

Фармакологическая активность лактата кальция на модели дисбактериоза у крыс

© Полюга Н. Л.¹, Трофимец Е. И.¹, Боровкова К. Е.¹, Никифорова Л. Р.¹,
Салмова Ю. В.¹, Пелешок А. А.¹, Крышень К. Л.¹, Макарова М. Н.¹,
Колодкин А. М.², Митерева Д. Е.³, Касаткина И. С.³

¹ — АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Российская Федерация

² — Научное общество «Микробиота», Московская обл., Сергиево-Посадский район, Российская Федерация

³ — ООО «ЭЮЦ Клиник», Москва, Российская Федерация

Аннотация. Актуальность. Под воздействием эндогенных и/или экзогенных факторов кишечная микрофлора, заселяющая все отделы желудочно-кишечного тракта, может меняться, что нарушает нормальное течение физиологических процессов, а в отдельных случаях приводит к тяжёлым патологическим состояниям. Одной из причин развития дисбактериоза кишечника является применение антибактериальных препаратов. Таким образом, поиск и разработка средств для профилактики и лечения дисбактериозов является актуальной задачей. **Цель.** Целью исследования являлась оценка эффективности кандидата в лекарственное средство на основе лактата кальция при многократном внутрижелудочном введении на модели антибиотик-индуцированного дисбактериоза у крыс. **Методы.** В исследовании использовали 40 самцов крыс линии Wistar (четыре группы по 10 животных). Была апробирована модель антибиотик-индуцированного дисбактериоза кишечника на крысах путём курсового внутрижелудочного введения комбинации амоксициллина и клавулановой кислоты в течение 7 дней в дозе 75 мг/кг. Развитие дисбиоза было подтверждено изменением количественного состава представителей кишечной микробиоты. Аналогично, в течение 7 дней вводили тестируемый препарат в дозах 5 мг/кг, 25 мг/кг, 125 мг/кг ежедневно спустя 2 часа после введения индуктора патологии. Контрольная группа получала 1 % раствор крахмала. **Результаты.** Пик развития дисбактериоза регистрировали на 4-й день индукции патологии. Применение лактата кальция в дозе 5 мг/кг не оказало значимого влияния, в то время как в группах, получавших лактат кальция в дозах 25 мг/кг и 125 мг/кг, отмечено статистически значимое (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$) снижение выраженности патологического процесса по сравнению с группой негативного контроля. **Заключение.** По результатам данного исследования установлено, что применение лактата кальция в дозах 25 мг/кг и 125 мг/кг способствовало более быстрому исчезновению симптомов дисбактериоза и нормализации кишечной микробиоты в сравнении с животными, не получавшими лечение.

Ключевые слова: антибиотик-индуцированный дисбактериоз; крысы Wistar; *Lactobacterium* spp.; *Bifidobacterium* spp.; профилактика дисбиоза

Для цитирования:

Полюга Н. Л., Трофимец Е. И., Боровкова К. Е., Никифорова Л. Р., Салмова Ю. В., Пелешок А. А., Крышень К. Л., Макарова М. Н., Колодкин А. М., Митерева Д. Е., Касаткина И. С. Фармакологическая активность лактата кальция на модели дисбактериоза у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(3):39–49. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-39-49>

Поступила: 06.07.2023. В доработанном виде: 15.07.2023. Принята к печати: 25.07.2023. Опубликовано: 30.09.2023.

Pharmacological activity of calcium lactate on a model of dysbiosis in rats

© Nataliia L. Polyuga¹, Ekaterina I. Trofimets¹, Kristina E. Borovkova¹, Lia R. Nikiforova¹, Julia V. Salmova¹, Andrey A. Peleshok¹, Kirill L. Kryshen¹, Marina N. Makarova¹, Alexei M. Kolodkin², Daria E. Mitereva³, Irina S. Kasatkina³

¹ — Research and manufacturing company "Home of Pharmacy", Leningrad region, Russian Federation

² — Scientific Society "Microbiota", Moscow region, Sergiev Posad district, Russian Federation

³ — "EUC Clinic" LLC, Moscow, Russian Federation

Abstract. Relevance. Under the influence of endogenous and/or exogenous factors, the intestinal microflora inhabiting all parts of the gastrointestinal tract may change, which disrupts the normal course of physiological processes, and in some cases leads to severe pathological conditions. One of the reasons for the development of intestinal dysbiosis is the use of antibacterial drugs. Thus, the search and development of means for the prevention and treatment of dysbiosis is an urgent task. **Goal.** The aim of the study was to evaluate the effectiveness of a candidate for a calcium lactate-based drug with repeated intragastric administration on a model of antibiotic-induced dysbiosis in rats. **Methods.** The study used 40 male Wistar rats (four groups of 10 animals each). A model of antibiotic-induced intestinal dysbiosis was tested in rats by a course of intragastric administration of a combination of amoxicillin and clavulanic acid for 7 days at a dose of 75 mg/kg. The development of dysbiosis was confirmed by a change in the quantitative composition of representatives of the intestinal microbiota. Similarly, for 7 days, the test drug was administered in doses of 5 mg/kg, 25 mg/kg, 125 mg/kg daily 2 hours after the introduction of the pathology inducer. The control group received a 1 % starch solution. **Results.** The peak of dysbiosis development was recorded on the 4th day of pathology induction. The use of calcium lactate at a dose of 5 mg/kg did not have a significant effect, while in the groups receiving calcium lactate at doses of 25 mg/kg and 125 mg/kg, there was a statistically significant (Mann-Whitney criterion, $p < 0.05$) decrease in the severity of the pathological process compared with the negative control group. **Conclusion.** According to the results of this study, it was found that the use of calcium lactate in doses of 25 mg/kg and 125 mg/kg contributed to a faster disappearance of symptoms of dysbiosis and normalization of the intestinal microbiota in comparison with animals that did not receive treatment.

Keywords: antibiotic-induced dysbacteriosis; Wistar rats; *Lactobacterium* spp.; *Bifidobacterium* spp.; prevention of dysbiosis

For citations:

Polyuga NL, Trofimets EI, Borovkova KE, Nikiforova LR, Salmova JV, Peleshok AA, Kryshen KL, Makarova MN, Kolodkin AM, Mitereva DE, Kasatkina IS. Pharmacological activity of calcium lactate on a model of dysbiosis in rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(3):39–49. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-39-49>

Received: 06.07.2023. Revision received: 15.07.2023. Accepted: 25.07.2023. Published: 30.09.2023.

Введение / Introduction

Микробиота кишечника — это сложная и неоднородная система, населённая множеством микроорганизмов, включая бактерии, грибы, археи и вирусы, обитающих в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и взаимодействующих друг с другом, в том числе и с целым организмом-хозяином [1].

Разнообразие кишечной микрофлоры способствует здоровому функционированию органов и систем организма. Исследование кишечной микробиоты, помимо фундаментального значения, имеет актуальность в клиническом аспекте.

Наибольшая бактериальная обсеменённость наблюдается в толстом кишечнике, где отмечается преобладание анаэробов. Микрофлора толстого кишечника подразделяется на облигатную (главная, основная, резидентная), факультативную (сопутствующая, непостоянная, условно-патогенная) и транзиторную (случайная) [2] (рис. 1).

