

УДК 573.6.086.835:579.8

## ТЕХНОЛОГИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖИДКОЙ ФОРМЫ ВETERИНАРНОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ШТАММА *LACTOBACILLUS PARACASEI*

Позолотина Н.В., Дармов И.В., Маракулин И.В., Погорельский И.П.

ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет», Киров, e-mail: [biologiavgu@yandex.ru](mailto:biologiavgu@yandex.ru)

Описана технология приготовления жидкой формы ветеринарного пробиотического препарата на основе штамма *Lactobacillus paracasei*. Экспериментально обоснованы условия глубинного культивирования лактобактерий в жидкой питательной среде МРС на капустном отваре: скорость аэрирования – 4 л/мин, скорость вращения мешалки – 60 об./мин, pH – 8 ед., температура –  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , время культивирования – 18 часов. Подобраны стабилизирующие добавки, обеспечивающие высокую выживаемость лактобактерий в нативной культуре в процессе хранения. Наибольшую выживаемость в течение первых 14 суток хранения жидкого препарата обеспечивают аскорбиновая кислота в концентрации 0,3% и сахаразы в концентрации 10%. При хранении в течение 35 суток наибольшая выживаемость лактобактерий достигалась при внесении в биопрепарат сахаразы в конечной концентрации 10%. С целью сокращения срока получения биопрепарата предлагается использовать приготовленные заранее и хранящиеся в замороженном состоянии посевные культуры с добавлением в качестве криопротектора глицерина до конечной концентрации 10%.

**Ключевые слова:** пробиотики, лактобактерии, глубинное культивирование, посевная культура

## TECHNOLOGY OF PREPARING THE LIQUID FORM OF THE VETERINARY PROBIOTIC ON THE BASIS OF THE STRAIN *LACTOBACILLUS PARACASEI*

Pozolotina N.V., Darmov I.V., Marakulin I.V., Pogorelskiy I.P.

Federal Government-financed Educational Institution of Higher Professional Education  
Vyatka State University, Kirov, e-mail: [biologiavgu@yandex.ru](mailto:biologiavgu@yandex.ru)

We have described technology of preparing the liquid form of the veterinary probiotic on the basis of the strain *Lactobacillus paracasei*. The following conditions are submerged cultivation of lactobacillus in liquid medium MRS on cabbage broth were optimized: aeration rate – 4 l/min, stirrer speed – 60 rev./min, pH – 8 units, cultivation temperature –  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , cultivation time – 18 hours. We have selected stabilizing additives provide high survival of lactic bacteria in a culture liquid during long-term storage. The highest survival rates during the first 14 days of storage of the liquid preparation provide ascorbic acid in a concentration of 0,3% and sucrose in a concentration of 10%. When stored for 35 days maximum survival of lactic acid bacteria was achieved by the introduction of a biological product of sucrose to a final concentration of 10%. In order to reduce the preparing time of the probiotic we used seed cultures in a frozen state with the addition of glycerol as a cryoprotectant at a final concentration of 10%.

**Keywords:** probiotic, lactobacterium, submerged cultivation, inoculum

В последнее время интерес к проблеме применения пробиотиков в ветеринарной практике значительно повысился. Идет поиск новых видов микроорганизмов, перспективных для использования в составе пробиотических препаратов, совершенствуется технология их производства, создаются новые биопрепараты оригинального состава. Наблюдается устойчивая тенденция замещения пробиотическими препаратами антибиотиков, которые наиболее широко применяются в животноводстве с целью профилактики и лечения кишечных инфекций.

Основу большинства пробиотиков составляют различные виды антагонистически активных микроорганизмов: лактобацилл, бифидобактерий, энтерококков и др., выделенных из организма человека, продуктов питания или объектов внешней среды. Однако в последнее время интерес исследователей привлекают гомопробиотические микроорганизмы, предназначенные для использования

в отношении того вида животных, из организма которых они были выделены [7].

