

Ю.В. Червинец<sup>1</sup>, В.М. Червинец<sup>1</sup>, Б.А. Шендеров<sup>2</sup>

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ПОТЕНЦИАЛЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup> Кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии  
ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России  
<sup>2</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, г. Москва

Статья освещает современные данные о лечебно-профилактическом применении симбиотической микробиоты. Приведен перечень микроэкологических средств, наиболее часто применяемых в Российской Федерации для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. На кафедре микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Тверского ГМУ селекционированы новые пробиотические штаммы лактобацилл, готовые для промышленного использования в качестве эффективных метабиотиков, пищевых и кисломолочных продуктов.

*Ключевые слова:* микробиота, желудочно-кишечный тракт, метабиотики.

## MODERN CONCEPT ON THE BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF SYMBIOTIC HUMAN MICROBIOTA

Yu.V. Chervinets<sup>1</sup>, V.M. Chervinets<sup>1</sup>, B.A. Shenderov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tver State Medical University  
<sup>2</sup> Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky, Moscow

The article deals with modern data on the therapeutic and prophylactic use of symbiotic microbiota. The list of the most often used in the Russian Federation microecological means for the treatment of diseases of the gastrointestinal tract is given. At the Department of Microbiology and Virology with the course of immunology of Tver State Medical University new probiotic strains of lactobacilli were selected, ready for industrial use as effective metabiotic, food and fermented milk products.

*Key words:* microbiota, gastrointestinal tract, metabiotics.

### Введение

С начала 50-х годов прошлого века для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, связанных с дисбалансом симбиотической микробиоты, в мире разработано и индустриально производится более 150 различных средств микроэкологического назначения. Для сохранения и восстановления микробной экологии человека используется широкий набор микроэкологических средств (пробиотики, симбиотики, комбиотики, пребиотики, синбиотики, виrobiотики (включая фагобиотики), генно-инженерные пробиотики, метабиотики), а также такой прием, как трансплантация микробиоты толстого кишечника. Среди этих средств наиболее востребованными являются разнообразные по составу пробиотики, пребиотики и синбиотики [1–8].

*Пробиотики* – живые микроорганизмы, которые при назначении в адекватных количествах, нормализуя микробиоту, вызывают положительный эффект в организме как человека, так и животных. Термин «пробиотики» имеет греческое происхождение, означающее «за жизнь» и введен в научную литературу в 50-х годах прошлого столетия немецким нутрициологом Werner Kollath в противоположность слову «антибиотики». Пробиотические препараты широко применяются для профилактики и лечения различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая дисбиотические состояния, ожирение,

сахарный диабет I типа, опухолевые процессы и др. Микроорганизмы обычно получают из кишечника человека или животных. Концепция применения пробиотиков заключается в том, что грамотное использование живых микроорганизмов способствует положительному воздействию на экосистему человека. В одних случаях данные эффекты могут быть достигнуты в результате изменения популяции или активности колонизации микроорганизмов. В других случаях это связано с прямым действием пробиотиков на клетки хозяина [9–14]. Некоторые наиболее часто используемые в Российской Федерации пробиотики представлены в табл. 1.

*Пребиотики* представляют собой химические компоненты (микробного и немикробного происхождения углеродсодержащие соединения, преимущественно растительные полисахариды и олигосахариды), способные избирательно стимулировать рост и/или метаболическую активность одной или нескольких групп бактерий, входящих в состав нормальной индигенной микрофлоры [15–16].

Комбинированные препараты, в состав которых входят бактериальные препараты и стимуляторы роста, обозначают как *синбиотики*. Часто это биологически активные добавки, входящие в состав функционального питания, обогащенные одним или несколькими штаммами представителей кишечной микробиоты, относящихся, прежде всего, к лактоба-

Таблица 1

**Пробиотики, зарегистрированные в России**

Группы препаратов	Монокомпонентные	Поликомпонентные	Комбинированные, сорбированные или микробные метаболиты
Бифидосодержащие	Бифидумбактерин сухой ( <i>B. bifidum</i> )	Бификол сухой ( <i>B. bifidum</i> и <i>E. coli</i> М-17)	Бифилиз сухой ( <i>B. bifidum</i> и лизоцим)
	Бифидумбактерин в порошке ( <i>B. bifidum</i> )	Линекс ( <i>B. infantis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>E. faecium</i> ) Бифиформ ( <i>B. longum</i> , <i>E. faecium</i> )	Бифидумбактерин форте, пробифор ( <i>B. bifidum</i> , адсорбированные на активированном угле в дозе $5 \times 10^7$ и $5 \times 10^8$ микробных клеток соответственно)
Лактосодержащие	Лактобактерин сухой ( <i>L. plantarum</i> 8РА-3)	Ацилакт сухой ( <i>L. acidophilus</i> 3 разных штамма)	КИПацид (штаммы <i>L. acidophilus</i> , входящие в состав препарата ацилакт и лизоцим)
	Биобактон сухой ( <i>L. acidophilus</i> 12)		
	Гастрофарм ( <i>L. bulgaricus</i> LB-51)		Аципол ( <i>L. acidophilus</i> и полисахарид кефирных грибков <i>Kefir greins</i> )
Колисодержащие	Колибактерин сухой ( <i>E. coli</i> М-17)	Бификол сухой ( <i>B. bifidum</i> и <i>E. coli</i> М-17)	Биофлор ( <i>E. coli</i> М-17, выращенная на среде с экстрактами из сои, овощей, прополиса)
Споровые аэробных бактерий	Споробактерин ( <i>B. subtilis</i> )	Биоспорин ( <i>B. subtilis</i> и <i>B. licheniformis</i> )	Хилак-форте (содержит концентрат метаболитов <i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , молочную, фосфорную, лимонную кислоты)
	Бактиспорин ( <i>B. subtilis</i> )		
	Бактисубтил ( <i>B. cereus</i> )		
Сахаромицеты	Энтерол ( <i>Saccharomyces boulardii</i> )		

