

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.1.19

Изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл

Боровкова Е.А.¹, Алиева Е.В.¹, Фролова Т.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Россия); ² ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница» (357700, г. Кисловодск, ул. Кутузова, 127, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Боровкова Екатерина Андреевна, e-mail: katerina_borovkova@mail.ru

Резюме

Данные о неэффективности в ряде случаев или временном положительном эффекте применения коммерческих пробиотиков привели к разработке концепции аутопробиотикотерапии, согласно которой коррекция нарушенных микробиоценозов проводится с помощью аутоштаммов индигенной нормофлоры (бифидобактерий, лактобацилл и энтерококков). Однако имеющиеся в литературе публикации об эффективности аутопробиотикотерапии немногочисленны и противоречивы.

Цель исследования: изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл, а также эффективности аутопробиотикотерапии на основе аутоштаммов *Lactobacillus* spp.

Методы. Биологические свойства (антибиотикорезистентность, гемолитическая, адгезивная и антагонистическая активность) изучали у 159 штаммов кишечных лактобацилл. Аутопробиотикотерапию кисломолочными заквасками на основе аутоштаммов лактобацилл для коррекции микробиоценоза толстого кишечника вследствие антибиотикотерапии проводили 78 пациентам лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) Северо-Кавказского федерального округа (СКФО).

Результаты. Индигенные штаммы лактобацилл кишечника пациентов ЛПУ СКФО характеризуются широким спектром антибиотикочувствительности, отсутствием продукции гемолизинов, средней адгезивностью и высокой степенью антагонистической активности. Аутопробиотикотерапия с использованием аутоштаммов *Lactobacillus* spp. статистически значимо повышает количество лактобацилл толстого кишечника пациентов ЛПУ СКФО.

Заключение. Выявлен высокий пробиотический потенциал индигенных лактобацилл кишечника пациентов ЛПУ СКФО, обуславливающий возможность их применения в качестве эффективных аутопробиотиков. Доказана эффективность аутопробиотикотерапии кисломолочными заквасками на основе аутоштаммов *Lactobacillus* spp. в восстановлении нормального содержания лактобацилл толстого кишечника пациентов ЛПУ СКФО после применения антибиотиков широкого спектра действия.

Ключевые слова: лактобациллы кишечника, антибиотикочувствительность, адгезия, антагонизм, аутоштаммы, аутопробиотикотерапия

Для цитирования: Боровкова Е.А., Алиева Е.В., Фролова Т.В. Изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 124-132. doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.19

Biological Properties and Probiotic Potential of Intestinal Lactobacilli

Borovkova E.A.¹, Alieva E.V.¹, Frolova T.V.²

¹ Stavropol State Medical University (ul. Mira 310, Stavropol355017, Russian Federation); ² Kislovodsk City Hospital (ul. Kutuzova 127, Kislovodsk 357700, Russian Federation)

Corresponding author: Ekaterina A. Borovkova, e-mail: katerina_borovkova@mail.ru

Abstract

Data on inefficiency in some cases or temporary positive effect of commercial probiotics led to the development of the concept of autoprobiotic therapy. According to this, the correction of disturbed microbiocenoses is carried out using autostrains of indigenous normal flora (bifidobacteria, lactobacilli and enterococci). However, publications about effectiveness of autoprobiotic therapy are few and contradictory.

The aim of the study was to investigate the biological properties and probiotic potential of intestinal lactobacilli, as well as the effectiveness of autoprobiotic therapy, based on *Lactobacillus* spp.

Methods. Biological properties (antibiotic resistance, hemolytic, adhesive and antagonistic activity) were studied in 159 strains of intestinal lactobacilli. Autoprobiotic therapy with sour-milk ferments based on lactobacilli autostrains was carried out in 78 patients of the of the North Caucasus Federal District (NCFD) hospitals to correct the microbiocenosis of the large intestine due to antibiotic therapy.

Results. The indigene strains of the intestinal lactobacilli of patients of NCFD hospitals are characterized by a wide spectrum of antibiotic sensitivity, lack of hemolysin production, medium adhesiveness and a high degree of antagonistic

activity. Autoprobiotic therapy using *Lactobacillus* spp. significantly increases the amount of lactobacilli of the large intestine of patients in hospitals of the North Caucasian Federal District.

Conclusion. A high probiotic potential of the indigenous intestinal lactobacilli is identified, which makes it possible to use them as effective autoprobiotics. The effectiveness of autoprobiotics with fermented milk starters with *Lactobacillus* spp. has been proven to restore the normal amount of intestinal lactobacilli patients after the use of broad-spectrum antibiotics.

Key words: intestinal lactobacilli, antibiotic sensitivity, adhesion, antagonism, autostrains, autoprobiotic therapy

For citation: Borovkova E.A., Alieva E.V., Frolova T.V. Biological properties and probiotic potential of intestinal lactobacilli. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 124-132. doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.19

ВВЕДЕНИЕ

Пробиотики (живые микроорганизмы, которые при назначении в адекватных количествах оказывают благоприятное влияние на здоровье [1]) на протяжении нескольких десятилетий являются одними из основных средств коррекции и профилактики нарушений микробиоценоза кишечника. Однако несмотря на всеобщее признание и широкое распространение, коммерческие пробиотики не всегда обеспечивают восстановление и поддержание оптимальных параметров кишечной микрофлоры. Недостаточная эффективность пробиотикотерапии может быть связана с бионесовместимостью пробиотического микроорганизма и резидентной микрофлоры хозяина [2]. Состав микрофлоры образует сообщества, специфичен на штаммовом уровне и строго индивидуален для каждого человека [3]. Промышленные штаммы пробиотиков являются чужеродными, они не способны колонизировать слизистую оболочку кишечника и внедряться в сформированные микробные консорциумы [4]. Установлено, что пробиотические микроорганизмы не могут длительно существовать в кишечнике конкретного индивидуума, и элиминируются вскоре после окончания их приёма [5, 6]. Неудовлетворительные результаты пробиотикотерапии также могут быть связаны с лекарственной формой пробиотика [7] и биологическими особенностями каждого пробиотического микроорганизма [2].

Кроме того, в литературе стала накапливаться информация о нежелательных последствиях приёма пробиотиков, таких как системные инфекции, негативное влияние на метаболизм, чрезмерная иммуностимуляция лимфотического аппарата кишечника, перенос генов антибиотикорезистентности [8].

Безопасность и эффективность пробиотика могут быть обеспечены путём индивидуального подбора аутопробиотического препарата, содержащего аутоштаммы микроорганизмов, выделенных из микробиоценозов конкретного человека. Предварительно отобранные и протестированные на отсутствие факторов патогенности аутоштаммы являются «собственными» для макроорганизма и формируют индивидуальный вариант его нормальной кишечной микрофлоры.

