

УДК 579.69:615.015.8

И.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ЭНТЕРОКОККОВ

Проведен анализ современных научных данных о биологической активности энтерококков. В последние годы этот вопрос является предметом дискуссий, ибо, с одной стороны, эта группа микроорганизмов лидирует в качестве нозокомиальных возбудителей при эндокардитах, бактериемиях разной этиологии, а с другой, их используют в составе заквасок для получения ферментированных пищевых продуктов и пробиотиков. Освещены вопросы устойчивости энтерококков к антибиотикам, описаны факторы вирулентности, такие как адгезины, инвазины и гемолизины. Приведены основные требования к штаммам, предназначенным для практического использования.

Ключевые слова: энтерококки, пробиотики, устойчивость к антибиотикам, патогенность, биологическая активность.

На сегодняшний день пробиотики широко используются в медицинской и ветеринарной практике и в этом плане вопросы относительно их безопасности приобретают особую актуальность [25, 44]. Согласно определению, данному Fuller в 1989 году, пробиотики – это моно- или смешанные культуры живых микроорганизмов, которые при употреблении человеком или животными положительно влияют на организм хозяина, улучшая состав индигенной микрофлоры. Функциональные свойства пробиотиков включают подавление роста патогенных микроорганизмов, антимуtagenную и антиканцерогенную активности, стимуляцию иммунной системы, снижение уровня холестерина в крови [24, 28]. Большинство известных пробиотических культур имеют кишечное происхождение и относятся к родам *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. Представители рода *Enterococcus* также используются как пробиотики и входят в состав биологически активных добавок.

Использование энтерококков как пробиотиков остается дискуссионным вопросом. С одной стороны, хорошо известен пробиотический эффект некоторых штаммов. С другой стороны, антибиотикорезистентные штаммы энтерококков являются этиологическим фактором при некоторых заболеваниях человека, что усиливает беспокойство в отношении их использования как пробиотиков.

Целью работы было обобщение данных о биологической активности представителей рода *Enterococcus*, проведение анализа работ, посвященных вопросам безопасности использования энтерококков, а также требованиям к штаммам-пробиотикам.

Одним из первых в качестве пробиотика был использован штамм *Enterococcus faecium* SF68 и на сегодняшний день он является наиболее изученным с точки зрения его биологической активности и клинического применения. В конце 70-х начале 80-х годов прошлого столетия штамм был расценен как альтернатива антибиотикотерапии при лечении диареи. Клинические испытания показали эффективность лечения энтеритов взрослых и детей пробиотиком с использованием *E. faecium* SF68. Употребление этого пробиотика сокращало время проявления симптомов диареи и ускоряло нормализацию стула пациентов [8, 36]. Позже было показано, что штамм *E. faecium* SF68 обладает широким спектром биологической активности, что стало причиной его широкого применения в качестве пробиотического штамма в препаратах для человека и животных. Так, употребление *E. faecium* SF68 оказалось более эффективным, по сравнению с лактулозой, при лечении хронической печеночной энцефалопатии и цирроза печени [37]. Показано, что добавление в корм птице штамма *E. faecium* SF68 приводит к стимуляции роста других молочнокислых бактерий, особенно лактобацилл [62]. Продемонстрирована иммуномодулирующая активность штамма *E. faecium* SF68 на животных [9]. Выявлена эффективность применения штамма *E. faecium* SF68 при лямблиозе у

© И.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко, 2011

мышей, что выражалось в усилении специфического иммунного ответа, а именно повышении уровней иммуноглобулинов IgA и IgG [10]. Введение данного штамма кошкам увеличивало процент CD4+ лимфоцитов [64]. Штамм *E. faecium* SF68 также обладает антивирусной активностью, в частности против кошачьего герпесвируса типа 1 [33].

Таким образом, после первых работ по изучению биологической активности энтерококков и применения штамма *E. faecium* SF68 в клинической практике, интерес к пробиотическим свойствам энтерококков значительно возрос. Появились работы, посвященные скринингу штаммов, обладающих биологической активностью и пробиотическими свойствами. Среди них наибольшее количество работ проведено по изучению антагонистических свойств этих бактерий по отношению к патогенным микроорганизмам. Так, штаммы *E. faecium* проявляли антагонистическую активность в отношении *Helicobacter pilory*, благодаря бактериоциноподобным веществам, которые они продуцировали, эффект проявлялся в подавлении жизнеспособности клеток *H. pilory*, ингибировании их уреазной активности и способности адгезировать на эпителиальных клетках кишечника [31, 61]. Комбинированное влияние молочной кислоты и бактериоцинов, продуцируемых штаммами *E. faecium* и *E. gallinarum*, приводило к бактериостатическому и бактерицидному действию на штаммы *Salmonella* spp. [6, 57]. Штамм *E. faecium* NCIMB 10415 усиливал иммунный ответ против *Salmonella* serovar *typhimurium* DT104 *in vivo* у поросят [55]. *E. faecium* 18C23 подавлял адгезию энтеропатогенной *E. coli* K88 к эпителию кишечника поросят [30]. Также была показана эффективность комбинированной терапии адьювантного артрита у крыс с использованием метотрексата и лиофилизированных клеток штамма *E. faecium*, обогащенных селеном [51].

