

Н.А. Глушанова, А.И. Блинов

О БИОЛОГИЧЕСКОЙ И АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ «СУХОГО» И «ЖИДКОГО» ПРОБИОТИКА «NARINE»

ГОУ ДПО Государственный институт усовершенствования врачей (Новокузнецк)

Методом совместного культивирования *in vitro* определена антагонистическая активность двух форм пробиотика *L. acidophilus* 317/402: «сухого», лиофилизированного, и «жидкого» физиологически активного, к 118 клиническим штаммам патогенных и условно-патогенных бактерий. Показано, что 70,33 % клинических штаммов бактерий проявляют чувствительность к «жидкому» пробиотику и 9,32 % к «сухому», лиофилизированному.

Ключевые слова: «сухой» и «жидкий» «Narine», антагонистическая активность

ON BIOLOGICAL AND ANTAGONISTIC ACTIVITY OF «DRY» AND «LIQUID» PROBIOTIC «NARINE»

N.A. Glushanova, A.I. Blinov

Novokuznetsk State Institute of Physicians' Training, Novokuznetsk

The antagonistic activity of two forms of probiotic *L. acidophilus* 317/402 («dry» and «liquid») to the 118 of the human strains patogenous and conditionally-patogenous of bacteria by the method of joint cultivating «in vitro» is determined. It is shown, that 70,33 % of human strains of bacteria are showed sensitivity to «liquid» probiotical lactobacilli, and only 9,32 % of human strains of bacteria are showed sensitivity to «dry» probiotical lactobacilli.

Key words: «Narine», «dry» and «liquid», antagonistic activity

Пробиотики являются одним из наиболее эффективных средств профилактики и лечения микробиологических расстройств. Их используют для коррекции дисбиозов при острых и хронических заболеваниях и дисфункциях желудочно-кишечного и репродуктивного тракта, при нарушениях обмена, после антибактериальной, гормональной, лучевой терапии, в дооперационном и послеоперационном периодах, при неблагоприятных экологических условиях. Вместе с тем, несмотря на значительный спектр имеющихся пробиотических препаратов, решить проблему эффективной коррекции дисбиозов не удается. Разработка и поиск средств, нормализующих все стороны микробиологических нарушений, стали одной из самых актуальных задач медицинской науки [1, 6].

В клинической практике наиболее широкое применение находят сухие формы пробиотиков. Однако лиофилизированные бактерии, длительно сохраняя жизнеспособность, для восстановления физиологической активности нуждаются в предварительной регидратации [9]. При размножении лиофилизированные бактерии даже в оптимальных условиях имеют более длительную лаг-фазу и полностью биологические свойства восстанавливают лишь после нескольких пассажей. Выживаемость высушенных бактерий при хранении определяется многими факторами [7] и такие препараты не всегда содержат первоначальное количество жизнеспособных клеток к концу срока хранения [11], что вызывает сомнения в их эффективности при непосредственном использовании. Так, было показано, что свежеприготовленный молочнокис-

лый колибактерин более эффективен по сравнению с лиофилизированной формой препарата [8].

В связи со сказанным, *in vitro* нами были проведены сравнительные экспериментальные исследования отдельных показателей биологической активности лиофилизированного и жидкого пробиотического препарата «Narine»: скорости накопления биомассы, содержания летучих жирных кислот, антагонистической активности в отношении некоторых патогенных и условно-патогенных бактерий.

МЕТОДИКА

В работе использовали 119 штаммов микроорганизмов, в том числе 1 пробиотический *L. acidophilus* 317/402 (лиофилизированный коммерческий препарат «Narine» ТУ 938566-003-01898664-2001, ООО «Нарат») и 118 штаммов, выделенных из клинического материала от больных гастроэнтерологического, хирургического, терапевтического отделений больницы № 1 г. Новокузнецка: 8 — *Salmonella typhi*, 27 — *Escherichia coli*, 20 — *Pseudomonas aeruginosa*, 13 — *Klebsiella pneumoniae*, 50 — *Staphylococcus aureus*.

Для культивирования испытуемых микроорганизмов применяли жидкую (№ 1) и плотную (№ 2) питательные среды. Состав жидкой питательной среды № 1: гидролизат обезжиренного молока (аминный азот 200–250 мг %) 250,0 мл; аутолизат дрожжей концентрированный (аминный азот 200–250 мг %) 100,0 мл; агар 0,8 г; вода дистиллированная до 1 литра; раствор едкого натра 20 % до рН 6,4 ± 0,1. Плотная питательная среда № 2 имеет аналогичный состав, но отличается увеличени-

ем содержания агара до 20 г/л. Питательные среды стерилизовали при температуре $(110 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 20 мин. Гидролизат обезжиренного молока и аутолизат дрожжей для приготовления питательных сред получали по разработанному нами способу [10].

