

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ –
ИНСТИТУТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Шеф Кирилл Александрович

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ АУТОПРОБИОТИК, ДЛЯ
КОРРЕКЦИИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ
МОДЕЛИРОВАНИИ МЕЖПЛАНЕТНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ**

Специальность: 3.3.7 - Авиационная, космическая и морская медицина

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор, член-корреспондент РАН,
Ильин Вячеслав Константинович

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
1.1 Цель и задачи исследования.....	6
1.1.1 Цель исследования.....	6
1.1.2 Задачи исследования.....	6
1.2 Основные положения, выносимые на защиту.....	7
1.3 Научная новизна.....	7
1.4 Практическая значимость.....	8
1.5 Апробация работы.....	9
1.6 Публикации по теме диссертации.....	10
2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
2.1 Современное представление о пробиотиках.....	11
2.2 Пробиотики в составе пищевой продукции.....	14
2.3 Воздействие условий космического полета на микробиом кишечника....	30
3 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	37
3.1 Дизайн исследования.....	37
3.1.1 Изучение комплексного воздействия факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов, использующихся в составе пробиотических средств.....	38
3.1.2 Изменения состава микробиоты кишечника при моделировании основных неблагоприятных факторов космического полета: сочетанное воздействие химического и радиационного факторов низкой интенсивности.....	40
3.1.3 Экспериментальная апробация пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета, у крыс в эксперименте с вывешиванием в качестве средства профилактики негативных эффектов факторов КП.....	45

3.1.4 Исследование эффективности сочетанного использования напитков брожения на основе сахаромецета и пробиотических, и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19).....	47
3.1.5 Изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»	50
3.1.6 Создание банка для хранения микробных ассоциаций в условиях криогенной техники, разработка режимов хранения. Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки	52
3.1.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта	55
3.2 Животные их содержание, корм	56
3.3 Методы	56
3.3.1 Методика лиофилизации	56
3.3.2 Количественная оценка	57
3.3.3 Качественная оценка.....	58
3.3.4. Статистический анализ.....	60
4 Результаты и обсуждение	60
4.1 Комплексное воздействие факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов	60
4.2 Анализ состава микробиоты кишечника при моделировании основных неблагоприятных факторов космического полета: сочетанное воздействие химического и радиационного факторов низкой интенсивности	62

4.3 Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс.....	63
4.4 Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромикетов и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)	69
4.5 Изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»	71
4.6 Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки.....	73
4.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта.....	75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	78
ВЫВОДЫ	85
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	86
СПИСОК ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	87
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	104

Введение

Актуальность темы исследования

С увеличением времени пребывания на космических станциях и частотой ротации экипажей возрастает вероятность образования и сохранения штаммов микроорганизмов, аналогичных тем, что встречаются в больницах. Особенно это важно учитывать при планировании длительных межпланетных миссий и пребывании на лунных базах, где риски формирования таких штаммов увеличиваются [Horneck, Klaus, Mancinelli, 2010]. Кроме того, снижается устойчивость космонавтов к инфекционным заболеваниям, что подчеркивает необходимость внедрения эффективных мер для поддержания иммунной системы [Cowen, Zhang, Komorowski, 2024].

Обеспечение медицинской безопасности в космосе становится одной из главных задач, ведь активизация условно-патогенной флоры в ограниченном пространстве повышает риск инфекций. Основные пути распространения микроорганизмов включают носительство членами экипажа и перекрестную передачу инфекции. Человеческий фактор играет ключевую роль в этом процессе, способствуя загрязнению поверхностей и систем жизнеобеспечения через непосредственный контакт и воздушное распространение. Благоприятные условия, такие как высокая температура, влажность и образование конденсата, создают идеальную среду для размножения бактерий, превращая определенные участки в потенциальные источники инфекции [Chęcinska Sielaff и др., 2019].

Проблема актуализировалась уже в прошлом веке, задолго до того, как космические экспедиции стали такими продолжительными. С 1969 года под руководством [Лизько Н.Н., Гончарова Г.И., Семенова Л.П., 1986] в Государственном научном центре Российской Федерации — Институте медико-биологических проблем РАН проводилось масштабное исследование микробиологического состава экипажей. Было выполнено множество экспериментов, результаты которых заложили фундамент для дальнейших изысканий в этой области.

О возможности развития дисбактериоза предупреждали такие специалисты,

как [Лизько Н.Н., 1991; Поликарпов Н.А., 1982; Viktorov, Pyin, 1991], а также зарубежные коллеги, такие как [Taylor, 1974]. В число наиболее действенных профилактических средств входят аутопробиотики, чья эффективность была доказана в ходе экспериментов с участием людей и приматов, воспроизводящих различные аспекты космического полета, включая изоляцию, радиационные воздействия и сухую иммерсию [Ильин В.К. с соавт.]. В последнее время одним из успешных решений стало использование пищевых продуктов, обогащенного пробиотиками.

Исходя из вышеизложенного, подобные продукты считаются наиболее эффективными для минимизации микробиологических рисков у членов экипажей длительных космических миссий. Метод является особенно перспективным благодаря ряду преимуществ:

1. В составе препарата содержатся активные клетки пробиотических микроорганизмов, а не восстановленные из сухих форм.
2. Применение этого продукта показало лучшие результаты в снижении уровня дисбиотических изменений и обеспечении длительного эффекта.
3. Средство классифицируется как элемент лечебно-профилактического питания, а не медицинского препарата.

1.1 Цель и задачи исследования

1.1.1 Цель исследования

Оценить влияние применения пищевых продуктов, содержащих аутопробиотик для коррекции дисбиотических нарушений в условиях моделируемых факторов межпланетного космического полета.

1.1.2 Задачи исследования

1. Исследовать активность пробиотиков после их экспозиции в условиях сочетанного воздействия радиации и гипомагнитной среды.

2. Исследовать эффективность пищевых продуктов, содержащих аутопробиотики на основе *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus spp.*, на организм человека и животных в условиях модельных экспериментов (длительная изоляция и антиортогостатическое вывешивание).

3. Исследовать стабильность микробиоценоза в составе нативных образцов кала человека после длительного хранения в условиях криогенизации.

1.2 Основные положения, выносимые на защиту

1. Экспозиция пробиотических препаратов в условиях воздействия комплекса факторов космического полета, присущих межпланетным экспедициям (гипомагнитная среда, измененный радиационный фон), а также при длительной криоконсервации не приводит к изменениям их качества.

2. Использование пищевых продуктов, обогащенных аутопробиотиками оказывает эффективное стабилизирующее воздействие на микробиоту кишечника человека в экспериментах, имитирующих воздействие факторов космического полета.

1.3 Научная новизна

Впервые показано, что экспозиция пробиотических препаратов в условиях воздействия комплекса факторов космического полета, присущих межпланетным экспедициям (гипомагнитная среда, измененный радиационный фон) не приводит к изменениям их качества, поэтому в экспедициях на Луну пробиотики могут применяться аналогично рекомендациям, принятым в земных условиях.

Впервые показано, что использование пищевых продуктов, обогащенных аутопробиотиками, оказывает эффективное стабилизирующее воздействие на микробиоту кишечника человека в экспериментах, имитирующих воздействие факторов космического полета, поэтому пищевые продукты, обогащенные

аутопробиотиками, являются перспективными для использования в практике медицинского обеспечения длительных, в т.ч. межпланетных космических полетов.

1.4 Практическая значимость

Работа экспериментально обосновывает создание пищевых продуктов, включающих аутологичные микроорганизмы, представители протективной микрофлоры кишечника.

В работе доказано, что воздействие комплекса факторов измененной среды (радиационное воздействие, замораживание, гипомагнитная среда) не оказывает негативного воздействия на пробиотические свойства культур и их ассоциаций, что делает технологию обогащения пищевых продуктов аутопробиотиками потенциально применимой при реализации перспективных программ освоения дальнего космоса. Разработано НТО «Кисломолочный продукт, обогащенный аутопробиотиками» для последующего применения в условиях межпланетного космического полета (Приложение Ж).

Личный вклад автора

Вклад автора в научно-квалификационную работу заключается в самостоятельном анализе литературных данных по теме диссертации, а также аспектов, связанных с выбранной темой. Соискатель провел анализ существующих научных данных, предложил новые гипотезы и подходы к решению поставленных задач, а также использовал оригинальные методики и инструменты для планирования и проведения экспериментов. В процессе работы автор активно взаимодействовал с научным сообществом, участвовал в конференциях и публиковал статьи в журналах, способствуя распространению своих результатов и развитию науки в целом.

1.5 Апробация работы

Результаты диссертационной работы были доложены на научных мероприятиях:

- XLVI Международные общественно-научные чтения, посвященных памяти Ю.А. Гагарина 2019 (г. Гагарин, ул. Советская, дом 4),
- XVIII конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 50-летию высадки человека на Луну, 16-17 апреля 2019 года, Москва;
- XIV Всероссийской выставке «день садовода-2019» 12-14 сентября 2019 года;
- XIII Международная научно-практическая конференция «Пилотируемые полеты в космос» (13-15 ноября 2019 года в ФГБУ «НИИ ЦПК имени Ю.А. Гагарина»);
- 55-е Научные чтения, посвященные разработке научного наследия и развитию идей К.Э. Циолковского, 15-17 сент. 2020, Калуга;
- XLVII Международные общественно-научные чтения, посвященных памяти Ю.А. Гагарина 2020г (г. Гагарин, ул. Советская, дом 4);
- 23-международный Симпозиум «Человек в космосе». 5-8 апреля 2021г, Россия, Москва,
- II Конференция «Питание в Космосе: наука, инновации, перспективы», посвящённая 90-летию со дня рождения Ю.А. Гагарина и 300-летию Российской академии наук 9 апреля 2024 г.;
- VI Международная научная конференция «Микробиота человека и животных» ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» 14-16 октября 2024 г., Санкт-Петербург;
- II Северо-Кавказский форум специалистов лабораторной медицины, 15 нояб. 2024, г. Грозный.

1.6 Публикации по теме диссертации

Результаты работы опубликованы в научных журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК и индексируемых в базах данных Web of Science и/или Scopus (6 статей), а также в сборниках докладов научных конференций (8 тезисов).

2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Современное представление о пробиотиках

Определение проблем, тенденций и развития в области применения пребиотиков показали, что при активности одного или нескольких представителей защитной микрофлоры кишечника данные агенты способствуют поддержанию нормального состава микрофлоры и биологической активности. Существуют критерии отбора, оценки и определения пробиотического индекса. Пребиотические и пробиотические вещества классифицируются по происхождению, структурной составляющей, источнику, способу происхождения и области их применения.

В 1995 году для описания агента и процесса осуществляемого в организме человека использовали термин «пребиотик» [Gibson, Roberfroid, 1995]. В последующих исследованиях применялась корректировка определенного вида деятельности данных агентов и попытка выборочного описания стимулирующих свойств определенных видов бактерий, включая бифидо и лактобациллы. Но, к сожалению, с учетом появления современных данных о составе и функциях микробиома кишечника за понятием пребиотик было закреплено понятие о ферментируемом ингредиенте, потребление которого способствует специфическим изменениям в микробиоме кишечника и улучшает здоровье организма человека.

Возникновению современного представления о пребиотиках предшествовали исследования групп бактерий рода *Bifidobacterium*, которые стимулировали рост и накопление полезных обитателей данного микробиоценоза. По исследованиям последних десятилетий исследователи все больше описывают сложность процесса описания взаимодействий сложной микробиоты кишечника, недостающее понимание видов и штаммов при метаболизме пребиотиков, пользы и вреда для здоровья человека.

Для Российской Федерации термин пребиотик – «физиологически функциональный пищевой ингредиент в виде вещества или комплекса веществ,

обеспечивающий при систематическом употреблении в пищу человеком в составе пищевых продуктов благоприятное воздействие на организм человека в результате избирательной стимуляции роста и/или повышения биологической активности нормальной микрофлоры кишечника». Особое внимание в нашей стране уделяется вопросам поддержания и восстановления нормальной кишечной микробиоты. Микроорганизмы играют важную роль в сохранении здоровья человеческого организма. Особенно актуальным в настоящее время является рассмотрение проблем экосистемы человек – макроорганизм и ассоциация микробиоты организма хозяина. Нарушения в данной системе приводят к различным расстройствам и заболеваниям. Нормальная микрофлора кишечника является активным звеном пищеварительного процесса, синтеза биологических веществ, а также выполняет протекторную и барьерную функции в организме хозяина, предотвращая развитие патогенных микроорганизмов и стимулируя иммунитет.

К пробиотикам в основном относят бифидобактерии, реже молочнокислые микроорганизмы. Данные виды бактерий, колонизируют ЖКТ и находятся в составе микробиоты, выполняя барьерную функцию.

В большинстве исследований за последние годы активно развиваются направления стимуляции роста и жизнедеятельности через применение пребиотических продуктов. При систематическом употреблении данные продукты оптимизируют микробный статус организма [Borshchev и др., 2023].

Исследователи отмечают, что на практике данный метод обладает невысокой эффективностью и не обеспечивает устойчивость результатов нормализации микрофлоры кишечника, так как нижних отделов кишечника достигают в лучшем случае 25-30% вводимых пробиотиков вследствие губительного для них действия защитных барьеров организма (кислотная и щелочная среда верхних отделов ЖКТ) [Просьянников и др., 2020]. В связи с этим использование пробиотиков, т.е. введение экзогенной нормофлоры, можно рассматривать лишь как экстренную помощь, не дающую стойких позитивных результатов в комплексном лечении дисбиотических состояний.

Пребиотики и пищевые продукты, содержащие их, обладают пребиотическим эффектом, способствуя пролиферации и абсорбции эндогенной микрофлоры без возникновения проблемы приживаемости.

Традиционно для лечения нарушений биоценоза Кишечник использует пробиотики, которые представляют собой живые организмы, которые при использовании в адекватных количествах приводят к улучшению здоровья хозяина. Иными словами, пробиотики представляют собой живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, которые в ходе естественного способа введения положительно воздействуют на физиологические и метаболические функции, а также биохимические и иммунные реакции организма хозяина через оптимизацию состояния.

Пробиотики обычно используются в качестве монопрепарата для коррекции микрофлоры в случаях дисбактериоза. Их также можно применять в качестве монотерапии при острых кишечных инфекциях легкой и средней степени тяжести, но в этом случае дозу пробиотика необходимо увеличить. Было показано, что введение высоких доз пробиотика приводит к купированию патологического процесса, нормализации температура тела, характера стула и санации кишечника от патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Побочные эффекты при лечении высокими дозами пробиотиков отсутствуют, однако вопрос о целесообразности такого метода лечения до сих пор не решен, без необходимых в таких случаях дополнительных исследований и сертификации согласно общепринятым стандартам.

Поверхность кишечника содержит миллиарды живых бактерий, общее количество которых в толстой кишке примерно до 10^{14} КОЕ/мл, данные бактерии образуют популяции, варьирующийся от более низкой плотности около 10^2 КОЕ/мл в желудке до около 10^{11} КОЕ/мл в толстой кишке. Помимо кишечного микробиома, ЖКТ также колонизируется грибками и вирусами с образованием кишечного микробиома соответственно. Состав микробиоты кишечника динамично меняется от рождения до взрослого возраста. С рождением человека преобладает количество протеобактерий, но впоследствии развития и

формирования состав меняется и создает нормальную, взрослую микробиоту. Установлено, что изменения при дисбиозе тесно связаны с систематическими воспалениями и метаболическими синдромами. При воспалениях печени и преддиабете наблюдалось значительное увеличение представителей *Enterobacteriaceae*, относящихся к гамма-Proteobacteria.

Длительные космические полеты (в том числе межпланетные) сопровождаются риском, связанным с развитием синдрома нарушения колонизационной резистентности космонавтов [Ильин, Воложин, Виха, 2005]

Это обстоятельство является объектом эпидемиологической настороженности, и определяет необходимость создания средств и методов профилактики [Ermolenko и др., 2024; Ilyin и др., 2013]

Синдром нарушения колонизационной резистентности проявляется в угнетении защитных свойств трех барьеров, выстраиваемых человеческим организмом на пути инфекционного агента – это барьер, формируемый протективной микрофлорой, барьер, формируемый эпителием входных ворот инфекции (желудочно-кишечный тракт, верхние дыхательные пути и др.) и барьер, формируемый факторами клеточного и гуморального иммунитета [Van Der Waaij, 1987].

Нормальная флора кишечника человека колонизирована микробами, включая не только бактерии, но и другие микробы, такие как грибы, археи, вирусы и простейшие [Sekirov и др., 2010; Zhang и др., 2015]

2.2 Пробиотики в составе пищевой продукции

Пища играет важную роль в колонизации высших организмов полезными микроорганизмами. Эта колонизация, даже в раннем возрасте, уже определяет возникновение многих этиологических и метаболических изменений, которые могут быть нежелательными во взрослом возрасте. В этом отношении качественная и сбалансированная диета может иметь решающее значение в процессе нормальной жизнедеятельности организма [Artemev и др., 2023]. Совокупность микроорганизмов, входящих в состав нашего организма,

называется микробиомом. Микробиом влияет на многие физиологические особенности, включая иммунную систему и психическое состояние. В связи со значительной ролью, которую микробиота кишечника оказывает на людей, поддерживающих здоровый статус, уже более 20 лет по всему миру проводится все больше исследований, касающихся возможностей положительного изменения или обогащения микробиома человека [Cowen, Zhang, Komorowski, 2024; Zielińska, Kolożyn-Krajewska, 2018]

Среди факторов, которые ежедневно способствуют этой колонизации, необходимо учитывать потребление молочных продуктов, в которые мы можем добавить желательные микроорганизмы, такие как пробиотические бактерии. Это будет способствовать благоприятному улучшению состава кишечной микробиоты, помогая установить желаемые штаммы. Многие из современных исследований, связанных со скринингом потенциально пробиотических бактерий, включают изучение изолятов из кишечника человека и животных с обоснованием того, что они будут выделены с большей способностью к адгезии, чем пробиотики, выделенные из пищи [Bunešová и др., 2012]. Однако сообщалось, что некоторые штаммы *Lactobacillus spp.*, выделенные из сыра, были более адгезивны к клеткам Caco-2, чем *Lactobacillus spp.*, выделенные из человеческих фекалий [Monteagudo-Mera и др., 2012]. Таким образом, выделяя пищу как источник многих из этих микроорганизмов, исследуя пробиотические бактерии из молочной матрицы, можно выявить естественные пробиотические свойства этого сырья.

Учитывая важность исследования по включению пробиотических микроорганизмов в пищевые продукты, в данных исследованиях делается попытка выделить молочную матрицу как источник пробиотических бактерий. Потенциально функциональные молочные продукты также будут рассматриваться как носители пробиотических бактерий.

Молоко и молочные продукты являются наиболее изученными пищевыми матрицами при изучении новых пробиотических бактерий. Кроме того, исследования по оценке эффективности потенциально пробиотических бактерий

in situ показали пользу продуктов на основе молока. Важно чтобы микроорганизмы, используемые для производства пробиотических продуктов или пищевых продуктов, были изолированы от особей, принадлежащих к видам, для которых они предназначены, поскольку часть благотворного воздействия на здоровье, вероятно, является видоспецифичной [Markowiak, Śliżewska, 2018]. Существует ряд исследований по поиску бактерий из молока других видов животных, существует множество исследований, направленных на выявление штаммов с пробиотическими свойствами, чтобы предложить новых кандидатов на пробиотики, которые могут быть применены в других молочных или немолочных пищевых матрицах.

Важно подчеркнуть, что перед любым исследованием, применяемым к пищевым продуктам, необходимо изучить защитные свойства каждой из этих бактерий. Был проведен ряд оценок безопасности, направленных на то, чтобы убедиться, что эти изоляты не обладают свойствами вирулентности или генами устойчивости к антибиотикам, факторами, которые нежелательны для бактерии, намеренно применяемой к пище.

Из-за общей толерантности молочнокислых бактерий к желудочно-кишечному тракту они были широко изучены в качестве потенциальных кандидатов на пробиотики и применялись в пищевой промышленности в качестве стартовых и пробиотических штаммов. Наиболее распространенными бактериальными родами, предназначенными для этой цели, являются *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium* и *Tetragenococcus* [Klein и др., 1998].

Пробиотический потенциал может быть определен с помощью методик *in vitro* и *in vivo*, направленных на оценку толерантности бактерий к окружающей среде кишечника, адгезии и способности к агрегации прилипать к эпителию кишечника [Vijaya Kumar, Vijayendra, Reddy, 2015]. Факторы вирулентности также должны быть оценены для обеспечения безопасности при потреблении, что является решающим шагом при рассмотрении штамма в качестве потенциального кандидата на пробиотик [Gaglio и др., 2016; Zhou и др., 2000]. Анализы *in vivo*

необходимы для подтверждения выживаемости бактерий и их воздействия на организм хозяина [Ermolenko и др., 2023].

Кишечник человека и животных представляет собой динамичную среду с резкими изменениями pH, присутствием пищеварительных ферментов и солей желчи, а также существующей конкуренцией со сложившейся микробиотой [Bezkorovainy, 2001]. Следовательно, модуляция путей, связанных с защитой клеток, модификацией мембран, устойчивостью к стрессу и клеточным метаболизмом, необходима для поддержания жизнеспособности клеток в этой экстремальной среде [Paradimitriou и др., 2016].

Поскольку предполагается, что пробиотические эффекты зависят от штамма, точная идентификация является первым шагом при исследовании нового кандидата на пробиотик. Для этого рекомендуется использовать как фенотипический, так и генотипический подходы. Генотипические методы включают гибридизацию ДНК-ДНК и секвенирование 16S рРНК, которые являются последними широко распространенными в лабораториях и менее трудоемкими. Идентификация внехромосомных элементов в виде плазмид также может помочь в идентификации и характеристике штамма. В качестве альтернативного метода идентификации перспективных штаммов было применено секвенирование всего генома. Фенотипические методы, такие как биохимический анализ для ферментации сахара, должны выполняться в сочетании с предыдущими генотипическими методами.

Подход исследования *In vitro* является предпочтительным выбором во многих случаях из-за его относительной дешевизны и простоты, являясь мощным инструментом при определении границ эксперимента. Однако для подтверждения результатов *in vitro* необходимы исследования *in vivo*. Перед испытаниями на людях рекомендуется проводить исследования *in vivo* с использованием моделей на животных.

Существует широкий спектр моделей на животных, различающихся по сложности и цели анализа. Например, *Caenorhabditis elegans* успешно использовались в качестве модели для определения продолжительности жизни,

адгезии кишечника и активности антибиопленки [Choi и др., 2020; Kavita и др., 2020]. Аналогичным образом, модели дрозофилы и рыбок данио также применялись для анализа *in vivo*, в котором было продемонстрировано влияние пробиотиков на развитие и иммунный ответ хозяев [Arani и др., 2021; Laomongkholchaisri и др., 2021; Poinsot и др., 2020]. Несмотря на успешное использование, эти приведенные модели все еще не соответствуют физиологии млекопитающих. Модели грызунов являются наиболее актуальной моделью при определении жизнеспособности в кишечнике и полезных эффектов [Paradimitriou и др., 2015], применяемой в исследованиях, анализирующих кишечник [Lee и др., 2019], ось кишечник-кожа [Mohammedsaeed и др., 2015; Tagliari и др., 2019], иммунный ответ [Fontana и др., 2021] и терапевтическая активность в отношении клинических состояний [Lim и др., 2020; Wang и др., 2019; Zeng и др., 2019].

Йогурты

В настоящее время ферментированное молоко представляет собой важный компонент функциональных продуктов питания и пробиотических продуктов с добавленной стоимостью [Khedkar, Kalyankar, Deosarkar, 2016]. Йогурт - это продукт, полученный путем ферментации молока синбиотическими культурами *Streptococcus spp.* и *Lactobacillus spp.*, который может сопровождаться другими молочнокислыми бактериями, которые способствуют его пробиотическому эффекту и характеристикам конечного продукта [Codex Alimentarius. Standard for fermented milks: Geneve: Codex Alimentarius International Food Standards., 2018]. Пробиотические бактерии должны присутствовать в молочных продуктах в высоком количестве в течение всего срока их хранения, чтобы обеспечить желаемые преимущества, а количество необходимых микробов в йогурте, кисломолочном продукте и ацидофильном молоке составляет минимум 10^6 КОЕ/г [Khorshidian, Yousefi, Mortazavian, 2020]. *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* оценивали во время ферментации и хранения йогурта. Эти пробиотики оставались жизнеспособными на уровнях выше 10^7 КОЕ/г после 15 дней хранения в холодильнике и демонстрировали ингибирующую активность в отношении роста *E. coli* и *Staphylococcus spp.* в течение всего периода [El-Kholy и др., 2014]. Кроме

того, *Lactobacillus spp.*, выделенный из йогурта, устранял или снижал количество патогенов пищевого происхождения *E. coli*, *Staphylococcus spp.*, *Yersinia enterocolitica* и *Salmonella spp.* в йогурте [Игнатова и др., 2022; Kamal и др., 2018].

Терапевтические преимущества йогурта были описаны несколькими исследователями и включают повышение иммунитета, укрепление здоровья, помогая сбалансировать микробиоту кишечника и предотвращая изменения пищеварения или заболевания, такие как диарея, непереносимость лактозы, воспалительные заболевания кишечника, синдром раздраженного кишечника, запор, нарушение роста кишечника и улучшение пищеварения [De Oliveira, 2014; Khedkar, Kalyankar, Deosarkar, 2016; Leis и др., 2020; Oak, Jha, 2019]. Йогурт, обогащенный олигосахаридами сои, повышал выживаемость *Lactobacillus spp.* в моделируемом желудочном соке и значительно улучшили ингибирование α -глюкозидазы, что указывает на то, что их можно использовать в качестве пробиотиков с антигипергликемическим потенциалом в рецептуре функциональных пищевых продуктов, таких как йогурт [Muganga и др., 2015].