Преимущества использования гомопробиотических штаммов в составе биопрепаратов связаны с тем, что выживаемость гомологичных бактерий в желудочно-кишечном тракте макроорганизма выше, чем чужеродных, из-за несоответствия новым условиям структуры адгезивных рецепторов, спектра вырабатываемых ферментов. Кроме того, часто чужеродные бактерии несовместимы с аутохтонной микрофлорой хозяина, поэтому их персистенция в желудочно-кишечном тракте кратковременна и не всегда обеспечивает положительный эффект от применения пробиотического препарата [5].

Лечебное действие биопрепарата зависит не только от входящего в его состав пробиотического штамма, но и от стабильности сохранения им полезных свойств на протяжении срока хранения пробиотика.

Препараты, в состав которых входят лиофильно высушенные бактерии, способны достаточно долго храниться (до 1 года) и не очень требовательны к кратковременным изменениям температурных условий хранения. Но у них есть существенный недостаток – требуется 8–10 часов для их перехода от анабиоза к активному физиологическому состоянию. К тому же в процессе высушивания клетки теряют специфические рецепторы, которые обеспечивают их адгезию к эпителию слизистой кишечника, и время их пребывания в организме снижается. Также следует отметить, что лиофилизированные формы пробиотиков значительно дороже жидких биопрепаратов.

Бактериальные клетки в составе жидких препаратов остаются в физиологически активном состоянии и способны к колонизации желудочно-кишечного тракта уже через 2 часа после попадания в организм. Жидкие биопрепараты, кроме бактерий, содержат продукты их метаболизма, которые являются дополнительными лечебными факторами.

Качество бакпрепаратов формируется на этапах их изготовления и во многом зависит от компонентного состава и питательной ценности сред, используемых для культивирования микроорганизмов, особенностей технологического процесса получения биомассы для любых форм пробиотиков – как жидких, так и сухих [2].

Технология получения пробиотического препарата представляет собой многоэтапный процесс, включающий инокуляцию питательного бульона регидратированной сухой эталонной культурой, получение бульонной культуры во флаконах объемом 150–200 мл, получение посевных культур микроорганизмов путем выращивания в колбах объемом 500–1000 мл, глубинное культивирование в биореакторах разного объема, концентрирование суспензии и т.д. Для оптимизации технологической цепочки производства биопрепарата возможно сокращение количества этапов культивирования микроорганизмов. С этой целью, как правило, оптимизируют этап приготовления посевных культур [4].

Исходя из изложенного, наиболее высоким пробиотическим потенциалом обладают биопрепараты в жидкой форме на основе гомопробиотических микроорганизмов. Целью данного исследования является оптимизация технологии приготовления жидкой формы биопрепарата на основе гомопробиотического штамма *Lactobacillus paracasei*, предназначенного для лечения и профилактики дисбактериозов у поросят отъемышей.

## Материалы и методы исследования

Объектом исследования является штамм *Lactobacillus paracasei*, выделенный в 2012 г. из кишечного содержимого молочного поросенка. Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ГосНИИГенетики (г. Москва) в 2014 г. Данный штамм признан перспективным для создания пробиотического препарата ветеринарного назначения, так как обладает высокой антагонистической и адгезивной активностями, высоким уровнем кислотообразования, хорошим потенциалом накопления биомассы, а также устойчивостью к ряду антимикробных препаратов, используемых для профилактики и лечения дисбиотических состояний у поросят [6].

Для приготовления на основе штамма *L. paracasei* жидкой формы ветеринарного пробиотического препарата необходимо было провести ряд исследований, в частности выбрать питательную среду, отработать режим глубинного культивирования и условия получения концентрированных культур лактобактерий, осуществить выбор стабилизирующих добавок, обеспечивающих высокую выживаемость лактобацилл в биопрепарате в процессе длительного хранения.

