

БИФИДУМ-СРЕДА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИФИДОБАКТЕРИЙ

Л.В. Домотенко, А.П. Шепелин

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия

Резюме. Проведена оценка качества сухой питательной среды для культивирования и выделения бифидобактерий (Бифидум-среда) в сравнительных испытаниях со средой Блаурокка. Показано, что Бифидум-среда поддерживает типичный рост штаммов бифидобактерий пяти основных видов: *Bifidobacterium bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. longum*. При исследовании пробиотического препарата бифидумбактерина получены сопоставимые результаты по его эффективности и активности кислотообразования при использовании обеих сред. При анализе клинического материала (кал на дисбактериоз) средняя концентрация бифидобактерий составила 8,15 lg КОЕ/г на Бифидум-среде и 6,68 lg КОЕ/г на среде Блаурокка.

Ключевые слова: питательные среды, *Bifidobacterium*, бифидобактерии, выделение бифидобактерий, пробиотики.

Введение

Бифидобактерии являются анаэробными, грамположительными бактериями, которые доминируют в кишечной микрофлоре здоровых людей [10]. Наличие высокого уровня бифидобактерий в кишечнике человека предполагает их весомый вклад в здоровье человека, что привело к использованию бифидобактерий как пробиотиков. Положительный эффект бифидобактерий показан при различных заболеваниях, например, диарее, связанной с ротавирусной инфекцией и некоторыми воспалительными кишечными заболеваниями, с приемом антибиотиков и др. [14]. Существует мнение о положительной роли бифидобактерий в стимулировании иммунитета [11].

Для выделения бифидобактерий из фекалий, обнаружения и подсчета их в пробиотических продуктах широко применяется культуральный метод с использованием питательных сред. В литературе описано значительное количество прописей питательных сред для выделения и культивирования бифидобактерий [8, 12]. Среди них есть агаризованные и полужидкие питательные среды, селективные и неселективные. Агаризованные питательные

среды удобны для выделения чистой культуры микроорганизма, но при их использовании для выделения бифидобактерий требуется создание анаэробных условий и происходит снижение результатов на 1–2 порядка [7]. Полужидкие среды, разлитые в стеклянные пробирки, лишены перечисленных недостатков.

Существуют селективные среды для бифидобактерий [13, 15]. Но поскольку род *Bifidobacterium* включает более 30 видов, отличающихся значительной гетерогенностью в отношении устойчивости к противомикробным препаратам и другим ингибиторам [1], сложно разработать одну среду с высокой селективностью при сохранении хорошей степени выделения. Поэтому в лабораторной практике чаще используют неселективные питательные среды.

Основной средой, нашедшей широкое применение как при выделении бифидобактерий из фекалий, так и при контроле производства бактериальных препаратов и молочнокислых продуктов, является полужидкая печеночно-цистеиновая среда Блаурокка [4, 6]. Некоторые лаборатории клинической микробиологии выделяют бифидобактерии на тиогликолевой среде [9].

Авторы:

Домотенко Л.В., к.х.н., зав. лабораторией разработки питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Шепелин А.П., д.б.н., зам. директора по научно-производственной деятельности ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия.

Адрес для переписки:

Домотенко Любовь Викторовна
142279, Россия, Московская область, Серпуховской район, п. Оболенск,
ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора.
Тел./факс: 8 (4967) 36-00-17.
E-mail: domotenko@obolensk.org

поступила в редакцию 17.06.2014
принята к печати 27.06.2014

© Домотенко Л.В.,
Шепелин А.П., 2014

Среда Блаурокка — это среда лабораторного изготовления. Каждая лаборатория, как правило, готовит ее самостоятельно небольшими партиями, что отрицательно отражается на ее стандартности. Кроме этого, учитывая нестандартность исходного сырья — печени, которая в результате изменения окружающей среды, использования в рационе животных большого количества антибиотиков, может содержать токсичные вещества, в связи с чем становится актуальным применение коммерческих сухих питательных сред, отличающихся своей стандартностью.

