

# ВЫЖИВАЕМОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРОБИОТИКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ\*

Дармов И.В.<sup>1</sup>, Чичерин И.Ю.<sup>2</sup>, Погорельский И.П.<sup>1</sup>, Лундовских И.А.<sup>1</sup>, Дурнев Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Вятский государственный университет, кафедра микробиологии, <sup>2</sup> ООО «МедСтар»

## SURVIVAL OF PROBIOTIC MICROORGANISMS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF EXPERIMENTAL ANIMALS

I.V. Darmov<sup>1</sup>, I.Yu. Chicherin<sup>2</sup>, I.P. Pogorelsky<sup>1</sup>, I.A. Lundovskikh<sup>1</sup>, E.A. Durnev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vyatka State University, <sup>2</sup> LLC «MedStar»

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Разработка методики выявления в кишечном содержимом белых мышей и морских свинок сертифицированных пробиотических микроорганизмов и изучение их выживаемости в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных.

**Материалы и методы.** В экспериментах использовали устойчивые к рифампицину бифидобактерии и лактобактерии. Культуры микроорганизмов, сохранивших видовые признаки, вводили перорально в течение 14 суток и определяли число жизнеспособных бифидобактерий и лактобактерий путем посева фекалий на плотную питательную среду с рифампицином.

**Результаты.** Пробиотические микроорганизмы, вводимые перорально экспериментальным животным в течение 14 суток, обнаруживаются в фекалиях на 2 сутки эксперимента. Живые пробиотические микроорганизмы полностью перестают обнаруживаться в фекалиях животных через 3 суток после окончания их перорального введения.

**Заключение.** С использованием разработанной универсальной методики дифференциации поступающих в живой организм пробиотических микроорганизмов и штаммов собственной кишечной микрофлоры показано существенное на 4-7 порядков снижение выживших в организме экспериментальных животных бифидобактерий и лактобактерий, сопровождающееся отсутствием пробиотического эффекта.

**Ключевые слова:** пробиотические микроорганизмы; кишечная микрофлора; выживаемость в желудочно-кишечном тракте; устойчивость бактерий к рифампицину; белые мыши; морские свинки.

### ВВЕДЕНИЕ

Клиницисты считают крайне важной необходимость восстановления при дисбиотических состояниях собственной микрофлоры кишечника, в первую очередь бифидобактерий и лактобактерий [1; 2].

### SUMMARY

**Purpose of the study.** Development of methodology for the identification of certified probiotic microorganisms in the intestinal contents of white mice and guinea pigs and study of their survival in the gastrointestinal tract of experimental animals.

**Materials and methods.** Rifampicin-resistant bifidobacteria and lactobacilli were used in the experiments. Cultures of microorganisms that have retained the species features were administered orally for 14 days and the number of viable bifidobacteria and lactobacilli were determined by sowing of feces in a dense nutrient medium with rifampicin.

**Results.** Probiotic microorganisms administered orally to experimental animals for 14 days are detected in the feces on the second day of the experiment. Live probiotic bacteria ceases completely to be detected in the feces of animals 3 days after the termination of their oral administration.

**Conclusion.** Using the developed universal method of differentiation of probiotic microorganisms entering the living organisms and strains of their own intestinal microflora a significant decrease (4-7 orders of magnitude) in survival of bifidobacteria and lactobacilli in the organisms of experimental animals was shown, followed by a lack of probiotic effect.

**Key words:** probiotic microorganisms, intestinal microflora, survival in the gastrointestinal tract, resistance of bacteria to rifampicin, white mice, guinea pigs.

Для коррекции и восстановления численности и качественного состава кишечной микрофлоры, особое место на протяжении довольно длительного времени занимают пробиотики – живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, оказывающие при

\* Ссылка для цитирования: Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Дурнев Е.А. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных. Журнал инфектологии. - Т.4. - 2012. - №1. - С. 68-74.

естественном способе введения благоприятные эффекты на физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции организма через оптимизацию его микробиологического статуса [1; 2].

Однако, как отмечено Ю.А. Малаховым [3], выявилось явное несоответствие между сложившимся представлением о высокой эффективности пробиотиков и растущим распространением дисбактериозов [4]. Более того, даже использование сертифицированного пробиотика может не только не дать положительного результата, но и вызвать ухудшение состояния больного [5].

