

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-288-293

**Результаты выявления поливирулентных штаммов бактерий
Lactobacillus spp. при ассоциативном взаимодействии
с простейшими *Blastocystis hominis in vivo***

**Юлия Юрьевна Красноперова¹✉, Севиндж Шахмирзаевна Мехманова²,
Екатерина Александровна Хуснатдинова³**

¹ ✉ Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова, Ульяновск, Россия, y.krasnoperova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-0065>

² Центр искусственного интеллекта МТС, Ульяновск, Россия, sevenchik11@mail.ru

³ Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, husnaka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8493-9688>

Аннотация. Выявлены поливирулентные штаммы бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis in vivo*. Штаммы *Lactobacillus* spp. и *B. hominis* выделяли из фекалий 396 пациентов, проходивших анализ на кишечный дисбиоз. Идентификацию бактерий проводили с использованием микроскопического, бактериологического и паразитологического методов. В качестве контрольных использовали 112 эталонных штаммов лактобактерий НК1 и КЗШ24, депонированных в ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Степень вирулентности простейших бластоцист определяли путем внутрибрюшинного введения белым мышам (массой 17.4±1.5 г) 0.5 мл взвеси культуры изучаемых микроорганизмов, полученной на питательной среде Suresh. В работе использовали праймеры к нескольким генам, определяющим способность к образованию фимбрий 1-го типа, S и P типа, бактериального адгезина интимина и гемолизина. Тестирование 396 штаммов *Lactobacillus* spp., изолированных из микросимбиотозов с *Blastocystis hominis* различной степени вирулентности показало, что динамика выявления генов патогенности у лактобактерий возрастала с усилением степени вирулентности простейших. Чаще всего в общем пуле штаммов лактобактерий искомые ампликоны выявлялись при использовании праймеров к *fimA* гену (до 67.9%). При ассоциативном взаимодействии с умеренно- и высоковирулентными бластоцистами выявлено усиление гетерогенности популяции лактобактерий, проявляющееся увеличением частоты обнаружения всех изученных генетических детерминант патогенности, по сравнению со штаммами *Lactobacillus* spp., выделенными из ассоциаций с авирулентными *B. hominis* и в контрольной группе.

Ключевые слова: генетические детерминанты патогенности, вирулентная экспрессия, *Blastocystis hominis*, ассоциативное взаимодействие, *Lactobacillus* spp., кишечный микросимбиотоз

Для цитирования: Красноперова Ю. Ю., Мехманова С. Ш., Хуснатдинова Е. А. Результаты выявления поливирулентных штаммов бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis in vitro* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 288–293. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-288-293>.

MICROBIOLOGY

Original article

Results of detection of poly-virulent bacterial strains *Lactobacillus* spp. during associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis in vivo*

**Yulia Yu. Krasnoperova¹✉, Sevinj Sh. Mehmanova²,
Ekaterina A. Khusnutdinova³**

¹ ✉ Ulyanovsk State Pedagogical University named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk e-mail: y.krasnoperova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-0065>

² Artificial Intelligence Center Limited Liability Company, Ulyanovsk, Russia, sevenchik11@mail.ru

³ Scientific Center for Examination of Medical Products, Moscow, Russia, husnaka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8493-9688>

