

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ, СИНБИОТИКОВ И МЕТАБИОТИКОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ЖИВОТНЫХ С АНТИБИОТИКО-АССОЦИИРОВАННЫМ ДИСБИОЗОМ

Чичерин И.Ю.¹, Погорельский И.П.², Лундовских И.Г.², Дармов И.В.², Шабалина М.Р.², Подволоцкий А.С.²

¹ Научное общество «Микробиота»

² Вятский государственный университет

COMPARATIVE EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF MODERN PROBIOTICS, PREBIOTICS, SYNBIOTICS AND METABIOTICS FOR CORRECTION OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS IN ANIMALS WITH ANTIBIOTIC-ASSOCIATED DYSBIOSIS

Chicherin I.Yu.¹, Pogorelsky I.P.², Lundovskikh I.A.², Darmov I.V.², Shabalina M.R.², Podvolotsky A.N.²

¹ Scientific society «Microbiota»

² Vyatka State University

Чичерин Игорь Юрьевич
Chicherin Igor Yu.
rpatron@mail.ru

Чичерин Игорь Юрьевич — Президент научного общества «Микробиота», к.м.н., Научное общество «Микробиота».

Погорельский Иван Петрович — Профессор каф. микробиологии Института биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «ВятГУ», д.м.н., профессор.

Лундовских Ирина Александровна — Доцент каф. микробиологии Института биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «ВятГУ», к.х.н., доцент.

Дармов Илья Владимирович — Зав. кафедрой микробиологии Института биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «ВятГУ», д.м.н., профессор.

Шабалина Марина Робертовна — Доцент каф. фундаментальной и прикладной математики Института математики и информационных систем ФГБОУ ВО «ВятГУ», к.п.н.

Подволоцкий Александр Николаевич — Магистрант каф. микробиологии Института биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «ВятГУ».

Chicherin Igor Yuryevich — Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad, Russia.

Pogorelsky Ivan Petrovich — Vyatka State University, Kirov, Russia.

Lundovskikh Irina Aleksandrovna — Vyatka State University, Kirov, Russia.

Darmov Ilya Vladimirovich — Vyatka State University, Kirov, Russia.

Shabalina Marina Robertovna — Vyatka State University, Kirov, Russia.

Podvolotsky Aleksandr Nikolaevich — Vyatka State University, Kirov, Russia.

Резюме

На протяжении многих десятилетий пробиотики являлись ведущими в арсенале средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника. Однако ответ представителей кишечной микробиоты на энтеральное поступление пробиотиков вариабелен, а у некоторых индивидуумов может отсутствовать. Несмотря на то, что ученые все еще расходятся во мнении о необходимости принудительного заселения нормальной микробиоты при дисбиозе кишечника, в продажу поступает большое количество лекарственных средств, продуктов функционального питания, биологически активных добавок, эффективность которых не всегда однозначна. Представлены результаты сравнительного экспериментального изучения эффективности 18 современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника при антибиотико-ассоциированном дисбиозе у животных. Сделан вывод о необходимости оценки эффективности и безопасности разрабатываемых средств коррекции микробиоты кишечника в экспериментах на животных с последующим подтверждением клиническими испытаниями.

Ключевые слова: микробиота, дисбиоз, пробиотики, пребиотики, метабиотики, синбиотики, метапребиотики.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2016; 131 (7): 106–120

Summary

Probiotics for decades were leading in the arsenal of tools for correction of intestinal microbiocenosis. However, the response of representatives of intestinal microbiota to enteral intake of probiotics is variable, and in some individuals may be missing. Despite the fact that scientists still disagree on the necessity of forced settlement of normal microbiota at intestinal dysbiosis, large number of medicinal products, functional foods, dietary supplements, which efficiency is not always straightforward, is available for sale. The results of comparative experimental study of the effectiveness of 18 modern

preparations for correction of intestinal microbiocenosis at antibiotic-associated dysbiosis in animals are presented. Conclusion is done on the need to evaluate efficacy and safety of tools developed for intestinal microbiota correction in animal experiments, followed by confirmation of clinical trials.

Keywords: microbiota, dysbiosis, probiotics, prebiotics, metabiotics, synbiotics, metaprebiotics.

Экспериментальная i Клиническая Gastroenterologia 2016; 131 (7): 106–120

Введение

Выдающийся отечественный ученый лауреат Нобелевской премии в области физиологии и медицины И. И. Мечников был основателем научной геронтологии. Ученый полагал, что старение и смерть наступает у человека преждевременно, и особую роль в этом играют микробы кишечной микрофлоры, «отравляющие организм своими токсинами». Он утверждал: «Наша преждевременная и несчастливая старость является следствием постоянного отравления вредными веществами, выделяемыми некоторыми микробами толстого кишечника» [1].

Данное утверждение уже в наши дни полностью подтверждено эпидемиологическими и клиническими исследованиями, в которых показано участие микрофлоры кишечника человека в процессах хронического системного воспаления [2]. Научный опыт и талант экспериментатора позволили И. И. Мечникову сделать исключительно важный вывод: надо продлевать жизнь, а не старость [1]. Другими словами, И. И. Мечников сформулировал понятие об активном долголетии.

Важно отметить и другое: солидаризируясь с Гиппократом, И. И. Мечников советует врачу «...как можно более оберегать целебные силы природы, по возможности, меньше вмешиваясь в течение болезни, следить за правильным ходом ее и выжидать наступление кризиса. Врач должен помогать или, по крайней мере, не вредить» [1]. Именно в уважении личности человека и соблюдении принципа «Не навреди!» и состоит основной этический принцип биомедицинских исследований, сформулированный в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации, принятой на 18-й Генеральной Ассамблее Всемирной медицинской ассоциации в г. Хельсинки, Финляндия, в июне 1964 г. [3]. Это тем более важно, что в настоящее время в ходе биомедицинских исследований разрабатываются интенсивные технологии использования антимикробных средств с абсолютно новым механизмом действия, а также новые лечебные технологии восстановления микробиоценоза кишечника при дисбиозах различного генеза.

Дисбиоз, выявляющийся у подавляющего большинства населения России, характеризуется количественными и качественными изменениями в микроэкологии толстой кишки с развитием метаболических, трофических, иммунологических и других расстройств [4, 5, 6]. Очень важным в проблеме дисбиоза является понимание того, что, согласно отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», — дисбиоз (дисбактериоз) — это клинико-лабораторный синдром, который развивается вторично на фоне приема антибактериальных препаратов, изменения

среды обитания и характера питания, заболеваний желудочно-кишечного тракта [7].

Исходя из понимания этиопатогенеза дисбиоза толстой кишки, его коррекция включает патогенетическое лечение основного заболевания с обязательным восстановлением микробиоценоза кишечника. Комплекс лечебных мероприятий, направленных на коррекцию дисбиоза толстой кишки, включает применение препаратов коррекции микрофлоры, таких как пробиотики, пребиотики и синбиотики. Исторически так сложилось, что наиболее представительную группу среди этих препаратов составляют пробиотики, содержащие живые микроорганизмы, являющиеся представителями нормальной микрофлоры толстой кишки — бифидобактерии, лактобациллы, эшерихии, энтерококки (фекальные стрептококки).

Практическое воплощение идеи пробиотикотерапии в США датируется 1920–1922 гг. [8]. В Советском Союзе в 1960 г. было освоено производство сухого препарата Колибактерин, а в 1962 г. — сухого препарата Бифидумбактерин [9]. В последующем, велись исследования, связанные с селекцией перспективных штаммов бифидобактерий, лактобацилл и других видов микроорганизмов, пригодных для конструирования на их основе пробиотических препаратов. Такая селекция, к большому сожалению, продолжается и по настоящее время. Рынок пробиотических препаратов довольно велик и включает кроме собственно пробиотических препаратов, биологически активные добавки и продукты функционального питания, содержащие микроорганизмы из семейств *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, родов *Escherichia*, *Saccharomyces*, *Bacillus*.

Почти одновременно с расширением рынка пробиотических препаратов началась дискуссия о правомерности принудительного «насаждения нормальной микрофлоры» путем заместительной пробиотикотерапии. Началу дискуссии послужили публикации, в которых указывалось на несоответствие между сложившимся мнением об эффективности пробиотиков и увеличивающимся распространением дисбиозов. Сама по себе эффективность пробиотиков в опытах на животных экспериментально не была доказана, что повлекло за собой в последующем при клинических испытаниях возникновение проблем, связанных не только с ростом дисбиозов у населения, несмотря на значительный арсенал пробиотических препаратов, но и с их безопасностью. Ведь если предлагаемое средство или целый класс средств еще на стадии экспериментальной проверки на животных не проявили своей эффективности, то очевидно и нет

необходимости их производить и соответственно доказывать безопасность.

Важно подчеркнуть, что разработчики пробиотических препаратов до последнего времени не проверяли в эксперименте их эффективность, поскольку не знали, что «рабочей субстанцией» в пробиотиках являются не микробные клетки, а продукты их метаболизма. Поэтому все биотехнологические приемы были направлены на оптимизацию процесса культивирования пробиотических микроорганизмов, получение максимальных количеств микробной биомассы и сохранение высокой выживаемости пробиотических микроорганизмов в составе препарата. Безусловно, эти аспекты биотехнологии пробиотиков очень важны, но только в контексте конечной их эффективности: не ведая, что разрабатываешь, нельзя при продаже уповать только на рекламу и потребительский спрос.

Опубликованные в 2005–2006 гг. результаты экспериментальных исследований [10, 11] приблизили ученых к пониманию того, что совершенно недостаточно лишь констатировать наличие либо отсутствие эффективности пробиотикотерапии или транзитный её характер, а необходимо обосновать и внедрить в исследовательскую практику новые методические подходы к всестороннему изучению взаимоотношений поступающих извне пробиотических микроорганизмов с организмом хозяина.

