

Глава I ПРОБИОТИКИ

ВЫЖИВАЕМОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРОБИОТИКОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO, ИМИТИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ПИЩЕВАРЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА*

Дармов И.В.¹, Чичерин И.Ю.², Погорельский И.П.¹, Лундовских И.А.¹

¹ Вятский государственный университет, кафедра микробиологии, ² ООО «МедСтар»

SURVIVAL OF PROBIOTIC MICROORGANISMS, INCLUDED IN THE COMMERCIAL MEDICINES BIFIDUMBACTERIN AND LACTOBACTERIN, IN THE CONDITIONS IN VITRO, IMITATING THE PROCESS OF HUMAN DIGESTION

I.V. Darmov¹, I.Yu. Chicherin², I.P. Pogorelsky¹, Lundovskikh I.A.¹

¹ Vyatka State University, ² LLC «MedStar»

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка выживаемости бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro*, имитирующих пищеварение в желудке и кишечнике человека, и изучение выживаемости пробиотических и индигенных микроорганизмов в условиях совместного культивирования на плотной питательной среде.

Материалы и методы. В экспериментах использовали пробиотические микроорганизмы, выделенные из коммерческих препаратов бифидумбактерин, лактобактерин, клинические изоляты лактобацилл (*Lactobacillus acidophilus* № 1, *L.brevis* № 2). Изучение выживаемости микроорганизмов пробиотиков проводили на модели *in vitro*, имитирующих условия пищеварения в организме человека. Оценку взаимоотношений микроорганизмов пробиотиков и индигенных микроорганизмов проводили в условиях совместного культивирования *in vitro* на плотной питательной среде.

Результаты. Установлено значительное снижение числа жизнеспособных пробиотических микроорганизмов при их инкубации в модельных средах, а также подавление роста пробиотических микроорганизмов культурами клинических штаммов лактобацилл, соответствующее бионесовместимости по типу «хозяин против пробиотика».

Заключение. При выборе пробиотиков при лечении дисбактериозов необходимо предварительно изучить характер взаимоотношений микроорганизмов пробиотиков с индигенной микрофлорой пациента, а также стимулировать микроорганизмы собственной микрофлоры с использованием современных пребиотиков.

Ключевые слова: индигенные и пробиотические микроорганизмы; выживаемость; антагонизм; биосовместимость; бионесовместимость; пребиотики.

SUMMARY

Purpose of the study. Assessment of survival bifi dobacteria and lactobacteria under the conditions *in vitro*, simulating digestion in human stomach and intestine, and study of survival probiotic and indigenous microorganisms in co-cultivation on solid nutrient medium.

Materials and methods. Probiotic microorganisms from commercial preparations Bifi dobacterin and Lactobacterin, clinical isolates lactobacillus (*Lactobacillus acidophilus* № 1, *L. brevis* № 2) were used in experiments. Survival study of probiotic microorganisms was performed on a model *in vitro*, simulating the process of digestion in the human body. Assessment of the relationship of probiotic microorganisms and indigenous microorganisms was carried out in co-cultivation *in vitro* on solid nutrient medium.

Results. A significant reduction in the number of viable probiotic microorganisms during their incubation in model media was set as well as suppression of probiotic microorganisms growth by cultures of a clinical strains of lactobacillus, corresponding to biocompatibility by type «host against probiotic».

Conclusion. While choosing probiotics in the treatment of dysbacterioses the character of relationship between probiotic microorganisms and indigenous microorganisms of a patient is recommended to be preliminarily tested. Also microorganisms of own microfl ora should be stimulated using modern prebiotics.

Keywords: indigenous and probiotic microorganisms; survival; antagonism; biocompatibility; bioincompatibility; prebiotics.

* Ссылка для цитирования: Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека. Экспер. и клин. гастроэнтерология.- 2011.- №3.- С. 6 – 11.

ВВЕДЕНИЕ

Дисбактериозы являются актуальной проблемой медицины, привлекающей пристальное внимание ученых и профильных врачей-клиницистов, ежедневно сталкивающихся с микроэкологическими нарушениями при клинической патологии различного происхождения [1; 2]. С дисбактериозами связаны многочисленные проявления болезней, расстройства в функционировании тех или иных органов и систем [1; 3]. Современные подходы к лечебной коррекции дисбиотических изменений в кишечнике больных и восстановлению нормальной микрофлоры включают ряд мероприятий, связанных как с патогенетическим лечением основного заболевания, так и, в случае необходимости, с избирательной деконтаминацией условно-патогенной и патогенной микрофлоры и последующим усилением местного и системного иммунитета [1; 3]. Параллельно проводится восстановление индигенной микрофлоры путем коррекции нарушений микробиоценоза.

