

УДК 615.33, 579.65

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА
НА БИОПЛЕНКИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭНТЕРОКОККОВ
ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68
В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА**

О.В. Рыбальченко, О.Г. Орлова, В.В. Капустина

Докт. биол. наук, проф. О.В. Рыбальченко; канд. биол. наук О.Г. Орлова;
В.В. Капустина (Санкт-Петербургский государственный университет)

В научных экспедициях на МКС-65 и МКС-66 в 2020–2021 гг. исследовали особенности изменения биопленок пробиотических энтерококков *Enterococcus faecium* SF68 при воздействии цiproфлораксина – противомикробного препарата широкого спектра действия из группы фторхинолонов. Электронно-микроскопический анализ выявил бактериостатический характер подавления биопленок энтерококков цiproфлораксином. Полученные результаты могут быть применены для стабилизации нормальной микрофлоры человека в космосе и служить основой для эффективного воздействия антимикробных препаратов (АМП) на биопленки патогенных бактерий для лечения космонавтов в долгосрочных полетах.

Ключевые слова: цiproфлораксин, бактериостатическое воздействие, бактериальные биопленки, космический эксперимент, пробиотические энтерококки *Enterococcus faecium* SF68

**Effect of Ciprofloxacin on Biofilm Activity of Probiotic Enterococci
Enterococcus Faecium SF68 under Microgravity Conditions.**

O.V. Rybalchenko, O.G. Orlova, V.V. Kapustina

The features of changes in biofilms of probiotic enterococci *Enterococcus faecium* SF68 under the influence of ciprofloxacin which is a broad-spectrum antimicrobial drug from the group of fluoroquinolones were studied during expeditions on the ISS-65 and ISS-66 in 2020–2021. An electron microscopic examination revealed the bacteriostatic character of the suppression of enterococci biofilms by ciprofloxacin. The obtained results can be applied for the stabilization of normal human microbiota in space and serve as the basis for an effective impact of antimicrobial drugs on biofilms of pathogenic bacteria to treat cosmonauts during long-term space flights.

Keywords: ciprofloxacin, bacteriostatic suppression, bacterial biofilms, space experiment, probiotic enterococci *Enterococcus faecium* SF68

Подавляющее большинство бактерий, обитающих на различных поверхностях в природных экосистемах, находятся в иммобилизованном состоянии и образуют биопленки. Биопленка – это прикрепленное к плотной поверхности микробное сообщество, в котором адсорбированные на субстрате и друг к другу клетки заключены в матрицу внеклеточных полимерных субстанций,

продуцируемых микроорганизмами в соответствии с уровнем развития популяции и условиями транскрипции генов. Исследование ультратонкой организации биопленок показало, что межклеточный матрикс и поверхностная пленка могут выполнять защитную функцию, предохраняя клетки бактерий от высыхания и других стрессовых воздействий, в том числе от действия противомикробных препаратов.

За последнее десятилетие возросло понимание важности исследования жизнеспособности бактериальных биопленок в космическом пространстве [1]. Образование биопленок на поверхности оборудования и систем жизнеобеспечения является серьезной проблемой как для здравоохранения в наземных условиях, так и безопасности космических полетов. Большинство материалов, применяемых в отделке космических кораблей, не способны противостоять образованию биопленок и требуют постоянного ухода для предотвращения образования сообществ бактерий и микроскопических грибов. Кроме того, наиболее важные системы жизнеобеспечения, такие как водопровод и воздухопровод, требуют квалифицированного обслуживания для снижения негативного воздействия биопленок. Все эти вопросы особенно актуальны для МКС или любых других станций, предназначенных для обитания людей в течение длительного времени в условиях микрогравитации.

Число исследований, посвященных изучению бактериальных биопленок непосредственно в космических условиях на МКС, весьма ограничено. В основном научные работы с использованием микроорганизмов выполнены в симуляционных аппаратах, обеспечивающих различную степень микрогравитации в наземных условиях. В симуляционных наземных установках показано, что выращивание биопленок *Escherichia coli* на протяжении более 1000 поколений в условиях моделируемой микрогравитации приводило к приобретению фенотипических и геномных изменений. Однако, несмотря на признаки геномной адаптации, устойчивость к различным АМП не наблюдалась [2]. Отмечено, что в условиях микрогравитации происходили изменения экспрессии генов, связанных с образованием биопленок и выработкой бактериями токсинов [3].

Китайские исследователи обнаружили, что клебсиеллы *Klebsiella pneumoniae* в условиях моделируемой микрогравитации образовывали более мощные биопленки по сравнению с контролем в наземных условиях. При этом транскриптомный анализ обнаруживал нарушение регуляции генов, ответственных за синтез ряда факторов патогенности [4].