циллам и бифидобактериям. Данные микроорганизмы представляют особый научный и практический интерес, так как являются представителями нормальной микрофлоры человека и животных, широко распространены во внешней среде, входят в состав многих пробиотических препаратов: бифистим, био-вестин-лакто, мальтидофилюс, бифидо-бак, ламинолакт, полибактерин и др. [6, 8, 17].

Комбиотики – варианты синбиотических средств, в состав которых помимо пробиотических микроорганизмов и пребиотиков, добавлены другие функциональные пищевые ингредиенты (например, витаминно-минеральные премиксы, фенолсодержащие или другие растительные соединения и т. д.) (табл. 2).

Будущее развитие концепции традиционных пробиотиков заключается в создании лекарственных средств, биологически активных пищевых добавок и продуктов функционального питания, которые можно обозначить общим термином «*метабиотики*». Под этим термином понимают микробиологические препараты, направленные на сохранение и восстановление состава и функций симбиотической микробиоты человека, животных и растений. Они создаются на основе компонентов клеток, метаболитов, сигнальных молекул и короткоцепочечных жирных кислот уже известных или потенциальных пробиотических штаммов микроорганизмов. Синтетические (и/или полусинтетические) метабиотики

Таблица 2

**Перечень некоторых пребиотиков, синбиотиков и комбиотиков, представленных на российском рынке**

Название	Состав
Астролин	80% очищенного инулина, изолированного из клубней топинамбура
Биламинолакт	<i>E. faecium</i> L-3 + бифидобактерии + растительные экстракты
Ламинолакт	<i>E. faecium</i> L-3 в комбинации с растительными экстрактами
Биофлор	<i>E. coli</i> М-17 + экстракты сои, овощей и прополиса
Бифилиз	Бифидобактерии ( <i>B. bifidum</i> ) + лизоцим
Бифистим	<i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. adolescentis</i> + витамины (В1, В2, В3; В5, В6, В12, Н, С, Е, А, Д3, фолиевая к-та) + целлюлоза, пектин + гидрофосфат Са + фруктоза
Витафлор	Лактобациллы, витамин С, автолизат пекарских дрожжей, β-каротин
Дюфалак, Лактусан, Лактулоза	Дисахарид, состоящий из фруктозы и галактозы
Нормоспектрум (Мультиспектрум)	<i>B. bifidum</i> 1 и 791, <i>B. longum</i> В379М и Я-3, <i>B. adolescentis</i> ГО-13, <i>L. plantarum</i> 8РА-3, <i>L. acidophilus</i> НК-1 и К3ш24, <i>L. casei</i> КНМ-12, витамины (В1, В2, В3; В5, В6, В12, Н, С, Е, фолиевая к-та), минералы (Zn, Se), инулин
Примадофилус	<i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. casei subsp. rhamnosus</i> и мальтодекстрин
Рекицен-РД; Фервитал; Эубикор	Пшеничные или ржаные отруби с сорбированными на них винными дрожжами
Стимбифид	Инулин, олигофруктоза и витаминно-минеральный премикс (Zn, Se, витамины В1, В2, В3, В5, В6, В12, Н, С, Е, фолиевая кислота)

Таблица 3

**Наиболее известные метаболитики, представленные на российском рынке**

Название	Состав
Хилак-Форте ( <i>Hylak Forte</i> )	Концентрат метаболитов <i>L. acidophilus</i> и <i>L. helveticus</i> , а также метаболиты <i>E. coli</i> и <i>Enterococcus faecalis</i> , молочная, фосфорная, лимонная кислоты
Бактистатин	Биологически активные метаболиты бесклеточной культуральной жидкости бактерий <i>B. subtilis</i> штамм 3 (содержащей в т. ч. витамин E), носитель цеолит, ферментированный гидролизат соевой муки
Низин, сафилококцин, томицид	Различные антимикробные препараты бактерицинового типа
Закофальк ( <i>Zakofalk</i> )	Комбинация бутирата натрия и инулина
Хелинорм	Инактивированные клетки пробиотических бактерий <i>L. reuteri</i> , специфически связываются с <i>H. pylori</i> и выводят эти бактерии из организма естественным путем
Актофлор-С	Ауторегулятор роста и развития эукариотических и прокариотических клеток на основе ацетата, лактата, сукцината, формиата, лизина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, валина, метионина, аланина, лейцина, глицина
Дайго ( <i>Daigo</i> )	Смесь пептидов – биорегуляторов, которые экстрагируют из 16 штаммов различных видов лактобацилл [ <i>L. curvatus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. rhamnosus</i> ] и культивируют в течение года на соевом молоке
Аципол	Комбинированный препарат на основе живых лактобацилл ( <i>L. acidophilus</i> ), обогащенный полисахаридами кефирных грибов

будут сконструированы искусственно как аналоги или улучшенные копии природных биологически активных соединений, образуемых симбиотически микроорганизмами [4, 16, 18–20].

