

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.932-078.33

Уткин Д.В., Осина Н.А., Спицын А.Н., Киреев М.Н., Громова О.В., Захарова Т.Л., Найденова Е.В., Куклев В.Е.

**РАЗРАБОТКА БИОЧИПА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРОТИВОХОЛЕРНЫХ АНТИТЕЛ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», 410005, Саратов

*Для определения содержания антител (АТ) к возбудителю холеры *Vibrio cholerae* в сыворотке крови человека при проведении серологической диагностики традиционно применяют развернутую реакцию агглютинации. Время постановки анализа при этом составляет 18 ч. Для сокращения времени обнаружения АТ разработан биологический микрочип (биочип). Биочип представляет собой активированное предметное стекло с иммобилизованными корпускулярными и растворимыми антигенами возбудителя холеры (О-антигены, холерный токсин). В результате экспериментальной работы разработана схема биочипа, подобраны оптимальные условия сорбции и проведения иммунологического анализа на биочипе. С помощью биочипа выявлены специфические АТ к антигенам возбудителя холеры в коммерческих, экспериментальных сыворотках животных и сыворотках крови от больных людей. Время постановки анализа составило 2–3 ч. Результаты подтверждены бактериологическими и серологическими методами.*

Ключевые слова: биологический микрочип; иммуночип; *Vibrio cholerae*.

Utkin D.V., Osina N.A., Spitsin A.N., Kireev M.N., Gromova O.V., Zakharova T.L., Naidenova E.V., Kuklev V.E.

THE DEVELOPMENT OF BIOCHIP TO DETECT ANTI-CHOLERA ANTIBODIES IN HUMAN BLOOD SERUM

The Russian anti-plague research institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, 410 005, Saratov, Russia

*The full-scaled agglutinating immunoassay is commonly applied to detect content of antibodies to cholera agent *Vibrio cholerae* human in blood serum under application of serological diagnostic. The time of analysis implementation amounts to 18 hours. To shorten time of detection of antibodies a biological microchip (biochip) was developed. The biochip represents an activated slide with immobilized corpuscle and soluble antigen cholera agent (O-antigens, cholera toxin). The experimental work resulted in development of scheme of biochip and selection of optimal conditions of sorption and implementation of immunologic analysis using biochip. The application of biochip facilitated to detect specific antibodies to antigens of cholera agent in commercial experimental animal serums and blood serums of ill patients. The time of analysis implementation amounted to 2-3 hours. The results are substantiated by bacteriological and serological methods.*

Key words: biological microchip; immunochip; *Vibrio cholerae*.

Холера – острое инфекционное заболевание человека, вызываемое бактериями вида *Vibrio cholerae*, характеризующееся тенденцией к эпидемическому распространению. В настоящее время сохраняется угроза заноса возбудителя холеры на территорию из эндемичных районов. Подтверждением тому являются заносы холеры в Башкортостан (2004, 2008 гг.), Мурманскую (2006 г.), Тверскую (2005 г.), Ростовскую (2005 г.) области и Москву (2005, 2010 гг.). Формирование эндемичных очагов холеры в ряде стран Азии и Африки, наличие предпосылок к развитию эпидемий (природные и социальные условия, военные конфликты, экономическая и политическая нестабильность) определяют в целом неустойчивую эпидемическую обстановку в мире [1].

При проведении оперативного эпидемиологического анализа и ретроспективной диагностики холеры важное значение имеют методы серологической диагностики. Для серодиагностики холеры применяют иммунологические методы, направленные на выявление в сыворотке крови переболевших больных, вибрионосителей и вакцинированных специ-

фических антител (АТ). Для определения специфического уровня АТ применяют развернутую реакцию агглютинации исследуемых сывороток с 3-часовой бульонной культурой *V. cholerae*, выделенной в данном очаге, или со штаммами холерных вибрионов сероваров Огава, Инаба и серогруппы O139 [2]. Учет результатов осуществляют через 18 ч. Длительное время анализа и низкая производительность ставят актуальной задачу создания тест-систем нового поколения, обеспечивающих высокую производительность анализа, получение ответа в более короткие сроки.

В последнее десятилетие существенное развитие получила технология анализа сложных биологических систем с помощью биологических микрочипов (биочипы). При их создании сочетаются принцип миниатюризации и многофакторного анализа. Принцип миниатюризации приводит к повышению производительности исследований и снижению себестоимости анализа. Принцип многофакторности повышает достоверность результатов анализа.