В ФБУН ГНЦПМБ разработана сухая неселективная питательная среда, предназначенная для выделения и культивирования бифидобактерий — Бифидум-среда, налажен ее промышленный выпуск. В ряде публикаций описано применение Бифидум-среды для научных и диагностических целей [2, 3]. Целью настоящей работы явилась оценка свойств Бифидум-среды при работе с музейными штаммами бифидобактерий, клиническим материалом и анализе пробиотиков.

Материалы и методы

Для контроля качества питательных сред использовали тест-штаммы *B. bifidum* ATCC 11863, *B. breve* ATCC 15701, *B. adolescentis* ATCC 15706, *B. infantis* ATCC 15702, *B. longum* ATCC 15708, *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Pseudomonas aeruginosa* 27/99, *Proteus vulgaris* HX 19222, *Enterobacter aerogenes* NCTC 10006, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842, *Staphylococcus aureus* Wood-46, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГКПМ-Оболensk, а также клинические штаммы *Bifidobacterium* и производственные штаммы *B. bifidum*.

Штаммы хранили в лиофилизированном состоянии при температуре не выше 4–8°C. Перед использованием их суспензировали в стерильном 0,9 % растворе хлорида натрия и субкультивировали на среде Блаурокка в течение 20–24 ч при температуре 37±1°C, после чего готовили микробную взвесь каждого штамма по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО 42-28-86П. Полученные суспензии каждого тест-штамма десятикратными разведениями довели до разведения 10⁻⁸. Посев в питательные среды, разлитые по 9 мл в стеклянные бактериологические пробирки, производили по 1 мл. Учет результатов проводили не позднее 48 ч инкубации при температуре 37±1°C визуально по наличию типичных колоний бифидобактерий.

В качестве контрольной среды использовали среду Блаурокка лабораторного приготовления.

Качество питательных сред оценивали в соответствии с требованиями МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических пи-

тательных сред». Активность кислотообразования штаммов бифидобактерий определяли титриметрическим методом по ФС 42-3947-00 на бифидумбактерин, сухой при культивировании в опытной и контрольной средах. Кислотность выражали в градусах Тернера (°Т) и вычисляли по формуле:

$$^{\circ}\text{T} = \text{A} \times \text{K} \times 10, \text{ где}$$

А — количество миллилитров 0,1 М раствора натрия гидроксида, пошедшее на титрование 10 мл микробной суспензии;

К — поправка к титру 0,1 М раствора натрия гидроксида;

°Т — условная величина, выраженная в градусах Тернера.

Результаты и обсуждение

Оценку свойств Бифидум-среды проводили в три этапа. На первом этапе исследования изучали биологические свойства Бифидум-среды с использованием музейных штаммов бифидобактерий. На втором этапе Бифидум-среду испытывали при контроле бактериальных препаратов. Третий этап включал исследование клинического материала.

Первый этап исследований Бифидум-среды проведен с использованием 21 штамма *Bifidobacterium* пяти видов. Свойства Бифидум-среды оценивали по наибольшему разведению лиофилизированных штаммов бифидобактерий, при котором наблюдался их типичный рост через 48 ч инкубирования, а затем при втором пассаже — по интенсивности нарастания микробной массы штаммов (эффективности) через 24 ч инкубации. Сравнительные результаты исследований представлены в табл. 1. Отмечены хорошие ростовые свойства Бифидум-среды, не уступающие среде Блаурокка и позволяющие активно размножаться бифидобактериям.

Представленные в табл. 1 данные согласуются с результатами культивирования на Бифидум-среде новых запатентованных 7 штаммов *B. bifidum*, 5 штаммов *B. longum* и 3 штаммов *B. adolescentis*, предназначенных для получения бифидосодержащей продукции [5]. Показано, что все 15 штаммов активно наращивают микробную массу с высокой концентрацией бифидобактерий (8–9 lg КОЕ/мл) и высокой кислотообразующей активностью при росте как на гидролизатно-молочной питательной среде, так и Бифидум-среде.

Активность кислотообразования, то есть способность штаммов бифидобактерий накапливать кислоты в процессе культивирования, является одним из основных показателей качества производственных штаммов бифидобактерий и препаратов, приготовленных с их использованием. Проведенные эксперименты

продемонстрировали влияние качества питательной среды на интенсивность проявления кислотообразующей способности пяти штаммов бифидобактерий (табл. 2). Как видно из таблицы показатель активности кислотообразования исследованных штаммов оказался значительно ниже на тиогликолевой среде, чем на Бифидум-среде и среде Блаурокка.