В экспериментах по выбору питательной среды для глубинного выращивания штамма *Lactobacillus paracasei* использовали две жидкие питательные среды с разными концентрациями водородных ионов: 5,0; 6,3 и 8,0 ед. pH: среду МРС на капустном отваре [3] и готовую коммерческую среду МРС-1 производства *HiMedia Laboratories*. Одновременно изучали влияние интенсивности аэрации культуральной жидкости на скорость накопления биомассы. Суточные агаровые культуры в концентрации  $(4,0-4,5) \cdot 10^{10}$  м.к./мл в объеме 0,1 мл засеивали в жидкие питательные среды МРС на капустном отваре и МРС-1 во флаконах объемом 100 мл. Объем питательной среды во флаконах составлял 40 мл. Инкубирование осуществляли в течение одних суток при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в статических условиях или при встряхивании на шуттель-аппарате. Концентрацию микробов определяли с помощью спектрофотометрического метода с использованием спектрофотометра КФК-2 (Россия) при длине волны 540 нм.

Для получения посевных культур лактобактерий выращивали в жидкой питательной среде МРС на капустном отваре в колбах емкостью 500 мл. Объем питательной среды в колбе составлял 100 мл. Инкубирование осуществляли при шуттелировании (100 об/мин) в течение 18 часов при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Для концентрирования суспензии лактобацилл колбы с выращенной культурой помещали в холодильник при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$  на 48 часов. Надосадочную жидкость декантировали, а к полученной суспензии добавляли стерильный глицерин до конечной концентрации 10%, перемешивали. Суспензию разливали по 50 мл в стеклянные флаконы и помещали в низкотемпературный холодильник на хранение при температуре минус  $(70 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

Обработку режимов глубинного культивирования лактобацилл проводили на биореакторе типа *LiFlus GX* производства *Bio-Tron Inc* (Республика Корея) емкостью 5,0 л. Для выращивания лактобацилл использовали жидкую питательную среду МРС-1, pH 7,0. Объем питательной среды в ферментере составлял 2,5 л. В качестве посевного материала использовали хранящуюся в замороженном состоянии в течение

1 месяца суспензию *L. paracasei*, приготовленную как указано выше. В 2,5 л стерильной жидкой питательной среды вносили 100 мл замороженной суспензии с биологической концентрацией  $1,5 \cdot 10^{10}$  КОЕ/мл. Биологическую концентрацию определяли чашечным методом (среда МРС-1,  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 2 сут). Культивирование лактобацилл проводили при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  с аэрированием (4 л/мин) со скоростью вращения мешалки 60 об./мин в течение 24 часов. В качестве источника углерода использовали глюкозу, раствор которой вносили в питательную среду в процессе ее приготовления до конечной концентрации 2%. Корректировку pH в культуральной жидкости в процессе выращивания лактобацилл не проводили, через каждые 3 часа отбирали пробы для определения концентрации живых микроорганизмов в культуре. По завершении процесса глубинного культивирования отбирали пробы нативной культуры и определяли показатель концентрации водородных ионов, оценивали морфологию бактерий в фиксированных мазках, окрашенных по методу Грама, и определяли оптическую и биологическую концентрации микроорганизмов.

Для изучения выживаемости лактобактерий в процессе хранения полученную нативную культуру разливали по 100 мл во флаконы. В каждый флакон вносили одну из следующих стабилизирующих добавок: хлорид натрия, глицерин, лактозу, сахарозу до конечной концентрации 10%. Аскорбиновую кислоту добавляли до конечной концентрации 0,3%. В качестве контроля использовали нативную культуру без стабилизирующих добавок. Флаконы с суспензией хранили в бытовом холодильнике при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Через каждые 7 суток хранения делали высевы для определения концентрации живых лактобацилл в суспензии. Срок наблюдения составил 35 суток. Статистическую обработку результатов проводили согласно руководству И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [1].

### Результаты исследований и их обсуждение

Данные по влиянию аэрации и pH питательных сред на накопление биомассы лактобацилл представлены в табл. 1 и 2.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что максимальное накопление биомассы лактобактерий происходит при культивировании с аэрацией в жидкой питательной среде МРС на капустном отваре при исходной концентрации водородных ионов 8 ед. pH.

