

ПЕРСПЕКТИВА ТИНДАЛІЗОВАНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ У РОЗРОБЦІ БЕЗПЕЧНИХ ПРОБІОТИЧНИХ ЗАСОБІВ

Бомко Т.В., Мартинов А.В., Носальська Т.М.

Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.
Мечникова Національної академії медичних наук
України

На даний час існує великий інтерес до терапевтичних стратегій прямого або непрямого впливу на мікробіоту кишечника. Це - використання пробіотиків, пребіотиків та інших харчових добавок, трансплантація фекалій [1,2,3]. Найбільш вживаним є застосування пробіотиків.

Основними ефектами пробіотиків на кишковому рівні є підтримка балансу і відновлення мікробіоти кишечника, захист від патогенів, імуномодуляція та підтримка цілісності кишкового бар'єра [4]. Пробиотики продемонстрували значний потенціал терапевтичних можливостей для лікування різних захворювань, включаючи гостру інфекційну діарею, діарею, викликану антибіотиками, виразковий коліт, синдром подразненого кишечника, функціональні шлунково-кишкові розлади або некротичний ентероколіт, а також екстракишкові розлади, наприклад, печінкова енцефалопатія [1,5].

Тим не менш, є ще багато невирішених питань, наприклад, питання безпеки при використанні живих мікроорганізмів, особливо в уразливих популяціях [6,7,8,9], відсутність чітких клінічних рекомендацій [1,5], відсутність переконливих доказів клінічних випробувань за певними показаннями [2], обмежене регулювання пробіотиків [10] або відсутність досліджень, які оцінюють життєздатність мікроорганізмів, що потрапили в кишечник, і відмінності в ефектах між життєздатними і нежиттєздатними мікроорганізмами [11].

Живі пробіотичні бактерії при попаданні в шлунково-кишковий тракт піддаються впливу кислого середовища і пепсину шлунка, потім руйнівній дії жовчних кислот і панкреатичних ферментів. В результаті цього більша частина мікроорганізмів гине, а ті, що залишилися, не завжди здатні відновити свою чисельність.

Існують також складності з інтеграцією виживих бактерій в біоплівку пристінкової мікрофлори, яка має захисні антагоністичні властивості щодо екзогенних мікроорганізмів. Між пробіотичними бактеріями і резидентною мікрофлорою може виникати біологічна несумісність.

У разі виживання значної частини введених мікроорганізмів і їх розмноження, однією з проблем безпеки є можливість надходження живих бактерій з кишечника в тканини і кров, з виникненням бактеріємії, особливо у пацієнтів з дисфункцією епітеліального бар'єру [12,13], ослабленим імунітетом, у тяжкохворих та у дітей [32,52]. Хоча в жодному з рандомізованих клінічних випробувань не повідомлялося про пробіотичний сепсис, є повідомлення про випадки серйозних інфекцій, таких

як сепсис, пневмонія, менінгіт, ендокардит і абсцес, у пацієнтів, які отримували різні пробіотики, включаючи *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* та *Streptococcus*, особливо в пацієнтів з основними захворюваннями [6,16]. Найбільш частим явищем є фунгемія, викликана прийомом препаратів дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae* / *Saccharomyces cerevisiae boulardii*) [17,18,19].

Іншою проблемою при використанні живих пробіотиків є можлива передача генів стійкості до антибіотиків пробіотичними штамми в травному тракті людини шляхом горизонтального переносу генів [6,20,21]. Недавнє дослідження показало здатність харчових бактерій *Lactobacillus* поширювати свої властивості стійкості до антибіотиків на харчові патогени в умовах *in vitro* та *in vivo* [22].

Можливою є також наявність у пробіотиків небажаної метаболічної активності і надмірної стимуляції імунної реакції у сприйнятливих людей [16].

При використанні пробіотиків у новонароджених живі штами можуть утворювати стійкі колонії, які перешкоджають нормальній колонізації іншою мікробіотою або нормальним основним мікробіомом в шлунково-кишковому тракті, з наступною зміною нормального розвитку імунної системи [14,23]. У зв'язку з цим для новонароджених була рекомендована комбінація пробіотичних штамів замість одного штаму, також було запропоновано використовувати вбитих нагріванням пробіотиків (*S. thermophilus*) в суміші для ентерального введення з метою уникнути втручання в колонізацію кишечника [24].

В останні роки виник інтерес до використання нежиттєздатних, убитих нагріванням, пробіотиків [6,7,25]. Інактивації мікроорганізмів може бути досягнуто різними методами, включаючи нагрівання, вплив хімічних речовин (наприклад, формаліну), гамма- або ультрафіолетове опромінення і обробку ультразвуком. У більшості випадків методом вибору інактивації пробіотичних штамів є теплова обробка [6,25,26].

Для термообробки бактеріальних суспензій може використовуватися діапазон температур від 70 до 100 ° C, а в деяких випадках інактивація досягається за рахунок комбінації термообробки з періодами витримування при більш низьких температурах (температура навколишнього середовища, потім температура охолодження або замерзання). Цей процес відомий як тиндалізація через схожість з методом стерилізації для видалення спор, заснованому на повторюваних кип'ятінні та інкубації [27,28].

Модифікований процес тиндалізації був використаний для отримання термооброблених промислово вирощуваних бактерій для різних цілей, як медичних, так і харчових [29,30,27]. Повідомлялося, що у штамів *L. rhamnosus* процес тиндалізації змінює форму клітин із появою зморщених і фрагментованих форм [30]. При термічній обробці може відбуватися розрив клітинних стінок з вивільненням цитоплазматичного вмісту і бактеріальних лізатів, компонентів клітинної стінки, які грають ключову

роль в імуномодуючих ефектах [25], а також можуть беруть участь у пригніченні патогенів [31,32]. Однак існує недостатня кількість наукових досліджень з оцінки впливу процесу тиндалізації на бактеріальні клітини.

Всупереч загальноприйнятій думці, життєздатність бактерій або цілісність їх клітинної стінки не є важливою умовою для кишкових ефектів пробіотиків. Є значний обсяг даних, які показують, що після термічної обробки бактеріальні екстракти і супернатант в більшості випадків зберігають свої основні пробіотичні властивості [25,30,33,34,35], що було доведено в досліді *in vitro*, на моделях у тварин [25] і в клінічних випробуваннях [6,14,29,36]. В основі цих ефектів лежить взаємодія ефекторних молекул з клітинами-господарями [37,38,39]. Ключові молекули кишкових бактерій, включаючи ліпополісахариди або пептидоглікани, при попаданні в навколишнє середовище із зруйнованих або повністю лізованих клітин, взаємодіють з рецепторами еукаріотів [40,41,42].

