



Антагонистическая активность консорциума штаммов *Lactobacillus fermentum* VKM В-2793D и *Lactobacillus reuteri* VKM В-3144D, выделенных из женского молока, к мастит-индуцирующим патогенам

В.М. Абрамов¹, В.С. Хлебников¹, И.В. Косарев¹, Т.В. Припутневич², Л.А. Любасовская², Р.Н. Василенко¹, В.К. Сакулин¹, В.Н. Каркищенко³, Н.Н. Каркищенко³, С.Ю. Пчелинцев¹, А.В. Карлышев⁴, В.А. Самойленко⁵, А.В. Мачулин⁵

¹ – ОАО «Институт инженерной иммунологии», Московская область

² – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

³ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

⁴ – Кингстонский университет, Лондон, Великобритания

⁵ – ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» РАН, Московская область

Контактная информация: Косарев Игорь Васильевич, kosarev-52@mail.ru

Целью работы явилось изучение антагонистической активности штаммов *Lactobacillus fermentum* VKM В-2793D, *Lactobacillus reuteri* VKM В-3144D, выделенных из женского молока, а также их консорциума к патогенам, вызывающим мастит в лактационный период. Установлено, что лактобактерии и их консорциум проявляют антагонистическую активность к индикаторным культурам, использованным в работе, включая резистентные к антибиотикам патогены. Консорциум обладает более выраженной антагонистической активностью к мастит-индуцирующим патогенам по сравнению с отдельными штаммами лактобактерий, входящими в его состав. Консорциум защищает клетки MCF-7 молочной железы человека от адгезии и колонизации патогеном *S.aureus* 8325-4. Полученные результаты свидетельствуют о том, что лактобактерии *L.fermentum* VKM В-2793D, *L.reuteri* VKM В-3144D, а также их консорциум являются отличными кандидатами для разработки пробиотического препарата для профилактики и лечения лактационного мастита.

Ключевые слова: лактобактерии женского молока, антагонистическая активность, биомоделирование.

Введение

Лактационный мастит относят к важным социальным проблемам, связанным с преждевременным прекращением груд-

ного вскармливания детей и нарушением репродуктивного здоровья. Заболевание представляет собой воспаление молочной железы у матери в период грудно-

го вскармливания ребенка, вызываемое условно-патогенными микроорганизмами. Мастит является следствием дисбиоза молочной железы [7]. Несмотря на то, что лактобактерии относятся к субдоминирующим бактериям в женском молоке, они являются биомаркерами, свидетельствующими о наличии здоровой микробиоты в данном биотопе в лактационный период [18]. Дисбиоз характеризуется снижением уровня лактобактерий, участвующих в обеспечении колонизационной резистентности молочной железы матери, кормящей грудью, эволюционно адаптированных для вертикальной передачи ребёнку вместе с грудным молоком в условиях функционирования микрoэкологической системы «мать-дитя» [7,13, 18]. В результате дисбиоза из грудного молока исчезают лактобактерии, их место занимают микроорганизмы, индуцирующие мастит.

Согласно статистическим данным ВОЗ за 2000 г. 33% кормящих грудью матерей в мире болели маститом [20]. Многие исследователи отмечают тенденцию к росту заболевания, уровень которого в настоящее время достиг 35% [7, 4, 16].

Наиболее частыми инфекционными агентами, индуцирующими мастит у кормящих грудью женщин, являются *Staphylococcus epidermidis* [5] и *Staphylococcus aureus* [6]. *S.aureus* является этиологическим агентом острого лактационного мастита, который часто переходит в хроническую форму и трудно поддаётся лечению с помощью антибиотиков [3, 17]. Для лечения мастита применяются антибиотики. Штаммы стафилококков, индуцирующие мастит, характеризуются резистентностью к различным антибиотикам и способностью формировать би-

оплёнку на поверхности эпителиальных клеток выводных протоков молочной железы [5]. В последние десятилетия во всем мире отмечается рост антибиотикорезистентных патогенов, индуцирующих мастит. Метициллин- и гентамицин-резистентные штаммы *S.aureus* (MRSA, GRSA), относящиеся к внутрибольничным инфекциям, циркулируют также в родильных домах. Они представляют серьёзную угрозу здоровью матери и ребёнка [5, 10, 15].