Среди множества средств коррекции нарушений микрофлоры кишечника пробиотики занимают особое место в связи с теми эффектами (общего характера, гуморальными и клеточными), которые регистрируются как объективно, так и субъективно — улучшением самочувствия больного [4; 5].

Появление нового поколения пробиотиков связано не только с совершенствованием технологии их производства, но и с имеющимися случаями низкого, а порой и нулевого эффекта от их применения при некоторых дисбиотических состояниях.

В этой связи в плане комплексной профилактики и лечения дисбактериозов чрезвычайно важно внедрить в практику новые подходы к нормализации микрофлоры, в частности связанные со стимуляцией собственной индигенной микрофлоры больного [1]. В то же время не решен вопрос о выживаемости пробиотических микроорганизмов при их пероральном применении в ходе продвижения по пищеварительному тракту, что предопределяет необходимость проведения микробиологических исследований в данном направлении.

Цель настоящего исследования — оценка выживаемости бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro*, имитирующих пищеварение в желудке и кишечнике человека, и изучение взаимоотношения пробиотических и индигенных микроорганизмов в условиях совместного культивирования *in vitro* на плотной питательной среде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали пробиотические микроорганизмы, выделенные из коммерческих препаратов бифидумбактерин (серии 090210, 245, 5074, 288 — 1, 315 — 6), лактобактерин (серии 15 / 6, 125 — 2, 125 — 6), а также два изолята индигенных лактобацилл (*Lactobacillus acidophilus* № 1, *Lactobacillus brevis* № 2), выделенные из фекалий больных.

Бифидобактерии выращивали на плотной питательной среде, рекомендованной в информационном письме [6]. Выращивание лактобацилл проводили на среде МРС, приготовленной по прописи, представленной в работе [7]. При выращивании пробиотических микроорганизмов в микроаэрофильных условиях использовали систему для анаэробного культивирования (анаэрогат) Anaerobic system Mark III — LE003 (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Мумбаи, Индия) с пакетами газогенераторными HiAnaero Gas Pacet.

При оценке биосовместимости бифидобактерий и лактобацилл различного происхождения использовали плотные питательные среды на основе перевара Хоттингера или триптического гидролизата мяса с добавлением

стимуляторов роста (сульфита натрия, гемина, стимулятора роста Карпузиди).

Изучение выживаемости микроорганизмов пробиотиков проводили на модели *in vitro*, имитирующей условия пищеварения в организме человека. В качестве основы была использована модель, описанная в методических рекомендациях «Оценка безопасности наноматериалов» [8]. Модельные среды готовили на основе цитратнофосфатного буферного раствора и ферментных препаратов ацидин-пепсина, регистрационный номер ЛС-001355; производство РУП «Белмедпрепараты», Минск (Беларусь), панзинорм форте 20000, регистрационный номер П № 014602 / 01; производство ООО «КРКА-РУС», г. Истра Московской области (Россия).

Оценку взаимоотношений микроорганизмов пробиотиков и индигенных микроорганизмов в условиях совместного культивирования *in vitro* на плотной питательной среде проводили согласно методике, описанной в работе [9].

Общее количество микробных клеток в одной дозе препарата пробиотика определяли подсчетом в камере Горяева (модель 851, ЛПО «Красногвардеец»).

Количество живых микроорганизмов в препаратах пробиотиков и в суспензиях после взаимодействия с ферментными препаратами и инкубации модельных сред и суспензий в анаэрогате при температуре 37 °С определяли высевом соответствующих десятикратных серийных разведений исследуемых суспензий на плотные питательные среды в чашках Петри и подсчета выросших колоний по истечении времени инкубирования.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве И. П. Ашмарина и А. А. Воробьева [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основываясь на методических рекомендациях [8], нами была разработана методика изучения выживаемости пробиотических микроорганизмов в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека. Суть методики состоит в инкубации микроорганизмов последовательно в кислой модельной среде с ацидин-пепсином (рН 2,0) и щелочной модельной среде с панзинорм форте 20000 (рН 7,2) в течение среднего времени пребывания смешанной пищи соответственно в желудке и кишечнике с последующим определением числа выживших микроорганизмов и их общего количества в исходной суспензии путем подсчета в камере Горяева.

В соответствии с разработанной методикой определяли количество жизнеспособных бактерий в одной дозе препарата ($\text{КОЕ} \cdot \text{мл}^{-1}$) в начале эксперимента (0 час), через 4 часа инкубации в кислой среде в присутствии ацидин-пепсина ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$) и через 12 часов инкубации в щелочной среде в присутствии панзинорм форте 20000 ($2,5 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$). Результаты определений представлены в табл. 1 и 2.