В настоящее время существуют запатентованные методики получения аутоштаммов бифидобактерий, лактобацилл и энтерококков [4, 9, 10]. Имеются работы по созданию криогенных банков симбионтной микробиоты последующим её использованием для конструирования аутопробиотиков и продуктов функционального питания [11]. Изучается эффективность аутопробиотиков в экспериментах. Так, группа специалистов ГНЦ РФ «Институт микробиологии и биологических проблем» РАН в ходе исследований активности пробиотических препаратов на основе аутоштаммов лактобацилл и энтерококков пришла к выводу об

эффективности коррекции дисбиотических состояний кишечника и слизистых оболочек у лиц, находящихся в изменённых условиях обитания [12].

Аутопробиотикотерапия с использованием аутоштаммов кишечных лактобацилл продемонстрировала свою эффективность у пациентов с синдромом раздражённой кишки [13].

Е.И. Ермоленко с соавт. сообщают о более быстрой (по сравнению с контрольной группой животных) коррекции экспериментального индуцированного антибиотиками дисбиоза кишечника крыс с помощью аутопробиотических штаммов *Enterococcus faecium*. К окончанию эксперимента у животных, получавших индигенные энтерококки, было полностью восстановлено количественное содержание бактерий родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* и *Enterococcus* [14].

Однако, по данным И.Ю. Чичерина с соавт., маркированные производные аутоштаммов бифидобактерий и лактобактерий, вводимые перорально подопытным животным, не приживаются в биоплёнке слизистой оболочки кишечника и элиминируются к 4-м суткам после прекращения введения. Кроме того, аутоштаммы бифидобактерий и лактобактерий практически не оказывают влияние на восстановление кишечной микробиоты подопытных животных с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом [15].

В итоге, несмотря на высокую перспективность концепции аутопробиотикотерапии, исследования по изучению биологических свойств и пробиотического потенциала аутоштаммов индигенных микроорганизмов, а также применения аутопробиотиков в коррекции микробиоценоза кишечника в клинической практике немногочисленны и противоречивы.

В связи с этим, **целью** нашего исследования было изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл, а также эффективности аутопробиотикотерапии на основе аутоштаммов *Lactobacillus* spp. в коррекции микробиоценоза кишечника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе бактериологической лаборатории ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница» г. Кисловодска. Объектом исследования служили индигенные лактобациллы пациентов, выделенные при обследовании на дисбактериоз толстого кишечника по направлению от врачей лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) Северо-Кавказского федерального округа (СКФО) в период с 2015 по 2018 гг.

Выделение, идентификацию, изучение биологических свойств и пробиотического потенциала лактобацилл толстого кишечника проводили у 159 пациентов ЛПУ СКФО разных возрастных групп (дети первого года жизни, дети старше одного года, взрослые до 60 лет). В исследование

включались пациенты, которые не получали антибактериальную терапию в течение двух предыдущих месяцев.

Коррекцию микробиоценоза толстого кишечника с помощью аутопробиотических кисломолочных заквасок на основе аутоштаммов лактобацилл проводили у 78 человек (28 мужчин и 50 женщин в возрасте от 20 до 60 лет) из общего числа обследованных на дисбактериоз пациентов. Критериями включения пациентов в группу аутопробиотикотерапии были: отсутствие антибактериальной терапии в течение двух предыдущих месяцев до первичного обследования на дисбактериоз кишечника; возраст старше 18 лет; предстоящая антибактериальная терапия согласно нозологической форме заболевания; отсутствие пробиотической терапии коммерческими препаратами.

Выделение лактобацилл производили путём посева десятикратных разведений биоматериала (10^{-4} – 10^{-10}) на пластинчатую среду Лактобакагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk) и инкубации при 39 °С в течение 48–72 ч в атмосфере, содержащей 4–10 % CO_2 и 16 % O_2 . Видовую идентификацию лактобацилл проводили с помощью биохимической тест-системы API 50 CH bioMérieux (Франция).

Гемолитическую активность лактобацилл определяли на 5%-м кровяном агаре по методическим указаниям МУ 2.3.2.2789-10.2.3.2 [16].

Антибиотикорезистентность лактобацилл определяли диско-диффузным методом по МУ 2.3.2.2789-10.2.3.2 [16] с помощью индикаторных дисков с бензилпенициллином (10 Ед), ампициллином (10 мкг), цефазолином (30 мкг), цефотаксимом (30 мкг), гентамицином (10 мкг), эритромицином (15 мкг), ципрофлоксацином (5 мкг), ванкомицином (30 мкг), линкомицином (15 мкг), доксициклином (30 мкг), хлорамфениколом (30 мкг) и меропенемом (10 мкг) (НИЦФ, г. Санкт-Петербург). Штаммы лактобацилл относили к одной из трёх категорий: чувствительные (S), умеренно-резистентные (I) или резистентные (R) к антибактериальному препарату, – в соответствии с числовым значением диаметра зоны задержки роста.

Адгезивные свойства лактобацилл определяли по методике В.И. Брилиса [17] на эритроцитах человека 0 (I) группы Rh+. Адгезивную активность оценивали под световым микроскопом, подсчитывая средний показатель адгезии (СПА), т. е. среднее количество микробов, прикрепившихся к одному эритроциту при подсчёте не менее 50 эритроцитов, учитывая не более 5 эритроцитов в одном поле зрения. Адгезивную активность считали нулевой при СПА = 0–0,99; низкой – при СПА = 1,0–1,99; средней – при СПА = 2,0–3,99; высокой – при СПА > 4,0 [18].

Антагонистическую активность лактобацилл определяли методом отсроченного антагонизма с помощью двухслойного агара [16]. Использовали тест-культуры *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhimurium* ATCC 14028 и *S. sonnei* «S-форм», полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГКПМ-Оболensk. К слабым антагонистам относили штаммы лактобацилл, метаболиты которых образовывали зоны задержки роста тест-культур от 10 до 15 мм, к средним – от 16 до 20 мм, к сильным – более 20 мм.