Сыры

Ферментированные молочные продукты, такие как сыры, йогурты и кисломолочные продукты, являются многообещающими пищевыми матрицами для пробиотических культур, особенно для выживания и жизнеспособности этих культур [El-Kholi и др., 2014; Oliveira и др., 2012]. Йогурты и ферментированное молоко получили значительное внимание в научных исследованиях, но сыр чеддер, творог, замороженный йогурт и мороженое также были исследованы как носители пробиотических микроорганизмов [Mousavi Khaneghah и др., 2020]. Потребление сыра с добавлением пробиотических бактерий было связано с целым рядом преимуществ для здоровья человека, таких как улучшение иммунной системы, польза для здоровья полости рта и кишечника у пожилых людей и укрепление кишечного иммунитета [Kiselnikova и др., 2021]. Сыр имеет некоторые преимущества в качестве носителя пробиотиков по сравнению с более кислыми ферментированными молочными продуктами, такими как йогурт, поскольку он обеспечивает буфер против высококислой среды, находящейся в

желудочно-кишечном тракте, и, таким образом, создает более благоприятную среду для выживания пробиотиков во время прохождения через желудок. Молочнокислые бактерии являются распространенным типом пробиотиков с протеолитической активностью, которые также могут играть фундаментальную роль в развитии вкуса в кисломолочных продуктах и влиять на характеристики текстуры различных сыров [Mousavi Khaneghah и др., 2020; Rolim и др., 2020]. Пробиотические микроорганизмы, наиболее часто включаемые в состав сыров, — это *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* и большинство национальных законов устанавливают минимально допустимое количество 10^{6-7} колониобразующих единиц (КОЕ) на г или мл пробиотических культур в течение всего срока годности [Castro и др., 2015]. Включение пробиотических бактерий в сыры может быть ограничено из-за их потери во время производства и хранения [Mousavi Khaneghah и др., 2020]), хотя несколько исследований, оценивающих выживаемость пробиотических бактерий во время хранения и созревания сыров из коровьего, овечьего и буйволиного молока, показали, что количество остается выше 10^7 КОЕ/г в сырах созревает от 14 до 120 дней [Rolim и др., 2020]. Количество пробиотиков оставалось высоким в течение 28 дней хранения при температуре 4°C или 15°C, а рост *Listeria* подавлялся при обеих температурах [Martinez и др., 2015]. Пробиотические штаммы *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* молочные продукты были добавлены к образцам полутвердого козьего сыра, известного как Coalho. Образцы показали жизнеспособное количество пробиотических бактерий в течение 21 дня холодного хранения (10°C) на уровнях, превышающих рекомендованные для пользы здоровья [Oliveira и др., 2012].

Систематический обзор рандомизированных контролируемых исследований показал, что добавка пробиотиков, добавляемых в молочные матрицы, может быть показана потребителям для снижения уровня липидов и антропометрических параметров [Comranys и др., 2020]. Сыр чеддер был получен с инокуляцией *Lactobacillus spp.*, и пробиотик сохранял свою жизнеспособность в течение 12 недель созревания. Результаты показали, что уровни общего

холестерина в сыворотке крови, холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов значительно снизились, а уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови увеличился у мышей, которых кормили пробиотическим сыром [Zhang и др., 2013].

Минас Фрескал является свежим мягким сыром с *Lactobacillus spp.* был ежедневно потребляем людьми с колонизацией *Candida* более 8 недель. Пробиотики в сырах Минас смогли уменьшить колонизацию *Candida spp.* полости рта у носителей полных съемных протезов, что свидетельствует об их потенциале в снижении риска кандидоза полости рта у этих высокочувствительных субъектов [Miyazima и др., 2017].

Lactobacillus spp. обычно встречается в полутвердых сырах, и улучшение симптомов непереносимости лактозы было связано с использованием этого микроорганизма, например, уменьшение продолжительности диареи [Oak, Jha, 2019].

В исследовании с крысами в течение 14 дней *Lactobacillus spp.* вводили в козий сыр Coalho, и наблюдался профилактический эффект от повреждения, вызванного уксусной кислотой, что указывает на то, что этот штамм может быть альтернативой для облегчения воспалительных заболеваний кишечника человека [Rodrigues и др., 2018].

Был исследован пробиотический потенциал многих лабораторных штаммов, выделенных из сырого молока и сыров без закваски. Штаммы видов *Lactobacillus spp.*, выделенные из сыра Фасаль, бразильского овечьего сыра, обладали потенциальными пробиотическими свойствами и показали многообещающие технологические характеристики при использовании в качестве местных культур для производства сырых молочных сыров [Nespolo и др., 2010]. Штаммы лактобацилл, полученные из регионального овечьего сыра, показали интересные функциональные характеристики *in vitro*, включая высокую кислотоустойчивость. Кроме того, штаммы *Lactobacillus spp.* продемонстрировали замечательную антиоксидантную активность, а также активность β -галактозидазы и важные свойства аутоагрегации и гидрофобности [Meira и др., 2012].

Enterococcus spp. являются важными микроорганизмами в молочной промышленности, и этот род обычно присутствует в сырах, изготовленных из сырого козьего, овечьего или коровьего молока [Hanchi и др., 2018; Pieniz и др., 2014]. *Enterococcus spp.*, выделенный из полусухого сыра мотал, обладает сильной антилистериозной активностью, пробиотическими свойствами, безопасностью и ферментативной активностью, что указывает на потенциальное использование в пищевой промышленности [Ahmadova и др., 2013]. Изоляты *Enterococcus spp.* из сыра минас фрескал проявляли антиоксидантное действие и антимикробную активность в отношении *Lactobacillus spp.* моноцитогенов, предполагая их использование для предотвращения окислительного повреждения и ингибирования патогенных микроорганизмов [Pieniz и др., 2014]. *Enterococcus spp.* был выделен из свежего мягкого сыра Ригута и показал свою надежность для будущего развития в качестве пробиотика в пищевой или кормовой промышленности. Этот изолят продемонстрировал адгезию к эпителиальным клеткам кишечника, толерантность к кислоте и солям желчи, а также способность восстанавливать эпителиальный барьер, аналогично *Enterococcus spp.*, используемому в качестве эталонного пробиотического штамма [Vassouri и др., 2019]. Несмотря на это, необходимо преодолеть ряд препятствий, связанных с вопросами безопасности, для использования энтерококков в качестве пробиотиков и их бактериоцинов в пищевых системах [Hanchi и др., 2018; Yerlikaya, 2014].

Ферментированное или кисломолочное молоко

В исследовании с участием пациентов с диабетом 2 типа одна группа людей пила молоко промышленного производства, ферментированное *Lactobacillus spp.*, в течение 16 недель. В конце после исследования кала в группе *Clostridium coccooides* и подгруппе *Clostridium leptum* в группе пробиотиков количество было значительно выше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о снижении транслокации бактерий и изменении микробиоты кишечника у пациентов с сахарным диабетом 2 типа [Sato и др., 2017].

Кефир

Кефир — это ферментированный напиток, обычно приготавливаемый из коровьего молока, хотя также можно использовать козье или овечье молоко. Кефир отличается от других кисломолочных продуктов тем, что закваска, присутствующая в “кефирных зернах”, создана путем кисломолочного и спиртового брожения [Turkmen, 2017; Vieira и др., 2017; Yerlikaya, 2014]. Кефирные зерна содержат синбиотическую комбинацию дрожжей и молочнокислых бактерий, связанных в матрице из экзополисахарида и белка простокваши [Bengoa и др., 2019; Jeong и др., 2017; Turkmen, 2017; Yerlikaya, 2014]. Зерна кефира состоят из таких видов бактерий, как *L. kefir*, *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. caucasicus*, *L. kefiranofaciens*, *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. plantarum* и *Acetobacter spp.*, а также дрожжи, такие как *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces exiguus* и *Candida kefir*, растущие в очень специфических отношениях [Codex Alimentarius. Standard for fermented milks: Geneve: Codex Alimentarius International Food Standards., 2018].

Это молочный продукт считается одним из старейших пробиотических продуктов, и оно было связано с различными терапевтическими решениями при желудочно-кишечных проблемах, гипертонии, аллергии и сердечно-сосудистых заболеваниях [Bengoa и др., 2019; Turkmen, 2017]. Другие преимущества для здоровья включают антимикробную активность [Jeong и др., 2017], иммуномодуляцию, противовоспалительные, антиоксидантные эффекты, улучшение переносимости лактозы [Rosa и др., 2017], снижение уровня холестерина, облегчение жировой дистрофии печени и улучшение кишечной микробиоты [Łopusiewicz и др., 2019]. Эти полезные свойства могут быть приписаны как присутствию пробиотических микроорганизмов, так и продуктам метаболизма, образующимся в ферментированном молоке [Bengoa и др., 2019; Turkmen, 2017].

Добавление кефира в течение 4 недель обеспечило возможность модуляции кишечной микробиоты у мышей, демонстрирующих снижение соотношения

Firmicutes spp. и *Bacteroidetes spp.* по сравнению с группой носителей. Кефир может изменять микробиоту кишечника, тем самым внося вклад в метаболический фенотип хозяина, который улучшает физическую работоспособность и снижает физическую усталость [Hsu и др., 2018]. *Lactobacillus spp.*, выделенный из зерен молочного кефира, продемонстрировал антиколитический эффект у мышей с регуляцией физиологии кишечника и снижением выработки провоспалительных цитокинов [Chen и др., 2012].

Lactobacillus spp., выделенный из кефирных зерен, показал уровень адгезии к эпителиальным клеткам кишечника человека, сопоставимый с тем, который наблюдался для пробиотического штамма *Lactobacillus spp.*, хорошую общую антиоксидантную активность и устойчивость к концентрации солей желчи в диапазоне от 0,3% до 1%. Кроме того, он проявлял антимикробную активность в отношении *E. Coli* и *S. enterica* [Leite и др., 2015].

Кумыс — кисломолочный продукт, традиционно изготавливаемый из кобыльего молока, содержащего больше сахара и, соответственно, спирта, чем коровье молоко [Barreto и др., 2019; Guo и др., 2019; Yerlikaya, 2014]. Для производства кумыса из коровьего молока добавляется сахароза. Основными микроорганизмами в кумысе являются *Lactobacillus spp.* и дрожжи, такие как *Kluyveromyces spp.* и *Saccharomyces spp.* Кумыс, подобно йогурту и кефиру, способствует восстановлению кишечной микробиоты и может улучшать симптомы хронического атрофического гастрита [Codex Alimentarius. Standard for fermented milks: Geneve: Codex Alimentarius International Food Standards., 2018]. Штаммы *Lactobacillus spp.*, выделенные из кумыса, проявляют пробиотические свойства и могут снижать уровень холестерина [Guo и др., 2019; Li и др., 2019].

Кисломолочные напитки из ферментированной сыворотки

Кисломолочные напитки из ферментированной сыворотки представляют собой продукты, полученные путем ферментации из смеси сыворотки и других ингредиентов, таких как сахар, фруктовые соки, молоко, растительные экстракты, зерна, специи, семена и аналогичные ингредиенты [Barukčić, Jakopović, Božanić, 2019; Cordeiro и др., 2019; Shraddha Rc, Nalawade T, 2015; Shraddha Rc, Nalawade

Т, 2015]. Ферментацию сыворотки обычно проводят с помощью закваски, способной усваивать лактозу, и с добавлением пробиотических культур (Barukčić et al., 2019), таких как *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. animalis subsp. lactis*, *Lactobacillus paracasei*, *Kluyveromyces fragilis* и *Saccharomyces lactis* [Lee и др., 2013].

Польза для здоровья кисломолочных напитков из ферментированной сыворотки может быть улучшена с добавлением пробиотических культур [Cordeiro и др., 2019], а буферная способность сыворотки способствует выживанию пробиотических бактерий в желудочно-кишечном тракте [Shraddha Rс, Nalawade T, 2015]. Коммерческий сывороточный напиток, содержащий пробиотический штамм *Lactobacillus spp.* был разработан на основе деминерализованной сыворотки или концентрата сывороточного белка, подвергнутого предварительному гидролизу лактозы [Barukčić, Jakorović, Božanić, 2019], и этот пробиотический напиток может помочь облегчить общие симптомы у некоторых пациентов с синдромом раздраженного кишечника [Hungin и др., 2013]. Закваску, используемую для производства обычного сывороточного молочного напитка, связывали со штаммом *Lactobacillus spp.*, в результате чего мышам вводили пробиотический сывороточный молочный напиток. Обычная ферментированная молочная сыворотка была способна защитить от реакций, вызываемых патогенными бактериями *S. Typhimurium* по сравнению с пробиотическим ферментированным молочным напитком из молочной сыворотки [Cordeiro и др., 2019]. Сладкую сыворотку, ферментированную пробиотиком *Propionibacterium freudenreichii*, вводили поросётам в течение 2 недель, и результаты показали, что потребление функционализированной сыворотки может помочь в профилактике и лечении хронических воспалительных заболеваний [Huang и др., 2019]

Молочные напитки были получены путем комбинирования пастеризованной кислой сыворотки с другими ингредиентами на основе молока и пробиотическими культурами *Lactobacillus spp.* или *Bifidobacteria spp.* Молочные напитки с *Lactobacillus spp.* имели более высокую кислотность, но кислотность образцов, содержащих *Bifidobacteria spp.*, была более стабильной. На протяжении

всего периода хранения количество пробиотических бактерий оставалось адекватным и было выше в напитках, содержащих кислую сыворотку и сухое обезжиренное молоко [Skryplonek, Dmytrów, Mituniewicz-Małek, 2019].

Замороженные молочные продукты, такие как мороженое, обладают потенциалом для улучшения пробиотического содержания, учитывая их популярность и потребительский спрос на функциональные продукты [Tripathi, Giri, 2014]. Родас и др. разработали пробиотическую рецептуру пахты, получая количество *Lactobacillus spp.* выше 10^6 КОЕ/г в течение 10 дней хранения в холодильнике, используя 1% этого микроорганизма в качестве инокулята в начале ферментации [Rodas и др., 2002]. Результаты показали, что добавление пробиотической культуры должно производиться перед ферментацией и что красители и ароматизаторы могут быть добавлены к уже ферментированному продукту. Было замечено, что образцы пахты с добавлением сахарозы с добавлением красителей и ароматизаторов, как правило, имели более низкое количество *Bifidobacteria spp.* после хранения [Antunes и др., 2007; Antunes и др., 2009]. Таким образом, образцы пахты можно считать безопасными для употребления, а также потенциально функциональными. При оценке *Lactobacillus spp.* жизнеспособность изолята контролировали в течение 28 дней, оставаясь выше 10^6 КОЕ/г [Nighswonger, Brashears, Gilliland, 1996]. Мороженое, содержащее молочные белки, жир и лактозу, поддерживает жизнеспособность пробиотических бактерий даже при низких температурах, что важно для их функциональности и здоровья потребителя [Cruz и др., 2009]. Однако сохранение пробиотиков в мороженом на протяжении всего срока годности остается сложной задачей [Sanders, Marco, 2010]. Производство пробиотического мороженого требует учета физико-химических параметров продукта, чтобы сохранить его качество и терапевтический эффект, не изменяя сенсорные свойства [Cruz и др., 2009; Senanayake и др., 2013; Stanton и др., 2003]. На жизнеспособность пробиотиков влияют различные факторы, включая pH, температуру и присутствие других ингредиентов, таких как фрукты или шоколад [Costa и др., 2017; Cruz и др., 2009]. Важно учитывать, что разные пробиотические культуры по-разному реагируют на

кислотную среду, и *Lactobacillus spp.* более устойчив, чем *Bifidobacterium spp.* [Homaouni и др., 2008; Takahashi и др., 2007].

Исследования показывают, что некоторые изоляты пробиотиков могут быть адаптированы к условиям кислотного стресса, что делает их подходящими для применения в продуктах с низким уровнем pH [Collado, Sanz, 2007; Sanz, 2007]. Для разработки функционального мороженого важно оценить жизнеспособность пробиотических бактерий. В исследовании *Lactobacillus spp.* на мороженом с добавлением фруктов показано уменьшение количества жизнеспособных клеток, особенно между шестой и десятой неделями хранения при 18°C, но к концу периода сохранялось 10^7 КОЕ/мл, что сохраняет терапевтический потенциал [Senanayake и др., 2013].

Применение технологий, таких как инкапсуляция, помогает защитить бактерии от стресса пищевой матрицы и улучшить их выживаемость в ЖКТ [Afzaal и др., 2020; Kataria, Achi, Halami, 2018]. *Bifidobacterium spp.* вместе с пребиотиками, такими как инулин, успешно использовались для создания синбиотического мороженого с хорошими органолептическими свойствами и стабильной жизнеспособностью пробиотиков [Villalva и др., 2017].

Также разрабатывается мороженое с рекомбинантными пробиотическими бактериями, что демонстрирует снижение уровня IgE и положительный терапевтический эффект [Vasiee и др., 2020]. Пробиотики, такие как *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*, безопасны для употребления и могут поддерживать иммунную систему и подавлять патогены [Chichlowski и др., 2012; Mugambi и др., 2012]. Выработка кишечными бактериями короткоцепочечных жирных кислот может защитить от аллергий у младенцев [Stewart и др., 2018; Tanaka, Nakayama, 2017].

Пробиотики в молочной промышленности и функциональных пищевых продуктах

Молочные продукты в значительной степени признаны основным средством для приема пробиотических добавок. Таким образом, неудивительно, что в большом количестве доклинических и клинических исследований

сообщалось о пользе для здоровья употребления пробиотических йогуртов и кисломолочных напитков, сыров и мороженого. В этом сценарии ряд кисломолочных напитков и йогуртов был разработан как в рамках академических исследований, кустарных производителей молочной продукции, так и в промышленном секторе, чтобы предложить потребителям альтернативные источники продуктов, способствующих укреплению здоровья. Однако большинство доступных продуктов - это либо йогурты, либо кисломолочные продукты с *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*, что указывает на то, что этот рынок по-прежнему имеет огромный потенциал для расширения [Granato и др., 2010].

Ряд молочных продуктов был разработан с добавлением пробиотических культур, нацеленных на получение функционального питания. Рынок функциональных продуктов питания быстро растет, и пробиотические микроорганизмы для промышленного применения необходимы для разработки инновационных молочных продуктов и удовлетворения потребностей потребителей, заботящихся о питании в сочетании со здоровьем.

Наиболее широко используемые виды пробиотиков принадлежат к родам *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* [Hilde Boschloo, 2011; Magro и др., 2014; Taipale и др., 2016]. Влияние кисломолочных продуктов, обогащенных пробиотиками, на инфекцию *Helicobacter pylori* оценивалось в систематическом обзоре и мета-анализе рандомизированных контролируемых исследований, в которых оценивалось в общей сложности 10 подходящих исследований, включая когорту из 963 взрослых и детей. Был сделан вывод, что пробиотики, вводимые с помощью кисломолочных препаратов, могут снизить частоту инфицирования *H. pylori* примерно на 5-15% [Sachdeva, Nagpal, 2009]. Преимущества пробиотиков при некоторых желудочно-кишечных расстройствах были описаны в других мета-анализах рандомизированных контролируемых исследований [Воропаева и др., 2022] Время прохождения через кишечник может быть сокращено путем кратковременного приема пробиотических добавок, и лучшие эффекты могут наблюдаться у пожилых людей или взрослых, страдающих запорами. Более того,

некоторые пробиотические штаммы, такие как штаммы *B. lactis*, по-видимому, более эффективны [Miller, 2013]. Эффективность пробиотического йогурта против синдрома раздраженного кишечника также была исследована в ходе рандомизированного контролируемого исследования. В общей сложности 83 пациента были случайным образом разделены на две группы: контрольная группа, потреблявшая простой жидкий йогурт без пробиотиков, и группа пробиотиков, потреблявшая простой жидкий йогурт с добавлением *L. rhamnosus GG*. Наблюдалось общее улучшение симптомов у пациентов, которые принимали пробиотический йогурт, и потребление пробиотического йогурта привело к изменениям в микробиоте кишечника для определенных полезных типов микроорганизмов. Хотя некоторые улучшения также наблюдались в контрольной группе, они были меньше, чем в группе с пробиотиками [Lee и др., 2013].

Несмотря на традиционные утверждения, связанные с этими пробиотическими микроорганизмами, научные данные демонстрируют и другие преимущества для здоровья. *L. acidophilus NCFM*, ассоциированный со штаммами *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, продемонстрировал эффективность против инфекции, вызванной *Clostridium difficile*, считающейся новым кишечным патогеном [Barker и др., 2017], и было продемонстрировано, что потребление кисломолочного молока, содержащего *L. casei Shirota*, в возрасте 8 и 16 недель может уменьшить транслокацию кишечных бактерий в кишечник. кровь при сахарном диабете 2 типа [Sato и др., 2017]. *L. paracasei 431* и *L. rhamnosus GG* широко используются в кисломолочных продуктах, и исследования продемонстрировали преимущества, связанные с улучшением иммунного ответа против гриппа А [Davidson и др., 2011; Sun и др., 2019; Trachootham и др., 2017].

Ряд исследований показал, что пробиотики могут помочь в профилактике рака желудка, но текущие доказательства в основном основаны на экспериментальных данных, полученных *in vitro*. Например, было проведено исследование ферментированного молока, содержащего *P. freudenreichii* в качестве пробиотической бактерии, и было продемонстрировано, что это пробиотическое ферментированное молоко оказывает проапоптотическое

действие на клетки рака желудка человека [Cousin и др., 2012]. В недавнем метаанализе литературных данных были изучены несколько баз данных на предмет связи между потреблением ферментированных молочных продуктов и риском развития рака [Zhang и др., 2019]. Авторы использовали отношение шансов, соответствующее 95% доверительному интервалу, для оценки ассоциации с использованием мета-анализа случайных эффектов. В общей сложности 61 исследование соответствовало критериям включения в исследование, в общей сложности 1 962 774 участника и 38 358 случаев рака. В целом, в когортных исследованиях были получены статистические данные о значительном снижении риска развития рака, связанного с потреблением кисломолочных продуктов (относительный риск 0,86; 95% доверительный интервал 0,80–0,92). Употребление йогурта было значительно связано со снижением риска развития рака в общем сравнении и в когортных исследованиях. Анализ подгрупп по типу рака показал, что потребление кисломолочных продуктов значительно снижает риск развития рака мочевого пузыря, колоректального рака и рака пищевода. Значительное снижение риска развития колоректального рака было связано с потреблением сыра в стратифицированных анализах, в то время как потребление йогурта было значительно связано со снижением риска развития рака мочевого пузыря и колоректального рака. Этот мета-анализ показал, что употребление ферментированных молочных продуктов связано с общим снижением риска развития рака [Zhang и др., 2019].

2.3 Воздействие условий космического полета на микробиом кишечника

С течением эксплуатации космических станций появляются и сохраняются штаммы микроорганизмов, схожие с госпитальными. В условиях частой смены экипажей на лунных базах и межпланетных полетах риск их формирования возрастает. Одновременно отмечается снижение колонизационной резистентности космонавтов, что требует эффективных мер для её поддержания. Медицинская безопасность в космосе становится приоритетной задачей, так как активация условно-патогенной микрофлоры в замкнутых пространствах

увеличивает риск инфекций. Основные источники инфекции — носительство микроорганизмов экипажем и перекрестное инфицирование [Шуין и др., 2013].

При длительном пребывании в герметизированном пространстве (ГЗП) активизируется условно-патогенная микрофлора. Исследования показали, что после 8-дневных космических полетов количество условно-патогенных микроорганизмов у космонавтов увеличивалось в сотни и тысячи раз, также возрастало число энтеробактерий с патогенными свойствами. В ГЗП отмечалось замещение авирулентных штаммов на вирулентные, особенно у *Clostridium perfringens* и *Staphylococcus aureus*.

Эксперименты подтвердили изменения в аутомикрофлоре экипажей, приводящие к снижению их сопротивляемости инфекциям. Особенно опасны патогенные стафилококки, стрептококки, энтеробактерии, клостридии, синегнойная палочка и грибы. В условиях космических полетов у космонавтов наблюдается значительное изменение нормальной микрофлоры: уменьшается количество бифидобактерий и лактобацилл, снижается активность кишечной палочки, а также увеличивается токсигенность некоторых организмов. Эти данные были подтверждены исследованиями на реальных космических полетах, где у членов экипажей регистрировали снижение анаэробных и увеличение аэробных микроорганизмов, включая *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacteriaceae spp.* Формирование микрофлоры экипажа в космических условиях сильно зависит от экологических факторов. Человек, являясь основным компонентом экосистемы, распространяет микроорганизмы через контакт и аэрогенную контаминацию, что приводит к обсеменению конструкционных материалов и систем жизнеобеспечения. В благоприятных условиях окружающей (благоприятная температура, влажность, конденсат) микроорганизмы могут активно размножаться, создавая резервуары инфекции [Шуין и др., 2018].

Основные изменения микрофлоры кишечника происходит таким образом, что в предполетный период больше не встречается нормобиоз, превалирует дисбактериоз второй (рост условно-патогенной микрофлоры) и третьей (рост

условно-патогенной микрофлоры, декомпенсированной за счет снижения количества протективной микрофлоры) степеней. (Таблица 1).

Таблица 1 - Дисбактериоз кишечника космонавтов (% случаев)

Сроки обследования	Степень дисбактериоза			
	норма	1	2	3
60 суток до полета	6,7	73,3	13,3	6,7
0 сутки до полета	6,3	31,3	31,3	31,3
0 сутки после полета	0	36,8	36,8	26,3
14 сутки после полета	26,7	20,0	26,7	26,7

Предполетные изменения микрофлоры обусловлены "стрессом ожидания" и перемещением в другие регионы, где расположены космодромы. Успех долговременной изоляции зависит от преодоления первых 7-15 дней, состава микробиоты, и условий для формирования "госпитальных штаммов". В длительных полетах, после адаптации, уменьшается количество условно-патогенных видов, особенно агрессивных [Шуין и др., 2019].

Однако с прибытием новых экипажей или грузов на орбитальные станции происходит обмен микрофлорой, увеличивая риски для здоровья. Особая опасность ожидает марсианские и лунные экспедиции, где микробные консорциумы могут интегрироваться в микробиоту экипажа [Шуין и др., 2018].

