

# ДИСБИОЗ КИШЕЧНИКА, ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

**Чичерин И.Ю.<sup>1</sup>, Погорельский И.П.<sup>2</sup>, Лундловских И.А.<sup>2</sup>, Дармов И.В.<sup>2</sup>, Шабалина М.Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад, Московская область, Россия

<sup>2</sup> Вятский государственный университет, Киров, Россия

**Ключевые слова:** дисбиоз, микробиоценоз, пробиотик, приживаемость в кишечнике, лабораторные животные, добровольцы.

## Аннотация

Интерес научных работников, терапевтов, педиатров, врачей общего профиля к проблеме дисбиоза кишечника обусловлен тем, что существуют самые тесные связи между нарушением микробиоценоза кишечника и органической, а также функциональной патологией не только желудочно-кишечного тракта, но и других органов. На протяжении свыше 50 лет пробиотики являлись ведущим средством коррекции дисбиотических нарушений микробиоценоза кишечника. Однако ответ кишечной микробиоты на экзогенное поступление в организм пробиотиков вариабелен или вовсе отсутствует. В настоящей статье представлены анализ литературных данных и результаты собственных экспериментальных исследований на добровольцах, полностью подтверждающие полученные ранее данные на лабораторных животных, согласно которым, пробиотические микроорганизмы являются чужеродными и не приживаются в желудочно-кишечном тракте людей и животных, а их взаимодействие с организмом носит характер «хозяин против пробиотика». Приведены результаты сравнительного изучения в опытах на животных эффективности 18 современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника при антибиотико-ассоциированном дисбиозе кишечника. Проведено сравнительное экспериментальное изучение эффективности восстановления кишечной микробиоты современных, часто применяемых в клинической практике препаратов, а также инновационных коммерческих и экспериментальных препаратов последнего времени (Актофлор-С, Стимбирид плюс, Стимекс) при антибиотико-ассоциированном дисбиозе у конвенциональных белых мышей.

Lecture for specialists

# INTESTINAL DYSBIOSIS, HUMAN HEALTH AND FUNCTIONAL NUTRITION

**Igor Yu. Chicherin<sup>1</sup>, Ivan P. Pogorelsky<sup>2</sup>, Irina A. Lundovskikh<sup>2</sup>, Ilya V. Darmov<sup>2</sup>, Marina R. Shabalina<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad, Moscow Region, Russia

<sup>2</sup> Vyatka State University, Kirov, Russia

**Key words:** dysbiosis, microbiocenosis, probiotics, survival in the intestine, laboratory animals, volunteers.

## Abstract:

The interest of scientists, physicians, pediatricians, general practitioners to the problem of intestinal dysbiosis is caused by the fact that there are very close relations between the intestinal microbiocenosis disorders and organic and functional pathology not only of the gastrointestinal tract, but also of other organs. For more than 50 years probiotics have been the leading tool for correction of intestinal microbiocenosis. However, the response of intestinal microbiota to exogenous intake of probiotics is variable, or is completely absent. The article presents the analysis of the literature data and results of our own experimental studies on human volunteers, fully confirming previous findings on laboratory animals, according to which the probiotic microorganisms are foreign and do not survive in the gastrointestinal tract of humans and animals, and their interaction with the host organism has the character of «host against probiotic». The results of the comparative study on the effectiveness of 18 modern preparations for correction of intestinal microbiocenosis at antibiotic-associated dysbiosis in experiments on animals are given. The comparative experimental research on the effectiveness of modern preparations that are frequently used in clinical practice as well as recent innovative commercial and experimental preparations (Actoflор-С, Stimbifid plus, Stimex) regarding intestinal microbiota recovery at antibiotic-associated dysbiosis in conventional white mice was carried out.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Дармов И.В., Шабалина М.Р. Дисбиоз кишечника, здоровье человека и функциональное питание. Теория и практика переработки мяса. 2017; 2(4):44-61. DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-4-44-61

**FOR CITATION:** Chicherin I.Yu., Pogorelsky I.P., Lundovskikh I.A., Darmov I.V., Shabalina M.R. Intestinal dysbiosis, human health and functional nutrition. Theory and practice of meat processing. 2017;2(4):44-61. (In Russ.) DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-4-44-61

Микробиота кишечника как самостоятельный орган, именуемый в научной литературе «паразитологической системой» [1], играет существенную роль в жизнедеятельности организма хозяина: в обмене веществ, детоксикации, формировании естественного иммунитета, создании колонизационной резистентности, противостоящей патогенным и условно-патогенным микроорганизмам на начальном этапе развития инфекционного процесса [2, 3, 4]. Знания о роли микробиоты кишечника постоянно расширяются и обновляются как в направлении получения новых данных о ее функциях, так и о свойствах, что дало основание считать микробиоту кишечника главным биогенным фактором, определяющим здоровье или развитие заболевания [5]. Разбалансировка указанной системы вследствие приема антибактериальных препаратов, изменения среды обитания и характера питания, гастроэнтерологических заболеваний, а также воздействия других факторов, приводит к развитию клинико-лабораторного синдрома — дисбиозу [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

Арсенал средств профилактики и лечения дисбактериотических нарушений микробиоценоза кишечника довольно широк, и особое место на протяжении более 50 лет отводится пробиотикам — препаратам, содержащим живые микроорганизмы, которые являются представителями нормальной микробиоты толстой кишки [6, 7]. Примечательно, что только через десятилетия, в течение которых осуществлялось применение пробиотиков в России, в Резолюции Экспертного Совета по вопросам эффективности, безопасности и регуляторным аспектам применения пробиотиков в РФ и других странах от 7.11.2015 г. [15], со ссылками на научные публикации констатируется, хотя и с оговорками, возможность возникновения системных инфекций (эндокардита, сепсиса, менингита, бактериемии, пневмонии), вызванных лактобациллами, при применении пробиотиков.

Согласно Besselink, M.G.H. и соавторов [16], в Нидерландах в 2004–2007 гг. в 15 клиниках Уtrechtского университета в мультицентровом, рандомизированном, двойном-слепом, плацебо-контролируемом исследовании было изучено влияние мультиштаммового пробиотика на снижение инфекционных осложнений у 296 пациентов с панкреатитом. В ходе лечения в группе с использованием пробиотика 24 пациента скончались. В контрольной группе пациентов, не получавших пробиотик, смертность была 2,5 раза ниже. Причины случившегося пока неизвестны, однако в октябре 2015 г. по настоянию голландских ученых было досрочно прекращено аналогичное исследование, проводившееся на территории Чешской Республики.

Группой российских ученых были проведены экспериментальные исследования с целью выяснения возможной причины смертельных случаев у пациентов университетских клиник, свидетельствующих

о биологически опасном потенциале пробиотических препаратов. В ходе исследований с использованием лабораторных животных было установлено, что потенциальная опасность пробиотиков состоит в способности чужеродных микроорганизмов, входящих в их состав, инициировать за счет повышенной антигенной и аллергенной нагрузки на макроорганизм транслокацию (перенос в не свойственный биотоп) кишечной микробиоты в кровоток и брюшную полость, вследствие чего отмечалась гибель более 30 % экспериментальных животных от инфекционно-токсического (эндотоксического) шока с развитием бактериемии и перитонита [17, 18].

Таким образом, практика клинических и экспериментальных исследований со всей очевидностью обнажила проблему эффективности и безопасности пробиотиков. Но если эксперты только в 2015 г. констатировали факт потенциальной опасности пробиотиков [15], то опубликованные в 2005–2006 гг. результаты экспериментальных исследований [19, 20] приблизили ученых к пониманию того, что одной лишь констатации наличия либо отсутствия эффективности пробиотикотерапии, или её транзиторного характера совершенно недостаточно.

Оказалось, что в нарушение стандартов, которым должны соответствовать пробиотики [7], их эффективность в опытах на животных, как этого требует Комиссия ООН по этике, экспериментально зачастую не была доказана (Рис. 1). Стандартам должны соответствовать в первую очередь микроорганизмы в составе препаратов, которые, в частности, должны быть защищены от воздействия пищеварительных ферментов и желчи; их эффективность и безопасность для людей должны быть доказаны экспериментально; генетическая стабильность свойств микроорганизмов должна быть гарантированной; качественная лиофилизация микроорганизмов должна обеспечивать высокую выживаемость при пероральном приеме пробиотика.



Рис. 1. Традиционно сложившаяся последовательность действий при разработке пробиотических препаратов

В действительности непосредственно после теоретического обоснования включения того или иного микроорганизма в качестве перспективного для создания на его основе пробиотического препарата вся

деятельность разработчиков переключалась на биотехнологию нового препарата и его продвижение на рынок пробиотиков.

Второй очень важный этап доклинического экспериментального обоснования безопасности, безвредности и эффективности как микроорганизмов, так и дополнительных ингредиентов, включаемых в состав пробиотических препаратов, по негласному умолчанию выводился из логической цепочки действий при разработке и клиническом испытании самих препаратов. Это 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.

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 ее транслокации за пределы стенки кишечника и т.д.).

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 антибиотику рифампицину и сохраняющих видовые характеристики [14, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25].

Во-вторых, был разработан экспресс-метод, обеспечивающий в эксперименте на подопытных животных инициацию дисбиоза кишечника [24, 25, 26, 27, 28].

В-третьих, в 2012 г. впервые 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» [27, 28]. 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 весь комплекс воздействующих на кишечную микробиоту факторов, позволяет получать количественную характеристику процесса восстановления (угнетения) кишечной микробиоты

(КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup>) в сравнении с аналогичным показателем, который определяется в контролльном эксперименте на животных при самовосстановлении их кишечного микробиоценоза (кратность к контролю).

Результаты экспериментов по изучению выживаемости бифидобактерий и лактобацилл в условиях *in vitro* в желудочном соке и дуоденальном содержимом людей [29] и было установлено, что за время инкубирования бифидобактерий и лактобацилл в указанных биологических средах, происходит значительное сокращение количества жизнеспособных пробиотических микроорганизмов в сравнении с исходным их количеством, вплоть до единичных клеток в случае бифидобактерий.

Установлено существенное (на 4–7 порядков) снижение численности поступающих в организм подопытных животных пробиотических микроорганизмов [21]. Эти данные подтверждают результаты предыдущих исследований *in vitro* [30, 31] о крайне низкой выживаемости пробиотических микроорганизмов в агрессивных средах.

В контексте изложенного, следует отметить результаты экспериментов, которые были опубликованные в работе [32]. Согласно представленным данным, 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 обладают 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 [32, 33].