Слід зазначити, що ефекти живих пробіотиків також в значній мірі пов'язані з вивільненням бактеріальних продуктів, які можуть проходити через щільний внутрішній шар слизу, що захищає ентероцити кишечника, і є слабо доступним для цілісних клітин [13,35,43].

Наводяться наступні експериментальні докази **протекторної дії щодо патогенів** різних пробіотичних бактерій, убитих нагріванням.

Було описано конкуренцію за сайти адгезії на шлунково-кишковому рівні між убитими нагріванням клітинами, очищеними структурами з лактобактерій, і шлунково-кишковими патогенами, такими як *E. coli*-ETEC [44], *Campylobacter* [45] і *H. pylori* [33,46].

На моделі сальмонельозу в мишей комбінація убитих нагріванням молочнокислих бактерій, включаючи *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum* та *Enterococcus faecium*, знижувала інвазію сальмонел і запалення, що пов'язують з дією ліпотейхоевих кислот та екзополісахаридів [47].

Убитий нагріванням *L. plantarum* також захищав від сальмонельозу мишей і знижував транслокацію цього патогена в селезінку і печінку, в основному за рахунок пригнічення адгезії та інвазії патогенів [48]. Убитий нагріванням *Lactobacillus johnsonii* пригнічував зростання *H. pylori* в досліді *in vitro* та в інфікованому шлунку мишей [46].

Пероральне введення мишам інактивованих біфідобактерій також призводило до підвищення стійкості до інфекції *Salmonella* [49]. У дослідженні *in vitro* інактивовані нагріванням *Bifidobacterium* BB12 перешкождали утворенню біоплівки *Streptococcus mutans* [50].

Відомо про такі **імуномодуючі ефекти** убитих нагріванням пробіотиків. Молочнокислі бактерії (*L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. plantarum*) індукували секрецію ІЛ-12, що підсилює вроджений імунітет. Причому найбільш сильний ефект відзначався у вбитого нагріванням *L. paracasei* в порівнянні з *L. reuteri*, *L. casei* та *L. plantarum* [51].

Більший стимулюючий вплив на макрофаги мишей відзначався в убитих нагріванням *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum* та *E. faecium* в порівнянні з живими штамами [47].

Убиті нагріванням пробіотичні штами *S. thermophilus* зберігали здатність індукувати продукцію ІgА, що було продемонстровано в зразках фекалій недоношених дітей [24].

Інактивованій нагріванням *B. bifidum* OLB6378 впливав на продукцію sIgA на моделі кишкового експлантата миші, що визнали результатом прямого впливу на епітелій кишечника [52].

При порівнянні живого і убитого нагріванням *B. breve* M-16-V обидві форми викликали пригнічення вироблення прозапальних цитокінів в клітинах селезінки мишей-гнотобіотів [53].

Убиті нагріванням пробіотичні бактерії сприяють **цілісності кишкового бар'єра**. У моношарах клітин Caco-2 / TC7, інфікованих діарейним Afa / Dr *E. coli* C1845, убитий нагріванням *L. acidophilus* LB (з культуральним середовищем) знижував парacellularну проникність, підвищену під дією *E. coli* [54].

На моделі слизової оболонки кишечника (клітини HT29-MTX) комбінація тиндалізованих штамів, включаючи *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *B. bifidum* та *S. thermophilus* і желатиновий танат, захищала кишкові клітини від інфекції *E. coli* шляхом пригнічення адгезії та інтерналізації бактерій, запобігання збільшенню міжклітинної проникності і модуляції експресії генів цитокінів [15,55].

Ця ж комбінація тиндалізованих пробіотиків на клітинах CacoGoblet®, інфікованих *E. coli*, також виявляла протекторні властивості, збільшуючи трансепітеліальний електричний опір і знижуючи параклітинний потік [56].

Убитий нагріванням *L. rhamnosus* OLL2838 чинив протекторну дію щодо бар'єрної функції кишечника у мишей з експериментальним колітом [57].

У дослідженні на щурах з гострим алкогольним ураженням кишечника введення убитих нагріванням бактерій пробіотичного продукту VSL 3, що містить *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus* та *S. thermophilus*, значною мірою захищало цітоархітектуру кишкового бар'єру, запобігаючи проникненню ендотоксину та інших бактеріальних продуктів з просвіту кишечника в порталну циркуляцію і пригнічуючи експресію TNF- α [58].

Розглянемо ефекти окремих активних компонентів убитих нагріванням бактерій. Це - позаклітинні супернатанти [13], екзополісахариди (EPS) [59], компоненти клітинної стінки і метаболіти, які володіють протизапальною, протекторною та імуномодуючою активністю.

Основними компонентами клітинної стінки грампозитивних бактерій є пептидоглікани і ліпотейхоеві кислоти. Вони можуть вважатися ключовими компонентами імуномодуючої дії більшості пробіотиків [37,38,60].

Ліпотейхоєві кислоти *L. plantarum* на культурах дендритних клітин селезінки мишей проявляли властивості індуктора ІЛ-12 [61], чинили протизапальну дію на лініях епітеліальних клітин кишечника свиней, пригнічуючи індуквану полі І:С продукцію ІЛ-8 [37].

Пептидоглікан з *L. rhamnosus* поліпшував вроджену імунну відповідь у мишей з ослабленим імунітетом після інфікування *Streptococcus pneumoniae*. Більш того, назальне введення цієї речовини покращувало вроджені імунні відповіді та індуквало респіраторні і системні адаптивні реакції людини [62]. Пептидоглікани, виділені з різних видів *Lactobacillus*, також мають здатність пригнічувати LPS-індуковане вивільнення запальних цитокінів у RAW 264.7-макрофагоподібних клітинах мишей [63]. Комплекси полісахарид-пептидоглікан із штаму *L. casei* YIT9018 були активні проти *L. monocytogenes* та *P. aeruginosa* [60, 64].

На відміну від *Lactobacillus*, для біфідобактерій імуномодуючу дію ліпотейхоєвих кислот і пептидогліканів ще належним чином не вивчено [31].