Также риск представляет влияние среды лунного грунта на микрофлору человека, что требует предотвращения контаминации и дальнейших исследований. Важно разрабатывать меры для укрепления колонизационной резистентности экипажа [Шуין и др., 2013].

Результаты показывают, что штаммы лактобацилл, изолированные от космонавтов, можно использовать для создания пробиотических и аутопробиотических средств. Для оптимизации кишечной микрофлоры рекомендуется применять бифидобактерии, лактобациллы и энтерококки (Таблица 2). Эксперимент Марс-500 продемонстрировал, что аутопробиотики на

основе энтерококков эффективно эрадируют условно-патогенные микроорганизмы в кишечнике (Таблица 3). В отличие от них, коммерческие пробиотики только стабилизируют микрофлору. Для межпланетных полетов и лунных баз можно использовать оба варианта: аутопробиотики для эрадикации патогенов и коммерческие пробиотики для поддержания микрофлоры.

Таблица 2 - Сравнительная оценка антагонистической активности коммерческого лактобактерина и лактобактерина, приготовленного на основе *L. casei*, изолированного от космонавта (мм. диаметра)

Характеристика лактобактерина	Коммерческий лактобактерин		Лактобактерин, выполненный на основе штамма <i>L. casei</i> , изолированного от космонавта	
	до курса	После курса	До курса	После курса
Протей	3,3±0,4	2,9±0,2	3,6±0,5	2,8±0,3
Кишечные палочки	7,3±0,6	7,4±0,6	6,5±0,7	7,3±0,5
Энтеробактерии	7,2±1,0	5,2±0,7	5,9±0,7	5,4±0,6
Бифидобактерии	7,1±0,8	8,9±1,2	7,1±0,3	8,0±0,5
Лактобациллы	5,8±0,5	6,7±0,4	5,7±0,5	6,4±0,5
Бактероиды	8,0±0,4	9,1±0,3	8,0±0,5	8,5±0,4
Клостридии	3,7±0,7	3,3±0,7	3,9±0,8	3,9±0,8

Таблица 3 - Активность лактобактерина, приготовленного на основе *L. casei*, изолированного от космонавта, в отношении грамотрицательных палочек, (мм диаметра)

Микроорганизмы	До курса	После курса
Клебсиелла	7,8±0,7	5,5±1,0
Цитробактер	7,0±1,0	4,9±2,6
Провиденция	5,8±1,0	3,8±0,6

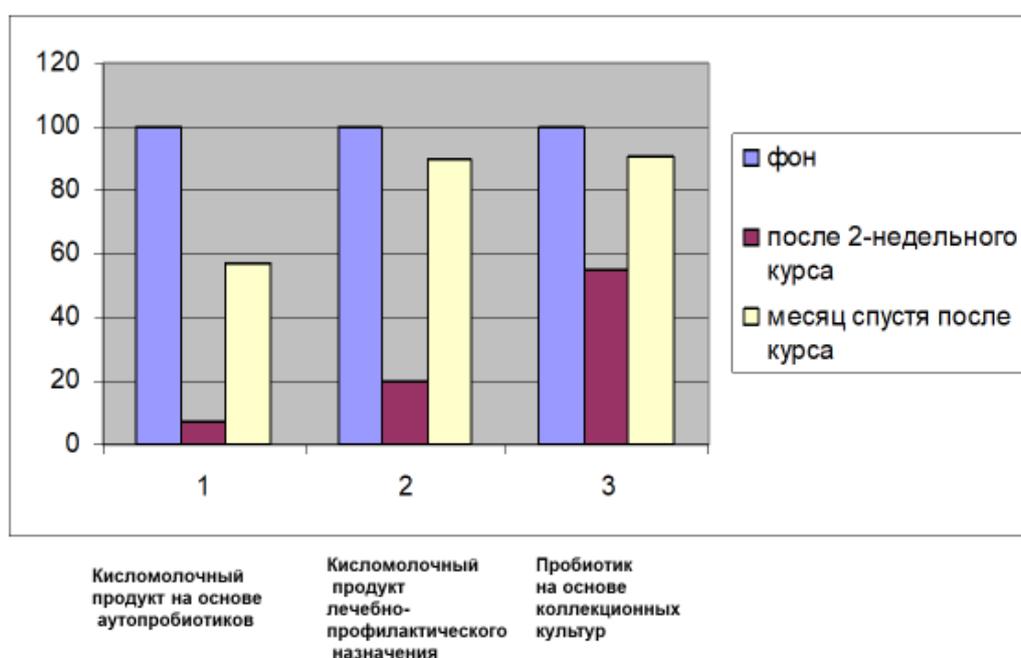


Рисунок 1 - Сравнительная оценка динамики дисбактериоза при приеме кисломолочного аутопробиотика на основе лактобацилл и других пробиотических препаратов (% случаев дисбактериоза)

Предварительные результаты использования аутопробиотиков в моделях измененных условий и клинических испытаниях подтверждают их высокую эффективность (Рисунок 1). Эти препараты не вызывают инфекционных осложнений или проблем с биологической совместимостью, что делает их перспективными для лечения новорождённых, пожилых и

иммуносупрессированных пациентов. Концепция создания криобанков микробиоценозов и аутопробиотиков становится частью персонализированной медицины, улучшая профилактику и лечение, а также снижая риск негативных эффектов. Формы выпуска аутопробиотиков для различных космических условий могут включать таблетки, порошки, свечи и восстановленное молоко.

Перспективные списки микроорганизмов для аутопробиотиков могут расширяться, включая кишечную палочку и другие условно-патогенные микроорганизмы. Для дальнейшего развития необходимо провести исследования по следующим направлениям:

- Сроки хранения аутопробиотиков в лиофилизированном виде и в криохранилищах;

- Стабильность препаратов при радиационном воздействии и в условиях гипомагнитной среды;

- Эффективность новых аутопробиотиков и форм их выпуска в условиях, имитирующих космический полет.

Молочнокислые бактерии, такие как *Lactobacillus spp.* и *Leuconostoc spp.*, и , играют ключевую роль в кишечной флоре. Пробиотики и аутопробиотики могут эффективно лечить заболевания кишечника, вызванные дисбалансом нормальной флоры, что связано с нарушением колонизационной резистентности. Все эти факторы определяют необходимость применения профилактических средств, укрепляющих естественные барьеры колонизации, формируемые организмом на пути инфекционного агента.

В «программе исследований человека» (HRP, NASA) в области «Контрмер в отношении здоровья человека» выделяют отдельную группу рисков, связанных с неблагоприятными последствиями для здоровья из-за взаимодействия между организмом хозяином и микроорганизмами («Риск неблагоприятных последствий для здоровья из-за взаимодействий между хозяином и микроорганизмами»).

Исследования прошедших лет указывали на важность этой проблемы в те времена, когда космические полеты не были столь продолжительными. Под руководством Лизько Н. Н. с 1969 года в ГНЦ РФ – ИМБП РАН проводились

микробиологические исследования экипажей. Проведены десятки экспериментов и впоследствии проанализированы микробные изменения операторов, что является основой нашего исследования.

Так, на возможность развития дисбиозов указывали [Лизько Н.Н., 1987; Viktorov, Ilyin, 1991], и другие исследователи [Поликарпов, 1982; Соловьева и др., 2022; Taylor, 1974]. Среди пробиотиков наиболее эффективной группой профилактических средств являются аутопробиотики, что было подтверждено в экспериментах с участием человека и приматов, имитирующих воздействие ряда факторов космического полета на организм (гермоизоляция, воздействие радиации, иммерсия) [Ilyin и др., 2018; Ilyin, Kiryukhina, 2014]. Для исследований использовались пробиотические препараты разных типов – лиофилизированная масса, таблетки, спреи, пародонтальные повязки.

В последние годы в числе используемых пробиотических средств показал свою эффективность кисломолочный продукт, обогащенный аутологичными штаммами лактобацилл. Последний метод представился наиболее перспективным, ввиду следующих особенностей:

1. В препарате задействованы живые клетки пробиотических микроорганизмов, а не регидрируемые из лиофилизатов
2. В процессе приема препарата обнаружили наилучшие показатели по снижению количества дисбиотических нарушений и наилучший отдаленный эффект.
3. Данный препарат является не медицинским препаратом, а элементом лечебно-профилактического питания.

В связи с этим, данные препараты наиболее перспективными для решения задач профилактики микробиологических рисков у членов экипажей длительных экспедиций, включая длительные космические.

3 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

3.1 Дизайн исследования

Исследование было разделено на шесть экспериментов.

В первом эксперименте проводилась оценка влияния полиэкстремального воздействия гипомагнитной среды и биологическое действие протонов высоких энергий на жизнеспособность лиофильных культур микроорганизмов при их последующем восстановлении из лиофилизированной формы. Объектом исследования являлись микроорганизмы, восстановленные из лиофилизированной формы.

Во втором эксперименте проводилось исследование микрофлоры кишечника животных, подвергающихся радиационному воздействию и химической заправке.

В эксперименте №3 оценивалась возможность применения пробиотического средства, подвергнутого воздействию факторов космического полета (ГМП и воздействие протонов) у животных в качестве средства профилактики негативных изменений, вызванных моделируемыми эффектами микрогравитации.

Эксперимент №4 был включен в научную программу 120-суточного изоляционного эксперимента, проведенного на базе ГНЦ РФ - ИМБП РАН, рассмотренного и одобренного Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН. Все участники эксперимента дали информированное согласие на участие в нём. Микробиологическое исследование было разделено на две части. В 1-й части для обогащения напитка брожения (НБ) были использованы препараты-пробиотики. Во 2-й части исследования участники экспериментальной группы получали НБ, обогащенный культурой бактерий *Lactobacillus spp.*, выделенных от операторов (аутопробиотик), а обследуемые контрольной группы принимали только НБ, без добавления пробиотических препаратов.

В пятом эксперименте изучалось влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта у человека, пробиотической активности микроорганизмов в исследовании, моделирующем факторы космического полета.

В эксперименте №6 проводилось исследование микробиоты толстого кишечника человека до и после длительной глубокой заморозки.

Целью седьмого исследования было изучение состояния микрофлоры кишечника участников 8-ми месячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21, использовавших пероральный аутопробиотический препарат на основе *Lactobacillus spp* на различных этапах изоляции для коррекции кишечной микрофлоры.

3.1.1 Изучение комплексного воздействия факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов, использующихся в составе пробиотических средств

Данное экспериментальное исследование является оценкой влияния полиэкстремального воздействия, т.е. воздействия гипомагнитной среды, биологического действия протонов высоких энергий на жизнеспособность микроорганизмов, после этого воздействия на лиофилизированные культуры, при их последующем восстановлении из лиофилизированной формы. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium* (Линекс®, «Sandoz»), *Bifidobacterium bifidum*, сорбированные на активированном угле (Бифидумбактерин форте®, ООО «ПроБиоФарм») и напиток брожения Cosm-orientic на основе *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*. Для реализации цели в качестве объекта необходимо рассматривать живые микроорганизмы. Каждая культура микроорганизмов формирует группы. Образцы в подвешенном состоянии подвергаются воздействию пучка 4 x 4 см при дозе облучения 1 Гр (доза радиации, получаемой космонавтами за одну экспедицию 200-250 миллизивертов, что эквивалентно 0,00025 Грей).

Описание экспериментальных исследований

Были сформированы 4 подгруппы исследуемых образцов (Таблица 4). В подгруппе используют капсулы с пробиотическим препаратом и криопробирки, заполненные пробиотиком в стерильных условиях.

После воздействия исследуемые образцы анализировали по количественным и качественным показателям культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов, восстановленных из лиофилизированной формы после воздействия, пониженного гипоманнитного поля Земли на 3-5 порядка и воздействия протонов высоких энергий отдельно и совместно. В процессах лиофилизации важной составляющей является жизнеспособность микроорганизмов. Количественная оценка выживаемости является очень значимой, учитывая феномен отмирания части микроорганизмов на этапе замораживания, сублимации и досушивания. Наиболее точным методом оценки количества выживших культур является высеv суспензии на чашки Петри с жидкой или плотной питательной средой и последующий учет. При посеве использовались Среда типа MRS (жидкая) для лактобактерий, Среда Блаурока (для бифидобактерий), готовая, жидкая, Entero (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар)).

Таблица 4 - Факторы воздействия и подгруппы исследуемых микроорганизмов

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
1К	6	Без воздействия до окончания проведения всех методик исследования	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов
2О	6	Воздействие пониженного гипоманнитного поля Земли на 3-5 порядка	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов

Продолжение таблицы 4

30	6	Комплексное воздействие пониженного гипوماгнитного поля Земли на 3-5 порядка и биологического действия протонов высоких энергий	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов
40	6	Подвергается биологическому воздействию протонов высоких энергий	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов

3.1.2 Изменения состава микробиоты кишечника при моделировании основных неблагоприятных факторов космического полета: сочетанное воздействие химического и радиационного факторов низкой интенсивности

Экспериментальные исследования проведены на 28 половозрелых крысах-самцах линии Wistar, массой 180-200гр (Таблица 5). Токсикологические эксперименты проведены в строгом соответствии с основными биоэтическими правилами лабораторной практики, принятыми в Российской Федерации и требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA). Программа исследований была рассмотрена Комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН и признана соответствующей международным нормам биоэтики (протокол № 515 от 10.06.2019).

Таблица 5 - Исследуемые группы по составу микробиоты кишечника

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
1 Контроль	4	Без воздействия	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов
2 Опыт	4	Гамма-облучение в суммарной эффективной дозе 245сГр	-»-
3 Опыт	4	Сочетанное радиационно-химическое воздействие (воздействие химического фактора* на облученных животных)	Анализ культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов
4 Опыт	4	Гамма-облучение в суммарной эффективной дозе 245сГр (14 полесутки восстановления)	-»-
5 Опыт	4	Сочетанное радиационно-химическое воздействие (воздействие химического фактора* на облученных животных) (14 сутки восстановления)	-»-

Продолжение таблицы 5

6 Опыт	4	Гамма-облучение в суммарной эффективной дозе 245сГр (90 сутки восстановления)	-»-
7 Опыт	4	Сочетанное радиационно-химическое воздействие (воздействие химического фактора* на облученных животных) (90 сутки восстановления)	-»-

* Ингаляционное воздействие смеси химических веществ (ацетон, ацетальдегид, бензол).

Методика комбинированного воздействия химических веществ.

Моделирование комбинированного воздействия химических веществ проводили на испытательном стенде для санитарно-химических и токсикологических исследований (УМБИ-1). Экспериментальный стенд (гермокамера с рабочим объемом 12 м³) рассчитан на длительное пребывание животных и оснащен автономными системами жизнеобеспечения. Гранулированный сбалансированный корм, воду животные получали через шлюз 1 раз в сутки.

Длительность ингаляционного воздействия смеси химических веществ (ацетон, ацетальдегид, бензол) составила 30 суток. Состав и концентрации химических соединений для затравочной смеси определялись приоритетным перечнем химических веществ, определяющих уровень загрязнения воздушной среды химическими соединениями, которые вносят основной вклад (от 85 до 95%) в загрязнение воздушной среды пилотируемых космических аппаратов [Мухамедиева, Богомолов, 2009].

С помощью автономной системы очистки и регенерации в воздухе гермокамеры концентрации основных газов (кислород, углекислый газ) и химических примесей поддерживались в пределах ПДК для герметичных

помещений.

Концентрацию кислорода, углекислого газа, температуру и относительную влажность воздуха контролировали круглосуточно. Температура воздуха в гермокамерах находилась в пределах $23 \pm 2^\circ\text{C}$, относительная влажность $67 \pm 3\%$, кислород $21 \pm 2\%$, углекислый газ $0,05-0,3\%$, аммиак $1-5 \text{ мг/м}^3$.

Затравочная смесь состояла из 25% раствора ацетальдегида в воде и ацетон-бензольного раствора, состоящего из четырех частей ацетона и одной части бензола по объему. Дозирование и поддержание постоянных концентраций ацетальдегида, ацетона и бензола осуществлялось прямым введением пробы через замкнутую систему циркуляции воздуха. Объем затравочной смеси рассчитывался относительно общего объема камеры, чтобы среднесуточные концентрации данных веществ находились в диапазоне $0,8-1,2$ ПДК.

Содержание в гермокамере ацетона, ацетальдегида, бензола определяли 4 раза в сутки методом газовой хроматографии. При использовании метода газовой хроматографии пробы воздуха из гермокамеры вводились газовым шприцем в капиллярную разделительную колонку DB-624, установленную в хроматографе Agilent Technologies 6890N. Идентификация веществ и их количественная оценка проводились на выходе из капиллярной разделительной колонки пламенно-ионизационным детектором с использованием компьютерной техники для обработки экспериментальных данных. Калибровка хроматографа для последующей количественной оценки летучих химических примесей проводилась с помощью стандартных образцов чистых веществ и аттестованных растворов. Для оперативного анализа аммиака использовали линейно-колористический метод (индикаторные трубки С-2-ТИ-NH₃-30 АО НПФ «СЕРВЭК»).

Методика облучения.

При моделировании радиационного воздействия крыс подвергали 10-кратному внешнему фракционированному гамма-облучению в суммарной дозе 500 сГр на гамма-облучателе биологических объектов ГОБО-60 с источником излучения ^{137}Cs . Облучение проводилось 2 раза в неделю по 16 часов.

Суммарная поглощенная доза за фракцию составляла 50 сГр при мощности дозы 3,12 сГр/час. С учетом коэффициента эффективности ($KB=0,488$), доза эффективная составила 24,5 сГр за фракцию (суммарно за 10 фракций - 245 сГр).

Методика сочетанного радиационно-химического воздействия.

Сначала животные подвергались радиационному воздействию в течение 33 дней (методика описана выше), затем, сразу после облучения животные подвергались химической затравке в течение 30 дней (методика описана выше). Таким образом, сочетанным воздействием является химическое воздействие на фоне пост-радиационного восстановления.

Сроки забоя животных: сразу после воздействия, 15 и 90 сутки восстановительного периода.

Для исследований после забоя животных проводилась резекция двенадцатиперстной кишки, затем проводился анализ полученного биоматериала, а именно, количественного и качественного состава микробиоценоза кишечника.

Пробы кишечника разводились физраствором и высевались на следующие питательные среды:

1. Кровяной агар
2. Агар Мак-конки
3. Маннитол-солевой агар
4. Среда Сабуро
5. Среда МРС,
6. Среда Бактофок
7. Цитратный агар
8. Агар для энтерококков

Используя полученные количественные результаты, был вычислен динамический эубиотический индекс (E_{id}). Для вычисления индекса оценивалось, увеличивается или уменьшается количество того или иного микроорганизма в конкретном биотопе в данной точке отбора по сравнению с предыдущей точкой, после чего оценивалось, является ли это изменение положительным (для протективных групп микроорганизмов) или отрицательным (для условно-

патогенных групп микроорганизмов).

Индекс высчитывался по следующей формуле:

$E_{id} = \text{Количество положительных изменений микрофлоры} / \text{Количество отрицательных изменений микрофлоры}$.

По значению эубиотического индекса можно судить о том, какие именно изменения преобладали в тот или иной период изоляционного эксперимента. Если $E_{id} > 1$, это означает, что количество положительных изменений преобладает. $E_{id} < 1$ означает преобладание отрицательных изменений микрофлоры.

3.1.3 Экспериментальная апробация пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета, у крыс в эксперименте с вывешиванием в качестве средства профилактики негативных эффектов факторов КП

Оценка изменения видового и количественного состава микрофлоры кишечника после 21-суточного антиортостатического вывешивания с применением пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета, пробиотического средства и без, действия пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета на скорость восстановления негативных изменений, вызванных опорной разгрузкой. Программа исследований соответствует нормам биоэтики (протокол №633 от 08.02.2023г.). В эксперименте участвовали 36 самцов крыс линии Wistar, массой 200-220гр (Таблица 6, Приложение Б). Во время эксперимента никаких ограничений для животных в пище (и воде не предусмотрено. Животные содержались в отдельном помещении, за ними осуществлялся ежедневный уход. Температурный режим во время эксперимента поддерживался на уровне 19-22 °С. Модель физиологических эффектов микрогравитации-антиортостатическое вывешивание по методу Ильина-Новикова в модификации Morey-Holton.

Животные будут получать пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета перорально ежедневно в дозе 200 мг/кг. Животные

смогут без ограничений передвигаться по клетке.

Таблица 6 - Контрольная и опытные группы при оценке изменения видового и количественного состава микрофлоры кишечника при антиорто статическом вывешивании.

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
(контроль+ плацебо) Contr/pl	6	Нет воздействия	Анализ показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	6	Антиорто статическое вывешивание	-«-
(контроль+ препарат) Contr/pr	6	Пробиотическое средство	-«-
(вывешивание + препарат) HIS/pr	6	Антиорто статическое вывешивание + пробиотическое средство	-«-
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr*	6	Пробиотическое средство после воздействия условий КП	-«-
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	6	Антиорто статическое вывешивание + пробиотическое средство после воздействия условий КП средство подвергнуто условиям КП	-«-

Все 6 групп содержались одновременно в течение 21 дня. До начала эксперимента у животных фиксировался вес и были взяты пробы кала (до начала, на 7,14 и 21 сутки).

3.1.4 Исследование эффективности сочетанного использования напитков брожения на основе сахаромикета и пробиотических, и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)

В четвертом эксперименте исследование было включено в научную программу 120-суточного изоляционного эксперимента, проведенного на базе ГНЦ РФ - ИМБП РАН, рассмотрено и одобрено Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН (протокол № 506 от 03.04.2019 г.). Все участники эксперимента дали информированное согласие на участие в нём.

В эксперименте воспроизводились условия реального космического полёта на Луну, включающие этапы:

- перелёт до спутника с последующим облётom для поиска места посадки;
- приземление 4 членов экипажа для проведения операций на поверхности Луны;
- пребывание на орбите Луны и дистанционное управление лунным ровером для подготовки базы;
- возвращение на Землю.

Микробиологическое исследование было разделено на две части. В 1-й части (Таблица 7) для обогащения напитка брожения (НБ) были использованы препараты-пробиотики: живые лиофилизированные молочнокислые бактерии *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium* (Линекс®, «Sandoz») и бифидобактерии, сорбированные на активированном угле (Бифидумбактерин форте®, ООО «ПроБиоФарм»). В предварительно восстановленный из порошка НБ (100 мл) на основе сахаромикета (10^7 КОЕ/мл) добавляли содержимое капсул Линекс® до конечной концентрации 10^7 КОЕ/мл и Бифидумбактерин форте® до конечной концентрации 10^8 КОЕ/мл. Полученный НБ использовался в качестве лечебно-профилактического питания исследователями экспериментальной группы (3 человека). Остальные исследователи (3 человека) принимали только НБ без добавления пробиотиков и

составили контрольную группу. Курс приема НБ с добавлением пробиотиков составлял первые 15 сут изоляционного эксперимента.

Таблица 7 - Дизайн первой части эксперимента №4

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
Контрольная	3	Принимали только НБ без добавления пробиотиков	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника
Опытная	3	Принимали НБ, обогащенный пробиотиком	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника

Во 2-й части исследования (Таблица 8) участники экспериментальной группы получали НБ, обогащенный культурой бактерий *Lactobacillus* spp., выделенных от операторов (аутопробиотик), а обследуемые контрольной группы принимали только НБ, без добавления пробиотических препаратов. НБ с аутопробиотиками обследуемые принимали в течение 15 сут (с 60-х по 75-е сутки изоляционного эксперимента) по 250 мл 1 раз в день.

Методика изготовления аутопробиотического препарата включала в себя отбор проб фекалий у практически здоровых лиц в период их клинически здорового состояния за 30 дней до предполагаемого применения. Из проб выделяли аутоштаммы лактобактерий и идентифицировали их. Биомассу выделенных микроорганизмов очищали и нарабатывали на селективной питательной среде MRS для культивирования лактобактерий в анаэробных

условиях до титра не менее 10^7 – 10^8 КОЕ/мл. Нарботанную биомассу подвергали лиофилизации — высушиванию в замороженном состоянии под вакуумом в пенициллиновых флаконах.

Таблица 8 - Дизайн второй части эксперимента №4

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
Контрольная	3	Принимали только НБ, без добавления пробиотических препаратов	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника
Опытная	3	Получали НБ, обогащенный культурой бактерий <i>Lactobacillus</i> , выделенных от операторов (аутопробиотик)	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника

Содержание клеток аутологичных лактобацилл и энтерококков в одном флаконе было не менее 10^7 КОЕ/мл. Отбор проб фекалий у обследуемых проводили на 15, 30, 60, 90 и 120-е сутки пребывания в гермообъекте (окончание изоляционного эксперимента) и 7-е сутки после окончания изоляционного эксперимента.

У участников эксперимента были проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника (Приложение А,В). Для определения родового состава микрофлоры были выполнены классические бактериальные посеы на селективных средах с последующим подсчётом колоний для получения результатов по

количественному составу микрофлоры и вычисления микробного числа (МЧ) по стандартной методике [Нетрусов и др., 2005] МЧ выражали в виде lg(КОЕ/мл).

3.1.5 Изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»

Пятый эксперимент включал изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз» (Таблица 9, Приложение Г,Д). Целью раздела являлась комплексная оценка микробиома различных биотопов человека в условиях, моделирующих полет на Луну и пребывание на ней, и эффективность аутопробиотических средств профилактики развития дисбиотических состояний.

Таблица 9 - Группы испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз».

Группа	Число образцов	Воздействие	Регистрируемые показатели
Контроль	2	Принимали кефир	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника
Опыт	4	Принимали пробиотический напиток на основе кефира, в который добавлялись аутоштаммы <i>Lactobacillus spp.</i>	Проведены исследования количественного, родового и видового состава микробиоценоза кишечника

В исследовании принимало участие 6 человек (4 мужчин и 2 женщин), которые находились в условиях изоляции в течение 14 суток. Научная программа изоляционного эксперимента «Эскиз» была одобрена биоэтической комиссией

Института медико-биологических проблем РАН (Протокол №573 от 1 апреля 2021 г.) и полностью соответствует принципам Хельсинской декларации.