В связи с вышеизложенным актуальной является разработка лекарственных средств на основе пробиотических штаммов лактобацилл, выделенных из женского молока, для профилактики и комплексного лечения лактационного мастита у кормящих грудью матерей. Подобные пробиотические препараты отсутствуют в России. Штамм *L.fermentum* ВКМ В-2793D и штамм *L.reuteri* ВКМ В-3144D первоначально были выделены из женского молока при изучении видового спектра лактобацилл в микрoэкологической системе «здоровая пара мать-дитя», затем были обнаружены и идентифицированы методом молекулярного фингерпринтинга также в кале у ребёнка и у матери в каждой паре мать-дитя, соответственно.

Целью настоящей работы явилось исследование антагонистической активности штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D, *L.reuteri* ВКМ В-3144D и их консорциума к мастит-индуцирующим антибиотикорезистентным патогенам.

Материалы и методы

Антагонистическую активность штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D, *L.reuteri* ВКМ В-3144D и их консор-

циума изучали методом отсроченного антагонизма [1] с использованием спектра индикаторных культур, включая клинические изоляты мастит-индуцирующих патогенов, обладающих антибиотикорезистентностью. Прямое противомикробное действие консорциума лактобактерий изучали также методом «конкурентного вытеснения» патогена [14]. В опытах использовали клеточную биомодель *in vitro*, включающую перевиваемую линию эпителиоцитов MCF-7 молочной железы человека и штамм *S.aureus* 8325-4 в качестве мастит-индуцирующего патогена, обладающий устойчивостью к гентамицину [2]. Культуру MCF-7 эпителиоцитов выращивали на среде DMEM, содержащей 10% фетальной сыворотки, 1% пенициллина и стрептомицина, 0,2 mM Hepes, 2mM L-глутамина, при 37°C в CO₂-инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Эпителиоциты в концентрации 3,0x10⁵ кл/мл высевали на 6-луночные планшеты в объёме 2 мл на лунку и культивировали 24 ч. По достижению 70-80% монослоя эпителиоциты промывали трехкратно средой DMEM без сыворотки, и затем к ним была добавлена среда DMEM с L-глутамином. Перед добавлением к эпителиоцитам лактобактерии (18-часовая культура, выращенная на среде MRS, pH=6,5) были дважды промыты PBS (pH=7,2) путём центрифугирования при 5000 об./мин в течение 15 мин и ресуспендированы в среде DMEM с L-глутамином. Концентрацию бактерий для определения соотношения «бактерия / соматическая клетка» регулировали по оптической плотности и контролировали высеvom на плотную питательную среду. Множественность инфицирования (МОИ)

составляла 200 бактерий на одну соматическую клетку.

Планшеты, содержащие MCF-7 эпителиоциты с внесёнными к ним лактобактериями, были разделены на две группы. Обе группы планшетов инкубировали 5 ч при 37°C в CO₂-инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% CO₂.

После 5-часовой инкубации в лунки одной группы планшетов вносили *S.aureus*, и культивирование продолжали ещё 24 ч (для изучения роли лактобактерий консорциума в обеспечении колонизационной резистентности эпителиоцитов MCF-7 против *S.aureus*, в качестве контроля служили интактные эпителиоциты, к которым добавляли *S.aureus* и также культивировали 24 ч). В лунки второй группы планшетов вносили PBS для удаления лактобактерий, не связавшихся с эпителиоцитами, фиксировали в холодном этаноле (3 мин), окрашивали по Романовскому-Гимза в течение 30 мин, промывали дистиллированной водой, высушивали при комнатной температуре и исследовали микроскопически. Лунки первой группы планшетов обрабатывали аналогичным способом после завершения 24-часового культивирования.

Адгезию штаммов лактобактерий, входящих в состав консорциума, оценивали по двум показателям:

1) активность адгезии – количество MCF-7 эпителиоцитов с адгезированными лактобактериями из 100 посчитанных, в процентах;

2) индекс адгезии – количество лактобактерий, адгезированных на одном MCF-7 эпителиоците.

Результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента и программы Statistica 7.0.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о наличии антагонистической активности у штамма *L.fermentum* ВКМ В-2793D и штамма *L.reuteri* ВКМ В-3144D к мастит-индуцирующим патогенам. Наиболее частые инфекционные агенты, вызывающие мастит (*S.aureus* и *S.epidermidis*) и обладающие резистентностью к антибиотикам (гентамицин, метициллин, оксациллин, эритромицин, клиндамицин), оказались также чув-

ствительными к исследуемым лактобактериям. Консорциум лактобактерий *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D обладает более выраженной антагонистической активностью к мастит-индуцирующим патогенам по сравнению с отдельными штаммами лактобактерий, входящими в его состав (табл. 1).