При ближайшем рассмотрении оказалось, что в течение длительного периода времени не существовало метода определения биодоступности пробиотических микроорганизмов (выживаемости при транзите по желудочно-кишечному тракту); не был установлен механизм действия пробиотических микроорганизмов (заместительное действие, т. е. приживаемость в биопленке слизистой оболочки кишечника); не была доказана безопасность применения пробиотических препаратов (биосовместимость микроорганизмов в составе пробиотиков с индигенной микробиотой, вероятность её транслокации за пределы стенки кишечника).

Другими словами, не существовало метода дифференциации пробиотических и индигенных микроорганизмов одного вида, то есть невозможно было проследить судьбу экзогенных пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте организма нового хозяина и соответственно прогнозировать конечный результат пробиотикотерапии.

Данная проблема была успешно решена группой российских ученых, разработавших, во-первых, универсальный метод дифференциации пробиотических и индигенных микроорганизмов путем получения маркированных производных пробиотических бактерий, выделенных из кишечного содержимого лабораторных животных, стабильно наследующих признак устойчивости к антибиотикам рифампицину и сохраняющих видовые характеристики [12–16].

Во-вторых, был разработан экспресс-метод, обеспечивающий в эксперименте на подопытных животных инициацию дисбиоза кишечника [17–19].

В-третьих, в 2012 г. был введен в научный оборот универсальный показатель, характеризующий

количественные изменения микробиоты кишечника у животных в эксперименте под действием средств коррекции микробиоценоза, а именно скорость восстановления микробиоты кишечника [20, 21].

Универсальность показателя состоит в том, что с его помощью можно оценивать воздействие как положительных (скорость восстановления), так и негативных (скорость угнетения) факторов на общее содержание микроорганизмов и отдельных представителей кишечной микробиоты. Данный интегративный показатель, учитывающий всю совокупность воздействующих на кишечную микробиоту факторов, позволяет получать количественную характеристику процесса восстановления (угнетения) кишечной микробиоты ($\text{КОЕ} \times \text{г}^{-1} \times \text{сут}^{-1}$) в сравнении с аналогичным показателем, который определяется в контрольном эксперименте на животных при самовосстановлении их кишечного микробиоценоза (кратность к контролю).

Таким образом, определяя скорость восстановления кишечной микробиоты под воздействием конкретных дозировок различных препаратов можно установить не только их конечную эффективность в коррекции дисбиотических нарушений кишечника, но и провести сравнительный анализ.

При отсутствии или прекращении отрицательного воздействия на кишечную микробиоту экзогенных факторов происходит ее самовосстановление, но этот процесс довольно длительный, а значения самого показателя не превышают нескольких десятков единиц. И если разработчик препарата утверждает, что есть положительный эффект от применения препарата, то невольно напрашивается вопрос: а с чем проводили сравнение и какой показатель при этом использовали? При относительном равенстве с показателем самовосстановления следует искать причину низкой эффективности препарата еще на стадии доклинических испытаний.

В дальнейшем на большом экспериментальном материале авторам настоящей статьи удалось показать низкую выживаемость пробиотических микроорганизмов *in vitro* в модельных средах [22] и в желудочном содержимом [23], а также отсутствие их приживаемости в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных [12].

Эти данные, подкрепленные результатами исследований видовой, тканевой и индивидуальной специфичности, а также гетерологичности пробиотических бактерий для организма нового хозяина [11], их несовместимости с его резидентной микробиотой, свидетельствуют об экологической и функциональной маргинальности пробиотических микроорганизмов [24] и невозможности с их помощью изменить уже сформировавшуюся собственную микробиоту как у здоровых людей [25], так и у лиц с дисбиотическими изменениями кишечной микробиоты [25, 26].

В контексте изложенного следует отметить результаты экспериментов, которые были опубликованные в работе [27], согласно которым удаление пробиотических микроорганизмов из коммерческого биокомплекса «Нормофлорин-Б1» повышает эффективность препарата по восстановлению

нормобиоты у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом почти в 60 раз, а сами живые бактерии, удаленные из биокомплекса, при энтеральном введении животным с антибиотико-ассоциированным дисбиозом не обладали способностью стимулировать восстановление кишечной микробиоты.

Таким образом, экспериментально было доказано, что не пробиотические микроорганизмы, а их метаболиты вносят существенный вклад в нормализацию нарушений микробиоценоза кишечника.

С учетом вышеизложенного, можно констатировать, что на протяжении многих лет у производителей пробиотиков, а также у врачей и пациентов сформировалось представление о пробиотиках, созданных на основе микроорганизмов, выделенных из нормальной микробиоты людей, как о препаратах, обладающих лечебно-профилактической активностью, и что эти препараты без экспериментального обоснования целесообразности введения в их состав различных компонентов, а также без оценки эффективности самих препаратов в опытах на животных, можно включать в схемы лечения большинства заболеваний.

В этой связи главной опасностью нерационально организованного процесса разработки и создания средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника только на основе интуиции без научно-экспериментальной поддержки, при отсутствии целевого эффекта от их применения является потенциальная опасность самих средств коррекции для людей, принимающих их как с лечебной, так и с профилактической целью.

Появились публикации о негативных последствиях приема пробиотиков [28] и даже гибели пациентов, принимавших с профилактической целью пробиотический препарат компании Winclove, созданный на основе четырех широко известных штаммов лактобацилл и двух штаммов бифидобактерий без включения в состав препарата каких-либо других ингредиентов, способных оказать негативное влияние на его свойства [29].

Эти и другие опубликованные факты не могли не насторожить клиницистов, что нашло свое отражение в резолюции состоявшегося 01.11.2015 года в г. Москве заседания Экспертного совета, посвященного вопросам эффективности, безопасности и регуляторным аспектам применения пробиотических микроорганизмов в России и других странах.

В одном из разделов резолюции, касающегося вопросов эффективности и безопасности пробиотиков, указывается на случаи возникновения системных инфекций (эндокардита, сепсиса, менингита, бактериемии), вызванных лактобациллами у пациентов с выраженной иммуносупрессией (пациенты после трансплантации органов, больные с онкопатологией, получавшие химиотерапию, и др.), с предшествующим хирургическим вмешательством, с установленными хирургическими катетерами и/или тяжелыми основными заболеваниями [30].

Однако в самой резолюции констатацией факта негативных последствий пробиотикотерапии дело и ограничилось. Более того, предлагается рассмотреть возможность использования пробиотических штаммов с доказательной базой, в частности *L. rhamnosus* GG, совместно с оральной регидратацией низкоосмолярными растворами в комплексном патогенетическом лечении детей и взрослых с острым гастроэнтеритом.

Создается впечатление, что за прошедшие десятилетия как в мире, так и в России не сложилось научно обоснованного мнения о механизме действия пробиотиков. С большой долей вероятности можно также говорить о том, что в основе системной ошибки, которую совершают разработчики коммерческих пробиотиков и которая связана с нарушением этапности разработки данных препаратов (рисунок 1), лежит, с одной стороны, недостаток знаний о взаимоотношении пробиотиков с кишечной микробиотой, а с другой, — финансовая привлекательность биотехнологических производств коммерческих пробиотических препаратов,



Рисунок 1
Традиционно сложившаяся последовательность действий при разработке пробиотических препаратов

которые в короткие сроки от начала разработки поступают в аптечную сеть.

Просматривается общая направленность в деятельности разработчиков пробиотических препаратов: непосредственно после этапа теоретического обоснования, перспективного с их точки зрения, микроорганизма для включения в состав пробиотического препарата и создания самого препарата, вся их деятельность направляется на клиническое испытание конкретного биотехнологического продукта с последующей поставкой в аптечную сеть.

Второй, очень важный этап доклинического экспериментального изучения безопасности и безвредности самого микроорганизма, в том числе и в составе пробиотических препаратов, исключается из логической цепочки действий при разработке и клиническом их испытании. Важно при этом отметить, что разработчики пробиотиков в своих действиях руководствовались и руководствуются постулатом, согласно которому, выделяемые из кишечника именно здоровых людей микроорганизмы считаются перспективными и могут быть использованы в биотехнологических целях для производства средств коррекции дисбиозов.

Отсутствие второго этапа в цепочке последовательных действий при разработке пробиотических препаратов является очевидным нарушением важнейшего этического принципа (*Noli nocere!* — не навреди!) проведения медицинских исследований с участием человека, закрепленного Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [3], где четко прописана необходимость предварительного проведения экспериментального изучения нового препарата на животных для оценки безопасности его применения у людей.

Однако даже несмотря на отсутствие достаточной убедительности лечебно-профилактической эффективности современных пробиотических препаратов, при наличии побочных проявлений у больных в ходе приема пробиотиков, в аптечную сеть продолжают поступать новые как отечественные мультипробиотики (на основе 9 и даже

14 штаммов бактерий), так и зарубежные, например японский Дайго (не пробиотик, не пребиотик, а экстракт брожения лактобацилл), не прошедшие исследований в эксперименте на животных по взаимоотношению с кишечной микробиотой.

Очевидно, что включение в состав одного препарата многих бактериальных штаммов, относящихся к разным биологическим видам, без изучения их биосовместимости как друг с другом, так и с индигенной микробиотой, ни к чему хорошему не приведет: в одной дозе такого мультипробиотика индивидуальное содержание бактерий каждого штамма снижено, что увеличивает вероятность повышенной их гибели в ходе преодоления кислотнo-щелочного барьера при транзите по желудочно-кишечному тракту. Однако разработчики продолжают поставлять на рынок новые формы препаратов корректоров нарушений кишечного микробиоценоза (капсулы, таблетки, пакеты-саше, растворы и т. д.), оплачивают рекламу препаратов, проведение семинаров и научно-практических конференций с доведением до сведения практических врачей информации о лечебных свойствах препаратов, убеждая рекомендовать их больным.

