

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ДЕЗІНТЕГРАТУ С. XEROSIS ДЛЯ НАРОЩУВАННЯ МІКРОБНИХ КЛІТИН БАКТЕРІЙ

Ісаєнко О. Ю., Бабич С. М., Білозерський В. І.

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

Вступ. На сьогоднішній день відомо всебічне застосування ультразвуку [1 – 9]. Перспективне його використання представлено у медицині, фармації, промислового виробництва щодо виготовлення лікувально-профілактичних, імунокорегуючих й інших фармакологічних засобів [5, 6]. Подібно зазначеним, ультразвукові прилади також з успіхом застосовують в науково-дослідних розробках, експериментальних дослідженнях для одержання дезінтегратів і похідних мікроорганізмів [8, 9]. Широке використання цих звукових хвиль пов'язане з низкою переваг. Привілеєм ультразвукового дезінтегруючого фактору є швидкість, легкість, економічність і можливість викликати різний ступінь руйнування мікробних клітин завдяки змінам частотних діапазонів, потужності, тривалості дії на біооб'єкти, що дає змогу стандартизувати кінцевий продукт [3, 4, 6, 9].

В доступній літературі, застосування похідних мікроорганізмів, зокрема ультразвукових дезінтегратів коринебактерій, для вирощування мікробних клітин бактерій, нами не зустрічалося. В представленій роботі, в якості досліджуваних тест-культур, обрано представники нормальної мікрофлори, а саме *Lactobacillus* та *Enterococcus*. Даний вибір обумовлено спроможністю корисних бактерій, їх похідних і продуктів життєдіяльності підвищувати загальну резистентність макроорганізму, впливати на функції імунокомпетентних клітин, стимулювати та відновлювати корисну мікрофлору, а також чинити протимікробну дію щодо патогенних мікроорганізмів, впливати на їхній ріст, розмноження та запобігати розвитку, спричинених ними, інфекційних хвороб [3 – 5]. Наряду із сучасним перспективним використанням спорів мікроорганізмів, актуальними залишаються й інші бактерії щодо їхнього застосування у розробці пробіотичних засобів [7]. Мікробіологічний скринінг мікроорганізмів, котрі використовують для лікування і профілактики людини та містяться у фармацевтичних продуктах, за їх пробіотичними властивостями, темпами росту, толерантністю до рН / жовчних солей показав перевагу штамів *L. rhamnosus*, *E. faecium* і *S. cerevisiae* [6].

Мета

Вивчити вплив дезінтегратів коринебактерій на біологічні властивості представників нормобіоценозу людини для подальшого

прогнозування розвитку нормальної мікрофлори і запобігання виникнення хвороб, які обумовлені порушенням біоценозів.

Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проводилися на базі лабораторії профілактики краплинних інфекцій ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України». Досліджувані штами бактерій отримано із колекції музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ НАМН», м. Харкова. Суспензії мікроорганізмів готували за допомогою 0,9 % розчину натрію хлориду, а оптичну щільність проб – за шкалою McFarland із використанням приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехія). Для отримання дезінтеграту коринебактерій суспензії *Corynebacterium xerosis* (*C. xerosis*) з концентрацією 10,0 одиниць McFarland обробляли низькочастотними ультразвуковими хвилями з застосуванням генератора ГЗ-109 (Великолукський Радіозавод, СРСР). Опромінення проводили у водному середовищі в діапазонах частот $\Delta f_2=35\div 50$ кГц ($f_{max}=40,0$ кГц) при амплітуді збудження $U=15$ В, навантаженні $R=50 \Omega$ ($P=5$ Вт). Середня потужність акустичних коливань у місці розташування біологічних об'єктів становила $(0,25\div 0,5)$ Вт. Отриманий ультразвуковий дезінтеграт концентрували упарюванням на водяній бані (при температурі $56\pm 1^\circ\text{C}$ протягом 1 години), витримували при температурі $80\pm 1^\circ\text{C}$ впродовж 1 години та застосовували для вирощування досліджуваних культур бактерій.