Для идентификации и типирования возбудителя холеры предложен ряд биочипов на основе олигонуклеотидных зондов – ДНК-чипов [3–5]. Данные о разработке биочипов на основе антигенов (иммуночипы) для серодиагностики холеры отсутствуют.

Цель данной работы – разработка биочипа для выявления АТ к антигенам возбудителя холеры и оценка его специфичности.

Для корреспонденции:

Уткин Денис Валерьевич, науч. сотр.

Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46

E-mail: rusrap@microbe.ru

Материалы и методы. Используемые антигены. В качестве специфических антигенов при конструировании биочипа использовали растворимые О-антигены и корпускулярные антигены *V. cholerae* и холерный токсин.

Растворимые О-антигены *V. cholerae* штаммов М41 (серогруппы О1 серовара Огава), 569В (серогруппы О1 серовара Инаба) и МО45 (серогруппы О139) получали методом ультрафильтрации культуральной жидкости и гель-фильтрации [6]. Бульонную культуру штаммов выращивали в течение 10 ч на бульоне Хоттингера методом глубинного культивирования с аэрацией и подкормкой глюкозой и аммиаком при температуре 37°C, выдерживали в течение 30 сут. Затем культуру центрифугировали при температуре 5°C со скоростью 10 500 об/мин. В центрифугат добавляли формалин до конечного содержания 0,25%. Мембранную ультрафильтрацию формализованного центрифугата производили на автоматизированной установке АУФ-01 (Нижний Новгород) через полые волокна из стекловолокна, пропускающие частицы молекулярной массой 100 кД и менее. Гель-фильтрацию проводили на колонке с TSK-гелем (35 x 2 см) HW-60 ("Toyo Soda", Япония). Элюцию вели фосфатным буфером М/150, рН 7,2. О-антиген выходил в первом пике. Затем элюированный материал диализовали и лиофилизировали.

Корпускулярные антигены получали путем инактивации взвесей холерных вибрионов серогруппы О1 сероваров Огава (штамм *V. cholerae* 33 Дакка), Инаба (штамм *V. cholerae* 569В) и серогруппы О139 (штамм *V. cholerae* Р-16064) кипячением в течение 30 мин в соответствии с СП 1.3.1285-03 [7]. Бактериальные взвеси клеток готовили в 2 мл 0,9% раствора хлорида натрия в концентрации, соответствующей 10 единиц отраслевого стандартного образца мутности (ОСО 42-28-59-85П (10 МЕ), ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), эквивалентной концентрации $2 \cdot 10^9$ м.к/мл *V. cholerae*.

Штаммы *V. cholerae* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» (Саратов).

Для выявления антигенных АТ применяли холерный токсин (экспериментальная серия 42-28-01-07-08). Для получения холерного токсина использовали бульонную культуру холерного вибриона штамма 569В (безмикробный центрифугат после стерилизующей мембранной фильтрации). Холерный токсин осаждали добавлением в фильтрат соляной кислоты до 18,5% в присутствии гексаметафосфата натрия (рН 4,3). Осаждение проводили при комнатной температуре и постоянном перемешивании в течение 2 ч. Затем фильтрат центрифугировали и полученный осадок растворяли в фосфатном буфере (рН 7,0) и диализовали сутки против фосфатного буфера (рН 7,0) при температуре 4°C. Затем при помощи ионообменной хроматографии на фосфоцеллюлозе отделяли холерный токсин от примесей. Фракции второго пика собирали, добавляли азид натрия до конечной концентрации 0,02% и диализовали против 0,9% раствора хлорида натрия.

Приготовление иммуносорбента на активированных подложках. Для изготовления биочипа использовали стеклянные эпокси-, amino- и альдегидмодифицированные подложки размером 25 x 75 мм с низким уровнем флюоресценции (ООО "Биочип-ИМБ", Россия). Активированная поверхность обеспечивала ковалентное связывание иммобилизуемых белков со стеклом.