И тем не менее несмотря на то, что в России свыше 80% населения страдает дисбиозами различного генеза, все больше становится тех, кто не желает на себе и своих близких проверять активно рекламируемые в средствах массовой информации современные пробиотические препараты, поскольку нет гарантии их безопасности и эффективности. Данное обстоятельство ставит под сомнение целесообразность безоглядного использования живых пробиотических микроорганизмов без предварительного их изучения в эксперименте на животных [31].

Цель работы — сравнительное изучение эффективности современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у конвенциональных белых мышей с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбиозом.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали современные, часто применяемые в клинической практике препараты, а также инновационные коммерческие и экспериментальные препараты последнего времени (Актофлор С, Стимбифид плюс, Стимекс), предназначенные для коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у людей. Характеристика препаратов приведена в таблице 1.

Выращивание бифидобактерий и лактобацилл, выделяемых из кишечной микробиоты подопытных животных, проводили на плотных питательных средах рекомендованного состава [32], а эшерихий — на агаре Хоттингера и агаре Эндо. При выращивании бифидобактерий и лактобацилл в микроаэрофильных условиях использовали систему для анаэробного культивирования (анаэроб-стат) Anaerobic system MarkIII-LE003 (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd, Мумбаи, Индия) с пакетами газогенераторными Hi Anaero Gas Pacet.

Общее количество микробных клеток в пересчете на 1 г фекалий животных определяли подсчетом в камере Горяева (модель 851, ЛПО «Красногвардеец», Россия). Количество жизнеспособных микроорганизмов в 1 г фекалий ($\text{КОЕ} \times \text{г}^{-1}$) определяли высевом соответствующих десятикратных разведений суспензии биоматериала на плотные питательные среды в чашках Петри и подсчета выросших колоний бактерий по истечении времени инкубирования при температуре 37°C.

Антибиотико-ассоциированный дисбиоз у конвенциональных белых мышей вызывали путем перорального введения гентамицина в течение семи дней [17, 18]. Гентамицин для парентерального введения произведен фирмой-изготовителем KRKA, Словения.

В работе использовали прошедших акклиматизацию конвенциональных белых мышей, обоего пола, массой 18–20 г.

Порядковый номер	Название препарата	Вид препарата	Состав	Срок годности, %
1	Актофлор-С, серия 020316	Метабиотик нового поколения	Комплекс аминокислот и органических кислот — аналогов метаболитов пробиотических микроорганизмов	94
2	Аципол, серия 010116	Пробиотик	Живые ацидофильные бактерии, не менее 1×10^7 КОЕ в одной капсуле <i>L. casei</i> PXXN 37, <i>L. plantarum</i> PXXN 47, <i>L. rhamnosus</i> PXXN 54, <i>B. bifidum</i> PXXN 23, <i>B. breve</i> PXXN 25, <i>B. longum</i> PXXN 25, <i>L. acidophilus</i> PXXN 35, <i>Lactococcus lactis ssp.lactis</i> PXXN 63, <i>Streptococcus thermophilus</i> PXXN 66, <i>B. infantis</i> PXXN 27, <i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> PXXN 39, <i>L. helveticus</i> PXXN 45, <i>L. salivarius</i> PXXN 57, <i>L. fermentum</i> PXXN 44, не менее 2×10^8 КОЕ в одной капсуле	87
3	Бак-Сет форте, лот 1091105	Мультипробиотик	Биологически активные метаболиты бесклеточной культуральной жидкости <i>B. subtilis</i> 3, витамин E и гидролизат соевой муки	79
4	Бактистатин, партия 090915	Метабиотик	В одной капсуле <i>Enterococcus faecium</i> 1×10^7 КОЕ, <i>Bifidobacterium longum</i> 1×10^7 КОЕ	87
5	Бифидум, серия 28236	Пробиотик	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> 1×10^8 КОЕ/мл, <i>Lactobacillus plantarum</i> 1×10^8 КОЕ/мл и их продукты метаболизма	66
6	Бовестин лакто, свидетельство о регистрации № RU.77.99.11.003. E. 044981. 10.11 от 31.10.2011 г.	Пробиотик	Безмикробный препарат, содержит лигнин гидролизный, лактозу, целлюлозу микрокристаллическую	86
7	Лактофилтрум, серия 2101015	Пробиотик	В одной капсуле <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 5 13,8 мг, <i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis</i> BB12 4,2 мг	75
8	Линекс форте, серия FR 4472	Пробиотик	Одна капсула содержит лиофилизат пробиотических бактерий $4,5 \times 10^9$ КОЕ и пробиотический компонент олигофруктозу 63 мг. Лиофилизат бактерий: <i>L. helveticus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. breve</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>B. bifidum</i>	83
9	Максилак, серия 8546308	Мультипробиотик + пребиотик	В 1 мл культуры лактобактерий <i>L. acidophilus</i> не менее 1×10^9 КОЕ, продукты метаболизма бактерий	70
10	Нормофлорин-Л, серия 0218	Синбиотик	В одной капсуле $2,9 \times 10^9$ КОЕ лиофилизированных бактерий <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	79
11	Примадофилус, сери 20050416	Пробиотик	В одной капсуле не менее 5×10^8 КОЕ/г пробиотических микроорганизмов: <i>B. bifidum</i> W 23, <i>B. lactis</i> W 51, <i>L. acidophilus</i> W37, <i>L. paracasei</i> W20, <i>L. plantarum</i> W62, <i>L. rhamnosus</i> W71, <i>L. salivarius</i> W24 с включением пребиотических компонентов — инулина, фруктоолигосахаридов	63
12	Рио Флора, серия EF 0497	Мультипробиотик + пребиотик	Олигофруктоза, инулин, премикс витаминно-минеральный «Immuniu», микроэлементы — цинк и селен	94
13	Стимбифид, серия 010316	Пробиотик	Фруктоолиго- и фруктополисахариды, кальций молочнокислый. Патент РФ	98
14	Стимбифид плюс, серия 010616	Метапробиотик (метабиотик + пребиотик)	Иновационный экспериментальный комплекс, содержащий метабиотический и пробиотический компоненты. Патент РФ	97
15	Стимекс, экспериментальная серия	Метапробиотик (метабиотик + пребиотик)	Беззародышевый водный субстрат продуктов обмена веществ <i>E. coli</i> DSM 4087, <i>S. faecalis</i> DSM 4086, <i>L. acidophilus</i> DSM 4149, <i>L. helveticus</i> DSM 4183	81
16	Хилак форте, серия R21664	Метабиотик	Гуммиарабик, фруктоолигосахариды, лактит (лактинол)	62
17	Флоролакт, серия 710615	Пробиотик	В одной капсуле 250 мг лиофилизированных сахаромидцев <i>Saccharomyces boulardii</i>	86
18	Энтерол, серия 1615	Пробиотик		
19	Парлет, серия FESSJ01	Средство, понижающее секрецию желез желудка (ингибитор протонной помпы)		58

Таблица 1
Характеристика
исследованных современных
препаратов

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в соответствии с рекоменда-

циями, изложенными в руководстве И. П. Ашмарина и А. А. Воробьева [33].

Результаты исследования

В таблице 1 приведен перечень основных видов сравниваемых препаратов, а также препарат Париет (ингибитор протонной помпы) для подавления секреции желудочного сока при пероральном введении подопытным животным и изучения в эксперименте на фоне его введения эффективности отдельных препаратов.

С учетом представленных в работах [17, 18] результатов, а также среднесуточных доз антибиотика для людей, для инициации у конвенциональных белых мышей индуцированного дисбиоза животным вводили гентамицин перорально в дозе 2,9 мг 2 раза в сутки. При пероральном введении гентамицин не всасывается через стенку кишки в кровотоки и не оказывает системных эффектов. Начиная с первого дня введения антибиотика, у животных отбирали фекалии для определения общего количества микробиоты и отдельных ее представителей. Результаты определений представлены в таблице 2.

Из представленных в таблице 2 данных следует, что уже на вторые сутки введения гентамицина животным отмечается снижение общего количества фекальной микробиоты на четыре порядка, а к седьмым суткам эксперимента общее содержание фекальной микробиоты снизилось ещё на два порядка. Наряду со снижением общего количества фекальной микробиоты под влиянием гентамицина происходит снижение содержания бифидобактерий, лактобацилл и эшерихий.

Таким образом, под влиянием перорального введения конвенциональным белым мышам антибиотика гентамицина наблюдается выраженное изменение качественного и количественного состава микробиоты кишечника, свидетельствующее о развитии у животных индуцированного антибиотико-ассоциированного дисбиоза. Выявленные у конвенциональных белых мышей глубокие дисбиотические изменения в составе кишечной микробиоты соответствуют 3 степени нарушения микробиоценоза кишечника у людей [34].

На 5 сутки после прекращения перорального введения гентамицина (время, необходимое на полное выведение гентамицина из ЖКТ) подопытные животные с выраженными дисбиотическими изменениями фекальной микробиоты были разделены на 18 групп и 3 подгруппы (5.1, 9.1 и 12.1) по 6 особей в каждой. 19 группа была контрольной:

животные этой группы (группы самовосстановления кишечной микробиоты получали только корм и питье). Животным опытных групп и подгрупп перорально вводили соответствующие препараты в рекомендуемых инструкциями по применению дозах с учетом переводного коэффициента.