Из представленных данных следует, что в результате воздействия на пробиотические микроорганизмы факторов, имитирующих таковые в желудочно-кишечном тракте человека, происходит заметное снижение числа жизнеспособных микробных клеток: сначала в кислой среде с ферментным препаратом ацидин-пепсином число жизнеспособных микроорганизмов снижается на два-три порядка по сравнению с исходным количеством, а затем в щелочной среде с ферментным препаратом панзинорм форте 20000 — еще на один-два порядка.

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных можно с большой долей вероятности утверждать, что в реальных условиях заместительной терапии пробиотическими препаратами бифидумбактерин, лактобактерин в результате пассажа через желудочно-кишечный

тракт в толстую кишку больного дисбактериозом поступает сниженное количество пробиотических микроорганизмов, недостаточное для получения лечебного эффекта.

Н. А. Глушановой и Б. А. Шендеровым [9] в ходе изучения взаимоотношений пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* выявлено 3 типа взаимодействия: отсутствие антагонизма — биосовместимость (15,2%), подавление роста индигенных лактобацилл — биосовместимость по типу «пробиотик против хозяина» (62,3%) и ингибирование роста пробиотических бактерий — биосовместимость по типу «хозяин против пробиотика» (22,5%). В проведенных нами в соответствии с методикой авторов [9] исследованиях с использованием двух клинических изолятов индигенных лактобацилл, изолированных из фекалий больных (*L. acidophilus* № 1, *L. brevis* № 2), было показано, что оба изолята проявляли антагонистические взаимоотношения (по типу «хозяин против пробиотика») с бифидо- и лактобактериями, выделенными из биотических препаратов бифидумбактерин и лактобактерин.

Полученные результаты еще раз свидетельствуют о необходимости предварительного исследования взаимоотношения пробиотических культур с индигенными

Таблица 1.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА БИФИДУМБАКТЕРИН В МОДЕЛЬНЫХ СРЕДАХ И УСЛОВИЯХ, ИМИТИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ПИЩЕВАРЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА (N = 5)						
Серия препарата	Штаммы бифидобактерий	Внешний вид лиофилизированной микробной массы	Общее количество бактерий в одной дозе препарата, определенное в камере Горяева	Содержание живых бактерий в пробе на...час эксперимента, КОЕ·мл ⁻¹ ($\bar{X} \pm I_{95}$)		
				0	4	12
090210	V. bifidum 1 или V. bifidum 791	Пористая масса бежевого цвета	$1,9 \cdot 10^7$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^4$	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^3$
245		Пористая масса беловато-серого цвета	$1,8 \cdot 10^7$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(4,5 \pm 0,2) \cdot 10^2$
		Пористая масса светло-коричневого цвета	$1,9 \cdot 10^7$	$(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(1,0 \pm 0,4) \cdot 10^4$	$(3,9 \pm 0,4) \cdot 10^2$
315–6		Пористая масса бежевого цвета	$2,0 \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(4,0 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$
		Пористая масса светло-коричневого цвета	$2,1 \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(2,0 \pm 0,4) \cdot 10^5$	$(2,5 \pm 0,4) \cdot 10^3$
288–1		Пористая масса бежевого цвета	$1,6 \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(2,2 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(3,1 \pm 0,3) \cdot 10^3$
		Кристаллическая масса светло-коричневого цвета	$1,4 \cdot 10^7$	$(7,8 \pm 0,6) \cdot 10^6$	$(3,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(1,5 \pm 0,4) \cdot 10^3$
5074		Пористая масса светло-коричневого цвета	$1,2 \cdot 10^7$	$(6,4 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,4 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^2$
		Пористая масса бежевого цвета	$1,2 \cdot 10^7$	$(6,1 \pm 0,4) \cdot 10^5$	$(2,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^2$

