



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

**Учредители:**

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

**Главный редактор:**  
Синопальников А.И.

**Адрес редакции:**

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А

**Эл. почта:** info@cmac-journal.ru

**Адрес для корреспонденции:**

214019, г. Смоленск, а/я 5.  
Тел./факс: +7(4812)45-06-02

**Издатель МАКМАХ:**

214019, г. Смоленск, ул. Кирова 46А. www.iacsmac.ru

**Адрес типографии:**

214020, Россия, г. Смоленск, ул. Смольянинова, д. 1

**Электронная версия журнала:**

https://cmac-journal.ru

**Подписка на сайте издателя:**

https://service.iacsmac.ru

Журнал зарегистрирован

Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предпринятия связи  
Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 19.05.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

## Содержание

### Болезни и возбудители

Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Шеленков А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Платонов А.Е., Козлов Р.С., Акимкин В.Г.

- 396** Определение серотипов *Streptococcus pneumoniae*, вызывающих инвазивные и неинвазивные формы инфекций, с использованием высокопроизводительного секвенирования

Бубман Л.И., Тополянская С.В., Рачина С.А., Гладких М.А., Усова Т.В., Карпов В.В., Молочников А.Ю., Нечаев А.И., Хан С.О., Эмомадов А.М., Захаров Н.С., Харченко Е.И., Лыткина К.А., Марченко И.П., Буриев И.М., Мелконян Г.Г.

- 401** Микробный пейзаж при исследовании ран у пациентов с боевыми травмами конечностей

Васильева И.А., Панова А.Е., Грачева А.Н., Байракова А.Л., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Самойлова А.Г.

- 411** Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, выделенных у пациентов ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России в «доковидный» период и во время пандемии COVID-19

Максимова Е.А., Кузьменков А.Ю., Лямин А.В., Козлов А.В., Кондратьева Е.И., Кондратенко О.В.

- 417** Возможности использования онлайн-регистратора AMRcf у пациентов с муковисцидозом

Арсеньева А.А., Лямин А.В., Мигачёва Н.Б., Орлов Е.В., Алексеев Д.В.

- 426** Микрoэкологические аспекты взаимосвязи кожной микробиоты и псориаза

### Антимикробные препараты

Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С.

- 439** Разработка критериев интерпретации и оценки качества результатов определения чувствительности представителей порядка Enterobacterales и *Pseudomonas aeruginosa* к цефепиму-сульбактаму

Гамаюнов Д.Ю., Калягин А.Н., Орлова Г.М., Балабина Н.М., Синькова Г.М., Синьков А.В.

- 452** Применение фторхинолонов в лечении внебольничной пневмонии и их кардиотоксические эффекты

### Антибиотикорезистентность

Васильева И.А., Панова А.Е., Тинькова В.В., Грачева А.Н., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Байракова А.Л., Самойлова А.Г.

- 462** Антибиотикорезистентность *Mycobacterium avium* в период пандемии COVID-19

### Опыт работы

Косилова И.С., Домотенко Л.В., Храмов М.В.

- 470** Организация производства отечественного бульона Мюллера-Хинтон

Комягина Т.М., Тряпочкина А.С., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Горинова Ю.В., Симонова О.И.

- 480** Популяционная структура и молекулярно-генетическая характеристика штаммов

*Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей с хронической бронхолегочной патологией

Козлов Р.С., Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Петровская Т.А., Куркова А.А.

- 487** Микробиологическая активность бовгиалуронидазы азоксимера в отношении микробных биопленок

Новикова И.Е., Садеева З.З., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Лазарева А.В.

- 496** Характеристика парных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, полученных от детей

Белова И.В., Широкова И.Ю., Точилина А.Г., Ковалишена О.В., Белянина Н.А., Тулупов А.А., Молодцова С.Б., Селиверстов А.Н., Кропотов В.С., Соловьева И.В.

- 505** Исследование антимикробного действия супернатанта *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на госпитальные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*

Видманова М.В., Жестков А.В., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Шеститко Е.Ю., Решетникова В.П.

- 514** Микробиологическое исследование при коклюше и влияние состава питательной среды на белковое профилирование *Bordetella* spp.

Немченко У.М., Ситникова К.О., Григорова Е.В., Сухорева М.В., Белькова Н.Л., Чемезова Н.Н., Савилов Е.Д.

- 522** Формирование биопленок клиническими изолятами условно-патогенных микроорганизмов под влиянием дезинфицирующих средств

### Описание клинических случаев

Хостелиди С.Н.

- 529** Опыт применения изавуконазола для лечения мукормикоза: описание клинического случая и анализ данных регистра

## Исследование антимикробного действия супернатанта *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на госпитальные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*

Белова И.В.<sup>1,2</sup>, Широкова И.Ю.<sup>1</sup>, Точилина А.Г.<sup>1,2</sup>, Ковалишена О.В.<sup>1</sup>, Беянина Н.А.<sup>1</sup>, Тулупов А.А.<sup>1</sup>, Молодцова С.Б.<sup>2</sup>, Селиверстов А.Н.<sup>1</sup>, Кропотов В.С.<sup>2</sup>, Соловьева И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup> ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

### Контактный адрес:

Анна Георгиевна Точилина  
Эл. почта: lab-lb@yandex.ru

Ключевые слова: инфицированная рана, *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, внеклеточные метаболиты, антибиотикорезистентность, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

**Цель.** Изучить антимикробное действие внеклеточных метаболитов производственного пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на антибиотикорезистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*, выделенные из инфицированных ран.

**Материалы и методы.** Бактериологические методы исследования: полуколичественный секторный метод для выделения условно-патогенных микроорганизмов из инфицированной раны, метод определения антимикробной активности метаболитов в жидкой среде. Идентификацию бактерий осуществляли с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра Autoflex (Bruker Daltonics, Германия). Определение чувствительности к антимикробным препаратам проводилось с использованием тест-систем SensiLabTest (Erba Lachema, Чехия), бактериологического анализатора Vitek 2 и диско-диффузионного метода. Распространенность генов резистентности определяли с помощью наборов реагентов «БакРезиста GLA» методом ПЦР в режиме реального времени. Для получения супернатанта *L. plantarum* 8P-A3 клетки осаждали центрифугированием, а затем фильтровали с использованием мембраны (Merck Millipore, Германия). Метаболомное профилирование супернатанта проводили методом ВЭЖХ/МС на масс-спектрометре LCMS-8050 (Shimadzu, Япония). Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina Inc., США), обработку данных – с помощью программ Trimmomatic, Spades, Prokka, RAST и Bagel 4.