Abstract. The identification of polyvirulent strains of *Lactobacillus* spp. bacteria with associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis* *in vivo* was carried out. *Lactobacillus* spp. and *B. hominis* strains were obtained from the feces of 396 patients undergoing examination for intestinal dysbiosis. Identification was carried out using microscopic, bacteriological and parasitological methods. 112 reference strains of lactobacilli NK1 and K3SH24 deposited at the Institute of Genetics and Breeding of Industrial Microorganisms were used as control. The degree of virulence of the simplest blastocysts was determined by intraperitoneal administration to white mice (weighing 17.4±1.5 g) 0.5 ml of a culture suspension of the studied microorganisms grown on Suresh medium. Primers to several genes determining the ability to form type 1 fimbriae, type S and P fimbriae, bacterial adhesin intimin and hemolysin were used in the investigation. Testing of 396 *Lactobacillus* spp. strains isolated from microsymbioses with *Blastocystis hominis* of varying degrees of virulence showed that the dynamics of detection of pathogenicity genes in lactobacilli increased with an increase in the degree of virulence of protozoa. Most often, in the general pool of lactobacillus strains, the desired amplicons were detected using primers to the *fimA* gene (up to 67.9%). During associative interaction with moderately and highly virulent blastocysts, an increase in the heterogeneity of the lactobacillus population was revealed, manifested by an increase in the frequency of detection of all studied genetic determinants of pathogenicity, compared with *Lactobacillus* spp. strains isolated from associations with avirulent *B. hominis* and in the control group.

Keywords: genetic determinants of pathogenicity, virulent expression, *Blastocystis hominis*, associative interaction, *Lactobacillus* spp., intestinal microsymbiosis

For citation: Krasnoperova Yu. Yu., Mehmanova S. Sh., Khusnutdinova E. A. [Results of detection of polyvirulent bacterial strains *Lactobacillus* spp. during associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis* *in vivo*]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 288-293. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-288-3293>.

Введение

Литературные данные и результаты собственных исследований показали необходимость расширения границ понимания медико-биологической роли простейших, в том числе *Blastocystis hominis* [Бондаренко, Мавзютов, Голкочева, 2002]. Выявлена общая закономерность внутриклеточного существования бактерий в простейших, которая нашла отражение как в динамике численности бактериальной популяции, так и уровне их вирулентности [Литвин, 2003; Литвин, Пушкарева, Емельяненко, 2004].

В последние годы растет количество работ, регистрирующих участие лактобацилл в возникновении таких заболеваний человека, как кариес, ревматическое поражение сосудов, септицемия и инфекционный эндокардит [Зеленова и др., 2004; Соловьев, Большаков, Галецкий, 2016]. К нежелательным свойствам этих бактерий относят их способность вызывать агрегацию тромбоцитов человека и связываться с коллагеном, фибриногеном и фибронектином [Точилина и др., 2015]. Кроме того, нет объяснения и биологического значения способности этих микроорганизмов становиться грамотрицательными с возрастом и в условиях повышения кислотности среды [Яруллина, Фахруллин, 2014].

Многими авторами показана возможность горизонтального переноса плазмидных генов между популяциями разных видов и родов, однако вклад данных механизмов в развитие адаптивных способностей систематически неродственных бактерий остается до сих пор не изученным.

Интенсивное изучение на молекулярном уровне механизмов формирования новых генетических вариантов микроорганизмов при их ассоциативном взаимодействии, как части естественного отбора внутри микробных популяций, позволит объективно оценить значение различных микроорганизмов в поддержание гомеостаза, а также степень их вовлечения в патогенез заболеваний.

Цель настоящего исследования – анализ выявления поливирулентных штаммов бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis* *in vivo*.

Материалы и методы исследований

В работе использованы микроскопический, культуральный и биологический методы, технология постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также корреляционный анализ полученных сведений по методу Пирсона и статистическая обработка данных. Штаммы бактерий *Lactobacillus* spp. и простейших *Blastocystis hominis* получали из фекалий 396 пациентов в возрасте от 20 до 60 лет, проходивших обследование на кишечный дисбиоз в условиях дневного стационара муниципального учреждения здравоохранения городской поликлиники № 5 г. Ульяновска.

В качестве контрольных использовали 112 эталонных штаммов лактобактерий NK1 и K3SH24, депонированных в ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов.

Степень вирулентности простейших бластоцист определяли путем внутрибрюшинного введения белым мышам (массой 17.4±1.5 г) 0.5 мл взвеси культуры изучаемых микроорганизмов, выращенной на питательной среде Suresh [Suresh et al., 1993].