Екзополісахариди - позаклітинні поверхневі вуглеводні полімери, які секретуються і присутні у більшості бактерій, діють як захисний поверхневий шар, а також взаємодіють з навколишнім середовищем [32], формують бактеріальні біоплівки [65]. У досліджах *in vivo* та *in vitro* показано імуномодуючі ефекти екзополісахаридів, виділених зі штамів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* [32]. Передбачається, що ці речовини беруть участь у взаємодії між пробіотичними бактеріями та імунною системою господаря [31,66]. Вбиті нагріванням *Bifidobacterium longum* BCRC 14634 або виділені з них екзополісахариди підвищували проліферацію макрофагів J774.1 та секрецію протизапального цитокіну ІЛ-10. Цей екзополісахарид також пригнічував вивільнення TNF- α з клітин J774.1 і знижував LPS-індуковане інгібування росту клітин [67].

Існує також велика кількість досліджень *in vitro* та *in vivo*, які доводять захисні ефекти екзополісахаридів, виділених з пробіотиків [35]. Антагоністичний ефект лактобацил і біфідобактерій, які продукують екзополісахариди, або їх ізольованих екзополісахаридів, визначається їх здатністю коагредуватися з патогенами, що знижує доступність останніх до кишкового епітелію [32,68]. Відзначається також здатність екзополісахаридів утворювати захисні плівки, що оберігають клітини-господарі від пошкоджень патогенами або їх токсинами [31,32]. Так, очищений екзополісахарид з *L. plantarum* WLPL04, що складається з ксилози, глюкози і галактози, був здатний пригнічувати адгезію *E. coli* O157:H7 до клітин HT-29. Він також ефективно інгібував утворення біоплівок патогенними бактеріями, включаючи *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* O157: H7, *Salmonella* та *Staphylococcus aureus* [59]. Штам *S. thermophilus* CRL1190, завдяки екзополісахаридам, прикріплювався до клітин AGS, знижував адгезію *H.*

pylori і послаблював запальну реакцію [69]. У дослідженнях на тваринах введення *B. breve*, який продукує екзополісахариди, зменшувало колонізацію *Citrobacter rodentium* у порівнянні з мутантним не продукуючим штамом [70, 71]. Екзополісахариди з *Bifidobacterium longum* BCRC 14634 проявляли антимікробну активність проти 7 видів бактерій, що викликають псування харчових продуктів, і проти збудників інфекцій [72].

Екзополісахариди, виділені з пробіотиків, мають структурну та біологічну схожість з іншим небактерійним полімером - ксилоглюканом - рослинним полімером (з насіння *Tamarindus indica*), який також має захисні плівкоутворюючі властивості і на даний час використовується для лікування різних захворювань шлунково-кишкового тракту [73].

Білки поверхневого S-шару, які щільно покривають поверхню клітин деяких бактерій і архей [74], присутні і на поверхні клітин ряду лактобацил. Наприклад, білок А S-шару з *L. acidophilus* бере участь у зв'язуванні мікроорганізму з дендритними клітинами, що призводить до індукції імунорегуляторного фенотипу (Treg) та поліпшенню гомеостазу слизової оболонки кишечника [75,76].

Безклітинні супернатанти пробіотичних бактерій містять широкий спектр сполук з антимікробними властивостями, включаючи органічні кислоти (зокрема молочну кислоту), перекис водню, діацетил, реутерин і бактеріоцини [77,78]. Продукція органічних кислот більшістю пробіотичних штамів в основному забезпечує їх антимікробну активність проти грамнегативних патогенів [78]. Доведено дозозалежний бактерицидний ефект, обумовлений молочною кислотою, у відфільтрованих супернатантів *S. thermophilus* щодо *C. difficile* [79]. Реутерин (3-гідроксіпропіональдегід) - це добре відомий антимікробний метаболіт, що продукується *L. reuteri*, який, як вважають, чинить свою дію шляхом окислення тіолових груп в цільових патогенних мікроорганізмах кишечника [78,80].

Бактеріоцини, що секретуються, - це невеликі термостійкі антибактеріальні пептиди, які здатні пригнічувати ріст інших бактерій, включаючи кишкові патогени [75,81]. Пригнічення росту *in vitro* широкого спектра патогенів, включаючи *Clostridium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* та інші грамнегативні бактерії, а також захист від інфекції *in vivo*, описані для різних молочнокислих бактерій [81,82,83]. Біфідоцини, виділені з різних штамів *Bifidobacterium*, також проявляють широкий спектр бактерицидної активності проти грампозитивних та грамнегативних бактерій і деяких дріжджів за допомогою лізису клітин. Інший бактеріоцин, що продукується *Bifidobacterium*, ацидоцин, пригнічує *Clostridium* у ферментованих харчових продуктах [31,84,85].

Бактеріоцини та інші антимікробні сполуки можуть бути присутніми в інактивованих нагріванням пробіотичних продуктах, оскільки вони витримують температури до 100 ° C [82]. Вони також стабільні в

широкому діапазоні рН, стійкі до заморожування і до дії слабких органічних розчинників, солей і ферментів [31].

Представлено ряд клінічних даних, в тому числі досліджень високої якості, щодо ефективності застосування убитих нагріванням пробіотиків при наступних захворюваннях і станах [35].

Метеоризм у дорослих і дітей

У подвійному-сліпому багатоцентровому рандомізованому клінічному дослідженні за участю дорослих з діагнозом функціональне здуття живота, 20-денне застосування тиндалізованих *L. reuteri* та *B. breve* з полімером ксилотриглюканом дало вищі результати по ефективності у порівнянні з симетиконом. Зазначалося зменшення виразності початково діагностованого синдрому надлишкового бактеріального росту в тонкому кишечнику і зниження утворення газоподібного водню (в дихальному тесті) [36]. Зазначений синдром виникає внаслідок надмірного росту бактерій, які зазвичай колонізують товсту кишку, в основному грамнегативних, строгих анаеробів та ентерококів [86].

Тиндалізовані *Lactobacillus reuteri* SGL01 та *Bifidobacterium breve* SGB01 в дозі 100×10^9 КУО / г з ксилотриглюканом було вивчено в пілотному дослідженні за участю 46 немовлят у віці від 3 до 16 тижнів з дитячими кольками. Дитячі кольки, як відомо, пов'язані з дисбактеріозом (зниженням рівнем біфідобактерій, лактобацил і видів, які продукують бутират, і підвищенням рівнем протеобактерій), незрілістю слизової оболонки, запальним процесом і порушенням бар'єрної функції кишечника [28]. Зазначені пробіотичні бактерії в нормі присутні в кишечнику грудних дітей і в грудному молоці. Їх застосування значно знизило середню тривалість нападів плачу в порівнянні з прийомом лактази [29].