Суспензії тест-культур мікроорганізмів *Lactobacillus rhamnosus* або *Enterococcus faecium* (*L. rhamnosus* або *E. faecium*) з оптичною щільністю 1,0 одиниць за шкалою McF вносили в ультразвуковий дезінтеграт *C. xerosis* (дослід), поживний бульйон з 1 % розчином глюкози (позитивний контроль) та 0,9 % розчин натрію хлориду (негативний контроль) відповідно до методики [14]. Культивування здійснювали при температурі $37\pm 1^\circ\text{C}$ протягом трьох діб в мікроаерофільних або аеробних умовах залежно від потреб досліджуваних бактерій.

Вивчення життєздатних клітин мікроорганізмів до та після нарощування мікробної маси представників (*L. rhamnosus* або *E. faecium*) в ультразвукових дезінтегратах коринебактерій проводили кількісним методом. Із дослідних (ультра звуковий дезінтеграт *C. xerosis*) і контрольних (поживний бульйон з 1 % розчином глюкози) проб готували послідовні розведення, з яких здійснювали висів 0,1 мл рідини на поверхню щільного живильного середовища в залежності від виду мікроорганізму (Ентерокок агар (ТОВ «Фармактив», Україна) або Лактобакагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Росія)) [16]. Через добу підраховували кількість колоній, що вирости, визначали число колонієутворюючих одиниць (КУО) в одиниці об'єму дослідного матеріалу (lg КУО/мл).

Статистичну обробку результатів експериментальних даних проводили за допомогою Microsoft Office Excel 2007 та «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США). При відповідності нормальному розподілу, встановленому за допомогою критерію Пірсона, вірогідність різниці між показниками груп здійснювали за допомогою критерію t-Стюдента. Оброблені результати експериментів представлено у вигляді середнього значення (\bar{x}) із зазначенням стандартного відхилення (SD). Відмінності між групами вважалися достовірними при значеннях $* p < 0,05$. Експеримент проводили в чотирьох повторях.