Аутопробиотикотерапию проводили с помощью кисломолочных заквасок на основе аутоштаммов лактобацилл индивидуально для каждого пациента. Закваску готовили путём внесения монокультуры лактобацилл в простерилизованное кипячением и охлаждённое до 36 ± 5 °С коровье молоко и инкубации в течение 48–72 часов

при 36 ± 5 °С. Каждую партию готовых заквасок проверяли на отсутствие контаминации посторонней микрофлорой, а также на количество жизнеспособных лактобацилл, содержание которых во всех образцах было не менее 10^7 КОЕ/мл продукта. Пациенты принимали кисломолочную закваску внутрь по 60 мл 2–3 раза в день через 30 мин после приёма пищи в течение 14 дней. Для оценки эффективности аутопробиотикотерапии определяли количество лактобацилл толстого кишечника пациентов до начала приёма антибиотиков, после окончания антибактериальной терапии, на следующие сутки после окончания аутопробиотикотерапии, а также спустя 3 месяца после приёма аутопробиотиков.

Все этапы исследования осуществлялись по согласованию с этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России. У всех лиц получено информированное согласие на сбор и обработку материала, а также на аутопробиотикотерапию.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерной программы MS Excel 2007 (Microsoft Inc., США). Данные представляли в виде абсолютных величин и процентных долей, а также средней арифметической (M) и ошибки средней (m). Статистическую значимость различий изучаемых биологических свойств между отдельными видами лактобацилл оценивали с использованием критерия Краскела – Уоллиса. Статистическую значимость динамики количества лактобацилл в толстом кишечнике пациентов до начала приёма антибиотиков, после окончания антибактериальной терапии, после аутопробиотикотерапии, а также спустя 3 месяца после приёма аутопробиотиков оценивали с помощью критерия Уилкоксона. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биологические свойства и пробиотический потенциал кишечных лактобацилл пациентов ЛПУ СКФО

За период с января 2015 по июнь 2018 гг. у пациентов медицинских учреждений СКФО разных возрастных групп нами было выделено 159 штаммов кишечных лактобацилл. По результатам биохимической идентификации лактобацилл толстого кишечника детей первого года жизни представлены видами *L. rhamnosus* (86 %) и *L. paracasei* (14 %); детей старше одного года – *L. rhamnosus* (56 %), *L. plantarum* (31 %) и *L. paracasei* (13 %); взрослых до 60 лет – *L. rhamnosus* (42 %), *L. plantarum* (25 %), *L. paracasei* (18 %), *L. fermentum* (8 %), *L. brevis* (7 %). Всего идентифицировано: *L. rhamnosus* – 83 штамма (52 %), *L. plantarum* – 38 штаммов (24 %), *L. paracasei* – 25 штаммов (16 %), *L. fermentum* – 7 штаммов (5 %), *L. brevis* – 6 штаммов (3 %).

Таким образом, выделенные аэротолерантные штаммы лактобацилл, способные к культивированию в лабораторных условиях, принадлежат к видам, которые, по мнению отечественных и зарубежных авторов, являются преобладающими в гастроинтестинальном микробиоме человека [19, 20, 21].

С целью исследования безопасности лактобацилл мы определяли фенотипический профиль чувствительности/резистентности штаммов к основным применяемым в медицине антимикробным препаратам. По результатам нашего исследования штаммы кишечных лактобацилл в

100% случаев были чувствительны к бензилпенициллину, ампициллину, эритромицину, доксициклину и хлорамфениколу, проявляя при этом абсолютную (100% штаммов) резистентность к гентамицину и ванкомицину. Степень чувствительности лактобацилл к другим антибиотикам варьировала. Так, большинство изолятов были чувствительны к цефазолину (58%), цефотаксиму (95%), меропенему (70%) и линкомицину (67%). К ципрофлоксацину лишь 35% культур проявили умеренную резистентность, остальные штаммы лактобацилл (65%) оказались резистентными к данному препарату (рис. 1).

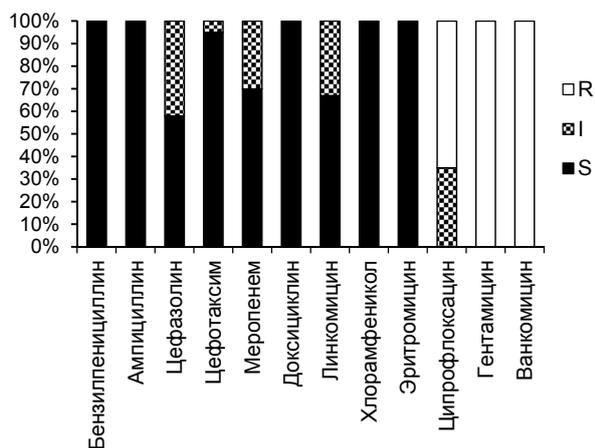


Рис. 1. Чувствительность лактобацилл к антимикробным препаратам.

Fig. 1. Sensitivity of lactobacilli to the antimicrobial agents.

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными, согласно которым лактобациллы обычно чувствительны к ингибиторам синтеза клеточной стенки, демонстрируя более высокую чувствительность к пенициллинам и меньшую – к цефалоспорином [22, 23], а также широко распространённую резистентность к ван-

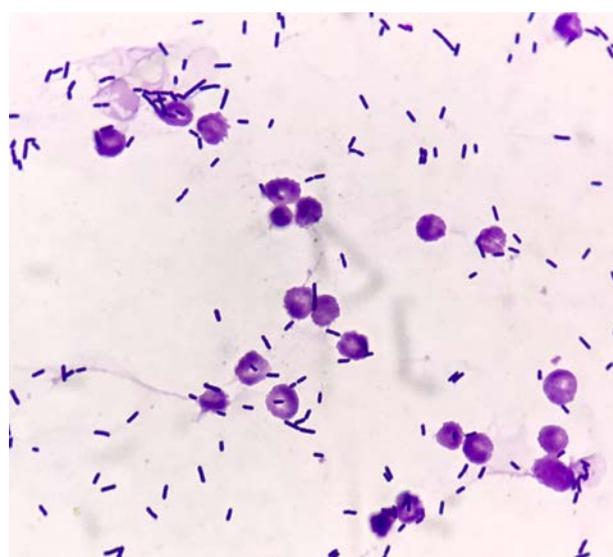
комицину [24, 25]. Ингибирующий эффект на лактобациллы оказывают даже низкие концентрации ингибиторов синтеза белка (хлорамфеникол, макролиды, линкозамиды, тетрациклины). Однако лактобациллы, как правило, устойчивы к ципрофлоксацину и высокоустойчивы к аминогликозидам [22, 23]. Резистентность к последним считается природной и связывается с отсутствием цитохромной системы транспорта электронов, обеспечивающего взаимодействие с этими антибиотиками [26, 27].