В исследовании стрессового воздействия моделируемой микрогравитации на микобактериях *Mycobacterium marinum*, клетки которых обладают способностью формировать биопленки в водной среде, выявлены изменения физиологических и вирулентных свойств бактерий [5]. При этом исследование транскриптома показали подавление отдельных этапов метаболического процесса, усиление деградации липидов и увеличение числа шаперонов и микобактина.

Установлено, что более 75 % видов *Staphylococcus* и *Enterococcus*, выделенных на МКС, продемонстрировали полирезистентность к АМП [6]. Предположительно, большинство выделенных штаммов стафилококков и энтерококков входили в состав нормальной микробиоты космонавтов. Вполне вероятно микрогравитация на околоземной орбите и постоянное воздействие низких доз радиации способствовали мутациям в геноме этих бактерий. Увеличение числа факторов патогенности условно патогенных бактерий, входящих в состав микробиоты человека, иллюстрирует серьезные проблемы для будущих продолжительных экспедиций в космическое пространство.

Большинство обнаруженных на МКС бактерий относились к группе условно патогенных микроорганизмов, однако воздействие микрогравитации на их вирулентные свойства и устойчивость к АМП вызывает беспокойство, поскольку в условиях космического полета отмечено значительное снижение сопротивляемости организма человека в борьбе с возбудителями инфекций [7].

Недостаточность информации о влиянии АМП на биопленки пробиотических бактерий – представителей нормальной микробиоты человека в условиях невесомости – потребовала разработки новых направлений научных исследований. Одним из наиболее важных этапов стало выявление изменений морфофизиологических свойств клеток пробиотических бактерий при воздействии АМП и факторов космического полета. Следующий этап включал определение динамики биопленкообразования пробиотических бактерий в процессе воздействия АМП в условиях невесомости.

Объекты исследования

Бактериальные штаммы в качестве объекта исследования в космических и наземных экспериментах (КЭ и НЭ) использовали пробиотический штамм энтерококков *Enterococcus faecium* SF68 (далее – *E. faecium* SF68), который входит в состав пробиотика Бифиформ® (*лат.* Biform®, производитель: Ферросан А/С (Ferrosan), Дания). Бифиформ – лекарственный препарат, нормализующий микробиоту кишечника, что позволяет широко применять данный штамм в клинической практике.

В геноме клеток *E. faecium* SF68 отсутствуют известные для патогенных клинических изолятов энтерококков гены вирулентности: *gelE* (gelatinize), *sprE* (serine protease), *esp* (extracellular surface protein), *fsrB* (virulence factor regulator), *asa1* (aggregation substance), поэтому бактерии данного штамма не способны вызывать в организме человека патологические изменения и по СанПиН 3.3682-21 они считаются непатогенными. Данный штамм энтерококков депонирован в коллекции NCIMB (National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria, UK), наименование штамма в этой коллекции – *E. faecium* 10415. Энтерококки штамма *E. faecium* SF68 не патогенны как для человека, так и для животных [8].

АМП

Анализ чувствительности *E. faecium* SF68 к АМП проводили на примере ципрофлоксацина, входящего в группу фторхинолонов. Препарат ингибирует фермент ДНК-гиразу бактерий, вследствие чего происходит нарушение репликации ДНК и синтеза клеточных белков в бактериальных клетках. Ципрофлоксацин действует как на делящиеся бактерии, так и на находящиеся в фазе покоя. В экспериментах использовали раствор ципрофлоксацина в сублетальной концентрации 20 мкг/мл.

Методы исследования

КЭ и НЭ проводили в научной аппаратуре «Биоплёнка» в период экспедиций МКС-65, -66 в 2020–2021 гг. Дизайн КЭ и НЭ был идентичен. Образцы, полученные на МКС, анализировали в наземных условиях в лаборатории микробиологии Медицинского института СПбГУ.

Микробиологические методы включали подготовку и выращивание культуры энтерококков *E. faecium* SF68 в жидкой питательной среде – питательном бульоне ГРМ-бульон, и на плотной питательной среде – Энтерококкагар (Оболенск, Россия).

Стерилизацию и заправку аппаратуры, хранение и выращивание бактерий на МКС проводили в соответствии с протоколом исследований.

Электронно-микроскопические методы исследования образцов проводили, используя сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) в ресурсном центре «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ на сканирующем электронном микроскопе MIRA-3 (TESCAN, Чехия) при ускоряющем напряжении 9 кВ. Препараты контрастировали в вакуумной напылительной установке Leica EM SCD 500, напыляя на их поверхность тонкий слой золота толщиной 0,15 нм.