Введение препаратов животным подгрупп 5.1, 9.1 и 12.1 проводили на фоне подавления секреции желудочного сока препаратом Париет [35]. В начале введения животным препаратов, а также на 2, 5 и 8 сутки у животных каждой из групп отбирали фекалии для бактериологического исследования. Результаты выполненных исследований представлены в таблицах 3–6.

Представленные в таблицах 3–6 данные свидетельствуют о том, что истинную эффективность средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника можно установить, лишь проведя соответствующие эксперименты на животных с индуцированным дисбиозом кишечника. Именно в эксперименте на животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом в полной мере можно оценить эффективность различных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника.

Так, уже со вторых суток у животных отмечается начало увеличения численности как общего количества микроорганизмов, так и отдельных представителей кишечной микробиоты. Дальнейшее увеличение численности кишечной микробиоты отмечено на пятые сутки эксперимента, а к восьмым суткам становится возможным выявление тех вводимых животным препаратов, которые оказывают наиболее благоприятное влияние на восстановление кишечной микробиоты.

К таким препаратам следует отнести Стимбифид, Стимбифид плюс и Стимекс: под влиянием данных препаратов происходит действительное увеличение численности как общего количества микроорганизмов, так и лактобацилл, бифидобактерий и эшерихий до уровней, соответствующих физиологическим параметрам. В то же время другие исследуемые препараты проявили значительно меньшую эффективность.

Так, по данным, представленным в таблице 3, наименьшее влияние на восстановление общего количества микроорганизмов в кишечном содержимом животных выявлено у 13 препаратов, эффективность которых находится на уровне контроля

Таблица 2
Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом конвенциональных белых мышей при антибиотико-ассоциированном дисбиозе ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 30)

Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ×г ⁻¹		
	Начало введения гентамицина per os	2	7
Общее количество	(6,3 ± 0,5)×10 ⁹	(6,9 ± 0,5)×10 ⁵	(2,2 ± 0,6)×10 ³
Бифидобактерии	(6,0 ± 0,4)×10 ⁶	(1,9 ± 0,5)×10 ⁴	(1,5 ± 0,5)×10 ²
Лактобациллы	(2,6 ± 0,5)×10 ⁷	(1,6 ± 0,3)×10 ⁵	(1,4 ± 0,6)×10 ²
Эшерихии	(1,2 ± 0,3)×10 ⁶	(2,0 ± 0,4)×10 ³	(1,1 ± 0,5)×10 ¹

Порядковый номер	Название препарата	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки			
		Начало эксперимента	2	5	8
1	Актофлор-С		$(2,8 \pm 0,6) \times 10^3$	$(4,8 \pm 0,7) \times 10^5$	$(6,8 \pm 0,7) \times 10^7$
2	Аципол		$(2,1 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,8 \pm 0,7) \times 10^5$	$(8,9 \pm 0,7) \times 10^6$
3	Бак-Сет форте		$(1,8 \pm 0,6) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,6) \times 10^4$	$(9,4 \pm 0,7) \times 10^6$
4	Бактистатин		$(3,6 \pm 0,7) \times 10^3$	$(8,6 \pm 0,7) \times 10^4$	$(9,6 \pm 0,6) \times 10^5$
5	Бифиформ		$(2,4 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,5) \times 10^5$	$(7,5 \pm 0,6) \times 10^6$
5.1	Бифиформ*		$(2,2 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,4 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,6 \pm 0,5) \times 10^5$
6	Биовестин лакто		$(6,8 \pm 0,5) \times 10^3$	$(9,6 \pm 0,5) \times 10^4$	$(8,8 \pm 0,5) \times 10^5$
7	Лактофильтрум		$(2,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(1,2 \pm 0,6) \times 10^4$	$(7,8 \pm 0,6) \times 10^4$
8	Линекс форте		$(2,0 \pm 0,5) \times 10^4$	$(3,6 \pm 0,6) \times 10^5$	$(7,6 \pm 0,6) \times 10^6$
9	Максилак		$(1,8 \pm 0,4) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^5$	$(8,7 \pm 0,6) \times 10^7$
9.1	Максилак*		$(1,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(3,5 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,6 \pm 0,7) \times 10^6$
10	Нормофлрин-Л	$(2,2 \pm 0,6) \times 10^3$	$(1,8 \pm 0,6) \times 10^4$	$(6,4 \pm 0,5) \times 10^6$	$(9,6 \pm 0,6) \times 10^6$
11	Примадофилус		$(1,6 \pm 0,6) \times 10^5$	$(3,9 \pm 0,6) \times 10^6$	$(8,9 \pm 0,6) \times 10^6$
12	Рио Флора		$(1,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(1,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(9,1 \pm 0,6) \times 10^6$
12.1	Рио Флора*		$(1,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(4,8 \pm 0,7) \times 10^4$	$(8,4 \pm 0,5) \times 10^6$
13	Стимбифид		$(2,8 \pm 0,6) \times 10^4$	$(3,8 \pm 0,6) \times 10^6$	$(6,5 \pm 0,5) \times 10^9$
14	Стимбифид плюс		$(2,6 \pm 0,4) \times 10^5$	$(6,9 \pm 0,6) \times 10^9$	$(8,6 \pm 0,5) \times 10^9$
15	Стимекс		$(3,1 \pm 0,4) \times 10^5$	$(7,3 \pm 0,7) \times 10^9$	$(9,1 \pm 0,6) \times 10^9$
16	Флоролакт**		$(2,5 \pm 0,7) \times 10^4$	$(5,6 \pm 0,6) \times 10^5$	$(1,6 \pm 0,6) \times 10^7$
17	Хилак форте		$(2,1 \pm 0,5) \times 10^5$	$(3,1 \pm 0,6) \times 10^5$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^7$
18	Энтерол		$(2,4 \pm 0,6) \times 10^4$	$(6,4 \pm 0,5) \times 10^5$	$(7,8 \pm 0,7) \times 10^7$
19	Самовосстановление кишечной микрофлоры		$(3,6 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,5 \pm 0,4) \times 10^5$	$(1,3 \pm 0,5) \times 10^6$

Таблица 3

Динамика концентрации общего количества микроорганизмов в кишечном содержимом белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом на фоне введения исследуемых препаратов ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)

Примечание:

1. Здесь и в таблицах 4, 5, 6, 7 и 8 символом «*» обозначены дополнительные группы животных, у которых введение препаратов осуществлялось на фоне подавления секреции желудочного сока препаратом Парлет (т.е. в условиях имитации использования кислотоустойчивых капсул).
2. Пребиотический комплекс Флоролакт ** вводили животным рег ос в суточной дозе, аналогичной суточной дозе пребиотического комплекса Стимбифид.

Порядковый номер	Название препарата	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки			
		Начало эксперимента	2	5	8
1	Актофлор-С		$(3,9 \pm 0,6) \times 10^4$	$(4,4 \pm 0,6) \times 10^5$	$(5,8 \pm 0,5) \times 10^6$
2	Аципол		$(1,9 \pm 0,5) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,6 \pm 0,6) \times 10^5$
3	Бак-Сет форте		$(1,9 \pm 0,8) \times 10^2$	$(5,1 \pm 0,5) \times 10^3$	$(7,1 \pm 0,6) \times 10^5$
4	Бактистатин		$(2,4 \pm 0,5) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(4,8 \pm 0,5) \times 10^4$
5	Бифиформ		$(1,7 \pm 0,6) \times 10^3$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^5$	$(3,9 \pm 0,7) \times 10^4$
5.1	Бифиформ*		$(1,9 \pm 0,7) \times 10^3$	$(9,6 \pm 0,7) \times 10^5$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^4$
6	Биовестин лакто		$(3,6 \pm 0,6) \times 10^2$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(4,0 \pm 0,6) \times 10^4$
7	Лактофильтрум		$(3,5 \pm 0,6) \times 10^2$	$(2,5 \pm 0,5) \times 10^3$	$(5,9 \pm 0,5) \times 10^3$
8	Линекс форте		$(1,5 \pm 0,4) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^4$	$(5,8 \pm 0,6) \times 10^5$
9	Максилак		$(4,5 \pm 0,7) \times 10^2$	$(3,8 \pm 0,7) \times 10^4$	$(3,8 \pm 0,6) \times 10^5$
9.1	Максилак*		$(3,9 \pm 0,6) \times 10^2$	$(6,4 \pm 0,8) \times 10^3$	$(4,1 \pm 0,5) \times 10^5$
10	Нормофлрин-Л	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^2$	$(2,1 \pm 0,6) \times 10^2$	$(5,3 \pm 0,5) \times 10^4$	$(6,4 \pm 0,5) \times 10^5$
11	Примадофилус		$(1,8 \pm 0,5) \times 10^2$	$(4,1 \pm 0,6) \times 10^4$	$(7,1 \pm 0,6) \times 10^5$
12	Рио Флора		$(1,6 \pm 0,5) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,7) \times 10^3$	$(7,6 \pm 0,6) \times 10^5$
12.1	Рио Флора*		$(1,8 \pm 0,7) \times 10^2$	$(4,9 \pm 0,7) \times 10^3$	$(6,9 \pm 0,7) \times 10^5$
13	Стимбифид		$(4,8 \pm 0,8) \times 10^5$	$(6,4 \pm 0,7) \times 10^6$	$(2,9 \pm 0,6) \times 10^8$
14	Стимбифид плюс		$(3,9 \pm 0,6) \times 10^4$	$(7,8 \pm 0,7) \times 10^8$	$(7,6 \pm 0,5) \times 10^8$
15	Стимекс		$(2,8 \pm 0,5) \times 10^4$	$(8,7 \pm 0,7) \times 10^8$	$(8,8 \pm 0,7) \times 10^8$
16	Флоролакт**		$(1,8 \pm 0,6) \times 10^5$	$(2,7 \pm 0,6) \times 10^5$	$(4,8 \pm 0,7) \times 10^6$
17	Хилак форте		$(2,2 \pm 0,4) \times 10^4$	$(6,0 \pm 0,6) \times 10^5$	$(8,6 \pm 0,6) \times 10^5$
18	Энтерол		$(2,1 \pm 0,6) \times 10^5$	$(3,1 \pm 0,7) \times 10^5$	$(6,8 \pm 0,7) \times 10^6$
19	Самовосстановление кишечной микрофлоры		$(2,1 \pm 0,7) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(2,1 \pm 0,5) \times 10^4$