Известно, что рост антибиотикорезистентности патогенных бактерий представляет собой глобальную проблему

Таблица 1
Синергизм антагонистической активности штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D и их консорциума к мастит-индуцирующим патогенам

Индикаторная культура	Зоны задержки роста индикаторных микроорганизмов для отдельных штаммов лактобацилл и их консорциума, мм (M±m)		
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Консорциум
<i>Staphylococcus aureus</i> 0-15	19,4±1,3	11,5±0,9	31,6±2,7*
<i>Staphylococcus aureus</i> 8325-4 ⁽¹⁾	21,7±1,4	12,0±1,5	32,5±1,8*
<i>Staphylococcus aureus</i> КИ-39 ⁽²⁾	18,6±1,5	13,6±1,6	30,0±2,3*
<i>Staphylococcus aureus</i> КИ-12 ⁽³⁾	19,7±1,8	15,1±1,4	32,7±2,4*
<i>Staphylococcus aureus</i> КИ-17 ⁽⁴⁾	18,9±1,2	16,0±1,8	29,5±1,8*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984	21,8±1,7	15,3±1,6	33,6±2,5*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> КИ-TAn ⁽³⁾	18,2±1,4	16,7±0,5	30,0±1,7*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> КИ-ИД ⁽⁵⁾	17,9±1,1	12,4±1,7	28,5±1,3*
<i>Streptococcus agalactiae</i> КИ-50	20,3±1,8	12,3±0,9	31,4±2,5*
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	19,5±1,2	13,9±0,8	30,4±1,3*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23,6±1,7	14,3±0,9	35,7±1,8*
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	18,4±1,0	10,6±0,5	26,2±1,5*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	17,5±1,1	11,3±0,9	24,3±1,2*

Примечания: КИ – клинический изолят;

резистентность к: ⁽¹⁾ – гентамицину, ⁽²⁾ – метициллину, ⁽³⁾ – оксациллину, ⁽⁴⁾ – эритромицину, ⁽⁵⁾ – клиндамицину;

* – достоверность различий между консорциумом и отдельными штаммами лактобацилл, входящими в его состав, p<0,05.

Таблица 2

Снижение антибиотикорезистентности штамма *S.aureus* 8325-4 в присутствии консорциума штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D

Микроорганизм	Антибиотик	МИКА, мкг/мл
<i>S.aureus</i> 8325-4	цефалексин	2
<i>L.reuteri</i> ВКМ В-3144D	цефалексин	240
<i>L. fermentum</i> ВКМ В-2793D	цефалексин	128
<i>S.aureus</i> 8325-4 (в присутствии консорциума лактобактерий)	цефалексин	0,25

[15]. Нами установлено, что после добавления консорциума лактобактерий к *S.aureus* 8325-4 снижается минимальная ингибирующая концентрация антибиотика (МИКА) для этого патогена (табл. 2).

Данный эффект связан с действием бактериоцинов, продуцируемых лактобактериями консорциума. Ранее проведенное полногеномное секвенирование геномов лактобактерий консорциума позволило выявить у штамма *L.fermentum* ВКМ В-2793D ген высокомолекулярного термолабильного бактериоцина с уникальной аминокислотной последовательностью, относящегося к классу 3 бактериолизин, связывающихся с ДНК патогенов и блокирующих клеточный биосинтез, а у штамма *L.reuteri* ВКМ В-3144D – ген, кодирующий низкомолекулярный термостабильный бактериоцин, проявляющий бактерицидное действие к мастит-индуцирующим патогенам [11].

Обнаружен также другой механизм прямого антагонистического действия консорциума исследуемых лактобактерий – т.н. конкурентное вытеснение патогена, связанное с адгезией и плотной колонизацией эпителиоцитов

молочной железы штаммами консорциума. Адгезия является одной из эволюционно выработанных стратегий, используемых многими бактериями для поддержания постоянного их количества в различных экологических нишах. Адгезия содержащихся в молоке лактобактерий к эпителиоцитам молочной железы служит решающим этапом в колонизации молочных протоков, а также одним из основных механизмов, с помощью которых они могут защищать молочную железу от колонизации мастит-индуцирующими патогенами и предотвращать развитие лактационного мастита. Способность лактобактерии к адгезии на эпителиоцитах молочной железы – важный критерий выбора штаммов с целью создания пробиотических препаратов для профилактики и лечения лактационного мастита. В клеточной биомодели *in vitro* нами показано, что консорциум штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D эффективно колонизирует перевиваемые эпителиоциты MCF-7 молочной железы человека. Активность адгезии для каждого штамма составляет 100%. Оба штамма имеют высокий индекс адгезии (табл. 3).