Можно констатировать, что в ходе пассажа через пищеварительный тракт подопытных животных происходит снижение численности пробиотических микроорганизмов ниже критической, после чего невозможна выживаемость популяции в целом. Эти данные, подкрепленные результатами исследований видовой, тканевой и индивидуальной специфичности, а также гетерологичности пробиотических бактерий для организма нового хозяина [18], их несовместимости с его резидентной микробиотой, свидетельствуют об экологической и функциональной маргинальности пробиотических микроорганизмов [34] и невозможности с их помощью изменить уже сформировавшуюся еще при рождении собственную микробиоту как у здоровых людей [35], так и у лиц с дисбиотическими изменениями кишечной микробиоты [33, 36].

В научных дискуссиях на протяжении последних летне были опровергнуты опубликованные результаты экспериментальных исследований на лаборатор-

ных животных, в которых на фактическом материале доказывалась необходимость ради здоровья пациентов изменить взгляд на проблему пробиотиков и пробиотикотерапии. Оппоненты, выражая свои сомнения, указывают на то, что нельзя экстраполировать данные, полученные на лабораторных животных, на организм людей. Особый скепсис выражали педиатры, утверждавшие, что у детей все иначе (дети не мыши!), постоянно подчеркивая необходимость проведения исследований с участием добровольцев для полноты ясности в разрешении этой сложной проблемы.

Действительно, данная проблема потребовала на первом этапе исследований решения ряда вопросов теоретического, методологического и организационного плана, в частности получения спонтанных рифампициноустойчивых (*Rif<sup>r</sup>*) мутантов пробиотических лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 со стабильно наследуемыми видовыми характеристиками и признаком антибиотико-резистентности (*R*-признаком), их выращивания на специальных питательных средах; адаптации методики инициации экспериментального антибиотико-ассоциированного дисбиона, разработанной для лабораторных животных, к людям-добровольцам; выявления с использованием селективных плотных питательных сред в фекалиях лабораторных животных и добровольцев представителей кишечной микробиоты и маркированных по *R*-признаку лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3, определения их численности в 1 г фекалий; оценки в сравнительном плане эффективности современных средств коррекции кишечной микробиоты при экспериментальном антибиотико-ассоциированном дисбионасе как у лабораторных животных, так и у добровольцев.

Предваряя рассмотрение и оценку результатов собственных экспериментальных исследований, необходимо отметить, что разработчики и производители, посвятившие себя на протяжении десятилетий делу пробиотикотерапии, считали, что все микроорганизмы, которые были выделены от здоровых людей, являются «хорошими и полезными», а потому — перспективными для применения в биотехнологии пробиотиков.

Априорно у них, а также у врачей и больных сложилось представление о пробиотиках как о препаратах, обладающих лечебно-профилактической активностью, и что эти препараты без экспериментальной проверки на животных эффективности и безопасности можно включать в схемы лечения большинства заболеваний.

Как оказалось, такое представление далеко от действительности, поскольку именно вопросам эффективности и безопасности пробиотических микроорганизмов и регуляторным аспектам их применения в клинической практике было посвящено специальное заседание Экспертного Совета в ноябре 2015 г. в г. Москве [15]. В резолюции по итогам заседания экс-

перты констатировали, что пробиотики — это живые микроорганизмы, которые при назначении в адекватных количествах оказывают благотворное влияние на здоровье человека.

Резолюция Экспертного Совета [15] и обращение экспертов к профессиональному медицинскому сообществу с предложением обсудить основные проблемные вопросы, которые появились в последние годы, свидетельствуют о том, что данные вопросы накапливались гораздо быстрее, чем происходило их решение.

В свете результатов экспериментальных исследований, свидетельствующих о причастности пробиотических микроорганизмов к инициации транслокации кишечной микробиоты [17, 18], по-иному воспринимается предостережение М.Д. Ардатской и О.Н. Мишушкина [37], высказанное еще в 2006 г.

Авторы убеждены, что нельзя не учитывать потенциальную опасность кишечной микробиоты и ее метаболитов, когда происходит транслокация микроорганизмов в нерезидентные биотопы и стерильные полости. Так, по данным цитируемых авторов, проникновение кишечной микробиоты в брюшную полость приводит к ее инфицированию и развитию спонтанного перитонита. Причем смертность больных с циррозом печени классов В и С по Чайлд-Пью (Child-Pugh) в этом случае достигает 50%, а у 69% больных наблюдается рецидив в течение года.

В серии публикаций [14, 21, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 34], содержащих результаты собственных экспериментальных исследований, группа российских ученых также фактически обращается к профессиональному медицинскому сообществу с предложением по-иному взглянуть на проблему пробиотиков и пробиотикотерапии.

В последние годы была переосмыслена стратегия по поддержанию кишечной микробиоты: получены убедительные доказательства того, что использование традиционных препаратов (пробиотиков) на основе живых микробов является не самым эффективным и безопасным путем коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике.

Экспериментально установлена низкая выживаемость лиофилизованных микроорганизмов (в капсулах или во флаконах) в составе пробиотических препаратов: при высеивании суспензий регидратированных лиофилизованных пробиотических препаратов (в пределах срока годности) на специальные плотные питательные среды выживаемость микроорганизмов составляет 15–25% от заявленного в инструкциях по применению количества «живых бактерий». Из оставшегося количества до толстой кишки доходит лишь мизерная часть пробиотических микроорганизмов, что и приводит, в том числе, к их низкой выживаемости в ходе транзита в кишечнике — ниже одной десятитысячной доли процента от исходного количества, поступившего в желудок в составе препарата. Было

также доказано, что в кишечнике даже при дисбиозе продолжают существовать свои жизнеспособные индигенные штаммы (аутоштаммы), а пробиотик, созданный на основе любого биотехнологического «универсального» штамма, является гетерологичным (чужеродным) и вступает в антагонистические отношения с аутоштаммами.

Следует учитывать также и то, что поступающие энтерально пробиотические микроорганизмы обладают лимфоцитотоксическим действием [38, 39], влияющим на способность иммунной системы пациента определить, какие микроорганизмы (свои или чужие) поступают в желудочно-кишечный тракт. Наличие у пробиотических микроорганизмов нежелательных для живого организма свойств еще раз свидетельствует о необходимости индивидуального подхода к выбору пробиотика, правильного подбора курсовых и разовых доз препарата.

На первом этапе собственных исследований, выполненных на животных и добровольцах (8 человек, один из которых являлся плацебо-контролируемым) без признаков нарушения микробиоценоза кишечника, был выявлен транзиторный характер пребывания меченых (рифампициноустойчивых — Rif<sup>r</sup>) лактобацилл в желудочно-кишечном тракте животных и людей и низкий уровень бактериовыделения с фекалиями (Табл. 1).

Одновременно была выявлена важная закономерность: в организме морских свинок выживаемость лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) была ниже, чем в организме белых мышей, а в желудочно-кишечном тракте добровольцев ниже чем в организме белых мышей и морских свинок.

Причиной различия в выживаемости лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) в желудочно-кишечном тракте белых мышей, морских свинок и добровольцев является, на наш взгляд, длина кишечника: по мере увеличения длины кишечника (белая мышка — морская свинка — человек), а также времени транзита бактерий по желудочно-кишечному тракту уменьшается численность лактобацилл в сравнении с 0,0000034 % (в кишечнике белых мышей) до 0,00000016 % (в кишечнике морских свинок) и до 0,000000008 % у людей. Важно отметить и другое: активная фаза выделения лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) из организма добровольцев продолжалась до 5 суток, в то время как у белых мышей и морских свинок до 15 суток.

**Таблица 1. Выживаемость лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) при транзите через желудочно-кишечный тракт здоровых белых мышей, морских свинок и людей**

Белые мыши			Морские свинки			Добровольцы		
Суточная доза, КОЕ	Содержание в фекалиях, КОЕ·г <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ на 2–10 сут.)	Выживаемость микробов, % (доля)	Суточная доза, КОЕ	Содержание в фекалиях, КОЕ·г <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ на 2–10 сут.)	Выживаемость микробов, % (доля)	Суточная доза, КОЕ	Содержание в фекалиях, КОЕ·г <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ на 2–10 сут.)	Выживаемость микробов, % (доля)
5,2·10 <sup>7</sup>	175,1	0,0000034 (3,4·10 <sup>-6</sup> )	5,3·10 <sup>8</sup>	83,1	0,00000016 (1,6·10 <sup>-7</sup> )	2,0·10 <sup>10</sup>	159,2	0,000000008 (8,0·10 <sup>-9</sup> )

На втором этапе исследования были выполнены на животных и добровольцах с индуцированным пероральным введением гентамицина антибиотико-ассоциированным дисбиозом кишечника. Суточная доза антибиотика гентамицина при пероральном применении для животных рассчитывалась, исходя из суточной дозы для человека с учетом переводного коэффициента.

В ходе исследований изучался процесс восстановления индигенных лактобацилл под влиянием перорального введения маркированных пробиотических лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) и возможность приживления последних в кишечнике в процессе их транзита. Исходя из данных количественного определения бактериологическим методом общего содержания микроорганизмов и отдельных представителей кишечной микробиоты в кишечнике животных и добровольцев, можно говорить о становлении у них третьей степени дисбиоза кишечника по И.К. Максимову [40] или третьей декомпенсированной неосложненной степени дисбиоза по О.Н. Минушкину с соавторами [7].

Бактериологическое изучение фекалий животных и добровольцев в ходе экспериментов дает основание полагать, что у животных идут два процесса: с одной стороны, медленное нарастание численности индигенных лактобацилл (скорость восстановления кишечной микробиоты на 12 сутки эксперимента составила 1,3·10<sup>4</sup> КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> для белых мышей и 7,2·10<sup>4</sup> КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> для морских свинок), а с другой, — увеличение численности пробиотических лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) в кишечном содержимом в первые двое суток их перорального поступления в организм, но довольно быстро снижение после прекращения перорального их введения и полное исчезновение к 13–14 суткам наблюдения.

У всех 7 добровольцев с 4 по 8 сутки (с запозданием на 2 суток по сравнению с животными) были выявлены лактобациллы *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) в количестве нескольких десятков в 1 г фекалий. С 9 суток, сразу после прекращения приема лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) перес, они перестали высеваться из фекалий у трех добровольцев и в последующем численность пробиотических лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) в фекалиях всех добровольцев стремительно снижалась; к 12 суткам (4 сутки после прекращения приема) выделение маркированных лактобацилл полностью прекратилось.