После рождения у человека формируется собственная микробиота в ЖКТ. Однако в течение жизни микрофлора подвергается воздействию различных факторов, таких как болезнь, психологический и физический стресс, радиация, лечение антибиотиками и нерациональное (неполноценное) питание, что приводит к нарушению микробиоценоза [3, 4]. Нарушение баланса микрофлоры может способствовать развитию дисбактериоза кишечника — изменение качественного и/или количественного состава микрофлоры кишечника, с последующим развитием метаболиче-

ских и иммунных нарушений с возможным развитием желудочно-кишечных расстройств [3, 5]. Нарушения нормальной микрофлоры кишечника характеризуются исчезновением или снижением количества облигатных её представителей, с одной стороны, и увеличением популяционного уровня условно-патогенных микробов, отсутствующих или встречающихся в ничтожных количествах в норме, — с другой. В результате дисбактериозных микробных изменений организм-хозяин не в состоянии обеспечивать защитные и физиологические функции микрофлоры, осуществляемые в условиях нормальной работы кишечника [6].

Множество заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника, а также нарушение обмена веществ, такие как ожирение и диабет II типа, связаны с дисбактериозом кишечника [7].

Наиболее выраженное отрицательное влияние на нормальную микрофлору кишечника оказывает лекарственная терапия, особенно нерациональная. Наибольшее действие на состав микрофлоры оказывают антибактериальные средства [8].

Для обозначения комплекса изменений в кишечнике и соответствующих клинических проявлений, связанных с дисбактериозом на фоне применения антибиотиков, в зарубежной литературе часто используется термин антибиотик-ассоциированная диарея (antibiotic associated diarrhea), эквивалентом которого, по существу, является термин «антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника» [9, 10]. По различным данным, полученным за последние 5 лет в мировой клинической практике, частота этого заболевания колеблется от 5 до 39 % [11–13].

На данный момент остаётся актуальным вопрос поиска и разработки средств терапии и профилактики, направленных на поддержание и/или восстановление здоровой микрофлоры кишечника. Помимо специализированной диеты, пребиотики и пробиотики являются наиболее часто используемыми препаратами, способствующими поддержанию гомеостаза кишечной микробиоты и восстановлению микробиологического баланса при его нарушении [14].

В арсенале лекарственных средств, направленных на восстановление нормальной микрофлоры, представлены пробиотики на основе живых микробов (бифидобактерии, лактобациллы, кишечная палочка и другие), пребиотики (неперевариваемые вещества, стимулирующие активность определённых микроорганизмов), синбиотики (комбинации пробиотиков и пребиотиков), а также микробные метаболиты (метаболитные пробиотики — метабиотики) [15]. Однако практика показала, что применение средств, направленных на восстановление микробиоты, не всегда обеспечивает требуемый терапевтический эффект для профилактики или лечения дисбактериозов. Это может быть обусловлено тем, что они являются «чужеродными» для микрофлоры конкретного человека. Также некоторые бактерии обитают в биоплёнках, благодаря



Рис. 1. Градация микрофлоры кишечника и микроорганизмы, входящие в её состав

Fig. 1. Gradation of the intestinal microflora and the microorganisms that make up it

чему становятся труднодоступными для действия препаратов. Сама по себе биоплёнка представляет собой образование, сформированное микроколониями микроорганизмов в форме башен или грибов (15–20 % объёма) и экзополимерного матрикса (75–85 % объёма) [16]. Имунитет биоплёнки практически сводит на нет действие пробиотиков. Микроорганизмы, выращенные искусственно, являются инородными, они могут отторгаться макроорганизмом [17–19]. Таким образом, поиск альтернативных средств для профилактики и лечения дисбактериозов является актуальной задачей.

При разработке препаратов на доклиническом этапе их эффективность и безопасность оценивается на лабораторных животных. Для оценки фармакологической эффективности препарата для восстановления нормальной микрофлоры кишечника целесообразно воспроизвести модель дисбактериоза кишечника у экспериментальных животных.

Согласно данным литературы, лабораторные крысы широко используются в качестве тест-систем для изучения состояния микробиоты кишечника [20–31]. Исходя из данных состава микрофлоры у человека и крыс, количество микроорганизмов у этого вида животных довольно близко к содержанию их у человека (табл. 1).

Таблица 1

Количество представителей облигатной и факультативной микрофлоры у крыс и человека [32]

Table 1

The number of representatives of obligate and facultative microflora in rats and humans [32]

Микроорганизм	Крыса	Человек
Облигатная микрофлора		
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10^7-10^9	10^9-10^{10}
<i>Lactobacillus</i> spp.	10^5-10^8	10^7-10^8
<i>Enterococcus</i> spp.	10^5-10^7	10^5-10^8
Факультативная микрофлора		
<i>Staphylococcus</i> spp.	10^2-10^5	10^2-10^4
<i>Candida</i> spp.	10^2-10^5	10^4

В доступных литературных источниках описаны экспериментальные модели антибиотик-индуцированного дисбактериоза кишечника у лабораторных животных [20–31, 33], которые отличаются между собой выбором антибактериального препарата в качестве индуктора патологии.

Предпосылкой для проведения данного исследования явилась работа в области лечения и профилактики дисбактериозов, защищённая патентом РФ №2593584 [15]. Было показано, что применение лактата кальция приводит к ускорению нормализации состава и количества микрофлоры кишечника при дисбактериозах [15].

Материал и методы / Materials and Methods

Животные / Animals

В исследовании использовали самцов крыс линии Wistar в возрасте 8–10 недель (4 группы по 10 животных; $n = 40$). Проведение эксперимента было одобрено биоэтической комиссией АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Всех животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях¹ и Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных². Световой режим составлял 12 ч день и 12 ч темноты. Крысы получали полнорационный гранулированный комбикорм и питьевую воду *ad libitum*. Животных содержали в стандартных пластиковых клетках по 5 особей.

Дизайн эксперимента / Experiment design

По результатам пилотного исследования в качестве индуктора патологии был выбран антибактериальный препарат Амоксиклав® в форме порошка для приготовления суспензии. В ходе пилотного исследования при ежедневном (в течение 7 дней) внутривидовом введении готовой суспензии Амоксиклав® в дозе 75 мг/кг (по действующему веществу амоксициллин) регистрировали снижение количества основной кишечной микрофлоры (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacterium* spp.) в образцах кала у самцов крыс. Также на данной модели наблюдали развитие клинических симптомов дисбактериоза в виде размягчения кала и диареи, что соответствовало данным литературы [27]. Таким образом, в качестве индуктора патологии вводили готовую суспензию Амоксиклав® в дозе 75 мг/кг (по действующему веществу амоксициллин) ежедневно 1 раз в день в течение 7 дней всем экспериментальным животным.