В последнее десятилетие на рынке ряда стран, включая Российскую Федерацию, уже выведены некоторые метаболитики, при производстве которых использованы природные (или искусственные) биоактивные молекулы, схожие или идентичные тем, которые продуцируются представителями нормальной микробиоты человека. Они доказали свою лечебно-профилактическую эффективность при некоторых инфекционных и метаболических заболеваниях (табл. 3).

Эффективность пробиотических препаратов определяется совокупностью биологических свойств штаммов, входящих в состав данных препаратов. Повышение и расширение пробиотических свойств может быть достигнуто за счет введения в препарат бактериальных композиций, включающих совместимые и взаимодополняющие по свойствам штаммы. Использование препаратов многовидового микробного состава является перспективным подходом к бактериотерапии. При выборе видов и штаммов для включения в комплексные препараты, предназначенные для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся нарушением микрофлоры кишечника, предлагается учитывать состав нормофлоры здоровых людей разного возраста, характер питания, географические, климатические особенности места обитания и прочие факторы [8].

Лактобациллы привлекают внимание исследователей с начала XX столетия, поскольку они, являясь нормобиотой человека, широко представлены в различных отделах желудочно-кишечного тракта – в полости рта, толстой кишке, а также влагалище у женщин, где они поддерживают pH на уровне 5,5–5,6 ед. Культуры молочнокислых бактерий нашли широкое применение в медицинской практике, пищевой промышленности, животноводстве, ветеринарии благодаря выраженным антагонистическим

свойствам, широкому спектру [21]. Основу многих лекарственных препаратов составляют консорциумы лактобацилл или лактобацилл и бифидобактерий. Лактобациллы в процессе дыхания активно поглощают кислород, образуя углекислый газ, что способствует поддержанию анаэробных условий и высокого парциального давления, что положительно сказывается на развитии бифидофлоры.

**Цель исследования:** выделение от здоровых людей Тверской области и селекционирование высокоактивных штаммов лактобацилл, обладающих высоким пробиотическим и адаптационным потенциалом, для создания новых эффективных препаратов пробиотиков и продуктов питания.

**Материалы и методы**

Для отбора высокоактивных штаммов было изучено 100 культур лактобацилл, выделенных из полости рта 300 здоровых людей в возрасте от 20 до 35 лет, являющихся коренными жителями Центрального федерального округа России (ЦФО РФ) (мужчин – 140, женщин – 160). Все эти люди на момент обследования были клинически здоровы, не имели в анамнезе инфекционных и соматических заболеваний ЖКТ. Антагонистическую способность лактобацилл выявляли методом агаровых слоев или методом отсроченного антагонизма [22]. В качестве тестовых культур были использованы индикаторные штаммы: *Staphylococcus aureus* 25923, *Candida albicans* 885-653, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella typhimurium* 415, *Shigella sonnei* I фазы 941, *Bacillus subtilis* 534. Наличие каталазной активности, микробных протеаз (казеиназа и желатиназа), нуклеазной активности (ДНК-аза и РНК-аза), гемолитической, антилизоцимной и лецитиназной активности определяли по общепринятой методике [23].

Для идентификации культуры микроорганизмов определяли морфологические и тинкториальные свойства, биохимическую активность изучали с помощью тест-системы api® 50CH (bio Mérieux) и про-

граммного обеспечения API WEB. Видотипирование и определение пробиотических генов проводились на базе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (г. Москва). Родовое и видовое генетическое типирование лактобактерий проводилось методом амплификации (ПЦР) и последующего секвенирования последовательности гена 16S рРНК. Использованы специфические праймеры для генов *L. plantarum* (для генов пребактериоцинов *plnEF*, *plnJ*, *plnC8*, а также для гена *plnN*, предположительно являющегося пребактериоцином) и *L. rhamnosus* (генов пребактериоцинов LGG\_02380 и LGG\_02400).

Биосовместимость исследуемых лактобацилл между собой и с бифидобактериями определялась методом совместного культивирования на плотной питательной среде [24]. В качестве индикаторных культур были использованы *B. catenulatum* 20103, *B. breve* 20213, *B. bifidum* 20239, *B. pseudocatenulatum* 2, *B. longum* B379M, *L. acidophilus* (*helveticus* ТШ) NK1 и *L. amylovorus* БТ-24/88 из государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

Для исследования адаптационного потенциала лактобацилл полости рта были применены методики по изучению адгезии [25], аутоагрегации [26], поверхностной гидрофобности и коагрегации [27], способности формировать биопленки [28].

Данные экспериментов обрабатывались с помощью прикладной программы «Statistica» (Stat Soft Russia) и «Excel». Вычисляли статистические параметры (средние значения, стандартное отклонение,  $p$ ,  $M \pm m$ ) для представителей нормобиоты, условно-патогенной и патогенной микробиоты. Значимыми считались значения при  $p < 0,02$ . Биохимическая идентификация лактобацилл определялась с помощью тест-систем API® (bio Mérieux) и программного обеспечения API WEB. Генетическое секвенирование проводили с использованием международной базы данных NCBI's BLASTn service (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

## Результаты и обсуждение

При изучении антагонистической активности 100 штаммов лактобацилл, изолированных из полости рта здоровых людей Тверской области, было отобрано 10 активных штаммов лактобацилл, проявивших антагонизм ко всем индикаторным культурам условно-патогенных и патогенных микроорганиз-

мов. Штаммы не подвергались генно-инженерным воздействиям. Фенотипические признаки, ассоциированные с синтезом ферментов патогенности, у данных штаммов лактобацилл не выявлены.