Среднее значение показателей скорости восстановления индигенных лактобацилл у добровольцев опытной группы, равное  $1,2 \cdot 10^5$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup>, практически не отличается от скорости самовосстановления индигенных лактобацилл у добровольца (биоконтроль) —  $3,8 \cdot 10^5$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> при плацебо — контролируемом исследовании, что свидетельствует об отсутствии пробиотического эффекта от перорального введения пробиотических лактобацилл.

Приведенные результаты дают основание полагать, что пробиотические лактобациллы *L. plantarum* 8Р-А3(Rif<sup>r</sup>), находясь в пищеварительном тракте людей, не проявляют своих потенциальных способностей стимулировать восстановление, по крайней мере, индигенных лактобацилл. Очевидно, что в организме добровольцев, как и в организме белых мышей и морских свинок, пробиотические лактобациллы остаются чужеродными, не приживаются в кишечнике и не

Таблица 2. Характеристика исследованных современных препаратов

№ п/п	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 $1 \cdot 10^7$ КОЕ в одной капсуле	87
3	Бак-Сет форте, лот 1091105	Мульти-пробиотик	<i>L. casei</i> PXN37, <i>L. plantarum</i> PXN47, <i>L. rhamnosus</i> PXN54, <i>B. bifidum</i> PXN23, <i>B. breve</i> PXN25, <i>B. longum</i> PXN25, <i>L. acidophilus</i> PXN35, <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> PXN63, <i>Streptococcus thermophilus</i> PXN66, <i>B. infantis</i> PXN27, <i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> PXN39, <i>L. helveticus</i> PXN45, <i>L. salivarius</i> PXN57, <i>L. fermentum</i> PXN44, не менее $2 \cdot 10^9$ КОЕ в одной капсуле	79
4	Бактистатин, партия 090915	Метабиотик	Биологически активные метаболиты бесклеточной культуральной жидкости <i>B. subtilis</i> 3, витамин Е и гидролизат соевой муки	87
5	Бифиформ, серия 283236	Пробиотик	В одной капсуле <i>Enterococcus faecium</i> $1 \cdot 10^7$ КОЕ, <i>Bifidobacterium longum</i> $1 \cdot 10^7$ КОЕ	66
6	Биовестин лакто, свидетельство о госрегистрации № RU.77.99.11.003.Е. 044981. 10.11 от 31.10.2011 г.	Пробиотик	<i>Bifidobacterium adolescens</i> $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, <i>Lactobacillus plantarum</i> $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл и их продукты метаболизма	70
7	Лактофильтрум, серия 2101015	Пребиотик	Безмикробный препарат, содержит лигнин гидролизный, лактозу, целлюлозу микрокристаллическую	86
8	Линекс форте, серия FR4472	Пробиотик	Воднокапсульный <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 5 13,8 мг, <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> BB12 4,2 мг	75
9	Максилак, серия 8546308	Мульти-пробиотик + пребиотик	Одна капсула содержит лиофилизат пробиотических бактерий $4,5 \cdot 10^9$ КОЕ и пребиотический компонент олигофруктозу 63 мг. Лиофилизатбактерий: <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
10	Нормофлорин-Л, серия 0218	Синбиотик	В 1 мл культуры лактобактерий <i>L. acidophilus</i> не менее $1 \cdot 10^9$ КОЕ, продукты метаболизма бактерий	70
11	Примадофилус, серия 20050416	Пробиотик	В одной капсуле $2,9 \cdot 10^9$ КОЕ лиофилизированных бактерий <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	79
12	Рио Флора, серия EF 0497	Мульти-пробиотик + пребиотик	В одной капсуле не менее $5 \cdot 10^8$ 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
13	Стимбифид, серия 010316	Пребиотик	Олигофруктоза, инулин, премикс витаминно-минеральный «Immunity», микроэлементы — цинк и селен	94
14	Стимбифид плюс, серия 010616	Метапребиотик (метабиотик + пребиотик)	Фруктоолиго- и фруктополисахариды, кальций молочнокислый. Патент РФ	98
15	Стимекс, экспериментальная серия	Метапребиотик (метабиотик + пребиотик)	Инновационный экспериментальный комплекс, содержащий метабиотический и пребиотический компоненты. Патент РФ	97
16	Хилак форте, серия R21664	Метабиотик	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
17	Флоролакт, серия 710615	Пребиотик	Гуммиарабик, фруктоолигосахариды, лактит (лактинол)	62
18	Энтерол, серия 1615	Пробиотик	В одной капсуле 250 мг лиофилизированных сахаромицетов <i>Saccharomyces boulardii</i>	86

размножаются, не продуцируют естественные для них метаболиты и не оказывают стимулирующего влияния на индигенную микробиоту.

В условиях антибиотико-ассоциированного дисбионаза максимальная численность лактобацилл *L. plantarum* 8Р-A3(Rif<sup>r</sup>) в фекалиях всех 7 добровольцев отмечалась на 4–8 сутки с начала приема аперос; однако уже через 1 сутки после последнего приема лактобацилл, на фоне возрастания численности собственной кишечной микробиоты и естественного усиления antagonизма с ее стороны, они перестали обнаруживаться в фекалиях 3 из 7 добровольцев, а на 4 сутки после завершения приема, как и в случае эксперимента при нормобиозе кишечника, лактобациллы *L. plantarum* 8Р-A3(Rif<sup>r</sup>) перестали обнаруживаться бактериологическим методом в фекалиях всех добровольцев.

Результаты исследований показали:

- микробиота кишечника эффективно противодействует заселению кишечника чужеродными микроорганизмами;
- идентичность поведения пробиотических микроорганизмов как в организме экспериментальных животных, так и людей,

Также нами проведено сравнительное экспериментальное изучение эффективности восстановления кишечной микробиоты современных, часто применяемых в клинической практике препаратов, а также инновационных коммерческих и экспериментальных препаратов последнего времени (Актофлор-С, Стимбиофид плюс, Стимекс) при антибиотико-ассоциированном дисбионазе у конвенциональных белых мышей. Характеристика препаратов приведена в Табл. 2.

Эффективность перорального введения пробиотиков оценивали по скорости восстановления кишечной микробиоты у животных опытных групп в сравнении со скоростью самовосстановления микробиоты:  $1,8 \cdot 10^5$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> по общему количеству микроорганизмов;  $2,9 \cdot 10^3$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> по лактобациллам;  $1,0 \cdot 10^4$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> по бифидобактериям;  $3,3 \cdot 10^3$  КОЕ·г<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> по эшерихиям у животных контрольной группы, которым не вводили регос препараты (скорость самовосстановления общего количества микробиоты и ее отдельных представителей принята за единицу). Обобщая данные по сравнительной оценке эффективности современных средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбионазом приведены на Рис. 2.

Как следует из Рис. 2, имеются существенные отличия в эффективности восстановления кишечной микробиоты конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбионазом у изученных современных средств коррекции нарушений кишечной микробиоты: из 18 препаратов только 3 (Стимбиофид, Стимбиофид плюс и Стимекс) значительно превосходят по скорости восстановления кишечной

микробиоты аналогичный показатель контрольной группы животных (самовосстановление кишечной микробиоты).

Однинадцать препаратов по скорости восстановления кишечной микробиоты оказались на уровне ее самовосстановления или незначительно его превышают, а три препарата избирательно стимулируют рост лактобацилл.

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

Всеобъемлющие сведения о препаратах, предназначенных для коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, крайне важны для лечащего врача. И также, как в случае назначения антимикробных препаратов, когда лечащий врач в конечном итоге несет ответственность за назначенную антимикробную терапию, он должен быть абсолютно уверенным в эффективности и безвредности назначаемого средства коррекции микробиоценоза кишечника.

Очень важно, чтобы результаты теоретических и экспериментальных, фундаментальных и прикладных исследований нашли понимание у разработчиков современных эффективных и безопасных препаратов, воздействующих на нарушенное патогенетическое звено саморегуляции — микробиоту кишечника. Выбор такого средства — это уже прерогатива лечащего врача, за которым остается окончательное решение о назначении средства коррекции, которое будет эффективно стимулировать восстановление у больного собственной индивидуальной микробиоты с весьма специфическим качественным и количественным составом.

## Выходы

Микробиота пищеварительного тракта, включающая более 5000 видов микроорганизмов, является очень важным дискретным органом, выполняющим множество функций, крайне необходимых для здоровья организма. Нарушение структуры микробиоценоза кишечника проявляется дисбионазами, приводящими к расстройству симбионтного пищеварения, которое является, в свою очередь, причиной многих развивающихся в организме человека системных и локальных патологических процессов. Лечебные мероприятия по коррекции дисбионазов предусматривают применение препаратов коррекции нарушений микробиоценоза кишечника. Самую многочисленную группу таких препаратов составляют пробиотики. Проведенные исследования убедительно доказали, что использование традиционных пробиотических препаратов на основе живых микроорганизмов является не самым эффективным и безопасным путем коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике.