У недавньому рандомізованому відкритому контрольованому клінічному дослідженні за участю дітей у віці від 2 тижнів до 4 місяців введення тиндалізованого *Lactobacillus acidophilus* HA122 (2×10^9 КУО/2 мл) в поєднанні з екстрактами *Matricaria chamomilla* і *Melissa officinalis* призвело до значного скорочення середнього щоденного часу плачу порівняно з симетиконом [87].

Діарея

Убитий нагріванням *L. acidophilus* LB істотно послаблював клінічні симптоми у пацієнтів з хронічною діареєю, причому ефект перевершував такий живих лактобацил [88].

У плацебоконтрольованому дослідженні в дітей з гострою діареєю, викликаною ротавірусом, ліофілізований, убитий нагріванням *L. acidophilus* LB в поєднанні з пероральною регідраційною терапією через 24 години лікування достовірно знижував число дітей з рідким стулом у порівнянні з плацебо. Значно скорочувалася також тривалість діареї [89].

У рандомізованому подвійному-сліпому плацебоконтрольованому клінічному дослідженні в

дітей зі стійкою не ротавірусною діареєю застосування ліофілізованих, убитих нагріванням, бактерій *L. acidophilus* LB з культуральним середовищем скорочувало час відновлення нормального стула на один день у порівнянні з дітьми, які отримували розчин для пероральної регідрації в якості плацебо [54].

Позакишкові захворювання

Використання оральних пробіотиків найбільшою мірою вивчено при лікуванні алергічних захворювань, особливо атопічного дерматиту [30]. Однак результати використання різних живих пробіотиків, в основному *L. rhamnosus* GG, *B. breve* та *B. longum*, при цьому захворюванні викликали значні розбіжності [14,90,91] через протирічні результати ефективності і в деяких випадках через виникнення небажаних явищ [14]. Відзначено, що ефекти можуть бути пов'язані з типом пробіотичного штаму, методом введення, дозою, часом початку і тривалістю лікування [37,90].

У ряді досліджень на мишах було показано, що тиндалізовані штами *L. rhamnosus* та *L. brevis* можуть запобігати розвитку атопічного дерматиту [92, 93]. У дослідженні на моделі атопічного дерматиту в мишей пероральне введення метаболітів молочнокислих бактерій зменшувало ступінь шкірних проявів [94].

У багатоцентровому рандомізованому подвійному-сліпому контрольованому дослідженні використанням молочної суміші, що містить убиті нагріванням *B. breve* C50 і *S. thermophilus* 065 у дітей з високим ризиком атопії, знизило частоту травних і респіраторних алергічних подій [95,96].

Ще не досліджено ефективність місцевого застосування убитих нагріванням пробіотиків і виділених з них сполук, хоча вони мають захисні бар'єрні властивості і можуть брати участь в регенерації шкіри [73,97].

Стосовно ефективності при хелікобактерній інфекції було отримано дані *in vitro* та на експериментальних моделях, тобто можна припустити, що бактерії, убиті нагріванням, також можуть використовуватися в якості підтримки при терапії інфекції *H. pylori* [33,46].

Останнім часом на ринку з'явилися засоби, що містять різні убиті нагріванням штами пробіотиків. Це - ксилотриглюкан плюс тиндалізовані штами *L. reuteri* та *B. breve* для лікування кольок у дорослих і дітей, а також комплекс для лікування дисбактеріозу кишечника, пов'язаного з діареєю (желатиновий танат плюс тиндалізований *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidus thermo* та *Streptococcus*). Для лікування дитячих кольок випускається тиндалізований *Lactobacillus acidophilus* HA122 (2×10^9 КУО/2 мл) в поєднанні з екстрактами ромашки і меліси [35].

На завершення слід підкреслити переваги використання убитих нагріванням пробіотиків. До них відносяться: відсутність ризику транслокації бактерій з просвіту кишечника в кров, відсутність ризику

отримання і повторного перенесення генів стійкості до антибіотиків; відсутність ризику порушення нормальної колонізації кишкової мікробіоти у новонароджених. Ці об'єкти легко стандартизувати, транспортувати і зберігати. Вони є альтернативою живим пробіотикам і відкривають можливості використання для лікування різних захворювань і станів.

Perspective of tinalized microorganisms in the development of safe probiotics

Bomko T.V., Martynov AV, Nosalskaya T.M.

Introduction: The use of probiotics is a common method of influencing the intestinal microbiota. But oral administration of live probiotic bacteria has significant disadvantages. First, live probiotic bacteria in gastrointestinal tract are exposed to acidic environment and gastric pepsin, then the destructive effects of bile acids and pancreatic enzymes. As a result, most microorganisms die, and the remaining ones are not always able to restore their number. There are also difficulties with the integration of surviving bacteria into the biofilms of the parietal microflora, which has protective antagonistic properties against exogenous microorganisms. In the case of survival of a significant part of the introduced microorganisms and their reproduction, one of the safety problems is the possibility of penetration of live bacteria from the intestine into the tissues and blood, with the occurrence of bacteremia, especially in patients with impaired epithelial barrier function. Another problem with the use of live probiotics is the possible transfer of antibiotic resistance genes by probiotic strains in the human digestive tract by horizontal gene transfer. In newborns, probiotics can interfere with normal bowel colonization. **Rationale:** In recent years, there has been interest in heat-killed probiotics, including through the use of tyndallization. But the viability of bacteria or the integrity of their cell wall is not an important condition for the intestinal effects of probiotics. There is a considerable amount of experimental *in vitro* and animal model studies that show that after heat treatment, bacterial extracts and supernatant in most cases retain their basic probiotic properties. Experimental evidence for the protective effect of various heat-killed probiotic bacteria against intestinal pathogens is presented. Thus, killed lactobacilli or their purified structures competed for adhesion sites at the gastrointestinal level with *E. coli*-ETEC, *Campylobacter* and *H. pylori*. In a model of salmonellosis in mice, heat-killed lactobacilli, alone or in combination, reduced pathogen invasion and inflammation. Oral administration of inactivated bifidobacteria to mice also resulted in increased resistance to *Salmonella* infection. *In vitro* heat-inactivated *Bifidobacterium* BB12 prevented the formation of *Streptococcus mutans* biofilms. Immunomodulatory effects of heat-killed probiotics have been found in both innate and acquired immunity. Effects such as induction of IL-12 secretion, stimulating effect on macrophages, enhancement of IgA production, etc. are given. Heat-killed probiotic bacteria help support the integrity of the intestinal barrier, which has been proven in a number of studies on intestinal cell monolayers

