

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОБАЦИЛЛ, МИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТУЩЕЙ КУЛЬТУРЫ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8P-A3

И.Ю. Чичерин¹, И.П. Погорельский², И.А. Лундовских², А.А. Малов³, М.Р. Шабалина², И.В. Дармов²

¹Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад

²Вятский государственный университет, Киров

³33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт, Москва

Dynamics of the Content of Lactobacilli, Microbial Metabolites and Antimicrobial Activity of Growing Culture of *Lactobacillus Plantarum* 8P-A3

I.Yu. Chicherin¹, I.P. Pogorelskiy², I.A. Lundovskikh², A.A. Malov³, M.R. Shabalina², I.V. Darmov²

¹Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad

²Vyatka State University, Kirov

³33 Central Scientific Research Testing Institute, Moscow

Резюме. Изучена динамика содержания лактобацилл, микробных метаболитов и антибактериальной активности растущей культуры *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. В экспериментах использовали лактобациллы *L. plantarum* 8P-A3 и тест-микроорганизмы, выделенные из кишечного содержимого больных дисбактериозом. Изучение компонентного состава образцов надосадочной жидкости растущей культуры лактобацилл проводили методом газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием. К 54 ч культивирования содержание жизнеспособных микробных клеток в нативной культуре лактобацилл достигает $3,0 \cdot 10^9$ в 1 мл без последующего увеличения в процессе культивирования. Ведущим компонентом культуральной среды лактобацилл, обладающим антибактериальной активностью, является молочная кислота. Наряду с молочной кислотой, на долю которой приходится 70 % от общего количества метаболитов, в культуральной среде и надосадочной жидкости присутствуют соли фосфорной кислоты (14 %), а также аминокислоты, карбоновые кислоты, жирные кислоты, сахара и многоатомный спирт, в сумме составляющие до 16 % общего количества метаболитов. Установлено, что в процессе культивирования лактобацилл в жидкой питательной среде образуются метаболиты, обладающие антибактериальной активностью в отношении патогенных бактерий, вызывающих кишечные инфекции.

Ключевые слова: лактобациллы, метаболиты, молочная кислота, антибактериальная активность.

Введение

Широкая распространенность лактобацилл в окружающей среде, их присутствие в составе микробного консорциума в кишечном содержимом людей и животных, выраженный потенциал антимикробного действия определяют значительный интерес микробиологов и клиницистов

Abstract. The dynamics of the content of lactobacilli, microbial metabolites and antimicrobial activity of growing cultures of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 was studied. Lactobacilli *L. plantarum* 8P-A3 and test microorganisms isolated from the intestinal contents of patients with dysbacteriosis were used in experiments. Study of the component composition of growing culture supernatant of lactobacilli was carried out by gas liquid chromatography with mass selective detection. By 54 h of cultivation the content of viable microbial cells in the native culture of *Lactobacillus* achieves $3,0 \cdot 10^9$ in 1 mL without further increase during the cultivation. The principal component of lactobacilli culture medium possessing antibacterial activity is lactic acid. In addition to lactic acid, which accounts for 70 % of the total metabolites, the culture medium and the supernatant contain salts of phosphoric acid (14 %) as well as amino acids, carboxylic acids, fatty acids, sugars and polyhydric alcohol constituting of up to 16 % of the total metabolites. It is found that during the cultivation in liquid medium lactobacilli produce metabolites which possess antibacterial activity against pathogenic bacteria that cause intestinal infections.

Key words: lactobacilli, metabolites, lactic acid, antibacterial activity.

к этим микроорганизмам [1, 2]. Спектр антимикробной активности метаболитов лактобацилл направлен против шигелл, сальмонелл, клостридий, псевдомонад, стафилококков, стрептококков, листерий и некоторых видов грибов.