С целью оптимизации этапа культивирования лактобактерий была изучена возможность получения посевных культур, которые можно было бы хранить в замороженном состоянии длительное время и использовать по мере необходимости. Была выращена биомасса *L. paracasei*, биологическая концентрация которой перед заморозкой составляла  $(1,7 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$  КОЕ/мл.

Для оценки сохраняемости живых лактобацилл в замороженной суспензии в течение года через каждые 4 месяца хранения делали высевы на плотную питательную среду МРС на капустном отваре. Результаты экспериментов представлены в табл. 3.

Представленные в табл. 3 данные свидетельствуют о хорошей сохраняемости лактобацилл в стабилизированных суспензиях в замороженном состоянии в течение одного года. Выживаемость микроорганизмов в замороженных суспензиях с глицерином составила более 70,6%.

При изучении динамики содержания живых микробов в культуре при глубинном выращивании лактобактерий в биореакторе при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  с аэрацией каждые три часа проводили отбор проб, в которых определяли биологическую концентрацию бактерий. Результаты представлены в табл. 4 и на рис. 1.

Таблица 1

Накопление биомассы лактобацилл при выращивании в жидких питательных средах с различной pH без аэрации ( $\bar{x} \pm I_{95}$ ,  $n = 3$ )

Питательная среда	Оптическая плотность культуральной жидкости ( $OD_{540}$ ) при исходной концентрации водородных ионов в среде выращивания..., ед. pH		
	5,0	6,3	8,0
МРС на капустном отваре	$0,74 \pm 0,09$	$1,04 \pm 0,29$	$1,15 \pm 0,29$
МРС-1 коммерческая	$0,55 \pm 0,12$	$0,89 \pm 0,06$	$0,86 \pm 0,11$

Таблица 2

Накопление биомассы лактобацилл при выращивании в жидких питательных средах с различной pH с аэрацией ( $\bar{x} \pm I_{95}$ ,  $n = 3$ )

Питательная среда	Оптическая плотность культуральной жидкости ( $OD_{540}$ ) при исходной концентрации водородных ионов в среде выращивания..., ед. pH		
	5,0	6,3	8,0
МРС на капустном отваре	$0,94 \pm 0,08$	$1,29 \pm 0,06$	$1,34 \pm 0,11$
МРС-1 коммерческая	$0,72 \pm 0,15$	$0,93 \pm 0,16$	$0,94 \pm 0,13$

Таблица 3

Выживаемость лактобацилл в процессе хранения с 10% глицерином при температуре минус  $(70 \pm 1)^\circ\text{C}$  ( $\bar{x} \pm I_{95}$ ,  $n = 3$ )

Срок хранения, мес.	0 исходная	4	8	12
Концентрация живых бактерий в суспензии, КОЕ/мл	$(1,7 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$

Таблица 4

Динамика содержания живых микробов в глубинной культуре *Lactobacillus paracasei* ( $\bar{x} \pm I_{95}$ ,  $n = 3$ )

Время забора проб от начала культивирования, ч	Биологическая концентрация бактерий в культуре, КОЕ/мл
0	$(0,9 \pm 0,1) \cdot 10^8$
3	$(1,8 \pm 0,1) \cdot 10^8$
6	$(5,8 \pm 0,6) \cdot 10^8$
9	$(4,3 \pm 0,2) \cdot 10^9$
12	$(4,7 \pm 0,3) \cdot 10^9$
15	$(5,0 \pm 0,2) \cdot 10^9$
18	$(5,4 \pm 0,4) \cdot 10^9$
21	$(5,8 \pm 0,7) \cdot 10^9$
24	$(6,1 \pm 0,6) \cdot 10^9$

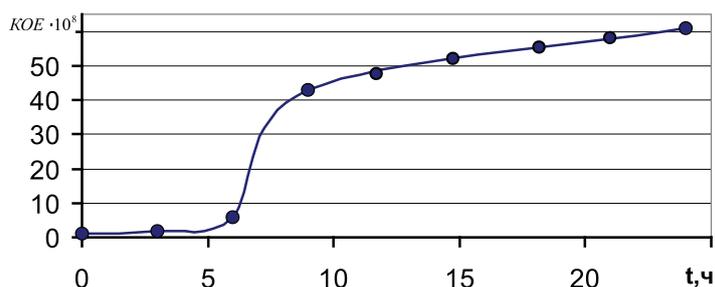


Рис. 1. График зависимости концентрации живых лактобактерий в глубинной культуре от времени выращивания