**Результаты.** Установлено, что все штаммы *A. baumannii* и *K. pneumoniae* являются полирезистентными и содержат в геноме бета-лактамазы и карбапенемазы. Метаболомное профилирование супернатанта штамма *L. plantarum* 8P-A3 показало, что он содержит значительное количество молочной, валериановой, изовалериановой, янтарной и уксусной кислот. В ходе анализа генома *L. plantarum* 8P-A3 были обнаружены ключевые ферменты синтеза молочной и уксусной кислот, перекиси водорода, лизоцима и плантарицинов A, EF и NC8. В результате эксперимента доказано, что супернатант полностью ингибирует рост госпитальных штаммов *A. baumannii* и *K. pneumoniae*.

**Выводы.** Метаболомное профилирование супернатанта штамма *L. plantarum* 8P-A3 доказало наличие в нем высоких концентраций органических кислот. С помощью полногеномного секвенирования была определена способность *L. plantarum* 8P-A3 к синтезу внеклеточных метаболитов, обладающих антимикробной активностью. Наличие всех указанных метаболитов определило выраженное антимикробное действие супернатанта на полирезистентные госпитальные штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii* и показало возможность его использования в качестве дополнительного метода лечения инфицированных ран.

Original Article

## A study of antimicrobial effect of *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 supernatant on nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*

Belova I.V.<sup>1,2</sup>, Shirokova I.Yu.<sup>1</sup>, Tochilina A.G.<sup>1,2</sup>, Kovalishena O.V.<sup>1</sup>, Belyanina N.A.<sup>1</sup>, Tulupov A.A.<sup>1</sup>, Molodtsova S.B.<sup>2</sup>, Seliverstov A.N.<sup>1</sup>, Kropotov V.S.<sup>2</sup>, Solovyova I.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup> Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

### Contacts:

Anna G. Tochilina  
E-mail: lab-lb@yandex.ru

**Objective.** To study antimicrobial effect of extracellular metabolites of probiotic *L. plantarum* 8P-A3 strain on antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* isolated from infected wounds.

**Materials and methods.** Bacteriological methods: semiquantitative sector method for extracting opportunistic microorganisms from an infected wound; a method for the identification of the antimicrobial

Key words: wound infection, *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, bacteriocins, antimicrobial resistance, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

activity of metabolites in a liquid milieu; The identification of bacteria was implemented with the help of the MALDI-TOF Autoflex mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany). Antimicrobial susceptibility testing was performed using SensiLab test systems (Erba Lachema, Czech Republic), analyzer Vitek 2 and disk-diffusion method. The prevalence of resistance genes was determined using BakResista GLA reagent kits by real-time PCR. In order to obtain *L. plantarum* 8P-A3 supernatant, cells were precipitated by centrifugation and then filtered using a membrane (Merck Millipore, Germany). Metabolomic profiling of the supernatant was implemented by HPLC/MS on mass spectrometer LCMS-8050 (Shimadzu, Japan). Whole-genome sequencing was performed on MiSeq platform (Illumina Inc., USA), and data processing was conducted using Trimmomatic, Spades, Prokka, RAST and Bagel 4 software tools.

**Results.** All strains of *A. baumannii* and *K. pneumoniae* are multidrug-resistant and contain a range of beta-lactamases and carbapenemase in their genome. The results of metabolomic profiling showed that *L. plantarum* 8P-A3 supernatant contains a significant amount of lactic, valeric, isovaleric, succinic and acetic acids. Analysis of *L. plantarum* 8P-A3 genome found key enzymes for synthesis of lactic and acetic acids, hydrogen peroxide, lysozyme and plantaricins A, EF and NC8. This experiment proved that the supernatant completely inhibits the growth of nosocomial isolates of *A. baumannii* and *K. pneumoniae*.

**Conclusions.** Using whole-genome sequencing, the ability of *L. plantarum* 8P-A3 strain to synthesize extracellular metabolites with antimicrobial activity was determined. Metabolomic profiling of its supernatant proved the presence of high concentrations of organic acids in it. The presence of all these metabolites determined significant antimicrobial effect of the supernatant on multidrug-resistant nosocomial *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates and showed potential for use as an adjunctive treatment of infected wounds.

## Введение

Антибиотикорезистентность микроорганизмов относится к числу важнейших проблем современной медицины. В условиях стационара происходит селекция резистентных штаммов с последующим формированием госпитального клона, определяющего развитие инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в отделениях различного профиля. К ведущим возбудителям ИСМП относятся представители группы ESKAPE, в том числе продуцирующие карбапенемазы и бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) [1]. У больных с ожоговой травмой штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii* чаще других патогенов этой группы инфицируют хронические, длительно существующие раневые поверхности, осложняя течение основного заболевания, что обуславливается, с одной стороны, вирулентными свойствами госпитальных штаммов, как правило, обладающих множественной антибиотикорезистентностью, а с другой, ослабленным иммунным статусом пациентов, связанным с изменениями жизненно важных функций организма и полиорганной недостаточностью [2, 3]. В соответствии с вышеизложенным, не вызывает сомнения актуальность разработки новых дополнительных методов терапии, в том числе с использованием бактериальных культур пробиотических штаммов лактобацилл, применение которых приводит к подавлению роста патогенов и стимулирует репаративную регенерацию ожоговых ран [4–7]. Однако ввиду глубокой иммуносупрессии у большинства ожоговых больных предпочтительнее и безопаснее использовать бесклеточные супернатанты штаммов лактобацилл, содержащие только их внеклеточные метаболиты [8].

Активность супернатантов лактобацилл связана с тем, что они способны продуцировать широкий спектр метаболитов, обладающих антимикробной активностью – высокоактивный L(+) изомер молочной кислоты, уксусную,

янтарную, пропионовую и масляную кислоты, а также перекись водорода и бактериоцины [9, 10]. Поскольку спектр вырабатываемых органических кислот является не видовым, а штаммоспецифичным признаком, необходимо изучать их состав у каждого отдельно взятого штамма. В литературе описана антимикробная активность бесклеточных супернатантов отдельных штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* – *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* ATCC 8014, *L. plantarum* ATCC 10241, *L. plantarum* VMB против патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в условиях *in vitro* и в экспериментах на модели ожоговых ран у животных [4, 5, 10–16].