В результате биохимической и генетической идентификации по гену 16S РНК (рис. 1) выявлено, что из 10 изолятов лактобацилл, выделенных из полости рта, пять штаммов принадлежат к виду *L. fermentum*, четыре штамма – к *L. rhamnosus*, один штамм – к *L. plantarum*.

Для определения генотипической способности лактобацилл к синтезу бактериоцинов проверено наличие 6 генов, синтезирующих предшественников бактериоцинов, у штаммов *L. plantarum* и *L. rhamnosus*. Показано, что все проверенные 6 генов являются видоспецифичными. По наличию 2 генов, LGG\_02380 и LGG\_02400, исследованные штаммы *L. rhamnosus* 7 д. ст., *L. rhamnosus* 24 д. ст. и *L. rhamnosus* 50 зв. показали свою генетическую и фенотипическую идентичность, проявляющуюся выраженной антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным штаммам микроорганизмов. В свою очередь *L. rhamnosus* 72 зв. с набором из 2 генов, LGG\_02380 и LGG\_02400, а также *L. plantarum* 106 зв. с набором из 3 генов, *plnN*, *plnEF* и *plnJ*, показали слабую бактериоцинпродуцирующую способность.

При изучении симбиоза лактобацилл с микробиотой человека выявлено, что выделенные штаммы лактобацилл полости рта в основном не оказывали антагонистического влияния на рост нормобиоты желудочно-кишечного тракта, а именно, не подавляли рост 78% представителей нормофлоры.

Адгезия, аутоагрегация, поверхностная гидрофобность и коагрегация, являясь наиболее важными характеристиками клеточной поверхности, лежат в основе формирования биопленок. В составе биопленок лактобациллы способны синтезировать ряд антибиотикоподобных веществ, подавляющих рост и размножение патогенной и условно-патогенной микробиоты, что обеспечивает их жизнеспособность, сохранение, а также увеличение их общей популяции. Исследование аутоагрегации лактобацилл показало, что 5 высокоактивных штаммов лактобацилл обладали высокой степенью аутоагрегации, остальные – средней. Определение поверхностной гидрофобности лактобацилл показало, что

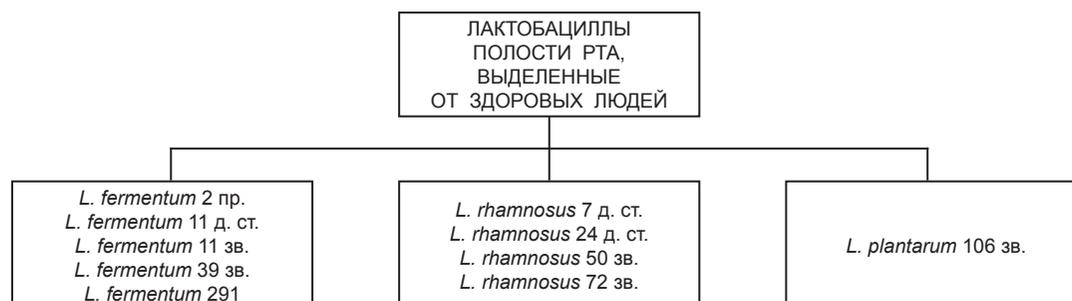


Рис. 1. Результаты генетической идентификации антагонистически активных штаммов лактобацилл, выделенных из полости рта здоровых людей, по гену 16S рРНК

6 антагонистически активных штаммов лактобацилл обладали высокой поверхностной гидрофобностью, а 4 – средней.

Хорошая способность к адгезии является важной характеристикой пробиотических штаммов лактобацилл, обеспечивающей их длительное пребывание в ЖКТ для подавления патогенных микроорганизмов, для защиты клеток макроорганизма или регулирования иммунитета. При исследовании адгезивной способности 10 антагонистически активных штаммов лактобацилл, выделенных из полости рта здоровых людей, выявлено, что высокой адгезивной способностью обладают 7 штаммов, а 3 – средней. Средний показатель адгезии лактобацилл колебался от 3,44 до 6,08 и в среднем составил  $3,8 \pm 0,99$ . Таким образом, большинство лактобацилл имели высокие значения адгезивности (рис. 2).

Коагрегация между пробиотическими и патогенными бактериями является одним из путей вытеснения патогенных бактерий из желудочно-кишечного тракта. Все лактобациллы, выделенные из полости рта, образовывали коагрегаты с двумя индикаторными штаммами *B. subtilis* 537 и *B. subtilis* 6633. Только 6 штаммов (60%) лактобацилл полости рта образуют коагрегаты с *Candida albicans* 531 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Пять исследуемых штаммов коагрегировала с *Staphylococcus aureus* 209 и *Escherichia coli* ATCC 25922. В 30% случаев штаммы лактобацилл полости рта коагрегировали с *Shigella flexneri* 26 и *Salmonella typhimurium* 11.