На возможные причины недостаточной эффективности пробиотической коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры указано в диссертации Н.А. Глушановой [6]. В частности, со ссылкой на работу А.И. Хавкина и Н.С. Жихаревой [7], отмечено, что под действием желудочного сока и желчи пробиотические микроорганизмы теряют до 90 % своей активности к моменту поступления в кишечник.

Нами впервые в опытах *in vitro* с использованием модельных сред, имитирующих процесс пищеварения в желудочно-кишечном тракте человека, было доказано, что происходит заметное снижение числа жизнеспособных бифидобактерий и лактобактерий [8-10].

В этой связи весьма актуальным представляются исследования по оценке выживаемости пробиотических микроорганизмов бифидобактерий и лактобактерий в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных, особенно с учетом данных, представленных в работах [11; 12], о неспособности пробиотических микроорганизмов к длительному существованию в кишечнике конкретного человека.

Сдерживающим фактором в плане реализации исследований по оценке выживаемости пробиотических микроорганизмов в пищеварительном тракте человека и экспериментальных животных является отсутствие методического подхода, позволяющего идентифицировать в фекалиях пробиотические микроорганизмы, принятые *per os* с профилактической или лечебной целью, и отличать их от собственных микроорганизмов нормальной микро-

флоры, в частности бифидобактерий и лактобактерий.

Таким образом, с учетом изложенного, целью настоящего исследования является разработка методики выявления в кишечном содержимом белых мышей и морских свинок сертифицированных пробиотических микроорганизмов и изучение их выживаемости в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали пробиотические микроорганизмы, выделенные из коммерческих препаратов Бифидумбактерин (серия 315-6), Лактобактерин (серия 15/6).

Бифидобактерии и лактобактерии выращивали на плотных питательных средах рекомендованного состава [13; 14]. При выращивании пробиотических микроорганизмов в микроаэрофильных условиях использовали систему для анаэробного культивирования (анаэростат) – Anaerobic system Mark III-LE003 «Hi-Media Laboratories Pvt.» Ltd, Mumbai (Индия) с пакетами газогенераторными – HiAnaero Gas Pacet.

Количество живых микроорганизмов в препаратах пробиотиков и в суспензиях определяли высевом соответствующих десятикратных серийных разведений исследуемых суспензий на плотные питательные среды в чашках Петри и подсчетом выросших колоний по истечении времени инкубирования.

Селекцию спонтанных мутантов пробиотических микроорганизмов проводили по разработанной методике на плотной питательной среде с рифампицином согласно рекомендациям, изложенным в работе [15]. В работе использовали антибиотик Рифампицин-Ферейн (ЗАО «Брынцалов-А», Россия). Стабильность признака антибиотико-резистентности оценивали, характеризуя популяционный состав мутантов пробиотических микроорганизмов по R-признаку.

Электронную микроскопию бифидобактерий и лактобактерий проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM 6510LV с платиновым напылением.

Таблица 1.

Содержание Rif <sup>r</sup> -микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте белых мышей при пероральном введении ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)										
Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г <sup>-1</sup>									
	1	2	4	7	10	12	14	15	16	17
Бифидобактерии	0	93±4	122±4	86±8	78±6	69±7	61±4	19±6	12±7	0
Лактобактерии	0	156±6	93±3	424±7	307±7	210±12	151±5	35±8	13±6	0

Таблица 2

Содержание Rif <sup>r</sup> -микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте морских свинок при пероральном введении ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)										
Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г <sup>-1</sup>									
	1	2	4	7	10	12	14	15	16	17
Бифидобактерии	0	105±2	89±4	82±8	53±3	29±7	23±4	14±7	13±7	0
Лактобактерии	0	89±6	93±4	76±7	44±7	21±8	23±5	21±8	12±6	0