В работе применяли праймеры к нескольким генам, определяющим способность к образованию фимбрий 1-го типа, S и P типа, бактериального адгезина интимина и гемолизина. Праймеры синтезированы в НПФ “ДНКтехнология” (Россия). Выделение бактериальной ДНК проводили по методу [Boom et al., 1988]. Подбор праймеров и температуры отжига осуществляли при использовании пакета программ “Lasergene” (США). Регистрацию результатов ПЦР выполняли путем электрофоретического разделения продуктов амплификации на окрашенном бромистым этидием агарозном геле. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью компьютерной программы Vector NTI Suite (США).

Результаты и их обсуждение

Из микросимбиоза обследованных пациентов выделены бластоцисты, которые в результате использования метода внутрибрюшинного заражения мышей были разделены на три группы – авирулентные (73 штамма), умеренно- (189 штаммов) и высоковирулентные (134 штамма). По нашим данным, показатель LD₅₀/lg варьировал: у умеренновирулентных штаммов – в пределах от 3.1±0.6 до 4.3±0.5, высоковирулентных – 4.9±0.2 до 5.7±0.2. Авирулентные бластоцисты (73 культуры) гибель животных не вызывали.

Проведенный анализ на кишечный дисбиоз бактериоскопическим и бактериологическим методами показал, что при усилении вирулентности выявляемых бластоцист статистически достоверно снижалось количество лактобактерий со значения lg 9.3±0.5 КОЕ/г до lg 3.8±0.8 КОЕ/г ($p = 0.001$). Коэффициент корреляции составил $r = -0.8$. Противоположную направленность имела зависимость, демонстрирующая обсемененность кишечника микробами родов *Enterococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* и *Candida* при увеличении вирулентности изолированных бластоцист *B. hominis*. Так, обсемененность кишечника микробами родов *Enterococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* и *Candida* увеличилась до значений lg 8.1±0.3, 9.2±0.1, 6.2±0.3 и 5.7±0.2 КОЕ/г соответственно ($p = 0.001$). Коэффициенты корреляции составили $r = 0.7$, $r = 0.9$, $r = 0.8$ и $r = 0.8$ соответственно. При усилении вирулентности бластоцист статистически достоверно увеличивалось количество представителей *Proteus* и *Klebsiella* – до lg 5.1±0.1, 5.2±0.2 КОЕ/г соответственно ($p = 0.05$). Коэффициенты корреляции составили $r = 0.5$ и $r = 0.7$ соответственно. Изменение численности различных фенотипических групп бактерий *Escherichia coli* под влиянием бластоцист проходило в следующих направлениях. Количество лактозонегативных и гемолитических форм эшерихий увеличилось с 0 до lg 3.8±0.3, 5.4±0.1 КОЕ/г соответственно ($p = 0.001$). Коэффициент корреляции составил $r = 0.8$ и $r = 0.9$ соответственно.

По итогам тестирования штаммов *Lactobacillus* spp., выделенных из ассоциации с авирулентными бластоцистами, оказалось, что искомые ампликоны выявлялись только при использовании праймеров к *fimA*-гену (таблица). Частота встречаемости данного ампликона составила 19.1% (у эталонных штаммов – 0 %, $p = 0.001$). В данной фенотипической группе ни в одном случае не выявлены генетические детерминанты к другим генам.

В дальнейших исследованиях нами была изучена частота встречаемости нуклеотидных последовательностей генов, контролирующих синтез фимбрий P, S и 1-го типа, интимина и гемолизина у бактерий *Lactobacillus* spp., выделенных из ассоциации с умеренновирулентными бластоцистами (таблица). В общем пуле исследованных штаммов лактобацилл регистрировали наличие искомых ампликонов ко всем изучаемым генам. Достоверно чаще других регистрировались генетические детерминанты, обеспечивающие синтез фимбрий 1- и S-типов: *fimA* – 59.8; *sfaA* – 21.5, *sfaG* – 19.6% соответственно ($p = 0.001$). Положительные результаты были зафиксированы и в отношении других изучаемых детерминант. Из 189 протестированных штаммов с праймерами к *hlyB* гену положительный сигнал получен только с 7 культурами (3.7%). В общем пуле контрольных штаммов положительные сигналы не выявлены.