По данным М.В. Тюрина и соавт., эта активность наиболее выражена у следующих видов

лактобацилл: *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentii*, *L. casei*, *L. buchneri* [1]. Антагонизм лактобацилл, как это следует из опубликованных данных [1–3], обусловлен такими метаболитами, как молочная кислота, а также антимикробными и антибиотикоподобными соединениями – лизоцимом, перекисью водорода, бактериоцинами (лактацинами), короткоцепочечными жирными кислотами, диацетилом, гистамином и другими аминами.

В выполненных нами предыдущих исследованиях по изучению состава надосадочной жидкости нативной культуры пробиотических лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 было установлено, что основным ее компонентом является молочная кислота [4]. Особо важно то, что содержащиеся в надосадочной жидкости молочная кислота и другие метаболиты *L. plantarum* 8P-A3 обладают антибактериальной активностью *in vitro*, а также в опытах *in vivo*, защищая при пероральном введении конвенциональных белых мышей от энтерального заражения суспензиями вирулентных бактерий псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза [4].

Сочетание протективного эффекта с выраженным влиянием на восстановление нормальной кишечной микрофлоры у экспериментальных животных послужили основанием для понимания того, что концепция пробиотикотерапии начала наполняться новым содержанием, и вектор развития предопределен направлением и разработкой нового класса препаратов на основе метаболитов микроорганизмов [5].

На эволюцию взглядов на пробиотики и пробиотикотерапию указывает Б.А. Шендеров в пространном аналитическом обзоре, посвященном метабиотикам, то есть препаратам на основе метаболитов пробиотических микроорганизмов [6]. Важно также и то, что Б.А. Шендеров считает существующие в настоящее время штаммы пробиотических микроорганизмов «стартовыми штаммами», а по сути продуцентами метаболитов, перспективными для промышленного производства биологически активных соединений (метабиотиков) [6]. Такие соединения микробного происхождения, являясь основой для конструирования разнообразных метабиотиков, найдут практическое применение в пищевой промышленности и медицине [7].

В связи с тем, что для отработки биотехнологического процесса выделения микробных метаболитов немаловажное значение имеют сроки и количество их накопления в растущей культуре пробиотического микроорганизма, представлялось целесообразным провести исследование культуры пробиотических лактобацилл по указанным параметрам в процессе роста в жидкой питательной среде.

Цель исследования – изучение динамики содержания лактобацилл, микробных метаболитов и антибактериальной активности растущей культуры *L. plantarum* 8P-A3.

Материалы и методы

Бактерии штамма лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3, использованные в экспериментах, были получены из лиофилизированного пробиотического коммерческого препарата Лактобактерин (производство ФГУП «НПО Микроген»), Россия).

При изучении антибактериальной активности метаболитов культуры *L. plantarum* 8P-A3 были использованы культуры бактерий, выделенные из кишечного содержимого людей с симптомами дисбактериоза: *Escherichia coli* GM, *Yersinia enterocolitica* 1407, *Yersinia pseudotuberculosis* 147, *Bacillus mesentericus* JS.

Для выращивания нативной культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 использовали жидкую питательную среду, содержащую пептон, дрожжевой экстракт, витамины (B1, B5), глюкозу, стимуляторы роста (гемин и сульфит натрия), соль (хлорид натрия), твин-80. Выращивание лактобацилл в жидкой питательной среде проводили при температуре 37 °С в системе для анаэробного культивирования в течение 72 ч. Через определенные промежутки времени из растущей культуры отбирали образцы для определения количества микроорганизмов в единице объема, изучения антибактериальной активности, а также для проведения аналитических исследований.

Выращивание бактерий *E. coli* GM и *B. mesentericus* JS проводили на агаре Хоттингера при температуре 37 °С, а иерсиний псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* 147 и кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* 1407 с учетом их психрофильности – при пониженной температуре 16 °С.

Общее количество лактобацилл в культуре *L. plantarum* 8P-A3 определяли по стандарту мутности ОСО 42-28-85, 10 МЕ; количество живых микроорганизмов (КОЕ) – высевом соответствующих десятикратных серийных разведений исследуемых проб на плотные питательные среды [8] в чашках Петри и подсчетом выросших колоний по истечении времени инкубирования.