Определение оптической плотности (ОП) клеток лактобацилл показало (рис. 3), что ОП лактобацилл, выделенных из полости рта и образовавших

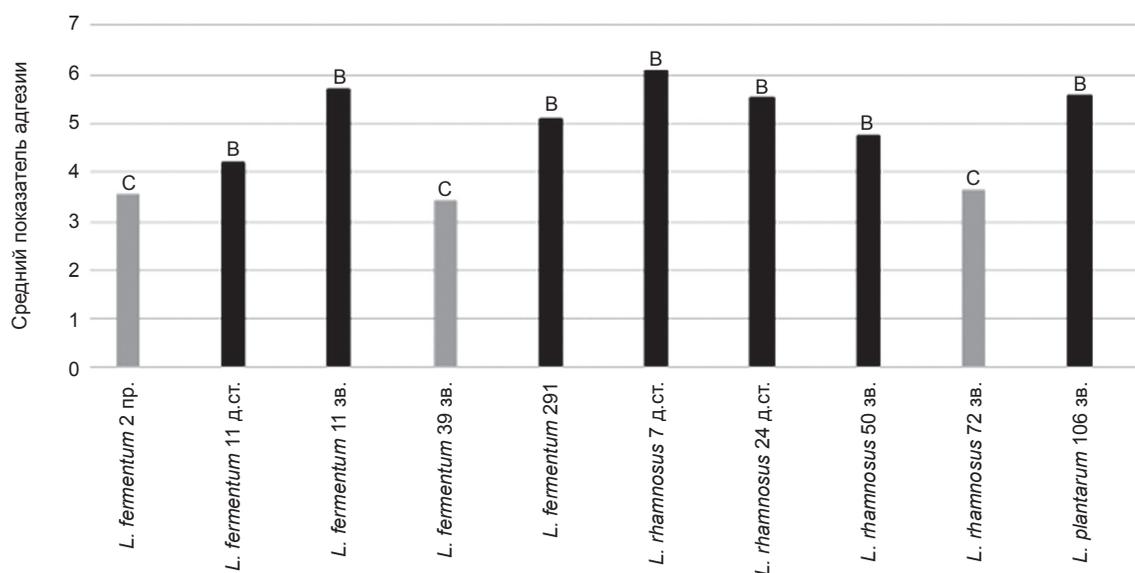


Рис. 2. Адгезивная активность антагонистически активных штаммов лактобацилл, выделенных из полости рта: С – средняя адгезивная активность, В – высокая адгезивная активность

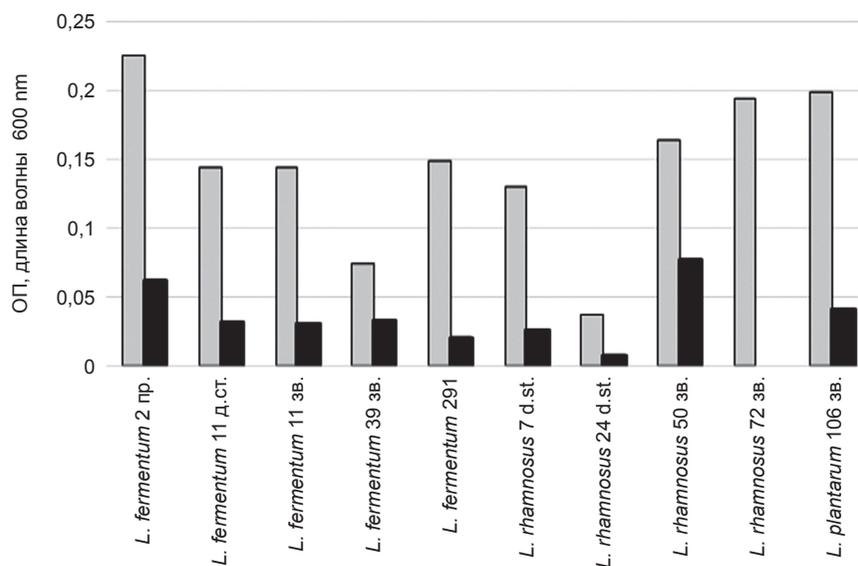


Рис. 3. Оптическая плотность антагонистически активных штаммов лактобацилл на пластиковой (серый цвет) и стеклянной (черный цвет) поверхностях  $M \pm m$  оптической плотности лактобацилл на пластиковой поверхности –  $0,1458 \pm 0,0189$ ;  $M \pm m$  оптической плотности лактобацилл на стеклянной поверхности –  $0,0322 \pm 0,0076$

био пленку на пластиковой чашке, на порядок выше (от 0,037 до 0,225), чем на стекле (от 0 до 0,076).

Слизистая оболочка ЖКТ не такая гладкая, как стекло, поэтому изученные лактобациллы могут долгое время выживать на поверхности мембран, находясь внутри био пленок.

### Заключение

Лактобациллы, как представители нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, характеризуются не только большим разнообразием, но и широкой антимикробной активностью, которая играет важную роль в формировании колонизационной резистентности организма [29–31]. Существуют две группы факторов, которые обеспечивают оптимальное функционирование пробиотических штаммов лактобацилл: адаптационные факторы, позволяющие оптимально адаптироваться к новой нише обитания, и пробиотические факторы, напрямую способствующие проявлению положительного действия лактобацилл [32–35]. В нашей работе мы охарактеризовали потенциал наиболее часто встречаемых штаммов лактобацилл, выделенных из полости рта здоровых людей Тверской области. Было селекционировано 10 штаммов лактобацилл, включая в себя *L. fermentum* (5), *L. rhamnosus* (4), *L. plantarum* (1).