В качестве «сухого» пробиотика использовали лиофилизированный коммерческий препарат *L. acidophilus* 317/402. Перед постановкой опытов препарат растворяли в стерильной дистиллированной воде до концентрации 1 млрд. колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл.

«Жидкий» пробиотик получали из лиофилизированного на питательной среде № 1. Для полного восстановления биологических свойств лиофилизированной культуры производили 3 пассажа на жидкой питательной среде. Содержимое флакона в асептических условиях растворяли в 5 мл питательной среды № 1 и переносили во флакон, содержащий 25–30 мл этой же питательной среды (первый пассаж). Посев инкубировали при 37°C в течение 16–18 часов, затем 10 мл полученной биомассы лактобацилл засеивали на 100 мл питательной среды и инкубировали в тех же условиях (2-й пассаж). Третий пассаж — посев 1 мл культуры второго пассажа на 100 мл питательной среды. Культуру после третьего пассажа титровали в питательной среде до 10^{-10} с последующей инкубацией при 37°C в течение 24 ч для определения титра. Как правило, получали титр не менее 5×10^{-9} КОЕ/мл. Для постановки опытов применяли жидкий лактобактерин, полученный после 3 пассажа с концентрацией 1 млрд. КОЕ/мл.

Определение динамики накопления биомассы *L. acidophilus* 317/402 при посеве сухого и жидкого препарата «Narine». При исследовании сухого препарата содержимое флакона с лиофилизированным пробиотиком «Narine» растворяли в 10 мл стерильной воды.

Для определения в сухом препарате количества жизнеспособных лактобацилл из полученной взвеси готовили серию десятикратных разведений в 4,5 мл питательной среды № 1 до 10^{-9} . Инкубировали посевы при 37°C в течение 24 ч.

Для исследования скорости накопления биомассы при посеве сухого препарата 1 мл из разведения 10^{-5} растворенного препарата засеивали в 100 мл жидкой питательной среды (получали разведение 10^{-7}). После перемешивания взвесь разливали по 10 мл в 7 пробирок для наблюдения за динамикой титров лактобацилл в разные сроки инкубации.

Для установления посевной дозы лактобацилл (КОЕ/мл) из полученного разведения 10^{-7} сделали ряд десятикратных разведений (4 пробирки по 4,5 мл питательной среды. Инкубация посевов при 37°C 24 ч.

Для исследования скорости накопления биомассы при посеве жидкого лактобактерина вначале по вышеуказанной методике получали жидкий препарат и стандартизовали, как указано выше до концентрации 1 млрд. КОЕ/мл. Из полученной

взвеси дозатором со съёмными наконечниками по 0,5 мл делали десятикратные разведения в 4,5 мл питательной среды до разведения 10^{-4} , из которого 1 мл засеивали в 100 мл среды для накопления биомассы, разливали по 10 мл в 7 пробирок для определения титра лактобацилл в процессе инкубирования, а также делали ряд десятикратных разведений для определения фактического исходного титра лактобацилл в жидком препарате (4 пробирки по 4,5 мл питательной среды, титрование по 0,5 мл, выдержка в термостате при 37°C в течение 24 ч).

Все посевы инкубировали при 37°C . Через каждые 4 часа отбирали по 1 пробирке и с помощью десятикратных разведений определяли титр лактобацилл по вышеуказанной методике. Для уменьшения погрешности опыта каждое определение осуществляли в десяти повторностях ($n = 10$).

Определение содержания летучих жирных кислот (ЛЖК) в «жидком» и «сухом» пробиотике «Narine» проведено в лаборатории молекулярной микробиологии МНИИЭМ им Г.Н. Габричевского (руководитель — к.б.н. О.А. Кондракова). Перед исследованием содержимое флакона «сухого» препарата «Narine» растворяли в 3 мл стерильной дистиллированной воды и определяли концентрацию жизнеспособных лактобацилл, которая составляла 1 млрд. КОЕ/мл. Концентрацию жизнеспособных лактобацилл в «жидком» лактобактерине «Narine» устанавливали также равной 1 млрд. КОЕ/мл.