В последние годы внимание исследователей направлено на изучение противоопухолевой и противовирусной активностей энтерококков. Так, штамм *E. faecalis* СЕСТ7121 ингибировал пролиферацию клеток Т-клеточной лимфомы у мышей, индуцировал апоптоз, усиливал иммунный ответ, который защищал животных от рецидива лимфомы [14]. Выявлена значительная противовирусная активность штаммов *E. faecium* PCK38 и PCD71 по отношению к ротавирусу и вирусу трансмиссивного гастроэнтерита [42].

Новым перспективным направлением практического использования представителей рода *Enterococcus* является наличие детоксикационных свойств. При изучении детоксикации афлатоксина В(1) и патулина в водных растворах клетками пробиотической культуры *E. faecium* M74 и коммерческой культуры *E. faecium* EF031 выявлено, что оба штамма имеют способность к удалению афлатоксина В(1) и патулина. Штаммы M74 и EF031 за 48 часов инкубации связывали до 30.5–37.5 % афлатоксина В(1) и до 41.6–45.3 % патулина, соответственно. Удаление афлатоксина В(1) и патулина было наиболее полным при pH 7.0 и 4.0, соответственно. Стабильность комплексов токсин/бактериальная клетка была высокой [59]. Также описывается, что штаммы *E. faecium* M74 и EF031 эффективно сорбируют за 48 часов инкубации при pH 5 кадмий и свинец, до 91–98.9 % и 66.9–77.3 %, соответственно [60].

Приводятся данные о пробиотическом штамме *E. faecalis* СЕСТ7121, который снижает количество паразитов у мышей, зараженных нематодой *Toxocara canis* [7]. По мнению авторов, антипаразитарный эффект, наблюдаемый *in vitro* и *in vivo*, может быть опосредован секрецией антимикробного бактериоциноподобного пептида (либо других субстанций), который влияет на проникновение личинок *T. canis* в стенки кишечника, а также препятствует прикреплению их к эпителию кишечника. Электронно-микроскопические исследования показали, что штамм *E. faecalis* СЕСТ7121 адгезирует на внешних покровах личинок нематод, что свидетельствует о дополнительной антагонистической активности против личинок посредством прямого контакта бактерий и паразита [15]. Последний факт может являться еще одним доказательством значения адгезии бактерий в проявлении их биологической активности. Адгезивность энтерококков в основном изучается при скрининге штаммов как одно из требований к пробиотическим штаммам [1, 53]. Для определения адгезии многими авторами в качестве модели используется кишечный муцин [34, 35, 53] и Сасо-2 клетки (клетки аденокарциномы кишечного происхождения) [1]. Было показано, что уровень адгезии к муцину является штаммоспецифическим и не зависит от происхождения муцина и источника выделения энтерококков [34].

В отличие от большинства молочнокислых бактерий, род *Enterococcus* не считается

GRAS (Generally Regarded As Safe – в основном как безопасный). Это обусловлено тем, что представители этого рода являются одними из возбудителей внутрибольничных инфекций и способны вызывать различные заболевания. [23]. Поэтому вопрос безопасности практического использования энтерококков является дискуссионным и достаточно широко освещен в литературе последних лет [48].

Распространение энтерококков, как лидирующих возбудителей нозокомиальных инфекций, связывают с появлением в 80-х годах прошлого столетия штаммов, устойчивых к гликопептидам, в частности к ванкомицину. Устойчивость энтерококков к гликопептидам обуславливается синтезом прекурсоров пептидогликана с низкой аффинностью к гликопептидам, которые кодируются различными кластерами генов (*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*) [43]. Использование авопарцина, гентамицина и виргиниамицина в качестве стимуляторов роста и для профилактики заболеваний в животноводстве, привело к появлению и распространению у животных ванкомицин – и гентамицин устойчивых энтерококков [20, 42].