Аналогично в течение 7 дней вводили тестируемый препарат на основе лактата кальция экспериментальным животным в дозах 5 мг/кг (0,20 высшей терапевтической дозы (ВТД) человека), 25 мг/кг (ВТД человека) и 125 мг/кг (5ВТД человека) ежедневно

¹ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. Под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. – СПб., 2012. 48 с. [Direktiva 2010/63/EU Yevropeyskogo Parlamenta i Soveta Yevropeyskogo Soyuzo po okhrane zhyvotnykh, ispol'zuyemykh v nauchnykh tselyakh / transl. from English. Ed. MS Krasilshchikova, IV Belozertseva. St. Petersburg, 2012. (In Russ.)]

² Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. 8-е издание / пер. с англ. Под ред. И.В. Белозерцевой, Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. – М.: ИРБИС, 2017. – 336 с. [Rukovodstvo po soderzhaniyu i ispol'zovaniyu laboratornykh zhyvotnykh. Vos'moe izdanie / transl. from English. Ed. IV Belozercevoi, DV Blinova, MS Krasil'shikovoi. Moscow: IRBIS, 2017. (In Russ.)]

1 раз в день через 2 часа после введения индуктора патологии внутривентриально. Животным контрольной группы вводили 1 % раствор крахмала по аналогии с введением тестируемого препарата.

Оценку динамики массы тела животных выполняли на 1-й, 8-й и 15-й дни исследования. Ежедневно в течение 15 дней проводили клиническое наблюдение животных с оценкой физических характеристик кала по балльной системе [34].

Балльная система характеризовала степень развития патологического процесса. Чем выше было балльное значение, тем более выражено протекал патологический процесс. Критерии оценки учитывали изменения консистенции и влажности стула следующим образом: 0 — нормальная консистенция и сухость стула; 1 — влажный стул; 2 — пастообразный стул; 3 — полужидкий стул; 4 — водянистая диарея.

Забор образцов кала проводили до введения индуктора патологии на 1-й, 4-й, 8-й, 11-й и 15-й дни исследования для последующего проведения микробиологического исследования.

Полученные пробы с образцами кала разводили стерильным физиологическим раствором в соотношении 1:9, затем пробирки встряхивали до получения однородной суспензии. Из полученной суспензии делали 10-кратные разведения в изотоническом растворе натрия хлорида, максимально до 10^{-7} .

Для *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Lactobacterium* spp. выполняли поверхностный посев на питательные среды с помощью шпателя Дригальского в объеме по 100 мкл бактериальной суспензии (табл. 2).

Для *Bifidobacterium* spp. применяли технику глубинного посева: в стерильную чашку Петри вносили 1 мл суспензии, после чего сверху заливали питательной средой в объеме 20 мл (см. табл. 2).

Посевы инкубировали в термостате при температуре +35–37 °C в течение 24 (*Enterococcus* spp., *Lactobacterium* spp.), 48 (*Staphylococcus* spp., *Candida* spp.) и 72 часов (*Bifidobacterium* spp.). Дополнительно чашки Петри с посевами для культивирования *Lactobacterium* spp. и *Bifidobacterium* spp. помещали в контейнер инкубационный (анаэробостат).

Каждый день чашки Петри с посевами просматривали визуально на наличие роста колоний микроорганизмов. Выросшие колонии идентифицировали с помощью микроскопии окрашенных мазков по Граму (рис. 2) и морфологических признаков колоний микроорганизмов в (рис. 3).

Таблица 2

Перечень микроорганизмов для анализа и информация об используемых в эксперименте питательных средах

Table 2

A list of microorganisms for analysis and information about the nutrient media used in the experiment

Микроорганизм	Питательные среды
<i>Enterococcus</i> spp.	Энтерококк агар (селективная среда для энтерококков) (ООО «НПЦ «Биокомпас-С», Россия)
<i>Staphylococcus</i> spp.	Baird-Parker agar («Merck», Германия) с добавлением желточно-туйритовой эмульсии (Egg yolk tellurite emulsion) («Merck», Германия)
<i>Candida</i> spp.	Агар Сабуро с хлорамфениколом (ООО «НИЦФ», Россия)
<i>Lactobacterium</i> spp.	MRS Agar («Sigma», США) и Tween80
<i>Bifidobacterium</i> spp.	TOS-propionate agar («Merck», Германия) + MUP Selective supplement («Merck», Германия); TOS-propionate agar («Sigma», США) + Lithium mupirocin supplement («Sigma», США)

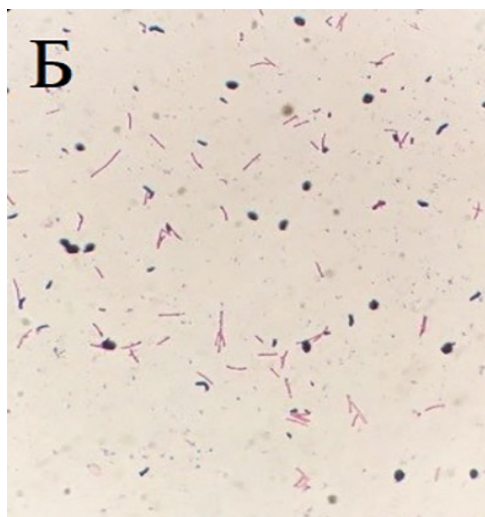
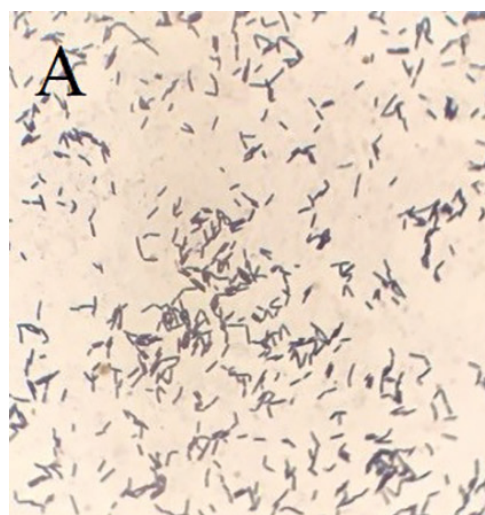


Рис. 2. Пример микроскопии окрашенных мазков по Граму:

А — *Lactobacterium* spp.; Б — *Bifidobacterium* spp.

Fig. 2. Example of microscopy of colored smears by Gram:

А — *Lactobacterium* spp.; Б — *Bifidobacterium* spp.

Количественное содержание микроорганизмов в 1 г кала определяли по формуле (1):

$$N = n \times 10 \times 10 \text{ (или } 100, \text{ или } 1000), \text{ (1)}$$

где N — количество микроорганизмов в 1 г кала; n — количество микроорганизмов, выросших на чашке; 10 — пересчёт на 1 г кала, 10, 100 или 1000 — разведение материала, засеянного на чашку, с которой ведут подсчёт колоний.