Основные параметры, оцениваемые при микроскопировании, включали морфофизиологический анализ свойств бактериальных клеток (характер роста бактерий, их взаимное расположение, размеры), а также исследование микробных сообществ (выявление закономерностей развития и разнообразия форм).

Результаты

Воздействие ципрофлоксацина на морфологические свойства клеток и развитие биопленок *E. faecium* SF68 оценивали в экспериментах в период экспедиций МКС-65, -66. В ходе предварительных исследований обнаружено, что культура *E. faecium* SF68 чувствительна к действию ципрофлоксацина в концентрации 2 мг/мл (рекомендации по применению препарата) [8]. Концентрация АМП с *E. faecium* SF68, использованная в КЭ и НЭ, была в 100 раз ниже рекомендованной и составляла 20 мкг/мл. Такое снижение концентрации ципрофлоксацина позволило сохранить жизнеспособность клеток энтерококков и в то же время выявить изменения морфофизиологических свойств клеток и особенности формирования микробных сообществ.

Контрольные образцы биопленок *E. faecium* SF68, СЭМ

В контрольных образцах исследовали характер роста клеток *E. faecium* SF68, выращенных на поверхности плотной питательной среды энтерококкагар в течение 24 часов в космических и наземных условиях. На МКС при формировании биопленок *E. faecium* SF68 в условиях микрогравитации обнаружен рост энтерококков на поверхности агара в виде неравномерно расположенных скоплений микробных сообществ, организованных с различной степенью сложности, а также единичных клеток и коротких цепочек диплококков (рис. 1). На отдельных участках выявлены многослойные микроколонии, формирующие фрагменты биопленок *E. faecium* SF68 из плотно прилегающих друг к другу интактных клеток, погруженных в межклеточный матрикс (рис. 1, а). Интактные клетки стандартных размеров (диаметр около 0,7–1,5 мкм) имели правильную форму без признаков нарушения клеточного деления и располагались на поверхности микроколоний. Единичные клетки с признаками деформации и инволюционные клетки *E. faecium* SF68 обнаруживали в основном в толще микробных сообществ (рис. 1, б).

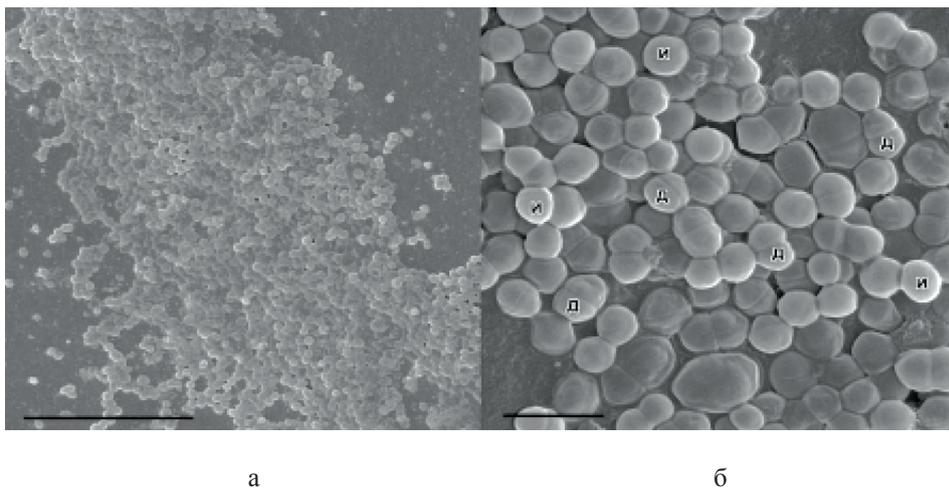


Рис. 1. СЭМ. КЭ. Контрольный образец. Фрагменты биопленки *E. faecium* SF68 на поверхности плотной питательной среды после 24 ч выращивания:
а – длина маркера 10 мкм; б – длина маркера 2 мкм: И – интактные клетки; Д – делящиеся клетки

Анализ энтерококков, выращенных в наземных условиях, выявил характеристики, практически аналогичные для условий микрогравитации (рис. 2).