Чувствительность/устойчивость к антибиотикам является объективным показателем генотипических и фенотипических особенностей конкретного микроорганизма [28]. Абсолютная чувствительность индигенных лактобацилл к ампициллину, доксициклину и эритромицину свидетельствует об отсутствии генов антибиотикорезистентности у данных штаммов, что делает их безопасными для потенциального применения в качестве аутопробиотиков.

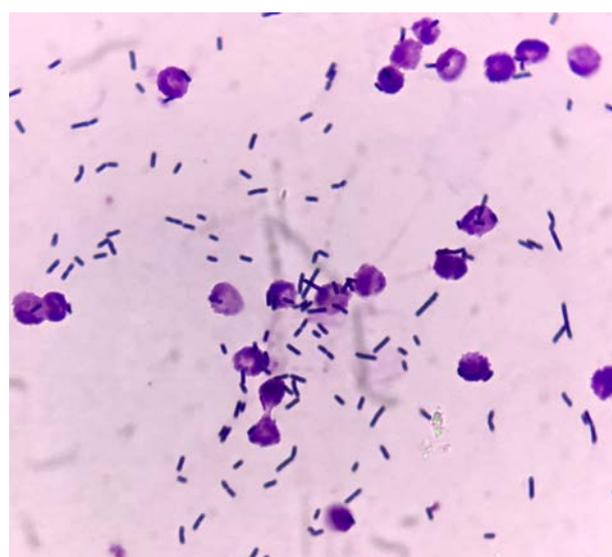
Другим методом исследования безопасности лактобацилл в тестах *in vitro* является определение гемолитической активности штаммов, так как продукция гемолизина считается фактором патогенности. Через 24 часа культивирования на 5%-м кровяном агаре не было отмечено видимой зоны гемолиза вокруг колоний лактобацилл ни у одного из исследуемых 159 штаммов.

Основными биологическими свойствами бактерий рода *Lactobacillus*, позволяющими им колонизировать различные биотопы организма человека и животных и успешно конкурировать с другими представителями микробного биоценоза, являются адгезивная и антагонистическая активность [29]. Изучение этих свойств необходимо для прогнозирования пробиотического эффекта лактобацилл на кишечный микробиоценоз конкретного индивидуума.

При исследовании адгезивной активности 159 штаммов кишечных лактобацилл выявлено, что средний показатель адгезии колебался от $0,88 \pm 0,15$ до $5,20 \pm 0,16$ и в среднем составил $3,07 \pm 0,15$. Большинство штаммов в выборке (76%) проявило среднюю адгезивную активность,



а



б

Рис. 2. Адгезия клеток *Lactobacillus* spp. к эритроцитам. Световая микроскопия. Об. 100, ок. 10. а – адгезия *L. rhamnosus* (штамм № 77); б – адгезия *L. paracasei* (штамм № 87).

Fig. 2. Adhesion of *Lactobacillus* spp. cells to the red blood cells. Light microscopy. Lens 100, eyepiece 10. а – adhesion of *L. rhamnosus* (strain N 77); б – adhesion of *L. paracasei* (strain N 87).

СПА составил $3,01 \pm 0,03$. Высокоадгезивными к эритроцитам оказались 21 % штаммов лактобацилл, СПА составил $4,76 \pm 0,06$. Лишь небольшое число штаммов лактобацилл (3 %) имело низкий показатель адгезии, СПА составил $1,26 \pm 0,07$. При этом СПА *L. rhamnosus* был в пределах от $0,88 \pm 0,15$ до $5,04 \pm 0,24$ и в среднем составил $3,1 \pm 0,20$; СПА *L. plantarum* – от $1,04 \pm 0,12$ до $5,20 \pm 0,16$, в среднем – $3,24 \pm 0,36$; СПА *L. paracasei* – от $2,04 \pm 0,11$ до $4,92 \pm 0,20$, в среднем – $2,92 \pm 0,37$; СПА *L. fermentum* – от $2,56 \pm 0,14$ до $3,84 \pm 0,12$, в среднем – $3,12 \pm 0,38$; СПА *L. brevis* – от $2,64 \pm 0,09$ до $3,72 \pm 0,12$, в среднем – $3,05 \pm 0,04$.

Микрофотографии лактобацилл, адгезированных к поверхности эритроцитов, представлены на рисунке 2.

Видовая принадлежность штаммов не влияла на степень адгезии лактобацилл к эритроцитам. Дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса не выявил статистически значимых различий СПА у представителей разных видов лактобацилл ($p = 0,90836$). Адгезивность микроорганизмов зависит от множества факторов, и по сути своей это штаммовый признак, поскольку может меняться в зависимости не столько от вида, сколько от происхождения штамма [30]. Все изученные нами штаммы выделены из микробиоценоза толстого кишечника, что, возможно, объясняет схожесть биологических свойств разных видов лактобацилл.

Ещё одним важным биологическим свойством лактобацилл является антагонистическая активность в отношении грамположительных и грамотрицательных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. По результатам исследования антагонизма кишечных лактобацилл к тест-культурам микроорганизмов выявлено, что большая часть из общего числа исследуемых штаммов обладала антагонистической активностью в отношении всех индикаторных культур. Так, все штаммы лактобацилл (100 %) проявляли сильную степень антагонизма в отношении *P. aeruginosa*, 96 % штаммов лактобацилл – в отношении *S. sonnei*, 86 % – в отношении *E. coli*, 65 % – в отношении *S. aureus*, 59 % – в отношении *S. typhimurium*.

При этом диаметр зоны задержки роста *P. aeruginosa* ATCC 27853, образованный метаболитами *L. rhamnosus*, составлял в среднем $42 \pm 1,8$ мм, *L. plantarum* – $41 \pm 2,1$ мм, *L. fermentum* – $38 \pm 1,0$ мм, *L. paracasei* – $37 \pm 3,0$ мм, *L. brevis* – $32 \pm 2,6$ мм.

Сильными бактерицидными свойствами в отношении *S. sonnei* «S-форм» обладали 96 % штаммов *L. rhamnosus* и все штаммы (100 %) *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. fermentum* и *L. brevis*. Зона задержки роста тест-культуры, которую образовывали метаболиты *L. rhamnosus*, в среднем составила $32 \pm 1,1$ мм, *L. plantarum* – $32 \pm 1,9$ мм, *L. paracasei* – $29 \pm 1,5$ мм, *L. fermentum* – $29 \pm 0,5$ мм, *L. brevis* – $27 \pm 0,7$ мм.