(Caco-2 / TC7, HT29-MTX, CacoGoblet), as well as in studies in rats with acute alcoholic intestinal lesions. The effects of some active components of heat-killed bacteria are considered. The main components of the cell wall of gram-positive bacteria are peptidoglycans and lipoteichoic acids. They can be considered key components of the immunomodulatory action of most probiotics. Lipoteichoic acids of *L. plantarum* on cultures of dendritic cells of mice spleen showed the properties of an IL-12 inducer, had an anti-inflammatory effect on the lines of epithelial cells of the pigs intestine, inhibiting the induced field I:C production of IL-8. Peptidoglycan from *L. rhamnosus* improved the innate immune response in mice with weakened immunity after infection with *S. pneumoniae*. Peptidoglycans isolated from different species of *Lactobacillus* have the ability to inhibit the LPS-induced release of inflammatory cytokines in mice RAW 264.7 macrophage-like cells. Polysaccharide-peptidoglycan complexes from *L. casei* YIT9018 were active against *L. monocytogenes* and *P. aeruginosa*. A large amount of research has been devoted to the effects of exopolysaccharides isolated from *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains in *in vitro* and *in vivo* experiments. Heat-killed *Bifidobacterium longum* BCRC 14634 or exopolysaccharides isolated from them increased the proliferation of J77A.1 macrophages and the secretion of the anti-inflammatory cytokine IL-10. Exopolysaccharides coagulate with pathogens, which reduces the availability of the latter to the intestinal epithelium, forming the films that protect intestinal cells from damage by pathogens or their toxins. In animal studies, probiotics strains that produce exopolysaccharides reduced intestinal colonization by pathogens compared to non-producing strains. Cell-free supernatants of probiotic bacteria contain a wide range of compounds with antimicrobial properties, including organic acids, hydrogen peroxide, reuterin and bacteriocins. They are also present in heat-inactivated probiotic products because they can withstand temperatures up to 100 °C. A number of clinical data, including high-quality studies, on the efficacy of heat-killed probiotics are presented. 20-day use of tyndallized *L. reuteri* and *B. breve* with the polymer xyloglucan reduced the severity of the syndrome of excessive bacterial growth in the small intestine in adults diagnosed with functional bloating (double-blind randomized study). Tyndallized *L. reuteri* SGL01 and *B. breve* SGB01 reduced the duration of colic (crying attacks) in 46 infants. In a randomized controlled trial, tyndallized *L. acidophilus* HA122 with chamomile and melissa extracts significantly reduced the mean daily infant crying time compared to simethicone. Heat-killed *L. acidophilus* LB significantly reduced clinical symptoms in patients with chronic diarrhea, and the effect was superior to that of live lactobacilli. In a placebo-controlled study in children with acute diarrhea caused by rotavirus, lyophilized, heat-killed *L. acidophilus* LB significantly reduced the number of children with loose stools and significantly reduced the duration of diarrhea. In a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial in children with persistent non-rotavirus diarrhea, the use of lyophilized, heat-killed bacteria *L. acidophilus* LB reduced the recovery time of

normal stool. In a multicenter, randomized, double-blind, controlled study, the use of formula containing heat-killed *B. breve* C50 and *S. thermophilus* 065 in children at high risk of atopy reduced the incidence of digestive and respiratory allergic events. Recently, products containing various tyndallized probiotics strains have appeared on the market. These are *L. reuteri*, *B. breve* and xyloglucan for the treatment of colic in adults and children, *L. acidophilus* HA122 with extracts of chamomile and lemon balm for the treatment of colic in children, a complex of tyndalized lacto- and bifidobacteria with gelatin tanat for the treatment of intestinal dysbacteriosis associated with diarrhea. **Conclusion.** Heat-killed probiotics are no less effective than live bacteria and have benefits such as greater safety, ease of standardization, transportation, and storage. They are an alternative to live probiotics and open up the possibility of using them to treat various diseases and conditions.

Keywords: stress-factors, probiotics, metabiotics, heat-killed probiotics, review