Таблица 2.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ЛАКТОБАКТЕРИН В МОДЕЛЬНЫХ СРЕДАХ И УСЛОВИЯХ, ИМИТИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ПИЩЕВАРЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА (N = 5)						
Серия препарата	Штаммы лактобактерий	Внешний вид лиофилизированной микробной массы	Общее количество бактерий в одной дозе препарата, определенное в камере Горяева	Содержание живых бактерий в пробе на...час эксперимента, КОЕ·мл ⁻¹ ($\bar{X} \pm I_{95}$)		
				0	4	12
15 / 6	L. plantarum 8P-A3, или L. plantarum 38, или L. fermentum 90T-C4, или L. fermentum 39	Пористая масса желтовато-бежевого цвета	$4,0 \cdot 10^9$	$(2,1 \pm 0,4) \cdot 10^9$	$(4,0 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,0 \pm 0,4) \cdot 10^3$
		Пористая масса беловато-серого цвета	$4,1 \cdot 10^9$	$(2,2 \pm 0,4) \cdot 10^9$	$(3,6 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,2 \pm 0,3) \cdot 10^3$
125 – 2		Пористая масса желтовато-бежевого цвета	$4,5 \cdot 10^9$	$(4,6 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^6$	$(2,6 \pm 0,4) \cdot 10^2$
	То же	$4,5 \cdot 10^9$	$(4,2 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(2,2 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(1,8 \pm 0,4) \cdot 10^2$	
125 – 6		Пористая масса желтовато-бежевого цвета	$4,1 \cdot 10^9$	$(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^9$	$(2,4 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^6$
	То же	$4,0 \cdot 10^9$	$(3,1 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(2,5 \pm 0,6) \cdot 10^7$	$(1,5 \pm 0,6) \cdot 10^6$	
	Кристаллическая масса светло-коричневого цвета	$3,9 \cdot 10^9$	$(3,7 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,1 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(1,1 \pm 0,5) \cdot 10^5$	

лактобациллами пациента, которому назначают соответствующий пробиотический препарат.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Клинические наблюдения и экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что у многих жителей России, в том числе и у детей, имеет место выраженный дисбаланс нормальной микрофлоры кишечника [1; 9].

Именно от состояния кишечника, его нормальной микрофлоры на 70 – 80% зависит сопротивляемость организма к болезням. В постоянных симбиотических или антагонистических взаимоотношениях микроорганизмы нормальной микрофлоры развиваются, используя перевариваемую пищу и компоненты, секретируемые в желудочно-кишечный тракт организм, и наконец экскретируются во внешнюю среду [11; 12].

В то же время в научной литературе имеется практически единственное указание [2] на то, что в сознании врача развитие заболевания не всегда ассоциируется с микробиологическими нарушениями в кишечнике больного, которому планируется назначение пробиотиков с лечебной или профилактической целью. Безусловно, многолетний

опыт применения пробиотических препаратов свидетельствует о физиологичности и значимости для больного такой заместительной терапии. Однако, положительный эффект пробиотиков, как свидетельствует опыт клиницистов, носит временный характер, а при ряде дисбиотических состояний эффект отсутствует.

Важнейшим фактором, определяющим приживание или элиминацию пробиотических микроорганизмов в кишечнике больного, является состояние колонизационной резистентности [9], что, в свою очередь, связано с биологическими свойствами пробиотических бифидо- и лактобактерий и индигенных представителей кишечной микрофлоры. С одной стороны, между колониями микроорганизмов и кишечной стенкой складывается тесная взаимосвязь, объединяющая их в единый микробно-тканевый комплекс [13; 14], а с другой — между самими микроорганизмами формируется определенный тип взаимоотношений и, как следствие, их конкурентоспособность или совместимость. Именно для лечебной коррекции микробиологических нарушений в кишечнике и преодоления бионесовместимости предлагается производить новые поливалентные или комбинированные препараты с иммобилизованными бактериями различных таксономических групп [2] или искать новые оригинальные способы нормализации микрофлоры с помощью лекарственных препаратов.

При всей важности указанных подходов практически не изученным остается такой микробиологический аспект заместительной терапии пробиотическими препаратами при дисбактериозах, как выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте больного при пероральном их поступлении. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что на численность пробиотических микроорганизмов отрицательное влияние оказывают кислая и сменяющая ее щелочная модельные среды, содержащие соответственно ацидин-пепсин и панзинорм форте 20000, имитирующие *in vitro* условия пищеварения у человека. Естественно, что в условиях *in vivo* на пробиотические микроорганизмы воздействует гораздо больше, чем в эксперименте, факторов, приводящих к гибели значительной части их популяций.

Снижение численности популяции микроорганизмов пробиотиков ниже критической в соответствии с экологическими принципами ведет к гибели всей популяции. Это одна из причин низкой эффективности пробиотикотерапии либо ее отсутствия.