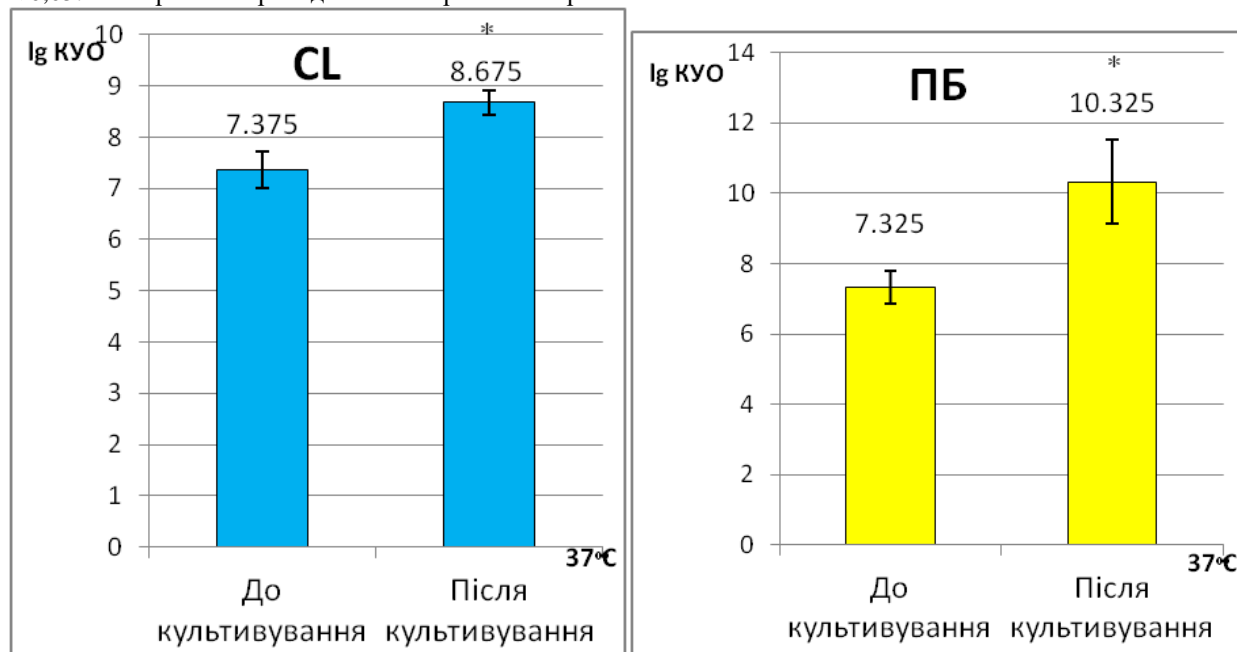


Рис. 1. Показники біомаси мікробних клітин *L. rhamnosus* при вирощуванні їхніх мікробних клітин в ультразвукових дезінтегратах *S. xerosis* (CL) та поживному бульйоні з 1% розчином глюкози (ПБ), * – відмінності між показниками до та після культивування мікроорганізмів вважалися достовірними при значеннях $p < 0,05$

Більш суттєве підвищення аналогічних показників життєздатних клітин лактобактерій спостерігалось після культивування останніх у поживному бульйоні (рис. 1). Так, вирощування *L. rhamnosus* у традиційному середовищі сприяло збільшенню показників колонієутворюючих показників мікроорганізмів з $\lg 7,3 \pm 0,5$ КУО/мл до $\lg 10,3 \pm 1,2$ КУО/мл ($p = 0,01$). При порівнянні значень наростання біомаси мікробних клітин лактобактерій в експериментальному середовищі культивування, а саме дезінтегратах коринебактерій, та поживному бульйоні, вірогідно більше підвищення бактеріальної маси клітин обраного штаму спостерігалось у виробничому середовищі ($p = 0,03$). Це свідчить про більш сприятливі умови нарощування обраного представника *Lactobacillus* у поживному бульйоні з 1% розчином глюкози ніж у досліджуваному дезінтегратах *S. xerosis*. В результаті культивування *E. faecium* в ультразвукових дезінтегратах *S. xerosis* також спостерігалось збільшення біомаси ентерокока (рис. 2). Концентрація життєздатних бактеріальних

Результати та обговорення

При культивуванні мікробних клітин представників нормальної мікрофлори людини в ультразвукових дезінтегратах *S. xerosis* спостерігалися зміни показників бактеріальної маси обраних бактерій (рис. 1, рис. 2). На поживних субстратах, які містять похідні коринебактерій, кількість колонієутворюючих одиниць *L. rhamnosus* збільшувалася вірогідно з $\lg 7,3 \pm 0,4$ КУО/мл до $\lg 8,6 \pm 0,3$ КУО/мл ($p = 0,01$) (рис. 1).

клітин зазначеного мікроорганізму підвищувалася з $\lg 7,0$ КУО/мл до $\lg 9,5$ КУО/мл ($p < 0,05$). Вирощування ентерокока у виробничому бульйоні супроводжувалося більшими показниками кількості мікробних клітин *E. faecium* після культивування порівняно з їх початковими значеннями. Так, статистично достовірне збільшення колонієутворюючих одиниць зазначених бактерій відмічалось з $\lg 7,0 \pm 0,5$ КУО/мл до $\lg 9,5 \pm 0,9$ КУО/мл ($p = 0,01$). Незважаючи на тенденцію більшої кількості життєздатних клітин *E. faecium* у поживному бульйоні ніж в ультразвуковому дезінтегратах *S. xerosis*, вірогідної різниці між досліджуваними середовищами, зокрема експериментальним та виробничим, щодо наростання біомаси мікробних клітин ентерокока, не встановлено ($p = 0,05$). Ці результати близькі до даних попереднього дослідження, а саме: вищі показники життєздатних мікробних клітин лактобактерій спостерігалися після культивування їх

у виробничому бульйоні порівняно з середовищем, що містить похідні коринебактерій.

