., Niyirora C., Rose D., Li A., Hutkins R. An *in vitro* enrichment strategy for formulating synergistic synbiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85(16): e01073–19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01073-19>
- Gomez Quintero D.F., Kok C.R., Hutkins R. The future of synbiotics: rational formulation and design. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 919725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919725>
- Krumbeck J.A., Walter J., Hutkins R.W. Synbiotics for improved human health: recent developments, challenges, and opportunities. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2018; 9: 451–79. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012757>
- Tarrah A., Pakroo S., Lemos Junior W.J.F., Guerra A.F., Corich V., Giacomini A. Complete genome sequence and carbohydrate-active EnZymes (CAZymes) analysis of *Lactobacillus paracasei* DTA72, a potential probiotic strain with strong capability to use inulin. *Curr. Microbiol.* 2020; 77(10): 2867–75. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02089-x>
- Fuhren J., Rösch C., Ten Napel M., Schols H.A., Kleerebezem M. Synbiotic matchmaking in *Lactobacillus plantarum*: substrate screening and gene-trait matching to characterize strain-specific carbohydrate utilization. *Appl. Environ. Microbiol.* 2020; 86(18): e01081–20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01081-20>
- Nagpal R., Kaur A. Synbiotic effect of various prebiotics on *in vitro* activities of probiotic lactobacilli. *Ecol. Food Nutr.* 2011; 50(1): 63–8. <https://doi.org/10.1080/03670244.2011.539161>
- Sheveleva S.A., Markova Yu.M. Safety and functional potential of probiotics and prebiotics used in baby food. *Трудный пациент*. 2022; 20(6): 22–38. <https://elibrary.ru/wmqrrk> (in Russian)
- Sukhina M.A., Zhukhovitskii V.G., Shelygin Yu.A. A method for assessing the antagonistic activity of lactobacilli in a patient's colon biotope relative to a variety of bacteria by two-stage cultivation of the antagonist microorganism and the test culture in a combined system. Патент РФ No. 2670585 C1; 2018. (in Russian)
- Sukhina M.A., Burgasova O.A., Zhukhovitsky V.G., Yuschuk N.D. Antagonistic activity of lactobacilli of the colon. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; 89(1): 41–9. <https://elibrary.ru/pjnhwd> (in Russian)
- Gerritsen J., Smidt H., Rijkers G.T., de Vos W.M. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes Nutr.* 2011; 6(3): 209–40. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0229-7>
- Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutr.* 2007; 137(3 Suppl. 2): 830S–7S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.830S>
- Valdés-Varela L., Hernández-Barranco A.M., Ruas-Madiedo P., Gueimonde M. Effect of bifidobacterium upon clostridium difficile growth and toxicity when co-cultured in different prebiotic substrates. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 738. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00738>
- Natividad J.M., Marsaux B., Rodenas C.L.G., Rytz A., Vandevijver G., Marzorati M., et al. Human milk oligosaccharides and lactose differentially affect infant gut microbiota and intestinal barrier in vitro. *Nutrients*. 2022; 14(12): 2546. <https://doi.org/10.3390/nu14122546>
- Presti I., D'Orazio G., Labra M., La Ferla B., Mezzasalma V., Bizzaro G., et al. Evaluation of the probiotic properties of new *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains and their *in vitro* effect. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015; 99(13): 5613–26. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6482-8>
- Rossi M., Corradini C., Amaretti A., Nicolini M., Pompei A., Zanoni S., et al. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71(10): 6150–8. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.6150-6158.2005>
- Valdés-Varela L., Ruas-Madiedo P., Gueimonde M. *In vitro* fermentation of different fructo-oligosaccharides by *Bifidobacterium* strains for the selection of synbiotic combinations. *Int. J. Food Microbiol.* 2017; 242: 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.011>
- Miao M., Cheng J., Yan Q., Jiang Z., Yang S. Prebiotic activity comparison of eight oligosaccharides: selection of a potential synbiotic containing konjac manna-oligosaccharides and *Bifidobacterium animalis* BB-12. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2025; 76(4): 419–29. <https://doi.org/10.1080/09637486.2025.2494148>
- El Kaoutari A., Armougom F., Gordon J.I., Raoult D., Henricsson B. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013; 11(7): 497–504. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3050>
- Auclair J., Frappier M., Millette M. *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *Lactobacillus casei* LBC80R, and *Lactobacillus rhamnosus* CLR2 (Bio-K+): characterization, manufacture, mechanisms of action, and quality control of a specific probiotic combination for primary prevention of *Clostridium* di. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(Suppl. 2): S135–43. <https://doi.org/10.1093/cid/civ179>
- Arslanoglu S., Moro G.E., Boehm G. Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first 6 months of life. *J. Nutr.* 2007; 137(11): 2420–4. <https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2420>

Сведения об авторах

Калашникова Ирина Григорьевна, аналитик 2-й категории отд. медицинской геномики ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: IGKashnikova@csfmba.ru

Некрасова Александра Игоревна, вед. аналитик категории отд. медицинской геномики ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: Akinshina@csfmba.ru

Грицюк Ольга Вячеславовна, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: Gritsyuk@cspmba.ru

Федец Злата Евгеньевна, мл. науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия

Панькова Марина Николаевна, биолог лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: MPankova@cspmba.ru

Загайнова Анжелика Владимировна, канд. биол. наук, зав. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: AZagaynova@cspmba.ru

Макаров Валентин Владимирович, канд. биол. наук, зам. директора по научно-экспериментальной работе ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: Makarov@cspmba.ru