Актуальность исследования антимикробного действия внеклеточных метаболитов производственного штамма *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на циркулирующие в лечебно-профилактических учреждениях региона штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii* с множественной антибиотикорезистентностью обусловлена высокой частотой обнаружения этих условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) у больных с ожогами, что требует дополнительных подходов к лечению инфицированных ожоговых ран.

**Цель** исследования – изучение антимикробного действия внеклеточных метаболитов производственного пробиотического штамма *L. plantarum* 8P-A3 на антибиотикорезистентные штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенные из инфицированных ран.

## Материалы и методы

Для выделения бактерий, инфицирующих ожоговую рану, поверхность кожи вокруг раны обрабатывали антисептиком, затем стерильной салфеткой удаляли детрит, некротические массы, гной, далее материал забирали бактериологическим тампоном путем прока-

тывания стерильного тампона от центра к периферии по всей поверхности раны [17]. Затем тампон помещали в транспортную среду Эймса (Оболенск, Россия) и доставляли в бактериологическую лабораторию, где проводили посев полуколичественным секторным методом [18]. Идентификацию микроорганизмов осуществляли с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра Autoflex speed LRF и программно-аппаратного комплекса BioTyper (Bruker Daltonics, Германия), пробоподготовку культур исследуемых микроорганизмов выполняли согласно стандартному операционному протоколу [19]. О достоверности идентификации судили по значению коэффициента совпадения (Score): 2,000 – 3,000 – идентификация до вида, 1,999 – 1,700 – идентификация до рода, 1,699 – 0 – идентификация не прошла, и значению категорий: А – достоверная идентификация до вида, В – достоверная идентификация до рода, С – недостоверный результат. В дальнейшую работу брали культуры со значениями Score  $\geq 2,30$ . Всего в работе было использовано 10 штаммов *K. pneumoniae* и 10 штаммов *A. baumannii*, выделенных из отделяемого ожоговых ран пациентов, находящихся на лечении в стационаре.

Чувствительность изолятов к антибиотикам изучали с помощью наборов SensiLabTest (Г- I, Г- II) (Erba Lachema, Чехия), микропланшетного фотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) и программы «Микроб-2», чувствительность к отдельным антибиотикам определяли на анализаторе Vitek 2 (bioMerieux, Франция). Категории чувствительности изолятов к антимикробным препаратам определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), установленных Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST), v.13.0 [20]. Чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к цефтазидиму/авибактаму изучали диско-диффузионным методом с использованием дисков Цефтазидим + Авибактам 10/4 мкг (Mast group, Великобритания) и агара Мюллера-Хинтон II (Оболенск, Россия).

Детекцию генов антибиотикорезистентности у УПМ проводили с использованием набора реагентов для выявления генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени «БакРезиста GLA» («ДНК-технология», Россия).

В качестве продуцента метаболитов выбран производственный пробиотический штамм *L. plantarum* 8P-A3, коллекционный номер во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт» В-11007, используемый в РФ для производства лекарственного средства «Лактобактерин» [21]. Подготовку лиофилизированного штамма к культивированию и наращивание биомассы проводили по ранее описанному способу [22] на жидкой питательной среде МРС авторская (рН 6,4) (НИЦФ, Россия).

Для получения бесклеточного супернатанта, содержащего бактериальные метаболиты штамма *L. plantarum* 8P-A3, биомассу III генерации культуры осаждали центрифугированием при 3000 об./мин. в течение 20 мин.,

полученные супернатанты фильтровали через мембрану с диаметром пор 0,22 мкм (Merck Millipore, Германия) [13, 15]. В дальнейших исследованиях использовались три серии супернатантов, приготовленных вышеописанным способом.

Метаболомное профилирование супернатанта проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС) на жидкостном тройном квадрупольном масс-спектрометре LCMS-8050 (Shimadzu, Япония) с ионизацией электрораспылением. Для этого использовали программное обеспечение Shimadzu LabSolutions v.5.97 SP1 с пакетами аналитических методик для короткоцепочечных жирных кислот и первичных метаболитов (v.2.0) и аналитическую колонку Shimadzu Mastro C18 (внутренний диаметр 2,0 мм, длина 150 мм, размер зерна 3 мкм). Каждую серию свежеприготовленного супернатанта исследовали отдельно, затем вычисляли среднее значение для каждого метаболита. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США), результаты представляли в виде  $M \pm \sigma$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $\sigma$  – стандартное отклонение.

В работу по полногеномному секвенированию была отобрана культура штамма *L. plantarum* 8P-A3 с характерной для него биохимической активностью, с изученным профилем рибосомальных белков, имеющая максимально высокий Score – 2,39. Для выделения геномной ДНК штамма *L. plantarum* 8P-A3 использовали коммерческий набор QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) и набор TrueSeq (Illumina Inc., США), секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina Inc., США), сборку и аннотацию генома осуществляли с помощью утилиты Trimmomatic со стандартными параметрами для Illumina и программ Spades и Prokka v.1.11 [23]. Поиск генов ключевых ферментов, ответственных за синтез метаболитов и бактериоцинов, проводили с использованием геномного сервера RAST (<http://rast.nmpdr.org>) и программы Bagel 4.0 [24].

При постановке опыта по влиянию бесклеточного супернатанта *L. plantarum* 8P-A3 на изоляты *K. pneumoniae* и *A. baumannii* для каждого штамма готовили две пробирки, в одной из которых находилось 4,5 мл питательного бульона для культивирования микроорганизмов (ГРМ-бульон) с рН 7,4 (Оболенск, Россия) (контроль), а в другой – 2,0 мл этой же среды и 2,5 мл супернатанта *L. plantarum* 8P-A3 с рН 5,1 (опыт), окончательное значение рН питательной среды (ГРМ-бульон + супернатант) в опыте было равно 6,0. Кислотность питательных сред и супернатанта измеряли с использованием лабораторного рН-метра рН 211 (Hanna Instruments, Германия).

Затем в каждую пробирку вносили 0,5 мл инокулята в концентрации  $3 \times 10^8$  КОЕ/мл по шкале МакФарланда, далее инкубировали в течение 22 ч. при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Затем из каждой пробирки готовили ряд серийных разведений от  $10^{-1}$  до  $10^{-12}$  на стерильном физиологическом растворе рН 7,0–7,2, из каждого разведения производили высевы по 0,1 мл на питательный агар для культивирования микроорганизмов (ГРМ-агар) (Оболенск, Россия),

инкубировали в течение 24 ч. при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . После инкубации осуществляли учет результатов. Опыт проводили с каждой из трех серий супернатанта в трех повторностях для каждого патогенного штамма. Всего проведено 180 экспериментов.