Частота встречаемости нуклеотидных последовательностей генов вирулентности *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с бластоцистами *B. hominis*

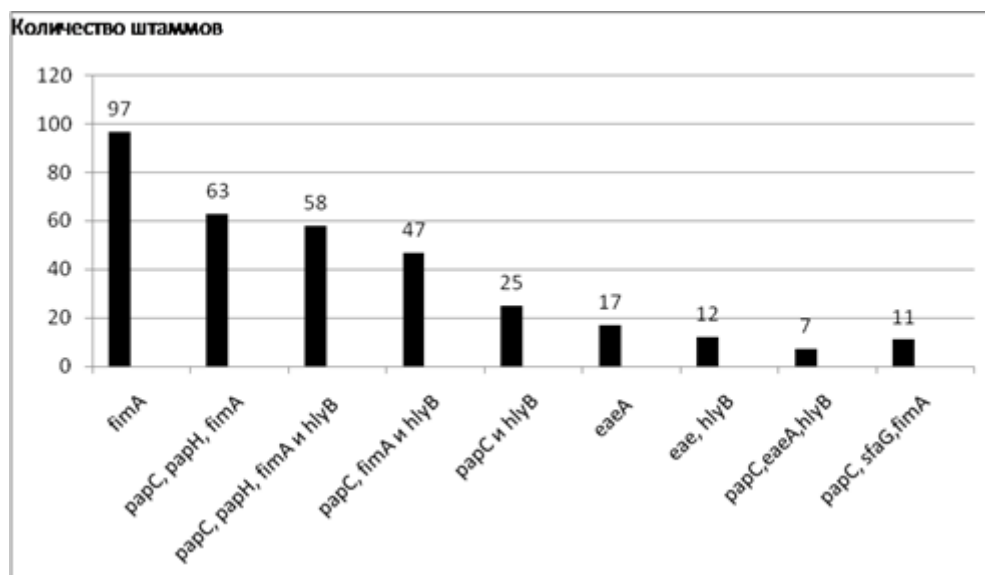
[Frequency of occurrence of nucleotide sequences of *Lactobacillus* spp. virulence genes in association with *B. hominis*]

Количество ассоциирующих бактерий	Частота встречаемости ампликонов, абс./%						
	<i>papH</i>	<i>papC</i>	<i>sfaG</i>	<i>sfaA</i>	<i>fimA</i>	<i>Eae</i>	<i>hlyB</i>
С авирулентными бластоцистами (n=73)	0	0	0	0	14/19.1 *	0	0
С умеренновирулентными бластоцистами (n=189)	12/6.3*	13/6.9*	37/19.6*	40/21.5*	113/59.8*	2/1.1	7/3.7*
С высоковирулентными бластоцистами (n=134)	15/11.2	17/12.7*	46/34.3*	43/32.1*	91/67.9*	14/7.4*	31/23.1*
Контрольные эталонные штаммы (n=112)	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. * – $p = 0.001$.

При ассоциативном взаимодействии *in vivo* лактобактерий с высоковирулентными бластоцистами наблюдается увеличение частоты образования ампликонов генетических детерминант пилеобразования по сравнению с предыдущими группами в среднем в 2 раза, что можно рассматривать как стресс-индукцию адаптационных механизмов к выеданию хищниками-простейшими. Так, генетические детерминанты *fimA* выявлены у 91 штамма (67.9%); *sfaA* – 43 штаммов (32.1%), *sfaG* – 46 штаммов (34.3%); *papC* – 17 штаммов (12.7%); *papH* – 15 штаммов (12.7%) ($p=0.001$). Положительные результаты зафиксированы и в отношении других изучаемых детерминант. Из 134 протестированных штаммов с праймерами к *eaeA* гену положительный сигнал получен только с 14 культурами (7.4%). Динамика регистрации *hlyB* гена токсинообразования увеличилась в 4.4 раза (с 7 до 31 штамма).