Таким образом, одним из критериев оценки вирулентности энтерококков является устойчивость к антибиотикам [45]. Энтерококки имеют широкий спектр природной устойчивости к антибактериальным препаратам разных классов, таких как цефалоспорины, пенициллины, устойчивые к действию пенициллаз (оксациллин), аминогликозиды (низкие концентрации), хинолоны и линкозамиды. Естественная устойчивость не передается горизонтально, риск ее передачи к патогенным бактериям отсутствует [43].

Энтерококки способны приобретать устойчивость к антибактериальным препаратам (АБП) путем переноса плазмид, транспозонов, хромосомным обменом или вследствие мутаций [45]. Приобретенная устойчивость к большинству АБП, вместе с природной устойчивостью и устойчивостью к факторам окружающей среды, позволило энтерококкам хорошо приспособиться к существованию и распространению в больничных условиях. Кроме сложности антибиотикотерапии при лечении заболеваний, вызванных мультирезистентными штаммами энтерококков, существует риск переноса приобретенной устойчивости к патогенным бактериям, таким как *Staphylococcus aureus* [47] и *Listeria* sp. [13].

Имеется ряд работ по сравнению спектров устойчивости к антибиотикам штаммов энтерококков в зависимости от их происхождения – выделенных из ЖКТ человека, диких и домашних животных, крупного рогатого скота и домашней птицы, продуктов питания, овощей, фруктов, окружающей среды, а также клинические, коллекционные и пробиотические штаммы. Антибиотикоустойчивые штаммы энтерококков выделяются из продуктов питания, но только небольшой их процент устойчив к клинически значимым антибиотикам, таким как ампициллин, пенициллин, гентамицин и ванкомицин [22, 39, 40, 49]. Штаммы *E. faecalis* и *E. faecium*, выделенные от здоровых людей, фруктов, из продуктов растительного происхождения и окружающей среды, выявляли более низкий уровень устойчивости к антибиотикам, в сравнении с клиническими изолятами [3, 21].

Устойчивость к хлорамфениколу, тетрациклину и эритромицину является основной среди пищевых изолятов [56]. К примеру, устойчивость к тетрациклину является одной из наиболее распространенных приобретенных детерминант устойчивости у энтерококков, выделенных из пищевых продуктов [49, 56]. Выделение мультирезистентных штаммов из продуктов животного происхождения является следствием использования антибиотиков как стимуляторов роста животных [27]. При изучении молекулярных механизмов устойчивости к гентамицину среди энтерококков, выделенных от животных, человека и из продуктов разных географических зон было установлено их подобие, которое может свидетельствовать о циркулировании устойчивости к гентамицину от домашних животных к людям через продукты питания [20].

Многочисленные исследования показали, что наиболее часто мультирезистентные штаммы энтерококков выделяются также из ЖКТ сельскохозяйственных животных и домашней птицы. Эти результаты свидетельствуют о необходимости ограничения использования антибиотиков в рационе питания сельскохозяйственных животных и птиц [26]. Так, при анализе распространения и частоты выявления генов антибиотикорезистентности и вирулентности среди энтерококков, выделенных от бройлерных цыплят в Канаде, установлено, что наиболее частым является фенотип устойчивости бацитрацин-эритромицин-тилозин-линкомицин-стрептомицин-гентамицин-тетрациклин-ципрофлоксацин. Были обнаружены соответствующ-

щие гены резистентности к аминогликозидам (*aac*, *aacA/aphD*, *aadB*, *aphA*, *sat(4)*), макролидам (*ermA*, *ermB*, *ermAM*, *msrC*), тетрациклину (*tetL*, *tetM*, *tetO*), стрептограмину (*satG-vatE8*), бацитрацину (*bcrR*), и линкозамиду (*linB*). У штаммов *E. faecalis* выявлено от 9 до 12 различных генов вирулентности, включающих гены *ace*, *agg*, *agrBfs*, *cad1*, *cAM373*, *cCF10*, *cob*, *cpd1*, *cylAB*, *efaAfs* и *gelE*. Таким образом, результаты показали, что на птицефермах распространены штаммы энтерококков, потенциально опасные для здоровья человека [18]. Среди штаммов энтерококков, выделенных с оборудования мясоперерабатывающего завода в Канаде, более половины были устойчивы к линкомицину, тетрациклину, эритромицину [5].

В общем, приобретенная устойчивость энтерококков, выделенных из пищевых продуктов и от людей, варьирует в широких пределах. Частота выявления устойчивых штаммов среди неклинических изолятов очень отличается, согласно данным разных авторов, и носит штаммо- и регионозависимую специфичность [2, 19, 58].