## Результаты

Штаммы, выделенные из отделяемого ожоговых ран, были идентифицированы как *A. baumannii* и *K. pneumoniae*. В результате изучения фенотипической чувствительности к антимикробным препаратам установлено, что все штаммы были полирезистентными. Штаммы *A. baumannii* были устойчивы к карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам и триметоприму/сульфаметоксазолу (Таблица 1). Штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам (за исключением имипенема), монобактамам, фторхинолонам, аминогликозидам, триметоприму/сульфаметоксазолу, часть штаммов была устойчива к цефтазидиму/авибактаму (Таблица 2).

В результате изучения генов антибиотикорезистентности у штаммов *A. baumannii* были обнаружены детерминанты карбапенемаз молекулярного класса D – *bla*<sub>OXA-40</sub>, *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51 like</sub> и БЛРС – *bla*<sub>CTX M-1</sub> и *bla*<sub>GES</sub>. Штаммы *K. pneumoniae* характеризовались наличием генов бета-лактамаз широкого спектра и БЛРС – *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX M-1</sub>, карбапенемаз – *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> и металло-бета-лактамазы – *bla*<sub>NDM</sub> (Таблица 1 и Таблица 2).

В результате метаболомного профилирования трех серий супернатанта штамма *L. plantarum* 8P-A3 была экспериментально оценена его способность к продукции органических кислот и установлено их среднее количество (Таблица 3).

В результате секвенирования получена и расшифрована полная геномная последовательность штамма *L. plantarum* 8P-A3 (GenBank: LBDF00000000).

Построена геномная карта, дающая возможность визуально оценить структуру и характер генома микроорганизма (Рисунок 1). Из рисунка видно, что геном представлен единственной кольцевой хромосомой. Цветом выделены области с пониженным – менее 50% (пурпурный, GC-skew-) и повышенным – более 50% (зеленый, GC-skew+) содержанием GC оснований. Области, кодирующие белки (CDS), выделены синим цветом.

Установлено, что размер генома исследуемого штамма составляет 3330093 пар нуклеотидов, содержание GC – 44,4%, обнаружено 2982 последовательности, кодирующие белки (CDS). Анализ полногеномной последовательности штамма *L. plantarum* 8P-A3 с использованием геномного сервера RAST позволил обнаружить ключевые ферменты, обуславливающие его способность к синтезу молочной кислоты (L-лактатдегидрогеназа, GenBank: KLD41012.1, KLD41456.1), уксусной кислоты (ацетаткиназа, GenBank: KLD43138.1), перекиси водорода (пируватоксидаза, GenBank: WP\_003641101.1), лизоцима (GenBank: KLD40503.1), плантарицинов A, EF и NC8 (KLD40925.1, KLD40929.1, KLD40930.1, KLD40931.1, KLD40932.1, KLD40933.1).

Антимикробная активность супернатанта *L. plantarum* 8P-A3 была изучена экспериментальным путем в условиях *in vitro*. После культивирования исследуемых штаммов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* во всех экспериментах в контроле было обнаружено диффузное помутнение жидкой питательной среды (ГРМ-бульон) во всех пробирках, что свидетельствовало об интенсивном росте бактериальной культуры. Во всех опытных пробирках (питательная среда плюс супернатант) видимый рост штаммов отсутствовал (Рисунок 2).

При высеве из 10-кратных разведений «контроля» всех 20 культур на чашки с ГРМ-агаром во всех экспериментах был отмечен видимый рост в виде сплошного газона или отдельных изолированных колоний с  $10^{-1}$  по  $10^{-10}$  разведения (Рисунок 3а, Рисунок 4а).

Таблица 1. Чувствительность к антимикробным препаратам и гены антибиотикорезистентности штаммов *A. baumannii*

Антибиотик, МПК, мг/л	№ штамма									
	3959	3960	3961	3962	3963	3964	3965	3966	3967	3968
Дорипенем	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)
Имипенем	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)
Меропенем	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)
Левифлоксацин	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)
Ципрофлоксацин	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)
Амикацин	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)
Гентамицин	16 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	16 (P)	> 32 (P)
Тобрамицин	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)
Колистин	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)
Триметоприм/сульфаметоксазол	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	2/38 (Ч)	> 4/76 (P)	0,25/4,75 (Ч)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)
Гены антибиотикорезистентности	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub> , <i>bla</i> <sub>GES</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub> , <i>bla</i> <sub>GES</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-40</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> , <i>bla</i> <sub>GES</sub>

Ч – чувствительный при стандартном режиме дозирования; У – чувствительный при увеличенной экспозиции препарата; P – резистентный.

**Таблица 2.** Чувствительность к антимикробным препаратам и гены антибиотикорезистентности штаммов *K. pneumoniae*

Антибиотик МПК, мг/л	№ штамма									
	3969	3970	3971	3972	3973	3974	3975	3976	3977	3978
Ампициллин/сульбактам	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)	> 128/64 (P)
Пиперациллин	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)	> 128 (P)
Пиперациллин/тазобактам	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)	> 128/4 (P)
Цефазолин	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)
Цефуроским	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)	> 64 (P)
Цефотаксим	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)
Цефтазидим	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)
Цефтазидим/авибактам	(P)	(P)	(Ч)	(Ч)	(Ч)	(Ч)	(Ч)	(P)	(Ч)	(P)
Цефепим	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)
Дорипенем	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)	4 (P)
Имипенем	6 (P)	3 (У)	3 (У)	3 (У)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)	6 (P)
Меропенем	16 (P)	16 (P)	8 (У)	16 (P)	16 (P)	16 (P)	16 (P)	16 (P)	16 (P)	16 (P)
Эртапенем	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)	> 2 (P)
Азтреонам	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)	> 16 (P)
Левифлоксацин	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)	2 (P)
Ципрофлоксацин	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 1 (P)
Амикацин	16 (P)	16 (P)	8 (Ч)	16 (P)	64 (P)	64 (P)	64 (P)	16 (P)	16 (P)	8 (Ч)
Гентамицин	> 4 (P)	> 32 (P)	2 (Ч)	> 32 (P)	> 4 (P)	> 32 (P)	> 32 (P)	> 4 (P)	> 4 (P)	> 4 (P)
Тобрамицин	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)	> 8 (P)
Колистин	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)	0,5 (Ч)
Триметоприм/сульфаметоксазол	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)	> 4/76 (P)
Гены антибиотикорезистентности	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>KPC</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	<i>bla</i> <sub>CTX M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>

Ч – чувствительный при стандартном режиме дозирования; У – чувствительный при увеличенной экспозиции препарата; P – резистентный.