Исследование формирования генетических комбинаций в геноме микроассоциантов *Lactobacillus* spp. (рисунок) во всех микросимбиозах показало статистически достоверное доминирование штаммов с геном *fimA* (218 штаммов).



Встречаемость комбинаций генов патогенности при формировании поливирулентных штаммов *Lactobacillus* spp. в ассоциативном микросимбиозе с простейшими *B. hominis in vivo*

[The occurrence of combinations of pathogenicity genes in the formation of polyvirulent strains of *Lactobacillus* spp. in associative microsymbiogenesis with protozoa *B. hominis in vivo*]

В общем пуле штаммов лактобактерий у 97 (24.5%) был выявлен только фрагмент *fimA* гена. Совместное выявление фрагментов генетических детерминант патогенности отмечено с такими генами: *papC, papH, fimA* – 63 (15.0%), *papC, papH, fimA и hlyB* – 58 (14.6%), *papC, fimA и hlyB* – 47 (11.9%), *papC и hlyB* – 25 (6.3%), *eaeA* – 17 (4.3%), *eaeA, hlyB* – 12 (3%), *papC, eaeA, hlyB* – 7 (1.8%), *papC, sfaG и fimA* – 11 (2.8%) штаммов соответственно. Меньше всего отмечено присутствие в генотипе лактобактерий фрагментов, контролирующих экспрессию интимина – 36 штаммов.

Выводы

1. Простейшие бластоцисты выступают в роли экологического стрессового фактора внутри ассоциативной микросистемы. Происходящая под их влиянием селекция по признаку вирулентности и последующее размножение более устойчивых к перевариванию бактерий подтверждается увеличением частоты встречаемости генетических детерминант факторов патогенности *papC, papH, sfaG, sfaA, fimA, eae, hlyB* у представителей *Lactobacillus* spp.

2. Присутствие в кишечном консорциуме пациентов простейших определяет направление селективного отбора микроассоциантов в сторону усиления степени адгезивности, колонизации и токсинообразования, что подтверждается положительной динамикой выявления генетических детерминант, ответственных за экспрессию данных факторов вирулентности.

3. Исследование формирования генетических комбинаций в геноме микроассоциантов *Lactobacillus* spp. во всех микросимбиозах показало статистически достоверное доминирование штаммов с геном *fimA*, кодирующим субъединицу фимбрий FimA. Наименьшее адаптивное значение имеют генетические детерминанты *eaeA* гена, контролирующие выработку интимина.

