

ЛИМФОЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АУТОШТАММОВ ГОМОПРОБИОТИЧЕСКИХ БИФИДОБАКТЕРИЙ И ЛАКТОБАКТЕРИЙ

И.П. Погорельский¹, И.Ю. Чичерин², И.А. Лундовских¹, И.В. Дармов¹, И.В. Маракулин¹

¹Вятский государственный университет, Киров

²Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад

The lymphocytotoxic effect of homoprotiotic bifidobacteria and lactobacilli autostrains

I.P. Pogorelsky¹, I.Yu. Chicherin², I.A. Lundovskikh¹, I.A. Darmov¹, I.V. Marakulin¹

¹Vyatka State University, Kirov

²Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad

Резюме. Представлены результаты экспериментального изучения лимфоцитотоксического действия аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий на лимфоциты крови морских свинок. В экспериментах использовали аутоштаммы гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий, выделенных из фекалий подопытных морских свинок. Выделение фракций лимфоцитов из крови морских свинок для постановки лимфоцитотоксического теста проводили согласно санитарным правилам СП 3.3.2.561-96. Выраженность повреждения лимфоцитов оценивали в баллах и путем подсчета цитотоксического индекса.

Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что под воздействием больших доз аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий происходит цитоллиз лишь небольшого количества лимфоцитов и, таким образом, реакция лимфоцитов с аутоштаммами гомопробиотических микроорганизмов не выходит за пределы физиологической нормы.

Ключевые слова: аутоштаммы, гомопробиотики, бифидобактерии, лактобактерии, лимфоциты, лимфоцитотоксический тест, морские свинки.

Введение

Неотъемлемой частью практической медицины стали разработанные микробиологические подходы к профилактике и лечению многих заболеваний человека, в частности, заболеваний желудочно-кишечного тракта [1, 2]. При этом пробиотики относят к одному из важнейших экзогенных факторов экологической реабилитации больных [3]. На протяжении многих лет они занимают особое место в комплексном лечении людей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта в связи с теми эффектами, которые регистрируются как объективно, так и субъективно, — улучшением самочувствия больного [4].

Однако лишь отдельные из большого числа клинических испытаний пробиотиков дали приемлемые оценки их эффективности [5]. Положительный эффект пробиотиков, созданных на осно-

Abstract. The results of the experimental studies of the lymphocytotoxic effect of homoprotiotic bifidobacteria and lactobacilli autostrains on lymphocytes of guinea pigs are presented. Autostrains of homoprotiotic bifidobacteria and lactobacilli isolated from the feces of guinea pigs were used in the experiments. Isolation of the fraction of lymphocytes from the blood of guinea pigs for lymphocytotoxic test was carried out according to the sanitary rules SP 3.3.2.561-96. Intensity of damage in lymphocytes was assessed by counting the points and the cytotoxic index.

The experimental results indicate that under the influence of large doses of homoprotiotic bifidobacteria and lactobacilli autostrains cytolysis occurs of only a small number of lymphocytes, and thus, the reaction of lymphocytes with autostrains of homoprotiotic bifidobacteria and lactobacilli is within the physiological range.

Key words: autostrains, homoprotiotics, bifidobacteria, lactobacilli, lymphocytes, lymphocytotoxic test, guinea pigs.

ве микроорганизмов, зачастую выделенных из нормальной кишечной микрофлоры, даже при длительном применении носит транзитный характер, а то и вовсе отсутствует [2–4, 6]. В то же время в инструкциях по медицинскому применению сертифицированных препаратов «Бифидумбактерин» и «Лактобактерин» есть рекомендации по увеличению доз принимаемых пробиотических препаратов в 5 раз с профилактической целью и в 5–10 раз при воспалительных заболеваниях.

С учетом данных о том, что большие дозы пробиотиков при длительных курсах применения (в течение 2–6 месяцев) могут стать причиной недостаточной эффективности лечения дисбиотических состояний и развития побочных эффектов [6], нами было изучено влияние пробиотических микроорганизмов бифидобактерий и лактобактерий на иммунную систему лабораторных живот-

ных в экспериментах с использованием лимфоцитотоксического теста. Этот тест [7–9] с некоторыми вариациями используется как в научных исследованиях, так и при оценке иммунобиологической безопасности вакцин [7] и технофильных микроорганизмов [10].