Таблица 3

Выживаемость пробиотических микроорганизмов (Rif <sup>r</sup> ) при транзите по желудочно-кишечному тракту лабораторных животных						
Микроорганизмы	Белые мыши			Морские свинки		
	Суточная доза, КОЕ (разовая доза x 2)	Содержание в фекалиях, КОЕ·г <sup>-1</sup> ( $\bar{X}$ , на сутки 2...15 по данным табл. 1)	Выживаемость микробов, % (доля)	Суточная доза, КОЕ (разовая доза x 2)	Содержание в фекалиях, КОЕ·г <sup>-1</sup> ( $\bar{X}$ , на сутки 2...15 по данным табл. 1)	Выживаемость микробов, % (доля)
Бифидобактерии	2,6x10 <sup>5</sup>	75	0,029 (2,88x10 <sup>-4</sup> )	2,6x10 <sup>6</sup>	56	0,0022 (2,15x10 <sup>-5</sup> )
Лактобактерии	5,2x10 <sup>7</sup>	197	0,00038 (3,79x10 <sup>-6</sup> )	5,3x10 <sup>8</sup>	52	0,0000098 (0,98x10 <sup>-7</sup> )

В исследованиях по изучению приживаемости рифампициноустойчивых ( $Rif^r$ ) мутантов бифидобактерий и лактобактерий в пищеварительном тракте животных использовали белых мышей, беспородных, обоего пола, массой 18–20 г, морских свинок, беспородных, обоего пола, массой 250–300 г, прошедших акклиматизацию в виварии.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения выживаемости пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных необходимо было разработать методику получения маркированных производных этих микроорганизмов и дифференциации вводимых бифидобактерий и лактобактерий от соответствующих штаммов собственной индигенной микрофлоры кишечника (в фекалиях).

Маркерный признак должен помочь выявить их и идентифицировать в фекалиях при высеве последних на селективную плотную питательную среду, на которой микроорганизмы индигенной микрофлоры расти не будут [15]. Таким условиям удовлетворяет плотная питательная среда с антибактериальным препаратом, на котором способны расти  $R^+$  (устойчивые к этому препарату) микроорганизмы. В качестве селективного антибактериального препарата в эксперименте был использован рифампицин.

Суть методики получения маркированных производных бифидобактерий и лактобактерий состоит в выращивании культур пробиотических микроорганизмов на плотных питательных средах с повышающимися концентрациями рифампицина и отборе спонтанных мутантов, сохраняющих видовые признаки.

В предварительных опытах было установлено, что представители кишечной микрофлоры практически не растут в микроаэрофильных условиях на селективной плотной питательной среде с рифампицином при его концентрации  $110 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ . С учетом этих данных, мутанты бифидобактерий и лактобактерий получали, высевая регидратированные пробиотические препараты Бифидумбактерин и Лактобактерин, а в последующем – отобранные спонтанные мутанты, на плотные питательные среды с повышающимися концентрациями рифампицина от  $10 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$  до  $150 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ .

Отобранные мутанты бифидобактерий и лактобактерий, устойчивые к рифампицину ( $Rif^r$ -мутанты), стабильно сохраняли признак антибиотико-резистентности. Изучение популяционного состава мутантных бактерий по признаку антибиотико-резистентности на плотных питательных средах, содержащих рифампицин в концентрациях  $130 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ , свидетельствовало о сохранении бифидобактериями и лактобактериями наследственно закрепленного признака устойчивости к рифампицину ( $Rif^r$ -признака).

Мутантные бактерии, как и исходные бифидобактерии и лактобактерии, являются грамположительными. Размеры и форма микробных клеток представлены на электронных микрофотографиях (рисунки 1, 2). Размеры исходных бактерий и их  $Rif^r$ -мутантных производных соответствуют размерам микробных клеток бифидобактерий и лактобактерий, указанным в руководстве Берджи [17].

Более подробное изучение свойств мутантных бактерий свидетельствовало о сохранении ими своих видовых признаков: способность к росту на богатых питательных средах в микроаэрофильных условиях; морфологическая особенность колоний (нежная зернистость, коническая форма, которая более выражена у лактобактерий); бакте-

рии каталазоотрицательные, активно сбрасывают углеводы, желатину не разжижают (видовой признак лактобактерий) [17].

В экспериментах по изучению выживаемости пробиотических микробов в желудочно-кишечном тракте белых мышей и морских свинок использовали устойчивые к рифампицину культуры бифидобактерий и лактобактерий, выросшие на плотной питательной среде в микроаэрофильных условиях при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение 72 часов.