Статистический анализ / Statistical analysis

Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения GraphPad Prism, версия 9 («GraphPad», США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка и графиков квантиль-квантиль (QQ plot). Данные, имеющие нормальное распределение, представлены как $M \pm SEM$, где M — среднее арифметическое; SEM — стандартная ошибка среднего. В случае ненормального распределения результаты представлены в виде $Me (Q1; Q3)$, где Me — медиана; $Q1$; $Q3$ — межквартильный размах. В зависимости от типа

распределения данных применяли параметрические (*Tukey's test analysis*) и непараметрические методы (*Mann-Whitney's test analysis*). Все критерии были двусторонними. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Показатель массы тела является интегральным показателем общего состояния животных. У всех самцов крыс регистрировали равномерное увеличение массы тела на протяжении всего эксперимента.

При оценке физических характеристик кала, в группе негативного контроля первые клинические признаки развития дисбактериоза в виде влажных и пастообразных фекалий отмечали на 2-й день введения индуктора патологии. Пик развития дисбактериоза регистрировали на 4-й день эксперимента. Выраженная картина проявления дисбиоза сохранялась до отмены введения индуктора патологии. После отмены введения препарата Амоксиклав® наблюдали посте-

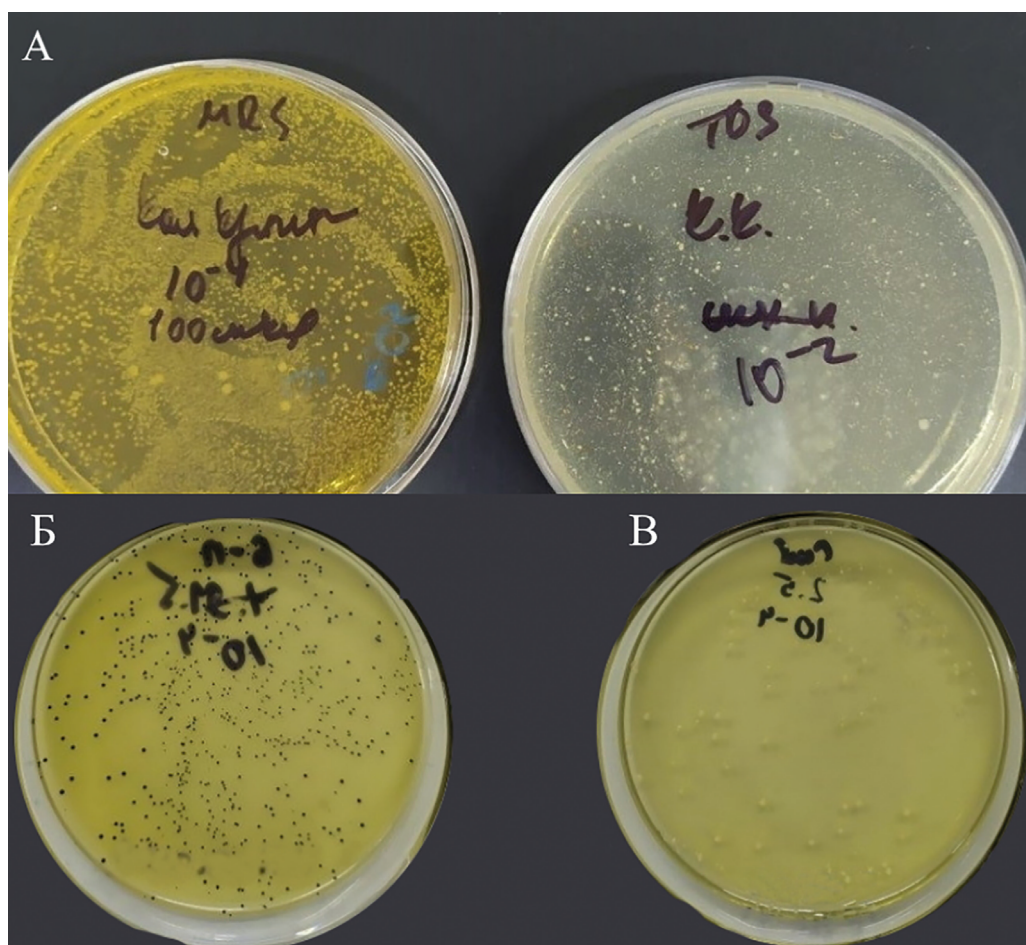


Рис. 3. Пример роста колоний на питательных средах:

A — слева *Lactobacterium* spp. и справа *Bifidobacterium* spp.; Б — *Staphylococcus* spp.; В — *Candida* spp.

Fig. 3. Example of colony growth on nutrient media:

A — left *Lactobacterium* spp. and on the right *Bifidobacterium* spp.; Б — *Staphylococcus* spp.; В — *Candida* spp.

пенную нормализацию физических характеристик, что свидетельствовало о саморазрешении антибиотик-индуцированного дисбактериоза (рис. 4). Аналогично в ходе исследования Ермоленко Е.И. и соавт. [27] на фоне введения антимикробных препаратов и на ранних сроках после их отмены у животных с индукцией патологии, не получавших лечение, наблюдали признаки диспепсии: маслянистая консистенция фекалий, в некоторых случаях понос или полифекалия.

Применение кальция лактата в минимально исследуемой дозе 5 мг/кг не оказало терапевтического влияния на развитие патологии у крыс (рис. 4). В группах животных, получавших в качестве лечения кальция лактат в дозах 25 мг/кг и 125 мг/кг, соответственно, отмечали достоверное снижение выраженности патологического процесса по сравнению с группой негативного контроля. У крыс, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе, отмечали минимальные изменения физических характеристик кала. С 11-го дня эксперимента наблюдали полное восстановление стула у всех животных данной группы (см. рис. 4). В соответствии с полученными данными применение кальция лактат в дозах 25 мг/кг и 125 мг/кг способствовало нормализации стула у животных с 10-го и 11-го дня эксперимента, соответственно.

В результате анализа данных количественного определения представителей кишечной микрофлоры животных установлено, что до начала введения индуктора патологии (1-й день эксперимента) состав кишечной микрофлоры не отличался у самцов крыс

всех экспериментальных групп (см. рис. 4). Полученный в исследовании качественный и количественный состав микрофлоры кишечника крыс не расходился с данными литературы [32, 35–37]. Так, микрофлора кишечника здоровых крыс была представлена преимущественно облигатной флорой (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacterium* spp. и *Enterococcus* spp.) и в меньшей степени содержала факультативные микроорганизмы (*Staphylococcus* spp. и *Candida* spp.).