100 % штаммов *L. rhamnosus*, *L. plantarum* и *L. fermentum*, 83 % штаммов *L. paracasei* и 67 % штаммов *L. brevis* проявляли сильный антагонизм к *E. coli* ATCC 25922. Зона задержки роста тест-культуры, которую образовывали метаболиты *L. rhamnosus*, в среднем составила $32 \pm 1,3$ мм, *L. plantarum* – $31 \pm 2,0$ мм, *L. fermentum*, *L. paracasei* – $30 \pm 2,0$ мм, *L. brevis* – $35 \pm 1,2$ мм.

Сильное подавление роста *S. aureus* ATCC 25923 вызывало 83 % штаммов *L. plantarum*, 75 % штаммов *L. rhamnosus*, 67 % штаммов *L. fermentum* и *L. brevis*, 66 % штаммов *L. paracasei*. Диаметр зоны задержки роста тест-культуры над бляшками с лактобациллами составлял в среднем $28 \pm 1,2$ мм для *L. rhamnosus*, $26 \pm 1,6$ мм – для *L. plantarum*, $24 \pm 0,6$ мм – для *L. paracasei* и *L. brevis*, $24 \pm 0,4$ мм – для *L. fermentum*.

100 % штаммов *L. paracasei*, 79 % штаммов *L. plantarum*, 67 % штаммов *L. fermentum*, 55 % штаммов *L. rhamnosus* и 50 % штаммов *L. brevis* обладали сильной степенью антагонистической активности по отношению к *S. typhimurium* ATCC 14028. Задержка роста тест-культуры под влиянием *L. paracasei* в среднем составила $29 \pm 2,4$ мм, под влиянием *L. brevis* – $2,9 \pm 2,0$ мм, под влиянием *L. plantarum* – $29 \pm 1,6$ мм, под влиянием *L. fermentum* – $29 \pm 0,5$ мм, под влиянием *L. rhamnosus* – $27 \pm 1,2$ мм.



Рис. 3. Антагонизм *Lactobacillus* spp. к *S. typhimurium* ATCC 14028 (штаммы *L. rhamnosus*: ОДс, № 425, № 357; штаммы *L. plantarum*: № 184, № 201; штамм *L. paracasei* № 123).

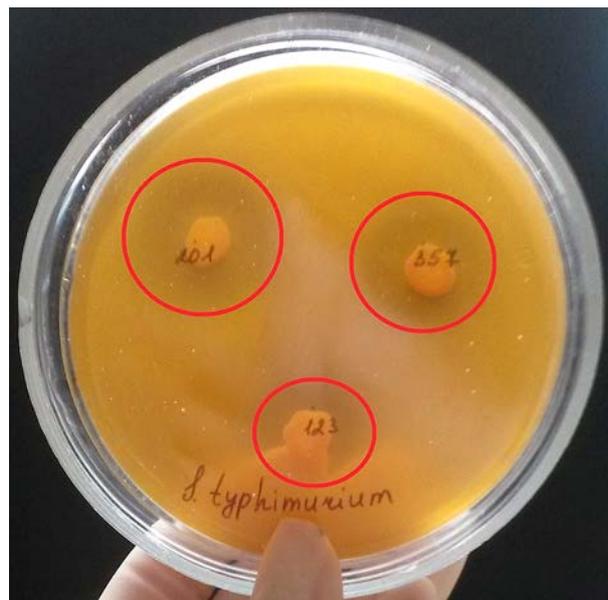


Fig. 3. Antagonism of *Lactobacillus* spp. to *S. typhimurium* ATCC 14028 (*L. rhamnosus* strains: ОДс, N 425, N 357; *L. plantarum* strains: N 184, N 201; *L. paracasei* strain N 123).

Видовая принадлежность штаммов лактобацилл не влияла на степень их антагонизма в отношении анализируемых тест-культур (рис. 3). Статистика Краскела – Уоллиса не выявила статистически значимых различий между средними значениями диаметров зон задержки роста тест-культур под влиянием разных видов лактобацилл (при $p \leq 0,05$).

В результате изучения биологических свойств индигенных лактобацилл толстого кишечника пациентов ЛПУ СКФО разных возрастных групп выявлен широкий спектр чувствительности к наиболее часто применяемым в клинической практике антибиотикам (бензилпенициллину, ампициллину, эритромицину, доксициклину, хлорамфениколу, цефазолину, цефотаксиму, меропенему и клиндамицину), а также отсутствие фенотипических признаков, ассоциированных с синтезом ферментов агрессии (гемолизина), что определяет их потенциальную безопасность. Большинство штаммов лактобацилл обладали средней степенью адгезивной активности к эритроцитам человека и высокой степенью антагонизма в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, что будет способствовать их приживаемости в кишечнике и обеспечению колонизационной резистентности.

Аутопробиотикотерапия микрoэкологических нарушений толстого кишечника

Для изучения эффективности аутопробиотикотерапии в восстановлении нормофлоры кишечника после применения антибиотиков была сформирована группа из 78 человек из общего числа пациентов, принимавших участие в нашем исследовании.

Согласно дизайну исследования, каждому пациенту до начала антибактериальной терапии был проведён анализ кала на дисбактериоз с целью выявления возможной степени микробиологического нарушения микрофлоры толстого кишечника, а также для выделения и изучения биологических свойств и пробиотического потенциала аутоштаммов лактобацилл.

При первичном обследовании пациентов на дисбактериоз толстого кишечника мы выявили разные степени микробиологических нарушений микрофлоры. В связи с этим пациентов разделили на три группы: группа «Нормобиоценоз» – 24 человека (31 %); группа «Дисбактериоз

I степени» – 18 человек (23 %); группа «Дисбактериоз II степени» – 36 человек (46 %). Исходное количество лактобацилл толстого кишечника в группе «Нормобиоценоз» составляло в среднем $7,66 \pm 0,44$ lg КОЕ/г, в группе «Дисбактериоз I степени» – $6,85 \pm 0,12$ lg КОЕ/г, в группе «Дисбактериоз II степени» – $5,78 \pm 0,57$ lg КОЕ/г.

Далее пациентам анализируемых групп предстояла терапия основного заболевания с использованием стандартных схем и режимов приёма антибиотиков (рис. 4).

После применения антибиотиков количество лактобацилл толстого кишечника статистически значимо снизилось: до $6,06 \pm 0,95$ lg КОЕ/г ($p = 0,005$) в группе «Нормобиоценоз» и до $5,99 \pm 0,96$ lg КОЕ/г ($p = 0,019$) – в группе «Дисбактериоз I степени». В группе «Дисбактериоз II степени» количество лактобацилл имело тенденцию к снижению до $5,65 \pm 0,57$ lg КОЕ/г ($p = 0,089$).

