

УДК 612.336.3: 615.28]– 084

ВПЛИВ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПЕРАТУ БІОСПОРИНУ НА МІКРОБІОТУ КИШКИ ЗДОРОВОГО ОРГАНІЗМУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Адріана Гураль, Тетяна Руминська, Роксолана Шикуча, Олена Корнійчук

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна, adriana-herman@i.ua

Вступ. У разі необхідності проведення протимікробної елімінуючої терапії альтернативною лікування є застосування відповідних біопрепаратів. Вони мають високу антагоністичну активність стосовно до умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, виявляють імуномодульований ефект.

Мета нашої праці – дослідити вплив препарату біоспорину на окремих представників мікробіоти кишечника та підтвердити його активність щодо умовно-патогенних мікроорганізмів, зберігаючи автохтонну мікрофлору кишки.

Матеріали і методи. Досліди проводили на щурах – самцях лінії Вістар із початковою масою тіла 180–210 г, яких утримували у стандартних умовах віварію згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Тварин поділили на дві групи: 1) контрольна група ($n = 12$); 2) дослідна ($n = 12$). Тварини другої групи отримували препарат біоспорину у добовій дозі 0,2–0,3 мл / тварини на добу. Препарат вводили внутрішньошлунково щодобово впродовж 10 днів. Проводили мікробіологічне дослідження випорожнень, застосовуючи класичний культуральний метод. Виявляли наявність і визначали кількісні показники мікроорганізмів таких груп: ентерококів, ешерихій, умовно – патогенних ентеробактерій, мікроаерофільних бактерій – лактобацил, біфідобактерій і грибів роду *Candida*.

Результати, які отримали під час дослідження кишкової мікрофлори піддослідних щурів, порівнювали з даними інтактних тварин. Кількісний склад мікробного пейзажу кишечника визначали в \lg КУО/г (логарифм колонієутворювальних одиниць в 1 г випорожнень). Ідентифікацію виділених культур проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями. Статистичний аналіз одержаних результатів проводили методом варіаційної статистики з визначенням середніх значень величин, середньої похибки. Достовірність відмінностей між середніми значеннями під час проведення аналізу оцінювали, використовуючи непарний t -критерій Стьюдента.

Результати. Виявлено підвищення кількісного рівня бактерій кокової групи (стафілококів і стрептококів) порівняно з показниками інтактних тварин. Відхилення від контрольного показника кількості ентерококів було суттєвішим. Стрептококів, які не належать до роду *Enterococcus*, в інтактних тварин у калі не виявлено, проте при згодовуванні щурам біоспорину їх виділено у незначній кількості. Виявлено підвищення у досліді й популяційного рівня ешерихій. Зате, зафіксовано відсутність протейної мікрофлори за впливу біоспорину, тоді як з калу інтактних тварин ізольовано *Proteus mirabilis*. Мікроаерофільні мікроорганізми (*Lactobacillus*) та в інтактних тварин виявлялися на однаковому рівні. З боку біфідофлори виявлено деяку їхню елімінацію, що супроводжувалося зниженням кількості біфідобактерій порівняно з контролем. З боку дріжджеподібних грибів *Candida* змін не спостерігалось. Отримані результати дослідження впливу біоспорину на фекальну мікробіоту здорових щурів є свідченням того, що препарат спричиняє у кишечнику деякий перерозподіл мікробних симбіонтів. Очевидно, що за умов присутності бактерії – антагоніста в травному каналі організму

щура, мало ймовірною є проліферація досліджуваних мікроорганізмів. Підвищення кількості ентерококів і поява стрептококів є наслідком витіснення мікробів з верхніх відділів травного каналу, де їх більше, ніж у дистальних відділах. Подібний феномен пояснює і також деяку активацію ешерихій. Зниження кількості біфідобактерій не виходило за межі норми.

Висновки. Отримані результати дослідження впливу біоспорину на фекальну мікробіоту свідчать про перерозподіл у кишечнику мікробних симбіонтів. Зафіксовано підвищення кількості ентерококів а також популяційного рівня у товстому кишечнику ешерихій. Зміни з боку кількості лактобацил та біфідобактерій незначні.

Ключові слова: щурі, мікрофлора, симбіонти, кишечник, бактерії-антагоністи, мікробіоценоз.