В экспериментах с первой серией супернатанта в контроле штаммы *K. pneumoniae* выросли до разведения 10<sup>-10</sup> (n = 3), 10<sup>-9</sup> (n = 18) и 10<sup>-8</sup> (n = 9), в экспериментах со второй и третьей сериями были получены аналогичные результаты – рост наблюдали до разведений 10<sup>-10</sup> (n = 6), 10<sup>-9</sup> (n = 20), 10<sup>-8</sup> (n = 4) и 10<sup>-10</sup> (n = 7), 10<sup>-9</sup> (n = 16), 10<sup>-8</sup> (n = 7) соответственно. При высеве *A. baumannii* в экспериментах с первой серией супернатанта в контроле штаммы выросли до разведений 10<sup>-10</sup> (n = 9), 10<sup>-9</sup> (n = 15) и 10<sup>-8</sup> (n = 6), со второй – до разведений 10<sup>-10</sup> (n = 10), 10<sup>-9</sup> (n = 12) и 10<sup>-8</sup> (n = 8), с третьей – 10<sup>-10</sup> (n = 9), 10<sup>-9</sup> (n = 10) и 10<sup>-8</sup> (n = 11).

При высеве из разведений пробирок «опыта» (питательная среда плюс супернатант) рост отсутствовал у всех штаммов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* во всех экспериментах (Рисунок 3б, Рисунок 4б).

Таким образом, в условиях *in vitro* было установлено, что бесклеточный супернатант *L. plantarum* 8P-A3 оказывает выраженное антимикробное действие на полирезистентные госпитальные штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенные с поверхности ран.

**Таблица 3.** Массовые концентрации метаболитов штамма *L. plantarum* 8P-A3 в супернатанте

Соединение	Концентрация, мг/л (M ± σ)
молочная кислота	885,2 ± 4,7
β-гидроксимасляная кислота	0,2 ± 0,05
уксусная кислота	11,5 ± 0,45
пропионовая кислота	0,1 ± 0,03
изомасляная кислота	1,2 ± 0,12
масляная кислота	2,1 ± 0,06
2-гидроксиглутаровая кислота	0,1 ± 0,09
янтарная кислота	18,2 ± 2,15
изовалериановая кислота	21,7 ± 0,75
фумаровая кислота	0,1 ± 0,03
валериановая кислота	27,4 ± 2,6
малеиновая кислота	0,1 ± 0,03
глиоксиловая кислота	0,2 ± 0,03
пировиноградная кислота	0,2 ± 0,05
2-оксомасляная кислота	0,1 ± 0,03
α-кетоглутаровая кислота	0,2 ± 0,05

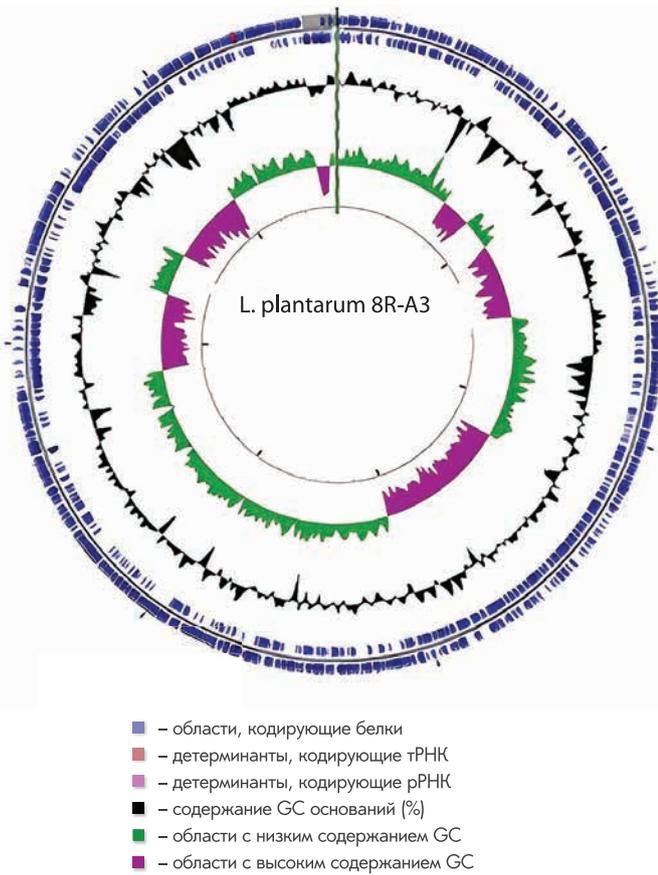


Рисунок 1. Геномная карта штамма *L. plantarum* 8P-A3

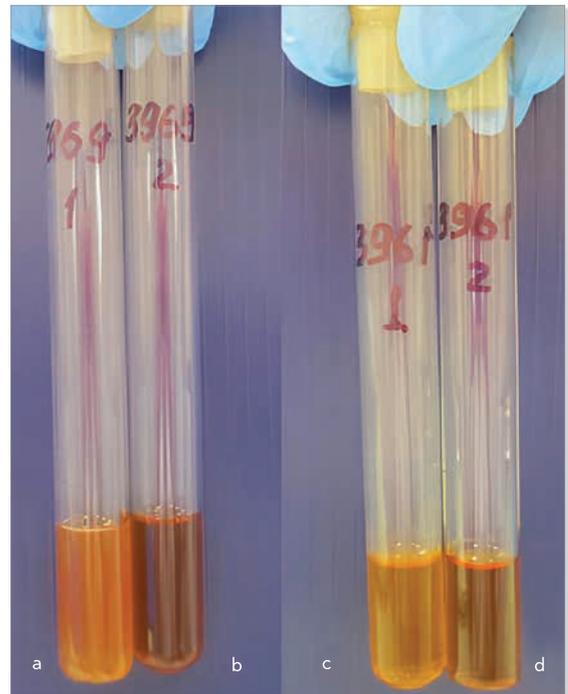


Рисунок 2. Рост бактериальных культур *K. pneumoniae* 3969 и *A. baumannii* 3961, контроль (a, c) и опыт (b, d)