По завершении курса приёма антибактериальных препаратов пациентам была предложена аутопробиотикотерапия кисломолочными заквасками на основе индигенных лактобацилл. Каждый аутоштамм лактобацилл, выбранный в качестве стартерной культуры для заквашивания молока, был идентифицирован до вида, проверен на отсутствие гемолитической активности, изучен на антибиотикорезистентность к наиболее часто используемым в клинической практике антимикробным препаратам, а также исследован на адгезивную и антагонистическую активность. Аутоштаммы лактобацилл, использованные для заквашивания молока, принадлежали к видам *L. rhamnosus* (43 аутоштамма (55 %)), *L. plantarum* (23 аутоштамма (30 %)), *L. paracasei* (12 аутоштаммов (15 %)).

После курса аутопробиотических кисломолочных заквасок количество лактобацилл толстого кишечника статистически значимо увеличилось до $7,2 \pm 0,82$ lg КОЕ/г ($p = 0,046$) в группе пациентов «Нормобиоценоз», до $7,18 \pm 0,3$ lg КОЕ/г ($p = 0,042$) – в группе пациентов «Дисбактериоз I степени» и до $7,1 \pm 0,96$ lg КОЕ/г ($p = 0,002$) – в группе пациентов «Дисбактериоз II степени».

С целью контроля приживаемости индигенных лактобацилл тем же пациентам было предложено сдать кал на дисбактериоз кишечника спустя 3 месяца после окончания аутопробиотикотерапии. Обязательным условием данного этапа было отсутствие приёма

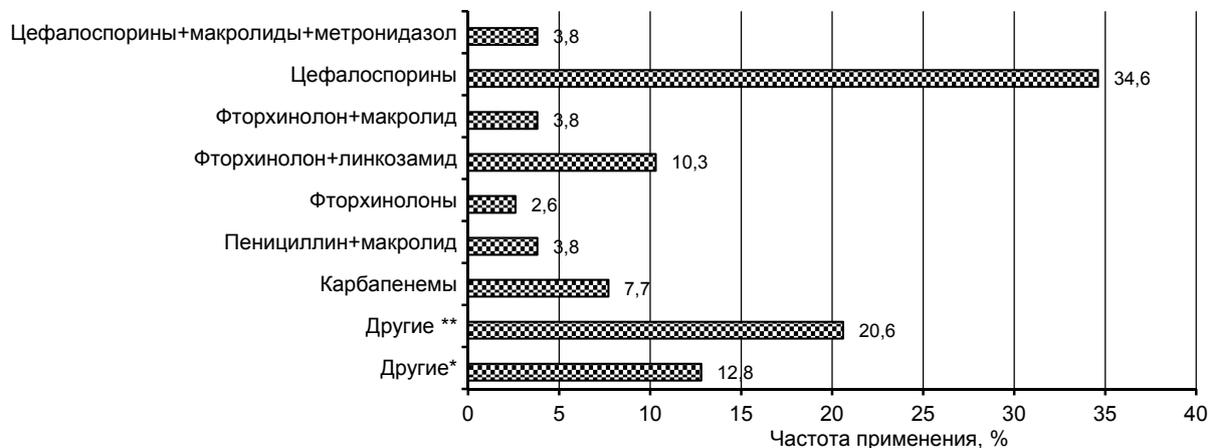


Рис. 4. Схемы антибактериальной терапии пациентов СКФО: * – ингибиторозащищённые пенициллины; ** – ингибиторозащищённые пенициллины + цефалоспорины.

Fig. 4. Scheme of the patients' antibacterial therapy. * – inhibitory penicillins; ** – inhibitory penicillins + cephalosporins.

антимикробных препаратов в течение указанного срока. Статистически значимого изменения количества индигенных лактобацилл толстого кишечника как в сторону его увеличения, так и в сторону уменьшения во всех анализируемых группах пациентов отмечено не было. Количество лактобацилл в группе пациентов «Нормобиоценоз» определялось в среднем на уровне $7,26 \pm 0,08 \text{ lg KOE/г}$ ($p = 0,062$); в группе «Дисбактериоз I степени» – $7,36 \pm 0,08 \text{ lg KOE/г}$ ($p = 0,098$); в группе «Дисбактериоз II степени» – $7,75 \pm 0,60 \text{ lg KOE/г}$ ($p = 0,053$).

Таким образом, в ходе наблюдений за количеством кишечных лактобацилл пациентов групп «Нормобиоценоз», «Дисбактериоз I степени» и «Дисбактериоз II степени» до начала приёма антибиотиков, после окончания антибактериальной терапии, а также после приёма аутопробиотиков мы выявили статистически значимую динамику этого показателя. Вследствие антибактериальной терапии произошло существенное снижение количества лактобацилл во всех анализируемых группах пациентов. Аутопробиотикотерапия не только повысила содержание лактобацилл до значений нормы, но и стабилизировала этот показатель также у пациентов всех групп. Контрольные исследования не выявили снижения содержания лактобацилл в толстом кишечнике спустя 3 месяца после окончания приёма аутопробиотика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования биологических свойств индигенных лактобацилл кишечника выявили достаточно высокий пробиотический потенциал, обуславливающий возможность их применения в качестве эффективного аутопробиотика в коррекции индуцированных антибиотиками микробиологических нарушений кишечника.

Аутопробиотикотерапия кисломолочными заквасками на основе аутоштаммов *Lactobacillus* spp. статистически значимо повышала количество лактобацилл толстого кишечника пациентов ЛПУ СКФО, принимавших антибактериальные препараты.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reid G. Regulatory and clinical aspects of dairy probiotics. In: *FAO/WHO. Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Cordoba, Argentina; 2001: 1–34. URL: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics/pdf.
2. Глушанова Н.А., Блинов А.И. О причинах недостаточной эффективности пробиотикотерапии. *Acta biomedica scientifica*. 2004; (1-3): 48-51.
3. Ткаченко Е.И., Суворов А.Н. *Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению*. СПб.: СпецЛит; 2007.
4. Способ получения персонализированного аутопробиотического продукта и способ лечения синдрома раздраженного кишечника с использованием этого продукта: Пат. № 2546253 Рос. Федерация; МПК С12N 1/20 (2006.01), С12Q 1/68 (2006.01), А61К 35/74 (2015.01), А23С 9/123 (2006.01) / Симаненков В.И., Суворов А.Н., Соловьева О.И.; патентообладатели Симаненков В.И., Суворов А.Н. – № 2013120765/10; заявл. 25.04.2013; опубл. 10.04.2015. – Бюл. № 10.
5. Коршунов В.М., Смянов В.В., Ефимов Б.А. Рациональные подходы к коррекции микрофлоры кишечника. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1996; (2): 60-65.