Суспензии бактерий на изотоническом растворе хлорида натрия вводили экспериментальным животным реос с помощью туберкулинового шприца с иглой, имеющей оливу на конце для предупреждения травматизации слизистой ротоглотки. Суточную дозу бактерий рассчитывали, исходя из инструкций по медицинскому применению препаратов Бифидумбактерина сухого и Лактобактерина сухого для взрослых, с учетом соотношения доз для различных видов животных в перерасчете на единицу поверхности тела.

Белым мышам вводили 2 раза в сутки по 130 тыс. бифидобактерий и по 26 млн. лактобактерий, морским свинкам – также 2 раза в сутки по 1,3 млн. бифидобактерий и по 265 млн. лактобактерий. Каждое из экспериментальных животных (4 группы по 10 животных в каждой) помещали в отдельный кювет и содержали согласно рекомендациям К.П.Ковалевского [18]. Отбор фекалий для бактериологического анализа осуществляли ежедневно на протяжении всего срока экспериментов, составлявшего 14 суток.

Отобранные фекалии суспендировали в изотоническом растворе хлорида натрия, помещали в центрифужные пробирки с крышками и после центрифугирования и осаждения непереваренных остатков пищи отбирали надосадочную жидкость, которую высевали на поверхность плотной питательной среды в чашках Петри, содержащей  $110 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$  рифампицина.

После инкубации чашек Петри с посевом суспензий фекальных масс в течение 72 часов в микроаэрофильных условиях при температуре  $37^\circ\text{C}$  определяли число выросших колоний и в последующем пересчитывали количество жизнеспособных бактерий на 1 г фекалий экспериментальных животных. Результаты бактериологического изучения фекалий белых мышей и морских свинок после перорального введения  $Rif^r$ -пробиотических микроорганизмов представлены в таблицах 1, 2 и в обобщенном виде – в таблице 3.

Как видно из представленных в таблицах 1 и 2 данных, в фекалиях животных, исследованных в первые сутки после начала перорального введения антибиотико-резистентных бифидобактерий и лактобактерий, не было выявлено соответствующих микроорганизмов, о чем свидетельствовало отсутствие выросших на поверхности плотной питательной среды с рифампицином характерных колоний. Но уже на вторые сутки эксперимента при высеве суспензий фекалий белых мышей и морских свинок на селективную питательную среду с рифампицином выявлялись колонии, соответствующие по морфологическим признакам колониям бифидобактерий и лактобактерий.

Далее, из представленных результатов бактериологического исследования фекалий белых мышей и морских свинок следует, что в течение 2 недель экспериментов происходило незначительное в сравнении с вводимыми суточными дозами пробиотических микроорганизмов их выделение с фекалиями из организма экспериментальных животных.

Выживаемость бифидобактерий в организме белых мышей и морских свинок составила соответственно 0,029% и 0,0022%, а лактобактерий – соответственно

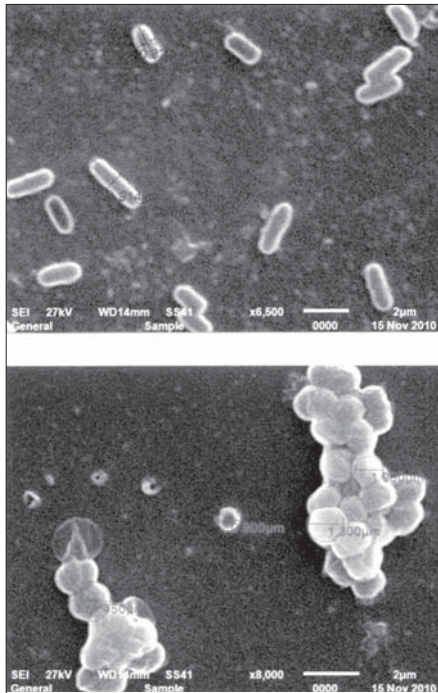


Рисунок 1 –  
Микроскопическая  
картина клеток  
исходных  
бифидобактерий (1)  
и их Rif<sup>r</sup>-мутантов  
(2). Электронная  
микроскопия.  
x6500 и 8000  
соответственно