Результаты экспериментов свидетельствуют о подверженности лимфоцитов крови морских свинок цитолизу под воздействием больших доз пробиотических микроорганизмов бифидобактерий и лактобактерий, превышающих суточные дозы, рекомендованные инструкциями по медицинскому применению сертифицированных препаратов «Бифидобактерин» и «Лактобактерин», что выводит реакцию лимфоцитов за пределы физиологической нормы [11].

С учетом данных по изучению гомопробиотических микроорганизмов, свидетельствующих о том, что, наряду с видовой, они обладают индивидуальной специфичностью организма хозяина [12], представлялось целесообразным продолжить исследования в направлении изучения влияния аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий морских свинок на иммунную систему в эксперименте с использованием лимфоцитотоксического теста.

Цель исследования — экспериментальная оценка лимфоцитотоксического действия аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий, выделенных из фекалий морских свинок, на лимфоциты крови животных с использованием лимфоцитотоксического теста.

Материалы и методы

В экспериментах использовали аутоштаммы гомопробиотических микроорганизмов, идентифицированных как бифидобактерии и лактобактерии, выделенные из фекалий морских свинок. Чистые культуры гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий выделяли из суспензий фекалий на изотоническом растворе хлорида натрия на плотных питательных средах рекомендованного состава [14, 15] при инкубации в микроаэрофильных условиях с использованием системы для анаэробного культивирования Anaerobic system Mark III-LE003 (HiMedia Laboratories Pvt. LTD, Мумбаи, Индия) с пакетами газогенераторными Hi Anaero Gas Packet.

В работе использовали: гепарин 5000 ЕД·мл⁻¹ (ОАО «Синтез Курган», Россия); фикола (ПанЭКО, Россия); верографин (Спофа: Фарм-Группа, Чехия); трипановый синий (ДИА-М, Россия).

Выделение фракции лимфоцитов для постановки лимфоцитотоксического теста проводили согласно санитарным правилам СП 3.3.2.561-96 [7]. Для выделения фракции лимфоцитов использо-

вали кровь шести прошедших акклиматизацию морских свинок массой 250–300 г, беспородных, обоего пола.

Выраженность повреждения лимфоцитов оценивали в баллах (табл. 1) и путем подсчета цитотоксического индекса (ЦТИ) по приведенной ниже формуле [7].

Таблица 1

Выраженность повреждения лимфоцитов [8]

Число погибших клеток, процент	Балл	Результат
0–10	1	Отрицательный
11–20	2	Сомнительный
21–50	4	Слабо положительный
51–80	6	Положительный
81–100	8	Резко положительный

$$\text{ЦТИ} = 100 \times \frac{\% \text{ погибших клеток в опыте} - \% \text{ погибших клеток в контроле}}{100 - \% \text{ погибших клеток в контроле}}$$

При постановке лимфоцитотоксического теста были использованы агаровые культуры выделенных гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий. Постановку лимфоцитотоксического теста осуществляли в полистироловых планшетах. В лунки панели планшета вносили 0,1 мл взвеси лимфоцитов, в которой предварительно определяли их концентрацию, составившую 4,0·10⁶ кл·мл⁻¹, а также процент нежизнеспособных лимфоцитов при окраске трипановым синим.

В последующем в лунки, содержащие суспензии лимфоцитов, вносили по 0,1 мл суспензии аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий в соответствующих концентрациях. Планшеты с заполненными лунками инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 30 мин. По окончании инкубации в каждую лунку планшета добавляли рабочий раствор трипанового синего. Через 20–30 с взвесь из лунки помещали в счетную камеру Горяева (модель 851, ЛПО «Красногвардеец», Россия) для определений количества погибших лимфоцитов. Выбор доз пробиотических микроорганизмов был осуществлен на основании предварительного изучения их иммуномодулирующего действия при продолжительном (2 недели) пероральном поступлении в организм морских свинок в тесте спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Е-РОК) [9, 15].

Обработку результатов исследования проводили согласно рекомендациям, изложенным в руководстве И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [2].

Результаты и обсуждение

В предварительных опытах изучения иммуномодулирующего действия регидратированных пробиотических микроорганизмов бифидобактерий и лактобактерий было установлено, что их пероральное введение морским свинкам в дозах $1 \cdot 10^4$ и $1 \cdot 10^5$ бактерий не вызывало достоверного усиления розеткообразования в опыте в сравнении с контролем (количество Т-розеток в опыте соответственно вводимым дозам бактерий – 25,5% и 27,1% против 27,0% в контроле [11].