References

1. Wilkins T., Sequoia J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *Am. Fam. Physician.* 2017 Aug 1; 96(3): 170-178.
2. Crow J.R., Davis S.L., Chaykosky D.M. et al. Probiotics and Fecal Microbiota Transplant for Primary and Secondary Prevention of Clostridium difficile Infection. *Pharmacotherapy.* 2015 Nov; 35(11): 1016-1025.
3. Dronkers T.M.G., Krist L., Van Overveld F.J., Rijkers G.T. The ascent of the blessed: Regulatory issues on health effects and health claims for probiotics in Europe and the rest of the world. *Benef. Microbes.* 2018 Sep 18; 9(5): 717-723.
4. Zyrek A.A., Cichon C., Helms S., et al. Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of Escherichia coli Nissle 1917 involve ZO-2 and PKCzeta redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cell. Microbiol.* 2007 Mar; 9(3): 804–816.
5. Draper K., Ley C., Parsonnet J. Probiotic guidelines and physician practice: A cross-sectional survey and overview of the literature. *Benef. Microbes.* 2017 Aug 24; 8(4): 507-519.
6. Deshpande G., Athalye-Jape G., Patole S. Paraprobiotics for Preterm Neonates. *Next. Front. Nutr.* 2018; 10: E871.
7. Adams C.A. The probiotic paradox: Live and dead cells are biological response modifiers. *Nutr. Res. Rev.* 2010 Jun; 23(1): 37-46.
8. Goldenberg J.Z., Yap C., Lytvyn L. et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017 Dec; 2017(12): CD006095.
9. Bafeta A., Koh M., Riveros C., Ravaud P. Harms Reporting in Randomized Controlled Trials of Interventions Aimed at Modifying Microbiota: A Systematic Review. *Ann. Intern. Med.* 2018 Aug 21; 169(4):240-247.
10. Pamer E.G. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science.* 2016 Apr 29; 352(6285): 535-538.
11. Sanders M.E., Merenstein D.J., Ouwehand A.C. et al. Probiotic use in at-risk populations. *J. Am. Pharm. Assoc.* Nov-Dec 2016; 56(6): 680-686.
12. Boyle R.J., Robins-Browne R.M., Tang M.L. Probiotic use in clinical practice: What are the risks? *Am. J. Clin. Nutr.* 2006 Jun; 83(6): 1256-1264; quiz 1446-1447.
13. De Marco S., Sichiatti M., Muradyan D., et al. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2018 Jul 4; 2018: 1756308.
14. Kataria J., Li N., Wynn J.L., Neu J. Probiotic microbes: Do they need to be alive to be beneficial? *Nutr. Rev.* 2009 Sep; 67(9): 546-550.
15. Lopetuso L., Graziani C., Guarino A. et al. Gelatin tannate and tyndallized probiotics: A novel approach for treatment of diarrhea. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017 Feb; 21(4): 873–883.
16. Doron S., Snyderman D.R. Risk and safety of probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2015 May; 60 Suppl 2(Suppl 2): S129-134.
17. Appel-da-Silva M.C., Narvaez G.A., Perez L.R.R. et al. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* fungemia following probiotic treatment. *Med. Mycol. Case. Rep.* 2017 Jul; 18: 15–17.
18. Lherm T., Monet C., Nougère B., Soulier M., Larbi D., Le Gall C., Caen D., Malbrunot C. Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critically ill patients. *Intensive. Care Med.* 2002 Jul; 28(6): 797–801.
19. Lolis N., Veldekis D., Moraitou H. et al. *Saccharomyces boulardii* fungaemia in an intensive care unit patient treated with caspofungin. *Crit. Care.* 2008; 12(2): 414.
20. Mater D.D., Langella P., Corthier G., Flores M. A probiotic *Lactobacillus* strain can acquire vancomycin resistance during digestive transit in mice. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2008; 14(1-3): 123–127.
21. Snyderman D.R. The safety of probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2008 Feb; 46: S104–S111.
22. Thumu S.C.R., Halami P. Conjugal transfer of ERM(B) and multiple tet genes from *Lactobacillus* spp. to bacterial pathogens in animal gut, in vitro and during food fermentation. *Food Res. Int.* 2019 Feb; 116: 1066–1075.
23. Neu J. Perinatal and neonatal manipulation of the intestinal microbiome: A note of caution. *Nutr. Rev.* 2007 Jun; 65(6 Pt 1): 282–285.
24. Campeotto F., Suau A., Kapel N., et al. A fermented formula in pre-term infants: Clinical tolerance, gut microbiota, down-regulation of faecal calprotectin and up-regulation of faecal secretory IgA. *Br. J. Nutr.* 2011 Jun; 105(12): 1843–1851.
25. Taverniti V., Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept) *Genes Nutr.* 2011 Aug; 6(3): 261–274.
26. Zorzela L., Ardestani S.K., McFarland L.V., Vohra S. Is there a role for modified probiotics as beneficial microbes: A systematic review of the literature. *Benef. Microbes.* 2017 Oct; 8(5): 739–754.
27. Kim H., Kim H., Bang J., et al. Reduction of *Bacillus cereus* spores in sikhye, a traditional Korean rice beverage, by modified tyndallization processes with and without

- carbon dioxide injection. *Lett. Appl. Microbiol.* 2012 Sep; 55(3): 218–223.
28. Daelemans S., Peeters L., Hauser B., Vandenplas Y. Recent advances in understanding and managing infantile colic. *F1000Res.* 2018 Sep; 7: F1000.
29. Vandenplas Y., Bacarea A., Marusteri M., et al. Efficacy and safety of APT198K for the treatment of infantile colic: A pilot study. *J. Comp. Effect Res.* 2017 Mar; 6(2): 137–144.
30. Lee S.H., Yoon J.M., Kim Y.H., et al. Therapeutic effect of tyndallized *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201 on atopic dermatitis mediated by down-regulation of immunoglobulin E in NC/Nga mice. *Microbiol. Immunol.* 2016 Jul; 60(7):468–476.
31. Sarkar A., Mandal S. Bifidobacteria-Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiol. Res.* 2016 Nov; 192: 159–171.
32. Castro-Bravo N., Wells J.M., Margolles A., Ruas-Madiedo P. Interactions of Surface Exopolysaccharides From Bifidobacterium and Lactobacillus Within the Intestinal Environment. *Front. Microbiol.* 2018 Oct; 9: 2426.
33. Canducci F., Armuzzi A., Cremonini F., et al. A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2000 Dec; 14(12): 1625–1629.
34. Liu Y., Gibson G.R., Walton G.E. An In Vitro Approach to Study Effects of Prebiotics and Probiotics on the Faecal Microbiota and Selected Immune Parameters Relevant to the Elderly. *PLoS ONE.* 2016 Sep; 11(9): e0162604.
35. Piqué N., Berlanga M., Miñana-Galbis D. Health benefits of heat-killed (tyndallized) probiotics: An overview. *Int J Mol Sci.* 2019 May; 20(10): 2534.
36. Burta O., Iacobescu C., Mateescu R.B., et al. Efficacy and safety of APT036 versus simethicone in the treatment of functional bloating: A multicentre, randomised, double-blind, parallel group, clinical study. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* 2018 Sep; 3: 72.
37. Kim K.W., Kang S.S., Woo S.J., et al. Lipoteichoic Acid of Probiotic *Lactobacillus plantarum* Attenuates Poly I:C-Induced IL-8 Production in Porcine Intestinal Epithelial Cells. *Front. Microbiol.* 2017 Sep; 8: 1827.
38. Bron P.A., Tomita S., Mercenier A., Kleerebezem M. Cell surface-associated compounds of probiotic lactobacilli sustain the strain-specificity dogma. *Curr. Opin. Microbiol.* 2013 Jun; 1(3): 262–269.
39. Lee I.C., Tomita S., Kleerebezem M., Bron P.A. The quest for probiotic effector molecules--unraveling strain specificity at the molecular level. *Pharmacol. Res.* 2013 Mar; 69(1): 61–74.
40. Piqué N., Miñana-Galbis D., Merino S., Tomás J.M. The lipopolysaccharide of *Aeromonas* spp: Structure-activity relationships. *Curr. Top. Biochem. Res.* 2013; 15: 41–56.
41. Lenz J.D., Hackett K.T., Dillard J.P. A Single Dual-Function Enzyme Controls the Production of Inflammatory NOD Agonist Peptidoglycan Fragments by *Neisseria gonorrhoeae*. *MBio.* 2017 Oct; 8(5): e01464-17.
42. Ragland S.A., Criss A. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme. *PLoS Pathog.* 2017; 13: e1006512.
43. Donaldson G.P., Lee S.M., Mazmanian S. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016 Jan; 14(1): 20–32.
44. Chauvière G., Coconnier M.H., Kerneis S., et al. Competitive exclusion of diarrheagenic *Escherichia coli* (ETEC) from human enterocyte-like Caco-2 cells by heat-killed *Lactobacillus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1992 Mar; 70(3): 213–217.
45. Moyen E.N., Bonneville F., Fauchère J.L. Modification of intestinal colonization and translocation of *Campylobacter jejuni* by erythromycin and an extract of *Lactobacillus acidophilus* in axenic mice. *Ann. Inst. Pasteur. Microbiol.* 1986 Mar-Apr; 137A(2): 199–207.
46. Aiba Y., Ishikawa H., Tokunaga M., Komatsu Y. Anti-*Helicobacter pylori* activity of non-living, heat-killed form of lactobacilli including *Lactobacillus johnsonii* No.1088. *FEMS Microbiol. Lett.* 201 Jun; 364(11)/
47. Chen C.Y., Tsen H.Y., Lin C.L., et al. Enhancement of the immune response against *Salmonella* infection of mice by heat-killed multispecies combinations of lactic acid bacteria. *J. Med. Microbiol.* 2013 Nov; 62 (Pt 11): 1657–1664.
48. Ishikawa H., Kutsukake E., Fukui T., et al. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain b240 protected mice against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010 Jul; 74(7): 1338–1342.
49. Shkarupeta M.M., Korshunov V.M., Savenkova V.T., Pinegin B.V. Influence of the oral administration of indigenous microorganisms on the resistance of mice to *Salmonella infection*. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1988;7:46–50.
50. Schwendicke F., Horb K., Kneist S. et al. Effects of heat-inactivated *Bifidobacterium* BB12 on cariogenicity of *Streptococcus mutans* in vitro. *Arch. Oral Biol.* 2014 Dec; 59(12): 1384–1390.
51. Arai S., Iwabuchi N., Takahashi S., et al. Orally administered heat-killed *Lactobacillus paracasei* MCC1849 enhances antigen-specific IgA secretion and induces follicular helper T cells in mice. *PLoS ONE.* 2018 Jun; 13(6): e0199018.
52. Nakamura Y., Terahara M., Iwamoto T., et al. Upregulation of Polymeric Immunoglobulin Receptor Expression by the Heat-Inactivated Potential Probiotic *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 in a Mouse Intestinal Explant. *Model. Scand. J. Immunol.* 2012 Feb; 75(2): 176–183.
53. Sugahara H., Yao R., Odamaki T., Xiao J.Z. Differences between live and heat-killed bifidobacteria in the regulation of immune function and the intestinal environment. *Benef. Microbes.* 2017 May; 8(3): 463–472.
54. Liévin-Le Moal V., Sarrazin-Davila L.E., Servin A.L. An experimental study and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the antisecretory activity of *Lactobacillus acidophilus* strain LB against nonrotavirus diarrhea. *Pediatrics.* 2007 Oct; 120(4): e795–e803.
55. De Servi B., Meloni M. Antidiarrhoeal agents and paracellular permeability of *E. coli*-infected Caco-Goblet