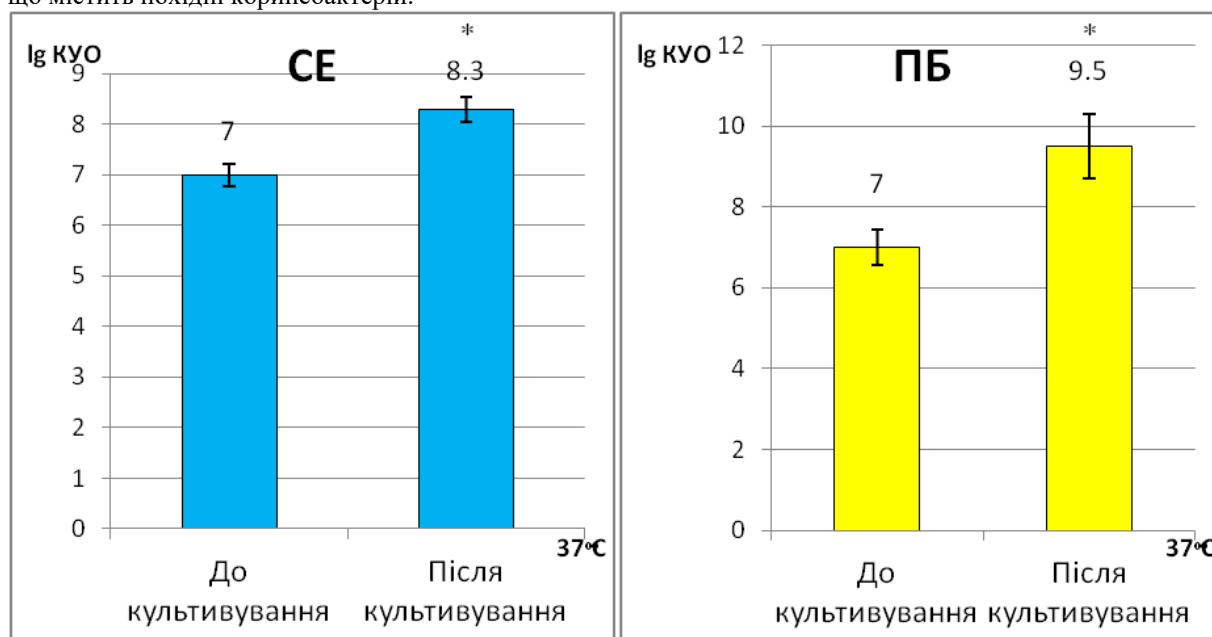


Рис. 2. Показники біомаси мікробних клітин *E. faecium* при вирощуванні їхніх мікробних клітин в ультразвукових дезінтегратах *C. xerosis* (СЕ) та поживному бульйоні з 1 % розчином глюкози (ПБ), * – відмінності між показниками до та після культивування мікроорганізмів вважалися достовірними при значеннях $p < 0,05$

Проте, для вирощування дослідного штаму *Enterococcus* однаково придатними були обидва середовища (експериментальне і виробниче) на відміну від представника *Lactobacillus*, який у поживному бульйоні з 1 % розчином глюкози нарощувався більше ніж у дезінтеграті *C. xerosis*.

Згідно з власними попередніми результатами експериментальних досліджень, представленими в опублікованих раніше роботах, доведено успішне застосування ультразвукових дезінтегратів пробіотичних мікроорганізмів для нарощування мікробної маси їх власних культур з наступним створенням на цій основі лікувально-профілактичних препаратів [15]. Також доведена перспективність використання ультразвукових дезінтегратів різних штамів пробіотичних грибів та бактерій для культивування інших мікробних клітин пробіотиків [17]. Представлені в цій роботі результати підтверджують раніше отримані дані щодо поживної цінності ультразвукових дезінтегратів мікроорганізмів відносно накопичення біомаси інших штамів бактерій, зокрема пробіотиків, та доповнюють їх успішним використанням дезінтегратів *C. xerosis* для нарощування мікробних клітин представників нормальної мікрофлори (*Lactobacillus* і *Enterococcus*). Дана інформація є перспективною задля визначення критеріїв прогнозу розвитку нормальної мікрофлори організму та можливістю запобігання виникнення інфекційних хвороб у людини.

Відомо вдале застосування криодезінтегратів для вирощування пробіотичних

культур мікроорганізмів з метою створення імунорегулюючих засобів [18]. Ці дані також співпадають з представленими результатами: при наявності сприятливих умов для біологічного об'єкту, як оптимального температурного режиму або інших умов культивування, відповідних потребам досліджуваних бактерій, дезінтеграти мікроорганізмів можна використовувати для накопичення біомаси різних представників.