Антигены наносили на активированные подложки методом контактной печати с помощью персонального мини-плоттера "Хаст Microarrayer" ("LabNEXT", США). Корпускулярные антигены разводили в соотношении 1:1 в буфере для печати (1 мкл фосфатно-солевой буфер, 5% глицерин, 0,01% твин-20) в конечной концентрации $1 \cdot 10^9$ м.к/мл в буфере и сорбировали в трех повторах на активированных стеклах. Растворимые антигены разводили в буфере для печати до конечной концентрации 0,5–1 мг/мл. Каждому антигену соответствовало индивидуальное пятно диаметром 0,35 мм. При печати набор антигенов группировали в виде 16 идентичных зон на одном стекле с расстоянием 9 мм между центрами зон. Один биочип рассчитан на тестирование 16 образцов (см.

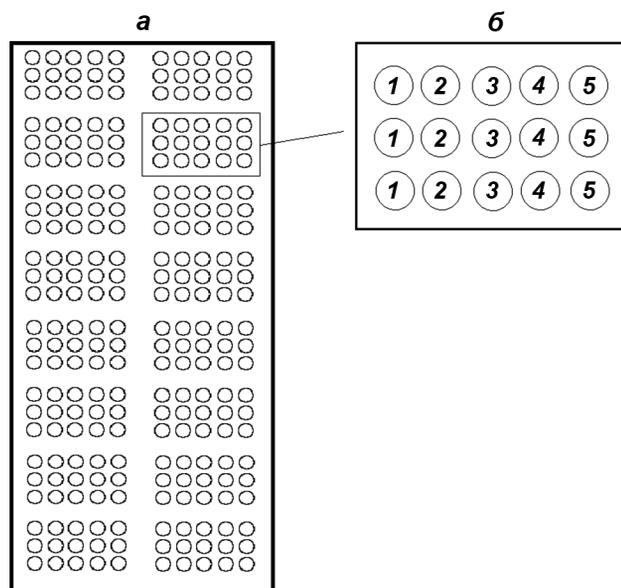


Схема иммуночипа (а) и зоны исследования одного образца (б).

1 – антиген О *V. cholerae* серовара Огава; 2 – антиген О *V. cholerae* серовара Инаба; 3 – антиген О *V. cholerae* О139; 4 – холерный токсин; 5 – отрицательный контроль (буфер для печати).

рисунок). Сорбцию антигенов проводили в течение 1 ч при температуре 37°C. Свободные сайты связывания поверхности стекла блокировали 0,5% раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) в течение 1 ч при температуре 25°C. Затем каждое стекло помещали в 50 мл центрифужную пробирку (кат. № SCT-50ML-25-S, "Axygen", США) и центрифугировали на лабораторной центрифуге "Laboratory Centrifuge LMC-3000" ("BioSan", Латвия) в течение 1 мин при скорости вращения ротора 1000 об/мин для удаления жидкости с поверхности биочипа. Стекла с иммобилизованными антигенами хранили при температуре 4°C до использования.

Исследуемый материал. Оптимизацию условий для иммобилизации антигенов и проведения анализа осуществляли с применением панели специфических сывороток производства ФКУЗ «РосНИПЧИ "Микроб"»: сывороток диагностических холерных адсорбированных О1 (рег. уд. № ФСР 2007/00468), Огава, Инаба (рег. уд. № ФСР 2007/00467), О139 (рег. уд. № ФСР 2008/03209), сыворотки против холерного токсина (экспериментальная серия, ФКУЗ «РосНИПЧИ "Микроб"»). В качестве отрицательного контроля использовали шигеллезную типовую сыворотку производства ФГУП "Санкт-Петербургский НИИ вакцин и вывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов".

Для оценки специфичности биочипа использовали сыворотки крови людей с подтвержденным диагнозом холеры.

В качестве контрольной панели использовали сыворотки крови здоровых людей.

Для инактивации комплемента сыворотки инкубировали в течение 30 мин при температуре 56°C согласно МУК 4.2.2218-07 [3].

Схема проведения анализа на иммуночипе. Для исключения контаминации разных образцов на биочип накладывали 16-луночную инкубационную камеру "16 Well Array Incubation Chamber" (кат. № 10486046, «Whatman», Великобритания), разделяющую биочип на 16 лунок, соответствующих 16 зонам, сформированным при печати. Затем биочип фиксировали в рамке-держателе "FAST Frame Multi-Slide Plate" (кат. № 10486001, «Whatman», Великобритания) для анализа четырех биочипов или "Chip Clip™"

(кат. № 10486081, "Whatman", Великобритания) для анализа одного биочипа.