- intestinal model; Proceedings of the XXV Belgian Week of Gastroenterology; Ostend, Belgium. 9 February 2013; Abstract B22.
56. Servi D.B., Ranzini F. Protective efficacy of antidiarrheal agents in a permeability model of *Escherichia coli*-infected CacoGoblet® cells. *Futur. Microbiol.* 2017 Dec; 12: 1449–1455.
57. Miyauchi E., Morita H., Tanabe S. *Lactobacillus rhamnosus* alleviates intestinal barrier dysfunction in part by increasing expression of zonula occludens-1 and myosin light-chain kinase in vivo. *J. Dairy Sci.* 2009 Jun; 92(6): 2400–2408.
58. Chang B., Sang L., Wang Y., Tong J., Zhang D., Wang B. The protective effect of VSL#3 on intestinal permeability in a rat model of alcoholic intestinal injury. *BMC Gastroenterol.* 2013 Oct; 13: 151.
59. Liu Z., Zhang Z., Qiu L., Zhang F., Xu X., Wei H., Tao X. Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *J. Dairy Sci.* 2017 Sep; 100(9): 6895–6905.
60. Vinogradov E., Sadovskaya I., Grard T., Chapot-Chartier M.P. Structural studies of the rhamnose-rich cell wall polysaccharide of *Lactobacillus casei* BL23. *Carbohydr. Res.* 2016 Nov; 435: 156–161.
61. Hirose Y., Murosaki S., Fujiki T., et al. Lipoteichoic acids on *Lactobacillus plantarum* cell surfaces correlate with induction of interleukin-12p40 production. *Microbiol. Immunol.* 2010 Mar; 54(3): 143–151.
62. Kolling Y., Salva S., Villena J., Alvarez S. Are the immunomodulatory properties of *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 peptidoglycan common for all *Lactobacilli* during respiratory infection in malnourished mice? *PLoS ONE.* 2018 Mar; 13(3): e0194034.
63. Wu Z., Pan D., Guo Y., Sun Y., Zeng X. Peptidoglycan diversity and anti-inflammatory capacity in *Lactobacillus* strains. *Carbohydr. Polym.* 201 Sep; 128: 130–137.
64. Nagaoka M., Muto M., Nomoto K., et al. Structure of polysaccharide-peptidoglycan complex from the cell wall of *Lactobacillus casei* YIT9018. *J. Biochem.* 1990 Oct; 108(4): 568–571.
65. Whitfield G.B., Marmont L.S., Howell P.L. Enzymatic modifications of exopolysaccharides enhance bacterial persistence. *Front. Microbiol.* 2015 May; 6: 471.
66. Patten D.A., Leivers S., Chadha M.J., et al. The structure and immunomodulatory activity on intestinal epithelial cells of the EPSs isolated from *Lactobacillus helveticus* sp. Rosyjski and *Lactobacillus acidophilus* sp. 5e2. *Carbohydr. Res.* 2014 Jan; 384: 119–127.
67. Wu M.H., Pan T.M., Wu Y.J., Chang S.J., Chang M.S., Hu C.Y. Exopolysaccharide activities from probiotic bifidobacterium: Immunomodulatory effects (on J774A.1 macrophages) and antimicrobial properties. *Int. J. Food. Microbiol.* 2010 Nov; 144(1): 104–110.]
68. Aslim B., Onal D., Beyatli Y. Factors influencing autoaggregation and aggregation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* isolated from handmade yogurt. *J. Food Prot.* 2007; 70: 223–227.
69. Marcial G., Villena J., Faller G., Hensel A., de Valdéz G.F. Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* CRL1190 reduces the inflammatory response caused by *Helicobacter pylori*. *Benef. Microbes.* 2017 May; 8(3): 451–461.
70. Fanning S., Hall L.J., Cronin M., Zomer A., et al. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012 Feb; 109(6): 2108–2113.
71. Bozzi N., Baffoni L., Gaggia F., Di Gioia D. Therapeutic Microbiology: The Role of *Bifidobacterium breve* as Food Supplement for the Prevention/Treatment of Pediatric. *Dis. Nutr.* 2018 Nov; 10(11): E1723.
72. Wu M.H., Pan T.M., Wu Y.J., Chang S.J., Chang M.S., Hu C.Y. Exopolysaccharide activities from probiotic bifidobacterium: Immunomodulatory effects (on J774A.1 macrophages) and antimicrobial properties. *Int. J. Food. Microbiol.* 2010 Nov; 144(1): 104–110.
73. Piqué N., Gómez-Guillén M.D.C., Montero M.P. Xyloglucan, a Plant Polymer with Barrier Protective Properties over the Mucous Membranes: An Overview. *Int. J. Mol. Sci.* 2018 Feb; 19(3): 673.
74. Hynönen U., Palva A. *Lactobacillus* surface layer proteins: Structure, function and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013 Jun; 97(12): 5225–5243.
75. Gareau M.G., Sherman P.M., Walker W.A. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2010 Sep; 7(9):503–514.
76. Konstantinov S.R., Smidt H., de Vos W.M., Bruijns S.C., Singh S.K., Valence F., Molle D., Lortal S., Altermann E., Klaenhammer T.R., et al. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008 Dec; 105(49): 19474–19479.
77. Mariam S.H., Zegeye N., Tariku T., Andargie E., Endalafer N., Aseffa A. Potential of cell-free supernatants from cultures of selected lactic acid bacteria and yeast obtained from local fermented foods as inhibitors of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. *BMC Res. Notes.* 2014 Sep; 7: 606.
78. Lukic J., Chen V., Strahinic I., Begovic J., et al. Probiotics or pro-healers: The role of beneficial bacteria in tissue repair. *Wound. Repair. Regen.* 2018 Nov; 25(6): 912–922.
79. Kolling G.L., Wu M., Warren C.A. et al. Lactic acid production by *Streptococcus thermophilus* alters *Clostridium difficile* infection and in vitro Toxin A production. *Gut Microbes.* 2012 Nov–Dec; 3(6): 523–529.
80. Schaefer L., Auchtung T.A., Hermans K.E., Whitehead D., Borhan B., Britton R.A. The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology.* 2010 Jun; 156 (Pt 6): 1589–1599.
81. do Carmo M.S., Santos C.I.D., Araújo M.C. et al. Probiotics, mechanisms of action, and clinical perspectives for diarrhea management in children. *Food Funct.* 2018 Oct; 9(10): 5074–5095.
82. Juturu V., Wu J.C. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. *Biotechnol. Adv.* 2018 Dec; 36(8): 2187–2200.
83. Corr S.C., Li Y., Riedel C.U., O’Toole P.W., Hill C., Gahan C.G. Bacteriocin production as a mechanism for the