Таким образом, электронно-микроскопический анализ контрольных образцов *E. faecium* SF68, выращенных в течение 24 часов в НЭ и КЭ, выявил единичные микроколонии и отдельные фрагменты биопленок, состоящие в большей степени из физиологически активных интактных клеток

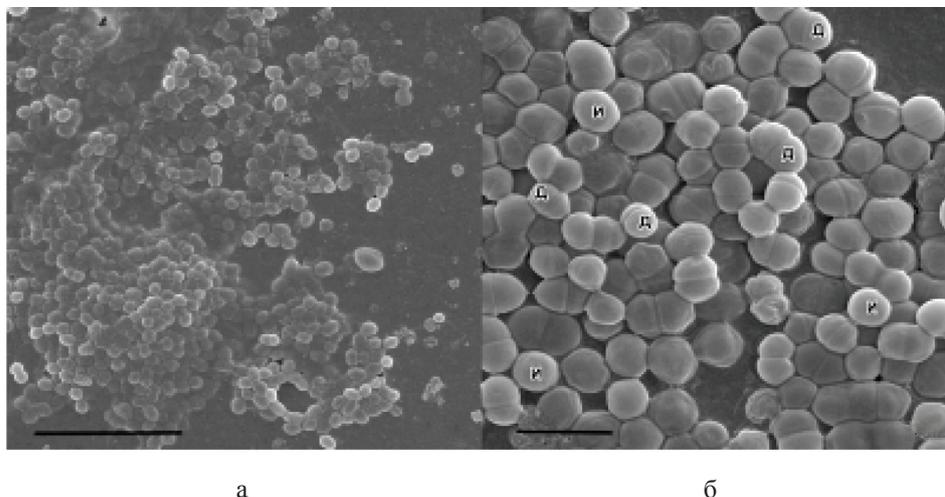


Рис. 2. СЭМ. НЭ. Контрольный образец. Фрагменты биопленки *E. faecium* SF68 на поверхности плотной питательной среды после 24 ч выращивания:

а – длина маркера 10 мкм, *б* – длина маркера 2 мкм: *И* – intactные клетки; *Д* – делящиеся клетки

(одиночных, парами и коротких цепочек). Реже выявляемые инволюционные клетки с измененной формой обнаруживали в основном в нижних слоях микробных сообществ.

Динамика развития биопленок *E. faecium* SF68 при инкубировании в растворе ципрофлоксацина (КЭ), СЭМ

Согласно условиям эксперимента, воздействие ципрофлоксацина в сублетальной концентрации 20 мкг/мл исследовали на сформированной в течение 24 часов биопленке *E. faecium* SF68. Для этого раствор ципрофлоксацина вводили в образцы со сформированным на плотной питательной среде микробным сообществом и инкубировали в течение 0, 5, 12 и 24 часов. Воздействие АМП на культуру энтерококков прерывали путем биофиксации образца при введении 5 %-го раствора глутаральдегида.

В течение 0 часов воздействия ципрофлоксацина на культуру *E. faecium* SF68, (КЭ). В КЭ в опытных образцах (0 часов) биофиксацию материала глутаральдегидом проводили сразу после введения раствора ципрофлоксацина (20 мкг/мл).

СЭМ препаратов сразу после введения раствора ципрофлоксацина (20 мкг/мл) существенных изменений как в клетках *E. faecium* SF68, так и в составе микробных сообществ не выявила. При анализе образцов обнаружены фрагменты многослойных биопленок и микроколонии *E. faecium* SF68, состоящие из intactных и делящихся клеток энтерококков. Наряду с фрагментами микробных сообществ выявлены группы клеток в форме цепочек из диплококков, включающие от 4–8 до нескольких десятков клеток (рис. 3).

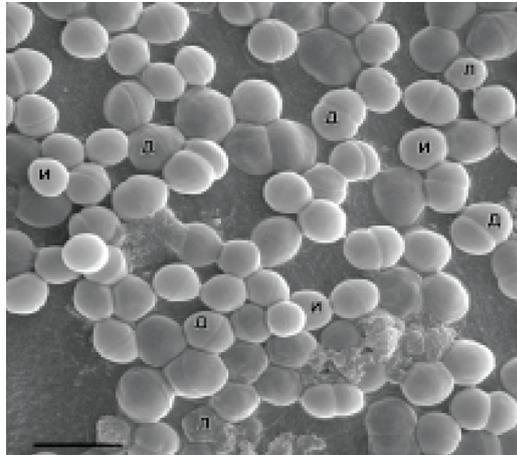


Рис. 3. СЭМ. КЭ. Опытный образец (0 часов). Клетки *E. faecium* SF68 сразу после введения раствора цiproфлоксацина: длина маркера – 2 мкм.