6. Lin JHC, Savage DC. Genetic transformation of rifampicins resistance in *Lactobacillus acidophilus*. *J Gen Microbiol*. 1986; 132(8): 2107-2111.
7. Глушанова Н.А. Колонизация кишечника лиофилизированными и жидкими препаратами гетеропробиотических лактобацилл (экспериментальное исследование). *Acta biomedica scientifica*. 2004; (1-1): 177-183.
8. Андреева И.В. Доказательное обоснование применения пробиотиков для лечения и профилактики заболеваний ЖКТ. *Медицинский совет*. 2007; (3): 60-63.
9. Способ получения аутопробиотика, содержащего живые бифидобактерии и лактобациллы: Пат. № 2139070 Рос. Федерация; МПК А61К 35/74 (1995.01), С12N 1/20 (1995.01) / Шендеров Б.А., Манвелова М.А.; заявитель и патентообладатель Шендеров Б.А. – № 99105814/13; заявл. 31.03.1999; опубл. 10.10.1999.
10. Способ получения аутопробиотика на основе *Enterococcus faecium*, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина: Пат. № 2460778 Рос. Федерация; МПК С12N 1/20 (2006.01), А61К 35/74 (2006.01), А23С 9/127 (2006.01) / Суворов А.Н., Симаненков В.И., Сундукова З.Р., Ермоленко Е.И., Цапиева А.Н., Донец В.Н., Соловьева О.И.; патентообладатели Суворов А.Н., Симаненков В.И. – № 2010154822/10; заявл. 30.12.2010; опубл. 10.09.2012. – Бюл. № 25.
11. Способ получения банка аутохтонных штаммов микроорганизмов для восстановления кишечного микробиоценоза человека: Пат. № 2126043 Рос. Федерация; МПК С12N 1/20 (1995.01), А61К 35/74 (1995.01) / Хачатрян А.П., Хачатрян Р.Г.; заявители и патентообладатели Хачатрян А.П., Хачатрян Р.Г. – № 97112279/13; заявл. 29.07.1997; опубл. 10.02.1999.
12. Ильин В.К., Суворов А.Н., Кирихина Н.В., Усанова Н.А., Старкова Л.В., Бояринцев В.В., и др. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; 68(2): 56-62.
13. Ермоленко Е.И., Симаненков В.И., Донец В.Н., Суворов А.Н., Сундукова З.Р. Опыт экспериментального и доклинического изучения аутопробиотиков. *Материалы Всероссийской конференции гастроэнтерологов юго-западного региона*. Ростов-на-Дону; 2009: 83-87.
14. Ермоленко Е.И., Ерофеев Н.П., Захарова Л.Б., Парийская Е.Н., Котылева М.П., Крамская Т.А., и др. Влияние индигенных энтерококков на микробиоту. Особенности двигательной функции толстой кишки при экспериментальном дисбиозе. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2016; 11(2): 769-781.
15. Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Гаврилов К.Е., Шабалина М.Р., Дармов И.В. Аутопробиотикотерапия. *Журнал инфектологии*. 2013; 5(4): 43-54. doi: 10.22625/2072-6732-2013-5-4-43-54
16. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов: МУ 2.3.2.2789-10. М.; 2011.
17. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. *Лабораторное дело*. 1986. (4): 210-212.
18. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: методические указания МУК 4.2.2602-10.4.2. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2010.
19. Ленцнер А.А., Ленцнер Х.П., Микельсаар М.Э., Тюри М.Э., Брилене Т.А., Брилис В.И. Лактофлора и колонизационная резистентность. *Антибиотики и медицинская биотехнология*. 1987; 32(3): 173-179.
20. Heilig HG, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans AD, de Vos WM. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp.

and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68(1): 114-123. doi: 10.1128/AEM.68.1.114-123.2002

21. Walter J. The microecology of lactobacilli in the gastrointestinal tract. In: Tannock GW. (ed.). *Probiotics & Prebiotics: Scientific Aspects*. United Kingdom, Norfolk: Caister Academic Press; 2005: 51-82.

22. Goldstein EJC, Tyrrell KL, Citron DM. Lactobacillus species: Taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clin Infect Dis.* 2015; 60(S2): S98-S107. doi: 10.1093/cid/civ072

23. Gueimonde M, Sánchez B, de Los Reyes-Gavilán C, Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol.* 2013; 4: 202. doi: 10.3389/fmicb.2013.00202

24. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot.* 1998; 61(12): 1636-1643.

25. Holliman RE, Bone GP. Vancomycin resistance of clinical isolates of lactobacilli. *J Infect.* 1988; 16(3): 279-283.

26. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli. *J Food Prot.* 2001; 64(12): 2007-2014.

27. Condon S. Aerobic metabolism of lactic acid bacteria. *Ir J Food Sci Technol.* 1983; 7(1): 15-25.

28. Онищенко Г.Г., Алёшкин В.А., Афанасьев С.С., Поспелова В.В. Иммунобиологические препараты, перспективы применения в инфектологии. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2002.

29. Соловьева И.В., Точилина А.Г., Белова И.В., Новикова Н.А., Иванова Т.П. Биологические свойства лактобацилл. Перспективы использования в лабораториях Роспотребнадзора экспресс-методов амплификации нуклеиновых кислот (Манк) при контроле качества пищевых продуктов, БАД к пище, лекарственных форм, содержащих лактобациллы. *Журнал МедиАль.* 2014; (2): 29-44.

30. Оришак Е.А., Нилова Л.Ю., Авалуева Е.Б., Бойцов А.Г., Ильинская С.Л. Изучение адгезивности при диагностике дисбиозов. *Клинико-лабораторный консилуим.* 2010; (1): 49-57.

REFERENCES

1. Reid G. Regulatory and clinical aspects of dairy probiotics. In: FAO/WHO. *Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Cordoba, Argentina; 2001: 1-34. URL: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics/pdf.

2. Glushanova NA, Blinov AI. On the causes of insufficient effectiveness of probiotic therapy. *Acta biomedica scientifica.* 2004; (1-3): 48-51. (In Russ.)

3. Tkachenko EI, Suvorov AN. *Intestinal dysbiosis. Guidelines on the diagnosis and treatment*. SPb.: SpetsLit; 2007. (In Russ.)

4. Simanenkov VI, Suvorov AN, Solovyeva OI. *Method of production of patient-specific autologous probiotic food and method of treatment of irritable bowel syndrome using this food*: Patent N 2546253 of the Russian Federation. 2015; (10). (In Russ.)

5. Korshunov VM, Smeyanov VV, Efimov BA. Management approaches to the correction of intestinal microflora. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 1996; (2): 60-65. (In Russ.)