Для определения качественного состава и количественного содержания ЛЖК применяли разделение подкисленного инфильтрата пробы на хроматографе «Цвет 100» с капиллярными колонками типа ФФРА диаметром 0,25 мм, длиной 350 м и пламенно-ионизационным детектором. Температура термостата 140°C , испарителя — 250°C , детектора — 280°C . Газ носитель — азот, расход газа носителя — 3 мл/мин, расход водорода — 30 мл/мин, расход воздуха — 300 мл/мин. Для расчета концентрации использовали метод внутреннего стандарта, который состоит в добавлении к определенной массе исследуемого материала вещества с известной массой и известной площадью пика. Пробоподготовка включала взвешивание образца с точностью до третьего знака, гомогенизирование путем энергичного встряхивания в смеси дистиллированной воды, 0,02N соляной кислоты, стандартного вещества и 0,01N HClO_4 . Пробу центрифугировали при 6000 об./мин. Надосадочную жидкость закалывали шприцем в испаритель хроматографа. Концентрацию каждой ЛЖК рассчитывали по массе стандартного вещества, добавленной к известной массе пробы, с учетом коэффициентов горения, получаемых экспериментально для каждой кислоты, используя формулу:

$$C_i = \frac{K_i \times S_i \times C_{cm}}{S_{cm}},$$

где: C_i , C_{cm} — концентрации стандарта и ЛЖК, S_i , S_{cm} — площади пиков, K_i — переводной коэффициент.

Определение антагонистической активности «сухого» и «жидкого» пробиотика «Narine» (*L. acidophilus* 317/402) в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий проводили методом совместного культивирования [4] на поверхности плотной питательной среды № 2. Для проведения экспериментов применяли 16–18-ти часовые культуры испытуемых бактерий, выращенные на жидкой питательной среде № 1. Метод совместного культивирования не применим в том случае, если испытуемые штаммы не способны к росту на указанных жидкой и плотной питательных средах при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа и 16 % кислорода. С целью предохранения посевов от загрязнения посторонними микроорганизмами постановку опытов проводили в боксе. Для постановки опыта одну испытуемую культуру бактериологической петлей диаметром 3 мм наносили на поверхность плотной питательной среды № 2 и оставляли при комнатной температуре до полного впитывания капли. Диаметр пятна от капли на поверхности среды равен 4–5 мм. После этого, той же петлей, отступив 1–2 мм от края пятна первой культуры, наносили каплю второй испытуемой культуры. Растекаясь, вторая капля затекает на пятно первой культуры, примерно на половину диаметра. В наложенной части культуры развиваются при взаимном присутствии (совместное культивирование), конкурируя друг с другом. Свободные части пятен каждой культуры служат контролем жизнеспособности культур. С целью более уверенной оценки антагонистической способности испытуемых штаммов каждый опыт ставили в двух повторностях, меняя последовательность нанесения культур. На одной чашке может быть поставлено до 15–20 опытов. Опыты удобно располагать рядами, разметив линиями дно чашки. Посевы инкубировали крышкой вниз при 37 °С в течение 18–48 ч в атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа и 16 % кислорода. Учет результатов осуществляли по наличию или отсутствию зоны

задержки роста, предварительно через 18–20 ч и окончательно через 48 ч инкубации.

Статистическая обработка полученных данных проведена на персональном компьютере с использованием программы «Биостатистика» (primer of Biostatistics version 4.03 by Stanton A. Glantz). Для оценки значимости различий в скорости накопления биомассы при посеве «сухого» и «жидкого» «Narine» использовали непараметрический критерий Фридмана χ_r^2 [2]. Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение динамики размножения и накопления биомассы в питательной среде № 1 при посевах равных количеств жизнеспособных клеток жидкого и сухого пробиотика «Narine» (табл. 1) показало, что при посеве жидкой культуры лактобацилл lag-фаза составляет менее 4 часов. Уже через 4 часа после посева отмечено нарастание титра лактобацилл на два порядка, с 3,3 до 5,4 Lg КОЕ/мл. При посеве лиофилизированного препарата лактобацилл lag-фаза значительно продолжительнее, нарастание титра на один порядок (от 3,4 до 4,6 Lg КОЕ/мл) происходит в течение 8 ч. Как видно из таблицы 1, различия значений титров лактобацилл наблюдаются в течение двенадцати часов. Критерий Фридмана для четырех моментов наблюдения (0, 4, 8 и 12 часов) равен 6,000 при уровне значимости $P = 0,042$, следовательно, различия статистически значимы [2].