Жернов Юрий Владимирович, доктор мед. наук, доцент, директор НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: YZhernov@cspmba.ru

Юдин Сергей Михайлович, доктор мед. наук, генеральный директор ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: yudin@cspmba.ru

Information about the authors

Irina G. Kalashnikova, category 2 analyst, Department of medical genomics of the Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation, E-mail: IGKalashnikova@cspmba.ru

Alexandra I. Nekrasova, leading category analyst, Department of medical genomics of the Centre for Strategic Planning, of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7951-2003> E-mail: Akinshina@cspmba.ru

Olga V. Gritsyuk, PhD (Biology), researcher, Laboratory of microbiology and parasitology of the Centre for Strategic Planning, of the Federal medical and biological agency of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9728-3075> E-mail: Gritsyuk@cspmba.ru

Zlata E. Fedets, junior researcher, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2396-9231>

Marina N. Pankova, biologist, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9133-3665> E-mail: MPankova@cspmba.ru

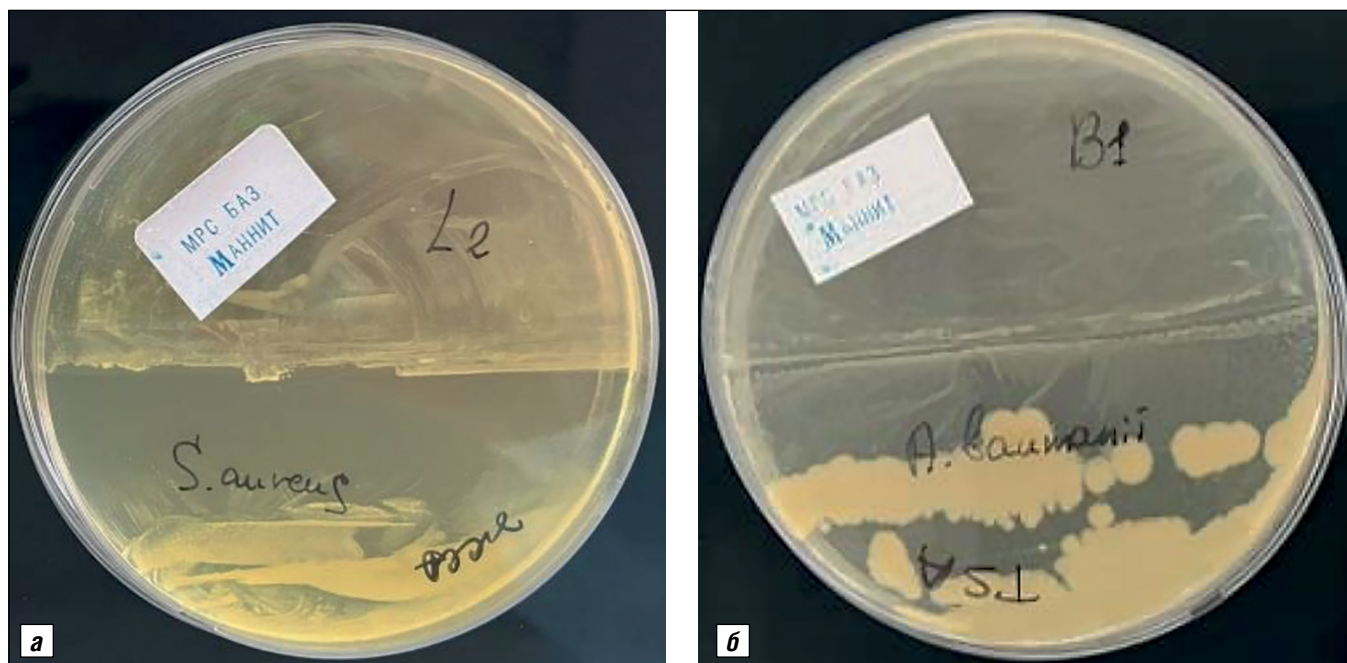
Angelika V. Zagaynova, PhD (Biology), head, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4772-9686> E-mail: azagaynova@cspmba.ru

Valentin V. Makarov, PhD (Biology), deputy director for scientific and experimental work, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266> E-mail: Makarov@cspmba.ru

Yuri V. Zhernov, DSc (Medicine), associate professor, director, A.N. Sytin Research Institute of Human Ecology and Environmental Hygiene, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8734-5527> E-mail: YZhernov@cspmba.ru

Sergey M. Yudin, DSc (Medicine), general director, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004> E-mail: yudin@cspmba.ru

К статье И.Г. Калашниковой и соавт.
To the article by Irina G. Kalashnikova et al.



Комбинированная система культивирования бактерий для полуколичественной оценки антагонистической активности *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus paracasei* в присутствии различных субстратов. В качестве примера представлены:

- a* – совместное культивирование *Bifidobacterium longum subsp. longum* VKM B-3717D и *Acinetobacter baumannii* в присутствии маннита;
б – совместное культивирование *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* VKM B-3711D и *Staphylococcus aureus* в присутствии маннита.

A combined bacterial culture system for a semi-quantitative assessment of the antagonistic activity of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus paracasei* in the presence of various substrates. An example is *a* – co-cultivation of *Bifidobacterium longum subsp. longum* VKM B-3717D and *Acinetobacter baumannii* in the presence of mannitol; *б* – co-cultivation of *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* VKM B-3711D and *Staphylococcus aureus* in the presence of mannitol.