Надосадочную жидкость для исследования получали путем центрифугирования образцов растущей культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 при 3000 г в течение 15 мин.

Антибактериальную активность образцов надосадочной жидкости растущей культуры *L. plantarum* 8P-A3 определяли по методу J.H. Jorgensen и J.D. Turnidge [9]. В экспериментах в качестве контроля использовали кислоту молочную пищевую по ГОСТ 490-2006.

Изучение компонентного состава образцов надосадочной жидкости культуры *L. plantarum* 8P-A3 определяли методом газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием с использованием капиллярной колонки CB-WAX58 на приборе Shimadzu-QP2010 Plus. Экстракцию компонентов надосадочной жидкости проводили с использованием ацетонитрила.

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли согласно рекомендациям, изложенным в руководстве И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [10].

Результаты и обсуждение

Посевная доза бактерий при выращивании культуры *L. plantarum* 8P-A3 в жидкой питательной среде при температуре 37 °С в микроаэрофильных условиях составила $1 \cdot 10^8$ КОЕ·мл⁻¹. В течение всего цикла культивирования через определенные промежутки времени отбирали образцы растущей культуры для определения концентрации бактерий, получения надосадочной жидкости и определения ее кислотности. Результаты определений представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Результаты определения концентрации бактерий в растущей культуре *L. plantarum* 8P-A3

Продолжительность выращивания, ч	Показатели роста лактобацилл		
	Общее количество бактерий в 1 мл	Количество жизнеспособных бактерий в 1 мл	Значение pH культуральной среды, ед. pH
6	Менее $1 \cdot 10^9$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^8$	6,8
12	Менее $1 \cdot 10^9$	$(1,3 \pm 0,5) \cdot 10^8$	6,5
18	Менее $1 \cdot 10^9$	$(1,7 \pm 0,5) \cdot 10^8$	6,3
24	$(1,1 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^9$	5,2
30	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^9$	4,8
36	$(2,2 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(1,9 \pm 0,6) \cdot 10^9$	4,7
42	$(2,7 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(2,3 \pm 0,4) \cdot 10^9$	4,6
48	$(3,1 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,9 \pm 0,5) \cdot 10^9$	4,5
54	$(3,3 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(3,0 \pm 0,6) \cdot 10^9$	4,3
60	$(3,3 \pm 0,7) \cdot 10^9$	$(2,9 \pm 0,5) \cdot 10^9$	4,1
66	$(3,4 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,8 \pm 0,6) \cdot 10^9$	4,1
72	$(3,5 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(2,6 \pm 0,5) \cdot 10^9$	4,0

Представленные в таблице 1 и на рисунке 1 результаты свидетельствуют, что к 54 ч культивирования количество жизнеспособных лактобацилл достигло $3,0 \cdot 10^9$ клеток в 1 мл культуры. При этом динамично изменялись такие показатели,

как общее количество лактобацилл, количество жизнеспособных лактобацилл и кислотность культуральной среды. В процессе утилизации глюкозы, входящей в состав питательной среды, происходило закисление последней, и к концу культивирования на 72 ч значение pH достигло 4,0 ед. pH.



Рис. 1. Динамика роста бактерий *L. plantarum* 8P-A3 в жидкой питательной среде

Обращает на себя внимание также и то, что, начиная с 24 ч культивирования, отмечается расхождение значений общего количества микробных клеток и количества жизнеспособных клеток. После 54 ч культивирования (стационарной фазы) прослеживается наступление фазы ускоренной гибели, на протяжении которой наступает нарушение равновесия между стационарной фазой и быстротой гибели лактобацилл. В дальнейшем наступает фаза логарифмической гибели, когда отмирание лактобацилл происходит с постоянной скоростью, хотя оптическая концентрация микробных клеток почти не меняется.