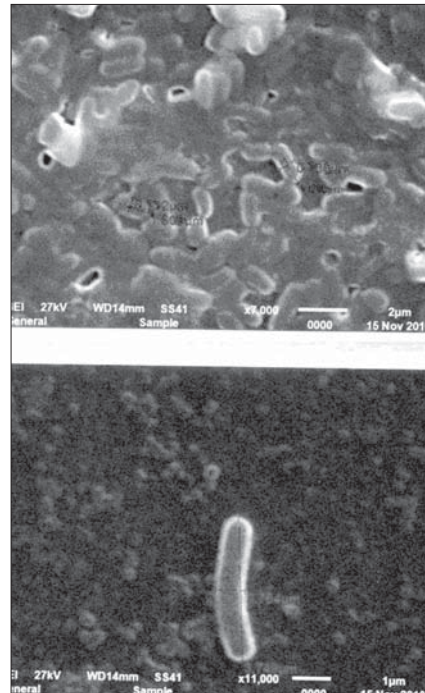


Рисунок 2 –  
Микроскопическая  
картина клеток  
исходных  
лактобактерий (1)  
и их Rif<sup>r</sup>-мутантов  
(2). Электронная  
микроскопия.  
x7000 и 11000  
соответственно

0,00038 % и 0,0000098 %. Полностью прекратилось выделение Rif<sup>r</sup>-мутантных бактерий на 3 сутки после последнего перорального их введения.

Сниженная численность популяций антибиотико-резистентных бифидобактерий и лактобактерий, преодолевших существующие барьеры желудочно-кишечного тракта белых мышей и морских свинок, которые впоследствии совсем перестали выделяться из кишечного содержимого животных, свидетельствует о транзитном характере пребывания пробиотических микроорганизмов в пищеварительном тракте животных.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В выступлениях ученых и клиницистов на гастроэнтерологическом симпозиуме «Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы» был затронут один из ключевых моментов, выражающийся в том, что «... выбор терапии должен быть корректным и направлен на то звено нарушенной регуляции, которое утратило возможность самовосстановления» [1; 2].

Таким звеном нарушенной регуляции является нормальная микрофлора, претерпевающая количественные и качественные изменения при дисбактериозах. Безусловно, пробиотики в комплексном лечении дисбактериозов «... создают эффект, но не всегда и не такой, как предполагалось» [1; 2].

Высказанная мысль о чужеродности пробиотических микроорганизмов и их отторжении организмом вследствие биологической несовместимости [11; 12] нашла свое подтверждение в наших исследованиях по изучению выживаемости пробиотических микроорганизмов в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека [8].

Получены экспериментальные доказательства того, что на численность бифидобактерий и лактобактерий отрицательное влияние оказывают кислая и сменяющая ее щелочная модельные среды, содержащие ферментные препараты ацидинпепсин и панзинорм форте 20000 соответственно, имитирующие *in vitro* условия пищеварения у человека.

Естественно, что в условиях *in vivo* на пробиотические микроорганизмы воздействует гораздо больше, чем в эксперименте *in vitro*, факторов, приводящих к гибели значительной части их популяции. Снижение численности популяции микроорганизмов пробиотиков ниже кри-

тической в соответствии с экологическими принципами ведет к гибели всей популяции.

Другой возможной причиной гибели микроорганизмов пробиотиков, на которую указано в работе, исходя из экспериментальных данных [8], может быть бионесовместимость по типу «хозяин против пробиотика» [19]. Эти и другие причины, на которые указывают теоретические и экспериментальные исследования Н.А. Глушановой [6], в комплексе оказывают негативное влияние на пробиотические микроорганизмы *in vivo*, что подтверждено настоящими исследованиями с использованием белых мышей и морских свинок.

Вводимые в течение 14 суток перорально экспериментальным животным маркированные по признаку устойчивости к рифампицину бифидобактерии и лактобактерии начинают обнаруживаться в фекалиях животных бактериологическим методом на 2 сутки эксперимента. Однако, начиная с 3 суток, после прекращения введения пробиотических микроорганизмов, они перестают обнаруживаться в фекалиях животных.

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что пробиотические микроорганизмы, уменьшаясь количественно, не приживаются в желудочно-кишечном тракте белых мышей и морских свинок, не включаются в состав биопленки нормальной микрофлоры и в составе внутрипросветной микрофлоры вместе с остатками непереваренной пищи и фекальными массами удаляются из организма. Созвучными с полученными нами результатами являются данные А.А. Ленцнера и др. [20], согласно которым пробиотические микробы не могут стать составной частью резидентной микрофлоры, а лишь способствуют ее восстановлению.