Список источников

1. Бондаренко В.М., Мавзютов А.Р., Голкочева Э. Секретируемые факторы патогенности энтеробактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2002. № 1. С. 84–90.
2. Грищук О.В., Кузнецова К.Ю., Загайнова А.В. Об актуальности определения *Blastocystis* spp. в объектах окружающей среды как потенциальных факторов риска возникновения протозойной инфекции человека // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97, № 11. С. 1043–1045. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-11-1043-45.
3. Егорова Т.П., Аршба И.М., Демерчян А.В. Протозойно-бактериальные ассоциации кишечника у макаков резусов // Ветеринария. 2021. № 1. С. 33–35. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.33-36.
4. Ефимов Б.А. Характеристика микроорганизмов, колонизирующих кишечник // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2002. № 5. С. 98–104.
5. Зеленова Е.Г. и др. Микрофлора полости рта: норма и патология: учеб. пособие. Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2004. 158 с.
6. Литвин В.Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, № 6. С. 543–551.
7. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И., Емельяненко Е.Н. Биоценотические основы природной очаговости сапронозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2004. № 4. С. 102–108.
8. Мавзютов А.Р. и др. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 1. С. 89–96.
9. Немова И.С. и др. Микроэкология организма человека: учеб. пособие. Ульяновск: Изд-во УлГПУ, 2012. 101 с.
10. Пушкарева В.И. Паразитизм в простейших как стратегия существования патогенных бактерий в почвах и водоемах // Успехи современной биологии. 2006. Т. 126, № 4. С. 323–333.
11. Соловьёв М.М., Большаков О.П., Галецкий Д.В. Гнойно-воспалительные заболевания головы и шеи: этиология, патогенез, клиника, лечение. М.: Умный доктор, 2016. 192 с.
12. Степанских А.С. Общая экология. М.: ЮНИТИ-ДАНА, 2000. 688 с.
13. Точилина А.Г. и др. Изучение биологических свойств штаммов рода *Lactobacillus* // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 5. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?Id=21579>.
14. Яруллина Д.Р., Фахруллин Р.Ф. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: учеб.-метод. пособие. Казань, 2014. 51 с.
15. Abd H. et al. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii* // Applied and Environmental Microbiology. 2003. Vol. 69(1). P. 600–606. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.
16. Boom R. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids // Journal of Clinical Microbiology. 1988. Vol. 28. P. 495–503. DOI: 10.1128/jcm.28.3.495-503.1990.
17. Brunder W., Karh H. Genome plasticity in *Enterobacteriaceae* // Journal of Medical Microbiology. 2000. Vol. 290. P. 153–165.
18. Caprioli A., Morabito S., Brugere H. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission // Veterinary Research. 2005. Vol. 36. P. 289–311.
19. Clarke S.C. et al. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen // Clinical Microbiology Reviews. 2003. Vol. 16, № 3. P. 365–378.
20. Suresh K. et al. *In vitro* encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis* // Parasitology Research. 1993. Vol. 79. P. 456–460.

References

1. Bondarenko V.M., Mavzyutov A.R., Golkocheva E. [Secreted factors of pathogenicity of enterobacteria]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 1 (2002): pp. 84-90. (In Russ.).
2. Gritsyuk O.V., Kuznetsova K.Yu., Zagainova A.V. [On the relevance of the definition of *Blastocystis* spp. in environmental objects as potential risk factors for human protozoal infection]. *Gigiena i sanitarija*. V. 97, No 11 (2018): pp. 1043-1045. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-11-1043-45. (In Russ.).
3. Egorova T.P., Arshba I.M., Demerchyan A.V. Protozoal-bacterial associations of the intestine in rhesus monkeys. *Veterinarija*. No 1 (2021): pp. 33-35. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.33-36. (In Russ.).
4. Efimov B.A. [Characteristics of microorganisms colonizing the intestine]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 5 (2002): pp. 98-104. (In Russ.).
5. Zelenova E.G., Zaslavskaya M.I. et al. *Mikroflora polosti rta: norma i patologija* [Microflora of the oral cavity: norm and pathology. Study guide]. Nizhny Novgorod, 2004. 158 p. (In Russ.).
6. Litvin V.Yu. [Sapronous aspects of plague enzootia]. *Uspechi sovremennoj biologii*. V. 123, No 6 (2003): pp. 543-551. (In Russ.).
7. Litvin V.Yu., Pushkareva V.I., Emelianenko E.N. [Biocenotic bases of natural foci of sapronoses]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 4 (2004): pp. 102-108. (In Russ.).