Принцип работы иммуночипа построен на непрямом методе выявления специфических АТ к возбудителю холеры с помощью флюоресцентной детекции.

Перед проведением анализа биочип отмывали от несвязавшегося БСА. Для этого в каждую лунку вносили по 100 мкл фосфатно-солевого буфера, биочип помещали в термощейкер "Thermo-Shaker PST-60HL" ("BioSan", Латвия) и инкубировали в течение 2–3 мин при температуре 37°C при скорости вращения платформы 500 об/мин. Процедуру повторяли.

Исследуемую сыворотку титровали двукратно от 1:10 до 1:1280 в буфере для образца (1 мкм фосфатно-солевой буфер, 0,05% твин-20) с добавлением 0,5% БСА и вносили по 100 мкл в лунки биочипа. Иммуночипы инкубировали с сыворотками в течение 30 мин при температуре 37°C на термощейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин. После инкубации иммуносорбент дважды отмывали буфером в течение 2–3 мин при температуре 37°C на термощейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин. Затем в лунки биочипа вносили по 100 мкл конъюгата из набора "Labeled Goat Anti-Human IgG and IgM Antibodies" ("Invitrogen", США) – антивидовых козых АТ, меченных флюоресцентным красителем Alexa Fluor 633 (кат. № A-21091, "Invitrogen", США), для выявления IgG или Alexa Fluor 647 (кат. № A-21249, "Invitrogen", США) для выявления IgM в рабочем разведении 1:1000. Далее иммуночипы инкубировали 30 мин при температуре 37°C на термощейкере при скорости вращения платформы 500 об/мин. После инкубации иммуносорбент дважды отмывали буфером и промывали дистиллированной водой. Высушивание биочипа осуществляли путем центрифугирования в 50 мл центрифужных пробирках в течение 1 мин при скорости вращения ротора 1000 об/мин. Биочип вынимали из пробирки и проводили его сканирование.

Для исключения ошибок при проведении анализа в пределах одного биочипа включали один положительный контроль (смесь коммерческих сывороток холерных O1 и O139) и один отрицательный контроль (буфер).

Учет результатов. Результаты тестирования сывороток регистрировали с помощью флюоресцентного сканера «GenePix 4100A» ("Molecular Devices", США) с использованием программы обработки и анализа результатов "GenePix Pro 6.0" ("Molecular Devices", США). Учет проводили при длине волны 635 нм. Для каждого пятна биочипа определяли абсолютное значение флюоресценции при фиксированном диаметре пятна 0,35 мм.

Результаты и обсуждение. Алгоритм интерпретации данных выработали на основе контрольной панели сывороток здоровых людей. В результате предложен алгоритм, в основе которого лежит расчет коэффициента позитивности сыворотки как отношения сигнала флюоресценции исследуемого образца к уровню флюоресценции отрицательного контроля. Результат считали положительным при превышении данного коэффициента 2,5.

На первом этапе провели оценку различных видов подложек для конструирования биочипа. В результате установили, что наилучшими качественными характеристиками для проведения иммунологического анализа отличаются аминотифицированные подложки с максимальной сорбцией антигенных препаратов и флюоресценцией при специфическом взаимодействии, низким уровнем фоновой флюоресценции и неспецифического связывания компонентов иммунной реакции.

Установили, что уровень флюоресценции при использовании растворимых и корпускулярных антигенов одинаков, что позволяет использовать растворимые и корпускулярные антигены при конструировании биочипа.

По результатам тестирования биочипа с коммерческими адсорбированными сыворотками продемонстрирована 100% специфичность иммуночипа и используемых антигенов.

Биочип позволил выявить наличие в коммерческих сыворотках специфических АТ к антигенам возбудителя холеры серогруппы O1 с определением серовара (Огава, Инаба), серогруппы O139, холерному токсину; определить титр и класс специфических АТ. Так, в сыворотке холерной O1 обнаружили АТ класса G к антигену O1 *V. cholerae* в титре 1:3200, в сыворотке холерной Огава – АТ к антигену О Огава в титре 1:800, в сыворотке холерной Инаба – АТ к антигену О Инаба в титре 1:400, в сыворотке холерной O139 – АТ к антигену O139 в титре 1:100, в антитоксической сыворотке – АТ к холерному токсину в титре 1:100. В сыворотке холерной RO и шигеллезной сыворотке присутствие специфических АТ не выявили.