В течение 7 дней, начиная с первого дня после выхода из гермообъекта, 4 испытуемых принимали пробиотический напиток на основе кефира, в который добавлялись предварительно выделенны индивидуально у каждого испытуемого аутоштаммы *Labctobacillus spp.* 2 испытуемых не принимали аутопробиотический напиток и составляли контрольную группу.

Однократно за 30–32 суток до и через 7–8 суток после иммерсии отбирались образцы фекалий, из которых готовили ряд десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе от 10^{-1} до 10^{-9} и 100 мкл инокулята высевали в чашки Петри с агаризованными питательными средами: кровяной агар, агар МакКонки, маннитол-солевой агар, среда Сабуро, среда МРС, среда Бактофок, цитратный агар, агар для энтерококков, бифидоагар.

Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали: колумбийский агар, хромогенную прозрачную среду Brilliance (Oxoid, Великобритания), маннит-солевой агар (Himedia, Индия), энтерококковый агар, среду Эндо и агар Сабуро (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия). Инкубировали посевы в условиях CO_2 инкубатора (Joan, Франция). Лактобациллы культивировали на среде лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы – на прeredуцированном агаре Шедлера (Oxoid, Великобритания) с необходимыми добавками в условиях анаэробного бокса (Whitley DG 250 Anaerobic Workstation, Великобритания) в атмосфере трёхкомпонентной газовой смеси (N_2 -80%; CO_2 -10%; H_2 -10%). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили методом MALDI-TOF-MS анализа с использованием времяпролётного масс-спектрометра Autoflex III с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltoniks; Германия) версии 3.0.

Полученные данные были проанализированы с помощью дискриминантного и дисперсионного анализов в программе Statistica.

3.1.6 Создание банка для хранения микробных ассоциаций в условиях криогенной техники, разработка режимов хранения. Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки

Эксперимент организован в целях исследования возможности использования нативного препарата как источник аутологичных штаммов после длительной заморозки.

Проводилось исследование микробиоты толстого кишечника до и после длительной глубокой заморозки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Образцы с микробными ассоциациями помещали в полиэтиленовые пакеты, далее в стерильные пластиковые контейнеры для биоматериала объёмом 60 мл. Хранение проводили в лабораторной морозильной камере GFL 6384 при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течении 6 месяцев.

Анализ состава микробной флоры фекальных образцов предполагает проведение двухэтапного исследования:

1-ый этап – выделение ДНК;

2-ой этап - амплификация специфических участков ДНК методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени.

"КОЛОНОФЛОР". Метод позволяет определить 21 показатель:

- Общая бактериальная масса;
- *Lactobacillus* spp.;
- *Bifidobacterium* spp.;
- *Escherichia coli*;
- *Bacteroides* spp.;
- *Bacteroides thetaiotaomicron*;
- *Akkermansia muciniphila*;
- *Faecalibacterium prausnitzii*;

- *Clostridium difficile*;
- *Clostridium perfringens*;
- *Klebsiella pneumoniae*;
- *Klebsiella oxytoca*;
- *Escherichia coli enteropathogenic*;
- *Enterococcus* spp.;
- *Proteus* spp.;
- *Enterobacter* spp. / *Citrobacter* spp.;
- *Fusobacterium nucleatum* / *Parvimonas micra*;
- *Staphylococcus aureus*;
- *Candida* spp.;
- *Salmonella* spp.;
- *Shigella* spp.

Образцы с микробными ассоциациями помещали в полиэтиленовые пакеты, далее в стерильные пластиковые контейнеры для биоматериала объёмом 60 мл. Хранение проводили в лабораторной морозильной камере GFL 6384 при температуре -80°C в течении 6 месяцев.

После отбора и заморозки проб проведено выделение чистой культуры *Lactobacillus* spp. Для этого 100 мкл инокулята высевали в чашки Петри с агаризованными питательными средами: среда МРС и бифидоагар.

Идентификация видовой принадлежности изолированных культур. Для получения тотальной ДНК предоставленных образцов к бактериальной биомассе в пластиковые пробирки типа эппендорф добавляли 700 мкл лизирующего СТАВ буфера (0,2 М Tris (pH 8), 2 М NaCl, 0,05 М EDTA, 2 % СТАВ) и перемешивали на вортексе. После перемешивания, пробирки помещали в термостат выдерживали при температуре 65°C 1 час, при этом каждые 20 минут пробирки вынимали и встряхивали на вортексе. Через час добавляли 500 мкл хлороформа и центрифугировали 10 минут на скорости 13 тыс. об./мин. После центрифугирования супернатант переносили в новую пробирку и добавляли 400 мкл изопропанола и 70 мкл 5М ацетата калия. Пробирки перемешивали руками,

затем центрифугировали 10 минут на скорости 13 тыс. об./мин. После центрифугирования супернатант сливали, а выпавший осадок ДНК промывали охлажденным 70 % этанолом (150 мкл) и центрифугировали 5 минут при скорости 13 тыс. об./мин., после спирт сливали и процедуру повторяли. Полученный осадок высушивали на воздухе до полного испарения спирта. Затем осадок ресуспендировали в 50 мкл деионизованной воды, выжидали 15 минут для его растворения и оставляли очищенную ДНК на хранение в морозильной камере (–20 °С) для дальнейшего использования

Праймеры и ПЦР

Аmplификацию участка гена 16S рРНК проводили со следующей парой праймеров:

L5-15f: GCTCAGGAYGAACGCYGG

L5-687r: CACCGCTACACATGRADTTTC

Параметры отжига праймеров (Hou et al., 2018): предварительная денатурация при 94 °С в течении 10 минут. 35 циклов: 30 секунд при 95 °С; 60 секунд при 60 °С; 90 секунд при 72 °С. Конечная элонгация при 72 °С в течении 7 минут.

Для реакции использовали смесь следующего состава на одну микропробирку: H₂O — 19,2 мкл, буферная смесь ScreenMix с TAQ-полимеразой — 5 мкл, праймер L5-15f — 0,45 мкл, праймер L5-687r — 0,45 мкл, ДНК — 1,2 мкл, общий объем смеси на одну пробирку — 26,3 мкл.

Электрофорез, очистка ДНК, секвенирование

Полученные в результате амплификации ПЦР-продукты разгоняли в 1 % геле методом электрофореза. Блоки вырезали из геля для очистки. Очистку ДНК осуществляли с использованием реактивов набора Cleanup Standard компании «Евроген» согласно инструкции. Прочтение последовательности амплифицированных участков (Приложение Д) было проведено на автоматическом секвенаторе в компании ЗАО «Евроген». Для идентификации

видов, полученных после секвенирования прямых и обратных последовательностей, обрезали краевые концы (20 – 30 п.н.), а затем попарно выравнивали для получения консенсусной последовательности. Для нахождения сходных нуклеотидных последовательностей использовалась программа BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), встроенная в базу данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

3.1.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Для выполнения целей работы были обследованы 5 испытуемых 240-суточного изоляционного эксперимента SIRIUS-21. Исследовалась микрофлора кишечника.

Для поддержания и коррекции микрофлоры кишечника испытуемые принимали аутопробиотический напиток, приготовленный на основе лактобацилл, выделенных предварительно от каждого испытуемого. Титр лактобацилл в конечном напитке составлял не менее 10^7 КОЕ/мл, объем – 200 мл. Испытуемые принимали напиток в утреннее время однократно.

Для анализа состава кишечной микрофлоры отбирались образцы фекалий на 0-е, 14-е, 30-е сутки эксперимента, далее через каждые 30 суток. Также анализировался состав кишечной микрофлоры за 7 суток до начала эксперимента и через 7 суток после выхода из гермообъекта.

Из образцов фекалий готовили ряд десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе от 10^{-1} до 10^{-9} и 100 мкл инокулята высевали в чашки Петри с агаризованными питательными средами: кровяной агар, агар МакКонки, маннитол-солевой агар, среда Сабуро, среда МРС, среда Бактофок, цитратный агар, агар для энтерококков, бифидоагар. Все среды произведены Himedia, Индия.

Для коррекции микрофлоры других биотопов не применялись никакие средства профилактики.

Выросшие колонии подсчитывались и идентифицировались методом MALDI-TOF-MS с использованием времяпролетной масс-спектрометрии.

После наращивания необходимого количества микробиологический материал был лиофилизирован и заморожен. После окончания изоляции, замороженные образцы *Lactobacillus* spp. были высеяны для оценки возможности длительного хранения данного вида с целью последующего использования его в качестве аутопробиотического средства в длительных космических миссиях для профилактики развития дисбиотических состояний.

Для статистической обработки данных были использованы непараметрические методы: ранговый дисперсионный анализ Фридмана, коэффициент Кендалла и парный тест Уилкоксона. Обработка проводилась в программе STATISTICS 12.

3.2 Животные их содержание, корм

Экспериментальные исследования проведены на половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Крысы были размещены в виварии ГНЦ РФ – ИМБП РАН (эксперименты №2 и №3). Температура в комнатах составляла от 20 до 23 °С, относительная влажность – от 35 до 70 %.

В качестве подстилки использовали опилки лиственных пород деревьев. Во время исследования крысы имели неограниченный доступ к полнорационному комбикорму и воде. Пища является полнорационным комбикормом, скармливаемым лабораторным животным, изготовитель: АО «Гатчинский ККЗ».

3.3 Методы

3.3.1 Методика лиофилизации

При лиофилизации биологических материалов содержащаяся в них свободная вода замерзает после достижения достаточного разрежения газов, а затем удаляется путем сублимации, т.е. путем перехода в парообразное состояние непосредственно из твердого (льда), минуя жидкую фазу. При лиофилизации температура обезвоживаемого материала в течение всего периода удаления

свободной воды остается ниже температуры замерзания, вследствие этого белки не подвергаются денатурирующему действию повышенных концентраций электролитов.

Особое значение имеет структура сухого материала, полученного в результате лиофилизации. После сублимации льда остается пористая сухая, лишенная свободной воды масса, почти сохранившая объем и структуру исходного вещества. При добавлении воды эта сухая пористая масса растворяется почти мгновенно.

Лиофильная сушилка «ИНЕЙ» предназначена для сублимационной сушки предварительно замороженных продуктов, с целью их длительного хранения. Сушка происходит посредством процесса возгонки: лёд переводится в водяной пар, который откачивается из камеры низковакуумным насосом, с последующей конденсацией на низкотемпературном конденсоре. Особенности устройства: в стандартном исполнении оснащена двумя рабочими камерами для сушки в пенициллиновых флаконах или поддонах. Контроль температуры и давления в колбах осуществляется с помощью цифровых индикаторов, размещенных на передней панели сушилки. В лиофильной сушилке «Иней - б» обеспечен режим ускоренного удаления льда.

3.3.2 Количественная оценка

Для исследований проводился анализ кала, а именно, количественного и качественного состава микробиоценоза кишечника.

После забора анализа, 1г нативного препарата гомогенизируют в физиологическом растворе или фосфатном буфере, получая исходное разведение материала (10^{-1}). Все манипуляции проводятся в боксе микробиологической безопасности.

Из исходного разведения делают 100-кратные разведения материала в физиологическом растворе (10^{-1} - 10^{-9}). Из приготовленных разведений делают дозированные посеvy на питательные среды для культивирования различных групп микроорганизмов.

1. Кровяной агар
2. Агар Мак-конки
3. Маннитол-солевой агар
4. Среда Сабуро
5. Среда МРС,
6. Среда Бактофок
7. Цитратный агар
8. Агар для энтерококков

Все среды инкубируют при 37 °С 24-48 часов; Для культивирования анаэробов используют анаэроостаты.

3.3.3 Качественная оценка

Условия культивирования микроорганизмов имеют слабое влияние на идентификацию. В качестве питательной среды могут использоваться: колумбийский кровяной агар, шоколадный агар или другие. Различные условия культивирования вызывают небольшие изменения в исследуемых пиках. Практически все пики воспроизводимы. Несмотря на это предпочтительно всегда использовать одинаковую питательную среду и условия культивирования микроорганизмов. По возможности должен использоваться свежесвыращенный биоматериал (рост в течение ночи) или, в случае медленно растущих микроорганизмов, рост в течение нескольких дней. Хранение культивационных чашек при температуре 4°С приводит к довольно быстрой деградации (в течение 1-2 дней). Хранение чашек при комнатной температуре допустимо в течение нескольких дней.

Идентификация микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии. Идентификация в системе MALDI Biotyper основана на анализе экспрессии константных белков микроорганизма с помощью масс-спектрометрии. Полученные масс спектры анализируемых образцов сравниваются с масс-спектрами референсных микроорганизмов, находящимися в базе данных.

Для исследования берется единичная колония суточной культуры. Колония переносится на мишень прибора. После высыхания колонии, небольшое кол-во раствора матрицы наносится сверху. Раствор матрицы способствует экстракции белков из образца. Экстрагируемые белки являются в основном рибосомальными белками, которые присутствуют в больших концентрациях в клетке микроорганизма. На воздухе происходит сокристаллизация матрицы с исследуемым образцом. На этом этап пробоподготовки заканчивается. Данный вид пробоподготовки называется методом прямого нанесения.

Если использование метода прямого нанесения не приносит желаемого результата, то используется дополнительный протокол, позволяющий провести экстракцию белковых молекул из образца и повысить уровень достоверности получаемых результатов.

Основой системы MALDI Biotyper является времяпролетная масс-спектрометрия с матрично ассоциированной лазерной десорбцией ионизацией.

Лазер облучает образец сокристаллизованный с матрицей, что приводит к десорбции белковых молекул с поверхности мишени, при этом матрица сообщает белкам положительный заряд. Такая ионизация называется «мягкой ионизацией», т.е. позволяет перевести нейтральные молекулы в ионы без их деградации.

Затем полученные ионы ускоряются в электрическом поле и попадают во времяпролетную трубу, в которой они движутся со скоростью пропорциональной их массам по направлению к детектору. Ионы разных масс попадают на детектор в разное время. Измеряя время, прошедшее между ускорением ионов и их попаданием на детектор, можно определить скорость движения ионов и их молекулярную массу.

В этом разделе дан краткий обзор основных этапов идентификации микроорганизмов с помощью системы MALDI Biotyper. Для проведения анализа необходимы:

- MALDI TOF масс-спектрометр
- Подготовленная к анализу MALDI мишень

Для идентификации неизвестного микроорганизма с помощью MALDI

Biotyper RTC:

1. Загрузите мишень прибора в масс-спектрометр
2. Запустите MALDI Biotyper RTC
3. Создайте новый проект
4. Введите данные об образце
5. Убедитесь в правильном выборе методов настроек
6. Запустите процесс идентификации
7. Создайте отчет с результатами идентификации

3.3.4. Статистический анализ

Результаты экспериментов были обработаны с использованием пакета прикладных программ «Statistica v.10.0 for Microsoft Windows». Данные исследования представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25–Q75). Достоверность полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Вилкоксона.

Полученные данные были проанализированы с помощью дискриминантного и дисперсионного анализов, а также непараметрического критерия хи-квадрат в программе Statistics 12.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью непараметрических критериев Краскеля-Уоллиса, Фридмана и критерия хи-квадрат в программе Statistics 12.

Данные представлены в виде среднее \pm стандартная ошибка, если не указано иное. Для удобства читателя использованные методы статистического анализа приведены в соответствующих разделах «Результатов».

4 Результаты и обсуждение

4.1 Комплексное воздействие факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов

Анализ по количественным и качественным показателям культуральных

свойств жизнеспособных форм микроорганизмов, восстановленных из лиофилизированной формы после воздействия, пониженного гипемагнитного поля Земли на 3-5 порядка и биологического действия протонов высоких энергий отдельно и совместно. Одна капсула препарата Линекс содержит не менее $1,2 \times 10^7$ живых лиофилизированных молочнокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. Бифидумбактерин содержит *Bifidobacterium bifidum* не менее 5×10^7 КОЕ.

При сравнении данных, полученных после культивирования на питательных средах было обнаружено, что вне зависимости от того, какому воздействию подвергался препарат, статистически достоверных различий с контрольной группой не наблюдается (Таблица 10).

Таблица 10 – Содержание микроорганизмов в пробиотическом напитке (Lg КОЕ/мл)

НАПИТОК (cosm-otentic)	Повторности											
	Н1	Н1	Н1	Н2	Н2	Н2	Н3	Н3	Н3	Н4	Н4	Н4
ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА												
Среда типа MRS (жидкая) для лактобактерий	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7
Среда Блаурока (для бифидобактерий), готовая, жидкая	10^7	10^7	10^7	10^9	10^9	10^9	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8
Entero (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококагар))	10^9	10^9	10^9	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8
Бифидумбактерин	Б1	Б1	Б1	Б2	Б2	Б2	Б3	Б3	Б3	Б4	Б4	Б4
Среда Блаурока (для бифидобактерий), готовая, жидкая	10^7	10^7	10^7	10^9	10^9	10^9	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8
Линекс	Л1	Л1	Л1	Л2	Л2	Л2	Л3	Л3	Л3	Л4	Л4	Л4
Среда типа MRS (жидкая) для лактобактерий	10^8	10^8	10^8	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7

Продолжение таблицы 10

Среда Блаурока (для бифидобактерий), готовая, жидкая	10 ⁷											
Enterо (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар))	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁸								

Примечания

1 Н1-Н4 повторности посевов напитка cosm-o-tentic на питательные среды

2 Б1-Б4 повторности посевов Бифидумбактерина на питательную среду

3 Л1-Л4 повторности посевов Линекса на питательные среды

4.2 Анализ состава микробиоты кишечника при моделировании основных неблагоприятных факторов космического полета: сочетанное воздействие химического и радиационного факторов низкой интенсивности

Для исследований проводился анализ количественного и качественного состава микробиоценоза кишечника. Используя полученные количественные результаты, был вычислен динамический эубиотический индекс (E_{id}). Для вычисления индекса оценивалось - увеличивается или уменьшается количество того или иного микроорганизма в конкретном биотопе в данной точке отбора по сравнению с предыдущей точкой, после чего оценивалось, является ли это изменение положительным или отрицательным.

Индекс высчитывался по следующей формуле:

$$E_{id} = \frac{\text{Количество положительных изменений микрофлоры}}{\text{Количество отрицательных изменений микрофлоры}}$$

По значению эубиотического индекса можно судить о том, какие именно изменения преобладали в тот или иной период изоляционного эксперимента. Если $E_{id} > 1$, это означает, что количество положительных изменений преобладает. $E_{id} < 1$ означает преобладание отрицательных изменений микрофлоры (Рисунок 2).

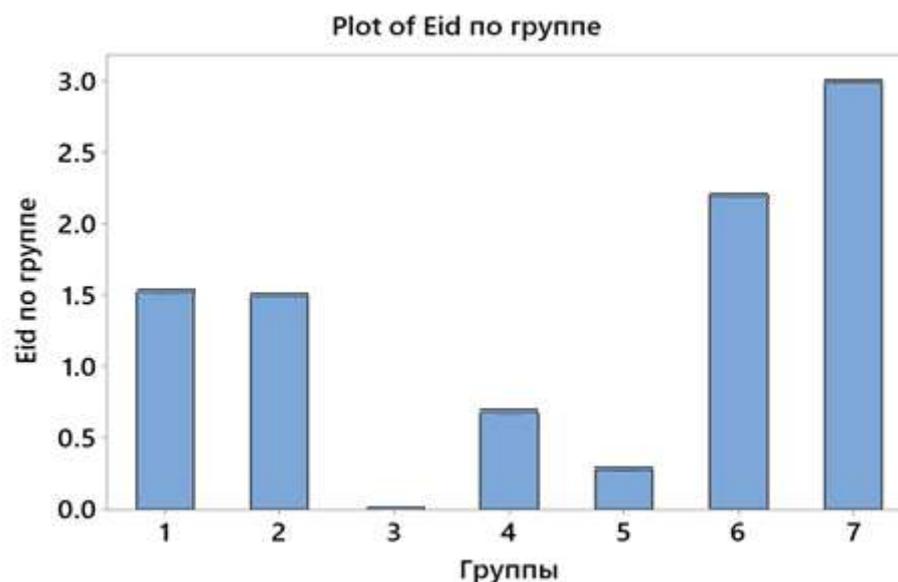


Рисунок 2 - Значение Eid в исследуемых группах ($p < 0,05$).

Как видно из Рисунка 2 значение Eid в опытных группах имеет тенденцию к снижению после воздействия неблагоприятных факторов, что свидетельствует о изменении состава микрофлоры кишечника.

4.3 Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс

Перед началом эксперимента исходное состояние биоценоза кишечника без воздействия внешних факторов характеризовалось стабильным. На 7 сутки в группе «Вывешивание+Препарат КП» количество было бифидобактерий меньше, чем в группе «Вывешивание+Препарат» (Рисунок 3). Однако, при сравнении групп без вывешивания с «опытными», можно заметить, что в плацебной группе количество как бифидобактерий, так и представителей семейства *Lactobacillaceae spp.* у вывешенных крыс меньше, что говорит о негативном эффекте условий вывешивания. При этом в группах с обоими препаратами количество вышеупомянутых микроорганизмов в кишечной микрофлоре у вывешенных и невывешенных крыс достоверно не различалось, что свидетельствует об относительно одинаковой эффективности обоих препаратов.

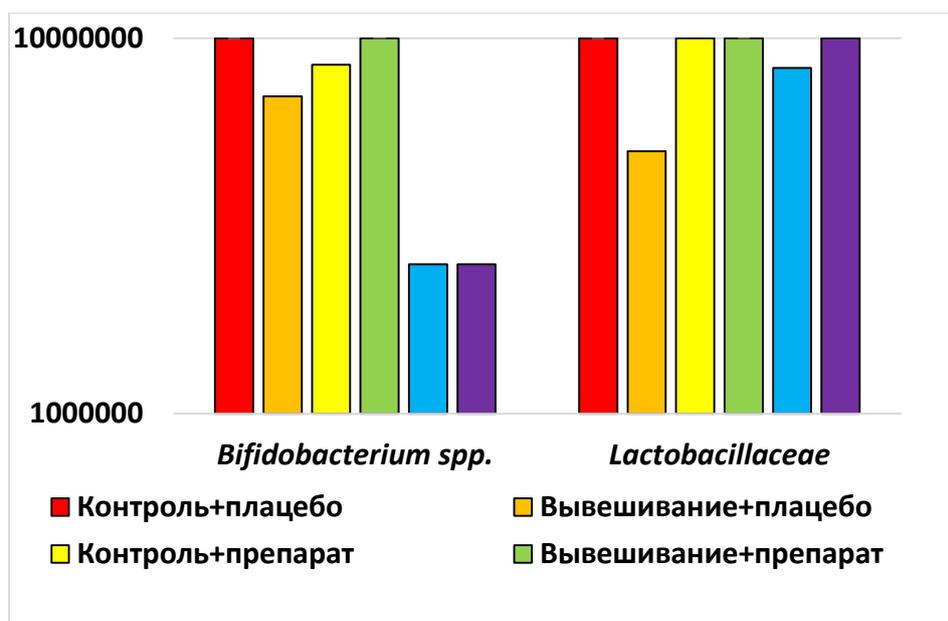


Рисунок 3 - Количество *Lactobacillaceae* spp. и *Bifidobacterium* spp. в группах с различной комбинацией препаратов на 7 сутки эксперимента ($p < 0,05$).

На 14 сутки количество *Bifidobacterium* spp. в группах «Вывешивание+препарат» и «Вывешивание+препарат КП» достоверно не различалось между собой, но отличалось от контрольных групп с соответствующим препаратом (Рисунок 4). В вывешенных группах количество данного рода микроорганизмов было выше, чем в контроле. В группах «Контроль+плацебо» и «Вывешивание+плацебо», однако, отмечена противоположная ситуация: количество бифидобактерий в вывешенной группе заметно ниже, чем в контрольной, что подтверждает негативное влияние безопорного состояния на кишечную микрофлору крыс.

По количеству энтерококков группы «Вывешивание+препарат» и «Вывешивание+препарат КП» достоверно не различались, однако обе группы отличались от своих контрольных групп - в контроле количество *Enterococcus faecalis* выше. В плацебо-группах по энтерококкам достоверных различий между контролем и вывешиванием не наблюдалось, однако количество энтерококка достоверно ниже, чем в остальных 4-группах, то есть оба препарата оказывают стимулирующее действие на микрофлору кишечника.

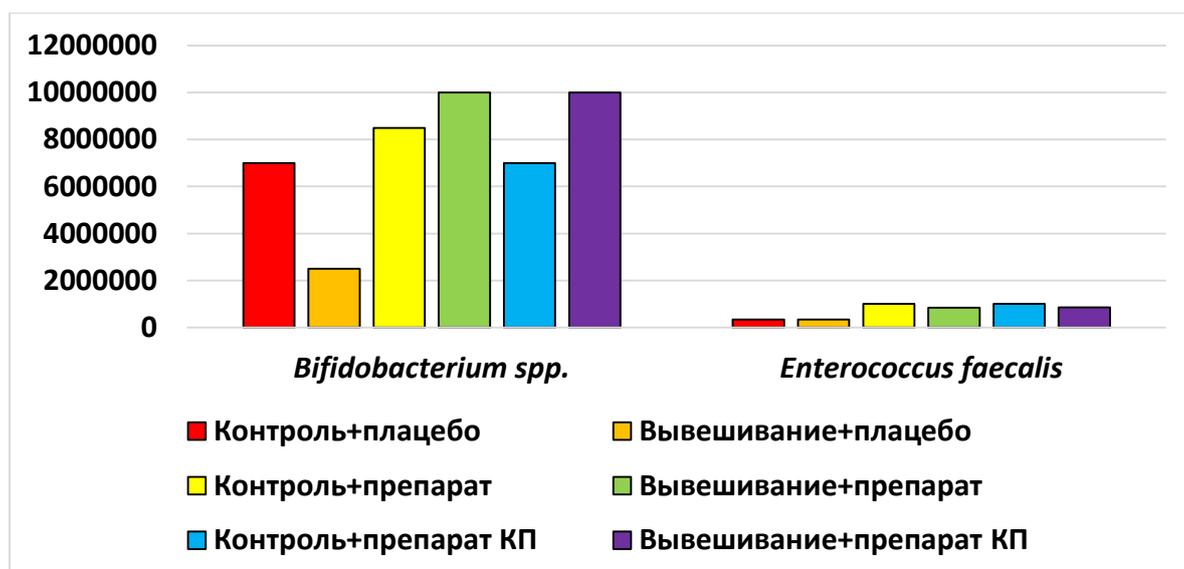


Рисунок 4 - Количество *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus faecalis* в группах с различной комбинацией препаратов на 14 сутки эксперимента ($p < 0,05$).

Как видно на рисунке 5, на 21 сутки эксперимента в плацебо-группах количество лактобацилл достоверно было ниже, чем в группах с использованием препаратов, за исключением контрольной группы с препаратом КП, но необходимо отметить, что группа «Вывешивание+Препарат КП» при этом не отличалась от группы «Вывешивание+Препарат».

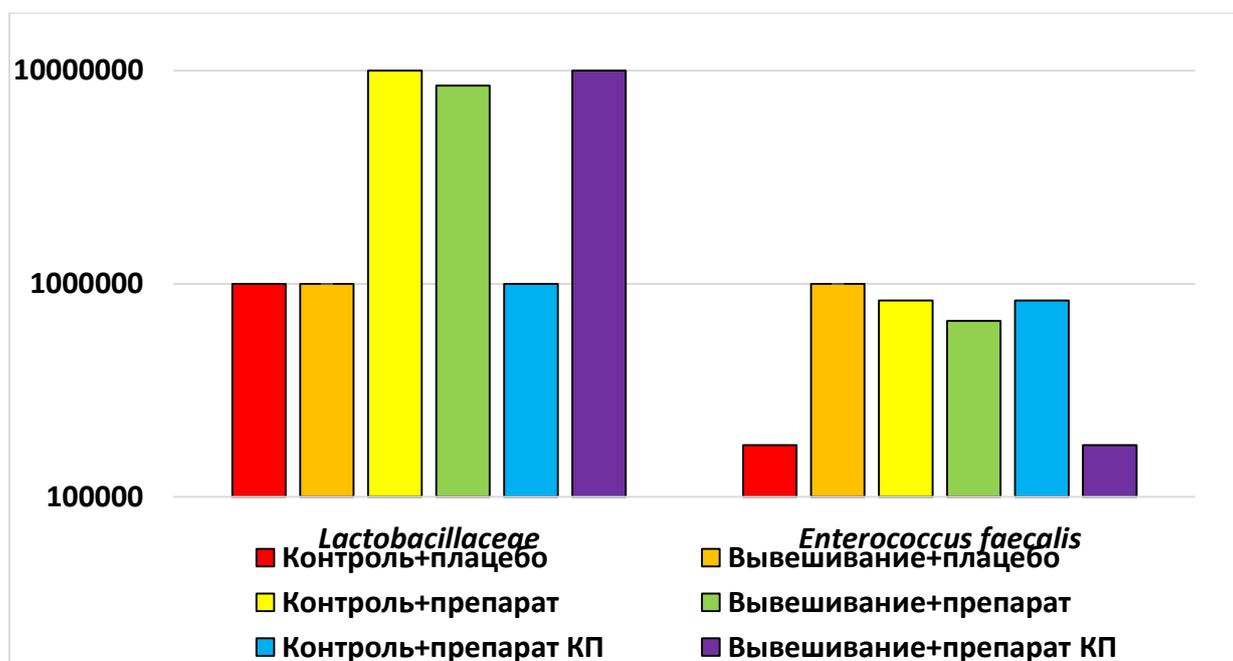


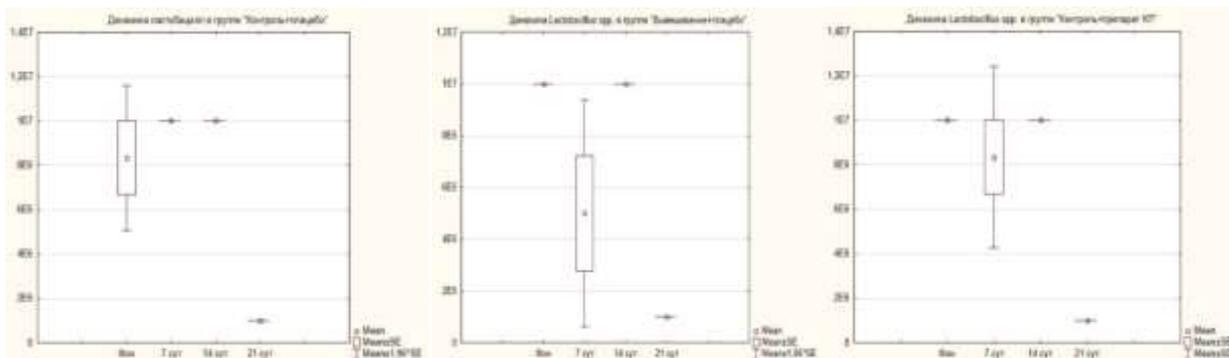
Рисунок 5 - Количество *Lactobacillaceae spp.* и *Enterococcus faecalis* в группах с различной комбинацией препаратов на 7 сутки эксперимента ($p < 0,05$).

В плацебной группе также отмечено большее количество энтерококков у вывешенных крыс, чем у контрольных. В группах с обоими препаратами, однако, количество данного микроорганизма было выше в контрольных группах, причем наименьшее количество отмечено в группе «Вывешивание+Препарат КП».

Также было проведено сравнение динамики численности различных микроорганизмов в группах в течение всего эксперимента с помощью критерия Фридмана для зависимых выборок.

Достоверные различия между разными периодам эксперимента были выявлены по лактобациллам в трёх группах: «Контроль+Плацебо», «Вывешивание+Плацебо» и «Контроль+Препарат КП», при этом коэффициент конкордации по всем трём группами был выше 0,65, т.е. изменения у всех крыс происходили в основном согласованно.

Так, было выявлено, что количество лактобацилл в вышеупомянутых трёх группах снизилось к 21 суткам, при этом в группе «Вывешивание+Плацебо» отмечалось снижение лактобацилл уже на 7 сутки, в то время как в других двух группах падение численности *Lactobacillaceae spp.* произошло только к 21 суткам (Рисунок 6). Учитывая то, что в группе «Вывешивание+препарат КП» (как и в группах с обычным препаратом) достоверных различий между лактобацилл не было на протяжении всего эксперимента, оба препарата следует рассматривать как эффективные средства профилактики.



А

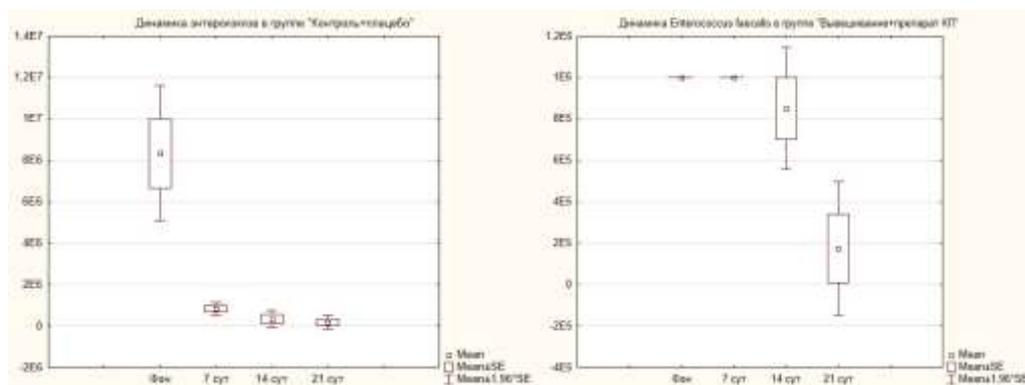
Б

В

Рисунок 6 - Динамика численности лактобацилл в течение эксперимента в трёх группах «Контроль+Плацебо» (А), «Вывешивание+Плацебо» (Б) и «Контроль+Препарат КП» (В) ($p < 0,05$).

Также достоверные различия были выявлены по энтерококкам в группах «Контроль+Плацебо» и «Вывешивание+Препарат КП» (Рисунок 7). Согласно коэффициенту конкордации, изменение количества энтерококков в большинстве групп было согласованным.

К 21 суткам численность *Enterococcus faecalis* в группах «Контроль+Плацебо» и «Вывешивание+Препарат КП» снизилась, однако количество энтерококков в группе с препаратом было всё равно выше, чем в плацебной группе, к тому же высокое количество энтерококков сохранялось практически на протяжении всего эксперимента, в то время как в плацебной группе оно снизилось практически сразу, на 7 сутки.



А

Б

Рисунок 7 - Динамика численности *Enterococcus faecalis* в группах «Контроль+Плацебо» (А) и «Вывешивание+Препарат КП» (Б) ($p < 0,05$).

Ещё одним дополнительным способом анализа полученных данных был расчёт эубиотического индекса (Рисунок 8). Статистическая обработка данных проводилась с помощью хи-критерия.

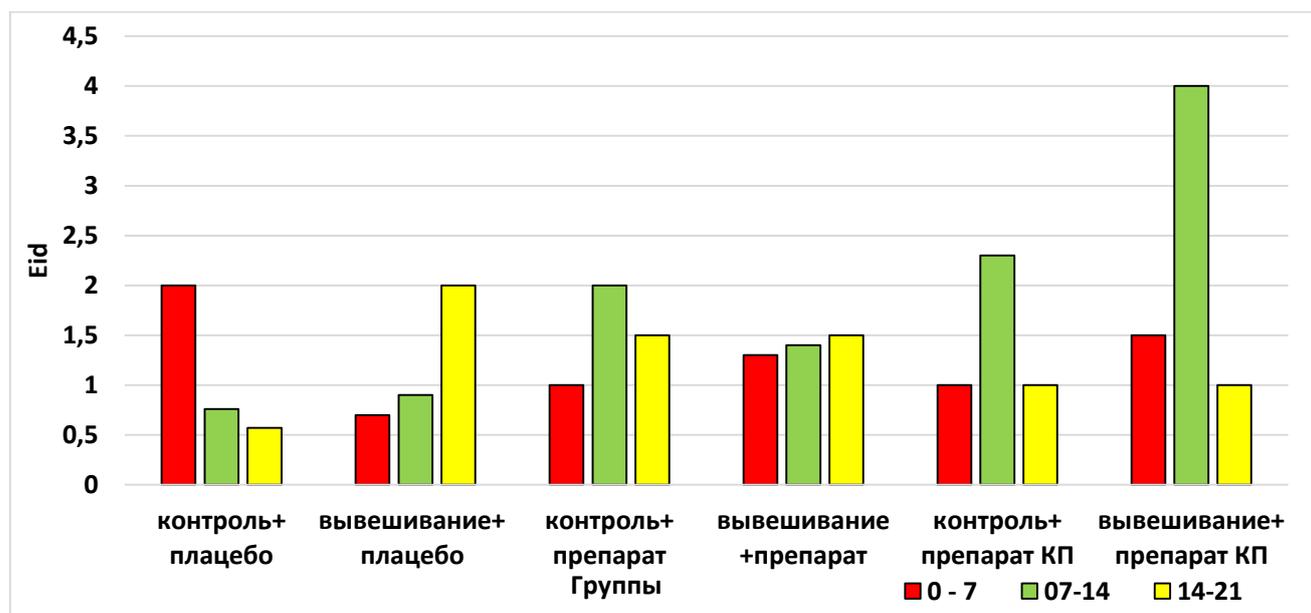


Рисунок 8 - Динамика эубиотического индекса в группах с различными препаратами ($p < 0,05$).

Как видно из рисунка 8, наибольшее значение индекса было зафиксировано в группе «Вывешивание+препарат КП» на 14 сутки, при этом в контрольной группе в тот же самый период индекс повысился, но всё равно оставался почти в два раза меньше, чем в вывешенной группе. К 21 суткам индекс во всех группах, кроме «Вывешивание+Плацебо» снизился, при этом в группах с разными

препаратами наибольшее значение отмечалось для обычного препарата. Тем не менее, в группе с препаратом КП значение индекса было близко к 1, т.е. количество положительных изменений в микрофлоре было примерно равно количеству отрицательных, что говорит о наличии эффективности данного препарата.

Вывешивание является стрессовым фактором, вызывающим снижение количества большинства протективных видов кишечной микрофлоры. Использование средств профилактики достоверно нивелирует негативные изменения в кишечной микрофлоре. В группе «Вывешивание+препарат КП» количество лактобацилл достоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента, что говорит о стабилизирующем действии препарата, подвергнувшегося воздействию отдельных факторов космического полёта, в условия вывешивания. Препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полёта, по эффективности близок к обычному, поскольку единственный вид микроорганизмов, количество которого снизилось к 21 суткам, - *Enterococcus faecalis*. Кроме того, на 14 сутки эубиотический индекс в группе, принимавшей препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полёта, был максимальным на тот временной период, что демонстрирует даже большую эффективность данного препарата, чем у необлучённого.

4.4 Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромицетов и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)

Из представленных рисунков (Рисунки 9,10) следует, что при обогащении напитка брожения как коммерческими пробиотиками, так и аутопробиотиками в составе микрофлоры кишечника происходит улучшение количественных и качественных показателей за счет повышения числа микроорганизмов

протективных групп и снижения (иногда вплоть до полного исчезновения) микроорганизмов условно-патогенных групп. При этом действие аутопробиотических препаратов давало более выраженный эффект, который длился даже в период после выхода из изоляции (период 4), в то время как после употребления напитка брожения с коммерческими штаммами, эффект их действия прекратился практически сразу после прекращения приёма (период 2).

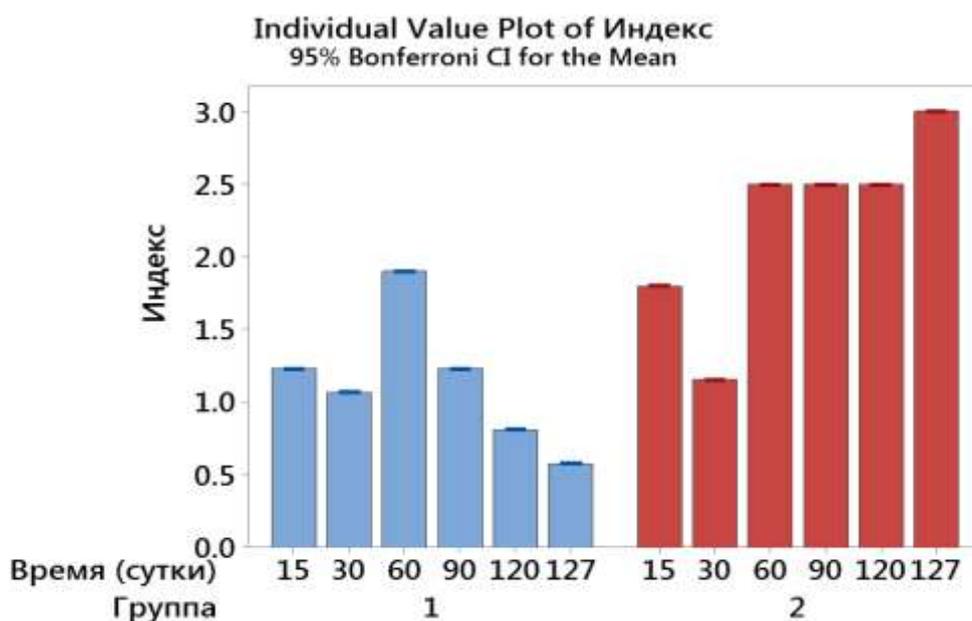


Рисунок 9 - Эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 – контрольная группа, группа 2 – опытная группа ($p < 0,05$).

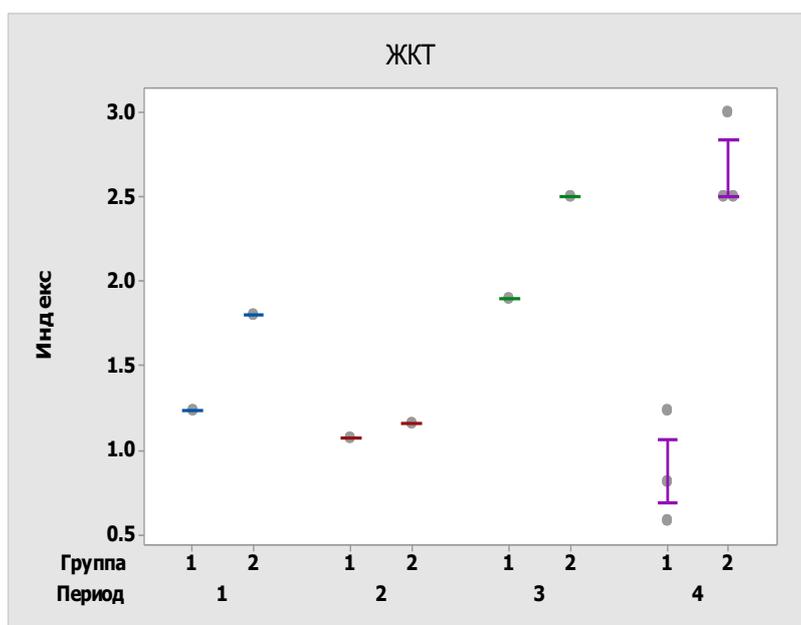


Рисунок 10 - Динамический эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 – контрольная группа, группа 2 – опытная группа. Период 1 – 0-15 сутки, когда испыталы принималы напиток брожения, сочетанный с коммерческими штаммами пробиотиков, период 2 – 15-60 сутки, испыталы не принималы пробиотических препаратов, период 3 – 60-90 сутки, испыталы принималы (с 60-х по 75-е сутки) квас, сочетанный с аутопробиотиками, период 4 – 90-127 сутки, испыталы не принималы пробиотических препаратов, ($p < 0,05$).

4.5 Изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»

При проведении дискриминантного анализа данных по кишечной микрофлоре испытуемых выявлено статистически достоверное различие между состоянием микробоценоза до начала эксперимента, на 7 сутки изоляции, а также через 7 суток после окончания изоляции между опытной группой, принимавшей в профилактических целях кефир с аутоштаммами, и контрольной (Рисунок 11).

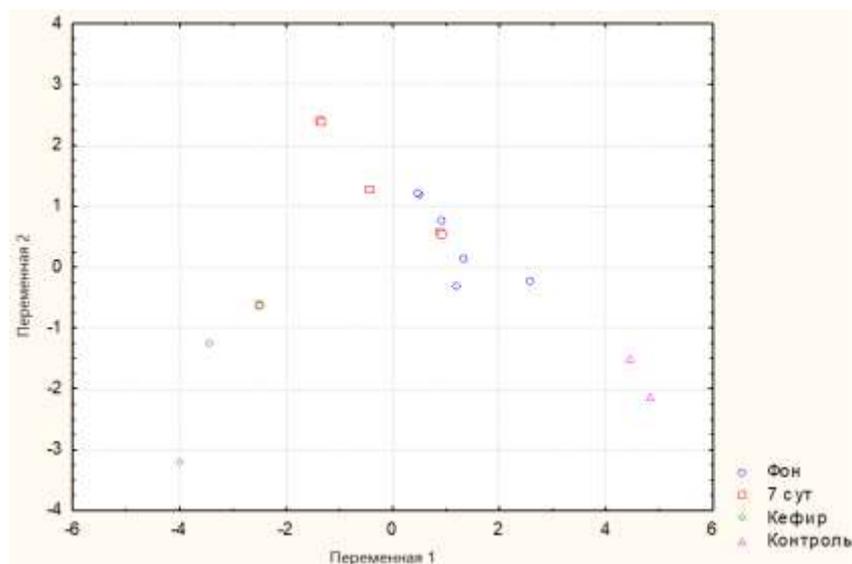


Рисунок 11 - Проекция ценозов кишечной микрофлоры в группах Фон, 7 сутки, Кефир и Контроль на первые две канонические переменные. Каждая точка соответствует одному испытуемому. Переменная 1 – статистический вклад УПМ, переменная 2 – статистический вклад протективной микрофлоры, ($p < 0,05$).

Состояние микрофлоры испытуемых в разные периоды эксперимента в обеих группах различалось по ряду микроорганизмов (Рисунок 12). При этом статистически достоверные различия между группами на разных точках пробоотбора были выявлены по *Enterococcus spp*, *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp*. и *Bifidobacterium spp*. Обращает на себя внимание небольшая стабилизация уровня *Lactobacillus spp*. в опытной группе, что свидетельствует о небольшом положительном эффекте после 7-дневного курса приёма кефира с аутоштаммами.

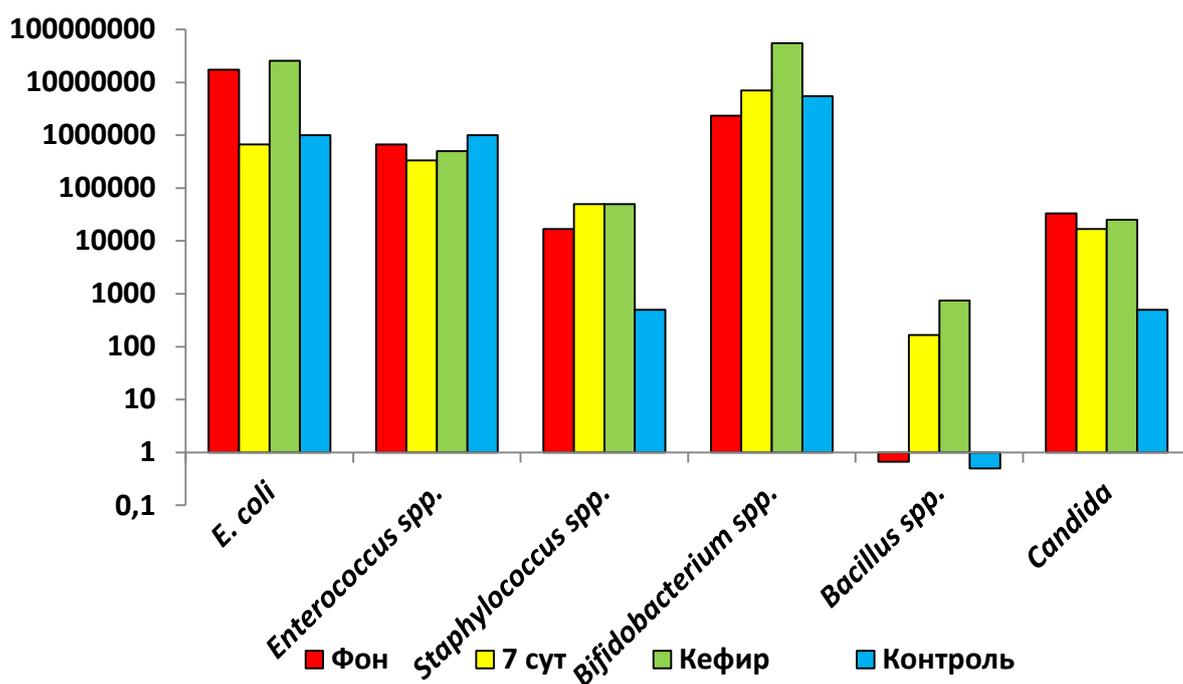


Рисунок 12 - Численность бактерий кишечной микрофлоры (КОЕ/мл) в группах Фон, 7 сутки, Кефир и Контроль ($p < 0,05$).

Также было выявлено, что количество энтерококков в контрольной группе было выше, чем в опытной, а количество *Bacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* у группы испытуемых, принимавших кефир, было выше, чем в контрольной группе. Возможным объяснением выявленных различий может быть содержание данных видов в закваске кефира, что, учитывая протективное действие обоих родов бактерий и применение их в качестве пробиотических средств, в совокупности со стабилизацией *Lactobacillus spp.*, является положительной тенденцией.

4.6 Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки

Целью являлась комплексная оценка и отработка методов длительного хранения ассоциаций микроорганизмов из аутомикрофлоры человека для

возможности использования их в качестве пробиотических препаратов при продолжительной изоляции пациента. Анализ состава микробных ассоциаций из образцов после 6-месячного хранения при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ не показал существенной разницы. Можно констатировать, что в целом микроорганизмы успешно пережили период хранения (Рисунок 13).

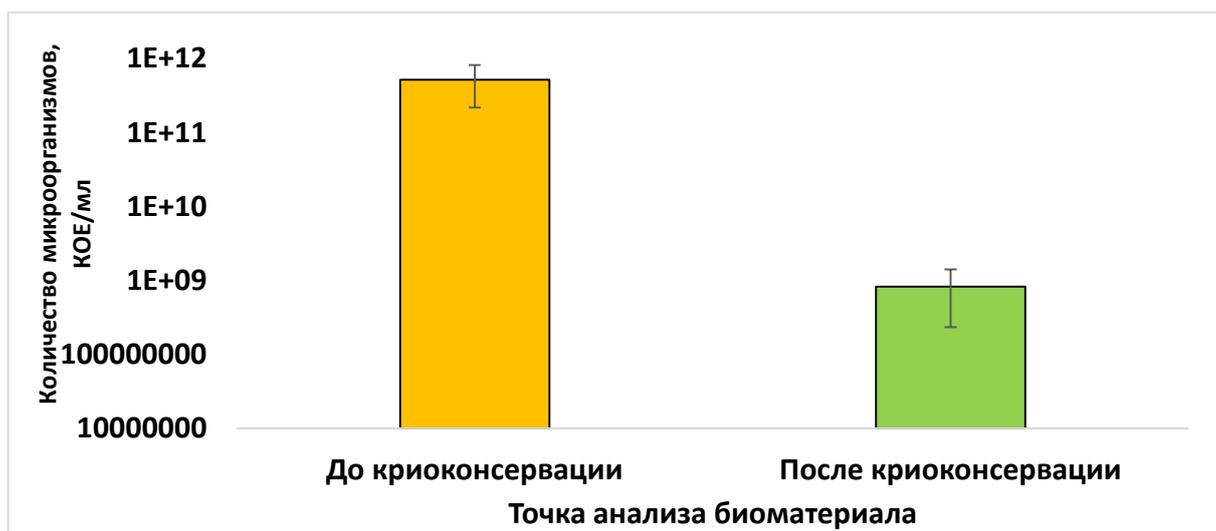


Рисунок 13 - Количество УПМ кишечной микрофлоры до и после криоконсервации образцов фекалий ($p < 0,05$).

При анализе количества выживших протективных видов были найдены достоверные различия только по *Bifidobacterium spp.* и *E.coli*. Их количество достоверно снизилось, при этом, несмотря на снижение, оставалось в пределах нижней границы норма для данных видов микроорганизмов (Рисунок 14).

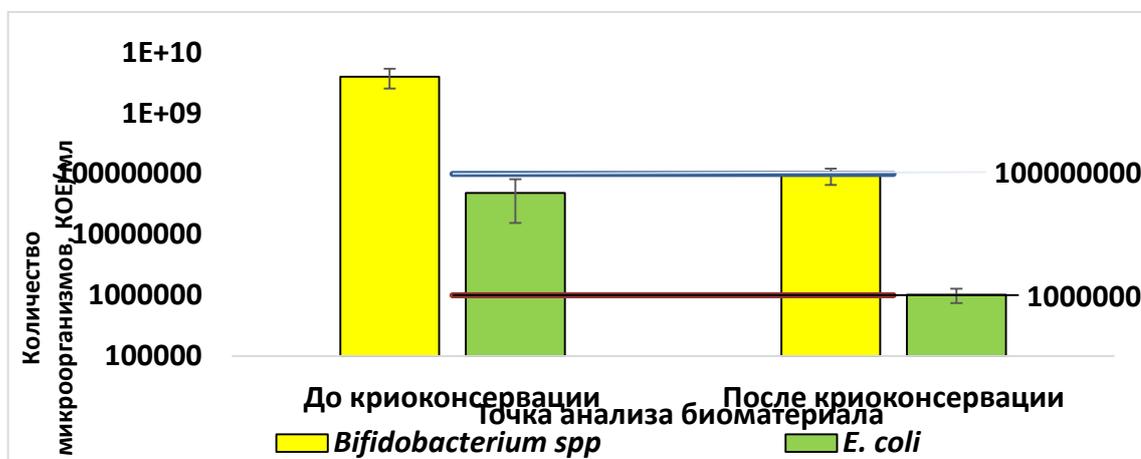


Рисунок 14. Количество бифидобактерий и кишечной палочки до и после криоконсервации образцов фекалий ($p < 0,05$).

Количество лактобацилл при этом после криоконсервации достоверно не снизилось. Это говорит о том, что хранение препаратов на основе аутологичных штаммов лактобацилл при температуре -80 градусов не оказывает существенного влияния на их количество. Полученные данные свидетельствуют о том, что возможно успешное длительное хранение в условиях длительной заморозки аутопробиотических препаратов на основе протективных штаммов микроорганизмов без потери их витальных свойств после последующей разморозки. Это открывает широкий спектр возможности применения таких препаратов, необходимых для поддержания колонизационной резистентности кишечной микрофлоры, в длительных космических миссиях.

4.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Исследование влияния аутопробиотических препаратов на основе *Lactobacillus spp* на микрофлору кишечника в разные периоды изоляции в 8-месячном изоляционном эксперименте SIRIUS-21

При анализе динамики кишечной микрофлоры достоверные различия были обнаружены по *E. coli*, *Enterobacteriaceae spp*, *S. haemolyticus* и *Lactobacillus spp* (Рисунки 15, 16). При этом изменение количества данных микроорганизмов у разных добровольцев скорее имели индивидуальный характер.

Как видно из рисунка 15, количество кишечной палочки снизилось на 14-е сутки эксперимента по сравнению с количеством в фоновом периоде. Затем, к 30-м суткам, произошло некоторое увеличение *E. coli*, что говорит о стабилизации микрофлоры на фоне приёма аутопробиотика.

Минимальное количество *E. coli* и энтеробактерий было отмечено на 90-е сутки эксперимента, а затем их число несколько увеличилось к 180-м суткам. Причём количество энтеробактерий в этот период изоляции было выше, чем количество протективной кишечной палочки.

Отдельно необходимо отметить, что после курса приёма аутопробиотиков в

конце изоляции наметившееся на 210 сутки снижение количества *E. coli* прекратилось, и количество кишечной палочки стало практически сопоставимо с фоновым уровнем, особенно на 7 сутки после выхода экипажа из гермообъекта.

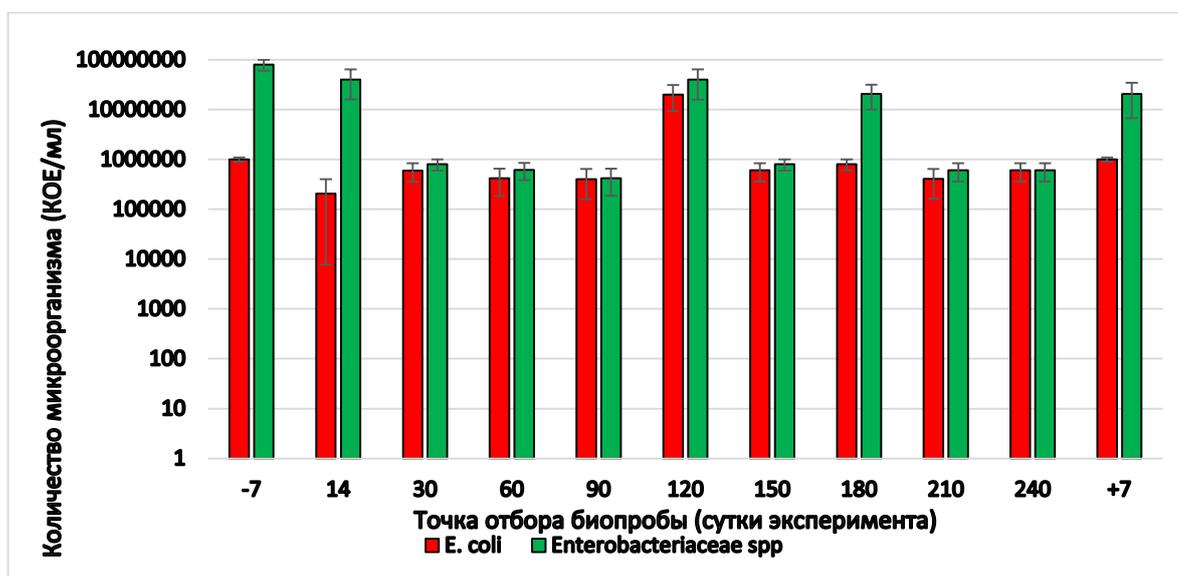


Рисунок 15 - Количество *E. coli* и *Enterobacteriaceae* spp в кишечной микрофлоре добровольцев эксперимента Сириус-21 ($p < 0,05$)

При анализе данных по гемолитическому стрептококку и лактобациллам было отмечено, что количество последних оставалось стабильно высоким в течение первых 30 суток изоляции, в то время как количество *S. haemoliticus* снизилось к 14-м суткам, вероятно, на фоне приёма аутопробиотического препарата, однако, затем возросло с последующим снижением до достаточно низкого титра в 10^3 КОЕ/мл, который держался вплоть до 150-х суток эксперимента. Приём аутопробиотического препарата на основе лактобацилл на последнем этапе изоляции также сказался на количестве данных микроорганизмов: возросшее к 210-м суткам количество гемолитического стрептококка резко снизилось в пост-изоляционный период, а вот количество протективных лактобацилл увеличилось к выходу из гермообъекта и сохранялось на высоком уровне вплоть до 7 суток после изоляции.

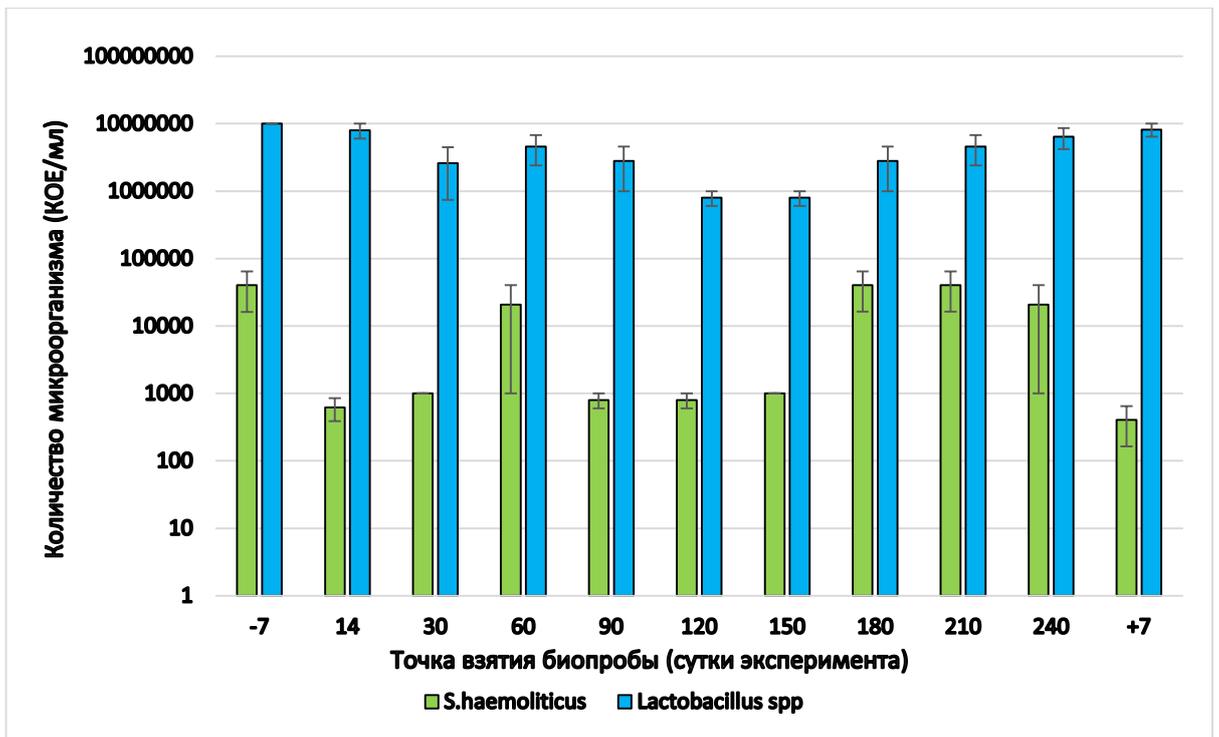


Рисунок 16 - Количество *S. haemolyticus* и *Lactobacillus* spp в кишечной микрофлоре добровольцев эксперимента Сириус-21 ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современном мире все чаще встречается понятие биологических препаратов, что говорит о перспективах использования различных продуктов природного (биологического) происхождения. В состав таких продуктов могут входить липиды, углеводы, белки, нуклеиновые кислоты и их различные вариации. Источником такого происхождения могут быть и микроорганизмы, полученные естественным путем от реципиента или же искусственным путем с помощью биотехнологии. Цели таких исследований могут быть различными, начиная с разработки, создания и применения биологических препаратов, заканчивая внедрением новых перспективных кейсов для предупреждения и лечения заболеваний.

История развития берет свое начало от таких веществ, как пребиотики, являющиеся компонентами пищи не переваривающимися и не усваивающимися в верхних отделах ЖКТ, но подвергающиеся ферментативному воздействию.

С момента своего открытия в начале 20 века пребиотики, пищевые волокна, которые способствуют росту полезных микроорганизмов в кишечнике, привлекли большое внимание и вызвали интерес у научного сообщества. Постепенно, с развитием технологий и методик исследования, их значимость и потенциал для поддержания хорошего здоровья и профилактики заболеваний стали более ясными.

Первые исследования в области пребиотиков начались в 1900-х годах, когда ученые заметили, что некоторые пищевые компоненты способствуют активному росту полезных микроорганизмов в кишечнике. Однако, на тот момент понимание о пребиотиках было ограничено и их роль в поддержании здоровья была недостаточно исследована.

В середине 20 века интерес к пребиотикам возрос, вместе с развитием понимания о значимости кишечной микрофлоры для общего здоровья. Исследователи обнаружили, что нарушение баланса полезных и вредных

микроорганизмов может привести к различным заболеваниям и к снижению иммунной функции организма. Однако, конкретные пищевые компоненты, которые могут поддерживать и укреплять полезную микрофлору, оставались загадкой.

В 1980-х годах научное сообщество, наконец, начало более осознанно изучать пребиотики и их влияние на здоровье. В результате проведенных исследований, были установлены конкретные классы пищевых волокон, которые могут служить пребиотиками, такие как инулин, фруктоолигосахариды и галактоолигосахариды. Ученые начали изучать их воздействие на кишечную микрофлору и убедительно доказывать их положительный эффект на здоровье.

С развитием технологий, методик и анализа, исследования в области пребиотиков стали более точными и специализированными. Часто проводятся клинические испытания, которые подтверждают положительное влияние пребиотиков на пищеварительную систему, иммунную функцию и общее здоровье.

Сегодня пребиотики широко применяются в пищевой промышленности, где добавка пребиотических веществ помогает поддерживать здоровье и баланс кишечной микрофлоры в продуктах. Они также популярны в сфере диетологии и функционального питания, где их использование может быть рекомендовано для поддержания здоровья и профилактики различных заболеваний.

Пребиотики играют важную роль в поддержании здоровой микрофлоры кишечника, укреплении иммунной системы, улучшении пищеварения и всего организма в целом. Регулярное потребление пребиотиков поможет улучшить ассимиляцию питательных веществ, нормализовать обмен веществ и уровень сахара в крови, а также повысить настроение и эмоциональное состояние. Источники пребиотиков можно найти в пищевых продуктах, таких как бананы, лук, чеснок, цельные злаки и некоторые виды овощей. Регулярное включение этих продуктов в рацион позволит вам получить все преимущества пребиотиков и поддержать свое здоровье на высоком уровне.

Следующим витком развития стали пробиотики - живые бактерии или

другие микроорганизмы, которые при употреблении в достаточном количестве оказывают положительное влияние на здоровье человека. Они могут помогать улучшать работу пищеварительной системы, укреплять иммунную систему, снижать воспаление, улучшать обмен веществ и другие процессы в организме. Пробиотики могут быть содержаться в некоторых продуктах питания, таких как йогурты, кефир, квашеная капуста, или быть доступными в виде добавок к пище.

Развитие исследований в области пробиотиков имеет множество направлений.

Одним из основных направлений является изучение микробиома – совокупности микроорганизмов, которые населяют наш организм, в том числе и кишечник. Исследования позволяют понять, какие микроорганизмы находятся в здоровом микробиоме, какие функции они выполняют и какие изменения происходят при различных заболеваниях. Это помогает определить, какие пробиотики могут быть эффективными для нормализации состояния микробиома и восстановления его функций.

Другим направлением исследований является изучение механизмов действия пробиотиков. Ученые ищут ответы на вопросы, какие процессы запускают пробиотики после приема в организм, как они взаимодействуют с иммунной системой, какую роль играют их метаболиты и многие другие. Это позволяет понять, какие составы и дозировки пробиотиков могут быть наиболее эффективными для решения конкретных проблем здоровья.

Кроме того, проводятся исследования по применению пробиотиков в различных областях медицины. Например, изучается возможность использования пробиотиков для профилактики и лечения различных инфекций, аллергических заболеваний, синдрома раздраженного кишечника, хронического воспалительного заболевания кишечника и других расстройств пищеварительной системы. Также ведутся исследования по применению пробиотиков в косметологии, ветеринарии и даже в сельском хозяйстве.

Важным направлением развития исследований в области пробиотиков является создание новых, более эффективных препаратов. Ученые работают над

разработкой пробиотиков с более высокой стабильностью, улучшенными механизмами доставки в нужные области организма, а также с оптимальным составом микроорганизмов для решения конкретных проблем здоровья.

В целом, исследования в области пробиотиков продолжают развиваться и позволяют углубить наше понимание о роли их в организме человека. Это открывает новые пути для применения пробиотиков в медицине и повышает их эффективность для поддержания и улучшения здоровья.

Таким образом, история исследования пробиотиков проложила путь для понимания их роли в поддержании здоровья и развитии новых пищевых продуктов. Благодаря постоянным исследованиям и усовершенствованию методов анализа, пробиотики стали неотъемлемой частью современной науки о здоровье.

Перспективные пробиотические препараты для длительных космических экспедиций должны удовлетворять нескольким критериям. Во-первых, они должны быть способны выживать и развиваться в условиях космического полета, таких как микрогравитация и радиация. Во-вторых, они должны обладать полезными свойствами для здоровья человека (членов экипажа), такими как улучшение иммунной функции, снижение риска инфекций и улучшение пищеварения. В-третьих, они должны быть безопасными и не вызывать побочных эффектов у космонавтов.

Некоторыми перспективными пробиотическими микроорганизмами являются *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* Данные бактерии могут быть выделены у операторов и способны выживать в условиях космического пространства, длительной криоконсервации, а также оказывать положительное влияние на здоровье человека. Бактерии данных родов помогают улучшать иммунную функцию, снизить риски развития дисбиозов и инфекций различного генеза, а также улучшают пищеварение. Кроме того, они безопасны для использования человеком и не вызывают побочных эффектов.

Однако, несмотря на перспективность, необходимы дополнительные исследования для подтверждения эффективности и безопасности в условиях

космических полетов. Так же необходимо разработать способы доставки пробиотиков в организм космонавтов, что бы они могли получать максимальную пользу от их применения.

Суммируя вышесказанное, можно заключить, что, во-первых, вывешивание является стрессовым фактором, вызывающим снижение количества большинства протективных видов кишечной микрофлоры являясь надежной моделью для тестирования ряда процессов, связанных с перераспределением жидкости в верхнюю часть тела, а также тестирования мер профилактики. Использование средств профилактики, предложенных в настоящей работе, достоверно нивелирует негативные изменения в кишечной микрофлоре. Так, в группе «Вывешивание+препарат КП» количество лактобацилл достоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента, что говорит о стабилизирующем действии препарата, подвергшегося воздействию отдельных факторов космического полёта, в условия вывешивания.

Пробиотический препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полёта, по эффективности близок к обычному, поскольку единственный вид микроорганизмов, количество которого снизилось к 21 суткам, - *Enterococcus faecalis*. Кроме того, на 14 сутки эубиотический индекс в группе, принимавшей препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полёта, был максимальным на тот временной период, что демонстрирует даже большую эффективность данного препарата, чем у необлучённого. При проведении исследований использовали пробиотический индекс (Ильин В.К., Усанова Н.А.). При воздействии факторов на исследуемые группы наблюдалось снижение эубиотического индекса в группах (1-4 опыт, 25-28 опыт, 17-20 опыт, 33-36 опыт, 50-53 опыт) после воздействия, однако следует заметить, что в контрольной группе и в 68-71 опыт (90 сутки после восстановления) имеется выраженная тенденция к увеличению эубиотического индекса. При анализе данных можно сделать вывод о том, что различные стресс факторы, в том числе радиационные и химические влияют на микробиоту кишечника.

Сочетанный прием как коммерческих пробиотических препаратов, так и аутологических препаратов с напитком брожения на основе сахаромицет оказал положительное влияние на состояние микрофлоры кишечника участников изоляционного эксперимента, однако прием аутопробиотических препаратов имел более выраженный и устойчивый эффект по сравнению с коммерческими штаммами. После курса приема аутопробиотических препаратов у обследуемых экспериментальной группы достоверно снизилось количество условно-патогенных групп бактерий. Аналогичного эффекта после приема препаратов, содержащих коммерческие штаммы, не наблюдалось.

В группе испытуемых в эксперименте «Эскиз», принимавшей кефир, обогащенный аутологичными штаммами *Lactobacillus spp.*, произошла стабилизация количества лактобацилл после 7 суток применения пробиотического напитка. При этом, после 7 суток приема пробиотического напитка количество энтерококков в контрольной группе было выше, чем в опытной, а количество *Bacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* – ниже, что, учитывая протективное действие *Bacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, является положительной тенденцией. Причинами увеличения количества *Bacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* в опытной группе может являться как содержание данных видов в закваске кефира, так и синергическое взаимодействие данных видов с *Lactobacillus spp.*

В результате проведенного исследования микрофлоры кишечника у участников 8-месячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21 было выявлено, что профилактический прием аутопробиотического напитка на основе лактобацилл для коррекции микрофлоры кишечника в период острой адаптации (0-14 сутки изоляции) и в конце эксперимента (перед выходом экипажа из гермообъекта) оказывало стабилизирующий благоприятный эффект на микрофлору данного биотопа. Количество лактобацилл в кишечной микрофлоре оставалось стабильно высоким на протяжении всего приема аутопробиотического напитка, эффект приема напитка, выражающийся в поддержании высокого титра лактобацилл, держался на протяжении нескольких недель после окончания

приёма напитка. Количество УПМ снижалось на фоне приёма аутопробиотического напитка, и данный эффект также держался на протяжении нескольких недель после окончания приёма.

При анализе образцов фекалий после 6-месячной криоконсервации при температуре -80 градусов было выявлено достоверное снижение количества условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) в образцах всех испытуемых. При этом количество *Lactobacillus spp.* до и после криоконсервации достоверно не отличалось. После криоконсервации было отмечено небольшое снижение количества *Bifidobacterium spp.* и *E.coli*, однако оно всё равно оставалось в пределах нижней границы физиологической нормы. Полученные данные по криоконсервации свидетельствуют о возможности применения данной технологии в длительных космических миссиях для сохранения консорциума бактерий кишечной группы для последующего использования его в целях изготовления аутопробиотических препаратов, необходимых для поддержания колонизационной резистентности кишечного биотопа. Полученные данные могут быть взяты за основу исследований по разработке средств профилактики дисбиотических нарушений при воздействии условий космического полета в пилотируемых лунных экспедициях и межпланетных миссиях на членов экипажа.

ВЫВОДЫ

1 Продукты, содержащие аутологичные культуры на основе *Lactobacillus spp.*, оказывают стабилизирующее действие на видовые и количественные характеристики микрофлоры организма человека и животных в условиях модельных экспериментов (длительная изоляция и антиорто статическое вывешивание) в достоверно большей степени, нежели с использованием коллекционных культур аналогичных родов.

2 После длительного хранения нативных образцов кала человека в условиях криогенезации аутопробиотические штаммы не ухудшают своих пробиотических свойств.

3 В условиях воздействия факторов межпланетного полета (радиация и гипомагнитная среда) пробиотические препараты не ухудшают своих пробиотических свойств.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КОЕ – колониеобразующие единицы

ЛПНП - липопротеины низкой плотности

ЛПВП - липопротеины высокой плотности

ГЗП - гермозамкнутое пространство

МКС - Международная космическая станция

HRP - Human Research Program

NASA - National Aeronautics and Space Administration

ГНЦ РФ – ИМБП РАН - Государственный научный центр Российской

Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

ГМП - геомагнитное поле

НБ – напиток брожения

Гр – Грей

ПДК - Предельно допустимая концентрация

МЧ – микробное число

ПЦР - полимеразно цепная реакция

СПИСОК ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромицет и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте ("SIRIUS-18/19") / В. К. Ильин, Н. А. Усанова, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2020. – Т. 54, № 3. – С. 49-53. – DOI 10.21687/0233-528X-2020-54-3-49-53. – EDN SSEMCV.

2. Исследование влияния изменений микрофлоры кишечника и профилактического приема пробиотиков на функциональное состояние желудка в изоляционном эксперименте Sirius-18/19 / В. К. Ильин, Б. В. Афонин, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2021. – Т. 55, № 1. – С. 70-75. – DOI 10.21687/0233-528X-2021-55-1-70-75. – EDN BZXWSI.

3. Исследование пробиотической активности аутоштаммов Lactobacillaceae, восстановленных после длительной криоконсервации в эксперименте с изоляцией / Д. В. Комиссарова, В. К. Ильин, К. А. Шеф [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 4. – С. 64-70. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-4-64-70. – EDN QUREJU.

4. Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс / В. К. Ильин, К. А. Шеф, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2024. – Т. 58, № 3. – С. 68-74. – DOI 10.21687/0233-528X-2024-58-3-68-74. – EDN SZIOOR.

5. Состав микрофлоры и состояние системы сигнальных образраспознающих рецепторов семейства Toll-подобных клеточных факторов врожденного иммунитета во время 120-суточной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания / В. К. Ильин, О. И. Орлов, М. П. Рыкова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 1.

– С. 36-45. – DOI 10.36233/0372-9311-95. – EDN FUZZIR.

6. Гостевые наборы национальных продуктов при полетах международных экипажей на орбитальной станции "Мир" и международной космической станции / А. Н. Агуреев, К. А. Шеф, М. С. Белаковский, Е. А. Васильева // Воздушно-космическая сфера. – 2022. – № 1(110). – С. 58-65. – DOI 10.30981/2587-7992-2022-110-1-58-65. – EDN FWSADT.

Тезисы докладов

1. Космическое питание. Гостевые наборы национальных продуктов / Шеф К.А. // Материалы XLVI Общественно-научных чтений, посвящённых памяти Ю. А. Гагарина (Часть I), Гагарин: БФ Мемориального музея Ю.А. Гагарина, 2019, С 388-399.

2. Требования к разработке рационов для питания космонавтов / Шеф К.А. // XVIII Конференция молодых учёных, специалистов и студентов, посвящённая 50-летию высадки человека на Луну Материалы конференции. — М.: Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медикобиологических проблем Российской академии наук, 2019. — 54 с.

3. Перспективы создания рационов питания для экипажей межпланетных космических кораблей с продуктами ЭЦ "М-Конс-1" Мичуринска-наукограда РФ / Агуреев А.Н., Макаров В.Н., Акимов М.Ю., Влазнева Л.Н., Шеф К.А.// Развитие производственного и научного потенциала отрасли садоводства и питомниководства в Российской Федерации: Материалы научно-практической конференции, Мичуринск, 12–14 сентября 2019 года. – Мичуринск: Мичуринск-наукоград РФ, 2019. – С. 279-282. – EDN TLSMJJ.

4. Подход к индивидуализации рационов питания участников длительных изоляционных экспериментов / Савинкина А.О., Шеф К.А., Гушин В.И., Поддубко С.В., Агуреев А.Н. // Пилотируемые полеты в космос: Материалы XIII Международной научно-практической конференции, Звездный городок, 13–15 ноября 2019 года. – Звездный городок: Федеральное государственное

бюджетное учреждение «Научно-исследовательский испытательный центр подготовки космонавтов имени Ю.А. Гагарина», 2019. – С. 349-351. – EDN VJXLIV.

5. Изменения микрофлоры испытателей в период острой адаптации в условиях изоляции и методы коррекции потенциальных дисбактериозов / Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Усанова Н.А., Морозова Ю.А., Старкова Л.В., Шеф К.А. // Научное значение трудов К.Э. Циолковского: история и современность: материалы 55-х Научных чтений памяти К.Э. Циолковского, Калуга, 15–17 сентября 2020 года. Том Часть 1. – Калуга: Эйдос, 2020. – С. 311-313. – EDN HIOWSM.

6. Оценка рационов питания и пищевого статуса Российских членов экипажей в процессе полетов на МКС / Агуреев А.Н., Шеф К.А. // Материалы XLVII Общественно-научных чтений, посвящённых памяти Ю. А. Гагарина (Часть I), Гагарин: БФ Мемориального музея Ю.А. Гагарина, 2020, С 254-266.

7. Study of the effect of a radiation-chemical factor on the intestinal microbiome of rats / Shef K.A., Ilyin V.K., Usanova N.A., Barantseva M.Yu. // Авиакосмическая и экологическая медицина = Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and environmental medicine: научный периодический журнал. 2021, Т. 55, № 1/1: special issue., 2021. — P. 124.

8. Solving nutrition problems in interplanetary space flights / Agureev A.N., Shef K.A. // Авиакосмическая и экологическая медицина = Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and environmental medicine: научный периодический журнал. 2021, Т. 55, № 1/1: special issue., 2021. — P. 6-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Horneck G., Klaus D.M., Mancinelli R.L. Space Microbiology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010. Vol. 74, № 1. P. 121–156.
2. Cowen D., Zhang R., Komorowski M. Infections in long-duration space missions // *Lancet Microbe.* 2024. Vol. 5, № 9. P. 100875.
3. Checinska Sielaff A. et al. Characterization of the total and viable bacterial and fungal communities associated with the International Space Station surfaces // *Microbiome.* 2019. Vol. 7, № 1. P. 50.
4. Лизько Н.Н., Гончарова Г.И., Семенова Л.П. Коррекция микроэкологии кишечника у лиц в экстремальных условиях // Тезисы Доклада VII Всесоюзной конференции по проблемам космической биологии и медицины, Калуга, 1986. М.: Наука, С. 88-89.
5. Лизько Н.Н. Проблемы микробной экологии у человека в космическом полёте // Тезисы докладов 6 Всероссийского съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов г. Нижний Новгород – 1991. Т. 2. с. 107.
6. Поликарпов Н.А. Условно-патогенные энтеробактерии как возможные возбудители различных инфекционных процессов у экипажей космических кораблей. // Москва: Автореф. Дисс. канд. Биол. наук, 1982.
7. Viktorov A.N., Ilyin V.K. MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF THE ENVIRONMENT OF DEEP SEA HABITATS // *Космическая биология и авиакосмическая медицина.* 1991. Vol. 25, № 6. P. 17.
8. Taylor G.R. Space Microbiology // *Annu. Rev. Microbiol.* 1974. Vol. 28, № 1. P. 121–137.
9. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics // *J. Nutr.* 1995. Vol. 125, № 6. P. 1401–1412.

10. Borshchev Yu.Yu. et al. Effects of *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06 probiotic strain on the size of myocardial infarction in Wistar rats with systemic inflammatory response syndrome // *Med. Immunol. Russ.* 2023. Vol. 26, № 1. P. 127–134.
11. Просяников М.Ю. et al. Микробиом кишечника: от эталона нормы к патологии. // *Вопросы питания*, 2020.
12. Ильин В.К., Воложин Г.В., Виха Г.В. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания. // Москва : Наука, 2005. 280 p.
13. Ermolenko E.I. et al. Gut microbiota in the combined treatment of colorectal cancer using autoprobiotics // *Exp. Clin. Gastroenterol.* 2024. № 10. P. 63–76.
14. Ilyin V.K. et al. AUTOCHTHONOUS PROBIOTICS IN PREVENTION OF INFECTIOUS AND INFLAMMATORY DISEASES OF A HUMAN IN THE ALTERED HABITATS // *Ann. Russ. Acad. Med. Sci.* 2013. Vol. 68, № 2. P. 56–62.
15. Van Der Waaij D. Colonization resistance of the digestive tract — Mechanism and clinical consequences // *Food Nahr.* 1987. Vol. 31, № 5–6. P. 507–517.
16. Sekirov I. et al. Gut Microbiota in Health and Disease // *Physiol. Rev.* 2010. Vol. 90, № 3. P. 859–904.
17. Zhang X. et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment // *Nat. Med.* 2015. Vol. 21, № 8. P. 895–905.
18. Artemev I.A. et al. Use of autoprobiotics in the complex therapy of axial spondyloarthritis // *Russ. J. Pers. Med.* 2023. Vol. 3, № 1. P. 80–97.
19. Zielińska D., Kolożyn-Krajewska D. Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review // *BioMed Res. Int.* 2018. Vol. 2018. P. 1–15.
20. Bunešová V. et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis strains isolated from dog faeces // *Vet. Microbiol.* 2012. Vol. 160, № 3–4. P. 501–505.

21. Monteagudo-Mera A. et al. In vitro evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin // *J. Funct. Foods*. 2012. Vol. 4, № 2. P. 531–541.
22. Markowiak P., Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition // *Gut Pathog.* 2018. Vol. 10, № 1. P. 21.
23. Klein G. et al. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria // *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 41, № 2. P. 103–125.
24. Vijaya Kumar B., Vijayendra S.V.N., Reddy O.V.S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review // *J. Food Sci. Technol.* 2015. Vol. 52, № 10. P. 6112–6124.
25. Gaglio R. et al. Evaluation of antimicrobial resistance and virulence of enterococci from equipment surfaces, raw materials, and traditional cheeses // *Int. J. Food Microbiol.* 2016. Vol. 236. P. 107–114.
26. Zhou J.S. et al. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice // *Int. J. Food Microbiol.* 2000. Vol. 56, № 1. P. 87–96.
27. Ermolenko E.I. et al. Probiotics and Autoprobiotics in the Treatment of Experimental Vaginitis // *Antibiot. Chemother.* 2023. Vol. 67, № 11–12. P. 29–35.
28. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut // *Am. J. Clin. Nutr.* 2001. Vol. 73, № 2. P. 399s–405s.
29. Papadimitriou K. et al. Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016. Vol. 80, № 3. P. 837–890.
30. Choi H.J. et al. Comparative Genomic and Functional Evaluations of *Bacillus subtilis* Newly Isolated from Korean Traditional Fermented Foods // *Foods*. 2020. Vol. 9, № 12. P. 1805.

31. Kavita S. et al. Lactobacillus gastricus BTM 7 prevents intestinal colonization by biofilm forming Cronobacter sakazakii in Caenorhabditis elegans model host // Antonie Van Leeuwenhoek. 2020. Vol. 113, № 11. P. 1587–1600.
32. Arani M.M. et al. The effect of Pediococcus acidilactici on mucosal immune responses, growth, and reproductive performance in zebrafish (Danio rerio) // Fish Physiol. Biochem. 2021. Vol. 47, № 1. P. 153–162.
33. Laomongkholchaisri P. et al. Impact of Potential Probiotic Lactobacillus Strains on Host Growth and Development in a Drosophila melanogaster Model // Probiotics Antimicrob. Proteins. 2021. Vol. 13, № 2. P. 390–397.
34. Poinso P. et al. Probiotic from human breast milk, Lactobacillus fermentum, promotes growth in animal model of chronic malnutrition // Pediatr. Res. 2020. Vol. 88, № 3. P. 374–381.
35. Papadimitriou K. et al. Discovering probiotic microorganisms: in vitro, in vivo, genetic and omics approaches // Front. Microbiol. 2015. Vol. 6.
36. Lee C.S. et al. Prophylactic use of probiotic chocolate modulates intestinal physiological functions in constipated rats // J. Sci. Food Agric. 2019. Vol. 99, № 6. P. 3045–3056.
37. Mohammedsaeed W. et al. Lactobacillus rhamnosus GG Lysate Increases Re-Epithelialization of Keratinocyte Scratch Assays by Promoting Migration // Sci. Rep. 2015. Vol. 5, № 1. P. 16147.
38. Tagliari E. et al. EFFECT OF PROBIOTIC ORAL ADMINISTRATION ON SKIN WOUND HEALING IN RATS // ABCD Arq. Bras. Cir. Dig. São Paulo. 2019. Vol. 32, № 3. P. e1457.
39. Fontana L. et al. Bifidobacterium breve CNCM I-4035, Lactobacillus paracasei CNCM I-4034 and Lactobacillus rhamnosus CNCM I-4036 Modulate Macrophage Gene Expression and Ameliorate Damage Markers in the Liver of Zucker-Leprfa/fa

Rats // *Nutrients*. 2021. Vol. 13, № 1. P. 202.

40. Lim P.S. et al. Cholesterol homeostasis associated with probiotic supplementation *in vivo* // *J. Appl. Microbiol.* 2020. Vol. 129, № 5. P. 1374–1388.

41. Wang Y.-N. et al. Effects of probiotics and prebiotics on intestinal microbiota in mice with acute colitis based on 16S rRNA gene sequencing // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2019. Vol. 132, № 15. P. 1833–1842.

42. Zeng Z. et al. Ameliorative Effects of Probiotic *Lactobacillus paracasei* NL41 on Insulin Sensitivity, Oxidative Stress, and Beta-Cell Function in a Type 2 Diabetes Mellitus Rat Model // *Mol. Nutr. Food Res.* 2019. Vol. 63, № 22. P. 1900457.

43. Khedkar C.D., Kalyankar S.D., Deosarkar S.S. Fermented Foods: Fermented Milks // *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 2016. P. 661–667.

44. Codex Alimentarius. Standard for fermented milks: Geneva: Codex Alimentarius International Food Standards.: CXS 243-2003. 2018.

45. Khorshidian N., Yousefi M., Mortazavian A.M. Fermented milk: The most popular probiotic food carrier // *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier, 2020. Vol. 94. P. 91–114.

46. El-Kholy A.M. et al. Screening of Antagonistic Activity of Probiotic Bacteria against Some Food-Borne Pathogens // *J. Appl. Environ. Microbiol. Science and Education Publishing*, 2014. Vol. 2, № 2. P. 53–60.

47. Kamal R.M. et al. Bio-controlling capability of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* against some common foodborne pathogens in yoghurt // *Int. Dairy J.* 2018. Vol. 85. P. 1–7.

48. Игнатова Н.И. et al. ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА И ВЫРАЖЕННОСТИ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИТОВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* M-17. // *Проблемы медицинской микологии*, 2022.

49. De Oliveira M.N. FERMENTED MILKS | Fermented Milks and Yogurt // Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, 2014. P. 908–922.
50. Leis R. et al. Effects of Prebiotic and Probiotic Supplementation on Lactase Deficiency and Lactose Intolerance: A Systematic Review of Controlled Trials // Nutrients. 2020. Vol. 12, № 5. P. 1487.
51. Oak S.J., Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2019. Vol. 59, № 11. P. 1675–1683.
52. Muganga L. et al. Screening for lactic acid bacteria based on antihyperglycaemic and probiotic potential and application in synbiotic set yoghurt // J. Funct. Foods. 2015. Vol. 16. P. 125–136.
53. Oliveira M.E.G.D. et al. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria // Sci. Agric. 2012. Vol. 69, № 6. P. 370–379.
54. Mousavi Khaneghah A. et al. Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review // Trends Food Sci. Technol. 2020. Vol. 95. P. 205–218.
55. Kiselnikova L.P. et al. Microbiocenosis of the oral cavity of children: clinical and microbiological characteristics and correction with probiotics based on salivary streptococci // Клиническая Стоматология. 2021. Vol. 24, № 4. P. 24–29.
56. Rolim F.R.L. et al. Cheeses as food matrixes for probiotics: In vitro and in vivo tests // Trends Food Sci. Technol. 2020. Vol. 100. P. 138–154.
57. Castro J.M. et al. Biocheese: A Food Probiotic Carrier // BioMed Res. Int. 2015. Vol. 2015. P. 1–11.
58. Martinez R.C.R. et al. Bacteriocin production and inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in a potentially synbiotic cheese spread // Food Microbiol. 2015. Vol. 48. P. 143–152.

59. Companys J. et al. Fermented Dairy Products, Probiotic Supplementation, and Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review and Meta-analysis // *Adv. Nutr.* 2020. Vol. 11, № 4. P. 834–863.
60. Zhang L. et al. Manufacture of Cheddar cheese using probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 and its cholesterol-lowering effects in a mice model // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2013. Vol. 29, № 1. P. 127–135.
61. Miyazima T. et al. Cheese supplemented with probiotics reduced the *Candida* levels in denture wearers— RCT // *Oral Dis.* 2017. Vol. 23, № 7. P. 919–925.
62. Rodrigues R. et al. *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in goat milk matrix modulates intestinal inflammation involving NF- κ B p65 and SOCs-1 in an acid-induced colitis model // *J. Funct. Foods.* 2018. Vol. 50. P. 78–92.
63. Nespolo C.R. et al. Comparison of Fascal cheese produced with natural, commercial or autochthonous cultures // *Int. J. Dairy Technol.* 2010. Vol. 63, № 3. P. 387–395.
64. Meira S.M.M. et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese // *J. Dairy Res.* 2012. Vol. 79, № 1. P. 119–127.
65. Hanchi H. et al. The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns—An Update // *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 1791.
66. Pieniz S. et al. Assessment of Beneficial Properties of *Enterococcus* Strains: Assessment of Beneficial Properties of *Enterococcus* // *J. Food Process. Preserv.* 2014. Vol. 38, № 2. P. 665–675.
67. Ahmadova A. et al. Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese // *Food Control.* 2013. Vol. 30, № 2. P. 631–641.
68. Baccouri O. et al. Probiotic Potential and Safety Evaluation of *Enterococcus faecalis* OB14 and OB15, Isolated From Traditional Tunisian Testouri Cheese and

Rigouta, Using Physiological and Genomic Analysis // Front. Microbiol. 2019. Vol. 10. P. 881.

69. Yerlikaya O. Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks // Food Sci. Technol. Camp. 2014. Vol. 34, № 2. P. 221–229.

70. Sato J. et al. Probiotic reduces bacterial translocation in type 2 diabetes mellitus: A randomised controlled study // Sci. Rep. 2017. Vol. 7, № 1. P. 12115.

71. Turkmen N. Kefir as a Functional Dairy Product // Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan. Elsevier, 2017. P. 373–383.

72. Vieira C.P. et al. Lactococcus lactis ssp. cremoris MRS47, a potential probiotic strain isolated from kefir grains, increases cis-9, trans-11-CLA and PUFA contents in fermented milk // J. Funct. Foods. 2017. Vol. 31. P. 172–178.

73. Bengoa A.A. et al. Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk // J. Appl. Microbiol. 2019. Vol. 126, № 3. P. 686–700.

74. Jeong D. et al. Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by Lactobacillus kefirianofaciens DN1 isolated from kefir // Food Control. 2017. Vol. 78. P. 436–442.

75. Rosa D.D. et al. Milk *kefir*: nutritional, microbiological and health benefits // Nutr. Res. Rev. 2017. Vol. 30, № 1. P. 82–96.

76. Łopusiewicz Ł. et al. Development, Characterization, and Bioactivity of Non-Dairy Kefir-Like Fermented Beverage Based on Flaxseed Oil Cake // Foods. 2019. Vol. 8, № 11. P. 544.

77. Hsu Y.-J. et al. Kefir Supplementation Modifies Gut Microbiota Composition, Reduces Physical Fatigue, and Improves Exercise Performance in Mice // Nutrients. 2018. Vol. 10, № 7. P. 862.

78. Chen Y.P. et al. *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo // *J. Dairy Sci.* 2012. Vol. 95, № 1. P. 63–74.
79. Leite A.M.O. et al. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains // *J. Dairy Sci.* 2015. Vol. 98, № 6. P. 3622–3632.
80. Barreto Í.M.L.G. et al. Equine milk and its potential use in the human diet // *Food Sci. Technol.* 2019. Vol. 39, № suppl 1. P. 1–7.
81. Guo L. et al. Study of bacterial and fungal community structures in traditional koumiss from Inner Mongolia // *J. Dairy Sci.* 2019. Vol. 102, № 3. P. 1972–1984.
82. Li C. et al. Koumiss consumption induced changes in the fecal metabolomes of chronic atrophic gastritis patients // *J. Funct. Foods.* 2019. Vol. 62. P. 103522.
83. Barukčić I., Jakopović K.L., Božanić R. Whey and Buttermilk—Neglected Sources of Valuable Beverages // *Natural Beverages.* Elsevier, 2019. P. 209–242.
84. Cordeiro M.A. et al. Fermented whey dairy beverage offers protection against *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium infection in mice // *J. Dairy Sci.* 2019. Vol. 102, № 8. P. 6756–6765.
85. Shraddha Rc C.R., Nalawade T K.A. Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications // *J. Food Process. Technol.* 2015. Vol. 6, № 10.
86. Lee J. et al. Effects of probiotic yoghurt on symptoms and intestinal microbiota in patients with irritable bowel syndrome // *Int. J. Dairy Technol.* 2013. Vol. 66, № 2. P. 243–255.
87. Hungin A.P.S. et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice - an evidence-based international guide // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2013. Vol. 38, № 8. P. 864–886.

88. Huang S. et al. Propionic fermentation by the probiotic *Propionibacterium freudenreichii* to functionalize whey // *J. Funct. Foods*. 2019. Vol. 52. P. 620–628.
89. Skryplonek K., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A. Probiotic fermented beverages based on acid whey // *J. Dairy Sci*. 2019. Vol. 102, № 9. P. 7773–7780.
90. Tripathi M.K., Giri S.K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage // *J. Funct. Foods*. 2014. Vol. 9. P. 225–241.
91. Rodas B.A. et al. Preparation of probiotic buttermilk with *Lactobacillus reuteri* // *Milchwissenschaft*. 2002. Vol. 57. P. 26–28.
92. Antunes A.E.C. et al. Probiotic buttermilk-like fermented milk product development in a semiindustrial scale: Physicochemical, microbiological and sensory acceptability // *Int. J. Dairy Technol*. 2009. Vol. 62, № 4. P. 556–563.
93. Antunes A.E.C. et al. Desenvolvimento de buttermilk probiótico // *Ciênc. E Tecnol. Aliment*. 2007. Vol. 27, № 1. P. 83–90.
94. Nighswonger B.D., Brashears M.M., Gilliland S.E. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in Fermented Milk Products During Refrigerated Storage // *J. Dairy Sci*. 1996. Vol. 79, № 2. P. 212–219.
95. Cruz A.G. et al. Ice-cream as a probiotic food carrier // *Food Res. Int*. 2009. Vol. 42, № 9. P. 1233–1239.
96. Sanders M.E., Marco M.L. Food Formats for Effective Delivery of Probiotics // *Annu. Rev. Food Sci. Technol*. 2010. Vol. 1, № 1. P. 65–85.
97. Senanayake S.A. et al. Application of *Lactobacillus acidophilus* (LA 5) strain in fruit-based ice cream // *Food Sci. Nutr*. 2013. Vol. 1, № 6. P. 428–431.
98. Stanton C. et al. Challenges Facing Development of Probiotic-Containing Functional Foods // *Handbook of Fermented Functional Foods* / ed. Farnworth E. CRC Press, 2003. Vol. 20034675. P. 27–58.

99. Costa M.G.M. et al. Synbiotic Amazonian palm berry (açai, *Euterpe oleracea* Mart.) ice cream improved *Lactobacillus rhamnosus* GG survival to simulated gastrointestinal stress // *Food Funct.* 2017. Vol. 8, № 2. P. 731–740.
100. Homayouni A. et al. Growth and Survival of Some Probiotic Strains in Simulated Ice Cream Conditions // *J. Appl. Sci.* 2008. Vol. 8, № 2. P. 379–382.
101. Takahashi N. et al. H⁺-ATPase in the acid tolerance of *Bifidobacterium longum* // *Milchwissenschaft.* 2007. Vol. 62. P. 151–153.
102. Collado M.C., Sanz Y. Induction of acid resistance in *Bifidobacterium*: a mechanism for improving desirable traits of potentially probiotic strains // *J. Appl. Microbiol.* 2007. Vol. 103, № 4. P. 1147–1157.
103. Sanz Y. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: A way of selecting improved probiotic strains // *Int. Dairy J.* 2007. Vol. 17, № 11. P. 1284–1289.
104. Afzaal M. et al. RETRACTED: Survival and stability of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated gastrointestinal conditions and in ice cream // *Food Sci. Nutr.* 2020. Vol. 8, № 3. P. 1649–1656.
105. Kataria A., Achi S.C., Halami P.M. Effect of Encapsulation on Viability of *Bifidobacterium longum* CFR815j and Physiochemical Properties of Ice Cream // *Indian J. Microbiol.* 2018. Vol. 58, № 2. P. 248–251.
106. Villalva F.J. et al. Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food // *Food Sci. Technol.* 2017. Vol. 37, № 3. P. 456–461.
107. Vasiee A. et al. Oral Immunotherapy Using Probiotic Ice Cream Containing Recombinant Food-Grade *Lactococcus lactis* Which Inhibited Allergic Responses in a BALB/c Mouse Model // *J. Immunol. Res.* 2020. Vol. 2020. P. 1–12.
108. Chichlowski M. et al. *Bifidobacteria* Isolated From Infants and Cultured on Human Milk Oligosaccharides Affect Intestinal Epithelial Function // *J. Pediatr.*

Gastroenterol. Nutr. 2012. Vol. 55, № 3. P. 321–327.

109. Mugambi M.N. et al. Synbiotics, probiotics or prebiotics in infant formula for full term infants: a systematic review // Nutr. J. 2012. Vol. 11, № 1. P. 81.

110. Stewart C.J. et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study // Nature. 2018. Vol. 562, № 7728. P. 583–588.

111. Tanaka M., Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life // Allergol. Int. 2017. Vol. 66, № 4. P. 515–522.

112. Granato D. et al. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2010. Vol. 9, № 3. P. 292–302.

113. Hilde Boschloo. Probiotics From patent to consumer product - a dairy case-. // Wageningen, Netherlands: Wageningen University, 2011. 58 p.

114. Magro D.O. et al. Effect of yogurt containing polydextrose, Lactobacillus acidophilus NCFM and Bifidobacterium lactis HN019: a randomized, double-blind, controlled study in chronic constipation // Nutr. J. 2014. Vol. 13, № 1. P. 75.

115. Taipale T.J. et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 in reducing the risk of infections in early childhood // Pediatr. Res. 2016. Vol. 79, № 1. P. 65–69.

116. Sachdeva A., Nagpal J. Effect of fermented milk-based probiotic preparations on Helicobacter pylori eradication: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials: // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2009. Vol. 21, № 1. P. 45–53.

117. Воропаева Л.С. et al. МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ. // Санкт-Петербург, Россия: ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ, 2022. Vol. 24. P. 54.

118. Miller L.E. Probiotic supplementation decreases intestinal transit time: Meta-

analysis of randomized controlled trials // *World J. Gastroenterol.* 2013. Vol. 19, № 29. P. 4718.

119. Barker A.K. et al. A randomized controlled trial of probiotics for *Clostridium difficile* infection in adults (PICO) // *J. Antimicrob. Chemother.* 2017. Vol. 72, № 11. P. 3177–3180.

120. Davidson L.E. et al. *Lactobacillus GG* as an immune adjuvant for live-attenuated influenza vaccine in healthy adults: a randomized double-blind placebo-controlled trial // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 65, № 4. P. 501–507.

121. Sun J. et al. The nutrient requirements of *Lactobacillus rhamnosus GG* and their application to fermented milk // *J. Dairy Sci.* 2019. Vol. 102, № 7. P. 5971–5978.

122. Trachootham D. et al. Drinking fermented milk containing *Lactobacillus paracasei* 431 (IMULUS™) improves immune response against H1N1 and cross-reactive H3N2 viruses after influenza vaccination: A pilot randomized triple-blinded placebo controlled trial // *J. Funct. Foods.* 2017. Vol. 33. P. 1–10.

123. Cousin F.J. et al. Milk Fermented by *Propionibacterium freudenreichii* Induces Apoptosis of HGT-1 Human Gastric Cancer Cells // *PLoS ONE* / ed. Belkhiri A. 2012. Vol. 7, № 3. P. e31892.

124. Zhang K. et al. Fermented dairy foods intake and risk of cancer // *Int. J. Cancer.* 2019. Vol. 144, № 9. P. 2099–2108.

125. Ilyin V.K. et al. FACTORS OF THE MICROBIOLOGICAL RISK AND SUBSTANTIATION OF THE APPROACHES TO INFECTION PREVENTION AND CONTROL FOR CREWS IN SPACE EXPLORATION MISSIONS AND ON LUNAR BASES // *Aerosp. Environ. Med.* 2018. Vol. 52, № 6. P. 7–18.

126. Ilyin V.K. et al. SUBSTANTIATION OF DEVELOPMENT AND USE OF PROBIOTIC AGENTS PREVENTING PHARYNGO-ORAL INFLAMMATORY DISEASES OF HUMANS IN ARTIFICIAL ENVIRONMENTS // *Aerosp. Environ.*

Med. 2019. Vol. 53, № 4. P. 47–52.

127. Лизько Н.Н. Дисбактериозы экстремальных состояний // Антибиотики и мед. биотехнология. 1987. Vol. 32, № 3. P. 184–186.

128. Соловьева И.В. et al. Микробиота кишечника человека в норме и при патологических состояниях. // Микробиологическая диагностика дисбиозов. 2022. Нижний Новгород, 2022. 244 p.

129. Taylor G.R. Space Microbiology // Annu. Rev. Microbiol. 1974. Vol. 28, № 1. P. 121–137.

130. Ilyin V.K., Kiryukhina N.V. Disruption of the Colonization Resistance Syndrome in Humans in Altered Habitats and Its Prevention // Acta Naturae. 2014. Vol. 6, № 2. P. 10–18.

131. Мухамедиева Л.Н., Богомолов В.В. ХАРАКТЕРИСТИКА ТОКСИЧЕСКИХ РИСКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ХИМИЧЕСКИМИ ПРИМЕСЯМИ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ ПИЛОТИРУЕМЫХ ОРБИТАЛЬНЫХ СТАНЦИЙ. // АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА. Москва, 2009. P. 17–23.

132. Нетрусов А.И. et al. Практикум по микробиологии. // Москва: Издательский центр “Академия,” 2005. 608 p.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Референсные значения при диагностике дисбактериоза

Вид микроорганизмов	Результат, КОЕ/г		
	< 1 года	1–60 лет	> 60
Бифидобактерии (<i>Bifidobacterium</i>)	10^{10} – 10^{11}	10^9 – 10^{10}	10^8 – 10^9
Лактобактерии (<i>Lactobacillus</i>)	10^6 – 10^7	10^7 – 10^8	10^6 – 10^7
Энтерококки (<i>Enterococcus</i>)	10^5 – 10^7	10^5 – 10^8	10^6 – 10^7
Клостридии (<i>Clostridium</i>)	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$
Кишечные палочки (<i>E.coli</i>) типичные	10^7 – 10^8	10^7 – 10^8	10^7 – 10^8
<i>E.coli</i> лактозонегативные	$< 10^5$	$< 10^5$	$< 10^5$
<i>E.coli</i> гемолитические	0	0	0
Другие условно-патогенные энтеробактерии: клебсиелла (<i>Klebsiella</i>), протей (<i>Proteus</i>), морганелла (<i>Morganella</i>), цитробактер (<i>Citrobacter</i>), серрация (<i>Serratia</i>)	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$
Золотистый стафилококк (<i>Staphylococcus aureus</i>)	0	0	0
Стафилококки сапрофитный (<i>Staphylococcus saprophyticus</i>) и эпидермальный (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода кандиды (<i>Candida</i>)	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Патогенные микроорганизмы: сальмонелла (<i>Salmonella</i>), шигелла (<i>Shigella</i>)	0	0	0
Неферментирующие бактерии: ацинетобактер (<i>Acinetobacter</i>), псевдомонада (<i>Pseudomonas</i>)	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$

Оценка изменения видового и количественного состава микрофлоры кишечника после 21-суточного антиорто статического вывешивания с применением пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета, пробиотического средства и без, действия пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета на скорость восстановления негативных изменений, вызванных опорной разгрузкой

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl1 0 сутки	Contr/pl1 +7 сутки	Contr/pl1 +14 сутки	Contr/pl1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 1 0 сутки	HIS/pl 1 +7 сутки	HIS/pl 1 +14 сутки	HIS/pl 1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	нет роста	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	нет роста	10 ⁷	10 ⁶

<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr1 0 сутки	Contr/pr1 +7 сутки	Contr/pr1 +14 сутки	Contr/pr1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 1 0 сутки	HIS/pr 1 +7 сутки	HIS/pr 1 +14 сутки	HIS/pr 1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr*	Contr/pr* 1 0 сутки	Contr/pr* 1 +7 сутки	Contr/pr* 1 +14 сутки	Contr/pr* 1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	нет роста	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 1 0 сутки	HIS/pr* 1 +7 сутки	HIS/pr* 1 +14 сутки	HIS/pr* 1 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl 2 0 сутки	Contr/pl 2 +7 сутки	Contr/pl2 +14 сутки	Contr/pl2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 2 0 сутки	HIS/pl 2 +7 сутки	HIS/pl 2 +14 сутки	HIS/pl 2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	нет роста	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	нет роста	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr 2 0 сутки	Contr/pr 2 +7 сутки	Contr/pr 2 +14 сутки	Contr/pr 2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷

<i>Lactobacillus spp.</i>	нет роста	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 2 0 сутки	HIS/pr 2 +7 сутки	HIS/pr 2 +14 сутки	HIS/pr 2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	нет роста	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr	Contr/pr* 2 0 сутки	Contr/pr* 2 +7 сутки	Contr/pr* 2 +14 сутки	Contr/pr* 2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	нет роста	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁶
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶

(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 2 0 сутки	HIS/pr* 2 +7 сутки	HIS/pr* 2 +14 сутки	HIS/pr* 2 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl3 0 сутки	Contr/pl3 +7 сутки	Contr/pl3 +14 сутки	Contr/pl3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 3 0 сутки	HIS/pl 3 +7 сутки	HIS/pl 3 +14 сутки	HIS/pl 3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	нет роста	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr 3 0 сутки	Contr/pr 3 +7 сутки	Contr/pr 3 +14 сутки	Contr/pr 3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶

<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 3 0 сутки	HIS/pr 3 +7 сутки	HIS/pr 3 +14 сутки	HIS/pr 3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	нет роста	10 ⁴	нет роста	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr	Contr/pr* 3 0 сутки	Contr/pr* 3 +7 сутки	Contr/pr* 3 +14 сутки	Contr/pr* 3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	нет роста	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	нет роста	нет роста	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶

<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 3 0 сутки	HIS/pr* 3 +7 сутки	HIS/pr* 3 +14 сутки	HIS/pr* 3 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl4 0 сутки	Contr/pl4 +7 сутки	Contr/pl4 +14 сутки	Contr/pl4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Lactobacillus spp.</i>	нет роста	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 4 0 сутки	HIS/pl 4 +7 сутки	HIS/pl 4 +14 сутки	HIS/pl 4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr 4 0 сутки	Contr/pr 4 +7 сутки	Contr/pr 4 +14 сутки	Contr/pr 4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶

<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 4 0 сутки	HIS/pr 4 +7 сутки	HIS/pr 4 +14 сутки	HIS/pr 4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	нет роста
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁶
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr	Contr/pr* 4 0 сутки	Contr/pr* 4 +7 сутки	Contr/pr* 4 +14 сутки	Contr/pr* 4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	нет роста
<i>E. coli</i>	10 ⁴	нет роста	нет роста	10 ⁴

<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	нет роста	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 4 0 сутки	HIS/pr* 4 +7 сутки	HIS/pr* 4 +14 сутки	HIS/pr* 4 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	нет роста	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl5 0 сутки	Contr/pl5 +7 сутки	Contr/pl5 +14 сутки	Contr/pl5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	нет роста	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 5 0 сутки	HIS/pl 5 +7 сутки	HIS/pl 5 +14 сутки	HIS/pl 5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr 5 0 сутки	Contr/pr 5 +7 сутки	Contr/pr 5 +14 сутки	Contr/pr 5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶

<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 5 0 сутки	HIS/pr 5 +7 сутки	HIS/pr 5 +14 сутки	HIS/pr 5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr	Contr/pr* 5 0 сутки	Contr/pr* 5 +7 сутки	Contr/pr* 5 +14 сутки	Contr/pr* 5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷

<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 5 0 сутки	HIS/pr* 5 +7 сутки	HIS/pr* 5 +14 сутки	HIS/pr* 5 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	нет роста
<i>E. coli</i>	10 ⁶	нет роста	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

(контроль+ плацебо) Contr/pl	Contr/pl6 0 сутки	Contr/pl6 +7 сутки	Contr/pl6 +14 сутки	Contr/pl6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp</i>	нет роста	10 ⁶	нет роста	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ²	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴
(вывешивание+ плацебо) HIS/pl	HIS/pl 6 0 сутки	HIS/pl 6 +7 сутки	HIS/pl 6 +14 сутки	HIS/pl 6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
(контроль+ препарат) Contr/pr	Contr/pr 6 0 сутки	Contr/pr 6 +7 сутки	Contr/pr 6 +14 сутки	Contr/pr 6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴

<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат) HIS/pr	HIS/pr 6 0 сутки	HIS/pr 6 +7 сутки	HIS/pr 6 +14 сутки	HIS/pr 6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	нет роста	нет роста	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
(контроль+ препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) Contr/pr	Contr/pr* 6 0 сутки	Contr/pr* 6 +7 сутки	Contr/pr* 6 +14 сутки	Contr/pr* 6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶

<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
(вывешивание + препарат, подвергнутый условиям КП (ГМУ+ПРОТОНЫ)) HIS/pr*	HIS/pr* 6 0 сутки	HIS/pr* 6 +7 сутки	HIS/pr* 6 +14 сутки	HIS/pr* 6 +21 сутки
<i>Streptococcus spp.</i>	нет роста	нет роста	10 ⁶	10 ⁶
<i>E. coli</i>	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁴
<i>Bifidum spp.</i>	нет роста	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴

Результаты анализа биоматериала кишечной микрофлоры в исследовании эффективности сочетанного использования напитков брожения на основе сахаромецета, пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)

№ 1901									
	норма	Фон 30.01.2 019	Фон 25.02.20 19	15 сутки	30 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки	+7 сутки
<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	-	10 ⁶				
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶	-	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸
<i>Enterococcus spp.</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸				
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	-	10 ³	-	10 ⁵	10 ⁵	10 ³	-	10 ⁵
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	10 ³	-	10 ³	-	10 ⁵	-	-	10 ³
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁴
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁷					
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	10 ³	-
<i>Candida</i>	-	-	10 ³	-	-	-	-	-	10 ³
1903									

<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	-	10 ⁸	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁸
<i>Enterococcus spp.</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	-	-	-	10 ⁵	10 ³	10 ³	-	-
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	10 ⁵	-	-	-	10 ⁵	-	10 ³	-
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	10 ⁴	-	-	10 ⁵	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	10 ⁵	-	-	-	-	-
<i>Candida</i>	-	-	-	10 ³	10 ³	-	-	-	10 ⁵
№ 1906									
<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁸	10 ⁶	-	10 ⁶				
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	-	10 ⁸	-	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Enterococcus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	-	10 ⁶	-	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	-	10 ³	-	10 ⁵	-	10 ³	-	-
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	10 ⁵	-	-	-	10 ⁵	-	10 ³	-
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
<i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁶
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	-	-	10 ⁵	10 ⁵	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	10 ⁶	-	-	-	-	-
<i>Candida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 1902									
	норма	Фон 30.01.20 19	Фон 25.02.2019	15 сутки	30 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки	+ 7 сутки
<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	-	10 ⁸	-	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Enterococcus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁸
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	-	-	-	10 ⁵	-	10 ³	10 ³	-
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	-	-	10 ³	-	10 ⁵	-	-	10 ⁵
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁷
<i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁷
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
<i>P. aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	10 ⁶	-
<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	10 ⁵	-	-	-	-	-
<i>Candida</i>	-	-	-	10 ³	-	10 ³	-	10 ⁵	10 ³
№ 1904									
<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	10 ⁶	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	-	-	-	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁸

<i>Enterococcus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	-	10 ⁶	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	10 ¹	-	-	10 ⁵	-	-	10 ¹	-
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	-	-	10 ⁵	-	10 ⁵	-	-	10 ³
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁸
<i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁷
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	10 ⁴	10 ⁵	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 1905									
<i>E. coli</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	-	-	10 ⁶	10 ⁸	-	-	-
<i>Enterobacter spp.</i>	10 ⁵	-	10 ⁶	10 ⁶	-	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Enterococcus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	10 ⁶	10 ⁶	-	-	-	10 ⁶	-
<i>Staphylococcus</i>	<10 ⁵	-	-	-	-	-	10 ³	-	10 ³
<i>S. aureus</i>	<10 ⁵	-	-	-	10 ⁵	10 ⁵	-	-	-
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ ,10 ⁹	-	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁸
<i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ ,10 ⁷	-	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁴	10 ⁷
<i>Clostridium</i>	<10 ⁵	-	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	<10 ⁴	-	10 ⁶	-	-	-	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Bacillus spp.</i>	<10 ⁴	-	-	10 ⁵	-	-	-	10 ³	-
<i>Candida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»

Е1				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
<i>E. coli</i>	$10^6, 10^7$	10^8	10^6	10^6
<i>Enterobacter spp.</i>	10^5	10^8	10^6	10^6
<i>Enterococcus spp.</i>	$10^6, 10^7$	10^6	-	10^6
<i>S. aureus</i>	$<10^5$	10^5	10^5	-
<i>Bifidobacterium spp.</i>	$10^8, 10^9$	10^6	10^7	10^7
<i>Lactobacillus spp.</i>	$10^6, 10^7$	10^7	10^7	10^7
<i>Bacillus spp.</i>	$<10^4$	-	-	10^3

- Нет роста

Е2				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
E. coli	$10^6, 10^7$	10^6	$<10^4$	10^6
Enterobacter spp.	10^5	10^6	10^6	10^8
Enterococcus spp.	$10^6, 10^7$	$<10^4$	$<10^4$	$<10^4$
Staphylococcus spp.	$<10^5$	-	10^5	10^5
S. aureus	$<10^5$	-	-	-
Bifidobacterium spp.	$10^8, 10^9$	10^6	10^6	10^8
Lactobacillus spp.	$10^6, 10^7$	10^4	10^7	10^7
Bacillus spp.	$<10^4$	-	-	10^3

- Нет роста

ЕЗ				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
E. coli	$10^6, 10^7$	$<10^4$	10^6	10^6
Enterobacter spp.	10^5	-	10^6	10^6
Enterococcus spp.	$10^6, 10^7$	$<10^4$	$<10^4$	10^6
Staphylococcus spp.	$<10^5$	-	10^5	10^3
S. aureus	$<10^5$	-	-	-
Bifidobacterium spp.	$10^8, 10^9$	10^6	10^6	10^6
Lactobacillus spp.	$10^6, 10^7$	10^4	10^4	10^6

- Нет роста

Е4				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
E. coli	$10^6, 10^7$	10^6	10^6	10^6
Enterobacter spp.	10^5	10^6	10^6	10^6
Enterococcus spp.	$10^6, 10^7$	10^6	10^6	10^6
Staphylococcus spp.	$<10^5$	10^3	-	-
S. aureus	$<10^5$	-	-	-
Bifidobacterium spp.	$10^8, 10^9$	10^7	10^7	10^7
Lactobacillus spp.	$10^6, 10^7$	10^7	10^7	10^7
Bacillus spp.	$<10^4$	-	10^3	10^3
Candida	-	10^5	10^3	10^3

- Нет роста

Е5				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
E. coli	$10^6, 10^7$	10^6	$<10^4$	10^6
Enterobacter spp.	10^5	10^6	-	-
Enterococcus spp.	$10^6, 10^7$	10^6	10^6	10^6
Staphylococcus spp.	$<10^5$	-	10^5	-
S. aureus	$<10^5$	10^3	-	-
Bifidobacterium spp.	$10^8, 10^9$	10^6	10^7	10^7
Lactobacillus spp.	$10^6, 10^7$	10^6	10^6	10^7
Bacillus spp.	$<10^4$	-	-	-
Candida	-	10^5	10^5	10^3

- Нет роста

Е6				
	норма	Фон	7 сутки	После приема кефира
E. coli	$10^6, 10^7$	10^6	10^6	10^8
Enterobacter spp.	10^5	10^6	10^6	-
Enterococcus spp.	$10^6, 10^7$	10^6	$<10^4$	$<10^4$
Staphylococcus spp.	$<10^5$	10^5	-	10^5
S. aureus	$<10^5$	10^3	-	10^3
Bifidobacterium spp.	$10^8, 10^9$	$<10^6$	10^7	10^8
Lactobacillus spp.	$10^6, 10^7$	10^7	10^7	10^7
Candida	-	10^3	-	10^5

- Нет роста

Исследование микробиоты толстого кишечника в эксперименте «Эскиз»

Результаты анализа микробиоты толстого кишечника (КОЕ/г)

Показатель	Номер пробы						Референсные нормы
	1	2	3	4	5	6	
Общее бактериальное число	3×10^{12}	8×10^{11}	8×10^{11}	9×10^{11}	8×10^{12}	8×10^{12}	$10^{11} - 10^{13}$
<i>Lactobacillus</i> spp.	3×10^6	8×10^5	8×10^6	2×10^6	2×10^6	8×10^5	$10^7 - 10^8$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	3×10^9	8×10^9	3×10^9	8×10^8	6×10^9	8×10^{10}	$10^9 - 10^{10}$
<i>Escherichia coli</i>	9×10^5	8×10^7	8×10^6	8×10^6	2×10^8	7×10^6	$10^7 - 10^8$
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	5×10^{10}	8×10^{10}	8×10^{10}	3×10^9	8×10^{11}	2×10^{10}	$10^8 - 10^{11}$
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	—	—	—	—	5×10^5	2×10^7	до 10^{12}

<i>Bacteroides</i> spp.	3×10^{12}	7×10^{11}	3×10^{11}	—	8×10^{11}	8×10^{12}	$10^9 - 10^{12}$
<i>Akkermansia muciniphila</i>	2×10^{12}	—	2×10^{11}	2×10^9	3×10^{10}	—	до 10^{12}
<i>Enterococcus</i> spp.	—	—	—	—	—	—	до 10^8
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2×10^5	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Klebsiella oxytoca</i>	—	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Proteus</i> spp.	—	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Escherichia coli</i> <i>enteropathogenic</i>	—	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Clostridium difficile</i>	—	—	—	—	—	—	до 10^4
<i>Clostridium perfringens</i>	—	—	8×10^6	—	—	—	до 10^4

<i>Enterobacter spp.</i>	—	—	7×10^5	5×10^6	—	—	до 10^4
<i>Parvimonas micra</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Salmonella spp.</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella spp.</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Candida spp.</i>	—	—	—	2×10^5	—	—	до 10^4

Полученные базовые генетические последовательности по участку гена 16S рРНК

Последовательности ДНК участка гена 16S рРНК

<i>Lactobacillus ruminis</i>	AGTTCCAACCTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTTCCAGTTTCCAATGCACTACTTCGGTTAAG CCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAGACCGCCTGCGTTCCCTTTACGCCCAATAAATC CGGACAACGCTCGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTT TCTGGTCAGATACCGTCAATACGTGAACAGTTACTCTCACGCACGTTCTTCTCTGACAAC AGAATTTTACGACCCGAAGGCCTTCTTCATTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGT CCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCC AATGTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATCACCTTGGTAGGCCGTTACCC CACCAACAAGTTAATACGCCGCAGGCCCATCCAAAAGTGACAGCAAAAGCCGTCTTTTA CATGAACATCATGCGGTGTTTCATGGTTATGCGGTATTAGCACCTGTTTCCAAGTGTTATC CCCCTCTTTTGGGCAGGTTGCCTACGTGTTACTCACCCGTTTCGCCACTAAGCTTCTTTCGG TGAATGCAAGCATTCGGTGAAAGAAAGCTTCGTTTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCG CCAGC
------------------------------	--

Lactobacillus vaginalis

CACTCTCCCCTTCTGCACTCAAGTTAAACAGTTTCCAAAGCGTACTATGGTTAAGCCACA
GCCTTTAACTTCAGACTTATCTAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGAT
AACGCTCGGGACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGG
TAAGTTACCGTCACAGTGTGAACTTCCACTCTCACACTCGTTCTTCTTACAACAGAG
CTTTACGATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCCAT
TGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTG
TGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTATGTATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACC
AACTAGCTAATACAACGCAGGTCCATCTGGTAGTGGATGCAATTGCCCTTTCAAGCATC
AATGTCATGCAATATCTACTGTTATGCGGTATTAGCTATCGTTTCCAATAGTTATCCCCCG
CTAMSAGGCAGGTTACCTACGCGTTACTCACCCGTTTCGCAACTCATCCGCTCGGTGCAAG
CACCAAGCTTCAGCGTTCTACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGC

<p><i>Streptococcus koreensis</i> (<i>S. parasanguinis</i>, <i>S. rubneri</i>)</p>	<p>CACTCTCCCCTTCTGCACTCAAGTTAAACAGTTTCCAAAGCGTACTATGGTTAAGCCACA GCCTTTAACTTCAGACTTATCTAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGAT AACGCTCGGGACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGG TAAGTTACCGTCACAGTGTGAACTTCCACTCTCACACTCGTTCTTCTTTACAACAGAG CTTTACGATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCCAT TGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTG TGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTATGTATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACC AACTAGCTAATACAACGCAGGTCCATCTGGTAGTGGATGCAATTGCCCTTTCAAGCATC AATGTCATGCAATATCTACTGTTATGCGGTATTAGCTATCGTTTCCAATAGTTATCCCCCG CTAMSAGGCAGGTTACCTACGCGTTACTCACCCGTTTCGCAACTCATCCGCTCGGTGCAAG CACCAAGCTTCAGCGTTCTACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGC</p>
--	--

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

«Кисломолочный продукт, обогащенный аутопробиотиками»

1. Сущность исследуемой проблемы

В условиях длительных космических полетов и замкнутых систем космических станций наблюдается рост условно-патогенных микроорганизмов, что увеличивает риск инфекций среди экипажа. Снижение колонизационной резистентности космонавтов и изменения в микрофлоре приводят к увеличению числа опасных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Для решения этой проблемы перспективным является применение пробиотиков и аутопробиотиков, созданных на основе штаммов микробиоты самих космонавтов, которые могут эффективно восстанавливать микрофлору и подавлять рост патогенов.

2. Краткая история и состояние вопроса в настоящее время

Проблема микробной безопасности в космосе начала активно изучаться с начала космической эры. С 1960-х годов исследования проводились в Советском Союзе и США, когда выявились изменения микрофлоры у космонавтов после коротких полетов. Основоположниками изучения микробиологических изменений в космосе стали такие ученые, как [Лизько Н.Н., 1987; Лизько Н.Н., 1991] и [Viktorov, Pyin, 1991], проводившие микробиологические исследования экипажей с 1969 года. В дальнейшем, с ростом продолжительности миссий, стало очевидным, что условия космических станций способствуют активизации условно-патогенной микрофлоры, схожей с той, что наблюдается в больничных условиях.

Сегодня вопросы микробной безопасности на МКС и в будущих миссиях на Марс или Луну остаются приоритетными. Основные угрозы исходят от условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые активируются в замкнутых

герметичных средах. Снижение иммунитета и колонизационной резистентности у космонавтов требует профилактических мер, таких как применение пробиотиков и аутопробиотиков. Эксперименты, например, «Марс-500», подтвердили их эффективность в восстановлении нормальной микрофлоры и снижении инфекционных рисков.

3. Обоснование необходимости проведения КЭ в условиях космического пространства

Планируемый эксперимент позволит оценить эффективность комплекса средств, состоящих из кисломолочного продукта, обогащенного аутопробиотиками в качестве средства профилактики и лечения дисбиотических нарушений космонавтов с помощью средств для микробиологического контроля состояния биоценоза, а также профилактики транслокации микробов в смежные биотопы.

4. Описание КЭ

Проведения эксперимента по исследованию микрофлоры кишечника и смежных биотопов на примере лунной базы.

Объект исследования: микрофлора кишечника и смежных биотопов у членов экипажа.

Этапы эксперимента:

1. Предполётный период (сбор данных до отправки на лунную базу):

- **Сбор образцов микрофлоры:

- За 60 суток до старта

- За 45 суток до старта

- За 14 суток до старта

- Образцы анализируются на наличие комменсальной и условно-патогенной микрофлоры, оценивается количественное и качественное

содержание.

- Выделение штаммов, подготовка кисломолочного продукта, обогащенного аутопробиотиком.

2. Полёт на лунную базу: Образцы и продукт транспортируются при температуре станции.

3. Период пребывания на лунной базе:

- Хранение образцов биоматериала при длительной низкотемпературной криоконсервации с последующей возможностью восстановления.

- Прием кисломолочного продукта, обогащенного аутопробиотиком

4. Послеполётный период (после возвращения с лунной базы):

- Сбор образцов микрофлоры:

- На 2-е сутки после посадки

- На 7-е сутки после посадки

Методология:

- Качественная и количественная оценка комменсальной и условно-патогенной микрофлоры.

- Образцы кишечной микрофлоры отбирают у операторов.

Транспортировка и хранение:

- Пробы транспортируются при температуре станции, сохраняются до 7 суток и затем направляются в лабораторию для анализа.

Безопасность:

- Медицинские риски минимальны, эксперимент проходит под контролем специалистов.

Примечание: Эксперимент реализуется российским членом экипажа.

5. Новизна

Впервые будет показано, что экспозиция пробиотических препаратов в условиях воздействия комплекса факторов космического полета, присущих межпланетным экспедициям (гипомагнитная среда, измененный

радиационный фон) не приводит к изменениям их качества, поэтому в экспедициях на Луну пробиотики могут применяться аналогично рекомендациям, принятым в земных условиях.

Впервые показано, что использование пищевых продуктов, обогащенных аутопробиотиками, оказывает эффективное стабилизирующее воздействие на микробиоту кишечника человека в экспериментах, имитирующих воздействие факторов космического полета, поэтому пищевые продукты, обогащенные аутопробиотиками, являются перспективными для использования в практике медицинского обеспечения длительных, в т.ч. межпланетных космических полетов.

б. Ожидаемые результаты и их предполагаемое использование

В результате эксперимента будет проведена оценка эффективности комплекса кисломолочного продукта, включающего аутопробиотики для стабилизации микрофлоры кишечника у космонавтов. Ожидается, что этот комплекс препаратов:

1. Уменьшит количество условно-патогенных микроорганизмов.
2. Снизит вероятность дисбактериоза и инфекций в условиях длительного пребывания на лунной базе.
3. Повысит колонизационную резистентность организма за счёт укрепления защитной микрофлоры.

Предполагаемое использование:

Если эффективность комплекса будет подтверждена, его могут включить в медобеспечение Лунной программы и других длительных миссий. Препараты будут применяться для поддержания здоровья космонавтов, минимизации риска инфекций и повышения устойчивости к патогенам в условиях космического полёта, где иммунная система ослаблена, а микрофлора изменяется.