Естественная и приобретенная устойчивость к широкому спектру антибиотиков не является единственной причиной вирулентности энтерококков. Известно, что патогенные штаммы энтерококков содержат так называемые «островки патогенности», в которых сосредоточены гены, обуславливающие их вирулентность, а именно *ace* (поверхностный белок, связывающийся с коллагеном), *act* (поверхностный антиген), *agg* (агрегационная субстанция), *agrBfs* (*AggBfs* протеин *E. faecalis*), *esp* (энтерококковый поверхностный протеин), *hyl* (гиалуронидаза), *cylABLM* (гемолизин), *efaAfs* (эндокардит-специфический антиген), *sagA* (секретируемый антиген), и *gelE* (желатиназа). Такие «островки патогенности» хорошо охарактеризованы у штаммов вида *E. faecalis* [50].

Было показано, что клинические изоляты *E. faecalis*, выделенные от больных с урогенитальными инфекциями, являются высокоадгезивными на эпителиальных клетках мочевого пузыря, тогда как штаммы, выделенные из ЖКТ здоровых людей, проявляли значительно меньшую адгезивную активность [52]. Показана роль поверхностных протеинов *E. faecalis* в адгезии на трубках для дренажа желчи [65] и на эпителиальных клетках [38]. Также был предложен еще один параметр для оценки безопасности потенциально пробиотических штаммов энтерококков, а именно опсоно-фагоцитарная реакция. Эта реакция является одним из «*in vitro*» показателей оценки защитного иммунного ответа по отношению к бактериям. Чувствительность бактерий к нормальной сыворотке кролика показывает, что эти штаммы не способны выжить в крови организма хозяина. Было выявлено, что 89 % клинических штаммов энтерококков были малочувствительны к действию нормальной сыворотки кролика, по сравнению с пробиотическим штаммом *E. faecalis* [29]. Другими авторами показано, что штаммы *E. faecalis*, используемые как пробиотические, могут проявлять разную чувствительность к действию опсононов, что свидетельствует о наличии у некоторых штаммов защитной капсулы [32]. Некоторые авторы также показали, что штаммы, изолированные из пробиотических препаратов, более чувствительны к опсононам, по сравнению с клиническими изолятами, что также может быть опосредовано присутствием капсулы, способной защитить их от опсофагоцитарного действия [12].

При проведении транскриптомного анализа с целью определения различий между патогенными и пробиотическими штаммами *E. faecalis* при росте в моче человека и оценки их способности к вызыванию инфекций мочевыводящей системы показано, что решающим фактором является наличие генов вирулентности у патогенных штаммов энтерококков [63].

В недавних исследованиях установлено, что основным механизмом горизонтального переноса генов вирулентности является плазмидная передача [Manson et al., 2010]. Описана новая конъюгативная плаزمида рВЕЕ99 у штамма *E. faecalis*, которая обеспечивает повышенную устойчивость к действию ультрафиолета и способность к образованию биопленки [16].

Многочисленные исследования показали, что риск развития энтерококковых инфекций различной локализации велик лишь у госпитализированных пациентов на фоне протекания иных заболеваний, требующих хирургического вмешательства, а также медицинских манипуляций, связанных с введением дренажей и катетеров, интенсивной химиотерапии, антибиотикотерапии или химиотерапии, что влечет за собой общее ослабление организма и иммунной системы пациента. Так, было установлено, что у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника увеличиваются риск развития энтерококковой инфекции, вызванной ванкомицин-устойчивыми энтерококками (VRE—vancomycin-resistant enterococcus). Однако

авторами показано, что эти VRE инфекции не приводили к увеличению смертности, они пролонгировали время пребывания в больнице, что влекло, в свою очередь, увеличение в три раза расходов на лечение [46]. Также было проведено исследование частоты возникновения VRE-инфекций у носителей после выписки из стационара и показано, что у 8 % пациентов в течение 18 месяцев после выписки возникали заболевания, вызванные VRE [17]. В то же время, другими авторами было установлено, что одним из факторов увеличения смертности от энтерококковых бактериемий может быть неверное назначение антибиотиков, которые чаще всего назначаются эмпирически при подозрении на септические явления и неэффективны по отношению к отдельным штаммам энтерококков [54].