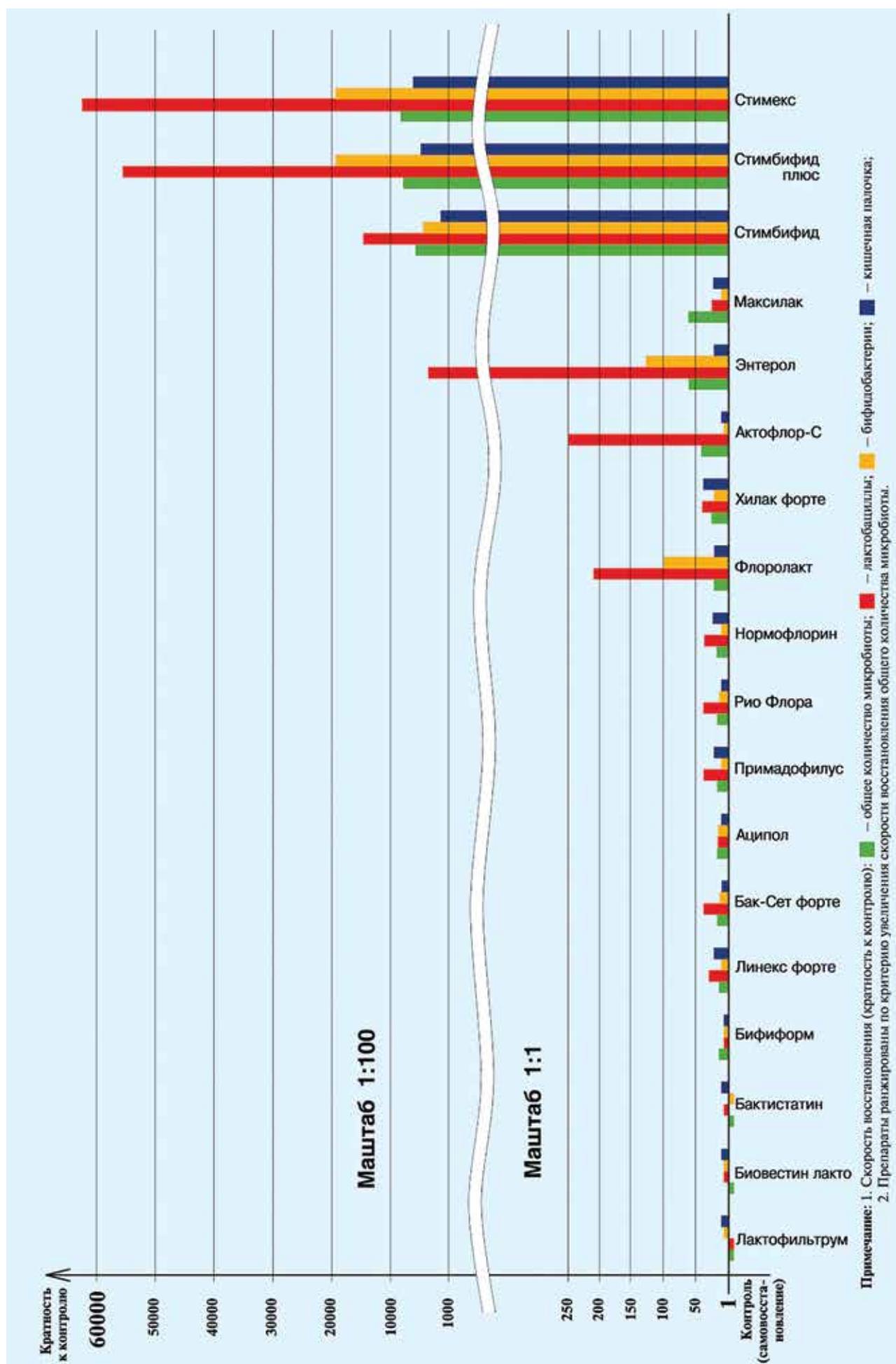


Рис. 2. Сравнительная экспериментальная оценка эффективности современных пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и метабиотиков при коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом

Показано, что пробиотические микроорганизмы *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>), поступившие перорально в организм человека, существуют своей самостоятельной жизнью, находясь в антагонистических отношениях с индигенной кишечной микробиотой как в условиях нормобиоценоза, так и дисбиоза кишечника добровольцев, испытывая на себе эффект бионесовместимости по типу «хозяин против пробиотика».

Низкая эффективность мероприятий по коррекции дисбиотических нарушений кишечной микробиоты путем применения пробиотиков является основанием пересмотра стратегии поддержания и восстановле-

The intestinal microbiota as a discrete organ, which is named in the scientific literature the «paracytological system» [1], plays a significant role in the vital activity of the host body: metabolism, detoxification, formation of innate immunity, development of colonization resistance against pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms at the first stage of the infectious process development [2, 3, 4]. The knowledge about the role of the intestinal microbiota is constantly extending and renewing towards an acquisition of new data about its functions as well as properties, which gave grounds to regard the intestinal microbiota as the main biogenic factor determining health or disease development [5]. An imbalance in the above-mentioned system due to intake of antimicrobials, changes in the habitat and nutrition character, gastroenterological diseases as well as an impact of other factors leads to the development of the clinico-laboratory syndrome — dysbiosis [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

A range of tools for prophylaxis and treatment of disbiotic intestinal microbiocenosis disorders is quite wide. For more than 50 years, a special place in it has been given to probiotics — preparations containing live microorganisms that are representatives of the normal colon microbiota [6, 7]. It is remarkable that only after decades of using probiotics in Russia, the Resolution of the Expert Council of 07.11.2015 on the effectiveness, safety and regulatory aspects of the use of probiotics in the Russian Federation and other countries [15] acknowledged on the basis of scientific publications (although with reservations), the possibility of the appearance of systemic infections (endocarditis, sepsis, meningitis, bacteremia, pneumonia), caused by lactobacilli when using probiotics.

According to Besselink, M.G.H [16], in 2004–2007, 15 clinics of the University Medical Center Utrecht (Netherlands) studied an effect of the multispecies probiotic preparation on reduction of the risk of infectious complications in 296 patients with pancreatitis in the multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. During treatment, 24 patients in the group that received the probiotic died. In the control group of patients, who did not intake the probiotic, the mortality was 2.5 times lower.

ния индивидуальной кишечной микробиоты, которая сформировалась после рождения человека.

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.

The reasons for this are still unknown; however, in October 2015, the similar study carried out in the Czech Republic was terminated on the insistence of the Dutch scientists.

The group of Russian scientists did the experimental research with the aim of revealing a possible cause of lethal cases in patients of the university clinics, which gave evidence about the biologically hazardous potential of probiotic preparations. In the course of the investigations with the use of the laboratory animals, it was found that the potential hazard of probiotics consists in the ability of foreign microorganisms in their composition to initiate the translocation (transfer into the foreign biotope) of the intestinal microbiota into the blood stream and abdominal cavity due to the increased antigenic and allergenic load, which resulted in the death of more than 30 % of the experimental animals associated with the infectious toxic (endotoxic) shock with the development of bacteremia and peritonitis [17, 18].

Therefore, the practice of clinical and experimental investigations clearly showed the problem of effectiveness and safety of probiotics. Only in 2015, did the experts acknowledge the fact of the potential hazard of probiotics [15]; however, the results of the experimental studies published in 2005–2006 [19, 20], brought the scientists closer to understanding the fact that a single statement about the presence or absence of effectiveness of probiotic therapy or its transitory character is absolutely insufficient.

It was found that in violation of standards, to which probiotics have to correspond [7], their effectiveness in the animal experiments (as required by the United Nations Ethics Committee) was often not proved (Fig. 1). Primarily, there should be correspondence to the standards of microorganisms in the composition of preparations, which, in particular, have to be protected from an impact of the digestive enzymes and bile. Their effectiveness and safety for humans have to be proved experimentally; the genetic stability of microbial properties should be guaranteed; high quality lyophilization of microorganisms has to provide the high survival rate after peroral intake of probiotics.

In fact, immediately after the theoretical substantiation of inclusion of one or another microorganism as promis-

ing for creation of a probiotic preparation on its basis, all activity of developers switched over the biotechnology of a new preparation and its promotion onto the market of probiotics.

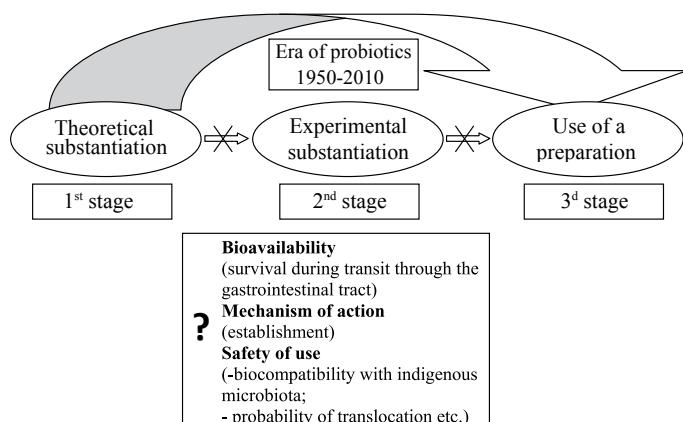


Fig. 1. Traditionally established sequence of actions in development of probiotic preparations

The second very important stage of pre-clinical experimental substantiation of safety, harmlessness and effectiveness of microorganisms and supplementary ingredients included in the composition of probiotic preparations was excluded (with the tacit agreement) from the logical chain of actions in development and clinical trials of a preparation itself. This led to the following problems in clinical trials associated not only with an increase in dysbiosis in the population despite a significant range of probiotic preparations, but also with their safety.

Over a long period of time, there was no method for determination of bioavailability of probiotic microorganisms (survival during transit through the gastrointestinal tract); the mechanism of action of probiotic microorganisms (substitutive action, that is, the establishment in a biofilm of the intestinal mucosa) was not recognized; the safety of the use of probiotic preparations (biocompatibility of microorganisms in a probiotic composition with indigenous microbiota, the possibility of its translocation through the intestinal walls etc.) was not proved.

This problem was successfully solved by a group of Russian scientists, who developed, first of all, the universal method for differentiation of probiotic and indigenous microorganisms by obtaining labeled derivatives of probiotic bacteria isolated from intestinal contents of laboratory animals that stably inherited a trait of rifampicin resistance and preserved species characteristics [14, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25].

Secondly, an express method was developed, which enabled initiation of intestinal dysbiosis in the study on experimental animals [24, 25, 26, 27, 28].

Thirdly, in 2012, a universal indicator was introduced into the scientific use for the first time. The indicator characterizes the quantitative changes in the intestinal microbiota in animals in an experiment under an effect of the means of microbiocenosis correction, namely, «the rate of intestinal microbiota recovery» [27, 28]. The universal-

ity of the indicator resides in the fact that it is possible to assess with its help an effect of both positive (the rate of recovery) and negative (the rate of inhibition) factors on total microbial content and the number of individual representatives of the intestinal microbiota. This integrative indicator, which includes all complex of factors affecting the intestinal microbiota, enables obtaining the quantitative characteristics of the process of recovery (inhibition) of the intestinal microbiota ( $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ ) compared with the similar indicator that is determined in the control experiment on animals upon self-recovery of their intestinal microbiocenosis (ratio to control).

The results of the in vitro experiments on the study of bifidobacteria and lactobacilli survival in the gastric juice and duodenal contents of humans [29] show that during incubation of bifidobacteria and lactobacilli in the indicated biological media, the quantity of viable probiotic microorganisms was significantly reduced compared to their initial quantity up to individual cells in case of bifidobacteria.

A significant decrease (by 4–7 orders) in the number of the probiotic microorganisms entering the organism of the experimental animals was established [21]. These data confirm the results of the previous studies in vitro [30, 31] about extremely low survival of probiotic microorganisms in the aggressive media.

In the context of the above mentioned, it is necessary to note the results of the experiments, which were published in the work [32]. According to the presented data, removal of probiotic microorganisms from the commercial biocomplex «Normoflорin-B1» increased the effectiveness of the preparation regarding recovery of normobiota in animals with antibiotic-associated dysbiosis almost by 60 times, and the live bacteria per se, which were removed from the biocomplex, did not have an ability to stimulate recovery of the intestinal microbiota when administered enterally to the animals with antibiotic-associated dysbiosis. Therefore, it was proved experimentally that not probiotic microorganisms but their metabolites made a significant contribution to normalization of the intestinal microbiocenosis disorder [32, 33].