Таблица 3

Адгезия штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D к эпителиоцитам MCF-7 молочной железы человека

Штамм	Активность адгезии	Индекс адгезии
<i>L. fermentum</i> ВКМ В-2793D	100±0	48±6
<i>L.reuteri</i> ВКМ В-3144D	100±0	32±4

Консорциум защищает эпителиоциты MCF-7 молочной железы человека от колонизации клетками *S.aureus* 8325-4 (рис).

Эффективность антагонистической активности консорциума к *S.aureus* в данной биомодели связана с наличием у штамма *L.fermentum* ВКМ В-2793D гена *cbp*, кодирующего лектин, для которого коллаген поверхностного матрикса эпителиоцитов молочной железы является высокоаффинным рецептором [19], а штамм *L.reuteri* ВКМ В-3144D имеет ген *YggS*, ответственный за разрушение биопленки мастит-индуцирующих патогенов [11, 12]. Результаты, полученные на биомодели *in vitro*, свидетельствуют о потенциальной способности консорциума штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D

и *L.reuteri* ВКМ В-3144D обеспечить колонизационную резистентность эпителиоцитов молочной железы *in vivo* против мастит-индуцирующих патогенов в лактационный период, связанный с грудным вскармливанием ребёнка. Вертикальная передача пробиотических лактобактерий вместе с молоком от матери к ребёнку в микроэкологической системе «мать-дитя» имеет первостепенное значение для формирования у ребёнка нормальной микрофлоры ЖКТ и развития здоровой иммунной системы [8, 9].

Выводы

Штаммы *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D, выделенные из молока здоровых женщин, а также

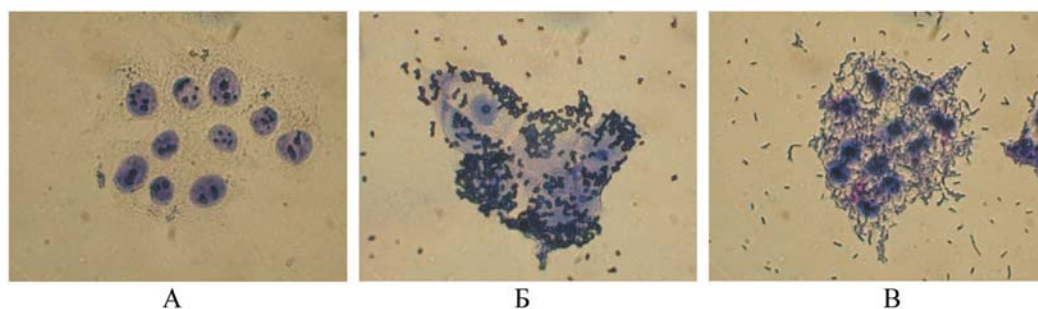


Рис. Консорциум штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D ингибирует процесс колонизации эпителиоцитов MCF-7 молочной железы человека клетками *S.aureus* 8325-4: А – интактные эпителиоциты MCF-7; Б – колонизация интактных эпителиоцитов MCF-7 клетками *S.aureus* 8325-4; В – отсутствие адгезии клеток *S.aureus* 8325-4 и их колонизации на эпителиоцитах MCF-7, экранированных консорциумом лактобацилл. Среда DMEM, ув. x1512. Окраска: азур-эозин по Романовскому-Гимза.

их консорциум проявляют антагонистическую активность к мастит-индуцирующим антибиотикорезистентным патогенам, выступающим в качестве специфических биомишеней.

В опытах на клеточной биомодели *in vitro* установлено, что консорциум штаммов *L.fermentum* ВКМ В-2793D и *L.reuteri* ВКМ В-3144D эффективно защищает эпителиоциты MCF-7 молочной железы человека от колонизации клетками *S.aureus* 8325-4.