Поскольку Бифидум-среда может быть использована при подготовке производственных штаммов, дальнейшие исследования были посвящены проверке сохранения биологических характеристик тест-штаммов бифидобактерий при многократных пассажах на данной среде. Как показали результаты проведенных исследований, свойства бифидобактерий не изменялись на протяжении пяти пассажей на данной среде. Все тест-штаммы выросли из разведения 10^{-7} через 24–48 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в виде единичных колоний типа «зерен», «крошек», «тяжей», «комет». Клетки тест-штаммов сохраняли свою типичную морфологию: прямые или слегка изогнутые, с булавовидными утолщениями на конце, иногда ветвящиеся и образующие цепочки.

На втором этапе исследований Бифидум-среду использовали для определения концентрации бифидобактерий в пробиотическом препарате «Бифидумбактерин» различных фирм-изготовителей и различных форм выпуска (в порошке или в таблетках). При исследовании четырех коммерческих препаратов «Бифидумбактерина» получены сопоставимые результаты по КОЕ (колониеобразующие единицы) и активности кислотообразования и на Бифидум-среде, и среде Блаурокка независимо от формы выпуска препарата (табл. 3).

Дальнейшие исследования были посвящены клиническим испытаниям Бифидум-среды. Бифидум-среду использовали при проведении исследований на дисбактериоз проб фекалий, полученных от 28 пациентов, среди которых были 19 новорожденных, 7 детей в возрасте от 1,5 до 2 лет и двух взрослых (16 и 60 лет). Как показали результаты исследований, в материале от 9 новорожденных через 24 ч инкубации роста бифидобактерий не было обнаружено ни в Бифидум-среде, ни в контрольной среде Блаурокка. Через 48 ч инкубирования рост бифидобактерий отмечен на обеих средах. У 13 пациентов концентрация бифидобактерий на Бифидум-среде была на 1–2 порядка выше, чем на контрольной среде. Содержание бифидобактерий в группе обследованных лиц составило $8,15 \lg$ КОЕ/г при посеве фекалий в Бифидум-среду и $6,68 \lg$ КОЕ/г при посеве в контрольную среду. Характерный рост бифидобактерий в виде «комет» наблюдался только в 5 пробах. В остальных случаях обнаруживалось равномерное помутнение сред. Микроскопическое

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ БИФИДУМ-СРЕДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТАММОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ

Вид	Штамм	Чувствительность/эффективность (КОЕ/мл)	
		Бифидум-среда	Среда Блаурокка
<i>B. bifidum</i>	1	$10^{-7}/8 \times 10^8$	$10^{-7}/1 \times 10^9$
	ЛВА-3	$10^{-7}/3 \times 10^8$	$10^{-8}/3 \times 10^8$
	791	$10^{-8}/4 \times 10^8$	$10^{-8}/2 \times 10^9$
	АТСС 11863	$10^{-7}/1 \times 10^8$	$10^{-7}/1 \times 10^8$
<i>B. longum</i>	В 379 М	$10^{-8}/2 \times 10^8$	$10^{-8}/6 \times 10^9$
	МС-42	$10^{-7}/2 \times 10^8$	$10^{-8}/2 \times 10^8$
	АТСС 15708	$10^{-7}/1 \times 10^8$	$10^{-7}/2 \times 10^8$
<i>B. adolescentis</i>	ГО-13	$10^{-8}/4 \times 10^8$	$10^{-8}/7 \times 10^8$
	Г 751 3	$10^{-8}/5 \times 10^7$	$10^{-9}/5 \times 10^8$
	АТСС 15706	$10^{-7}/2 \times 10^8$	$10^{-7}/1 \times 10^8$
<i>B. breve</i>	79-119	$10^{-8}/2 \times 10^9$	$10^{-8}/3 \times 10^9$
	АТСС 15701	$10^{-7}/3 \times 10^8$	$10^{-7}/2 \times 10^8$
<i>B. infantis</i>	73-15	$10^{-7}/3 \times 10^8$	$10^{-6}/5 \times 10^8$
	79-43	$10^{-8}/1 \times 10^8$	$10^{-6}/5 \times 10^8$
	АТСС 15702	$10^{-7}/2 \times 10^8$	$10^{-7}/2 \times 10^8$

исследование этих проб подтверждало наличие в них наличие бифидобактерий.