Результаты исследования содержания летучих жирных кислот (ЛЖК) в сухом и жидком препаратах «Narine» показали (табл. 2), что качественный состав ЛЖК в препаратах, содержащих равные концентрации жизнеспособных лактобацилл, одинаков. Различия заключаются в количественном содержании ЛЖК. Так, в «жидком» препарате «Narine» содержится больше, чем в «сухом» следующие ЛЖК: уксусной (в 6 раз), изомасляной (в 3,9 раза), валериановой (в 30,7 раза), изовалериановой (в 30,7 раза), изомасляной (в 3,9 раза), валериановой (в 30,7 раза), изовалериановой (в 30,7 раза).

Таблица 1
Динамика накопления биомассы лактобацилл при посеве «жидкого» и «сухого» препарата «Narine» (*L. acidophilus* 317/402)

Время, час	Титр лактобацилл ($M \pm \sigma$) Lg КОЕ/мл, n = 10	
	Посев жидкого «Narine»	Посев сухого «Narine»
0	3,3 ± 0,11	3,4 ± 0,16
4	5,4 ± 0,27	4,0 ± 0,19
8	6,6 ± 0,31	4,6 ± 0,22
12	7,0 ± 0,33	6,0 ± 0,28
16	7,7 ± 0,37	7,6 ± 0,37
20	9,0 ± 0,43	8,6 ± 0,41
24	9,3 ± 0,44	9,3 ± 0,46
40	8,0 ± 0,39	8,0 ± 0,40

Примечание: n – количество определений; M – выборочное среднее; s – выборочное стандартное отклонение; Lg – десятичный логарифм; КОЕ – колониобразующая единица.

новой (в 4,8 раза), изокапроновой (в 3,3 раза) и капроновой (в 2,5 раза) кислот, и менее, чем в «сухом» препарате, масляной (в 2,6 раза).

Исследования антагонистической активности двух форм пробиотического препарата (табл. 3) показывают, что антагонистическая активность «сухого» лиофилизированного пробиотика *L. acidophilus* 317/402 значительно уступает «жидкому».

Так, если к «жидкому» пробиотику проявляли чувствительность 70,33 % штаммов, то к лиофилизированному — только 9,32 % изученных штаммов. Слабая антагонистическая активность «сухого» лиофилизированного пробиотика проявилась и в том, что его способны подавлять 74,57 % исследованных штаммов, в то время как «жидкий» пробиотик оказался подверженным ингибирующему действию только 20,33 % исследованных клинических штаммов. Недостаточную активность «сухого» лиофилизированного препарата «Narine» подтверждает и анализ чувствительности отдельных представителей разных видов и родов бактерий. Высокую устойчивость к антагонистическим воздействиям как «сухого», так и «жидкого» препарата *L. acidophilus* 317/402 проявлял *S. aureus*. К жидкому пробиотику были чувствительны чуть более

половины изученных штаммов *S. aureus* (26 из 50), незначительная часть штаммов (6 из 50) способна развиваться в присутствии *L. acidophilus* 317/402, т.е. относится к пробиотику «Narine» индифферентно, и более трети штаммов *S. aureus* (18 из 50) сами подавляют пробиотик. Еще более устойчив *S. aureus* к воздействию «сухого» *L. acidophilus* 317/402. Почти все изученные культуры *S. aureus* (47 из 50) подавляли рост «сухого» пробиотика «Narine» и лишь 3 из 50 штаммов *S. aureus* были к нему чувствительны.

Разная чувствительность к «сухим» и «жидким» препаратам «Narine» выявлена и у других микроорганизмов. Наиболее чувствительными к «жидкому» препарату *L. acidophilus* 317/402 оказались *S. typhi* и *P. aeruginosa*. Жидкий пробиотик «Narine» подавлял развитие всех изученных штаммов *S. typhi* и штаммов *P. aeruginosa*. К «сухому» пробиотику «Narine» проявляла чувствительность только половина (4 из 8) штаммов *S. typhi* и десятая часть штаммов (2 из 20) *P. aeruginosa*. При этом почти в половине случаев (9 из 20) *P. aeruginosa* способна к росту в присутствии «сухого» *L. acidophilus* 317/402 и такое же количество штаммов *P. aeruginosa* подавляли рост «сухого» *L. acidophilus* 317/402. Изучен-