С учетом результатов теста спонтанного розеткообразования для постановки лимфоцитотоксического теста были определены следующие дозы

гомопробиотических микроорганизмов (КОЕ в 1 мл суспензии): для бифидобактерий – $1,0 \cdot 10^5$; $2,6 \cdot 10^6$; $1,3 \cdot 10^7$; $2,6 \cdot 10^7$; $2,6 \cdot 10^8$; для лактобактерий – $1,0 \cdot 10^5$; $5,3 \cdot 10^8$; $1,3 \cdot 10^7$; $2,6 \cdot 10^8$; $5,3 \cdot 10^9$; $5,3 \cdot 10^{10}$. Дозы аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий $2,6 \cdot 10^6$ КОЕ и лактобактерий $5,3 \cdot 10^8$ КОЕ соответствуют суточным дозам препаратов «Бифидумбактерин» и «Лактобактерин» для морских свинок с учетом переводного коэффициента и использованы нами в качестве контроля.

Оценочные показатели лимфоцитотоксического теста с гомопробиотическими бифидобактериями и лактобактериями представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Результаты лимфоцитотоксического теста с аутоштаммами гомопробиотических бифидобактерий

Номер животного	Определяемый показатель	Антилимфоцитарная активность бифидобактерий из бактериальных суспензий в концентрациях ... КОЕ·мл ⁻¹ , ($\bar{X} \pm I_{95}$)				
		$1,0 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^8$
1	Число погибших лимфоцитов, процент (ЦТИ)	9±2 (7,1)	12±3 (10,2)	13±4 (11,3)	14±3 (13,9)	19±10 (20,9)
2		7±3 (4,1)	10±4 (7,2)	12±4 (9,2)	13±3 (10,3)	16±4 (13,4)
3		8±3 (5,1)	9±4 (6,1)	14±5 (11,3)	16±3 (13,4)	19±5 (16,5)
4		9±4 (5,2)	11±5 (6,2)	13±4 (7,3)	15±4 (9,4)	18±5 (12,5)
5		8±4 (4,2)	9±5 (5,2)	11±4 (7,3)	12±5 (8,3)	18±6 (12,5)
6		9±3 (4,2)	10±4 (5,3)	11±5 (7,3)	11±4 (7,3)	19±4 (16,5)

Оценочный балл для концентрации бифидобактерий $1,0 \cdot 10^5$ – 1 (результат отрицательный); для концентрации $2,0 \cdot 10^6$ – 2/1 (результат сомнительный/ отрицательный); для концентрации $1,3 \cdot 10^7$ – $2,6 \cdot 10^8$ – 2 (результат сомнительный).

Таблица 3

Результаты лимфоцитотоксического теста с аутоштаммами гомопробиотических лактобактерий

Номер животного	Определяемый показатель	Антилимфоцитарная активность лактобактерий из бактериальных суспензий в концентрациях ... КОЕ·мл ⁻¹ , ($\bar{X} \pm I_{95}$)				
		$1,0 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^8$	$2,6 \cdot 10^9$	$5,3 \cdot 10^9$	$5,3 \cdot 10^{10}$
1	Число погибших лимфоцитов, процент (ЦТИ)	8±3 (5,1)	12±4 (7,4)	16±4 (12,5)	18±5 (14,6)	30±4 (27,1)
2		9±4 (5,2)	18±3 (14,6)	17±4 (13,5)	16±5 (12,5)	32±5 (29,1)
3		7±3 (3,1)	16±4 (12,5)	19±4 (15,6)	17±4 (13,5)	33±3 (29,5)
4		6±3 (3,1)	19±4 (15,6)	19±5 (15,6)	18±4 (14,6)	35±5 (31,6)
5		9±4 (4,2)	18±4 (14,6)	20±4 (16,7)	16±5 (12,5)	37±6 (34,3)
6		10±3 (5,2)	12±4 (7,4)	14±5 (9,5)	15±4 (10,5)	38±5 (35,4)

Оценочный балл для концентрации лактобактерий $1,0 \cdot 10^5$ – 1 (результат отрицательный); для концентрации $2,0 \cdot 10^8$, $2,6 \cdot 10^9$ – $5,3 \cdot 10^9$ – 2 (результат сомнительный); для концентрации $5,3 \cdot 10^{10}$ – 2 (результат слабо положительный).