Таким образом, представители рода *Enterococcus*, несмотря на всестороннее изучение их положительных и отрицательных свойств, все еще являются предметом дискуссий относительно безопасности их использования как пробиотиков. Вследствие этого были сформулированы дополнительные требования к пробиотическим штаммам энтерококков, касающиеся их безопасности.

Основным фактором оценки безопасности штаммов энтерококков (как и автохтонной микрофлоры, стартовых культур или пробиотиков) является устойчивость к клинически важным антибиотикам, особенно к гликопептидам. Наличие передаваемых генов резистентности должно быть исключено перед использованием штаммов рода *Enterococcus* в пробиотиках или в составе заквасок [4, 11, 48].

I. Л. Гармашева, Н. К. Коваленко

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

БИОЛОГИЧНА АКТИВНІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ЕНТЕРОКОКІВ

Проведено аналіз сучасних наукових даних щодо біологічної активності ентерококів. В останні роки це питання є предметом дискусій, бо, з одного боку, ця група мікроорганізмів є однією з основних нозокоміальних збудників при ендокардитах, бактерієміях різної етіології, а з іншого, їх використовують у складі заквасок для отримання ферментованих продуктів харчування й пробіотиків. Висвітлені питання стійкості ентерококів до антибіотиків, описані фактори вірулентності, такі як адгезини, інвазини й гемолізини. Наведено основні вимоги до штамів, що призначені для практичного використання.

Ключові слова: ентерококи, пробіотики, стійкість до антибіотиків, патогенність, біологічна активність.

I.L.Garmasheva, N.K.Kovalenko

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

BIOLOGICAL ACTIVITY AND SAFETY OF ENTEROCOCCI

S u m m a r y

The up-to-date scientific data on biological activity of enterococci have been analyzed. This problem has become a subject of discussions in the recent years since, on the one hand, microorganisms of this group are leading as nosocomial agents under endocardites, bacteremias of different etiology, and, on the other hand, they are used in ferments for obtaining fermented food products and probiotics. The problems of enterococci resistance to antibiotics have been elucidated, virulence factors have been described, such as adhesions, invasions and hemolysins. Basic requirements to the strains intended for practical use are presented.

The paper is presented in Russian.

К е y w o r d s: enterococci, probiotics, resistance to antibiotics, pathogenicity, biological activity.

The a u t h o r ' s a d d r e s s: *Garmasheva I.L., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.*

1. Червинец В.М., Бондаренко В.М., Самоукина А.М., Червинец Ю.В. Скрининг непатогенных антагонистически активных штаммов Enterococcus faecium // Журн. микробиол. иммунол. эпидемиол. – 2007. – №1. – С. 57–61.