Поскольку Бифидум-среда не является селективной средой, многие микроорганизмы могут расти на ней. Однако характер роста их различен. Так, энтерококки и лактобациллы растут на среде аналогично бифидобактериям: в виде «тяжей», «комет». При культивировании *E. coli* и *E. aerogenes* происходит диффузное помутнение среды с газообразованием. *S. aureus* растет в виде диффузного помутнения в верхней части столбика среды с отрастающими вниз отдельно расположенными колониями в виде

ТАБЛИЦА 2. АКТИВНОСТЬ КИСЛОТООБРАЗОВАНИЯ ШТАММОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, °Т

Штамм	Бифидум-среда	Среда Блаурокка	Тиогликолевая среда
<i>B. bifidum</i> АТСС 11863	90±5	89±5	45±6
<i>B. longum</i> АТСС 15708	100±9	105±6	35±5
<i>B. adolescentis</i> АТСС 15706	100±8	102±13	38±4
<i>B. breve</i> АТСС 15701	106±12	108±9	53±9
<i>B. infantis</i> АТСС 15702	105±5	100±8	39±5

ТАБЛИЦА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЕ И АКТИВНОСТИ КИСЛОТООБРАЗОВАНИЯ БИФИДУМБАКТЕРИНА НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Название препарата, форма, серия, срок годности	Фирма-производитель	Бифидум-среда		Среда Блаурокка	
		КОЕ	Активность кислотообразования, °Т	КОЕ	Активность кислотообразования, °Т
Бифидумбактерин, порошок, серия 272-31013, годен до 11.14	ЗАО «Партнер»	3 × 10 ⁹ / 5 доз	150	3 × 10 ⁹ / 5 доз	115
Бифидумбактерин порошок, серия 225-2091, годен до 10.14	ЗАО «Партнер»	2 × 10 ⁹ / 5 доз	145	3 × 10 ⁹ / 5 доз	120
Бифидумбактерин лиофилизат, серия 362, годен до 01.15	ЗАО «Экополис»	2 × 10 ⁹ / 5 доз	159	1 × 10 ⁹ / 5 доз	120
Бифидумбактерин 1000, таблетки, серия 11001, от 10.2013	ООО «Экко плюс»	2 × 10 ⁵ / таблетка	59	2 × 10 ⁵ / таблетка	60

«гвоздиков». В процессе роста *P. vulgaris* наблюдается диффузное помутнение среды. Штамм *P. aeruginosa* 27/99 растет на Бифидум-среде в виде диффузного помутнения в верхней части столбика среды (рис., II обложка). Поэтому использование неселективных питательных сред, включая среду Блаурокка и Бифидум-среду, при анализе клинического материала предусматривает проведение обязательной бактериоскопии посевов. При просмотре мазков, окрашенных по Граму, учитывают разведение, при котором в мазке выявляются грамположительные палочки с типичной морфологией бифидобактерий.

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали, что Бифидум-среда может быть успешно применена и при изучении штаммов бифидобактерий, и при анализе пробиотических препаратов, и при анализе фекалий. Причем, сравнение Бифидум-среды с широко используемой печеночной средой Блаурокка не только не выявило различий в ростовых свойствах питательных сред, но и в ряде случаев обнаружило некоторые преимущества. Проведенные испытания показали возможность замены печеночной среды на коммерческую Бифидум-среду, которая выпускается в сухом виде и имеет длительный срок хранения.

BIFIDUM-MEDIUM FOR ISOLATION AND CULTIVATION OF BIFIDOBACTERIA

Domotenko L.V., Shepelin A.P.

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Abstract. The comparative evaluation of Bifidum-medium quality (the nutrient medium for cultivation and selection bifidobacteria, dry) and Blaurock medium has been performed. It was shown that Bifidum-medium supports the typical growth of the main types of bifidobacteria: *Bifidobacterium bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. longum*. The comparable results for the efficacy and the activity accumulation of acid were obtained in the study of probiotic «bifidumbacterin» using both media. In studies of faecal material the medium concentration of bifidobacteria was found 8.15 lg CFU/g on Bifidum-medium and 6.68 lg CFU/g on Blaurock medium.