Таблица 4

Динамика концентрации лактобацилл в кишечном содержимом белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом на фоне введения исследуемых препаратов ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)

Таблица 5

Динамика концентрации бифидобактерий в кишечном содержимом белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом на фоне введения исследуемых препаратов ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)

Порядковый номер	Название препарата	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки			
		Начало эксперимента	2	5	8
1	Актофлор-С		$(2,1 \pm 0,5) \times 10^3$	$(6,8 \pm 0,6) \times 10^3$	$(1,6 \pm 0,6) \times 10^5$
2	Аципол		$(1,9 \pm 0,5) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,6) \times 10^4$	$(4,6 \pm 0,6) \times 10^5$
3	Бак-Сет форте		$(1,9 \pm 0,8) \times 10^2$	$(5,1 \pm 0,5) \times 10^3$	$(8,1 \pm 0,6) \times 10^5$
4	Бактистатин		$(2,4 \pm 0,5) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,8 \pm 0,5) \times 10^4$
5	Бифиформ		$(1,7 \pm 0,8) \times 10^3$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^5$	$(1,9 \pm 0,7) \times 10^5$
5.1	Бифиформ*		$(1,8 \pm 0,7) \times 10^3$	$(5,6 \pm 0,7) \times 10^4$	$(7,6 \pm 0,5) \times 10^4$
6	Биовестин лакто		$(2,6 \pm 0,7) \times 10^2$	$(3,6 \pm 0,6) \times 10^4$	$(8,0 \pm 0,6) \times 10^4$
7	Лактофилтрум		$(3,7 \pm 0,6) \times 10^2$	$(2,8 \pm 0,5) \times 10^4$	$(8,1 \pm 0,6) \times 10^4$
8	Линекс форте		$(2,5 \pm 0,5) \times 10^3$	$(2,6 \pm 0,7) \times 10^5$	$(2,8 \pm 0,7) \times 10^5$
9	Максилак		$(3,5 \pm 0,7) \times 10^2$	$(3,8 \pm 0,7) \times 10^4$	$(1,8 \pm 0,6) \times 10^5$
9.1	Максилак*		$(3,6 \pm 0,6) \times 10^2$	$(6,4 \pm 0,8) \times 10^3$	$(5,7 \pm 0,5) \times 10^5$
10	Нормофлорин-Л	$(1,5 \pm 0,5) \times 10^3$	$(2,8 \pm 0,7) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^4$	$(3,9 \pm 0,5) \times 10^5$
11	Примадофилус		$(1,8 \pm 0,5) \times 10^2$	$(4,1 \pm 0,6) \times 10^5$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^5$
12	Рио Флора		$(1,8 \pm 0,5) \times 10^3$	$(6,7 \pm 0,7) \times 10^3$	$(3,6 \pm 0,6) \times 10^5$
12.1	Рио Флора*		$(1,9 \pm 0,8) \times 10^3$	$(6,9 \pm 0,6) \times 10^3$	$(3,5 \pm 0,5) \times 10^5$
13	Стимбифид		$(2,8 \pm 0,8) \times 10^3$	$(9,4 \pm 0,7) \times 10^6$	$(3,4 \pm 0,7) \times 10^8$
14	Стимбифид плюс		$(2,6 \pm 0,6) \times 10^4$	$(9,8 \pm 0,7) \times 10^8$	$(9,6 \pm 0,5) \times 10^8$
15	Стимекс		$(2,7 \pm 0,5) \times 10^4$	$(9,8 \pm 0,7) \times 10^8$	$(9,7 \pm 0,7) \times 10^8$
16	Флоролакт**		$(2,3 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,1 \pm 0,7) \times 10^5$	$(7,8 \pm 0,6) \times 10^6$
17	Хилак форте		$(2,2 \pm 0,4) \times 10^4$	$(6,0 \pm 0,6) \times 10^5$	$(8,6 \pm 0,6) \times 10^5$
18	Энтерол		$(2,1 \pm 0,6) \times 10^4$	$(8,1 \pm 0,7) \times 10^5$	$(8,8 \pm 0,7) \times 10^6$
19	Самовосстановление кишечной микрофлоры		$(2,1 \pm 0,7) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(7,1 \pm 0,5) \times 10^4$

Таблица 6

Динамика концентрации кишечной палочки в кишечном содержимом белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом на фоне введения исследуемых препаратов ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)

Порядковый номер	Название препарата	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки			
		Начало эксперимента	2	5	8
1	Актофлор-С		$(1,8 \pm 0,8) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,4) \times 10^3$	$(8,4 \pm 0,7) \times 10^4$
2	Аципол		$(1,7 \pm 0,5) \times 10^2$	$(1,6 \pm 0,7) \times 10^4$	$(8,4 \pm 0,6) \times 10^4$
3	Бак-Сет форте		$(1,9 \pm 0,8) \times 10^2$	$(5,1 \pm 0,5) \times 10^3$	$(7,1 \pm 0,6) \times 10^4$
4	Бактистатин		$(2,4 \pm 0,5) \times 10^2$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^3$	$(4,8 \pm 0,5) \times 10^4$
5	Бифиформ		$(1,7 \pm 0,6) \times 10^3$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^3$	$(2,9 \pm 0,7) \times 10^4$
5.1	Бифиформ*		$(1,9 \pm 0,7) \times 10^3$	$(3,6 \pm 0,7) \times 10^3$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^4$
6	Биовестин лакто		$(3,6 \pm 0,6) \times 10^2$	$(6,6 \pm 0,6) \times 10^3$	$(8,7 \pm 0,6) \times 10^4$
7	Лактофилтрум		$(3,1 \pm 0,7) \times 10^2$	$(3,8 \pm 0,5) \times 10^3$	$(7,9 \pm 0,6) \times 10^4$
8	Линекс форте		$(2,5 \pm 0,5) \times 10^3$	$(2,3 \pm 0,7) \times 10^4$	$(2,7 \pm 0,7) \times 10^5$
9	Максилак		$(4,4 \pm 0,7) \times 10^2$	$(3,8 \pm 0,7) \times 10^3$	$(3,8 \pm 0,6) \times 10^4$
9.1	Максилак*		$(3,6 \pm 0,6) \times 10^2$	$(2,4 \pm 0,8) \times 10^3$	$(4,0 \pm 0,5) \times 10^4$
10	Нормофлорин-Л	$(1,1 \pm 0,5) \times 10^1$	$(2,8 \pm 0,7) \times 10^2$	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,5) \times 10^5$
11	Примадофилус		$(1,8 \pm 0,5) \times 10^2$	$(2,0 \pm 0,6) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^5$
12	Рио Флора		$(1,6 \pm 0,5) \times 10^2$	$(2,6 \pm 0,7) \times 10^3$	$(7,6 \pm 0,6) \times 10^4$
12.1	Рио Флора*		$(1,8 \pm 0,7) \times 10^2$	$(2,9 \pm 0,6) \times 10^3$	$(6,9 \pm 0,7) \times 10^4$
13	Стимбифид		$(3,8 \pm 0,4) \times 10^3$	$(6,4 \pm 0,7) \times 10^5$	$(2,7 \pm 0,6) \times 10^7$
14	Стимбифид плюс		$(3,9 \pm 0,6) \times 10^4$	$(6,8 \pm 0,7) \times 10^7$	$(7,6 \pm 0,5) \times 10^7$
15	Стимекс		$(2,8 \pm 0,5) \times 10^4$	$(8,8 \pm 0,7) \times 10^7$	$(8,8 \pm 0,7) \times 10^7$
16	Флоролакт**		$(1,9 \pm 0,6) \times 10^3$	$(3,9 \pm 0,6) \times 10^4$	$(2,7 \pm 0,6) \times 10^5$
17	Хилак форте		$(2,4 \pm 0,5) \times 10^2$	$(3,9 \pm 0,6) \times 10^3$	$(8,6 \pm 0,7) \times 10^5$
18	Энтерол		$(2,0 \pm 0,6) \times 10^3$	$(5,4 \pm 0,5) \times 10^4$	$(3,3 \pm 0,6) \times 10^5$
19	Самовосстановление кишечной микрофлоры		$(2,0 \pm 0,6) \times 10^2$	$(1,6 \pm 0,6) \times 10^3$	$(2,3 \pm 0,6) \times 10^4$

(самовосстановления кишечной микробиоты). Восстановление лактобацилл по 5 вводимым животным препаратам практически остается на уровне контроля (таблица 4), бифидобактерий — также на уровне контроля по 4 вводимым животным препаратам (таблица 5), кишечной палочки — тоже на уровне контроля по 12 вводимым животным препаратам (таблица 6).

Важно отметить и другое: введение животным препарата Парияет (ингибитора протонного насоса в желудке, блокирующего финальную стадию продукции кислоты), не сказывается на интенсивности восстановления общего количества микробиоты и отдельных её представителей под влиянием препаратов Бифидоформ, Максилак и Рио Флора, что собственно и было отмечено в предыдущих наших исследованиях [30], согласно которым, медикаментозное подавление секреции желудочного сока, являющейся причиной создания различных инновационных кислотоустойчивых капсул, в конечном итоге не сказывается на эффективности применения и возможности приживления в биопленке слизистой оболочки кишечника пробиотических бифидобактерий и лактобацилл.