Таблица 2

Содержание летучих жирных кислот в «сухом» и «жидком» пробиотике «Narine»

ЛЖК	Концентрация ЛЖК в препаратах «Narine», мг/г	
	В «сухом»	В «жидком»
Уксусная	0,655	3,994
Пропионовая	0,177	0,094
Изомасляная	0,019	0,074
Масляная	0,034	0,090
Изовалериановая	0,016	0,077
Валериановая	0,035	1,074
Изокапроновая	0,008	0,027
Капроновая	0,017	0,043

Таблица 3

Антагонистическая активность «сухого» и «жидкого» пробиотика «Narine»

Исследуемые бактерии	n	«Сухой» препарат «Narine»			«Жидкий» препарат «Narine»		
		Количество штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий					
		Чувствительных	Индифферентных	Подавляющих «Narine»	Чувствительных	Индифферентных	Подавляющих «Narine»
<i>E. coli</i>	27	2	8	17	18	3	6
<i>S. typhi</i>	8	4	0	4	8	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	20	2	9	9	20	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	13	0	2	11	11	2	0
<i>S. aureus</i>	50	3	0	47	26	6	18
Итого	118	11 (9,32 %)	19 (16,10 %)	88 (74,57 %)	83 (70,33 %)	11 (9,32 %)	24 (20,33 %)

Примечание: n – количество штаммов.

ные штаммы *K. pneumoniae* обладали полной нечувствительностью к «сухому» «Narine»: из 13 штаммов 2 росли в присутствии пробиотика и 11 штаммов угнетали развитие пробиотика. Сходную картину взаимоотношений с «сухим» и «жидким» пробиотиком «Narine» обнаруживает изучение *E. coli*. К действию «сухого» пробиотика оказались чувствительными только две культуры, восемь относились к нему безразлично, а 17 штаммов даже подавляли рост «сухого» пробиотика «Narine».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные, характеризующие биологическую активность жидких и лиофилизированных препаратов лактобацилл, показывают наличие заметных различий. Исследование скорости размножения сухого и жидкого препаратов в питательной среде выявили существенное отставание интенсивности пролиферации лиофилизированных лактобацилл в течение первых 12 часов инкубации. В более поздние сроки, начиная с 16 часов инкубации концентрация биомассы лактобацилл в обоих посевах практически уравнивается. Можно предположить, что причиной первоначально несколько замедленного размножения и накопления биомассы при посеве лиофилизированного препарата лактобацилл служит необходимость определенного времени для предварительной регидратации бактерий и активации ферментных систем. Полученные данные показывают, что выявленные различия в скорости пролиферации сухих и жидких препаратов в искусственной питательной среде не играют существенной роли при изготовлении жидких препаратов пробиотиков на основе лактобацилл. Однако *in vivo*, при введении в организм, замедленное восстановление биологических свойств лиофилизированных лактобацилл может отразиться на скорости и интенсивности их адгезии к соответствующим рецепторам слизистой оболочки. При нормальной скорости движения кишечного содержимого значительная часть лиофилизированных пробиотических лактобацилл может быть выведена из кишечника, не успев восстановить биологические свойства и колонизировать слизистую оболочку. Наиболее актуально это при назначении «сухих» пробиотиков детям младшего возраста, отличающихся ускоренным транзитом химуса. Таким образом, литературные сведения о недостаточной эффективности лиофилизированных пробиотиков находят экспериментальное подтверждение.

Исследования содержания таких продуктов метаболизма лактобацилл как ЛЖК, выявили несколько сниженное их количество в лиофилизированном препарате, по сравнению с жидким пробиотиком. Причины этого, вероятно, связаны с особенностями использованной технологии лиофилизации, так как при лиофильной сушке культуральную жидкость, в которой накапливаются ЛЖК, заменяют специальной средой высушивания, обеспечивающей более продолжительное сохранение жизнеспособности бактерий. Кроме того, ЛЖК, содержащиеся в куль-

туральной жидкости, могут теряться в процессе вакуумного высушивания [7]. Повышенное содержание пропионовой кислоты в «сухом» препарате «Narine», по-видимому, связано с различиями в составе питательных сред, применяемых для накопления биомассы. Можно предполагать, что пониженное содержание в лиофилизированных препаратах ЛЖК, обладающих регулируемыми и бактерицидными свойствами также может отражаться на эффективности бактериотерапии.