Определение антибактериальной активности надосадочной жидкости, полученной из образцов растущей культуры лактобацилл на 24 ч, 42 ч, 48 ч и 60 ч культивирования при кислотности образцов 5,2 – 4,6 – 4,5 и 4,1 ед. pH соответственно, проводили в опытах *in vitro* по методу J.H. Jorgensen и J.D. Turnidge [9] с использованием бульонных культур *E. coli* GM, *Y. enterocolitica* 1407, *Y. pseudotuberculosis* 147, *B. mesentericus* JS (рис. 2).

Как следует из рисунка 2, вокруг тест-объектов, пропитанных надосадочной жидкостью образцов, полученных в разное время культивирования бацилл *L. plantarum* 8P-A3 путем центрифугирования растущей культуры, формируются зоны ингибирования роста бактерий кишечной палочки и иерсиний псевдотуберкулеза.

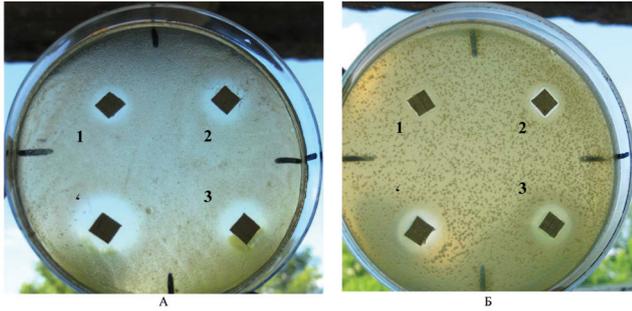


Рис. 2. Зоны ингибирования микробного роста бактерий *E. coli* GM (А) и *Y. pseudotuberculosis* 147 (Б) надосадочной жидкостью, полученной из образцов растущей культуры *L. plantarum* 8P-A3 на 24 ч (1), 42 ч (2), 48 ч (3) и 60 ч (4) культивирования

Наибольшая выраженность зон задержки роста бактерий наблюдается у образцов надосадочной жидкости, полученных из растущей культуры лактобацилл на 42 ч и 60 ч культивирования. Эта же тенденция прослеживается и в случае использования иерсиний *Y. enterocolitica* 1407 и бацилл *B. mesentericus* JS в качестве тест-культур. Кроме того, видовая принадлежность бактерий также имеет значение: образцы надосадочной жидкости обладают более выраженной бактерицидной активностью в отношении кишечной палочки *E. coli* GM, причем уже на 24 ч культивирования лактобацилл.

Использованная в качестве контроля молочная кислота также обладает антибактериальной активностью: формирование зон ингибирования роста иерсиний и бацилл вокруг тест-объектов, питанных растворами молочной кислоты, отмечается даже при ее концентрации $0,005 \text{ мкг}\cdot\text{мл}^{-1}$.

Результаты экспериментов *in vitro* по определению зон задержки микробного роста подтвердили наличие антагонистической активности образцов надосадочной жидкости растущей культуры *L. plantarum* 8P-A3, что послужило основанием изучения состава надосадочной жидкости, а также количественного содержания основного компонента в ней методом газожидкостной хроматографии (рис. 3).

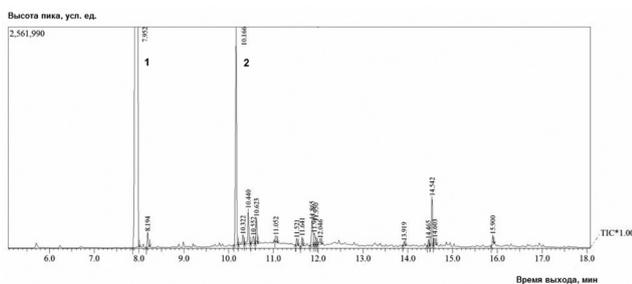


Рис. 3. Хроматограмма разделения компонентов надосадочной жидкости нативной культуры *L. plantarum* 8P-A3 (пик 1 — молочная кислота; пик 2 — соли фосфорной кислоты)