Отмеченные выше препараты Стимбифид, Стимбифид плюс и Стимекс характеризуются наиболее высокой способностью к восстановлению кишечной микробиоты (таблица 7): скорость восстановления кишечной микробиоты и отдельных её представителей значительно выше, чем скорость самовосстановления микробиоты у животных контрольной группы.

Наиболее наглядно в сравнительном плане это представлено в таблице 8: скорость восстановления общего количества микроорганизмов в 1 г фекалий под влиянием препарата Стимекс выше по сравнению с контролем (самовосстановлением кишечной микробиоты) в 8333 раза, препарата Стимбифид плюс — в 7778 раз и препарата Стимбифид — в 5167 раз. Более того, аналогичные показатели для лактобацилл у метапробиотиков Стимекс, Стимбифид плюс и частично у пребиотика Стимбифид в тысячи раз превышают соответствующие показатели других изученных препаратов.

Мультипробиотик + пребиотик Максилак по скорости восстановления общего количества микробиоты в кишечнике экспериментальных животных превышает самовосстановление кишечной микробиоты в 66,6 раза. Пробиотик Энтерол лишь немного уступает по эффективности препарату Максилак, но весьма эффективно восстанавливает численность лактобацилл в кишечном содержимом подопытных животных.

Кроме того, из данных, приведенных в таблице 8, можно сделать определенный вывод о том, что такой показатель, как скорость восстановления микробиоты кишечника, весьма информативен при оценке дальнейшей перспективы препарата: у таких препаратов, как Бактистатин, Биовестин лакто и Лактофилтрум скорость восстановления микробиоты кишечника аналогична той, которая наблюдается при самовосстановлении кишечной микробиоты. Следовательно, экспериментальная

Порядковый номер	Название препарата	Скорость восстановления кишечной микробиоты, КОЕхг ⁻¹ сут ⁻¹			
		Общее количество	Лактобациллы	Бифидобактерии	Кишечная палочка
1	Актофлор-С	8,5×10 ⁶	7,2×10 ⁵	2,0×10 ⁴	1,0×10 ⁴
2	Аципол	1,3×10 ⁶	2,3×10 ⁴	6,4×10 ⁴	1,2×10 ⁴
3	Бак-Сет форте	1,3×10 ⁶	1,0×10 ⁵	1,2×10 ⁵	1,0×10 ⁴
4	Бактистатин	1,4×10 ⁵	6,8×10 ³	9,7×10 ³	6,9×10 ⁴
5	Бифидоформ	1,1×10 ⁶	5,5×10 ³	2,7×10 ⁴	4,1×10 ³
5.1	Бифидоформ*	2,3×10 ⁴	6,5×10 ³	1,1×10 ⁴	6,6×10 ³
6	Биовестин лакто	1,3×10 ⁵	5,7×10 ³	1,1×10 ⁴	1,2×10 ⁴
7	Лактофилтрум	1,1×10 ⁴	8,2×10 ²	1,2×10 ⁴	1,1×10 ⁴
8	Линекс форте	1,1×10 ⁶	8,3×10 ⁴	4,0×10 ⁴	3,9×10 ⁴
9	Максилак	1,2×10 ⁷	5,4×10 ⁴	2,6×10 ⁴	2,6×10 ⁴
9.1	Максилак*	2,3×10 ⁵	6,5×10 ⁴	8,1×10 ⁴	8,1×10 ⁴
10	Нормофлорин L	1,4×10 ⁶	9,1×10 ⁴	5,6×10 ⁴	5,6×10 ⁴
11	Примадофилус	1,3×10 ⁶	1,0×10 ⁵	3,7×10 ⁴	3,7×10 ⁴
12	Рио Флора	1,3×10 ⁶	1,1×10 ⁵	5,1×10 ⁴	1,1×10 ⁴
12.1	Рио Флора*	1,2×10 ⁶	9,8×10 ⁴	5,0×10 ⁴	9,8×10 ³
13	Стимбифид	9,3×10 ⁸	4,1×10 ⁷	4,2×10 ⁷	2,7×10 ⁷
14	Стимбифид плюс	1,4×10 ⁹	1,6×10 ⁸	1,9×10 ⁸	1,5×10 ⁷
15	Стимекс	1,5×10 ⁹	1,8×10 ⁸	1,9×10 ⁸	1,7×10 ⁷
16	Флоролакт**	2,0×10 ⁶	6,0×10 ⁵	9,7×10 ⁵	3,4×10 ⁴
17	Хилак форте	3,7×10 ⁶	1,2×10 ⁵	1,2×10 ⁵	1,2×10 ⁵
18	Энтерол	1,1×10 ⁷	9,7×10 ⁶	1,3×10 ⁶	4,7×10 ⁴
19	Самовосстановление кишечной микробиоты	1,8×10 ⁵	2,9×10 ³	1,0×10 ⁴	3,3×10 ³

Таблица 7
Скорость восстановления кишечной микробиоты у белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбиозом на фоне введения исследуемых препаратов

Таблица 8

Сравнительная оценка экспериментальной эффективности современных пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и метабиотиков при коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом

Примечание:

Ранжирование препаратов по кратности к контролю проведено по общему количеству микроорганизмов.

Порядковый номер	Название препарата	Вид препарата	Скорость восстановления кишечной микробиоты (кратность к контролю)			
			Общее количество	Лакто-бациллы	Бифидо-бактерии	Кишечная палочка
1	Стимекс	Метапребиотик (метабиотик + пребиотик)	8333	62069	19000	5152
2	Стимбифид плюс	Метапребиотик (метабиотик + пребиотик)	7778	55172	19000	4545
3	Стимбифид	Пребиотик	5167	14138	4200	1152
4	Максилак	Мультипробиотик + пребиотик	66,6	18,6	2,6	7,9
5	Энтерол	Пробиотик	61,6	3345	130	14,2
6	Актофлор-С	Метабиотик нового поколения	47,2	248,3	2,0	3,0
7	Хилак форте	Метабиотик	20,5	41,4	12	36,4
8	Флоролакт	Пребиотик	11,1	206,9	97	10,3
9	Нормофлорин-Л	Синбиотик	7,7	31,4	5,6	16,9
10	Рио Флора	Мультипробиотик + пребиотик	7,2	37,9	5,1	3,5
11	Примадофилус	Пробиотик	7,2	34,5	3,7	11,2
12	Аципол	Пробиотик	7,2	7,0	6,4	3,6
13	Бак-Сет форте	Мультипробиотик	7,2	34,5	12	3,0
15	Линекс форте	Пробиотик	6,4	28,6	4,0	11,8
16	Бифиформ	Пробиотик	6,1	1,9	2,7	1,2
18	Бактистатин	Метабиотик	< 1	2,3	< 1	3,2
20	Биовестин лакто	Пробиотик	< 1	1,96	1,1	3,6
21	Лактофилтрум	Пребиотик	< 1	< 1	1,2	3,3
22	Самовосстановление	-	1	1	1	1

эффективность указанных препаратов является весьма низкой.

Обобщающие данные по сравнительной оценке эффективности современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом приведены на рисунке 2, из которого следует,

что уже на стадии экспериментального изучения создаваемых препаратов для коррекции дисбиотических нарушений кишечной микробиоты можно оценить потенциальные возможности препаратов и прогнозировать научно обоснованные перспективы их внедрения в клиническую практику.

Обсуждение полученных результатов

В научном мире на протяжении последних лет продолжается дискуссия о правомерности применения в клинической практике пробиотиков как наиболее распространенных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, сопровождающаяся одновременным поступлением в продажу большого количества лекарственных средств, биологически активных добавок, продуктов функционального питания, содержащих в своей основе микроорганизмы разной видовой принадлежности и продукты их жизнедеятельности. Большинство микроорганизмов, использованных в качестве основы создания коммерческих пробиотических препаратов, было выделено из кишечного содержимого людей, что во многом априорно повлияло на признание за ними безопасности и эффективности.

Создаваемые на такой основе препараты как при разработке, так и при последующей регистрации, не прошли, во-первых, необходимого в таких случаях экспериментального обоснования целесообразности включения в их состав различных компонентов, а во-вторых, исходя из теоретического предположения их возможной эффективности, был полностью проигнорирован этап доклинического изучения нового препарата на подопытных животных, как того требует Хельсинская декларация Генеральной Ассамблеи ВМА [3].