- antiinfective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2007 May; 104(18): 7617–7621.
84. Bali V., Panesar P.S., Bera M.B. Trends in utilization of agro-industrial byproducts for production of bacteriocins and their biopreservative applications. Crit. Rev. Biotechnol. 2016; 36(2): 204–214.
85. Liu G., Ren L., Song Z., Wang C., Sun B. Purification and characteristics of bifidocin A, a novel bacteriocin produced by *Bifidobacterium animals* BB04 from centenarians' intestine. Food Control. 2015; 50: 889–895.
86. Grace E., Shaw C., Whelan K., Andreyev H. Review article: Small intestinal bacterial overgrowth—Prevalence, clinical features, current and developing diagnostic tests, and treatment. Aliment. Pharmacol. Ther. 2013 Oct; 38(7): 674–688.
87. Martinelli M., Ummarino D., Giugliano F.P., et al. Efficacy of a standardized extract of *Matricariae chamomilla* L., *Melissa officinalis* L. and tyndallized *Lactobacillus acidophilus* (HA122) in infantile colic: An open randomized controlled trial. Neurogastroenterol. Motil. 2017 Dec; 29(12).
88. Xiao S.D., Zhang D.Z., Lu H., Jiang S.H., et al. Multicenter, randomized, controlled trial of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB in patients with chronic diarrhea. Adv. Ther. 2003 Sep-Oct; 20(5): 253–260.
89. Simakachorn N., Pichaiapat V., Rithipornpaisarn P., et al. Clinical evaluation of the addition of lyophilized, heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB to oral rehydration therapy in the treatment of acute diarrhea in children. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2000 Jan; 30(1): 68–72.
90. Rather I.A., Bajpai V.K., Kumar S., Lim J., Paek W.K., Park Y.H. Probiotics and Atopic Dermatitis: An Overview. Front. Microbiol. 2016 Apr; 7: 507.
91. Huang R., Ning H., Shen M., Li J., Zhang J., Chen X. Probiotics for the Treatment of Atopic Dermatitis in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017 Sep; 7: 392.
92. Sawada J., Morita H., Tanaka A., Salminen S., He F., Matsuda H. Ingestion of heat-treated *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents development of atopic dermatitis in NC/Nga mice. Clin. Exp. Allergy. 2007 Feb; 37(2): 296–303.
93. Segawa S., Hayashi A., Nakakita Y., Kaneda H., Watari J., Yasui H. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates the development of dermatitis and inhibits immunoglobulin E production in atopic dermatitis model NC/Nga mice. Biol. Pharm. Bull. 2008 May; 31(5): 884–889.
94. Tokudome Y. Influence of Oral Administration of Lactic Acid Bacteria Metabolites on Skin Barrier Function and Water Content in a Murine Model of Atopic Dermatitis. Nutrients. 2018 Dec; 10(12): 1858.
95. Morisset M., Aubert-Jacquín C., Soulaines P., Moneret-Vautrin D.A., Dupont C. A non-hydrolyzed, fermented milk formula reduces digestive and respiratory events in infants at high risk of allergy. Eur. J. Clin. Nutr. 2011 Feb; 65(2): 175–183.
96. Lau S. Bacterial lysates in food allergy prevention. Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2013 Jun; 13(3): 293–295.
97. Nie W., Deters A.M. Tamarind Seed Xyloglucans Promote Proliferation and Migration of Human Skin Cells through Internalization via Stimulation of Proproliferative Signal Transduction Pathways. Dermatol. Res. Pract. 2013; 359756.