Как следует из представленной на рисунке 3 хроматограммы, ведущим компонентом надосадочной жидкости, полученной на 60 ч культивирования лактобацилл, является молочная кислота, составляющая 70 % от общего количества метаболитов. Вторым значимым компонентом надосадочной жидкости, содержание которого достигает 14%, являются соли фосфорной кислоты. Остальные компоненты, составляющие в сумме 16% от общего количества, включают аминокислоты (валин, треонин, аспарагиновая кислота), одноосновные карбоновые кислоты (масляная, пропионовая, бутандиоловая), трехатомно-одноосновную глицериновую кислоту, пирролидон-5-карбоксильную кислоту, жирные кислоты (транс-9-октадеценовая [элаидиновая] кислота и др.), многоатомный спирт и сахара.

Количественное определение молочной кислоты в надосадочной жидкости растущей культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 методом газожидкостной хроматографии позволило установить динамику ее накопления и относительное содержание в расчете на 1 микробную клетку (табл. 2).

Таблица 2

Динамика концентрации молочной кислоты в надосадочной жидкости растущей культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3

Продолжительность выращивания, ч	Содержание молочной кислоты в образцах, $\bar{X} \pm I_{95}$, $\text{мкг}\cdot\text{мл}^{-1}$	Относительное содержание молочной кислоты в расчете на одну микробную клетку
18	60 ± 8	$7,5 \cdot 10^{-8}$
24	390 ± 40	$3,5 \cdot 10^{-7}$
36	1650 ± 90	$7,5 \cdot 10^{-7}$
48	2380 ± 180	$7,7 \cdot 10^{-7}$
60	2400 ± 170	$7,3 \cdot 10^{-7}$

В последующем в образцах растущей культуры лактобацилл, отобранных на 66 ч и 72 ч культивирования, увеличения концентрации молочной кислоты отмечено не было. Спустя 2 недели хранения надосадочной жидкости, полученной центрифугированием нативной культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3, при температуре $(5 \pm 2)^\circ\text{C}$ содержание в ней молочной кислоты не уменьшилось.

Как следует из результатов, представленных в таблице 2, относительное содержание молочной кислоты в расчете на 1 микробную клетку после 24 ч культивирования лактобацилл стабилизируется. Это, по-видимому, обусловлено исчерпанием глюкозы, исходная концентрация которой в жидкой питательной среде соответствовала $6 \text{ мг}\cdot\text{мл}^{-1}$. Использование в процессе роста и размножения лактобациллами легкоусвояемого углевода приводит в конечном счете к прекращению образования

молочной кислоты и стабилизации ее содержания в растущей культуре.

Антимикробный потенциал лактобацилл хорошо известен [1–3]. Он обусловлен образованием при определенных условиях молочной кислоты, а также других антимикробных и антибиотикоподобных соединений, на которые обращает внимание Н.А. Глушанова в своей работе [3]. Экспериментами *in vitro* и *in vivo* было доказано, что спектр антимикробной активности метаболитов лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3, распространяющийся на многие возбудители кишечных инфекций [1–3], может быть расширен, в частности, по отношению к возбудителям псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза [4].

Поскольку установлено, что именно состав питательной среды и условия культивирования лактобацилл определяют антибактериальную активность, в том числе кислотообразование [3; 4; 11], важно было в эксперименте установить время появления антибактериальной активности растущей культуры лактобацилл, а также выявить динамику численности бактерий в процессе роста, состав метаболитов и, прежде всего, количество основного компонента нативной культуры – молочной кислоты.

Определение антибактериальной активности образцов надосадочной жидкости растущей культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3, полученных в разное время культивирования, позволило установить максимальную выраженность зон задержки роста индикаторных бактерий псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза, кишечной палочки и бацилл, которая соответствует 42–60 ч культивирования. При этом именно на 42 ч культивирования лактобацилл приходится завершение фазы экспоненциального роста и переход в фазу отрицательного ускорения, когда скорость размножения лактобацилл перестает быть максимальной, а число делящихся клеток начинает уменьшаться.