EFFECT OF THE PROBIOTIC BIOSPORIN ON MICROBIOTA OF THE INTESTINE OF THE HEALTHY BODY IN EXPERIMENT

Adriana Hural, Tetyana Rumynska, Roksolana Shykula, Olena Korniychuk.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University Lviv, Ukraine,
adriana-herman@i.ua

Introduction. When it is necessary to apply to the antimicrobial elimination therapy, the application of appropriate biological drugs is the alternative treatment. One of them is Biosporin (includes *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis*). It has a high antagonistic activity against pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms and expresses the immunomodulatory effect. The purpose of our work was to investigate the effect of probiotic Biosporin on different representatives of intestinal microbiota and confirm its activity against opportunistic microorganisms while maintaining the normal symbionts of intestine.

Materials and methods. Experiments were conducted in the albino Wistar rats (males) with initial weighing 180-210 g, which were kept under standard vivarium conditions as required by ethics under the provisions of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Animals were in vivarium under appropriate lighting conditions, temperature and standard diet. During the study they had free access to water. The animals were divided into two groups: 1) control group (n = 12), 2) researched (n = 12). The first group was formed with intact rats. Animals of the second group were given the biological preparation Biosporin in a daily dose 0,2-0,3ml / animal per day. Calculation of doses were performed using doses of individual animals to humans. The biological preparation was administered intragastric every day for 10 days using nontraumatic probe. Faeces were collected on the 10th day into sterile container. When conducting microbiological investigations classic cultural method and differential diagnostic and special nutrient media for the cultivation of certain genera of microorganisms were used. The presence and quantitative values of enterococci, *Escherichia*, conditionally - pathogenic microorganisms, microaerophilic bacteria - lactobacilli and bifidobacteria were revealed. The results obtained in the investigations of intestinal microflora of experimental rats with the same ones in intact animals were compared. Number of the members of the intestinal microbial landscape was determined by counting of the colonies that grew on media in terms of 1g weight of feces. The conversion to lg of CFU / g (logarithm of the colony forming units in 1 g of faeces) was carried out. The identification of isolated cultures was carried out by morphological, tinctorial, cultural and biochemical properties. State microbiota of the colon was assessed by the population levels of certain species (groups) of microorganisms. Statistical analysis of the results was performed by the method of variational statistic with the determination of the average values of the quantities and the average error. Assessment of the reliability of the differences between average values during the analysis were obtained using unpaired t-Student test. The difference between the values was considered reliable when probability difference $p \leq 0,05$.

Results and discussion. Giving the Biosporin to the healthy animals slightly affected the studied quantitative microbial symbionts. Thus, the level of representatives of coccal group (staphylococci and streptococci) was partly higher compared with the intact animals. Staphylococci were found in the number of $(5,6 \pm 0,48)$ in experimental animals to $(5,2 \pm 0,35)$ lg CFU/ g in control group. Deviation of enterococci compared with control were more significant $(9,6 \pm 0,60$ to $7,0 \pm 0,46$ lgCFU / g). Streptococci, which do not belong to the genus *Enterococcus*, were not found in the faeces of intact animals, but after given to rats Biosporin, were found in small amounts $(1,2 \pm 0,2$ lgCFU / g). The highest rate was in *Escherichia*. These enterobacteria were found in the experiment at $6,35 \pm 0,57$ lg CFU / g to 5.9 ± 0.40 in control. The absence of *Proteus* under the influence of Biosporin was noticed, at the time, *Proteus mirabilis* in the amounts $6,0 \pm 0,58$ in intact animals was found. Microaerophilic microorganisms (*Lactobacillus*) in experiment and in intact animals at 7.0 were found out. On the part of bifidoflora some of their elimination, accompanied by a decrease of bifidobacteria compared with controls from $7,5 \pm 0,76$ to $6,75 \pm 0,72$ lg CFU / g was recorded. Changes of the amount of yeast fungi *Candida* in both groups were not recorded. The results of the research of the influence of Biosporin on faecal microbiota of healthy rats is an evidence that the drug causes some redistribution of microbial symbionts. It is clear that in the presence of bacteria - antagonist in the organism of rat the proliferation of investigated microorganisms is unlikely. Increasing of the number of enterococci and streptococci appearance is the result of the movement of microbes from the upper digestive tract, where they are more at its distal. A similar phenomenon also explain an activation of *Escherichia* in faeces. The number of bifidobacteria does not go beyond the norm. Thus, under conditions of a healthy body Biosporin initiates translocation of symbionts from proximal to distal digestive tract. Moreover, the discharge of natural biological niches promotes renewal of the population. With an excess of opportunistic flora, which includes representatives of the genus *Proteus*, Biosporin causes their elimination, reflected an appreciable therapeutic effect.