И – intactные клетки; *Д* – делящиеся клетки; *Л* – лизированные клетки

Воздействие цiproфлоксацина на культуру *E. faecium* SF68 в течение 5 часов (КЭ). Анализ электронно-микроскопических препаратов через 5 часов инкубирования культуры *E. faecium* SF68 в растворе цiproфлоксацина (20 мкг/мл) позволил обнаружить начальные признаки деструктивных изменений в клетках энтерококков. У части клеток наблюдали нарушение клеточного деления и признаки разрушения клеточных стенок (рис. 4). Однако одновременно с разрушающимися клетками выявлены также делящиеся и intactные клетки в форме диплококков и коротких цепочек из 3–8 клеток.

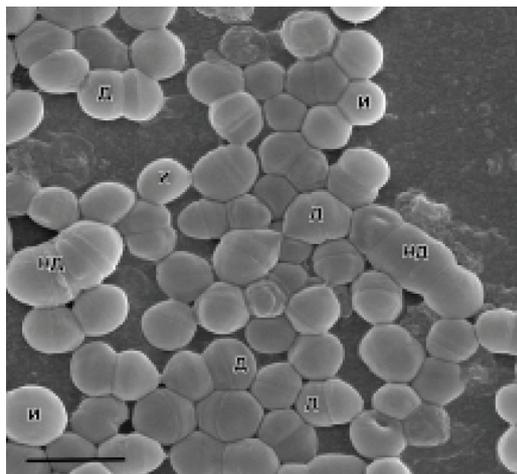


Рис. 4. СЭМ. КЭ. Опытный образец (5 часов). Клетки *E. faecium* SF68 через 5 часов инкубирования в растворе цiproфлоксацина: длина маркера – 2 мкм.

И – intactные клетки; *Д* – делящиеся клетки; *НД* – нарушение клеточного деления

Воздействие ципрофлоксацина на культуру *E. faecium* SF68 в течение 12 часов (КЭ). СЭМ препаратов через 12 часов инкубирования микробных сообществ *E. faecium* SF68 в растворе ципрофлоксацина (20 мкг/мл) выявила значительные изменения в структуре биопленок. Обнаружено множество клеток с характерными морфологическими свойствами, свидетельствующими о бактериостатическом влиянии АМП, а именно: клетки с деструктивными изменениями формы и поверхности, а также с признаками нарушения клеточного деления. В микробных сообществах, состоящих преимущественно из микроколоний, большая часть клеток была разрушена, у некоторых клеток заметны признаки нарушения клеточного деления (рис. 5). Однако в составе микроколоний обнаружены также интактные и делящиеся клетки диплококков, а также множество коротких цепочек.

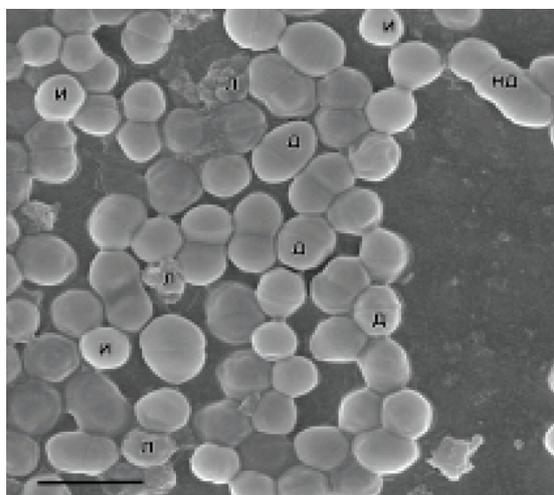


Рис. 5. СЭМ. КЭ. Опытный образец (12 часов). Клетки *E. faecium* SF68 через 12 часов инкубирования в растворе ципрофлоксацина: длина маркера – 2 мкм.

И – интактные клетки; Д – делящиеся клетки; НД – нарушение клеточного деления;
Л – лизированные клетки

Воздействие ципрофлоксацина на культуру *E. faecium* SF68 в течение 24 часов (КЭ). Анализ электронно-микроскопических препаратов энтерококков, полученных после воздействия раствора ципрофлоксацина (20 мкг/мл) в течение 24 часов, выявил нарушение целостности микробных сообществ из-за деструкции множества бактериальных клеток (рис. 6). Обнаружены участки значительных размеров, свободные от микробных сообществ и микроколоний. Выявлены единичные мелкие микроколонии. В составе микроколоний обнаружены клетки с признаками деструкции, а также частично лизированные клетки. Наряду с разрушающимися клетками в микроколониях выявлены бактерии с признаками нарушения деления, а также незначительное число интактных и делящихся энтерококков.