2. Aarestrup F.M., Agerso Y., Gerner-Smidt P., Madsen M., Jensen L.B. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from human in the community, broilers and pigs in Denmark // *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* - 2000. - **37**, N 2. - P. 127-137.
3. Abriouel H., Omar N.B., Molinos A.C., López R.L., Grande M.J., Martínez-Viedma P., Ortega E., Cañamero M.M., Galvez A. Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples // *Int. J. Food Microbiol.* - 2008. - **123**, N 1-2. - P. 38-49.
4. Anadón A., Martínez-Larrañaga M.R., Martínez M.A. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment // *Regulat. Toxicol. Pharmacol.* - 2006. - **45**, N 1. - P. 91-95.
5. Aslam M., Diarra M.S., Service C., Rempel H. Characterization of antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. recovered from a commercial beef processing plant // *Foodborne Pathog. Dis.* - 2010. - **7**, N 3. - P. 235-41.
6. Audisio M.C., Oliver G., Apella M.C. Antagonistic effect of *Enterococcus faecium* J96 against human and poultry pathogenic *Salmonella* spp. // *J. Food Prot.* - 1999. - **62**, N 7. - P. 751-5.
7. Basualdo J., Sparo M., Chiodo P., Ciarmela M., Minvielle M. Oral treatment with a potential probiotic (*Enterococcus faecalis* CECT7121) appears to reduce the parasite burden of mice infected with *Toxocara canis* // *Ann. Trop. Med. Parasitol.* - 2007. - **101**. - P. 559-562.
8. Bellomo G., Mangiagale A., Nicastro L., Frigerio G. A controlled double-blind study of SF68 strain as a new biological preparation for the treatment of diarrhoea in pediatrics // *Curr. Ther. Res.* - 1980. - **28**. - P. 927-934.
9. Benyacoub J., Czarnecki-Maulden G.L., Cavadini C., Sauthier T., Anderson R.E., Schiffrin E.J., von der Weid T. Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs // *J. Nutr.* - 2003. - **133**, N 4. - P. 1158-62.
10. Benyacoub J., Pérez P.F., Rochat F., Saudan K.Y., Reuteler G., Antille N., Humen M., De Antoni G.L., Cavadini C., Blum S., Schiffrin E.J. *Enterococcus faecium* SF68 enhances the immune response to *Giardia intestinalis* in mice // *J. Nutr.* - 2005. - **135**, N 5. - P. 1171-1176.
11. Becquet P. EU assessment of enterococci as feed additives // *Int. J. Food Microbiol.* - 2003. - **88**, N 2-3. - P. 247-254.
12. Bhardwaj A., Kapila S., Mani J., Malik R.K. Comparison of susceptibility to opsonic killing by in vitro human immune response of *Enterococcus* strains isolated from dairy products, clinical samples and probiotic preparation // *Int. J. Food Microbiol.* - 2009. - **128**, N 3. - P. 513-515.
13. Biavasco F., Giovanetti E., Miele A., Vignaroli C., Varoldo P.E. In vitro conjugative transfer of VanA vancomycin resistance between enterococci and listeriae of different species // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* - 1996. - **15**, N 1. - P. 50-59.
14. Castro M.S., Molina M.A., Di Sciullo P., Azpiroz M.B., Leocata Nieto F., Sterin-Speziale N.B., Mongini C., Manghi M.A. Beneficial activity of *Enterococcus faecalis* CECT7121 in the anti-lymphoma protective response // *J. Appl. Microbiol.* - 2010. - **109**, N 4. - P. 1234-1243.
15. Chiodo P.G., Sparo M.D., Pezzani B.C., Minvielle M.C., Basualdo J.A. In vitro and in vivo effects of *Enterococcus faecalis* CECT7121 on *Toxocara canis* // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* - 2010. - **105**, N 5. - P. 615-20.
16. Coburn P.S., Baghdayan A.S., Craig N., Burroughs A., Tendolkar P., Miller K., Najar F.Z., Roe B.A., Shankar N. A novel conjugative plasmid from *Enterococcus faecalis* E99 enhances resistance to ultraviolet radiation // *Plasmid.* - 2010. - **64**, N 1. - P. 18-25.
17. Datta R., Huang S.S. Risk of postdischarge infection with vancomycin-resistant enterococcus after initial infection or colonization // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* - 2010. - **31**, N 12. - P. 1290-1293.
18. Diarra M.S., Rempel H., Champagne J., Masson L., Pritchard J., Topp E. Distribution of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp: characterization of isolates from broiler chickens // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2010. - **76**, N 24. - P. 8033-8043.
19. Drahovská H., Slobodníková L., Kocínková D., Seman M., Konceková R., Trupl J., Turna J. Antibiotic resistance and virulence factors among clinical and food enterococci isolated in Slovakia // *Folia Microbiol. (Praha).* - 2004. - **49**, N 6. - P. 763-768.
20. Donabedian S.M., Thal L.A., Hershberger E., Perri M.B., Chow J.W., Bartlett P., Jones R., Joyce K., Rossiter S., Gay K., Johnson J., Mackinson C., Debess E., Madden J., Angulo F., Zervos M.J. Molecular characterization of gentamicin-resistant enterococci in the United States: evidence of spread from animals to humans through food // *J. Clin. Microbiol.* - 2003. - **41**, N 3. - P. 1109-1113.
21. Duh R.W., Singh K.V., Malathum K., Murray B.E. In vitro activity of 19 antimicrobial agents against enterococci from healthy subjects and hospitalized patients and use of an *ace* gene probe from *Enterococcus faecalis* for species identification // *Microb. Drug Resist.* - 2001. - **7**, N 1. - P. 39-46.