It can be stated that in the course of the transit through the digestive tract of the experimental animals, the number of probiotic microorganisms decreases to the value lower than critical, after which population survival, in general, is impossible. This data supported by the results of the study on species, tissue and individual specificity as well as heterology of probiotic bacteria for the organism of a new host [18], their incompatibility with his/her residential microbiota indicate ecological and functional marginality of probiotic microorganisms [34] and impossibility to change with their help inherent microbiota, which was already formed at birth both in healthy individuals [35], and in individuals with disbiotic changes in the intestinal microbiota [33, 36].

The published results of the experimental studies on laboratory animals, which demonstrated on the factual

material the necessity to change the view on the problem of probiotics and probiotic therapy for the sake of patients' health, were not disproved. The opponents expressing their doubts state that the data obtained on laboratory animals should not be extrapolated to humans. Pediatricians are especially skeptical asserting that everything is different in children (children are not mice!) and constantly emphasizing the necessity to carry out studies with participation of volunteers to achieve full clarity in solving this complex problem.

Indeed, this problem required solving several theoretical, methodological and organizational problems at the first stage of investigations; in particular, obtaining spontaneous rifampicin resistant (Rif<sup>r</sup>) mutants of probiotic lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 with stably inherited species characteristics and a trait of antibiotic resistance (R-trait), growing them on the special culture media; adapting to human volunteers the method for initiation of experimentally antibiotic-associated dysbiosis that was developed for mice; detecting the representatives of the intestinal microbiota and marked according to the R-trait lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 in faeces of laboratory animals and volunteers using selective solid culture media, their quantification in 1 g of faeces; comparatively assessing the effectiveness of modern methods regarding correction of intestinal microbiota at experimental antibiotic-associated dysbiosis both in laboratory animals and human volunteers.

Before consideration and assessment of our own experimental results, it is necessary to note that developers and producers who have been engaged in probiotic therapy for decades, regarded all microorganisms isolated from healthy people as «good and healthy», and, therefore, promising for the use in the biotechnology of probiotics.

They, as well as physicians and patients, had a priori beliefs about probiotics as preparations with curative and prophylactic activities, which can be included into the treatment regimen for most diseases without experimental trial on animals of their effectiveness and safety.

It has turned out that this belief is far from the reality as it is the questions of effectiveness and safety of probiotic microorganisms as well as the regulatory aspects of their use that were discussed in the special session of the Expert Council in November 2015 in Moscow [15]. Based on the results of the session, the experts stated in the Resolution that probiotics are live microorganism, which upon administration in adequate doses have a positive effect on human health.

The Resolution of the Expert Council [15] and the appeal of the experts to the professional medical community with a proposal to discuss the main problems that have arisen over the last years indicate that these questions have accumulated much faster than solutions have been found.

In the light of the results of the experimental studies that point to the involvement of the probiotic microorganisms to initiation of the intestinal microbiota translocation

[17, 18], the warning of M.D. Ardatsky and O.N. Minushkin [37] expressed as far back as in 2006 is perceived differently.

The authors are sure that it is necessary to take into consideration a potential hazard of the intestinal microbiota and its metabolites, when translocation of microorganisms into the non-residential biotopes and sterile cavities occurs. According to the data of the cited authors, penetration of the intestinal microbiota into the abdominal cavity leads to its infection and development of spontaneous peritonitis. With that, the mortality of patients with liver cirrhosis of B and C classes by Child-Pugh in this case reaches 50%, while 69% of patients had a recurrence within a year.

In a series of publications [14, 21, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 34], which contain the results of their own experimental investigations, a group of the Russian scientists also actually appeals to the professional medical community with a proposal to look differently at the problem of probiotics and probiotic therapy.

Recently, the strategy for intestinal microbiota maintenance was reconsidered: the conclusive evidence was obtained with regard to the fact that the use of the traditional preparations (probiotics) based on live microorganisms is not the most effective and safe way for correction of micro-ecological disorders in the intestine.

Low survival of lyophilized microorganisms (in capsules or in flasks) in the composition of probiotic preparations has been established experimentally: when plating suspensions of rehydrated lyophilized probiotic preparations (within the shelf life) on the special solid culture media, survival of microorganisms is 15–25% of the total number of «live microorganisms» specified in instructions. Only insignificant part of remained probiotic microorganisms does reach colon, which results, among other things, in their low survival during the transit through the intestine — less than ten-thousandths of a percent of the initial quantity entered the stomach in the composition of the preparation. It was also proved that in the intestine, even at dysbiosis, viable indigenous strains (auto-strains) continue to reside and a probiotic that was created on the basis of any biotechnological «universal» strain is heterologous (foreign) and enters the antagonistic relations with auto-strains.

It is also necessary to take into account that probiotic microorganisms entered into the intestine have the lymphocytotoxic activity [38,39], which affects an ability of the patient's immune system to detect, which microorganisms (indigenous or foreign) enter the gastrointestinal tract. The presence of the undesirable for live organism properties in probiotic microorganisms points once more to a necessity of the individual approach to selection of a probiotic, the right choice of the course and single doses of a preparation.

At the first stage of our own research, carried out on animals and volunteers (8 individuals, one of whom was placebo-controlled) without the signs of the intestine microbiocenosis disorder, the transitory character of the

**Table 1.** Survival of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) during transit through the gastrointestinal tract of healthy white mice, guinea pigs and humans

White mice			Guinea pigs			Volunteers		
Daily dose, CFU	Numbers in faeces, CFU·g <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ at 2–10 days)	Survival of micro-organisms, % (proportion)	Daily dose, CFU	Numbers in faeces, CFU·g <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ at 2–10 days)	Survival of micro-organisms, % (proportion)	Daily dose, CFU	Numbers in faeces, CFU·g <sup>-1</sup> ( $\bar{x}$ at 2–10 days)	Survival of micro-organisms, % (proportion)
5.2·10 <sup>7</sup>	175.1	0.0000034 (3.4·10 <sup>-6</sup> )	5.3·10 <sup>8</sup>	83.1	0.0000016 (1.6·10 <sup>-7</sup> )	2.0·10 <sup>10</sup>	159.2	0.00000008 (8.0·10 <sup>-9</sup> )

presence of labeled (rifampicin resistant — Rif<sup>r</sup>) lactobacilli in the gastrointestinal tract of animals and humans as well as low level of bacteria shedding with faeces were revealed (Table 1).

At the same time, an important regularity was revealed: survival of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) in the body of guinea pigs was lower than in the body of white mice, while survival in the gastrointestinal tract of volunteers was lower than in the body of white mice and guinea pigs.

The reason for the difference in survival of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) in the gastrointestinal tract of white mice, guinea pigs and volunteers, in our opinion, is the length of the intestine: with an increase in the length of the intestine (white mice — guinea pigs — volunteers) and the time of bacteria transit through the gastrointestinal tract, the numbers of lactobacilli decreased from 0.0000034% (in the intestine of white mice) to 0.00000016% (in the intestine of guinea pigs) and to 0.000000008% in humans.

It is necessary to note another fact: the active phase of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) shedding from the body of volunteers lasted up to 5 days, while in white mice and guinea pigs it was up to 15 days.

At the second stage, the investigations were carried out on animals and volunteers with antibiotic-associated intestine dysbiosis induced by gentamicin peroral administration. The daily dose of gentamicin peroral administration was calculated for animals on the basis of the daily dose for humans with consideration for conversion coefficient.

In the course of the investigations, the process of recovery of indigenous lactobacilli under an influence of the peroral administration of labeled probiotic lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) and possibility of survival of the latter in the intestine during their transit were studied. Based on the data of the quantification by the bacteriological method of the total microbial count and the number of individual representatives of the intestinal microbiota in the intestine of animals and volunteers, it is possible to suggest the development of the third stage of intestinal dysbiosis by I.K. Maksimov [40] or the third uncomplicated degree of dysbiosis by O.N. Minushkin et al. [7].

The bacteriological study of faeces from animals and volunteers during the experiment gives grounds to suggest two processes in animals: on one hand, a slow increase in the numbers of indigenous lactobacilli (the recovery rate

of the intestinal microbiota on the 12th day of the experiment was 1.3·10<sup>4</sup> CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup> for white mice and 7.2·10<sup>4</sup> CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup> for guinea pigs), and on the other hand, an increase in the number of the probiotic lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) in the intestinal contents in the first two days of their peroral administration, but quite a fast decrease and full elimination by 13–14 days of observation.

Lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) in the quantity of several tens in 1 g of faeces were found in all 7 volunteers from 4 to 8 days (with delay of 2 days compared to animals). From the 9th day, immediately after termination of the per os intake of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>), they were not detected any more in the faeces of three volunteers and, subsequently, the number of probiotic lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) sharply reduced in the faeces of all volunteers; by the 12th day (the 4th day after termination of intake), labeled lactobacilli were not isolated.

The average value of the indicators of the recovery rate of indigenous lactobacilli in the volunteers from the experimental group (1.2·10<sup>5</sup> CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>) practically did not differ from the rate of self-recovery of indigenous lactobacilli in the volunteer (biocontrol) (3.8·10<sup>5</sup> CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>) in the placebo controlled investigation, which suggests the absence of the probiotic effect of the peroral administration of probiotic lactobacilli.

The presented results give grounds to suggest that probiotic lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3(Rif<sup>r</sup>) being in the human digestive tract, do not exert their potential abilities to stimulate recovery, at least, regarding indigenous lactobacilli. It is obvious that in the body of volunteers as well as in the body of white mice and guinea pigs, probiotic lactobacilli remain to be foreign, do not survive in the intestine, do not multiply, do not produce their natural metabolites and do not have a stimulating effect on the indigenous microbiota.

In the conditions of antibiotic-associated dysbiosis, the maximum number of lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) in the faeces of all volunteers was observed on the 4–8th days from the beginning of per os intake; however, already one day after the last intake of lactobacilli, on the background of an increase in the number of the indigenous intestinal microbiota and natural enhancement of its antagonism, they were not found in the faeces of 3 of 7 volunteers, and on the 4th day after termination of intake, lactic acid bacteria *L. plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) were

not detected by the bacteriological method in the faeces of all volunteers, similar to what was observed in the experiment in the conditions of intestinal normobiosis.

The results of the study showed that:

- the intestinal microbiota effectively counteracted colonization of the intestine by foreign microorganisms.
- the behavior of probiotic microorganisms was identical in the body of the experimental animals and humans.