По мере развития антибиотик-индуцированного дисбактериоза у крыс группы негативного контроля отмечали существенные изменения состава кишечной микрофлоры. На протяжении всего эксперимента регистрировали статистически значимое снижение количества *Lactobacterium* spp. относительного исходного уровня (рис. 5, а). Отмечали отсутствие роста на питательных средах *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus* spp. на 4-й и 8-й (период индукции патологии), а также 11-й дни эксперимента (период отмены введения индуктора патологии) (рис. 5, б, в). По окончании эксперимента (15-й день) данные микроорганизмы были обнаружены в небольших количествах по сравнению с их исходным содержанием в образцах кала. По мере развития патологии отмечали статистически значимое увеличение количества факультативной (условно-патогенной) микрофлоры (*Staphylococcus* spp., *Candida* spp.) по сравнению с 1-м днем эксперимента (рис. 5, г, д). Также отмечали обильный рост плесени. Подобный результат наблюдали в работе Wu H с соавт., где был воспроизведен антибиотик-

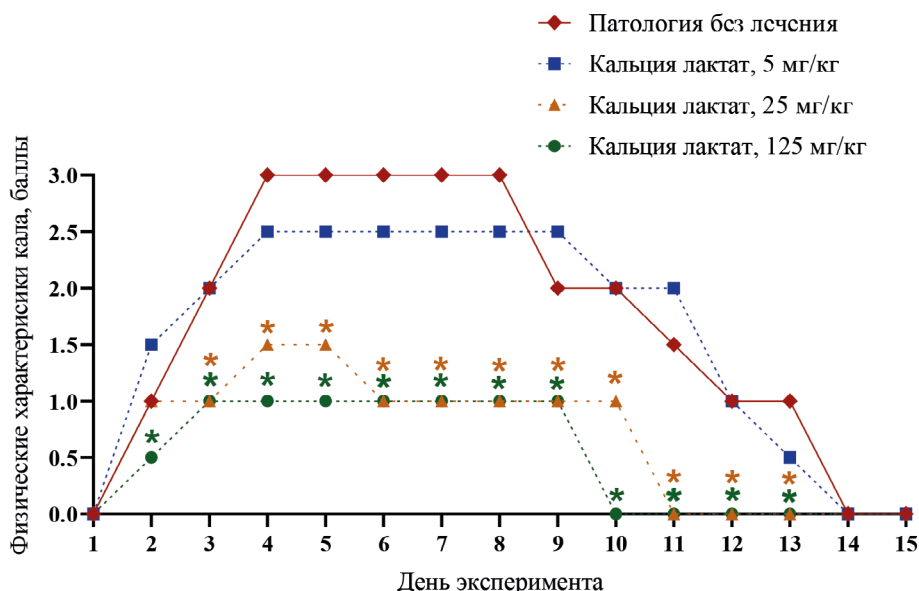


Рис. 4. Изменения физических характеристик кала на протяжении эксперимента, баллы, Me, $n = 10$

Fig. 4. Changes in the physical characteristics of feces during the experiment, points, Me, $n = 10$

Примечание: * — критерий Манна–Уитни, различия с контрольной группой статистически значимы, $p < 0,05$

Note: * is the Mann–Whitney criterion, differences with the control group are statistically significant, $p < 0.05$

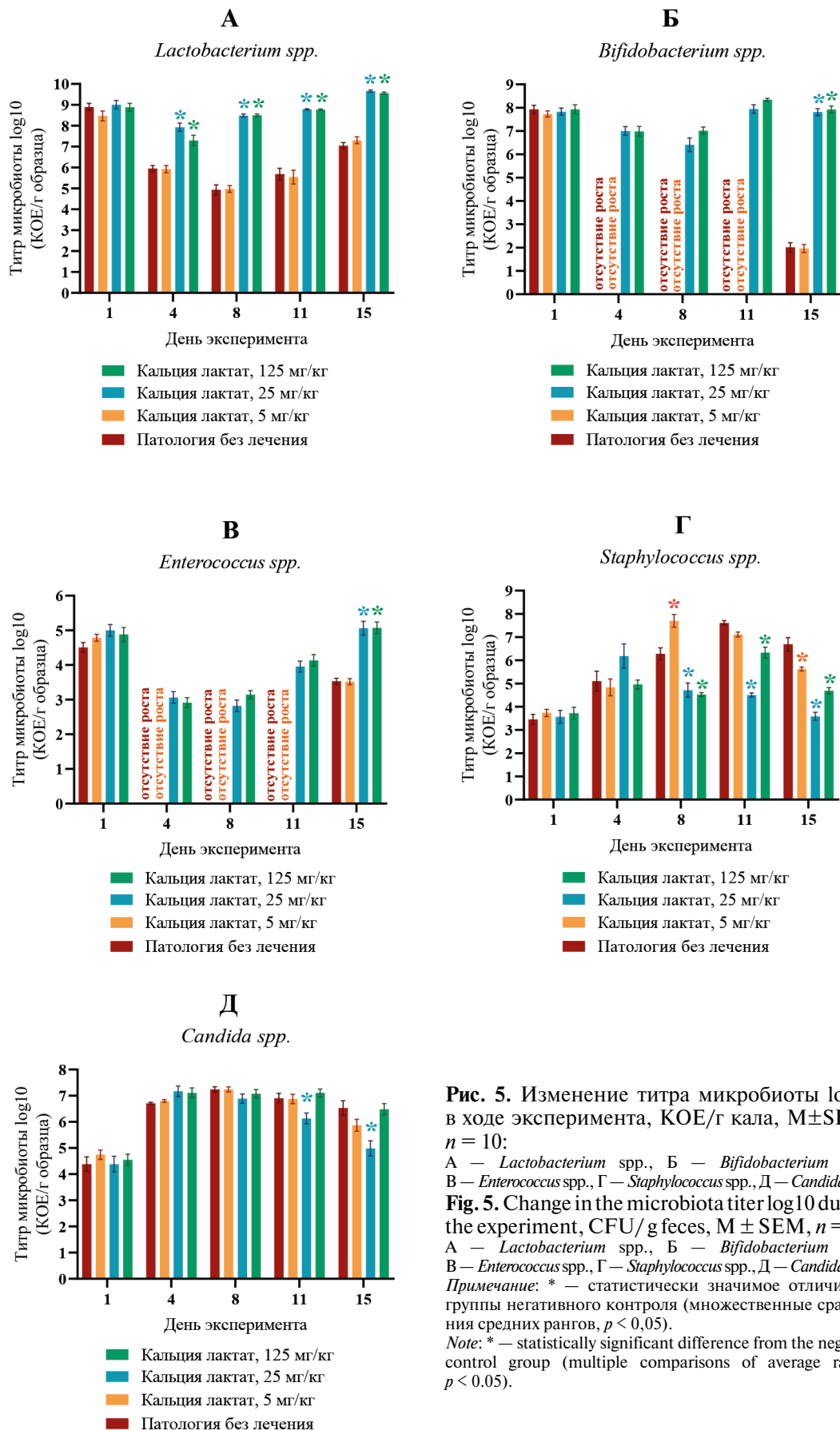


Рис. 5. Изменение титра микробиоты log₁₀ в ходе эксперимента, КОЕ/г кала, M±SEM, n = 10:

А — *Lactobacterium spp.*, Б — *Bifidobacterium spp.*, В — *Enterococcus spp.*, Г — *Staphylococcus spp.*, Д — *Candida spp.*

Fig. 5. Change in the microbiota titer log₁₀ during the experiment, CFU/g feces, M ± SEM, n = 10: А — *Lactobacterium spp.*, Б — *Bifidobacterium spp.*, В — *Enterococcus spp.*, Г — *Staphylococcus spp.*, Д — *Candida spp.*

Примечание: * — статистически значимое отличие от группы негативного контроля (множественные сравнения средних рангов, p < 0,05).
Note: * — statistically significant difference from the negative control group (multiple comparisons of average ranks, p < 0.05).