В результате проведенного исследования выявлено, что лактобациллы показали выраженный пробиотический потенциал, проявляющийся выраженной фенотипической активностью по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам – *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*. При определении генотипической способности лактобацилл к синтезу бактериоцинов выявлено, что количество генов имеет прямую зависимость от синтеза бактериоцинов. Скорее всего, существуют определенные факторы, предрасполагающие экспрессию генов бактериоциногенности. Высокоактивные штаммы лактобацилл не оказывают взаимного антагонистического воздействия на *L. fermentum*, *L. plantarum* и *L. rhamnosus*, не подавляют метаболизма и размножения бифидобактерий (*B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum*). Также у высокоактивных штаммов лактобацилл обнаружен выраженный адаптационный потенциал, характеризующийся высокими показателями адгезивности, аутоагрегации, поверхностной гидрофобности. В составе коагрегатов кишечные штаммы лактобацилл более эффективно проявляют свои антагонистические свойства в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Лактобациллы полости рта характеризуются высокой способностью формировать био пленку *in vitro*, причем лучше на пластиковой поверхности, чем на стеклянной.

На основании изученного пробиотического и адаптационного потенциала получены 3 патента РФ на изобретение трех штаммов лактобацилл, обладающих широким спектром антагонистической актив-

ности и выделенных от здоровых людей Тверской области, в Федеральной службе по интеллектуальной собственности ФГБУ Федерального института промышленной собственности:

1. № 2627165 от 03.08.2017 Штамм бактерий *Lactobacillus rhamnosus* 7 д. ст.
2. № 2627164 от 03.08.2017 Штамм бактерий *Lactobacillus fermentum* 11 зв.
3. № 2627166 от 03.08.2017 Штамм бактерий *Lactobacillus rhamnosus* 24 д. ст.

Несмотря на обилие микробиологических средств, применяемых для восстановления дисбаланса нормобиоты, многие из них показывают свою неэффективность по разным причинам, одной из которых является несовпадение региона, где были выделены пробиотические культуры, и места проживания потребителя продукта. Это большинство пробиотиков зарубежного происхождения. Другая причина состоит в постоянном изменении свойств патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, заселяющих макроорганизм, в сторону усиления их активности. Лактобациллы, выделенные от здоровых людей, могут быть основой для создания новых пробиотических препаратов с направленным местом действия. Кишечные лактобациллы лучше будут «работать» в кишечнике, а выделенные из ротовой жидкости – в полости рта. Данные лактобациллы могут быть использованы и в сельском хозяйстве Тверской области для лечения и профилактики кишечных расстройств крупного и мелкого рогатого скота, а также для подавления роста возбудителей кожных заболеваний, которые могут находиться в составе подстилки.

Для более эффективного лечения и профилактики дисбиоза желудочно-кишечного тракта, полости рта следует применять новые пробиотики/метабиотики, а также пищевые и кисломолочные продукты, основой которых являются представители нормобиоты человека, например, лактобациллы, обладающие широким биотехнологическим потенциалом.

### Литература/References

1. Шендеров Б.А. Микробная экология человека и ее роль в поддержании здоровья / Б.А. Шендеров // Метаморфозы. – 2014. – № 5. – С. 72–80.
2. Shenderov B.A. Mikrobna ja jekologija cheloveka i ee rol' v podderzhanii zdorov'ja / B.A. Shenderov // Metamorfozy. – 2014. – № 5. – S. 72–80.
3. Hot topics in gut microbiota / J. Dore [et al.] // United European Gastroenterology Journal. – 2013. – Vol. 1 (5). – P. 311–318.
4. Mimeo M. Microbiome therapeutics – Advances and challenges / M. Mimeo, R.J. Citorik, T.K. Lu // Adv Drug Deliv Rev. – 2016. – Vol. 105 (Pt A). – P. 44–54. doi: 10.1016/j.addr.2016.04.032.
5. Shenderov B.A. Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception [Электронный ресурс] / B.A. Shenderov // Microbial Ecology in Health & Disease. – 2013. – Vol. 24. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v24i0.20399>.
6. Sonnenburg J.L. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism / J.L. Sonnenburg, F. Backhed // Nature. – 2016. – Vol. 535. – P. 56–64.

6. *Suvorov A.* Gut microbiota, probiotics, and human health / A. Suvorov // *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. – 2013. – Vol. 32 (3). – P. 81–91.

7. *Venema K.* Probiotic and Prebiotics: Current Research and Future Trends / K. Venema, A.P. do Carmo. – Wageningen, The Netherlands: Caister Academic Press, 2015. – 560 p.

8. *Vyas U.* Probiotics, prebiotics, and synbiotics: gut and beyond / U. Vyas, N. Ranganathan // *Gastroenterology Research and Practice*. – 2012. – Article ID 872716. doi: 10.1155/2012/872716.

9. *Авдеев В.Г.* Пробиотики и пребиотики в лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта / В.Г. Авдеев // *Клиническая фармакология и терапия*. – 2006. – № 15 (1). – С. 36–40.

*Avdeev V.G.* Probiotiki i prebiotiki v lechenii zabolevanij zheludochno-kishechnogo trakta / V.G. Avdeev // *Klinicheskaja farmakologija i terapija*. – 2006. – № 15 (1). – S. 36–40.

10. *Нилова Л.Ю.* К вопросу о применении пробиотиков для коррекции дисбактериоза толстого кишечника / Л.Ю. Нилова, А.Г. Бойцов, Е.А. Оришак // *Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова*. – 2008. – № 3. – С. 154–157.