Данные, представленные в таблицах 2 и 3, свидетельствуют о том, что лимфоциты морских свинок лишь в минимальной степени подвержены цитолиту под воздействием больших доз аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий. Так, при максимальной концентрации гомопробиотических бифидобактерий $2,6 \cdot 10^8$ КОЕ·мл⁻¹ число погибших лимфоцитов в среднем по 6 морским свинкам составило 18,9% (при среднем цитотоксическом индексе 15,4), в то время как аналогичные показатели при взаимодействии лимфоцитов морских свинок с бифидобактериями из пробиотика «Бифидумбактерин» [11] при одинаковых концентрациях бактерий составили 98% (ЦТИ 97,8).

При использовании для постановки лимфоцитотоксического теста гомопробиотических лактобактерий в дозе $5,3 \cdot 10^8$ КОЕ·мл⁻¹ реакция лимфоцитов оказалась слабо положительной. При этом аутоштаммы гомопробиотических лактобактерий в больших дозах оказывают более выраженное повреждающее действие на лимфоциты: число погибших лимфоцитов при максимальной концентрации лактобактерий $5,3 \cdot 10^{10}$ в среднем составило 34,2% (при цитотоксическом индексе 31,2) против аналогичных показателей, полученных при использовании лактобактерий пробиотика «Лактобактерин» [11], составивших 99% и 98,9% соответственно. Балльная оценка результатов лимфоцитотоксического теста с аутоштаммами гомопробиотических бифидобактерий в указанных дозах характеризует реакцию лимфоцитов морских свинок как сомнительную, а с аутоштаммами гомопробиотических лактобактерий — как слабо положительную.

Поиск новых эффективных методов коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, возникающих как при острых инфекционных заболеваниях и хронических воспалительных процессах, так и при заболеваниях желудочно-кишечного тракта различного генеза, дает возможность клиницистам целенаправленно проводить патогенетическое лечение основного заболевания [2, 4, 5].

Корректность терапии основного заболевания предполагает также ее направленность против того звена нарушений регуляции, которое утратило возможность самовосстановления. Зачастую таким звеном является кишечная микрофлора, для восстановления которой в современных условиях применяют пробиотики, пребиотики, синбиотики (сочетание пробиотиков и пребиотиков) и микробные метаболиты.

С расширением спектра используемых в клинической практике пробиотиков стали появляться сведения о том, что принципы современной заместительной терапии, состоящие в применении больших доз пробиотика длительными курсами, могут быть причиной недостаточной эффективно-

сти лечения дисбиотических состояний и возникновения побочных эффектов [6].

Так, при пероральном приеме пробиотиков, являющемся физиологическим путем введения антигенов и других биологически активных веществ в организм [17], наблюдается развитие выраженной макрофагальной реакции, что характерно для начала процесса иммунизации [18]. Важно при этом отметить, что длительное использование высоких доз пробиотических микроорганизмов (и, соответственно, их антигенов) может привести к истощению адаптационных резервов организма [19].

Механизм действия пребиотиков — препаратов немикробного происхождения основан на избирательном стимулировании роста или активации метаболической активности нормальной кишечной микрофлоры [2–4]. Синбиотики и микробные метаболиты также, в основном, оказывают стимулирующее влияние на собственную кишечную микрофлору. Таким образом, пробиотические микроорганизмы и в определенной степени синбиотики могут оказать отрицательное влияние на иммунную систему и макроорганизм в целом.

Ответная реакция микроорганизмов кишечной микрофлоры проявляется незамедлительно. Стремясь сохранить гомеостаз внутренней среды организма хозяина, крайне необходимый для поддержания жизнедеятельности, они осуществляют весьма эффективную дифференциацию представителей нормофлоры от экзогенных, в том числе условно-патогенных, симбионтов [20]. В масштабе целостного организма за функцию распознавания «своего» и «чужого» отвечает иммунная система, защищающая посредством различных механизмов врожденного и приобретенного иммунитета организм хозяина и обеспечивая гомеостаз его внутренней среды [21]. Именно на иммунную систему падает главная нагрузка по устранению нарушений гомеостаза, вызванных антигенным воздействием [22].