We also carried out the comparative experimental study on the effectiveness of modern preparations that are frequently used in clinical practice as well as recent innova-

tive commercial and experimental preparations (Actoflор-C, Stimbifid plus, Stimex) regarding intestinal microbiota recovery at antibiotic-associated dysbiosis in conventional white mice. The characteristics of the preparations are given in Table 2.

The effectiveness of the peroral administration of probiotics was assessed by the rate of recovery of the intestinal microbiota in animals of the experimental groups compared to the rate of self-recovery of microbiota: the total microbial count,  $1.8 \cdot 10^5$  CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>; lactobacilli,  $2.9 \cdot 10^3$  CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>; bifidobacteria,  $1.0 \cdot 10^4$  CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>; Esche-

Table 2. The characteristics of the modern preparations

No.	Preparation name	Preparation type	Composition	Shelf life, %
1	Actoflор-C, series 020316	Metabiotic of the new generation	Complex of amino acids and organic acids — analogues of metabolites of probiotic microorganisms	94
2	Acipol, series 010116	Probiotic	Live acidophilic bacteria, not less than $1 \cdot 10^7$ CFU per capsule	87
3	Bac-Set forte, lot 1091105	Multi-probiotic	<i>L. casei</i> PXN37, <i>L. plantarum</i> PXN47, <i>L. rhamnosus</i> PXN54, <i>B. bifidum</i> PXN23, <i>B. breve</i> PXN25, <i>B. longum</i> PXN25, <i>L. acidophilus</i> PXN35, <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> PXN63, <i>Streptococcus thermophilus</i> PXN66, <i>B. infantis</i> PXN27, <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> PXN39, <i>L. helveticus</i> PXN45, <i>L. salivarius</i> PXN57, <i>L. fermentum</i> PXN44, not less than $2 \cdot 10^9$ CFU per capsule	79
4	Bactistatin, lot 090915	Metabiotic	Biologically active metabolites of cell-free culture liquid <i>B. subtilis</i> 3, vitamin E and hydrolysate of soya flour	87
5	Bifiform, series 283236	Probiotic	<i>Enterococcus faecium</i> $1 \cdot 10^7$ CFU, <i>Bifidobacterium longum</i> $1 \cdot 10^7$ CFU per capsule	66
6	Biovestin lacto, Certificate of State Registration No RU.77.99.11.003.E. 044981. 10.11 of 31.10.2011	Probiotic	<i>Bifidobacterium adolescens</i> $1 \cdot 10^8$ CFU /ml, <i>Lactobacillus plantarum</i> $1 \cdot 10^8$ CFU /ml and the products of their metabolism	70
7	Lactofiltrum, series 2101015	Prebiotic	Amicrobic preparation, contains lignin hydrolised, lactose, cellulose microcrystalline	86
8	LINEX Forte, series FR4472	Probiotic	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 5 13,8 mg, <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> BB12 4,2 mg per capsule	75
9	Maxilac, series 8546308	Multi-probiotic + prebiotic	One capsule contains lyophilisate of probiotic bacteria ( $4 \cdot 5 \cdot 10^9$ CFU) and prebiotic component oligofructose (63 mg). Lyophilisate of bacteria: <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
10	Normoflorin -L, series 0218	Synbiotic	Lactic acid bacteria ( <i>L. acidophilus</i> ) not less than $1 \cdot 10^9$ CFU per ml of culture; products of bacterial metabolism	70
11	Primadophilus series 20050416	Probiotic	Lyophilized bacteria <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> ( $2 \cdot 9 \cdot 10^9$ CFU per capsule)	79
12	Rioflora, series EF 0497	Multi-probiotic + prebiotic	Probiotic microorganisms (in one capsule: not less than $5 \cdot 10^8$ CFU /g): <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 with inclusion of prebiotic components — inulin, fructooligosaccharides	63
13	Stimbifid, series 010316	Prebiotic	Oligofructose, inulin, vitamin-mineral premix «Immunity», microelements — zinc, selenium	94
14	Stimbifidplus, series 010616	Metaprebiotic Metabiotic + prebiotic	Fructooligo- and fructopolysaccharides, calcium lactate. RF patent	98
15	Stimex, experimental series	Metaprebiotic (metabiotic + prebiotic)	Innovative experimental complex containing metabiotic and prebiotic components. RF patent	97
16	(Hylak forte), series R21664	metabiotic	Germ-free aqueous substrate of metabolic products of <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
17	Florolact, series 710615	Prebiotic	Gum arabic, fructooligosaccharides, lactitol (lactinol)	62
18	Enterol, series 1615	Probiotic	In one capsule, 250 mg of lyophilized saccharomycetes <i>Saccharomyces boulardii</i>	86

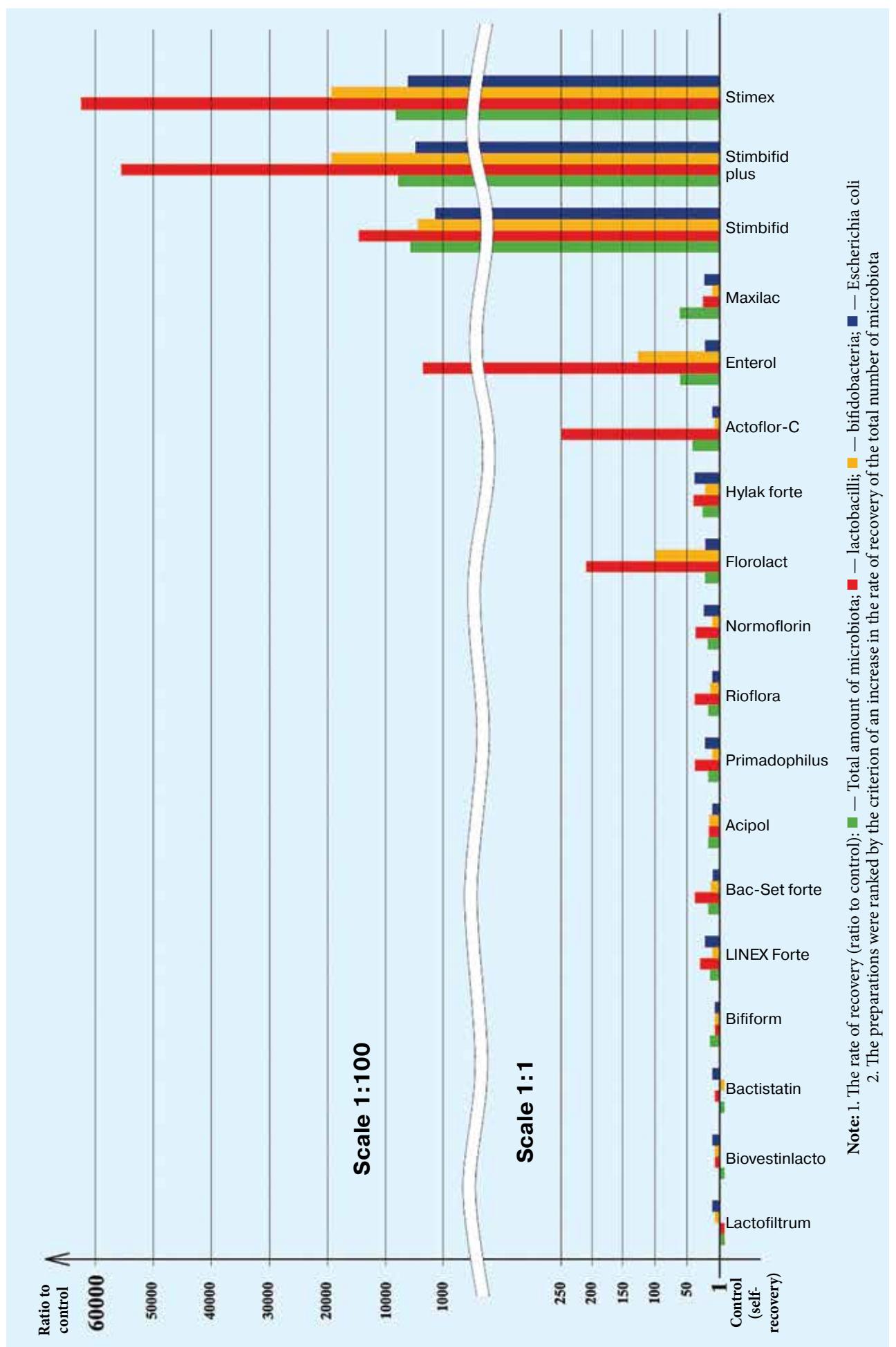


Figure 2. Comparative experimental assessment of the effectiveness of modern probiotics, prebiotics, symbiotics and metabolites in correction of the intestinal microbiocenosis disorders in animals with antibiotic-associated dysbiosis

richia,  $3.3 \cdot 10^3$  CFU·g<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup> in the animals from the control group, which did not receive preparations per os (the rate of self-recovery of the total microbial count and the individual representatives of microbiota was taken as 1).

The summarizing data on the comparative assessment of the effectiveness of the modern means for correction of the intestinal microbiocenosis disorders in conventional white mice with antibiotic-associated dysbiosis are presented in Figure 2.

As follows from Figure 2, there are significant differences in the effectiveness of the studied modern means for correction of the intestinal microbiota disorders regarding intestinal microbiota recovery in conventional white mice with antibiotic-associated dysbiosis. Among 18 preparations, only 3 (Stimbifid, Stimbifid plus and Stimex) were significantly superior by the rate of intestinal microbiota recovery compared to the control animal group (self-recovery of the intestinal microbiota).

By the rate of intestinal microbiota recovery, 11 preparations were at the level of its self-recovery or slightly higher, and 3 preparations selectively stimulated the growth of lactobacilli.

Therefore, a necessity of the most effective and safe recovery of the autochthonous (indigenous) intestinal microbiota by the use of prebiotics and metabiotics, and their compositions — metaprebiotics was scientifically substantiated and experimentally proved.

Complete information about preparations intended for correction of intestinal microbiocenosis is critical for a physician. And similar to the case of administration of antimicrobials when physicians are ultimately responsible for prescribed antimicrobial therapy, they have to be absolutely sure in the effectiveness and safety of a prescribed preparation for correction of the intestinal microbiocenosis.

It is very important that the results of the theoretical and experimental, fundamental and applied studies find understanding in developers of the modern effective and safe preparations that affect the disturbed pathogenetic element of self-regulation — the intestinal microbiota. The choice of such means is a prerogative of a physician, who takes the final decision about prescription of the correction means, which will effectively stimulate recovery

of the patient's autochthonous (indigenous) individual microbiota with highly specific qualitative and quantitative composition.