Key words: nutrient media, *Bifidobacterium*, bifidobacteria, isolation of bifidobacteria, probiotics.

Authors:

Domotenko L.V., PhD (Chemistry), Head of Nutrient Media Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology; 142279, Russian Federation, Moscow region, Obolensk; Phone/fax: 8 (4967) 36-00-17.

E-mail: domotenko@obolensk.org

Shepelin A.P., PhD, MD, Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russian Federation.

Список литературы/References

1. Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Тетерина И.С. Экспериментальное изучение чувствительности микроорганизмов пробиотиков к антибактериальным препаратам. Экспер. и клин. гастроэнтерология. 2011. № 9. С. 102–107. [Darmov I.V., Chicherin I.Yu., Pogorel'skiy I.P., Lundovskikh I.A., Teterina I.S. Eksperimental'noe izuchenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov probiotikov k antibakterial'nym preparatam [Experimental study of the sensitivity for probiotics microorganisms to antibiotics]. *Eksper. i klin. gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2011, no. 9, pp. 102–107].
2. Маградзе Е.И., Шубина И.В., Семакина С.А., Марков В.Н. Зависимость динамики роста бактерий вида *Escherichia coli* от параметров предварительного совместного культивирования с бактериями вида *Bifidobacterium bifidum* // Вестник Удмуртского университета. 2005. № 10. С. 57–64. [Magradze E.I., Shubina I.V., Semakina S.A., Markov V.N. Zavisimost' dinamiki rosta bakteriy vida *Escherichia coli* ot parametrov predvaritel'nogo sovmestnogo kul'tivirovaniya s bakteriyami vida *Bifidobacterium bifidum* [Dependence of the growth dynamics of *Escherichia coli* on the parameters of the prior co-culture with *Bifidobacterium bifidum*]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta = Bulletin of Udmurt University*, 2005, no. 10, pp. 57–64].
3. Метод определения бифидобактерий в пищевых продуктах. МЗ Республики Беларусь. Рег. № 071-0210. Введен 19 марта 2010 г. [Metod opredeleniya bifidobakteriy v pishchevykh produktakh. MZ Respubliki Belarus'] Method for determination of the bifidobacteria in foods. Ministry of Health of the Republic of Belarus]. Reg. # 071-0210, Introduced in March 19, 2010.
4. Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах // Методические указания. МУК 4.2.999-00. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. 13 с. [Opredelenie kolichestva bifidobakteriy v kislomolochnykh produktakh // Metodicheskie ukazaniya. MUK 4.2.999-00 [Determination of the bifidobacteria number in dairy products. Methodological guidance. MUK 4.2.999-00]. Moscow: Federal Center for Sanitary Inspection Ministry of Health of RF, 2000, 13 p.].
5. Патент РФ №№ 2427626, 2427627, 2427628, 2427629, 2427630, 2427631, 2427632, 2427633, 2427634, 2427635, 2427636, 2427637, 2427638, 2427639, 2427640. Штамм *Bifidobacterium bifidum*, используемый для получения бифидосодержащей продукции: 2010. Опубл. 27.08.2011, Бюл. № 24. [Htamm *Bifidobacterium bifidum*, ispol'zuemyy dlya polucheniya bifidosoderzhashchey produktsii: 2010. [Strain of *Bifidobacterium bifidum*, used for bifidoproduction: 2010]. RF Patent ## 2427626, 2427627, 2427628, 2427629, 2427630, 2427631, 2427632, 2427633, 2427634, 2427635, 2427636, 2427637, 2427638, 2427639, 2427640. Publ. 27.08.2011, Bull. no. 24].
6. Продукты кисломолочные, обогащенные бифидобактериями бифидум. Технические условия: ГОСТ Р 52687-2006. Введ. 27.12.2006. М.: Стандартинформ, 2007. 43 с. [Produkty kislomolochnye, obogashchennye bifidobakteriyami bifidum. Tekhnicheskie usloviya: GOST R 52687-2006. Vved. 27.12.2006. M.: Standartinform, 2007, 43 p.].
7. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника // Информационное письмо. СПб., 2002. 31 с. [Sovershenstvovanie metodov diagnostiki disbakterioza tolstogo kishechnika [Improvement of diagnostic methods of colon dysbiosis]. Newsletter, St. Petersburg, 2002, 31 p.].
8. Терновская Л.Н., Калинина Т.Э., Суханова С.М., Гапон М.Н. Питательная среда для выделения и культивирования бифидобактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. № 6. С. 124–125. [Ternovskaya L.N., Kalinina T.E., Sukhanova S.M., Gapon M.N. Pitatel'naya sreda dlya vydeleniya i kul'tivirovaniya bifidobakteriy [Medium for isolation and cultivation bifidobacteria]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2011, no. 6, pp. 124–125].
9. Юринова Г.В., Попкова С.М., Немченко У.М., Андрухова В.Я., Серых Т.А., Иванова Е.И. Качественная характеристика бифидосодержащих продуктов функционального питания на молочной основе как корректоров микроэкологических нарушений // Современные наукоемкие технологии. 2010. № 10. С. 32. [Yurina G.V., Popkova S.M., Nemchenko U.M., Andrukova V.Ya., Serykh T.A., Ivanova E.I. Kachestvennaya kharakteristika bifidosoderzhashchikh produktov funktsional'nogo pitaniya na molochnoy osnove kak korrektorov mikroekologicheskikh narusheniy [Qualitative characteristic of the bifido-containing products for the functional food based on milk as proofreaders of micro ecological violations]. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii = Modern High Technologies*, 2010, no. 10, p. 32].
10. Biavati B., Vescovo M., Torriani S., Bottazzi V. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Ann. Microbiol.*, 2000, vol. 50, pp. 117–131.
11. Menard O., Butel M.-J., Gaboriau-Routhiau V., Waligora-Dupriet A.-J. Gnotobiotic mouse immune response induced by *Bifidobacterium* sp. strains isolated from infants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, vol. 74, pp. 660–666.
12. Methods for the official control of probiotics used as feed additives, final report SMT4-CT98-2235, vol. 2. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2002, 157 p.
13. Nebra Y., Blanch A.R. A New Selective Medium for *Bifidobacterium* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, vol. 65, pp. 5173–5176.
14. Picard C., Fioramonti J., Francois A., Robinson T., Neant F., Matuchansky C. Review article: bifidobacteria as probiotic agents — physiological effects and clinical benefits. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2005, vol. 22, pp. 495–512.
15. Tharmaraj N. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionibacteria. *J. Dairy Sci.*, 2003, vol. 86, pp. 2288–2296.