Вслед за экспериментальным изучением в опытах *in vitro* взаимоотношений лимфоцитов крови морских свинок с бифидобактериями и лактобактериями сертифицированных пробиотических препаратов «Бифидумбактерин» и «Лактобактерин», результаты которого однозначно свидетельствовали о том, что реакция лимфоцитов, контактирующих с большими дозами пробиотических микроорганизмов, выходит за пределы физиологической нормы [11], нами были продолжены исследования в этом направлении.

Так, при оценке влияния больших доз пробиотика Бифидумбактерин и микроорганизмов аутофлоры кишечника на организм белых мышей и показатели клеточного иммунитета была установлена возможность возникновения патологических состояний, приводящих даже к гибели животных [23]. Кроме того, были выявлены субпопуляцион-

ные сдвиги и изменения функциональной активности лимфоцитов у белых мышей, свидетельствующие об иммунобиологической перестройке в организме животных на фоне энтерального введения больших доз пробиотиков и микроорганизмов нормальной микрофлоры. В последнем случае антигенная нагрузка у животных сопровождалась достоверным по сравнению с фоновым значением ростом относительного и абсолютного количества T (CD⁺₄IFN- γ ⁺)-лимфоцитов хелперов, продуцирующих γ -интерферон. Выявленные субпопуляционные сдвиги и изменения функциональной активности лимфоцитов у белых мышей в общем укладываются в рамки иммунобиологической перестройки в организме животных на фоне энтерального введения больших доз микроорганизмов пробиотиков.

Сопоставляя полученные ранее результаты ответной реакции лимфоцитов морских свинок, контактирующих *in vitro* с большими дозами пробиотических микроорганизмов из коммерческих препаратов «Бифидумбактерин» и «Лактобактерин» [11], с результатами ответной реакции лимфоцитов, взаимодействующих с аутоштаммами гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий, выделенными из фекалий морских свинок и взятыми в тех же дозах, можно заметить существенные различия.

Так, при дозе пробиотических бифидобактерий, соответствующей суточной дозе для морских свинок, число погибших лимфоцитов составляет 11%, что не выходит за пределы ответной нормальной реакции [8]; увеличение дозы бифидобактерий в 10 раз приводит к возрастанию числа погибших лимфоцитов в 6,3 раза, составляя 69%. Пробиотические лактобактерии в дозе, соответствующей суточной дозе для морских свинок, инициируют в лимфоцитотоксическом тесте повреждение 19% лимфоцитов, а при возрастании дозы в 10 раз — 85% лимфоцитов (увеличение числа погибших лимфоцитов в 4,5 раза).

При постановке лимфоцитотоксического теста с аутоштаммами гомопробиотических бифидобактерий, взятых в дозе, соответствующей суточной дозе для морских свинок, количество погибших лимфоцитов составило 10%, а при увеличении дозы бифидобактерий в 10 раз — достигло 14%, что в 4,9 раза меньше значения, полученного с пробиотическими бифидобактериями. В случае использования аутоштаммов гомопробиотических лактобактерий в лимфоцитотоксическом тесте в дозе, равной суточной дозе для морских свинок, число поврежденных лимфоцитов составляет 16%; с увеличением дозы лактобактерий в 10 раз число поврежденных лимфоцитов — всего 17%, что в 5,0 раз меньше значения, полученного при постановке лимфоцитотоксического теста с пробиотическими лактобактериями.

Результаты лимфоцитотоксических тестов с пробиотическими бифидобактериями и лактобактериями, а также с аутоштаммами гомопробиотических микроорганизмов тех же видов, свидетельствуют о существенных различиях в реакции лимфоцитов на взаимодействие с пробиотическими бифидобактериями и лактобактериями, выделенными из коммерческих препаратов «Бифидобактерин» и «Лактобактерин», и с аутоштаммами бифидобактерий и лактобактерий, выделенными из кишечного содержимого тех животных, с лимфоцитами крови которых осуществлялась постановка лимфоцитотоксического теста.