*Nilova L.Ju.* K voprosu o primenenii probiotikov dlja korrekcii disbakterioza tolstogo kishechnika / L.Ju. Nilova, A.G. Bojcov, E.A. Orishak // *Vestnik SPbGMA im. I.I. Mechnikova*. – 2008. – № 3. – S. 154–157.

11. Патент № 2393214 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, A 61 K 35/74, C1 2 P 37/00. Иммунобиологическое противоаллергическое средство (варианты), штамм *Lactobacillus acidophilus* NKJC, штамм *Lactobacillus acidophilus* JCH, штамм *Lactobacillus acidophilus* KAA / Черепанова Ю.В. и др.; заявитель и патентообладатель ООО «ИнноПроб». – № 2009102950/13. – 2010. Бюл. № 3. – 7 с.

Patent № 2393214 Rossijskaja Federacija, MPK C12N 1/20, A 61 K 35/74, C1 2 P 37/00. Immunobiologicheskoe protivooallergicheskoe sredstvo (varianty), shtamm *Lactobacillus acidophilus* NKJC, shtamm *Lactobacillus acidophilus* JCH, shtamm *Lactobacillus acidophilus* KAA / Cherepanova Ju.V. i dr.; zayavitel' i patentoobladatel' ООО «In-noProb». – № 2009102950/13. – 2010. Bjul. № 3. – 7 s.

12. *Blandino G.* Probiotics: overview of microbiological and immunological characteristics / G. Blandino, D. Fazio, R. Marco // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* – 2008. – Vol. 6. – № 4. – P. 497–508.

13. Probiotics: delineation of prophylactic and therapeutic benefits / I.P. Kaur et al. // *J. Med. Food*. – 2009. – Vol. 12. – № 2. – P. 219–235.

14. *Tennyson C.A.* Microecology, obesity and probiotics / C.A. Tennyson, G. Friedman // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* – 2008. – Vol. 15. – № 5. – P. 422–427.

15. Влияние пищевого потребления шоколада с пробиотиками на микрофлору кишечника и полости рта / Ю.В. Червинец и др. // *Верхневолжский медицинский журнал*. – 2015. – Т. 13. – Вып. 1. – С. 26–30.

Vlijanie pishhevogo potreblenija shokolada s prebiotikami na mikrofloru kishechnika i polosti rta / Ju.V. Chervinec i dr. // *Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal*. – 2015. – T. 13. – Vyp. 1. – S. 26–30.

16. *Shenderov B.A.* Probiotics and Functional Foods / B.A. Shenderov // *Food Engineering, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Developed under the Auspices of the UNESCO. – Eolss Publishers: Oxford, UK, 2011. – Режим доступа: URL: <http://www.eolss.net> (дата обращения: 08.12.2017).

17. Индигенные лактобациллы полости рта человека – кандидаты в пробиотические штаммы /

Ю.В. Червинец и др. // *Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье»*. – 2012. – № 1. – С. 131–137.

Indigennye laktobacilly polosti rta cheloveka – kandidaty v probioticheskie shtammij / Ju.V. Chervinec i dr. // *Kurskij nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i zdorov'e»*. – 2012. – № 1. – S. 131–137.

18. *Шендеров Б.А.* Молекулярный язык пробиотических микроорганизмов / Б.А. Шендеров // *Пищевые ингредиенты: сырье и добавки*. – 2009. – № 1. – С. 47–48.

*Shenderov B.A.* Molekuljarnyj jazyk probioticheskikh mikroorganizmov / B.A. Shenderov // *Pishhevyje ingredijenty: syr'e i dobavki*. – 2009. – № 1. – S. 47–48.

19. *Шендеров Б.А.* ОМИК-технологии и их значение в современной профилактической и восстановительной медицине / Б.А. Шендеров // *Вестник восстановительной медицины*. – 2012. – № 3 (49). – С. 70–78.

*Shenderov B.A.* OMIK-tehnologii i ih znachenie v sovremennoj profilakticheskoj i vosstanovitel'noj mediciny / B.A. Shenderov // *Vestnik vosstanovitel'noj mediciny*. – 2012. – № 3 (49). – S. 70–78.

20. *Shenderov B.A.* Probiotic (symbiotic) bacterial languages / B.A. Shenderov // *Anaerobe*. – 2011. – Vol 17. – P.490–495.

21. Использование лактобацилл в лечении сальмонеллезного гастроэнтерита в эксперименте на животных / Ю.В. Червинец и др. // *Верхневолжский медицинский журнал*. – 2013. – № 2. – С. 21–26.

Ispol'zovanie laktobacill v lechenii sal'monelezного gastrojenterita v jeksperimente na zhivotnyh / Ju.V. Chervinec i dr. // *Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal*. – 2013. – № 2. – С. 21–26.

22. *Блинкова Л.П.* Бактериоцины: критерии, классификация, методы выявления / Л.П. Блинкова // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. – 2003. – № 3. – С. 109–113.

*Blinkova L.P.* Bakteriociny: kriterii, klassifikacija, metody vyjavlenija / L.P. Blinkova // *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*. – 2003. – № 3. – S. 109–113.

23. *Агапова О.В.* Ферменты патогенности клинических штаммов *Klebsiella pneumonia* / О.В. Агапова, В.М. Бондаренко, Н.А. Поликарпов // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. – 1999. – № 2. – С. 5–8.