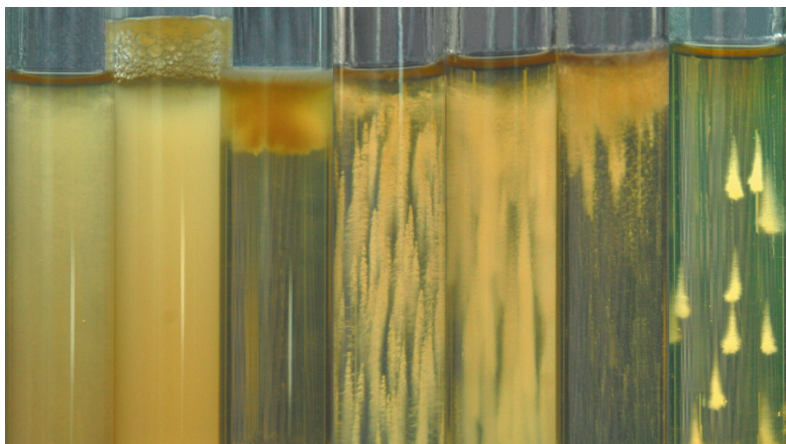


Рисунок. Рост тест-штаммов (слева направо) *Proteus vulgaris* HX 19222, *Enterobacter aerogenes* NCTC 10006, *Pseudomonas aeruginosa* 27/29, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842, *Staphylococcus aureus* Wood-46, *Bifidobacterium adolescentis* ATCC 15706 на Бифидум-среде через 24 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$