Таблица 5

Характеристики культуры *Lactobacillus paracasei*, выращенной в биореакторе, ( $\bar{x} \pm I_{95}$ ,  $n = 3$ )

Концентрация водородных ионов, ед. рН	Концентрация бактерий, $n \cdot 10^9$ м.к./мл		Объем культуры, л
	оптическая	биологическая	
$3,37 \pm 0,12$	$9,77 \pm 0,53$	$6,1 \pm 0,21$	$2,50 \pm 0,13$

Графическое отображение динамики роста лактобактерий при культивировании в биореакторе представлено на рис. 1.

В табл. 5 представлены характеристики полученной нативной культуры.

Кроме того, была изучена морфология бактерий в нативных культурах методом микроскопии мазков, окрашенных по Граму: лактобациллы во всех препаратах сохраняли типичную морфологию и тинкториальные свойства.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что выбранные условия выра-

щивания лактобацилл в биореакторе обеспечивают получение нативной культуры *Lactobacillus paracasei*, пригодной для приготовления биопрепарата.

При выборе стабилизирующих добавок, обеспечивающих высокую выживаемость лактобацилл в биопреparate при хранении, были изучены следующие вещества: хлорид натрия, глицерин, лактоза, сахара в конечной концентрации 10% и аскорбиновая кислота в конечной концентрации 0,3%. Концентрацию живых бактерий в процессе хранения при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$

нативной культуры с внесенными добавками определяли через каждые 7 суток путем посева на плотную питательную среду МРС с капустным отваром. Результаты определений представлены в табл. 6 и на рис. 2.

через 28 суток хранения этот показатель составил  $(8,4 \pm 0,5) \cdot 10^9$  КОЕ/мл. При использовании в качестве стабилизирующей добавки аскорбиновой кислоты концентрация живых лактобацилл в культуральной жидкости через 14 суток хранения начала

Таблица 6

Выживаемость лактобактерий в суспензии с различными стабилизирующими добавками при хранении при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,  $(\bar{x} \pm I_{95}, n = 3)$

Срок хранения, сут	Концентрация лактобактерий КОЕ/мл в в суспензии с добавлением...					
	хлорида натрия	глицерина	лактозы	сахарозы	аскорбиновой кислоты	контроль (без добавок)
0	$(5,4 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$	$(5,7 \pm 0,5) \cdot 10^{10}$	$(5,2 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$	$(5,9 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$	$(5,6 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$	$(5,5 \pm 0,2) \cdot 10^9$
7	$(4,5 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(8,3 \pm 0,1) \cdot 10^9$	$(2,3 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$	$(9,1 \pm 0,4) \cdot 10^9$	$(2,3 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^9$
14	$(9,7 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(2,4 \pm 0,1) \cdot 10^9$	$(1,4 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$	$(3,7 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$	$(9,4 \pm 0,5) \cdot 10^8$
21	$(5,2 \pm 0,4) \cdot 10^8$	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^9$	$(4,1 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(4,1 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(7,1 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(4,1 \pm 0,2) \cdot 10^8$
28	$(5,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(1,8 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(8,4 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(2,7 \pm 0,3) \cdot 10^7$
35	$(2,3 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,3 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(7,4 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,1) \cdot 10^6$