Провели оценку применения биочипа для выявления противохолерных АТ в сыворотке крови человека. Использовали сыворотки крови больных людей с подтвержденным бактериологическими методами диагнозом холеры. При анализе сывороток крови выявили АТ класса G к антигенам *V. cholerae* Огава в разведении 1:1280, АТ класса М к антигенам *V. cholerae* Огава в разведении 1:160, АТ класса G к холерному токсину в разведении 1:160.

По данным бактериологического анализа у больных выделена культура *V. cholerae*, агглютинирующаяся коммерческими холерными сыворотками O1 и Огава в титрах 1:1600 и 1:400 соответственно, что подтверждает результаты анализа на биочипе.

Заключение. Разработан биочип для выявления АТ к антигенам возбудителя холеры. Продемонстрирована 100% специфичность используемых при конструировании биочипа антигенов. Эффективность проведения анализа на биочипе подтверждена при исследовании сывороток больных и здоровых людей.

Тест-система в формате иммуночипа с отдельно нанесенными специфическими антигенами позволяет получить подробную информацию по спектру выявляемых АТ (определение класса АТ) и проследить динамику инфекционного процесса. Преимуществом иммуночипа является применение его как в скрининговых, так и в подтверждающих серологических исследованиях. Технология изготовления иммуночипов дает возможность сократить время анализа с 18 до 2–3 ч и уменьшить объем исследуемых образцов с 600 до 20 мкл по сравнению с таковыми при традиционной реакции агглютинации. Технология биочипов определяет возможность автоматизации проведения анализа и отсутствие субъективности при учете результатов.

Работа выполнена в рамках НИР «Конструирование средств лабораторной диагностики опасных инфекций с использованием технологий биочипов» (шифр 31-2-08, № гос. регистрации 0120.0804515).

ЛИТЕРАТУРА

1. Письмо Роспотребнадзора от 06.04.2012 № 01/3540-12-32 «Об эпидемиологической ситуации по холере в мире и прогнозе заболеваемости холерой на 2012 год». Available at: http://rosпотребнадзор.ru/rss_all/-/asset_publisher/Kq6J/content/id/1211733/.
2. Лабораторная диагностика холеры: Методические указания МУК 4.2.2218-07. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2007.
3. Jin Da-Zhi, Xu Xiao-Jing, Chen Su-Hong, Wen Si-Yuan, Ma Xue-En, Zhang Zheng et al. Detection and identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and *Vibrio cholerae* O139 using oligonucleotide microarray. *Infectious Agents and Cancer*. 2007; 2: 23–33.
4. Panicker G., Call D.R., Bej A.K. Detection of Pathogenic *Vibrio* spp. In Shellfish by Using Multiplex PCR and DNA Microarrays. *Appl. and Environmental Microbiology*. 2004; 70 (12): 7436–44.
5. Vora G.J., Meador C.E., Bird M.M., Bopp C.A., Andreadis J.D., Stenger D.A. Microarray-based detection of genetic heterogeneity, antimicrobial resistance, and the viable but nonculturable state in human pathogenic *Vibrio* spp. *PNAS*. 2005; 102 (52): 19 109–14.

6. Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Киреев М.П., Федорова В.А., Аленкина Т.В. и др. Новый способ получения О-антигена холерного, очищенного с целью создания холерных диагностических антисывороток. *Биотехнология*. 2002; 2: 42–6.
7. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285–03. *Бюллетень нормативных и методических документов*. М.: Госсанэпиднадзор; 2003; 3 (13): 61–144.

REFERENCES

1. Letter of Rospotrebnadzor from 06.04.2012 № 01/3540-12-32 "On the epidemic situation of cholera in the world and to predict the incidence of cholera in 2012". Available at: http://rospotrebnadzor.ru/rss_all/-/asset_publisher/Kq6J/content/id/1211733/ (in Russian).
2. Laboratory diagnosis of cholera: Methodical instructions MUK 4.2.2218–07. Moscow: Federal'nyy tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2007. (in Russian)
3. Jin Da-Zhi, Xu Xiao-Jing, Chen Su-Hong, Wen Si-Yuan, Ma Xue-En, Zhang Zheng et al. Detection and identification of enterohemorrhagic