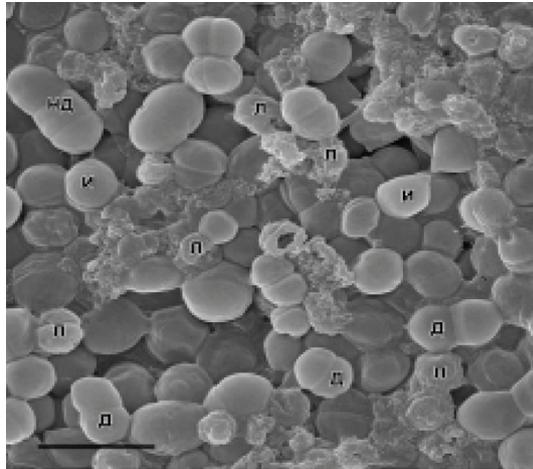


Рис. 6. СЭМ. КЭ. Опытный образец (24 часа). Клетки *E. faecium* SF68 через 24 часа инкубирования в растворе ципрофлоксацина: длина маркера – 2 мкм.
И – intactные клетки; Д – делящиеся клетки; НД – нарушение клеточного деления;
Л – лизированные клетки

Воздействие ципрофлоксацина на культуру *E. faecium* SF68 в течение 24 часов, (НЭ). Исследование электронно-микроскопических препаратов энтерококков, полученных в НЭ после 24 часов воздействия раствора ципрофлоксацина в сублетальной концентрации (20 мкг/мл), показало разрушение лишь небольшого числа клеток однослойных и многослойных фрагментов биопленок (рис. 7).

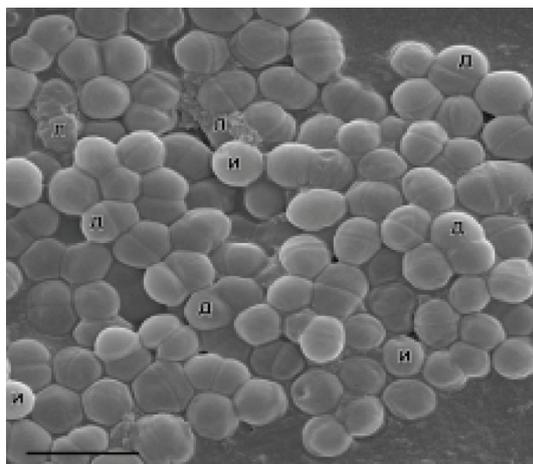


Рис. 7. СЭМ. НЭ. Опытный образец (24 часа). Фрагмент биопленки *E. faecium* SF68 через 24 часа инкубирования в растворе ципрофлоксацина (20 мкг/мл): длина маркера – 2 мкм.

И – intactные клетки; Д – делящиеся клетки; Л – лизированные клетки

Обсуждение

Эффективность действия АМП характеризуется их способностью в минимальной ингибирующей концентрации (МИК) подавлять жизнедеятельность бактериальных клеток. Однако для понимания характера и механизмов воздействия АМП на бактерии необходимо выявлять изменения морфофизиологических свойств клеток в сублетальной дозе, то есть в концентрации намного меньшей, чем МИК. Только при этих условиях воздействия АМП возможно зафиксировать мельчайшие изменения таких параметров, как размеры клеток, скорость роста, морфологические свойства, благодаря чему можно охарактеризовать механизм действия АМП.

Сублетальная концентрация раствора цiproфлоксацина 20 мкг/мл в 100 раз меньше, чем МИК данного препарата. Такой подход, как инкубирование зрелой биопленки *E. faecium* SF68 в растворе сублетальной концентрации цiproфлоксацина, позволил выявить изменения не только в самих клетках энтерококков, но и в структуре их микробных сообществ.

Действие раствора цiproфлоксацина в сублетальной концентрации имело накопительный и возрастающий эффект. Если через 5 часов инкубирования выявлено лишь незначительное нарушение целостности микробных сообществ, то через 24 часа воздействия цiproфлоксацина зафиксированы тотальные изменения, носящие деструктивный характер с частичным разрушением самих клеток и непосредственно бактериальных биопленок.

Морфофизиологические изменения в клетках *E. faecium* SF68 связаны с прямым ингибированием клеточных мишеней, что является свидетельством антибактериального механизма воздействия АМП. Такие параметры, как форма и размеры клеток, характер их деления и роста, являются показателями развития сообщества, а нарушения этих показателей свидетельствуют о негативном воздействии АМП и деструкции микробной популяции. При длительном инкубировании микробных сообществ энтерококков в растворе цiproфлоксацина отмечено нарастание признаков деструктивных изменений постепенно в течение 5–24 часов. При этом выявлены изменения размеров и формы клеток, обнаружены признаки нарушения характера деления бактериальных клеток, выявлены клетки на стадии разрушения и остатки практически полностью лизированных клеток.