Conclusions. The results of investigations of Biosporin influence on faecal microbiota indicate a redistribution of microbial symbionts. The increase of enterococci in the number and some activation of *Escherichia* in colon was established. Changes of lactobacilli and bifidobacteria number are insignificant. Obviously, the positive effect of Biosporin is more prominent in the case of dysbiotic changes (excessive proliferation of microflora). The proclivity of quantitative glycolytic microaerophilic microflora decreasing of Biosporin action, is the reason to use the probiotic preparations for reimplantation of lack bifidobacteria and lactobacilli as the next step after Biosporin utilisation.

Key words: rats, microflora, symbionts, intestine, bacteria – antagonists, microbiocenosis.

Актуальність. Найновіші наукові відкриття початку ХХІ ст. стали підставою по-новому трактувати поняття мікробіоценозу і значення нормосимбіотичної мікрофлори в патогенезі інфекційних захворювань, а також значення й безпосередньої участі у відновленні гомеостазу після відповідних патологічних змін [1, 2]. Йдеться про відкриття організації мікробних асоціацій у багатофункціональній структурі (біоплівки), системи регулювання всередині біоплівок і з макроорганізмом, подальші дослідження факторів вродженого специфічного імунітету (Toll-рецептори і ORP), біологічний годинник, який супряжено регулює функціональну активність мікробіоти, й організму людини, відкриття широкого кола невідомих раніше чинників, важливих для формування еубіозу у новонароджених

дітей та інші важливі відкриття [18]. Надлишковий ріст умовно-патогенної мікрофлори в дорослому організмі за умов функціональних захворювань чи запальних станів зазвичай є вторинними, і радше індикатором захворювання. Проте комплекс лікувальних заходів передбачає проведення елімінуючої протимікробної терапії, оскільки бактеріальні токсини активно проліферуючої умовно-патогенної мікрофлори індукують продукцію цитокінів, що сприяє прогресуванню запального процесу. Протимікробна хіміотерапіотерапія, безперечно, має відповідний протизапальний ефект і сприяє припиненню діареї, що нерідко є причиною призначення кишкових антисептиків (інтетрикс, фуразолідон, ніфуроксазид, фталазол). Розроблення широкого спектра біопрепаратів різного складу та призначен-

ня стало альтернативою хіміотерапевтичним протимікробним препаратам [5, 7].

Сьогодні біотерапію не розглядають як процес лише реімплантації нормосимбіонтів, популяція яких зазнала змін впродовж захворювання, а для ініціації механізмів, які сприяють відновленню гомеостазу.

Препарати, які мають виражену антагоністичну дію на умовно-патогенну мікрофлору і, подібно до антибіотиків, елімінують про-світних опортуністів, створені на підставі спороутворювальних бактерій, і активно застосовують впродовж багатьох років для лікування різних дисбіотичних станів у дітей і дорослих, в тім числі постінфекційних та постмедикаментозних [8]. Це такі препарати: біоспорин, субалін, бактисубтіл, ентерожерміна та ін. До складу згаданих препаратів входять спори різних видів бацил. Подібний склад препаратів зумовлює, практично, однакове призначення з деякими незначними відмінностями. Зокрема, ентерожерміна, до складу якої входить суспензія спор *Bacillus clausii*, завдяки здатності зазначеної бактерії синтезувати різні вітаміни (особливо групи В) сприяє корекції дисвітамінозу, спричиненого застосуванням протимікробних хіміотерапевтичних препаратів. Субалін, який містить *Bacillus subtilis*, вважається антивірусним, антибактеріальним, імуномодулювальним мікробним препаратом. До складу біоспорину входить 2 види бацил – *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis*. Як і попередні препарати, цей пробіотик має високу антагоністичну активність щодо умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів людського організму, не виявляючи негативного ефекту на представників природної мікрофлори [12, 13, 20]. Крім того, завдяки синтезу бактеріями, які входять до складу біоспорину комплексу ферментів, відбувається стимуляція і регулювання нормально-го травлення, поліпшення всмоктування в шлунково-кишковому тракті вітамінів Е, Д і нормалізація продукції вітамінів групи В. Разом з тим препарат позитивно впливає на імунну систему: активує макрофаги, стимулює реплікацію імуноглобулінів, підсилює вироблення ендogenous інтерферону та лізоциму. Саме тому для дослідження обрали біоспорин виробництва «Біоспорин-Біофарма» виробництва ПрАТ «Біофарма».