Другой причиной низкой эффективности заместительной пробиотикотерапии может быть бионесовместимость по типу «хозяин против пробиотика» [9]. В наших экспериментах по изучению взаимоотношения пробиотических бифидобактерий и лактобактерий и индигенных лактобацилл (двух клинических изолятов, выделенных из фекалий людей) в условиях совместного культивирования *in vitro* была однозначно показана их бионесовместимость. Именно такие антагонистически активные лактобациллы больного могут полностью предотвратить приживание пробиотических микроорганизмов.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о необходимости предварительного исследования взаимоотношения пробиотических микроорганизмов, которые будут предписаны врачом больному, с его индигенными микроорганизмами. Это позволит отбирать наиболее активные для конкретного пациента пробиотические препараты. Это во-первых. А во-вторых, необходимо стимулировать существующие в кишечнике больного, хоть и в минимальном количестве, микроорганизмы нормальной микрофлоры. Оригинальность данного способа нормализации микрофлоры, о чем говорится в работе [1], но который только сейчас в силу ряда обстоятельств начинает внедряться

в клиническую практику, состоит в использовании пробиотической эффективности инулина и олигофруктозы. Волокна инулина и олигофруктозы, как это экспериментально подтверждено, избирательно стимулируют рост и метаболическую активность только определенных видов бактерий — бифидобактерий и лактобацилл, не влияя на развитие других бактерий (фузобактерий, пропионибактерий, бактероидов и т. д.). Именно таким пробиотическим эффектом обладает созданный в России препарат Стимбифид, содержащий фруктоолигосахариды, фруктополисахариды и премикс витаминно-минеральный. Указанный эффект был продемонстрирован в экспериментах *in vitro* и на людях разных возрастных категорий — младенцах и детях раннего возраста, на взрослых людях и людях преклонного возраста, о чем свидетельствуют результаты клинико-лабораторного исследования пребиотика Стимбифид [5]. С учетом этих результатов и экспериментальных данных, полученных в настоящей работе, можно предположить, что пребиотики на основе фруктоолиго- и фруктополисахаридов могут занять свое особое место в лечении и профилактике микробиологических нарушений в кишечнике в качестве перспективных препаратов для использования в практической медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А. А., Абрамов Н. А., Бондаренко В. М., Шендеров Б. А. Дисбактериозы — актуальная проблема медицины // Вестн. РАМН. — 1997. — № 3. — С. 4 — 7.
2. Воробьев А. А., Бондаренко В. М., Лыкова Е. А. и др. Микробиологические нарушения при клинической патологии и их коррекция бифидосодержащими пробиотиками // Вестн. РАМН. — 2004. — № 2. — С. 13 — 17.
3. Бондаренко В. М., Петровская В. Г. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры // Вестн. РАМН. — 1997. — № 3. — С. 7 — 10.
4. Утемурадова Г. Э. Этиология острых кишечных инфекций у детей и эффект пробиотикотерапии // Журн. микробиол. — 2009. — № 3. — С. 80 — 100.
5. Грачева Н. М., Ардатская М. Д., Аваков А. А., Соловьева А. И. Сравнительная оценка клинико-лабораторной эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта: отчет о клинико-лабораторном исследовании. — М.: Московский НИ-ИЭМ им. Г. Н. Габричевского, 2010.
6. Иванов В. П., Бойцов А. Г., Коваленко А. Д. и др. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информационное письмо. — СПб.: Центр госсанэпиднадзора, 2002.
7. Лихачева А. Ю., Бондаренко В. М., Соколова К. Я. Современное состояние вопроса таксономии бактерий рода *Lactobacillus* // Журн. микробиол. — 1992. — № 9 — 10. — С. 74 — 78.
8. Методические рекомендации «Оценка безопасности наноматериалов». Утв. приказом Роспотребнадзора от 12.10.2007 г. № 280. — М.: Роспотребнадзор, 2007.
9. Глушанова Н. А., Шендеров Б. А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // Журн. микробиол. — 2005. — № 2. — С. 56 — 61.
10. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л.: Медгиз, 1962.
11. Mitsuoka T. Intestinal flora and host // *Asian Med. J.* — 1988. — Vol. 31, № 7. — P. 400 — 409.
12. Gorbach S. L. Function of the normal human microflora // *Scand. J. Infect. Diseases.* — 1986. — Vol. 18, Suppl. № 49. — P. 17 — 30.
13. Кузнецов О. Ю. Бактериальная колония как сложное организованное сообщество клеток // Журн. микробиол. — 2005. — № 2. — С. 3 — 7.
14. Минущин О. Н., Ардатская М. Д., Зверков И. В., Чичерин И. Ю. Дисбактериоз кишечника (понятие, диагностика, принципы лечебной коррекции). Современные возможности пробиотической терапии: учебно-методическое пособие для врачей и курсантов циклов усовершенствования врачей. — М.: Учебно-методический центр управления делами Президента Российской Федерации, 2010.