Таким образом, характер действия раствора цiproфлоксацина в сублетальной дозе на культуру *E. faecium* SF68 в условиях микрогравитации определен как бактериостатический. Морфологические изменения клеток *E. faecium* SF68 служат показателем антибактериального механизма действия цiproфлоксацина. При этом экспериментальные данные показали, что на начальном этапе АМП вызывает незначительные, но разнообразные изменения формы и размеров клеток (5 часов инкубирования). Далее отмечено нарушение деления, что приводило к лизису клеток через 12 часов воздействия АМП. Как следствие разрушения клеток энтерококков отмечено

обширное разрушение целостности микробных сообществ, деструктивный процесс в которых приводил к деградации биопленок к 24 часу контакта с ципрофлоксацином.

Заключение

В период космических экспедиций на МКС-65, -66 проведено исследование особенностей воздействия АМП ципрофлоксацина на целостность микробных сообществ *E. faecium* SF68.

Сравнительный морфологический анализ позволил выявить общие характерные черты и различия в структурной организации микробных сообществ *E. faecium* SF68, развивающихся в КЭ и НЭ при воздействии ципрофлоксацина. В условиях КЭ, начиная с нулевой точки, когда энтерококки не подвергались воздействию ципрофлоксацина, и заканчивая 24 часами контакта раствора ципрофлоксацина в сублетальной концентрации, отмечали поэтапные изменения морфологических свойств клеток *E. faecium* SF68. Все отмеченные изменения приводили к деформации и лизису клеток энтерококков, а также к последующей деструкции их микробных сообществ.

Несколько иначе, по сравнению с условиями микрогравитации, происходили изменения структуры микробных сообществ энтерококков в НЭ. Через 24 часа инкубирования биопленок *E. faecium* SF68 в растворе ципрофлоксацина выявлены крупные микроколонии энтерококков, однослойные фрагменты биопленок, а также небольшие участки многослойных биопленок (см. рис. 7). При этом отмечено наличие единичных инволюционных и лизированных клеток.

Электронно-микроскопический анализ позволил обнаружить в микроколониях и фрагментах однослойных биопленок после 24-часового контакта с АМП в КЭ наряду с интактными клетками, появление значительного числа клеток *E. faecium* SF68 со следами деструктивных изменений и с признаками нарушения клеточного деления (см. рис. 6).

Таким образом, наблюдаемые изменения морфофизиологических свойств клеток *E. faecium* SF68 при воздействии на них ципрофлоксацина в сублетальной концентрации свидетельствуют о развитии более интенсивного деструктивного процесса в бактериальных биопленках *E. faecium* SF68 в космических условиях по сравнению с НЭ. Возможно, условия микрогравитации способствовали более активному проявлению бактериостатического эффекта воздействия АМП на клетки данного штамма энтерококков.

Полученные результаты дают основание для разработки новых подходов для оптимизации профилактических мероприятий в условиях космоса, препятствующих распространению биопленок патогенных бактерий, которые могут представлять риск для здоровья экипажа и функционирования оборудования на МКС.

Выводы

1. Установлен бактериостатический эффект воздействия сублетальной дозы ципрофлоксацина 20 мкг/мл на клетки *E. faecium* SF68 как в космических, так и в НЭ.

2. Показано, что в КЭ инкубирование клеток *E. faecium* SF68 в растворе ципрофлоксацина сублетальной концентрации приводило к изменению целого ряда морфофизиологических свойств клеток и микробных сообществ (деформация клеток и нарушение клеточного деления).

3. Отмечено, что в НЭ при инкубировании энтерококков в аналогичных условиях изменения морфофизиологических свойств клеток *E. faecium* SF68 проявлялись в значительно меньшей степени и не вызывали глубоких деструктивных изменений микробных сообществ.