### Conclusions

The microbiota of the digestive tract, which includes more than 5000 species of microorganisms is a very important discrete organ having many functions that are crucial for body health. Disturbance of the intestinal microbiocenosis structure is manifested as dysbiosis leading to symbiotic digestion disorder, which, in turn, is a cause of many systemic and local pathological processes developing in the human body. Treatment measures on correction of dysbiosis envisage the use of the preparations to correct intestinal microbiocenosis. The most numerous group of these preparations consists of prebiotics. The performed investigations proved conclusively that the use of the traditional probiotic preparations based on live microorganisms is not the most active and safe method for correction of microecological disorders in the intestine.

It was shown that after peroral administration to humans, probiotic microorganisms *L.plantarum* 8P-A3 (Rif<sup>r</sup>) lived their own life being in the antagonistic relations with the indigenous intestinal microbiota both in the conditions of normobiocenosis and dysbiosis of the volunteers' intestine experiencing the effect of bio-incompatibility of the «host against probiotic» type.

The low effectiveness of measures for correction of dysbiotic disorders of the intestinal microbiota by using probiotics gives grounds for revision of the strategy of maintenance and recovery of the individual intestinal microbiota, which was formed after birth.

In this connection, it seems expedient to further develop the evidential basis for detection of the effectiveness and safety of the created means for correction of the intestinal microbiota disorders with the obligatory conduction of the experiments on animals and confirmation of the obtained data with the clinical trials. This sequence of action to a large extent will facilitate an improvement in quality and effectiveness of preparations, increase in their safety as well as physicians' and patients' confidence in them.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Николаев, Ю.А., Плакунов, В.К. (2007). Биопленка — «город микробов» или аналог многоклеточного организма? *Микробиология*, 76(2), 149–163.
2. Gorbach, S.L. (1986). Function of the normal human microflora. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 18(Suppl.49), 17–30.
3. Tannock, G.W. (1988). The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Sciences*, 5(1), 4–8.
4. Neish, A.S. (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136(1), 65–80.
5. Симонова, Е.В., Пономарева, О.А. (2008). Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека. *Сибирский медицинский журнал* (Иркутск), 83(8), 20–25.
6. Циммерман, Я.С. (2013). Эубиоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: мифы и реалии. *Клиническая медицина*, 91(1), 4–11.
7. Минушкин, О.Н., Елизаветина, Г.А., Ардатская, М.Д. (2013). Нарушение баланса микрофлоры и ее коррекция. Эффективная фармакотерапия. *Гастроэнтерология*, 4, 4–8.
8. Воробьев, А.А., Абрамов, Н.А., Бондаренко, В.Н., Шендеров, Б.А. (1997). Дисбактериозы — актуальная проблема медицины. *Вестник Российской академии медицинских наук*, 3, 4–7.
9. Бондаренко, В.Н., Мацulevich, Т.В. (2007). Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. М., ГЭОТАР — Медиа.— 304 с. ISBN978-5-9704-0430-0
10. Циммерман, Я.С., Циммерман, И.Я. (2005). Антибиотико-ассоциированная диарея и псевдомембранный колит — суть клинически манифестирующие формы кишечного дисбиоза. *Клиническая медицина*, 83(12), 12–19.

11. Барановский, А.Ю., Кондрашина, Э.А. (2000). Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. СПб., Питер. – 224 с. ISBN5-272-00164-8
12. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91599.11.004–2003), утв. Приказом № 231 Минздрава РФ от 09.06.03 г. – М.:2003.
13. Dunne, C., Murphy, L., Flinn, S., O’Mahony, L., O’Halloran, S., Feeney, M et al. (1999). Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76(1–4), 279–292.
14. Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Гаврилов, К.Е. (2013). Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность. *Журнал международной медицины*, 4(5), 52–58.
15. Резолюция Экспертного Совета по вопросам эффективности, безопасности и регуляторным аспектам применения пробиотиков в РФ и других странах. *Инфекционные болезни*, 2015. 13(4), 53–56.
16. Besselink, M.G.H., van Santvoort, H.S., Buskens, E., Boermeester, M.A., van Goor, Y., Timmerman, H.M. et al. (2008). Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: A randomizes, double-blind, placebo-controlled trial. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 152(28), 1593–1594.
17. Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Дармов, И.В., Гаврилов, К.Е., Горшков, А.С., Маньшин, А.И. (2016). Транслокация кишечной микробиоты. *Журнал международной медицины*, 4(29), 87–100.
18. Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Дармов, И.В., Горшков, А.С., Шабалина, М.Р. (2016). Кишечная недостаточность и транслокация иерсиний псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) при развитии экспериментальной генерализованной инфекции. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 3(127), 24–31.
19. Glushanova, N.A., Shenderov, B.A.(2005). Relationships between the probiotic and host indigenous lactobacilli under the conditions of mixed cultivation *in vitro*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii*, 2, 56–61.
20. Глушанова, Н.А. (2006). Экспериментальное обоснование новых подходов к коррекции микробиоценоза кишечника. Дисс. докт. мед. наук. Москва, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии.– 260 с.
21. Дармов, И.В., Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Дурнев, Е.А. (2012). Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных. *Журнал инфектологии*, 4 (1), 68–74.
22. Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Гаврилов, К.Е., Шабалина, М.Р., Дармов И.В. (2013). Аутопробиотикотерапия. *Журнал инфектологии*, 5(4), 43–54.
23. Пат. № 2528867. Способ оценки выживаемости бифидо – и лактобактерий в желудочно – кишечном тракте экспериментальных животных / Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Янов С.Н. Опубл. 20.09.2014, Бюлл. № 26.
24. Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А. (2012). Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотико-ассоциированном дисбактериозе и возможность его коррекции пробиотиком СтимбиФид. *Журнал инфектологии*, 4(1), 75–80.
25. Пат. № 2477894. Способ моделирования дисбактериоза кишечника у лабораторных животных/ Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Ердякова А.С., Лундловских И.А., Погорельский И.П. Опубл. 20.03.2013, Бюлл. № 8.
26. Бредихин, В.Н., Поздняков, И.В., Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г. (2013).
- Микроэкологические изменения в кишечнике при дисбактериозе: экспериментальное обоснование возможности коррекции дисбиотических изменений пробиотиком СтимбиФид. *Здоровье населения и среда обитания*, 12(249), 19–21.
27. Погорельский, И.П., Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Лундловских, И.А., Гаврилов, К.Е. (2012). Пробиотики: вектор развития. *Практическая медицина*, 3(58), 180–188.
28. Пат. № 2483113. Способ оценки воздействия экзогенных факторов на микрофлору кишечника при его дисбиотических нарушениях/ Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Янов С.И. Опубл. 27.05.2013. Бюлл. № 15.
29. Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Гаврилов, К.Е. (2012). Выживаемость бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro* в желудочном соке и двенадцатиперстной кишке. *Медицинский альманах*, 1, 57–59.
30. Дармов, И.В., Чичерин, И.Ю., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А. (2011). Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 3, 6–11.
31. Погорельский, И.П., Дармов, И.В., Чичерин, И.Ю., Ердякова, А.С., Лундловских, И.А. (2011). Сравнительная оценка выживаемости микроорганизмов пробиотиков в составе коммерческих препаратов в условиях *in vitro*. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 9, 96–101.
32. Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Лундловских, И.А., Погорельский, И.П., Лещенко, А.А., Куликова, Л.Е. (2014). Нужны ли коммерческим пробиотикам микробные клетки? *Журнал международной медицины*, 1(6), 12–18.
33. Shenderov, B.A. (2013). Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbiol Ecology in Health & Disease*. [Electronic resource: <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v24010.20399>. Access date 02.11.2017]
34. Погорельский, И.П., Чичерин, И.Ю., Лундловских, И.А. (2013). Экологическая и функциональная маргинальность пробиотических микроорганизмов. [Электронный ресурс: <http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>. Дата обращения 06.11.2017]
35. Lidbeck, A., Gustafson, I.A., Nard, C.E. (1987). Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplement on the human oropharyngeal and intestinal microflora. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 19(5), 531–537.
36. Воробьев, А.А., Несвижский, Ю.В., Буданова, Е.В., Ионинцева, Л.О. (1995). Популяционно-генетические аспекты микробиологического фенотипа кишечника здорового человека. *Журнал микробиологии*, 4, 30–35.
37. Ардатская, М.Д., Минушкин, О.Н. (2006). Современные принципы диагностики и фармакологической коррекции. *Гастроэнтерология, приложение к журналу Consilium Medicum*, 8, 1–25.
38. Ердякова, А.С., Чичерин, И.Ю., Лундловских, И.А., Погорельский, И.П. (2012). Экспериментальная оценка лимфоцитотокического действия бифидобактерий и лактобактерий. *Практическая медицина*, 3(58), 194–196.
39. Чичерин, И.Ю., Дармов, И.В., Богачева, Н.В., Погорельский, И.П., Лундловских, И.А., Шевцов, А.Н. (2013). Исследование влияния больших доз пробиотика Бифидумбактерин и микроорганизмов аутофлоры кишечника на организм белых мышей и показатели клеточного иммунитета. *Медицинский Советник Поволжья*, 1(6), 85–90.
40. Максимов, И.К. (2004). Нарушение микробиоценоза на фоне полихимиотерапии у больных опухолевыми заболеваниями системы крови: новые методы диагностики и коррекции. *Фарматека*, 13, 79–84.