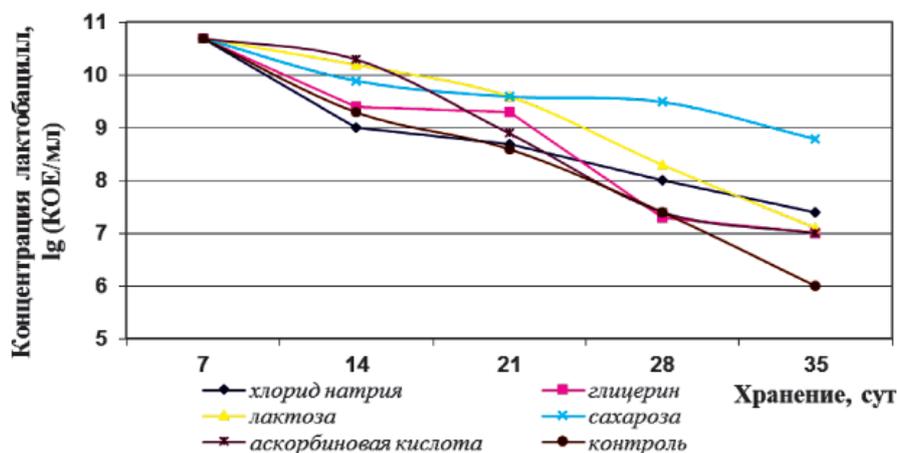


Рис. 2. Динамика снижения биологической концентрации лактобактерий в суспензии с разными стабилизирующими добавками при хранении при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$  (представлены среднearифметические значения)

На рис. 2 представлена биологическая концентрация лактобактерий в суспензии с разными стабилизирующими добавками в зависимости от сроков хранения при температуре  $(8 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

Из представленных в табл. 6 и на рис. 2 данных следует, что в течение 14 суток хранения наибольшую выживаемость лактобацилл в суспензии обеспечивали аскорбиновая кислота в концентрации 0,3% (количество живых бактерий осталось практически на исходном уровне) и сахароза в концентрации 10% — количество живых микроорганизмов уменьшилось с  $(5,9 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$  до  $(3,7 \pm 0,3) \cdot 10^9$  КОЕ/мл. При дальнейшем хранении наиболее высокая выживаемость лактобактерий наблюдалась в суспензии с добавлением сахарозы;

быстро снижаться и к 28 суткам составила  $(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$  КОЕ/мл.

Таким образом, было установлено, что для обеспечения высокой выживаемости лактобацилл в суспензии при хранении в бытовом холодильнике не более двух недель целесообразно использовать сахарозу в конечной концентрации 10% или аскорбиновую кислоту в конечной концентрации 0,3%, а для сохранения бактерий в жизнеспособном состоянии в течение 28–35 суток в нативную культуру необходимо внести сахарозу до конечной концентрации 10%. Указанные стабилизирующие добавки целесообразно использовать при изготовлении конечной формы жидкого пробиотического препарата на основе штамма *Lactobacillus paracasei*.

### Заключение

Таким образом, отработаны следующие условия приготовления жидкой формы биопрепарата на основе штамма *Lactobacillus paracasei*: наибольший выход биомассы достигается при глубинном культивировании лактобактерий при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 18 часов в аэрируемых условиях (4 л/мин) при скорости вращения мешалки 60 об/мин в жидкой питательной среде МРС на капустном отваре при начальной концентрации водородных ионов 8 ед. рН.

Наибольшую выживаемость лактобацилл в течение первых 14 суток хранения жидкой стабилизированной суспензии обеспечивают аскорбиновая кислота в концентрации 0,3% и сахара в концентрации 10%: количество живых бактерий практически остается на исходном уровне; при хранении в течение 35 суток наибольшая выживаемость лактобактерий достигается при внесении в биопрепарат сахарозы до конечной концентрации 10%.

С целью сокращения продолжительности и трудоемкости этапа приготовления посевных культур лактобацилл были отработаны условия выращивания, концентрирования и стабилизации микробной суспензии для хранения в замороженном состоянии. При использовании в качестве криопротектора глицерина в концентрации 10% микробные культуры могут храниться при температуре минус  $(70 \pm 1)^\circ\text{C}$  до 1 года, и после размораживания использоваться в качестве посевных материалов, что позволяет сократить срок получения конечной формы биопрепарата до одних суток и обеспечить возможность получения кондиционной нативной культуры при глубинном выращивании лактобацилл.