Одновременно с увеличением численности лактобацилл в культуральной среде происходило повышение ее кислотности, а с 60 ч культивирования показатель концентрации водородных ионов (рН) практически стабилизировался на уровне 4,1–4,0 ед. рН. Очевидно, что кислотность культуральной среды и полученной из нее надосадочной жидкости обусловлена накоплением молочной кислоты, содержание которой, как это следует из данных таблицы 2, начинает увеличиваться с 18 ч культивирования и к 60 ч достигает (2400 ± 170) мкг·мл⁻¹.

Молочная кислота надосадочной жидкости, полученной на 60 ч культивирования лактобацилл, составляет до 70 % от общего количества метаболитов, тогда как остальные определяемые компоненты надосадочной жидкости представлены солями фосфорной кислоты (14 %) и другими соединения-

ми (16 %), среди которых идентифицированы аминокислоты, карбоновые и жирные кислоты и др.

Расчет относительного содержания образовавшейся в процессе культивирования лактобацилл молочной кислоты, приходящегося на одну микробную клетку (см. табл. 2), свидетельствует о том, что уже с 36 ч культивирования этот показатель стабилизируется на уровне $(7,5-7,7) \cdot 10^{-7}$ мкг. Связано это, по-видимому, с тем, что к 36 ч культивирования микробные клетки переходят из зоны обеспечения питательным субстратом (глюкозой) в зону голодания. Этот переход происходит достаточно быстро, поэтому голодающие клетки не успевают перестроить свой метаболизм и энергетический обмен таким образом, чтобы наращивать образование молочной кислоты в условиях, когда началось отмирание лактобацилл с увеличением их некромассы.

С учетом результатов настоящей работы, а также результатов предыдущих исследований [4, 12, 13] можно утверждать, что наступило новое прочтение концепции пробиотикотерапии или ее естественное развитие, как это формулирует Б.А. Шендеров [6].

Создаваемые в ближайшем будущем на основе пробиотиков или с их помощью биологически активные соединения, получившие название «метабиотики», «постбиотики» и др., с известной структурой будут обладать способностью, с одной стороны, подавлять развитие в кишечнике патогенных бактерий, а с другой стороны – эффективно стимулировать размножение индигенной микрофлоры кишечника [6, 14]. И, по-видимому, следует солидаризироваться с утверждением Б.А. Шендера [6] о том, что будущие метабиотики окажутся более эффективными в профилактике и лечении микробиологических нарушений кишечника, чем традиционно используемые на протяжении длительного времени пробиотики.

Выводы

1. Изучена динамика содержания лактобацилл, микробных метаболитов и антибактериальной активности нативной культуры *L. plantarum* 8P-A3, выращенной в жидкой питательной среде. Установлено, что к 54 ч культивирования содержание жизнеспособных микробных клеток в нативной культуре достигло $3,0 \cdot 10^9$ в 1 мл без последующего увеличения в процессе культивирования.

2. Определен с использованием газожидкостной хроматографии состав надосадочной жидкости образцов нативной культуры лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3. Ведущим компонентом надосадочной жидкости лактобацилл является молочная кислота, содержание которой возросло с 60 мкг·мл⁻¹ на 18 ч культивирования до 2400 мкг·мл⁻¹ на 60 ч культивирования.

3. Установлено, что, наряду с основным компонентом надосадочной жидкости — молочной кислотой, на долю которой приходится 70% от общего количества метаболитов, в ней присутствуют соли фосфорной кислоты (14%), а также аминокислоты, карбоновые кислоты, жирные кислоты, сахара и многоатомный спирт, в сумме составляющие до 16% общего количества метаболитов.