Наибольший интерес представляют данные сравнительного исследования антагонистической активности *in vitro* «жидкого» и «сухого» пробиотика «Narine», которые свидетельствуют о невысокой антагонистической активности лиофилизированных пробиотических препаратов и их слабой способности подавлять размножение изученных патогенных и условно-патогенных бактерий. Причины этого, возможно, заключаются в изложенных выше особенностях пролиферации лиофилизированных лактобацилл: более продолжительной адаптации и восстановлении физиологических свойств по сравнению с жидкими. Можно предположить, что *in vivo* ослабленный лиофилизацией пробиотик, попадая в условия жесткой конкуренции с агрессивным микроокружением в виде многочисленной резидентной микрофлоры или чрезмерно размножившихся условно-патогенных бактерий, имеет незначительные возможности к адгезии на специфических рецепторах слизистой, размножению, колонизации и активному осуществлению антагонистических функций. Наши экспериментальные данные *in vivo*, полученные на животных, подтверждают это предположение [3, 5]. Вероятно, этим объясняется не всегда убедительная клиническая эффективность бактериотерапии лиофилизированными пробиотическими препаратами. Следовательно, этот недостаток лиофилизированных пробиотиков существенно недооценивается. В результате на практике с целью подавления патогенной и условно-патогенной микрофлоры при дисбактериозе назначается бактериотерапия, не соответствующая реальной антибактериальной активности пробиотика. Кроме того, при назначении пробиотических препаратов не учитывается различный спектр антибактериальной активности каждого из них в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий. По-видимому, в терапевтических целях для более активного вытеснения патогенных и условно-патогенных бактерий предпочтительнее использовать «жидкие» препараты на основе живых физиологически активных пробиотиков. При этом до начала бактериотерапии необходимо предварительное лабораторное определение чувствительности выделенного возбудителя к антагонистическим воздействиям нескольких пробиотиков для обоснованного выбора наиболее активного препарата.

Таким образом, биологические свойства «сухих» и «жидких» препаратов пробиотиков значительно отличаются, что может отражаться на результатах их клинического применения. Существование биологических различий в активности

сухих и жидких пробиотиков диктует необходимость учета их особенностей для обоснованного выбора препарата для достижения конкретной цели бактериотерапии. Вместе с тем, для более объективного суждения о том, имеют ли выявленные *in vitro* различия антагонистической активности «сухих» и «жидких» пробиотиков практическую значимость, требуются дополнительные экспериментальные и клинические исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.А. Мир микробов / А.А. Воробьев, А.Л. Гинцбург, В.М. Бондаренко // Вестн. РАМН. — 2000. — № 11. — С. 11–14.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
3. Глушанова Н.А. Колонизация кишечника лиофилизированными и жидкими препаратами гетеропробиотических лактобацилл (экспериментальное исследование) / Н.А. Глушанова, А.И. Блинов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2004. — № 1. — С. 177–183.
4. Глушанова Н.А. Лактобациллы в исследовании и коррекции резидентной микрофлоры человека: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Челябинская гос. мед. академия. — Челябинск, 1999. — 29 с.
5. Глушанова Н.А. Частичная деконтаминация кишечника и ее коррекция лиофилизированным и жидким препаратами гетеропробиотических лак-

- тобацилл / Н.А. Глушанова, А.И. Блинов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2004. — № 1. — С. 183–188.
6. Дисбактериозы — актуальная проблема медицины / А.А. Воробьев, Н.А. Абрамов., М.В. Бондаренко, Б.А. Шендеров // Вест. РАМН. — 1997. — № 3. — С. 4–7.
7. Долинов К.Е. Основы технологии сухих биопрепаратов / К.Е. Долинов. — М.: Медицина, 1969. — С. 152–219.
8. Малова А.А. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у больных с аллергодерматозами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Казанская медицинская академия. — Казань, 1997. — 21 с.
9. Методы микробиологического контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов: Методические указания МУК 4.2.577.96. — М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1998. — 95 с.
10. Способ выделения бактерий рода *Lactobacillus* из клинического материала: Пат. 2154822 Россия, МКИ⁷ G01N 33/48, C12N 1/20. / Н.А. Глушанова, А.И. Блинов, Б.М. Дворецкий (Новокузнецкий институт усовершенствования врачей). № 99109319/14. Заявл. 29.04.1999. Опубл. 20.08.2000.
11. Larkin M. Probiotics strain for credibility / M. Larkin // Lancet. — 27/11/99. — Vol. 354, I. 9193. — P. 1884, 1p, 1bw. Item Number: 2542351.