За повідомленням інших дослідників встановлена можливість парних асоціацій штамів пробіотиків або їх культуральних рідин *Bifidobacterium longum* і *Enterococcus faecium* («Біфіформ»), *Escherichia coli* М-17 («Колібактерин»), *Lactobacillus plantarum* 8РА-3 («Лактобактерин») підвищувати антагоністичну активність одного виду мікроорганізму клітинними компонентами іншого представника [19]. Так, метаболіти *E. faecium* стимулювали антагонізм *B. longum*, а асоціація *E. faecium* з *E. coli* М-17 обумовлювала антагоністичну активність обох штамів за участю метаболітів один одного. Зазначені дані співпадають із власними результатами можливістю похідних мікроорганізмів впливати на певні біологічні властивості інших представників бактерій.

Відомо підвищення протимікробної ефективності щодо елімінації антибіотикорезистентного штаму *S. mutans* при комбінованому застосуванні біологічно активних речовин відмінних бактерій (*Lactobacillus lactis*, *Streptomyces albulus*) порівняно з їх окремим використанням [20]. Спільне культивування різних представників мікроорганізмів *L. rhamnosus* з

Kluveromyces lactis, *Kl. marxianus*, *Kl. marxianus*, *Candida* sp. сприяло підвищенню продукування метаболітів *Lactobacillus* [21]. Комбіноване вирощування грибів та бактерій, а саме штамів *L. lactis* з *S. cerevisiae*, підвищувало рівень біологічно активних речовин лактобактерій [22]. Наступними авторами показана ефективність взаємного культивування *L. rhamnosus* з *S. boulardii* [23]. Поєднане вирощування цих культур супроводжується збільшенням бутірата, який стимулюється *L. rhamnosus* та пропіоната й етанолу, що продукується *S. boulardii*, на відміну від їхнього окремого культивування. Зазначене свідчить про адитивний ефект різних штамів мікроорганізмів щодо їх культивування. Вищенаведені дані також співпадають з отриманими нами результатами стосовно успішної взаємодії відмінних представників мікроорганізмів між собою. Проаналізовані дані з приводу вивчення впливу дезінтегратів коринебактерій на окремі біологічні властивості мікроорганізмів свідчать про вагомість і перспективність отриманих результатів з можливістю наступного визначення критеріїв прогнозу розвитку певних представників нормобіоценозу організму та прогнозування патології людини, зокрема запобігання виникнення хвороб, які обумовлені порушенням біоценозів.

Висновки

1. При культивуванні мікробних клітин *L. rhamnosus* в ультразвукових дезінтегратах *C. xerosis* спостерігалось збільшення показників бактеріальної маси обраних бактерій з $\lg 7,3 \pm 0,4$ КУО/мл до $\lg 8,6 \pm 0,3$ КУО/мл ($p = 0,01$).
2. В результаті вирощування *E. faecium* у дезінтегратах *C. xerosis* збільшення біомаси ентерокока відбувалося з $\lg 7,0$ КУО/мл до $\lg 9,5$ КУО/мл ($p < 0,05$).
3. Встановлена тенденція до збільшення кількості життєздатних клітин *E. faecium* у поживному бульйоні ніж в ультразвуковому дезінтеграті *C. xerosis*, але вірогідної різниці між досліджуваними середовищами, зокрема експериментальним та виробничим, щодо наростання біомаси мікробних клітин ентерокока, не встановлено ($p = 0,05$). Показана однакова придатність обох середовищ (експериментального і виробничого) для вирощування обраного штаму *Enterococcus*.
4. Доведено більш сприятливі умови нарощування представника *Lactobacillus* у поживному бульйоні з 1 % розчином глюкози ніж у дезінтеграті *C. xerosis* ($p = 0,03$).
5. Обґрунтовано вагомість і перспективність отриманих результатів з можливістю наступного визначення критеріїв прогнозу розвитку певних представників нормобіоценозу організму та прогнозування патології людини, зокрема запобігання виникнення хвороб, які обумовлені порушенням біоценозів.

Prospects for the use of ultrasonic disintegrate *C. xerosis* for the growth of microbial cells of bacterial

Isayenko O. Yu., Babych E. M., Belozersky V. I.