Мета проведеного експериментального дослідження – виявити вплив препарату на мікробний пейзаж кишечника щурів при згодуванні їм біоспорину.

Матеріали та методи. Досліди проводили на щурах – самцях лінії Вістар із початковою масою тіла 180–210 г, яких утримували у стандартних умовах віварію [19] згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Впродовж дослідження вони мали вільний доступ до води. Тварин поділили на дві групи: 1) контрольна група (n= 12); 2) дослідна (n = 12). Першу групу сформовано з інтактних щурів. Тварини другої групи за умов стандартного годування отримували препарат біоспорину у добовій дозі 0,2–0,3мл/ тварини на добу.

Вирахунок доз проводили, використовуючи перерахунок доз з окремої тварини на людину. Препарат вводили внутрішньошлунково за допомогою нетравматичного зонда щодобово впродовж 10 днів.

На 10-й день відбирали випорожнення, використовуючи для цього стерильні ємкості.

Під час проведення мікробіологічних досліджень застосовували класичний культуральний метод [6]. Використовували диференційно-діагностичні та спеціальні поживні середовища. Виявляли присутність і визначали кількісні показники мікроорганізмів таких груп: ентерококів, ешерихій, умовно – патогенних мікроорганізмів, мікроаерофільних бактерій – лактобацил і біфідобактерій.

Зразки зважували на торзійній вазі, вносили у стерильну фарфорову ступу, розтирали і готували десятикратні серійні розведення – від 10^{-2} до 10^{-11} , 0,01 мл суспензії для посіву на відповідні поживні середовища. Факультативні анаероби культивували 1–2 доби у термостаті за температури 37 °С, анаеробні бактерії та мікроаерофіли – 5–7 діб. Результати, які отримали під час дослідження кишкової мікрофлори піддослідних щурів, порівнювали з даними інтактних тварин.

Кількісні рівні мікросимбіонтів кишечника визначали у Ig КУО/г (логарифм колоніє-

утворювальних одиниць в 1 г випорожнень). Ідентифікацію виділених культур проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями [14, 16, 22]. Стан мікробіоценозу товстої кишки оцінювали за популяційним рівнем відповідних видів (груп) мікроорганізмів.

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили методом варіаційної статистики з визначенням середніх значень величин, середньої похибки. Достовірність відмінностей між середніми значеннями під час проведення аналізу оцінювали, використовуючи непарний t-критерій Стьюдента. Відмінність між величинами вважали достовірною за ймовірності різниці $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення. Згодовування біоспорину здоровим тваринам незначно відображалось на кількісних показниках досліджених мікробних симбіонтів (див. табл.).

Показники мікробіоценозу кишечника щурів при згодовуванні біоспорину

Мікроорганізми M±m(Ig КУО/г)	Групи	
	контроль (інтактні) (N=12)	дослід (N=12)
<i>Staphylococcus</i>	5,2±0,35	5,6±0,48
<i>Enterococcus</i>	7,0±0,46*	9,6±0,60
<i>Streptococcus</i>	0	1,2± 0,2
<i>E.coli</i>	5,9±0,4*	6,35±0,57
УПЕ	0	0
Протей	6,0±0,58	0
Гриби роду <i>Candida</i>	5,5± 0,57	5,54± 0,62
<i>Bifidobacterium</i>	7,5± 0,76	6,75±0,72
<i>Lactobacillus</i>	7,0± 0,2	7,0 ±0,3

* Показники достовірно відрізняються між собою ($p \geq 0,05$).