индуцированный дисбактериоз на крысах [38]. Во время индукции патологии, начиная с 4-го дня эксперимента, микробиота животных изменилась в сторону увеличения факультативной микрофлоры и уменьшения облигатной, с последующим восстановлением после прекращения приёма антибиотиков. Однако первоначальный количественный состав микробиоты возобновлён не был. Такую же динамику в отношении количественного состава микрофлоры наблюдали в аналогичном моделировании патологии на крысах в модели *Tarasova E u соавт.* [39]

Применение в качестве лечения кальция лактата в дозе 5 мг/кг не предотвратило изменение состава кишечной микрофлоры по мере развития патологии в сравнении с исходным уровнем, что свидетельствует об отсутствии терапевтического эффекта тестируемого препарата в данной дозе. Как и в группе негативного контроля был обнаружен обильный рост плесени. Выраженные терапевтические эффекты отмечены при применении кальция лактата в дозах 25 и 125 мг/кг. Отмечали статистически значимое снижение КОЕ/г кала представителей условно-патогенной микрофлоры и увеличение количества микроорганизмов облигатной флоры по сравнению с группой негативного контроля в ходе всего эксперимента (см. рис. 5). В период введения индуктора патологии наблюдали незначительное снижение КОЕ/г кала *Lactobacterium* spp. и *Bifidobacterium* spp. по сравнению с исходным содержанием микроорганизмов в образцах фекалий (см. рис. 5, а, б). Стоит отметить, что в данных группах на протяжении всего эксперимента отмечали рост на питательных средах *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus* spp. По окончании эксперимента регистрировали полную нормализацию количества облигатной микрофлоры в образцах кала. Несмотря на повышение в образцах количества *Candida* spp. в данных экспериментальных группах не наблюдали роста плесени (рис. 5, д).

Заключение / Conclusion

В исследовании была успешно сформирована модель антибиотик-индуцированного дисбактериоза у самцов крыс путём многократного внутрижелудочного введения антибактериального препарата Амоксиклав® в дозе 75 мг/кг, что подтвердилось выраженными изменениями физических характеристик кала и существенным изменением состава кишечной микрофлоры в пользу увеличения количества условно-патогенных микроорганизмов на фоне снижения представителей облигатной флоры.

Исходя из полученных данных, применение тестируемого препарата кальция лактата в дозах 25 и 125 мг/кг оказало значимые терапевтические эффекты в виде снижения выраженности патологического процесса и сокращения периода восстановления физических характеристик кала и привело к полной нормализации состава кишечной микрофлоры через неделю после

отмены антибактериального препарата. При этом существенной разницы при повышении дозы с 25 мг/кг до 125 мг/кг не отмечено. Кроме того доза 25 мг/кг (ВТД) более выражено снижала количество условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., *Candida* spp.) по сравнению с дозой 125 мг/кг (5ВТД).

Лактат кальция является солью молочной кислоты, которая, попадая в желудочно-кишечный тракт, диссоциирует на ионы кальция и лактат [3]. Было доказано, что антагонистическая активность молочнокислых бактерий в отношении патогенных и условно-патогенных микробов обусловлена конкуренцией за рецепторы на эпителии слизистой оболочки кишечника. Продукция молочной кислоты данными бактериями оказывает угнетающее действие на патогены [40]. Таким образом, вероятно, лактат кальция и обеспечивает терапевтический эффект в виде поддержания количества облигатной микрофлоры в необходимых пределах и уменьшает период восстановления кишечной микрофлоры, что установлено в проведённом исследовании.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ЭЮЦ Клиник».

Acknowledgements. The work was supported by LLC «EUC Clinic».

Участие авторов. *Полюга Н. Л.* — концепция и дизайн, сбор и систематизация материала, написание текста статьи; *Трофимец Е. И.* — сбор и систематизация материала, работа с источниками литературы, статистическая обработка данных; *Боровкова К. Е., Никифорова Л. Р., Салмова Ю. В.* — проведение микробиологического исследования образцов кала. *Пелешок А. А.* — доработка текста рукописи; *Крышень К. Л.* — анализ научной и методической литературы, редактирование текста рукописи; *Макарова М. Н.* — критический пересмотр содержания, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *Колодкин А. М., Митерева Д. Е., Касаткина И. С.* — сбор и анализ данных, рецензирование рукописи.

Participation of authors. *Polyuga NL* — concept and design, data collection and systematization, writing the manuscript; *Trofimets EI* — data collection and systematization, work with literary sources, statistical data processing; *Borovkova KE, Nikiforova LR, Salmova JV* — conducting microbiological examination of stool samples; *Peleshok AA* — editing and revision of the text of the manuscript; *Kryshen KL* — analysis of scientific and methodological literature, editing of the text of the manuscript; *Makarova MN* — critical revision of the content, approved the final version of the manuscript; *Kolodkin AM, Mitereva DE, Kasatkina IS* — data collection and analysis, manuscript review.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Полюга Наталия Любомировна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: polyuga.nl@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8569-0535>
н. с. отдела специфической токсикологии
и микробиологии АО «НПО «ДОМ
ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Российская Федерация

Трофимец Екатерина Игоревна
e-mail: trofimets.ekat@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3246-6457>
заместитель руководителя отдела
специфической токсикологии и
микробиологии АО «НПО «ДОМ
ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Российская Федерация

Боровкова Кристина Евгеньевна
e-mail: borovkova.ke@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1571-6549>
Руководитель лаборатории микробиологии АО
«НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская
обл., Российская Федерация

Никифорова Лия Ринатовна
e-mail: nikiforova.lr@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8710-2023>
заместитель руководителя лаборатории
микробиологии АО «НПО «ДОМ
ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Российская Федерация

Салмова Юлия Владимировна
e-mail: salmova.uv@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9891-8634>
н. с. лаборатории микробиологии АО «НПО
«ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Российская Федерация

Пелешок Андрей Андреевич
e-mail: peleshok.aa@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9980-2684>
стажёр-исследователь лаборатории клеточной
биологии и цитогенетики АО «НПО
«ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Российская Федерация

Nataliia L. Polyuga
Corresponding author
e-mail: polyuga.nl@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8569-0535>
Research fellow, department of specific toxicology
and microbiology, Research and manufacturing
company “Home of Pharmacy”, Leningrad region,
Russian Federation

Ekaterina I. Trofimets
e-mail: trofimets.ekat@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3246-6457>
Deputy head of the department of specific toxicol-
ogy and microbiology Research and manufacturing
company “Home of Pharmacy”, Leningrad region,
Russian Federation

Kristina E. Borovkova
e-mail: borovkova.ke@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1571-6549>
Head of microbiological laboratory Research and
manufacturing company “Home of Pharmacy”,
Leningrad region, Russian Federation

Lia R. Nikiforova
e-mail: nikiforova.lr@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8710-2023>
Deputy head of microbiological laboratory Research
and manufacturing company “Home of Pharmacy”,
Leningrad region, Russian Federation

Julia V. Salmova
e-mail: salmova.uv@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9891-8634>
Researcher microbiological laboratory Research
and manufacturing company “Home of Pharmacy”,
Leningrad region, Russian Federation