Совершенно очевидно, что на собственную микрофлору (аутофлору) организма клетки иммунной системы морских свинок реагируют спокойно, т.е. в пределах нормальной реакции. Действительно, увеличение дозы аутоштаммов бифидобактерий в 10 раз повлекло за собой увеличение числа погибших лимфоцитов в 1,4 раза, а в случае аутоштаммов лактобактерий — в 1,1 раза. В то же время при постановке лимфоцитотоксического теста с пробиотическими бифидобактериями и лактобактериями при 10-кратном увеличении дозы этих микроорганизмов отмечалось соответствующее увеличение числа разрушенных лимфоцитов в 6,3 и 4,5 раза.

Таким образом, исходя из полученных результатов, становится очевидной гетерологичность пробиотических микроорганизмов для морских свинок: выделенные из другого организма и прошедшие стадию лиофилизации пробиотические микроорганизмы не только хуже приживаются в кишечнике нового хозяина [24], но и проявляют лимфоцитотоксические свойства, фиксируясь специфически на лимфоцитах, и в присутствии комплемента нарушают целостность клеточных мембран, что приводит к гибели лимфоцитов [7, 8].

Патологическая реакция лимфоцитов на пробиотические микроорганизмы — это признание их чужеродности по отношению к организму нового хозяина — морских свинок. Это означает, что аутоштаммы бифидобактерий и лактобактерий, доминирующие в кишечнике морских свинок, не являются чужеродными и не инициируют повреждения их клеточных мембран.

Полученные результаты согласуются с имеющимися в научной литературе данными, согласно которым формирование видовой индивидуальной и тканевой специфичности индивидуальной микрофлоры кишечника тесно связано с иммуногенетическими взаимодействиями микрофлоры и хозяина, что ведет к развитию индивидуальной иммунологической толерантности [25, 26].

Кроме того, настоящими исследованиями подтвержден вывод, сделанный нами ранее [27], о том,

что существующий принцип заместительного действия пробиотикотерапии на основе живых гетерологичных микроорганизмов должен быть критически переосмыслен в направлении обеспечения безопасного и эффективного положительного воздействия на нормальную микрофлору при дисбиотических нарушениях со стороны желудочно-кишечного тракта.

Выводы

1. В опытах *in vitro* изучено взаимодействие лимфоцитов крови морских свинок с аутоштаммами гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий с балльной оценкой повреждения лимфоцитов и определением лимфоцитотоксического индекса.

2. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что под воздействием больших доз аутоштаммов гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий происходит повреждение лишь небольшого количества лимфоцитов, что характеризует ответную реакцию лимфоцитов крови морских свинок как реакцию, не выходящую за пределы физиологической нормы.

3. Ответная реакция лимфоцитов на аутоштаммы гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий морских свинок подтверждает важность реализации положений концепции пребиотической терапии, связанной с необходимостью поддержания и восстановления собственной микрофлоры кишечника, а не с попыткой интродукции хороших, но чужеродных для него микроорганизмов.

Литература

1. Покровский, В.И. Человек и микроорганизмы. Здоровье и болезнь / В.И. Покровский // Вестн. РАМН. — 2000. — № 11. — С. 3–6.
2. Грачева, Н.М. Фруктолигосахариды и фруктополисахариды в комплексном лечении больных желудочно-кишечными заболеваниями с явлениями дисбактериоза кишечника / Н.М. Грачева [и др.] // Инф. Болезни. — 2010. — № 8 (1). — С. 107–111.
3. Чичерин, И.Ю. Пробиотики: вектор развития / И.Ю. Чичерин [и др.] // Практическая медицина. — 2012. — № 3. — С. 180–188.
4. Грачева, Н.М. Сравнительная оценка клинико-лабораторной эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта : отчет о клинико-лабораторном исследовании / Н.М. Грачева [и др.]. — М.: Московский НИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, 2010. — 23 с.
5. Lebenthal, E. Пробиотики: концепция лечебного применения, ожидающая своего признания / E. Lebenthal, Y. Lebenthal // Журн. микробиол. — 2003. — № 4. — С. 88–90.
6. Воеводин, Д.А. Роль дисбактериоза в формировании хронической инфекционной патологии у детей / Д.А. Воеводин [и др.] // Журн. микробиол. — 2011. — № 6. — С. 88–93.
7. Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов: Санитар-

ные правила СП 3.3.2.561-96: утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора России 31.10.1996 г., № 33: введ. в действие 31.10.1996 г. — М.: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1996. — 120 с.