Рівень представників кокової групи (стафілококів і стрептококів) деякою мірою вищий порівняно з показниками інтактних тварин. Стафілококи виявлялися у дослідних тварин у кількості (5,6±0,48) щодо (5,2±0,35)Ig КУО/г. Відхилення від показника ентерококів порівняно з контролем суттєвіші (9,6±0,60 щодо 7,0±0,46)Ig КУО /г, $P \geq 0,05$).

Стрептококів, які не належать до роду *Enterococcus*, в інтактних тварин у калі не виявлено, проте при згодовуванні щурам

біоспорину їх виявили у незначній кількості (1,2± 0,2 Ig КУО /г). Виявлено підвищення кількісного показника ешерихій: згадані ентеробактерії виявили в досліді на рівні 6,35±0,57)Ig КУО /г щодо 5,9±0,40 у контролі. Проте зафіксовано відсутність протейної мікрофлори за впливу біоспорину, тоді як в інтактних тварин виявлено *Proteus mirabilis* на рівні (6,0±0,58). Мікроаерофільні мікроорганізми (*Lactobacillus*) у досліді і в інтактних тварин виявлялися на рівні 7,0. З боку біфідофлори помічено деяку елімінацію, що супроводжувалося зниженням показника біфідобактерій порівняно з контролем від 7,5±0,76 до 6,75±0,72 Ig КУО/г. З боку дріжджеподібних грибів *Candida* змін не спостерігалось.

Отримані результати дослідження впливу біоспорину на фекальну мікробіоту здорових щурів є свідченням того, що препарат спричиняє у кишечнику перерозподіл мікробних симбіонтів. Очевидно, що за умов присутності бактерії – антагоніста в кишечнику організму щура, малоімовірно є проліферація досліджуваних мікроорганізмів. Підвищення кількості ентерококів і поява стрептококів – наслідок витіснення мікробів з верхніх відділів травного каналу, де їх більше, у його дистальні відділи. Подібний феномен пояснює і деяке підвищення в калі кількості ешерихій. Зниження кількості біфідобактерій не виходило за межі норми.

Отож, за умов здорового організму біоспорин ініціює транслокацію симбіонтів проксимальних відділів травного каналу у дистальні. Розвантаження природних біологічних ніш сприяє оновленню мікробної популяції. За наявності надлишку опортуністичної просвітної мікрофлори, до якої належать представники роду *Proteus*, біоспорин спричиняє елімінацію, що виявляється вираженим лікувальним ефектом.

Висновки

Отримані результати дослідження впливу біоспорину на фекальну мікробіоту свідчать про деякий перерозподіл мікробних симбіонтів травного каналу.

Очевидно, за наявності дисбіотичних змін (надлишкова проліферація просвітної мікрофлори) вплив біоспорину на мікробіоценоз кишки сприяє його відновленню.

Наявність тенденції до зниження кількісного рівня гліколітичної мікроаерофільної мікрофлори від дії біоспорину, є підставою до застосування пробіотичних препаратів для

реімплантації втрачених біфідобактерій і лактобацил в умовах дисбіозу як наступний етап після прийому біоспорину.