### Список литературы

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: МЕДГИЗ.: СПб, 1962. – 179 с.
2. Конькова Н. К. Пути усовершенствования питательных сред, используемых в технологии производства медицинских и ветеринарных пробиотиков: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Нижний Новгород, 2002. – 14с.
3. Тимченко Л.Д., Пенькова Н.И., Катунина Л.С. Сравнительный анализ традиционных питательных сред и новая капустная среда для культивирования лактобактерий // Вестник МГОУ. – 2010. – № 2. – С. 51–55.

4. Тихонов И.В., Овсянников Ю.С., Романов В.Е. Технология приготовления стабилизированной рабочей культуры в качестве посевного материала для глубинного культивирования // Ветеринарная медицина. – 2010. – № 3–4. – С. 23–25.

5. Чичерин И.Ю. Микроорганизмы пробиотиков и индигенной микрофлоры человека и животных. Характер взаимодействия при совместном культивировании на плотной питательной среде // Кишечная микрофлора. – 2013. – № 2. – С. 54–60.

6. Шестакова Н.В., Маракулин И.В., Окатова А.В. Биохимические свойства изолятов лактобацилл, выделенных из кишечника поросят-отъемышей // Общество, наука, инновации: сборник материалов Всероссийской ежегодной научно-практической конференции. – 2014.

7. Sanders M.E. Lactic Acid Bacteria and Human Health Probiotics: prospects of the use in opportunistic infections. Old Herborn University Seminar Monograph (eds. Fuller et al.). Inst. Microbiol. Biochem. Herborn – Dill. – Germany, 1995. – P. 126–140.

### References

1. Ashmarin I.P. Vorobev A.A. *Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyah*. Leningrad MEDGIZ.: SPb, 1962, 179 p.
2. Konkova N.K. *Puti usovershenstvovaniya pitatelnykh sred, ispolzuemykh v tehnologii proizvodstva medicinskih i veterinarnykh probiotikov*: Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Nizhny Novgorod, 2002, 14 p.
3. Timchenko L.D., Penkova N.I., Katunina L.S. *Sravnitelnyj analiz traditsionnykh pitatelnykh sred i novaya kapustnaya sreda dlja kultivirovaniya laktobakterij*. *Vestnik MGOU*, 2010, no 2, pp. 51–55.
4. Tihonov I.V., Ovsjannikov Ju.S., Romanov V.E. *Tehnologija prigotovleniya stabilizirovannoj rabochej kultury v kachestve posevnogo materiala dlja glubinnogo kultivirovaniya*. *Veterinarnaja medicina*, 2010, no 3–4, pp. 23–25.
5. Chicherin I.Ju. *Mikroorganizmy probiotikov i indigennoj mikroflory cheloveka i zhivotnyh. Harakter vzaimodejstvija pri sovmestnom kultivirovanii na plotnoj pitatelnoj srede*. *Kishechnaja mikroflora*, 2013, no 2, pp. 54–60.
6. Shestakova N.V., Marakulin I.V., Okatova A.V. *Biohimicheskie svojstva izoljatov laktobacill, vydelennykh iz kishchnika porosjat-otjemshej*. *Sbornik materialov Vserossijskoj ezhegodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Obshhestvo, nauka, innovacii»*, 2014.
7. Sanders M.E. *Lactic Acid Bacteria and Human Health Probiotics: prospects of the use in opportunistic infections*. *Old Herborn University Seminar Monograph* (eds. Fuller et al.). Inst. Microbiol. Biochem. Herborn, Dill, Germany, 1995, pp. 126–140.

### Рецензенты:

Романов В.Е., д.м.н., профессор кафедры хирургии, акушерства и заразных болезней, ФГБОУ ВПО «Вятская ГСХА», г. Киров;

Егошина Т.Л., д.б.н., профессор кафедры экологии и зоологии, ФГБОУ ВПО «Вятская ГСХА», г. Киров.

Работа поступила в редакцию 18.03.2015.