

исходной концентрации взвеси клеток с помощью камеры Горяева с помощью светового микроскопа суспензию клеток разводят до концентрации $(1,5-2) \cdot 10^6$ клеток/мл.

Далее готовят суспензию испытуемого штамма с концентрацией $2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл.

В ходе испытания 0,5 мл взвеси эпителиальных клеток смешивают с 0,5 мл взвеси бактериальной культуры указанной концентрации. Клеточно-бактериальную смесь инкубируют в термостате при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 30 мин, периодически встряхивая. Потом смесь трехкратно отмывают 3ФР от неприлипших микробов при 600 об/мин по 10 мин. Все манипуляции осуществляют на холоде. К осадку добавляют 1– капли 3ФР и готовят мазки на стекле. Препараты фиксируют смесью Никифорова и окрашивают по Романовскому-Гимзе.

В световом микроскопе подсчитывают среднее количество бактерий, прилипших к 25 эпителиоцитам.

При оценке адгезивности каждого штамма микроорганизма опыт повторяют не менее 3 раз. Подсчитывают СПА – число микробов, адгезированных к 1 клетке-эпителиоциту, подсчитывая среднее количество «микроб/клетка» в 10 полях зрения и учитывая результаты всех опытов (учитывается не менее 25 эпителиоцитов в 10 полях зрения).

Степень адгезии отдельных штаммов бактерий определяют следующим образом: неадгезивные штаммы (СПА = 0); слабоадгезивные (СПА = 1 – 5); среднеадгезивные (СПА = 5 – 10) и высокоадгезивные (СПА выше 10).

Штаммы с высокой адгезивной активностью не следует рекомендовать для производства пробиотиков.

Раздел 4. Определение безопасности пробиотических штаммов

Определение вирулентности, токсичности, токсигенности и безвредности осуществляют в соответствии с ОФС «Безопасность пробиотиков в опытах *in vivo*».