6. Lin JHC, Savage DC. Genetic transformation of rifampicins resistance in *Lactobacillus acidophilus*. *J Gen Microbiol.* 1986; 132(8): 2107-2111.

7. Glushanova NA. Intestinal colonization by lyophilized and liquid preparations of heteroprobiotic lactobacilli (experimental research). *Acta biomedica scientifica.* 2004; (1-1): 177-183. (In Russ.)

8. Andreyeva IV. Evidence-based grounding for using probiotics for treatment and prevention of gastrointestinal tract diseases. *Meditsinskiy sovet.* 2007; (3): 60-63. (In Russ.)

9. Shenderov BA, Manvelova MA. *Method of production of autologous probiotic containing living bifidobacterium and lactobacterium*: Patent N 2139070 of the Russian Federation. 1999. (In Russ.)

10. Suvorov AN, Simanenkov VI, Sundukova ZR, Ermolenko EI, Tsapieva AN, Donets VN, Solovyeva OI. *Method of production of*

autologous probiotic on the basis of Enterococcus faecium, a form of indigenous intestinal microflora of host: Patent N 2460778 of the Russian Federation. 2012. (25). (In Russ.)

11. Khachatryan AP, Khachatryan RG. *Method of forming the bank of autochthonous strains of microorganisms for the recovery of human intestinal microbiocenosis*: Patent N 2126043 of the Russian Federation. 1999. (In Russ.)

12. Ilyin VK, Suvorov AN, Kiryukhina NV, Usanova NA, Starkova LV, Boyarintsev VV, et al. Autologous probiotics as a method of prevention of infectious and inflammatory diseases in human in artificial habitat. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2013; 68(2): 56-62. (In Russ.)

13. Ermolenko EI, Simanenkov VI, Donets VN, Suvorov AN, Sundukova ZR. Experimental and preclinical studying autologous probiotics. *Materialy Vserossiyskoy konferentsii gastroenterologov yugo-zapadnogo regiona.* Rostov-na-Donu; 2009: 83-87. (In Russ.)

14. Ermoleno EI, Erofeev NP, Zakharova LB, Pariyskaya EN, Kotyleva MP, Kramskaya TA, et al. Effect of indigenous enterococcus on microbiota. Features of colon motor function in experimental dysbiosis. *Zdorov'e – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya.* 2016; 11(2): 769-781. (In Russ.)

15. Chicherin IYu, Pogorelskiy IP, Lundovskikh IP, Gavrilov KE, Shabalina MR, Darmov IV. Autologous probiotic therapy. *Zhurnal infektsologii.* 2013; 5(4): 43-54. doi: 10.22625/2072-6732-2013-5-4-43-54. (In Russ.)

16. *Guidelines on sanitary and epidemiological assessment of safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production*: MU 2.3.2.2789-10. М.; 2011. (In Russ.)

17. Brilis VI, Brilene TA, Lentsner KhP, Lentsner AA. Method of studying the adhesive process of microorganisms. *Laboratornoe delo.* 1986. (4): 210-212. (In Russ.)

18. *Methods of control. Biological and microbiological factors. System of pre-approval preclinical study of preparation safety. Selection, verification and storage of production strains used for production of probiotics: guidelines MUK 4.2.2602-10.4.2.* М.: Federal'nyy tsentr Gossanepidnadzora Minzdrava Rossii; 2010. (In Russ.)

19. Lentsner AA, Lentsner KhP, Mikelsaar ME, Tyuri ME, Brilene TA, Brilis VI. Lactic flora and colonization resistance. *Antibiotiki i meditsinskaya biotekhnologiya.* 1987; 32(3): 173-179. (In Russ.)

20. Heilig HG, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans AD, de Vos WM. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68(1): 114-123. doi: 10.1128/AEM.68.1.114-123.2002

21. Walter J. The microecology of lactobacilli in the gastrointestinal tract. In: Tannock GW. (ed.). *Probiotics & Prebiotics: Scientific Aspects*. United Kingdom, Norfolk: Caister Academic Press; 2005: 51-82.

22. Goldstein EJC, Tyrrell KL, Citron DM. Lactobacillus species: Taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clin Infect Dis.* 2015; 60(S2): S98-S107. doi: 10.1093/cid/civ072

23. Gueimonde M, Sánchez B, de Los Reyes-Gavilán C, Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol.* 2013; 4: 202. doi: 10.3389/fmicb.2013.00202

24. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot.* 1998; 61(12): 1636-1643.

25. Holliman RE, Bone GP. Vancomycin resistance of clinical isolates of lactobacilli. *J Infect.* 1988; 16(3): 279-283.

26. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli. *J Food Prot.* 2001; 64(12): 2007-2014.

27. Condon S. Aerobic metabolism of lactic acid bacteria. *Ir J Food Sci Technol.* 1983; 7(1): 15-25.

28. Onishchenko GG, Alyoshkin VA, Afanasiev SS, Pospelova VV. *Immunobiological preparations, prospects of using in infectology.* М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2002. (In Russ.)

29. Solovyeva IV, Tochilina AG, Belova IV, Novikova NA, Ivanova TP. Biological properties of lactobacilli. Prospects of using the express-methods for nucleic acid amplification while food, BAA and lactobacilli-containing drugs quality control in laboratories of Federal Service on Surveillance for Consumer

Rights Protection and Human Well-Being. *ZHurnal MediAI*. 2014; (2): 29-44. (In Russ.)

30. Orishak EA, Nilova LYu, Avalueva EB, Boytsov AG, Ilyinskaya SL. Studying adhesiveness while dysbiosis diagnostics. *Kliniko-laboratornyy konsilium*. 2010; (1): 49-57. (In Russ.)

Сведения об авторах

Боровкова Екатерина Андреевна – аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: katerina_borovkova@mail.ru <https://orcid.org/0000-0003-1429-3599>

Алиева Елена Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: elalieva.ru@mail.ru

Фролова Татьяна Вячеславовна – заведующая бактериологической лабораторией, ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница», e-mail: tvf007@yandex.ru

Information about the authors

Ekaterina A. Borovkova – Postgraduate at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with the Course of Bacteriology, Stavropol State Medical University, e-mail: katerina_borovkova@mail.ru <https://orcid.org/0000-0003-1429-3599>

Elena V. Alieva – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with the Course of Bacteriology, Stavropol State Medical University, e-mail: elalieva.ru@mail.ru

Tatyana V. Frolova – Head of Bacteriological Laboratory, Kislovodsk City Hospital, e-mail: tvf007@yandex.ru