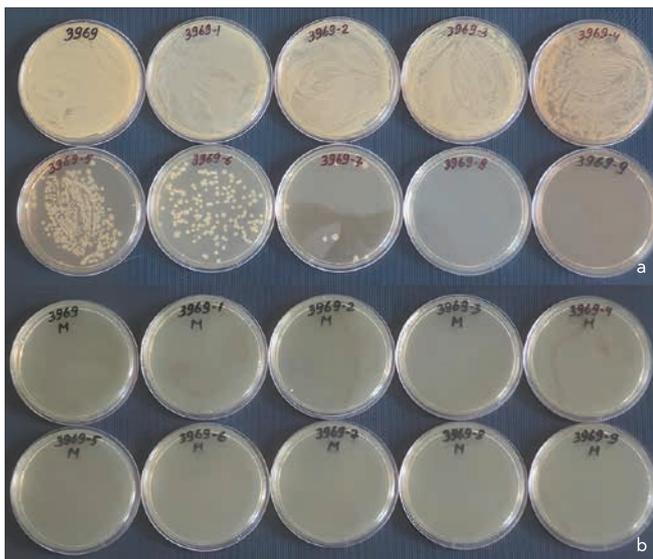


Рисунок 3. Высев 10-кратных разведений культуры *K. pneumoniae* 3969, контроль (a) и опыт (b)



Рисунок 4. Высев 10-кратных разведений культуры *A. baumannii* 3961, контроль (a) и опыт (b)

## Обсуждение

В работе были исследованы профили антибиотикорезистентности штаммов *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенных с поверхности ожоговых ран, и установлено, что все штаммы являются полирезистентными. Основным механизмом устойчивости *A. baumannii* к карбапенемам, которые традиционно рассматриваются как препараты выбора для лечения тяжелых инфекций у госпитализированных пациентов, стала продукция ферментов  $bla_{OXA-40}$  и  $bla_{OXA-23}$ . Наличие гена  $bla_{OXA-51}$  в геноме *A. baumannii* является видовым признаком этого микроорганизма и не связано с проявлением фенотипической антибиотикорезистентности [25]. Антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* обусловлена наличием бета-лактамаз  $bla_{CTX-M-1}$ ,  $bla_{TEM}$  и карбапенемаз  $bla_{OXA-48}$  и  $bla_{KPC}$ . Устойчивость отдельных штаммов к цефтазидиму/авибактаму связана с наличием в их геномах металло-бета-лактамазы  $bla_{NDM}$ . [26].

Выраженная антимикробная активность бесклеточного супернатанта штамма *L. plantarum* 8P-A3 против полирезистентных госпитальных штаммов может объясняться наличием в нем широкого спектра биологически активных веществ. С помощью метаболомного профилирования установлено, что супернатант содержит высокую концентрацию лактата, янтарной кислоты и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) – уксусной, валериановой, изовалериановой и масляной. Известно, что выявленные метаболиты способны ингибировать рост микроорганизмов, а лактат и уксусная кислота обладают широким спектром антимикробного действия, и для них характерен синергизм – молочная кислота снижает pH среды, тем самым повышая бактерицидную активность ацетата. Органические кислоты способны проникать через клеточные мембраны внутрь клетки патогена, изменять pH цитоплазмы, вызывая осмотический стресс и гибель микроорганизма [16]. Глиоксилонная кислота не обладает прямым антимикробным действием, однако препятствует миграции бактериальных клеток и образованию биопленок [27]. Кроме того, согласно данным литературы, органические кислоты, присутствующие в супернатанте, способны оказывать положительное действие на ткани – уменьшать местную воспалительную реакцию, оказывать антиоксидантный эффект и стимулировать заживление ран за счет повышения выработки коллагеновых волокон и стимулирования регенерации клеток [28].

Результаты выполненного полногеномного секвенирования и последующий анализ генома с использованием спектра биоинформационных методов указывают на то, что штамм *L. plantarum* 8P-A3 способен синтезировать не только высокоактивные органические кислоты, но и другие вещества различной химической природы, обладающие антимикробной активностью – перекись водорода, лизоцим и бактериоцины. Перекись водорода является простейшим представителем класса пероксидов, способна повреждать структуры бактериальных клеток и оказывает бактериостатическое действие [10], лизоцим расщепляет пептидогликан клеточных стенок грамположительных бактерий, вызывая их лизис,

разрушает межклеточные связи и препятствует биопленкообразованию грамотрицательных микроорганизмов, а, следовательно, тормозит развитие инфекционного процесса [9]. Плантарицины – это катионные термостабильные бактериоцины, обладающие небольшой молекулярной массой (менее 10 кДа) и характеризующиеся широким спектром антимикробной активности, в основе которой лежит нарушение проницаемости цитоплазматических мембран патогенов [29].

Наблюдаемый нами эффект подавления роста штаммов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* связан с комплексным действием всех биологически активных веществ, присутствующих в бесклеточном супернатанте штамма *L. plantarum* 8P-A3 – широкого спектра органических кислот, в том числе КЦЖК, перекиси водорода, лизоцима и плантарицинов, детерминированных в геноме штамма. Это подтверждается тем, что эти УПМ способны существовать и при низких значениях pH – *A. baumannii* в диапазоне от 4,6 до 8,6 [30], а *K. pneumoniae* – от 5,0 до 8,0 [31], то есть снижение pH в результате присутствия органических кислот не может привести к полному ингибированию их роста.

Учитывая, что весь спектр метаболитов способен не только оказывать антимикробное действие и ингибировать образование биопленок, но и оказывать общий противовоспалительный эффект, активировать процесс регенерации тканей и стимулировать выработку коллагена, можно рассматривать использование бесклеточного супернатанта *L. plantarum* 8P-A3 как перспективный дополнительный метод лечения инфицированных ран.

## Заключение

В результате проведенных исследований были охарактеризованы штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенные с поверхности ожоговых ран. Установлено, что все изоляты являются полирезистентными и содержат в геноме широкий спектр детерминант антибиотикорезистентности. Метаболомное профилирование бесклеточного супернатанта производственного штамма *L. plantarum* 8P-A3 позволило установить, что он содержит значительное количество органических кислот, в том числе короткоцепочечных, способных ингибировать рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и стимулировать регенерацию тканей. В результате анализа полного генома штамма установлена его потенциальная способность к синтезу целого ряда внеклеточных метаболитов, обладающих бактерицидной активностью. В ходе эксперимента показано выраженное антимикробное действие бесклеточного супернатанта на полирезистентные штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, что позволяет рассматривать его как перспективный дополнительный метод лечения инфицированных ран.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России № 056-00015-21-00 «Изучение механизмов комплексной устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам и физическим антимикробным факторам и разработка способов ее преодоления» (2021–2023).