Introduction. Modern comprehensive use of ultrasound remains relevant. Promising its use is known in medicine, pharmacy, industrial production for the manufacture of therapeutic and prophylactic, immunocorrective and other pharmacological agents, as well as in research and development, experimental studies to obtain disintegrates and derivatives of microorganisms. In the available literature, the use of ultrasonic disintegrates of corynebacteria for the growth of bacterial microbial cells, we have not met. **The aim of this work was** to study the effect of disintegrates of corynebacterial on individual members of the human normobiocenosis to determine the criteria for predicting the development of normal microflora, which helps prevent diseases caused by the violation of biocenoses. **Materials and methods.** Ultrasonic disintegrate was obtained by irradiating a suspension of *Corynebacterium xerosis* with a concentration of 10,0 McFarland units using a generator G3–109 (frequency 40.0 kHz, excitation amplitude $U = 15$ V, load 5 W, power 0,25 W). It was then concentrated (at 56 ± 1 °C for 1 hour), kept at 80 ± 1 °C for 1 hour and used to grow *Lactobacillus rhamnosus* or *Enterococcus faecium*. For this purpose, bacterial suspensions with an optical density of 1,0 units on the McF scale were added to the ultrasonic disintegrate of *C. xerosis* (experiment), nutrient broth with 1% glucose solution (positive control) and 0,9 % sodium chloride solution (negative control), cultured at a temperature of 37 ± 1 °C. The study of viable cells of microorganisms before and after the growth of microbial mass of representatives (*L. rhamnosus* or *E. faecium*) in ultrasonic disintegrates of corynebacteria was performed quantitatively by determining the number of colony-forming units (CFU) per unit volume of test material (\lg CFU / ml). **Results & discussion.** As a result of growing microbial cells of *L. rhamnosus* in ultrasonic disintegrates of *C. xerosis* there was an increase in the bacterial mass of selected bacteria from $\lg 7,3 \pm 0,4$ CFU / ml to $\lg 8,6 \pm 0,3$ CFU / ml ($p = 0,01$). When culturing *E. faecium* in disintegrates of *C. xerosis*, there was also an increase in enterococcal biomass from $\lg 7,0$ CFU / ml to $\lg 9,5$ CFU / ml ($p < 0,05$). When comparing the studied media, in particular nutrient broth with 1% glucose solution and ultrasonic disintegrate of *C. xerosis*, the increase in biomass of enterococcal microbial cells, a probable difference between them was not found ($p = 0,05$), indicating their equal suitability for growing investigated strain of *Enterococcus*. Instead, more favorable conditions for culturing *Lactobacillus* in nutrient broth with 1% glucose solution than in disintegrate of *C. xerosis* ($p = 0,03$) were found. **Conclusion.** The experimental study proved the successful interaction of derivatives of some bacteria with other microorganisms, as well as the importance and prospects of the presented data on the possibility of further determining the criteria for predicting the

development of certain representatives of the normobiocenosis and predicting human pathology, including prevention of diseases caused by biocenoses.

Key words: derivatives of bacteria, biocenosis, normal microflora, disease warning, disintegrates.

References

1. Lukavenko IM, Andrushchenko VV, Yazykov OV. The influence of ultrasonic radiation on biological tissues: physical foundations and technological principles // *Journal of nano- and electronic physics*. 2019. Vol. 11, № 3. P. 03008-1–03008-4. URL: <https://doi.org/10.21272/jnep.11>
2. Durnikin DA, Silantjeva MM, Ereshchenko OV. Ultrasound-enhanced cell production of lactic and propionic acid bacteria under submerged cultivation for industrial purposes // *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*. 2016. Vol. 6, № 2. P. 287-293.
3. Akopyan VB, Ershov Yu.A. Fundamentals of the interaction of ultrasound with biological objects (2nd ed.).- M.: URAIT. - 2016. - 223 p.
4. Elapov AA, Kuznetsov NN, Marakhova AI. The use of ultrasound in the extraction of biologically active compounds from plant raw materials, used or promising for use in medicine // *Drug development & registration*. 2021. Vol. 10, № 4. P. 96–116. URL: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116>
5. Dzah CS. [et al.] The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts // *Food Bioscience*. 2020. № 35. P.100547. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>.
6. Lavilla I, Bendicho C. Fundamentals of ultrasound-assisted extraction // *Extraction of bioactive compounds*. 2017. P. 291-316. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>.
7. Bomko TV, Martynov AV, Nosalskaya TM. Perspective of tinalized microorganisms in the development of safe probiotics // *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 1. P. 6-14. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2021_1_3
8. Gao S. [et al.] Inactivation of bacteria and yeast using high-frequency ultrasound treatment // *Water Research*. 2014. Vol. 60. P. 93–104. URL: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.038>
9. Wordon BA, Mortimer B, McMaster LD. Comparative real-time analysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell viability, injury and death induced by ultrasound (20 kHz) and heat for the application of hurdle technology // *Food Research International*. 2011. Vol. 47. № 2. P. 134–139. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.038>
10. Osama DM. [et al.] Antimicrobial, antibiofilm and immunomodulatory activity of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus gasseri* against some bacterial pathogens // *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 2017. Vol. 6, № 1. P. 12–21.