8. Лимфоцитотоксический тест. — <http://medbiol.ru/medbiol/allerg/0019c.14a.htm> (дата обращения: 10.08.2012).

9. Экспериментальное обоснование ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды: методические указания: утв. Начальником Главного санитарно-профилактического Управления Минздрава СССР 11.06.1991 г. № 5789/1-91. — М.: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1993: 20 с.

10. Стяжкин, К.К. Экспериментальная оценка иммунотоксического действия штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 — деструктора токсичных фосфорорганических соединений / К.К. Стяжкин [и др.] // Теорет. и прикладн. экология. — 2012. — № 2. — С. 54–58.

11. Ердякова, А.С. Экспериментальная оценка лимфоцитотоксического действия бифидобактерий и лактобактерий / А.С. Ердякова [и др.] // Практическая медицина. — 2012. — № 3. — С. 194–196.

12. Tannock, G.W. The normal microflora: new concepts in health promotion / G.W. Tannock // Microbiol. Sci. — 1988. — № 5 (1). — P. 4–8.

13. Иванов, В.П. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника : информационное письмо / В.П. Иванов [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. Hopfer, H. The importance of cell-mediated immunity in course and severity of autoimmune anti-glomerular basement membranc disease in mice / Hopfer H. [et al.] // FASEB Journal. — 2003. — № 17. — P. 860–868.

16. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. — Л.: Медгиз, 196. — 280 с.

17. Воробьев, А.А. Физиологические пути введения антигенов и других биологически активных веществ в организм / А.А. Воробьев // Иммунология. — 2002. — № 23 (3). — С. 138–142.

18. Куваева, И.Б. Основные принципы отбора микроорганизмов для создания биологически активных добавок к пище с пробиотическим действием / И.Б. Куваева // Матер. Всерос. конф. с междунар. участием «Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека» (21–23 апреля 1999 г.). — М., 1999. — С. 77–79.

19. Панин, А.Н. Принципы и перспективы применения зубиотиков в животноводстве / А.Н. Панин, Н.И. Малик // Матер. Всерос. конф. с междунар. участием «Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека» (21–23 апреля 1999 г.). — М., 1999. — С. 22–23.

20. Бухарин, О.В. Микробное распознавание «свой-чужой» в условиях кишечного микросимбиоза человека / О.В. Бухарин, Н.Б. Перунова // Журн. микробиол. — 2011. — № 6. — С. 46–51.

21. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт. — М: Мир, 1991. — 328 с.

22. Воробьев А.А. Использование больших доз пробиотика Бифидумбактерина форте в лечении ОРВИ у детей / А.А. Воробьев [и др.] // Эпидем. и инф. Болезни. — 2004. — № 5. — С. 43–46.

23. Чичерин, И.Ю. Исследование влияния больших доз пробиотика Бифидумбактерин и микроорганизмов аутофлоры кишечника на организм белых мышей и показатели клеточного иммунитета / И.Ю. Чичерин [и др.]. — <http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>

24. Дармов, И.В. Выживаемость организмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных / И.В. Дармов [и др.] // Журн. инфектологии. — 2012. — № 4 (1). — С. 68–74.

25. Van der Waaij, D. The apparent role of the mucous membrane and the gut — associated lymphoid tissue in the selection of the normal resident flora of the digestive tract / D. van der Waaij // — 1986. — № 7 (1). — P. 4–7.

26. Подопрigора, Г.И. Медицинская гнотобиология / Г.И. Подопрigора. — М: Мед. информ. агентство, 2003. — 272 с.

27. Чичерин И.Ю. Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность / И.Ю. Чичерин [и др.]. — <http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>.

Авторский коллектив:

Погорельский Иван Петрович — профессор кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: (8332)32-16-50, e-mail: ipogorelsky@inbox.ru;

Чичерин Игорь Юрьевич — президент научного общества «Микробиота», к.м.н.; тел.: (496)547-53-00; e-mail: rpatron@mail.ru;

Лундовских Ирина Александровна — доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, к.х.н, доцент; тел.: (8332)32-16-50; e-mail: lundovskih@vyatsu.ru;

Дармов Илья Владимирович — заведующий кафедрой микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: (8332)32-16-50; e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru;

Маракулин Игорь Вадимович — профессор кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н.; тел.: (8332)32-16-50; e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru.