

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 модели вывешивания как способа профилактики негативных эффектов факторов КП	45

3.1.4 Исследование эффективности сочетанного применения напитков брожения на основе сахаромикета с пробиотическими и аутопробиотическими препаратами для нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)	47
3.1.5 Изучение состояния микрофлоры кишечника испытуемых в изоляционном эксперименте «Эскиз»	49
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	51
3.1.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта	54
3.2 Животные их содержание, корм	55
3.3 Методы	55
3.3.1 Методика лиофилизации	55
3.3.2 Количественная оценка	56
3.3.3 Качественная оценка.....	57
3.3.4. Статистический анализ.....	59
4 Результаты и обсуждение	59
4.1 Комплексное воздействие факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов	59
4.2 Анализ кишечной микробиоты при моделировании ключевых неблагоприятных факторов космического полета: совместное воздействие низкоинтенсивных химического и радиационного факторов	61

4.3 Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомангнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс.....	62
4.4 Сочетанное применение напитков брожения на основе сахаромикетов с пробиотическими и аутопробиотическими препаратами для нормализации микрофлоры человека в изоляции (SIRIUS-18/19).....	68
4.5 Изучение кишечной микрофлоры в изоляционном эксперименте «Эскиз»	70
4.6 Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки.....	72
4.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	76
ВЫВОДЫ	83
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	84
СПИСОК ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	88
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	102

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 [Checinska 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, Ilyin, 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 гипوماгнитной 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 антиортостатическое 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, гипوماгнитная 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 определяется как «физиологически активный компонент пищи, представляющий собой вещество или их сочетание, которое при регулярном употреблении в составе продуктов

питания оказывает положительное влияние на организм человека за счёт выборочного стимулирования роста и/или активности полезной кишечной микрофлоры». 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 подход показывает низкую эффективность и не обеспечивает стабильного восстановления кишечной микрофлоры, поскольку до нижних отделов кишечника доходит лишь около 25–30% введённых пробиотических культур. Это связано с их разрушением под действием кислотной и щелочной среды в верхних отделах желудочно-кишечного тракта [Просянных и др., 2020]. Поэтому применение пробиотиков, то есть внесение внешних микроорганизмов, можно рассматривать только как временную меру, не приводящую к стойким положительным результатам при лечении нарушений микробного баланса. Пребиотики и продукты, их содержащие, напротив, обеспечивают пребиотический эффект, стимулируя рост и активность собственной микроэкосистемы кишечника без трудностей, связанных с её

приживлением.

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 — это живые микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности, которые при естественном поступлении в организм оказывают положительное влияние на его функции. Они поддерживают нормальные физиологические и метаболические процессы, способствуют нормализации биохимических реакций и помогают укреплять защитные механизмы хозяина. Основное действие пробиотиков связано с улучшением состояния микрофлоры кишечника, что положительно отражается на пищеварении, усвоении питательных веществ и активности иммунной системы. Таким образом, их применение направлено на сохранение общего баланса микробных сообществ и поддержку здоровья организма в целом.

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 температуры 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 грибами 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 полёты, включая межпланетные миссии, связаны с риском развития синдрома снижения колонизационной резистентности у космонавтов, что отмечалось в наблюдениях и обзорах по космической медицине [Ильин, Воложин, Виха, 2005]. Это рассматривается как значимый эпидемиологический фактор риска и подчёркивает необходимость разработки и внедрения средств и методов профилактики для защиты микробного гомеостаза экипажа [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 бактерии, а также другие группы — 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 сыра.

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 [Papadimitriou 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-Kholy 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} колониеобразующих 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 [Companys 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.* продемонстрировал 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 coccoides* 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 приготовляемый 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, образуемым 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 T,

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 Rc, 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 [Ilyin 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 происходят заметные изменения в составе микрофлоры: уменьшается количество бифидобактерий и лактобацилл, снижается активность кишечной палочки, а токсичность некоторых микроорганизмов возрастает. Эти результаты подтверждены наблюдениями во время реальных экспедиций, где у членов экипажей фиксировали уменьшение числа анаэробных бактерий и рост количества аэробных видов. Среди таких аэробных микроорганизмов отмечались *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и представители *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 [Ilyin и др., 2018].

Основные изменения кишечной микрофлоры происходят таким образом, что в предполетный период нормальное соотношение микроорганизмов больше не наблюдается. Наиболее часто фиксируются состояния, соответствующие

дисбактериозу второй и третьей степени. Для второй степени характерен рост условно-патогенной микрофлоры при умеренном снижении защитных видов бактерий. Третья степень сопровождается еще большим увеличением количества условно-патогенных организмов и выраженным уменьшением числа протективных микроорганизмов, что приводит к декомпенсации микробного баланса. (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 [Pluyn 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 [Pluyn 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 [Pluyn 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 стабилизировали 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

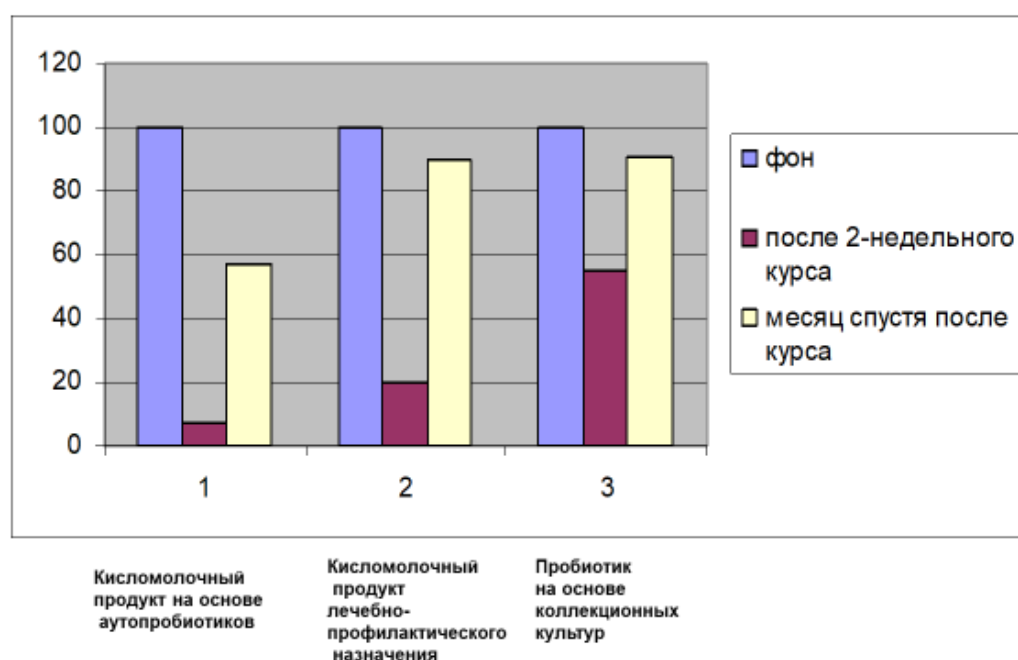


Рисунок 1 - Сравнительная оценка динамики дисбактериоза при приеме кисломолочного аутопробиотика на основе лактобацилл и других пробиотических препаратов (% случаев дисбактериоза)

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 гипомангнитной 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 обнаружились 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 затравке.

В эксперименте № 3 проверялась возможность использования пробиотического препарата, который был предварительно подвергнут действию факторов космического полета — гипомагнитного поля и облучения протонами для профилактики изменений, связанных с моделируемыми эффектами микрогравитации у животных.

Эксперимент № 4 проводился в рамках научной программы 120-суточного изоляционного исследования на базе ГНЦ РФ — ИМБП РАН, одобренной Комиссией по биомедицинской этике. Все участники дали информированное согласие. Работа включала две части: в первой для обогащения напитка брожения применялись пробиотики, во второй участники экспериментальной группы получали напиток, дополненный культурой бактерий *Lactobacillus spp.*, выделенных от операторов (аутопробиотик), а контрольная группа — только напиток без пробиотических добавок.

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.

Цель седьмого исследования заключалась в оценке состояния кишечной микрофлоры у участников восьмимесячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21, которые на разных этапах изоляции применяли пероральный аутопробиотический препарат на основе *Lactobacillus* spp для коррекции состава 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 Cosmo-tentic 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 гипوماгнитного 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 высев 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 гипوماгнитного поля Земли на 3-5 порядка	Анализ количественных и качественных показателей культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов

Продолжение таблицы 4

30	6	Комплексное воздействие пониженного гипомагнитного 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 выполнены на 28 половозрелых крысах-самцах линии Wistar, массой 180–200 г (Таблица 5). Токсикологические испытания проведены в полном соответствии с базовыми биоэтическими нормами лабораторной практики, действующими в Российской Федерации, а также с 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 летучих соединений (ацетон, ацетальдегид, бензол).

Описание схемы комбинированного воздействия. Моделирование комбинированного воздействия проводили на стенде для санитарно-химических и токсикологических испытаний УМБИ-1. Камера-гермоблок объемом 12 м³ предназначалась для длительного содержания животных и имела автономные системы жизнеобеспечения. Корм в гранулах и воду животные получали через шлюз раз в сутки, без открывания основного объема.

Продолжительность ингаляционного воздействия смесью (ацетон, ацетальдегид, бензол) составляла 30 суток. Набор компонентов и их концентрации в затравочной смеси выбирали по приоритетному списку загрязнителей воздуха, вносящих основной вклад — около 85–95% — в суммарное загрязнение атмосферы пилотируемых космических аппаратов [Мухамедиева, Богомолов, 2009].

Автономная система очистки и регенерации поддерживала в гермокамере допустимые уровни по ПДК для герметичных помещений как по основным газам (кислород, углекислый газ), так и по примесям. Параметры среды мониторировались непрерывно: концентрации кислорода и углекислого газа, температура и относительная влажность. Условия поддерживались в диапазонах: $23 \pm 2^\circ\text{C}$ для температуры, $67 \pm 3\%$ для влажности, кислород $21 \pm 2\%$, углекислый газ 0,05–0,3%, аммиак 1–5 мг/м³. Затравочная смесь состояла из 25% водного

раствора ацетальдегида и ацетон-бензольного раствора в соотношении четыре части ацетона к 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 ацетона, ацетальдегида и бензола в гермокамере контролировали четыре раза в сутки методом газовой хроматографии. При проведении анализа пробы воздуха из гермокамеры вводили газовым шприцем в капиллярную колонку DB-624, установленную в хроматографе Agilent Technologies 6890N. Идентификацию компонентов и их количественное определение выполняли на выходе из капиллярной колонки с использованием пламенно-ионизационного детектора и компьютерной обработки данных. Калибровку прибора для дальнейшей количественной оценки летучих примесей проводили с помощью стандартных образцов чистых веществ и аттестованных растворов. Для оперативного контроля аммиака применяли линейно-колористический метод с индикаторными трубками С-2-ТИ-NH₃-30АО (НПФ «СЕРВЭК»).

Методика облучения.

Для имитации радиационного воздействия крысам проводили десятикратное внешнее фракционированное гамма-облучение с общей дозой 500 сГр на установке для облучения биологических объектов ГОБО-60 с источником ¹³⁷Cs. Сеансы выполняли два раза в неделю, каждый продолжался 16 часов, до набора суммарной дозы.

Суммарная поглощенная доза за фракцию составляла 50 сГр при мощности дозы 3,12 сГр/час. С учетом коэффициента эффективности (КВ=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

Динамический эубиотический индекс (Eid) рассчитывался на основе полученных количественных данных. Сначала для каждой точки отбора сравнивали численность каждого микроорганизма в данном биотопе с предыдущей точкой, определяя, наблюдается ли рост или снижение. Далее изменения классифицировали как положительные для защитных групп бактерий и как отрицательные для условно-патогенных групп. Индекс вычисляли по формуле: $Eid = \frac{\text{Количество положительных изменений микрофлоры}}{\text{Количество отрицательных изменений микрофлоры}}$. По величине индекса оценивали преобладающий тип сдвигов в разные периоды изоляции: если $Eid > 1$ доминируют положительные изменения, если $Eid < 1$ преобладают отрицательные изменения.

3.1.3 Экспериментальная апробация пробиотического средства, подвергнутого условиям космического полета, у крыс в модели вывешивания как способа профилактики негативных эффектов факторов КП

Оценка изменений видового и количественного состава кишечной микрофлоры после 21 суток антиортостатического вывешивания с применением пробиотического средства, прошедшего воздействие факторов космического полета, с применением обычного пробиотического средства и без него; оценка влияния пробиотика, подвергнутого условиям космического полета, на скорость восстановления сдвигов, вызванных опорной разгрузкой. Программа исследований одобрена с точки зрения биоэтики (протокол № 633 от 08.02.2023). В работе использовали 36 самцов крыс линии Wistar массой 200–220 г (Таблица 6, Приложение Б). В течение эксперимента ограничения по кормлению и воде не вводились. Животные размещались в отдельном помещении, обеспечивался ежедневный уход. Температура поддерживалась в диапазоне 19–22 °С. Физиологические эффекты микрогравитации моделировали антиортостатическим вывешиванием по методу Ильина–Новикова в модификации Морей–Холтон.

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 антиортоstaticком 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	Антиортоstaticкое вывешивание	-«-
(контроль+ препарат) Contr/pr	6	Пробиотическое средство	-«-
(вывешивание + препарат) HIS/pr	6	Антиортоstaticкое 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	Антиортоstaticкое 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 применения напитков брожения на основе сахаромикета с пробиотическими и аутопробиотическими препаратами для нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19)

В четвертом эксперименте работа была включена в научную программу 120-суточного изоляционного исследования на базе ГНЦ РФ — ИМБП РАН, рассмотрена и одобрена Комиссией по биомедицинской этике (протокол № 506 от 03.04.2019). Все участники подписали информированное согласие на участие. В исследовании моделировали ключевые этапы пилотируемой миссии на Луну: перелет с последующим облётом для выбора площадки посадки; посадка 4 членов экипажа для выполнения операций на поверхности; пребывание на лунной орбите с дистанционным управлением ровером для подготовки базы; возвращение на Землю.

Микробиологический раздел был разбит на две части. В 1-й части (Таблица 7) для обогащения напитка брожения (НБ) применяли 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 НБ из порошка (100 мл) на основе сахаромикета при 10^7 КОЕ/мл вносили содержимое капсул Линекс® до конечной концентрации 10^7 КОЕ/мл и Бифидумбактерин форте® до 10^8 КОЕ/мл. Полученный НБ использовали как лечебно-профилактическое питание для экспериментальной группы (3 человека). Остальные участники (3 человека) получали только НБ без добавления пробиотиков и составили контрольную группу. Курс приема обогащенного НБ приходился на первые 15 суток изоляции.

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 напиток брожения, обогащенный культурой *Lactobacillus spp.*, выделенной у операторов (аутопробиотик), тогда как контрольная группа принимала только напиток без добавления пробиотиков. Курс приема аутопробиотического НБ составлял 15 суток — с 60-х по 75-е сутки изоляции — по 250 мл один раз в день.

Методика подготовки аутопробиотического препарата включала отбор проб фекалий у практически здоровых доноров в период клинического благополучия за 30 дней до планируемого использования. Из полученных проб выделяли аутоштаммы лактобактерий и проводили их идентификацию. Биомассу очищенных культур нарабатывали на селективной среде MRS для лактобактерий в анаэробных условиях до титра не ниже 10^7 – 10^8 КОЕ/мл. Затем полученную 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 составляло не менее 10^7 КОЕ/мл. Отбор образцов фекалий у обследуемых выполняли на 15-е, 30-е, 60-е, 90-е, 120-е сутки пребывания в гермообъекте (завершение изоляции) и на 7-е сутки после окончания эксперимента. У участников проводили оценку количественного, родового и видового состава кишечного микробиоценоза (Приложение А, В). Для определения родового профиля использовали классические бактериологические посе́вы на селективные среды с последующим подсчетом колоний для расчета количественного состава и микробного числа по стандартной методике [Нетрусов и др., 2005]. Микробное число выражали как $\lg(\text{КОЕ/мл})$.

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 участвовали 6 человек (4 мужчины и 2 женщины), находившиеся в условиях изоляции 14 суток; программа эксперимента «Эскиз» одобрена биоэтической комиссией ИМБП РАН (Протокол № 573 от 1 апреля 2021 г.) и соответствует принципам Хельсинкской декларации. В течение 7 дней, начиная с первого дня после выхода из гермообъекта, 4 участника ежедневно принимали кефирный напиток, обогащенный аутоштаммами *Lactobacillus spp.*, выделенными индивидуально у каждого; 2 участника не получали аутопробиотический напиток и сформировали контрольную группу.

Образцы фекалий отбирали однократно за 30–32 суток до иммерсии и через 7–8 суток после, затем готовили десятикратные разведения в физиологическом растворе от 10^{-1} до 10^{-9} и по 100 мкл наносили на чашки Петри с агаризованными

средами: кровяной агар, МакКонки, маннитол-солевой агар, Сабуро, MRS, Бактофок, цитратный агар, агар для энтерококков, бифидоагар. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали колумбийский агар, хромогенную среду Brilliance (Oxoid), маннит-солевой агар (Himedia), энтерококковый агар, среду Эндо и агар Сабуро (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск). Инкубацию проводили в CO₂-инкубаторе (Jouan). Лактобациллы культивировали на лактобакагаре (ФГУН «ГИЦПМ и Б»), строгих анаэробов — на прeredуцированном агаре Шедлера (Oxoid) с добавками в анаэробном боксе (Whitley DG 250) в газовой смеси N₂ 80%, CO₂ 10%, H₂ 10%.

Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS на времяпролётном масс-спектрометре Autoflex III с программой Maldi BioTyper (Bruker Daltoniks, версия 3.0). Полученные результаты обрабатывали методами дискриминантного и дисперсионного анализа в пакете 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 был организован для оценки пригодности нативного препарата как источника аутологичных штаммов после длительного хранения в замороженном виде.

Состояние микробиоты толстого кишечника изучали до и после глубокой заморозки с применением ПЦР в режиме реального времени с флуоресцентной детекцией. Образцы микробных сообществ помещали в полиэтиленовые пакеты, затем в стерильные пластиковые контейнеры по 60 мл. Хранили в морозильной камере GFL 6384 при –80 °C на протяжении 6 месяцев.

Исследование микробного состава фекальных проб включало два шага: 1) выделение ДНК; 2) амплификация целевых участков методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной регистрацией продуктов в режиме реального времени («КОЛОНОФЛОР»). Методика позволяла определять 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 и выдерживали при 65°C в течение 1 часа, каждые 20 минут извлекая их и кратко встряхивая на вортексе. По завершении часа добавляли 500 мкл хлороформа и центрифугировали 10 минут при 13 000 об/мин. Полученный супернатант переносили в чистую пробирку, вносили 400 мкл изопропанола и 70 мкл 5 М ацетата калия, аккуратно перемешивали руками и снова центрифугировали 10 минут при 13 000 об/мин. После этого супернатант удаляли, осадок ДНК промывали охлажденным 70% этанолом (150 мкл) и центрифугировали 5 минут на 13 000 об/мин, сливали спирт и повторяли промывку. Осадок высушивали на воздухе до полного удаления спирта, затем ресуспендировали в 50 мкл деионизированной воды, выдерживали 15 минут для растворения и помещали очищенную ДНК на хранение при -20°C для дальнейшей работы.

Праймеры и ПЦР

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

L5-15f: GCTCAGGAYGAACGCGYGG

L5-687r: CACCGCTACACATGRADTTTC

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

Аmplифицированные ПЦР-продукты разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле, после чего нужные фрагменты вырезали из геля для последующей очистки. Очистку ДНК выполняли с использованием набора Cleanup Standard («Евроген») в соответствии с инструкцией производителя. Секвенирование ампликонов (Приложение Д) проводилось на автоматическом секвенаторе в ЗАО «Евроген». Для таксономической идентификации по полученным прямым и обратным чтениям обрезали крайние участки на 20–30 п.н., затем проводили попарное выравнивание для формирования консенсусной последовательности. Поиск наиболее сходных нуклеотидных последовательностей выполняли в программе BLAST, интегрированной в базу GenBank.

3.1.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Для достижения целей работы были обследованы 5 участников 240-суточного изоляционного эксперимента SIRIUS-21, с фокусом на изучение кишечной микрофлоры. Для поддержания и коррекции состава применяли аутопробиотический напиток на основе лактобацилл, заранее выделенных у каждого участника индивидуально. Конечный титр лактобацилл в напитке составлял не менее 10^7 КОЕ/мл, разовая порция — 200 мл. Прием осуществляли однократно в утренние часы.

Для анализа кишечной микрофлоры образцы фекалий отбирали на 0-е, 14-е, 30-е сутки эксперимента, далее с шагом 30 суток. Дополнительно проводили отбор за 7 суток до старта и через 7 суток после выхода из гермообъекта. Из проб готовили серию десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе от 10^{-1} до 10^{-9} , по 100 мкл наносили на чашки Петри с агаризованными средами: кровяной агар, МакКонки, маннитол-солевой агар, Сабуро, MRS, Бактофок, цитратный агар, среда для энтерококков, бифидоагар. Все питательные среды произведены Himedia (Индия). Средства для коррекции микрофлоры других биотопов не применялись. Выросшие колонии подсчитывали и идентифицировали 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 применяли непараметрические подходы: ранговый дисперсионный анализ Фридмана, коэффициент конкордантности

Кендалла и парный критерий Уилкоксона. Анализ данных выполнялся в программной среде STATISTICS версии 12.

Такой выбор методов оправдан при отсутствии предпосылок о нормальности распределений и при работе с ранговыми или несмещенными выборками. Ранговый анализ Фридмана позволял оценивать различия по нескольким связанным выборкам, коэффициент Кендалла — степень согласованности ранжировок, а парный тест Уилкоксона — изменения в связанных парах наблюдений.

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 подстила 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 отбора материала 1 г нативного препарата гомогенизируют в физиологическом растворе или фосфатном буфере, формируя стартовое разведение 10^{-1} . Все операции выполняют в условиях микробиологической безопасности внутри защитного бокса. Из исходного разведения последовательно готовят десятикратные (100-кратные по объему) разведения в физиологическом растворе до диапазона 10^{-1} – 10^{-9} . Из каждой ступени разведений выполняют дозированные посевы на соответствующие питательные среды для последующего культивирования разных 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 методом масс-спектрометрии. В системе MALDI Biotyper распознавание основано на профиле константных белков, регистрируемом масс-спектрометрически. Спектры исследуемых образцов сопоставляются со спектрами эталонных штаммов, хранящимися в базе данных.

Для анализа берут одиночную колонию суточной культуры, переносят ее на мишень прибора и дают высохнуть. Затем сверху наносят небольшое количество раствора матрицы, который облегчает выход белков из образца. Преимущественно выделяются рибосомальные белки, присутствующие в высоких концентрациях. На

воздухе происходит совместная кристаллизация матрицы с образцом, после чего подготовка завершена — это метод прямого нанесения. Если прямое нанесение не обеспечивает нужного качества результатов, применяют дополнительный протокол экстракции белков для повышения надежности идентификации.

Техническая основа метода — времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активируемой лазерной десорбцией/ионизацией. Лазерный импульс воздействует на образец, сокристаллизованный с матрицей, вызывая десорбцию белков с поверхности мишени, а матрица передает белковым молекулам 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 с различной массой достигают детектора в различные моменты времени; фиксируя интервал между их ускорением и регистрацией на детекторе, определяют скорость полета и рассчитывают молекулярную массу частиц.

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

Обработка результатов экспериментов выполнялась с применением пакета прикладных программ Statistica v.10.0 for Microsoft Windows. Показатели представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах (Q25–Q75). Проверку статистической значимости проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона.

Дополнительно данные оценивались методами дискриминантного и дисперсионного анализа, а также непараметрическим критерием хи-квадрат в среде Statistics 12. Статистическая оценка также включала критерии Краскела–Уоллиса, Фридмана и хи-квадрат, реализованные в Statistics 12. Если не оговорено отдельно, результаты приведены как среднее $\pm$ стандартная ошибка. Для удобства восприятия конкретные методы статистики указаны в соответствующих подразделах раздела «Результаты».

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 гипомагнитного 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)

	Повторности											
НАПИТОК (cosm-o-tentic)	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
Enterо (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
Среда Блаурока (для бифидобактерий), готовая, жидкая	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
Enterо (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар))	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	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 кишечной микробиоты при моделировании ключевых неблагоприятных факторов космического полета: совместное воздействие низкоинтенсивных химического и радиационного факторов

Проводили оценку количественного и качественного состава кишечного микробиоценоза. На основе полученных количественных данных рассчитывали динамический эубиотический индекс (Eid). Для этого в каждой точке отбора сравнивали изменения численности каждого микроорганизма в конкретном биотопе относительно предыдущей точки и определяли, является сдвиг положительным или отрицательным. Индекс вычисляли по формуле: $Eid = \text{количество положительных изменений микрофлоры} / \text{количество отрицательных изменений микрофлоры}$. По величине индекса судили о преобладающем направлении сдвигов в разные периоды изоляции: при $Eid > 1$ доминируют положительные изменения, при $Eid < 1$ — отрицательные (Рисунок 2).

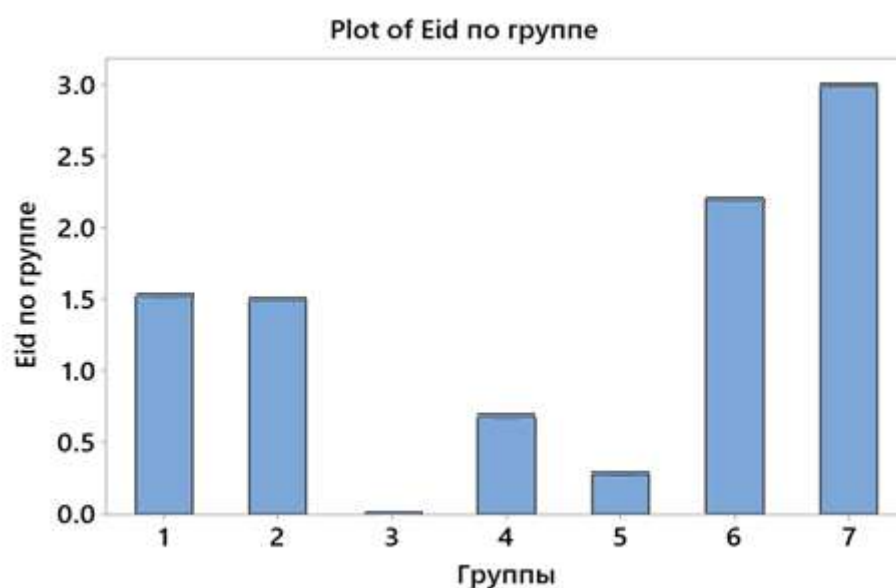


Рисунок 2 - Значение Eid в исследуемых группах ($p < 0,05$).

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 гипوماгнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс

Перед началом эксперимента исходное состояние биоценоза кишечника без воздействия внешних факторов характеризовалось стабильным. На 7-е сутки в группе «Вывешивание + Препарат КП» уровень бифидобактерий оказался ниже, чем в группе «Вывешивание + Препарат» (Рисунок 3). При этом, если сопоставить пары групп без вывешивания и «опытных», видно, что в плацебо-группе у вывешенных животных снижены как бифидобактерии, так и представители семейства *Lactobacillaceae* spp., что указывает на неблагоприятное влияние модели вывешивания. Вместе с тем, в группах, где применялись оба препарата, содержания указанных микроорганизмов у вывешенных и невывешенных крыс статистически не отличались, что говорит о сопоставимой результативности обоих средств.

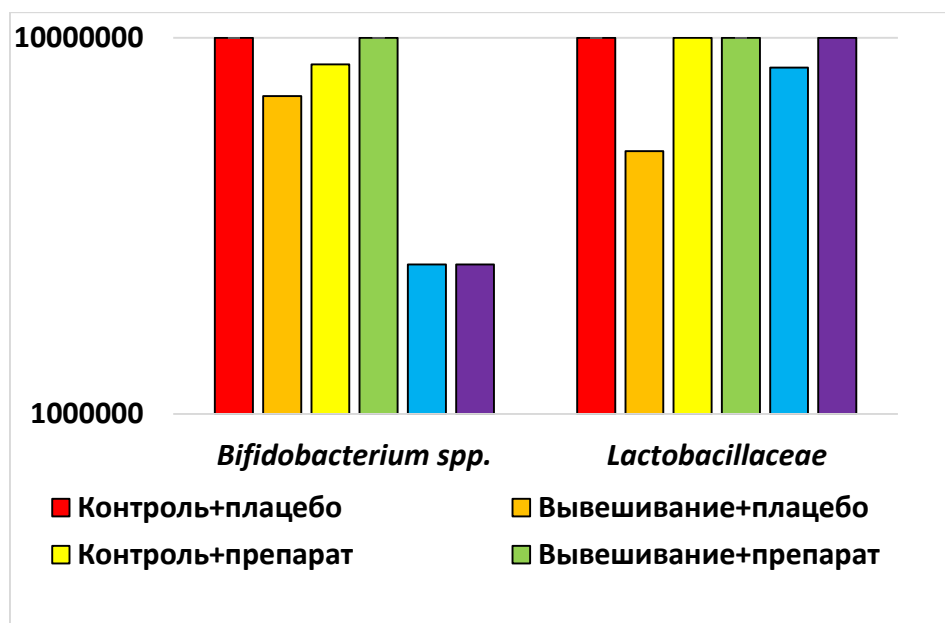


Рисунок 3 — Содержание *Lactobacillaceae* spp. и *Bifidobacterium* spp. в группах с разными сочетаниями препаратов на 7-е сутки эксперимента ($p < 0,05$).

К 14-м суткам уровни *Bifidobacterium* spp. в группах «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» статистически не отличались друг от друга, но различались с соответствующими контрольными группами (Рисунок 4).

В условиях вывешивания количество этих бактерий было выше, чем в контроле. В парах «Контроль + плацебо» и «Вывешивание + плацебо» наблюдалась обратная картина: у вывешенных животных бифидобактерий меньше, чем в контроле, что подтверждает неблагоприятный эффект опорной разгрузки на кишечную микробиоту крыс.

По *Enterococcus faecalis* группы «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» значимо не различались, однако обе отличались от своих контролей — в контрольных группах концентрация энтерококков выше. В плацебо-ветвях достоверной разницы между контролем и вывешиванием не зафиксировано, но уровень энтерококков там ниже, чем в остальных четырех группах, что указывает на стимулирующее действие обоих препаратов на микрофлору кишечника.

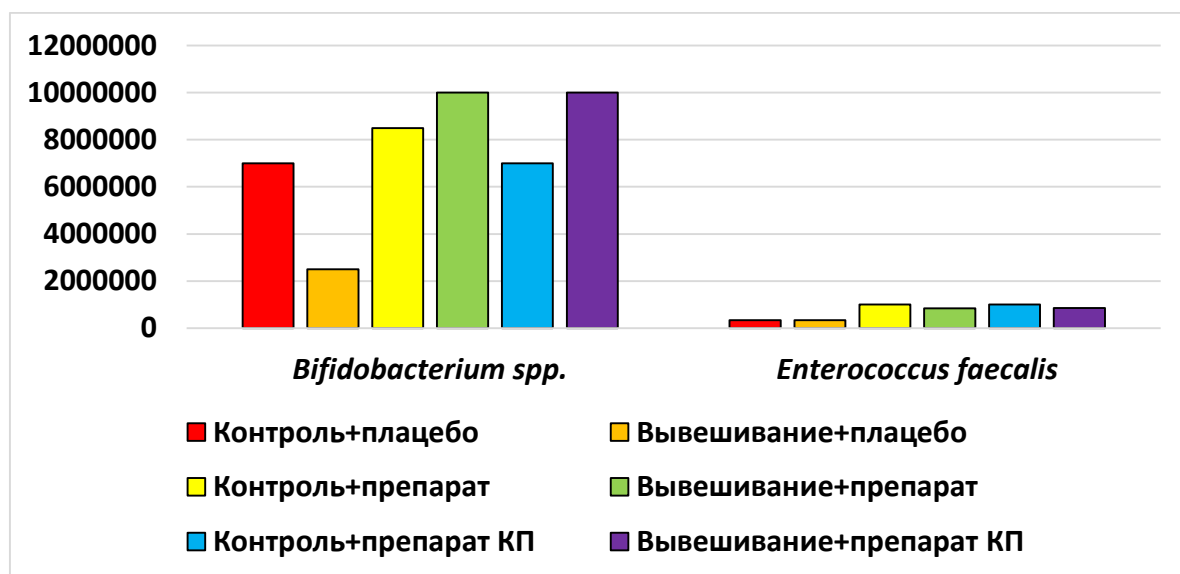


Рисунок 4 — Численность *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus faecalis* в группах с разными сочетаниями препаратов на 14-е сутки эксперимента ($p < 0,05$).

Как показано на рисунке 5, к 21-м суткам в плацебо-ветвях уровень лактобацилл был статистически ниже, чем в ветвях, где применялись препараты, за исключением контрольной группы с препаратом КП. При этом группа «Вывешивание + Препарат КП» не демонстрировала различий по сравнению с группой «Вывешивание + Препарат».

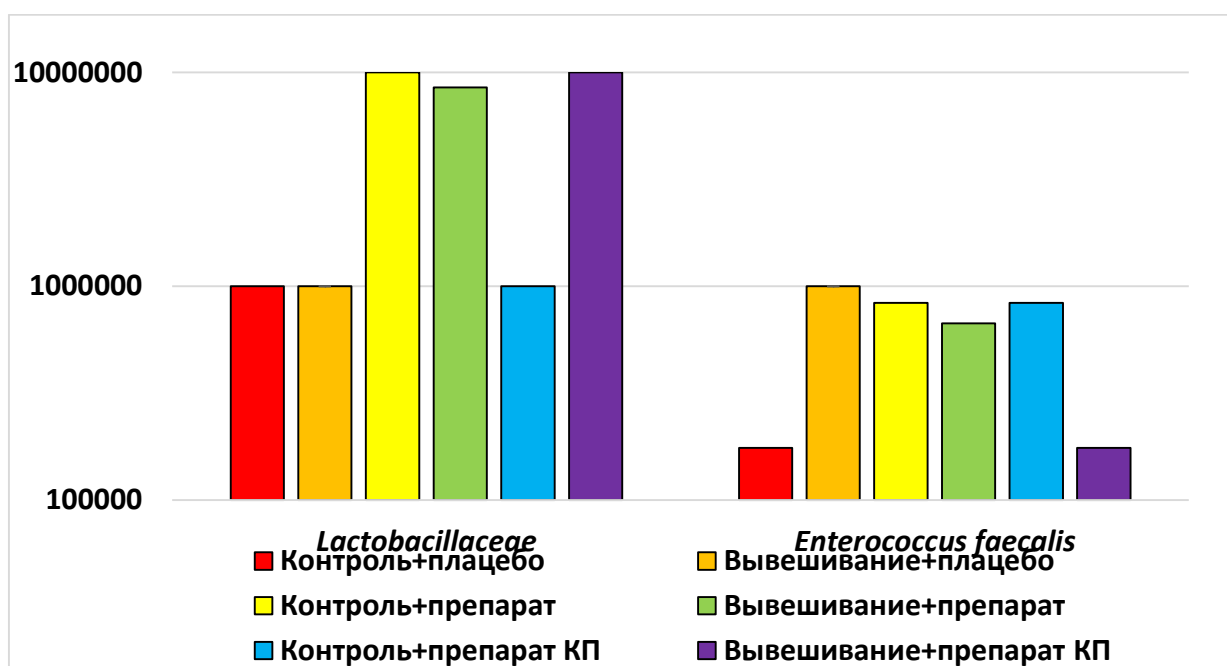


Рисунок 5 — Численность *Lactobacillaceae* spp. и *Enterococcus faecalis* в группах с разными сочетаниями препаратов на 7-е сутки эксперимента ($p < 0,05$).

В плацебо-ветви отмечено более высокое содержание энтерококков у животных с вывешиванием по сравнению с контролем без вывешивания. В ветвях, где применялись оба вида препаратов, напротив, уровни энтерококков были выше в контрольных подгруппах, а минимальные значения зарегистрированы в группе «Вывешивание + Препарат КП». Дополнительно выполнено сравнение траекторий изменения численности разных таксонов на протяжении эксперимента с использованием критерия Фридмана для связанных выборок.

Значимые различия между временными точками выявлены по лактобациллам в трех ветвях: «Контроль + Плацебо», «Вывешивание + Плацебо» и «Контроль + Препарат КП»; коэффициент конкордации в каждой из них превышал 0,65, что указывает на в целом согласованную динамику у животных. Показано, что в этих трех группах численность лактобацилл снизилась к 21-м суткам; при этом в «Вывешивание + Плацебо» падение фиксировалось уже к 7-м суткам, тогда как в двух остальных ветвях снижение *Lactobacillaceae* spp. проявилось лишь к 21-м суткам (Рисунок 6). Учитывая отсутствие достоверных сдвигов по лактобациллам

в «Вывешивание + Препарат КП» (как и в ветвях с обычным препаратом) на протяжении всего наблюдения, оба варианта препарата можно рассматривать как действенные профилактические средства.

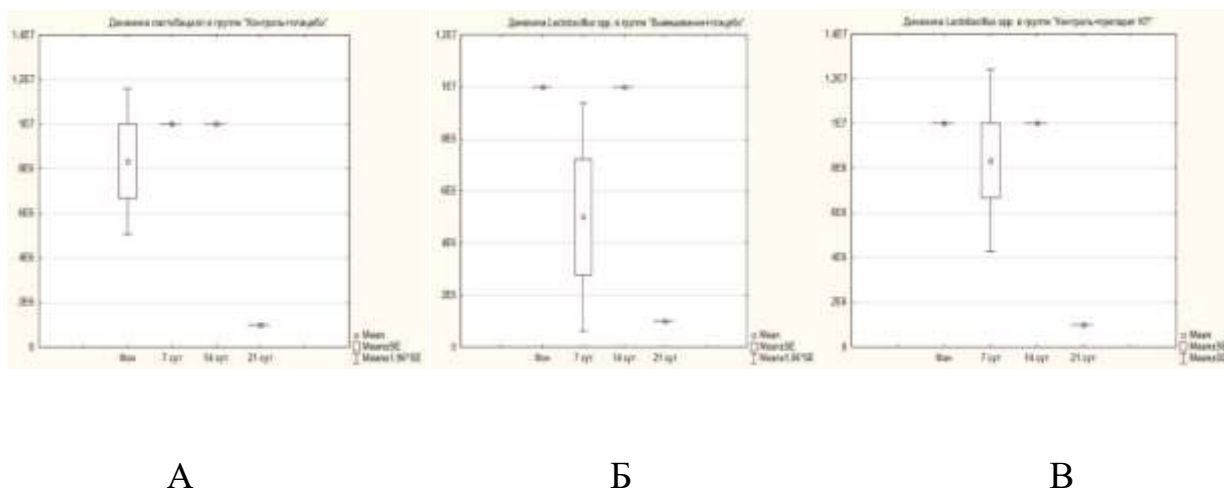
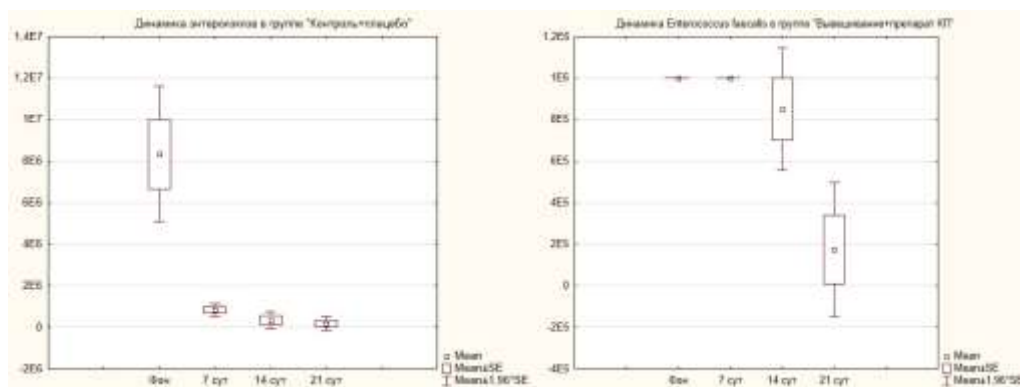


Рисунок 6 — Динамика численности лактобацилл в группах «Контроль + Плацебо» (А), «Вывешивание + Плацебо» (Б) и «Контроль + Препарат КП» (В) ($p < 0,05$).

Также статистически значимые различия выявлены для энтерококков в группах «Контроль + Плацебо» и «Вывешивание + Препарат КП» (Рисунок 7). По значениям коэффициента конкордации изменения численности *Enterococcus* в большинстве групп носили согласованный характер. К 21-м суткам численность *Enterococcus faecalis* уменьшилась как в «Контроль + Плацебо», так и в «Вывешивание + Препарат КП», однако уровень в группе с препаратом оставался выше, чем в плацебо-ветви. Кроме того, в «Вывешивание + Препарат КП» повышенные значения энтерококков сохранялись почти на всем протяжении эксперимента, тогда как в плацебо-группе снижение фиксировалось уже на 7-е сутки.



А

Б

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

Дополнительно для интерпретации микробиологических сдвигов был рассчитан эубиотический индекс, отражающий соотношение положительных и отрицательных изменений микрофлоры относительно предыдущей точки наблюдения (Рисунок 8). Такой интегральный показатель позволяет компактно оценивать общий вектор модификаций микробиоценоза под влиянием факторов эксперимента и вмешательств. Для проверки статистической значимости различий по распределениям «положительных/отрицательных» сдвигов использовалась оценка с применением хи-квадрат критерия, что дает возможность выявлять ассоциации между группой и направлением изменений без предпосылки о нормальности.

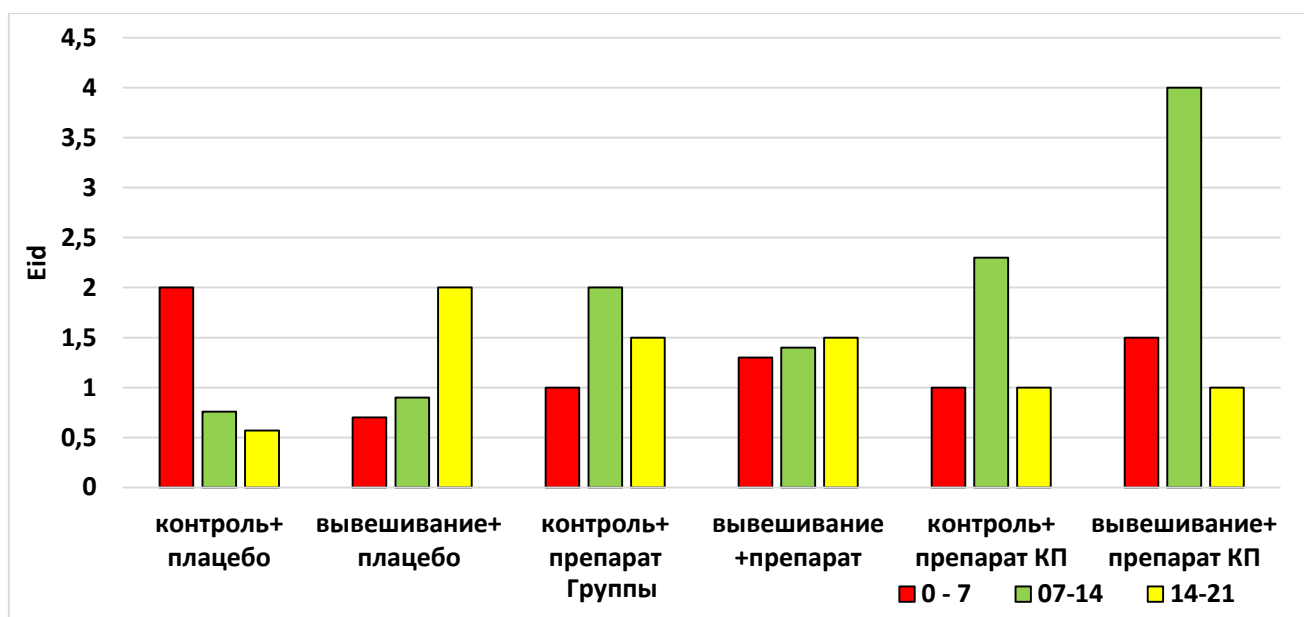


Рисунок 8 — Динамика эубиотического индекса в группах с различными препаратами ($p < 0,05$).

Согласно данным на 14-е сутки, максимальное значение индекса зарегистрировано в ветви «Вывешивание + Препарат КП»; в соответствующей контрольной ветви индекс также возрос, но оставался почти вдвое ниже относительно вывешенной группы на тот же момент времени. К 21-м суткам показатель снизился во всех ветвях, кроме «Вывешивание + Плацебо»; при этом среди ветвей с применением средств наибольшее значение отмечено у обычного препарата, тогда как в ветви с препаратом КП индекс приблизился к 1, что указывает на сопоставимые доли положительных и отрицательных сдвигов и, следовательно, на наличие эффекта.

Модель вывешивания выступает стрессорным фактором, приводящим к уменьшению численности большинства протективных компонентов кишечной микробиоты. Применение профилактических средств статистически значимо сглаживает неблагоприятные изменения, вызванные опорной разгрузкой. В ветви «Вывешивание + Препарат КП» численность лактобацилл оставалась стабильной на протяжении всего наблюдения, что свидетельствует о стабилизирующем влиянии средства, прошедшего воздействие отдельных факторов космического полета, в условиях вывешивания. По совокупной эффективности препарат,

подвергшийся таким воздействиям, близок к обычному: к 21-м суткам снижение отмечено лишь для *Enterococcus faecalis*. Более того, на 14-е сутки эубиотический индекс в группе с препаратом КП был наивысшим среди сравниваемых ветвей в этот период, что демонстрирует даже большую результативность по сравнению с необлученным препаратом.

4.4 Сочетанное применение напитков брожения на основе сахаромикетов с пробиотическими и аутопробиотическими препаратами для нормализации микрофлоры человека в изоляции (SIRIUS-18/19)

По данным визуализаций (Рисунки 9, 10) видно, что обогащение напитка брожения как промышленными пробиотиками, так и аутопробиотиками сопровождается улучшением количественных и качественных характеристик кишечной микробиоты за счет увеличения доли представителей протективных групп и уменьшения, вплоть до возможного исчезновения, условно-патогенных таксонов. На этом фоне аутопробиотический подход демонстрировал более выраженный и пролонгированный эффект, сохранявшийся и после завершения изоляции (период 4), тогда как при использовании напитка с коммерческими штаммами позитивные изменения угасали почти сразу после прекращения приема (период 2).

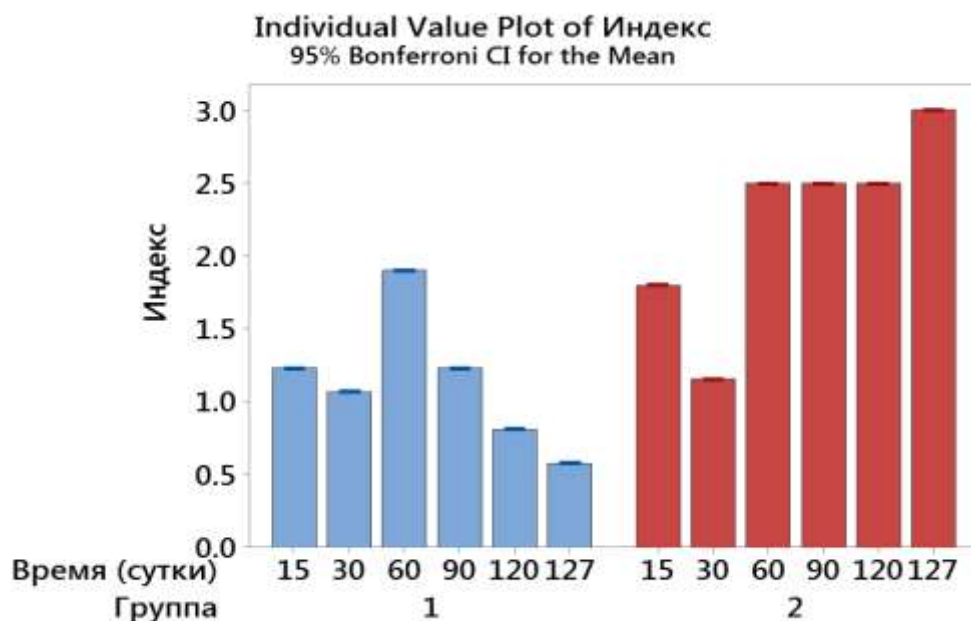


Рисунок 9 — Эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 — контроль, группа 2 — опытная ($p < 0,05$).

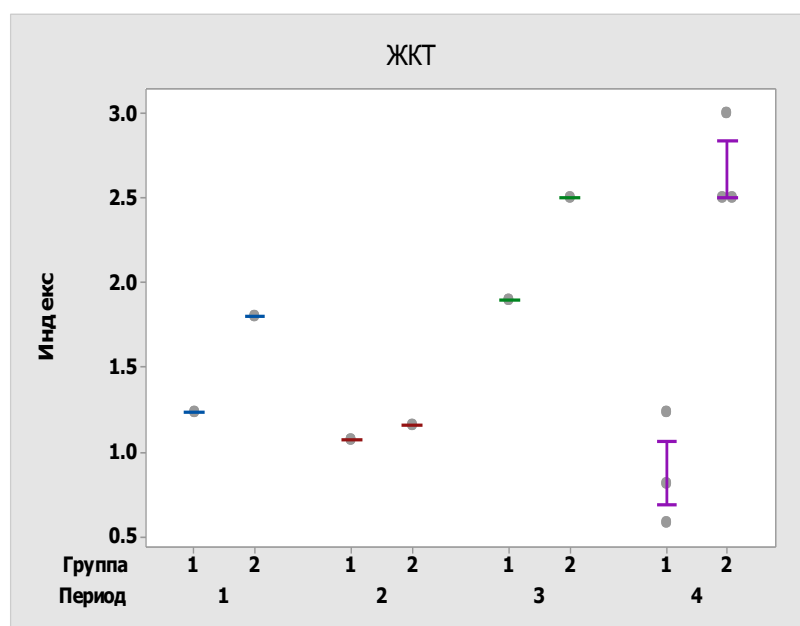


Рисунок 10 — Динамический эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 — контрольная, группа 2 — опытная. Периоды: 1 — 0–15-е сутки, прием напитка брожения с коммерческими пробиотическими штаммами; 2 — 15–60-е сутки, перерыв без приема пробиотических средств; 3 — 60–90-е сутки, прием кваса с

аутопробиотиками (с 60-х по 75-е сутки); 4 — 90–127-е сутки, без приема пробиотиков ($p < 0,05$).

4.5 Изучение кишечной микрофлоры в изоляционном эксперименте «Эскиз»

По итогам дискриминантного анализа профилей кишечной микробиоты установлены статистически значимые различия между состоянием микробиоценоза до начала эксперимента, на 7-е сутки изоляции и через 7 суток после её завершения, сопоставляя опытную группу, получавшую профилактически кефир с индивидуальными аутоштаммами, и контрольную группу без вмешательства (Рисунок 11).

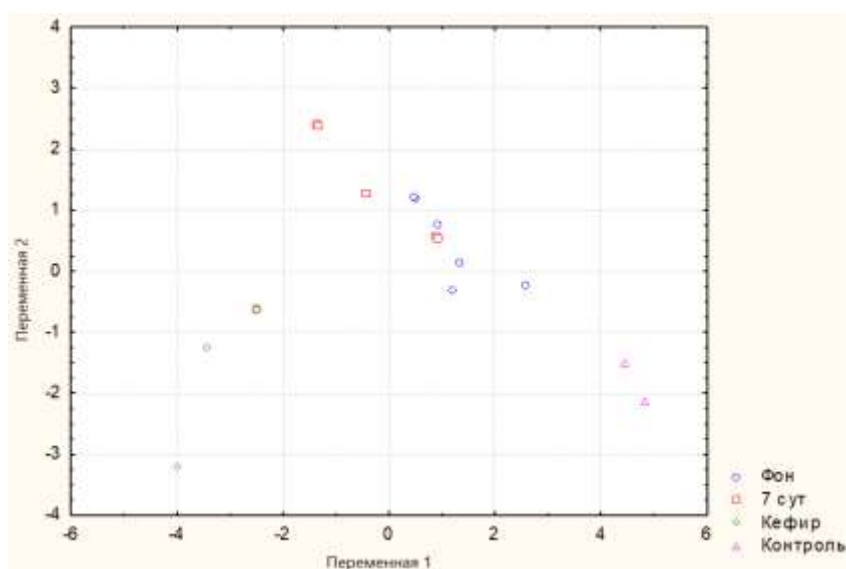


Рисунок 11 - Проекция ценозов кишечной микрофлоры в группах Фон, 7 сутки, Кефир и Контроль на первые две канонические переменные. Каждая точка соответствует одному испытуемому. Переменная 1 – статистический вклад УПМ, переменная 2 – статистический вклад протективной микрофлоры, ($p < 0,05$).

В разные временные точки эксперимента профиль кишечной микрофлоры в обеих группах отличался по нескольким таксонам (Рисунок 12). Межгрупповые статистически значимые различия на отдельных этапах пробоотбора зафиксированы для *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. и

Bifidobacterium spp. Отмечается также умеренная стабилизация уровня *Lactobacillus* spp. в опытной ветви, что указывает на небольшой положительный эффект после 7-дневного курса кефира с аутоштаммами.

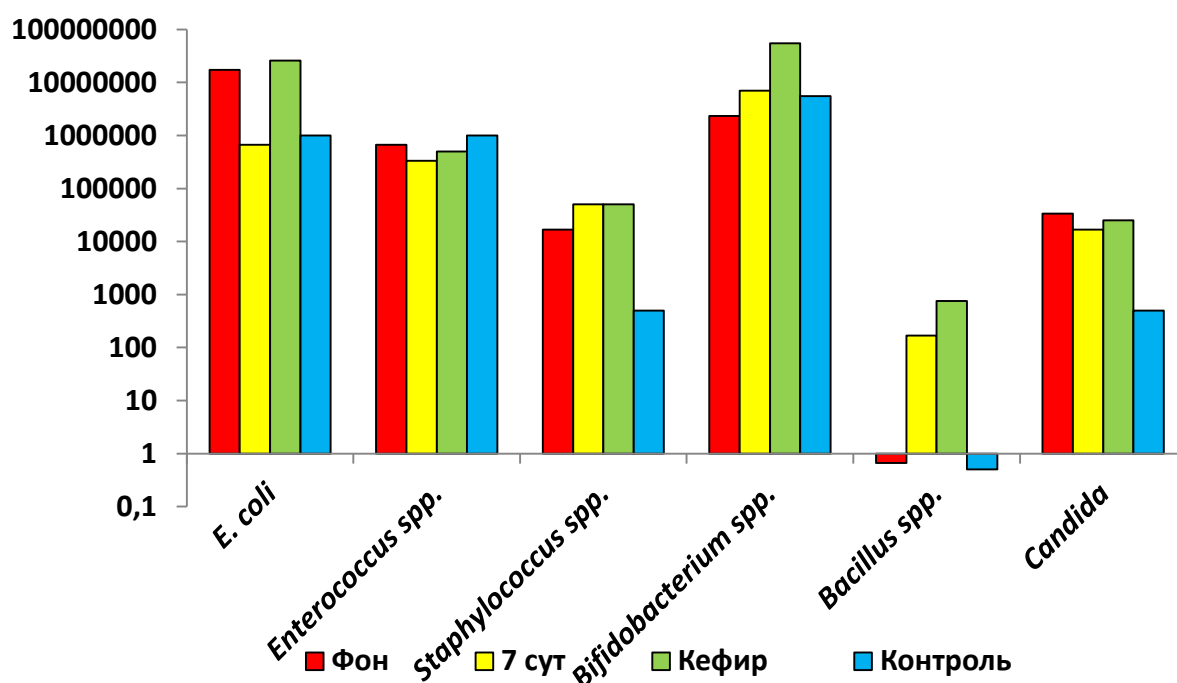


Рисунок 12 — Численность бактерий кишечной микрофлоры (КОЕ/мл) в группах Фон, 7-е сутки, Кефир и Контроль ($p < 0,05$).

Отмечено, что в контрольной группе уровень энтерококков был выше, чем у участников, получавших кефир, тогда как *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. у испытуемых на кефире встречались в больших количествах по сравнению с контролем. Вероятной причиной таких различий является присутствие соответствующих микроорганизмов в кефирной закваске; с учетом протективной роли обоих родов и их использования в качестве пробиотиков, а также на фоне стабилизации *Lactobacillus* spp., это можно расценивать как благоприятную тенденцию.

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

Цель заключалась в комплексной оценке и отработке методик длительного консервирования ассоциаций микроорганизмов из собственной микрофлоры человека для их последующего применения как пробиотических средств при длительной изоляции пациента. Сравнительный анализ состава микробных сообществ в образцах после 6-месячного хранения при -80°C не выявил существенных изменений. Таким образом, в целом можно считать, что микроорганизмы удовлетворительно перенесли указанный период низкотемпературного хранения (Рисунок 13).

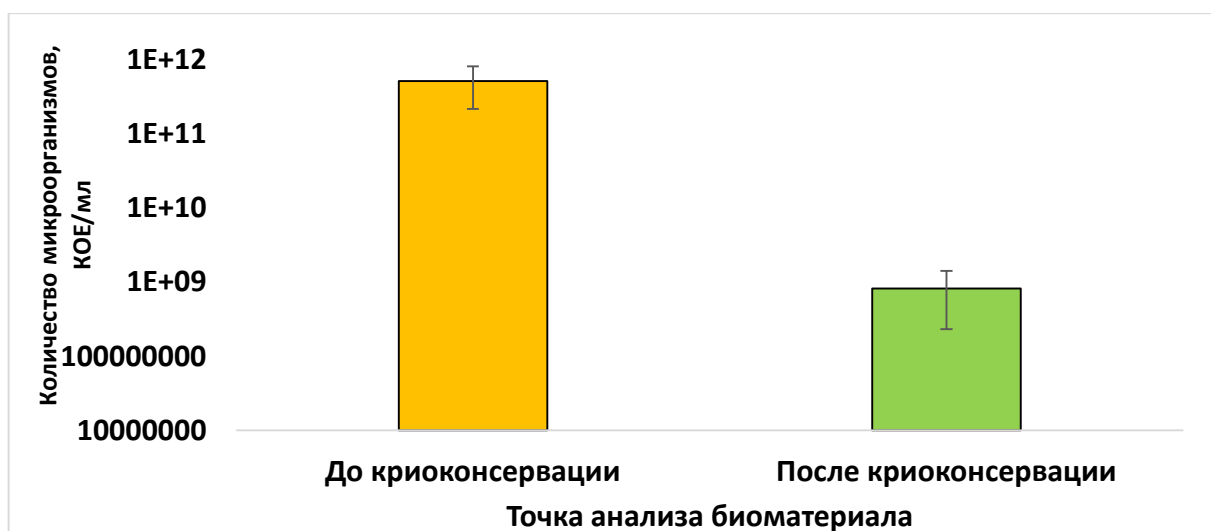


Рисунок 13 - Количество УПМ кишечной микрофлоры до и после криоконсервации образцов фекалий ($p < 0,05$).

При оценке численности сохранившихся протективных таксонов статистически значимые сдвиги выявлены лишь для *Bifidobacterium* spp. и *Escherichia coli*. Их уровни уменьшились, однако даже после снижения оставались на уровне нижней границы физиологической нормы для этих групп микроорганизмов (Рисунок 14).

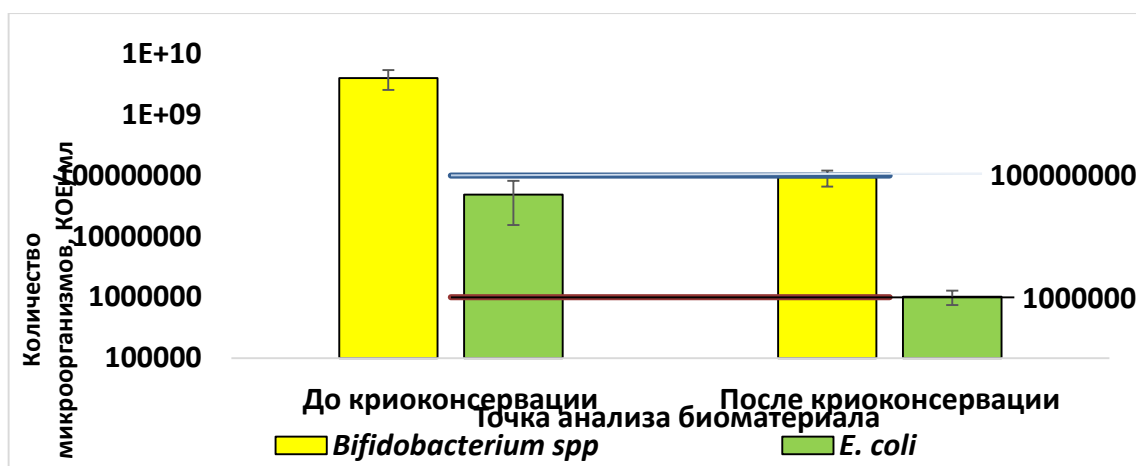


Рисунок 14. Количество бифидобактерий и кишечной палочки до и после криоконсервации образцов фекалий ($p < 0,05$).

Численность лактобацилл после криоконсервации статистически значимо не уменьшилась, что указывает на отсутствие заметного влияния хранения при -80°C на препараты из аутологичных штаммов *Lactobacillus*. Эти результаты демонстрируют возможность длительной заморозки аутопробиотических средств на основе протективных микроорганизмов с сохранением их витальных характеристик после оттаивания. Такой подход расширяет перспективы применения подобных форм для поддержания колонизационной резистентности кишечной микрофлоры в условиях продолжительных космических полетов.

4.7 Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Влияние аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.* на кишечную микрофлору в разные фазы 8-месячной изоляции (SIRIUS-21)

При оценке динамики микробиоценоза выявлены статистически значимые сдвиги по *E. coli*, *Enterobacteriaceae spp.*, *Staphylococcus haemolyticus* и *Lactobacillus spp.* (Рисунки 15, 16), при этом траектории изменений у разных добровольцев носили преимущественно индивидуальный характер. На 14-е сутки количество *E. coli* снизилось относительно фонового уровня, затем к 30-м суткам отмечен

частичный рост, что указывает на тенденцию к стабилизации на фоне приема аутопробиотика. Минимальные значения *E. coli* и энтеробактерий зарегистрированы на 90-е сутки, после чего к 180-м суткам прослеживалось умеренное увеличение; в этот период доля *Enterobacteriaceae* превышала уровень протективной кишечной палочки. Важно, что завершающий курс аутопробиотиков в конце изоляции сопутствовал остановке намечавшегося к 210-м суткам спада *E. coli*: показатели сблизились с фоновыми, особенно на 7-е сутки после выхода экипажа из гермообъекта.

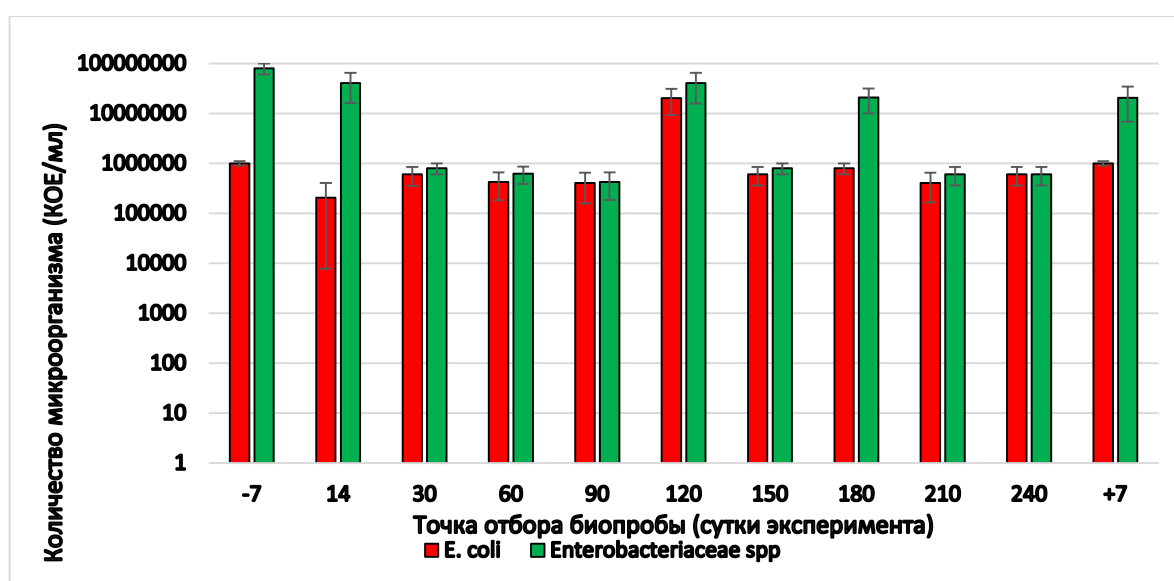


Рисунок 15 — Численность *E. coli* и *Enterobacteriaceae* spp. в кишечной микробиоте добровольцев эксперимента «Сириус-21» ($p < 0,05$).

По данным по гемолитическому стрептококку и лактобациллам отмечено, что уровень последних оставался стабильно высоким в первые 30 суток изоляции, тогда как *S. haemolyticus* уменьшался к 14-м суткам, вероятно на фоне приема аутопробиотика, затем временно возрастал, после чего снижался до порядка 10^3 КОЕ/мл и удерживался на этом низком уровне до 150-х суток. Завершающий курс аутопробиотика на базе лактобацилл также повлиял на динамику: возросший к 210-м суткам уровень гемолитического стрептококка резко упал в постизоляционный период, тогда как численность протективных лактобацилл выросла к моменту выхода из гермообъекта и оставалась высокой по крайней мере

до 7-х суток после изоляции.

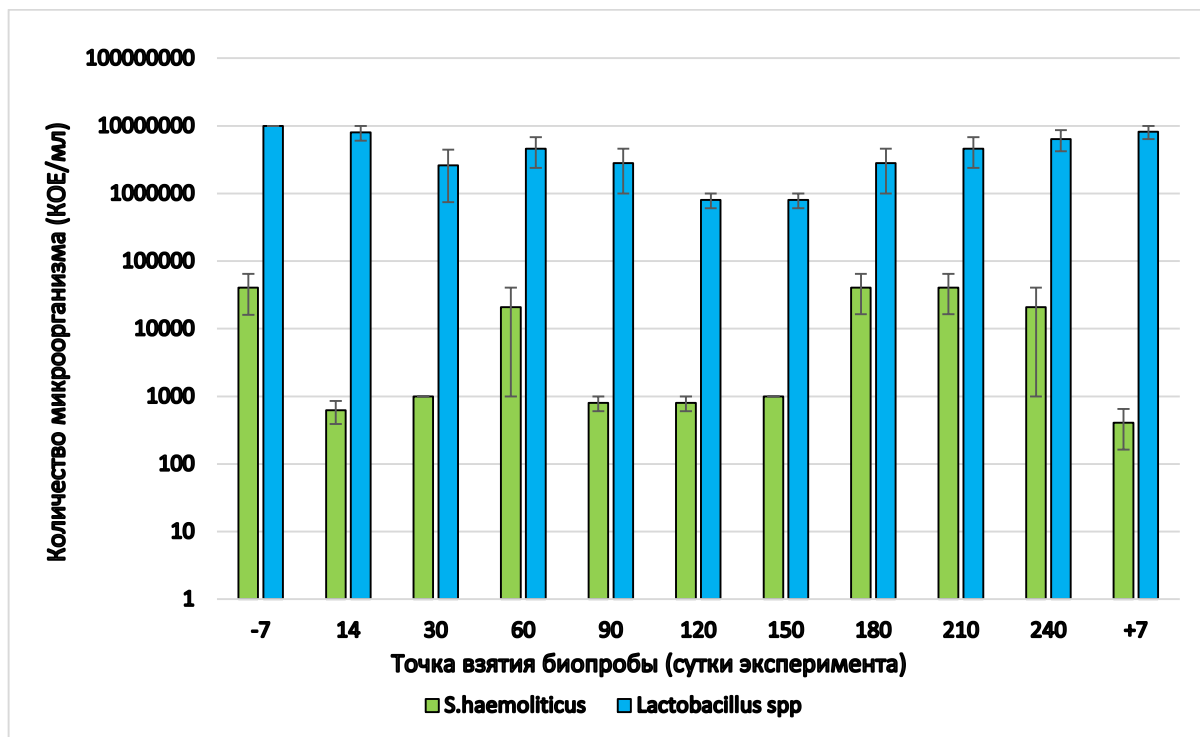


Рисунок 16 - Количество *S. haemolyticus* и *Lactobacillus* spp в кишечной микрофлоре добровольцев эксперимента Сириус-21 ($p < 0,05$).

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.

Подводя итоги, во-первых, модель вывешивания выступает выраженным стрессором, приводящим к снижению численности большинства протективных представителей кишечной микробиоты и служащим надежной платформой для проверки процессов, связанных с перераспределением жидкости в верхние отделы тела, а также для оценки профилактических мер. Применение предложенных в работе средств профилактики статистически значимо сглаживает неблагоприятные сдвиги в микрофлоре кишечника. Так, в ветви «Вывешивание + препарат КП» численность лактобацилл оставалась стабильной на протяжении всего наблюдения, что отражает стабилизирующий эффект препарата, подвергнувшегося воздействию отдельных факторов космического полета, в условиях опорной разгрузки.

Пробиотический препарат, прошедший такое воздействие, по эффективности сопоставим с обычным: к 21-м суткам снижение отметили только для *Enterococcus faecalis*. Кроме того, на 14-е сутки эубиотический индекс в группе, получавшей препарат после воздействия факторов космического полета, достигал максимальных значений для данного периода, что указывает даже на большую результативность по сравнению с необлученным вариантом. 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.

Совместный прием напитка брожения на основе сахаромисцетов с коммерческими пробиотиками и аутологичными штаммами благоприятно сказался на состоянии кишечной микрофлоры участников изоляционного эксперимента, однако эффект от аутопробиотиков оказался более выраженным и длительным по сравнению с промышленными штаммами. После курса аутопробиотиков у испытуемых опытной группы достоверно снизилась доля условно-патогенных

бактерий, тогда как сопоставимого результата при применении коммерческих штаммов не отмечалось.

В подгруппе эксперимента «Эскиз», где использовался кефир, обогащенный индивидуальными штаммами *Lactobacillus* spp., уже через 7 суток наблюдалась стабилизация уровня лактобацилл. Одновременно после недельного приема напитка численность энтерококков в контроле была выше, чем в опытной ветви, а *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. — ниже; с учетом протективной роли этих родов это расценивается как положительный сдвиг. Повышение *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в опытной группе может объясняться их присутствием в закваске, а также возможной синергией с *Lactobacillus* spp.

По результатам 8-месячного исследования SIRIUS-21 профилактический прием аутопробиотического напитка на основе лактобацилл в фазу острой адаптации (0–14-е сутки) и на завершающем этапе изоляции оказывал устойчивый стабилизирующий эффект на микробиоценоз кишечника. Титр лактобацилл оставался стабильно высоким весь период приема, а поддерживающий эффект сохранялся еще несколько недель после прекращения приема. На этом фоне уменьшалась доля условно-патогенной микрофлоры, и этот результат также удерживался в пост-приемный период.

При анализе фекальных образцов после 6-месячной криоконсервации при -80°C во всех случаях зафиксировано достоверное снижение количества УПМ, при неизменном уровне *Lactobacillus* spp. до и после хранения. Для *Bifidobacterium* spp. и *E. coli* отмечено умеренное уменьшение, однако их показатели оставались 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 антиортостатическое 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 гипоманнитная 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 пространств

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 сахаромидет 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 TLJMJJ.

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 BJXLIB.

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 NIOWSM.

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. Poinot 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: Geneve: 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 kefiranofaciens* 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-Malek 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 р.

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. Р. 17–23.

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

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Референсные значения при диагностике дисбактериоза

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

Оценка перестроек видового и количественного профиля кишечной микробиоты после 21-суточного антиорто статического вывешивания с сопоставлением трех подходов: применение пробиотика, прошедшего воздействие факторов космического полета; использование обычного пробиотика; отсутствие пробиотической поддержки.

Отдельное внимание уделено влиянию пробиотического средства, подвергшегося условиям космического полета, на темпы обратимого восстановления неблагоприятных сдвигов, индуцированных 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

Итоги анализа образцов кишечной микрофлоры при оценке действия напитков брожения на основе сахаромецетов, а также пробиотических и аутопробиотических средств для поддержания нормального состава микрофлоры у человека в условиях изоляции (SIRIUS-18/19)

№ 1901									
	норма	Фон 30.01.2019	Фон 25.02.2019	15 сутки	30 суток	60 суток	90 суток	120 сутки	+7 суток
<i>E. coli</i>	$10^6, 10^7$	10^6	10^8	-	10^6	10^6	10^6	10^6	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	10^8	10^8	10^8	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	10^7	10^7	10^7	10^7	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	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
<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>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Состояние кишечной микрофлоры 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 рPHK

Последовательности ДНК участка гена 16S рPHK

<i>Lactobacillus ruminis</i>	AGTTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTTCCAGTTTCCAATGCACTACTTCGGTTAAG CCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAGACCGCCTGCGTTCCCTTTACGCCCAATAAATC CGGACAACGCTCGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTT TCTGGTCAGATACCGTCAATACGTGAACAGTTACTCTCACGCACGTTCTTCTCTGACAAC AGAATTTTACGACCCGAAGGCCTTCTTCATTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGT CCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCC AATGTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATCACCTTGGTAGGCCGTTACCC CACCAACAAGTTAATACGCCGCAGGCCCATCCAAAAGTGACAGCAAAAAGCCGTCTTTTA CATGAACATCATGCGGTGTTTCATGGTTATGCGGTATTAGCACCTGTTTCCAAGTGTTATC CCCCTCTTTTGGGCAGGTTGCCTACGTGTTACTCACCCGTTTCGCCACTAAGCTTCTTTCGG TGAATGCAAGCATTCGGTGAAAGAAAGCTTCGTTCGACTTGCAATGTATTAGGCACGCCG CCAGC
------------------------------	---

<i>Lactobacillus vaginalis</i>	CACTCTCCCCTTCTGCACTCAAGTTAAACAGTTTCCAAAGCGTACTATGGTTAAGCCACA GCCTTTAACTTCAGACTTATCTAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGAT AACGCTCGGGACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGG TAAGTTACCGTCACAGTGTGAACTTTCCACTCTCACACTCGTTCTTCTCTTACAACAGAG CTTTACGATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCCAT TGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTG TGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTATGTATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACC AACTAGCTAATACAACGCAGGTCCATCTGGTAGTGGATGCAATTGCCCCTTTCAAGCATC AATGTCATGCAATATCTACTGTTATGCGGTATTAGCTATCGTTTCCAATAGTTATCCCCCG CTAMSAGGCAGGTTACCTACGCGTTACTCACCCGTTTCGCAACTCATCCGCTCGGTGCAAG CACCAAGCTTCAGCGTTCTACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGC
--------------------------------	--

<i>Streptococcus koreensis</i> (<i>S. parasanguinis</i>, <i>S. rubneri</i>)	CACTCTCCCCTTCTGCACTCAAGTTAAACAGTTTCCAAAGCGTACTATGGTTAAGCCACA GCCTTTAACTTCAGACTTATCTAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGAT AACGCTCGGGACCTACGTATTACCGCGGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGG TAAGTTACCGTCACAGTGTGAACTTTCCACTCTCACACTCGTTCTTCTCTTACAACAGAG CTTTACGATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCCAT TGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTG TGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTATGTATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACC AACTAGCTAATACAACGCAGGTCCATCTGGTAGTGGATGCAATTGCCCCTTTCAAGCATC AATGTCATGCAATATCTACTGTTATGCGGTATTAGCTATCGTTTCCAATAGTTATCCCCCG CTAMSAGGCAGGTTACCTACGCGTTACTCACCCGTTTCGCAACTCATCCGCTCGGTGCAAG CACCAAGCTTCAGCGTTCTACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGC
--	--

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, Ilyin, 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.

6. 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.