URL: <http://dx.doi.org/10.6000/1927-3037.2017.06.01.2>.

11. The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: in 7 v. / M. Dworkin (editor-in-chief) [et al.]. – 3rd ed. – USA: Springer, 2006. – Vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. – 1140 p.
12. Protocol of the pharmacist (pharmacist) when dispensing over-the-counter drugs. Symptomatic treatment of diarrhea: Order of the Ministry of Health of Ukraine № 875 of October 11, 2013.
13. Canganella F. [et al.] A microbiological investigation on probiotic pharmaceutical products used for human health // *Microbiological Research*. 1997. Vol. 152, № 2. P. 171–179.
14. Patent. N. 123122. Sposib oderzhannia metabolitiv probiotychnykh shtamiv bakterii: Isaenko OYu, Knysh OV, Babych YeM, Kivva FV, Horbach TV, Balak OK. 2018. URL: https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&dbname=inv&lang=ukr&chapter=biblio&sortby=_
15. Isayenko O, Knysh O, Kotsar O, Ryzhkova T, Dyukareva G. Evaluation of anti-microbial activity of filtrates of *Lactobacillus rhamnosus* and *Saccharomyces boulardii* against antibiotic-resistant gram-negative bacteria // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10, № 2. P. 246–251. doi: 10.15421/021937
16. Atlas RM. Handbook of Microbiological Media. 4th edition. Boca Raton: CRC Press; 2010. 217 p.
17. Isaenko OYu, Kotsar OV, Ryzhkova TM, Diukareva HI. Producing metabolic complexes of probiotic microorganisms with significant antimicrobial properties // *Zaporozhye medical journal*. 2021. T. 23, № 1 (124). C. 120–125. URL: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224923>.
18. Knysh OV, Isaenko OY, Babych EM, Kompaniets AM, Pakhomov OV, Polyanska VP, Zachepylo SV, Danilova IS. Antimicrobial Activity of Bifidobacteria Derivatives After Storage in a Frozen State // *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2018. Vol. 28 N. 3. P. 237–248. URL: <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.237>
19. Bukharin OV, Semenov AV, Tcherkasov SV. Antagonistic activity of probiotic bacteria // *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2010. № 4. P. 347–352. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=1548532>. ISSN: 1684-4386eISSN: 2686-9586
20. Badaoui Najjar M, Kashtanov D, Chikindas ML. Natural antimicrobials ε-poly-l-lysine and nisin a for control of oral microflora // *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2009. Vol. 1, № 2. P. 143. doi:10.1007/s12602-009-9020-0
21. Balabekyan TR. [et al.] Antimicrobial activity of preparations after combined cultivation of lactic acid bacteria and yeast strains // *J Anim Physiol and Anim Nutr*. 2018. Vol. 102, № 4, P. 933–938. URL: <https://doi.org/10.1111/jpn.12891>
22. Abdollahi S. [et al.] *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* affect the expression of nisin gene and its production by *Lactococcus lactis* // *Microb*

Pathog. 2018. № 123. P. 28–35. doi:
10.1016/j.micpath.2018.06.024
23. Moens F. [et al.] *Lactobacillus rhamnosus* GG
and *Saccharomyces cerevisiae boulardii* exert
synergistic antipathogenic activity *in vitro* against
enterotoxigenic *Escherichia coli* // *Beneficial Microbes*.
2019. Vol. 10, № 8. P. 923–935.
URL:<https://doi.org/10.3920/BM2019.0064>