*Agapova O.V.* Fermenty patogennosti klinicheskikh shtammov *Klebsiella pneumonia* / O.V. Agapova, V.M. Bondarenko, N.A. Polikarpov // *Zhurnal mikrobiologii, jepide-miologii i immunologii*. – 1999. – № 2. – S. 5–8.

24. *Глушанова Н.А.* Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл в условиях совместного культивирования *in vitro* / Н.А. Глушанова, Б.А. Шендеров // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. – 2005. – № 2. – С. 56–61.

*Glushanova N.A.* Vzaimootnoshenija probioticheskikh i indigennyh laktobacill v uslovijah sovmestnogo kultivirovanija *in vitro* / N.A. Glushanova, B.A. Shenderov // *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*. – 2005. – № 2. – S. 56–61.

25. Методика изучения адгезивного процесса / В.И. Брилис и др. // *Лаб. дело*. – 1986. – № 4. – С. 210–212.

Metodika izuchenija adgezivnogo processa / V.I. Brilis i dr. // *Lab. delo*. – 1986. – № 4. – S. 210–212.

26. Hemagglutination, adherence and surface properties of vaginal *Lactobacillus* species / A. Andreu et al. // *J. Infect. Dis.* – 1995. – № 171. – P. 1237–1243.

27. Coaggregation of urogenital bacteria *in vitro* and *in vivo* / G. Reid et al. // *Curr. Microbiol.* – 1990. – № 20. – P. 47–52.

28. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* / Ю.М. Романова и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2006. – № 4. – С. 38–42.

Sposobnost' k formirovaniju bioplenok v iskusstvennyh sistemah u razlichnyh shtammov *Salmonella typhimurium* / Ju.M. Romanova i dr. // Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii. – 2006. – № 4. – S. 38–42.

29. Антагонизм лактобацилл, стрептококков, и стафилококков полости рта / Ю.В. Червинец и др. // Стоматология. – 2015. – Т. 94. – № 1. – С. 4–6.

Antagonizm laktobacill, streptokokkov, i stafilokokkov polosti rta / Ju.V. Chervinec i dr. // Stomatologija. – 2015. – Т. 94. – № 1. – С. 4–6.

30. Сравнительная характеристика лактобацилл, выделенных из фекалий здоровых людей, проживающих в Российской Федерации и Казахстане [Электронный ресурс] / В.М. Червинец и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

Sravnitel'naja harakteristika laktobacill, vydelennyh iz fekalij zdorovyh ljudej, prozhivajushhih v Rossijskoj Federacii i Kazahstane [Jelektronnyj resurs] / V.M. Chervinec [i dr.] // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. – 2016. – № 6. – 1 jelektron. opt. disk (CD-ROM).

31. Червинец Ю.В. Пробиотический и адаптационный потенциал лактобацилл, перспективных для конструирования эффективных пробиотических препаратов / Ю.В. Червинец, В.М. Червинец // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – Вып. 126. – № 2. – С. 108.

Chervinec Ju.V. Probioticheskij i adaptacionnyj potencial laktobacill, perspektivnyh dlja konstruirovanija jefektivnyh probioticheskikh preparatov / Ju.V. Chervinec, V.M. Chervinec // Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija. – 2016. – Вып. 126. – № 2. – С. 108.

32. Червинец В.М. Пробиотический потенциал лактобацилл полости рта и кишечника здоровых людей / В.М. Червинец, Ю.В. Червинец // Серия конференций

ЗКГМУ имени Марата Оспанова. – 2017. – Т. 1. – С. 252–255.

Chervinec V.M. Probioticheskij potencial laktobacill polosti rta i kishechnika zdorovyh ljudej / V.M. Chervinec, Ju.V. Chervinec // Serija konferencij ZKGMU imeni Marata Ospanova. – 2017. – Т. 1. – С. 252–255.

33. Червинец Ю.В. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта / Ю.В. Червинец, В.М. Червинец, А.Ю. Миронов. – Тверь: Издательство РИЦ ТГМА, 2016. – 214 с.

Chervinec, Ju.V. Simbioticheskie vzaimootnoshenija laktobacill i mikroorganizmov zheludochno-kishechnogo trakta / Ju.V. Chervinec, V.M. Chervinec, A.Ju. Mironov. – Tver': Izdatel'stvo RIC TGMA, 2016. – 214 s.

34. Формирование биопленок антагонистическими штаммами лактобацилл полости рта / В.М. Червинец и др. // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – С. 16–19.

Formirovanie bioplenok antagonistscheskimi shtammami laktobacill polosti rta / V.M. Chervinec i dr. // Stomatologija. – 2012. – Т. 91. – С. 16–19.

35. Характеристика пробиотических свойств штаммов рода *Bifidobacterium*, выделенных из желудочно-кишечного тракта жителей Центрального региона России / Е.А. Беляева и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60. – № 1. – С. 53–58.

Harakteristika probioticheskikh svojstv shtammov roda *Bifidobacterium*, vydelennyh iz zheludochno-kishechnogo trakta zhitelej Central'nogo regiona Rossii / E.A. Beljaeva i dr. // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 2015. – Т. 60. – № 1. – С. 53–58.

Червинец Юлия Вячеславовна (контактное лицо) – д. м. н., доцент, профессор кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России. 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4. Тел. +7-960-703-01-25; e-mail: julia\_chervinec@mail.ru.