Andrey A. Peleshok
e-mail: peleshok.aa@doclinika.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9980-2684>
Intern researcher, Laboratory of cell biology and
cytogenetics Research and manufacturing company
“Home of Pharmacy”, Leningrad region, Russian
Federation

Крышень Кирилл Леонидович

e-mail: kryshen.kl@doclinika.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>
 к. б. н., руководитель отдела специфической токсикологии и микробиологии, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Российская Федерация

Макарова Марина Николаевна

e-mail: makarova.mn@doclinika.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>
 д. м. н., директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Российская Федерация

Колодкин Алексей Михайлович

e-mail: kolodkin.a@pharm-company.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-2017>
 исследователь Научное общество «Микробиота», Московская обл., Сергиево-Посадский район, Российская Федерация

Митерева Дарья Евгеньевна

e-mail: d.mitereva@expert-lc.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-8413-4278>
 к. м. н., специалист по клиническим и доклиническим исследованиям ООО «ЭЮЦ Клиник», Москва, Российская Федерация

Касаткина Ирина Сергеевна

e-mail: kasatkina-maikop@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6177-3360>
 к. м. н., генеральный директор ООО «ЭЮЦ Клиник», Москва, Российская Федерация

Kirill L. Kryshen

e-mail: kryshen.kl@doclinika.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>
 PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of the department of specific toxicology and microbiology, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”, Leningrad region, Russian Federation

Marina N. Makarova

e-mail: makarova.mn@doclinika.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>
 Dr. Sci (Med.), Director Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”, Leningrad region, Russian Federation

Alexei M. Kolodkin

e-mail: kolodkin.a@pharm-company.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-2017>
 Researcher Scientific Society “Microbiota”, Moscow region, Sergiev Posad district, Russian Federation

Daria E. Mitereva

e-mail: d.mitereva@expert-lc.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-8413-4278>
 PhD, Cand. Sci. (Med.), specialist in clinical and preclinical research “EUC Clinic” LLC, Moscow, Russian Federation

Irina S. Kasatkina

e-mail: kasatkina-maikop@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6177-3360>
 PhD, Cand. Sci. (Med.), General Director “EUC Clinic” LLC, Moscow, Russian Federation

Список литературы / References

1. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:625913. DOI: 10.3389/fcimb.2021.625913.
2. Евдокимова А.Г., Жуколенко Л.В., Иванова Т.Б., Стрюк Р.И. Коррекция микрофлоры кишечника синбиотиком Максилак. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2019;166(6):62–69. [Evdokimova AG, Zhukolenko LV, Ivanova TB, Stryuk RI. Correction of intestinal microflora synbiotic Maxilac. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019;166(6): 62–69. (In Russ.)]. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-166-6-62-69.
3. Микробиота / под ред. Е.Л. Никонова, Е.Н. Поповой. М.: Издательство Медиа Сфера; 2007. [Mikrobiota / Ed by Nikonova EL, Popovoi EN. Moscow: Izdatel'stvo Media Sfera; 2007. (In Russ.)].
4. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017;474(11):1823–1836. DOI: 10.1042/BCJ20160510.
5. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004–2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (утв. Приказом Минздрава России от 09.06.2003 № 231). [Industry standard OST 91500.11.0004–2003 «Protokol vedeniya bol'nykh. Disbakterioz kishhechnika» (utv. Prikazom

Minzdrava Rossii ot 09.06.2003 № 231) (In Russ.)]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089>. Ссылка активна на 21.06.2023.

6. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Методические рекомендации «Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника». ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН Москва. 2007;74 [Bondarenko VM, Likhoded VG. Metodicheskie rekomendatsii «Mikrobiologicheskaya diagnostika disbakterioza kishhechnika». GU NIIEМ im. N.F. Gamalei RAMN Moskva. 2007;74 (In Russ.)].
7. Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(16):2959–2977. DOI: 10.1007/s00018-017-2509-x.
8. Косенко И.М. Нарушения микробиоценоза кишечника и их коррекция. *Педиатрия.* 2009;(3):25–28. [Kosenko IM. Narusheniya mikrobiotsenoza kishhechnika i ikh korrektsiya. *Pediatriya.* 2009;(3):25–28. (In Russ.)].
9. Бельмер С.В., Шиголева Н.Е., Хавкин А.И. и др. Пробиотическая коррекция антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника у детей. *Вопросы современной педиатрии.* 2007;6(3):89–93. [Bel'mer SV, Shchigoleva NYe, Khavkin AI, et al. Probiotic correction of antibiotic-associated intestinal dysbacteriosis in children. *Current Pediatrics.* 2007;6(3):89–93 (In Russ.)].