8. Mavzyutov A.R., Bondarenko V.M., Zhrebtsova N.Y., Valishin D.A. [Factors of pathogenicity of opportunistic enterobacteria and their role in the development of diarrhea]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 1 (2007): pp. 89-96. (In Russ.).
9. Nemova I.S., Potaturkina-Nesterova N.I., Bezzubenkova O.E., Smentyna O.S., Zubareva M.Y. *Mikroèkologija organizma človeka* [Microecology of the human body: Textbook]. Ulyanovsk: UISPU Publ., 2012. 101 p. (In Russ.).
10. Pushkareva V.I. [Parasitism in protozoa as a strategy for the existence of pathogenic bacteria in soils and reservoirs]. *Uspechi sovremennoj biologii*. V. 126, No 4 (2006): pp. 323-333. (In Russ.).
11. Soloviev M.M., Bolshakov O.P., Galetsky D.V. *Gnojno-vospalitel'nye zabolevaniya golovy i ŝei* [Purulent-inflammatory diseases of the head and neck: etiology, pathogenesis, clinic, treatment]. Moscow, Umnyj doctor Publ., 2016. 192 p. (In Russ.).
12. Stepanskikh A.S. *Obščaja èkologija* [General ecology]. Moscow, JUNITY-DANA Publ., 2000. 688 p. (In Russ.).
13. Tochilina A.G., Belova I.V., Solovyova I.V., Novikova N.A., Ivanova T.P., Zhirnov V.A. [The study of biological properties of strains of the genus lactobacillus]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*. No 5 (2015). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?Id=21579>. (In Russ.).
14. Yarullina D.R., Fakhruullin R.F. *Bakterii roda Lactobacillus. Obščaja charakteristika i metody raboty s nimi* [Bacteria of the genus *Lactobacillus*: general characteristics and methods of working with them: Educational and methodical manual]. Kazan, 2014. 51 p. (In Russ.).
15. Abd H., Johansson T., Golovlid J., Sandstrom G., Forsman M. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 69(1) (2003): pp. 600-606. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.
16. Boom R., Sal C.J., Salimans M.M., Carniel E., Vandeic B., Rainolds C. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 28 (1988): pp. 495-503. DOI: 10.1128/jcm.28.3.495-503.1990.
17. Brunder W., Karh H. Genome plasticity in Enterobacteriaceae. *Journal of Medical Microbiology*. V. 290 (2000): pp. 153-165.
18. Caprioli A., Morabito S., Brugere H. Enterohaemor-rhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*. V. 36 (2005): pp. 289-311.
19. Clarke S.C., Haigh R.D., Freestone P.P.E., Williams P.H. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. V. 16, No 3 (2003): pp. 365-378.
20. Suresh K., Ng G.C., Ramachandran N.P., Ho L.C., Yap E.H., Singh M. *In vitro* encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*. V. 79 (1993): pp. 456-460.

Статья поступила в редакцию 09.10.2022; одобрена после рецензирования 31.10.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 09.10.2022; approved after reviewing 31.10.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Ю. Ю. Красноперова – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии и химии;
С. Ш. Мехманова – соискатель ученой степени кандидата биологических наук;
Е. А. Хуснатдинова – кандидат биологических наук, эксперт 1 категории.

Information about the authors

Yu. Yu. Krasnoperova – Doctor of biological sciences, associate professor, professor of the Department of biology and chemistry;
S. Sh. Mehmanova – candidate of the degree of Candidate of biological sciences;
E. A. Khusnatdinova – Candidate of biological sciences, expert of the 1st category.

Вклад авторов:

Красноперова Ю. Ю. – научное руководство; концепция исследования; научное заключение.
Мехманова С. Ш. – сбор, лабораторный анализ материала; написание исходного текста.
Хуснатдинова Е. А. – сбор, лабораторный анализ материала; статистический анализ; доработка текста.

Contribution of the authors:

Krasnoperova Yu. Yu. – scientific guidance; research concept; scientific conclusion.
Mehmanova S. Sh. – collection, laboratory analysis of the material; writing the source text.
Khusnatdinova E. A. – collection, laboratory analysis of the material; statistical analysis; revision of the text.