Эти результаты свидетельствуют о потенциальной способности консорциума обеспечить колонизационную резистентность эпителиоцитов молочной железы *in vivo* против мастит-индуцирующих патогенов в лактационный период, связанный с грудным вскармливанием ребёнка.

Список литературы

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2 / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К. – 2012. – 536 с.
2. Brouillette E., Talbot B., Malouin F. The fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* may promote mammary gland colonization in a lactating mouse model of Mastitis // Infect. Immun. 2003. V. 71. No. 4. Pp. 2292-2295.
3. Brouillette E., Martinez A., Boyll B., et al. Persistence of a *Staphylococcus aureus* Small-colony variant under antibiotic pressure *in vivo* // FEMS Immunol. and med. microbiol. 2004. V. 41. Issue 1. Pp. 35-41.
4. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E., et al. Staphylococcus epidermidis strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics // BMC Microbiol. 2009. V. 9. Pp. 82-85.
5. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E., et al. Infectious mastitis during lactation: an underrated condition (I) // Acta Pediatrica Espanola. 2009. V. 67. Pp. 77-84.
6. Delgado S., Garcia P., Fernandez L., Jimenez E., Rodriguez-Banos M., Del Campo R., Rodriguez J.M. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains involved in human and bovine mastitis // FEMS immunological and medical microbiology. 2011. V. 62. Pp. 225-235.
7. Fernández L., Arroyo R., Espinosa I., Marín M., Jiménez E., Rodríguez J.M. Probiotics for human lactational mastitis // Benef. Microb. 2014. V. 5. Pp. 169-183.
8. Indrio F., Neu J. The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics // Cur. Opin. Pediatr. 2011. V. 23. No. 2. Pp. 145-150.
9. Jost T., Lacroix C., Braegger C., Rochat F., Chassart C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breast-feeding // Environmental Microbiology. 2013. doi:10.1111/1462-2920.12238.
10. Lowy F.D. *Staphylococcus aureus* infections // N. Engl. J. Med. 1998. V. 339. Pp. 520-532.
11. Lehri B., Seddon A., Karlyshev A. Potential probiotic-associated traits revealed from completed high quality genome sequence of *Lactobacillus fermentum* 3872 // Standards in Genomic Sciences. 2017. doi:10.1186/s40793-017-0228-4.
12. Lehri B., Seddon A., Karlyshev A. Lactobacillus fermentum 3872 genome sequencing reveals plasmid and chromosomal genes potentially involved in a probiotic activity // FEMS Microbiol. Let. 2015. V. 362. Pp. 1-5.
13. Martin V., Maldonado A., Moles L., et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces // J. of Human Lactation. 2012. V. 28. Pp. 36-44.
14. Ramiah K., van Reenen C., Dicks L. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis* // Res. Microbiol. 2008. V. 6. Pp. 470-475.
15. Saiman L., Okeefe M., Graham P., Wu F., et al. Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women // Clin. Infect. Dis. 2003. V. 37. Pp. 1313-19.
16. Schoenfelder S.M., Lange C., Eckart M., Hennig S., Kozytska S., Ziebuhr W. Success through diversity – how *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen // Int. J. of Medical Microbiology. 2010. V. 300. Pp. 380-386.
17. Sears P.M., McCarthy K.K. Diagnosis of mastitis for therapy decisions // Veterinary Clinics of