Результаты, опубликованные нами ранее [8] по изучению выживаемости пробиотических микроорганизмов в модельных условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения, получили, на наш взгляд, полное подтверждение в экспериментах *in vivo* в условиях нахождения пробиотиков в желудочно-кишечном тракте белых мышей и морских свинок. Обобщенные данные, представленные в таблице 3, наглядно демонстрируют аналогичное модельным условиям *in vitro* снижение концентрации живых пробиотических микроорганизмов на 4-7 lg КОЕ во время их транзита по желудочно-кишечному тракту лабораторных животных.

Полученные в настоящих исследованиях экспериментальные данные вполне согласуются с законом Г.Ф. Хильми [21] — одним из основных законов, регулирующих взаимоотношения в системе «общество - природа». Этот закон действует в любых экосистемах и, являясь по существу общесистемным, вполне применим к микробиологической системе кишечника экспериментальных животных и человека.

В соответствии с этим законом, пробиотические микроорганизмы, выращенные искусственно и поступающие в организм в составе препарата, являются малым системным образованием, которое постепенно меняет свою структуру и через некоторое время «растворяется» в существующей экосистеме. И чем выше разница между уровнем организации «островной биоты» и ее окружения — микробиологической системы кишечника, тем скорее происходит деградация «островной биоты», в данном конкретном случае популяции пробиотических микроорганизмов.

Справедливость закона Г.Ф. Хильми подтверждена данными Д.А. Воеводина и др. [22], согласно которым, при выращивании пробиотических микроорганизмов на искусственных питательных средах происходит их дезадаптация к условиям обитания в кишечнике, ослабление активности и снижение численности.

Механизм реализации закона Г.Ф. Хильми (закона обеднения разнородного вещества в островных его сгущениях) [21] применительно к взаимоотношениям пробиотических микроорганизмов и индигенной микрофлоры кишечника включает:

- гибель части популяции пробиотических микроорганизмов в ходе преодоления защитных барьеров желудочно-кишечного тракта;

- снижение популяции пробиотических микроорганизмов ниже критической, не позволяющей восстановиться и увеличить ее численность, а затем интегрироваться в био пленку пристеночной микрофлоры;

- колонизационную резистентность кишечника, микрофлора которого отторгает пробиотические микроорганизмы.

Представленные результаты ставят под сомнение существующий принцип заместительного действия пробиотикотерапии, что, безусловно, имеет важное практическое значение для реализации положений концепции пребиотической терапии, связанной с необходимостью поддержания и восстановления собственной микрофлоры кишечника, а не с попыткой его заселения хорошими, но «чужими» для него микроорганизмами.

В заключение необходимо отметить следующее:

- впервые разработана универсальная методика получения маркированных производных пробиотических микроорганизмов, позволяющая дифференцировать поступающие в организм пробиотические микроорганизмы от соответствующих штаммов собственной кишечной микрофлоры;

- получены экспериментальные данные о существенном — на 4-7 порядков снижении численности поступающих в организм подопытных животных пробиотических микроорганизмов, подтверждающих ранее полученные данные на модельных средах *in vitro* о снижении количества жизнеспособных пробиотических микроорганизмов на 3-5 порядков;