22. Franz C.M., Muscholl-Silberhorn A.B., Yousif M.K., Vancanneyt M. Swings J., Holzapfel W.H. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – **67**, N 9. – P. 4385–4389.
23. Franz C.M.A.P., Stiles M.E., Schleifer K.H., Holzapfel W.H. Enterococci in foods – a conundrum for food safety // *Int. J. Food Microbiol.* – 2003. – **88**, N 2–3. – P. 105–122
24. Fuller R. Probiotics in man and animals // *J. Appl. Bacteriol.* – 1989. – **66**. – P. 365–378.
25. Guidelines for the evaluation of probiotics in food report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food // London, Ontario, Canada, April 30 and May 1. – 2002. – P. 1–11.
26. Han D., Unno T., Jang J., Lim K., Lee S.N., Ko G., Sadowsky M.J., Hur H.G. The occurrence of virulence traits among high-level aminoglycosides resistant *Enterococcus* isolates obtained from feces of humans, animals, and birds in South Korea // *Int. J. Food Microbiol.* – 2011. – **144**, N 3. – P. 387–392
27. Hayes J.R., English R.R., Carr L.E. et al. Multiple-antibiotic resistance of *Enterococcus* spp isolated from commercial poultry production environments // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – **70**, N 1. – P. 6005–6011.
28. Holzapfel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis I.T., Veld, J.H.J. Overview of gut flora and probiotics // *Int. J. Food Microbiol.* – 1998. – **41**. – P. 85–101.
29. Hufnagel M., Koch S., Kropec A., Huebner J. Opsonophagocytic assay as a potentially useful tool for assessing safety of enterococcal preparations // *Int. J. Food Microbiol.* – 2003. – **88**, N 2–3. – P. 263–267.
30. Jin L.Z., Marquardt R.R., Zhao X. A strain of *Enterococcus faecium* (18C23) inhibits adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 to porcine small intestine mucus // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – **66**, N 10. – P. 4200–4204.
31. Kang J.H., Lee M.S. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by *Enterococcus faecium* GM-1 // *Can. J. Microbiol.* – 2005. – **51**, N 8. – P. 629–36.
32. Kropec A., Hufnagel M., Zimmermann K., Huebner J. In vitro assessment of the host response against *Enterococcus faecalis* used in probiotic preparations // *Infection.* – 2005. – **33**, N 5–6. – P. 377–9.
33. Lappin M.R., Veir J.K., Satyaraj E., Czarnecki-Maulden G. Pilot study to evaluate the effect of oral supplementation of *Enterococcus faecium* SF68 on cats with latent feline herpesvirus 1 // *J. Feline Med. Surg.* – 2009. – **11**, N 8. – P. 650–654.
34. Lauková A., Strompfová S., Ouwehand A. Adhesion properties of enterococci to intestinal mucus of different hosts // *Vet. Res. Commun.* – 2004. – **28**, N 8. – P. 647–655.
35. Lauková A., Simonová M., Strompfová V., Styriak I., Ouwehand A.C., Várady M. Potential of enterococci isolated from horses // *Anaerobe.* – 2008. – **14**, N 4. – P. 234–236.
36. Levenstein A., Frigerio G., Moroni M. Biological properties of SF68, a new approach for the treatment of diarrhoeal diseases // *Curr. Ther. Res.* – 1979. – **26**. – P. 967–981.
37. Loguercio C., Abbiati R., Rinaldi M., Romano A., Del Vecchio B.C., Coltorti M. Long-term effects of *Enterococcus faecium* SF68 versus lactulose in the treatment of patients with cirrhosis and grade 1-2 hepatic encephalopathy // *J. Hepatol.* – 1995. – **23**, N 1. – P. 39–46.
38. Lund B., Edlund C. Bloodstream isolates of *Enterococcus faecium* enriched with the enterococcal surface protein gene, *esp*, show increased adhesion to eucariotic cells // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – **41**, N 11. – P. 5183–5185.
39. Majhenic C.A., Rogelj I., Perco B. Enterococci from Tolminc cheese: population structure, antibiotic susceptibility and incidence of virulence determinants // *Int. J. Food Microbiol.* – 2005. – **102**, N 2. – P. 239–244.
40. Mannu L., Paba A., Daga E., Comunian R., Zanetti S., Duprè I., Sechi L.A. Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic resistance between *Enterococcus faecium* strains of dairy, animal, and clinical origin // *Int. J. Food Microbiol.* – 2003. – **88**, N 2–3. – P. 291–304.
41. Manson J.M., Hancock L.E., Gilmore M.S. Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2010. – **107**, N 27. – P. 12269–12274.
42. Maragkoudakis P.A., Chingwaru W., Gradisnik L., Tsakalidou E., Cencic A. Lactic acid bacteria efficiently protect human and animal intestinal epithelial and immune cells from enteric virus infection // *Int. J. Food Microbiol.* – 2010. – **141**, N Suppl 1. – P. S91–S97.
43. Marothi Y.A., Agnihotri H., Dubey D. Enterococcal resistance – an overview // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2005. – **23**, N 4. – P. 214–219.
44. Marteau P. Safety aspects of probiotic products // *Scand. J. Nutr.* – 2002. – **20**, N 3. – P. 155–161.
45. Mundy L.M., Sahn D.F., Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2000. – **13**, N 4. – P. 513–522.