- North America: Food Animal Practice. 2003. V. 19. Pp. 93-108.
 18. Soto A., Martín V., Jiménez E., Mader I., Rodríguez J.M., Fernández L. Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2014. V. 59. Pp. 78-88.
 19. Westerlund B., Korhonen T. Bacterial proteins binding to the mammalian extracellular matrices // Mol. Microbiol. 1993. V. 9. Pp. 687-694.
 20. World Health Organization. Mastitis: causes and management. – Geneva: WHO, 2000.
- ### References
1. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv (immunobiologicheskie lekarstvennye preparaty). Ch. 2 [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs (immunobiological drugs). Part 2]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K. 2012. 536 p. (In Russian).
 2. Brouillette E., Talbot B., Malouin F. The fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* may promote mammary gland colonization in a lactating mouse model of Mastitis. Infect. Immun. 2003. V. 71. No. 4. Pp. 2292-2295.
 3. Brouillette E., Martinez A., Boyll B., et al. Persistence of a *Staphylococcus aureus* Small-colony variant under antibiotic pressure *in vivo*. FEMS Immunol. and med. microbiol. 2004. V. 41. Issue 1. Pp. 35-41.
 4. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E., et al. *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. BMC Microbiol. 2009. V. 9. Pp. 82-85.
 5. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E., et al. Infectious mastitis during lactation: an underrated condition (I). Acta Pediatrica Espanola. 2009. V. 67. Pp. 77-84.
 6. Delgado S., Garcia P., Fernandez L., Jimenez E., Rodriguez-Banos M., Del Campo R., Rodriguez J.M. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains involved in human and bovine mastitis. FEMS immunological and medical microbiology. 2011. V. 62. Pp. 225-235.
 7. Fernández L., Arroyo R., Espinosa I., Marín M., Jiménez E., Rodríguez J.M. Probiotics for human lactational mastitis. Benef. Microb. 2014. V. 5. Pp. 169-183.
 8. Indrio F., Neu J. The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics. Cur. Opin. Pediatr. 2011. V. 23. No. 2. Pp. 145-150.
 9. Jost T., Lacroix C., Braegger C., Rochat F., Chassart C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breast-feeding. Environmental Microbiology. 2013. doi:10.1111/1462-2920.12238.
 10. Lowy F.D. *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 1998. V. 339. Pp. 520-532.
 11. Lehri B., Seddon A., Karlyshev A. Potential probiotic-associated traits revealed from completed high quality genome sequence of *Lactobacillus fermentum* 3872. Standards in Genomic Sciences. 2017. doi:10.1186/s40793-017-0228-4.
 12. Lehri B., Seddon A., Karlyshev A. *Lactobacillus fermentum* 3872 genome sequencing reveals plasmid and chromosomal genes potentially involved in a probiotic activity. FEMS Microbiol. Let. 2015. V. 362. Pp. 1-5.
 13. Martin V., Maldonado A., Moles L., et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. J. of Human Lactation. 2012. V. 28. Pp. 36-44.
 14. Ramiah K., van Reenen C., Dicks L. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*. Res. Microbiol. 2008. V. 6. Pp. 470-475.
 15. Saiman L., Okeefe M., Graham P., Wu F., et al. Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. Clin. Infect. Dis. 2003. V. 37. Pp. 1313-19.
 16. Schoenfelder S.M., Lange C., Eckart M., Henning S., Kozytska S., Ziebuhr W. Success through diversity – how *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen. Int. J. of Medical Microbiology. 2010. V. 300. Pp. 380-386.
 17. Sears P.M., McCarthy K.K. Diagnosis of mastitis for therapy decisions. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2003. V. 19. Pp. 93-108.
 18. Soto A., Martín V., Jiménez E., Mader I., Rodríguez J.M., Fernández L. Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2014. V. 59. Pp. 78-88.
 19. Westerlund B., Korhonen T. Bacterial proteins binding to the mammalian extracellular matrices. Mol. Microbiol. 1993. V. 9. Pp. 687-694.
 20. World Health Organization. Mastitis: causes and management. Geneva: WHO, 2000.

Antagonistic activity of a consortium of strains *Lactobacillus fermentum* BKM B-2793D and *Lactobacillus reuteri* BKM B-3144D isolated from human milk to mastitis-inductioning pathogens

**V.M. Abramov, V.S. Khlebnikov, I.V. Kosarev, T.V. Priputnevich,
L.A. Lyubasovskaya, R.N. Vasilenko, V.K. Sakulin, V.N. Karkischenko,
N.N. Karkischenko, S.Yu. Pchelintsev, A.V. Karlyshev, V.A. Samojlenko,
A.V. Machulin**

The aim of the study was to study the antagonistic activity of strains of *Lactobacillus fermentum* BKM B-2793D, *Lactobacillus reuteri* BKM B-3144D isolated from human breast milk and their consortium to pathogens that cause mastitis during the lactation period. The lactobacilli and their consortium reveal antimicrobial activity against the indicator microorganisms used in this study including pathogens resistant to antibiotics. The consortium protects human mammary gland MCF-7 cells against adhesion and colonization by *Staphylococcus aureus* 8325-4. The obtained results suggest that lactobacilli from breast milk of healthy woman *L. fermentum* BKM B-2793D and *L. reuteri* BKM B-3144D and their consortium are excellent candidates for the development of probiotic preparation for prophylactics and treatment of lactational mastitis.

Key words: lactobacilli of human milk, antagonistic activity, biomodelling.