## Литература

- Kern L., Abdeen, S.K., Kolodziejczyk A.A., Elinav E. Commensal inter-bacterial interactions shaping the microbiota. *Curr Opin Microbiol.* 2021;63:158-171. DOI: 10.1016/j.mib.2021.07.011
- Zemskov V.M., Alekseev A.A., Krutikov M.G. Changes of the immune status at suffered from burns, including at mass accidents. *Journal of experimental and clinical surgery.* 2013;6(1):9-18. Russian. (Земсков В.М., Алексеев А.А., Крутиков М.Г. Изменения иммунного статуса у пострадавших от ожогов, в том числе при массовых катастрофах. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* 2013;6(1):9-18.) DOI: 10.18499/2070-478X-2013-6-1-9-18
- Samarcev V.A., En'cheva Yu.A., Kuznesova V.M., Karpunina T.I. Features of infection of burn wounds. *Surgery news.* 2014;22(2):199-206. Russian. (Самарцев В.А., Еньчева Ю.А., Кузнецова В.М., Карпунина Т.И. Особенности инфицирования ожоговых ран. *Новости хирургии.* 2014;22(2):199-206.)
- Argenta A., Satish L., Gallo P., Liu F., Kathju S. Local application of probiotic bacteria prophylaxes against sepsis and death resulting from burn wound infection. *PLoS One.* 2016;11(10):e0165294. DOI: 10.1371/journal.pone.0165294
- Peral M.C., Martinez M.A., Valdez J.C. Bacteriotherapy with *Lactobacillus plantarum* in burns. *Int Wound J.* 2009;6(1):73-81. DOI: 10.1111/j.1742-481X.2008.00577.x
- Peral M.C., Rachid M.M., Gobbato N.M., Human Martinez M.A., Valdez J.C. Interleukin-8 production by polymorphonuclear leukocytes from patients with chronic infected leg ulcers treated with *Lactobacillus plantarum*. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(3):281-286. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02793.x
- Stanbro J., Park J.M., Bond M., Stockelman M.G., Simons M.P., Watters C. Topical delivery of *Lactobacillus* culture supernatant increases survival and wound resolution in traumatic *Acinetobacter baumannii* infections. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2020;12(3):809-818. DOI: 10.1007/s12602-019-09603-z
- Ermolenko E.I., Rybal'chenko O.V. Antimicrobial action of lactobacilli. *Medicina XXI vek.* 2007;5(6):41-48. Russian. (Ермоленко Е.И., Рыбальченко О.В. Антимикробное действие лактобацилл. *Медицина XXI век.* 2007;5(6):41-48.)
- Stoyanova L.G., Ustyugova E.A., Netrusov A.I. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: their diversity and properties. *Applied biochemistry and microbiology.* 2012;48(3):259-275. Russian. (Стоянова Л.Г., Устюгова Е.А., Нетрусов А.И. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология.* 2012;48(3):259-275.)
- Danilova T.A., Adzhieva A.A., Mezenceva M.V., Suetina I.A., Danilina G.A., Minko A.G., et al. The inhibitory activity of supernatant of *Lactobacillus plantarum* against Enterobacteria, *Campylobacter*, and tumor cells. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2023;176(7):76-80. Russian. (Данилова Т.А., Аджиева А.А., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Данилина Г.А., Минко А.Г. и соавт. Ингибирующее действие супернатанта *Lactobacillus plantarum* на энтеробактерии, кампилобактер и опухолевые клетки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2023;176(7):76-80.) DOI: 10.47056/0365-9615-2023-176-7-76-80
- Danilova T.A., Danilina G.A., Adzhieva A.A., Polyakov N.B., Zhuhovickij V.G. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* supernatant on non-fermenting Gram-negative bacteria. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2022;173(1):71-74. Russian. (Данилова Т.А., Данилина Г.А., Аджиева А.А., Поляков Н.Б., Жуховицкий В.Г. Антибактериальное действие супернатанта *Lactobacillus plantarum* на неферментирующие грамотрицательные бактерии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2022;173(1):71-74.) DOI: 10.47056/0365-9615-2022-173-1-71-74
- Danilova T.A., Adzhieva A.A., Danilina G.A., Polyakov N.B., Solov'ev A.I., Zhuhovickij V.G. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* supernatant against pathogenic microorganisms. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2019;167(6):709-712. Russian. (Данилова Т.А., Аджиева А.А., Данилина Г.А., Поляков Н.Б., Соловьев А.И., Жуховицкий В.Г. Антимикробное действие супернатанта *Lactobacillus plantarum* на патогенные микроорганизмы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2019;167(6):709-712.) DOI: 10.47056/0365-9615-2022-173-1-71-74
- Soleymanzadeh Moghadam S., Mohammad N., Ghooshchian M., FathiZadeh S., Khodaii Z., Faramarzi M., et al. Comparison of the effects of *Lactobacillus plantarum* versus imipenem on infected burn wound healing. *Med J Islam Repub Iran.* 2020;34:94. DOI: 10.34171/mjiri.34.94
- Valdéz J.C., Peral M.C., Rachid M., Santana M., Perdigón G. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(6):472-479. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2005.01142.x
- Brachkova M.I., Marques P., Rocha J., Sepodes B., Duarte M.A., Pinto J.F. Alginate films containing *Lactobacillus plantarum* as wound dressing for prevention of burn infection. *J Hosp Infect.* 2011;79(4):375-377. DOI: 10.1016/j.jhin.2011.09.003
- Semenova E.F., Markelova N.N., Bibarsova A.A., Rzhvskaya V.S., Teplickaya L.M., Slast'ya E.A., et al. Qualitative and quantitative composition of metabolites of lactic acid bacteria strains in relation to the development of probiotic preparations. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noj i klinicheskoy mediciny.* 2021;11(4):44-53. Russian. (Семенова Е.Ф., Маркелова Н.Н., Бибарсова А.А., Ржевская В.С., Теплицкая Л.М., Сластия Е.А. и соавт. Качественный и количественный состав метаболитов штаммов молочнокислых бактерий в связи с разработкой препаратов пробиотического действия. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2021;11(4):44-53.) DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-4-44-53
- Yarec Yu.I., Shevchenko N.I., Eremin V.F. Methodology of microbiological analysis of wounds swabs within the framework of modern concepts of wound infection process. *Laboratory service.* 2021;10(3):33-42. Russian.