Безусловно, этап клинического изучения препарата и его эффективности является очень важным, как и важными являются клинические наблюдения и учитываемые лечащим врачом субъективные ощущения больных, а именно: нормализация диспептических явлений со стороны

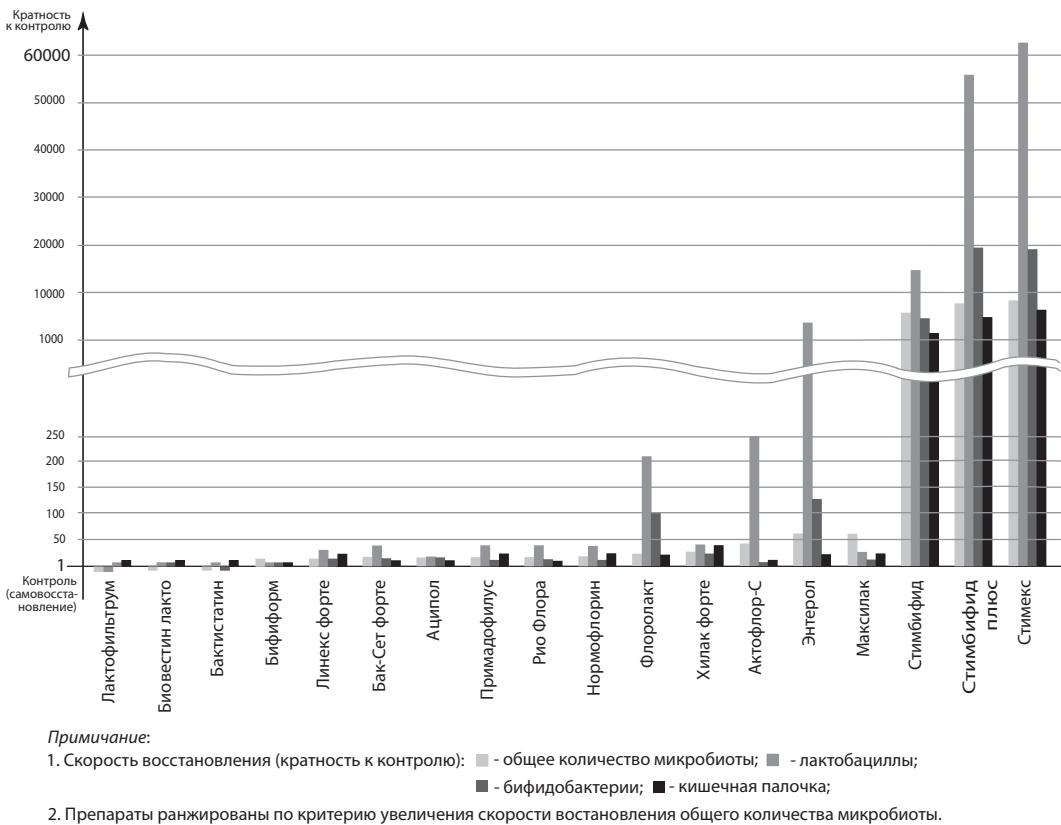


Рисунок 2
 Сравнительная экспериментальная оценка эффективности современных пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и метабиотиков при коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом

желудочно-кишечного тракта, нормализация консистенции стула при диарее, наличие побочных эффектов («вздутие живота», повышенная перистальтика кишечника и др.).

Однако без проведения этапа экспериментального обоснования пригодности препарата в качестве средства коррекции дисбиотических изменений кишечной микробиоты от внимания как разработчика препарата, так и лечащего врача ускользает сам процесс взаимодействия пробиотика (метабиотика, синбиотика и др.) с микробно-тканевым комплексом кишечника, находящемся как в нормальном состоянии, так и в состоянии дисбиоза. Поэтому неизбежные в таких случаях изъяны в характеристике биологических свойств созданных коммерческих препаратов выявляются лишь на этапе клинической апробации, когда препарат либо вообще не проявляет своей эффективности, либо она носит транзитный характер.

Предвидя такие ситуации, разработчики препаратов в инструкциях по их применению предлагают увеличивать суточную дозу приема препарата, либо заменить после консультации с врачом сам препарат. Однако прием больших доз пробиотиков чреват тяжелыми осложнениями вплоть до транслокации кишечной микробиоты в кровоток и брюшную полость с возможным последующим развитием инфекционно-токсического шока [16, 36, 37].

С другой стороны, как следует из опубликованных результатов экспериментальных исследований [27, 38–40], нет никакой необходимости увеличивать дозу вводимых энтерально пробиотических препаратов и, соответственно, количество

микроорганизмов, поскольку пробиотический эффект связан не столько с микробными клетками, сколько с продуктами их метаболизма.

Представленные в настоящей работе результаты сравнительного экспериментального изучения эффективности современных препаратов (пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, метабиотиков, метапребиотиков), многие из которых рекомендуются лечащим врачом для применения в комплексной терапии дисбиозов кишечника различного генеза, однозначно свидетельствуют о том, что практически все они, за исключением Стимбифида, Стимбифида плюс и Стимекса, не были подвергнуты экспериментальному изучению на лабораторных животных по способности к восстановлению нарушений микробиоценоза кишечника.

Как явствует из рисунка 2, на котором убедительно продемонстрированы существенные различия в экспериментальной эффективности изученных современных средств коррекции нарушений кишечной микробиоты, из 18 препаратов только 3 (Стимбифид, Стимбифид плюс и Стимекс) значительно превосходили по скорости восстановления кишечной микробиоты аналогичный показатель контрольной группы животных (самовосстановление кишечной микробиоты). 11 препаратов по скорости восстановления кишечной микробиоты оказались на уровне ее самовосстановления или незначительно его превышали, а 3 препарата — избирательно стимулировали рост лактобацилл.

Различие 18 препаратов, охарактеризованных по скорости восстановления кишечной микробиоты в опытах на животных с экспериментальным дисбиозом, выявило явное отличие именно

тех из них, состав которых был экспериментально обоснован *in vivo*, а сами препараты (Стимбифид, Стимбифид плюс и Стимекс) прошли предварительное тестирование на животных.

Различия в экспериментальной эффективности трёх вышеуказанных препаратов по сравнению со всеми остальными явились столь значительными, что на рисунке 2 пришлось сделать «разрыв» и изменить масштаб нанесения данных для отображения всех препаратов на одной диаграмме.

Важность соблюдения этапности при разработке средств коррекции нарушений кишечного микробиоценоза и последующем широком их внедрении в клиническую практику в значительной мере может снизить риск возникновения побочных и нежелательных эффектов у пациентов и в то же время повысить конкурентоспособность самих препаратов.

Всеобъемлющие сведения о препаратах, предназначенных для коррекции нарушений мик-

робиоценоза кишечника, крайне важны для лечащего врача. Именно лечащий врач в конечном итоге осуществляет индивидуальный подбор препарата, и он должен быть уверен, что сможет помочь пациенту.

Безусловно, необходима смена стереотипного мышления, прежде всего у разработчиков препаратов, которые на протяжении десятков лет продвигали с помощью навязчивой рекламы в лучшем случае безвредные препараты. Только поменяв вектор научных исследований и разработок, производитель препаратов даст возможность лечащему врачу осуществить рациональный выбор эффективных и безопасных средств коррекции нарушений кишечной микробиоты, которые бы поддерживали собственную, сформировавшуюся у пациентов после рождения микробиоту, имеющую свой уникальный количественный и качественный состав.

Заключение

В России, как и в других странах, наблюдается поступательное увеличение производства пробиотиков и других современных средств коррекции нарушений кишечной микробиоты. Пробиотики на основе живых бифидобактерий, лактобацилл, эшерихий и некоторых других бактерий занимают лидирующие позиции. Однако их недостаточный антагонизм в отношении некоторых видов патогенных микроорганизмов, изменение качества среды обитания и появление в ней факторов, снижающих эффективность пробиотиков, стимулировали исследования по выделению более эффективных микроорганизмов и созданию на их основе новых препаратов, а также по разработке принципиально новых видов продукции, оказывающей благотворное влияние на кишечную микробиоту.

Если о безопасности и определенной клинической эффективности пробиотиков на основе лактобацилл и бифидобактерий есть публикации в уважаемых изданиях [41, 42], (хотя и среди этих бактериальных видов есть небезопасные штаммы [43]), то в отношении других средств коррекции нарушений кишечного микробиоценоза таких сведений нет.

И это не удивительно, поскольку сведения о побочных и отрицательных эффектах новых препаратов поступают с опозданием или от больных, или от лечащего врача. Об этих эффектах разработчики препаратов не знают, поскольку в научно-исследовательской практике и производстве современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника такой важный этап, как их испытание на подопытных животных, не практикуется.

Как показано в настоящей работе, по скорости восстановления кишечной микробиоты в опытах на животных с экспериментальным дисбиозом (рисунок 2) только у 3 препаратов (Стимбифид, Стимбифид плюс и Стимекс) из 18 исследованных было выявлено явное отличие от остальной группы, состоящей из отечественных и зарубежных препаратов (пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, метабиотиков), по тестируемому свойству.

Большой разброс значений скорости восстановления кишечной микробиоты при сопоставлении с контролем — со скоростью самовосстановления, принятой за 1 (единицу), под влиянием значительной части протестированных препаратов, как это наглядно продемонстрировано на рисунке 2, свидетельствует о том, что безвредность и эффективность каждого из компонентов в составе препаратов, а также самих препаратов в целом, проверены в эксперименте на животных не были.

Следовательно, в процессе разработки и внедрения большинства вышеуказанных препаратов отсутствие научно обоснованной и экспериментальной базы является причиной их невысокой эффективности.

В то же время высокая скорость восстановления кишечной микробиоты пребиотиком Стимбифид и тем более метапребиотиками Стимбифид плюс и Стимекс в полной мере подтверждают необходимость первоначального теоретического обоснования предполагаемого состава разрабатываемого средства и последующего предварительного доклинического исследования готовых форм препаратов на животных, в том числе с антибиотико-ассоциированным дисбиозом кишечника.

Таким образом, научно обоснована и экспериментально доказана необходимость наиболее эффективного и безопасного восстановления собственной (индигенной) микробиоты кишечника путём использования пребиотиков и метабиотиков, а также их композиций — метапребиотиков.

В этой связи представляется целесообразным дальнейшее развитие доказательной основы определения эффективности и безопасности создаваемых средств коррекции нарушений кишечной микробиоты с обязательным проведением экспериментов на животных и подтверждением полученных данных клиническими испытаниями. Такая последовательность действий во многом будет содействовать улучшению качества и эффективности препаратов, повысит их безопасность, а также доверие к ним со стороны врачей и пациентов.