4. Определение антибактериальной активности образцов надосадочной жидкости диско-диффузионным методом в отношении тест-микроорганизмов *E. coli* GM, *Y. pseudotuberculosis* 147, *Y. enterocolitica* 1407, *B. mesentericus* JS показало, что антибактериальная активность возрастала, начиная с 24 ч культивирования лактобацилл, достигая максимального значения к 60 ч выращивания микробной культуры.

Литература

1. Тюрин, М.В. К механизму антагонистической активности лактобацилл / М.В. Тюрин [и др.] // Журн. микробиол. — 1989. — № 2. — С. 3–8.
2. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание : в 3 т. — Т. 3. Пробиотики и функциональное питание / Б.А. Шендеров. — М.: ГРАНТЬ, 2001. — 289 с.
3. Глушанова, Н.А. Биологические свойства лактобацилл / Н.А. Глушанова // Бюл. сибирской медицины. — 2003. — № 4. — С. 50–58.
4. Чичерин, И.Ю. Антибактериальная активность и состав надосадочной жидкости нативной культуры *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 / И.Ю. Чичерин [и др.] // Журн. междунар. медицины. — 2013. — № 1. — С. 131–139.
5. Чичерин, И.Ю. Пробиотики: вектор развития / И.Ю. Чичерин [и др.] // Практическая медицина. — 2012. — № 3. — С. 180–188.
6. Shenderov, B.A. Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception / B.A. Shenderov // Microbiol Ecology in Health&Disease. — 2013. — V. 24. — P. 20399. — <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v24.20399>.
7. Шендеров, Б.А. Мишени и эффекты короткоцепочечных жирных кислот / Б.А. Шендеров // Современ. мед. наука. — 2013. — № 1–2. — С. 21–50.
8. Бондаренко, В.М. Методические рекомендации. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника / В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед. — М.: ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 2007. — 70 с.
9. Jorgensen, J.H. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods / J.H. Jorgensen, J.D. Turnidge // Manual of clinical microbiology. — 9th-ed ASM Press Press Washington, 2007. — P. 1152–1172.
10. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. — Л: Медгиз, 1962. — 280 с.
11. Baintner, F. Die wirkung von Na-und Ca-acrylat aux die milchsauregarund von buttermitteln unterschiedlicher vergarbarkeit / F. Baintner [et al.] // Wirtschaftseig Futter. — 1986. — V. 32, № 1. — P. 93–99.
12. Чичерин, И.Ю. Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе / И.Ю. Чичерин [и др.] // Журн. инфектол. — 2013. — Т. 5, № 1. — С. 75–82.
13. Чичерин, И.Ю. Экспериментальный псевдотуберкулез: оценка возможности профилактики, лечения и коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры / И.Ю. Чичерин [и др.] // Журн. инфектол. — 2012. — Т. 4, № 4. — С. 71–79.
14. Lebeer, S. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action / S. Lebeer, J. Vanderleyden, S.C.J. De Keersmaecker // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2008. — V. 72. — P. 728–764.

Авторский коллектив:

Чичерин Игорь Юрьевич — президент научного общества «Микробиота», к.м.н.; тел.: 8(496)547-53-00, e-mail: rpatron@mail.ru;

Погорельский Иван Петрович — профессор кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(8332) 32-16-50, e-mail: ipogorelsky@inbox.ru;

Лундовских Ирина Александровна — доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, к.х.н., доцент; тел.: 8(8332) 32-16-50, e-mail: lundovskih@vyatsu.ru;

Малов Антон Александрович — младший научный сотрудник 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института; тел.: 8 (8332) 32-16-50;

Шабалина Марина Робертовна — доцент кафедры высшей математики факультета прикладной математики и телекоммуникаций Вятского государственного университета, к.пед.н., доцент; тел.: 8(8332) 64-21-19, e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru;

Дармов Илья Владимирович — заведующий кафедрой микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(8332) 32-16-50, e-mail: darmov@vyatsu.ru