- (Ярец Ю.И., Шевченко Н.И., Еремин В.Ф. Методология микробиологического посева раневого отделяемого в рамках современных представлений о диагностике инфекционного процесса. *Лабораторная служба*. 2021;10(3):33-42.) DOI: 10.17116/labs20211003133
18. Kolomic N.D., Tonko O.V., Serookaya T.I., Marejko A.M., Litunovskaya L.G., Ermakova T.S. Instructions for use "Microbiological methods of biological material research": approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus 19.03.10 № 075-0210. Minsk. Available at: <https://antidoping.by/>. Accessed February 7, 2024. Russian. (Коломиц Н.Д., Тонко О.В., Сероокая Т.И., Марейко А.М., Литуновская Л.Г., Ермакова Т.С. Инструкция по применению «Микробиологические методы исследования биологического материала»: утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 19.03.10 №075-0210. Минск. 2010. Доступно по адресу <https://antidoping.by/>. Ссылка активна на 07 февраля, 2024 г.)
  19. Chebotar' I.V., Polikarpova S.V., Vocharova Yu.A., Mayanskij N.A. Use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification of bacteria and fungi of the pathogenicity group III and IV. *Laboratory service*. 2018;7(2):78-86. Russian. (Чеботарь И.В., Поликарпова С.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III-IV групп патогенности. *Лабораторная служба*. 2018;7(2):78-86.) DOI: 10.17116/labs20187278-86
  20. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0. Available at: [www.antibiotic.ru/eucast/](http://www.antibiotic.ru/eucast/). Accessed February 7, 2024. Russian. (Пограничные значения МПК и диаметров зон подавления роста для интерпретации результатов определения чувствительности. Версия 13.0. Доступно по адресу: [www.antibiotic.ru/eucast/](http://www.antibiotic.ru/eucast/). Ссылка активна на 07 февраля 2024 г.)
  21. General pharmacopoeia article Lactose-containing probiotics. OFS.1.7.1.0006.15. MZ RF. 2015. 10 s. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/of-1-7-1-0006-15-laktosoderzhashhie-probiotiki/>. Accessed February 7, 2024. Russian. (Общая фармакопейная статья Лактосодержащие пробиотики. ОФС.1.7.1.0006.15. МЗ РФ. 2015. 10 с. Доступно по адресу: <https://pharmacopoeia.ru/of-1-7-1-0006-15-laktosoderzhashhie-probiotiki/>. Ссылка активна на 07 февраля 2024 г.)
  22. Belova I.V., Tochilina A.G., Solovyeva I.V., Efimov E.I., Ivanova T.P., Zhirnov V.A., et al. *Lactobacillus fermentum* 90 TC 4 taxonomic status confirmation using whole genome sequencing and MALDI TOF mass spectrum. *Genetika*. 2016;52(9):907-913. PMID: 29369557.
  23. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014;30(14):2068-2069. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153
  24. van Heel A.J., de Jong A., Song C., Viel J.H., Kok J., Kuipers O.P. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. *Nucleic Acids Res*. 2018;2(46):W278-W281. DOI: 10.1093/nar/gky38
  25. Polishchuk A.G., Yakubovich E.I., Polukhina O.V., Osovskikh V.V., Evtushenko V.I. Carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in the Russian research center of radiology and surgical technologies. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2017;19(3):235-242. Russian. (Полищук А.Г., Якубович Е.И., Полухина О.В., Осовских В.В., Евтушенко В.И. Карбапенемазопродуцирующие грамотрицательные бактерии в специализированном стационаре ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Санкт-Петербурга. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(3):235-242.)
  26. Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Trushin I.V., Kuzmenkov A.Yu., Martinovich A.A., Shek E.A., et al. Susceptibility of clinical Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* isolates to ceftazidime-avibactam in Russia: multicenter local laboratory data-based surveillance. *linicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2021;23(3):264-278. Russian. (Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Трушин И.В., Кузьменков А.Ю., Мартинович А.А., Шек Е.А. и соавт. Оценка чувствительности клинических изолятов Enterobacterales и *Pseudomonas aeruginosa* к цефтазидиму-авибактаму в России (по данным локальных микробиологических лабораторий). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021;23(3):264-278.) DOI: 10.36488/смас.2021.3.264-278
  27. Veselova M.A., Plyuta V.A., Hmel' I.A. Bacterial volatile substances: structure, biosynthesis, biological activity. *Microbiology*. 2019;88(3):272-287. Russian. (Веселова М.А., Плюта В.А., Хмель И.А. Летучие вещества бактерий: структура, биосинтез, биологическая активность. *Микробиология*. 2019;88(3):272-287.) DOI: 10.1134/S0026365619030169
  28. Abootaleb M., Mohammadi Bandari N., Arbab Soleimani N. Interference of *Lactiplantibacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* on the infected burns in wistar rats. *J Burn Care Res*. 2022;43(4):951-956. DOI: 10.1093/jbcr/irab229/
  29. Rybal'chenko O.V., Orlova O.G., Bondarenko V.M. Antimicrobial peptides of lactobacilli. *ZHurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013;4:89-100. Russian. (Рыбальченко О.В., Орлова О.Г., Бондаренко В.М. Антимикробные пептиды лактобацилл. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013;4:89-100.)
  30. Korshunova T.Yu., Muhamatd'yarova S.R., Loginov O.N. Properties and phylogenetic provision of the bacterium *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1. *Izvestiya samarskogonnauchnogo centra rossijskoj akademii nauk*. 2013;15(3-5):1645-1648. Russian. (Коршунова Т.Ю., Мухаматдьярова С.Р., Логинов О.Н. Свойства и филогенетическое положение бактерии *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2013;15(3-5):1645-1648.)
  31. Sviridenko G.M., Zaharova M.B. Control of BHCP in dairy products and production environment. *Pererabotka moloka*. 2018;11:6-9. Russian. (Свириденко Г.М., Захарова М.Б. Контроль БГКП в молочных продуктах и на объектах производственной среды. *Переработка молока*. 2018;11:6-9.)