Литература

1. Мечников И. И. Пессимизм и оптимизм. — М.: Сов. Россия, 1989. — 640 с.
2. Каштанова Д. А., Егштатян Л. В., Ткачева О. Н. Участие микробиоты кишечника человека в процессах хронического системного воспаления // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*. — 2015. — Т. 17, № 4. — С. 310–317.
3. Всемирная Хельсинская декларация. Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования. Финляндия, 1964–1966. Принята на 18-й Генеральной Ассамблее Всемирной медицинской ассоциации, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г. (изменения внесены в 1975 г. на 29-й Генеральной Ассамблее ВМА, Токио, Япония, октябрь 1975 г. и на последующих восьми заседаниях Генеральной Ассамблеи ВМА. Последняя 64-ая Генеральная Ассамблея ВМА состоялась в октябре 2013 г. в Форталезе, Бразилия).
4. Минушкин О. А., Ардатская М. Д., Зверков И. В., Чичерин И. Ю. Дисбактериоз кишечника (понятие, диагностика, принципы лечебной коррекции). Современные возможности пребиотической терапии: учебно-методическое пособие для врачей и курсантов циклов усовершенствования врачей. — М.: ФГУ «Учебно-научный методический центр» Управления делами Президента Российской Федерации, 2010. — 50 с.
5. Циммерман Я. С. Эубиоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: мифы и реалии // *Клин. мед.* — 2013. — Т. 9, № 1. — С. 4–11.
6. Минушкин О. Н., Елизаветина М. Д., Ардатская М. Д. Нарушение баланса микрофлоры и ее коррекция // *Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология*. — 2013. — № 4. — С. 4–8.
7. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91599. 11. 0004. — 2003), утв. Приказом МЗ РФ от 09.06.2003 г. — М., 2003.
8. Усенко Д. В. Пробиотики и пробиотические продукты: возможности и перспективы применения // *Вопросы современной педиатрии*. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 50–54.
9. Shenderov V. A. Microbial ecology and probiotics in Russia: past, present, future // *Moscow research institute of epidemiology and microbiology after G. N. Gabrichevsky: Moscow university of food processing* // Shenderov@yandex.ru.
10. Глушанова Н. А., Шендеров Б. А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // *Журн. микробиол.* — 2005. — № 2. — С. 56–61.
11. Глушанова Н. А. Экспериментальное обоснование новых подходов к коррекции микробиоценоза кишечника. — Дис... д-ра. мед. наук: защищена в 2006 г. — Москва, 2006. — 260 с.
12. Дармов И. В., Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Дурнев Е. А. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных // *Журн. инфектологии*. — 2012. — Т. 4, № 1. — С. 68–74.
13. Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Гаврилов К. Е. Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность // *Журн. международной медицины*. — 2013. — № 4 (5). — С. 52–58.
14. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Гаврилов К. Е., Шабалина М. Р., Дармов И. В. Аутопробиотикотерапия // *Журн. инфектологии*. — 2013. — Т. 5, № 4. — С. 43–54.
15. Дармов И. В., Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Янов С. Н. Способ оценки выживаемости бифидо- и лактобактерий в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных. Патент № 2528867. Российская Федерация, опубл. 20.09.2014. Бюл. № 26. Номер охранного документа МПК C12Q 1/04, C12Q 1/06.
16. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Дармов И. В., Гаврилов К. Е., Горшков А. С., Маньшин А. И. Транслокация кишечной микробиоты // *Журн. международной медицины*. — 2016. — № 4 (29). — С. 87–100.
17. Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Погорельский И. П., Лундовских И. А. Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотико-ассоциированном дисбактериозе и возможность его коррекции пребиотиком Стимбифид // *Журн. инфектологии*. — 2012. — Т. 4, № 1. — С. 75–80.
18. Дармов И. В., Чичерин И. Ю., Ердякова А. С., Лундовских И. А., Погорельский И. П. Способ моделирования дисбактериоза кишечника у лабораторных животных. Патент № 2477894. Российская Федерация, опубл. 20.03.2013. Бюл. № 8. Номер охранного документа G09 B 23/28 (2006/01).
19. Бредихин В. Н., Поздняков И. В., Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Лещенко А. А., Лазыкин А. Г. Микроэкологические изменения в кишечнике при дисбактериозе: экспериментальное обоснование возможности коррекции дисбиотических изменений пребиотиком Стимбифид // *Здоровье населения и среда обитания*. — 2013. — № 12 (249). — С. 19–21.
20. Погорельский И. П., Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Лундовских И. А., Гаврилов К. Е. Пробиотики: вектор развития // *Практическая медицина*. — 2012. — № 3 (58). — С. 180–188.
21. Дармов И. В., Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Янов С. И. Способ оценки воздействия экзогенных факторов на микрофлору кишечника при его дисбиотических нарушениях. Патент № 2483113. Российская Федерация, опубл. 27.05.2013. Бюл. № 15. Номер охранного документа МПК C12Q 1/04 (2006.01).
22. 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 и клиническая гастроэнтерология*. — 2011. — № 3. — С. 6–11.
23. Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Гаврилов К. Е. Выживаемость бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro* в желудочном соке и дуоденальном содержимом людей // *Медицинский альманах*. — 2012. — № 1. — С. 57–59.
24. Погорельский И. П., Чичерин И. Ю., Лундовских И. А. Экологическая и функциональная маргинальность пробиотических микроорганизмов. Сборник материалов ежегодной открытой Всероссийской науч.-техн. конф. 16–27 апреля 2012 г. «Общество, наука, инновации (НТК-2012)». Вят. гос ун-т; отв. ред. С. Г. Литвинец. Киров; 2012. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) (Биологический факультет. Секция «Микробиология»).
25. Lidbeck A., Gustafson I. A., Nard C. E. Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplement on the human oropharyngeal and intestinal microflora // *Scan. J. Infect. Diseases*. — 1987. — Vol. 19, № 5. — P. 531–537.

26. Воробьев А. А., Несвижский Ю. В., Буданова Е. В., Иноземцева Л. О. Популяционно-генетические аспекты микробиологического фенотипа кишечника здорового человека // Журн. микробиол. — 1995. — № 4. — С. 30–35.
27. Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Лундовских И. А., Погорельский И. П., Лещенко А. А., Куликова Л. Е. Нужны ли коммерческим пробиотикам микробные клетки? // Журн. международной медицины. — 2014. — № 1 (6). — С. 12–18.
28. Бондаренко В. М., Петровская В. Г. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры // Вестник РАМН. — 1997. — № 3. — С. 7–10.
29. Besselink M. G. H., van Santvoort H. C., Buskens E., Voormeester M. A., van Goor Y., Timmerman H. M. et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomized, double — blind, placebo — controlled trial // *Lancet*. — 2008. — Vol. 371, № 9613. — P. 651–659.
30. Резолюция Экспертного Совета по вопросам эффективности, безопасности и регуляторным аспектам применения пробиотиков в РФ и других странах. 07.11.2015 г., Москва // *Инфекционные болезни*. — 2015. — Т. 13, № 4. — С. 53–56.
31. Roberfroid M. V. Prebiotics: the concept revisited // *J. Nutr.* — 2007. — Vol. 137, № 3. — P. 830–837.
32. Бондаренко В. М., Лиходед В. Г. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника: методические рекомендации. М.: ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, 2007. — 70 с.
33. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. — 280 с.
34. Максимов И. К. Нарушение микробиоценоза на фоне полихимиотерапии у больных опухолевыми заболеваниями системы крови: новые методы диагностики и коррекции // *Фарматека*. — 2004. — № 13. — С. 79–84.
35. Чичерин И. Ю., Лундовских И. А., Погорельский И. П., Гаврилов К. Е., Янов С. Н., Дармов И. В. Влияние подавления секреции желудочного сока препаратом Париет на приживаемость бифидобактерий и лактобактерий в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных // *Журн. международной медицины*. — 2012. — № 1 (1). — С. 98–104.
36. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Позолотина Н. В., Гаврилов К. Е., Дармов И. В., Шабалина М. Р. Роль пробиотических микроорганизмов в транслокации кишечной микробиоты в брюшную полость и кровоток экспериментальных животных // *Инфекционные болезни*. — 2015. — Т. 13, № 4. — С. 43–52.
37. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Дармов И. В., Горшков А. С. Шабалина М. Р. Кишечная недостаточность и транслокация иерсиний псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) при развитии экспериментальной генерализованной инфекции // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. — 2016. — № 3 (127). — С. 96–101.
38. Куликова Л. Е., Чичерин И. Ю., Погорельский И. П. Экспериментальная оценка пробиотической активности метаболитов пробиотических микроорганизмов, выделенных из коммерческих препаратов // *Материалы IX международной научно-практической конференции «Современная наука: тенденции развития»*. 30.04.2015 г. — Краснодар. — 2015. — С. 172–178.
39. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Гаврилов К. Е., Горшков А. С., Дармов И. В. Профилактика и лечение экспериментального псевдотуберкулеза метаболитами *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 // *Инфекционные болезни*. — 2015. — Т. 13, № 1. — С. 53–59.
40. Чичерин И. Ю., Дармов И. В., Погорельский И. П., Лундовских И. А., Лещенко А. А. Антибактериальное средство и способ лечения кишечного иерсиниоза или псевдотуберкулеза или эшерихиоза. Патент № 2564014. Российская Федерация, опубл. 27.09.2015. Бюл. № 27. Номер охранного документа МПК А61 К 9/08, А61 К 31/164 А61 К 33/00.
41. Borriello S. P., Hammes W. P., Holzapfel W. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria // *Clin. Infect. Diseases*. — 2003. — Vol. 36. — P. 775–780.
42. Guarner F., Malagelada J. R. Gut flora in health and disease // *Lancet*. — 2003. — Vol. 361. — P. 512–519.
43. Ishibashi N., Yamazaki S. Probiotics and safety // *Int. J. Food Microbiol.* — 1995. — Vol. 27. — P. 263–264.