Література

1. Andruh V. S. Mikrobiota. Ljudyna. Dysbakterioz. Bakterial'ni probiotyky. Pravda ta mify / V. S. Andruh. // Racional'naja farmakoterapija. – 2013. – S. 56.
2. Berezhnyj V. V. Novi mozhlyvosti vykorystannja mul'tyshtamovyh synbiotyktiv u pediatrichnij praktyci / V. V. Berezhnyj, V. G. Kozachuk. // Sovremennaja pedyatryja. – 2016. – S. 33.
3. Bondarenko V.M., Maculevych T.V. Dysbakterioz kyshechny kak akklynyko-laboratornij syndrom: sovremennoe sostojanye problemy: Rukovodstvo dlja vrachej. – M.: GЭOTAR-Medya, 2007. – 304 s.
4. Gryshel' A.Y., Kyshkurko E.P. Probyotyky y yh rol' v sovremennoj medycyne // Vestnyk farmacyy. – 2009. – № 6. – S. 15–16.
5. Kalinichenko S. V. Suchasnyj stan rozrobky ta zastosuvannja probiotychnyh, prebiotychnyh ta synbiotychnyh preparativ (ogljad literatury) [Tekst] / S. V. Kalinichenko // An. Mechnyktiv'skogo Instytutu. – 2013. – № 3. – S. 5–12.
6. Klymnjuk S.I., Sytnyk I.O., Tvorko M.S., Shyrobokov V.P. Praktychna mikrobiologija. Ternopil': Ukrmedknyga. – 2004. – 438 s.
7. Kordon T. I. Pryncypy stvorennja, mehanizm dii' ta klinichne zastosuvannja probiotyktiv (Ogljad) [Tekst] / T. I. Kordon // An. Mechnyktiv'skogo instytutu. – 2014. – № 4. – S. 8–16.
8. Pohylenko V.D., Perelgyn V.V. Probyotyky na osnove sporoobrazujushhyh bakterij y yh bezopasnost' // Hymycheskajay byologycheskaja bezopasnost'. – 2007. – № 2–3. – S. 32–33.
9. Cafonova M.A. Probyotycheskye preparaty dlja korrekcyi mykroekologycheskyh narushenyj kyshechnyka / M. A. Safonova, O. Ju. Kuznecov // Vestn. Yvanovskoj med. akad. – 2012. – T. 17, № 1. – S. 49–54.
10. Tkach S.M. Kyshechnaja mykrobyota v norme y pry patologyy. Sovremennyye podhody k dyagnostyke korrekcyi kyshechnogo dysbioza / S.M. Tkach, K.S. Puchkov, A.K. Syzenko. – Kyiv: Tvysa LTD, 2014. – 149 s.
11. Shyrobokov V.P., Jankov'skyj D.S., Dymant G.S. Novi strategii' v oblasti stvorennja i klinichnogo vyprobuvannja probiotyktiv // visnyk farmakologii' ta farmacii'. – 2010. – №2. – S. 18–30.
12. Bacillus subtilis isolated from the human gastrointestinal tract / Hong H. A., Khaneja R., Tam N. M. [etal.] // Res. Microbiol. – 2009. – Vol. 160, № 2. – P. 134–143. 28
13. Bader J. Sporeforming bacteria and the irutilisation as probiotics / J. Bader, A. Albin, U. Stahl // Benef. Microbes. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 67–75. 29.
14. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed. D.R.Boone., R.W.Gastehndz., M.George [etal] NewYork: Springer – Verlag; 2001.
15. Candela M., Maccaferri S., Turroni S. et al. Functional intestinal microbiom, new frontiers in prebiotic design // Int. J. Food Microbiol. – 2010. – №140. – P. 93–101.
16. Dobler G. Recent taxonomic changes and up date of nomenclature for bacteria identified in clinical material [Text] / G. Dobler, I.Braveny // Eur j Clin Microbiol infect Dis. – 2003. – Vol. 22. – P. 643– 646.
17. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta analysis / A. C. Ford, E. M. Quigley, B. E. Lacy [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 109, № 10. – P. 1547–1561
18. Guandalini S. Prebiotics and probiotics in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in children / S. Guandalini, E. Cernat, D. Moscoso // Benef. Microbes. – 2014. – Vol. 12. – P. 1–9. 33.
19. Kozhemjakin Yu.M. Naukovo–praktichni rekomendatsiji z utrimannya laboratornih tvarin ta robota z nimi / Kozhemjakin Yu.M. // Kyiv. – Avitsenna. – 2002. – 156 s.
20. Probiotic action on diseases: implications for therapeutic treatments / Chiu Y. H., Lin S. L., Tsai J. J., Lin M. Y. // Food Funct. – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 625–634.
21. Plaza-Diaz J. et al. Effects of Lactobacillus paracasei CNCM I-4034, Bifidobacterium breve CNCM I-4035 and Lactobacillus rhamnosus CNCM I-4036 on Hepatic Steatosis in Zucker Rats // PLoS ONE. – 2014. – doi: 10.1371/journal
22. P.R.Murray Manual of clinical microbiology/ P.R.Murray, E.I.Baron, I.H.Jorgensen [etal] // Washington: ASM Press; 2003.

Стаття надійшла 11.10.2016

Після допрацювання 12.11.2016

Прийнята до друку 16.11.2016