10. Ерюхин И.А., Шляпников С.А., Лебедев В.Ф., Иванов Г.А. Псевдомембранозный колит и «кишечный сепсис» — следствие дисбактериоза, вызванного антибиотиками. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 1997;156(2):108–111. [Eryukhin IA, Shliapnikov SA, Lebedev VF, Ivanov GA. Pseudomembranous colitis i «kischechnyi sepsis» — sledstvie disbakterioza, vyzvannogo antibiotikami. *Vestnik khir im II Grekova*. 1997;156(2):108–111. (In Russ.)].
11. Wiperman MF, Fitzgerald DW, Juste MAJ, et al. Antibiotic treatment for Tuberculosis induces a profound dysbiosis of the microbiome that persists long after therapy is completed. *Sci Rep*. 2017;7(1):10767. DOI: 10.1038/s41598-017-10346-6.
12. Neuman H, Forsythe P, Uzan A et al. Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. *FEMS Microbiol Rev*. 2018;42(4):489–499. DOI: 10.1093/femsre/fuy018.
13. Le Bastard Q, Al-Ghalith GA, Grégoire M, et al. Systematic review: human gut dysbiosis induced by non-antibiotic prescription medications. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018;47(3):332–345. DOI: 10.1111/apt.14451.
14. Quigley EMM. Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(2):333–344. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.09.028.
15. Патент РФ на изобретение №2593584/ 10.08.2016 Бюл. №22. Чичерин И.Ю. Средство для восстановления кишечного микробиоценоза при дисбиозах. [Patent RUS №2593584/ 10.08.2016 Byul. №22. Chicherin IYu. Sredstvo dlya vosstanovleniya kischechnogo mikrobiotsenoza pri disbiozakh. (In Russ.)]. URL: <https://patentimages.storage.googleapis.com/97/ba/32/ff636317bf19ac/RU2593584C1.pdf>. Ссылка активна на 21.06.2023.
16. Марданова А.М., Кабанов Д.А., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р. Биопленки: основные методы исследования: учебно-методическое пособие. Центр печати «Линк», 2016. [Mardanova AM, Kabanov DA, Rudakova NL, Sharipova MR. Bioplenki: osnovnye metody issledovaniya: uchebno-metodicheskoe posobie. Tsentr pechati «Link», 2016 (In Russ.)].
17. Токарева Н.А. Коррекция и профилактика дисбактериоза. Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы. Кишечная микрофлора. *Сборник научных статей*. 2012;(1):56–60. [Tokareva NA. Korrrektsiya i profilaktika disbakterioza. Novye podkhody k terapii zabolevaniy zheludочно-kishechnoy sistemy. Kischechnaya mikroflora. *Sbornik nauchnykh statei*. 2012;(1):56–60. (In Russ.)].
18. Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека. *Экспериментальная гастроэнтерология*. 2011;(3):6–11. [Darmov IV, Chicherin IYu, Pogorelskii IP, Lundovskikh IA. Vyzhivaemost' mikroorganizmov probiotikov v usloviyakh *in vitro*, imitiruyushchikh protsess pishchevareniya u cheloveka. *Experimental gastroenterology*. 2011;(3):6–11. (In Russ.)].
19. Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Ердякова А.С. и др. Сравнительная оценка выживаемости микроорганизмов пробиотиков в составе коммерческих препаратов в условиях *in vitro*. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2011;(9):96–101. [Darmov IV, Chicherin IYu, Erdyakova AS, et al. Comparative assessment of survival of probiotic microorganisms from commercial preparations under the conditions *in vitro*. *Experimental & clinical gastroenterology*. 2011;(9):96–101. (In Russ.)].
20. Wu H, Ma Y, Peng X et al. Antibiotic-induced dysbiosis of the rat oral and gut microbiota and resistance to Salmonella. *Arch Oral Biol*. 2020;114:104730. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2020.104730.
21. Wang T, Hu X, Liang S, et al. Lactobacillus fermentum NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. *Benef Microbes*. 2015;6(5):707–717. DOI: 10.3920/BM2014.0177.
22. Burovenko IY, Borshchev YY, Minasian SM, et al. Effect of Combined Antimicrobial Therapy on Ischemia/Reperfusion Myocardial Injury in Rats with Acute Inflammation of the Large Intestine against the Background of Alimentary Obesity. *Bull Exp Biol Med*. 2020;168(3):309–312. DOI:10.1007/s10517-020-04697-w
23. Graversen KB, Locke AV, Bahl MI, et al. The effect of amoxicillin-induced intestinal dysbiosis and cholera toxin on gut health and allergic sensitization to cow's milk—a study in Brown Norway rats. In 10th EAACI Pediatric Allergy and Asthma Meeting 2019.
24. Silva EN, Martins TVF, Miyauchi-Tavares TM, et al. Amoxicillin-induced gut dysbiosis influences estrous cycle in mice and cytokine expression in the ovary and the caecum. *Am J Reprod Immunol*. 2020;84(1):e13247. DOI: 10.1111/aji.13247.
25. Dudek-Wicher RK, Junka A, Bartoszewicz M. The influence of antibiotics and dietary components on gut microbiota. *Prz Gastroenterol*. 2018;13(2):85–92. DOI: 10.5114/pg.2018.76005.
26. Zoppi G, Cinquetti M, Benini A, et al. Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. *Current therapeutic research*. 2001;62(5):418–435. doi: 10.1016/S0011-393X(01)89006-8.
27. Ермоленко Е.И., Донец В.Н., Дмитриева Ю.В. и др. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2009;(1):157–167. [Yermolenko EI, Donetz VN, Dmitrieva YuV et al. Influence of probiotic enterococci on functional characteristics of rat bowel under dysbiosis induced by antibiotics. *Vestnik SPbSU*. 2009;(1):157–167. (In Russ.)].
28. Morel FB, Oozeer R, Piloquet H, et al. Prewaning modulation of intestinal microbiota by oligosaccharides or amoxicillin can contribute to programming of adult microbiota in rats. *Nutrition*. 2015;31(3):515–522. DOI: 10.1016/j.nut.2014.09.011.
29. Hu X, Wang T, Liang S, et al. Antibiotic-induced imbalances in gut microbiota aggravates cholesterol accumulation and liver injuries in rats fed a high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015;99(21):9111–9122. DOI: 10.1007/s00253-015-6753-4.
30. Manichanh C, Reeder J, Gibert P, et al. Reshaping the gut microbiome with bacterial transplantation and antibiotic intake. *Genome Res*. 2010;20(10):1411–1419. DOI: 10.1101/gr.107987.110.
31. Peuranen S, Tiihonen K, Apajalahti J, et al. Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. *Br J Nutr*. 2004;91(6):905–914. DOI: 10.1079/BJN20041114.
32. Макарова М.Н., Крышень К.Л., Алякринская А.А. и др. Характеристика микрофлоры кишечника у человека и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2016;(4):86–94. [Makarova MN, Kryshen KL, Alyakrinskaya AA, et al. Characteristics of the intestinal microflora in humans and laboratory animals. *International bulletin of Veterinary Medicine*. 2016;(4):86–94. (In Russ.)].
33. Rosa CP, Brancaglion GA, Miyauchi-Tavares TM, et al. Antibiotic-induced dysbiosis effects on the murine gastrointestinal tract and their systemic repercussions. *Life Sci*. 2018;207:480–491. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.06.030.
34. de Queiroz CA, Fonseca SG, Frota PB, et al. Zinc treatment ameliorates diarrhea and intestinal inflammation in undernourished rats. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:136. Published 2014 Aug 5. DOI: 10.1186/1471-230X-14-136.
35. Hor YY, Lew LC, Jaafar MH, et al. Lactobacillus sp. improved microbiota and metabolite profiles of aging rats. *Pharmacol Res*. 2019;146:104312. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104312.
36. Jena PK, Trivedi D, Thakore K, et al. Isolation and characterization of probiotic properties of Lactobacilli isolated from rat fecal microbiota. *Microbiol Immunol*. 2013;57(6):407–416. DOI: 10.1111/1348-0421.12054.
37. Ким А.Д., Гольдберг О.А., Лепехова С.А. и др. Особенности топографической анатомии и пристеночной микрофлоры дистального отдела толстой кишки у крыс линии Wistar. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016;1(2(108)):48–54. [Kim AD, Goldberg OA, Lepekhova SA, et al. Peculiarities of topographic anatomy and crypt compartment of distal colon in wistar rats. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016;1(2(108)):48–54. (In Russ.)]. DOI: 10.12737/20615.
38. Wu H, Ma Y, Peng X, et al. Antibiotic-induced dysbiosis of the rat oral and gut microbiota and resistance to Salmonella. *Arch Oral Biol*. 2020;114:104730. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2020.104730.
39. Tarasova E, Yermolenko E, Donets V, et al. The influence of probiotic Enterococcus faecium strain L5 on the microbiota and cytokines expression in rats with dysbiosis induced by antibiotics. *Benef Microbes*. 2010;1(3):265–270. DOI: 10.3920/BM2010.0008.
40. Жакслыкова С.А., Хабибуллин Р.Э., Яковлева Г.Ю., Решетник О.А. Антагонистическая активность бактериальных молочнокислых заквасок. *Вестник Казанского технологического университета*. 2014;17(10):152–155. [Zhakslykova SA, Khabibullin RE, Yakovleva GYu, Reshetnik OA. Antagonisticheskaya aktivnost' bakterial'nykh molochnokislykh zakvasok. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2014;17(10):152–155. (In Russ.)].