4. Подтверждена эффективность применения СЭМ для выявления характера изменений в структуре бактериальных сообществ при проведении экспериментов в космических условиях в связи с ограничением работ с живыми бактериальными культурами.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Особенности образования микробных сообществ пробиотическими бактериями *Lactobacillus plantarum* 8PA-3 на различных носителях в условиях космического полета / О.В. Рыбальченко, О.Г. Орлова, В.В. Капустина, Е.В. Попова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2022. – Т. 56, № 5. – С. 85–95.
- [2] The Adaptation of *Escherichia Coli* Cells Grown in Simulated Microgravity for an Extended Period is Both Phenotypic and Genomic / M.R. Tirumalai, F. Karouia, Q. Tran, V.G. Stepanov [et al.]. – DOI:10.1038/s41526-017-0020-1 // Microgravity. – 2017. – No 3(15).
- [3] Morrison, M.D. Comparison of Bacillus Subtilis Transcriptome Profiles from Two Separate Missions to the International Space Station / M.D. Morrison, P. Fajardo-Cavazos, W.L. Nicholson. – DOI: 10.1038/s41526-018-0061-0 // NPJ Microgravity. – 2019. – No 5. – P. 1.
- [4] Increased Biofilm Formation Ability in *Klebsiella Pneumoniae* after Short-Term Exposure to a Simulated Microgravity Environment / H. Wang, Y. Yan, D. Rong, J. Wang [et al.] – DOI: 10.1002/mbo3.370 // Microbiology Open. – 2016. – No 5. – P. 793–801.
- [5] Exposure of *Mycobacterium Marinum* to Low-Shear Modeled Microgravity: Effect on Growth, the Transcriptome and Survival Under Stress / C.F. Abshire, K. Prasai, I. Soto, R. Shi [et al.]. – DOI: 10.1038/npjmgrav.2016.38// Microgravity. – 2016. – No 2. – P. 16038.
- [6] Characterization of the Total and Viable Bacterial and Fungal Communities Associated with the International Space Station Surfaces/ S.A. Checinska, C. Urbaniak, G.B.M. Mohan, V.G. Stepanov [et al.]. – DOI: 10.1186/s40168-019-0666-x // Microbiome. – 2019. – No 7. – P. 50.

- [7] *Enterococcus faecium* SF68 as a Model for Efficacy and Safety Evaluation of Pharmaceutical Probiotics / W. Holzapfel, A. Arini, M. Aeschbacher, R. Coppolecchia [et al.]. – DOI:3920/BM2017.0148 // *Benef Microbes*. – 2018. – No 9(3). – P. 375–388.
- [8] Справочник лекарственных средств Видаль: [сайт]. – URL: https://www.vidal.ru/drugs/ciprofloxacin_2024_3755.

REFERENCES

- [1] Features of the Formation of Microbial Communities by Probiotic Bacteria *Lactobacillus plantarum* 8PA-3 on Various Carriers under Space Flight Conditions / O.V. Rybalchenko, O.G. Orlova, V.V. Kapustina, E.V. Popova [et al.] // *Aerospace and Ecological Medicine*. – 2022. – Vol. 56, No 5. – P. 85–95.
- [2] The Adaptation of *Escherichia Coli* Cells Grown in Simulated Microgravity for an Extended Period is Both Phenotypic and Genomic / M.R. Tirumalai, F. Karouia, Q. Tran, V.G. Stepanov [et al.]. – DOI:10.1038/s41526-017-0020-1 // *Microgravity*. – 2017. – No 3(15).
- [3] Morrison, M.D. Comparison of Bacillus Subtilis Transcriptome Profiles From Two Separate Missions to the International Space Station / M.D. Morrison, P. Fajardo-Cavazos, W.L. Nicholson. – DOI: 10.1038/s41526-018-0061-0 // *NPJ Microgravity*. – 2019. – No 5. – P. 1.
- [4] Increased Biofilm Formation Ability in *Klebsiella Pneumoniae* after Short-Term Exposure to a Simulated Microgravity Environment / H. Wang, Y. Yan, D. Rong, J. Wang [et al.]. – DOI: 10.1002/mbo3.370 // *Microbiology Open*. – 2016. – No 5. – P. 793–801.
- [5] Exposure of *Mycobacterium Marinum* to Low-Shear Modeled Microgravity: Effect on Growth, the Transcriptome and Survival under Stress / C.F. Abshire, K. Prasai, I. Soto, R. Shi [et al.]. – DOI: 10.1038/npjmgrav.2016.38 // *Microgravity*. – 2016. – No 2. – P. 16038.
- [6] Characterization of the Total and Viable Bacterial and Fungal Communities Associated With the International Space Station Surfaces / S.A. Checinska, C. Urbaniak, G.B.M. Mohan, V.G. Stepanov [et al.]. – DOI: 10.1186/s40168-019-0666-x // *Microbiome*. – 2019. – No 7. – P. 50.
- [7] *Enterococcus Faecium* SF68 as a Model for Efficacy and Safety Evaluation of Pharmaceutical Probiotics / W. Holzapfel, A. Arini, M. Aeschbacher, R. Coppolecchia [et al.]. – DOI:3920/BM2017.0148 // *Benef Microbes*. – 2018. – No 9(3). – P. 375–388.
- [8] Directory of Medicines Vidal: [website]. – URL: https://www.vidal.ru/drugs/ciprofloxacin_2024_3755.