- Escherichia coli* O157:H7 and *Vibrio cholerae* O139 using oligonucleotide microarray. *Infectious Agents and Cancer*. 2007; 2: 23–33.
4. Panicker G., Call D.R., Krug M.J., Bej A.K. Detection of Pathogenic *Vibrio* spp. In Shellfish by Using Multiplex PCR and DNA Microarrays. *Appl. and Environmental Microbiology*. 2004; 70 (12): 7436–44.
5. Vora G.J., Meador C.E., Bird M.M., Bopp C.A., Andreadis J.D., Stenger D.A. Microarray-based detection of genetic heterogeneity, antimicrobial resistance, and the viable but nonculturable state in human pathogenic *Vibrio* spp. *PNAS*. 2005; 102 (52): 19 109–14.
6. Gromova O.V., Dzhaparidze M.N., Dyatlov I.A., Kireev M.P., Fedorova V.A., Alenkina T.V. et al. A new method of obtaining O-antigen of cholera and purified with the purpose of creation of cholera diagnostic antiserum. *Biotekhnologiya*. 2002; 2: 42–6. (in Russian)
7. Safety of work with microorganisms of I-II groups of pathogenicity. Sanitary-epidemiological rules SP 1.3.1285-03. *Bulleten' normativnykh i metodicheskikh dokumentov*. Moscow: Gossanepidnadzor; 2003; 3 (13): 61–144. (in Russian)

Поступила 26.03.14

Received 26.03.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 579.873.13:579.253:615.281

Беляева Е.А.¹, Червинец Ю.В.¹, Червинец В.М.¹, Трошин А.В.¹, Миронов А.Ю.², Незаметдинова В.З.³, Аверина О.В.³, Даниленко В.Н.³

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ РОДА *BIFIDOBACTERIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖИТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГИОНА РОССИИ

¹ГБОУ ВПО «Тверская ГМА» Минздрава России, 170100, Тверь; ²ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва; ³«Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН, 119991, Москва

Из 156 образцов фекалий, полученных от здоровых коренных жителей Центрального региона России, сформирована коллекция из 87 штаммов бифидобактерий, из которых отобрано 5 штаммов с широкой антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. Отобранные штаммы характеризуются высоким пробиотическим потенциалом; обладают адгезивными свойствами и чувствительностью к антибиотикам и химиопрепаратам, соответствующими основным требованиям общих фармакопейных статей к штаммам микроорганизмов, используемых в производстве пробиотиков для медицинского применения. Данные штаммы бифидобактерий могут быть рекомендованы для создания эффективных пробиотических лекарственных препаратов, ориентированных на жителей Центрального региона России.

Ключевые слова: бифидобактерии; региональные пробиотические фармпрепараты.

Beliaeva E.A.¹, Chervinets Yu.V.¹, Chervinets V.M.¹, Troshin A.V.¹, Mironov A.Yu.², Nezametdinova V.Z.³, Averina O.V.³, Danilenko V.N.³

THE CHARACTERISTICS OF PROBIOTIC PROPERTIES OF STRAINS OF GENUS OF BIFIDOBACTERIUM SEPARATED FROM GASTROINTESTINAL TRACT OF RESIDENTS OF THE CENTRAL REGION OF RUSSIA

¹The Tver state medical academy of Minzdrav of Russia, 170100, Tver, Russia; ²The G.N. Gabrichevskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology, 125212, Moscow, Russia; ³The N.I. Vavilov institute of general genetics of the Russian academy of sciences, 119991, Moscow, Russia

The 156 samples of feces separated from healthy residents of the Central region of Russia were used to compose collection of 87 strains of Bifidobacterium out of which 5 strains with wide antagonistic activity related to pathogenic and opportunistic microorganisms were selected. The selected strains are characterized by high probiotic potentials. They have adhesive properties and sensitivity to antibiotics and preparations corresponding to main requirements of common pharmacopoeia articles to strains of microorganisms used in production of probiotics for medicinal application. The given strains of Bifidobacterium can be recommended for development of effective probiotic pharmaceuticals directed to residents of the Central region of Russia.

Key words: *Bifidobacterium*; regional probiotic pharmaceutical

Для корреспонденции:

Беляева Екатерина Андреевна (Belyaeva Ekaterina Andreevna), ассистент каф. микробиологии.

Адрес: 170100, Тверь, ул. Советская, 4

E-mail: ebeliaeval@mail.ru