46. Nguyen G.C., Leung W., Weizman A.V. Increased risk of vancomycin-resistant enterococcus (VRE) infection among patients hospitalized for inflammatory bowel disease in the United States // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2010. – Pub. ahead of print]
47. Noble W.G., Virani Z., Cree R.G.A. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus* // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1992. – **72**, N 2. – P. 195–198.
48. Ogier J.-C., Serror P. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus // *Int. J. Food Microbiol.* – 2008. – **126**, N 3. – P. 291–301.
49. Peters J., Mac K., Wichmann-Schauer H., Klein G., Ellerbroek L. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany // *Int. J. Food Microbiol.* – 2003. – **88**, N 2–3. – P. 311–314.
50. Pillar C.M., Gilmore M.S. Enterococcal virulence--pathogenicity island of *E. faecalis* // *Front. Biosci.* – 2004. – **9**. – P. 2335–2346.
51. Rovenský J., Svík K., Stancíková M., Istok R., Ebringer L., Ferencík M. Treatment of experimental adjuvant arthritis with the combination of methotrexate and lyophilized *Enterococcus faecium* enriched with organic selenium // *Folia Microbiol. (Praha)*. – 2002. – **47**, N 5. – P. 573–578.
52. Shiono A., Ike Y. Isolation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates that efficiently adhere to human bladder carcinoma T24 cells and inhibition of adhesion by fibronectin and trypsin treatment // *Infect. Immun.* – 1999. – **67**, N 4. – P. 1585–1592.
53. Strompfová V., Lauková A., Ouwehand A.C. Selection of enterococci for potential canine probiotic additives // *Vet. Microbiol.* – 2004. – **100**, N 1–2. – P. 107–114.
54. Suppli M., Aabenhus R., Harboe Z.B., Andersen L.P., Tvede M., Jensen J.U. Mortality in enterococcal bloodstream infections increases with inappropriate antimicrobial therapy // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2010. – [Epub ahead of print]
55. Szabó I., Wieler L.H., Tedin K., Scharek-Tedin L., Taras D., Hensel A., Appel B., Nöckler K. Influence of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* DT104 infection in a porcine animal infection model // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – **75**, N 9. – P. 2621–2628.
56. Teuber M., Meile M., Schwarz F. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 1999. – **76**, N1–4. – P. 115–137.
57. Theppangna W., Otsuki K., Murase T. Inhibitory effects of *Enterococcus* strains obtained from a probiotic product on in vitro growth of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* strain IFO3313 // *J. Food Prot.* – 2006. – **69**, N 9. – P. 2258–2262.
58. Toğay S.O., Keskin A.C., Açık L., Temiz A. Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods // *J. Appl. Microbiol.* – 2010. – **109**, N 3. – P. 1084–1092.
59. Topcu A., Bulat T., Wishah R., Boyaci I.H. Detoxification of aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains // *Int. J. Food Microbiol.* – 2010. – **139**, N 3. – P. 202–205.
60. Topcu A., Bulat T. Removal of cadmium and lead from aqueous solution by *Enterococcus faecium* strains // *J. Food Sci.* – 2010. – **75**, N 1. – P. 13–17.
61. Tsai C.C., Huang L.F., Lin C.C., Tsen H.Y. Antagonistic activity against *Helicobacter pylori* infection in vitro by a strain of *Enterococcus faecium* TM39 // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – **96**, N 1. – P. 1–12.
62. Vahjen W., Jadamus A., Simon O. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on selected bacterial groups in the small intestine of growing turkey poults // *Arch. Tierernähr.* – 2002. – **56**, N 6. – P. 419–29.
63. Vebo H.C., Solheim M., Snipen L., Nes I.F., Brede D.A. Comparative genomic analysis of pathogenic and probiotic *Enterococcus faecalis* isolates, and their transcriptional responses to growth in human urine // *PLoS One*. – 2010. – **5**, N 8. – P. e12489.
64. Veir J.K., Knorr R., Cavadini C., Sherrill S.J., Benyacoub J., Satyaraj E., Lappin M.R. Effect of supplementation with *Enterococcus faecium* (SF68) on immune functions in cats // *Vet. Ther.* – 2007. – **8**, N 4. – P. 229–23.
65. Waar K., van der Mei H.C., Harmsen H.J.M., Degener J.E., Busscher H.J. *Enterococcus faecalis* surface proteins determine its adhesion mechanism to bile drain materials // *Microbiology*. – 2002. – **148**, N 6. – P. 1863–1870.

Отримано 20.10.2010