- с учетом полученных экспериментальных данных, считаем необходимым провести исследования в направлении изучения возможности приживания пробиотических микроорганизмов на основе гомопробиотических штаммов в пищеварительном тракте экспериментальных животных с бактериологически подтвержденным дисбиозом кишечника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ардатская М.Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: дис... д-ра мед. наук: защищена 2003 г. / М.Д. Ардатская. — М.: ФБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации, 2003. — 299 с.
2. Ардатская М.Д. Дисбактериоз кишечника: эволюция взглядов. Современные принципы диагностики и фармакологической коррекции / М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин // *Consilium medicum. Гастроэнтерология*. — 2006. — № 2. — С. 4-18.
3. Малахов Ю.А. Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека / Ю.А. Малахов // Матер. Всерос. конф. с международным участием 21-23 апреля 1999 г. — Москва, 1999. — С. 110.
4. Покровский В.И. Инфекционные болезни в конце XX века и санитарно-эпидемиологическое благополучие в России в XXI веке / В.И. Покровский, Г.Г. Онищенко, Б.Л. Черкасский // *Журн. микробиол.* — 2002. — № 3. — С. 16-23.
5. Кузнецова Г.Г. Пробиотикограмма — новый подход к коррекции дисбиотических отклонений в микробиоценозе толстой кишки / Г.Г. Кузнецова, С.А. Шевелева // *Здоровое питание населения России: матер. VII Всерос. конгр. 12-14 ноября 2003 г.*; гл. ред. В.А. Тутельян. — Москва, 2003. — С. 270-273.
6. Глушанова Н.А. Экспериментальное обоснование новых подходов к коррекции микробиоценоза кишечника: дис... д-ра мед. наук: защищена 2006 г. / Н.А. Глушанова. — ФГУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского», 2006. — 260 с.
7. Хавкин А.И. Коррекция дисбиотических изменений кишечника у детей на современном этапе / А.И. Хавкин, Н.С. Жихарева // *Русский мед. журн.* — 2004. — Т. 12. — № 16. — С. 960-963.
8. Дармов И.В. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека / И.В. Дармов, И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский и др. // *Эксперимент. и клин. гастроэнтерол.* — 2011. — № 3. — С. 6-11.
9. Заявка на выдачу патента РФ. Способ выявления жизнеспособности пробиотических микроорганизмов в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека / И.В. Дармов, И.Ю. Чичерин, А.С. Ердякова и др.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет». № 2011133426/17 (049416): заявл. 09.08.2011.
10. Дармов И.В. Сравнительная оценка выживаемости микроорганизмов пробиотиков в составе коммерческих препаратов в условиях *in vitro* / И.В. Дармов, И.Ю. Чичерин, А.С. Ердякова и др. // *Эксперимент. и клин. гастроэнтерол.* — 2011. — № 9. — С. 96-101.
11. Коршунов В.М. Рациональные подходы к проблеме коррекции микрофлоры кишечника / В.М. Коршунов, В.В. Смянов, Б.А. Ефимов // *Вест. РАМН*. — 1996. — № 2. — С. 60-65.
12. Lin J.Y.C. Genetic transformation of rifampicin resistance in *Lactobacillus acidophilus* / J.Y.C. Lin, D.C. Savage // *J. Gen. Microbiol.* — 1986. — Vol. 132. — № 8. — P. 2107-2111.
13. Иванов В.П. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информационное письмо / В.П. Иванов, А.Г. Бойцов, А.Д. Коваленко и др. — СПб.: Центр госсанэпиднадзора, 2002. — 31 с.
14. Лихачева А.Ю. Современное состояние вопроса таксономии бактерий рода *Lactobacillus* / А.Ю. Лихачева, В.М. Бондаренко, К.Я. Соколова // *Журн. микробиол.* — 1992. — № 9-10. — С. 74-78.
15. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике / Пер. с англ. Ю.Н. Зюграфа, Т.С. Ильиной, В.Г. Никифорова / Дж. Миллер. — М.: Мир, 1976. — 436 с.
16. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. — Л.: Медгиз, 1962. — 280 с.
17. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / Под ред. Дж. Хоулта и др. / Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина. — М.: Мир. — Т. 2. — 368 с.
18. Ковалевский К.Л. Содержание мелких лабораторных животных в вивариях / К.Л. Ковалевский. — М.: ОГИЗ СЕЛЬХОЗГИЗ, 1949. — 80 с.
19. Глушанова Н.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* / Н.А. Глушанова, Б.А. Шендеров // *Журн. микробиол.* — 2005. — № 2. — С. 56-61.
20. Ленцнер А.А. Лактофлора и колонизационная резистентность / А.А. Ленцнер, Х.П. Ленцнер, М.Э. Микельсаар и др. // *Антибиот. и мед. биотехнол.* — 1987. — Т. 32. — № 3. — С. 173-179.
21. Хильми Г.Ф. Основы биофизики биосферы / Г.Ф. Хильми. — Л.: Гидрометеоздат, 1966. — 272 с.
22. Воеводин Д.А. Роль дисбактериоза в формировании хронической инфекционной патологии у детей / Д.А. Воеводин, Г.Н. Розанова, М.А. Стенина и др. // *Журн. микробиол.* — 2001. — № 6. — С. 88-93.