## REFERENCES

1. Nikolaev, Yu.A., Plakunov, V.K. (2007). Biofilm — "cityofmicrobes" or an analogue of multicellular organisms? *Microbiology*, 76 (2), 149–163. (in Russian)
2. Gorbach, S.L. (1986). Function of the normal human microflora. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 18(Suppl.49), 17–30.
3. Tannock, G.W. (1988). The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Sciences*, 5(1), 4–8.
4. Neish, A.S. (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136(1), 65–80.
5. Simonova, E.V., Ponomareva, O.A. (2008). The role of normal microflora in supporting human health. *Sibirskij Medicinskij Zurnal (Irkutsk)*, 83(8), 20–25. (in Russian)
6. Tsimerman, Ya.S. (2013). Eubiosis and dysbiosis of gastrointestinal tract: myths and reality. *Clinical medicine*, 91(1), 4–11.
7. Minushkin, O.N., Elizavetina, G.A., Ardatskaya, M.D. (2013). Microbial dysbalance and its correction. *Effective Pharmacotherapy. Gastroenterology*, 4, 4–8. (in Russian)
8. Vorob'ev, A.A., Abramov, N.A., Bondarenko, V.N., Shenderov, B.A. (1997). Dysbacteriosis — the actual medical problem. *Annals of the Russian academy of medical sciences*, 3, 4–7. (in Russian)
9. Bondsrenko, V.N., Matsulevich, T.V. (2007). Intestinal dysbacteriosis as a clinico-laboratory syndrome: the current state of the problem. M.: Geostar — Media.—304 p. ISBN: 978-5-9704-0430-0 (in Russian)

10. Tsimmerman, Ya.S., Tsimmerman, I. Ya. (2005). Antibiotic-associated diarrhea and pseudomembranous colitis are clinical manifest forms of intestinal dysbiosis. *Clinical medicine*, 83(12), 12–19. (in Russian)
11. Baranovskiy, A.Yu., Kondrashina, E.A. (2000). The intestinal dysbacteriosis and dysbiosis. St. Petersburg: Piter. – 224 p. ISBN5-272-00164-8 (in Russian)
12. The Branch Standard «Patient Management Protocol. Intestinal Dysbacteriosis» (OST 91500.11.0004–2003), approved by the order of the Ministry of Health of Russian Federation No. 231 of 09.06.2003. M.: 2003.(in Russian)
13. Dunne, C., Murphy, L., Flinn, S., O, Mahony, L., O, Halloran, S., Feeney, M. et al. (1999). Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76(1–4), 279–292.
14. Chicherin, I.Yu., Darmov I.V., Pogorelsky I.P., Lundovskikh I.A., Gavrilov, K.E. (2013). Substitutive action of probiotics: myth or reality. *Journal of International Medicine*, 4(5), 52–58.(in Russian)
15. Resolution of the Expert Council of 07.11.2015 on the effectiveness, safety and regulatory aspects of the use of probiotics in the RF and other countries. *Infectious diseases*, 2015, 13(4), 53–56. (in Russian)
16. Besselink, M.G.H., van Santvoort, H.S., Buskens, E., Boermeester, M.A., van Goor, Y., Timmerman, H.M. et al. (2008). Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: A randomizes, double-blind, placebo-controlled trial. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 152(28), 1593–1594.
17. Chicherin, I.Yu., Pogorelsky I.P., Lundovskikh I.A., Darmov I.V., Gavrilov, K.E., Gorshkov, A.S., Manshin, A.I. (2016). Translocation of the intestinal microbiota. *Journal of International Medicine*, 4(29), 87–100. (in Russian)
18. Chicherin, I. Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Darmov, I.V., Gorshkov, A.S., Shabalina, M.R. (2016). Intestinal failure and *Yersinia pseudotuberculosis* translocation in the development of experimental generalized infection. *Experimental and clinical gastroenterology*, 3(127), 96–101. (in Russian)
19. Glushanova, N.A., Shenderov, B.A. (2005). Relationships between the probiotic and host indigenous lactobacilli under the conditions of mixed cultivation in vitro. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii*, 2, 56–61.(in Russian)
20. Glushanova, N.A. (2006). Experimental substantiation of new approaches to correction of the intestinal microbiocenosis. Dissertation for the scientific degree of doctor of technical sciences. Moscow, Research Institute of Epidemiology and Microbiology.– 260 p. (in Russian)
21. Darmov, I.V., Chicherin, I.Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Durnev, E.A. (2012). Survival of probiotic microorganisms in the gastrointestinal tract of experimental animals. *Journal of Infectology*, 4 (1), 68–74.(in Russian)
22. Chicherin, I.Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Gavrilov, K.E., Shabalina M.R., Darmov, I.V.(2013). Autoprobiotic therapy. *Journal of Infectology*, 5(4), 43–54. (in Russian)
23. Darmov I.V., Chicherin I.Yu., Pogorelsky I.P., Lundovskikh I.A., Yanov S.N. The method for assessment of bifido- and lactobacteria survival in the gastrointestinal tract of experimental animals. Patent RF, no. 2528867, 2014. (in Russian)
24. Chicherin, I.Yu., Darmov, I.V., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A. (2012). Intestinal microflora of white mice and guinea pigs in experimental antibiotic-associated dysbacteriosis and the possibility of its correction with prebiotic Stimbifid. *Journal of Infectology*, 4(1), 75–80.(in Russian)
25. Darmov I.V., Chicherin I.Yu., Erdyakova A.S., Lundovskikh I.A., Pogorelsky I.P. The method for modeling intestinal dysbacteriosis in laboratory animals. Patent RF, no. 2477894, 2014. (in Russian)
26. Bredikhin, V.N., Pozdnjakov, I.V., Chicherin, I.Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Leshchenko, A.A., Lazykin, A.G. (2013). Microecological changes in the intestine during dysbacteriosis: experimental substantiation the possibility of correction dysbiotic changes with prebiotic stimbifid. *Health of the population and habitat*, 12(249), 19–21. (in Russian)
27. Pogorelsky, I.P., Chicherin, I.Yu., Darmov, I.V., Lundovskikh, I.A, Gavrilov, K.E. (2012). Probiotics: the vector of development. *Practical medicine*, 3(58), 180–188. (in Russian)
28. Chicherin, I.Yu., Pogorelsky I.P., Lundovskikh I.A., Yanov, S.N. The method for assessment of the exposure of the intestinal microflora to exogenous factors in its dysbiotic disorders. Patent RF, no.2483113, 2013. (in Russian)
29. Chicherin, I.Yu., Darmov, I.V., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Gavrilov, K.E. (2012). The survival of bifid bacteria and lactic bacteria in the conditions in vitro in gastric juice and duodenal contents of people. *Medical Almanac*, 1, 57–59. (in Russian)
30. Darmov, I.V., Chicherin, I.Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A. (2011). Survival of probiotic microorganisms in in vitro conditions simulating the digestive process in humans. *Experimental and clinical gastroenterology*, 3, 6–11. (in Russian)
31. Pogorelsky, I.P., Darmov, I.V., Chicherin, I.Yu., Erdyakova A.S., Lundovskikh, I.A. (2011). Comparative assessment of survival of probiotic microorganisms from commercial preparations under the conditions in vitro. *Experimental and clinical gastroenterology*, 9, 96–101. (in Russian)
32. Chicherin, I.Yu., Darmov, I.V., Lundovskikh, I.A., Pogorelsky, I.P., Leschenko, A.A., Kulikova L.E. (2014). Do commercial probiotics need microbial cells? *Journal of International Medicine*, 1(6), 12–18. (in Russian)
33. Shenderov, B.A. (2013). Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbiol Ecology in Health & Disease*. [Electronic resource: <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v24010.20399>. Access date 02.11.2017]
34. Pogorelsky, I.P., Chicherin, I.Yu., Lundovskikh, I.A. (2013). Ecological and functional marginality of probiotic microorganisms. [Electronic resource: <http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>. Access date 06.11.2017] (in Russian)
35. Lidbeck, A., Gustafson, I.A., Nard, C.E. (1987). Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplement on the human oropharyngeal and intestinal microflora. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 19(5), 531–537.
36. Vorob'ev, A.A., Nesvizhskiy, Yu.V., Budanova E.V., Inozemtseva L.O. (1995). Population genetic aspects of microbiological phenotype of healthy human intestine. *Journal of Microbiology*, 4, 30–35. (in Russian)
37. Ardatskaya, M.D., Minushkin, O.N. (2006). Modern principles of diagnostics and pharmacological correction. *Gastroenterology. Supplement to the Journal "Consilium Medicum"*, 8, 1–25. (in Russian)
38. Erdyakova A.S., Chicherin, I.Yu., Lundovskikh, I.A., Pogorelsky, I.P. (2012). Experimental assessment of the lymphocytotoxic action of bifidobacteria and lactobacteria. *Practical Medicine*, 3(58), 194–196. (in Russian)
39. Chicherin, I.Yu., Darmov, I.V., Bogacheva N.V., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Shevtsov A.N. (2013). Study on the effect of high doses of probiotic Bifidumbacterin and microorganisms of the intestinal auto-flora on the body of white mice and the indicators of cellular immunity. *Medical Council of the Volga Region*, 1(6): 85–90. (in Russian)
40. Maksimov, I.K. (2004). Microbiocenosis disorder on the background of polychemotherapy in patients with oncological diseases of the blood system: new models of diagnostics and correction. *Pharmateca*, 13, 79–84. (in Russian)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

## Принадлежность к организации

**Чичерин Игорь Юрьевич** — кандидат медицинских наук, президент, Научное общество «Микробиота». 141323, Московская обл., Сергиево-Посадский р-он, пос. Лоза, д. 9-Д  
Тел.: +7-496-547-53-00  
E-mail: rpatron@mail.ru

**Погорельский Иван Петрович** — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры Микробиологии Института биологии и биотехнологии, Вятский государственный университет. 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36.  
Тел.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: ipogorelsky@inbox.ru

**Лундловских Ирина Александровна** — кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры Микробиологии Института биологии и биотехнологии, Вятский государственный университет. 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36.  
Тел.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: lundovskikh@vyatsu.ru

**Дармов Илья Владимирович** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Микробиологии Института биологии и биотехнологии, Вятский государственный университет. 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36.  
Тел.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: darmov@vyatsu.ru

**Шабалина Марина Робертовна** — кандидат педагогических наук, доцент кафедры фундаментальной и прикладной математики Института математики и информационных систем, Вятский государственный университет. 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36.  
Тел.: +7-8332-74-25-15  
E-mail: usr01589@vyatsu.ru

## Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.11.2017

## AUTHOR INFORMATION

## Affiliation

**Igor Yu. Chicherin** — candidate of medical sciences President, Scientific society «Microbiota». pos. Loza, 9-D, Sergiev Posadsky district, Moscow region., Russia, 141323  
Tel.: +7-496-547-53-00  
E-mail: rpatron@mail.ru

**Ivan P. Pogorelsky** — doctor of medical sciences, professor, professor of the Department of Microbiology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University. Moskovskaya st., 36, Kirov, Russia, 610000  
Tel.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: ipogorelsky@inbox.ru

**Irina A. Lundovskikh** — candidate of chemical sciences, docent, docent of the Department of Microbiology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University. Moskovskayast., 36, Kirov, Russia, 610000  
Tel.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: lundovskikh@vyatsu.ru

**Ilya V. Darmov** — doctor of medical sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University. Moskovskayast., 36, Kirov, Russia, 610000  
Tel.: +7-8332-74-24-40  
E-mail: darmov@vyatsu.ru

**Marina R. Shabalina** — candidate of pedagogical sciences, docent, docent of the Department of Fundamental and applied Mathematics, Institute of Mathematics and Information Systems, Vyatka State University. Moskovskaya st., 36, Kirov, Russia, 610000  
Tel.: +7-8332-74-25-15  
E-mail: usr01589@vyatsu.ru

## Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 15.11.2017